

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-535128

(P2024-535128A)

(43)公表日 令和6年9月26日(2024.9.26)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 D 213/74 (2006.01)	C 0 7 D 213/74	C S P 4 C 0 8 6
C 0 7 D 401/12 (2006.01)	C 0 7 D 401/12	Z N A
C 0 7 D 401/14 (2006.01)	C 0 7 D 401/14	
C 0 7 D 417/12 (2006.01)	C 0 7 D 417/12	
C 0 7 D 491/107 (2006.01)	C 0 7 D 491/107	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全259頁) 最終頁に続く

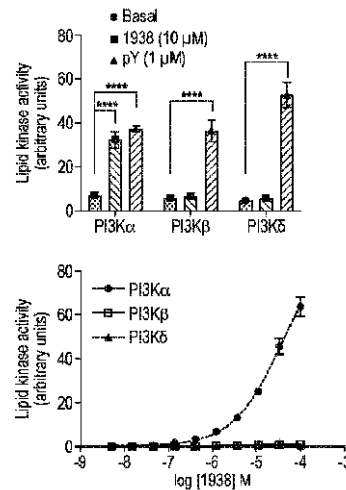
(21)出願番号	特願2024-539911(P2024-539911)	(71)出願人	505367464
(86)(22)出願日	令和4年9月14日(2022.9.14)		ユーシーエル ビジネス リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年5月9日(2024.5.9)		イギリス国 ダブリューシー1イー 6ピ
(86)国際出願番号	PCT/GB2022/052323		ーティー ロンドン, ガワー ストリート
(87)国際公開番号	WO2023/041905		, ユニバーシティー カレッジ ロンドン
(87)国際公開日	令和5年3月23日(2023.3.23)	(71)出願人	524089305
(31)優先権主張番号	2113079.4		ユナイテッド キングダム リサーチ ア
(32)優先日	令和3年9月14日(2021.9.14)		ンド イノベーション
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)		英国 エスエヌ2 1エフエル ウィルト
			シャー スウィンドン ノース スター ア
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	110000109
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(弁理士法人特許事務所サイクス
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(72)発明者	ファンハーゼブルック バルト
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティ
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		最終頁に続く
	最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 新規治療

(57)【要約】

本発明は、PI3K 活性化化合物およびそれを含む医薬組成物に関する。本発明はさらに、特に、PI3K 活性化による治療に感受性の障害の治療に関する。

Fig. 1b

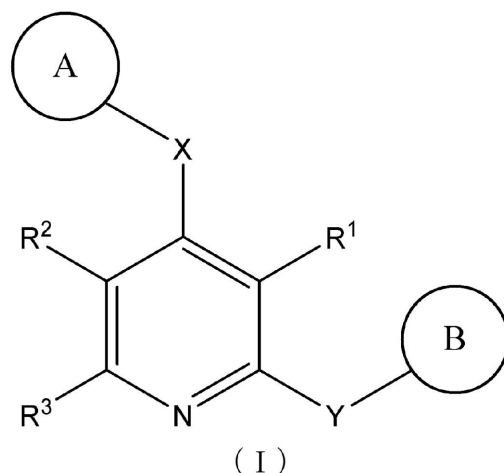


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 式 (I) の化合物または (b) その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であって；

【化 1】



10

式中：

Xは、結合またはNHであり；

20

Yは、結合またはNHであり；

ただし、XおよびYの少なくとも1つはNHであり；

R¹は、H、FまたはCH₃であり；

R²は、H、F、Cl、Br、-COR⁴、-SO₂R⁵、-SOR⁵、-CN、-NO、-NO₂または-NR⁶₃⁺であり；

R³は、H、CH₃、0～3のR⁷、-COR⁴、-SO₂R⁵、-SOR⁵、-CN、-NO、-NO₂または-NR⁶₃⁺で置換されているC₂-C₆アルキルであり；

R⁴は、H、0～3のR⁷、-OH、-OR⁸、-NH₂、-NHR⁸または-NR⁸₂で置換されているC₁-C₆アルキルから独立して選択され；

R⁵は、0～3のR⁷、-OH、-OR⁸、-NH₂、-NHR⁸または-NR⁸₂で置換されているC₁-C₆アルキルから独立して選択され；

30

R⁶は、C₁-C₃アルキルから独立して選択され；

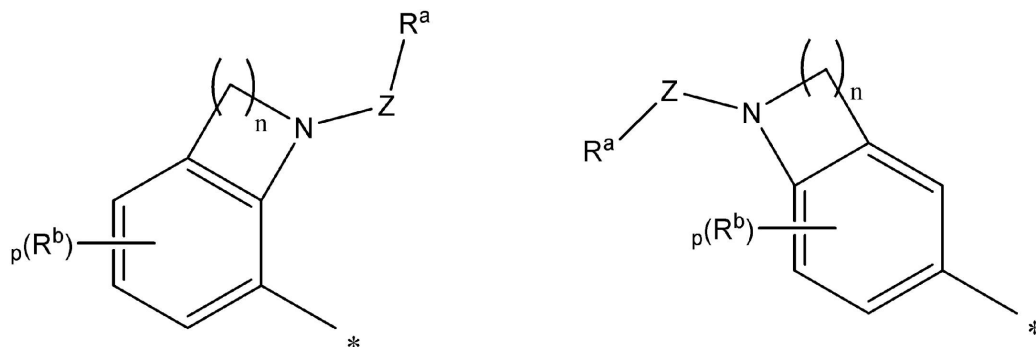
R⁷は、O-C₁-C₃アルキル、FまたはClから独立して選択され；

R⁸は、0～3のR⁷で置換されているC₁-C₆アルキルから独立して選択され；

環Aは、群I、群II、群III、群IVおよび群V内の環から選択され、*は、Xへの結合を示し；

群Iは、

【化 2】



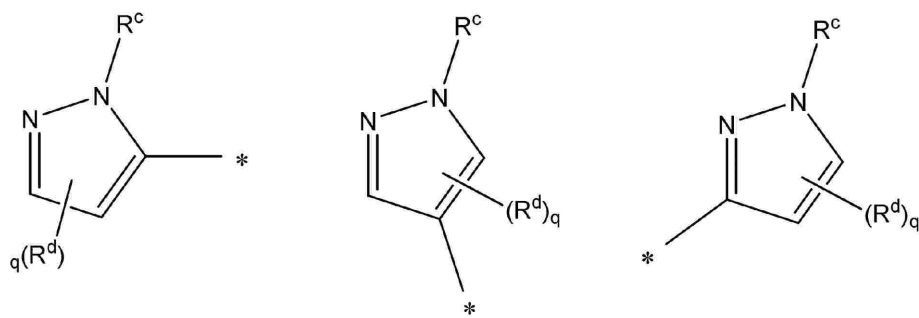
40

であり；

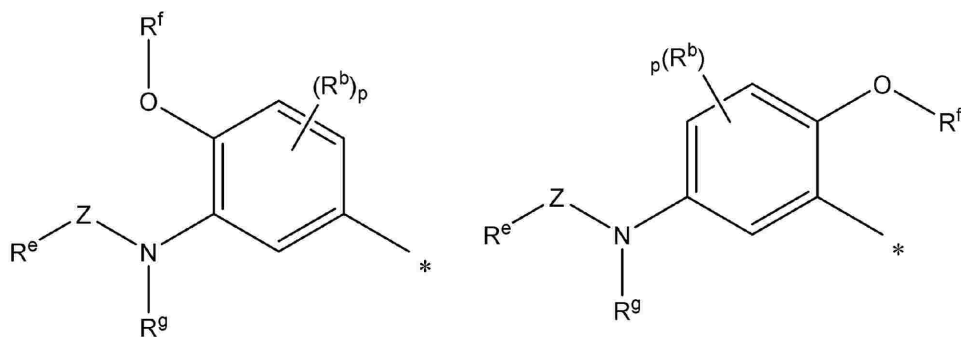
群IIは、

50

【化3】

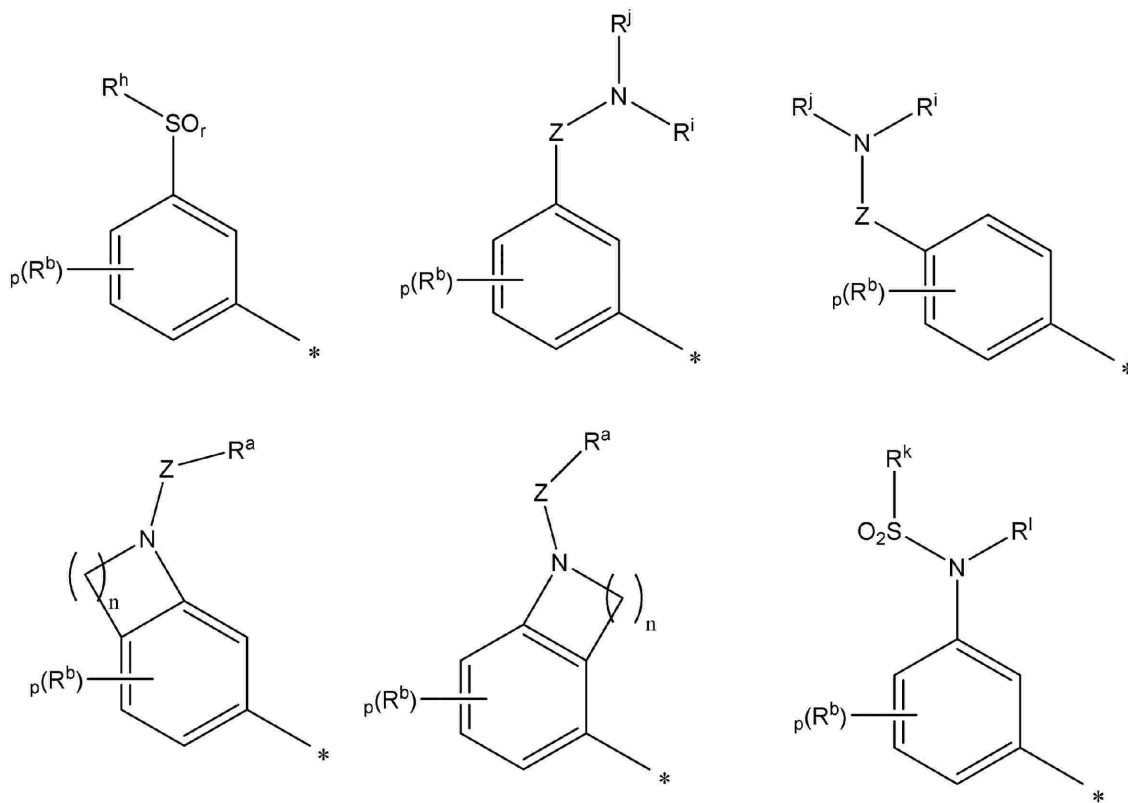


10



20

であり：
群IIIは、
【化4】



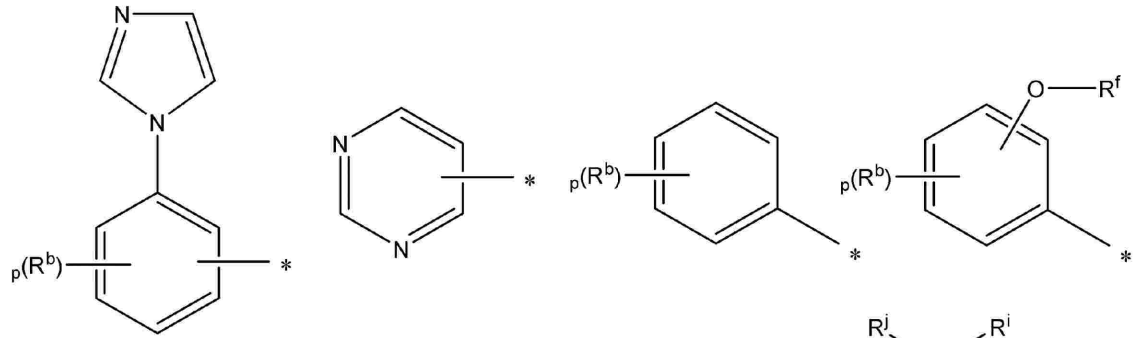
30

40

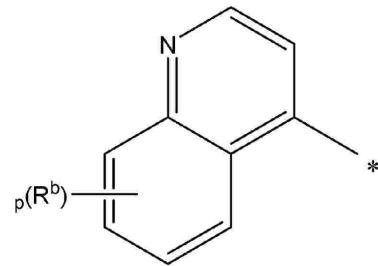
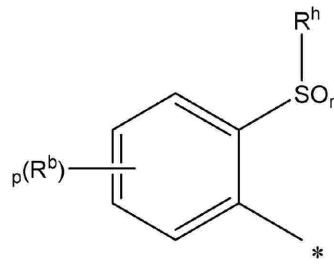
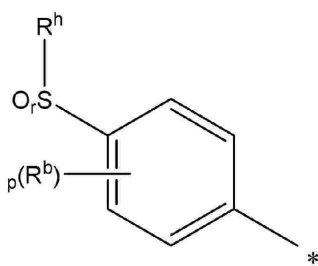
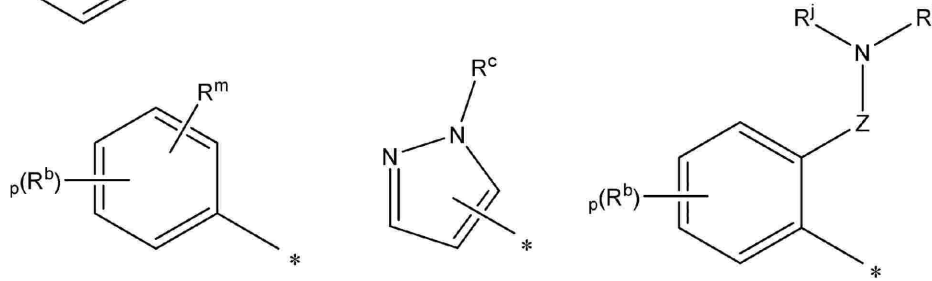
であり：
群IVは、

50

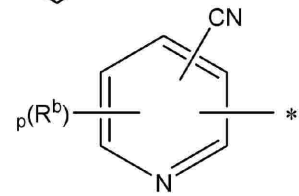
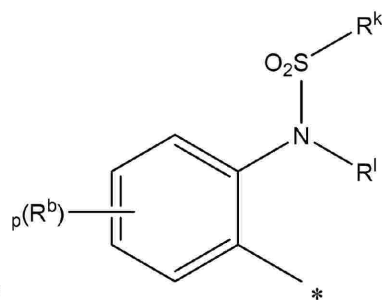
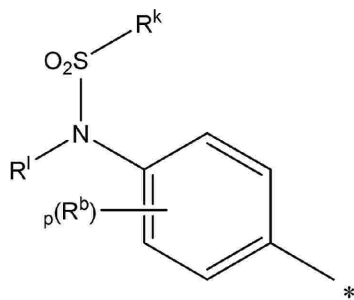
【化 5】



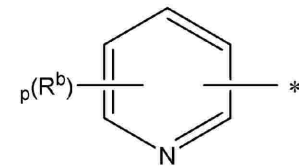
10



20

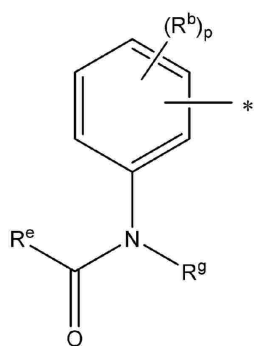
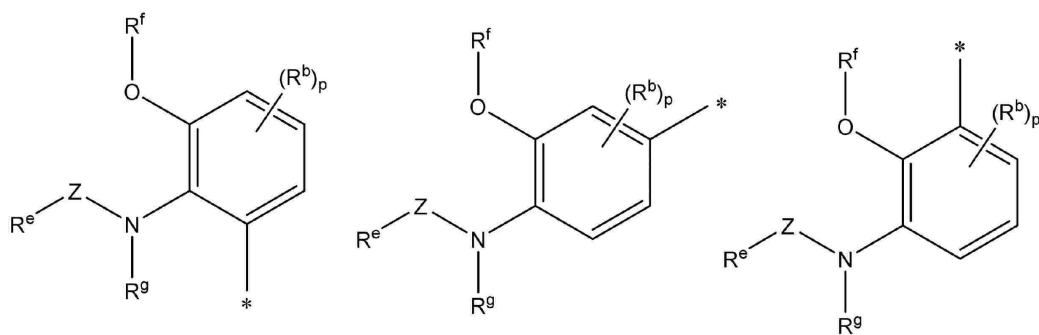
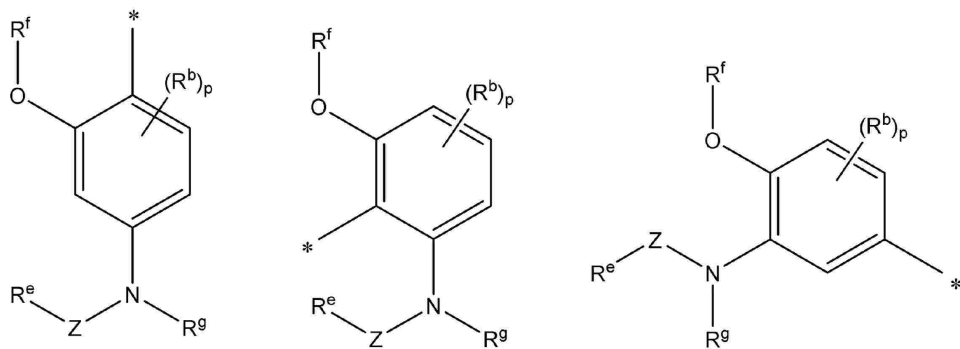
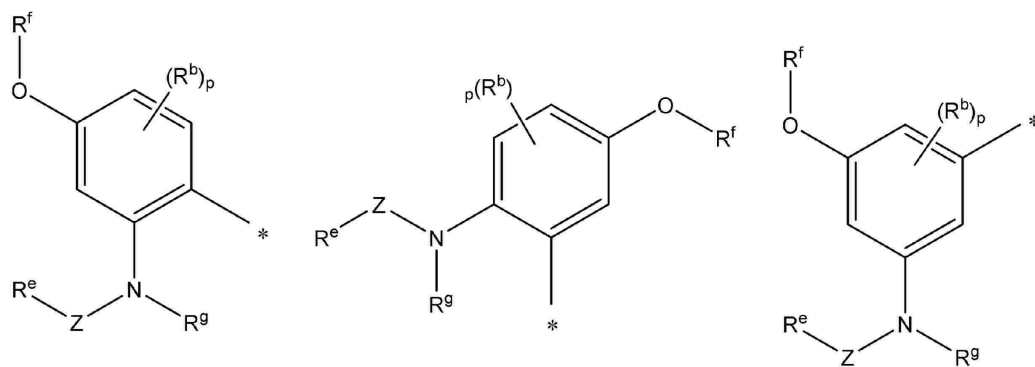


30



40

50



10

20

30

40

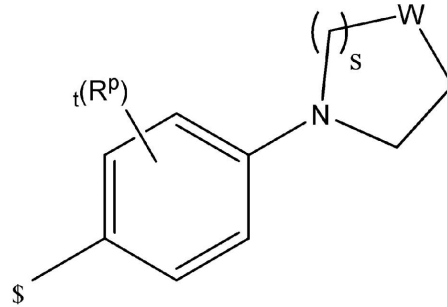
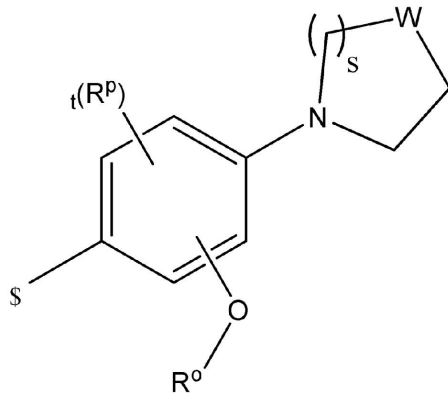
50

であり：

環Bは、群IA、群IIA、群IIIA、群IVA、および群VA内の環から選択され、\$は、Yへの結合を示し；

群IAは、

【化7】

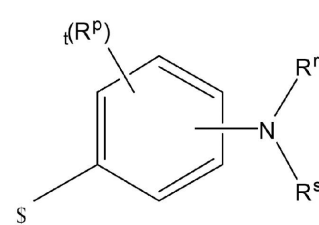
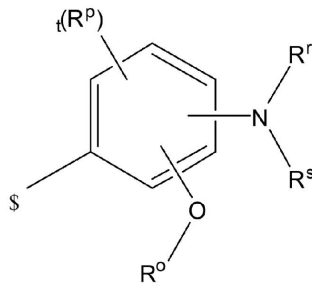
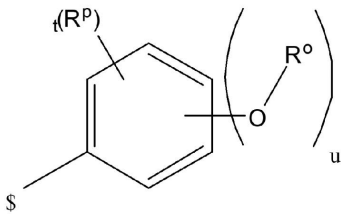


10

であり：

群IIAは、

【化8】

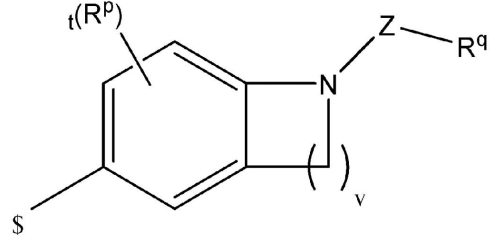
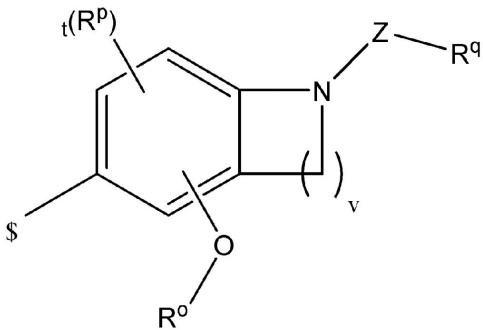


20

であり：

群IIIAは、

【化9】



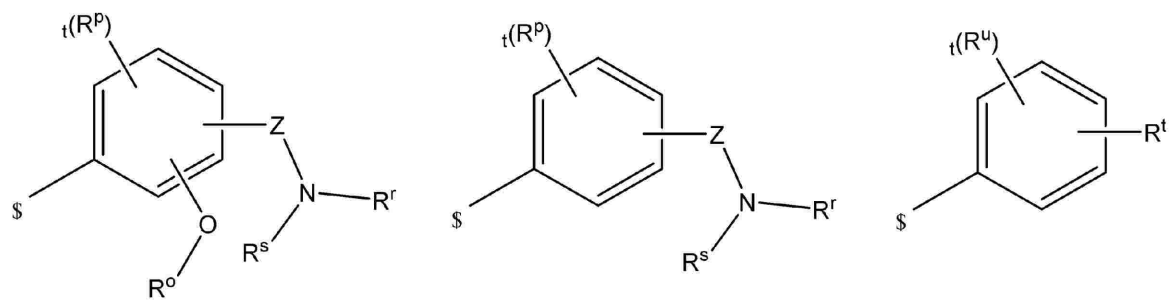
40

であり：

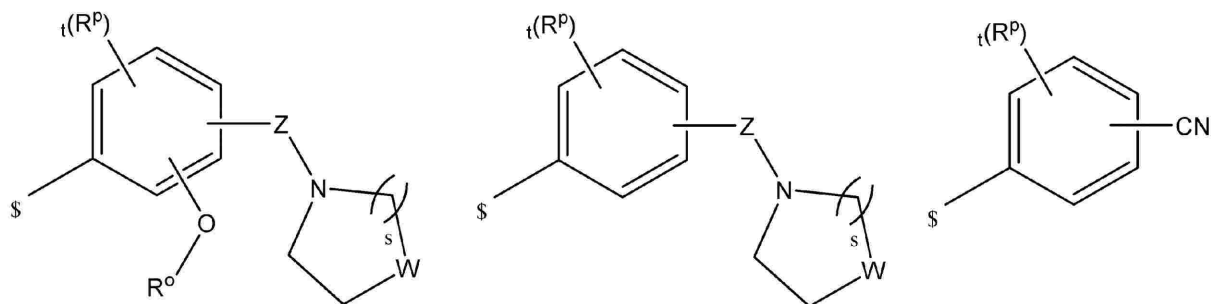
群IVAは、

50

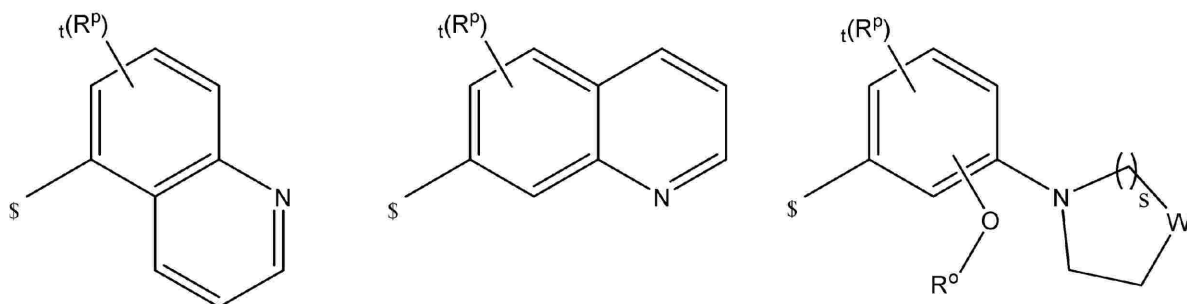
【化 1 0】



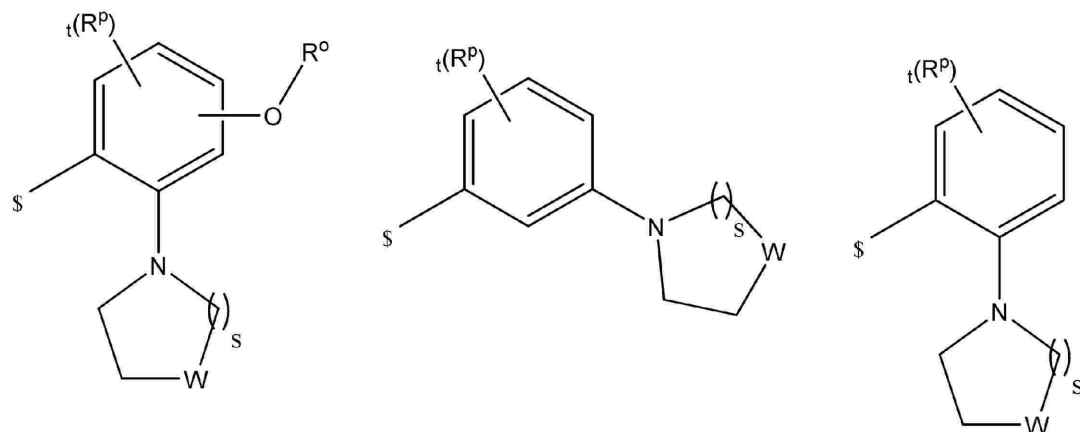
10



20



30

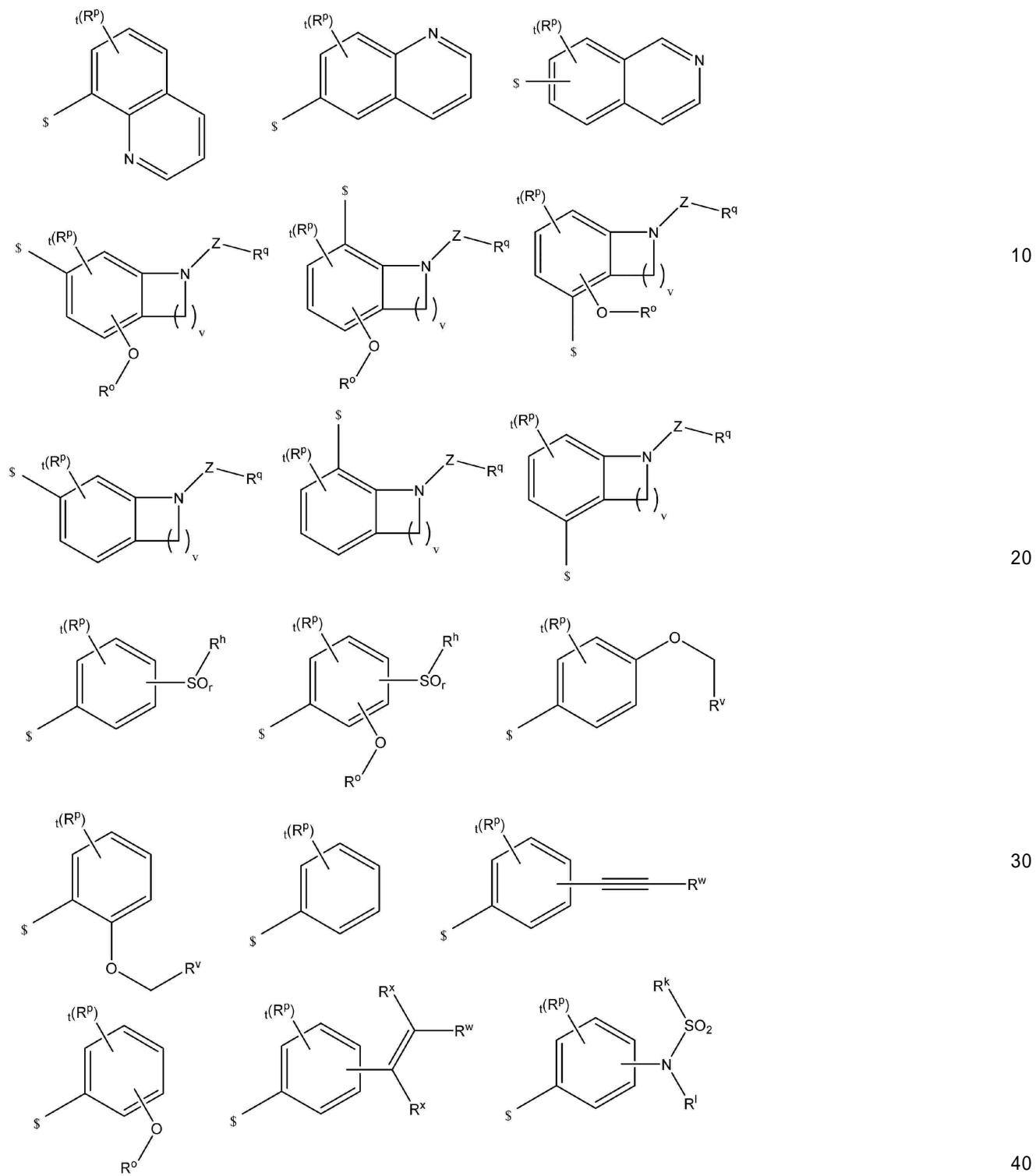


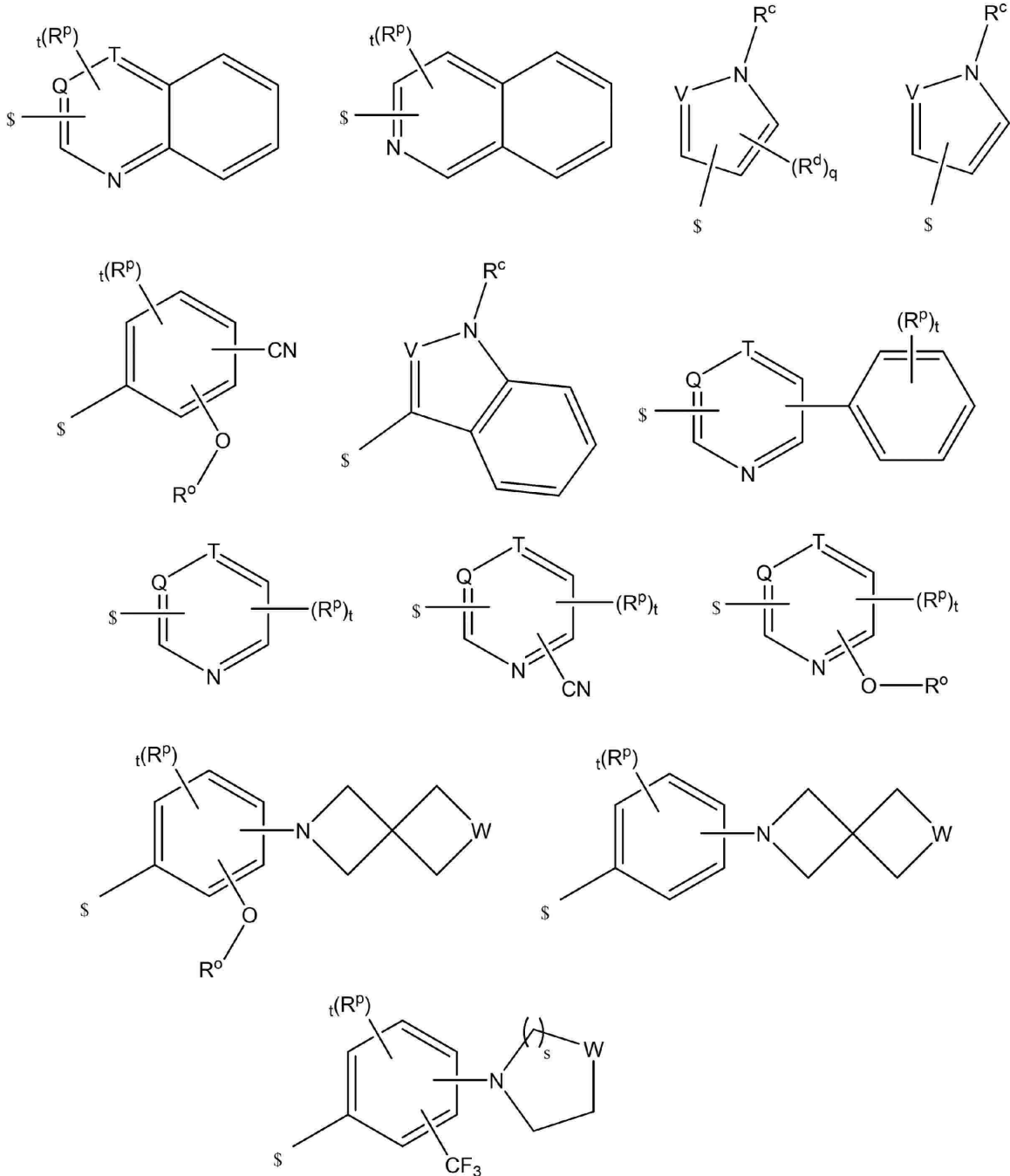
40

であり：
群VAは、

50

【化 1 1】





であり；

式中；

QおよびTは、CHまたはNからそれぞれ選択され、ただし、QおよびTの多くても1つがNであってよく；

Vは、CHまたはNであり；

Wは、CH₂、O、NR^y、S、S(O)またはS(O)₂であり；

Zは、C(O)、S(O)またはS(O)₂であり；

R^aは、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^bは、C₁-C₆アルキル、FおよびClから独立して選択され；

R^cは、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

40

50

R^d は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキル；またはO-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているフェニルから独立して選択され；

R^e は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^f は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^g は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^h は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^i は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^j は、HまたはC₁-C₃アルキルであり

R^k は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^l は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^m は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^n は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^o は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキル；またはO-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているフェニルから独立して選択され；

R^p は、C₁-C₆アルキル、F、ClおよびBrから独立して選択され；

R^q は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^r は、H、またはO-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^s は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^t は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^u は、C₁-C₆アルキル、FおよびClから独立して選択され；

R^v は、C₁-C₆アルキル、FおよびClから選択される0～2の置換基で置換されているフェニルであり；

R^w は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^x は、HまたはC₁-C₃アルキルから独立して選択され；

R^y は、H、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキル；C₁-C₆アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているベンジル；またはC₁-C₆アルキル、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₃-C₆シクロアルキルであり；

nは、1～3であり；

pは、0～2であり；

qは、1または2であり；

rは、0～2であり；

sは、1～3であり；

tは、0～2であり；

uは、2～3であり；

vは、1～3であり；

かつ；

・ XがNHであり； YがNHであり； R²がHであり； かつ環Aが群Iまたは群II内の環である

10

20

30

40

50

場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIA、群IVAまたは群VA内の環であり；

・XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが群III内の環である場合：環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり；

・XがNHであり；YがNHであり、 R^2 がHであり；かつ環Aが群IV内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり；

・XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが群V内の環である場合：環Bは、群IA内の環であり；

・XがNHであり；YがNHであり；かつ R^2 が、F、Cl、Br、 $-COR^4$ 、 $-SO_2R^5$ 、 $-SOR^5$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ または $-NR^6_3^+$ である場合：環Aは、群Iまたは群II内の環であり、かつ環Bは、群IA内の環であり；

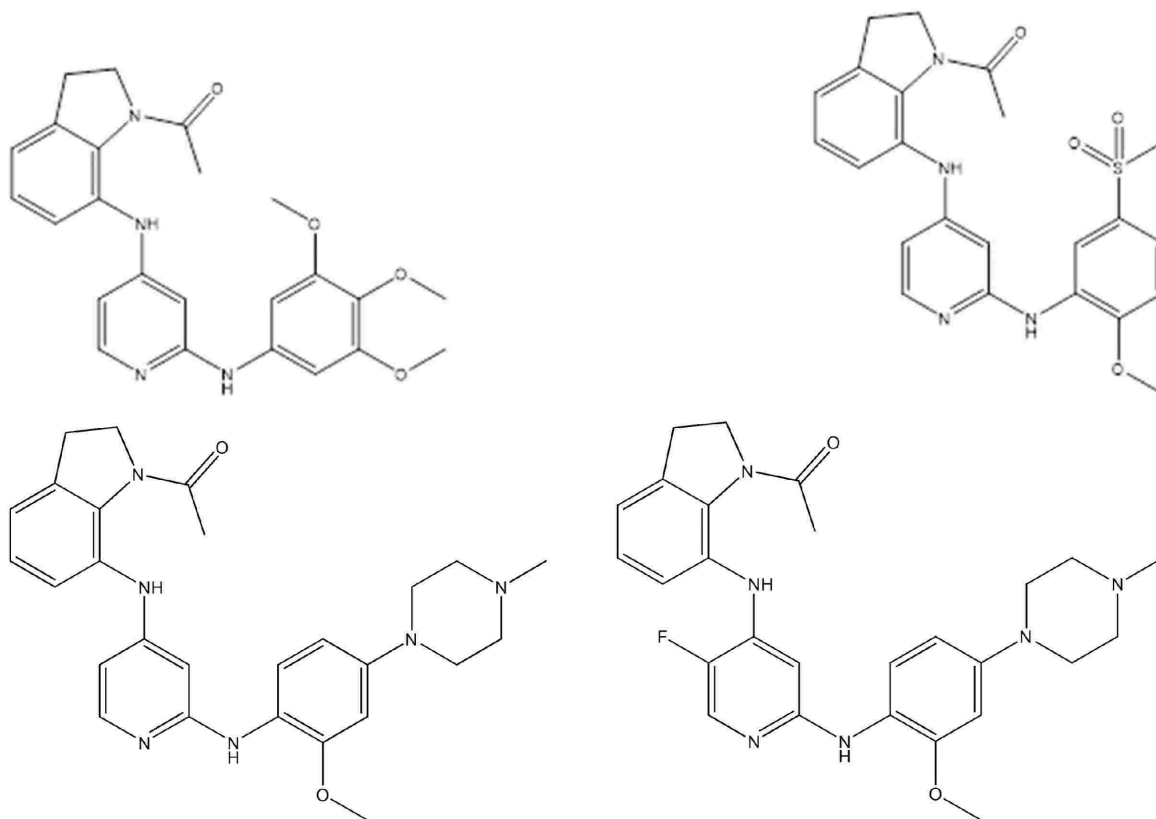
・Xが結合であり、かつYがNHである場合： R^2 はHであり；環Aは、群I、群IIおよび群III内の環であり；かつ環Bは、群IA内の環であり；かつ

・XがNHであり、かつYが結合である場合： R^2 はHであり；環Aは、群I、群IIおよび群III内の環であり；かつ環Bは、群IA、群IIA、および群IIIA内の環であり；

かつ、ただし、式(I)の化合物は、(a)以下の群から選択される化合物でも、(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩または溶媒和物でもない、

化合物またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物。

【化12】



【請求項2】

請求項1に記載の化合物であって：

・XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが群I内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIA、群IVAまたは群VA内の環であり；かつ

・XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが群II内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環である、

化合物。

【請求項3】

請求項1または2に記載の化合物であって、式中：

XがNHであり；

YがNHであり；
 R²が、HまたはFであり；
 R³が、HまたはCH₃であり；
 Qが、CHまたはNから選択され；
 TがCHであり；
 Wが、CH₂、O、またはNR^yであり；
 ZがC(O)であり；
 R^aが、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキルであり；
 R^bが、C₁-C₃アルキルから独立して選択され； 10
 R^cがC₁-C₃アルキルであり；
 R^dが、C₁-C₄アルキルから独立して選択されるか、またはフェニルであり；
 R^eがC₁-C₃アルキルであり；
 R^fがC₁-C₃アルキルであり；
 R^gがHであり；
 R^hがC₁-C₃アルキルであり；
 RⁱがC₁-C₃アルキルであり；
 R^jがHであり；
 R^kがC₁-C₃アルキルであり；
 R^lがHであり； 20
 R^mがC₁-C₄アルキルであり；
 RⁿがHであり；
 R^oが、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキル；またはフェニルから独立して選択され；
 R^pが、C₁-C₃アルキルから独立して選択され；
 R^qが、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキルであり；
 R^rが、HまたはC₁-C₃アルキルであり；
 R^tがC₁-C₄アルキルであり；
 R^uが、C₁-C₃アルキルから独立して選択され； 30
 R^vがフェニルであり；
 R^wがHであり；
 R^xがHであり；
 R^yが、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキル；またはC₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているベンジル；
 またはC₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₃-C₅シクロアルキルであり；
 nが2であり；
 pが、0または1であり；
 qが1であり； 40
 rが2であり；
 sが2であり；
 tが、0または1であり；かつ
 vが2である、
 化合物。

【請求項4】

請求項1～3のいずれか1項に記載の化合物であって、式中：

R¹が、HまたはFであり；かつ/または
 R^yが、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキル；またはベンジル；またはシクロプロピルである、 50

化合物。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の化合物であって、式中：

R^Y が、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される 0 ~ 1 の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；またはシクロプロピルである、

化合物。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物であって、式中：

環 A が、群 I、群 II、群 III および 群 IV 内の環であり；かつ

環 B が、群 IA、群 IIA、群 IIIA および 群 IVA 内の環であり；かつ

10

・ X が NH であり；Y が NH であり； R^2 が H であり；かつ環 A が、群 I または 群 II 内の環である場合：環 B は、群 IA、群 IIA、群 IIIA または 群 IVA 内の環であり；

・ X が NH であり；Y が NH であり； R^2 が H であり；かつ環 A が群 III 内の環である場合：環 B は、群 IA、群 IIA または 群 IIIA 内の環であり；

・ X が NH であり；Y が NH であり； R^2 が H であり；かつ環 A が群 IV 内の環である場合：環 B は、群 IA 内の環である、

化合物。

【請求項 7】

請求項 7 に記載の化合物であって、式中：

・ X が NH であり；Y が NH であり； R^2 が H であり；かつ環 A が群 I 内の環である場合：環 B

20

は、群 IA、群 IIA、群 IIIA または 群 IVA 内の環であり；かつ

・ X が NH であり；Y が NH であり； R^2 が H であり；かつ環 A が群 II 内の環である場合：環 B は、群 IA、群 IIA または 群 IIIA 内の環である、

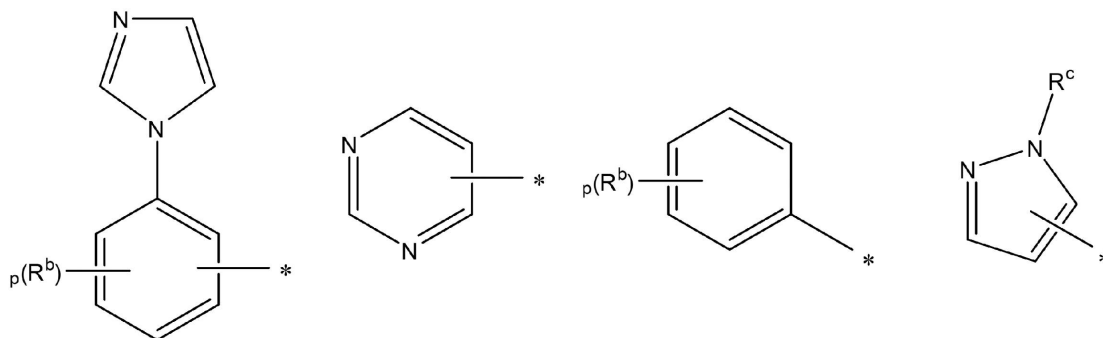
化合物。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物であって：

群 IV が：

【化 13】



30

である、

化合物。

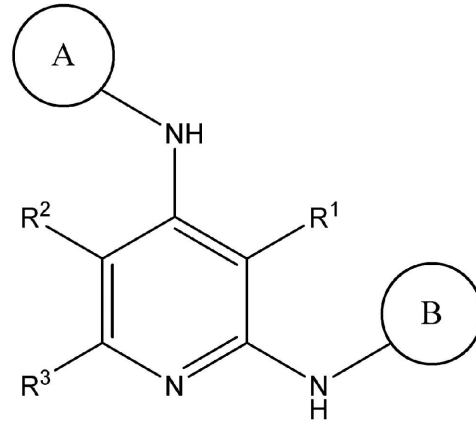
40

【請求項 9】

(a) 式 (I a) の化合物または (b) その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であって；

50

【化 1 4】



(I a)

10

式中：

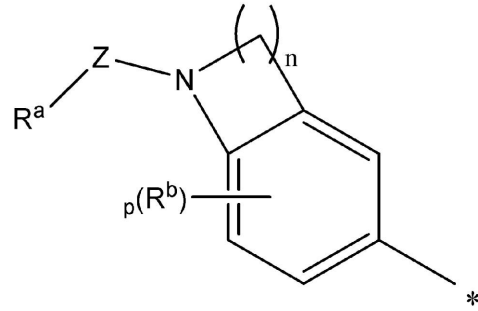
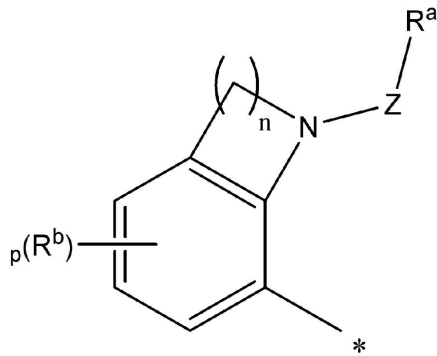
 R^1 は、HまたはFであり； R^2 は、HまたはFであり； R^3 は、Hまたは CH_3 であり；

環Aは、群I、群II、群IIIおよび群IV内の環から選択され、*は、NHへの結合を示し；

20

群Iは、

【化 1 5】



30

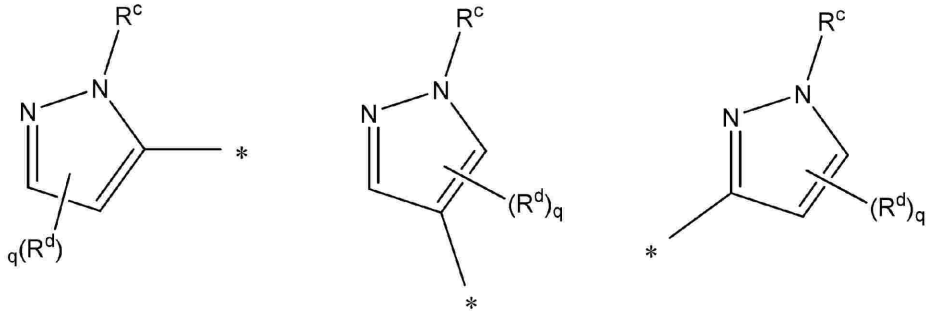
であり；

群IIは、

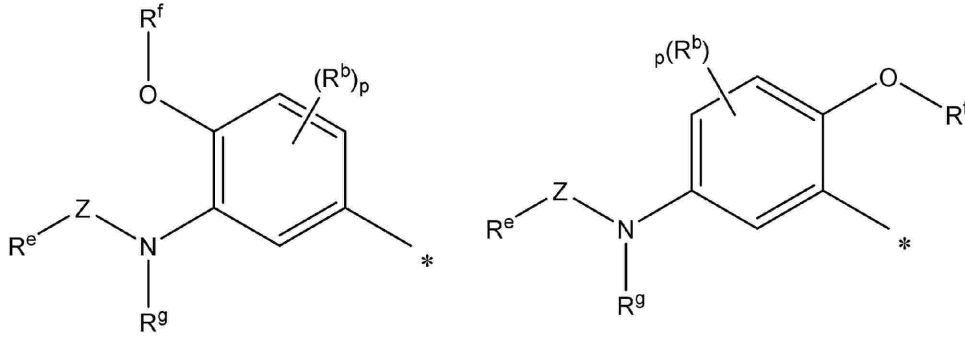
40

50

【化 1 6】



10

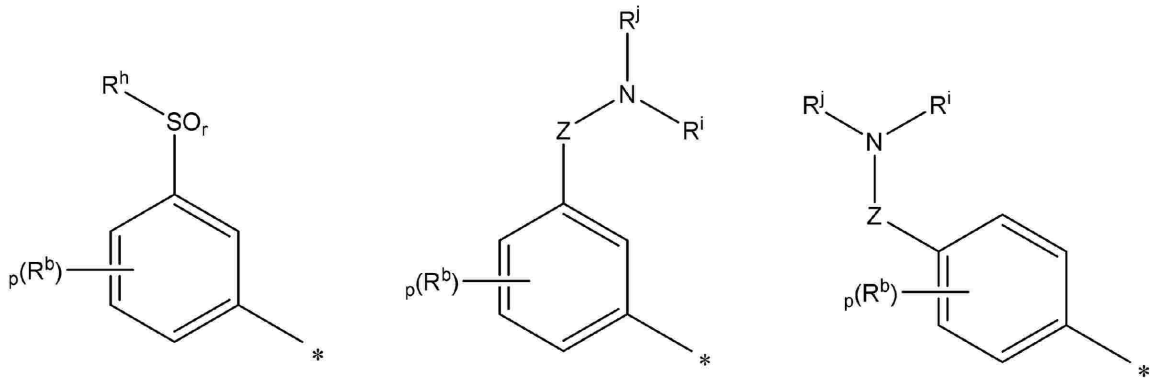


20

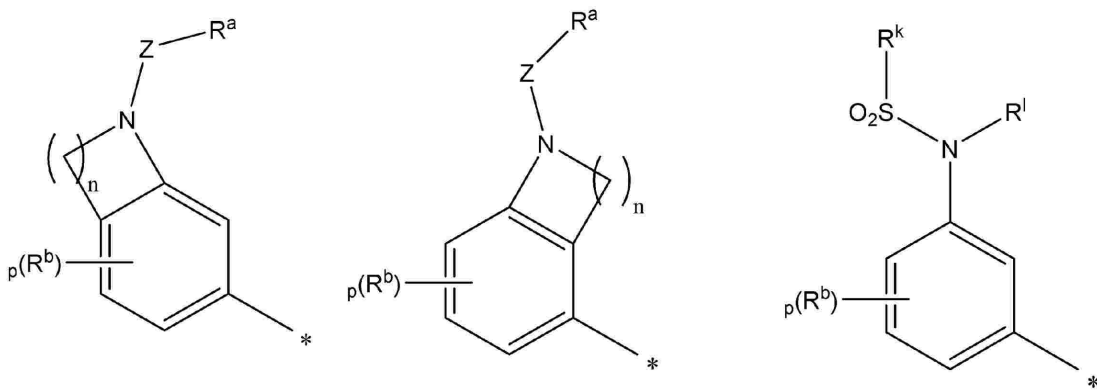
であり：

群IIIは、

【化 1 7】



30



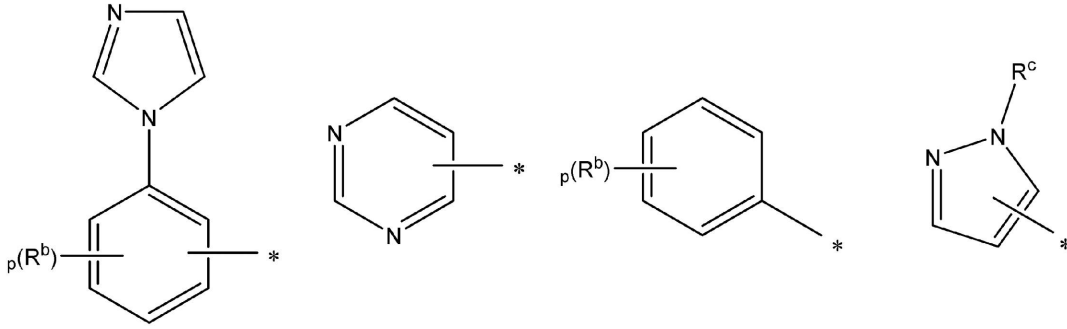
40

であり：

群IVは、

50

【化 1 8】



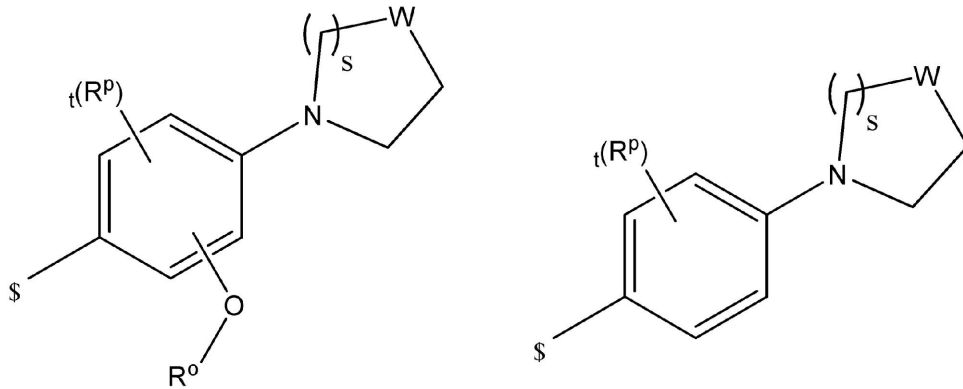
10

であり：

環Bは、群IA、群IIA、群IIIAおよび群IVA内の環から選択され、\$は、NHへの結合を示し；

群IAは、

【化 1 9】

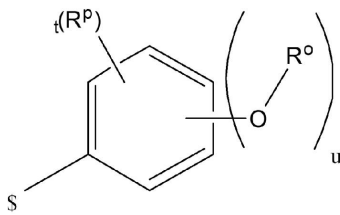


20

であり：

群IIIAは、

【化 2 0】

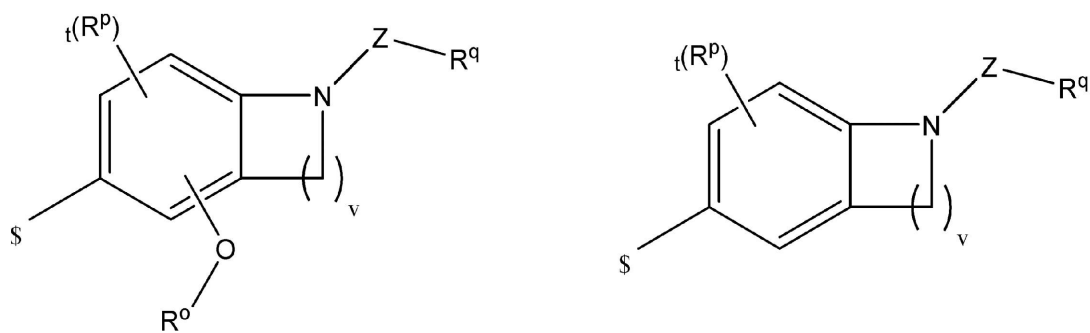


30

であり：

群IIIAは、

【化 2 1】

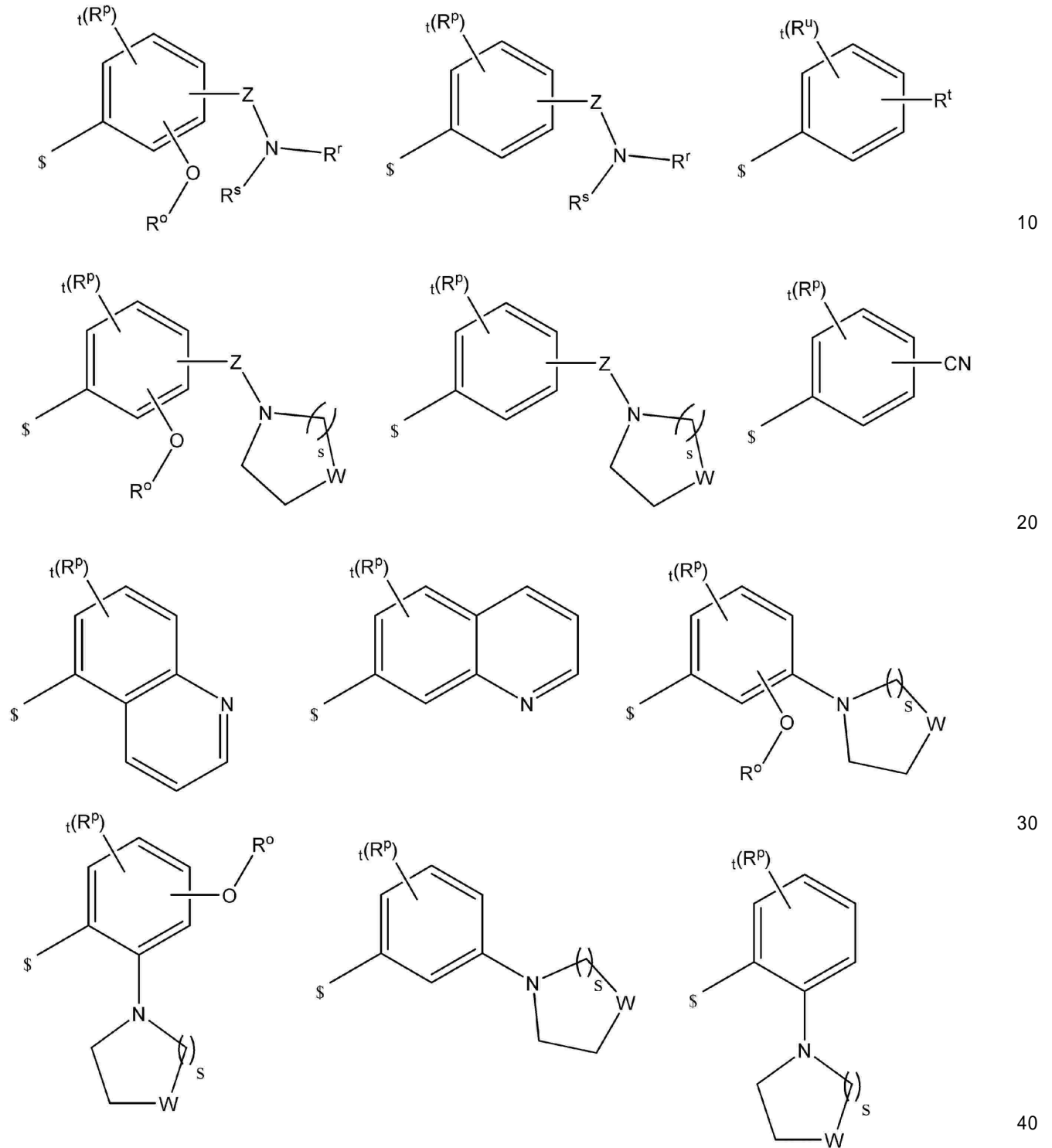


40

であり：

50

群IIIIVAは、
【化22】



であり；

式中；

Wは、CH₂、O、またはNR^yであり；

ZはC(O)であり；

R^aは、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキルであり；

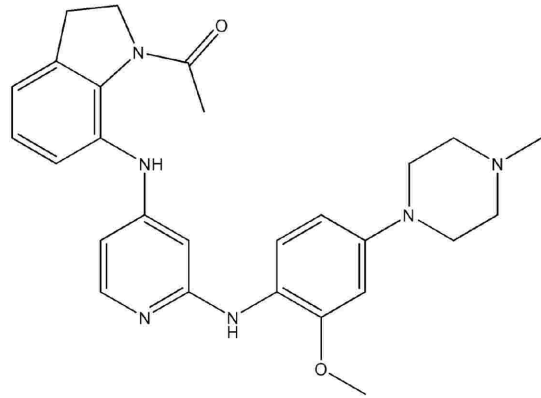
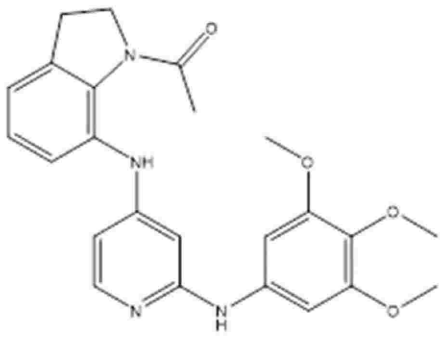
R^bは、C₁-C₃アルキルから独立して選択され；

R^cはC₁-C₃アルキルであり；

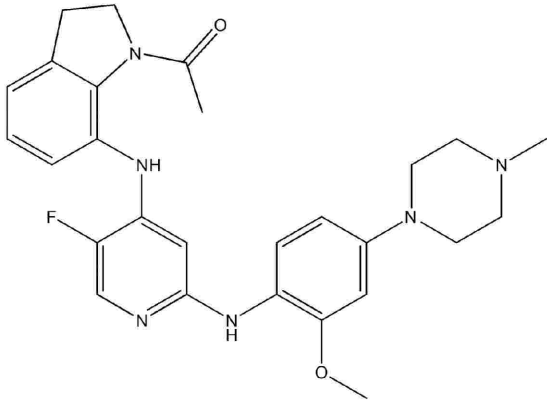
R^dは、C₁-C₄アルキルまたはフェニルから選択され；

- R^e は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^f は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^g はHであり；
 R^h は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^i は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^j はHであり；
 R^k は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^l はHであり；
 R^o は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；またはフェニルから独立して選択され； 10
 R^p は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択され
 R^q は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；
 R^r は、Hまたは C_1-C_3 アルキルであり；
 R^s は、Hまたは C_1-C_3 アルキルであり；
 R^t は C_1-C_4 アルキルであり；
 R^u は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択され；
 R^v は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；またはシクロプロピルであり；
 n は2であり； 20
 p は、0または1であり；
 q は1であり；
 r は2であり；
 s は2であり；
 t は、0または1であり；
 u は、2～3であり；
 v は2であり；
 かつ；
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが群I内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環であり； 30
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが群II内の環である場合：環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり；
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが群III内の環である場合：環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり；
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが群IV内の環である場合：環Bは群IA内の環であり；
 ・ R^2 がFである場合：環Aは、群Iまたは群II内の環であり、かつ環Bは群IA内の環であり；
 かつ、ただし、式(I a)の化合物は、(a)以下の群から選択される化合物でも、(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩または溶媒和物でもない、
 化合物またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物。 40

【化 2 3】



10



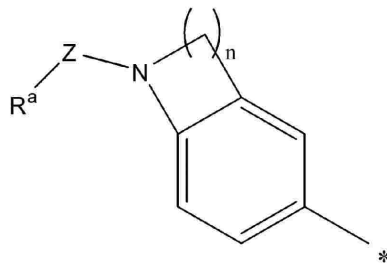
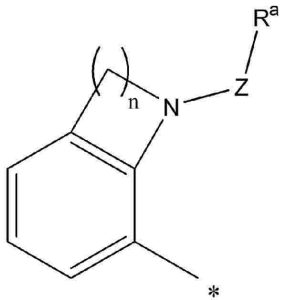
20

【請求項 10】

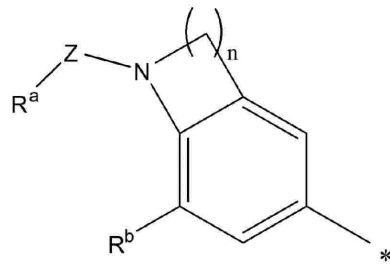
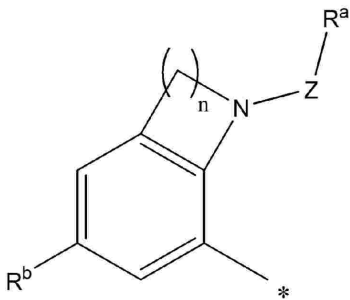
請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の化合物であって：

群Iが：

【化 2 4】



30



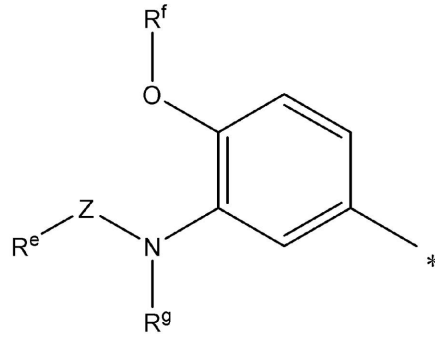
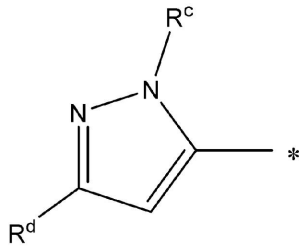
40

であり；かつ/または

群IIが：

50

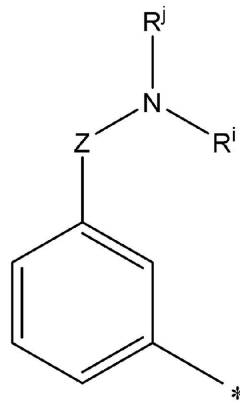
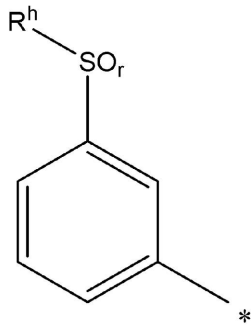
【化 2 5】



10

であり；かつ／または
群IIIが：

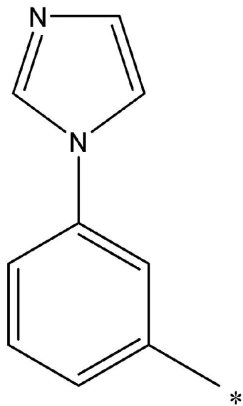
【化 2 6】



20

であり；かつ／または
群IVが：

【化 2 7】



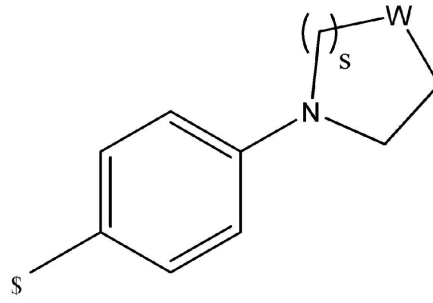
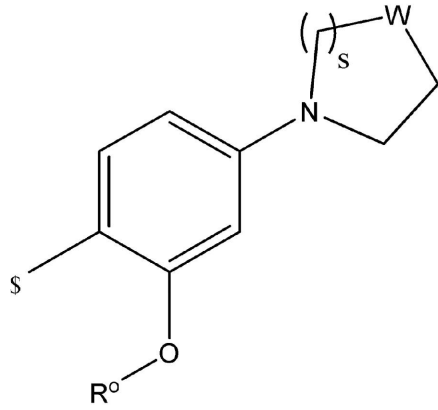
30

であり；かつ／または
群IAが：

40

50

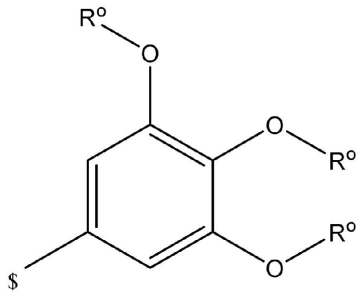
【化 2 8】



10

であり：かつ / または
群IIAが

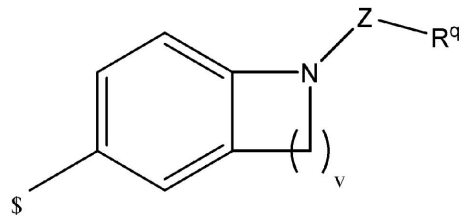
【化 2 9】



20

であり：かつ / または
群IIIAが

【化 3 0】



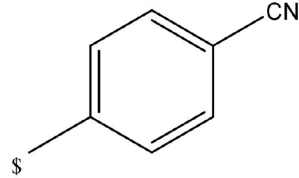
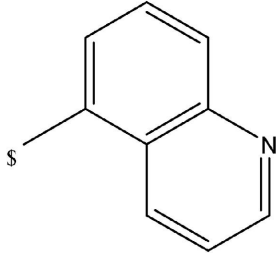
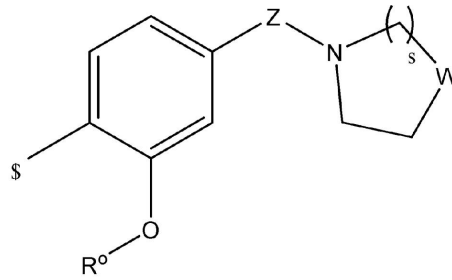
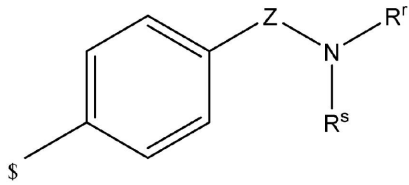
30

であり：かつ / または
群IVAが

40

50

【化 3 1】



10

である、
化合物。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物であって、式中：

R^3 が H であり；かつ / または

R^a が、 CH_3 、 CH_2CH_3 、もしくは CH_2OCH_3 であり；かつ / または

R^d が、 $CH(CH_3)_2$ もしくは $C(CH_3)_3$ であり；かつ / または

R^o が、 CH_3 、 CH_2CH_3 、もしくは $CH(CH_3)_2$ から独立して選択され；かつ / または

R^q が、 CH_3 、 CH_2CH_3 、もしくは CH_2OCH_3 であり；かつ / または

R^r が C_1 - C_3 アルキルであり；かつ / または

R^s が H であり；かつ / または

R^y が、 CH_3 、 CH_2CH_3 、もしくは $CH(CH_3)_2$ である、

化合物。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物であって：

・ R^2 が H であり；かつ環 A が群 II 内の環である場合：環 B が、群 IA または群 IIA 内の環であり；かつ

・ R^2 が H であり；かつ環 A が群 III 内の環である場合：環 B が、群 IA または群 IIA 内の環である、

化合物。

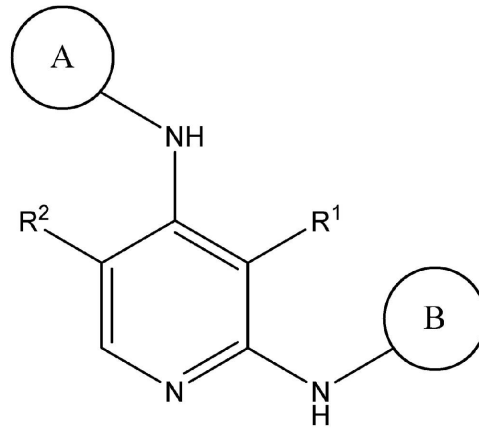
【請求項 1 3】

(a) 式 (I b) の化合物または (b) その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であって；

40

50

【化 3 2】



(I b)

10

式中：

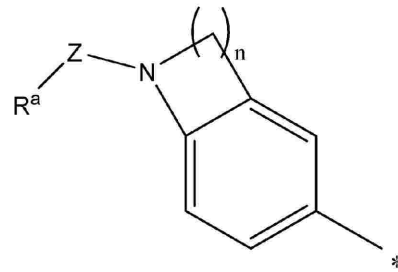
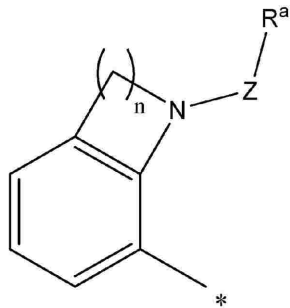
 R^1 は、HまたはFであり； R^2 は、HまたはFであり；

環Aは、群I、群II、群IIIおよび群IV内の環から選択され、*は、NHへの結合を示し；

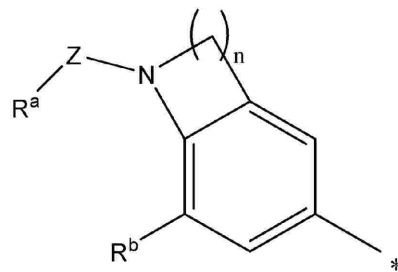
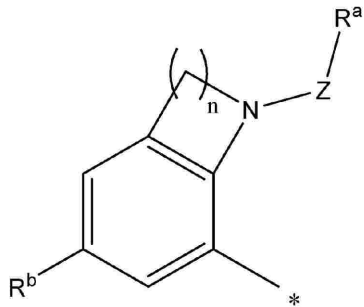
群Iは：

20

【化 3 3】



30



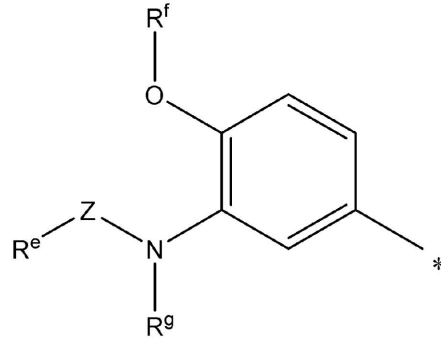
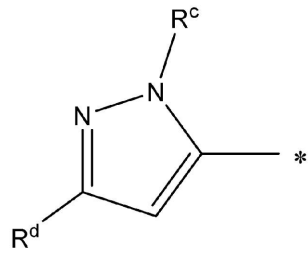
40

であり；

群IIは：

50

【化 3 4】

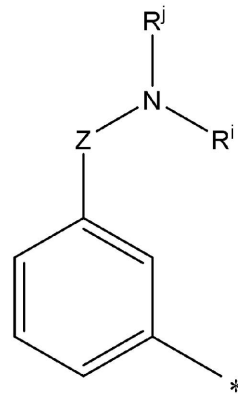
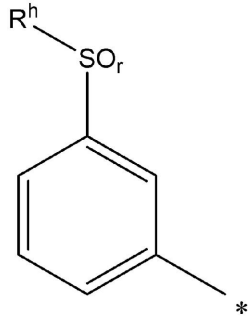


10

であり；

群IIIは、

【化 3 5】

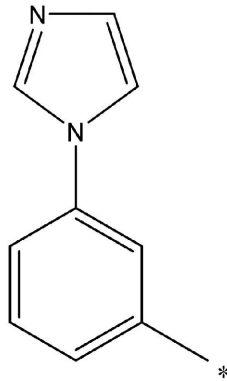


20

であり；

群IVは；

【化 3 6】



30

であり；

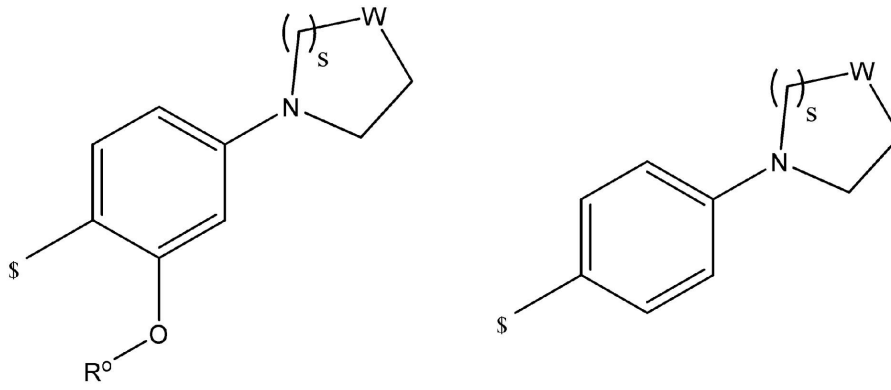
環Bは、群IA、群IIA、群IIIAおよび群IVA内の環から選択され、\$は、NHへの結合を示し；

群IAは；

40

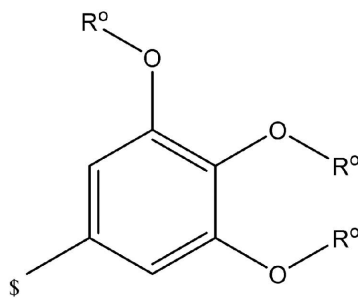
50

【化 3 7】



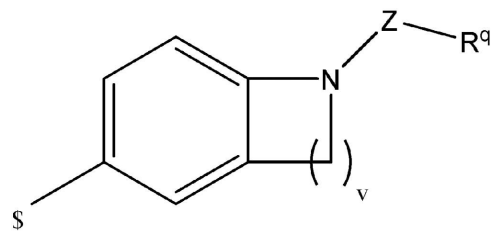
10

を示し；
群IIAは：
【化 3 8】



20

を示し；
群IIIAは：
【化 3 9】



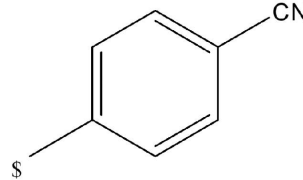
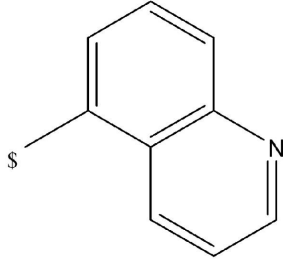
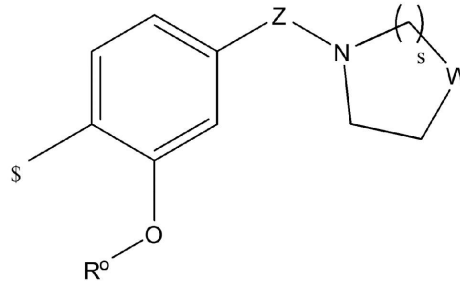
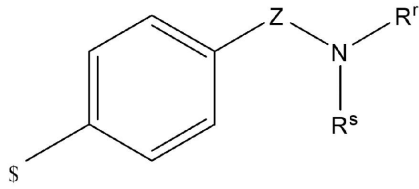
30

を示し；
群IIIVAは：

40

50

【化 4 0】



10

を示し；

式中；

Wは、CH₂、O、またはNR^yであり；

ZはC(O)であり；

R^aは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH₂OCH₃であり；R^bはC₁-C₃アルキルであり；R^cはC₁-C₃アルキルであり；R^dは、CH(CH₃)₂またはC(CH₃)₃であり；R^eはC₁-C₃アルキルであり；R^fはC₁-C₃アルキルであり；R^gはHであり；R^hはC₁-C₃アルキルであり；RⁱはC₁-C₃アルキルであり；R^jはHであり；R^oは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂から独立して選択され；R^qは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH₂OCH₃であり；R^rはC₁-C₃アルキルであり；R^sはHであり；R^yは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂であり；

nは2であり；

rは2であり；

sは2であり；

vは2であり；

かつ；

- ・ R²がHであり；かつ環Aが群I内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環であり；

- ・ R²がHであり；かつ環Aが群II内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり；かつ

- ・ R²がHであり；かつ環Aが群III内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり、

- ・ R²がHであり；かつ環Aが群IV内の環である場合：環Bは群IA内の環であり；

- ・ かつR²がFである場合：環Aが、群Iまたは群II内の環であり、かつ環Bは群IA内の環であり；

かつ、ただし、式(I b)の化合物は、(a)以下の群から選択される化合物でも、(b

20

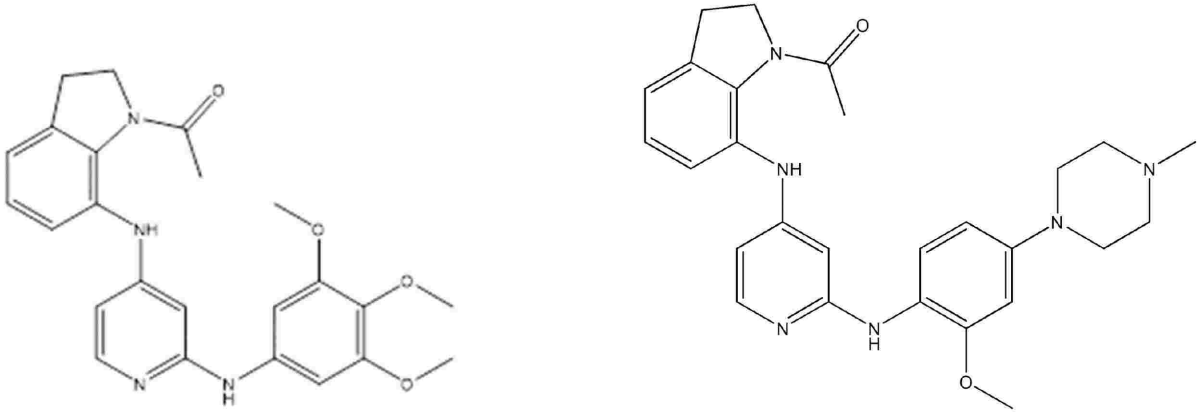
30

40

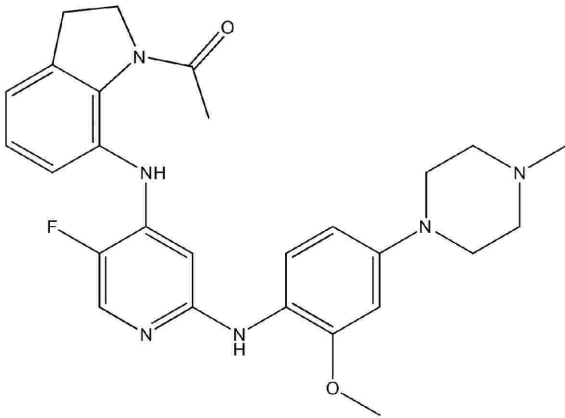
50

) その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩または溶媒和物でもない、化合物またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物。

【化 4 1】



10



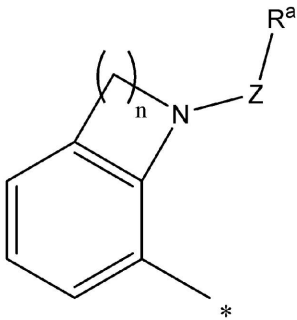
20

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の化合物であって：

群 I が：

【化 4 2】

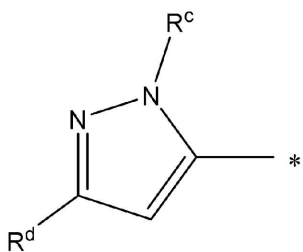


30

であり；かつ / または

群 II が：

【化 4 3】



40

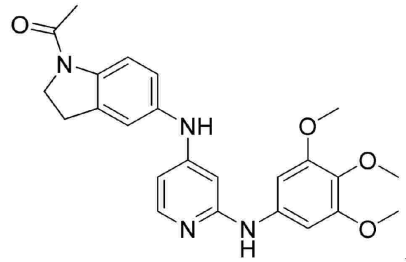
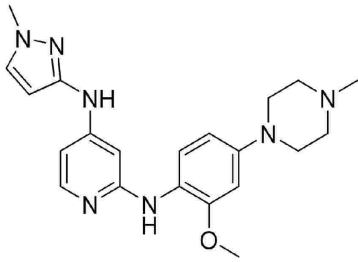
50

である、
は化合物。

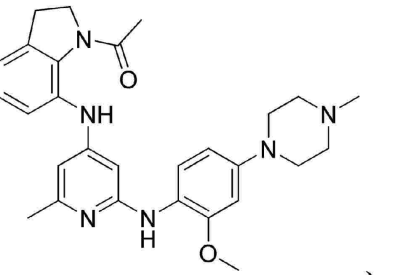
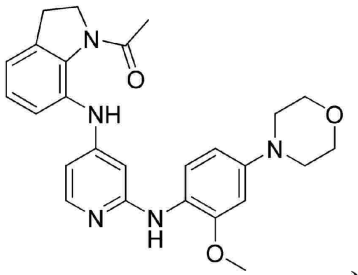
【請求項 15】

請求項 1 に記載の化合物であって、式 (I) が以下から選択される、化合物。

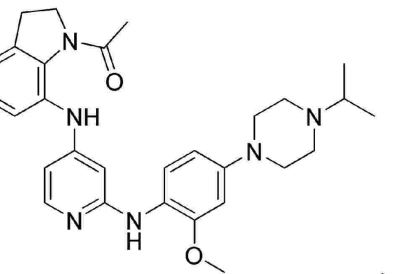
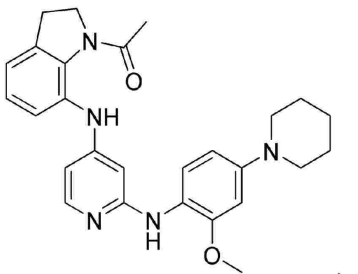
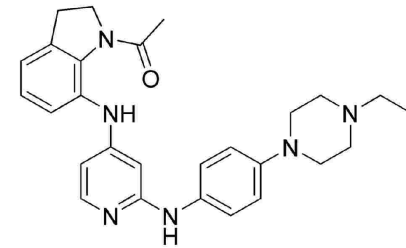
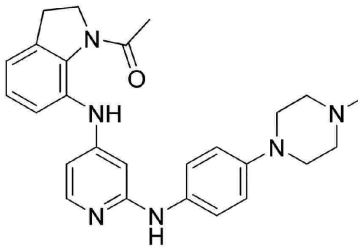
【化 44】



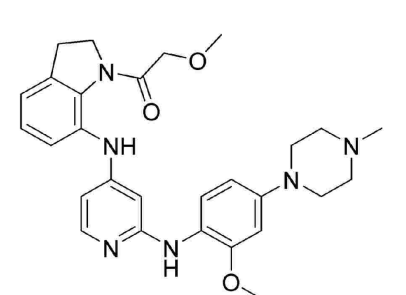
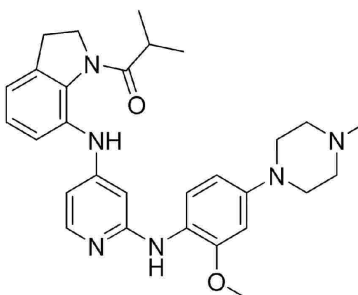
10



20

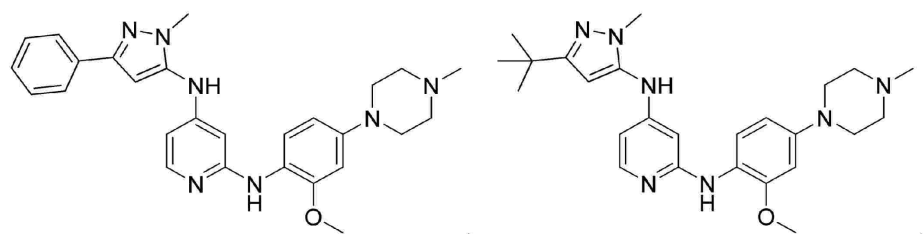
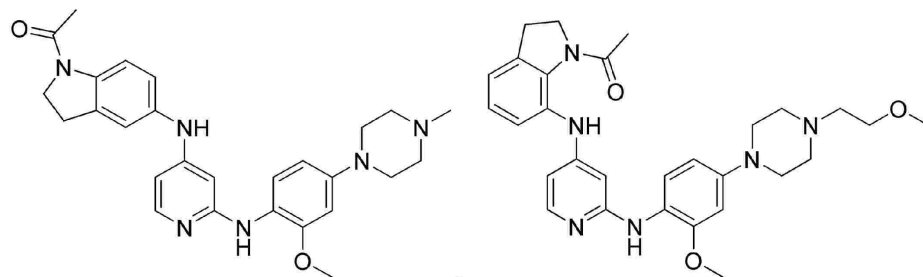
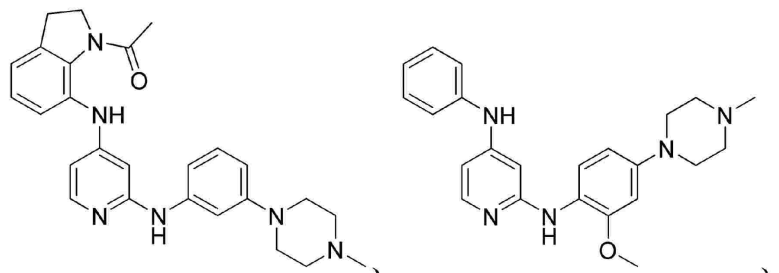
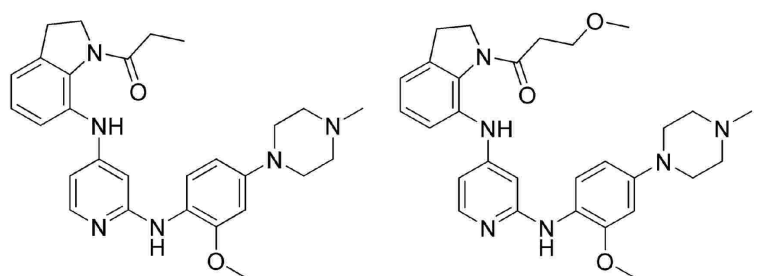
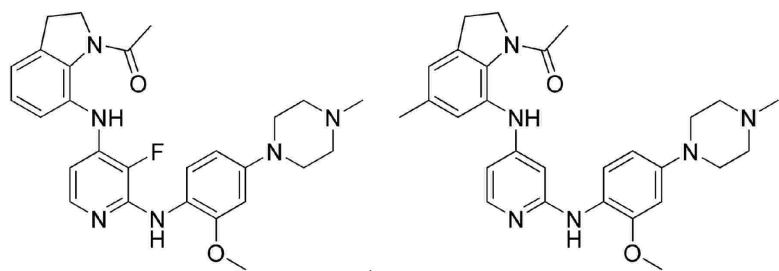


30



40

50



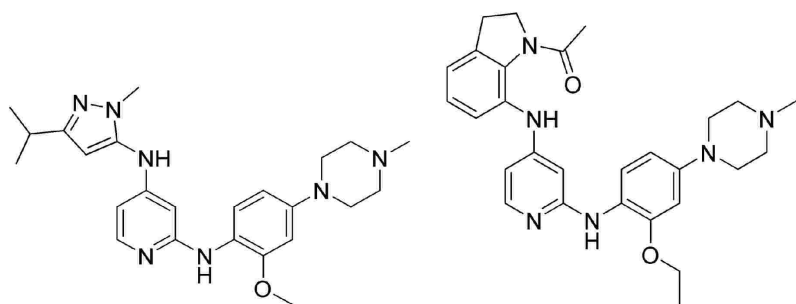
10

20

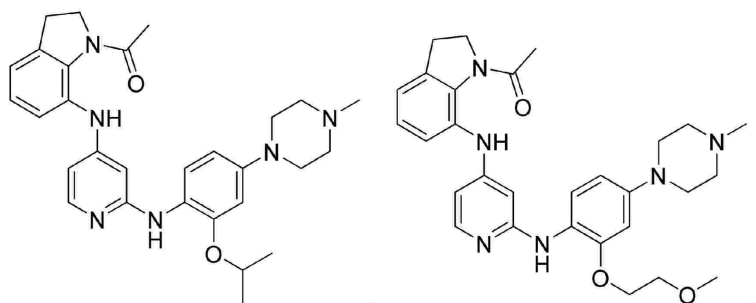
30

40

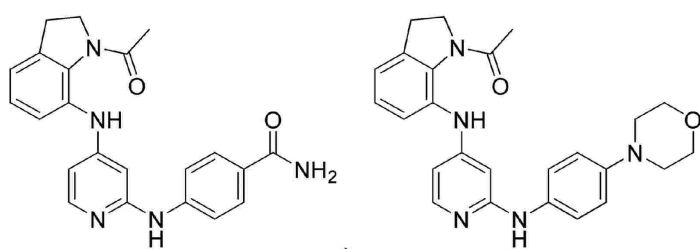
50



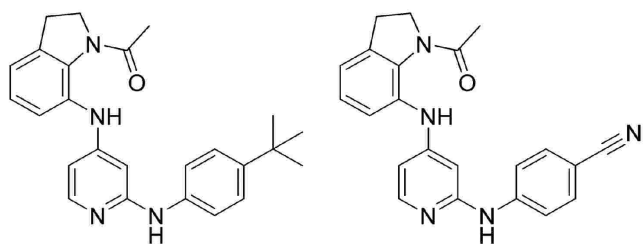
10



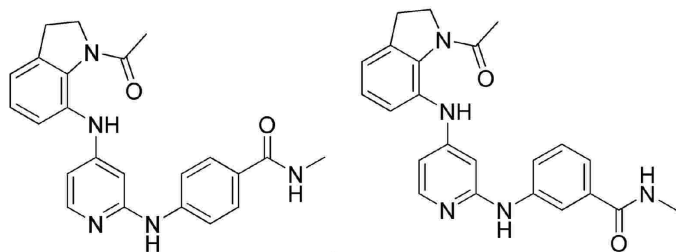
20



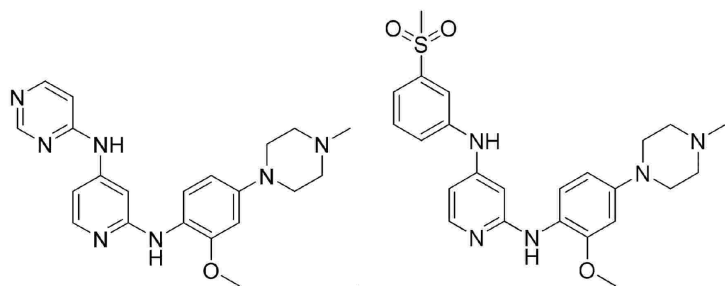
30



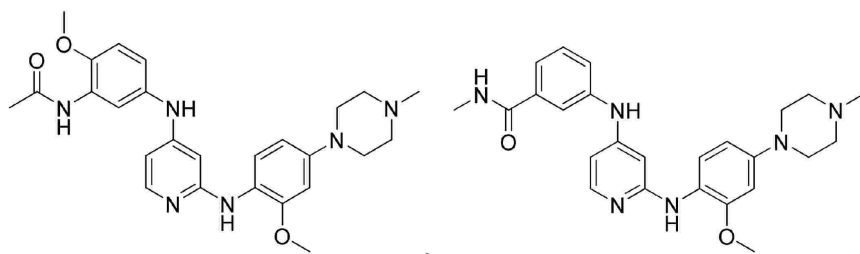
40



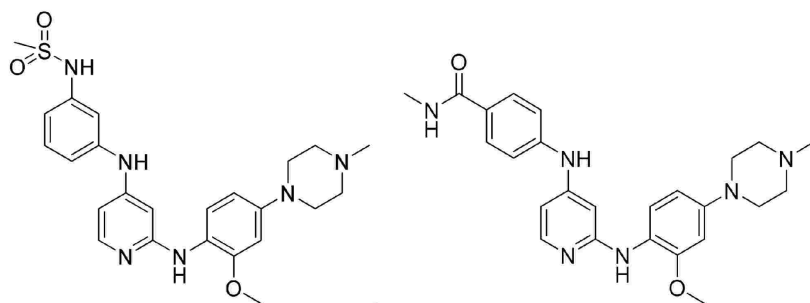
50



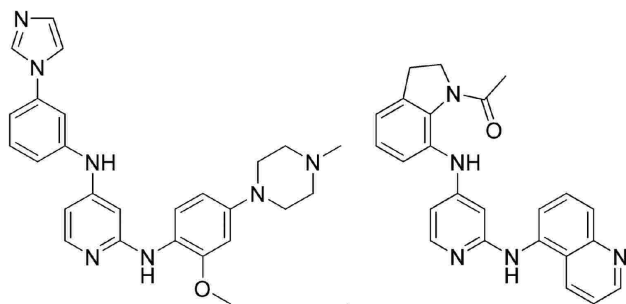
10



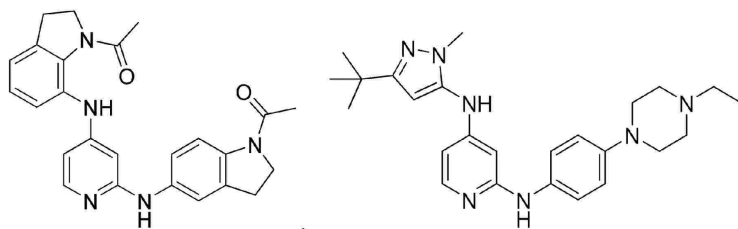
20



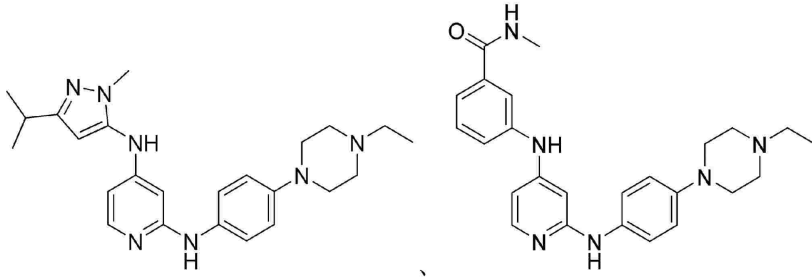
30



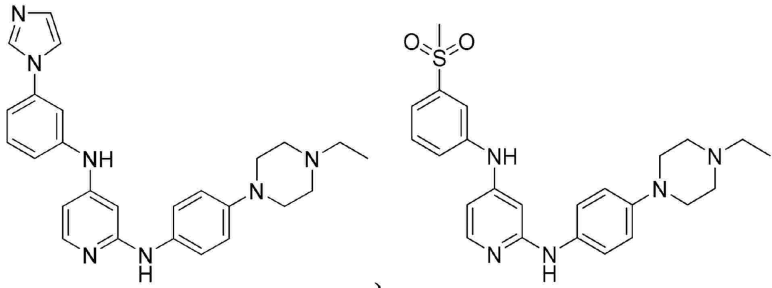
40



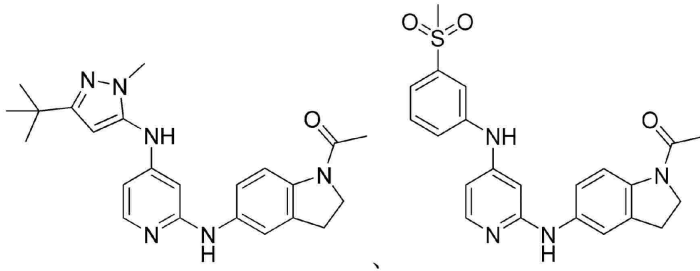
50



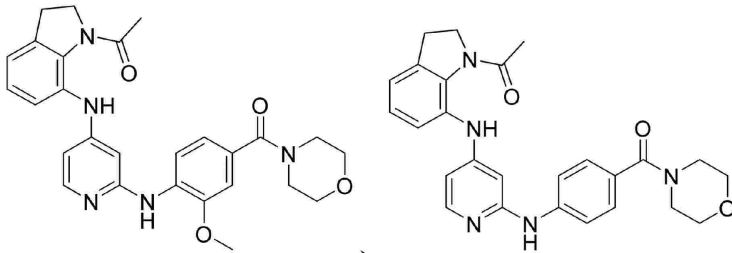
10



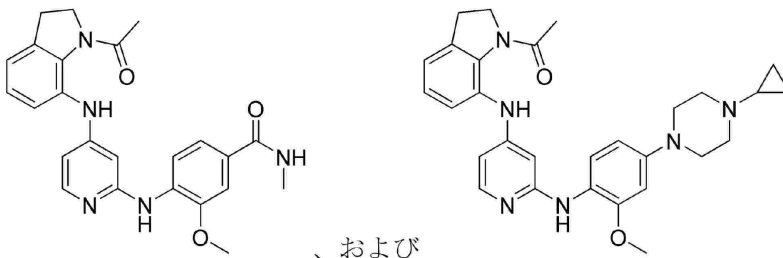
20



30



40

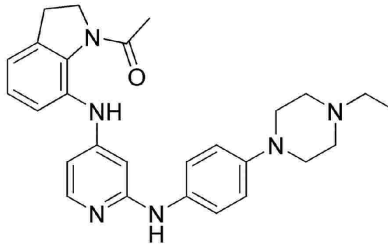
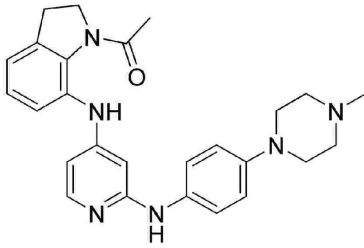
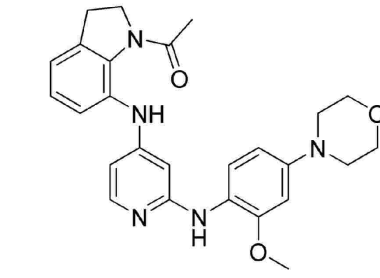
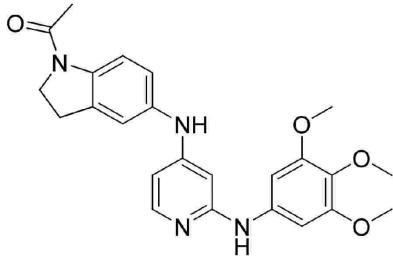


、および

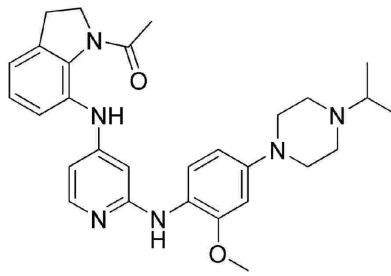
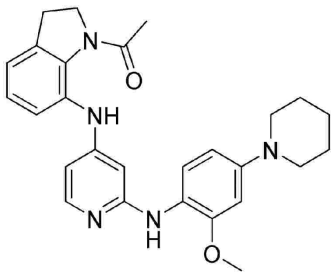
【請求項 16】

請求項 15 に記載の化合物であって、式 (I) が以下から選択される、化合物。

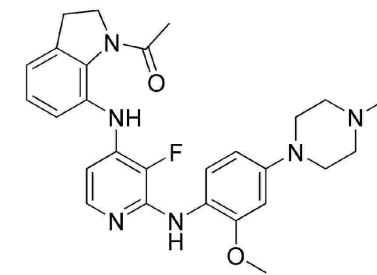
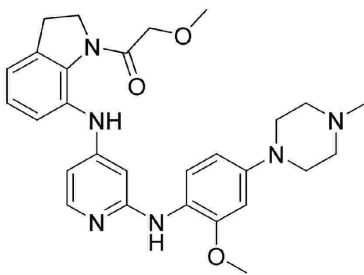
【化 4 5】



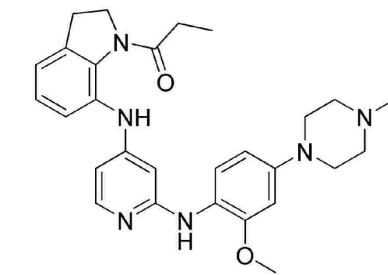
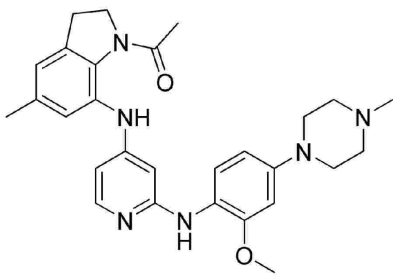
10



20

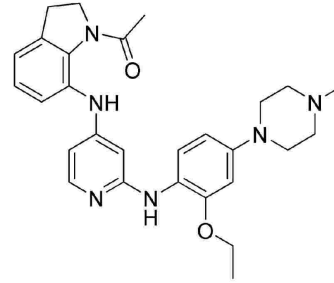
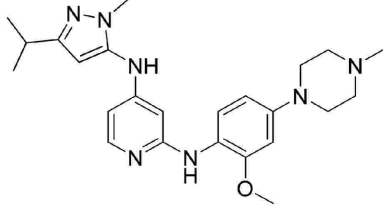
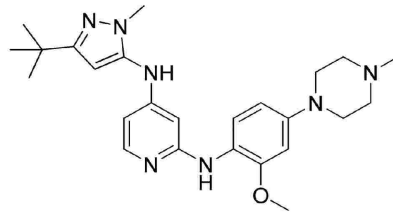
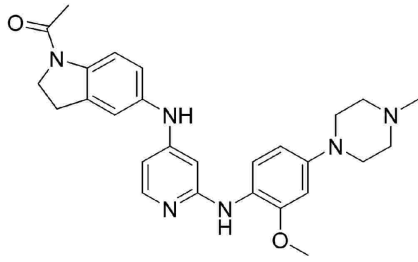


30

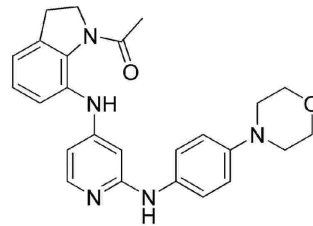
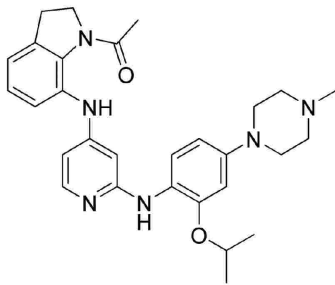


40

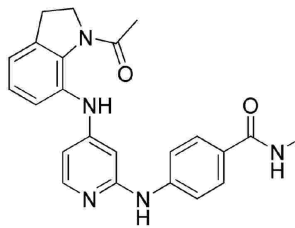
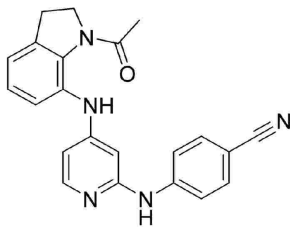
50



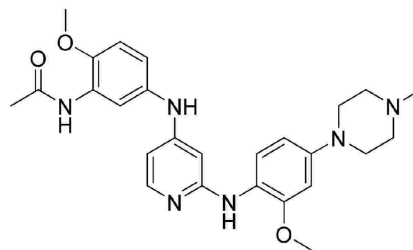
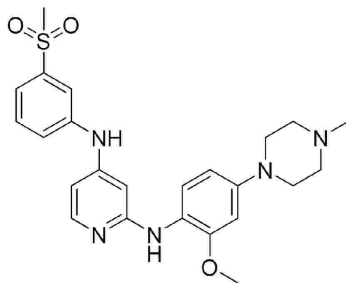
10



20

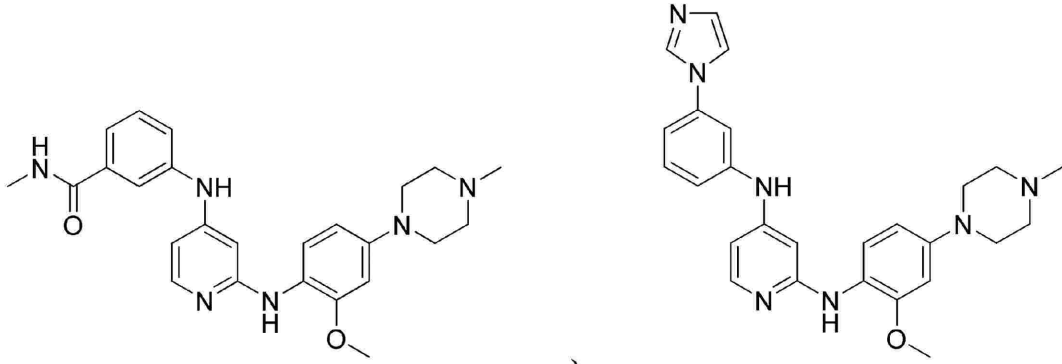


30

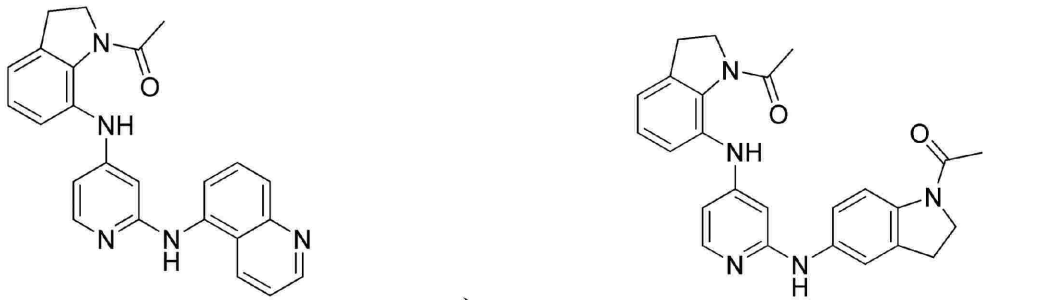


40

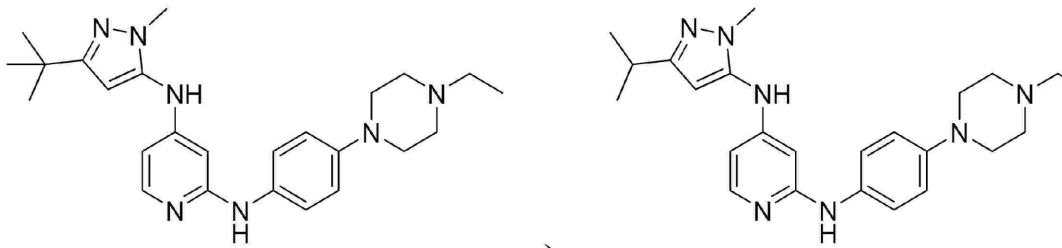
50



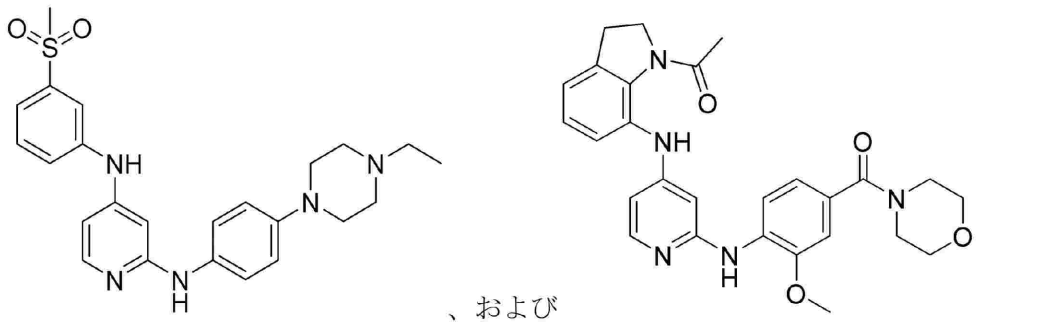
10



20



30

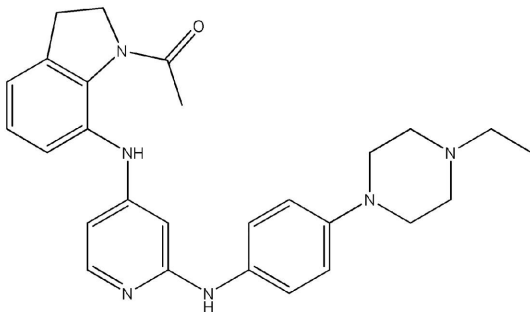


、および

【請求項 17】

請求項 16 に記載の化合物であって、式 (I) が以下である、化合物。

【化 46】



【請求項 18】

50

請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の化合物を、薬学的に許容される 1 種以上の担体と組み合わせて含む、医薬組成物。

【請求項 19】

医薬としての使用のための、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の化合物、または請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

PI3K 活性化による治療に感受性の障害を治療および / または予防する方法における使用のための、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の化合物、または請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

末梢神経傷害を治療および / または予防する方法における使用のための、請求項 20 に記載の化合物または医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、PI3K 活性化化合物およびそれを含む医薬組成物に関する。本発明はさらに、特に、PI3K 活性化による治療が可能な障害の治療に関する。

【背景技術】

【0002】

タンパク質キナーゼインヒビターや脂質キナーゼインヒビターの創製に比べ、組織再生および保護、創傷治癒、免疫賦活、代謝亢進等、これらの酵素の有益な活性を利用する薬理的活性化因子の創製はこれまで限定的であった。脂質キナーゼの拡張ファミリー、特に重要なサブグループであるPI 3-キナーゼ (PI3K) は、これらの治療において重要な役割を担っているが、このクラスの酵素に対する低分子活性化因子は報告されていない。

【0003】

クラスIA PI 3キナーゼ(PI3K)は、チロシンキナーゼ、Gタンパク質共役受容体、低分子GTPaseの下流でシグナル伝達を行い、細胞の成長、増殖、遊走を制御する。これらのPI3Kは、p110触媒サブユニット (p110、または) と、細胞膜の活性化された受容体複合体にこれらのPI3Kをリクルートするp85制御サブユニットとの複合体からなる。p110 およびp110 は広い組織分布を示すのに対し、p110 は白血球に非常に富む。PI3Kシグナルとその下流のエフェクターであるAKTおよびmTORC1とががんや免疫調節異常において過剰に活性化されることが分かっており、PI3K経路インヒビターの開発が広範に行われ、現在ではいくつかのPI3Kインヒビターが薬事承認されている。

【0004】

本明細書の他の箇所ですらに議論されるように、PI3K/AKT経路の活性化は、疾患関連細胞の保護や組織再生等、治療においても有益であることを示唆する十分なエビデンスがある。実際に、PI3K/AKT阻害は、神経細胞、心筋細胞、筋肉、肺上皮細胞、網膜の細胞を含む細胞 / 組織損傷モデルにおいて、成長因子や他の様々な薬剤や治療法の保護効果を減弱させる (Borges, G.A. et al. *Regen Med* 15, 1329-1344 (2020); Matsuda, S. et al. *International journal of oncology* 49, 1785-1790 (2016); Koh, S.H. & Lo, E.H. *J Clin Neurol* 11, 297-304 (2015); Zhang, Z. et al. *Mol Med Rep* 18, 3547-3554 (2018)を参照)。これには、再酸素化による虚血再灌流障害 (IRI) からの保護 (脳卒中後の神経細胞や心停止時の心筋細胞等)、電離放射線からの保護、組織や創傷治癒の促進、神経保護 / 再生等が含まれる。遺伝的に活性化されたPI3K 対立遺伝子を用いた細胞ベースの研究や、アデノウイルス遺伝子治療によってPI3K を心臓選択的に増加させた2型糖尿病マウスが糖尿病性心筋症のいくつかの特徴を減弱させたことから明らかのように、インスリンシグナル伝達における重要な役割を考えると、PI3K の活性化は肥満や2型糖尿病におけるインスリン抵抗性を克服する可能性もある。PI3Kの活性化はまた、凍結保存した卵巣組織や原発性卵巣機能不全の

10

20

30

40

50

休眠卵胞を生体外で活性化することにより、体外受精の成功率を改善することも示されている。組織再生において試験されたPI3K/ACT活性化の遺伝的戦略には、PI3Kの活性化対立遺伝子の発現(Prakoso, D. et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 318, H840-H852 (2020))またはAKT(Chen, S. et al. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8, 21 (2017))、またはPI3Kシグナルをダウンレギュレートする脂質ホスファターゼであるPTENの遺伝子欠失またはノックダウンによる不活性化が含まれる(Borges, G.A. et al. *Regen Med* 15, 1329-1344 (2020); Park, K.K. et al. *Science (New York, N.Y)* 322, 963-966 (2008); Liu, K. et al. *Nature Neuroscience* 13, 1075-1081 (2010); Ohtake, Y., Hayat, U. & Li, S. *Neural Regen Res* 10, 1363-1368 (2015))。この文脈におけるPI3K経路活性化のポジティブな効果は、細胞の生存と増殖の亢進、および組織常在幹細胞の活性化の可能性に由来すると考えられている(Koh, S.H. & Lo, E.H. *J Clin Neurol* 11, 297-304 (2015); Wang, G. et al. *The EMBO journal* 37 (2018))。

10

【0005】

アイソフォーム選択的PI3Kインヒビターを用いることで、PI3Kが心筋細胞におけるインスリンまたは虚血プレコンディショニングによる虚血再灌流からの保護の主要なメディエーターであることが示された(Rossello, X. et al. *Basic Res Cardiol* 112, 66 (2017))。遺伝的PI3K活性化もまた、ニューロンの軸索再生を媒介する(Nieuwenhuis, B. et al. *EMBO molecular medicine* 12, e11674 (2020))。

【0006】

これまでに、非遺伝的PI3K/AKT活性化因子の創製はほとんどなされていない。これらの因子には、p85/p110複合体を活性化する細胞透過性p85結合リン酸化ペプチド、AKT活性化小分子SC79およびMX-2043、ならびに一連のPTENインヒビターが含まれる。これらのPI3K活性化因子はいずれも薬物特性に乏しく、PI3K経路活性化のメカニズムが不明確で、アイソフォーム選択的にPI3Kを標的としていない。

20

【0007】

その結果、上述したようなPI3K活性化による治療が可能な疾患に対する有用な生物学的プローブおよび治療方法の両方を提供するために、細胞および組織においてPI3Kアイソフォーム選択的にPI3Kを活性化できる化合物を同定することが特に望まれる。

【0008】

本発明者らは、PI3Kを直接的かつアロステリックに活性化する初めての低分子化合物を発見した。PI3K阻害による細胞への影響を初めて薬理的に調べることを可能にしたウォルトマンニンおよびLY294002の発見と同様に、これは基礎研究および橋渡し研究においてPI3Kの直接活性化の結果を調べるための化学的ツールの提供を可能にする。アロステリックPI3K活性化の分子メカニズムの理解を深めるだけでなく、本発明の化合物は、PI3Kシグナル伝達のより定量的な理解を得るための制御されたシグナル伝達研究を促進し、細胞におけるPI3K特異的シグナル伝達を明らかにする。本発明者らはまた、治療的アプローチとしてのPI3K活性化の概念実証を本明細書で提供している。したがって、本発明者らは、治療における本発明の化合物の使用に関する概念実証も提供している。

30

【0009】

生化学的レベルでは、本発明者らの研究は、本発明の化合物によるp85とp110の間の抑制的な接触の破壊がPI3K活性化の鍵であることを示している。本発明の化合物によって誘導される構造変化は、天然リガンド(例えば、受容体および関連分子上のPI3Kaのチロシン-リン酸化ドッキング部位を表すpY)または発がん性PIK3CA突然変異によるPI3K活性化において観察される動的構造変化と類似性を有するが、完全には重ならないことから、本発明の化合物のユニークな生化学的活性化作用機序が示される。

【0010】

細胞レベルでは、本発明の化合物とインスリンによって誘導されたPI3Kシグナルは、リガンドが連続的に存在する場合でさえも、長期間の曝露による効果的なダウンレギュ

40

50

レーションを含め、全体的に類似した動態を示した。このことは、本発明の化合物によって誘導されるPI3K シグナル伝達は、PI3K経路内で作動する内因性フィードバック機構に従ったままであることを示している。このような一過性のPI3K活性化により、内因性の保護・再生機構を一時的かつ効果的に高めることができる可能性がある。この結果、本発明の化合物の生物学的投与は、化合物の化学的特性およびターンオーバーに支配されることに加えて、構成的ながん原性PIK3CAの活性化によってもたらされるシグナル伝達への持続的な影響とは異なる、一過性のPI3K経路活性化をもたらす可能性が高い。このような作用機序は、PI3K 活性化因子ががんを誘発または促進する懸念を軽減する可能性がある。さらに、Pik3ca^{H1047R}ホットスポット変異を構成的に発現しているマウスは1年以内にがんを発症しないことから、変異型PIK3CA単体は弱いがん遺伝子に過ぎないことが研究で示されている。同様に、PIK3CAのまれなモザイク遺伝的活性化を有する人々は、成人期にがんになりやすいわけではない。これらのデータから、短期的かつ一過性の薬理的PI3K 活性化ががんを促進する可能性は低い。

10

【0011】

要約すると、本発明者らは現在、生化学的プローブとしての応用を有する、新規なクラスのPI3K 活性化化合物を同定している。さらに、本発明者らは、本発明の化合物を用いて、組織再生（例えば、神経再生）および組織保護（例えば、虚血再灌流障害からの心臓保護）を含む、アロステリックPI3K 活性化の治療可能性の概念実証を行った。

【発明の概要】

【0012】

本発明は、化合物（「本発明の化合物」）を提供する。このような化合物としては、特に、本明細書で定義される式（I）の化合物、ならびにその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩および溶媒和物が挙げられる。

20

【0013】

本発明はまた、1以上の薬学的に許容される担体とともに本発明の化合物を含む医薬組成物を提供する。

【0014】

本発明はまた、医薬としての使用のための、特に、PI3K 活性化による治療に感受性の障害を治療および/または予防するための方法における使用のための、本発明の化合物または本発明の医薬組成物を提供する。

30

【0015】

本発明はまた、医薬、特にPI3K 活性化による治療に感受性の障害を治療および/または予防するための方法における使用のための医薬の製造のための、本発明の化合物または本発明の医薬組成物の使用を提供する。

【0016】

本発明はまた、治療方法、特に、それを必要とする患者においてPI3K 活性化による治療に感受性の障害を治療および/または予防する方法であって、本発明の化合物、または本発明の医薬組成物を患者に投与することを含む方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】UCL-TRO-1938によるPI3K 活性化の生化学的メカニズム。a . UCL-TRO-1938（本文では1938という）の構造。b . PI3K およびPI3K に対するPI3K への1938の選択性。c . 1938およびpYの有無によるPI3K のATP滴定時の酵素動態（Prism 8のkcat関数を用いて算出）。d . FRETシグナル（I-I₀）として示すPI3K の膜結合。I : 520 nmの蛍光強度、I₀ : 酵素非存在下での520 nmの蛍光強度。e . 飽和用量のpY存在下でのPI3K 触媒活性における1938の効果。f . PI3K のがん原性変異体の触媒活性における1938の効果。g . PI3K のがん原性変異体の膜結合における1938の効果。h . 1938活性化PI3K に対するPI3K 選択的インヒビターBYL719の効果。i . PI3K に対するBYL719のIC₅₀における1938の効果。データは、平均値 ± SEM、n=3（b、c、e、i）、n=2（d、h）、またはn=4（f、g）の独立実験と

40

50

して示す。統計解析は、二元配置分散分析、Tukeyの多重比較検定 (b , f , g) またはSidakの多重比較検定 (h) ; 一元配置分散分析、Dunnettの多重比較検定 (e) で行った。

【図2】1938によるPI3K 活性化の構造メカニズム。a . p110 (灰色) / niSH2-p85 (緑色) の構造 (pdb : 4ZOP) 上でハイライトされている、HDX-MSによって評価された全長p110 / p85 における1938によって誘導される構造変化。表面モデルを図10 / 拡張データ図2に示す。

【図3】1938は細胞内でPI3K 経路シグナルを活性化する。a . 細胞内でのPIP₃およびPI(3,4)P₂産生。a i . DMSO、1938 (5 μM) +/-BYL719 (0.5 μM) で処理した、PIP₃レポーターEGFP-PH-ARNO¹³⁰³x2を発現するPIK3CA-WT A549細胞およびPIK3CA-KO A549細胞の全内部蛍光 (TIRF) 顕微鏡による動態データ。各時点での平均強度値 (F_t) を開始時の平均強度 (F₀) に対する相対値で示す、個々の単一細胞のトレースを示す。データは単一の実験から得られたものである (1938/BYL719 : WT (n=11)、KO (n=8) ; DMSO/BYL719 : WT (n=14)、KO (n=4))。a i i . 1938で刺激し、続いてBYL719で中和したPIK3CA-WT A549細胞の代表的なTIRF

10

TIRF顕微鏡画像。画像は上記 a i . の実験の細胞から得られたものであり、t=27分時に1938を添加し、続いてt=87分時にBYL719を添加した。1938添加の1.3分前、1938添加の2.3分後、およびBYL719添加の3.3分後に画像を撮影した。個々の画素値は、刺激前の全時点で観察された平均強度 (F_{baseline}) に正規化してスケール化した。スケールバー : 11 μm。a i i i . EGFPタグ付きPIP₃レポーターPH-ARNO-1303Ex2 (ARNO) またはPI(3,4)P₂レポーターmCherry-cPH-TAPP1x3を発現するHeLa細胞のTIRF顕微鏡データ。オーバーレイプロット (平均 ± SEM) は、各時点 (F_{n(t)}) の正規化蛍光強度の最小値と最大値にスケール化して作成した。PIP₃レポーターのデータは、2つの実験 (29 (DMSO/1938) および20 (BYL719/DMSO) シングルセル) の代表例である。PI(3,4)P₂レポーターのデータは、4つの実験 (78 (DMSO/1938) および33 (BYL719/DMSO) シングルセル) の代表例である。b . PI3K -WT MEFおよびPI3K -null MEFにおけるpAKT^{S473}の用量依存的な1938誘導 (自動Wesウェスタンブロッティングにより検出)。BYL : BYL719、TGX : TGX-221、IC : IC87144。すべてのPI3Kインヒビターは5 μMで使用した。代表的なプロットを示す (n=2/実験)。

20

c . 飽和濃度の1938 (BYL719有りまたは無し) または飽和濃度のインスリンによる、A549細胞における1938誘導pAKT^{S473}の速度論的解析 (自動Wesウェスタンブロッティングにより検出)。代表的なプロットを示す (n=3/実験)。

30

d . インスリンと比較した1938によるA549細胞におけるpAKT^{S473}の産生 (ELISAにより測定)。e . 左パネル : A549インスリンまたは1938によって誘導された細胞におけるPI3K/ACT/mTORC1シグナルの時間経過解析 (ECLウェスタンブロッティングによって検出)。右パネル : DMSOのみのコントロール処理に対するfold-changeとして表されるpAKT^{S473}/ピンキュリンシグナル比の定量化。f . 133種のプロテインキナーゼおよび7種の脂質キナーゼに対する1938のin vitro選択性プロファイル。図3 g . 1938またはインスリンで刺激したPI3K -WT MEFおよびPI3K -KO MEFのリン酸化プロテオーム解析 (n=4/独立実験)。

40

g i . ヒートマップ : DMSO処理に対する刺激によって有意に変化したリン酸化部位。緑色のボックス : 有意にアップレギュレートされたリン酸化部位 ; マゼンタ色のボックス : 有意にダウンレギュレートされたリン酸化部位 ; 白の x : 比較にて検出されなかったリン酸化部位。g i i . PI3K -WT MEFまたはPI3K -KO MEFにおいて1938によって差次的に制御されたリン酸化部位のボルケーノプロット (同一の遺伝子型のDMSO処理細胞に対する相対値)。ペン図 : PI3K -WT MEFにおいて1938によって同定され制御されたリン酸化部位の数と、先に同定され、インスリン、IGF-1、LY294002またはMK2206によって制御されるとPhosphoSitePlusでアノテーションされた部位とのオーバーラップ。g i i i . ペン図は、PI3K -WT MEFにおける1938とインスリンによって制御されるリン酸化部位のオーバーラップを示す。

【図4】1938はPI3K 依存的な細胞生物学的応答を活性化する。PI3K -WT MEFお

50

よびPI3K⁻KO MEFを、1938 (BYL719有りまたは無し)、インスリンまたはFBSで刺激し、続いて (a) 細胞代謝活性 (CellTiter-Glo (登録商標) による細胞ATP含量の測定により評価)、(b) 細胞周期の進行 (EdUの取り込みによって測定)、または (c) 細胞数 (クリスタルバイオレット染色によって評価) への影響を測定した。データは平均値 ± SEM (n=2/独立実験) として示す (a - c)。

【図5】1938の疾患関連生物活性。単離したラット心臓における虚血再灌流障害における1938の影響。心臓を45分間の広範囲虚血、次いで2時間の再灌流に供し、灌流の最初の15分間にDMSO (0.1%) または1938 (5 μM) を投与した。左パネル：虚血・再灌流後の心臓の2つの代表的なテトラゾリウム染色スライスの切片。赤：生きた組織、白：梗塞組織。DMSOまたは1938で処理した心臓の代表的な心臓電気活動を示す (ECGで測定)。b. DMSO (n=6) または1938 (n=6) を投与した心臓で、2時間の再灌流終了時に測定した梗塞サイズ。c. DMSO (n=5)、1938 (n=6) またはインスリン (n=2) を投与した心臓におけるpAKT^{S437}。Tukey post-testを用いた1-way ANOVA。d. *in vitro* および *in vivo* での神経細胞再生における1938の影響。BYL719の存在下または非存在下でDRG培養を1938で72時間刺激し、その後神経突起の長さを測定した。72時間後に抗-IIIチューブリンで染色した神経細胞の代表的な画像を示す。スケールバー=1000 μm。定量化されたデータは平均 ± SEM、n=3の独立した実験を表す。e. 坐骨神経破砕損傷の図 (i)、矢頭で示す (i i) は、その結果生じた病変を示す。傷害の誘発に続いて、(i i i) 傷害の近位にdH₂Oまたは1938 (2 μlの滅菌dH₂O中5 μM 1938の溶液) の単回注入、(i v) dH₂Oまたは1938を21日間連続投与 (d H₂O中100 μM 1938の溶液を0.11 μl/hで連続投与) するためのミニポンプの移植を行い、組織学的解析および機能的解析を行った。f. 前脛骨 (TA) 筋からの運動単位数推定 (MUNE) 電気生理学的記録。g. 破砕部位近位の神経刺激後のTA筋の複合筋活動電位 (CMAP) 記録。CMAP回復率は対側に対するパーセンテージで示す。h. TA筋を支配する遠位総腓骨神経の断面におけるコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 陽性運動軸索の総数。i. 1938投与動物の遠位総腓骨神経断面の代表的な免疫組織化学像。正常組織に典型的な組織構造を持つChATおよびニューロフィラメント陽性の運動軸索を示す。スケールバー=50 μm。j. α-ブングアロトキシン (α-BTX) とニューロフィラメント (NF) の二重染色によって明らかになった、標的TA筋の軸索によって再神経支配された神経筋接合部 (NMJ) の割合。k. α-BTXで染色した後シナプスNMJ構造と関連するニューロフィラメント陽性ニューロンを示す1938投与動物のTA筋の代表的な免疫組織化学像。スケールバー=20 μm。l. 21日後における損傷部位から遠位3 mmおよび6 mmの坐骨神経における全軸索 (ニューロフィラメント) および運動軸索 (ChAT) の定量。CP=遠位総腓骨神経断面の位置。両側スチューデントのt検定、* = p < 0.05、** = p < 0.01。データはすべて21日エンドポイントのものである。

【図6】肺がん細胞におけるPI3K活性化因子の細胞死誘導作用。PI3K 選択的インヒビターの存在下および非存在下での肺がん細胞におけるPI3K活性化因子の細胞死誘導能を示す。

【図7】肺がん細胞におけるPI3K活性化因子の細胞死誘導能。PI3K経路インヒビターの存在下および非存在下での肺がん細胞におけるPI3K活性化因子の細胞死誘導能を示す。

【図8】PI3K 活性化因子への短期間の暴露による細胞死誘導。H460がん細胞株、H1975がん細胞株およびU87-MGがん細胞株における短期間の暴露後のTRO-1938の細胞死誘導能を示す。

【図9】拡張データ図1。実施例1でより詳述したように、pYの濃度範囲によるクラスI A PI3Kアイソフォームの活性化を示す。

【図10】拡張データ図2。HDX-MSによって評価された1938によって誘導される変化を示す、全長p110 / p85 の表面モデルを示す。

【図11】マウスのIRIの*in vivo*モデル (左パネル) において、1938が有意な心保護作用をもたらし、それに伴ってこれらのマウスの心臓におけるpAKT^{S473}レベルも上昇

していることを示す（右パネル）。

【図12】拡張データ図4。実施例4で詳述される、EGFPタグ付きPIP₃レポーターPH-ARNO-1303Ex2 (ARNO) またはPI(3,4)P₂レポーターmCherry-cPH-TAPP1x3を発現するHeLa細胞のTIRF顕微鏡データ。

【図13】拡張データ図5。実施例4で詳述される、BYL719の存在下および非存在下で1938により誘導されるMCF10A細胞におけるpAKT^{S473}およびpS6^{S240/44}の時間経過解析。

【図14】拡張データ図6。実施例5で詳述される、133種のタンパク質キナーゼと7種の脂質キナーゼに対する1938 (1 μM) のin vitroキナーゼ阻害プロファイル。

【図15】拡張データ図7。実施例5で詳述される、PI3K関連キナーゼATMおよびmTORC1 (mTOR/RAPTOR/LST8複合体) のin vitroキナーゼ活性に対する1938の効果。

【図16】拡張データ図8。a. 実施例5で詳述される、リン酸化プロテオミクス実験の実験デザインとワークフロー。b. 実施例5で詳述される、リン酸化プロテオミクス条件のバリデーション。c. 実施例5で詳述される、PI3K⁻WT MEFにおいてインスリン刺激が、予想されるPI3K標的のリン酸化をどのように誘導するかを示すプロット。d. リン酸化プロテオミクス実験の高い実験再現性を示すプロット。

【図17】拡張データ図9。実施例6で詳述される、PI3K⁻WT MEFおよびPI3K⁻KO MEFを1938で24時間、48時間または72時間刺激した効果を示すプロット。

【図18】拡張データ図10。実施例7で詳述される、初代成体ラット心筋細胞におけるpAKT^{S473}誘導を示すウェスタンプロット。

【図19】拡張データ図11。左. 凍結後の1938の生物学的活性を調べる対照実験。右. 実施例7で詳述される、ビヒクルまたは1938を注射した場合、あるいはビヒクルまたは1938の溶液に浸した場合の露出した坐骨神経におけるpAKT^{S473}の誘導を示すプロット。

【図20】a. p110^β/ninterSH2-p85 (pdb:4ZOP) の構造上でハイライトしたHDX-MSで評価した全長p110^β/p85 における1938によって誘発される構造変化。b i、b i i . p110^β に対する1938の結晶構造結合様式。b i i i . p110^β 上のポケット、p110^β のp110^β ポケットに類似した領域、およびp110^β の類似したポケットにおける1938の結合の比較図。b i v . pYと1938によるWT PI3K と変異体PI3K の比較活性化。変異体は、1938を収容するポケットの近傍にp110^β 残基の変異を組み込んでいる。

【図21】a. 1938 (5 μM)、またはPDGF (20 ng/ml) またはインスリン (100 nM) でMEFを2分間刺激し、脂質抽出し、質量分析によるPIP₃測定を行った。b. 1938またはPDGFを増量してMEFを2分間刺激し、脂質抽出し、質量分析によるPIP₃測定を行った。c. 1938もしくはインスリンを増量して、または10 ng/ml PDGFでA549細胞を2分間刺激し、脂質抽出し、質量分析によるPIP₃測定を行った。

【図22】(図1のアップデート版) UCL-TRO-1938によるPI3K^β 活性化の生化学的メカニズム。a. UCL-TRO-1938 (本文では1938という) の構造。b. PI3K^β およびPI3K^α に対するPI3K^β への1938の選択性。c. 1938およびpYの有無によるPI3K^β のATP滴定時の酵素動態 (Prism 8のkcat関数を用いて算出)。d. FRETシグナル (I-I₀) として示すPI3K^β の膜結合。I: 520 nmの蛍光強度、I₀: 酵素非存在下での520 nmの蛍光強度。e. 飽和用量のpY存在下でのPI3K^β 触媒活性における1938の効果。f. PI3K^β のがん原性変異体の触媒活性における1938の効果。g. PI3K^β のがん原性変異体の膜結合における1938の効果。h. 1938-活性化PI3K^β に対するPI3K^β 選択的インヒビターBYL719の効果。i. PI3K^β に対するBYL719のIC₅₀における1938の効果。データは、平均値 ± SEM、n=3 (b、c、e、i)、n=2 (d、h)、またはn=4 (f、g) の独立実験として示す。統計解析は、二元配置分散分析、Tukeyの多重比較検定 (b, f, g) またはSidakの多重比較検定 (h); 一元配置分散分析、Dunnnettの多重比較検定 (e) で行った。

10

20

30

40

50

【発明の実施の形態】

【0018】

定義

本発明の化合物は、不斉中心を有していてもよい。非対称に置換された原子を含む本発明の化合物は、光学活性体またはラセミ体として単離することができる。ラセミ体の分割または光学活性出発物質からの合成等、光学活性体を調製する方法は当技術分野で周知である。オレフィン結合等の二重結合の幾何異性体もまた、本明細書に記載される化合物中に存在し得、全てのそのような安定な異性体が企図される。化合物のシスおよびトランス幾何異性体が記載されており、異性体の混合物として、または分離した異性体として単離することができる。特定の立体化学または異性体形態が特に示されない限り、構造のすべてのキラル、ジアステレオマー、ラセミ体およびすべての幾何異性体形態が意図される。したがって、本発明の化合物は、そのすべてのあり得るキラル体、ジアステレオマー体、ラセミ体、およびそのすべてのあり得る幾何異性体を含む。化合物（または不斉炭素）の配置（シス、トランス、R、S等）について具体的な言及がされない場合、異性体のいずれか1つ、または2つ以上の異性体の混合物が意図される。化合物の特定の不斉形態への限定は、明示的に示された場合にのみ意図される。

10

【0019】

調製プロセスでは、出発物質としてラセミ体、エナンチオマー、またはジアステレオマーを使用することができる。エナンチオマーまたはジアステレオマー生成物が調製された場合、それらは通常の方法、例えばクロマトグラフィーまたは分別結晶化によって分離することができる。調製された化合物は、遊離体または水和物の形態であってもよい。

20

【0020】

本発明の化合物は、(a)全ての含有原子が天然同位体形態である化合物（「化合物の天然同位体形態」）；および(b)1個以上の含有原子が非天然同位体形態である化合物（「化合物の非天然異同位体形態」）、例えば同位体置換、同位体濃縮または除去を含む化合物の両方を包含する。よって、化合物の非天然変異同位体形態は、1個以上の原子において、重水素（ ^2H またはD）、炭素11（ ^{11}C ）、炭素13（ ^{13}C ）、炭素14（ ^{14}C ）、窒素13（ ^{13}N ）、窒素15（ ^{15}N ）、酸素15（ ^{15}O ）、酸素17（ ^{17}O ）、酸素18（ ^{18}O ）、リン32（ ^{32}P ）、硫黄35（ ^{35}S ）、塩素36（ ^{36}Cl ）、塩素37（ ^{37}Cl ）、フッ素18（ ^{18}F ）ヨウ素123（ ^{123}I ）、ヨウ素125（ ^{125}I ）等の1以上の人工同位体または一般的でない同位体を含んでいてもよく、または1個以上の原子において、自然界で優勢な割合と比較して増加した前記同位体の割合を含んでいてもよい。

30

【0021】

放射性同位体からなる化合物の非天然変異同位体形態は、例えば、薬物および/または基質の組織分布研究に使用することができる。放射性同位体であるトリチウム、すなわち ^3H および炭素14、すなわち ^{14}C は、組み込みの容易さおよび検出手段の準備の容易さの観点から、この目的に特に有用である。重水素、すなわち ^2H またはDを組み込んだ非天然変異同位体形態は、より高い代謝安定性、例えばin vivoでの半減期の増加または投与量の必要性の減少から生じるある種の治療上の利点を提供する可能性があり、したがって状況によっては好まれる可能性がある。さらに、 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O および ^{13}N 等の陽電子放出同位体を組み込んだ非天然変異同位体も調製可能であり、基質受容体の占有率を試験する陽電子断層撮影（PET）研究に有用であろう。

40

【0022】

以下は、本明細書で使用される用語の定義である。本明細書で群または用語に提供される最初の定義は、特に指定されない限り、本明細書全体を通して、個々にまたは別の群の一部として、その群または用語に適用される。好ましくは、本発明の化合物の分子量は、約500、550、600、650、700、750、または800グラム/モル未満である。

【0023】

好ましくは、分子量は1モル当たり約800グラム未満である。より好ましくは、分子量は1モル当たり約750グラム未満である。さらに好ましくは、分子量は1モル当たり約70

50

0グラム未満である。

【0024】

本明細書で使用される「置換されている」という語は、指定された原子の通常の原子価を超えず、置換により安定な化合物が得られる（例えば、不安定なアセタールまたは類似の基を避ける）ことを条件として、指定された原子上の任意の1個以上の水素が、示された基からの選択で置換されることを意味する。

【0025】

任意の変数（例えば、 R_4 、 R_6 等）が化合物の任意の構成要素または式において1回以上出現する場合、各出現におけるその定義は、他のすべての出現におけるその定義から独立している。よって、例えば、ある基が0～3の R_4 で置換されていることが示されている場合、当該基は任意に3での R_4 基で置換されていてもよく、各出現時の R_4 は、 R_4 の定義から独立して選択される。また、置換基および/または変数の組み合わせは、そのような組み合わせが安定な化合物をもたらす場合にのみ許容される。

10

【0026】

置換基への結合が、環中の2個の原子を連結する結合を横切るように示されている場合、そのような置換基は、環上の任意の原子に結合していることによりよい。置換基が、その置換基が所定の式の化合物の残りの部分に結合している原子を示さずに記載されている場合、その置換基は、その置換基中の任意の原子を介して結合していることによりよい。置換基および/または変数の組み合わせは、そのような組み合わせが安定な化合物をもたらす場合にのみ許される。

20

【0027】

本明細書で使用される場合、「アルキル」は、指定された数の炭素原子を有する分岐鎖および直鎖の飽和脂肪族炭化水素基の両方を含むことが意図される。例えば、「 C_1 - C_6 アルキル」は、 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、および C_6 アルキル基を含むことが意図される。さらに、例えば、「 C_1 - C_6 アルキル」は、1～6個の炭素原子を有するアルキルを示す。アルキルの例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、*i*-プロピル、*n*-ブチル、*i*-ブチル、*sec*-ブチル、*t*-ブチル、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、2-メチルブチル、2-メチルペンチル、2-エチルブチル、3-メチルペンチル、および4-メチルペンチルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0028】

「薬学的に許容される」という語は、本明細書において、健全な医学的判断の範囲内において、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なしに、ヒトおよび動物、特にヒトの組織と接触して使用するのに適しており、妥当な利益/リスク比に見合った化合物、材料、組成物、および/または剤形を指す。

30

【0029】

本発明の化合物は、薬学的に許容される塩（特に、式（I）の化合物の薬学的に許容される塩、ならびにそれらの溶媒和物、N-オキシドおよび互変異性体）を包含する。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」とは、親化合物（例えば、式（I）の）が、その薬学的に許容される酸塩または塩基塩を製造することによって改変される、開示される化合物の誘導体を指す。薬学的に許容される塩の例としては、アミン等の塩基性基の鉱酸塩または有機酸塩；およびカルボン酸等の酸性基のアルカリ塩または有機酸塩が挙げられるが、これらに限定されない。薬学的に許容される塩としては、従来の非毒性の塩、または例えば非毒性の無機酸もしくは有機酸から形成される親化合物の第4級アンモニウム塩が挙げられる。例えば、このような従来の非毒性塩には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸等の無機酸；および酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パモ酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2-アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンジスルホン酸、シュウ酸、イセチオン酸等の有機酸から調製される塩から誘導されるものが含まれる。

40

50

【0030】

本発明の薬学的に許容される塩は、従来の化学的方法により、塩基性または酸性の部分を含む親化合物（例えば、式（I）の）から合成することができる。一般に、このような塩は、これらの化合物の遊離酸または塩基の形態を、水中、有機溶媒（一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリル等の非水性媒体が好ましい）中、またはこれらの混合物中で、化学量論的量の適切な塩基または酸と反応させることによって調製することができる。適切な塩のリストは、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p.1418に記載されており、その開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【0031】

本発明の化合物の非薬学的に許容される塩形態は、非塩形態または薬学的に許容される塩形態の調製中に使用され得る。したがって、本発明は、式（I）の化合物の非薬学的に許容される塩も包含する。

10

【0032】

本発明の化合物は、溶媒和物（特に、式（I）の化合物の溶媒和物、ならびにそれらの塩、N-オキシドおよび互変異性体）を包含する。溶媒和物は、水和物を含み、好ましくは水和物である。溶媒和の方法は、当技術分野で一般に知られている。

【0033】

本発明の化合物は、互変異性体（特に、式（I）の化合物の互変異性体、ならびにそれらの塩および溶媒和物）を包含する。本発明の化合物には、水素原子が分子の他の部分に転置され、分子の原子間の化学結合が結果的に再配列された複数の互変異性体が存在するものがある。存在し得る限りにおいて、全ての互変異性体が本発明の化合物に包含されることを理解すべきである。

20

【0034】

本発明の化合物（例えば、式（I）の）上に窒素原子（例えば、アミン）が存在する場合、これらは、酸化剤（例えば、MCPBAおよび/または過酸化水素）で処理することによってN-オキシドに変換され、本発明の他の化合物を得ることができる。よって、全ての示された窒素原子は、示された窒素およびそのN-オキシド（N-O）誘導体の両方をカバーすると考えられる。したがって、本発明の化合物は、N-オキシド（特に、式（I）の化合物のN-オキシド、ならびにそれらの塩、溶媒和物および互変異性体）を包含する。

30

【0035】

疑義を避けるために、本発明の多くの化合物は、特定の親化合物（例えば、式（I）の化合物）の互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、および溶媒和物の2つ以上の形態で同時に存在し得、そのような可能性のある化合物はすべて、「本発明の化合物」の定義内に包含される。したがって、本発明の化合物（関連する式（I）の観点から化学的に可能な範囲で明示的に）には、以下のいずれか1つが含まれる：（1）式（I）の化合物（これは、本明細書において、化合物の「遊離塩基形態」とも称され得る）；（2）式（I）の互変異性体；（3）式（I）のN-オキシド；（4）式（I）の薬学的に許容される塩；（5）式（I）の溶媒和物；（6）式（I）の互変異性体のN-オキシド；（7）式（I）の互変異性体の薬学的に許容される塩；（8）式（I）の互変異性体の溶媒和物；（9）式（I）の互変異性体のN-オキシドの薬学的に許容される塩；（10）式（I）の互変異性体のN-オキシドの溶媒和物；（11）式（I）の互変異性体の薬学的に許容される塩の溶媒和物；（12）式（I）の互変異性体のN-オキシドの薬学的に許容される塩の溶媒和物；（13）式（I）のN-オキシドの薬学的に許容される塩；（14）式（I）のN-オキシドの溶媒和物；（15）式（I）の互変異性体のN-オキシドの薬学的に許容される塩の溶媒和物；および（16）式（I）の薬学的に許容される塩の溶媒和物。

40

【0036】

本発明の化合物は、それらの調製後、好ましくは単離および精製して、99重量%に等しいかまたはそれ以上の量の化合物（「実質的に純粋な」）を含む組成物を得、次いでこ

50

れを本明細書に記載のように使用または配合する。このような「実質的に純粋な」化合物も本発明の一部である。

【0037】

「安定な化合物」および「安定な構造」とは、反応混合物から有用な純度まで単離し、有効な治療薬に製剤化するのに十分な堅牢性を有する化合物を意味する。

【0038】

純粋に疑義を避けるために、化合物が特定の構造（例えば、式（I）等の特定の一般化学式）、またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、または溶媒和物のいずれかであると開示されている場合はどこでも、反対のことが明示的に示されていない限り、その化合物の開示されたさらなる実施形態（例えば、「...による化合物」）は、そのような互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、または溶媒和物を包含し続けることに留意すべきであり、言及された構造に対する付加的な制限を記載することは、そのような互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、または溶媒和物を引き続き包含する。

10

【0039】

本明細書で使用される場合、「治療することおよび/もしくは予防すること」または哺乳動物、特にヒトにおける疾患状態の「治療および/もしくは予防」は、次のものを含む：（a）哺乳動物、特に哺乳動物が疾患状態に罹患しやすいが未だ罹患していると診断されていない場合に、疾患状態がそのような哺乳動物に発生するのを防ぐこと；（b）疾患状態を抑制すること、すなわち、その発生を遅らせるかまたは阻止すること；および/または（c）疾患状態を緩和すること、すなわち、疾患状態の退行または関連する症状の軽減を引き起こすこと。

20

【0040】

「治療的有効量」とは、疾患状態の治療および/または予防において望ましい効果を達成するのに有効な化合物の量を含むことを意図している。望ましい効果とは、典型的には、臨床的に有意かつ/または測定可能な効果であり、例えば、（a）特に、哺乳動物が疾患状態に罹患しやすいが未だ疾患状態であると診断されていない場合に、そのような哺乳動物においてその疾患状態の発生を予防すること；（b）疾患状態を抑制すること、すなわち、その発症を遅らせるか、または阻止すること；および/または（c）疾患状態を緩和すること、すなわち、疾患状態の退行または関連する症状の軽減を引き起こすこと、の文脈で用いられる。治療的有効量は、化合物が単独で投与される場合、またはその代わりに、本発明のさらなる化合物であるか、または本発明の化合物とは異なる1以上のさらなるAPIと組み合わせて投与される場合のいずれかで、望ましい効果を達成するのに十分な量であり得る。さらに、治療的有効量は、典型的には、PI3K を活性化するのに十分な量であり、やはり単独で、または1以上のさらなるAPI（これらのAPIもPI3K を活性化し得るか、あるいはその代わりに、異なるメカニズムによって薬理学的効果を発揮し得る）と組み合わせて投与される場合に、PI3K を活性化するのに十分な量である。したがって、「治療的有効量」とは、PI3K を活性化するのに有効な、それぞれが本発明の化合物である化合物の組み合わせの量を含むことを意図している。化合物の組み合わせは、好ましくは相乗的組み合わせである。

30

40

【0041】

相乗効果は、例えばChou and Talalay, Adv. Enzyme Regul. 1984, 22: 27-55に記載されるように、併用投与した場合の化合物の効果（この場合、PI3K の活性化）が、単剤として単独投与した場合の化合物の相加効果よりも大きい場合に起こる。一般に、相乗効果は化合物の濃度が最適でない場合に最も明確に示される。相乗効果は、個々の成分と比較して、細胞毒性が低いこと、あるいは併用による他の有益な効果といえることができる。

【0042】

疑義を避けるために、本明細書に記載される「治療的有効量」は、本明細書の他の箇所に記載される例示的な投与レジメンを含むがこれらに限定されない、任意の適切な投与レ

50

ジメンによって達成され得る。したがって、例えば、特定の投与経路により治療的有効量の化合物を投与することに関する本明細書での言及は、単回投与または指定された投与経路により投与される複数の用量により治療的有効量を達成することを含む。例えば、治療的有効量を経口投与することは、治療的有効量が経口投与により達成されるのであれば、単回用量を経口投与することも、任意の複数の用量を経口投与することも含む。

【0043】

本発明はさらに、1種以上の本発明の化合物および1種以上の薬学的に許容される担体を含む組成物を含む。

【0044】

「薬学的に許容される担体」とは、動物、特に哺乳動物に生物学的に活性な薬剤を送達するための、当技術分野で一般的に認められている媒体を指す。薬学的に許容される担体は、当業者の視野に十分に入る多くの要因に従って製剤される。これらには、製剤される活性薬剤の種類および性質；薬剤含有組成物が投与される対象；組成物の意図される投与経路；および標的とされる治療適応症が含まれるが、これらに限定されない。薬学的に許容される担体には、水性および非水性の液体媒体、ならびに種々の固体および半固体の剤形が含まれる。このような担体には、活性薬剤に加えて、多数の異なる成分および添加剤が含まれ得、このような追加成分は、例えば、活性薬剤の安定化、結合剤等、当業者に周知の様々な理由で製剤に含まれる。適切な薬学的に許容される担体の説明、およびそれらの選択に関する因子は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., 1985等の容易に入手可能な様々な情報源に見出され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

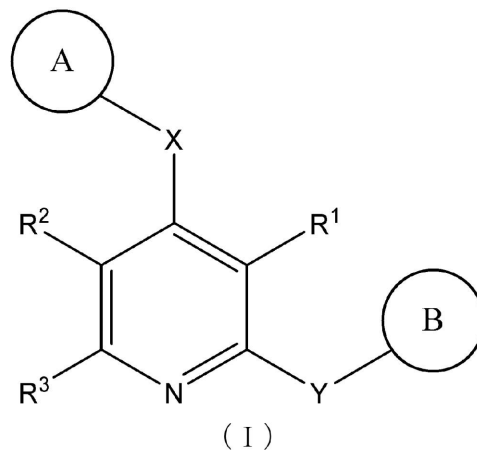
【発明の詳細な説明】

【0045】

本発明の化合物

本発明は、(a)式(I)の化合物、または(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を提供する：

【化1】



30

40

式中：

Xは、結合またはNHであり；

Yは、結合またはNHであり；

ただし、XおよびYの少なくとも1つはNHであり；

R¹は、H、FまたはCH₃であり；

R²は、H、F、Cl、Br、-COR⁴、-SO₂R⁵、-SOR⁵、-CN、-NO、-NO₂または-NR⁶₃⁺であり；

R³は、H、CH₃、0～3のR⁷、-COR⁴、-SO₂R⁵、-SOR⁵、-CN、-NO、-NO₂または-NR⁶₃⁺で置換されているC₂-C₆アルキルであり；

R⁴は、H、0～3のR⁷、-OH、-OR⁸、-NH₂、-NHR⁸または-NR⁸₂で置換されているC

50

1-C₆アルキルから独立して選択され；

R⁵は、0～3のR⁷、-OH、-OR⁸、-NH₂、-NHR⁸または-NR⁸₂で置換されているC₁-C₆アルキルから独立して選択され；

R⁶は、C₁-C₃アルキルから独立して選択され；

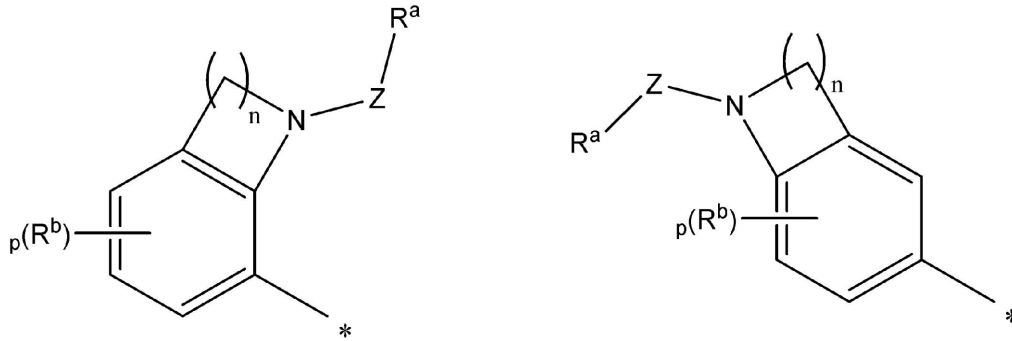
R⁷は、O-C₁-C₃アルキル、FまたはClから独立して選択され；

R⁸は、0～3のR⁷で置換されているC₁-C₆アルキルから独立して選択され；

環Aは、群I、群II、群III、群IVおよび群V内の環から選択され、*は、Xへの結合を示し；

群Iは、群I-1であり、すなわち、

【化2】



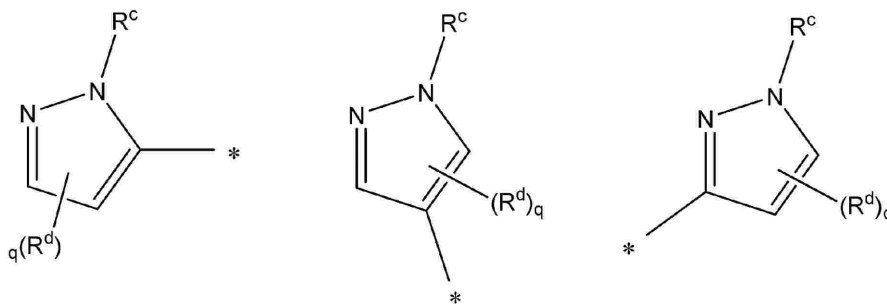
10

20

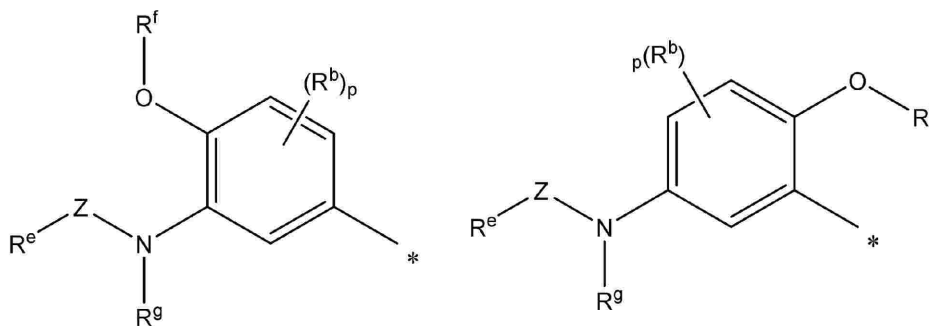
であり；

群IIは、群II-1であり、すなわち、

【化3】



30



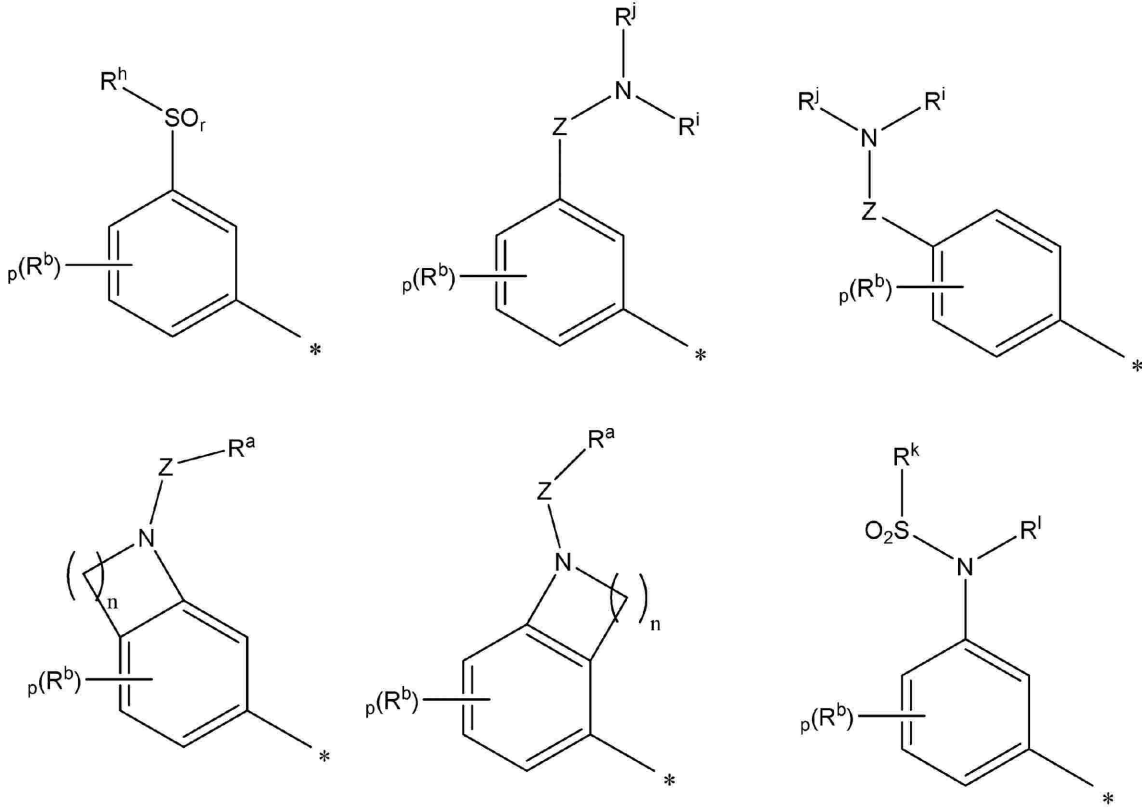
40

であり；

群IIIは、群III-1であり、すなわち、

50

【化 4】



であり：

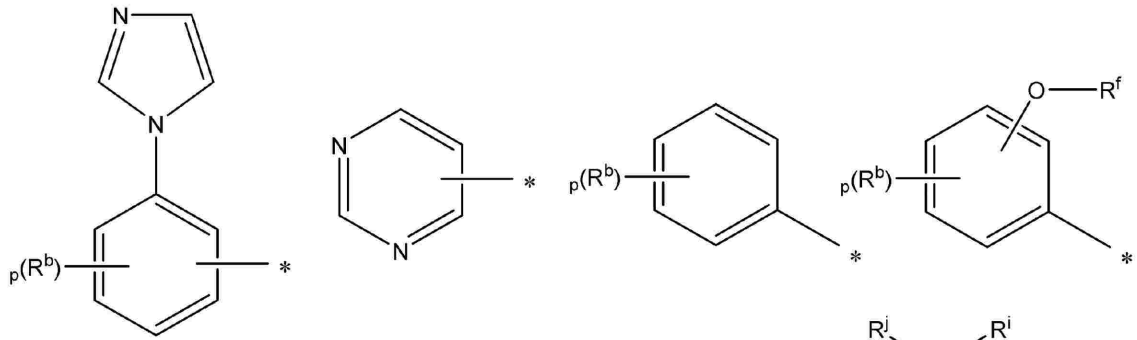
群IVは、群IV-1であり、すなわち、

30

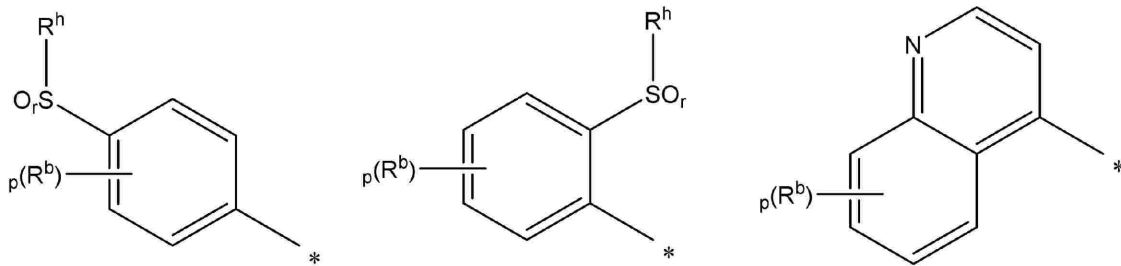
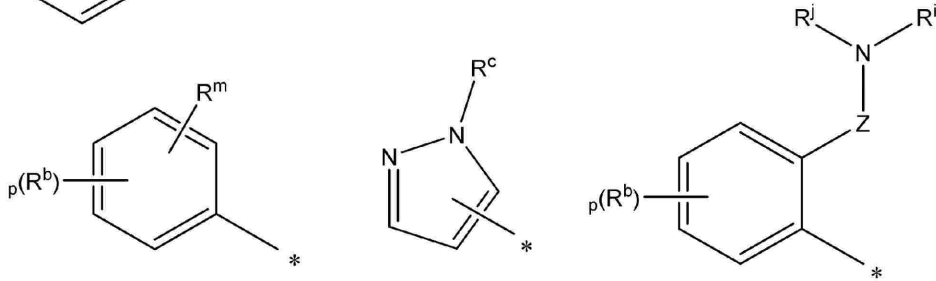
40

50

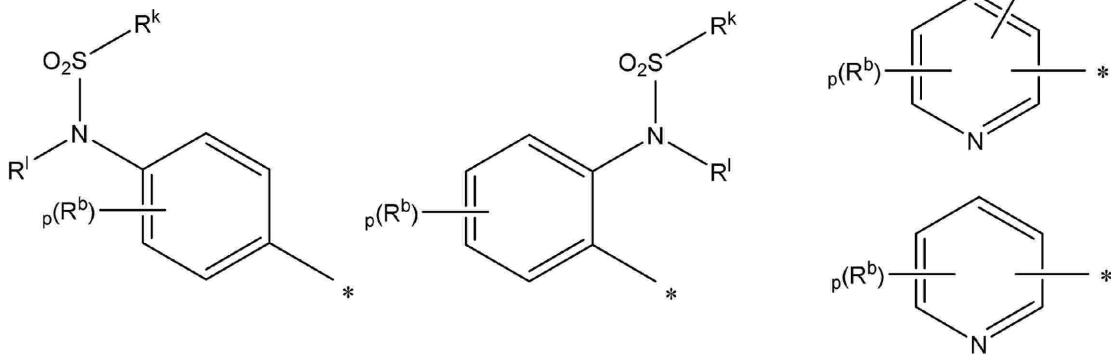
【化 5】



10



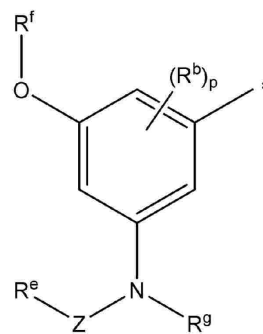
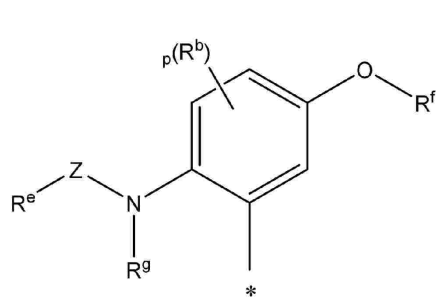
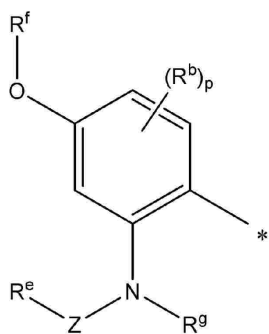
20



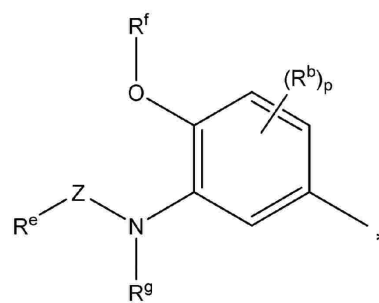
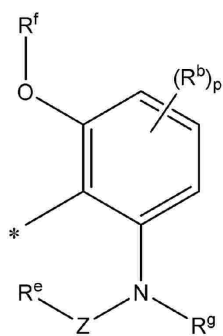
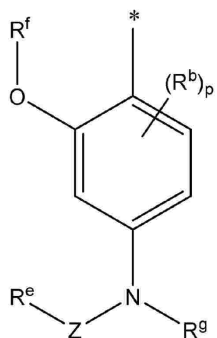
30

40

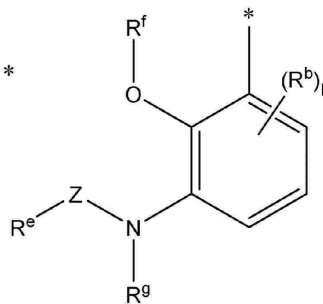
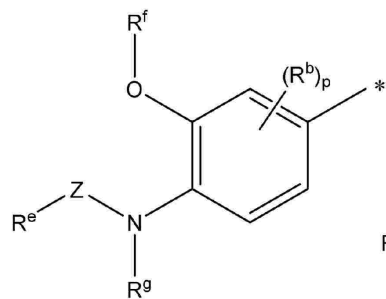
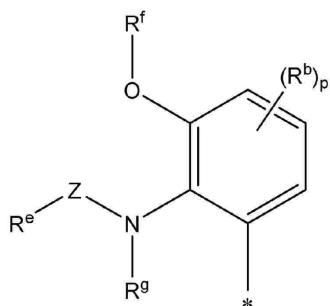
50



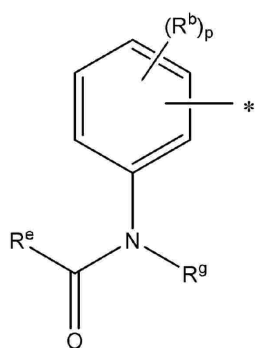
10



20

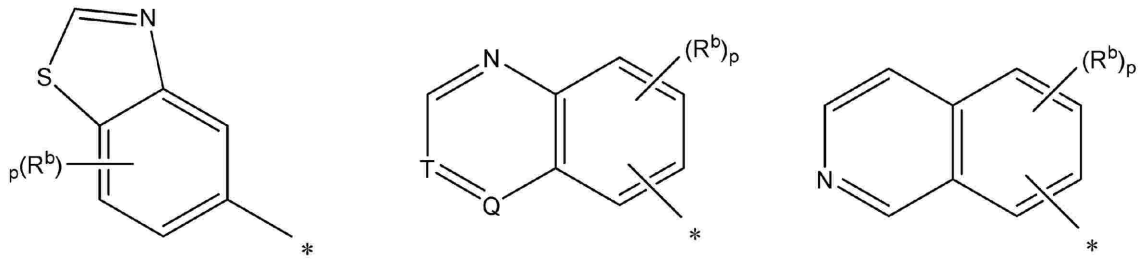


30

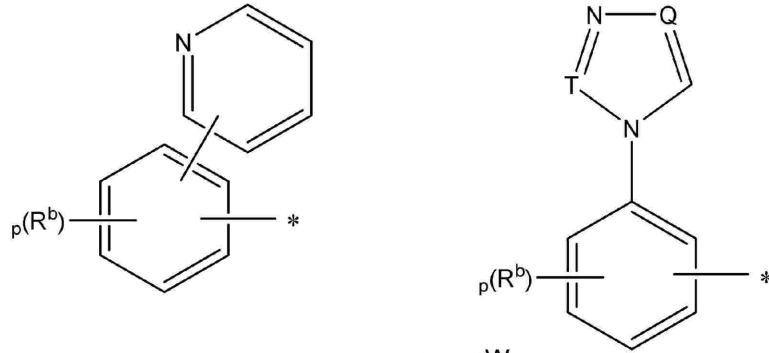


40

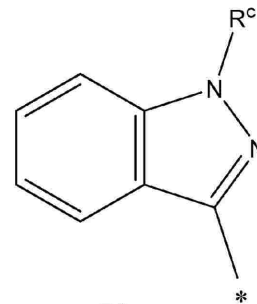
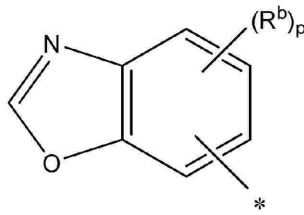
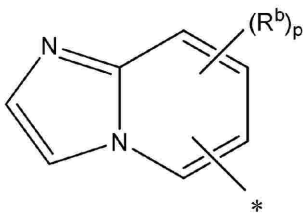
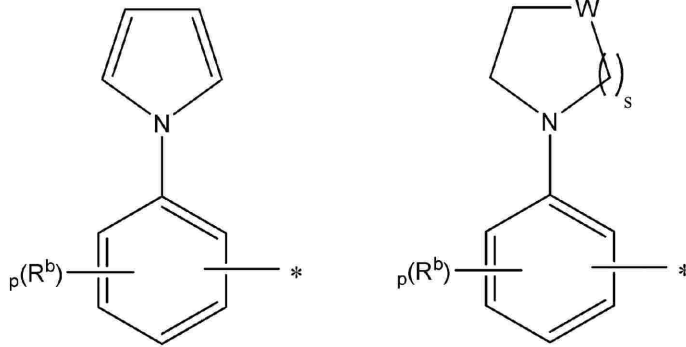
50



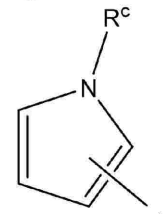
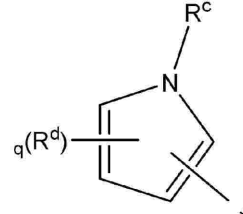
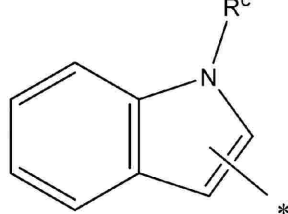
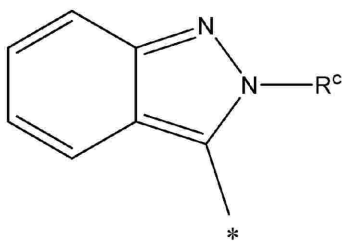
10



20



30

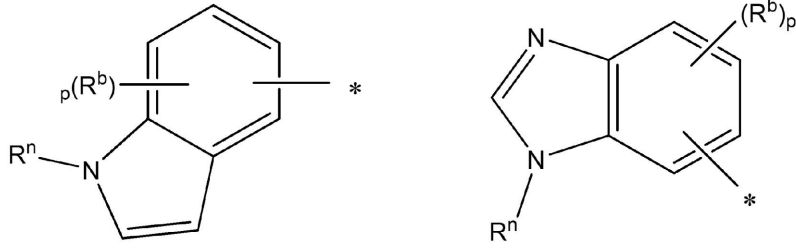


40

であり：

群Vは、群V-1であり、すなわち、

【化 6】

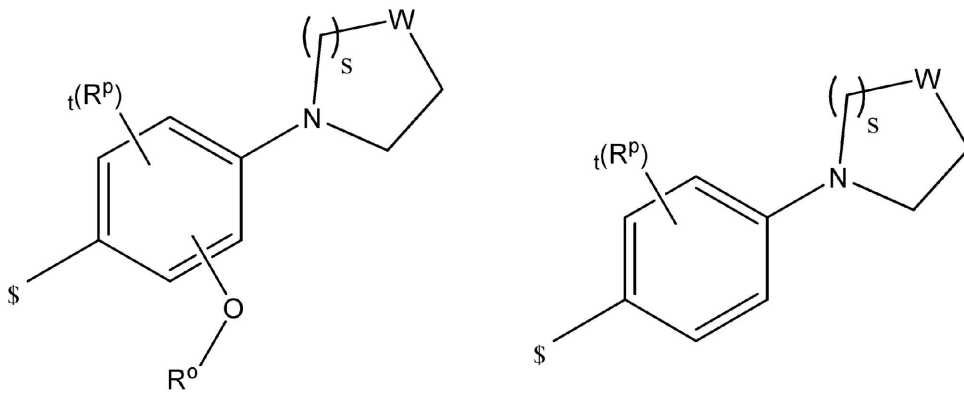


であり：

環Bは、群IA、群IIA、群IIA、群IVA、および群VAから選択され、\$は、Yへの結合を示し；

群IAは、群IA-1であり、すなわち、

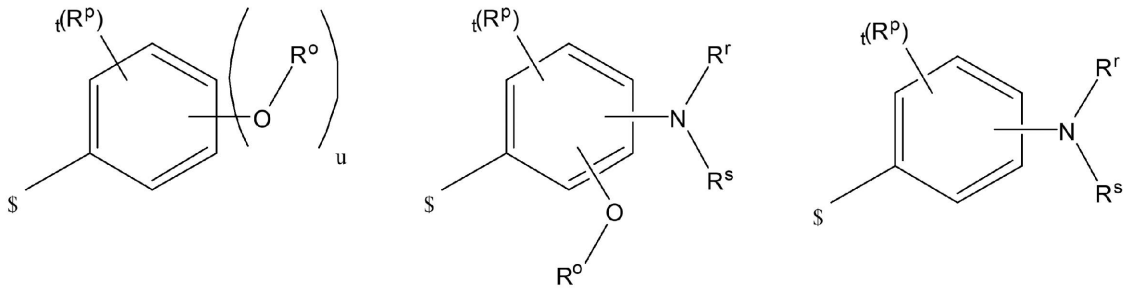
【化 7】



であり：

群IIAは、群IIA-1であり、すなわち、

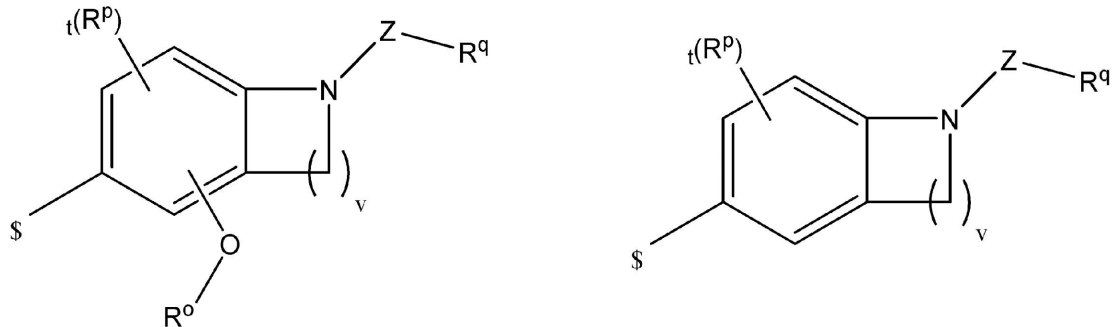
【化 8】



であり：

群IIIAは、群IIIA-1、すなわち、

【化 9】



10

20

30

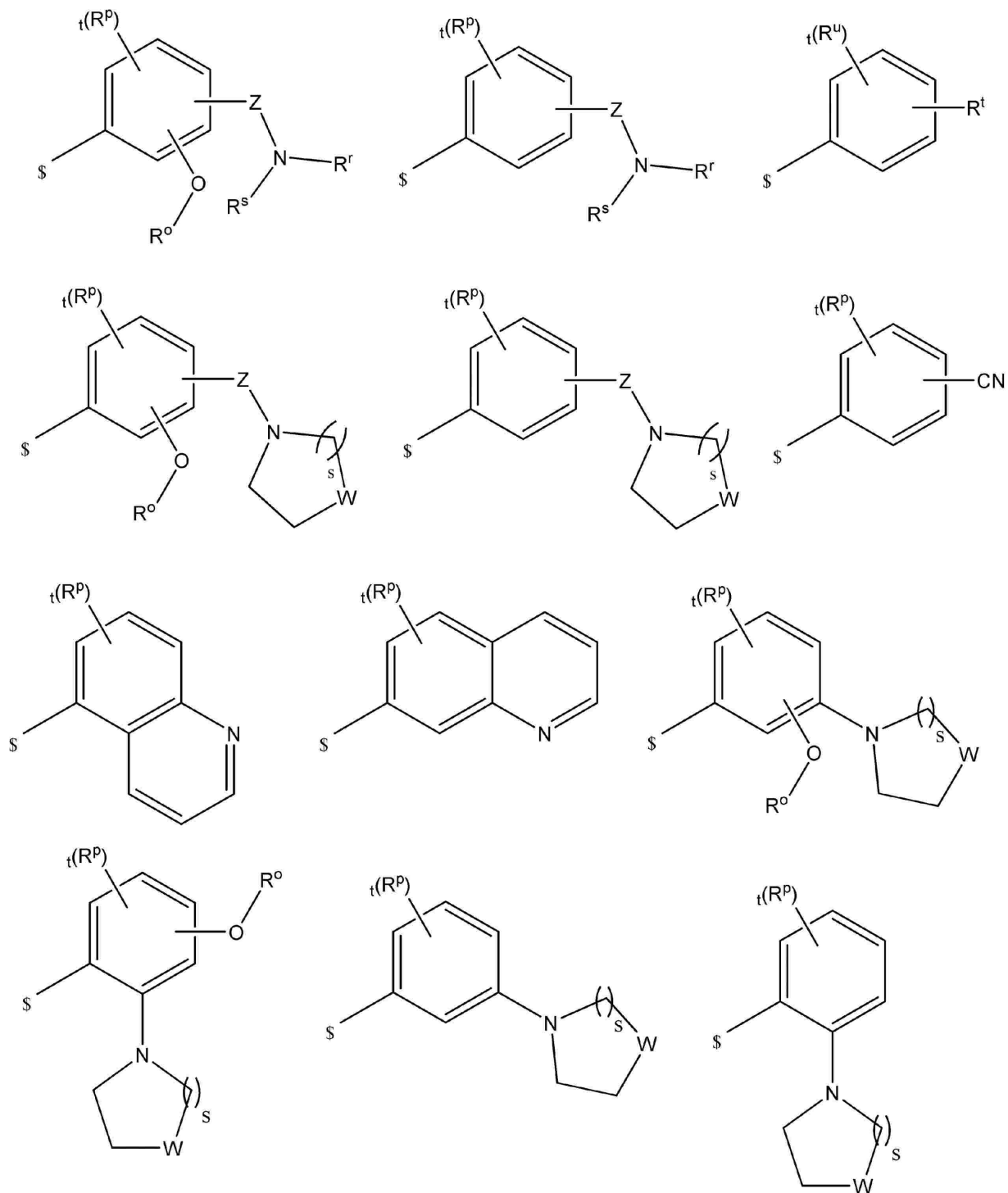
40

50

であり：

群IVAは、群IVA-1であり、すなわち、

【化10】



10

20

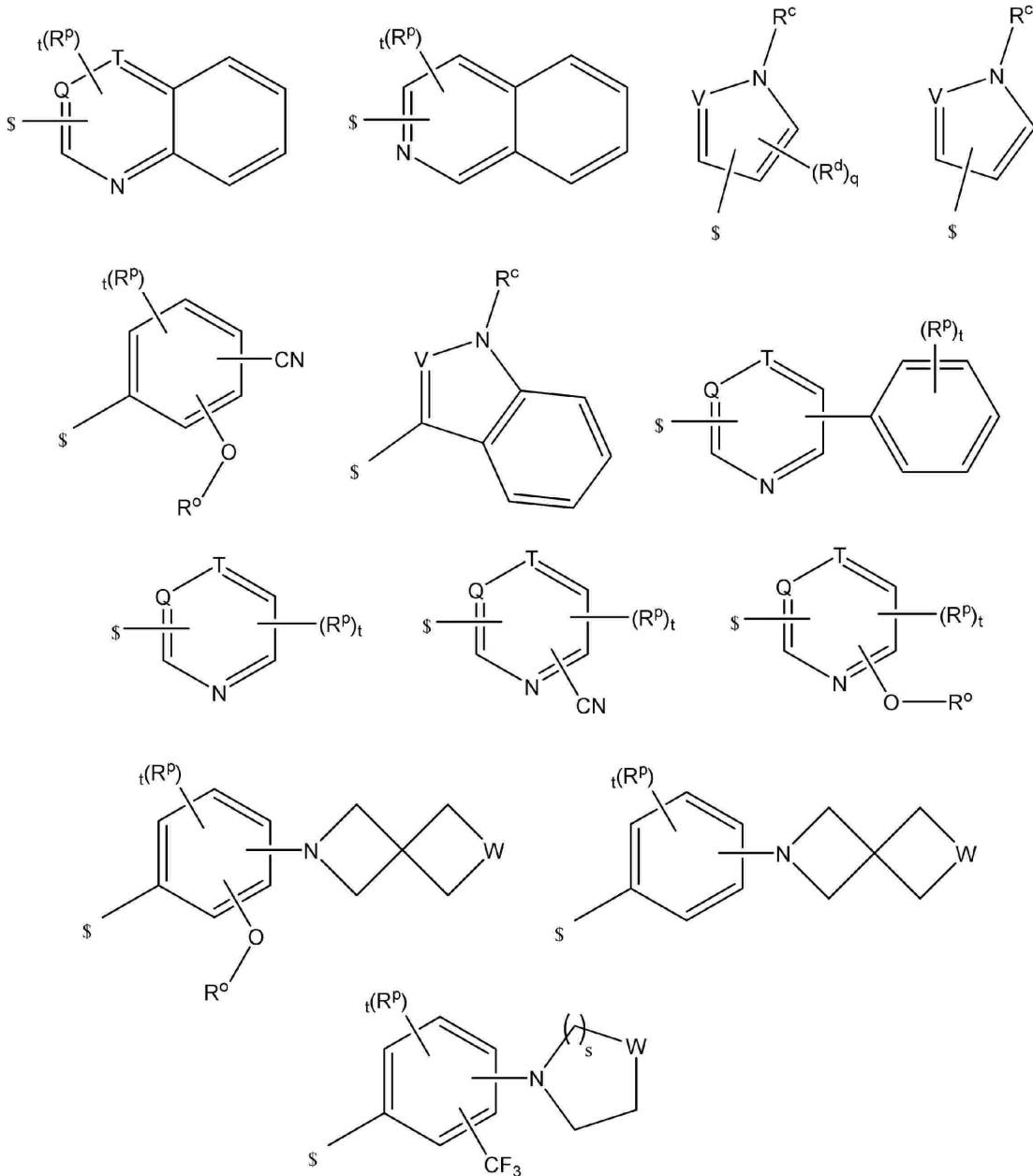
30

40

であり：

群VAは、群VA-1であり、すなわち、

50



であり；

式中；

QおよびTは、CHまたはNからそれぞれ選択され、ただし、QおよびTの多くても1つは、Nであってよく；

Vは、CHまたはNであり；

Wは、CH₂、O、NR^y、S、S(O)またはS(O)₂であり；

Zは、C(O)、S(O)またはS(O)₂であり；

R^aは、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^bは、C₁-C₆アルキル、FおよびClから独立して選択され；

R^cは、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^dは、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキル；またはO-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているフェニルから独立して選択され；

40

50

R^e は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^f は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^g は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^h は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^i は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^j は、HまたはC₁-C₃アルキルであり

R^k は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^l は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^m は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^n は、HまたはC₁-C₃アルキルであり

R^o は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキル；またはO-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているフェニルから独立して選択され；

R^p は、C₁-C₆アルキル、F、ClおよびBrから独立して選択され

R^q は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^r は、H、またはO-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり

R^s は、HまたはC₁-C₃アルキルであり

R^t は、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキルであり；

R^u は、C₁-C₆アルキル、FおよびClから独立して選択され；

R^v は、C₁-C₆アルキル、FおよびClから選択される0～2の置換基で置換されているフェニルであり；

R^w は、HまたはC₁-C₃アルキルであり；

R^x は、HまたはC₁-C₃アルキルから独立して選択され；

R^y は、H、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₁-C₆アルキル；C₁-C₆アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているベンジル；またはC₁-C₆アルキル、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されているC₃-C₆シクロアルキルであり；

nは、1～3であり；

pは、0～2であり；

qは、1または2であり；

rは、0～2であり；

sは、1～3であり；

tは、0～2であり；

uは、2～3であり；

vは、1～3であり；

かつ；

・XがNHであり；YがNHであり；R²がHであり；かつ環Aが群Iまたは群II内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIA、群IVAまたは群VA内の環であり

・XがNHであり；YがNHであり；R²がHであり；かつ環Aが群III内の環である場合：環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり；

10

20

30

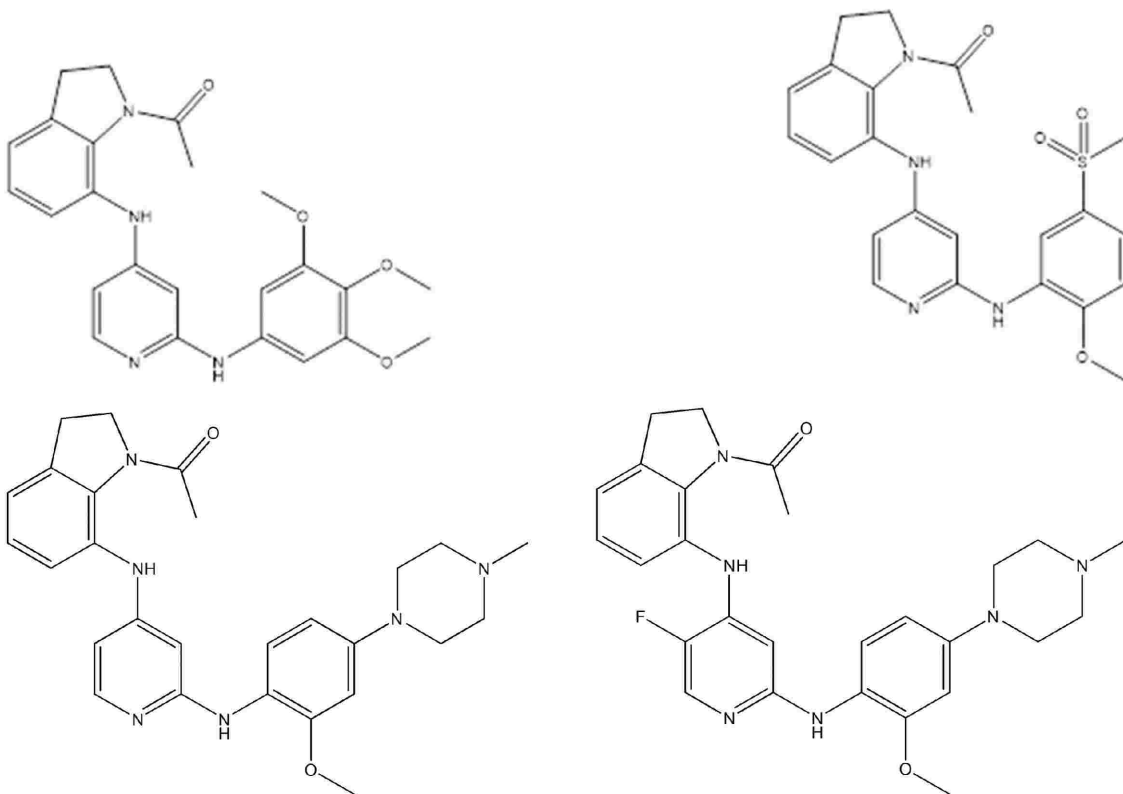
40

50

- ・ XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが群IV内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり；
 - ・ XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが群V内の環である場合：環Bは、群IA内の環であり；
 - ・ XがNHであり；YがNHであり； R^2 がF、Cl、Br、 $-\text{COR}^4$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^5$ 、 $-\text{SOR}^5$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}$ 、 $-\text{NO}_2$ または $-\text{NR}^6_3^+$ である場合：環Aは、群Iまたは群II内の環であり、かつ環Bは群IA内の環であり；
 - ・ XがNHであり；YがNHである場合： R^2 はHであり；環Aは、群I、群IIおよび群III内の環であり；かつ環Bは、群IA内の環であり；かつ
 - ・ XがNHであり；Yが結合である場合： R^2 はHであり；環Aは、群I、群IIおよび群III内の環であり；かつ環Bは、群IA、群IIA、および群IIIA内の環であり；
- かつ、ただし、式(I)の化合物は、(a)以下の群から選択される化合物でも、(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩または溶媒和物でもない。

10

【化12】



20

30

【0046】

好ましい態様では、XはNHであり、かつYはNHである。

【0047】

別の態様では、Xは結合であり、かつYはNHである。さらに別の態様では、XはNHであり、かつYは結合である。

40

【0048】

好ましくは、 R^1 は、HまたはFである。例えば、 R^1 はHである。あるいは、 R^1 はFである。

【0049】

好ましくは、 R^2 は、H、F、Cl、Br、 $-\text{COR}^4$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^5$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ または $-\text{NR}^6_3^+$ である。より好ましくは、 R^2 は、H、F、Cl、Br、 $-\text{COR}^4$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^5$ 、または $-\text{CN}$ である。さらに好ましくは、 R^2 は、H、F、Cl、またはBrである。なおさらに好ましくは、 R^2 は、HまたはFである。最も好ましくは、 R^2 はHである。

【0050】

50

好ましくは、 R^3 は、H、 CH_3 、0～3の R^7 で置換されている C_2-C_6 アルキル、 $-COR^4$ 、 $-SO_2R^5$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ または $-NR^6_3+$ である。より好ましくは、 R^3 は、H、 CH_3 、0～3の R^7 で置換されている C_2-C_6 アルキル、 $-COR^4$ 、 $-SO_2R^5$ 、または $-CN$ である。なおより好ましくは、 R^3 は、H、 CH_3 、または0～3の R^7 で置換されている C_2-C_6 アルキルである。さらに好ましくは、 R^3 は、H、 CH_3 、または C_2-C_6 アルキルである。なおさらに好ましくは、 R^3 は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^3 はHである。

【0051】

好ましくは、 R^4 は、 $-OR^8$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^8$ または $-NR^8_2$ から独立して選択される。

【0052】

好ましくは、 R^5 は、 $-OR^8$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^8$ または $-NR^8_2$ から独立して選択される。 10

【0053】

好ましくは、 R^6 は、 C_1-C_2 アルキルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^6 は CH_3 である。

【0054】

アルキル基が0～3の R^7 で置換されている場合、 R^7 基の数は、0（すなわち、アルキル基は置換されていない）、1、2または3であり、好ましくは0、1または2であり、より好ましくは0または1であり、最も好ましくは0（すなわち、アルキル基は置換されていない）である。

【0055】

好ましくは、 R^7 は、 $O-C_1-C_2$ アルキル、FまたはClから独立して選択される。より好ましくは、 R^7 は、 OCH_3 、FまたはClから独立して選択される。 20

【0056】

好ましくは、 R^8 は、0～3の R^7 で置換されている C_1-C_3 アルキルである。より好ましくは、 R^8 は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択される。さらに好ましくは、 R^8 は、 C_1-C_2 アルキルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^8 は CH_3 である。

【0057】

よって、好ましい組み合わせ（組み合わせA1）では：

R^2 は、H、F、Cl、Br、 $-COR^4$ 、 $-SO_2R^5$ 、または $-CN$ であり；

R^3 は、H、 CH_3 、0～3の R^7 で置換されている C_2-C_6 アルキル、 $-COR^4$ 、 $-SO_2R^5$ 、または $-CN$ であり； 30

R^4 および R^5 は、 $-OR^8$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^8$ または $-NR^8_2$ からそれぞれ独立して選択され；

R^6 は、 C_1-C_2 アルキルから独立して選択され；

R^7 は、 OCH_3 、FまたはClから独立して選択され；かつ

R^8 は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択される。

【0058】

より好ましい組み合わせ（組み合わせA2）では：

R^2 は、H、F、Cl、またはBrであり；かつ

R^3 は、H、 CH_3 または C_2-C_6 アルキルである。

【0059】

さらに好ましい組み合わせ（組み合わせA3）では： 40

R^2 は、HまたはFであり；かつ

R^3 は、Hまたは CH_3 である。

【0060】

なおさらに好ましい組み合わせ（組み合わせA3）では：

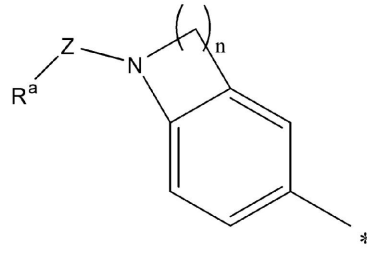
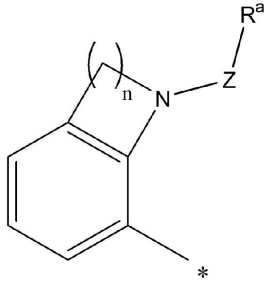
R^2 は、HまたはF；

かつ R^3 はHである。

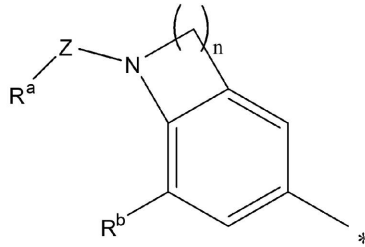
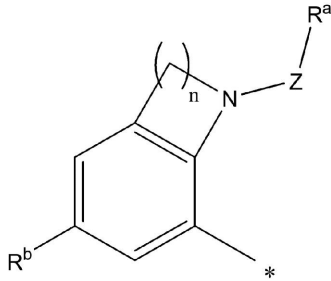
【0061】

式(I)の化合物において、環Aについて、特に好ましい態様では、群Iは、群I-2であり、すなわち、

【化13】



10



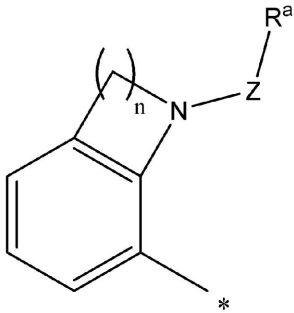
である。

【0062】

20

より好ましくは、群Iは、群I-3であり、すなわち、

【化14】



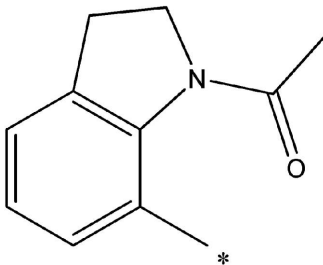
30

である。

【0063】

最も好ましくは、群Iは、群I-4であり、すなわち、

【化15】



40

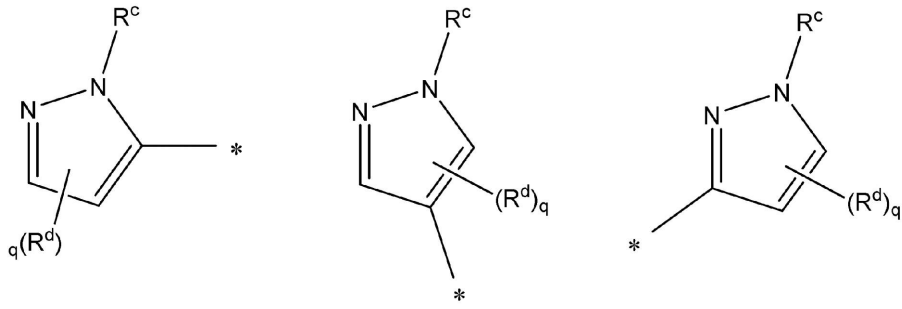
である。

【0064】

ある態様では、群IIは、群II-2であり、すなわち、

50

【化16】



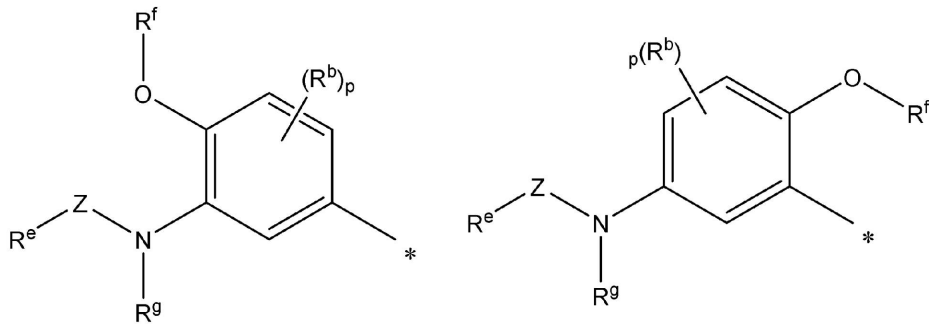
10

である。

【0065】

別の態様では、群IIは、群II-2'であり、すなわち、

【化17】



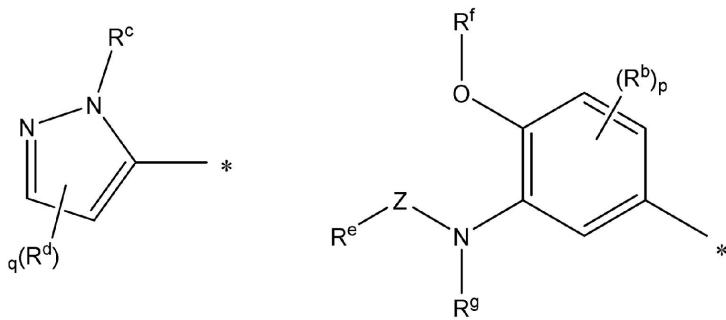
20

である。

【0066】

好ましい態様では、群IIは、群II-3であり、すなわち、

【化18】



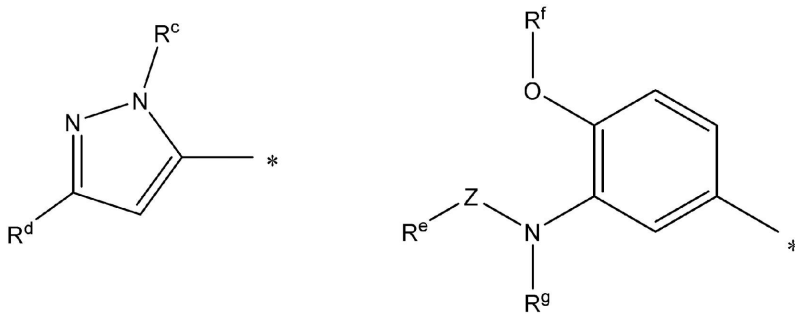
30

である。

【0067】

特に好ましい態様では、群IIは、群II-4であり、すなわち、

【化19】



40

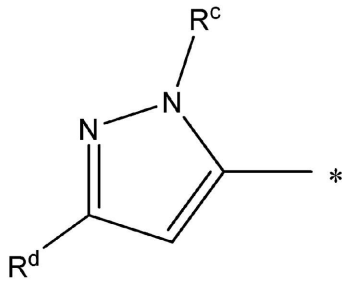
である。

50

【 0 0 6 8 】

より好ましくは、群IIは、群II-5であり、すなわち、

【 化 2 0 】



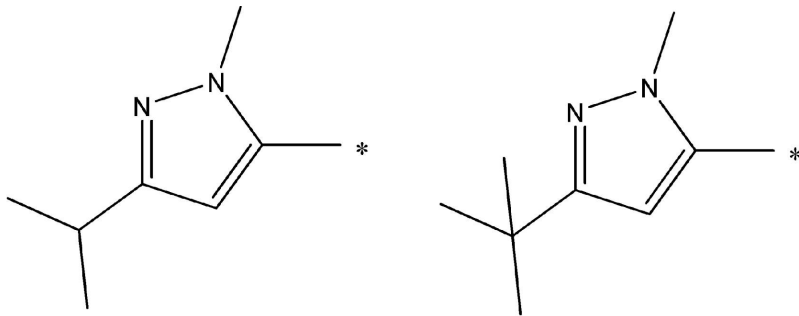
10

である。

【 0 0 6 9 】

最も好ましくは、群IIは、群II-6であり、すなわち、

【 化 2 1 】



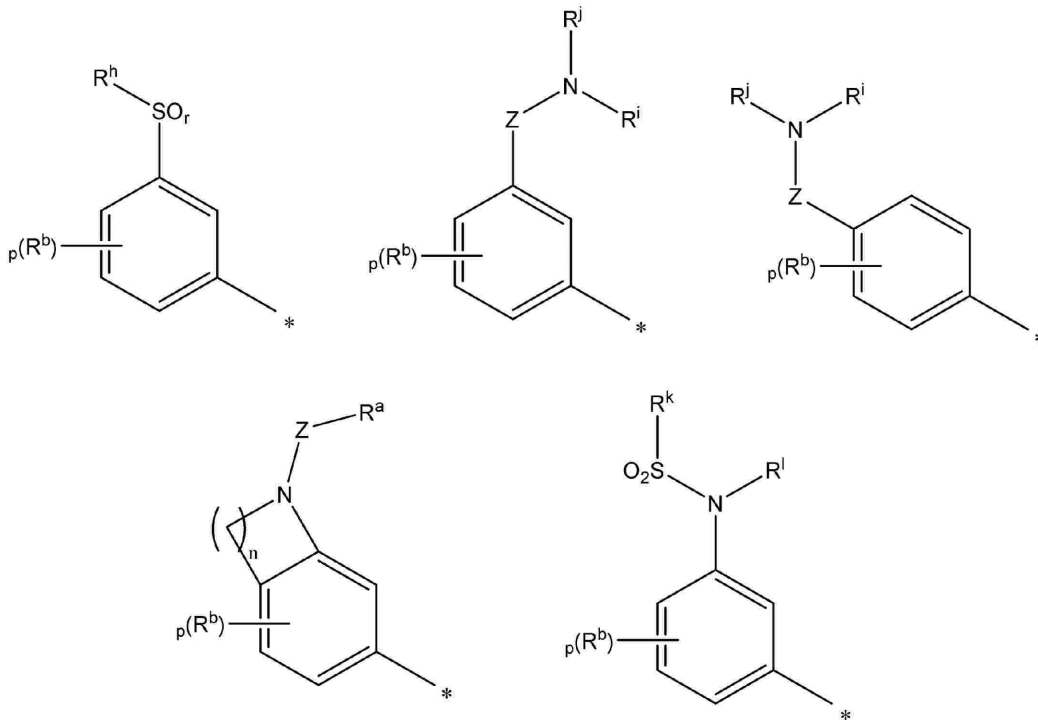
20

である。

【 0 0 7 0 】

ある態様では、群IIIは、群III-2であり、すなわち、

【 化 2 2 】



30

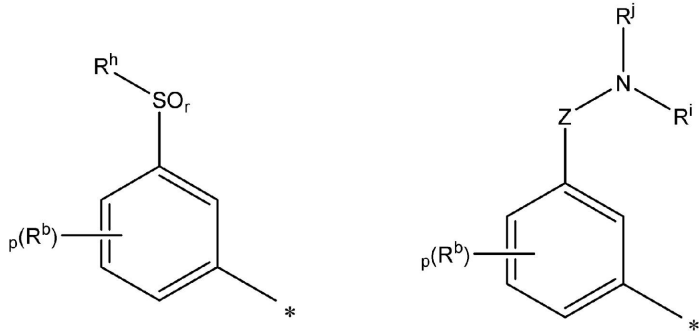
40

である。

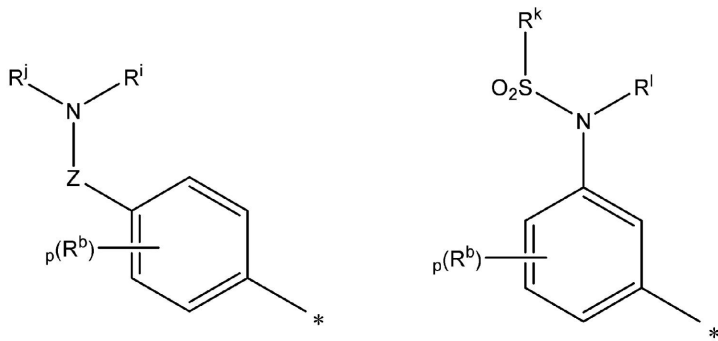
【 0 0 7 1 】

50

別の態様では、群IIIは、群III-3であり、すなわち、
【化23】



10

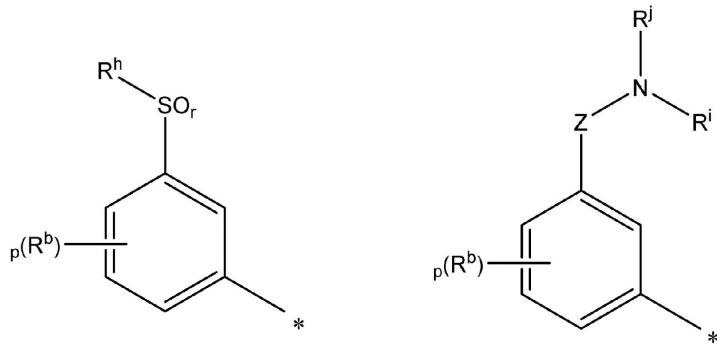


20

である。

【0072】

好ましい態様では、群IIIは、群III-4であり、すなわち、
【化24】

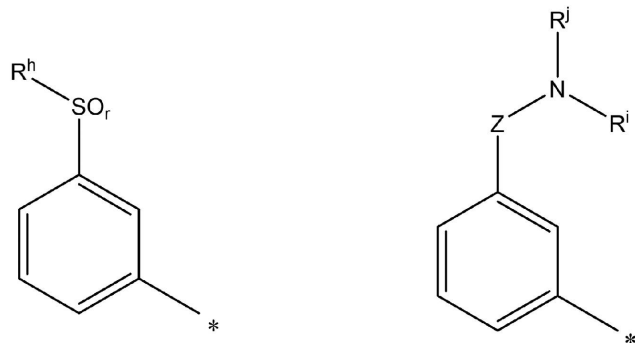


30

である。

【0073】

特に好ましい態様では、群IIIは、群III-5であり、すなわち、
【化25】



40

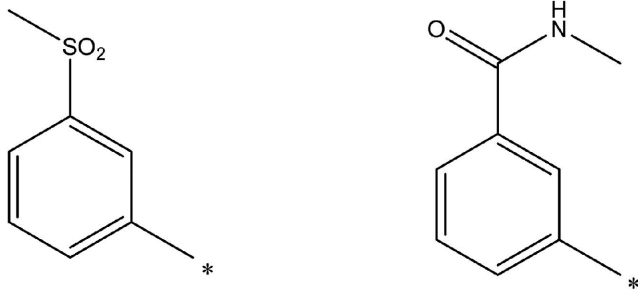
50

である。

【0074】

最も好ましい態様では、群IIIは、群III-6であり、すなわち、

【化26】



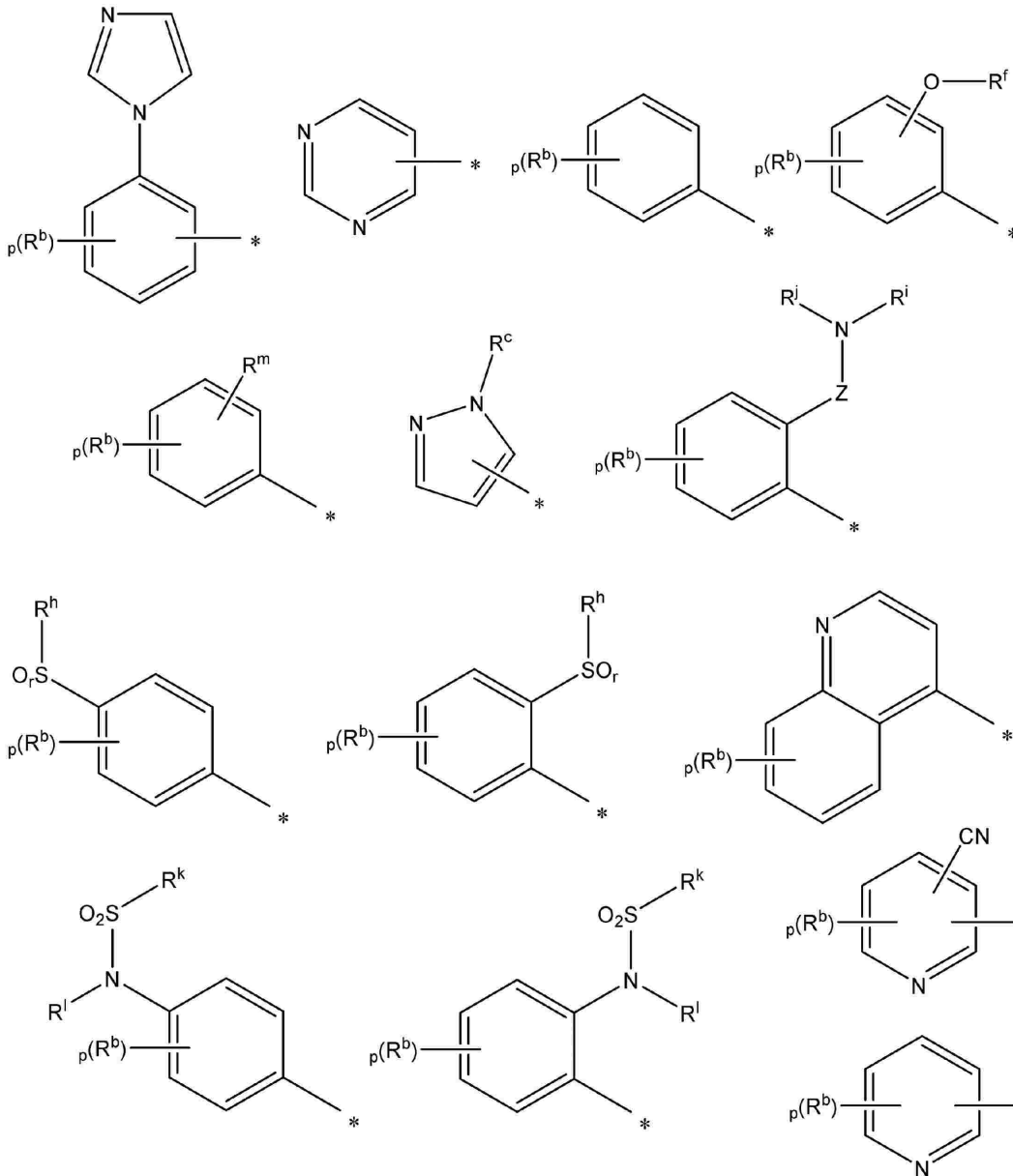
10

である。

【0075】

ある態様では、群IVは、群IV-2であり、すなわち、

【化27】

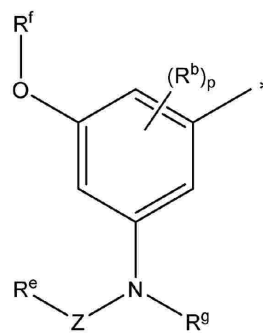
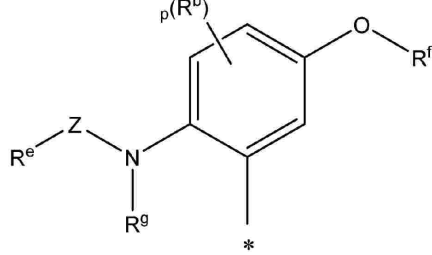
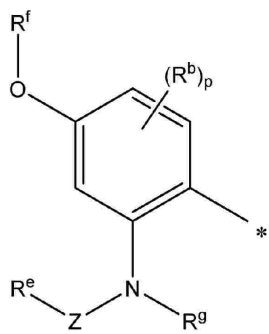


20

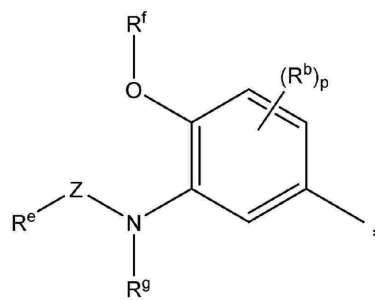
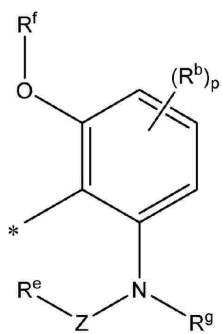
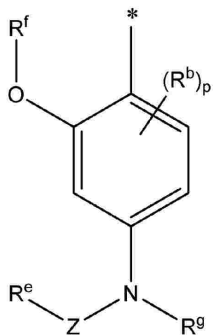
30

40

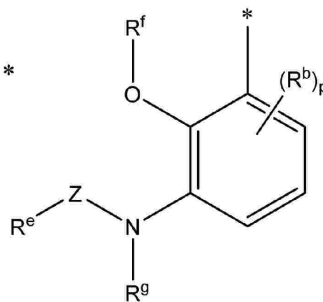
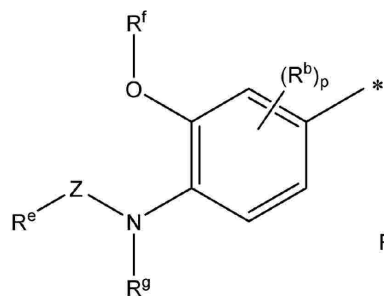
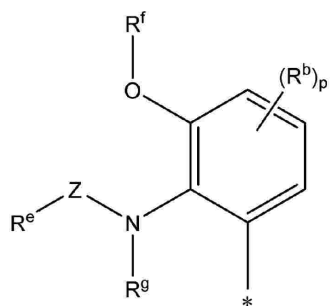
50



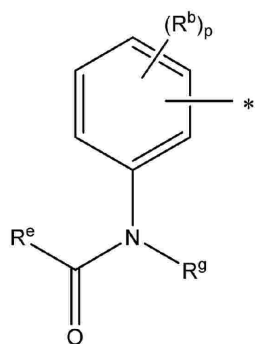
10



20

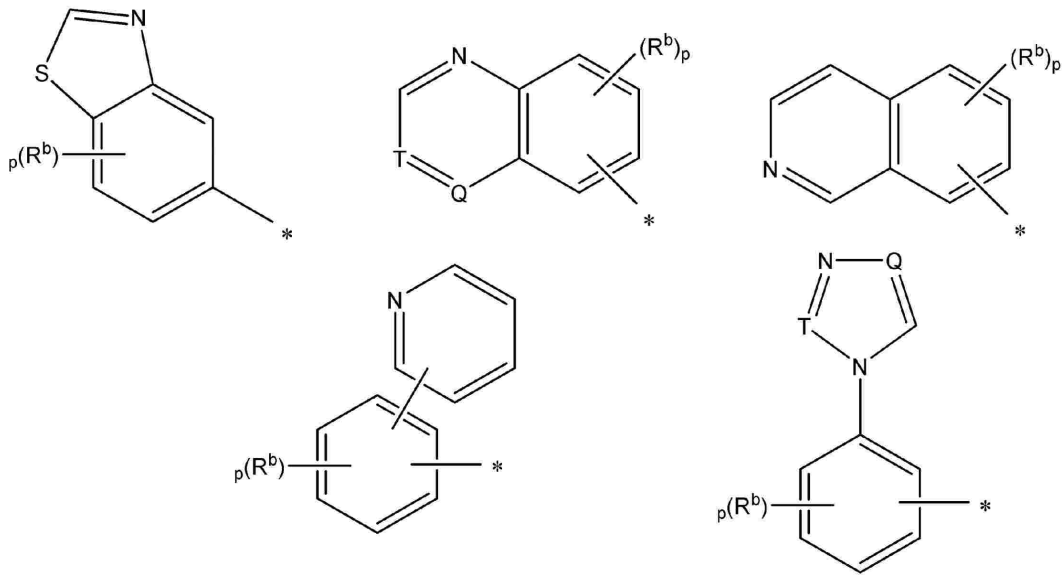


30



40

50



10

である。

【 0 0 7 6 】

好ましい態様では、群IVは、群IV-3であり、すなわち、

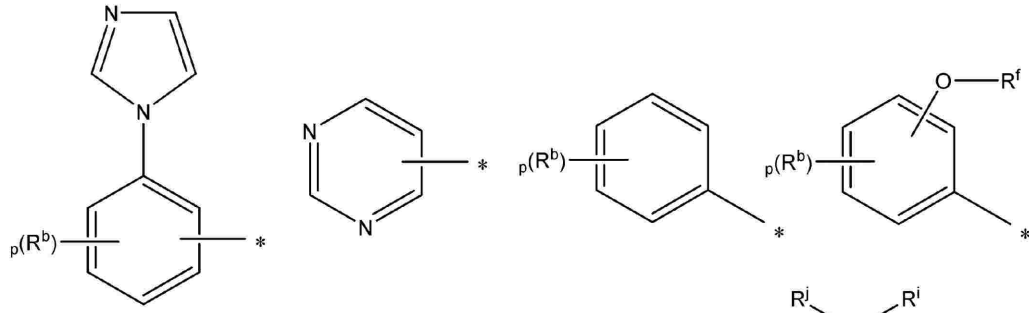
20

30

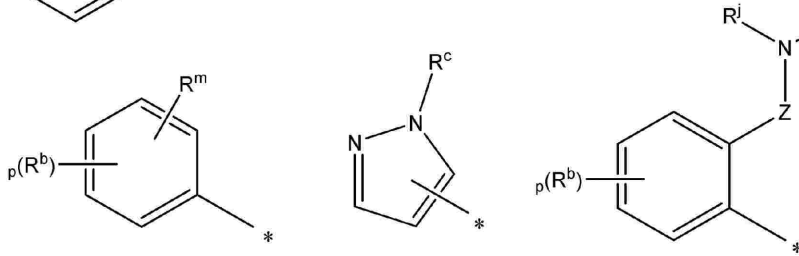
40

50

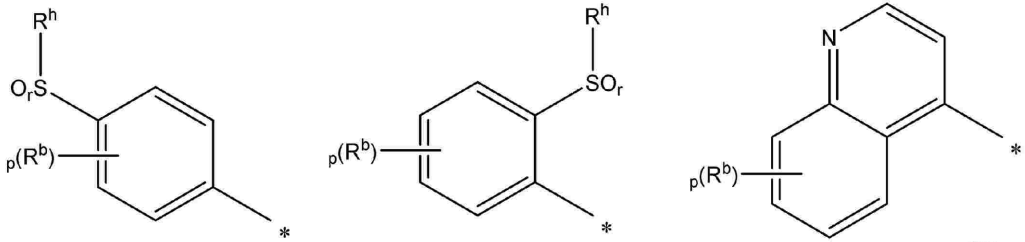
【化 2 8】



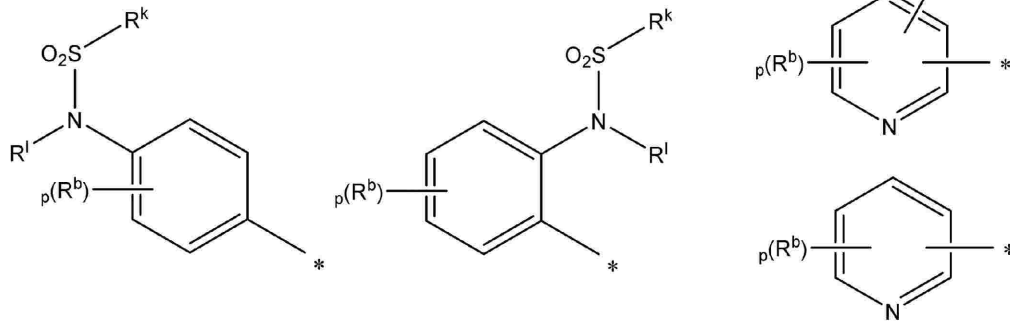
10



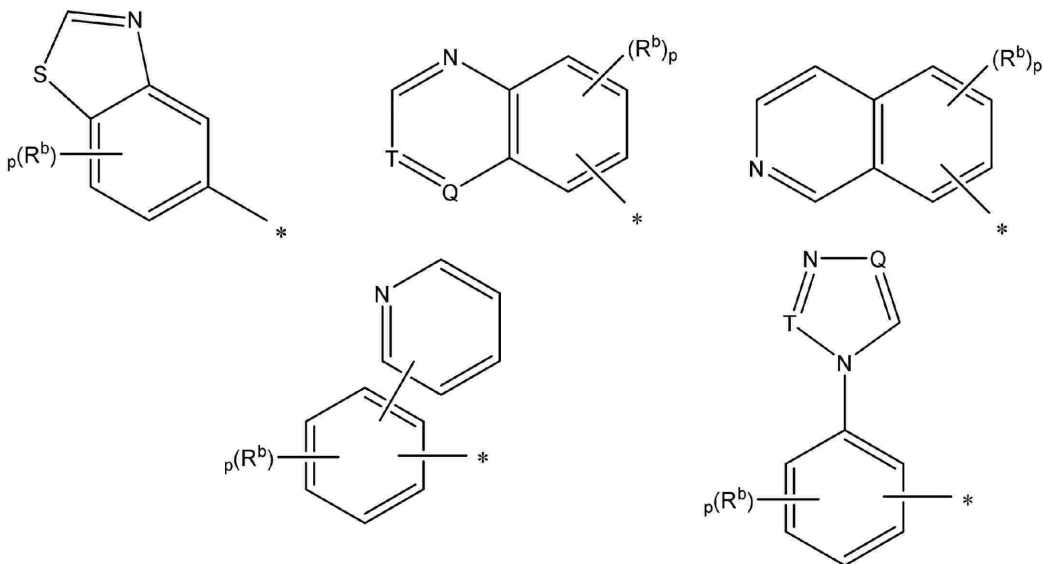
20



30



40



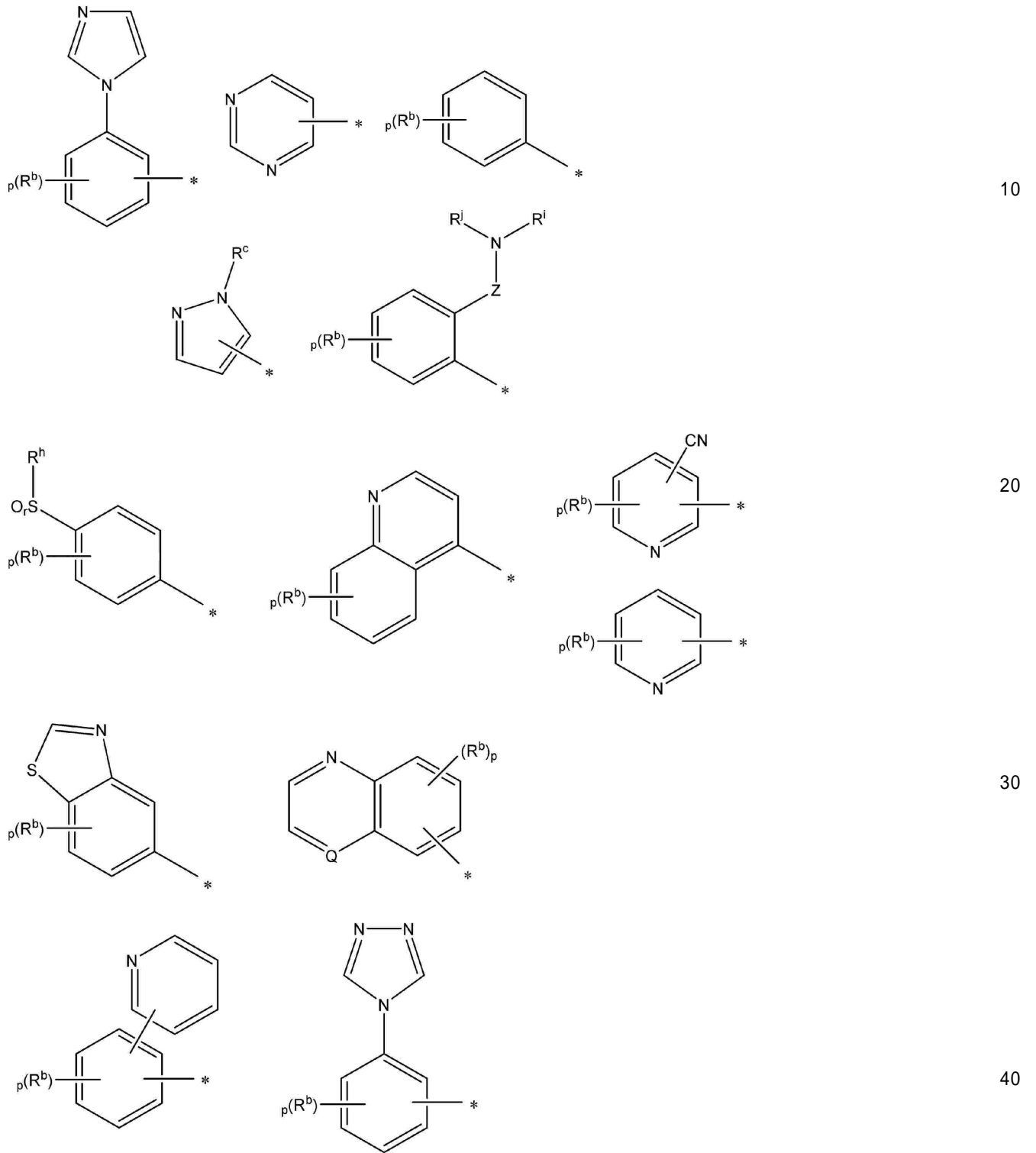
である。

50

【 0 0 7 7 】

好ましい態様では、群IVは、群IV-4であり、すなわち、

【 化 2 9 】

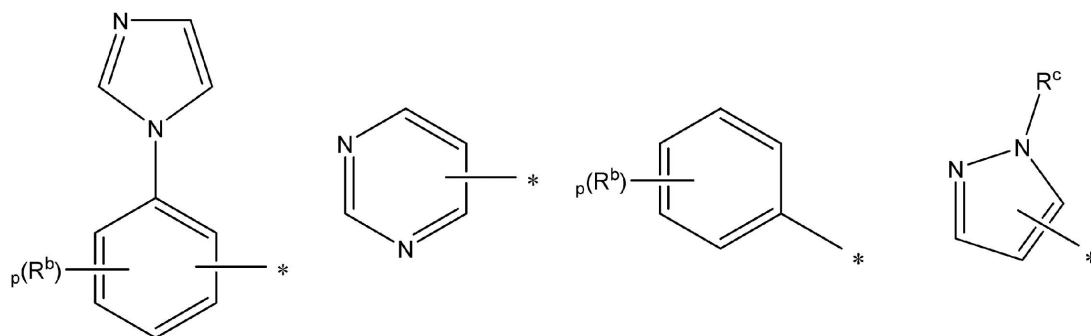


である。

【 0 0 7 8 】

特に好ましい態様では、群IVは、群IV-5であり、すなわち、

【化30】



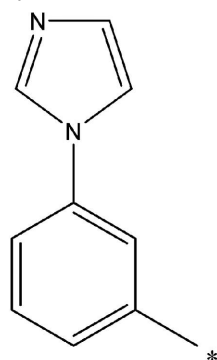
10

である。

【0079】

最も好ましい態様では、群IVは、群IV-6であり、すなわち、

【化31】



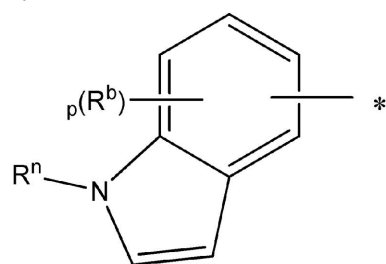
20

である。

【0080】

好ましい態様では、群Vは、群V-2であり、すなわち、

【化32】



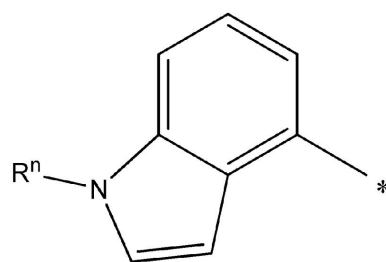
30

である。

【0081】

最も好ましい態様では、群Vは、群V-3であり、すなわち、

【化33】



40

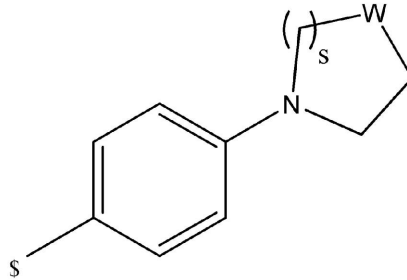
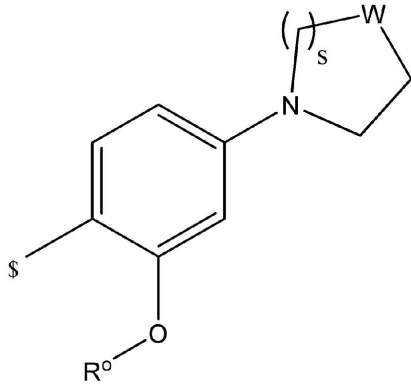
である。

50

【 0 0 8 2 】

式 (I) の化合物において、環 B について、特に好ましい態様では、群 IA は、群 IA-2 であり、すなわち、

【 化 3 4 】



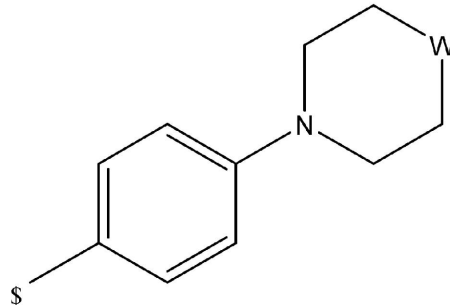
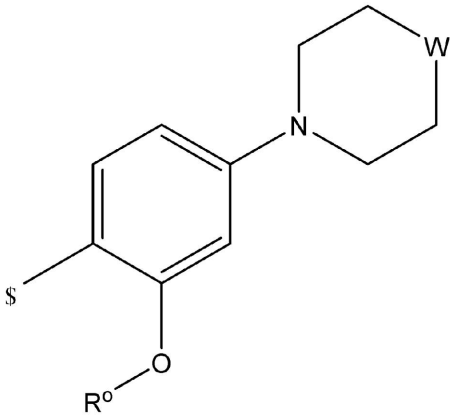
10

である。

【 0 0 8 3 】

最も好ましくは、群 IA は、群 IA-3 であり、すなわち、

【 化 3 5 】



20

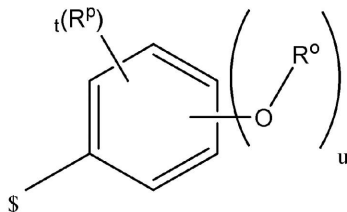
30

である。

【 0 0 8 4 】

好ましい態様では、群 IIA は、群 IIA-2 であり、すなわち、

【 化 3 6 】



40

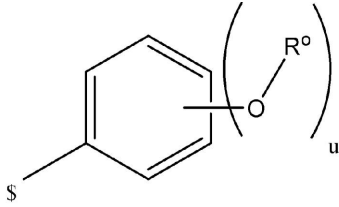
である。

【 0 0 8 5 】

特に好ましい態様では、群 IIA は、群 IIA-3 であり、すなわち、

50

【化37】



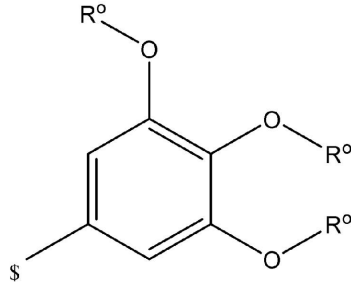
である。

【0086】

最も好ましくは、群IIAは、群IIA-4であり、すなわち、

10

【化38】



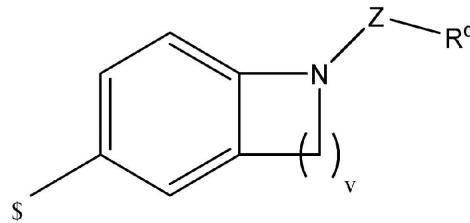
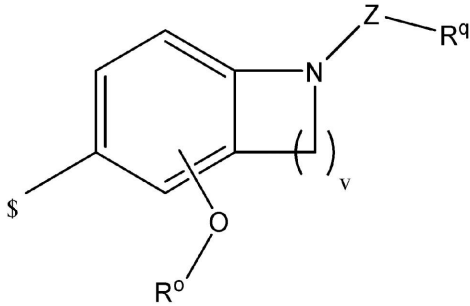
である。

20

【0087】

ある態様では、群IIIAは、群IIIA-2であり、すなわち、

【化39】



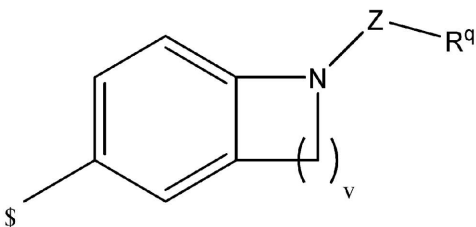
30

である。

【0088】

好ましい態様では、群IIIAは、群IIIA-3であり、すなわち、

【化40】



40

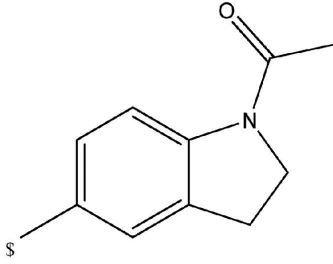
である。

【0089】

最も好ましくは、群IIIAは、群IIIA-4であり、すなわち、

50

【化41】



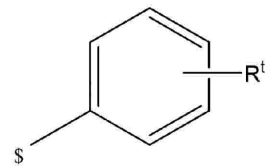
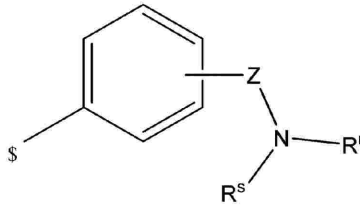
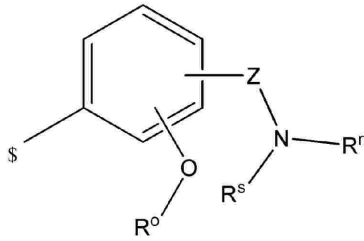
である。

10

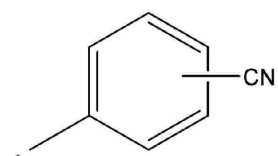
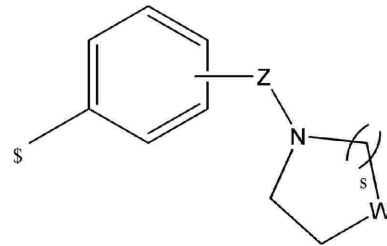
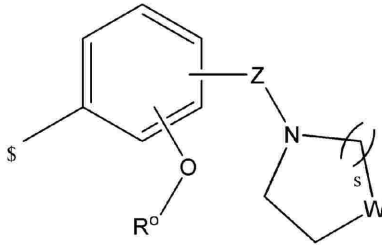
【0090】

ある態様では、群IVAは、群IVA-2であり、すなわち、

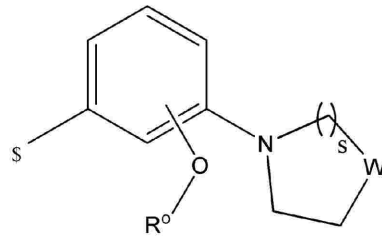
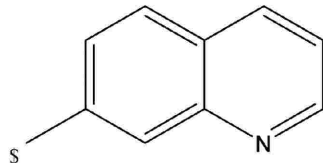
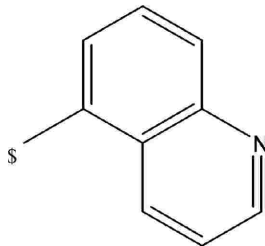
【化42】



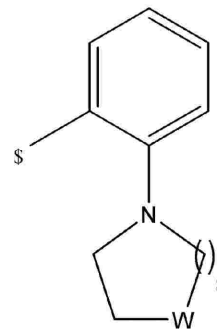
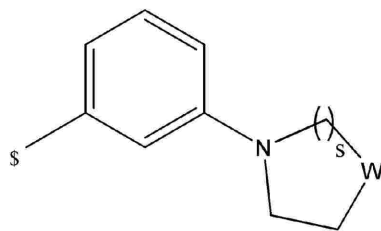
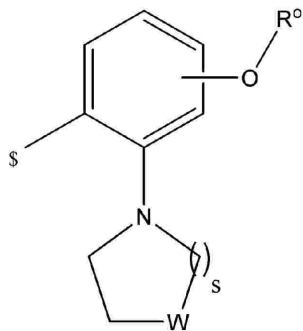
20



30



40

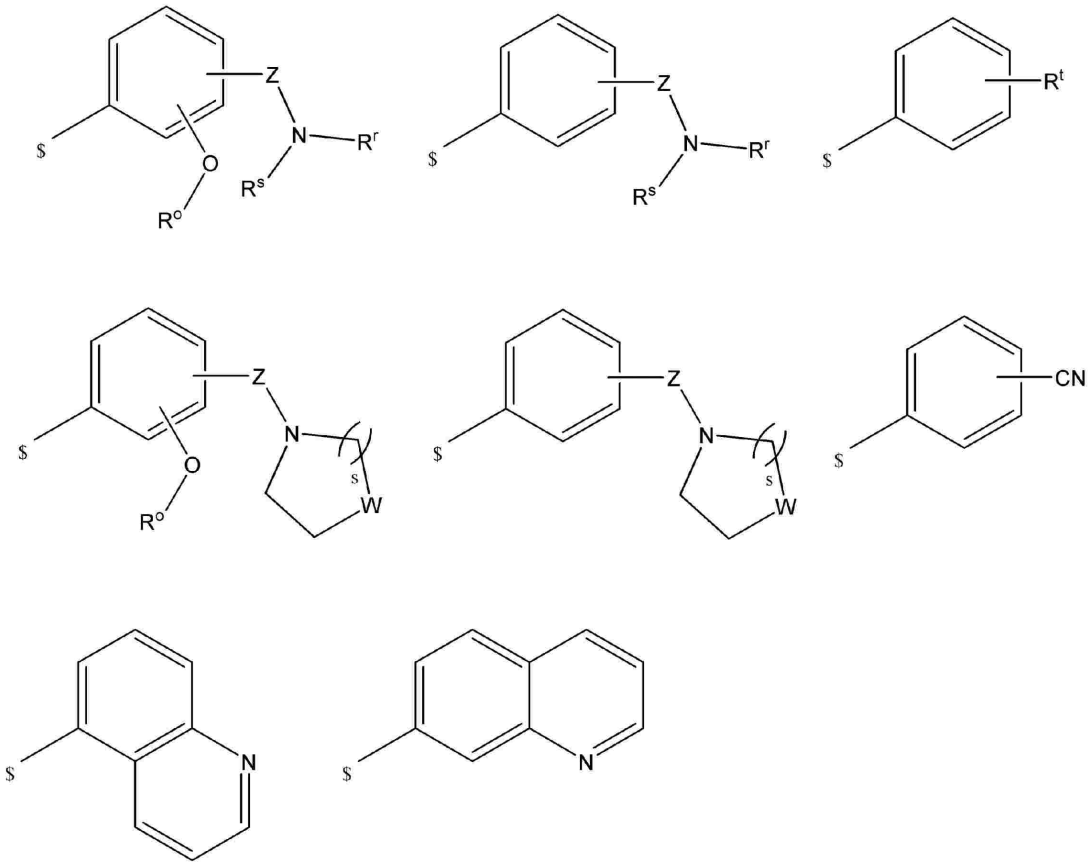


である。

50

【0091】

好ましい態様では、群IVAは、群IVA-3であり、すなわち、
【化43】



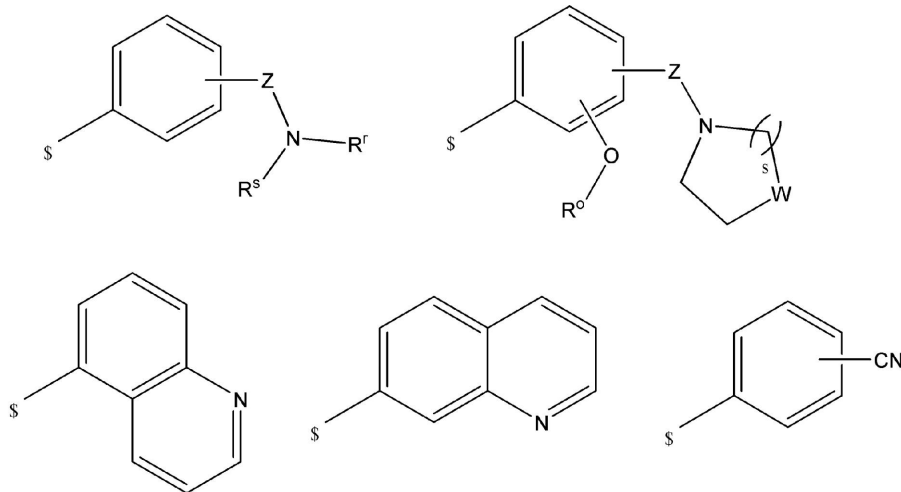
10

20

である。

【0092】

特に好ましい態様では、群IVAは、群IVA-4であり、すなわち、
【化44】



30

40

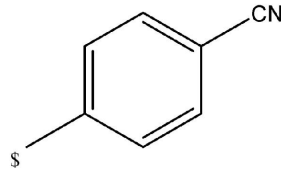
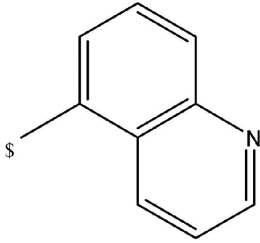
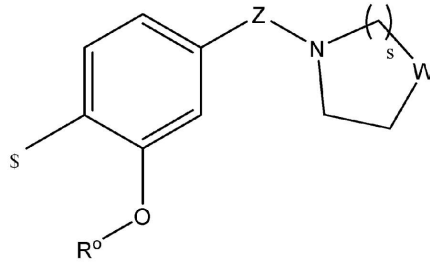
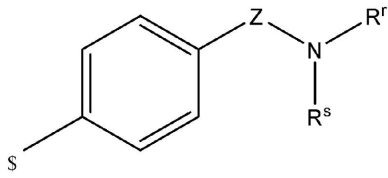
である。

【0093】

特に好ましい態様では、群IVAは、群IVA-5であり、すなわち、

50

【化 4 5】



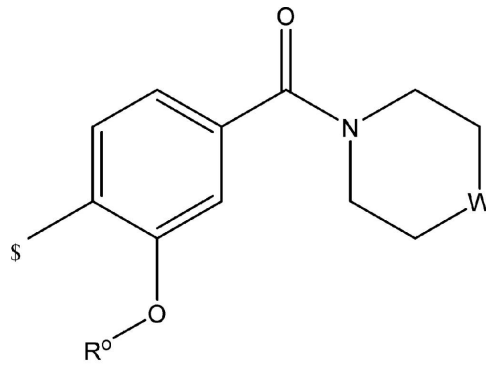
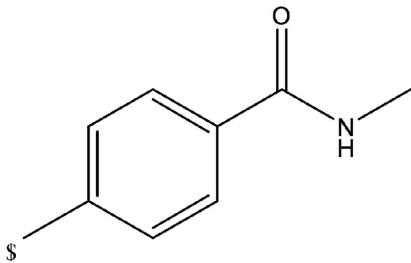
10

である。

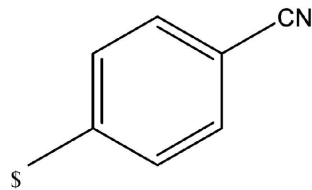
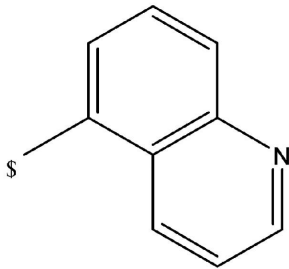
【 0 0 9 4】

最も好ましい態様では、群IVAは、群IVA-6であり、すなわち、

【化 4 6】



20



30

である。

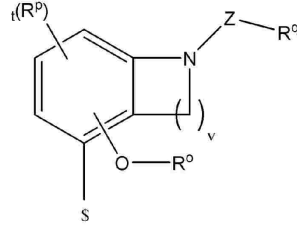
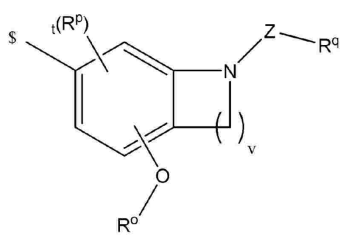
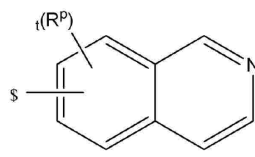
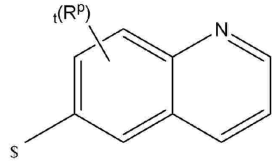
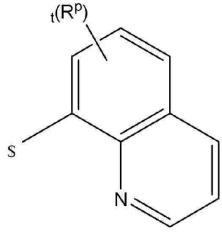
【 0 0 9 5】

ある態様では、群VAは、群VA-2であり、すなわち、

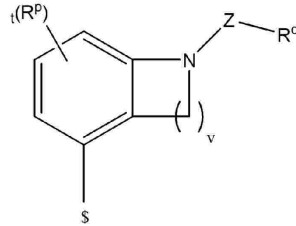
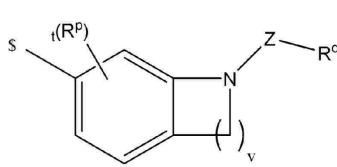
40

50

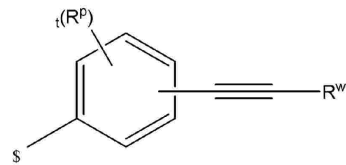
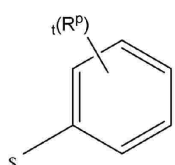
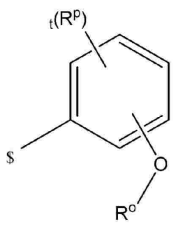
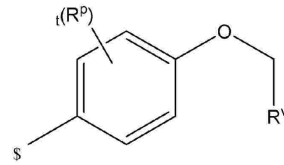
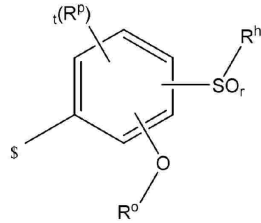
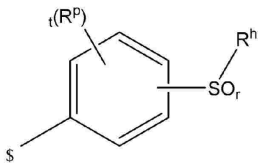
【化 4 7】



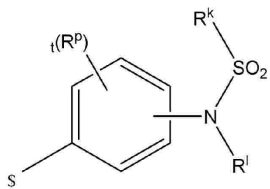
10



20

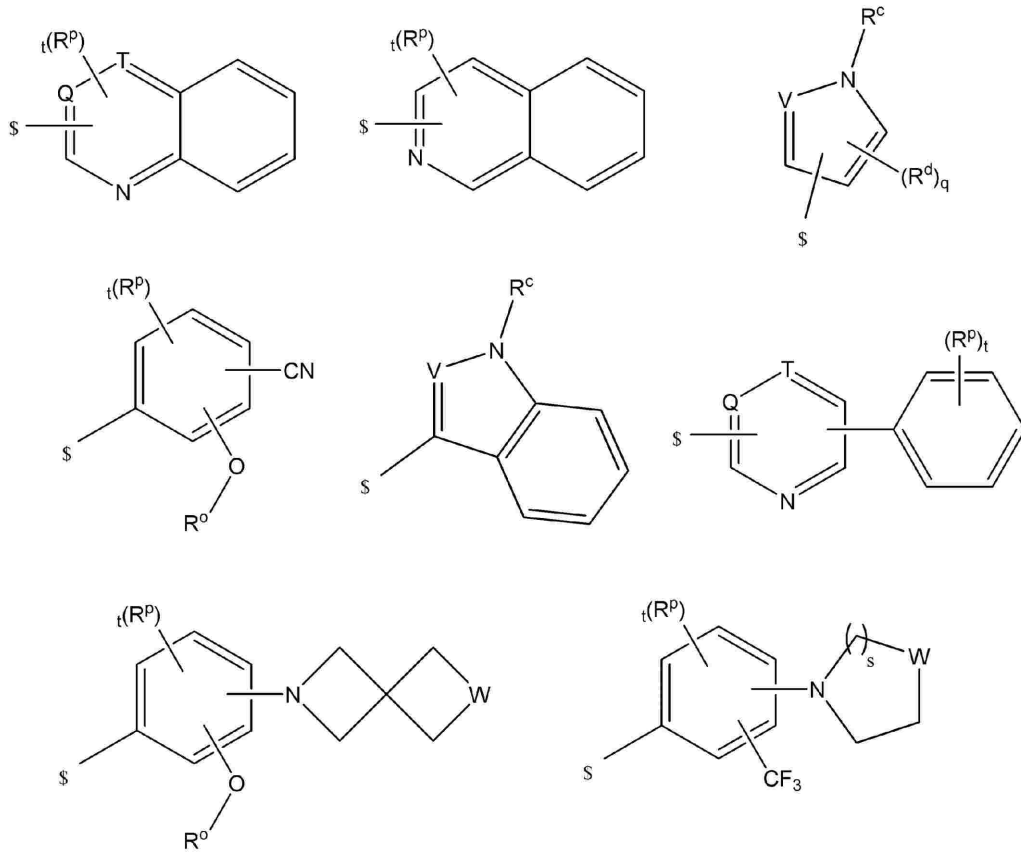


30



40

50



10

20

である。

【 0 0 9 6 】

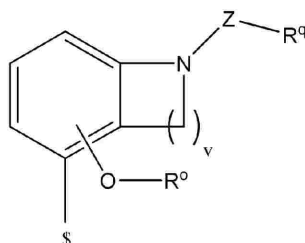
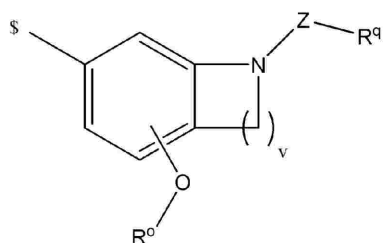
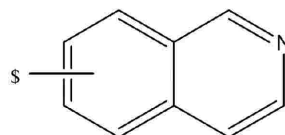
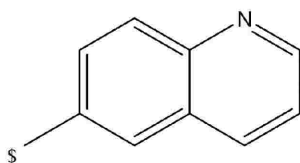
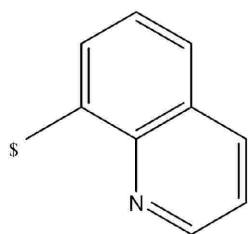
好ましい態様では、群VAは、群VA-3であり、すなわち、

30

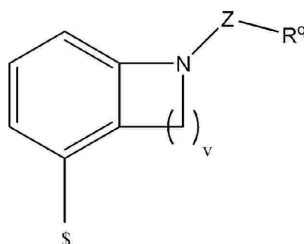
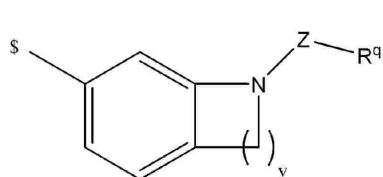
40

50

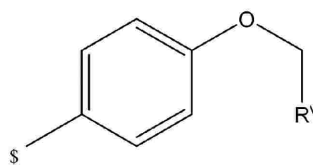
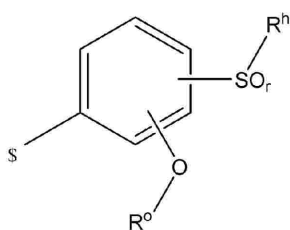
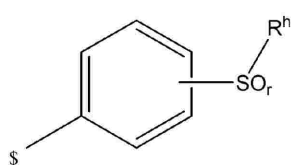
【化 4 8】



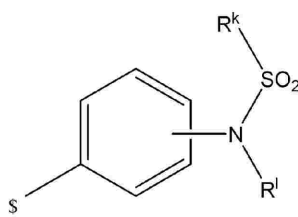
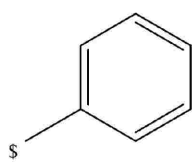
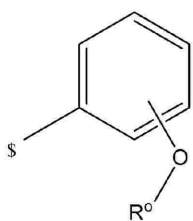
10



20

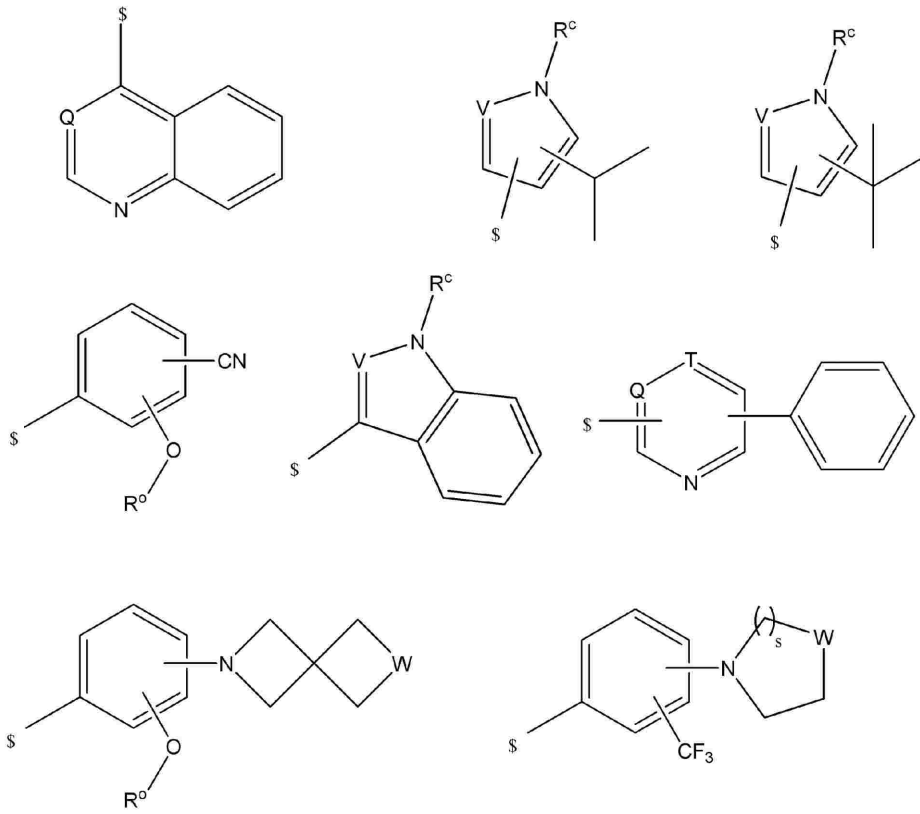


30



40

50



10

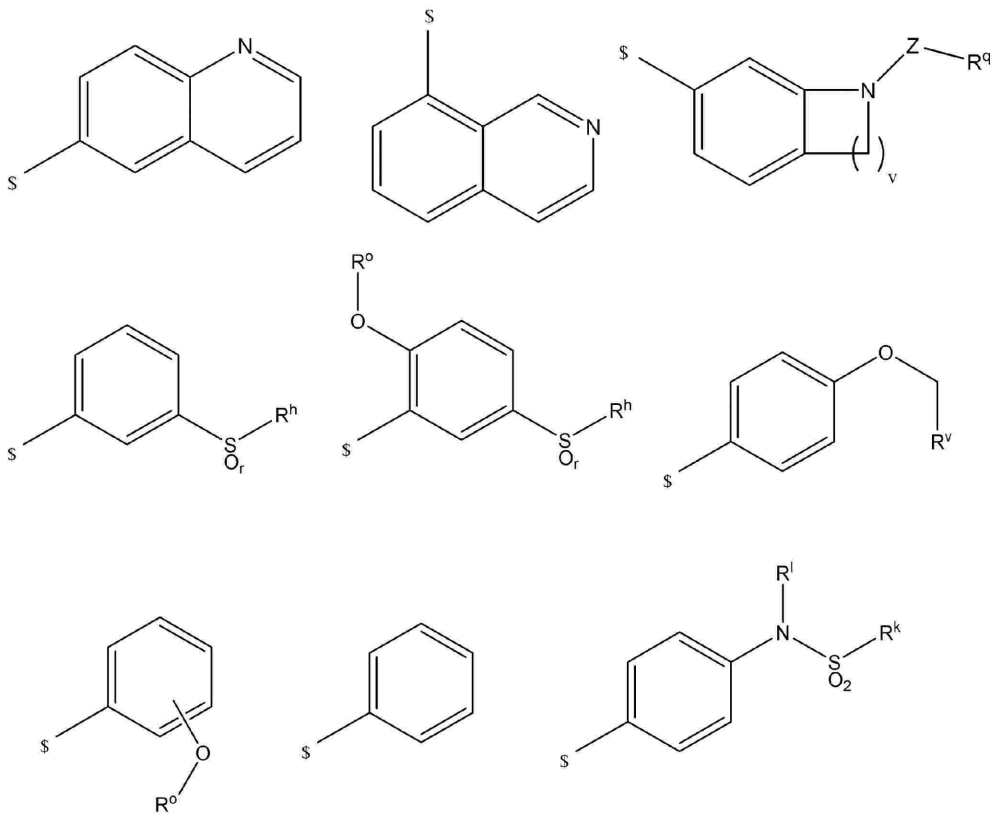
20

である。

【0097】

より好ましい態様では、群VAは、群VA-4であり、すなわち、

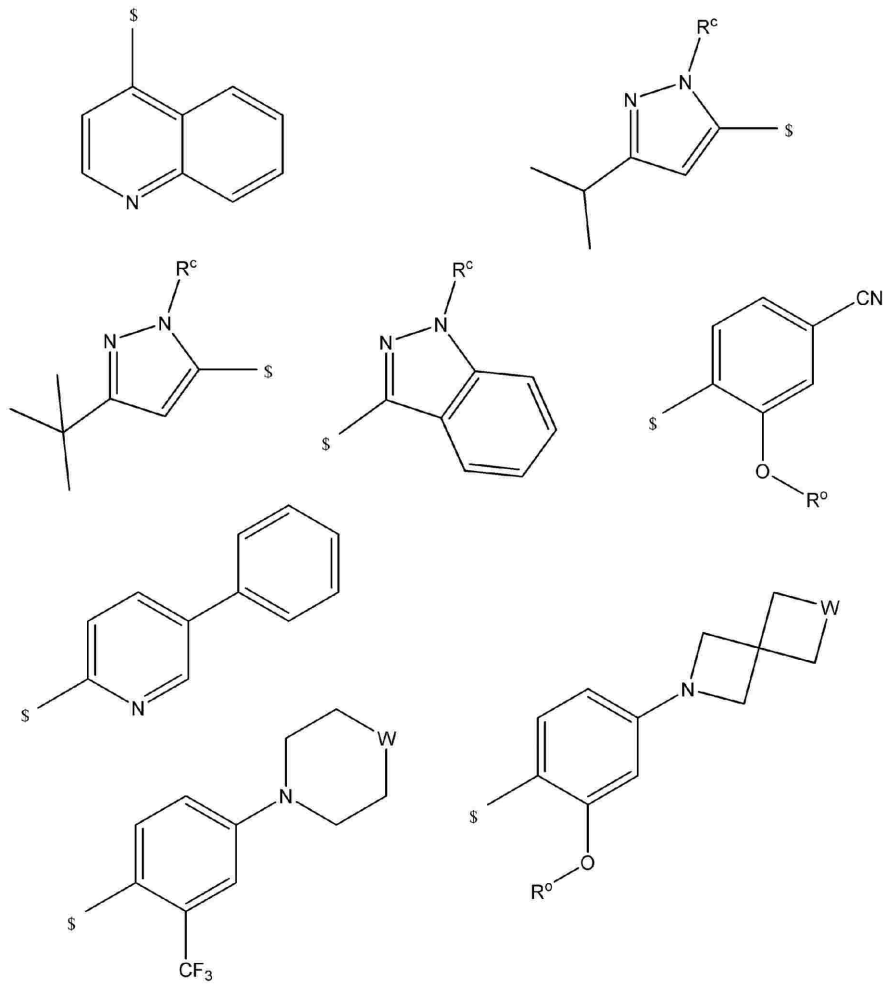
【化49】



30

40

50



10

20

である。

【 0 0 9 8 】

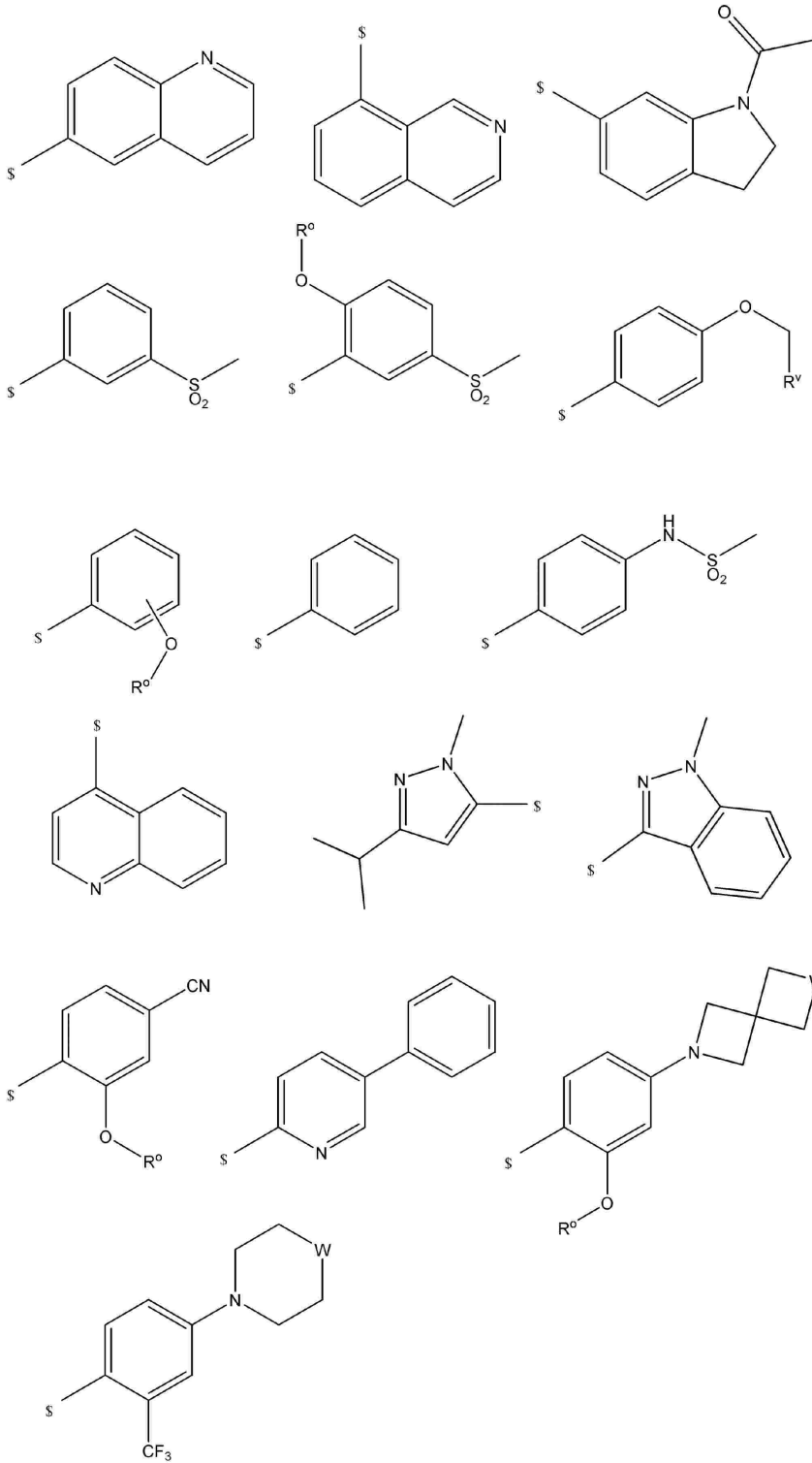
最も好ましくは、群VAは、群VA-5であり、すなわち、

30

40

50

【化50】



10

20

30

40

である。

【0099】

よって、好ましい組み合わせ（組み合わせB1）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；

群IIは、群II-1であり；

群IIIは、群III-1であり；

群IVは、群IV-2であり；

群Vは（存在する場合）、群V-2であり；

群IAは、群IA-1であり；

50

群IIAは、群IIA-1であり；
 群IIIAは、群IIIA-1であり；
 群IVAは、群IVA-1であり；かつ
 群VAは（存在する場合）、群VA-2である。

【0100】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせB2）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
 群IIは、群II-1であり；
 群IIIは、群III-1であり；
 群IVは、群IV-3であり；
 群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
 群IAは、群IA-1であり；
 群IIAは、群IIA-1であり；
 群IIIAは、群IIIA-1であり；
 群IVAは、群IVA-1であり；かつ
 群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

10

【0101】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせB3）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
 群IIは、群II-1であり；
 群IIIは、群III-1であり；
 群IVは、群IV-4であり；
 群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
 群IAは、群IA-1であり；
 群IIAは、群IIA-1であり；
 群IIIAは、群IIIA-1であり；
 群IVAは、群IVA-1であり；かつ
 群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

20

【0102】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせB4）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
 群IIは、群II-1であり；
 群IIIは、群III-1であり；
 群IVは、群IV-5であり；
 群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
 群IAは、群IA-1であり；
 群IIAは、群IIA-1であり；
 群IIIAは、群IIIA-1であり；
 群IVAは、群IVA-1であり；かつ
 群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

30

40

【0103】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせB5）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
 群IIは、群II-2であり；
 群IIIは、群III-2であり；
 群IVは、群IV-5であり；
 群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
 群IAは、群IA-1であり；
 群IIAは、群IIA-2であり；
 群IIIAは、群IIIA-2であり；

50

群IVAは、群IVA-2であり；かつ
群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

【 0 1 0 4 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 6）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
群IIは、群II-2'であり；
群IIIは、群III-2であり；
群IVは、群IV-5であり；
群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
群IAは、群IA-1であり；
群IIAは、群IIA-2であり；
群IIIAは、群IIIA-2であり；
群IVAは、群IVA-2であり；かつ
群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

10

【 0 1 0 5 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 7）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
群IIは、群II-3であり；
群IIIは、群III-3であり；
群IVは、群IV-5であり；
群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
群IAは、群IA-1であり；
群IIAは、群IIA-3であり；
群IIIAは、群IIIA-2であり；
群IVAは、群IVA-3であり；かつ
群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

20

【 0 1 0 6 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 8）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
群IIは、群II-3であり；
群IIIは、群III-4であり；
群IVは、群IV-5であり；
群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
群IAは、群IA-1であり；
群IIAは、群IIA-3であり；
群IIIAは、群IIIA-2であり；
群IVAは、群IVA-4であり；かつ
群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

30

【 0 1 0 7 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 9）は次の通りである：

群Iは、群I-1であり；
群IIは、群II-3であり；
群IIIは、群III-4であり；
群IVは、群IV-5であり；
群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
群IAは、群IA-1であり；
群IIAは、群IIA-3であり；
群IIIAは、群IIIA-2であり；
群IVAは、群IVA-4であり；かつ
群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

40

50

【 0 1 0 8 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 1 0）は次の通りである：

- 群Iは、群I-2であり；
- 群IIは、群II-4であり；
- 群IIIは、群III-5であり；
- 群IVは、群IV-6であり；
- 群Vは（存在する場合）、群V-2であり；
- 群IAは、群IA-2であり；
- 群IIAは、群IIA-4であり；
- 群IIIAは、群IIIA-3であり；
- 群IVAは、群IVA-5であり；かつ
- 群VAは（存在する場合）、群VA-3である。

10

【 0 1 0 9 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 1 1）は次の通りである：

- 群Iは、群I-3であり；
- 群IIは、群II-5であり；
- 群IIIは、群III-5であり；
- 群IVは、群IV-6であり；
- 群Vは（存在する場合）、群V-3であり；
- 群IAは、群IA-3であり；
- 群IIAは、群IIA-4であり；
- 群IIIAは、群IIIA-3であり；
- 群IVAは、群IVA-5であり；かつ
- 群VAは（存在する場合）、群VA-4である。

20

【 0 1 1 0 】

別の好ましい組み合わせ（組み合わせ B 1 2）は次の通りである：

- 群Iは、群I-4であり；
- 群IIは、群II-6であり；
- 群IIIは、群III-6であり；
- 群IVは、群IV-6であり；
- 群Vは（存在する場合）、群V-3であり；
- 群IAは、群IA-3であり；
- 群IIAは、群IIA-4であり；
- 群IIIAは、群IIIA-4であり；
- 群IVAは、群IVA-6であり；かつ
- 群VAは（存在する場合）、群VA-5である。

30

【 0 1 1 1 】

式（I）の化合物において、環Aおよび環B上の各置換基は、より狭義には以下のように定義することができる。

【 0 1 1 2 】

好ましくは、Qは、CHまたはNから選択される。

40

【 0 1 1 3 】

好ましくは、TはCHである。

【 0 1 1 4 】

好ましくは、Wは、CH₂、O、NR^Y、またはS(O)₂である。最も好ましくは、Wは、CH₂、OまたはNR^Yである。

【 0 1 1 5 】

好ましくは、Zは、C(O)またはS(O)₂である。最も好ましくは、Zは、C(O)である。

【 0 1 1 6 】

好ましくは、R^aは、O-C₁-C₃アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で

50

置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^a は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^a は、 CH_3 、 CH_2CH_3 、または CH_2OCH_3 である。

【0117】

好ましくは、 R^b は、 C_1-C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される。さらに好ましくは、 R^b は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^b は CH_3 である。

【0118】

好ましくは、 R^c は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~3の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^c は、 C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^c は CH_3 である。

10

【0119】

好ましくは、 R^d は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_4 アルキル；または $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されているフェニルから独立して選択される。さらに好ましくは、 R^d は、 C_1-C_4 アルキルまたはフェニルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^d は、 $CH(CH_3)_2$ または $C(CH_3)_3$ から独立して選択される。

【0120】

好ましくは、 R^e は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^e は、 C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^e は CH_3 である。

20

【0121】

好ましくは、 R^f は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^f は、 C_1-C_3 アルキルである。なおさらに好ましくは、 R^f は、 CH_3 、 CH_2CH_3 、または $CH(CH_3)_2$ である。

【0122】

好ましくは、 R^g は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^g はHである。

【0123】

好ましくは、 R^h は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^h は C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^h は CH_3 である。

30

【0124】

好ましくは、 R^i は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^i は C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^i は CH_3 である。

【0125】

好ましくは、 R^j は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^j はHである。

【0126】

好ましくは、 R^k は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^k は C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^k は CH_3 である。

40

【0127】

好ましくは、 R^l は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^l はHである。

【0128】

好ましくは、 R^m は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1-C_4 アルキルである。さらに好ましくは、 R^m は C_1-C_4 アルキルである。なおさらに好ましくは、 R^m は C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^m は CH_3 である。

【0129】

50

好ましくは、 R^n は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^n はHである。

【0130】

好ましくは、 R^o は、O- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル；またはO- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されているフェニルから独立して選択される。よ
り好ましくは、 R^o は、O- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル；またはフェニルから独立して選択される。な
おより好ましくは、 R^o は、O- C_1 - C_3 アルキルから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル；またはフェニルから独立して選択される。さらに好ま
しくは、 R^o は、 C_1 - C_3 アルキルまたはフェニルから独立して選択される。なおさらに好
ましくは、 R^o は、 C_1 - C_3 アルキルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^o は、 CH_3 、 CH_2CH_3 、または $CH(CH_3)_2$ から独立して選択される。

10

【0131】

好ましくは、 R^p は、 C_1 - C_3 アルキル、F、ClおよびBrから独立して選択される。さら
に好ましくは、 R^p は、 C_1 - C_3 アルキルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^p は
 CH_3 である。

【0132】

好ましくは、 R^q は、O- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^q は、O- C_1 - C_3 アルキルから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキルである
。最も好ましくは、 R^q は、 CH_3 、 CH_2CH_3 、または CH_2OCH_3 である。

20

【0133】

好ましくは、 R^r は、H、またはO- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択され
る0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキルである。さらに好ましくは、 R^r は、
Hまたは C_1 - C_3 アルキルである。なおさらに好ましくは、 R^r は C_1 - C_3 アルキルである。
最も好ましくは、 R^r は CH_3 である。

【0134】

好ましくは、 R^s は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^s はHである。

【0135】

好ましくは、 R^t は、O- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_4 アルキルである。さらに好ましくは、 R^t は C_1 - C_4 アルキルである。なおさらに好ましくは、 R^t は C_3 - C_4 アルキルである。最も好ましくは、 R^t は
 $C(CH_3)_3$ である。

30

【0136】

好ましくは、 R^u は、 C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される。さらに好
ましくは、 R^u は、 C_1 - C_3 アルキルから独立して選択される。最も好ましくは、 R^u は CH_3
である。

【0137】

好ましくは、 R^v は、 C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから選択される0~1の置換基で置換されているフェニルである。さらに好ましくは、 R^v は、 C_1 - C_3 アルキルから選択される0~1の置換基で置換されているフェニルである。最も好ましくは、 R^v はフェニルである。

40

【0138】

好ましくは、 R^w は、Hまたは CH_3 である。最も好ましくは、 R^w はHである。

【0139】

好ましくは、 R^x は、Hまたは CH_3 から独立して選択される。最も好ましくは、 R^x はHである。

【0140】

好ましくは、 R^y は、H、O- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから選択される0~1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル； C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから選択される0~1

50

の置換基で置換されているベンジル；または C_1-C_3 アルキル、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で置換されている C_3-C_5 シクロアルキルである。より好ましくは、 R^y は、H、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル； C_1-C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているベンジル；または C_1-C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_3-C_5 シクロアルキルである。なおより好ましくは、 R^y は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル； C_1-C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているベンジル；または C_1-C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_3-C_5 シクロアルキルである。さらに好ましくは、 R^y は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；ベンジル；またはシクロプロピルである。なおさらに好ましくは、 R^y は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；またはシクロプロピルである。もっと好ましくは、 R^y は C_1-C_3 アルキルである。最も好ましくは、 R^y は、 CH_3 、 CH_2CH_3 、または $CH(CH_3)_2$ である。

10

【0141】

好ましくは、 n は、2または3である。最も好ましくは、 n は2である。

【0142】

好ましくは、 p は、0または1である。より好ましくは、 p は0である。

【0143】

好ましくは、 q は1である。

20

【0144】

好ましくは、 r は、1または2である。最も好ましくは、 r は2である。

【0145】

好ましくは、 s は、1または2である。最も好ましくは、 s は2である。

【0146】

好ましくは、 t は、0または1である。より好ましくは、 t は0である。

【0147】

好ましくは、 u は3である。

【0148】

好ましくは、 v は、2または3である。最も好ましくは、 v は2である。

30

【0149】

よって、好ましい組み合わせ（組み合わせC1）では：

Qは、CHまたはNであり；

TはCHであり；

Wは、 CH_2 、O、 NR^y 、または $S(O)_2$ であり；

Zは、 $C(O)$ または $S(O)_2$ であり；

R^a は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

R^b は、 C_1-C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択され；

R^c は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～3の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

40

R^d は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_4 アルキル；または $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されているフェニルから独立して選択され；

R^e は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；

R^f は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

R^g は、Hまたは CH_3 ；

R^h は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換さ

50

れている C_1-C_3 アルキルであり；

R^i は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

R^j は、Hまたは CH_3 であり；

R^k は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基を有する C_1-C_3 アルキルであり；

R^l は、Hまたは CH_3 C_1-C_3 アルキルであり；

R^m は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_4 アルキルであり；

R^n は、Hまたは CH_3 であり；

R^o は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；または $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されているフェニルから独立して選択され；

R^p は、 C_1-C_3 アルキル、F、ClおよびBrから独立して選択され；

R^q は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

R^r は、H、または $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

R^s は、Hまたは CH_3 であり；

R^t は、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_4 アルキルであり；

R^u は、 C_1-C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択され；

R^v は、 C_1-C_3 アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で置換されているフェニルであり；

R^w は、Hまたは CH_3 であり；

R^x は、Hまたは CH_3 から独立して選択され；

R^y は、H、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；または C_1-C_3 アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で置換されているベンジル；または C_1-C_3 アルキル、 $O-C_1-C_3$ アルキル、FおよびClから選択される0～1の置換基で置換されている C_3-C_5 シクロアルキルであり；

nは、2または3であり；

pは、0または1であり；

qは1であり；

rは、1または2であり；

sは、1または2であり；

tは、0または1であり；

uは、2または3であり；かつ

vは、2または3である。

【0150】

より好ましい組み合わせ（組み合わせC2）では；

QおよびTは、組み合わせC1に定義される通りであり；

Wは、 CH_2 、Oまたは NR^y であり；

ZはC(O)であり；

R^a は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり；

R^b は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択され；

R^c は C_1-C_3 アルキルであり；

R^d は、 C_1-C_4 アルキルまたはフェニルから独立して選択され；

R^e は C_1-C_3 アルキルであり；

R^f は C_1-C_3 アルキルであり；

10

20

30

40

50

R^g はHであり；
 R^h は C_1 - C_3 アルキルであり；
 R^i は C_1 - C_3 アルキルであり；
 R^j はHであり；
 R^k は C_1 - C_3 アルキルであり；
 R^l はHであり；
 R^m は C_1 - C_4 アルキルであり；
 R^n はHであり；
 R^o は、O- C_1 - C_3 アルキル、FおよびClから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1 - C_3 ；またはフェニルから独立して選択され； 10
 R^p は、 C_1 - C_3 アルキルから独立して選択され；
 R^q は、O- C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキルであり；
 R^r は、Hまたは C_1 - C_3 アルキルであり；
 R^s は、Hまたは CH_3 であり；
 R^t は C_1 - C_4 アルキルであり；
 R^u は、 C_1 - C_3 アルキルから独立して選択され；
 R^v は、 C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているフェニルであり；
 R^w はHであり；
 R^x はHであり；かつ 20
 R^y は、H、O- C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル；または C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているベンジル；または C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_3 - C_5 シクロアルキルであり；
 n は2であり；
 p は、0または1であり；
 q は1であり；
 r は2であり；
 s は2であり；
 t は、0または1であり； 30
 u は、2または3であり；かつ
 v は2である。

【0151】

より好ましい組み合わせ（組み合わせC3）では：
 Q および T は、組み合わせC1に定義される通りであり；
 W 、 Z 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 、 R^f 、 R^g 、 R^h 、 R^i 、 R^j 、 R^k 、 R^l 、 R^m 、 R^n 、 R^p 、 R^q 、 R^r 、 R^s 、 R^t 、 R^u 、 R^w 、 R^x 、 n 、 p 、 q 、 r 、 s 、 t 、 u 、および v は、組み合わせC2に定義される通りであり；
 R^o は、O- C_1 - C_3 アルキルから独立して選択される0～1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル；またはフェニルから独立して選択され； 40
 R^v は、フェニルであり；
 R^y は、O- C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1 - C_3 アルキル；または C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているベンジル；または C_1 - C_3 アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_3 - C_5 シクロアルキルである。

【0152】

さらに好ましい組み合わせ（組み合わせC4）では；
 Q および T は、組み合わせC1に定義される通りであり；
 W 、 Z 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 、 R^f 、 R^g 、 R^h 、 R^i 、 R^j 、 R^k 、 R^l 、 R^m 、 R^n 、 R^p 、 R^q 、 R^r 、 R^s 、 R^t 、 R^u 、 R^w 、 R^x 、 n 、 p 、 q 、 r 、 s 、 t 、 u 、および v は、組み合わせC2に定 50

義される通りであり；

R^oおよびR^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；かつ

R^yは、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキル；またはベンジル；またはシクロプロピルである。

【0153】

なおさらに好ましい組み合わせ（組み合わせC 5）では：

QおよびTは、組み合わせC 1に定義される通りであり；

W、Z、R^a、R^b、R^c、R^d、R^e、R^f、R^g、R^h、Rⁱ、R^j、R^k、R^l、R^m、Rⁿ、R^p、R^q、R^r、R^s、R^t、R^u、R^w、R^x、n、p、q、r、s、t、u、およびvは、組み合わせC 2に定義される通りであり；

10

R^oおよびR^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；かつ

R^yは、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキル；またはシクロプロピルである。

【0154】

なおさらに好ましい組み合わせ（組み合わせC 6）では：

QおよびTは、組み合わせC 1に定義される通りであり；

W、Z、R^b、R^c、R^e、R^f、R^g、R^h、Rⁱ、R^j、R^k、R^l、Rⁿ、R^p、R^u、R^w、R^x、n、p、q、r、s、t、およびvは、組み合わせC 2に定義される通りであり；

R^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；

R^aは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH₂OCH₃であり；

20

R^dは、CH(CH₃)₂またはC(CH₃)₃であり；

R^mはC₁-C₃アルキルであり；

R^oは、C₁-C₃アルキルまたはフェニルから独立して選択され；

R^qは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH₂OCH₃であり；

R^rはC₁-C₃アルキルであり；

R^sはHであり；

R^tはC₃-C₄アルキルであり；

R^yはC₁-C₃アルキルであり；かつ

uは3である。

【0155】

なおさらに好ましい組み合わせ（組み合わせC 7）では：

QおよびTは、組み合わせC 1に定義される通りであり；

W、Z、R^b、R^c、R^e、R^f、R^g、R^h、Rⁱ、R^j、R^k、R^l、Rⁿ、R^p、R^u、R^w、R^x、n、p、q、r、s、t、およびvは、組み合わせC 2に定義される通りであり；

R^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；

R^a、R^d、R^m、R^q、R^r、R^s、R^t、R^y、およびuは、組み合わせC 6に定義される通りであり；かつ

R^oは、C₁-C₃アルキルから独立して選択される。

【0156】

なおさらに好ましい組み合わせ（組み合わせC 8）では：

QおよびTは、組み合わせC 1に定義される通りであり；

W、Z、R^b、R^c、R^e、R^f、R^g、R^h、Rⁱ、R^j、R^k、R^l、Rⁿ、R^p、R^u、R^w、R^x、n、p、q、r、s、t、およびvは、組み合わせC 2に定義される通りであり；

R^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；

R^a、R^d、R^m、R^q、R^r、R^s、R^t、およびuは、組み合わせC 6に定義される通りであり、

R^oは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂から独立して選択され；かつ

R^yは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂である。

【0157】

なおよりさらに好ましい組み合わせ（組み合わせC 9）では：

QおよびTは、組み合わせC 1に定義される通りであり；

50

W、Z、R^g、R^j、R^l、Rⁿ、R^w、R^x、n、p、q、r、s、t、およびvは、組み合わせC 2に定義される通りであり；

R^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；

R^a、R^d、R^q、R^s、およびuは、組み合わせC 6に定義される通りであり、

R^oおよびR^yは、組み合わせC 9に定義される通りであり；

R^bはCH₃であり；

R^cはCH₃であり；

R^eはCH₃であり；

R^fは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂であり；

R^hはCH₃であり；

RⁱはCH₃であり；

R^kはCH₃であり；

R^mはCH₃であり；

R^pはCH₃であり；

R^rはCH₃であり

R^uはCH₃であり；かつ

R^tはC(CH₃)₃である。

【0158】

最も好ましい組み合わせ（組み合わせC 10）では：

QおよびTは、組み合わせC 1に定義される通りであり；

W、Z、R^g、R^j、R^l、Rⁿ、R^w、R^x、n、q、r、s、およびvは、組み合わせC 2に定義される通りであり；

R^vは、組み合わせC 3に定義される通りであり；

R^a、R^d、R^q、R^s、およびuは、組み合わせC 6に定義される通りであり、

R^oおよびR^yは、組み合わせC 7に定義される通りであり；

R^c、R^e、R^f、Rⁱ、R^k、R^m、R^p、R^r、R^u、およびR^tは、組み合わせC 10に定義される通りであり；かつ

Pは0であり；かつ

tは0である。

【0159】

上記の組み合わせC 10において、pおよびtはそれぞれ0であるため、R^bおよびR^pの定義は省略されていることが理解されよう。

【0160】

本発明において、上記組み合わせの好ましい組み合わせは次の通りである：

組み合わせA 1、組み合わせB 1、および組み合わせC 1の組み合わせ；組み合わせA 2、組み合わせB 1、および組み合わせC 1の組み合わせ；組み合わせA 3、組み合わせB 1、および組み合わせC 1の組み合わせ；組み合わせA 4、組み合わせB 1、および組み合わせC 1の組み合わせ；組み合わせA 1、組み合わせB 2、および組み合わせC 2の組み合わせ；組み合わせA 2、組み合わせB 2、および組み合わせC 2の組み合わせ；組み合わせA 3、組み合わせB 2、および組み合わせC 2の組み合わせ；組み合わせA 4、組み合わせB 2、および組み合わせC 2の組み合わせ；組み合わせA 1、組み合わせB 3、および組み合わせC 3の組み合わせ；組み合わせA 2、組み合わせB 3、および組み合わせC 3の組み合わせ；組み合わせA 3、組み合わせB 3、および組み合わせC 3の組み合わせ；組み合わせA 4、組み合わせB 3、および組み合わせC 3の組み合わせ；組み合わせA 1、組み合わせB 4、および組み合わせC 4の組み合わせ；組み合わせA 2、組み合わせB 4、および組み合わせC 4の組み合わせ；組み合わせA 3、組み合わせB 4、および組み合わせC 4の組み合わせ；組み合わせA 4、組み合わせB 4、および組み合わせC 4の組み合わせ；組み合わせA 1、組み合わせB 5、および組み合わせC 5の組み合わせ；組み合わせA 2、組み合わせB 5、および組み合わせC 5の組み合わせ；組み合わせA 3、組み合わせB 5、および組み合わせC 5の組み合わせ；組み合わせA 4、組み合わせ

10

20

30

40

50

B 5、および組み合わせ C 5 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 6、および組み合わせ C 6 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 6、および組み合わせ C 6 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 6、および組み合わせ C 6 の組み合わせ；組み合わせ A 4、組み合わせ B 6、および組み合わせ C 6 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 7、および組み合わせ C 7 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 7、および組み合わせ C 7 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 7、および組み合わせ C 7 の組み合わせ；組み合わせ A 4、組み合わせ B 7、および組み合わせ C 7 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 8、および組み合わせ C 8 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 8、および組み合わせ C 8 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 8、および組み合わせ C 8 の組み合わせ；組み合わせ A 4、組み合わせ B 8、および組み合わせ C 8 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 9、および組み合わせ C 9 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 9、および組み合わせ C 9 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 9、および組み合わせ C 9 の組み合わせ；組み合わせ A 4、組み合わせ B 9、および組み合わせ C 9 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 10、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 10、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 10、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 4、組み合わせ B 10、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 11、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 11、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 11、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 4、組み合わせ B 11、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 1、組み合わせ B 12、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 2、組み合わせ B 12、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；組み合わせ A 3、組み合わせ B 12、および組み合わせ C 10 の組み合わせ；ならびに組み合わせ A 4、組み合わせ B 12、および組み合わせ C 10 の組み合わせ。

10

20

【0161】

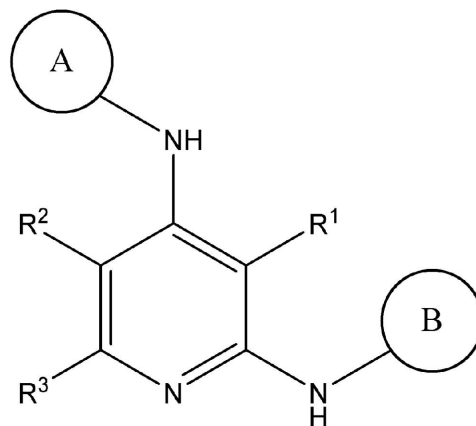
上記の組み合わせにおいて、組み合わせ C 1 ~ C 10 中の変数が組み合わせ B 1 ~ B 12 のいずれかに存在しない限り、組み合わせ C 1 ~ C 10 中の変数は無視されることが理解されよう。

【0162】

好ましい実施形態では、本発明の化合物は、(a) 式 (I a) の化合物または (b) その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物であって：

30

【化51】



(I a)

40

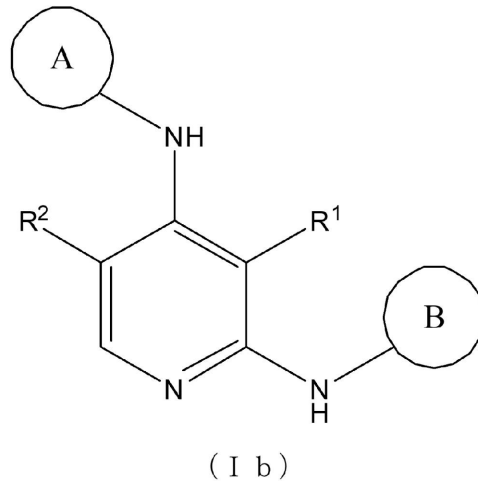
式中、R¹、R²、R³、環Aおよび環Bは上記で定義される通りであり（上記で定義された組み合わせのいずれかを含む）、かつ環Aおよび環Bの構造中の*および\$のそれぞれは、関連するNH基への結合を示す。

【0163】

50

より好ましい実施形態では、本発明の化合物は、(a)式(Ib)の化合物または(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物であって：

【化52】



式中、 R^1 、 R^2 、環Aおよび環Bは上記で定義される通りであり（上記で定義された組み合わせのいずれかを含む）、かつ環Aおよび環Bの構造中の*および\$のそれぞれは、関連するNH基への結合を示す。

【0164】

本発明において、良好な結果を得るためには、環Aと環Bの性質のバランスが重要であることが理解されるだろう。本発明において、環Aおよび環Bのための基は、好ましい順に列挙されている、すなわち、群Iは環Aにとって最も好ましい基である一方、群Vは、列挙されている中では最も好ましくない基であり、群IAは環Bにとって最も好ましい基である一方、群VAは、列挙されている中では最も好ましくない基である。本発明により定義されるように、より好ましいA環基と、好ましさには劣るものであるB環基とを一緒に組み合わせることは許容され、逆もまた同様である。また、より好ましいA環基とより好ましいB環基とを一緒に組み合わせることも可能である。しかしながら、最も好ましくないA環基と最も好ましくないB環基を一緒に組み合わせることは許容されない。

【0165】

一般に、環Aおよび環B（特に環B）のそれぞれは、比較的電子が豊富であることが好ましいことに留意されたい。環Aまたは環Bが電子求引性置換基を有する場合、一般に、電子供与性置換基でさらに置換されることが好ましい。

【0166】

環Aが、上記で定義される群I、群II、群III、群IVおよび群V内の環から選択され；かつ環Bが、上記で定義される群IA、群IIA、群IIIA、群IVAおよび群VA内の環から選択される場合：

次のものが好ましい：

- ・ XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが、群I内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIA、群IVAまたは群VA内の環であり；および
- ・ XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが、群II内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環である。

【0167】

次のものがより好ましい（独立して、または上記の好ましい箇条書きと組み合わせて）：

- ・ XがNHであり；YがNHであり； R^2 がHであり；かつ環Aが、群III内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環である。

【0168】

好ましい実施形態では、環Aは、上記で定義される群I、群II、群IIIおよび群IV内の環であり；かつ環Bは、上記で定義される群IA、群IIA、群IIIAおよび群IVA内の環であり

; かつ

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群Iまたは群II内の環である場合: 環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環であり;

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群III内の環である場合: 環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり;

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群IV内の環である場合: 環Bは、群IA内の環である。

【0169】

この実施形態では、次のものがさらに好ましい:

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群I内の環である場合: 環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環であり; および

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群II内の環である場合: 環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環である。

【0170】

この実施形態では、次のものもさらに好ましい(単独で、または上記の望ましい箇条書きと組み合わせて):

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群III内の環である場合: 環Bは、群IAまたは群IIA内の環である。

【0171】

この実施形態では、次のものがなおさらに好ましい:

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群II内の環である場合: 環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり; および

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群III内の環である場合: 環Bは、群IAまたは群IIA内の環である。

【0172】

別の好ましい実施形態では、環Aは、上記で定義される群I、群IIおよび群III内の環であり; かつ環Bは、上記で定義される群IA、群IIA、および群IIIA内の環であり; かつ

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群I内の環である場合: 環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり;

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群II内の環である場合: 環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり;

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群III内の環である場合: 環Bは、群IA内の環である。

【0173】

別の好ましい実施形態では、環Aは、上記で定義される群Iまたは群II内の環であり; かつ環Bは、上記で定義される群IAまたは群IIA内の環であり; かつ

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群I内の環である場合: 環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり;

・ XがNHであり; YがNHであり; R^2 がHであり; かつ環Aが、群II内の環である場合: 環Bは、群IA内の環である。

【0174】

別の好ましい実施形態では、環Aは、上記で定義される群I内の環であり; かつ環Bは、上記で定義される群IA内の環である。

【0175】

次のものも一般的には好ましい:

・ XがNHであり; YがNHであり; かつ R^2 がF、Cl、Br、 $-COR^4$ 、 $-SO_2R^5$ 、 $-SOR^5$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ または $-NR^6_3^+$ である場合: 環Aは、群I内の環であり、かつ環Bは、群IA内の環である。

【0176】

次のものも一般的には好ましい:

10

20

30

40

50

・Xが結合であり、かつYがNHである場合： R^2 はHであり；環Aは、群Iまたは群II内の環であり；かつ環Bは、群IA内の環である。

【0177】

次のものも一般的には好ましい：

・XがNHであり、かつYが結合である場合： R^2 はHであり；環Aは、群Iまたは群II内の環であり；かつ環Bは、群IAまたは群IIA内の環である。

【0178】

次のものが一般的にはさらに好ましい：

・XがNHであり、かつYが結合である場合： R^2 はHであり；環Aは、群Iまたは群II内の環であり；かつ環Bは、群IAまたは群IIA内の環である。

10

【0179】

上記の好ましい実施形態の各々は、本明細書で定義される特定の組み合わせ（すなわち、組み合わせA1、組み合わせB1、組み合わせC1、およびそれらの組み合わせ）の各々と組み合わせることができることが理解されるだろう。本明細書で定義される任意の組み合わせが、上記の実施形態内に含まれない群（すなわち、群VまたはVA）または置換基（すなわち、 R^n 、 R^w 、 R^x ）を含む限り、それらの群または置換基は無視される。

【0180】

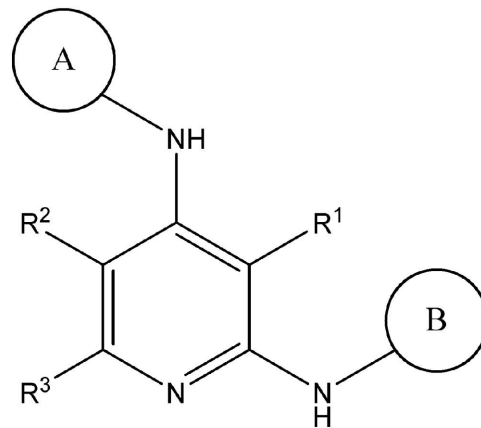
疑義を避けるため、環Aと環Bの組み合わせを定義するものとして本明細書に記載されている箇条書きの各々および全ては、本発明の別個の（すなわち分離可能な）実施形態であるとみなされることが理解されるだろう。

20

【0181】

特に好ましい実施形態では、本発明は、(a)式(Ia)の化合物または(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物を提供し：

【化53】



(I a)

30

式中、：

R^1 は、HまたはFであり；

40

R^2 は、HまたはFであり；

R^3 は、HまたはCH₃であり；

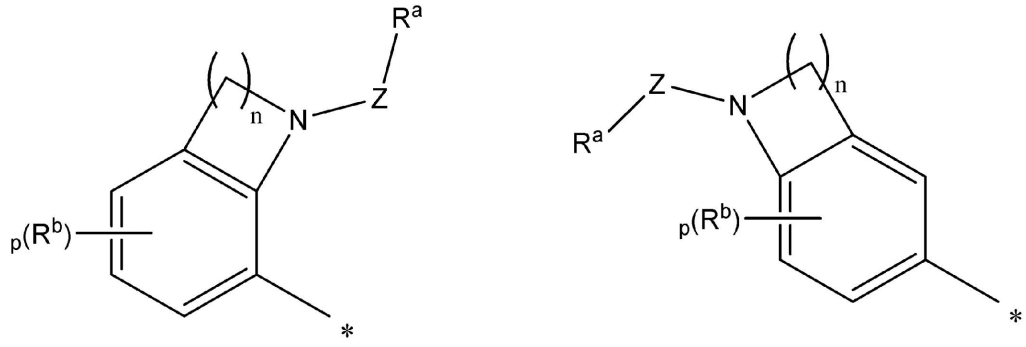
環Aは、群I、群II、群IIIおよび群IV内からの環から選択され、*は、NHへの結合を示し

；

群Iは：

50

【化54】

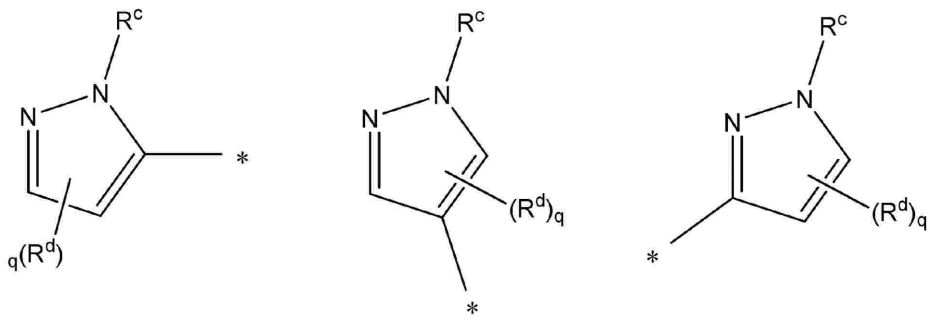


10

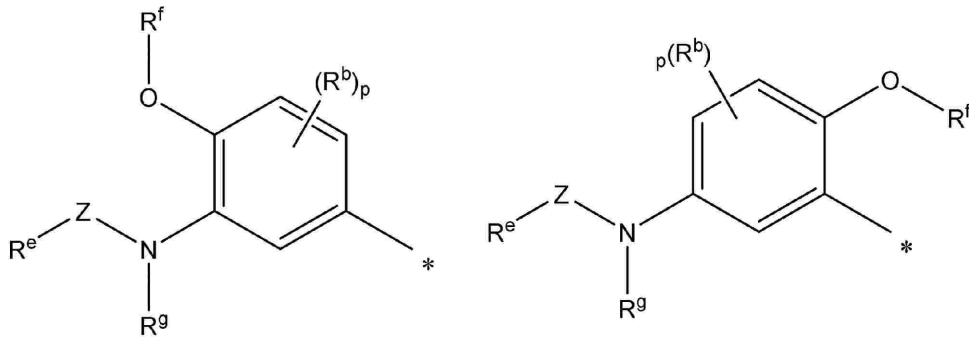
であり；

群IIは：

【化55】



20



30

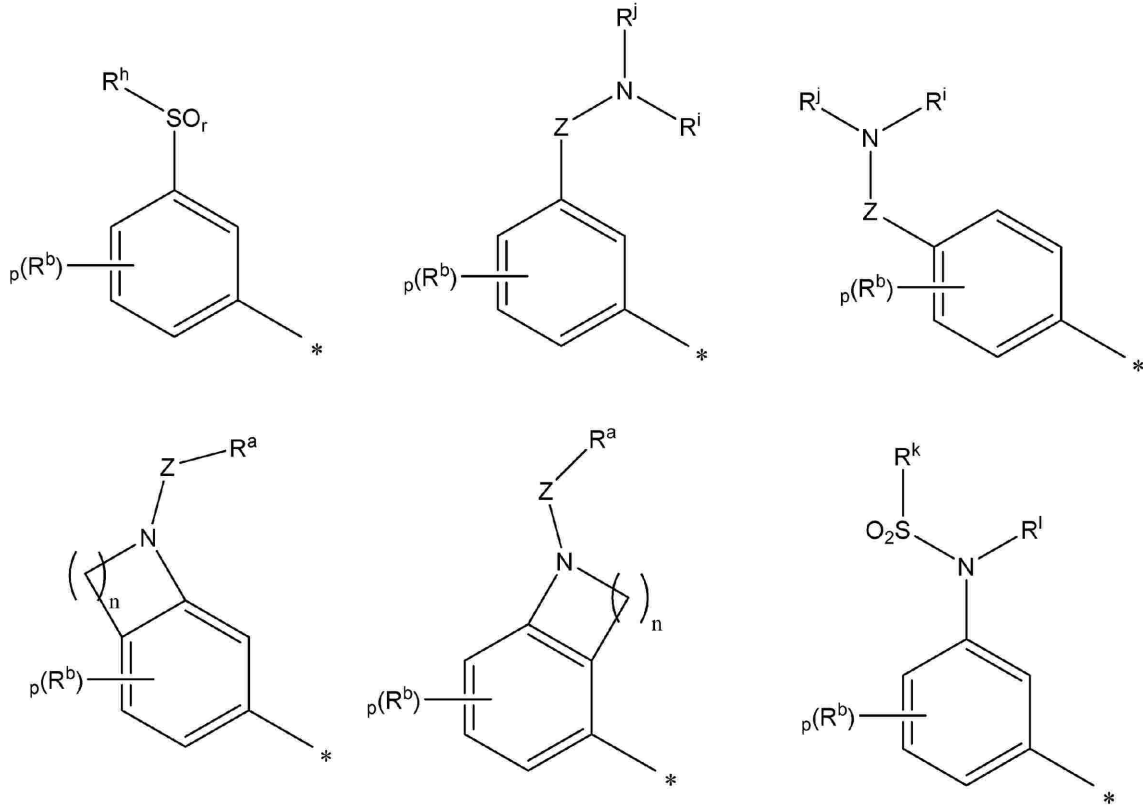
であり；

群IIIは：

40

50

【化56】



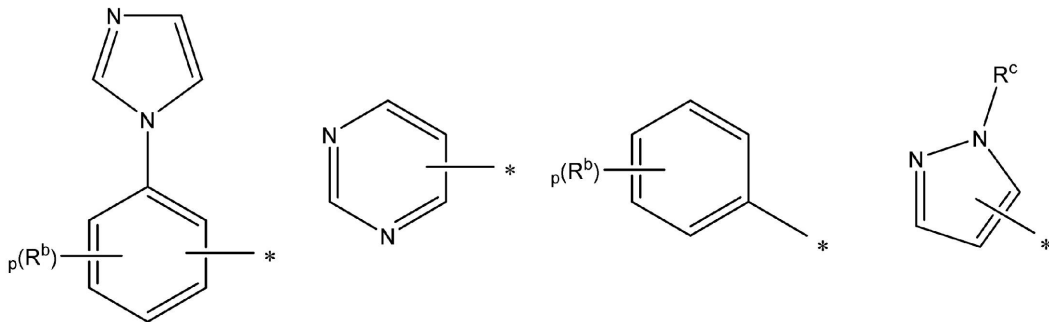
10

20

であり；

群IVは；

【化57】



30

であり；

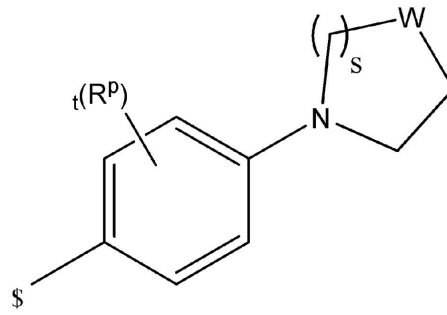
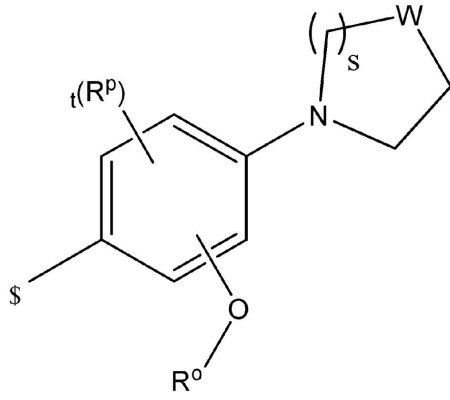
環Bは、群IA、群IIA、群IIIAおよび群IVA内の環から選択され、\$は、NHへの結合を示し；

群IAは

40

50

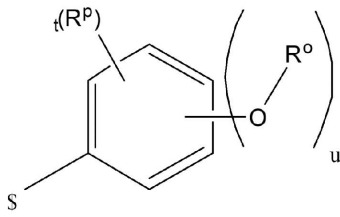
【化58】



10

であり：
群IIAは

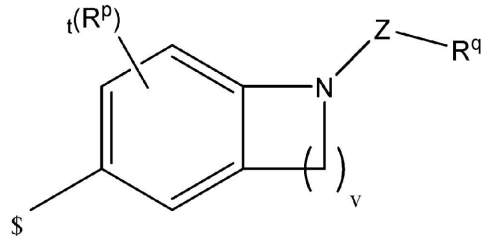
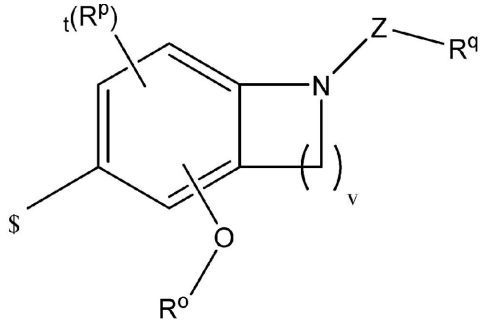
【化59】



20

であり：
群IIIAは

【化60】



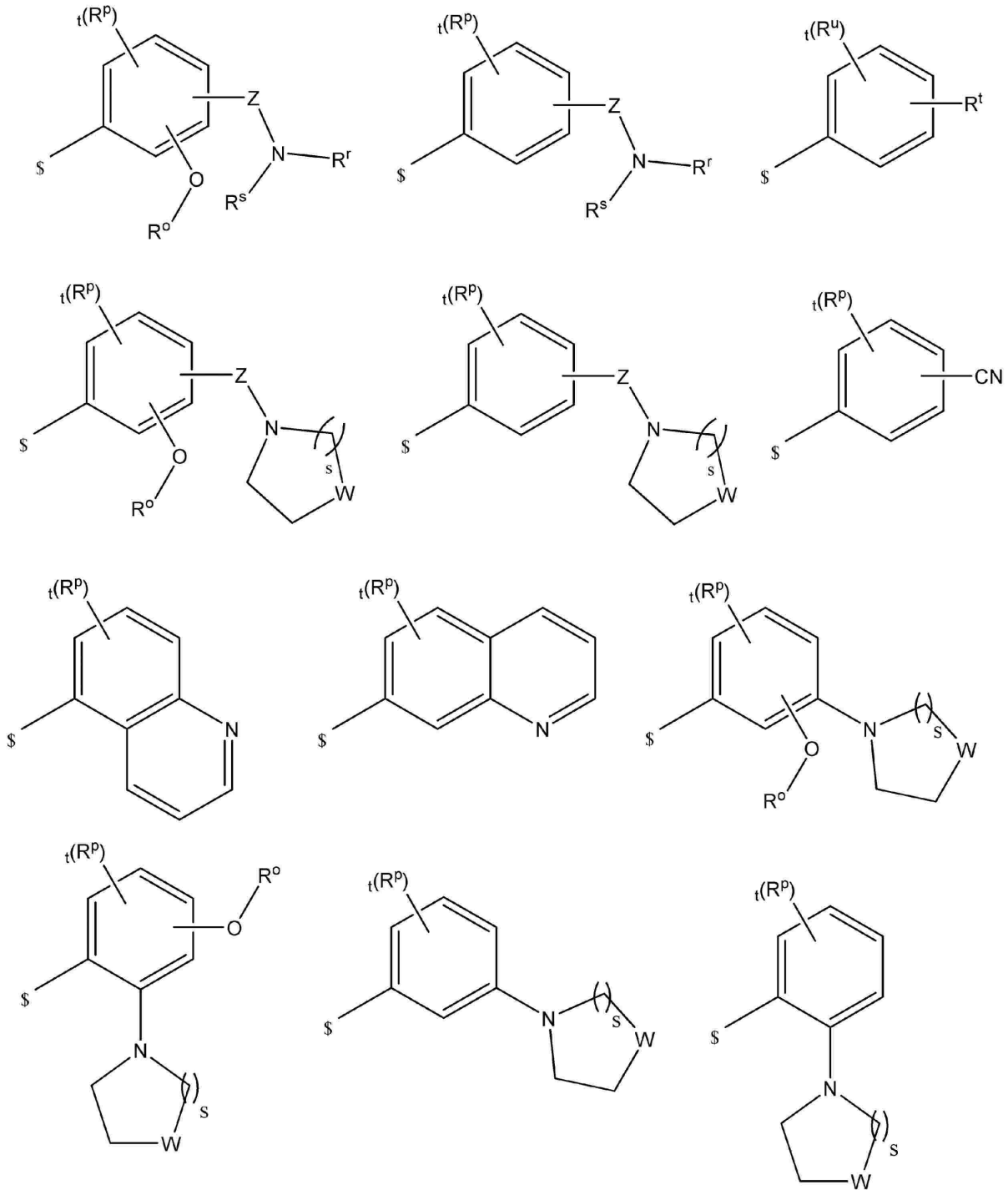
30

であり：
群IIIVAは

40

50

【化 6 1】



であり；

式中；

Wは、CH₂、O、またはNR^yであり；

ZはC(O)であり；

R^aは、O-C₁-C₃アルキルから選択される0～1の置換基で置換されているC₁-C₃アルキルであり；

R^bは、C₁-C₃アルキルから独立して選択され；

R^cはC₁-C₃アルキルであり；

R^dは、C₁-C₄アルキルから独立して選択されるか、またはフェニルであり；

R^eはC₁-C₃アルキルであり；

RはC₁-C₃アルキルであり；

40

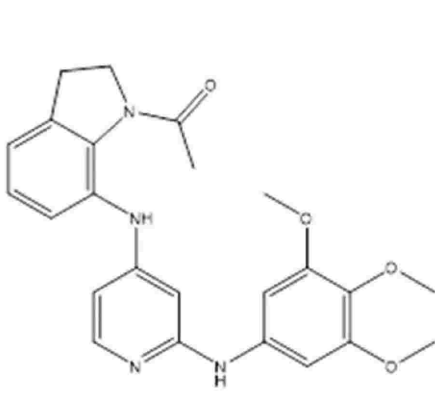
50

R^g はHであり；
 R^h は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^i は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^j はHであり；
 R^k は C_1-C_3 アルキルであり；
 R^l はHであり；
 R^o は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルから独立して選択される；またはフェニルであり；
 R^p は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択され
 R^q は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキルであり； 10
 R^r は、Hまたは C_1-C_3 アルキルであり；
 R^s は、Hまたは C_1-C_3 アルキルであり；
 R^t は C_1-C_4 アルキルであり；
 R^u は、 C_1-C_3 アルキルから独立して選択され；
 R^v は、 $O-C_1-C_3$ アルキルから選択される0～1の置換基で置換されている C_1-C_3 アルキル；またはシクロプロピルであり；
 n は2であり；
 p は、0または1であり；
 q は1であり； 20
 r は2であり；
 s は2であり；
 t は、0または1であり；
 u は、2～3であり；
 v は2であり；
 かつ；
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが、群I内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環であり；
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが、群II内の環である場合：環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり； 30
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが、群III内の環である場合：環Bは、群IA、群IIAまたは群IIIA内の環であり；
 ・ R^2 がHであり；かつ環Aが、群IV内の環である場合：環Bは、群IA内の環であり；
 ・ R^2 がFである場合：環Aは、群Iまたは群II内の環であり、かつ環Bは群IA内の環であり；
 ；
 ただし、式(I a)の化合物は、(a)次から選択される化合物でも、(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、または溶媒和物でもない。

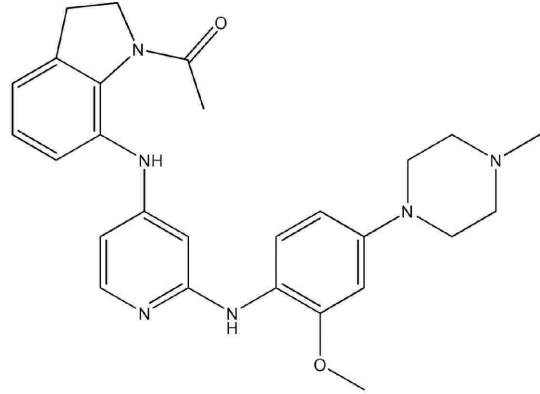
40

50

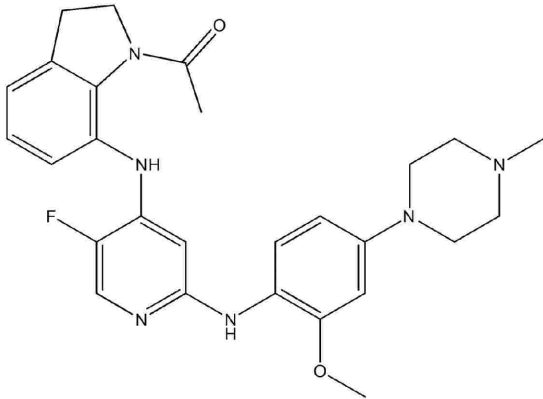
【化62】



10



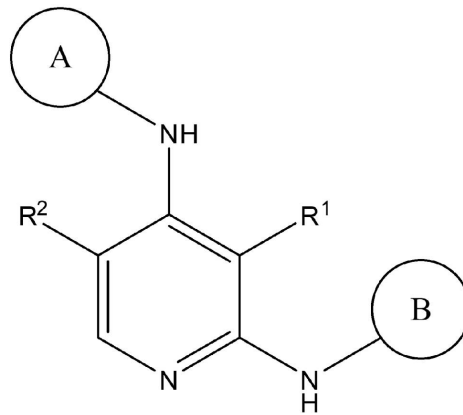
20



【0182】

さらに特に好ましい実施形態では、本発明は、(a)式(Ib)の化合物または(b)その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物を提供し：

【化63】



(Ib)

30

40

式中：

R^1 は、HまたはFであり；

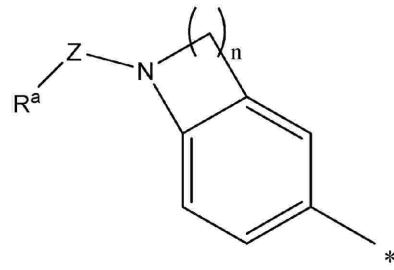
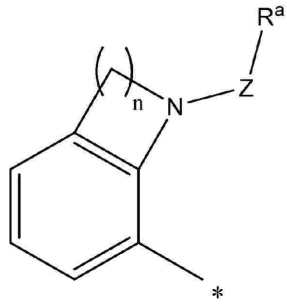
R^2 は、HまたはFであり；

環Aは、群I、群II、群IIIおよび群IV内の環から選択され、*は、NHへの結合を示し；

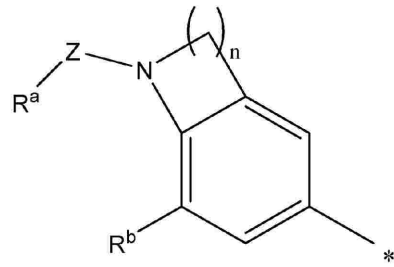
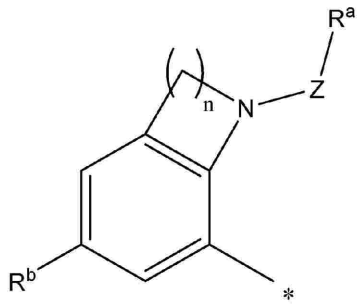
群Iは：

50

【化64】



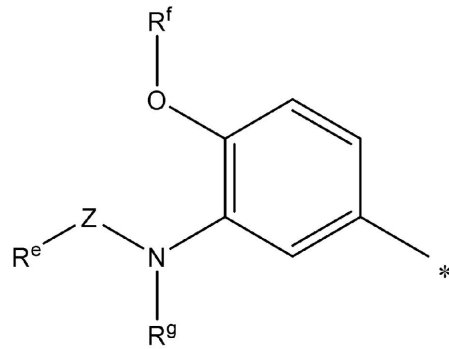
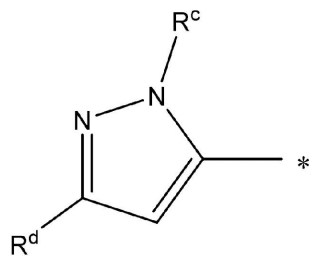
10



20

であり；
群IIは：

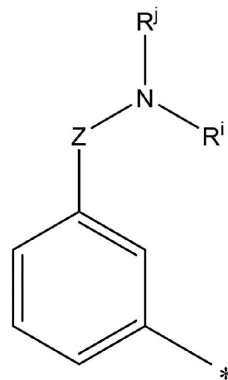
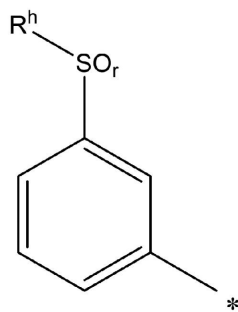
【化65】



30

であり；
群IIIは：

【化66】

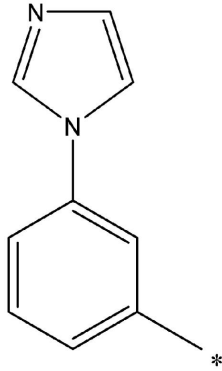


40

であり；
群IVは：

50

【化67】



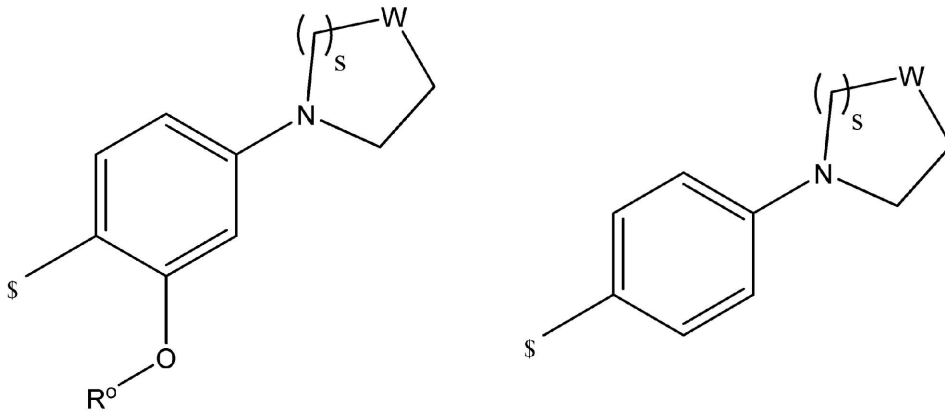
10

であり；

環Bは、群IA、群IIA、群IIIAおよび群IVA内の環から選択され、\$は、NHへの結合を示し；

群IAは：

【化68】

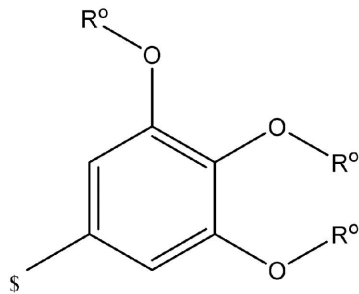


20

であり；

群IIAは：

【化69】

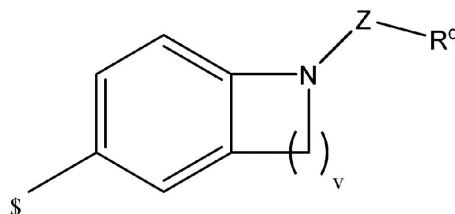


40

であり；

群IIIAは：

【化70】

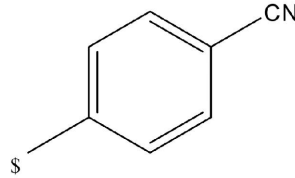
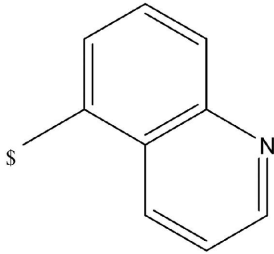
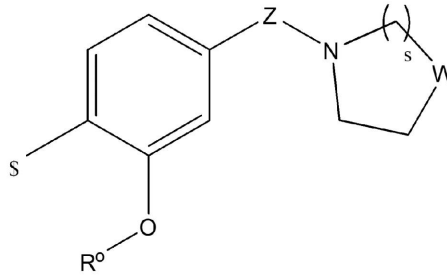
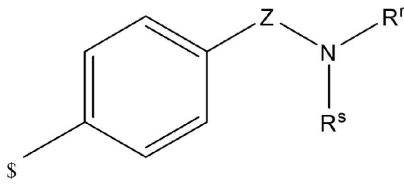


50

であり；

群IIIVAは；

【化71】



10

であり；

式中；

Wは、CH₂、O、またはNR^Yであり；

ZはC(O)であり；

R^aは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH₂OCH₃であり；

R^bはC₁-C₃アルキルであり；

R^cはC₁-C₃アルキルであり；

R^dは、CH(CH₃)₂またはC(CH₃)₃であり；

R^eはC₁-C₃アルキルであり；

R^fはC₁-C₃アルキルであり；

R^gはHであり；

R^hはC₁-C₃アルキルであり；

RⁱはC₁-C₃アルキルであり；

R^jはHであり；

R^oは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂から独立して選択され；

R^qは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH₂OCH₃であり；

R^rはC₁-C₃アルキルであり；

R^sはHであり；

R^Yは、CH₃、CH₂CH₃、またはCH(CH₃)₂であり；

nは2であり；

rは2であり；

sは2であり；

vは2であり；

かつ；

・R²がHであり；かつ環Aが、群I内の環である場合：環Bは、群IA、群IIA、群IIIAまたは群IVA内の環であり；

・R²がHであり；かつ環Aが、群II内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり；および

・R²がHであり；かつ環Aが、群III内の環である場合：環Bは、群IAまたは群IIA内の環であり、

・R²がHであり；かつ環Aが、群IV内の環である場合：環Bは、群IA内の環であり；

・R²がFである場合：環Aは群Iまたは群II内の環であり、かつ環Bは群IA内の環であり；

20

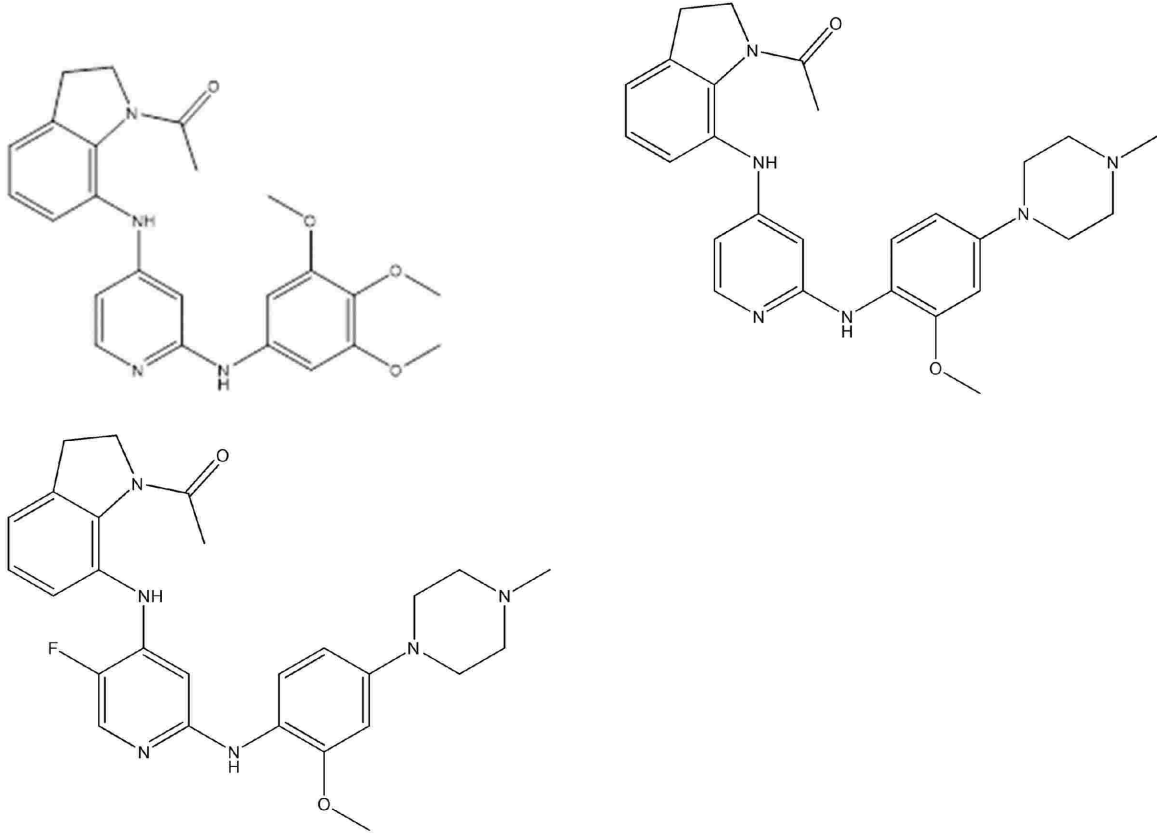
30

40

50

ただし、式 (I b) の化合物は、(a) 次から選択される化合物でも、(b) その互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、または溶媒和物でもない。

【化 7 2】



10

20

【 0 1 8 3】

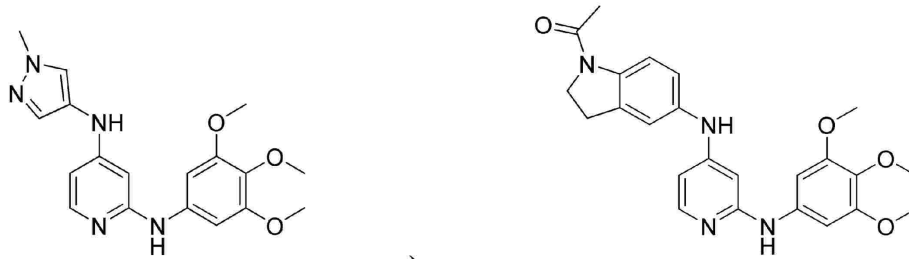
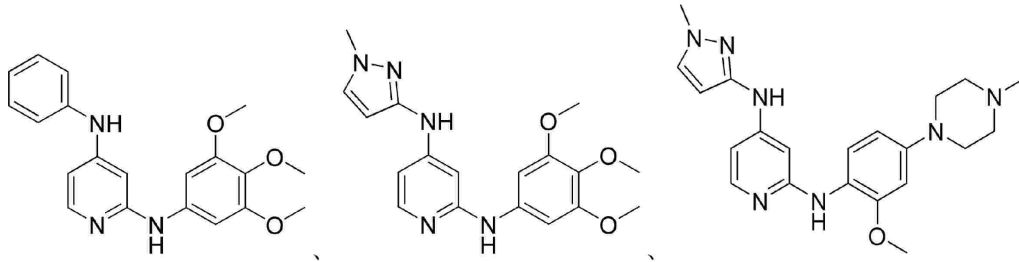
好ましくは、本発明の化合物は、次から選択される化合物またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物である。

30

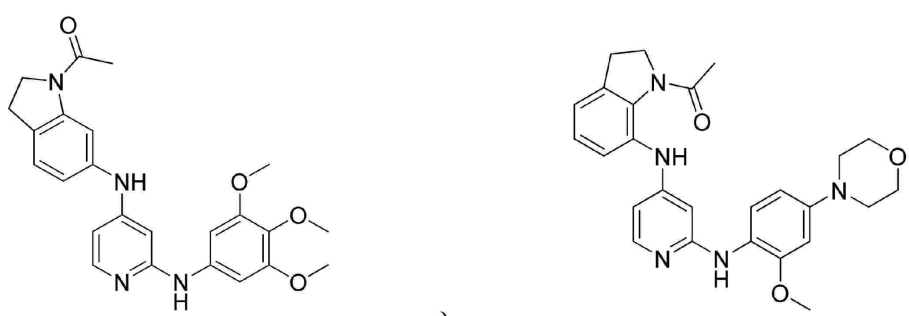
40

50

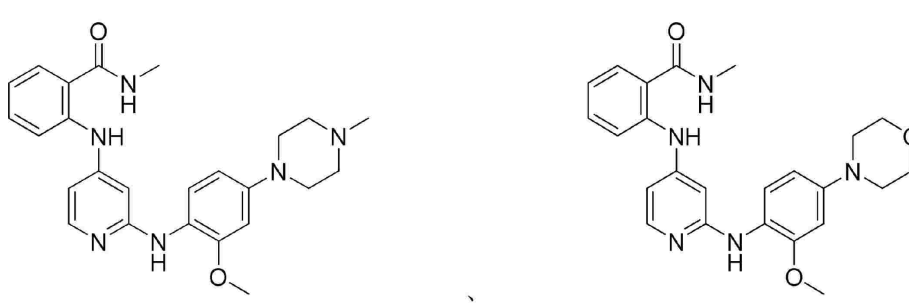
【化 7 3】



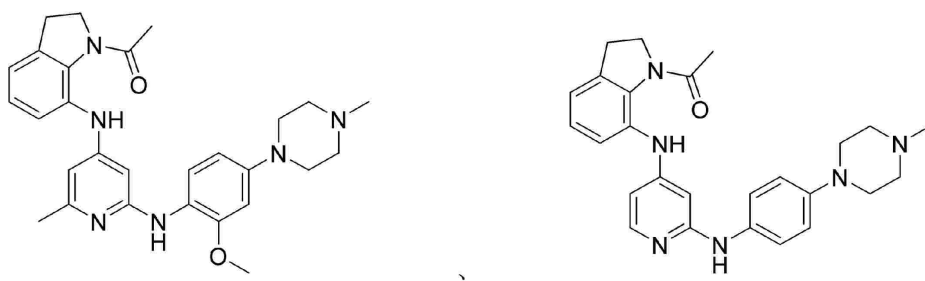
10



20

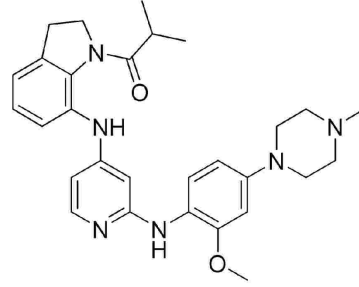
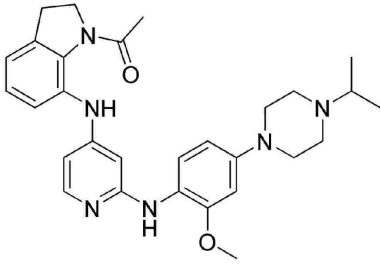
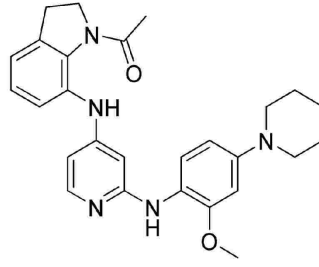
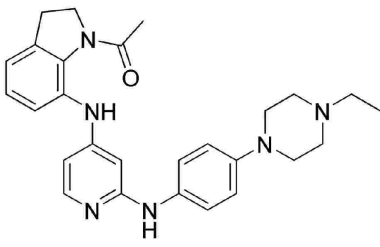


30

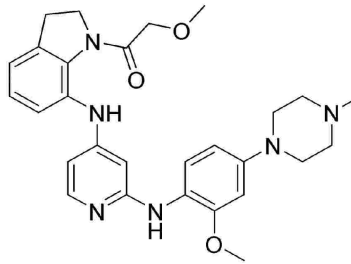
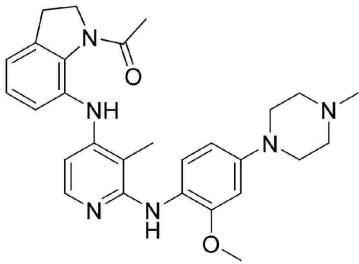


40

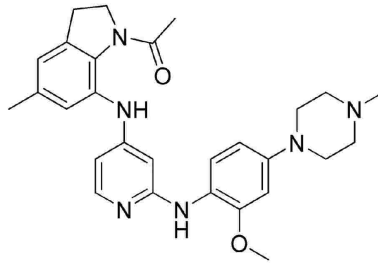
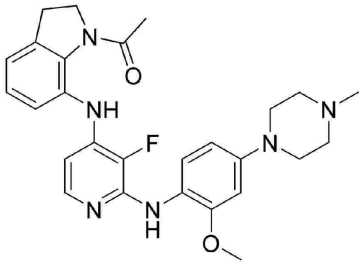
50



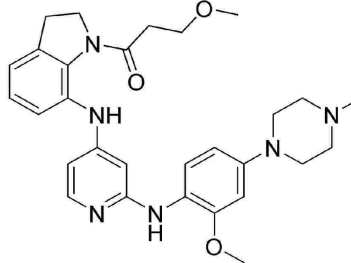
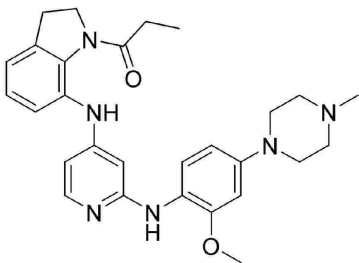
10



20

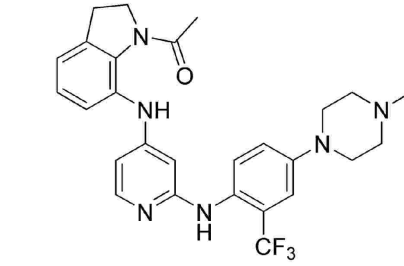
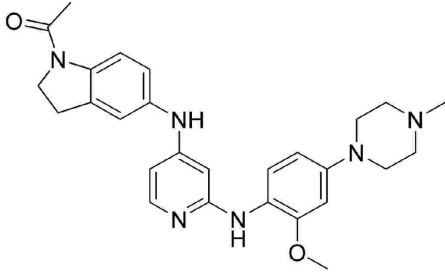
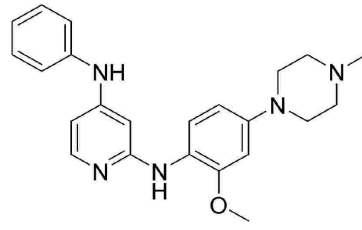
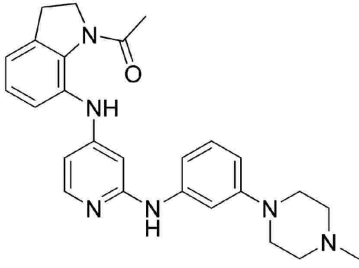


30

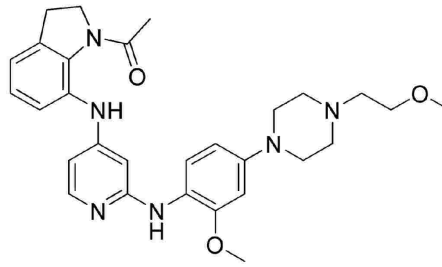
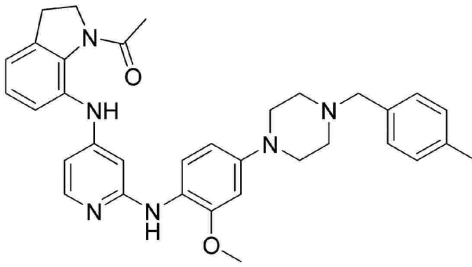


40

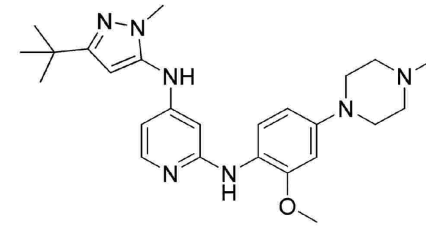
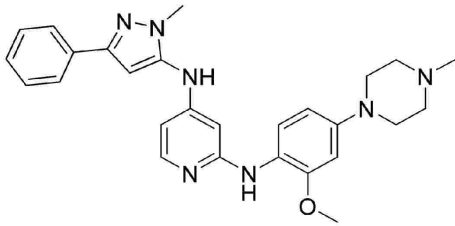
50



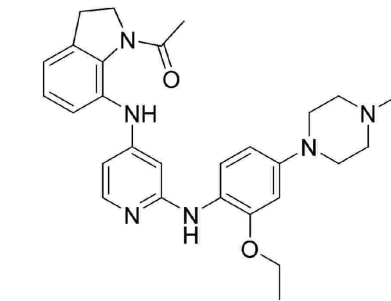
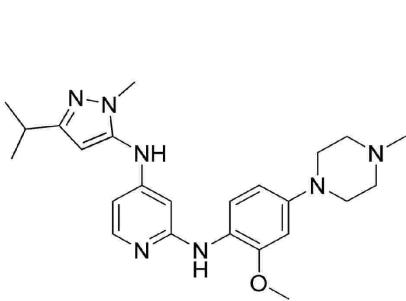
10



20

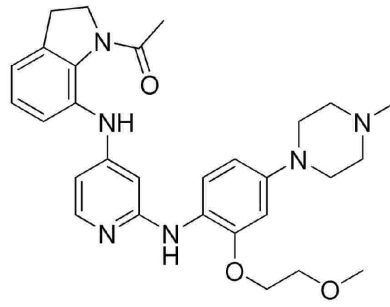
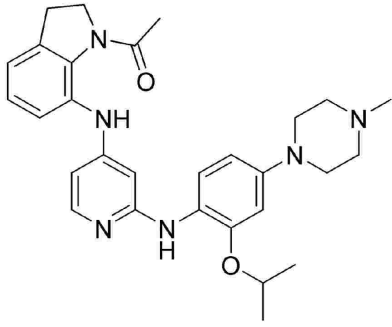


30

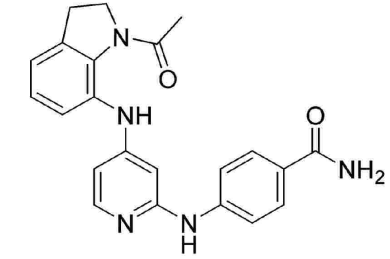
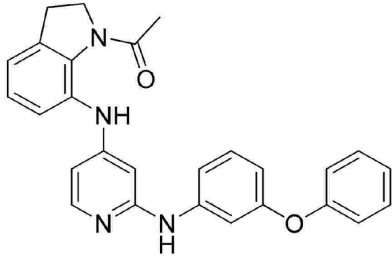


40

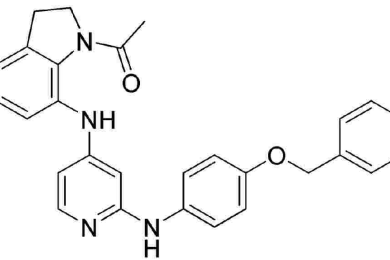
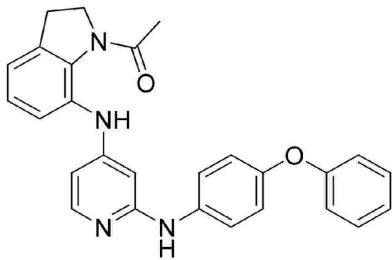
50



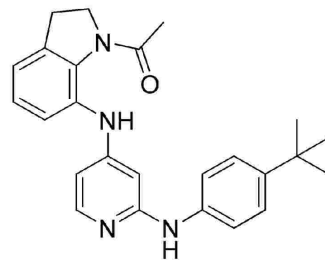
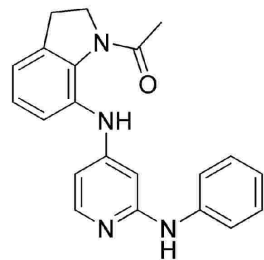
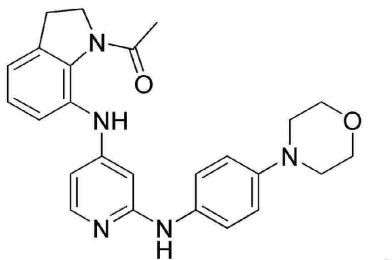
10



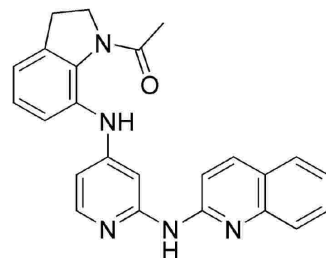
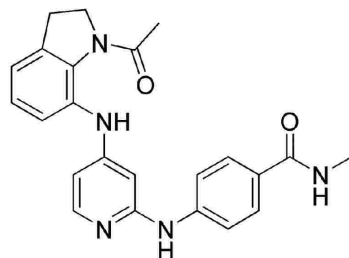
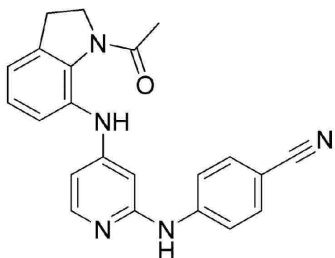
20



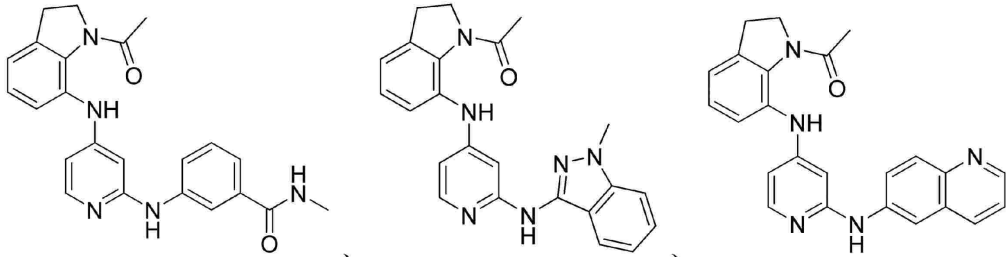
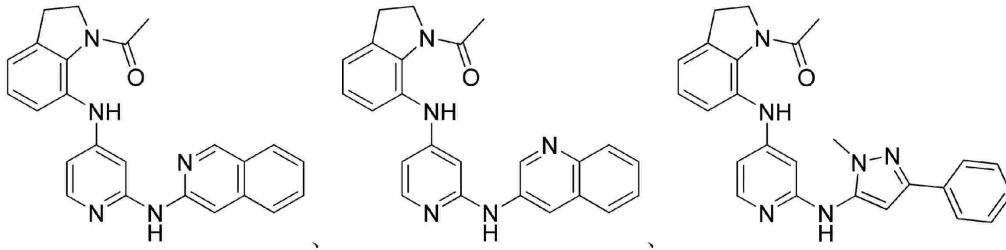
30



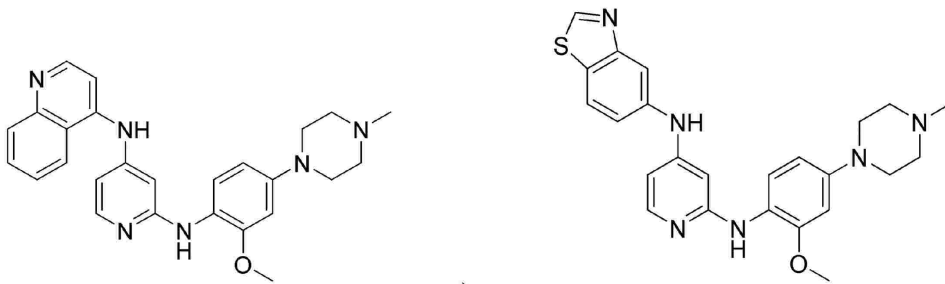
40



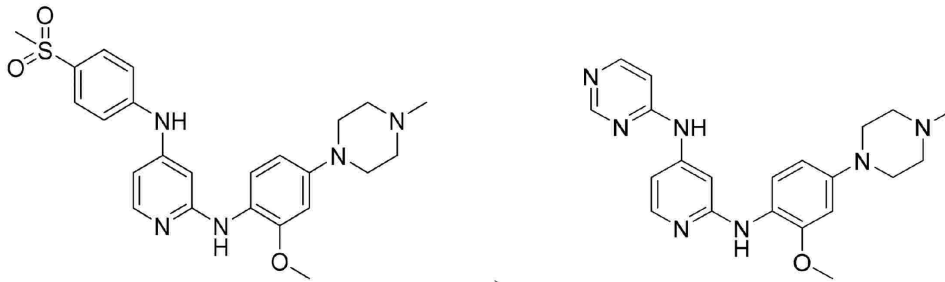
50



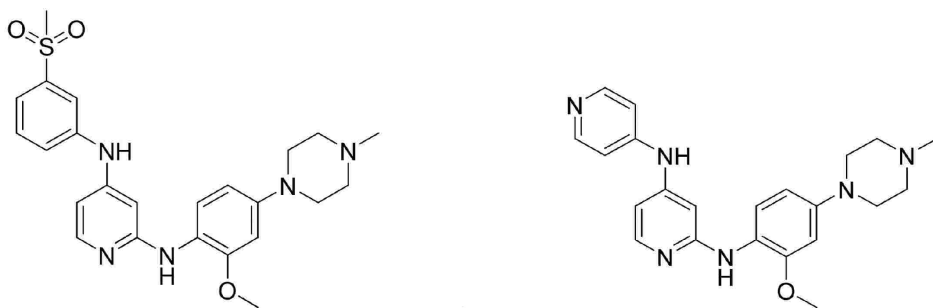
10



20

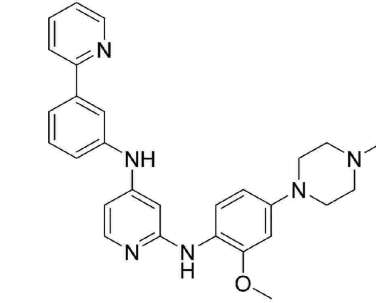
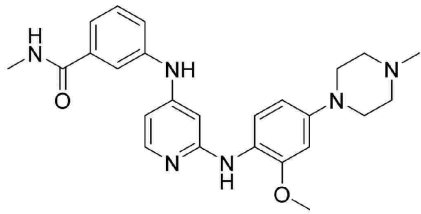
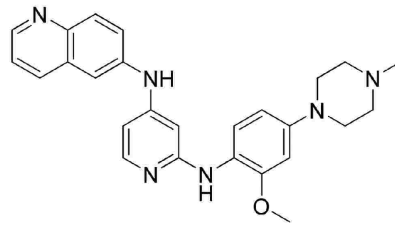
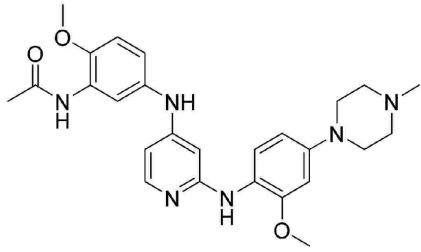


30

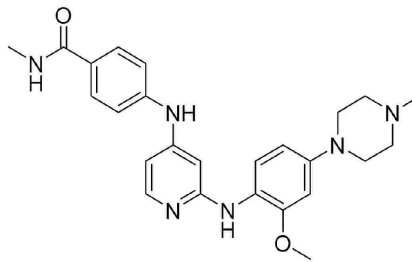
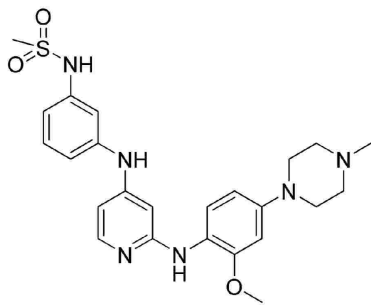


40

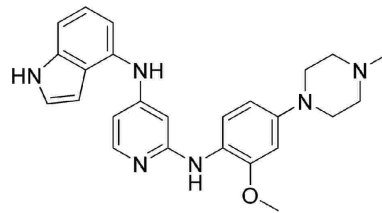
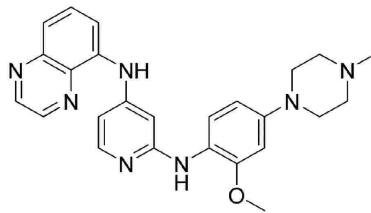
50



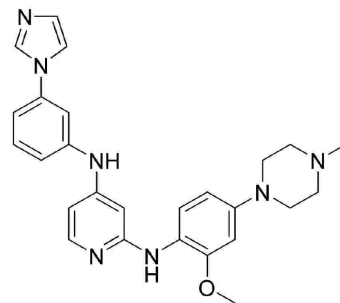
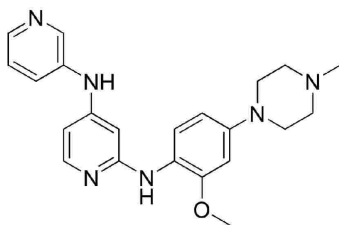
10



20

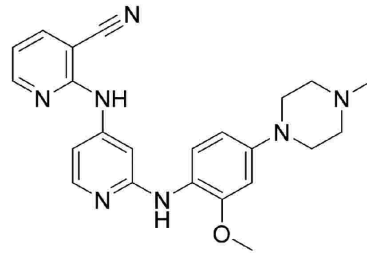
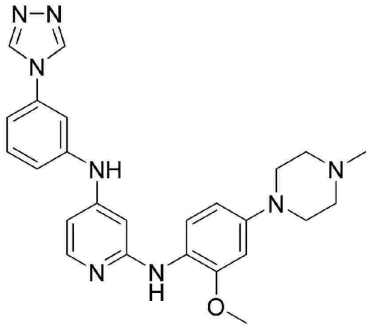


30

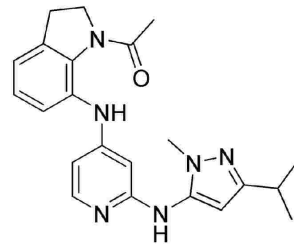
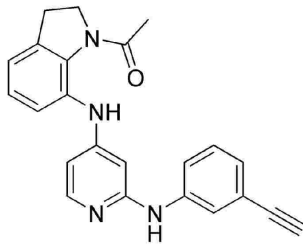
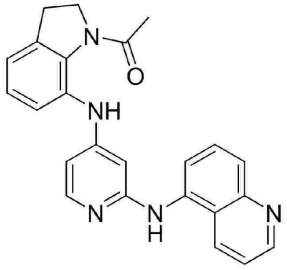


40

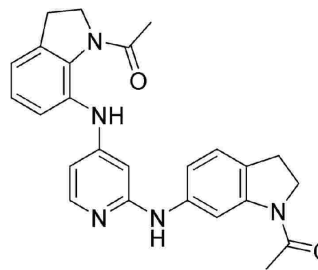
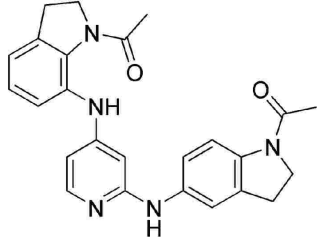
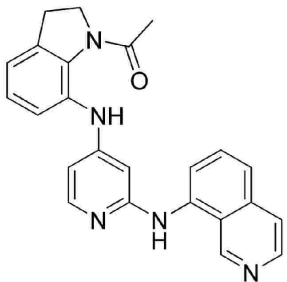
50



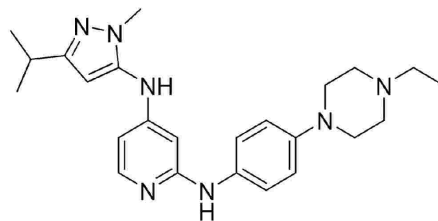
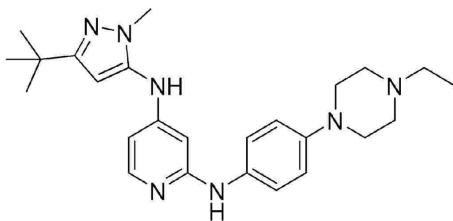
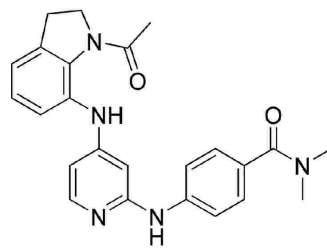
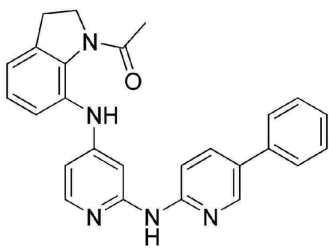
10



20

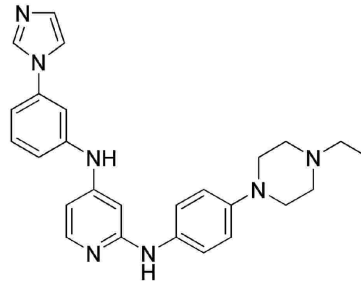
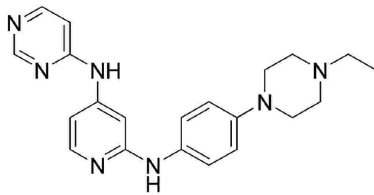
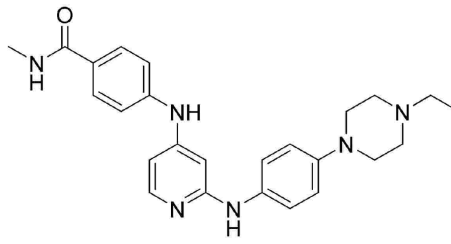
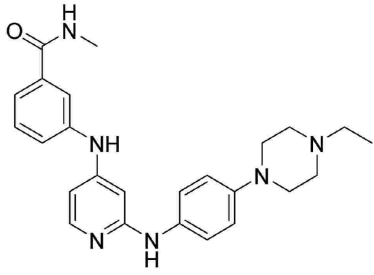


30

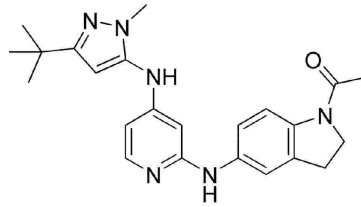
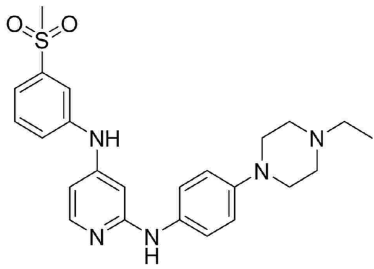


40

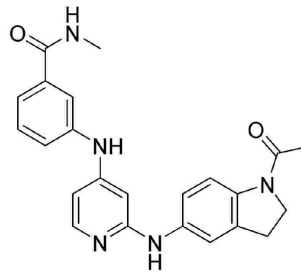
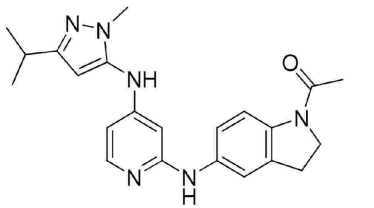
50



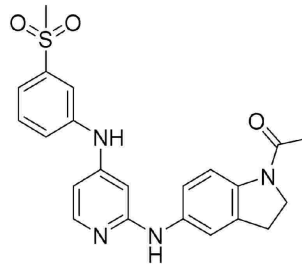
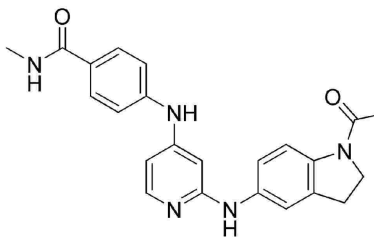
10



20

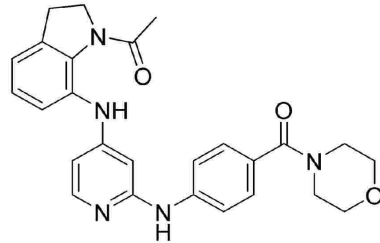
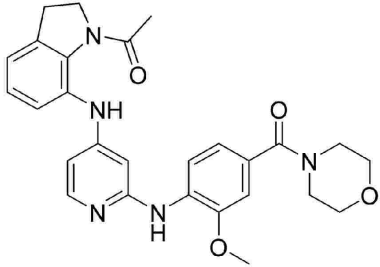
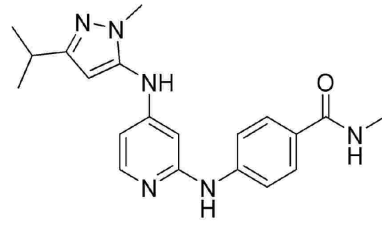
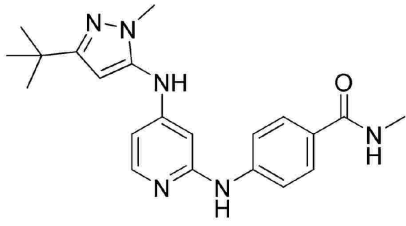


30

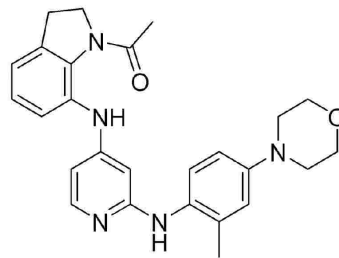
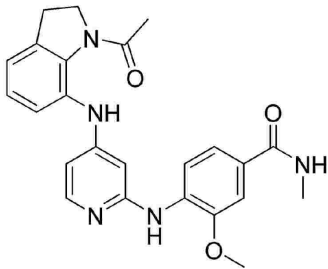


40

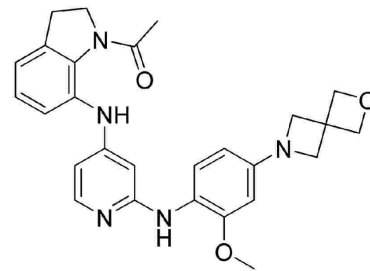
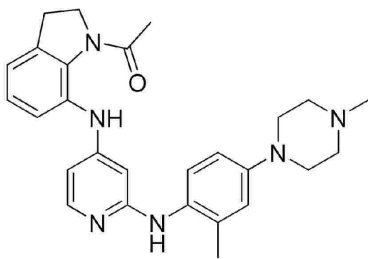
50



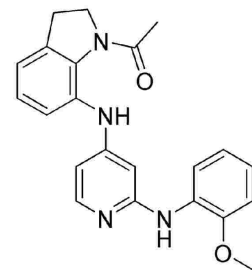
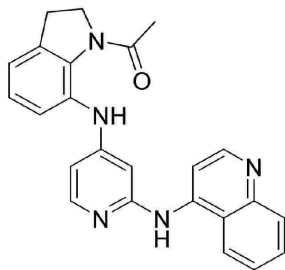
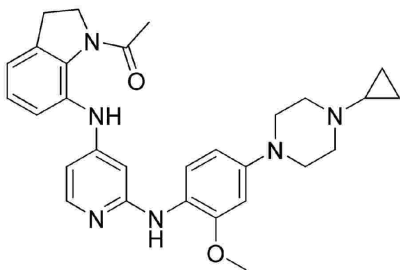
10



20

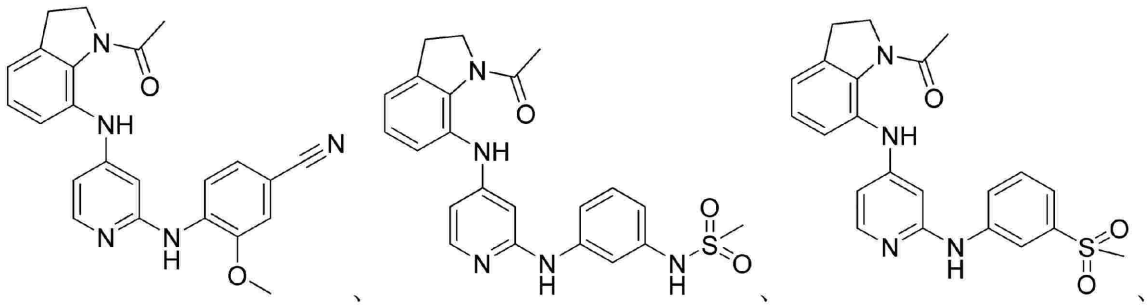


30

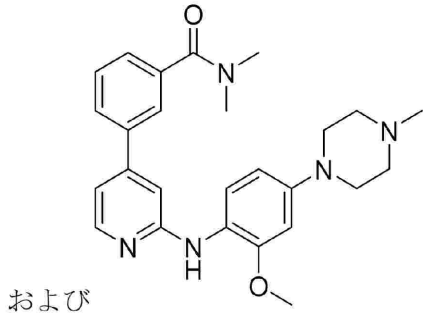


40

50



10



および

20

【 0 1 8 4 】

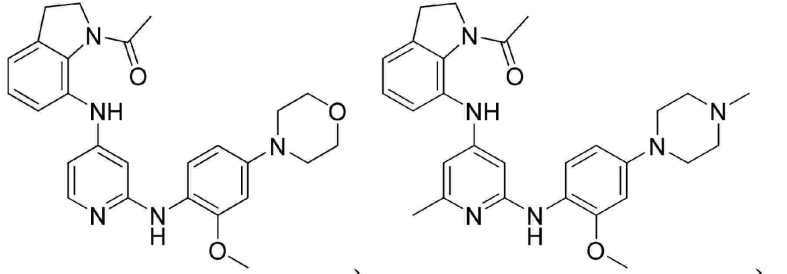
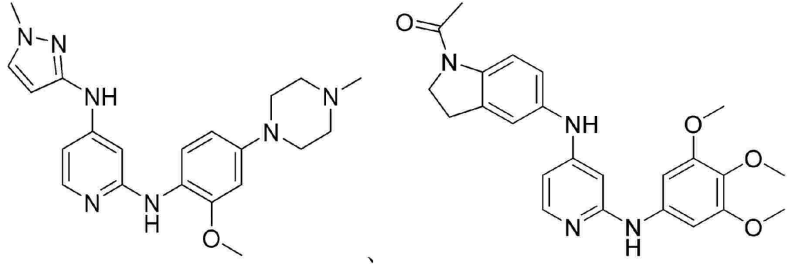
好ましくは、本発明の化合物は、次から選択される化合物またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物である。

30

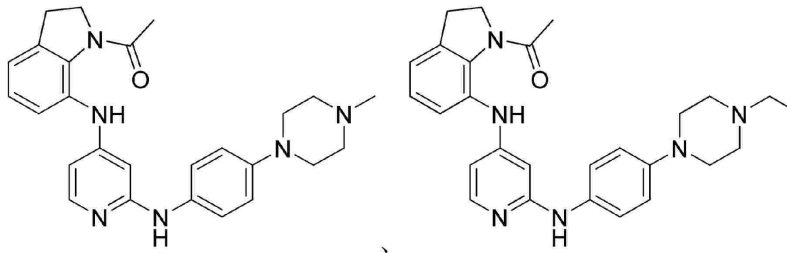
40

50

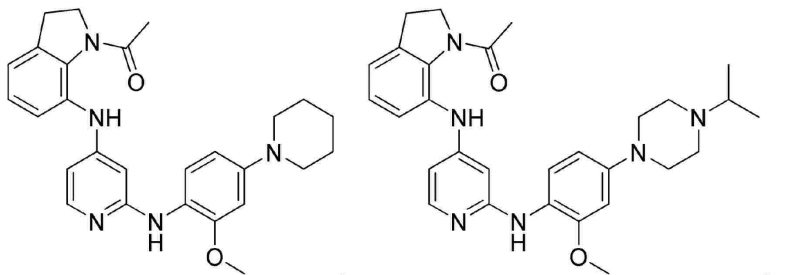
【化 7 4】



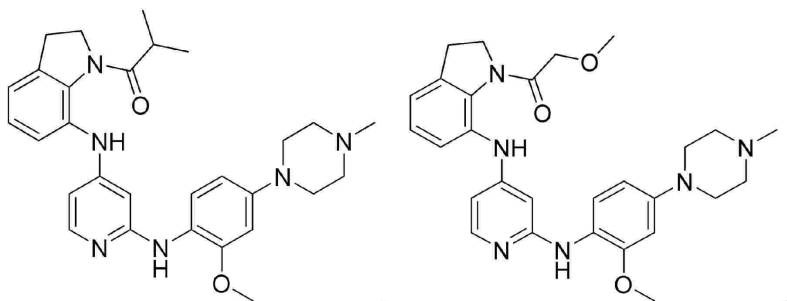
10



20

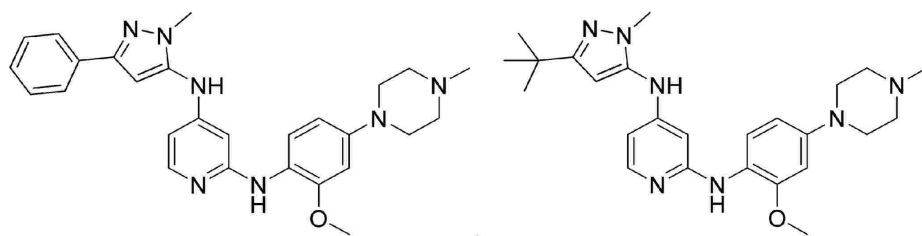
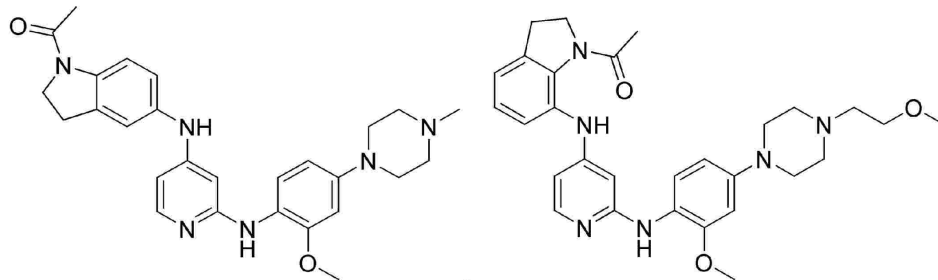
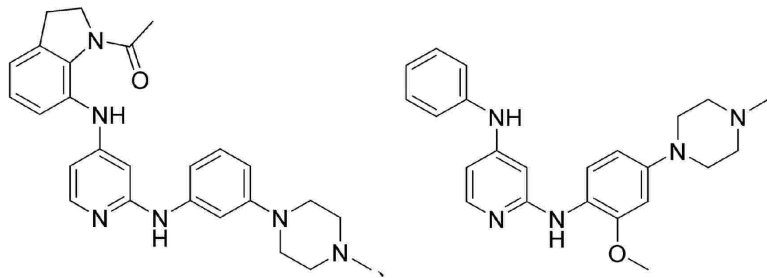
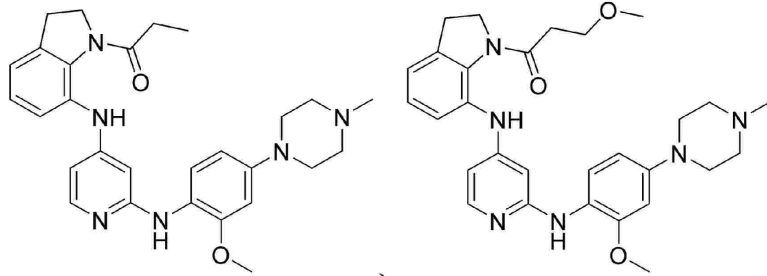
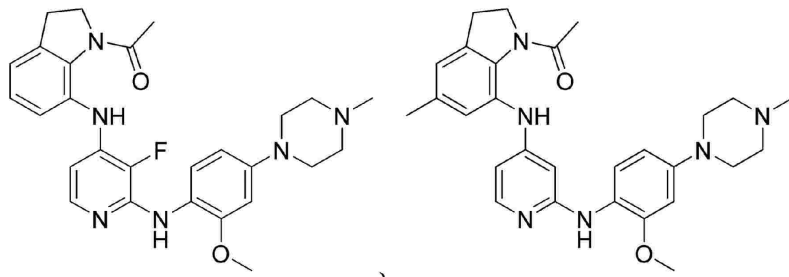


30



40

50



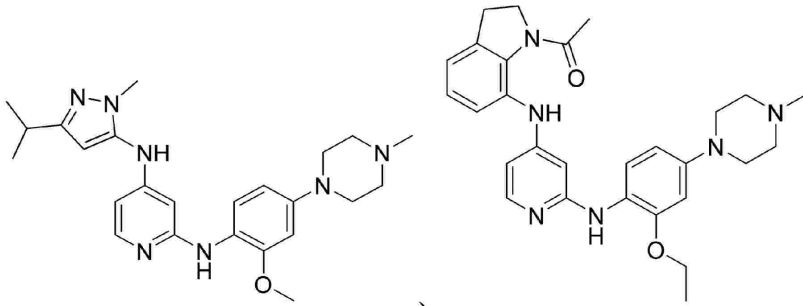
10

20

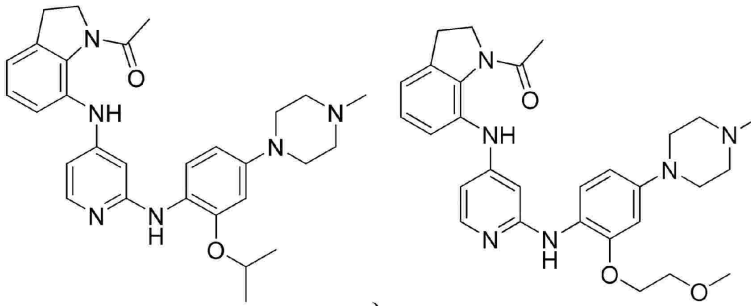
30

40

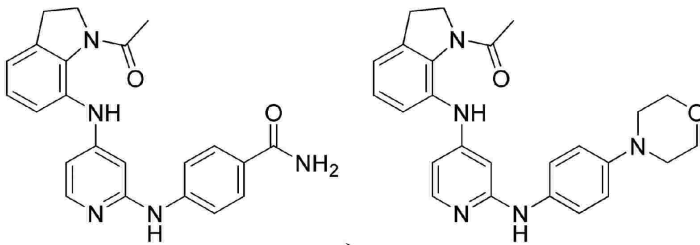
50



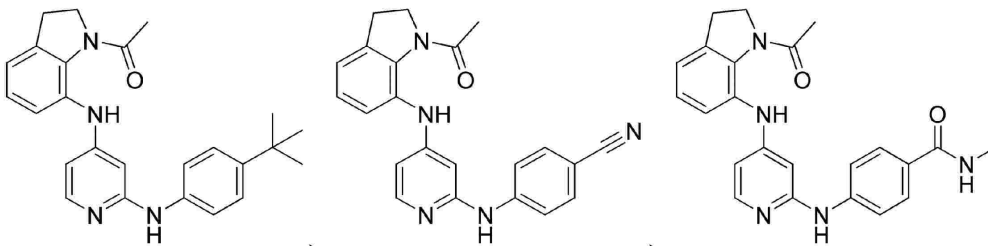
10



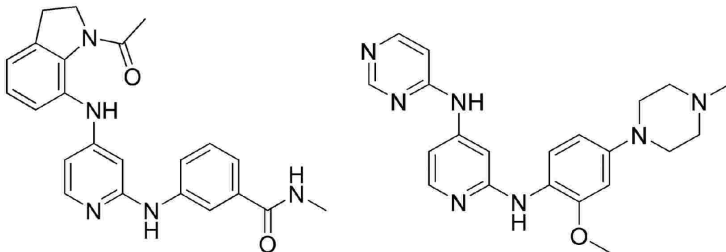
20



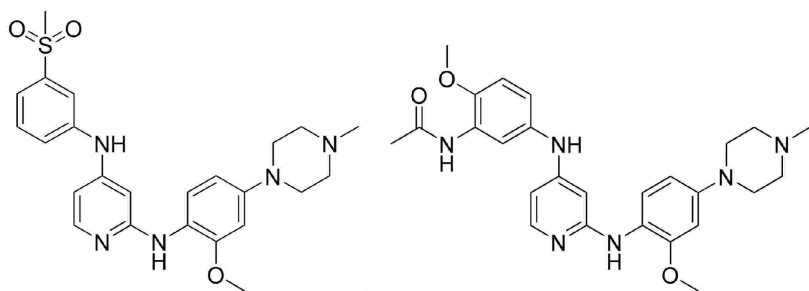
30



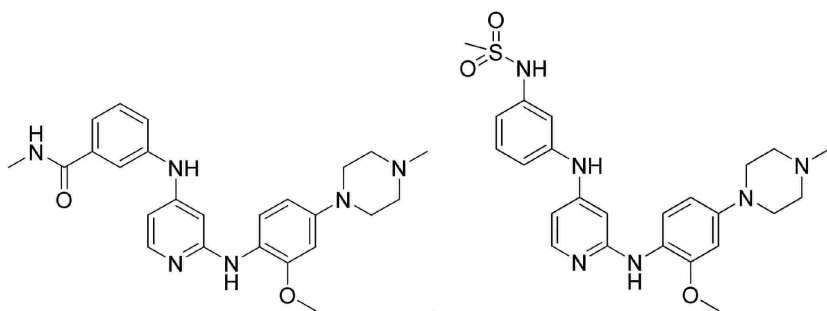
40



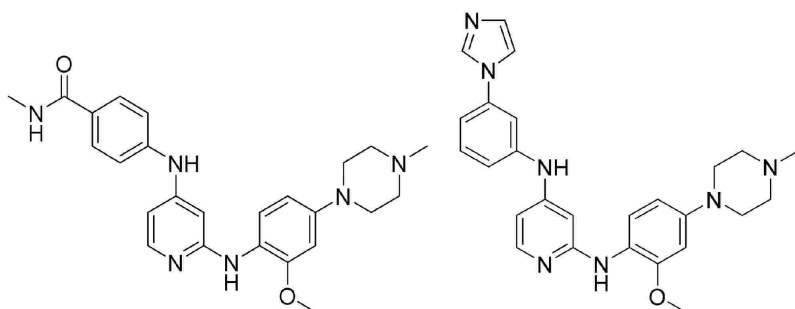
50



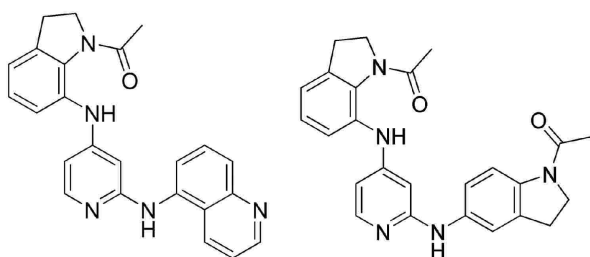
10



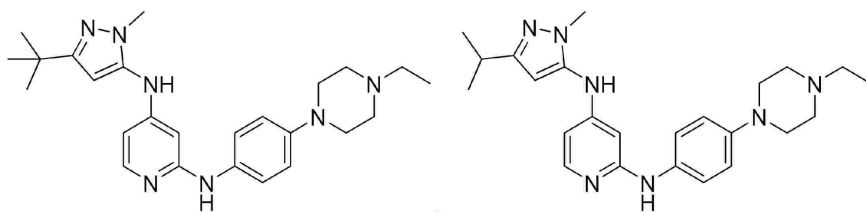
20



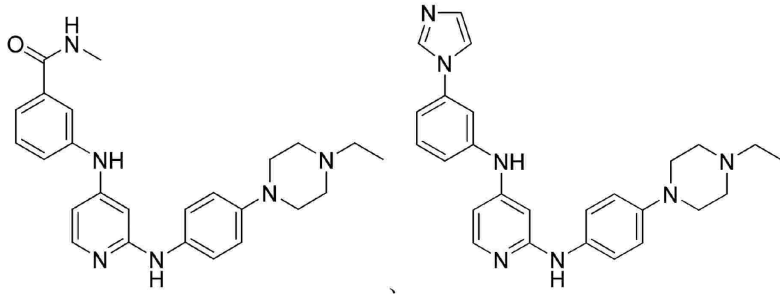
30



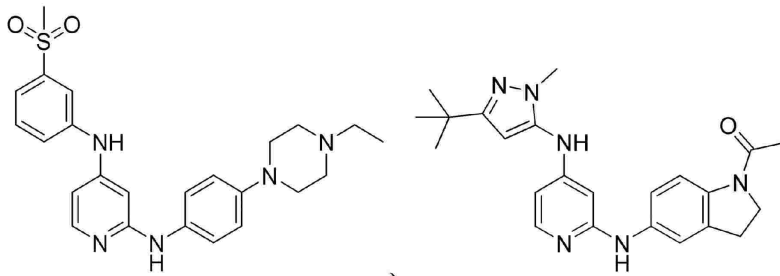
40



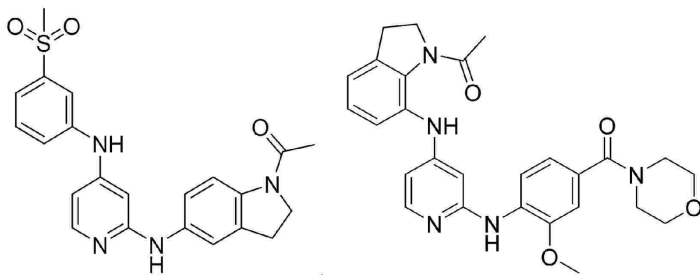
50



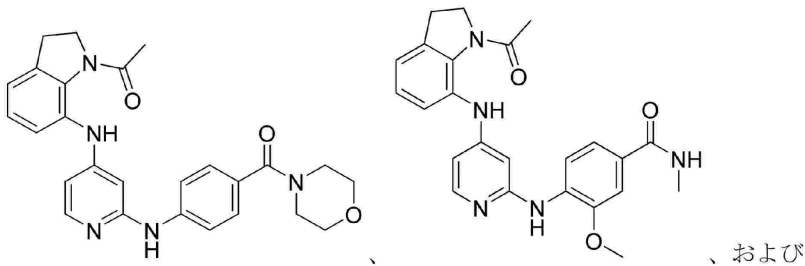
10



20



30



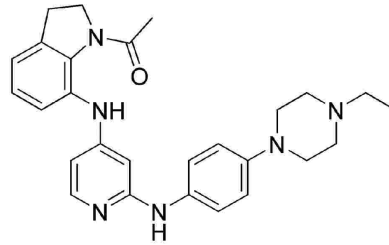
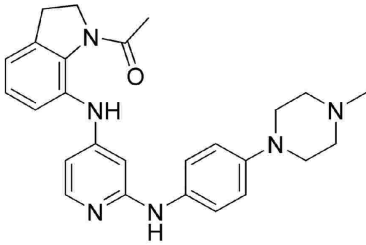
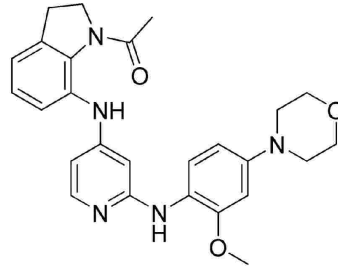
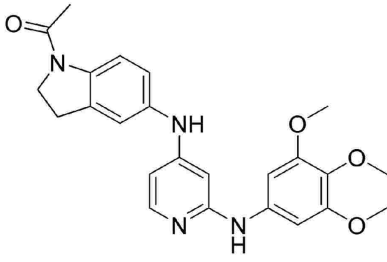
、および

40

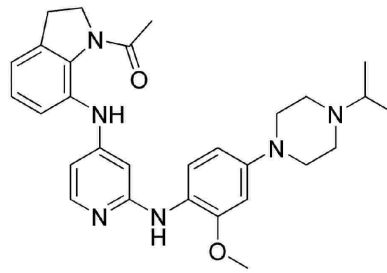
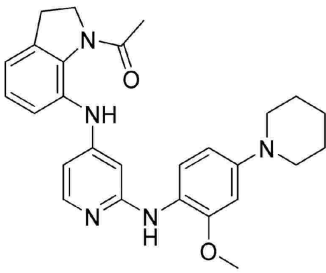
【 0 1 8 5 】

さらに好ましくは、本発明の化合物は、次から選択される化合物またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物である。

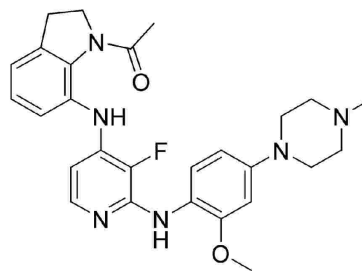
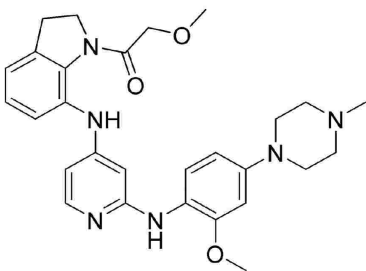
【化 7 5】



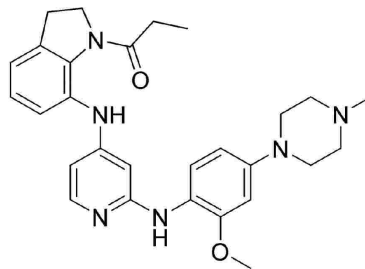
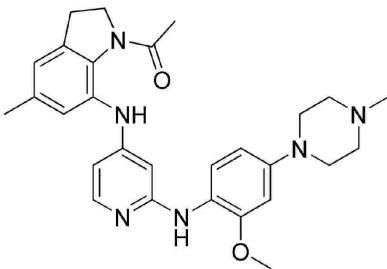
10



20

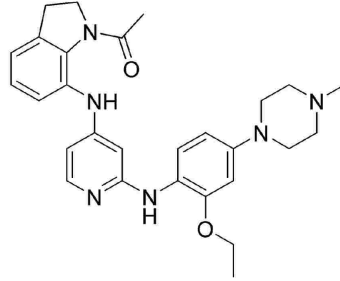
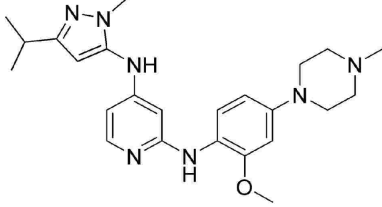
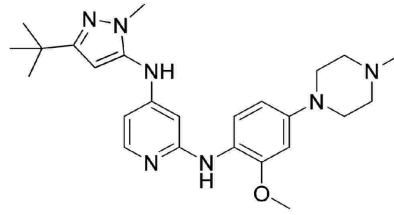
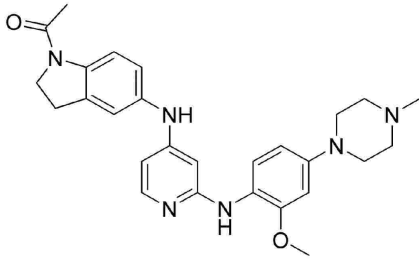


30

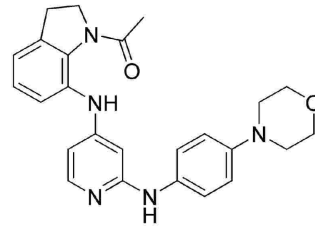
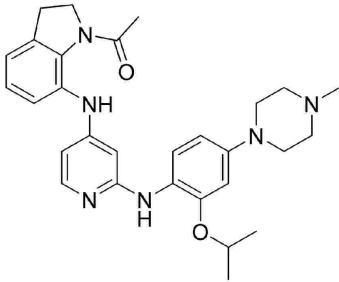


40

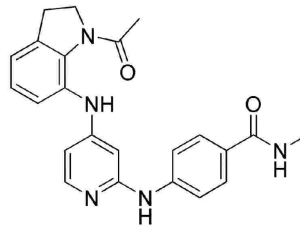
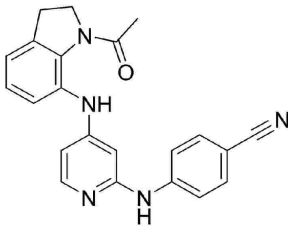
50



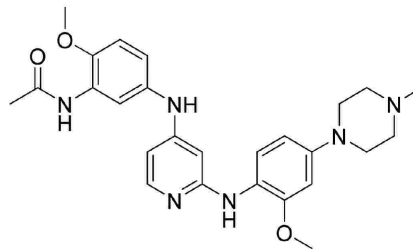
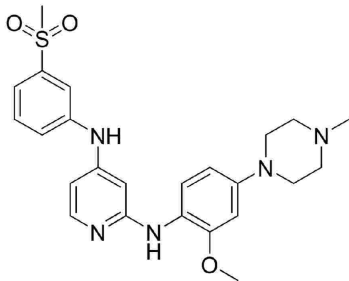
10



20

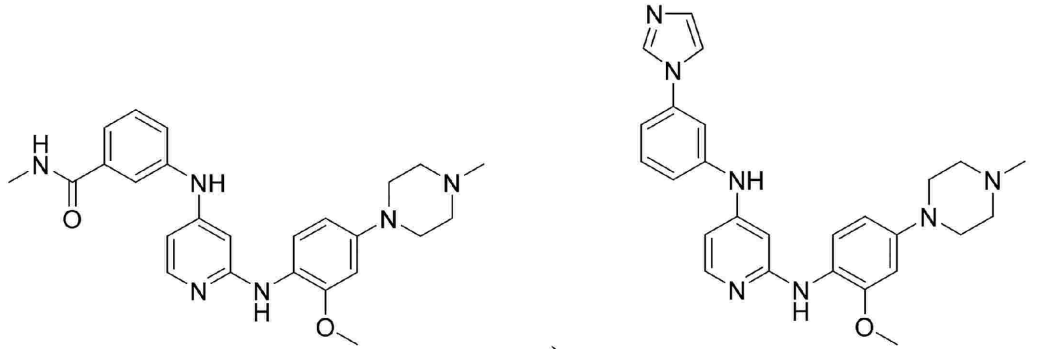


30

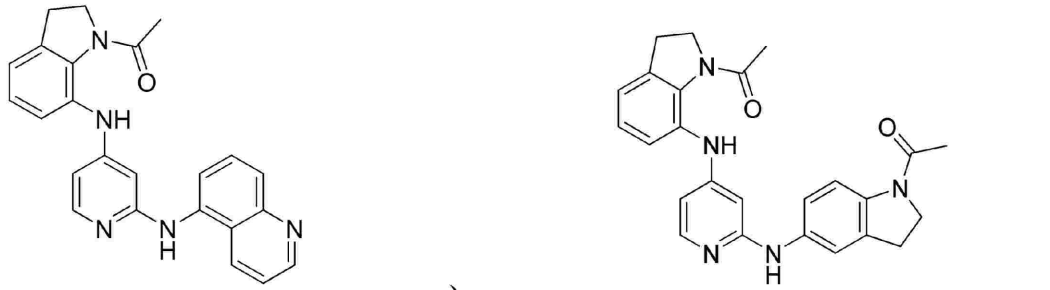


40

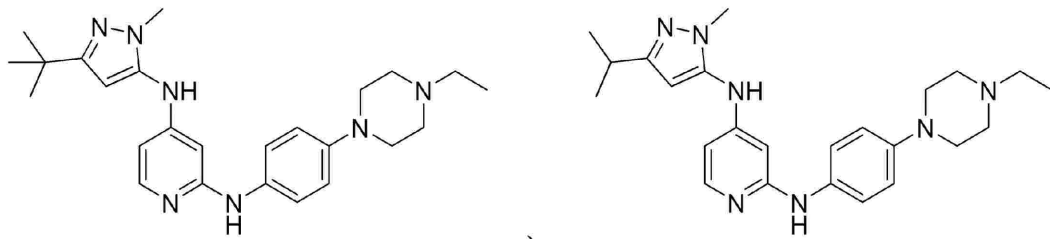
50



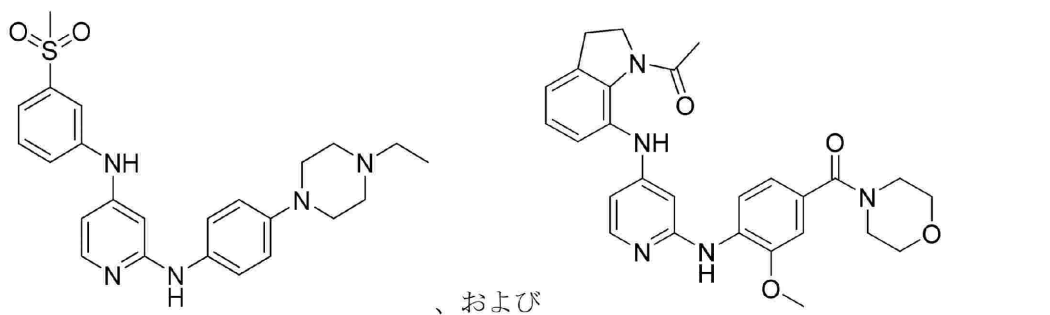
10



20



30



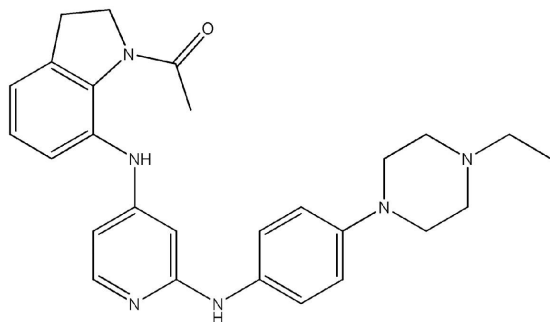
、および

40

【 0 1 8 6 】

最も好ましくは、本発明の化合物は：

【 化 7 6 】



またはその互変異性体、N-オキシド、薬学的に許容される塩、もしくは溶媒和物である。

【 0 1 8 7 】

50

投与量、製剤および経路

本発明の化合物は、処置方法において使用される場合、単独で投与することができるが、一般に、選択された投与経路および標準的な薬学的慣行に基づいて選択される医薬担体とともに投与される。したがって、好ましくは、本発明の化合物は医薬組成物に含まれる。

【0188】

本発明の化合物は、静脈内投与（ボラスまたは注入）、腹腔内投与、皮下投与、または筋肉内投与してよく、いずれも医薬分野における当業者に周知の剤形が使用される。

【0189】

あるいは、本発明の化合物は、経口投与に適した医薬組成物に含まれていてもよい。1つの例示的なそのような医薬組成物は、経口投与に適した固体剤形（例えば、錠剤、カプセル剤（それぞれ、徐放性製剤または時限放出製剤を含む）、錠剤、散剤、または顆粒剤）である。別の例示的なそのような医薬組成物は、経口投与に適した液体剤形（例えば、エリキシル剤、チンキ剤、懸濁剤、シロップ剤、溶液剤または乳剤）である。

【0190】

あるいは、本発明の化合物は、局所投与に適した医薬組成物にて投与されてもよい。局所投与に適した例示的な医薬組成物としては、クリーム、ゲルまたはローションが挙げられる。

【0191】

あるいは、本発明の化合物は、パッカル投与に適した医薬組成物にて投与されてもよい。

【0192】

あるいは、本発明の化合物は、鼻腔投与に適した医薬組成物にて投与されてもよい。

【0193】

あるいは、本発明の化合物は、眼科投与に適した医薬組成物にて投与されてもよい。

【0194】

あるいは、本発明の化合物は、直腸投与に適した医薬組成物にて投与されてもよい。

【0195】

あるいは、本発明の化合物は、膣投与に適した医薬組成物にて投与されてもよい。

【0196】

あるいは、本発明の化合物は、吸入（inhalation）または吸入（insufflation）に適した形態にて投与されてもよい。

【0197】

特定の実施形態では、本発明の化合物は局所投与することができる。例えば、本発明の化合物は、創傷治癒に適した形態で局所投与することができる。別の例では、本発明の化合物は、末梢神経損傷の処置に適した形態で局所投与することができる。

【0198】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えば末梢神経損傷の処置において、露出した神経に直接適用するのに適した形態で投与することができる。

【0199】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えば末梢神経損傷の処置において、神経に隣接する部位への経皮投与に適した形態で投与することができる。

【0200】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えば末梢神経損傷の処置において、神経への注射によって投与することができる。

【0201】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えば末梢神経損傷の処置において、神経に隣接する領域への制御された局所送達によって投与することができる。制御された局所送達を提供するための好適な手段としては、薬物送達用の生体材料およびミニポンプの使用が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0202】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えばCNS損傷の処置において、脳または脊髄への注射によって投与することができる。

【0203】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えばCNS損傷の処置において、髄腔内投与によって投与することができる。

【0204】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えばCNS損傷の処置において、神経系への制御された局所送達によって投与され得る。制御された局所送達を提供するための好適な手段としては、薬物送達用の生体材料およびミニポンプの使用が挙げられる。

10

【0205】

別の特定の実施形態では、本発明の化合物はステントとともに静脈内投与することができる。例えば、本発明の化合物は、脳卒中または心臓発作後の処置において、ステントとともに静脈内投与することができる。

【0206】

本発明の化合物の投与レジメンは、もちろん、特定の薬剤の薬力学的特性およびその投与様式および投与経路、レシピエントの種、年齢、性別、健康状態、病状、および体重；症状の性質および程度；同時治療の種類；治療の頻度；投与経路、患者の腎機能および肝機能、ならびに望まれる効果等の既知の要因によって変化する。医師または獣医師は、血栓塞栓症の予防、対策、または進行阻止に必要な薬物の有効量を決定し、処方することができる。

20

【0207】

一般的な指針として、各有効成分の1日当たりの経口投与量は、示された効果のために使用される場合、1日当たり約0.001~1000 mg/kg体重であり、好ましくは約0.01~100 mg/kg体重であり、最も好ましくは約1.0~20 mg/kg/日である。

【0208】

静脈内では、最も好ましい用量は、一定速度の点滴中に約1~約10 mg/kg/分の範囲だろう。本発明の化合物は、1日1回投与してもよく、1日の総投与量を1日2回、3回、または4回に分けて投与してもよい。

【0209】

本発明の化合物は、適切な経鼻ピヒクルの局所使用による経鼻形態にて、または経皮膚皮膚パッチを使用する経皮経路で投与することができる。経皮送達システムの形態で投与される場合、もちろん、投与量投与は、投与レジメン全体を通して間欠的ではなく連続的である。

30

【0210】

化合物は通常、意図される投与形態、すなわち経口錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、シロップ剤等に関して適切に選択され、従来の製薬慣行に合致する、適切な医薬用の希釈剤、賦形剤、または担体（本明細書ではまとめて医薬用担体と呼ぶ）との混合にて投与される。

【0211】

例えば、錠剤またはカプセルの形態で経口投与する場合、有効成分は、ラクトース、デンプン、スクロース、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、マンニトール、ソルビトール等の経口の、無毒性の、薬学的に許容される、不活性な担体と組み合わせることができる；液体形態で経口投与する場合、経口薬物成分は、エタノール、グリセロール、水等のような、任意の経口、非毒性、薬学的に許容される不活性な担体と組み合わせることができる。さらに、所望または必要な場合には、好適な結合剤、滑沢剤、崩壊剤、および着色剤も混合物に組み込むことができる。好適な結合剤としては、デンプン、ゼラチン、グルコースや -ラクトース等の天然糖、コム甘味料、アカシア、トラガカント、アルギン酸ナトリウム等の天然および合成ガム、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、ワックス等が挙げら

40

50

れる。これらの剤形に使用される滑沢剤としては、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム等が挙げられる。崩壊剤としては、デンプン、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサンタンガムなどが挙げられるが、限定されない。

【0212】

本発明の化合物は、小型単層膜小胞、大型単層膜小胞、多層膜小胞等のリポソーム送達系の形態で投与することもできる。リポソームは、コレステロール、ステアリンアミン、ホスファチジルコリン等の様々なリン脂質から形成することができる。

【0213】

本発明の化合物はまた、標的化可能な薬物キャリアとして可溶性ポリマーと結合させてもよい。このようなポリマーとしては、ポリビニルピロリドン、ピランコポリマー、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミド-フェノール、ポリヒドロキシエチルアスパルタミドフェノール、またはパルミトイル残基で置換されたポリエチレンオキシド-ポリリシンを挙げることができる。さらに、本発明の化合物は、例えば、ポリ酢酸、ポリグリコール酸、ポリ酢酸とポリグリコール酸のコポリマー、ポリε-ピロリドンプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアノアシレート、およびヒドロゲルの架橋または両親媒性ブロックコポリマー等、薬物の制御放出を達成するのに有用なクラスの生分解性ポリマーと結合させてもよい。

【0214】

投与に適した剤形（医薬組成物）は、投与単位当たり約1ミリグラムから約100ミリグラムの有効成分を含んでいてよい。これらの医薬組成物において、有効成分は通常、組成物の総重量に基づいて約0.5~95重量%の量で存在する。

【0215】

ゼラチンカプセルは、有効成分と、ラクトース、デンプン、セルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸等の粉末担体とを含むものであってよい。同様の希釈剤を用いて圧縮錠剤を製造することもできる。錠剤およびカプセルはいずれも、数時間にわたって薬物を持続的に放出する徐放性製剤として製造することができる。圧縮錠剤は、不快な味をマスキングし、錠剤を大気から保護するために糖衣やフィルムコーティングを施したり、消化管内で選択的に崩壊させるために腸溶コーティングを施したりすることができる。

【0216】

経口投与用の液状剤形は、患者の受容性を高めるために着色料や香料を含んでいてもよい。

【0217】

一般に、水、適当な油、生理食塩水、デキストロース（グルコース）水溶液、および関連する糖溶液、およびプロピレングリコールやポリエチレングリコール等のグリコールが、非経口用溶液に適した担体である。非経口投与用の溶液は、好ましくは有効成分の水溶性塩、適切な安定化剤、および必要に応じて緩衝物質を含む。亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、アスコルビン酸等の酸化防止剤は、単独または併用で適切な安定化剤である。また、クエン酸およびその塩、EDTAナトリウムも使用される。さらに、非経口用溶液は、塩化ベンザルコニウム、メチルパラベンまたはプロピルパラベン、クロロブタノール等の防腐剤を含んでいてもよい。

【0218】

好適な医薬用担体は、本分野の標準的な参考書であるRemington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Companyに記載されている。

【0219】

医薬としての使用のための化合物/組成物

一実施形態において、本発明の化合物または医薬組成物は、医薬品としての使用のためのものである。

【0220】

10

20

30

40

50

PI3K 活性化による治療に感受性の障害を治療および / または予防する方法における使用のための化合物 / 組成物

別の実施態様では、本発明の化合物または医薬組成物は、PI3K 活性化による治療に感受性の障害を治療および / または予防するための方法における使用のためのものである。

【0221】

よって、一実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、虚血再灌流障害、すなわち組織への血液供給の遮断後の再酸素化によって誘導される毒性から組織を保護するための方法における使用のためのものである。本実施形態の具体例としては、tPA / 機械的血栓除去術を受けている脳卒中患者の場合に、虚血再灌流障害から組織を保護するための方法における使用への適用を挙げることができる (Koh, S.H. & Lo, E.H., *J Clin Neurol* 11, 297-304 (2015); Khan, H. et al. *Brain research*, 147399 (2021)) patients with myocardial infarction (heart attack) who receive percutaneous coronary intervention (angioplasty with stent) (Koh, S.H. & Lo, E.H., *J Clin Neurol* 11, 297-304 (2015); Rossello, X. et al. *Basic Res Cardiol* 112, 66 (2017); Wang, G. et al. *The EMBO journal* 37 (2018)) or re-oxygenation of other organs, such as kidney (Zhang, G. et al., *Kidney Blood Press Res* 43, 904-913 (2018); Xiang, H. et al. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 47, 1030-1040 (2020))。

10

【0222】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、電離放射線からヒトまたは動物の身体を保護するための方法における使用のためのものである (Chauhan, A. et al. *Scientific reports* 11, 1720 (2021))。

20

【0223】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、創傷治癒 (火傷 (Gan, D. et al. *Front Pharmacol* 12, 631102 (2021); Sugita, H. et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288, E585-591 (2005); Park, K.K. et al. *Science (New York, N.Y)* 322, 963-966 (2008)) および糖尿病性足潰瘍を含む皮膚関連傷害からの治癒を含む)、小児喘鳴および喘息 (Iosifidis, T. et al. *JCI insight* 5 (2020)) における気道 / 肺上皮の再生、ならびに眼 / 角膜における内皮疾患、内皮機能不全に起因することが最も一般的である視力喪失を修復するための角膜移植の必要性を減少させること (Sabater, A.L. et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58, 745-754 (2017)) を含む、組織再生を増強するための方法における使用のためのものである。

30

【0224】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、肥満および2型糖尿病におけるインスリン抵抗性を克服することによる代謝感作のための方法における使用のためのものである (Foukas, L.C. et al. *Nature* 441, 366-370 (2006); Knight, Z.A. et al. *Cell* 125, 733-747 (2006); Frevert, E.U. & Kahn, B.B. *Molecular and cellular biology* 17, 190-198 (1997); Cichy, S.B. et al. *J Biol Chem* 273, 6482-6487 (1998); Prakoso, D. et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 318, H840-H852 (2020))。

40

【0225】

別の実施態様では、本発明の化合物または医薬組成物は、PI3K経路の過剰活性化、特に治療抵抗性がんによく見られる過剰活性化PI3K (Klippel, A. et al. *Molecular and cellular biology* 18, 5699-5711 (1998); Chen, Z. et al. *Nature* 521, 357-361 (2015); Shojaee, S. et al. *Nat Med* 22, 379-387 (2016); Muschen, M. *Nat Rev Cancer* 18, 103-116 (2018)) を有する細胞におけるPI3K経路の過剰活性化を通じてがん細胞死を誘導することによる、がん治療のための方法における使用のためのものである (Jacobsen, K. et al. *Nature communications* 8, 410 (2017); Huang, W.C. & Hung, M.C. *J Formos Med Assoc* 108, 180-194 (2

50

009))。

【0226】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、がん治療時の神経細胞損傷から保護 (Matsuda, S. et al. *International journal of oncology* 49, 1785-1790 (2016)) することを含む、神経保護 / 再生 (Arnes, M. et al. *Mol Biol Cell* 31, 244-260 (2020); Cuesto, G. et al. *J Neurosci* 31, 2721-2733 (2011); Asua, D. et al. *Neuroscience* 370, 81-87 (2018)) のための方法における使用のためのものである。遺伝的PI3K 活性化は、ニューロンにおける軸索再生を媒介する (Nieuwenhuis, B. et al. *EMBO Mol Med* 12, e11674 (2020))。

【0227】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、外傷性視神経症、例えば網膜神経節細胞の生存および軸索再生の治療方法における使用のためのものである (Morgan-Warren, P.J. et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54, 6903-6916 (2013))。

【0228】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、外傷性脳損傷 (Minnich, J. E. et al. *Restor Neurol Neurosci* 28, 293-309 (2010))、脊髄損傷 (Zhu, S. et al. *Cell Prolif* 53, e12860 (2020))、低酸素症 / 虚血 / 脳卒中 (Houlton, J. et al. *Front Neurosci* 13, 790 (2019); Larphaveesarp, A. et al. *Brain Sci* 5, 165-177 (2015)) および神経根損傷 (Wang, R. et al. *Nat Neurosci* 11, 488-496 (2008)) を含むCNS損傷後の神経保護 / 再生のための方法における使用のためのものである。

【0229】

別の実施形態では、本発明の化合物または医薬組成物は、パーキンソン病 (Yang, L., Wang, H., Liu, L. & Xie, A. *Front Neurosci* 12, 73 (2018); Jha, S.K et al. *Int J Mol Cell Med* 4, 67-86 (2015))、アルツハイマー病 (Nagahara, A.H. et al. *Nat Med* 15, 331-337 (2009))、ハンチントン病 (Simmons, D.A. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 4906-4911 (2009))、ALS (Yin, X. et al. *Mol Cell Neurosci* 68, 303-313 (2015))、レット症候群 (Castro, J., Mellios, N. & Sur, M. *Curr Opin Neurol* 26, 154-159 (2013)) を含む神経変性疾患 (Allen, S.J. et al. *Pharmacol Ther* 138, 155-175 (2013); Rai, S.N. et al. *Neurotox Res* 35, 775-795 (2019); Nagahara, A.H. & Tuszynski, M.H. *Nat Rev Drug Discov* 10, 209-219 (2011)) の治療方法における使用のためのものである。

【0230】

別の実施態様では、本発明の化合物または医薬組成物は、例えば糖尿病の結果としての消化管運動障害の治療において、腸管ニューロンを保護 / 再生するための方法において使用するためのものである (Anitha, M. et al. *J Clin Invest* 116, 344-356 (2006))。

【0231】

よって、PI3K 活性化による処置に感受性であり、本発明の化合物または薬学的組成物を使用して処置および / または予防され得る障害の非限定的な例としては、虚血再灌流傷害；電離放射線損傷；組織損傷（例えば、組織再生を促進するため）；小児喘息；喘息；眼 / 角膜の内皮疾患；肥満；2型糖尿病；がん（例えば、特に治療抵抗性がんにおいて過剰なPI3K活性を示すがん）；神経細胞損傷；外傷性視神経症；中枢神経損傷（例えば、外傷性脳損傷、脊髄損傷、低酸素症、虚血、脳卒中）；神経変性疾患（パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、ALS、およびレット症候群）；消化管運動障害（例えば、糖尿病の結果として）が挙げられる。

【0232】

本発明の特に好ましい実施態様では、PI3K 活性化による処置に感受性の障害は末梢神経障害である。

10

20

30

40

50

【0233】

医薬の製造のための使用

本発明は、医薬の製造のための、好ましくはPI3K 活性化による治療に感受性のある障害を治療および/または予防するための方法における使用のための医薬の製造のための、本発明による化合物または医薬組成物の使用を提供する。

【0234】

本発明による使用のための本発明による化合物または医薬組成物に関連して上記で提供されるすべての好ましい開示は、本発明による医薬の製造のための、本発明による化合物または医薬組成物の使用の文脈において、同様に好ましいものとして企図されることが理解されるだろう。

10

【0235】

処置方法

本発明はまた、本発明の化合物、または本発明の医薬組成物を患者に投与することを含む処置方法、特に、処置を必要とする患者においてPI3K 活性化による治療に感受性を有する障害を治療および/または予防する方法を提供する。

【0236】

本発明による使用のための本発明による化合物または医薬組成物に関連して上記で提供されるすべての好ましい開示は、本発明による処置方法の文脈において好ましいものとして同様に企図されることが理解されるだろう。

20

【0237】

化合物の使用

本発明は、生化学的プローブとしての本発明の化合物の使用を提供する。

【0238】

PI3K活性化はまた、凍結保存された卵巣組織からの休眠卵胞のex vivo活性化によって、体外受精の成功率を改善することが示されている。そのため、本発明はさらに、体外受精技術における本発明の化合物の使用を提供する。

【0239】

PI3K活性化は、ドナー臓器の寿命を延ばし、移植成績を改善することによって、腎臓移植や肝臓移植等の臓器移植のための組織保存においても有用であると考えられている。そのため、本発明はさらに、臓器移植のためのin vitro組織保存における本発明の化合物の使用を提供する。

30

【実施例】

【0240】

実施例1

本発明の実施例のPI3K 活性化データ。

EC50値の測定

ELISA (enzyme linked immunoadsorbent assay、R&D Systems、DYC887 BE) によりA549ヒト腺がん細胞のAktのS473残基上のリン酸化を定量することによってEC50値を決定した。10%ウシ胎児血清と1%ペニシリン-ストレプトミオシンを添加したDMEM中で96ウェルプレート(50,000 cells/ウェル)にA549細胞を播種した。24時間培養後、細胞を無血清DMEMで24時間飢餓状態にした後、化合物の濃度応答曲線を用いて15分間処理した。実験化合物をDMSOで希釈し、ポリプロピレンVボトムプレート(SLS MIC9050)で10点1:3濃度反応曲線を作成した。無血清DMEMで濃度反応曲線を3倍希釈した。0.5% DMSOを含む無血清DMEMを陰性コントロールとして用いて、標準8点濃度反応曲線を50、16.7、5.6、1.9、0.6、0.2、0.07、0.02 μM で実施した。化合物によって誘導されたAktリン酸化をDMSO陰性コントロールにて補正し、15分間の処理(1 μM インスリン)後のインスリンによって誘導されたAktリン酸化の E_{max} に正規化した。

40

【0241】

結果

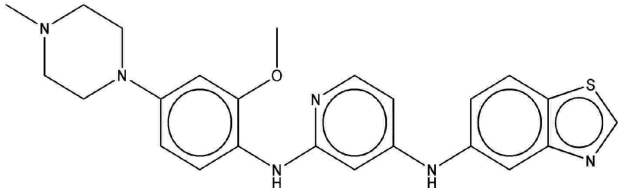
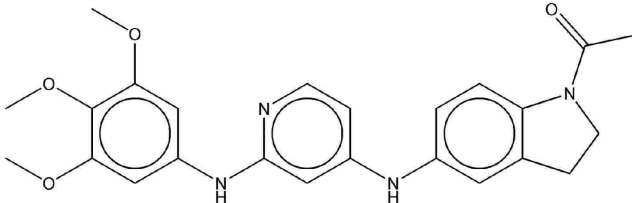
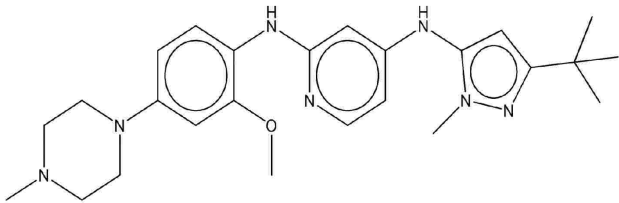
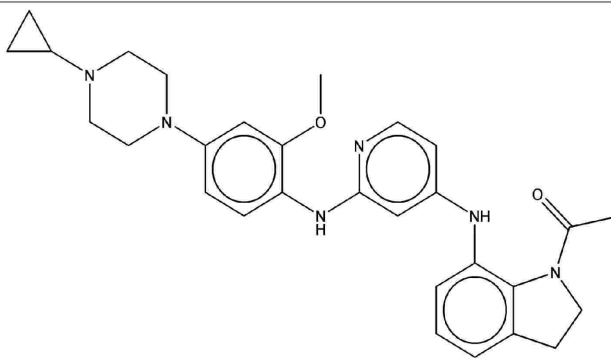
50

本明細書に開示される各化合物はPI3K 活性化を呈する。下表(表1)は、各化合物の平均EC50と、その化合物が10 μMで50%以上の応答を達成するか(好ましい)、または10 μMで50%未満の応答が観察されるかどうかの表示を示している。

【0242】

【表1】

表1—本明細書に開示される化合物のPI3K α 活性化データ

実施例 (化合物 ID)	平均 EC50 (μ M)	10 μ Mで の<50% 応答	構造
51 (2031)	0.31		
5 (1906)	0.44	X	
29 (1998)	0.89		
97 (2354)	0.97		

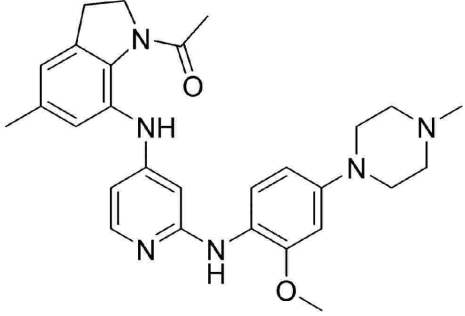
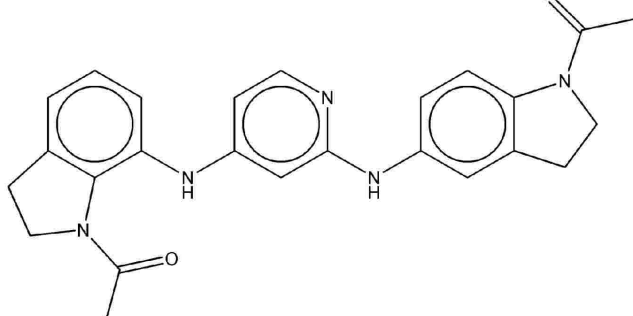
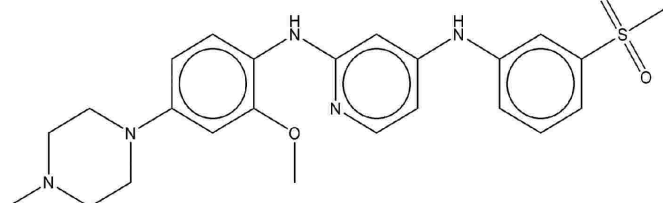
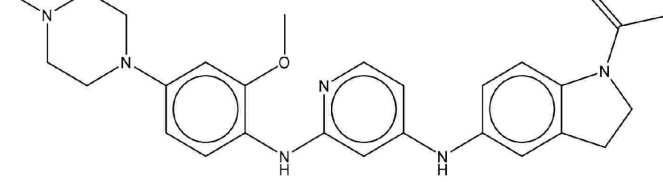
10

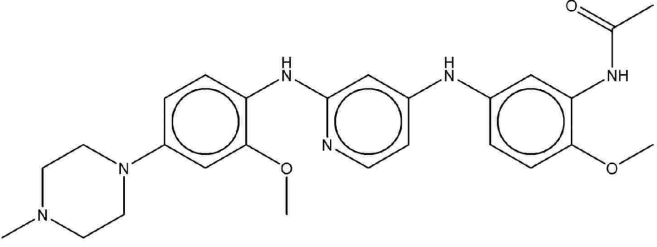
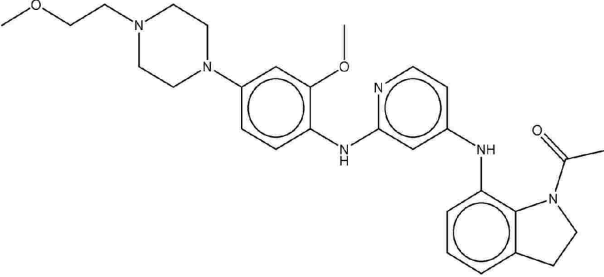
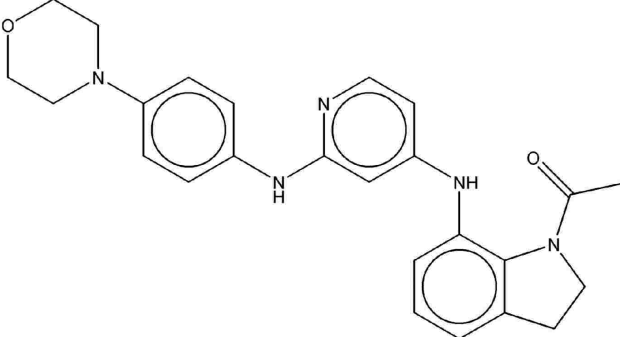
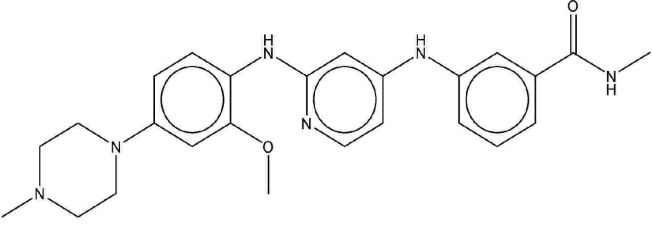
20

30

40

50

19 (1958)	1.01		 <p>Chemical structure of a molecule featuring a benzimidazole ring system, a pyridine ring, and a piperazine ring. The benzimidazole ring is substituted with an acetyl group and a methyl group. The pyridine ring is substituted with a methyl group and a piperazine ring. The piperazine ring is substituted with a methyl group.</p>	10
72 (2072)	1.08		 <p>Chemical structure of a molecule featuring a benzimidazole ring system, a pyridine ring, and a benzimidazole ring. The benzimidazole ring is substituted with an acetyl group. The pyridine ring is substituted with a methyl group. The benzimidazole ring is substituted with an acetyl group.</p>	20
54 (2043)	1.22		 <p>Chemical structure of a molecule featuring a benzimidazole ring system, a pyridine ring, and a benzimidazole ring. The benzimidazole ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The pyridine ring is substituted with a methyl group. The benzimidazole ring is substituted with a methyl group and a methoxy group.</p>	30
24 (1989)	1.25		 <p>Chemical structure of a molecule featuring a benzimidazole ring system, a pyridine ring, and a benzimidazole ring. The benzimidazole ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The pyridine ring is substituted with a methyl group. The benzimidazole ring is substituted with a methyl group and a methoxy group.</p>	40

56 (2046)	1.28		
27 (1994)	1.30		
38 (2015)	1.32		
58 (2049)	1.35		

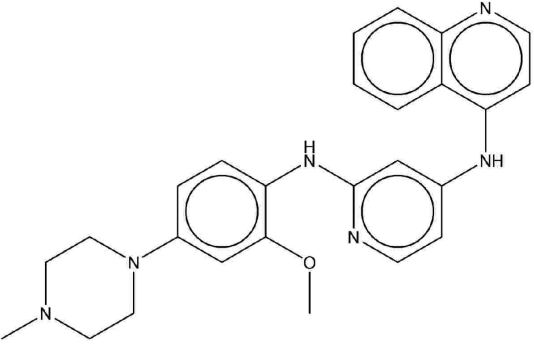
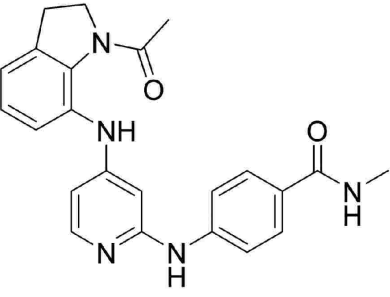
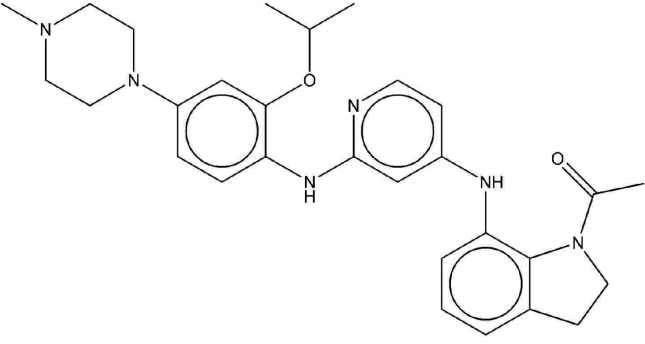
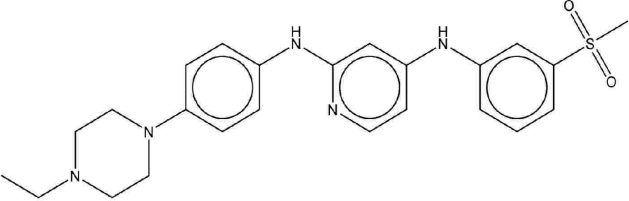
10

20

30

40

50

50 (2029)	1.36		
42 (2019)	1.37		
32 (2008)	1.46		
82 (2108)	1.52		

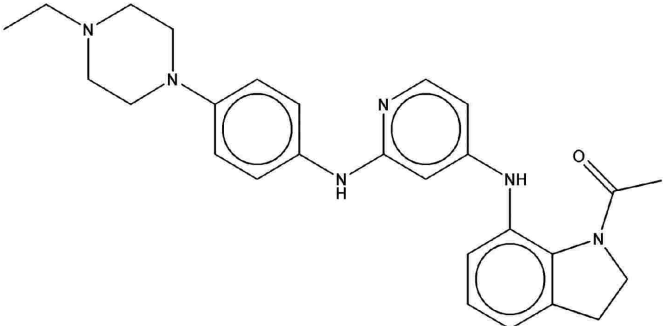
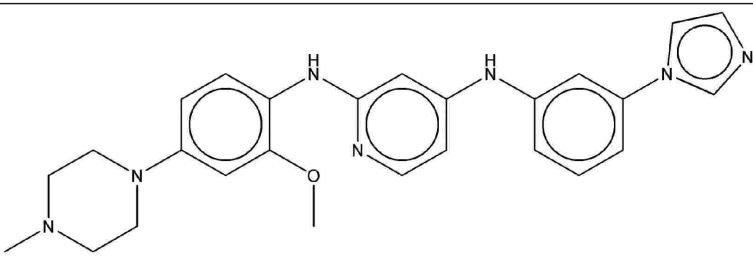
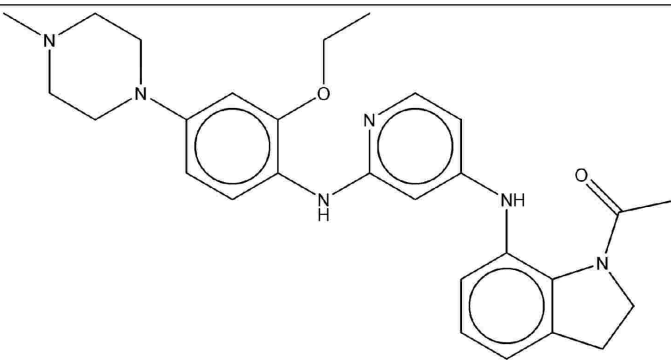
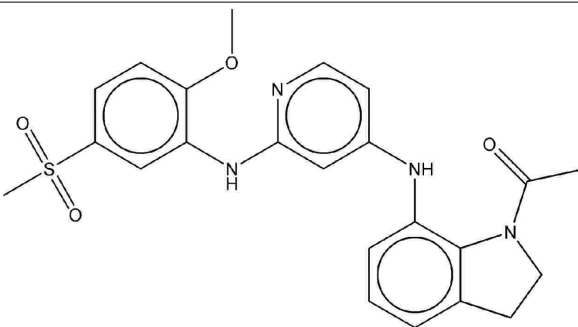
10

20

30

40

50

12 (1938)	1.53			10
65 (2063)	1.53			20
31 (2007)	1.55			30
R1 (1888)	1.55			40

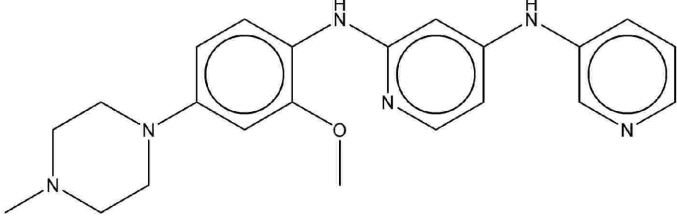
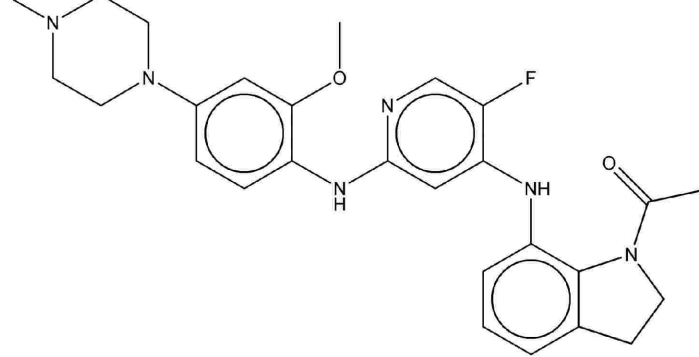
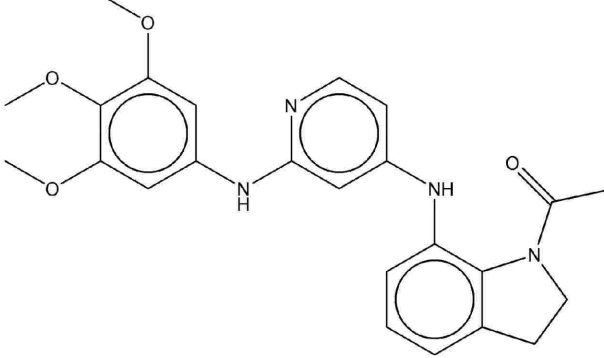
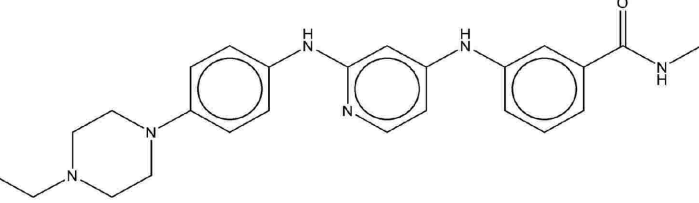
10

20

30

40

50

64 (2061)	1.58		
R2 (1890)	1.62		
R3 (1887)	1.96		
78 (2104)	1.98		

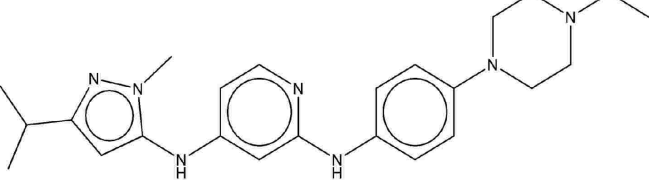
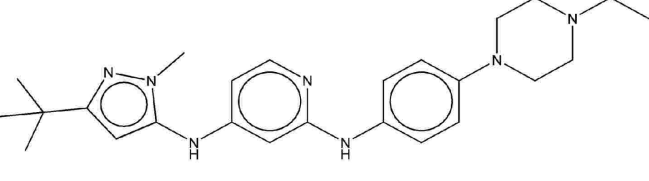
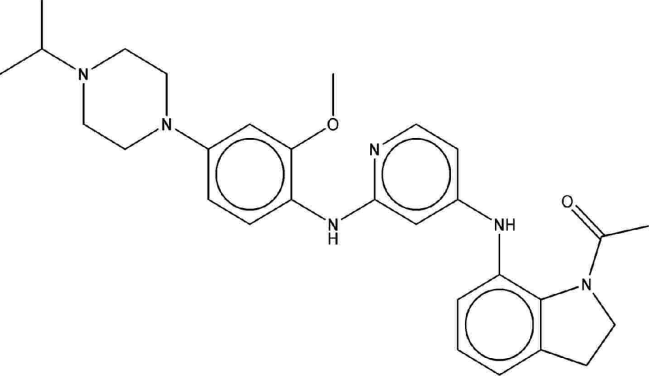
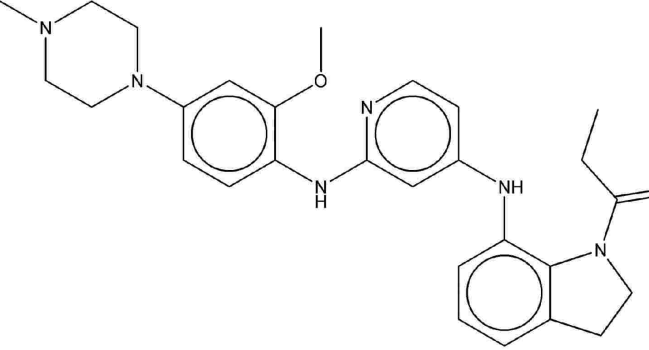
10

20

30

40

50

77 (2103)	2.09		
76 (2102)	2.20		
14 (1942)	2.27		
20 (1959)	2.28		

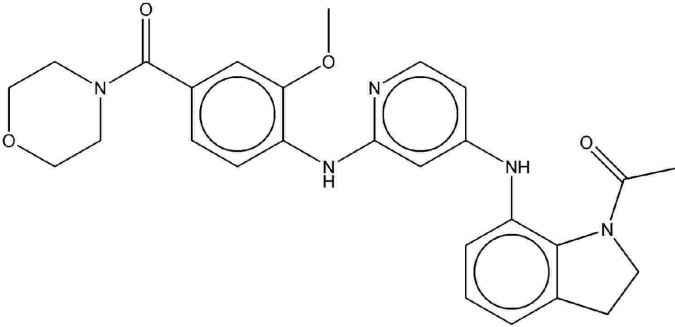
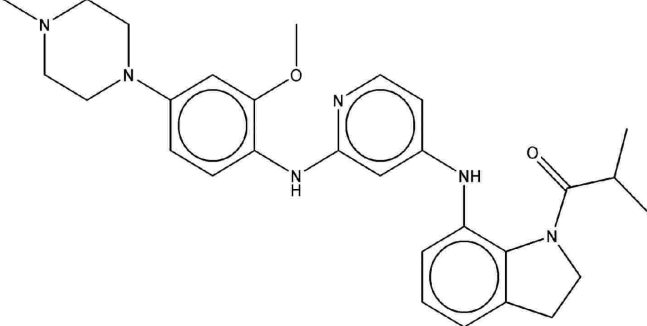
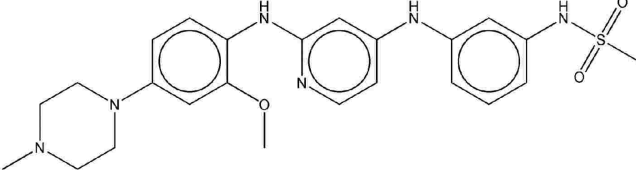
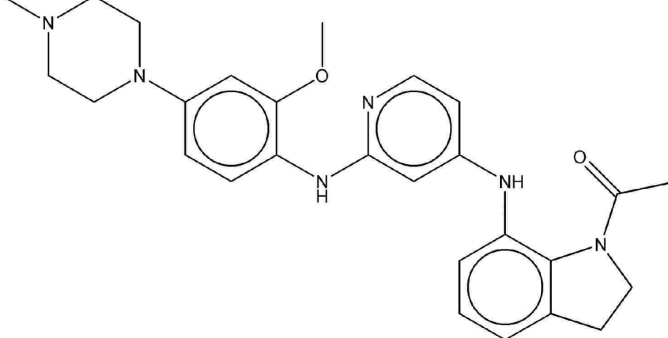
10

20

30

40

50

91 (2347)	2.29		10
15 (1943)	2.39		20
60 (2054)	2.51		30
R4 (1889)	2.55		40

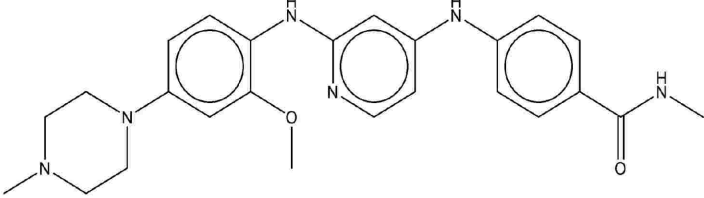
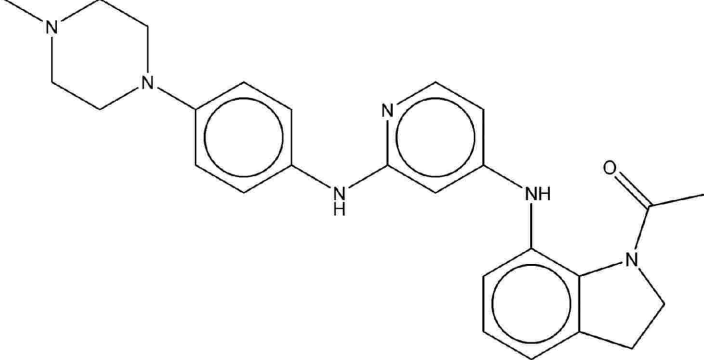
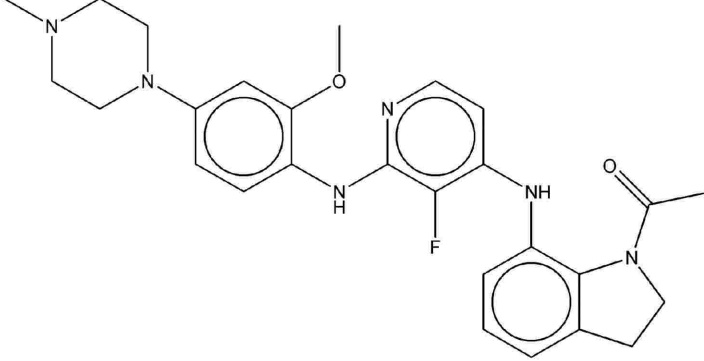
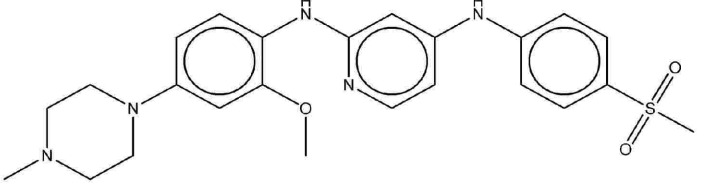
10

20

30

40

50

61 (2055)	2.61		
11 (1937)	2.64		
18 (1951)	3.08		
52 (2038)	3.81		

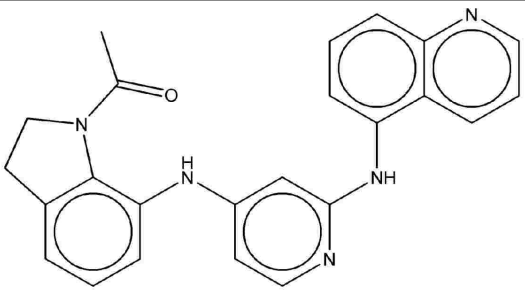
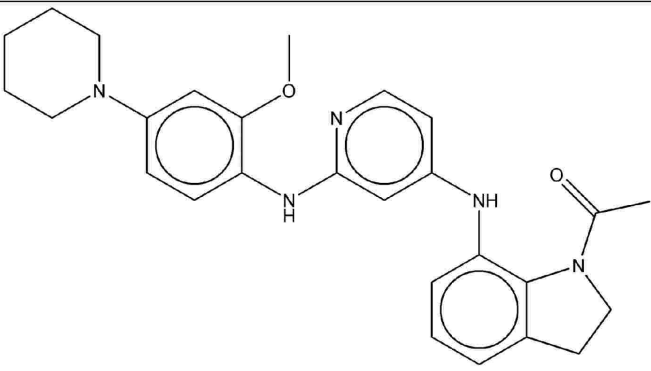
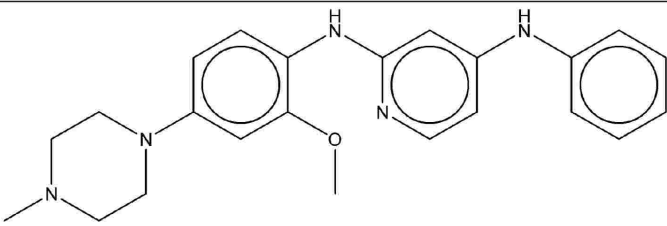
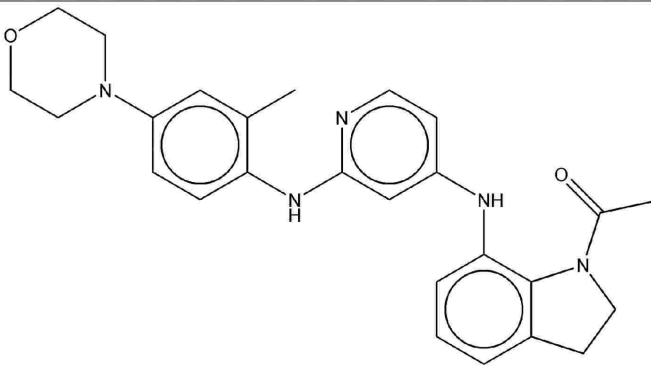
10

20

30

40

50

68 (2067)	4.00			10
13 (1941)	4.38			20
23 (1971)	4.53			30
94 (2350)	4.56			40

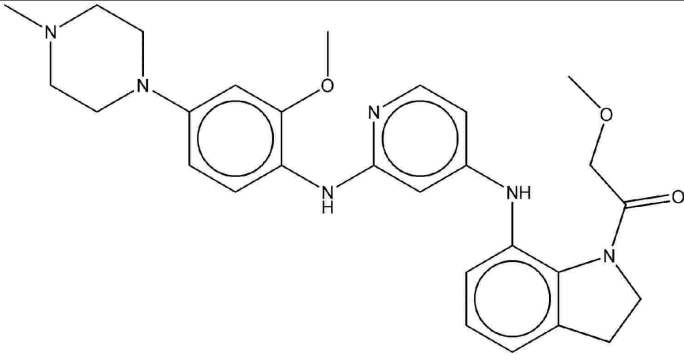
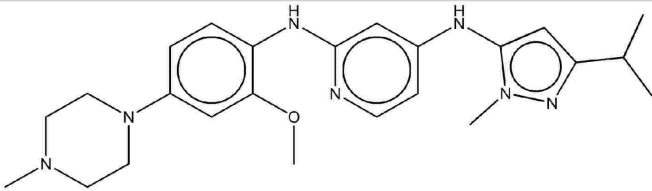
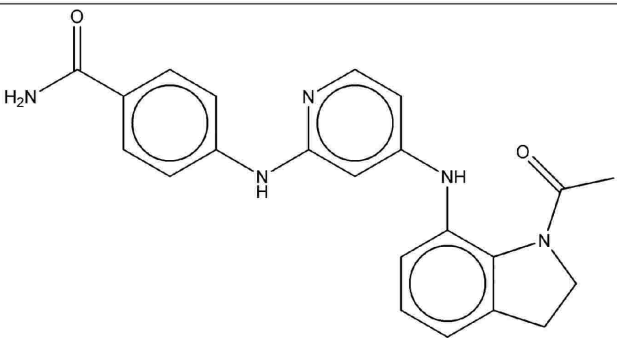
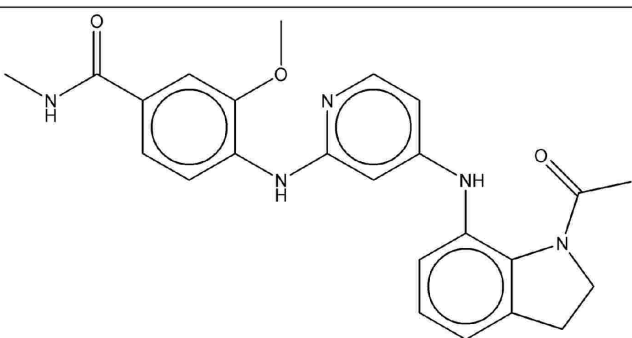
10

20

30

40

50

17 (1950)	4.78			10
30 (2000)	4.89			20
35 (2011)	4.97			30
93 (2349)	5.18			40

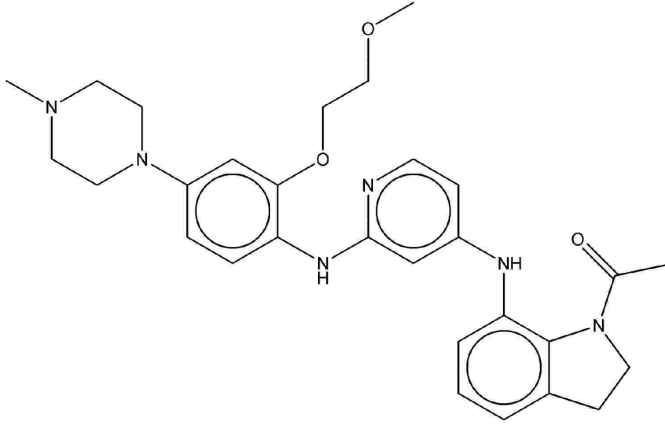
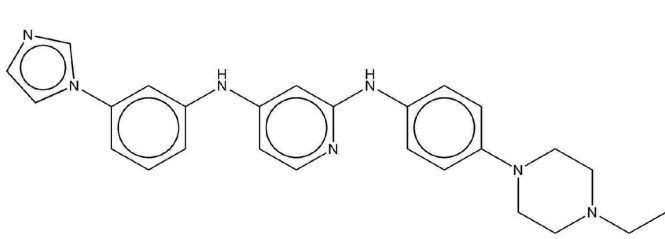
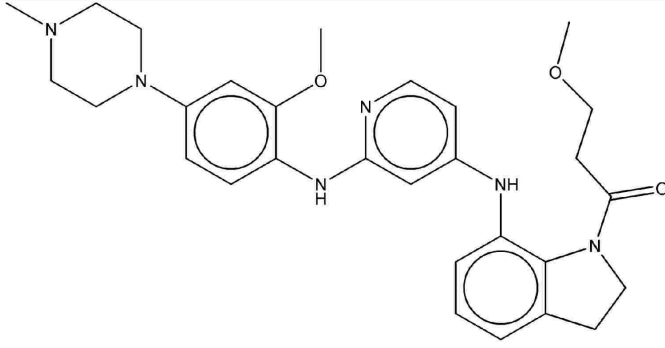
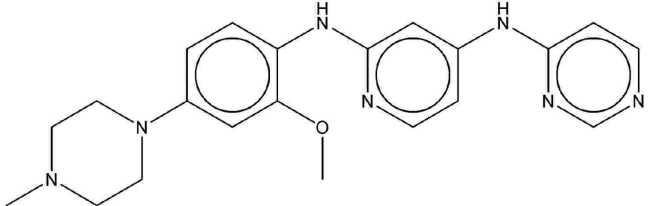
10

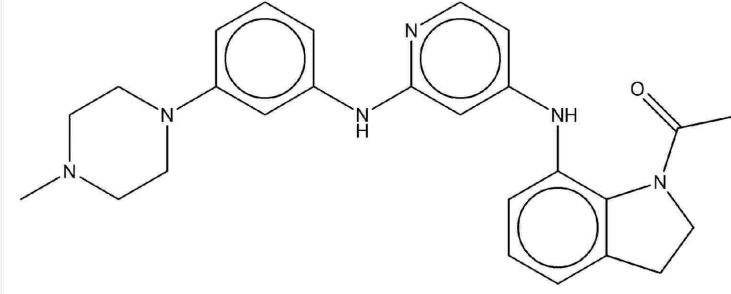
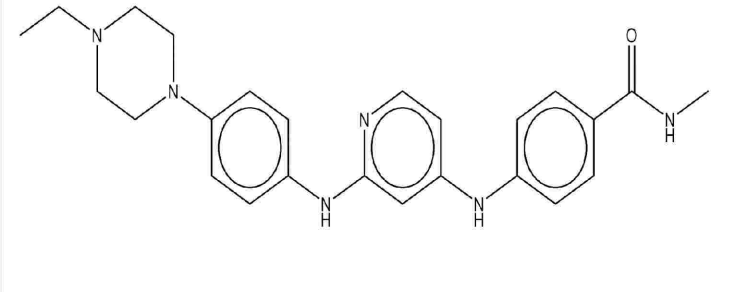
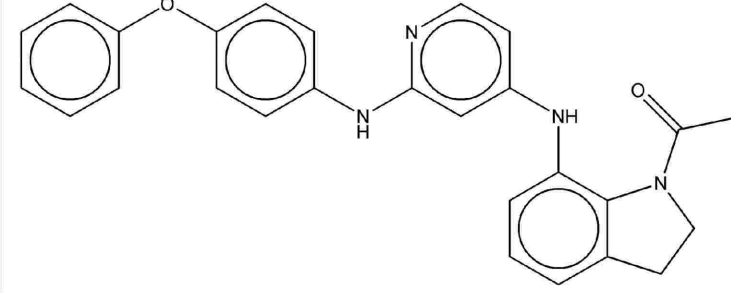
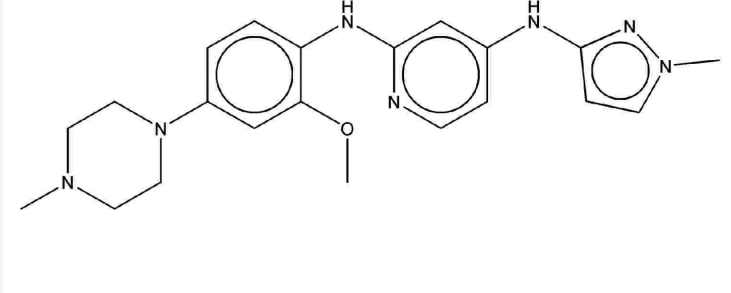
20

30

40

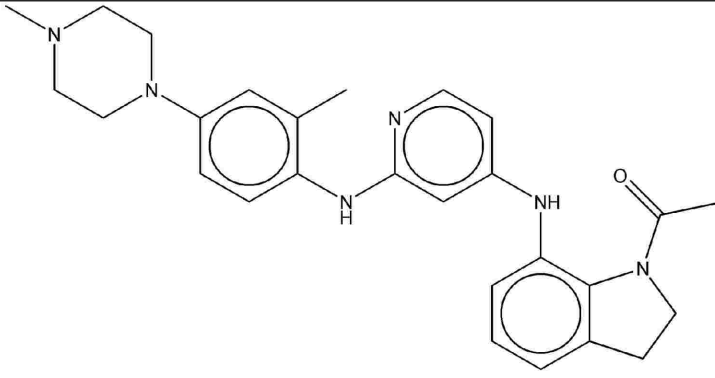
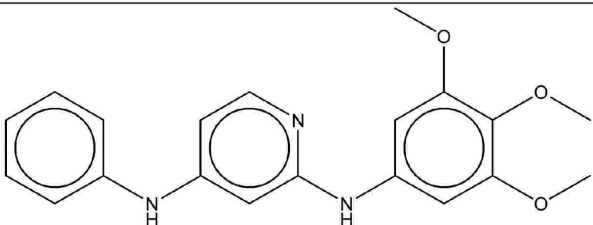
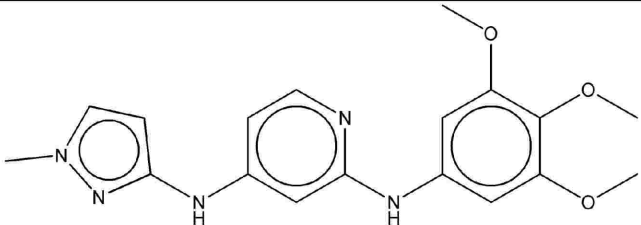
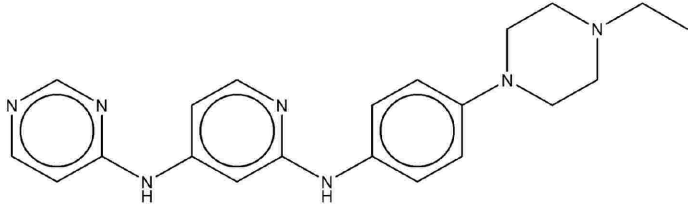
50

33 (2009)	5.23		 <chem>CN1CCN(C)CC1c2ccc(OC)c(Nc3ccncc3Nc4c[nH]c5c4CC5)cc2</chem>	10
81 (2107)	5.33		 <chem>CCN1CCN(C)CC1c2ccc(Nc3ccncc3Nc4ccccc4n5)cc2</chem>	20
21 (1961)	6.68		 <chem>CC(=O)NCCc1c[nH]c2ccccc12Nc3ccncc3Nc4ccc(OC)c(NC5CCN(C)CC5)c4</chem>	30
53 (2039)	7.85		 <chem>CN1CCN(C)CC1c2ccc(OC)c(Nc3ccncc3Nc4ccncc4)cc2</chem>	40

22 (1968)	7.85			10
79 (2105)	8.31			20
36 (2013)	8.81			30
3 (1904)	9.71			40

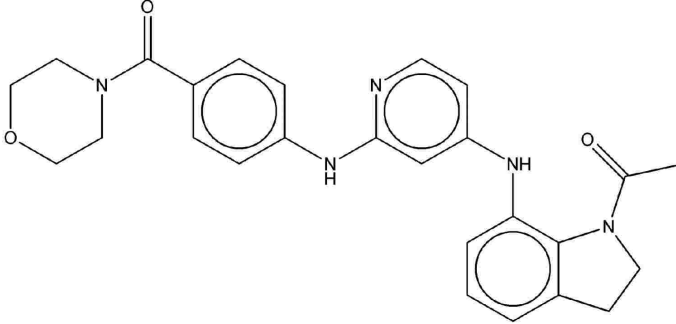
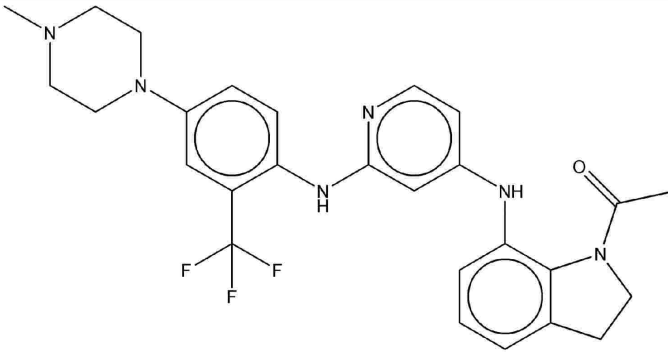
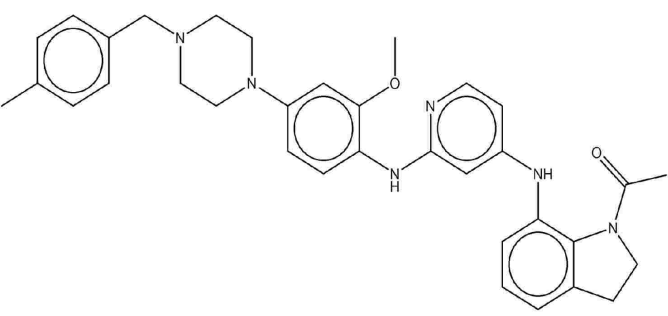
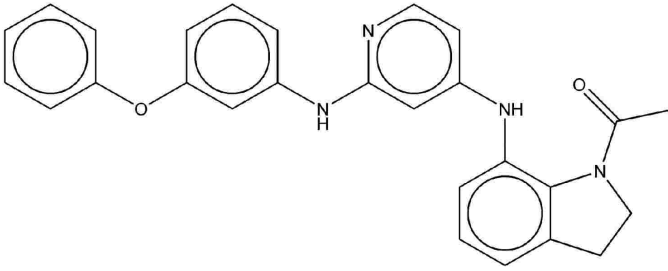
40

50

95 (2351)	14.72			10
1 (1902)	50.00			20
2 (1903)	50.00			30
80 (2106)	50.00			40

40

50

92 (2348)	>10.4			10
25 (1992)	>50			20
26 (1993)	>50			30
34 (2010)	>50			40

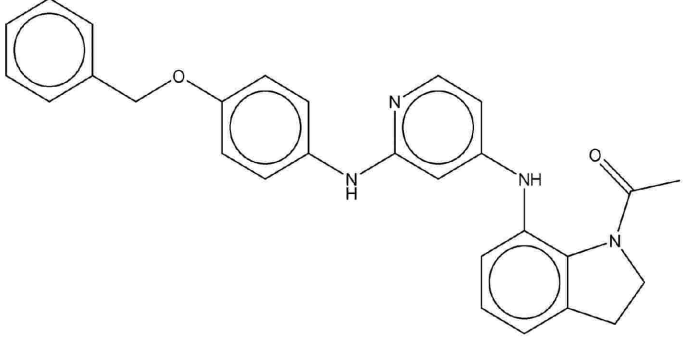
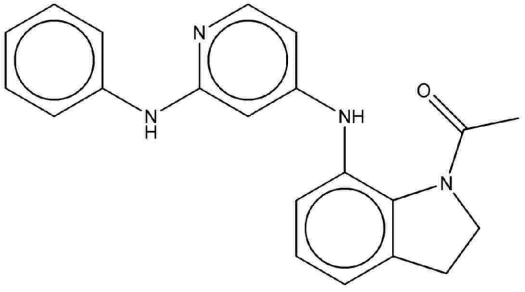
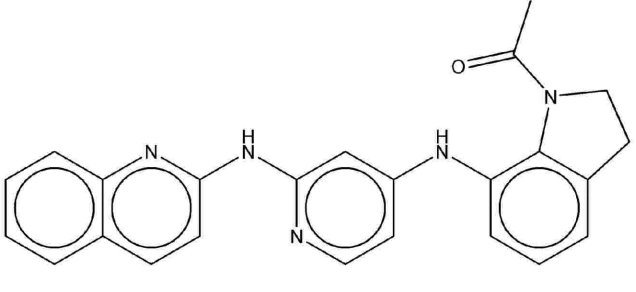
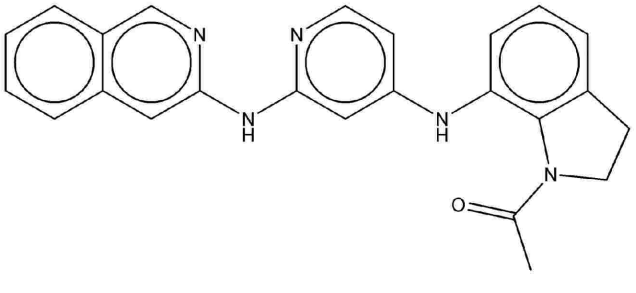
10

20

30

40

50

37 (2014)	>50		
39 (2016)	>50		
43 (2020)	>50		
44 (2021)	>50		

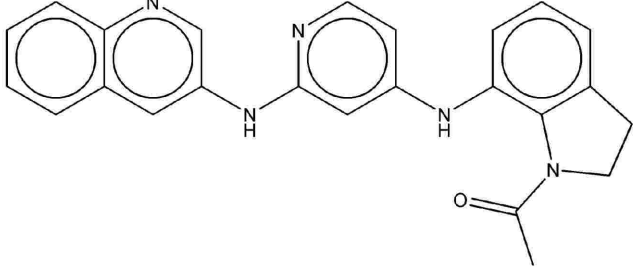
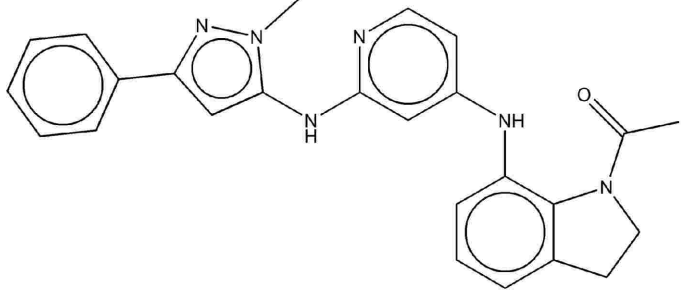
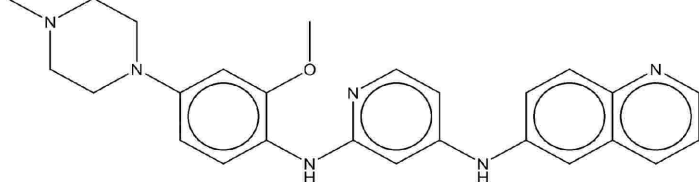
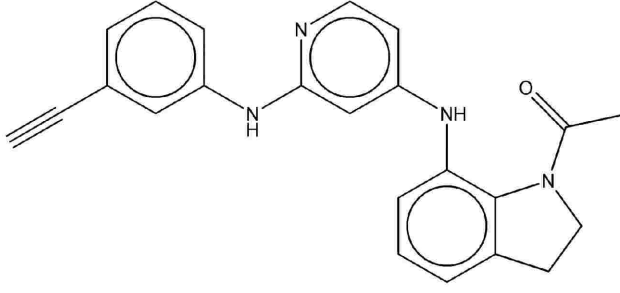
10

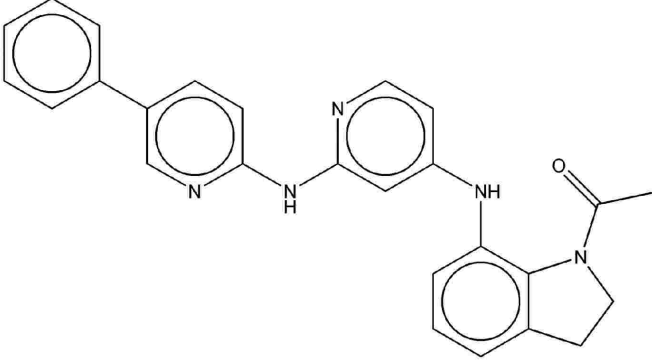
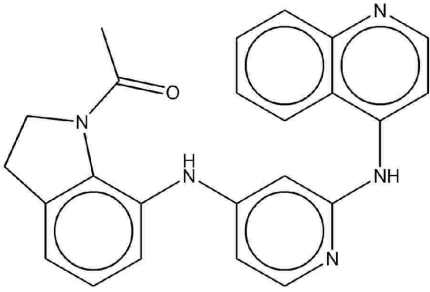
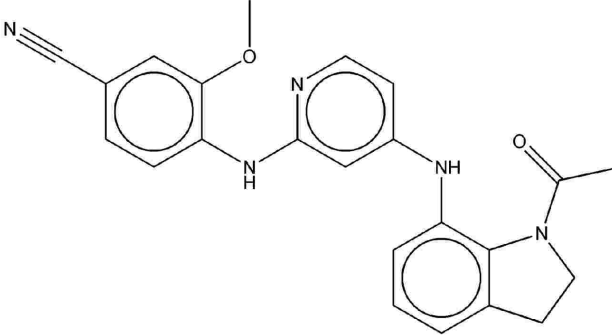
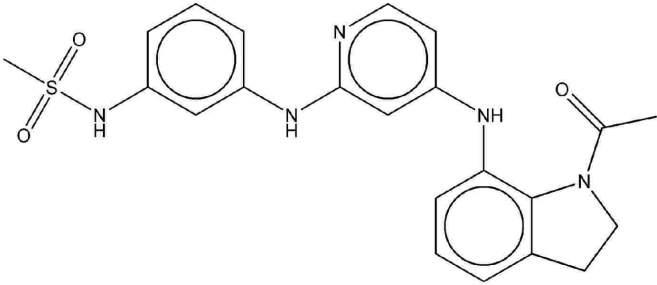
20

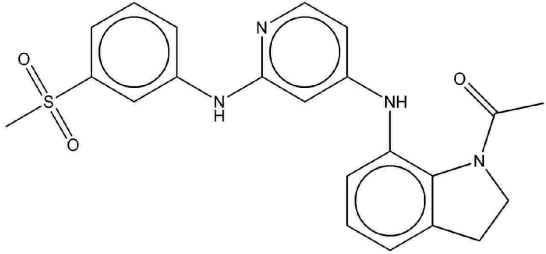
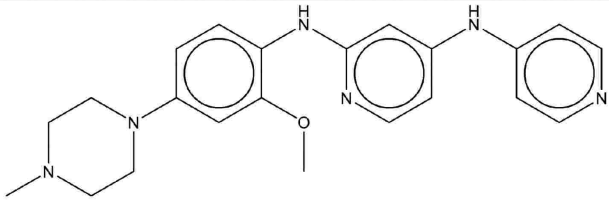
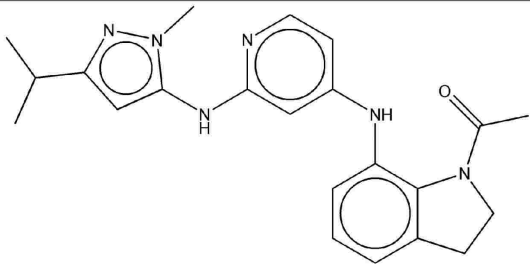
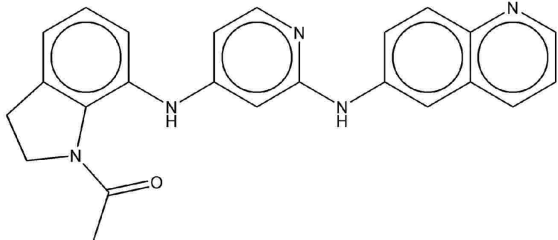
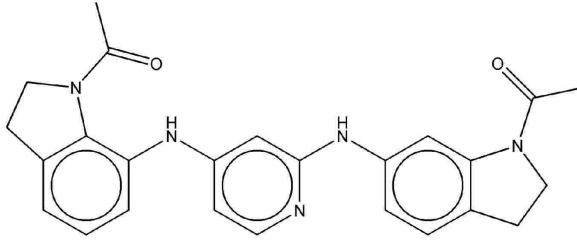
30

40

50

45 (2022)	>50			10
46 (2023)	>50			20
57 (2047)	>50			30
69 (2069)	>50			40

74 (2079)	>50			10
98 (2355)	>50			20
100 (2357)	>50			30
101 (2358)	>50			40

102 (2359)	>50		
55 (2045)	>6.125		
70 (2070)	0.39	X	
49 (2028)	0.44	X	
73 (2073)	0.50	X	

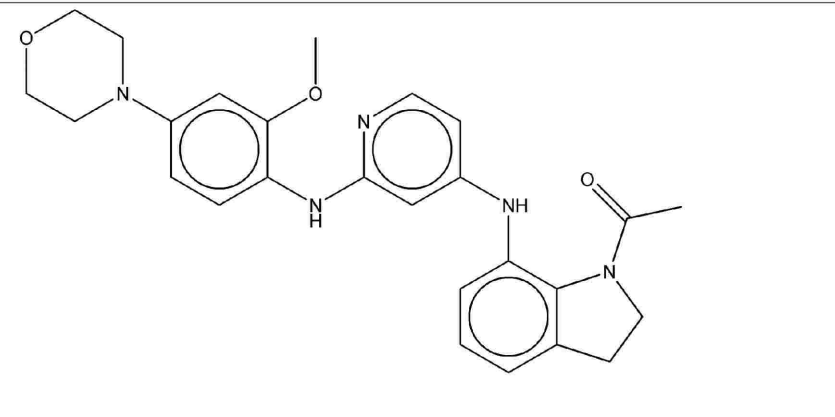
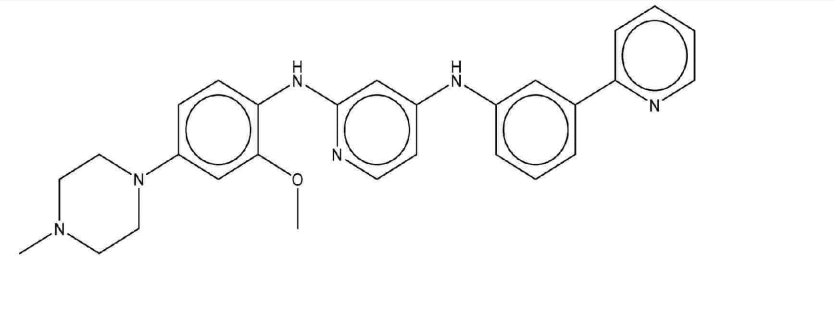
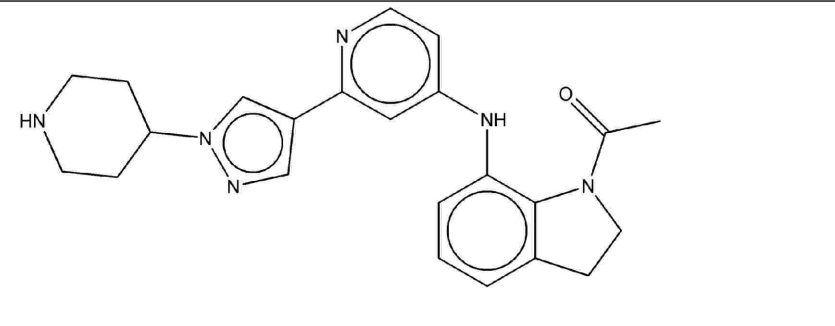
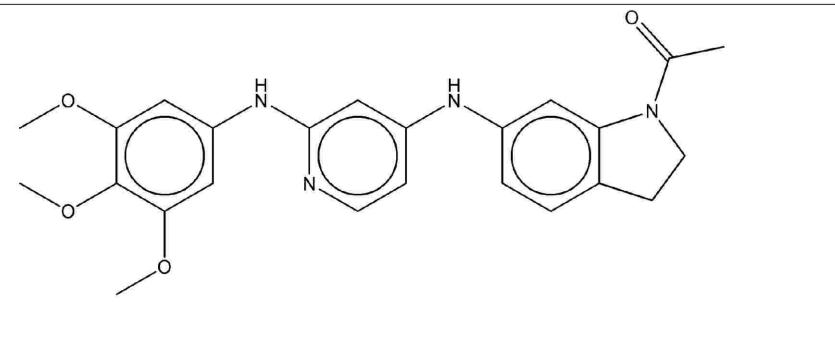
10

20

30

40

50

7 (1912)	0.54	X		10
59 (2052)	0.55	X		20
R5 (1962)	0.59	X		30
6 (1907)	0.84	X		40

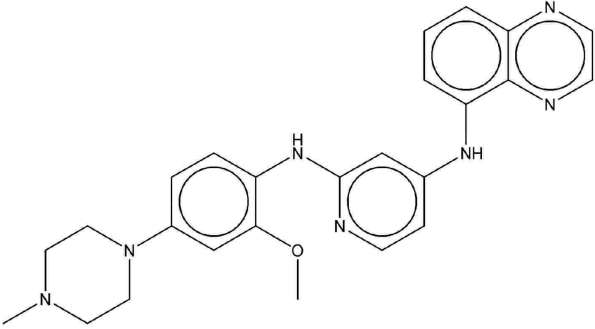
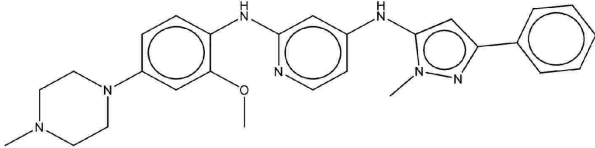
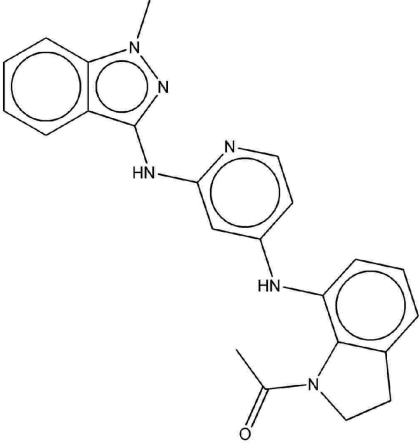
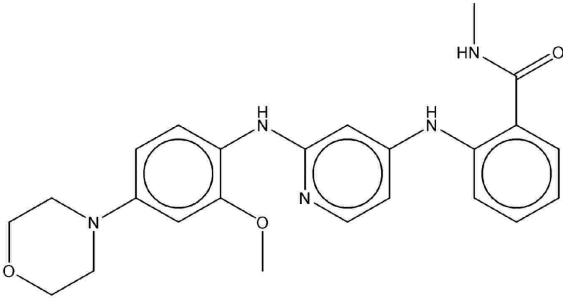
10

20

30

40

50

62 (2056)	1.29	X	 <chem>CN1CCN(C1)c2ccc(OC)c(Nc3ccc(Nc4cnc5ccccc45)c3)c2</chem>
28 (1995)	1.41	X	 <chem>CN1CCN(C1)c2ccc(OC)c(Nc3ccnnc3Nc4ccccc4)c2</chem>
48 (2027)	1.48	X	 <chem>CC(=O)N1CCN1c2ccccc2Nc3ccnnc3Nc4c5ccccc45</chem>
9 (1935)	1.58	X	 <chem>CN(C=O)c1ccc(Nc2ccc(Nc3ccc(OC)c(NC4CCOCC4)c3)c2)c1</chem>

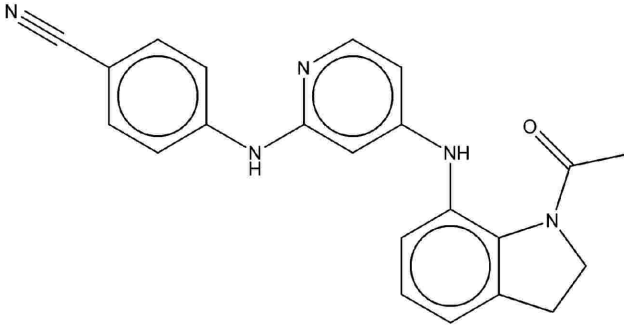
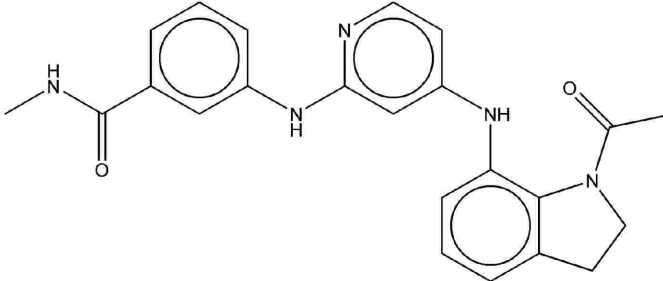
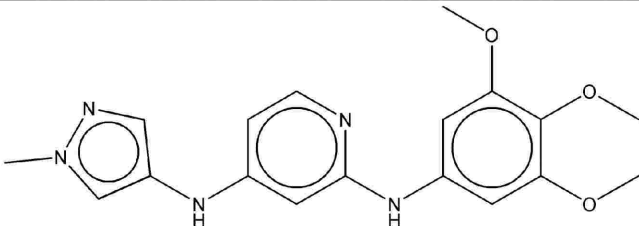
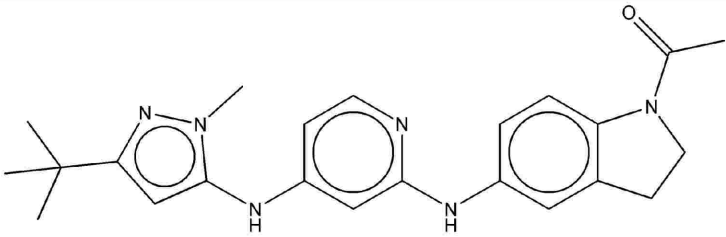
10

20

30

40

50

41 (2018)	1.74	X		10
47 (2026)	1.76	X		20
4 (1905)	2.08	X		30
83 (2109)	2.78	X		40

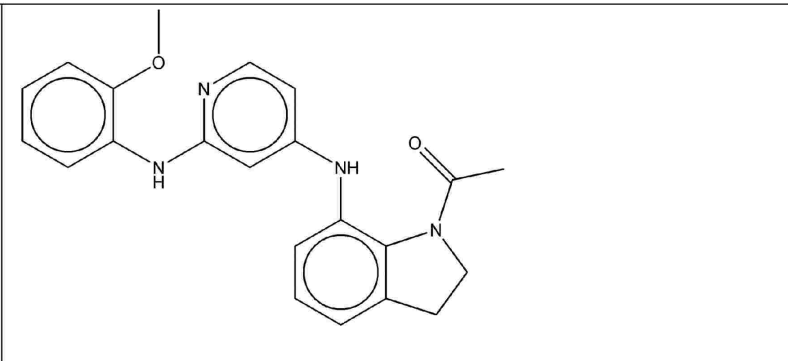
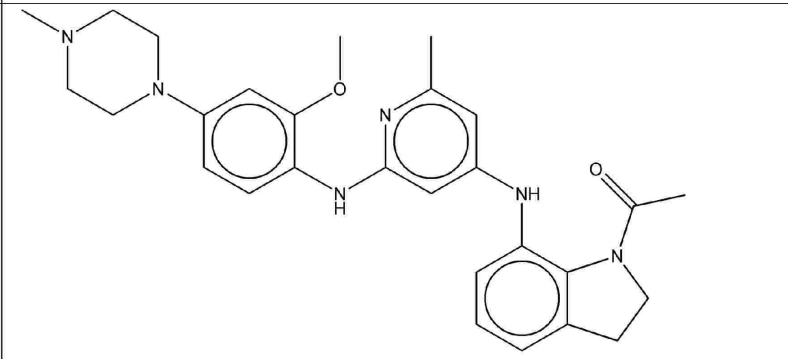
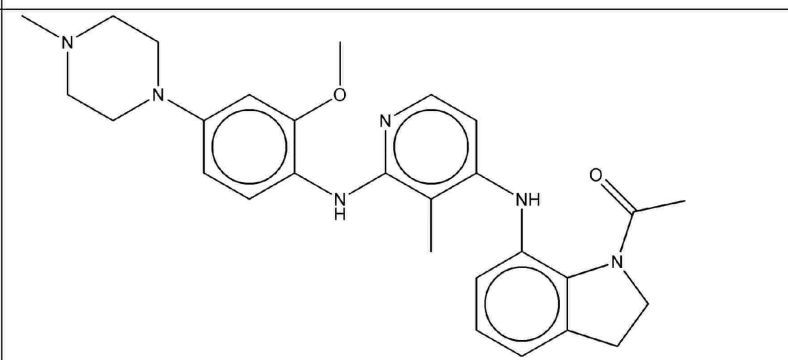
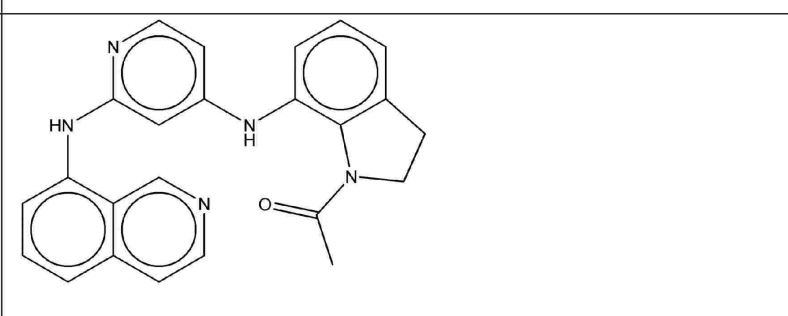
10

20

30

40

50

99 (2356)	4.78	X		10
10 (1936)	5.36	X		20
16 (1944)	5.53	X		30
71 (2071)	6.54	X		40

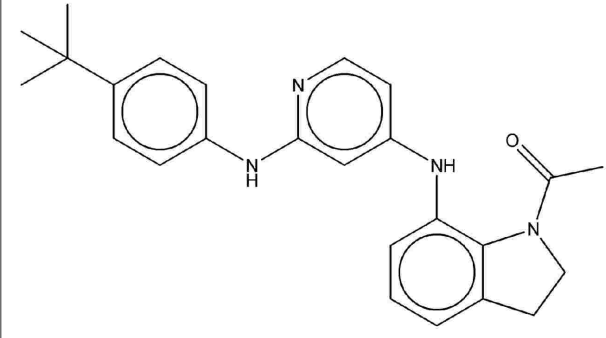
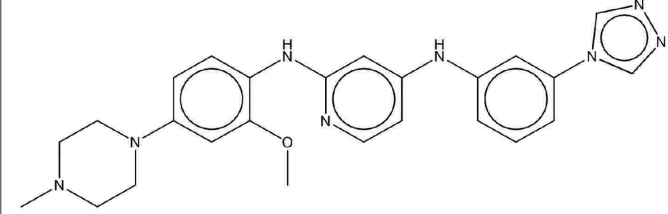
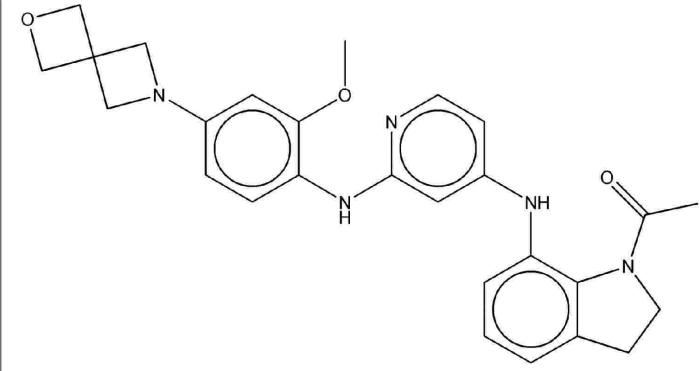
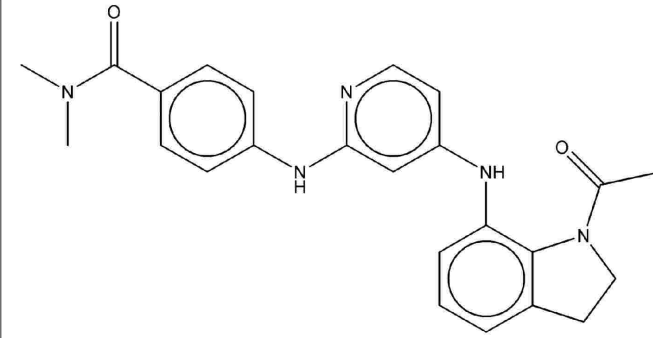
10

20

30

40

50

40 (2017)	7.40	X		10
66 (2064)	17.29	x		20
96 (2353)	>0.505	X		30
75 (2101)	>19.01	X		40

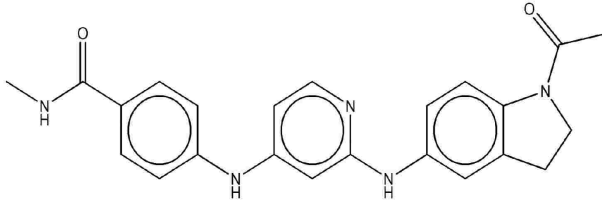
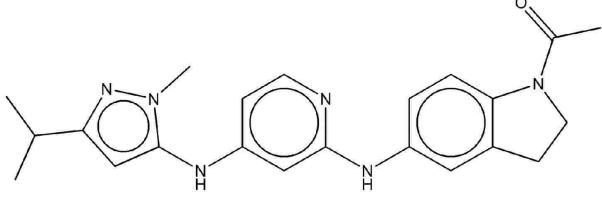
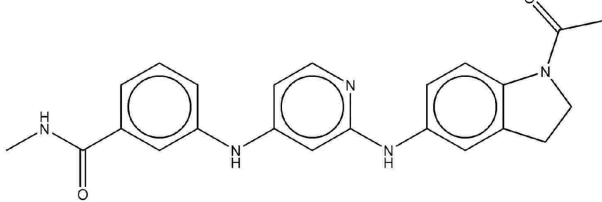
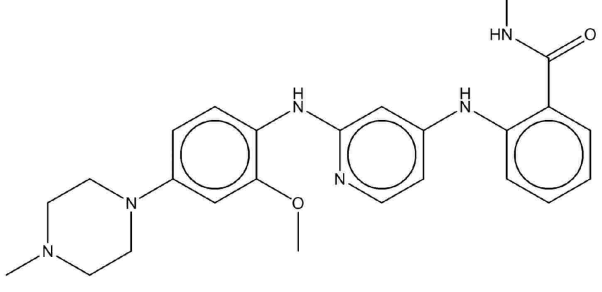
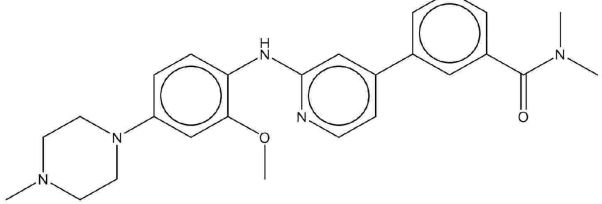
10

20

30

40

50

87 (2112)	>27	X	
85 (2110)	>27.2	X	
86 (2111)	>29	X	
8 (1934)	>50	X	
103 (1940)	>50	X	

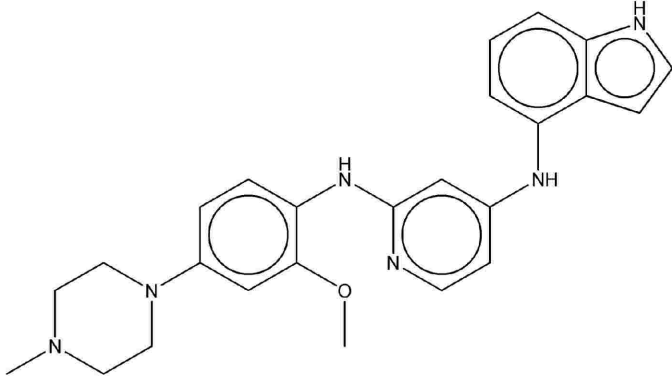
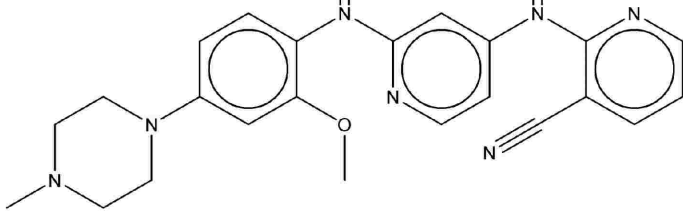
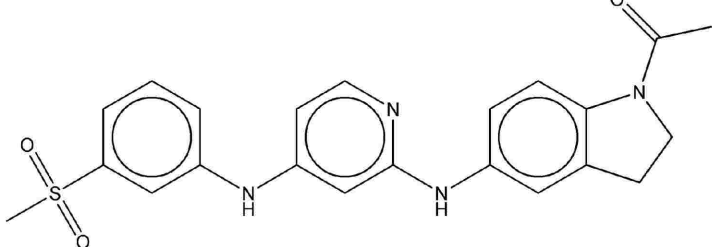
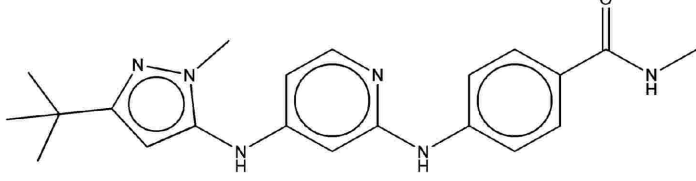
10

20

30

40

50

63 (2057)	>50	X	
67 (2066)	>50	X	
88 (2115)	>50	X	
89 (2116)	>50	X	

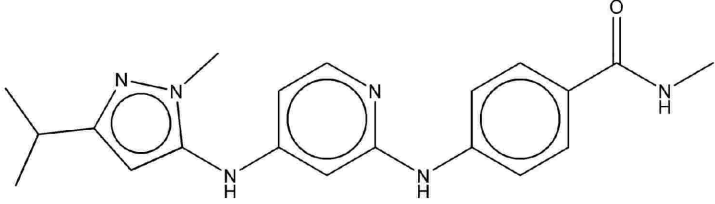
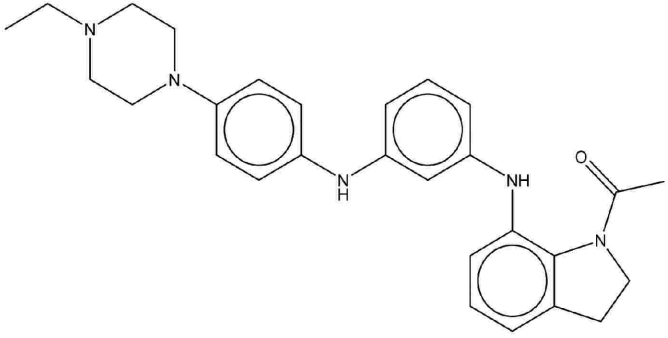
10

20

30

40

50

90 (2117)	>50	X	
99 (2346)	>50	X	

10

20

【 0 2 4 3 】

実施例 2

選択された本発明の例示化合物としての1938の活性の*in vitro*特性評価

1938はアロステリックな非ATP競合性のPI3K アイソフォーム選択的活性化因子である。

p110、p110 またはp110（さらにPI3K、PI3K およびPI3K という）と複合体化したp85 の*in vitro*脂質キナーゼ活性への1938の効果を試験した。陽性コントロールとして、PI3K 複合体を活性化することが知られる膜結合レセプターやアダプタータンパク質のチロシンリン酸化ペプチドとp85 のSH2ドメインとの結合を模倣するために、ニリン酸化リン酸化ペプチド（Tyr-740とTyr-751でリン酸化されたPDGFレセプター由来のペプチド、以下pYペプチドという）を用いた。すべてのクラスIA PI3Kアイソフォームを活性化するpYとは異なり（図9 / 拡張データ図1）、1938は濃度依存的にPI3K を活性化するが、PI3K またはPI3K を活性化しないことが見出された（図1b / 図22b）。酵素速度論的アッセイでは、1938がpYと同様に、PI3K のターンオーバー数（Kcat）と最大反応速度（Vmax）を増加させることが示された（図1c / 図22c）。pYがATPに対するPI3K のKmに影響を与えなかったのに対して、1938はPI3K のこのパラメーターを1 μMと10 μMで適度に低下させたが、30 μMでは低下させなかった（図1c）。1938はまた、脂質膜へのPI3K の結合を、pYによって誘導される最大レベルの約半分まで増加させた（図1d / 図22d）。飽和濃度のpY（図1e、左パネル / 図22e、左パネル）と1938の組み合わせは相乗的なPI3K 活性化をもたらした（図1e、右パネル / 図22e、右パネル）、1938が異なるメカニズムを介してPI3K を活性化するか、pYによって誘導されるものを超える活性化事象を増強することが示された。1938とpYの組み合わせは、pYによって誘導される以上のPI3K 膜会合をさらに増加させなかったことから（図1d / 図22d）、この相乗効果は膜結合の変化に関連しているとは考えにくい。

30

40

【 0 2 4 4 】

次に本発明者らは、それぞれ異なるメカニズムでp85 / p110 複合体を活性化することが示されているp110 の様々ながん原性変異体（Burke, J.E. et al. Proc Natl

50

Acad Sci U S A 109, 15259-15264 (2012)) (表2に要約)への1938の効果を試験した。1938は、pYによる刺激に匹敵するレベルまでG106V変異体およびN345K変異体を活性化した。E545K変異体はpY刺激に非感受性であったが、先に示したように、1938によってさらに活性化された(図1f/図22f)。1938とpYの共刺激は、G106Vに対しては相加的な活性化効果をもたらしたが、N345K変異体およびE545K変異体に対してはもたらさなかった(図1f/図22f)。1938はG106Vの膜結合を増加させなかったが、N345K(pYによって誘導されるのと同等のレベルに)およびE545K(先に報告したように、その膜結合はpYによって増加しなかった)に対しては増加させた(図1g/図22g)。これらのデータを総合すると、1938はPI3K触媒サイクルの複数のステップを増強し、試験したがん原性p110変異のいずれか1つによってもたらされる活性化のメカニズムを特異的に模倣するものではないことが示唆される(表2)。

10

【0245】

【表2】

表2-p110 α /p85 α への1938および選択されたホットスポットPI3KCA変異の影響

影響	p110 α /p85 α へのPI3KCA変異の影響				野生型 p110 α /p85 α への 1938の影響 (本研究)
	G106V	N345K	E545K	H1047R	
nSH2-ヘリックス表面の破壊	-	-	+	-	-
iSH2-C2表面の破壊	++	+++	+	-	++
アダプター結合ドメインの移動	+++	++	+	-	-/?
膜結合領域の脱保護	-	-	-	+++	-
N-およびC-ローブ間のヒンジの脱保護	-	-	-	-	++
基礎キナーゼ活性の増強	+	+	+	++	+
基底膜結合親和性の増強	-	+	+	+	+
pY-活性化キナーゼ活性の増強	+	+	-	+++	+++
pY-活性化膜結合の増強	+	+	-	++	-

20

30

【0246】

次に本発明者らは、1938活性化PI3KへのATP競合的PI3K選択的インヒビターBYL719の効果を検討した。25~50 μ Mの1938によって刺激されたin vitro PI3K活性は、500 nMのBYL719によって完全に阻害された(図1h/図22h)。1938(10 μ M)およびATP(200 μ M)存在下でのPI3K阻害への10~20 nMのBYL719のIC₅₀値は、1938非存在下でのPI3Kについて先に報告したIC₅₀(図1i/図22i)と同等であった。これらのデータは、1938がPI3K上のATP結合と競合せず、1938で活性化されたPI3KはBYL719によって完全に阻害されることを示す。

40

【0247】

実施例3

選択された本発明の例示化合物としての1938へのHDX-MSでの研究。

1938はp85とp110との抑制的な接触を阻止することによりPI3Kを活性化する。本発明者らは、水素-重水素交換質量分析(HDX-MS)を用いて、クラスIA PI3Kの生理学的活性化の分子メカニズムを解明する鍵となる可溶性のネイティブタンパク質を用いて化合物の結合部位と構造変化を調べた。膜常在レセプターや細胞質アダプターに存在する二リン酸化モチーフに複合体が結合すると、p85とp110との抑制的な相互作用が解除され、自己抑制されたp85/p110複合体の脱抑制によってクラスIA PI3Kの活性化が生じる。これらのイベントには、p110-ヘリックスドメイン上のp85-nSH2ドメインの抑制の解除、p85-iSH2/p110-C2ドメインの抑制的な相互作用の阻止、触媒

50

サブユニットの残基へのp110 のp85アダプタードメインの相対的な移動、p110 キナーゼドメインと脂質膜との相互作用が含まれる。

【0248】

PI3K とインキュベートした1938のHDX-MSにより、p110 のアミノ酸(AA)1001-1016からなる小型ループが1938の結合により保護されることが示され、この領域がp110 上の潜在的な1938結合部位であることが示唆された(図2a; 表面モデルは拡張データ図2に示される)。また、1938がATP結合部位の外側、p85 -iSH2ドメインとp110 -C2および-キナーゼドメインとの界面で結合することが認められる(図2a)。p85 /p110 のいくつかの付加的な領域、すなわちp85 -iSH2ドメイン(AA 550-570)とp110 の複数の領域、すなわち(N末端からC末端まで)でも溶媒交換率の増加が見られた: AA444-474 (p85 -iSH2とp110 -C2ドメインとの界面)、およびAA848-859(ATP結合部位)である。これらの観察された構造変化から、1938はp85 -iSH2ドメインとp110 -C2ドメインとの抑制的な接触を阻止することによってPI3K を活性化し、p110 ABD/RBDリンカーとキナーゼドメインの移動を引き起こし、触媒活性を増強する可能性が高いことが示唆された。これに加えて、BYL719とBYL719と1938の混合物とを用いてHDX-MS実験を行った。BYL719は、既報(P MID: 28381646参照)の通り、848-858キナーゼドメインリンカー領域および767-781領域を強く保護し、特徴的なATP競合的フットプリントをPI3K にもたらした。しかし、2つの化合物を組み合わせると、PI3K のフットプリントが統合され、キナーゼリンカー領域での保護、1002-1016ポケットでの保護、p85 -iSH2界面での露出が観察され、これらのことからPI3K が両方のリガンドを同時に受容できることが示唆された。

【0249】

実施例4

選択された本発明の例示化合物としての1938の活性の細胞ベースの特性。

1938は細胞にPI3K 経路活性化を誘導する

クラスI PI3Kは、細胞膜のPtdIns(4,5)P₂脂質をPtdIns(3,4,5)P₃(またはPIP₃)に変換し、PtdIns(3,4)P₃は5-ホスファターゼの作用によりPtdIns(3,4)P₂に変換される。そこで本発明者らは、これらの脂質に選択的に結合する蛍光バイオセンサーを発現する細胞のライブイメージングを用いて、1938による細胞の刺激がPIP₃およびPI(3,4)P₂の産生をもたらすかを試験した。血清飢餓のA549細胞の処理から3分以内に1938は細胞膜関連PIP₃産生を誘導したが、BYL719の添加により完全かつ速やかに中和された(図3ai、ii;)。1938はPIK3CA-null A549細胞ではPIP₃シグナルを増加させなかった(図3ai;)。血清飢餓のHeLa細胞においても、1938は急性ではあるが、A549細胞と比較するとより一過性のBYL719依存性のPIP₃産生のバーストを誘導し、その後中間レベルに戻った(図3aiii)。このPIP₃のピークに続いて、膜関連PI(3,4)P₂が産生され(図3aiiii)、そのタイミングは、5-ホスファターゼの作用によってPIP₃からPI(3,4)P₂が細胞内で産生される既知のメカニズムと一致していた。PIP₃とPI(3,4)P₂産生の同様の動態は、インスリンで刺激したHeLa細胞で以前に報告されている。HeLa細胞におけるBYL719および1938の添加後のシグナルのわずかな増加(図3aiiii、下のパネル)は、これらの細胞でのみ見られる培地添加に対する非特異的な反応を表している(図12/拡張データ図4)。

【0250】

次に本発明者らは、細胞内のPIP₃/PI(3,4)P₂産生によって刺激される最もよく知られるPI3KエフェクターであるAKTの活性化をモニターした。1938での処理15分において、マウス胚線維芽細胞(MEF)において濃度依存的にpAKT^{S473}のレベルが上昇したが(図3b)、PI3K -null MEFではpAKT^{S473}のリン酸化は認められなかった。先に報告したように、PI3K -null MEFは依然としてインスリンに反応するが、PI3K 選択的インヒビターTGX-221へのインスリン刺激pAKT^{S473}の感受性によって示されるように、今度はPI3K 依存的に反応する(図3b)。PI3K 野生型MEF(図3b)、

A549細胞（図3c）およびMCF10A細胞（図13/拡張データ図5）において、BYL719との共処理は、1938によって誘導されるAKTリン酸化を完全にブロックした。1938での処理15分において、マウス（MEF；図3b）細胞およびヒト（A549）細胞の両方で、pAKT誘導のEC₅₀は2~4 μM以下であった（図3d）。A549細胞における1938とインスリンの用量滴定により、これらの細胞において1938は、AKTリン酸化によって測定されるように、インスリンの飽和用量を超えて、PI3K経路を過剰に活性化できること、すなわち5~10 μMの1938の用量において、1 μMのインスリンのE_{max}の~200%であることが明らかになった（図3d）。1938（5 μM）によるMEFおよびA549におけるpAKT^{S473}の誘導は迅速であり（5分；図3c、e；図13/拡張データ図5）、30分で活性化のピークに達し、数時間持続した後、刺激の24時間後または48時間後にベースラインより僅かに高いレベルに戻った（図3e）。S6（Ser240/44）と4EBP1（Ser65）のリン酸化により測定したmTORC1経路の活性化についても同様の観察をした（図3e）。興味深いことに、Akt/mTORC1経路活性化のパターンおよび動態は、インスリンによって誘導されるものと全体的に類似しており（図3c、e）、1938が介在するPI3K経路活性化は、PI3Kシグナル伝達経路で作動することが知られる内因性の細胞フィードバック機構に従うことが示唆された。要約すると、げっ歯類およびヒト細胞において1938が用量依存的かつPI3K 依存的に近位および遠位のシグナル伝達の両方を活性化し、細胞内でPI3K シグナル伝達を直接活性化する能力が実証された。

10

【0251】

実施例5

20

選択された本発明の例示化合物としての1938により誘導されるシグナルの不偏評価。

1938により誘導されるシグナルの不偏評価

1938の構造が複数のキナーゼインヒビターの足場として知られるピリジンコアを含むことを考慮し、本発明者らは次に、133種のタンパク質キナーゼおよび7種の脂質キナーゼのパネルの*in vitro*活性に対する1938の影響を試験した（KinMap（Eid, S. et al. BMC Bioinformatics 18, 16 (2017)）（図3f）またはウォーターフォールプロット（図14/拡張データ図6）として表されるデータ）。濃度1 μMの1938で、13種のタンパク質キナーゼが25~50%阻害され、LCKとBRKの2種のタンパク質キナーゼだけが50%以上阻害された（それぞれ58%と56%）。LCKとBRKは、それぞれ50 μMと75 μMのATP存在下で*in vitro*試験されたことに注意することが重要であり；1938がこれらのキナーゼに対してATP競合的インヒビターとして作用する場合、ATP濃度が1~10 mMであることが知られる細胞では1938による阻害率は著しく低くなると予想される。

30

【0252】

1938は、パネル中の他のPI3Kアイソフォーム [PI3K (PIK3CB)、PI3K (PIK3CG)、PI3K (PIK3CD)、PI3K-C2 (PIK3C2A) およびVps34 (PIK3C3)]、またはPI3K関連キナーゼPI4K、mTORおよびDNA-PKの活性に影響を与えなかった（図3f）。別の*in vitro*アッセイでは、1938は、PI3K関連キナーゼATM（図15/拡張データ図7）およびmTORC1（図14/拡張データ図7；mTOR/RAPTOR/LST8複合体として試験；ThermoFisherのスクリーニング（図3f；図14/拡張データ図6）におけるmTOR活性は、結合パートナーのないmTOR単量体を用いて試験されたことに注意）の活性に影響を与えなかった。

40

【0253】

次に本発明者らは、リン酸化プロテオミクスを用いて、不偏的な方法で1938が細胞シグナル伝達に及ぼす影響を調べた。1938またはインスリンでPI3K⁻WTおよびPI3K⁻KOのMEFを15分間または4時間処理し（図16/拡張データ図8a、b）、DMSOに対して2倍を超える変化を示し、かつ調整p値<0.05を示すリン酸化部位を、有意に制御されたと定義した。本発明者らは、3,093のタンパク質から10,611のリン酸化部位を定量し、そのうちpSer残基は9100、pThr残基は1420、pTyr残基は91であった（図16/拡張データ図8a）。図3a、bに示されたデータと一致して、1938はPI3K

50

-KO MEFではシグナル伝達にほとんど影響を与えず(図3 g i、i i; 図16 / 拡張データ図8 b)、パキシリン(pPXN^{S322})が変化した唯一のリン酸化部位であった(15分間の1938処理でダウンレギュレートされたが、4時間の刺激では影響を受けなかった; 図3 g i、i i)。PI3K⁻WT MEFでは、1938は15分および4時間の処理でそれぞれ27および50のペプチドの差次的リン酸化を誘導し、その大部分はアップレギュレートされた(図3 g i、i i)。アップレギュレートされたリン酸化部位には、よく知られたPI3K経路の構成要素であるpAKT1S1^{T247}(PRAS40としても知られる)とpGSK3B^{S9}が含まれていた(図3 g i)。ビヒクル処理細胞と比較して、PI3K⁻WT MEFのインスリン処理は、15分後と4時間後にそれぞれ11部位と18部位のリン酸化を誘導した(図16 / 拡張データ図8 c)。両時点において、1938およびインスリンによって制御されるPI3K⁻WT MEFのリン酸化部位にはかなりの重複が観察された(図3 g i i i)。4時間後に1938とインスリンによってアップレギュレートされたリン酸化部位の大部分は、15分間の1938処理によってアップレギュレートされた部位と類似していた(図3 g i)。さらに、1938で制御されたリン酸化部位の約半数は、インスリン、IGF-1、PI3K阻害またはAKT阻害によって制御されることが以前に報告されており(PhosphoSitePlusで)、一部はmTORまたはPDK1による制御と関連していた(図3 g i、i i)。注目すべきことに、pSPCC1L^{S923}、pMSN^{S384}およびpMAPK3^{Y205}等のトップヒットを含む、PI3K⁻KO MEFではなくPI3K⁻WT MEFにおいて1938によってアップレギュレートされたいくつかのリン酸化部位は、PhosphoSitePlusによるPI3Kシグナル伝達に以前はリンクされておらず(図3 g i)、PI3K⁻の下流の新規シグナル伝達経路を発見するツール化合物としての1938の有用性を強調している。

【0254】

実施例6

選択された本発明の例示化合物としての1938により誘導されるPI3K⁻依存性的細胞生物学的応答の*in vitro*評価。

1938誘導PI3K⁻依存性的細胞生物学的応答

同化代謝の活性化、細胞周期の進行および細胞増殖におけるPI3K⁻の役割は十分に確立されている。PI3K⁻WT MEFでは、CellTiterGloアッセイを用いてATP含量によって測定される代謝活性は、1938により用量依存的に増加し、1938のEC₅₀は~0.5 μMであった(図4 a)が、PI3K⁻KO MEFsでは増加しなかった。24時間のインキュベーション後、~7.5 μMを超える濃度の1938は、PI3K⁻WTおよびPI3K⁻KOの両方のMEFにおいてATPレベルを有意に減少させ、これらの濃度における1938のPI3K⁻非依存的効果を示した(図4 a)。より長いインキュベーション(48時間および72時間)では、1938のこれらの非PI3K⁻依存性的効果は、2 μMで観察された(図17 / 拡張データ図9)。

【0255】

代謝活性の上昇に加えて、PI3K⁻WT MEFの1938処理により、細胞周期の進行(EdU組み込みにより測定; 図4 b)および細胞数の増加(クリスタルバイオレット染色で測定; 図4 c)も誘導された。これらの生物学的効果はPI3K⁻KO MEFでは観察されず、PI3K⁻WT MEFではBYL719との共処理によって完全に中和された(図4 b、c)。1938で72時間処理した場合とは異なり、同じ条件下でインスリンとインキュベートした場合は細胞数の増加をもたらさなかったことは興味深いことであり(図4 c)、プロテオミクスのデータ(図3 f)から示唆されるように、これらの薬剤の細胞活性に差があることを示唆している。

【0256】

実施例7

選択された本発明の例示化合物としての1938により誘導される疾患関連生物学的応答の*ex vivo*および*in vivo*での評価。

薬理的PI3K⁻活性化の治療可能性

心筋梗塞は冠動脈疾患患者の重大な罹患率および死亡率の原因である。新規な抗血小板

薬や抗血栓薬の開発にもかかわらず、カテーテルによる経皮的冠動脈インターベンションによるタイムリーな再灌流が依然として心臓組織サルベージの基本である。逆説的であるが、このような再灌流は、血液が供給されない期間の後の血液の供給の回復に続いて起こる組織障害である虚血再灌流障害 (IRI) を引き起こし、これは動脈内装置を用いた脳卒中治療でも観察される。心筋梗塞患者の長期予後を改善するためには、IRIを軽減する方法を見つけることが不可欠である。IRIから心臓を保護する実験的方法である虚血性プレコンディショニングは、PI3K/AKT経路の正統的活性化因子であるインスリンを含む心保護剤の大半によって誘導される心保護経路である、いわゆる再灌流障害サルベージキナーゼ (RISK) 経路の一部として、MEK/ERK1/2やPI3K/AKT等のキナーゼの活性化をもたらす。PI3K インヒビターを用いて、我々は以前にPI3K の活性化が心保護に必要かつ十分であることを示している。

10

【0257】

IRIの確立された実験モデルであるLangendorff ex vivo灌流ラット心臓において1938は即効性のアゴニストであり、再灌流の最初の15分間に投与すると組織をIRIから実質的に保護することが見出された。これは、組織の生存率の増加および梗塞サイズの縮小 (図5 aに代表的な画像を示す; 図5 bでは定量化) ならびに機能性の増加 (ECGで評価; 図5 a) によって証明され、両者ともpAKTS473の産生の増加と関連していた (図5 c; 全データは図18 / 拡張データ図10に示す)。1938はマウスのIRIのin vivoモデル (図11の左側のパネル) でも有意な心保護作用をもたらし、これらのマウスの心臓におけるpAKT^{S473}のレベルも対応して増加した (図11の右側パネル)。PI3K の迅速な活性化が観察されたことから、心筋梗塞後の緊急冠動脈血行再建術を受けている患者にPI3K 直接的活性化剤を治療的に適用することにより心保護効果が期待でき、臨床現場でも実現可能であることが想定される。

20

【0258】

PI3K経路の活性化は神経保護と神経再生に広く関連しており、近年、遺伝学的アプローチを用いて軸索再生におけるPI3K のポジティブな役割が証明された。現在、末梢神経、脊髄、視神経の損傷等への神経細胞再生を促進するために日常的に使用される臨床段階の低分子治療が存在しないことから、このような状況におけるPI3K 活性化の可能性を探索した。神経再生のin vitroモデルである単離した成体ラット後根神経節 (DRG) 培養において、1938は用量依存的に神経突起伸長を有意に増加させ、1938濃度が高い程、72時間後に測定された神経突起の全長は2倍になった (図5 d)。

30

【0259】

これらの観察結果に刺激され、次に我々は、末梢神経の損傷および再生in vivoモデルであるラットの坐骨神経破砕モデルにて1938を試験した。探索的実験では、1938の直接注入または露出した坐骨神経を1938溶液に浸した場合にpAKTの誘導が示され (図19 / 拡張データ図11)、1938が局所的に投与されると、この組織でPI3K経路の活性化がもたらされることが示された。神経破砕の直後 (図5 e、i - i i)、近位破砕部位への単回硬膜内注射 (図5 e、i i i) および神経に隣接して移植されたミニポンプ (図5 e、i v) を介して1938が送達され、実験期間中、1938溶液が装填された。損傷から3週間後に分析を行った。

40

【0260】

損傷部位の近位で神経刺激中の前脛骨筋からの電気生理学的記録により、運動単位数推定 (MUNE) の増加 (図5 f) および複合筋活動電位 (CMAP) の回復 (図5 g) により示されるように、1938処理により電気生理学的回復が増大することが示された。このことは、(1) 神経突起が正常な筋膜神経構造内でグループ化されているコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 陽性運動軸索の数の1938処置動物での増加 [図5 h; 前脛骨筋の再神経支配点に近い、坐骨神経総腓骨枝の遠位神経切片で評価] (図5 i); および(2) 前脛骨筋の神経筋接合部 (図5 j) の一部に神経支配が認められ、 α -ブングアロトキシン (α -BTX) 染色により、後シナプスアセチルコリン受容体の特徴的な分布が示され、ニューロフィラメント免疫反応により神経細胞が検出されたこと (代表例を図5

50

kに示す)を示す組織学的解析と相関していた。21日後の解析は再生という点では初期の時点であり、無処置の動物では低レベルの筋肉の初期再神経支配が予想される。遠位神経と神経筋接合部(NMJ)に運動軸索が組織学的に検出されたことは、前脛骨筋の電気生理学的再神経支配の改善に対応している。より損傷点に近い神経切片(破砕部位から3 mmおよび6 mm遠位)の組織学的解析では、治療群と対照群で神経フィラメントおよびChAT陽性軸索の数が同等であった(図51)。このことは、1938処置に伴う筋再支配の機能改善は、再生する神経突起の総数の変化よりも、むしろ自然な神経細胞再生の促進によるものであることを示している。

【0261】

以上のデータを総合すると、短期間の局所的な薬理的PI3K活性化による組織保護と再生における治療の可能性が前臨床試験で証明された。

10

【0262】

実施例8

がん治療におけるPI3K活性化の適合性の評価。

がん治療におけるPI3K活性化の治療的可能性

本発明者らによって開発されたPI3K活性化因子は、栄養および酸素の欠乏条件下で様々な組織由来の複数のがん細胞株の細胞死を誘導することができ、ラットの初代神経細胞、ヒト内皮細胞(HUVEC)、および不死化されたが形質転換されていないMCF-10A乳房上皮細胞株には細胞毒性を示さなかった[表3;図6、7]。この細胞死は、ヨウ化プロビジウム染色/FACSで評価され、PI3KインヒビターBYL719(図6、7)またはPI3K経路イインヒビター(図6、7)によって部分的に中和することができた。PI3Ka誘導過剰活性化細胞死は連続暴露後72時間で観察され、わずか0.5~1時間の薬物暴露で72時間後に細胞毒性反応を観察できることから(図8)、in vivoでのパルス的薬物投与の可能性が示された。

20

【0263】

30

40

50

【表 3】

表 3 - PI3K α 誘導細胞死に対する各種細胞の in vitro 感受性

組織由来	細胞	がん種／組織化学	PIK3-OCD応答
初代／非形質転換	HUVECs	ヒト臍帯静脈内皮細胞	no
	DRGニューロン	初代ラット後根神経節ニューロン	no
	MCF10A	non-tumourigenic immortalised breast epithelial cell line	no
肺がん	H1299	NSCLC (非小細胞がん)	no
	H661	NSCLC (大細胞がん)	partial
	A549	NSCLC (非小細胞がん)	yes
	H460	NSCLC (大細胞がん)	yes
	H1975	NSCLC (非小細胞がん)	yes
	LLC (mouse)	NSCLC	yes
乳がん	MDA-MB-231	Basal-like	partial
	BT549	Basal-like	yes
	MCF7	Luminal	yes
	T47D	Luminal	yes
GBM	U87-MG	グリオブラストーマ	yes
結腸直腸がん	HCT116	結腸直腸がん	yes
	COLO320 HSR	結腸直腸がん	yes

10

20

30

40

50

【0264】

実施例 9

選択された本発明の例示化合物としての1938についての補足的な結晶学的研究。

1938はp85 とp110 の抑制的な接触を阻止することによりPI3K を活性化する。1938がPI3K とどのように相互作用するかを理解するために、本発明者らは、1938の存在下でPI3K の結晶化を試みた。まず、全長のp110 と切断されたniSH2のp85 (p110 M232K L223K/p85 307-593) とを含むコンストラクトを用いた。2.2Å分解能まで回折するPI3K 結晶が得られたが、共結晶化しても、予め形成された結晶に化合物を浸漬しても、化合物は見られなかった (PDB: 7PG5)。1938とBYL719の両方でPI3K を共結晶化すると、BYL719の密度だけが見える結晶が得られた (2.5Å分解能、PDB: 7PG6)。そこで本発明者らは、p110 触媒サブユニットのみを含むコンストラクトを用いて、キナーゼドメインのアダプター結合ドメインと脂質結合面を欠失させた (p110 105-1048)。p110 を1938と共結晶化しても結晶は得られなかったが、本発明者らは予め形成した結晶に1938を浸し、1938の密度を観察することができた。アポp110 105-1048では2.4Åまで回折する結晶が得られ、1938を浸したp110 105-1048では2.5Åまで回折する結晶が得られた。

【0265】

HDX-MSの結果と一致するように、結晶構造は1938が残基E365、I459、L540、D603、C604、N605、Y641、S1003、L1006、G1007、F1016に囲まれたポケットに結合することを示している (図20b i、i i)。1938の核となるピリジン窒素は十分に塩基性であり、生理的pHでは主にプロトン化され、このNH⁺がD603の側鎖と重要な相互作用をする。このプロトン化状態では、分子は標準的なタンパク質キナーゼインヒビターに特徴的なドナー-アクセプターモチーフを形成することができない。1938の

アセチル化インドリンは、L1006、F1016、I459からなるポケットに位置し、F1016と、面と面の相互作用をする。1938が結合すると、リガンドを収容するためにF1016がポケットから離れる。ピペラジンはE365とL540に囲まれ、溶媒の方を向いている。

【0266】

化合物の結合により、グローバルなコンフォメーションシフトが観察される。C2ドメインとヘリカルドメインはともにキナーゼドメインから離れている。化合物結合により保護されるとHDX-MSで同定されたループ(1002-1016)は、p110-1938構造ではアポと比較して活性化因子結合部位から離れている。加えて、ヘリックス1016-1026も化合物結合時に遠ざかる。1938結合部位は、E542とE545ホットスポットに近接している(約10Å)。この領域はp85のnSH2ドメインによるp110の阻害に重要であるため、1938がp85のp110に対する阻害作用を弱め、酵素の活性化に寄与している可能性がある。

10

【0267】

興味深いことに、p110-1938の構造は、PI3KとPI3Kの両アイソフォームに対する活性を欠く潜在的な理由を強調している。p110の1938結合ポケットの構造をp110(PDB:2Y3A)およびp110(PDB:6PYU)の類似領域と比較すると、p110およびp110は1938を収容できるポケットを持たないことが示された(図20b i i i)。予備的な構造活性相関解析によって化合物の結合様式の主要な構成要素を確認した。核となるピリジンを2,4-ピリミジンに置き換えると(化合物2152)、活性が95%以上低下するが、これは相当する窒素が生理的pHでプロトン化されなくなり、D603との重要な相互作用を形成できなくなるという提案と一致する。化合物1887および1889は1938と同等の活性を示し、ピペラジンの修飾や置換が許容されることを示している(表4)。しかし、ピペラジンを完全に除去すると(化合物2016)、活性は90%以上低下する。化合物2016はまた、1938よりも溶解性が低い。結晶構造は、ピペラジンが溶媒の方を向いていることを示しており、ピペラジンまたはトリ-O-メチル置換フェニルの存在が、水分子を置換し、L1006とF1016との疎水性相互作用を維持する上で重要である可能性を示唆している。インドリンは、F1016とL1006Rとのエッジ・トゥ・フェイスおよび疎水性相互作用に必要である。カルボニル基は、インドリンとピリジンを連結するNH基と内部水素結合を作り、インドリンをF1016との相互作用に適した方向に保持する。アセチル化インドリンをピリミジンに置き換えると(化合物2106)、活性が95%以上低下するが、これはF1016との端と端の相互作用があまり好ましくないこと、およびピリジンの柔軟性が増すことによる可能性がある。

20

30

【0268】

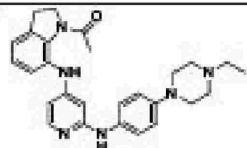
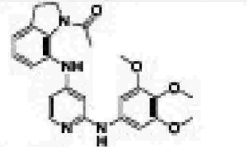
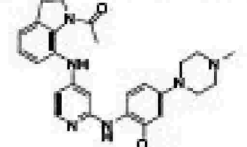
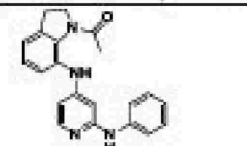
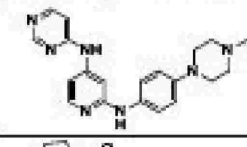
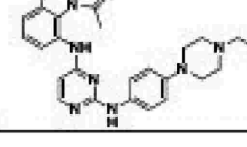
そこで本発明者らは、1938耐性変異体の作製を試みて変異誘発を行った。結晶構造およびSARデータに基づいて、次の変異体を作製した：D603K、D603A、603DCN_AA A605三重変異体、D603A/F1016S二重変異体、L1006R、F1016S、L1006R/F1016S二重変異体。D603K、D603A、DCN_AAA三重変異体、D603A/F1016S、L1006R/F1016S二重変異体の基礎活性はWTと同等であり、L1006R($p < 0.0001$)とF1016S($p = 0.0056$)の基礎活性はWTより有意に高かった。すべての変異体はpYによる刺激でさらに活性化され、なおすべての変異体は1938による活性化には抵抗性であった(図20b i v)。

40

【0269】

【表 4】

表 4 - 選択した化合物の活性特性

Cpd	構造	EC ₅₀ (μM)	pYコントロールと比較した最大活性 (%)	1938と比較した最大活性 (%)
1938		58 ± 28	397 ± 60	100
1887		36 ± 5	318 ± 68	80
1889		56 ± 24	408 ± 110	102
2016		NA	36 ± 8	9
2106		NA	14 ± 13	4
2152		NA	16 ± 8	4

10

20

30

【0270】

実施例 10

選択された本発明の例示化合物としての1938の活性の細胞ベースの補足的な特性解析。

1938は細胞においてPI3K 経路の活性化を誘導する

クラスI PI3Kは、細胞膜のPtdIns(4,5)P₂脂質をリン酸化してPtdIns(3,4,5)P₃ (またはPIP₃) を生成し、このPtdIns(3,4)P₃は5-ホスファターゼの作用によってPtdIns(3,4)P₂に変換される。MEF (マウス胚性線維芽細胞) を1938で処理すると、質量分析によって評価されるように、PIP₃レベルが非常に急速に(30秒以内に)増加し、5分で最大となり、この最大レベルは40分まで維持された(図21a)。2分時点で、1938によって誘導されたPIP₃レベルは、インスリンによって誘導されたレベルに匹敵したが、PDGFによって誘導されたレベルよりは低かった。これらの成長因子によって誘導されるPIP₃のレベルが異なるという観察は、PI3K がインスリンの下流でPIP₃産生の唯一のメディエーターであるという考えと一致している。これは、PI3K とPI3K の両方を活性化するPDGFとは対照的であり、後者のPI3KアイソフォームがMEFにおけるPDGF刺激による急性PIP₃産生に大きく寄与しており、インスリンや1938と比較してこのアゴニストによって誘導されるPIP₃レベルが高いことと相関している(図21a)。図21aと同じ実験では、PDGF刺激時にMEFにおいて明確なPI(3,4)P₂シグナルが検出されたが、1938(5 μM)では検出されなかった。このことは、以下に示す実験によっても示されるように、高用量のPDGFと比較して1938によるPI3K活性化が相対的に低

40

50

いこととともに、質量分析によるPIP₃と比較してPI(3,4)P₂の検出の閾値が高いこと (Malek et al.によって議論されているように、主にバックグラウンド汚染による) と一致している。

【0271】

固定された2分間の時点で異なる用量で試験した場合、MEFにおける1938によるPIP₃の誘導は、1 ng/mlまたは3 ng/mlのPDGFによって誘導されるPIP₃レベルよりもかなり低いレベルで、EC₅₀が~5 μMであり、10 μM付近でプラトーになることが見出された (図21b)。これらの最大1938誘導PIP₃レベルは、質量分析で検出可能な十分なPI(3,4)P₂を生じさせるのに必要なレベルを下回っており、この結論は、より低用量のPDGF (例えば、0.5 ng/ml) によって誘導される実質的なレベルのPIP₃もまた、質量で検出可能なレベルのPI(3,4)P₂を生じさせるのに十分ではないという観察によっても支持される。MEFで観察されたことと同様に、A549細胞を所定の用量範囲の1938で2分間刺激すると、1938に対するPIP₃応答も10 μMで最大になることが明らかになった (図21c)。これらの細胞では、インスリンでも強いPIP₃応答が観察され、PDGFではPIP₃は誘導されなかったが、これはA549を含む上皮細胞にこのレセプターが存在しないことと一致している。

10

【0272】

方法

PI3Kタンパク質発現および精製

完全長p110 は、完全長p85 (生化学およびHDX-MS用) または切断p85-niSH2 タンパク質 (結晶構造解析用) との複合体で発現させた。アダプター結合ドメインと脂質結合表面 (105-1048) とを欠くp110 コンストラクトも結晶学に用いた (Chen et al. (2014) Protein Sci 23: 1332-1340)。

20

【0273】

全長p85 (LMB-MRCプラスミドOP809) と複合体化したp110 (LMB-MRCプラスミドOP831) の発現および精製を (Burke, J.E. et al. Proc Natl Acad Sci U S A 109, 15259-15264 (2012)) に記載されたように行った。がん原性変異体G106V (LMB-MRCプラスミドJB35)、N345K (LMB-MRCプラスミドOP661) およびE545K (LMB-MRCプラスミドOP663) もこのプロトコルを用いて精製した。簡潔には、 1.0×10^6 cells/mlの密度で10リットルのSpodoptera frugiperda (Sf9) 細胞培養物を、p85 をコードするウイルス [LMB-MRCプラスミドLOP809] と、N末端6xHisタグに続いてタバコエッチウイルス (TEV) プロテアーゼ部位を持つp110 をコードするウイルス [LMB-MRCプラスミドOP831] とで共感染させた。27 で48時間感染させた後、細胞を回収し、PBSで洗浄した。溶解バッファー (20 mM Tris pH 8.0、300 mM NaCl、5%グリセロール、10 mMイミダゾールpH8.0、2 mM -メルカプトエタノール、50 mlのバッファー当たり1タブレットのEDTA不含プロテアーゼインヒビター (Roche)) に細胞ペレットを懸濁し、4 で15秒間隔で7分間超音波処理した後、15秒間静置した。その後、細胞溶解液を45,000 g、4 で45分間遠心した。上清を0.45 μMフィルターでろ過した後、2x5 ml HisTrap FF (Cytiva) カラム (NiNTA Buffer [20 mM Tris pH8.0, 300 mM NaCl, 5%グリセロール, 10 mMイミダゾール (pH 8.0), 2 mM -メルカプトエタノール] で平衡化) に3 ml/分の流速で通した。その後、20 mMイミダゾール洗浄でカラムを洗浄し、NiNTA B Buffer (20 mM Tris pH8.0、300 mM NaCl、5%グリセロール、200 mMイミダゾール (pH 8.0)、2 mM -メルカプトエタノール) へのグラジエントでタンパク質を溶出した。PI3K を含むフラクションをプールし、塩希釈バッファー (20 mM Tris pH8.0、1 mM DTT) で1:2に希釈し、NaClコンサルトを100 mMにした。この溶液をHiTrap Heparin (Cytiva) カラム (Hep A Buffer (20 mM Tris pH8.0、100 mM NaCl、2 mM -メルカプトエタノール) で平衡化) に3 ml/minの速度で通した。PI3K は、HEP B Buffer (20 mM Tris pH8.0、1 M NaCl, 2 mM -メルカプトエタノール) へのグラジエントを用いて溶出した。タンパク質を含むフラクションをプールし、

30

40

50

8 mg/mlに濃縮した後、ゲルろ過バッファー（20 mM HEPES pH7.4, 100 mM NaCl, 2 mM TCEP）で平衡化したSuperdex 200 16/60カラムにロードし、1 ml/min、4 で操作した。PI3K 含有フラクションをプールし、2.5 mg/mlまで濃縮した後、液体窒素で瞬間凍結し、-80 で保存した。

【0274】

p110 とp85 -niSH2との複合体の発現および精製は次のようにして行った。Sf9昆虫細胞をInsect-XPRESS with L-Glutamine medium (Lonza BE12-730Q) 中で27 で培養し、p110 およびp85 -niSH2の両方をコードするバキュロウイルス [LMB-MRCプラスミドGM129] を $1.6-1.8 \times 10^6$ cells/mlの密度で感染させた。感染後48時間培養し、細胞を回収してPBSで洗浄した後、液体窒素中で瞬間凍結し、-80 で保存した。精製のため、細胞ペレットを100 mlの溶解バッファー（20 mM Tris、150 mM NaCl、5%グリセロール、2 mM -メルカプトエタノール、0.02%CHAPS、pH8.0）に懸濁し、EDTAフリーのプロテアーゼインヒビタータブレット（Roche、溶液50 mlあたり1タブレット）と500 μ lのDNase Iを加えた。懸濁液を氷上で10秒間超音波処理し、10秒間オン、10秒間オフとした。その後、Ti45ローターを用いて35,000 rpmで溶解液を45分間遠心した（4）。サンプルをS300バッファー（20 mM Tris、300 mM NaCl、5%グリセロール、2 mM TCEP、pH8.0）中のStrepTrap（Cytiva）カラムにロードした。タンパク質がロードされると、バッファーA（20 mM Tris、100 mM NaCl、5%グリセロール、1 mM TCEP、pH 8.0）でカラムを洗浄した。カラムは1~100%バッファーB（5 mM d-デスチオピオチンを含むバッファーA）のグラジエントで溶出した。p110 /p85 -niSH2ピークのフラクションをプールし、TEVプロテアーゼ（0.8 mg/ml）を1:10の割合で加え、4 で一晩放置して切断した。タンパク質を5 ml HiTrap Heparin HPカラム（Cytiva）にロードし、バッファーAで洗浄し、1~100%バッファーC（20 mM Tris、1 M NaCl、1 mM TCEP、pH 8.0）のグラジエントで溶出した。フラクションを回収し、濃縮し、Superdex 200 26/60 HiLoadゲルろ過カラム（Cytiva）にロードし、20 mM Tris、200 mM NaCl、2 mM TCEP、1%ベタイン、1%エチレングリコール、0.02% CHAPS、pH7.2で溶出した。ピークのフラクションをプールし、Amicon Ultra-15 Centrifugal filters 100K（Millipore）を用いて10~13 mg/mlに濃縮した。液体窒素でタンパク質を瞬間凍結し、-80 で保存した。タンパク質の純度はSDS-PAGEで確認した。

【0275】

切断型ヒトp110（105-1048）の発現および精製は次のように行った。Sf9昆虫細胞（9 L）をInsect-XPRESS with L-Glutamine medium（Lonza BE12-730Q）中で27 で培養し、p110 サブユニットをコードするバキュロウイルス [LMB-MRCプラスミドOP798] を 1.6×10^6 cells/mlの密度で感染させた。感染後48時間培養し、細胞を回収し、液体窒素中で瞬間凍結し、-80 で保存した。精製のため、細胞ペレットを360 mlの溶解バッファー（20 mM Tris、150 mM NaCl、5%グリセロール、1 mM TCEP、pH8.0）に懸濁し、EDTAフリーのプロテアーゼインヒビタータブレット（溶液50 mlあたり1タブレット）、0.5 mM PEFA、36 μ l Piece（登録商標）Universal Nuclease For Cell Lysisを加えた。懸濁液を氷上で5分間超音波処理した。その後、Ti45ローターを用いて35,000 rpmで溶解液を35分間遠心した（4）。サンプルを5 μ mフィルターで濾過し、溶解バッファーで平衡化したStrepTrap（Cytiva）カラムにロードした。サンプルがロードされると、カラムは20 mM Tris、300 mM NaCl、5%グリセロール、1 mM TCEP、pH8.0で洗浄され、次に20 mM Tris、150 mM NaCl、5%グリセロール、1 mM TCEP、pH8.0で洗浄された。次に0.14 mg/mlのTEV溶液5 mlをカラムに加え、4 で一晩静置して切断した。タンパク質を20 mM Tris、150 mM NaCl、5%グリセロール、1 mM TCEP、pH8.0で平衡化した5 ml HiTrap Heparin HPカラム（Cytiva）にロードし、20 mM Tris、1 M NaCl、1 mM TCEP、pH8.0の1~100%のグラジエントで溶出した。フラクションを回収し、濃縮し、Superdex 200 16/60 HiLoadゲルろ過カラム（Cytiva）にロードし、50 mM T

ris、100 mM NaCl、2%エチレングリコール、1 mM TCEP、pH8.0で溶出した。ピークのフラクションをプールし、Amicon Ultra-15 Centrifugal filters 50K (Millipore) を用いて5.83 mg/mlまで濃縮した。タンパク質を液体窒素で瞬間凍結し、-80 で保存した。タンパク質の純度はSDS-PAGEで確認した。

【0276】

全長p110 /p85 およびp110 /p85 をクローニングし、同様の方法で発現させたが、Hisタグの代わりにストレプトアビジンタグを用いた。簡潔には、 1.0×10^6 cells/mlの密度で5リットルのSpodoptera frugiperda (Sf9) 細胞培養物を、p85 をコードするウイルスとタバコエッチウイルス (TEV) プロテアーゼ部位に続くN末端ストレプトタグを持つp110 / をコードするウイルスとの両方で共感染させた (p110 についてはプラスミドOP832、p110 についてはプラスミドOP833、p85 についてはOP809のプラスミド)。27 で48時間感染させた後、細胞を回収し、PBSで洗浄した。細胞ペレットを溶解バッファー (20 mM Tris pH8.0、150 mM NaCl、5%グリセロール、2 mM β -メルカプトエタノール、50 mlのバッファー当たり1タブレットのEDTAフリーのプロテアーゼインヒビター (Roche)) に懸濁し、4 で7分間、15秒間隔で超音波処理を行い、その後15秒間静置した。その後、細胞溶解液を45,000 g、4 で45分間遠心した。上清を0.45 μ Mフィルターでろ過した後、1x5 ml StrepTap No 1 (GE Healthcare) カラム (100S Buffer[20 mM Tris pH8.0, 100 mM NaCl, 5%グリセロール, 1 mM TCEP]で平衡化) に3 ml/分の流速で通した。その後、70 mlの100Sバッファー、80 mlのS300バッファー (20 mM Tris pH 8.0, 300 mM NaCl, 5%グリセロール, 1 mM TCEP)、50 mlのS100バッファーでカラムを洗浄した。S100バッファー中の0.1 mg/mlのHis6TEVプロテアーゼ (p30) 5 mlをカラムに注入し、4 で4時間インキュベートした。

【0277】

蛍光偏光アッセイ

蛍光偏光アッセイ (#K-1100; Echelon Biosciences, Salt Lake City, UT, USA) を用いてPIP₃産生を測定し、384ウェルマイクロタイタープレートで実施した。PI3K、リポソーム、ATPをすべて反応バッファー (20 mM HEPES、50 mM NaCl、50 mM KCl、3 mM MgCl₂、1 mM EGTA、1 mM TCEP、pH7.4) で希釈し、最終反応濃度が10 nM PI3K、75 μ g/mlリポソーム、10 μ M ATPとなるようにマイクロタイタープレートに加えた。反応は室温で45分間行い、PIP₃検出器とTAMRAプローブでクエンチした後、Hidex Senseプレートリーダーで 544 ± 20 と 590 ± 20 の偏光フィルターを用いて読み取った。データはそれぞれ、TAMRAプローブ単独およびTAMRAプラス検出器によるPIP₃産生の最小値および最大値に対して正規化した。

【0278】

マイクロスケール熱泳動

自動化されたMonolith NT.115 (NanoTemper Technologies, Munich, Germany) を用いてMST実験を行った。NT647色素を用いたPI3K の蛍光標識は、RED-N HS protein labelling Kit (NanoTemper Technologies, Munich, Germany) を用いて、メーカーのプロトコルに従って行った。反応バッファー (20 mM HEPES、100 mM NaCl、0.1% Tween-20、2 mM TCEP、pH7.4) でPI3K を最終濃度2.5 nMに希釈した。ニートDMSOで化合物を連続希釈し、最終濃度が3% DMSOになるように酵素に加えた。プレミアム処理キャピラリーでは、赤外レーザー出力80%、LED強度10%を使用した。データはNanoTemper Analysisソフトウェアで解析し、 F_{norm} 値 ($F_{norm} = F_{hot}/F_{cold}$) を用いて化合物の結合を定義した。

【0279】

ADP-Glo™キナーゼアッセイ

ADP-Gloキナーゼアッセイキット (Promega Corporation) を用いてキナーゼ反応を行った。酵素、基質および化合物は反応バッファー (20 mM HEPES、50 mM NaCl、50 mM KCl、3 mM MgCl₂、1 mM EGTA、1 mM TCEP、pH7.4) で希釈した

。使用したPI3K とPI3K の最終濃度は、PI3K では25 nMおよび50 nMであった。リポソーム（5%脳PI(4,5)P₂、20%脳ホスファチジルセリン、45%脳ホスファチジルエタノールアミン、15%脳ホスファチジルコリン、10%コレステロール、5%スフィンゴミエリン（Avanti Polar Lipids））は最終濃度1 mg/mlで使用した。pY配列はESDGG(pY)MDMSKDESID(pY)VPMLDMKGDIKYADIEである。

【0280】

化合物プロファイリングのための反応混合物には2 μ lのPI3K酵素、2 μ lの化合物および/またはpY、ならびにATPと混合した2 μ lのリポソーム基質が含まれていた。ATPは、特に指定しない限り、PI3K およびPI3K では500 μ M、PI3K では200 μ Mの最終濃度で使用した。アッセイにおける最終DMSO濃度は1%であった。実験は384白色ポリスチレンプレート（Corning #3824）を用いて室温で3時間行った後、6 μ lのADP-Glo R1を加えて反応を終了させた。プレートを45分間インキュベートした後、12 μ lのADP-Glo R2を添加し、さらに暗所で60分間インキュベートした。発光はSense（Hidex）プレートリーダーを用いて読み取った。化合物のデータは、酵素なしのDMSOネガティブコントロールに補正し、最大活性化（E_{max}）に相当する内部ポジティブコントロール（1 μ M pY）のパーセンテージとして表した。すべての解析はGraphPad Prism 7を用いて行った。

【0281】

*in vitro*でのPI3K酵素学に対する1938の影響の特性分析のために、384白ポリスチレンプレート（Corning #3574）を用いて室温ですべての反応を行った。アッセイにおける最終DMSO濃度は0.5%~1.8%であった。反応混合物には2 μ lのPI3K酵素、2 μ lの化合物および/またはpY、ならびにATPと混合した2 μ lのリポソーム基質が含まれていた。ATPは特に指定しない限り、最終濃度200 μ Mで使用した。基質を加える前に、酵素と化合物を10分間プレインキュベートした。反応は室温で45分間進行させた後、6 μ lのADP-Glo R1を加えて反応を終了させた。プレートを60分間インキュベートした後、12 μ lのADP-Glo R2を添加し、暗所でさらに60分間インキュベートした。酵素動力学計算のためのデータは速度（ADP生成pmol/sec）で表した。ADP-ATP標準曲線は製造元の指示に従って行い、すべての解析はGraphPad Prism 8を用いて行った。

【0282】

FRET膜結合アッセイ

既報（Burke, J.E. et al. Proc Natl Acad Sci U S A 109, 15259-15264 (2012)）のように膜結合アッセイを行った。簡潔には、5%（w/v）の脳PtdIns(4,5)P₂、20%の脳ホスファチジルセリン、35%の脳ホスファチジルエタノールアミン、15%の脳ホスファチジルコリン、10%のコレステロール、5%のスフィンゴミエリン、および10%のダンシル-ホスファチジルセリン（Avanti Polar Lipids）でリポソームを調製した。PI3K は最終濃度0.5 μ Mで使用した。リポソームを添加する前に、タンパク質溶液を10 μ MのpYまたは化合物と10分間プレインキュベートした。リポソームは最終濃度50 μ g/mlで使用した。反応混合物は5 μ lの酵素、2 μ lの化合物、3 μ lのリポソームを含み、全て30 mM HEPES、50 mM NaCl、pH7.4で希釈した。反応は、384黒ポリスチレンプレート（Corning #3544）を用い、200 rpmのオービタルシェーカー上で室温で10分間進行させた。FRETシグナルは、PHERAStar（BMG）を用い、励起フィルター280 nm、発光フィルター350 nmおよび520 nmで、それぞれダンシル-PS FRET発光を測定した。FRETシグナルはI-I₀として示され、ここでIは520 nmでの強度であり、I₀はタンパク質非存在下での溶液の520 nmでの強度である。

【0283】

HDX-MS

サンプル調製：（Anandapadamanaban, M. et al. Science (New York, N.Y 366, 203-210 (2019)）に記載されるようにHDX-MS実験を実施した。簡潔には、化合物の非存在下、5 μ MのPI3K を、1%DMSO含有タンパク質希釈バッファー（50 mM Tris pH7.5、150 mM NaCl、2 mM TCEP）中300 μ Mの1938と、100 μ

MのBYL719と、または1938およびBYL719の両方とインキュベートした。化合物を添加するか、または添加しない5 μ lのPI3K を、45 μ lのD₂Oバッファー（50 mM Tris pH7.5, 150 mM NaCl, 2 mM TCEP, 1% DMSO、50 μ M 1938添加または無添加、90.6% D₂O）と5つの時点（0.3秒/3秒/30秒/300秒/3000秒、0.3秒のタイムポイントは、0 で実施された3秒のタイムポイントである）、20 μ lの氷冷クエンチ溶液（2 M塩化グアニジニウム、2.4%ギ酸）でクエンチし、液体窒素で急速スナップ凍結した後、-80 で保存した。）合計で3つの生物学的反復、すなわち3つの別々のタンパク質調製を行い、それぞれ3回ずつ交換実験を行った。図示した結果は、代表的な生物学的反復の1つから得られたものである。データの取得と解析は次のように行った：各サンプルを解凍し、0.1 に保たれたHDXテクノロジー搭載M-Class Acquity UPLC（Waters）に注入した。タンパク質をEnzymate Pepsin Column（Waters, 186007233）を用いてインラインで15、2分間消化した。その後、ペプシン-Aバッファー（0.1%ギ酸）ペプチドをで平衡化したAcquity UPLC BEH C18カラム（Waters, 186002346）に溶出し、ペプシン-Bバッファー（0.1%ギ酸、99%アセトニトリル）の3-43%グラジエントを16分間かけて分離した。エレクトロスプレーイオン源を備えたWaters Cyclic IMSで、50-2000 m/zの範囲でデータを収集した。データはHDMSeモードで収集した。サイクリックIMSはシングルパスで行われた。クエンチを含むタンパク質希釈バッファーの「ブランク」サンプルをサンプル間に実行し、ペプチドのキャリアオーバーをルーチ的にモニターした。重水素化されていないペプチドを同定するために、5つの複製を使用した。HDX-MSデータセットにペプチドを含めるために使用した基準は次の通りである：最小強度5000、最小配列長5、最大配列長25、最小3フラグメントイオン、アミノ酸あたり最小0.1プロダクト、最小スコア6.62、最大MH+エラー10 ppm、少なくとも2つのデータセットで同定、リテンションタイムRSD 10%未満。Protein Lynx Global Server（Waters）とDynamX（Waters）を用いてデータを分析した。全てのペプチドは、EX1カイネティクスおよびペプチドエンベロープの十分なクオリティについてマニュアルで検査された。データの質、実験デザイン、およびデータの報告は、HDX-MSコミュニティによって決定された基準を満たしている（Masson, G.R. et al. Nat Methods 16, 595-602 (2019)）。Baryonyxを用いて取り込みファイルを作成した。

10

20

30

【0284】

キナーゼプロファイリング（mTORC1およびATMキナーゼアッセイ）

1988を1 μ Mで用いて、Adapta, Lantha and Z-LYTE assays（SelectScreen Kinase Profiling Service; Thermofisher - これらのアッセイの実験的詳細はこちらを参照：<https://www.thermofisher.com/uk/en/home/industrial/pharmabiopharma/drug-discovery-development/target-and-lead-identification-and-validation/kinasebiology/kinase-activity-assays.html>）で133種のプロテインキナーゼと7種の脂質キナーゼをカウンタースクリーニングした。Cell Signaling Technology, Inc.の好意により作成されたKinMapにおけるツリー表現（www.celldesignal.com）。（Anandapadamanaban, M. et al. Science (New York, N.Y. 366, 203-210 (2019); Baretic, D. et al. Sci Adv 3, e1700933 (2017)）に記載されたようにmTORC1（mTOR/RAPTOR/LST8）タンパク質複合体ならびにATMキナーゼおよび基質を作製した。SuperSep Phos-Tag 50 μ mol/l 100 x 100 x 6.6 mm 17-well（192-18001/199-18011）ゲルを用いて1938のスクリーニングを行った。ATMアッセイでは、ATMキナーゼバッファー（50 mM HEPES pH7.5、100 mM NaCl、10%グリセロール、2 mMトリクロロエチレン、5 mM MgCl₂）中、200 μ Mの1938の非存在下または存在下で、100 nM ATMを5 μ M GST-p53および1 mM ATPとともに30 で30分間インキュベートした。ATM活性化の陽性コントロールとして、ATMの活性化因子として知られるMre11-Rad50-Nbs1（MRN）複合体100 nMの存在下、100 nM ATM/5 μ M GST-p53/1 mM ATPで同じ反応を行った。mTORC1アッセイでは、50 nM mTORC1複合体（mTOR/LST8/RAPTOR）を、200

40

50

μM 1938の非存在下または存在下で、 $15\ \mu\text{M}$ 4E-BP1、 $10\ \text{mM}$ MgCl_2 、 $250\ \mu\text{M}$ ATPとともに30 で3時間インキュベートした。「陽性」コントロールとして、 $150\ \text{nM}$ mTORC1複合体 (mTOR/LST8/RAPTOR) を $15\ \mu\text{M}$ 4E-BP1、 $10\ \text{mM}$ MgCl_2 、 $250\ \mu\text{M}$ ATPとともに30 で3時間インキュベートした。SDS-PAGEローディングバッファー (製造元の指示に従って) を添加し、 -20 で凍結することによりキナーゼ反応をクエンチした後、Phos-tagゲル上で 150V で90分間反応させた。その後、ゲルをInstantBlue™クマシー染色で染色し、BioRad Image Lab Softwareを用いて定量した。キナーゼアッセイは3連で行った。

【0285】

p110 /p85 niSH2 - 化合物複合体の共結晶化

10

LMBロボット結晶化セットアップを用いて、約2000条件の初期スクリーニングを行った (Stock, D. et al. Prog Biophys Mol Biol 88, 311-327 (2005))。p110 /p85 niSH2を $100\ \mu\text{M}$ のBYL719と1時間プレインキュベートするか、または $100\ \mu\text{M}$ のBYL719と1時間プレインキュベートした後、 $500\ \mu\text{M}$ 1938と1時間インキュベートした。96ウェルMRCプレートで $100\ \text{nI}$ のリザーバーと $100\ \text{nI}$ のタンパク質溶液 ($10\ \text{mg/ml}$) を混合して、シッティングドロップをセットした。初期結晶は、 $0.2\ \text{M}$ KSCN、 $0.1\ \text{M}$ カコジル酸ナトリウム、および8-30%のPEG 2K、PEG 4K、PEG 5K、PEG 6K (w/v)、または $80\ \text{mM}$ KSCN、30% PEG 1K (w/v)、 $150\ \text{mM}$ MES、pH6.0で得られた。最適化のために、 $1\ \mu\text{l}$ の $5.5\ \text{mg/ml}$ のタンパク質と $1\ \mu\text{l}$ のリザーバーを混合し、16% PEG 1K (w/v)、 $150\ \text{nM}$ KSCN、 $150\ \text{mM}$ MES pH6.0、9% PEG 4K (w/v)、 $180\ \text{mM}$ KSCN、 $100\ \text{mM}$ カコジル酸ナトリウム、10% PEG 5K MME (w/v)、 $160\ \text{nM}$ KSCN、 $100\ \text{mM}$ カコジル酸ナトリウムで最良の回折結晶が得られた。結晶はまた、 $10\ \text{mM}$ 1938に1~20時間浸漬した。

20

【0286】

p110 - 化合物複合体の結晶化

結晶化実験はすべて20で行った。LMBロボット結晶化セットアップ9を用いて約2,300条件の初期スクリーニングを行った。p110 は、 $500\ \mu\text{M}$ の1938または1%DM SOで1時間プレインキュベートした。96ウェルMRCプレート中で $100\ \text{nI}$ のリザーバーと $100\ \text{nI}$ のタンパク質溶液 ($5.8\ \text{mg/ml}$) を混合することによりシッティングドロップをセットアップした。12.5% (w/v) PEG 4K、20% (v/v) 1,2,6-ヘキサントリオール、 $40\ \text{mM}$ ポリアミン、 $0.1\ \text{M}$ MOPSO/bis-tris pH6.5; および12.5% (w/v) PEG 4K、20% (v/v) 1,2,6-ヘキサントリオール、 $90\ \text{mM}$ LiNaK、 $0.1\ \text{M}$ MOPSO/bis-tris pH6.5からアポの結晶を得た。1938で最適化するため、96ウェルMRCプレートで、PEG、1,2,6-ヘキサントリオール、ポリアミンまたはLiNaKの濃度を変え、 $5.8\ \text{mg/ml}$ のタンパク質 $200\ \text{nI}$ とリザーバー $200\ \text{nI}$ 、または $5.8\ \text{mg/ml}$ のタンパク質 $500\ \text{nI}$ とリザーバー $500\ \text{nI}$ のいずれかを混合して滴下し、結晶化をセットアップした。結晶はアポ条件下でのみ形成された。これらのアポ結晶を $20\ \text{mM}$ 1938 (20% DM SO) に1.5~2時間浸した。データ収集のため、アポの結晶は12.5% (w/v) PEG 4K、20% (v/v) 1,2,6-ヘキサントリオール、 $90\ \text{mM}$ LiNaK、 $0.1\ \text{M}$ MOPSO/bis-tris pH6.5を含む条件で得た。12.5% (w/v) PEG 4K、20% (v/v) 1,2,6-ヘキサントリオール、 $50\ \text{mM}$ ポリアミン、 $0.1\ \text{M}$ MOPSO/bis-tris pH6.5を含む条件で、1938で浸した結晶を得た。採取した結晶は、データ収集の前に液体窒素で凍結冷却した。

30

40

【0287】

p110 105-1048についてのX線結晶構造解析

放射光X線源を用いて、p110 105-1048単独および1938で浸した単結晶のX線回折を収集した。Xiaによる自動画像処理で画像を処理した。PDBエントリー4TUUの初期モデルを用いて、CCP4スイートのPhaserを用いて分子置換で初期位相を求めた。モデルはCOOTを用いて密度を手動で調整し、PHENIXを用いて構造を精密化した。1938存在下での構造は、残基E365、I459、L540、D603、C604、N605、Y641、S1003、L1006、G1007、F1016の原子からなる壁を持つポケットに密度を示した。このポ

50

ケットは、p110 のどの構造においても、これまでどのリガンドにも占有されていなかった。結合様式は以前のHDX-MSの結果と一致していた。1938の化学構造からPHENIX ELBOWを用いて3Dモデルを構築し、このモデルは1938に浸した結晶の密度とよく一致した。このポケットは、1938を染み込ませていない結晶から得られた構造では空であった。タンパク質/リガンド複合体は、COOTとPHENIXを使用して手動で調整し、精製した。複合体の表現はPyMOLとChimeraを用いて作成した。

【0288】

WesTMを用いたタンパク質リン酸化の検出

A549細胞とMEFを用いた実験は、わずかに異なるプロトコルを用いて別々に行った。簡潔には、A549細胞をDMEM (10%FBS+1%P/S)中の24ウェルプレートに1ウェルあたり200,000細胞で播種し、一晩接着させた。翌日、無血清DMEMを24時間添加する前に、細胞をPBSで1回洗浄した。化合物添加の前にPI3K インヒビター (BYL719、500 nM) または0.1% DMSOによる15分間の前処理を37 °C、5% CO₂で15分間行った。冷RIPAバッファー (Thermo、プロテアーゼインヒビターおよびホスファターゼインヒビター (Roche) 添加) で細胞を洗浄した。MEFを12ウェルプレートに50 cells/wellで播種し、一晩接着させた。翌日、1 μMインスリンまたは1938 (0.2~30 μM、最終DMSO濃度0.5%) で37 °C、5% CO₂で1時間処理する前に、4時間血清を絶った。その後、細胞を冷たいPBSで洗浄し、50 mM Tris.HCl pH7.4、1% Triton-X100、100 mM NaCl、50 mM NaF、5 mM EDTA、2 mM EGTA、10 mM Na₄P₂O₇、およびMerckのプロテアーゼ/ホスファターゼインヒビターカクテルで溶解した。溶解液を回収し、15,000 rpm、15分間、4 °Cで遠心分離し、上清を回収し、-80 °Cで保存した。ウェスタンブロッティングは、WesTM (ProteinSimple)を用いて製造者の指示に従って行った。pAKT-S473 (CST #4060)、total AKT (CST #9272)の抗体は1:50で使用した。-アクチン (CST #4970)は1:100で使用した。

【0289】

ELISAによるAKTリン酸化の検出

DMEM (10%FBS+1%P/S)中の96ウェルプレートに、1ウェル当たり50,000細胞でA549細胞を播種した。翌日、細胞をPBSで1回洗浄した後、無血清DMEMを加えて24時間培養した。DMSOで10 mMに可溶化した化合物を1:3に希釈し、DMSO中で8ポイントの濃度反応曲線を作成した。濃度反応曲線は、BRAVOリキッドハンドラー (Agilent)を用いて中間プレートに移し、無血清DMEMで希釈した。中間プレートは、BRAVOリキッドハンドラーを使用して細胞プレートを処理するために使用された。化合物濃度応答曲線の最高濃度は50 μM、最終ウェル濃度は0.5% DMSOであった。細胞プレートを37 °C、5% CO₂で15分間処理した後、氷冷PBSで洗浄し、溶解バッファー6 (R&D Systems #895561)で溶解し、-80 °Cで凍結保存した。96ウェル白色高結合プレート (Corning #3922)を用い、phospho-AKT (S473) pan-specific DuoSet IC ELISA (R&D Systems #DYC887BE)を用いて、製造者の指示に従ってpAKT-S473のレベルを測定した。終点発光はSense (Hidex)プレートリーダーを用いて測定した。化合物のデータを陰性DMSOコントロールに補正し、インスリンによって誘導される最大活性化 (E_{max})に相当する内部インスリンコントロール (1 μM)のパーセンテージとして表した。データを変換し、EC₅₀データはPrism 7 (Graphpad)を用いた可変勾配 (4パラメータ)非線形回帰により決定した。

【0290】

細胞培養

不死化PI3K⁻WTおよびPI3K⁻KO MEFを作製し、以前に説明した (Foukas, L. C. et al. Proc Natl Acad Sci U S A 107, 11381-11386 (2010))。10%FBSおよび1%ペニシリン-ストレプトマイシンを含むDMEMでMEFを培養し、1%ペニシリン-ストレプトマイシンを含む無血清DMEMで37 °C、5%CO₂で飢餓培養した。10%FBSと1%ペニシリン-ストレプトマイシンを添加したDMEM Glutamax (Gibco #31966021)、または10%FBS、1 mMピルビン酸ナトリウム、1%ペニシリン-ストレブ

トマイシンを添加したRPMI1640培地でA549細胞を培養した。飢餓実験のために、A549細胞を1 mMピルビン酸ナトリウムおよび1%ペニシリン - ストレプトマイシンを含む無血清RPMIで培養した。すべての細胞培養は、マイコプラズマ陰性であることを定期的に検査した。

【0291】

CRISPR/Cas9遺伝子ターゲティングによるPIK3CA欠損A549細胞の作製

ブールされたPIK3CA null A549細胞の作製はSynthego Corporationに委託した。簡潔には、次の単一ガイドRNA (sgRNA) 配列を含む合成リボ核タンパク質 (RNP) 複合体でPIK3CA遺伝子を標的とした: 5'-CUCUACUAUGAGGUGAAUUG-3' (PIK3CAエクソン3内に位置)。並行して、sgRNAを含まないCas9タンパク質に対照培養物を曝露した(以降、「WT培養物」という)。WT培養と標的培養の両方から、96ウェルプレートの1ウェルあたり最大1細胞の播種を保証する限界希釈によって、単一細胞クローンを樹立した。回収を促進するため、96ウェル中のサブクローン細胞を標準A549完全培地とコンディショニング培地の1:1混合液で培養した。WT培養の2日後に1000 gで10分間遠心し、0.22 μm PES濾過後、4℃で保存することでコンディショニング培地を調製した(2週間を超える保存の場合は-80℃)。培地は2-3日おきに、細胞が外れないようにできるだけ穏やかに補充した。細胞がサブコンフルエンスに達したら、24ウェルプレートと25 cm²フラスコに展開し、遺伝子型判定とセルバンキングを行った。

10

【0292】

ゲノタイピングのために、50 μlのQuickExtract溶液(Cambridge Bioscience #QE0905T)と次のサーモサイクル条件を用いて、24ウェルプレートで培養した細胞のレプリカからゲノムDNAを抽出した: 68℃で15分間、95℃で10分間、4℃でホールド。2 μlのQuickExtract処理したゲノムDNAと次のプライマーを用いて、GoTAQ G2 MasterMix (2X) (Promega #M7822)を用いた標準的なPCRで、編集した遺伝子座を増幅した: F 5'-TCTACAGAGTTCCCTGTTGC-3'; R 5'-AGCACTCAACTATATCTTGTCAGT-3'。アニーリングと伸長はそれぞれ55℃で30秒、72℃で30秒行った。PCR反応はExoSAP-IT Express (Thermo Fisher Scientific #75001.1.ML)を用い、メーカーの指示に従い、37℃、30分間、続いて80℃、1分間でクリーンアップした。クリーンアップした反応物をSanger sequencing (Eurofins Genomics)に供した。その後のサンガー配列決定トレースの解析は、SynthegoのオープンソースICEツールを用いて行った。次に、予測されるノックアウト(KO)クローンをすべて、2種類の相補抗体(CST #4249および#4255;それぞれ3% BSAを含む1X TBS/T中、1:1000希釈で使用)を用いたPIK3CAタンパク質のウェスタンブロットティングにより検証した。発現の完全な消失を示すクローンは、さらなる実験的研究のために保存した。

20

30

【0293】

質量分析ベースのリン酸化プロテオミクス

15 cmディッシュで増殖させたPI3K⁻WT MEFおよびPI3K⁻KO MEFを、1%ペニシリン - ストレプトマイシンを添加したDMEM中で一晩無血清にし、0.05% DMSO、最終0.05% DMSO中5 mM 1938、または100 nMインスリン(Sigma, I5016)の添加により15分または4時間刺激した。細胞を500 μlの尿素溶解バッファー[50 mM重炭酸トリエチルアンモニウム、8 M尿素、cOmpleteTM、EDTAフリーのプロテアーゼインヒビターカクテル(1:50希釈)(Roche, 11873580001)、PhosSTOPタブレット(Roche, 4906845001)1タブレット、1 mMオルソバナジン酸ナトリウム]で溶解し、溶解液を氷上で冷却しながら~10分間透明になるまで超音波処理した。BCA protein assay (Pierce #23227)を用いてタンパク質濃度を測定した。300 μgのタンパク質を、5 mM Tris(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩(Sigma, C4706)を用いて37℃で20分間還元し、10 mM 2-クロロアセトアミド(Sigma, 22790)を用いて暗所、室温で20分間アルキル化した。LysCでタンパク質を30℃で3.5時間消化した。次にサンプルを50 mMの重炭酸トリエチルアンモニウム(Sigma, T7408)で希釈し、尿素濃度を1.5 Mにした後、トリプシンによるペプチド消化を37℃で一晩

40

50

行った。10%トリフルオロ酢酸 (EMD Millipore 302031-M) を加えて最終pHを2.0にして消化反応をクエンチした。35~350 μg C18カラム (HMM S18V; The Nest Group, Inc., Southborough, MA, USA) を用いて製造業者の仕様書に従い、サンプル脱塩を行った。リン酸化濃縮には TiO_2 (Hichrome Titansphere TiO_2 、容量10 μm 、100 mg、GL Sciences #5020-75010) を用いた。ペプチドを TiO_2 にロードした後、ピーズを1 Mグリコール酸 (Sigma #124737) /80%アセトニトリル/5%トリフルオロ酢酸で順次洗浄し、続いて80%アセトニトリル/0.2%トリフルオロ酢酸、20%アセトニトリルで洗浄した後、5%水酸化アンモニウムで溶出した。製造業者の仕様書に従って、濃縮したサンプルを7-70 μg C18カラム (HUM S18V; The Nest Group, Inc., Southborough, MA, USA) を用いて脱塩した。NANOSPRAY FLEXイオン源に接続し、Easy-nLC 1000 (Thermo Scientific) に結合したQ-Exactive Orbitrap PlusでnLC-MS/MSを行った。各サンプルの50%を10 μl 注入として分析した。Reprosil-Pur 200 C18-AQ、2.4 μm 樹脂 (Dr. Maisch, Ammerbuch-Entringen, Germany) を充填した直径75 μm の27 cmの溶融シリカエミッター上で、5%~30%のアセトニトリル/0.1%ギ酸への直線グラジエントを180分かけて250 nl/minの流速で用いてペプチドを分離した。ナノスプレーソースに組み込まれたマイクロティーを介し、分析カラムの直前に1.9 kVの電圧を印加したエレクトロスプレーイオン化によりペプチドのイオン化を行い、イオン伝達管を320 に加熱し、Sレンズを60%に設定した。オービトラップアナライザーのデータ依存モードで、70,000の分解能と 3×10^6 イオンの目標値で前駆イオンを測定した。各MS1スキャンから最も強度の高い10個のイオンを分離し、HCDセルでフラグメンテーションし、オービトラップで17,500の分解能で測定した。

【0294】

リン酸化プロテオミクスデータのペプチド同定、定量化、統計解析

MaxQuant84 (バージョン1.5.5.1) を用いて生データを解析し、デフォルト設定を用いてマウスUniProtデータベース (<http://www.uniprot.org/>、2018/12/04ダウンロード) に対して検索した。システインのカルバミドメチル化を固定修飾とし、メチオニンの酸化、タンパク質N末端のアセチル化、リン酸化 (STY) を可変修飾とした。酵素特異性はトリプシンに設定し、最大2回の切断ミスを許容した。信頼性の高い同定を確実にするため、ペプチド-スペクトルマッチ、ペプチド、タンパク質を1%未満の偽発見率 (FDR) でフィルタリングした。MaxQuantのラベルフリー定量は、LFQ最小比カウントを2、Fast LFQを選択し、「skip normalisation」オプションを選択して使用した。0.7分のマッチタイムウィンドウと20分のアライメントタイムウィンドウで「match between runs」機能を選択した。「phospho(STY)Sites.txt」MaxQuant出力ファイルを社内のRスクリプトで処理し、各タンパク質のアクセッション番号と対応するホスホサイトをマージして「Annotated_PhosphoSite.txt」を得た。このファイルは、「evidence.txt」MaxQuant出力ファイルおよび実験デザイン「annotation.csv」ファイルとともに、コンタミネーションおよび逆配列の除去、 \log_2 データ変換、およびすべてのランにわたって0または1の有効値を持つリン酸化部位の除去によってさらに処理された。生物学的複製の平均ピアソン相関係数 $r=0.862$ によって証明されるように、高い実験再現性が観察された (図16 / 拡張データ図8d)。定量されたリン酸化ペプチドは、モデルベースの統計的フレームワークMSstats (バージョン3.20.0、RStudio (バージョン1.2.5042、Rバージョン4.0.0) を通して実行) 内で分析された。データは \log_2 変換され、分位正規化され、線形混合効果モデルがデータに当てはめられた。条件間の存在量の差の検定には群間比較関数を用いた。P値はBenjamini-Hochberg手順 (Benjamini, Y. & Hochberg, J R Stat Soc B 57, 289-300 (1995)) を用いてFDRをコントロールするように調整した。

【0295】

質量分析プロテオミクスデータはPRIDE24パートナーリポジトリを経由してProteomeXchange Consortiumにデータセット識別子PXD027993で寄託された。査読者ア

カウントの詳細ユーザー名：reviewer_pxd027993@ebi.ac.uk；パスワード：FSaiKH6M)。

【0296】

リン酸化イノシチドリポーターの全反射照明蛍光 (TIRF) 顕微鏡観察

TIRF顕微鏡は、細胞が播種されたカバースリップに直接隣接する、細胞膜を含む小さな細胞容積を選択的にイメージングすることができる。マトリゲルでコートした (Corning #354230; Opti-MEMで1:50に希釈) 8ウェルチャンバースライド (ガラス底、屈折率1.55; Thermo Fisher Scientific #155409) にHeLa細胞またはA549細胞を5,000 cells /wellの密度で播種した。翌日、FuGENE (登録商標) HD Transfection Reagent (Promega #E2311) を用いて、50 ng (A549) または10 ng (HeLa) のPIP₃レポータープラスミド (GFP-PH-ARNO1303Ex2) (Goulden, B.D. et al. J Cell Biol 218, 1066-1079 (2019)) で、製造元の指示に従って3:1のFugene:DNA比で細胞をトランスフェクトした。HeLa細胞におけるレポーターの低発現でありながら均一な発現を確保し、イメージングに重要なTIRF角度の同定の補助のために、これらの細胞を200 ngのiRFPタグ付きPaxillinプラスミド (mCherry-Paxillinプラスミドから従来の制限酵素ベースのサブクローニングによって生成、Addgene #50526) でも共導入した。別の実験では、HeLa細胞を10 ngまたは50 ngのPI(3,4)P₂レポーター-mCherry-cPH-TAPP1x3でもトランスフェクトした (Goulden, B.D. et al. J Cell Biol 218, 1066-1079 (2019)) ; 50 ngのこのレポーターの使用により、TIRFフィールドでの可視化が容易になったが、応答の動態は変わらず、両方の実験の結果をプールした。

10

20

【0297】

トランスフェクションからさらに24時間後、細胞を150 μ lの無血清Fluorobrite™ DMEM (Thermo Fisher Scientific #A1896701; L-グルタミン (2 mM) と1% ペニシリン - ストレプトマイシンを添加) に切り替えて3時間、TIRF用sCMOS Prime95B (Photometric) センサーを装着した3i Spinning Disk共焦点顕微鏡でタイムラプスイメージングを行った。100倍の1.45NA平面アポクロマート油浸TIRF対物レンズを使用し、TIRFの臨界角でレーザー照明ビーム (40-50%出力) を照射し、シングルバンドパスフィルター (445/20 nmおよび525/30 nm) を用いたエビ蛍光 (300-500 msec露光) による画像取得を行った。Slidebook 6.0を使用し、2分または3分の撮影速度で、ピンングなしでシーケンシャルモードで撮影を行った。各処理は、最終濃度が正しく、既存の培地溶液と十分に混合されていることを確認しながら、同じイメージング培地中に2倍~5倍の濃度で指定された時間に添加した。BYL719 (Advanced ChemBlocks Inc #R16000) は0.5 μ Mの高濃度で使用した (汎クラスI PI3K阻害を達成するため)。

30

【0298】

Fijiオープンソース画像解析パッケージを用いて全レポーター強度の画像解析を行った。各時点における個々の細胞のフットプリントに対応する関心領域 (ROI) は、全時点に渡って存在するピクセルのみを選択する最小強度投影法を用いて定義し、カメラノイズの事前減算 (ローリングボール法、半径 = 500ピクセル) とxyドリフト補正を行った後、経時的な強度レベルを測定した。これらの解析は、特注のFIJI/ImageJマクロを用いて行った。もう1つのマクロは、治療前の平均強度 (Ft/Fb) に全ピクセルを正規化し、スケールされた画像を生成するために使用された。その他の定量はすべて、オープンソースソフトウェアR/RStudioを用いて行った。すべてのマクロと解析スクリプトは、Open Science Framework (https://osf.io/gzxfm/?view_only=8de666831f5b444087a0ab7c6cf3a636) を介して提供されている。

40

【0299】

CellTiter-Glo (登録商標) 細胞アッセイ

10% FBSおよび1% P/Sを添加したDMEM中で96ウェルプレートに1ウェルあたり5000細胞ずつMEFを播種し、一晩接着させた。翌日、新鮮な無血清DMEMで化合物を処理

50

する前に、細胞を4時間血清飢餓状態にした。DMSOに可溶化した化合物は、DMSO中の12点濃度反応曲線で1:2に希釈した。中間プレートは、DMSO中の化合物4 μ lを96 μ lの無血清DMEM培地に移すことで調製した。次にこれを用いて、中間プレートから12.5 μ lの溶液を87.5 μ lの無血清DMEMに移し、細胞プレートを処理した。化合物濃度応答曲線は、最高濃度30 μ M、最終ウェル濃度0.5% DMSOであった。細胞プレートは37 $^{\circ}$ C、5% CO₂で24時間、48時間または72時間インキュベートした。その後、Cell Titer-Glo (登録商標) 試薬を用いて、製造者の指示に従って細胞生存率を測定した (Promega #G7571)。CLARIOstar (BMG) を用いて終点発光を測定した。GraphPad Prism 8を用いて化合物データを解析した。

【0300】

10

クリスタルバイオレット染色による細胞増殖の測定

10% FBSと1% P/Sを添加したDMEMで96ウェルプレートに1ウェルあたり5000細胞ずつMEFを播種し、一晚接着させた。翌日、新鮮な無血清DMEMで化合物を添加する前に細胞を5時間無血清化した。異なる時点の後、細胞を蒸留H₂Oで迅速に洗浄した後、20% メタノール (v:v) 中の0.5% クリスタルバイオレット (Sigma-Aldrich cat#C0775) 溶液で固定・染色した (Feoktistova, M. et al. Cold Spring Harb Protoc 2016, pdb prot087379 (2016))。簡潔には、室温で揺動台上で20分間インキュベートした後、固定・染色した細胞を蒸留水で3回洗浄し、プレートを一晚風乾した。次に200 μ lのメタノールを各ウェルに加え、プレートをベンチロッカー上で室温で20分間インキュベートした後、プレートリーダーで570ポイントの光学濃度を測定した。

20

【0301】

Edu染色による細胞周期進行の測定

製造業者の指示に従ってClick-IT EdUストラテジーを使用した (Sigma-Aldrich #BCK-FC488-50)。簡潔には、10% FBSおよび1% P/Sを添加したDMEM中の6ウェルプレートに1ウェルあたり50,000細胞でMEFを播種し、一晚接着させた。翌日、新鮮な無血清DMEMで化合物を添加する前に細胞を5時間無血清にした。異なる時点で、細胞を10 μ M EdUで3時間パルスし、その後トリプシン処理で回収し、PBS中3.7% FAで暗所15分間固定し、3% BSAで洗浄し、1xサポニンベースの透過化バッファーで暗所20分間透過化した。その後、暗所で30分間、FAM-アジドアッセイカクテルを用いてEdUを検出した。細胞を1xサポニンベースの透過化バッファーで2回洗浄した後、フローサイトメーター (Novocyte Advanteonフローサイトメーター、Agilent) で分析した。

30

【0302】

動物

成体 (200 g以上) のWistar系ラット (Charles River, UK) を1ケージ4~5匹で飼育し、14:10時間の明暗サイクルで飼育し、餌と水を自由に摂取できるようにした。すべての実験は、英国動物法 (1986年) および欧州共同体理事会指令 (86/609/EEC) に従い、University College London Animal Welfare and Ethical Review Boardの承認を得て実施した。

【0303】

マウスでのin vivo虚血再灌流障害モデル

40

体重25~30 gの雄性C57/BL6マウスを用いた。動物は1986年動物 (科学的手順) 法の運用に関する英国内務省ガイド、プロジェクトライセンスPPL70/15358に従って人道的ケアを受けた。

【0304】

100 mg/kgのペントバルビタールナトリウムで動物に腹腔内麻酔した。マウスを気管切開し、小動物用人工呼吸器 (MinVent, Type 845, Hugo Sachs Elektronik, Harvard Apparatus) を用いて室内空気で換気した。その後、マウスをヒーティングパッドの上に置き、直腸温をモニターし、温度コントローラーを用いて \sim 37 $^{\circ}$ Cに維持した。実験中、心電図と心拍数の両方をPowerLab (Adinstruments社、米国) を用いて連続的に記録した。心臓を露出させるために第3肋骨と第4肋骨の間の肋間を開胸し、左冠動

50

脈前下行 (LAD) 周囲に縫合糸を留置した後、LADの閉塞と開通を可能にするためにスネアを留置した。薬物投与のために左外頸静脈にカニューレを留置した。

【0305】

LAD冠動脈を閉塞するようにスネアを締め、心臓を40分間の虚血にさらし、心電図のST上昇と心臓の色の变化で確認した。40分後、スネアを緩め、心臓を次の120分間再灌流させた。再灌流の15分前に、50 μ lのDMSOビヒクルまたはDMSO中1938化合物10 mg/kgを頸静脈からゆっくり注入した。実験実施者は治療群について盲検化されていた。

【0306】

120分間の再灌流後、再び開胸し、心臓を摘出し、胸部大動脈から管状に取り出し、心臓内の血液を生理食塩水で洗浄した。その後、LAD冠動脈を虚血後に緩く残しておいた縫合糸で再開塞し、心臓に2%エバンスブルーを注入してリスク領域を描出した。これらの心臓を-80 $^{\circ}$ Cで10分間凍結した後、厚さ0.5 mmのスライスに5~6枚切り出した。この心臓スライスを37 $^{\circ}$ C、pH7.4のトリフェニルテトラゾリウムクロリド (10 mg/ml) 溶液中で15分間インキュベートし、壊死組織 (白色領域) と生存組織 (赤色染色) を分離した。その後、スライスを10%ホルマリン溶液に移し、一晚固定した。右室壁を除いた心臓スライスをCannonデジタルスキャナーでスキャンした。各スライスの心筋の総面積、非虚血領域 (エバンスブルーで染色)、梗塞領域 (すなわち白色領域) をImage-Jソフトウェアを用いて測定した。スライス面積全体から非虚血部位 (青色部位) を差し引いて「リスク領域面積」を算出し、「左心室に対する割合」で表した。リスク領域面積に対する梗塞面積の割合として「梗塞サイズ」を算出した。実験中、再灌流前に4匹のマウスが死亡したため (DMSO群3匹、1938群1匹)、解析から除外した。

【0307】

ウェスタンブロッティングによる組織サンプルの分析は次のように行った。上記のように麻酔し挿管したマウスの頸静脈から50 μ lのDMSOビヒクルまたはDMSO中1938化合物10 mg/kgを注射した。15分後、開胸して心臓を取り出し、液体窒素中で凍結クランプした。次に、心臓を溶解バッファー [100 mM Tris.HCl、300 mM NaCl、1% IGEPAL、pH7.4、プロテアーゼインヒビター (78438; Thermo Fisher Scientific) およびホスファターゼインヒビター (78427; Thermo Fisher Scientific) 添加] 中で乳棒と乳鉢を用いて破碎し、氷上で5回、3秒間超音波処理した。その後、上清を回収し、NuPAGETM LDS Sample Buffer (4X) (Thermo Fisher Scientific) を加えた後、サンプルを煮沸し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を行うまで-80 $^{\circ}$ Cで保存した。ウェルあたり20 μ gのタンパク質を10% NuPAGE Bis-Trisゲル (Invitrogen) にロードし、SDS-PAGEで分離し、ウェスタンブロット分析用にPVDF膜 (Millipore) に移した。5% BSA/TBS-0.1% Tween-20中で一次抗体とともに膜を4 $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートし、TBS-0.1% Tweenで10分間3回洗浄した後、5% BSA/TBS-0.1% Tween中で二次抗体とともに1時間インキュベートし、TBS-0.1% Tweenで10分間3回洗浄した。使用した抗体は、 α -アクチンに対するマウスモノクローナル抗体 (Santa Cruz; sc-47778; 1:2000で使用)、総Aktに対するマウスモノクローナル抗体 (Cell Signaling Technology; CST2920; 1:1000で使用)、およびリン酸化Akt Thr308 (CST2965; 1:1000で使用) またはリン酸化Akt Ser473 (CST9271; 1:1000で使用) に対するCell Signaling Technologyのウサギ抗体である。二次抗体は、IRDye 680LTヤギ抗マウスおよびIRDye 800CWヤギ抗ウサギ (LI-COR Biosciences) を用いた。タンパク質の可視化と定量はOdyssey Imaging System (LI-COR Biosciences) を用いて行った。

【0308】

神経突起伸長の定量化

記載されたように、後根神経節 (DRG) ニューロンを成体雄性 (>250 g) ウィスターラットから単離し、各ラットのDRGを別々に培養した (Rayner, M.L.D. et al. Anatomical record 301, 1628-1637 (2018))。スケジュール1 (CO₂の濃度上昇) による淘汰後、脊柱を摘出し、氷上でPBS中に保存した。臍帯組織を除去して椎間孔内の

DRGと根を露出させ、解剖顕微鏡（オリンパスSZ40）下で鉗子とメスを用いてDRGを除去した。DRGは鉗子で根、被膜、毛細血管を除去して手作業で洗浄し、P/S添加DMEMに入れた。DRGを0.125%コラゲナーゼIV型溶液で37℃、90分間処理した後、1 mlピペットを用いてトリチュレーションを行い、機械的に解離させた。コラゲナーゼ溶液は、完全DMEM（1% P/Sと10% FBSを添加したDMEM）中で、400xg、5分間の遠心分離を2回行って除去し、その後、0.01 mMシトシンアラビノシドを添加した完全DMEM中にDRG細胞ペレットを再懸濁した。DRGを0.1 mg/mlポリ-D-リシンでコートした75cm²フラスコにプレティングし、37℃、5% CO₂でインキュベートした。24時間後、DRGをトリプシン処理で再懸濁し、190xgで4分間遠心分離してトリプシンを除去した。B-27（Gibco #17504044）、2 mM L-グルタミン（Merck #G7513）、および1%ペニシリン/ストレプトマイシンを添加したNeurobasal-A培地（Gibco #10888022）に、得られた細胞ペレットを機械的に懸濁した。DRGを0.1 mg/mlポリ-D-リシンコートした透明底黒壁384ウェルプレート（Greiner 781090）に1,000 cells/wellの密度でプレティングした。処理に先立ち、BRAVOリキッドハンドラー（Agilent）を用いて、補充したNeurobasal-A培地で細胞を均一な量まで洗浄した。DMSO中3 mMで可溶化した1938をDMSO中8ポイント濃度反応曲線で1:3に希釈した。BRAVOリキッドハンドラーを用いて濃度反応曲線中の薬剤を中間プレートに移し、補充したNeurobasal-A培地で希釈した。その後、BRAVOリキッドハンドラーを用いて中間プレートを細胞プレートの処理に使用した（DRG培養液の最終濃度は0.1% DMSO）。PI3Kイヌヒビター-BYL-719（DRG培養液中の最終濃度500 nM）またはビヒクル（補充Neurobasal-A培地中の0.005% DMSO；1938濃度反応曲線（DRG培養液中の総濃度0.105% DMSO）を添加する15分前に添加した。37℃、5% CO₂で72時間培養した後、4%パラホルムアルデヒドを20分間添加して細胞を固定した。ウェルを0.05% Tween-20（PBST）添加PBSで3回洗浄した後、0.1% Triton X-100添加PBSで透過処理した。ウェルをPBSTでさらに3回洗浄した後、魚皮ゼラチン/PBSTで室温で1時間ブロッキングした。その後、ウェルを -IIIチューブリンニューロンマーカーに対する一次抗体（abcam #ab18207、1:1000）と共に4℃で一晩インキュベートした。翌日、BRAVOリキッドハンドラーを用いて細胞をPBSTで3回洗浄した後、抗ウサギAlexafluor-488（1:2000、A-11008）を用いて室温で1時間インキュベートした。細胞をBRAVOリキッドハンドラーを使用してPBSTで3回洗浄した後、Hoechst 33342核酸染色（Thermo Scientific # 62249；1:2000）で20分間遮光染色した。細胞をPBSTでさらに3回、PBSで3回洗浄し、細胞プレートを4℃で遮光保存してからイメージングを行った。Opera（PerkinElmer）ハイコンテンツスクリーニングシステムを用い、20倍の水対物レンズを使用して画像取得を行った。細胞核と -IIIチューブリン陽性細胞の画像は、それぞれ励起/発光波長 380/455と 490/518を用いて撮影した。ウェルあたり9フィールドを撮影し、CSIRO Neurite Analysis 2 logarithm in Columbus解析ソフトウェア（Perkin Elmer）を用いて解析した。次のパラメーターを用いて神経突起を定義した：平滑化ウィンドウ0ピクセル（px）、線形ウィンドウ15px、コントラスト>1.5、直径 3px、ギャップ閉鎖距離 17px、ギャップ閉鎖の質0、デバース長 40px、ボディ肥厚1px、ツリー長 0px。各実験において、四重反復で処置を行い、生物学的反復（n=3）の平均±平均の標準誤差でデータを表す。可変勾配非線形回帰（4パラメータ）はPrism 7で行った。Cytation 3（Biotek社製）イメージングプレートリーダーを用い、10倍の対物レンズでホールウェルの代表画像を撮影した。Gen 5ソフトウェア（Biotek）でステッチングとデコンボリューションを行う前に、画像のモンタージュをキャプチャした。細胞核と -IIIチューブリン陽性細胞の画像は、それぞれ励起/発光波長 380/455と 490/518を用いて捉えた。

10

20

30

40

【0309】

神経破碎アッセイの対照実験

水溶液中の1938の安定性と、暴露したラットの坐骨神経に対する1938の生物学的活性を調べる実験を、以下のように行った。

50

【0310】

凍結乾燥した1938をオートクレーブしたdH₂Oで100 μMまで可溶化した。可溶化には、0.22 μmのフィルターに通す前に、30 で25分間の超音波処理が必要であった。1938 (5 μMおよび100 μM) またはビヒクルのアリコート、後で別々の実験日に使用するために-20 で凍結した。100 μMのTRO-1938およびビヒクルのアリコートを解凍し、A549細胞で活性を試験した(図17/拡張データ図9、左パネル)。10% FBSおよび1% Pen/Strepを添加したDMEM+Glutamax中で、20,000 cells/wellで24ウェルプレートに細胞を播種した。処理前に細胞を洗浄し、無血清DMEM+Glutamaxでインキュベートした。無血清DMEM+Glutamaxで希釈した1938のポイント1:3用量反応で、10 μMから開始し、37 で15分間細胞を処理した。その後、細胞を氷冷PBSで洗浄し、プロテアーゼおよびホスファターゼインヒビターを添加したRIPA緩衝液で溶解した。ライセートを自動ウェスタンブロット(Wes)で分析した(図17/拡張データ図9;左パネル)。

10

【0311】

露出したラットの坐骨神経において1938がpAktの産生を誘導できるかどうかを評価するための試験実験では、イソフルランを用いて成体雄性Sprague Dawleyラット(250 g以上; n=2)を麻酔し、左脚の坐骨神経を露出させ、2 μlのビヒクル(滅菌dH₂O)または1938(滅菌dH₂O中5 μM)を注射した。一方、右脚の坐骨神経を露出させ、250 μlのビヒクル(滅菌dH₂O)または1938(滅菌dH₂O中5 μM)を適用した。各動物は、ビヒクルおよび化合物処理を1回ずつ受けた。処置は、滅菌PBSで適用した神経を洗浄し、地域の規則に従ってペントバルビタールナトリウム注射により動物を淘汰する前に30分間放置した。その後、神経を採取し、新鮮な4 PBSで洗浄し、液体窒素でスナップ凍結する前に新鮮なパイアルに保存した。凍結した坐骨神経を、プロテアーゼインヒビターおよびホスファターゼインヒビターを添加したRIPA緩衝液中で、乳鉢と乳棒のホモジナイザーを用いてホモジナイズした。その後、粗ライセートを4 で10,000xg、10分間遠心分離し、上清を採取して-80 で保存した後、pAktおよびコントロールの自動ウェスタンブロット(Wes)解析を行った(図17/拡張データ図9、右パネル)。

20

【0312】

ラット坐骨神経破碎損傷および1938処置

誘導チャンバー内でイソフルラン吸入によりSprague Dawley系成体雌性ラット(230~280 g, n=10, Charles River, UK)を麻酔した(O₂中5%イソフルラン、0.8 l/min)。1.5~2.5%のイソフルラン吸入で麻酔を維持し、左坐骨神経を大腿中央部で露出させた。

30

【0313】

完全に閉じた滅菌4型ピンセット(TAAB)を用いて15秒間一定の圧力を加え、神経を破碎した。これを同じ箇所ですらに2回繰り返し、各圧潰の間に45度回転させた。損傷部位には10/0エピニューラル非吸収性縫合糸(Ethicon社製)で印をつけた。損傷後、1938溶液とビヒクルの凍結アリコートを解凍した。10 μlのハミルトン注射器で1938溶液(滅菌H₂O中5 μM)またはビヒクル(滅菌dH₂O)の2 μl注射を破碎部位の近位に1回投与した。筋層間、神経に浸透圧ミニポンプ(Alzet 1004, Charles River, UK)も隣接し、出口が破碎部位に最も近く、1938溶液(滅菌H₂O中100 μM)またはビヒクル(滅菌H₂O)を装填して移植した。動物は無作為に群に割り付けられ(1群につきn=5)、条件を盲検化し、1人の実験者が機能的および組織学的解析を行った。4/0縫合糸(Ethicon)で筋層を閉鎖し、創傷クリップ(Clay Adams)で皮膚を閉鎖した。動物は21日間回復させた。

40

【0314】

筋再生の機能評価

実験の終点(21日)でラットを麻酔し、上記のように坐骨神経を露出した。基準電極、接地電極(Natus)および記録電極(Ambu Neuroline)をそれぞれ尻尾、腰骨の上、および前脛骨筋に取り付けた。マイクロチャンネル・ニューロインターフェイス(MN

50

l) を損傷部位の約2 mm近位に設置し、神経を刺激するために使用した。以前に文書化されたプロトコル (Lancashire, H.T. et al. J Neural Eng 13, 034001 (2016)) を使用してMNIを製造した。MNIの電極インピーダンスは、1k Hzで 27.1 ± 19.8 kであった。複合筋活動電位 (CMAP) は、1~10 mAの強度で100 μ secの矩形波パルスによる坐骨神経刺激によって得られた。筋反応振幅が増加しなくなるまで0.2 mAステップで刺激を増加させた。CMAP振幅をピークからピークまで測定し、同側と対側の両方で3回ずつ記録した。最大振幅のCMAPを解析用に選択した。

【0315】

修正多点刺激法を用いて運動単位数推定 (MUNE) を算出した (Shefner, J.M. et al. Muscle & nerve 34, 603-607 (2006); Jacobsen, A.B. et al. J Vis Exp (2018); Arnold, W.D. et al. J Vis Exp (2015))。最小限の反応を得るために、刺激強度を0.02 mAずつ増加させながら、1 Hzの周波数で100 μ secの持続時間の亜最大刺激を与えることにより、漸増反応を得た。0.21 mAから0.70 mAの刺激強度で初期反応を得た。これらの刺激強度の間で初期反応が起こらない場合は、刺激電極を調節して、必要に応じて刺激強度を増減させた。0.02 mAの増分で刺激して追加の単一運動単位電位 (SMUP) を誘発し、最低4回の追加増分を得た。筋肉の異なる部位からSMUPを記録できるように、刺激電極の位置と記録電極の位置を変えた。このプロセスを少なくとも3回繰り返した。CMAPをSMUPの平均値で割ってMUNEを定量化した。

【0316】

坐骨神経の採取および処理

電気生理学的記録後、現地規則に従いペントバルビタールナトリウム注射で動物を淘汰した。総腓骨枝を含む坐骨神経と前脛骨筋を採取し、4%パラホルムアルデヒド (PFA) に入れた。15分後に筋肉をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に移し、処理まで4 で保存した。神経サンプルは、PBSに移す前に4 の4%PFAで一晩固定した。神経サンプルは、破砕部位を含む坐骨神経と切片化のための総腓骨枝とに分けた。神経サンプルを4 で一晩30%スクロースに浸し、液体窒素で冷却したイソペンタンを用いてNeg-50凍結切片培地 (Thermo Scientific) でスナップ凍結した。クライオスタット (HM535, Thermo Scientific) を用いて、総腓骨神経の遠位セグメントから横断切片 (10 μ m) を切り出した。坐骨神経からは、破砕部位の遠位3 mmおよび6 mmから横断凍結切片 (15 μ m) を切り出した。切片をスライドガラス (Superfrost Plus, Thermo Fisher) に接着させ、免疫蛍光染色を行った。

【0317】

免疫蛍光染色では、すべての洗浄および希釈を免疫染色バッファー (0.002%アジ化ナトリウムおよび0.3% Triton-X 100を含むPBS) を用いて行った。抗原除去のためにスライドを37 で20分間加熱し、5%正常ウマ血清で40分間ブロッキングした。その後、切片を一次抗体で4 で一晩インキュベートし、続いて二次抗体で室温で45分間インキュベートした。次の抗体を使用した: マウス抗ニューロフィラメント (Biolegend 835604, 1:500)、ヤギ抗コリンアセチルトランスフェラーゼ (Millipore AB144P, 1:50)、DyLight抗マウスIgG 549 (Vector DI-2549, 1:300) およびDyLight抗ヤギIgG 488 (Vector DI-1488, 1:300)。スライドをVectashield Hards etマウンティング培地 (Vector, H-1400) でカバースリップした。

【0318】

総腓骨神経の遠位セグメントにおける運動軸索 (ChAT) の定量化のために、蛍光顕微鏡検査 (Zeiss AxioImager A1, AxioCam Cm1) を実施した。坐骨神経切片の解析のため、破砕損傷から遠位3 mmおよび6 mmの位置で、各横断切片の共焦点タイルスキャン (Zeiss LSM 710, 倍率20倍) を行った。VolocityTM ソフトウェア (Perkin Elmer, Waltham, MA) を用いて、すべてのニューロフィラメント陽性軸索の定量を行った。

【0319】

筋肉の採取および処理

前脛骨筋を4%PFAで15分以内に固定し、Optimal Cutting Temperature (OCT

)で包埋後、液体窒素冷却したイソペンテート上でスナップ凍結するか、処理準備が整うまで免疫染色バッファー中に放置した。横断20 μm の凍結切片を300 μm 間隔で採取した。各サンプルから最低20切片を筋の全断面から採取し、免疫蛍光染色のためにスライドガラスに接着させた。

【0320】

すべての洗浄と希釈は、免疫染色バッファー(0.002%アジ化ナトリウムおよび0.3% Triton-X100を含むPBS)を用いて行った。スライドを20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のプロテイナーゼKで30分間42 $^{\circ}\text{C}$ に加熱し、10%ヤギ血清で40分間室温でブロックした。洗浄後、切片を一次抗体(ニューロフィラメント、Biolegend 835604、1:500)でインキュベートし、洗浄後、DyLight anti-mouse IgG 488 (Vector DI-2488、1:300)および
ブンガロトキシン (Alexa 594 conjugate、ThermoFisher Scientific、1:1000)でインキュベートした。切片はVectashield Hardsetマウント培地を用いてマウントした。

10

【0321】

蛍光顕微鏡(Zeiss AxiolabA1、Axiocam Cm1)を用いて、ニューロフィラメントと共染色した運動終板(-ブンガロトキシン)の割合を測定し、再神経支配された運動終板の割合を定量化した。各サンプルについて、筋断面全体の最低20の重ならない領域を分析した。

【0322】

統計解析のため、対応のないt-検定で1938投与動物のデータとビヒクル投与動物のデータとを比較した(Graphpad Prism 8.0.0)。

20

【0323】

統計方法

異なるタイプの実験に対する統計的方法は、上記の各実験セクションに含まれる。

【0324】

化合物合成

実験

化学物質と溶媒は一般的に使用されているものを使用し、さらに精製することなく使用した。クロマトグラフィー精製は、Biotage Isolera Purification system (Uppsala, Sweden)を使用してプレパックドSNAPカラムを用いて行った。マイクロ波アシスト反応は、密封バイアル中でBiotage InitiatorTMマイクロ波合成機を用いて行った。重水素化溶媒はSigma Aldrichから入手した。

30

【0325】

NMRスペクトルはBruker 400 MHzまたは500 MHzスペクトロメーターで記録した。化学シフトは溶媒ピークに対するppmで示し、カップリング定数(J)はHzでレポートされる。

【0326】

以下のいずれかの方法でLCMSスペクトルを得た:

LCMS方法A: Waters LCMSシステム(Waters Micromass ZQ質量分析計をWaters 2000シリーズHPLCに接続)。Geminiカラム(3.0 μM 、NX-C18、110A、50 x 4.6 mm)を用いて分析を行った。移動相Aは0.1%ギ酸を水に溶解し、移動相Bは0.1%ギ酸をHPLCグレードのアセトニトリルに溶解した。1.00 mL min⁻¹の流速で、99%の移動相Aから徐々に100%の移動相Bへと5.0分間のグラジエントを行った。

40

【0327】

LCMS方法B: Agilent LCMSシステム(Agilent 1200シリーズHPLCに接続されたマルチモード光源付きAgilent 6140シリーズ四重極質量分析計)。分析にはキネティックカラム(2.6 μM 、EVO、C18、100A、50 x 2.1 mm)を使用。移動相Aは0.1%ギ酸を水に溶解し、移動相Bは0.1%ギ酸をHPLCグレードのアセトニトリルに溶解した。1.00 mL min⁻¹の流速で、99%の移動相Aから徐々に100%の移動相Bへと5.5分間のグラジエントを行った。

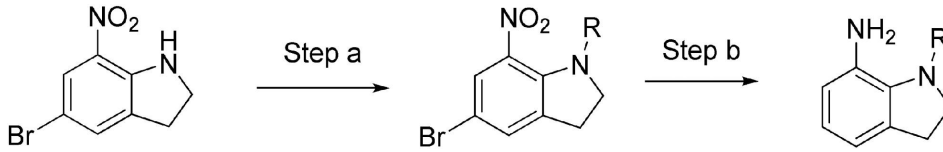
50

【 0 3 2 8 】

LCMS方法C：島津LCMS2020システム。分析にはWaters X-BridgeTMカラム（2.5 μ M、MS C18、100A、50 x 3.0 mm）を使用。移動相Aは水中0.1%ギ酸、移動相BはHPLCグレードのアセトニトリル中0.1%ギ酸。1.00 mL min⁻¹の流速で、99%の移動相Aから徐々に100%の移動相Bへと4.0分間のグラジエントを行った。

【 0 3 2 9 】

【 化 7 7 】

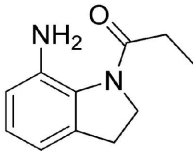


10

【 0 3 3 0 】

中間体 A 1

【 化 7 8 】



20

【 0 3 3 1 】

1-(7-アミノインドリン-1-イル)プロパン-1-オン

工程 a：クロロホルム（10 mL）中のプロパノイルクロリド（0.72 mL, 8.23 mmol）に、トリエチルアミン（0.63 mL, 4.53 mmol）および5-ブromo-7-ニトロインドリン（500 mg, 2.06 mmol）を加え、反応混合物をrtで18時間撹拌した。Biotage Isoleraで精製すると、1-(5-ブromo-7-ニトロインドリン-1-イル)プロパン-1-オン（571 mg、収率92%）が得られた。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 7.77 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 4.23 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 3.22 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 2.49 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.22 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

【 0 3 3 2 】

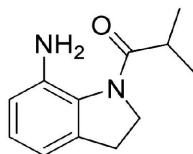
工程 b：メタノール（4 mL）中の1-(5-ブromo-7-ニトロインドリン-1-イル)プロパン-1-オン（300 mg, 1 mmol）の撹拌溶液にギ酸アンモニウム（632 mg, 10.03 mmol）およびPd/C（11 mg, 0.10 mmol）を加え、反応混合物をrtで18時間撹拌し、反応混合物をセライトで濾過し、濾液を真空中で減圧濃縮して表題化合物（176 mg, 92%収率）を得た。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 6.97 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.66 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.79 (br s, 2H), 4.07 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.06 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.58 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.28 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

30

【 0 3 3 3 】

中間体 A 2：

【 化 7 9 】



40

【 0 3 3 4 】

1-(7-アミノインドリン-1-イル)-2-メチルプロパン-1-オン

中間体 A 1 について記載の手順で工程 a にてイソブチリルクロリドを用いて合成した。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.97 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.66 (dd, J = 7.3お

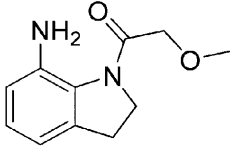
50

よび1.0 Hz, 1H), 6.60 (dd, $J = 8.0$ および 1.0 Hz, 1H), 4.70 (br s, 2H), 4.12 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 3.06 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.94 (sept, $J = 7.0$ Hz, 1H), 1.29 (s, 3H), 1.27 (s, 3H).

【0335】

中間体 A 3 :

【化80】



10

【0336】

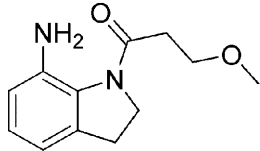
1-(7-アミノインドリン-1-イル)-2-メトキシエタン-1-オン

中間体 A 1 について記載の手順で工程 a にてメトキシアセチルクロリドを用いて合成した。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 6.97 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 4.03 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.05 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H).

【0337】

中間体 A 4 :

【化81】



20

【0338】

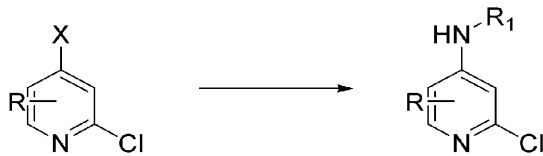
1-(7-アミノインドリン-1-イル)-3-メトキプロパン-1-オン

中間体 A 1 について記載の手順で工程 a にて3-メトキシプロパノイルクロリドを用いて合成した。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 6.95 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.11 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.03 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.81 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H).

30

【0339】

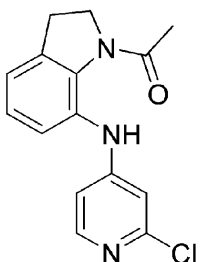
【化82】



【0340】

中間体 B 1

【化83】



40

50

【0341】

1-(7-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

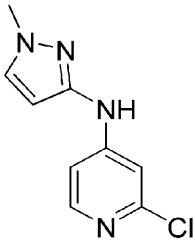
1,4-ジオキサン (4 mL) 中の2-クロロ-4-ヨードピリジン (1 g, 4.2 mmol)、1-(7-アミノインドリン-1-イル)エタノン (662 mg, 3.8 mmol)、XANTPHOS (145 mg, 0.25 mmol)、酢酸パラジウム (38 mg, 0.17 mmol) および炭酸セシウム (2.71 g, 8.35 mmol) の混合物をマイクロ波中80 で1時間加熱した。室温まで冷却後、混合物をセライトでろ過し、酢酸エチルで洗浄した。ろ液を減圧濃縮し、ジエチルエーテル/ペトルールでトリチュレートして表題化合物を黄色固体として得た (887 mg, 84%)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.67 (s, 1H), 7.98 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.18 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.00 (dq, J = 7.2, 1.1 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 5.8, 2.1 Hz, 1H), 4.13 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H). LC-MS方法A; RT 2.21; m/z [M+H]⁺ 288.0.

10

【0342】

中間体 B 2

【化84】



20

【0343】

2-クロロ-N-(1-メチル-1H-ピラゾール-3-イル)ピリジン-4-アミン

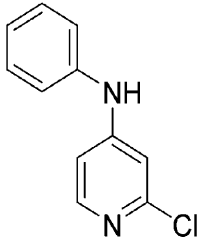
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび3-アミノ-1-メチル-1H-ピラゾールを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.05 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 5.8, 2.1 Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.98 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H).

30

【0344】

中間体 B 3

【化85】



40

【0345】

2-クロロ-N-フェニルピリジン-4-アミン

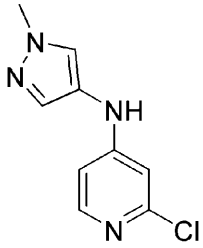
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよびアニリンを用いて合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 9.08 (s, 1H), 7.98 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.43 - 7.35 (m, 2H), 7.21 (dd, J = 7.5, 1.1 Hz, 2H), 7.11 (td, J = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 5.8, 2.1 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 2.1 Hz, 1H).

【0346】

中間体 B 4

50

【化 8 6】



【0347】

10

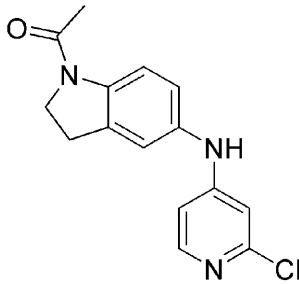
2-クロロ-N-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)ピリジン-4-アミン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび1-メチルピラゾール-4-アミンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.95 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.58 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 5.8, 2.0 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 3.92 (s, 3H).

【0348】

中間体 B 5

【化 8 7】



20

【0349】

1-(5-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

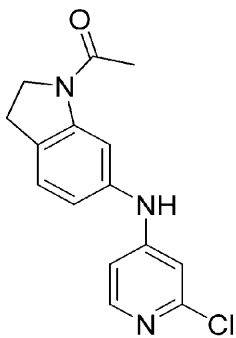
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび1-(5-アミノインドリン-1-イル)エタノンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.24 - 8.20 (m, 1H), 8.00 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.05 - 6.96 (m, 3H), 6.90 (q, J = 1.9 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.60 (dd, J = 5.8, 2.1 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.25 (s, 3H).

30

【0350】

中間体 B 6

【化 8 8】



40

【0351】

1-(6-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび1-(6-アミノインドリン-1-イル)エタノンを用いて合成した。¹H NMR (MeOD, 500 MHz) 8.04 (

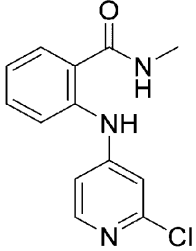
50

s, 1H), 7.88 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 10.1 Hz, 2H), 4.18 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 3.19 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 2.24 (s, 3H).

【 0 3 5 2 】

中間体 B 1 4

【 化 8 9 】



10

【 0 3 5 3 】

2-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

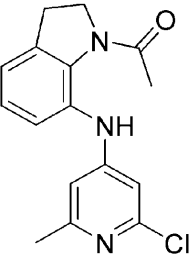
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび2-アミノ-N-メチル-ベンズアミドを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.67 (s, 1H), 8.10 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H), 7.50 - 7.44 (m, 2H), 7.08 - 7.02 (m, 2H), 6.87 (dd, J = 5.7, 2.1 Hz, 1H), 6.22 (s, 1H), 3.01 (d, J = 4.8 Hz, 3H).

20

【 0 3 5 4 】

中間体 B 1 5

【 化 9 0 】



30

【 0 3 5 5 】

1-(7-((2-クロロ-6-メチルピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

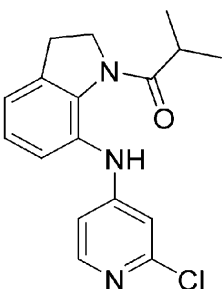
中間体 B 1 について記載の手順で2,4-ジクロロ-6-ピコリンおよび1-(7-アミノインドリン-1-イル)エタノンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.00 (s, 1H), 7.75 (dd, J = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 7.14 (dd, J = 8.2, 7.3 Hz, 1H), 6.90 (dq, J = 7.4, 1.1 Hz, 1H), 6.62 - 6.58 (m, 1H), 6.56 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 4.09 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.13 - 3.06 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).

40

【 0 3 5 6 】

中間体 B 1 6

【 化 9 1 】



50

【0357】

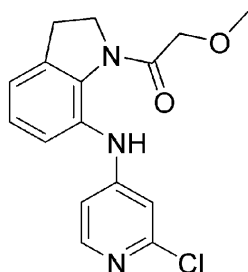
1-(7-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)-2-メチルプロパン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび中間体 A 2 を用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.50 (s, 1H), 8.00 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 7.3 および1.0 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 5.8および2.1 Hz, 1H), 4.19 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.94 (sept, J = 6.7 Hz, 1H), 1.29 (s, 3H), 1.27 (s, 3H).

【0358】

中間体 B 1 7

【化92】



10

20

【0359】

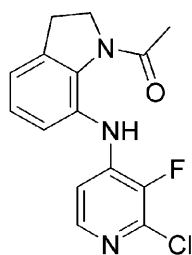
1-(7-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)-2-メトキシエタン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび中間体 A 3 を用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.50 (s, 1H), 8.00 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.73 (dd, J = 5.8および2.1 Hz, 1H), 4.30 (s, 2H), 4.14 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.17 (t, J = 7.8 Hz, 2H)

【0360】

中間体 B 1 8

【化93】



30

【0361】

1-(7-((2-クロロ-3-フルオロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-3-フルオロ-4-ヨードピリジンおよび1-(7-アミノインドリン-1-イル)エタノンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 9.04 (s, 1H), 7.82 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.20 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.97 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.16 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H).

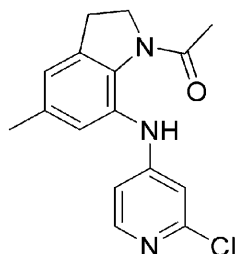
40

【0362】

中間体 B 1 9

50

【化 9 4】



【0363】

10

1-(7-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)-5-メチルインドリン-1-イル)エタン-1-オン

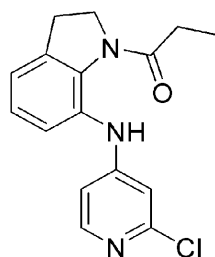
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび1-(7-アミノ-5-メチル-インドリン-1-イル)を用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 8.75 (s, 1H), 8.00 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.84-6.83 (m, 2H), 6.72 (dd, J = 5.8および2.1 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.35 (s, 3H).

【0364】

中間体 B 2 0

【化 9 5】

20



【0365】

1-(7-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)プロパン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジン (および中間体 A 1) を用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 8.69 (s, 1H), 7.98 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.16 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 5.8および2.0 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.58 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.27 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

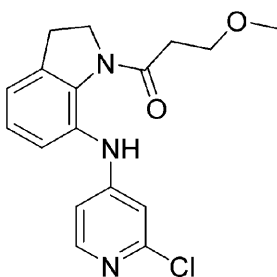
30

【0366】

中間体 B 2 1

【化 9 6】

40



【0367】

1-(7-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)-3-メトキプロパン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび中間体 A 4 を用い

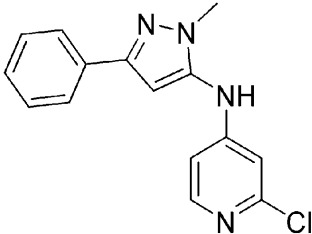
50

て合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.55 (s, 1H), 8.00 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.20 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.83 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.71 (dd, J = 5.8および2.1 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.82 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.14 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.84 (t, J = 6.2 Hz, 2H).

【0368】

中間体 B 2 2

【化97】



10

【0369】

2-クロロ-N-(1-エチル-3-フェニル-1H-ピラゾール-5-イル)ピリジン-4-アミン

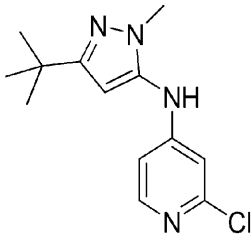
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび2-メチル-5-フェニル-ピラゾール-3-アミンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.07 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.41 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.33 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 6.54 (dd, J = 5.7および2.2 Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.06 (br s, 1H), 3.76 (s, 3H).

20

【0370】

中間体 B 2 5

【化98】



30

【0371】

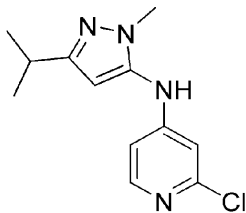
N-(3-(tert-ブチル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)-2-クロロピリジン-4-アミン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび5-tert-ブチル-2-メチル-ピラゾール-3-アミンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.06 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.47 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.66 (s, 3H), 1.31 (s, 9H).

【0372】

中間体 B 2 7

【化99】



40

【0373】

2-クロロ-N-(3-イソプロピル-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)ピリジン-4-アミン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび5-イソプロピル-

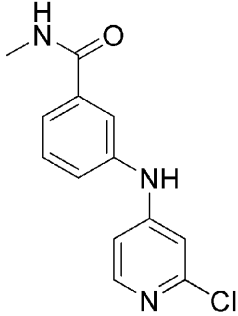
50

2-メチル-ピラゾール-3-アミンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.04 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.48 (dd, J = 5.7および2.2 Hz, 1H), 5.95 (s, 1H), 3.65 (s, 3H), 2.94 (sept, J = 6.9 Hz, 1H), 1.27 (s, 3H), 1.26 (s, 3H).

【0374】

中間体 B 2 8

【化100】



10

【0375】

3-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

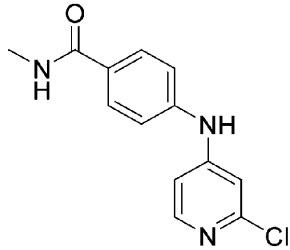
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび3-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.96 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.50 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.42-7.39 (m, 1H), 6.93-6.91 (m, 2H), 2.95 (s, 3H).

20

【0376】

中間体 B 2 9

【化101】



30

【0377】

4-((2-クロロピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび4-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.01 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.02-6.99 (m, 2H), 2.95 (s, 3H).

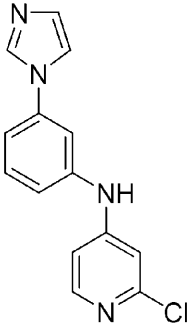
【0378】

中間体 B 3 0

40

50

【化 1 0 2】



10

【 0 3 7 9】

N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)フェニル)-2-クロロピリジン-4-アミン

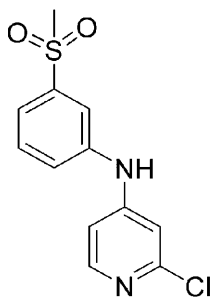
中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび3-イミダゾール-1-イラニリンを用いて合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.15 (s, 1H), 7.98 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.54 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 7.34-7.32 (m, 1H), 7.31-7.28 (m, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.97-6.95 (m, 2H).

【 0 3 8 0】

中間体 B 3 1

20

【化 1 0 3】



30

【 0 3 8 1】

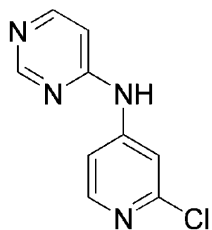
2-クロロ-N-(3-(メチルスルホニル)フェニル)ピリジン-4-アミン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよび3-メチルスルホニルアニリンを用いて合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.01 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 7.69-7.67 (m, 1H), 7.64 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.58-7.56 (m, 1H), 6.96-6.95 (m, 2H), 3.15 (s, 3H).

【 0 3 8 2】

中間体 B 3 2

【化 1 0 4】



40

【 0 3 8 3】

N-(2-クロロピリジン-4-イル)ピリミジン-4-アミン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨードピリジンおよびピリミジン-4-アミンを用いて合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.78 (d, J = 0.6 Hz, 1H),

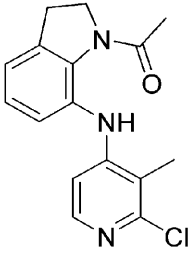
50

8.39 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 5.8$ および 2.0 Hz, 1H), 6.91 (dd, $J = 6.0$ および 1.2 Hz, 1H).

【0384】

中間体 B 3 3

【化105】



10

【0385】

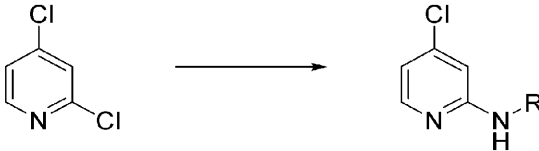
1-(7-((2-クロロ-3-メチルピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 について記載の手順で2-クロロ-4-ヨード-3-メチル-ピリジンおよび1-(7-アミノインドリン-1-イル)エタノンを用いて合成した。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 8.65 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.17 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 7.2$ および 1.1 Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.14 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.16 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).

20

【0386】

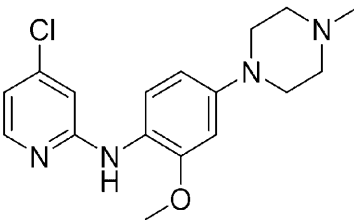
【化106】



【0387】

中間体 C 1

【化107】



30

4-クロロ-N-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2-アミン

【0388】

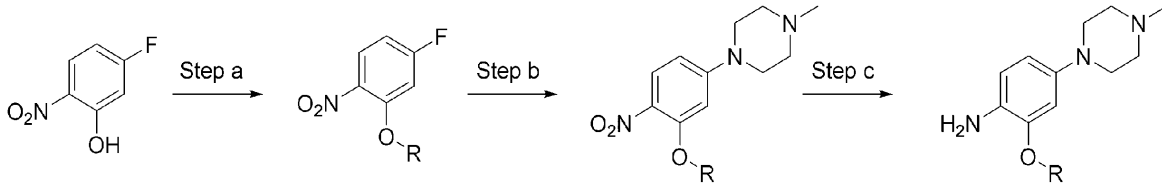
排気してアルゴンで逆充填した20 mLのマイクロ波バイアルに2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリン(0.60 g, 2.71 mmol)、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (12 mg, 0.054 mmol)、炭酸セシウム(1.76 g, 5.41 mmol)およびXANTPHOS(47 mg, 0.08 mmol)を入れた。1,4-ジオキサン(12 mL)中の2,4-ジクロロピリジン(0.8 g, 5.42 mmol)の溶液を加えた。得られた懸濁液をマイクロ波で100℃、2時間加熱した。反応混合物を水(100 mL)に注ぎ、DCM(3 x 50 mL)で抽出した。合わせた有機物をブライン(50 mL)で洗浄し、分離し、乾燥させ(MgSO_4)、減圧濃縮した。Biotope Isoleraで精製し、表題化合物をオフホワイトの固体として得た(0.95 g, 63%)。

40

【0389】

50

【化108】

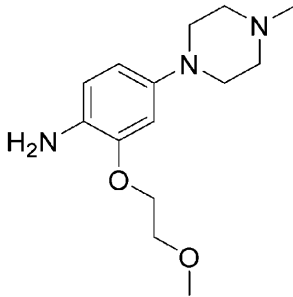


【0390】

中間体 D 1

【化109】

10



【0391】

20

2-(2-メトキシエトキシ)-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリン

工程 a : DMF (6 mL) 中の 2-ブromoエチルメチルエーテル (0.3 mL, 3.18 mmol) および炭酸カリウム (880 mg, 6.37 mmol) の攪拌溶液に 5-フルオロ-2-ニトロ-フェノール (500 mg, 3.18 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。次いで、反応混合物を水で希釈し、得られた沈殿物を真空濾過により回収し、4-フルオロ-2-(2-メトキシエトキシ)-1-ニトロ-ベンゼン (210 mg、収率 31%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.96 (dd, J = 9.1 および 6.0 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 10.3 および 2.5 Hz, 1H), 6.78-6.73 (m, 1H), 4.26 (t, J = 4.7 Hz, 2H), 3.83 (t, J = 4.7 Hz, 2H), 3.48 (s, 3H)

【0392】

30

工程 b : DMF (5 mL) 中の炭酸カリウム (270 mg、1.95 mmol) および 1-メチルピペラジン (0.11 mL、0.98 mmol) の攪拌溶液に 4-フルオロ-2-(2-メトキシエトキシ)-1-ニトロ-ベンゼン (210 mg、0.98 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。次いで、反応混合物を水で希釈し、得られた沈殿物を真空濾過により回収し、1-[3-(2-メトキシエトキシ)-4-ニトロ-フェニル]-4-メチル-ピペラジン (253 mg, 88% 収率) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.99 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 9.3 および 2.6 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 4.25 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.84 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.41 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 2.56 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.37 (s, 3H).

【0393】

40

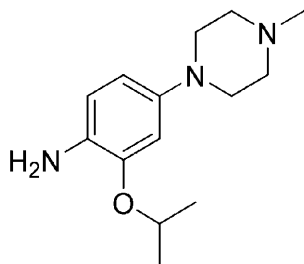
工程 c : 1-[3-(2-メトキシエトキシ)-4-ニトロ-フェニル]-4-メチル-ピペラジン (253 mg, 0.86 mmol) のメタノール (5 mL) 中攪拌溶液にギ酸アンモニウム (270 mg, 4.28 mmol) および炭素上パラジウム (9 mg, 0.09 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。その後、反応混合物をセライトで濾過し、濾液を減圧濃縮して表題化合物 (165 mg、収率 73%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.65 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 2.5 Hz, 2H), 6.54 (dd, J = 8.4 および 2.5 Hz, 1H), 4.13 (t, J = 4.7 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.60 (br s, 2H), 3.07 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.58 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.35 (s, 3H).

【0394】

中間体 D 2

50

【化 1 1 0】



【 0 3 9 5】

2-イソプロポキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリン

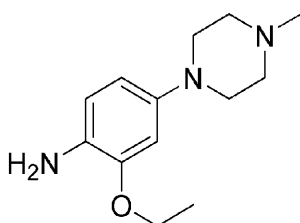
中間体 D 1 について記載の手順で工程 a にて 2-ヨードプロパンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.65 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.52 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.42 (dd, J = 8.4 および 2.5 Hz, 1H), 4.50 (sept, J = 6.1 Hz, 1H), 3.06 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.58 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.34 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.33 (s, 3H).

10

【 0 3 9 6】

中間体 D 3

【化 1 1 1】



20

【 0 3 9 7】

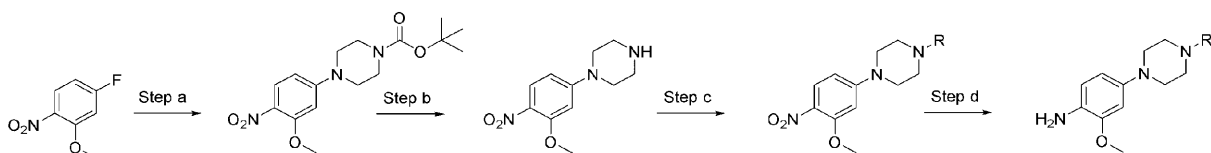
2-エトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリン

中間体 D 1 について記載の手順で工程 a にて 2-ヨードエタンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.64 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.41 (dd, J = 8.4 および 2.5 Hz, 1H), 4.04 (qu, J = 7.0 Hz, 2H), 3.54 (br s, 2H), 3.07 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.58 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.35 (s, 3H), 1.42 (t, J = 7.0 Hz, 3H).

30

【 0 3 9 8】

【化 1 1 2】

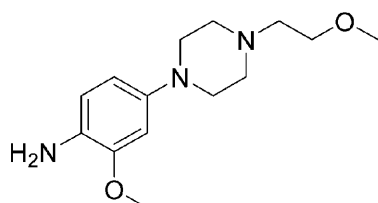


40

【 0 3 9 9】

中間体 E 1

【化 1 1 3】



【 0 4 0 0】

50

2-メトキシ-4-(4-(2-メトキシエチル)ピペラジン-1-イル)アニリン

工程 a : DMF (5 mL) 中の炭酸カリウム (808 mg, 5.84 mmol) および 1-Boc-ピペラジン (544 mg, 2.92 mmol) の攪拌溶液に、4-フルオロ-2-メトキシ-1-ニトロ-ベンゼン (500 mg, 2.92 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。次いで、反応混合物を水で希釈し、得られた沈殿物を真空濾過により回収し、tert-ブチル 4-(3-メトキシ-4-ニトロ-フェニル)ピペラジン-1-カルボキシレート (222 mg、収率 23%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): 8.04 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 9.4 および 2.5 Hz, 1H), 6.34 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.63 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.42 (t, J = 5.4 Hz, 4H), 1.52 (s, 9H).

【0401】

工程 b : DCM (10 mL) 中の tert-ブチル 4-(3-メトキシ-4-ニトロ-フェニル)ピペラジン-1-カルボキシレート (222 mg, 0.66 mmol) の溶液に HCl (ジオキサン中 4 M) (1 mL, 0.66 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、1-(3-メトキシ-4-ニトロ-フェニル)ピペラジン塩酸塩 (178 mg, 0.7234 mmol, 収率 99%) を得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.94 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.67-6.63 (m, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.70-3.68 (m, 4H), 3.39-3.37 (m, 4H).

【0402】

工程 c : DMF (3 mL) 中の 2-ブロモエチルメチルエーテル (0.08 mL, 0.83 mmol) および炭酸カリウム (231 mg, 1.67 mmol) の攪拌溶液に、1-(3-メトキシ-4-ニトロ-フェニル)ピペラジン (198 mg, 0.83 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。その後、反応混合物を EtOAc で希釈し、有機物を水およびブラインで洗浄した後、乾燥させ (MgSO₄)、真空中で減圧濃縮した。残渣をフラッシュシリカクロマトグラフィーで精製し、1-(2-メトキシエチル)-4-(3-メトキシ-4-ニトロ-フェニル)ピペラジン (165 mg、収率 67%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.02 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 9.4 および 2.6 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.58 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 3.45 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 3.40 (s, 3H), 2.69-2.65 (m, 6H).

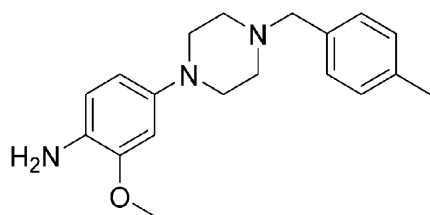
【0403】

工程 d : 1-(2-メトキシエチル)-4-(3-メトキシ-4-ニトロ-フェニル)ピペラジン (165 mg, 0.56 mmol) のメタノール (10 mL) 中攪拌溶液にギ酸アンモニウム (176 mg, 2.79 mmol) および炭素上パラジウム (6 mg, 0.06 mmol) を加え、反応混合物を rt で 18 時間攪拌した。次いで、反応混合物をセライトで濾過し、濾液を真空中で減圧濃縮して、2-メトキシ-4-[4-(2-メトキシエチル)ピペラジン-1-イル]アニリン (107 mg、収率 72%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.64 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.41 (dd, J = 8.3 および 2.5 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.69 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.21 (t, J = 4.6 Hz, 4H), 3.07 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 2.60 (t, J = 5.2 Hz, 2H).

【0404】

中間体 E 2

【化114】



【0405】

2-メトキシ-4-(4-(4-メチルベンジル)ピペラジン-1-イル)アニリン

中間体 E 1 について記載の手順で工程 c で 1-(プロモメチル)-4-メチルベンゼンを用いて合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.25 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.16 (d,

10

20

30

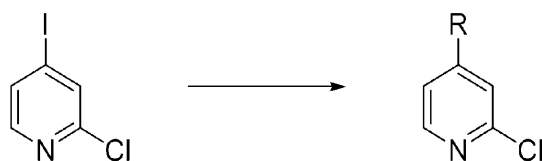
40

50

J = 7.8 Hz, 2H), 6.65 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.53 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 8.4および2.5 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.08 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.63 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.37 (s, 3H).

【0406】

【化115】

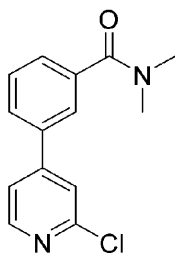


10

【0407】

中間体 F 1

【化116】



20

【0408】

3-(2-クロロピリジン-4-イル)-N,N-ジメチルベンズアミド

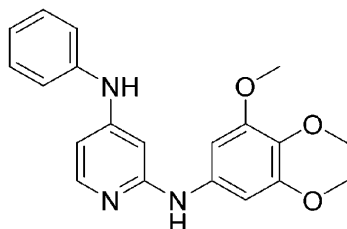
MeCN (3 mL) 中の2-クロロ-4-ヨードピリジン (200 mg、0.84 mmol)、N,N-ジメチルベンズアミド-3-ボロン酸 (0.15 mL、0.75 mmol)、ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)ジクロリド (29 mg、0.04 mmol) および炭酸ナトリウム (2 M水溶液) (1.67 mL、3.34 mmol) の混合物を、マイクロ波中、120 °C で45分間加熱した。rtまで冷却後、混合物を酢酸エチル (20 mL) で希釈し、水 (20 mL) で洗浄した。有機物を分離、乾燥、減圧濃縮し、Biotage Isoleraで精製して表題化合物 (128 mg、収率59%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.43 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.69 - 7.61 (m, 2H), 7.56 - 7.47 (m, 3H), 7.43 (dd, J = 5.1, 1.7 Hz, 1H), 3.14 (s, 3H), 3.01 (s, 3H).

30

【0409】

実施例 1 (1902)

【化117】



40

【0410】

N4-フェニル-N2-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

DMA (4 mL) 中の中間体 B 3 (72 mg、0.35 mmol)、3,4,5-トリメトキシアニリン (64 mg、0.35 mmol)、XANTPHOS (12 mg、0.02 mmol)、酢酸パラジウム (3 mg、0.01 mmol) および炭酸セシウム (226 mg、0.70 mmol) の混合物をマイクロ波中、150 °C で1時間加熱した。rtまで冷却後、混合物を酢酸エチル (10 mL) で希釈し、水 (10 mL) とブライン (3 x 10 mL) で洗浄した。有機物を分離、乾燥、減圧濃縮し、Biotage Isoleraで精製して表題化合物を得た。¹H NMR (MeOD, 50

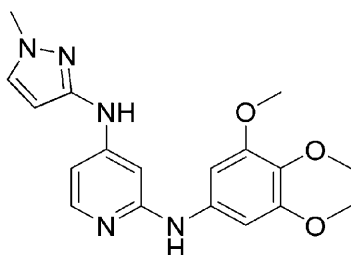
50

0 MHz) 7.75 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.35 - 7.28 (m, 2H), 7.21 - 7.16 (m, 2H), 7.04 (tt, J = 7.4, 1.2 Hz, 1H), 6.67 (s, 2H), 6.48 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.38 (dd, J = 6.0, 2.1 Hz, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.71 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.66; m/z [M+H]⁺ 352.1.

【0411】

実施例2 (1903)

【化118】



10

【0412】

N4-(1-メチル-1H-ピラゾール-3-イル)-N2-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

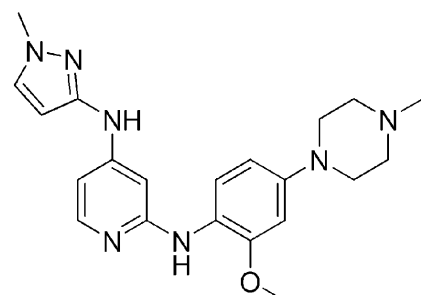
中間体 B 2 および 3,4,5-トリメトキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で表題化合物を合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.74 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.49 (dd, J = 6.0, 2.1 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.78 (s, 3H), 3.73 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.41; m/z [M+H]⁺ 356.1.

20

【0413】

実施例3 (1904)

【化119】



30

【0414】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(1-メチル-1H-ピラゾール-3-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

DMA (4 mL) 中の中間体 B 2 (73 mg、0.35 mmol)、2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリン (77 mg、0.35 mmol)、XANTPHOS (12 mg、0.02 mmol)、酢酸パラジウム (3 mg、0.01 mmol) および炭酸セシウム (226 mg、0.70 mmol) の混合物をマイクロ波中、150 で1時間加熱した。室温まで冷却した後、混合物をSCXカートリッジで濾過し、まずDCMで洗浄し、次にメタノール (7 M) 中のアンモニアで洗浄した。アンモニア層を減圧濃縮し、Biotage Isoleraで精製して表題化合物を得た。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.57 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.60 (dd, J = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 6.53 (dd, J = 6.7, 2.2 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.24 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 2.64 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 2.37 (s, 3H). LCMS方法A; RT 0.84; m/z [M+H]⁺ 394.2.

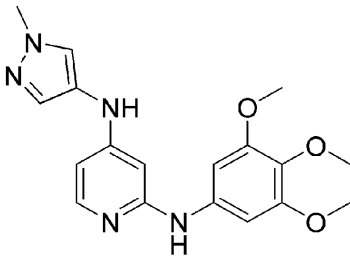
40

【0415】

50

実施例 4 (1905)

【化 1 2 0】



10

【0 4 1 6】

N4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-N2-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

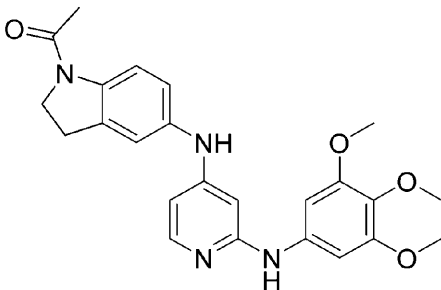
中間体 B 4 および 3,4,5-トリメトキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.20 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.00 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 6.19 (s, 2H), 5.88 (dd, J = 6.4, 2.2 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 3.45 (s, 3H), 3.38 (s, 6H), 3.31 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.25; m/z [M+H]⁺ 356.1.

【0 4 1 7】

実施例 5 (1906)

20

【化 1 2 1】



30

【0 4 1 8】

1-(5-((2-((3,4,5-トリメトキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 5 および 3,4,5-トリメトキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.15 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 6.99-6.96 (m, 3H), 6.48 (s, 3H), 6.30 (dd, J = 6.4, 2.2 Hz, 1H), 6.25 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.07 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.16 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.22 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.62; m/z [M+H]⁺ 435.1.

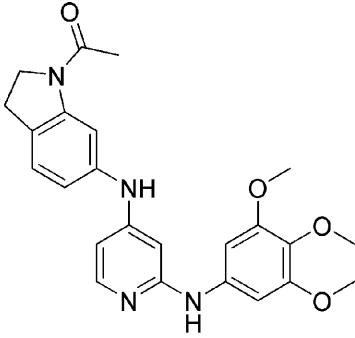
【0 4 1 9】

40

実施例 6 (1907)

50

【化 1 2 2】



10

【0 4 2 0】

1-(6-((2-((3,4,5-トリメトキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

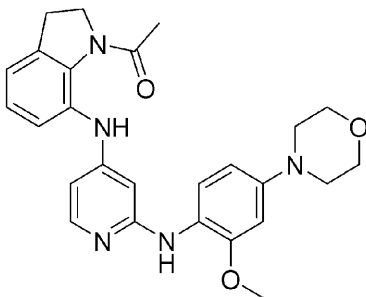
中間体 B 6 および 3,4,5-トリメトキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.04 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.10 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 7.9, 2.1 Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.49 (s, 2H), 6.35 (dd, J = 6.3, 2.1 Hz, 1H), 6.28 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.09 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 3.18 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.60; m/z [M+H]⁺ 435.2.

20

【0 4 2 1】

実施例 7 (1912)

【化 1 2 3】



30

【0 4 2 2】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-モルホリノフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 2-メトキシ-4-モルホリノアニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.78 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.64 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 8.2, 1.3 Hz, 1H), 7.12 (dd, J = 8.1, 7.2 Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 7.4, 1.2 Hz, 1H), 6.54 - 6.42 (m, 2H), 6.29 (dd, J = 6.6, 2.2 Hz, 1H), 6.09 (s, 1H), 4.18 - 4.07 (m, 2H), 3.93 - 3.84 (m, 4H), 3.83 (s, 3H), 3.19 - 3.06 (m, 6H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.76; m/z [M+H]⁺ 460.2.

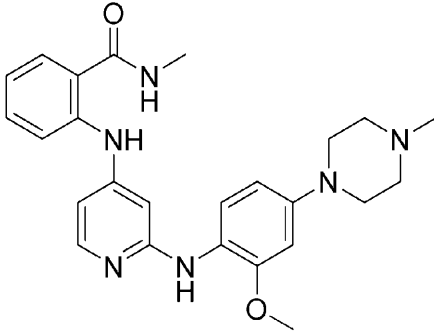
40

【0 4 2 3】

実施例 8 (1934)

50

【化 1 2 4】



10

【0 4 2 4】

2-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

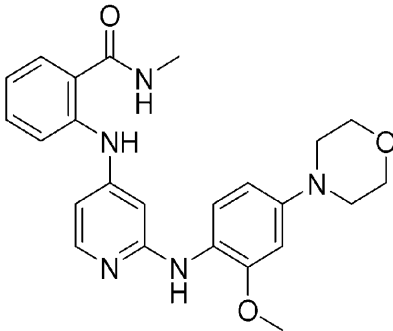
中間体 B 1 4 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.71 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.48 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.40 (dt, J = 15.4, 8.0 Hz, 2H), 7.06 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.53 - 6.40 (m, 3H), 6.28 (s, 1H), 6.20 (s, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.29 (s, 4H), 2.98 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 2.72 (s, 4H), 2.46 (s, 3H). LCMS方法A; RT 0.90; m/z [M+H]⁺ 447.1.

20

【0 4 2 5】

実施例 9 (1935)

【化 1 2 5】



30

【0 4 2 6】

2-((2-((2-メトキシ-4-モルホリノフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

中間体 B 1 4 および 2-メトキシ-4-モルホリノアニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.91 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 7.44 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.36 (ddd, J = 8.5, 7.3, 1.6 Hz, 1H), 6.95 (td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.55 - 6.46 (m, 3H), 6.38 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 3.91 - 3.86 (m, 4H), 3.84 (s, 3H), 3.17 - 3.10 (m, 4H), 2.98 (d, J = 4.8 Hz, 3H). LCMS方法A; RT 1.42; m/z [M+H]⁺ 434.1.

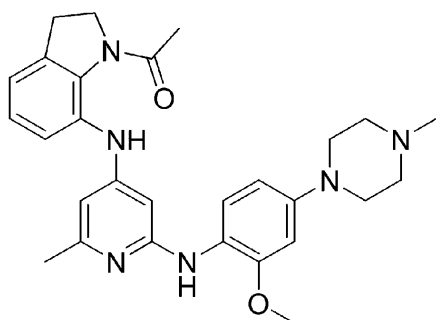
40

【0 4 2 7】

実施例 10 (1936)

50

【化 1 2 6】



10

【0 4 2 8】

1-((7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)-6-メチルピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

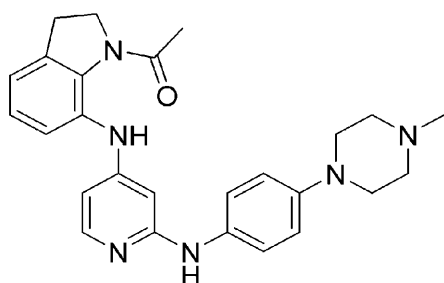
中間体 B 15 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.29 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.10 - 7.00 (m, 2H), 6.90 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.49 (dd, J = 8.6, 2.5 Hz, 1H), 6.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.09 (dd, J = 7.3, 3.6 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.35 (d, J = 0.9 Hz, 3H), 3.18 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.05 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.61 (q, J = 4.3 Hz, 4H), 2.34 (s, 3H), 2.30 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.24; m/z [M+H]⁺ 487.2.

20

【0 4 2 9】

実施例 11 (1937)

【化 1 2 7】



30

【0 4 3 0】

1-((7-((2-((4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

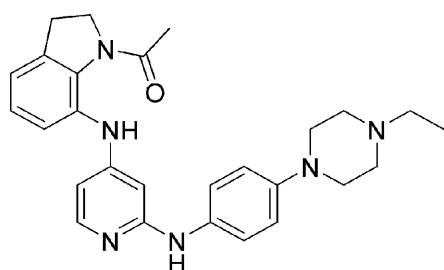
中間体 B 1 および 4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.34 (s, 1H), 7.78 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.21 - 7.14 (m, 2H), 7.10 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.96 - 6.87 (m, 4H), 6.34 - 6.25 (m, 2H), 4.10 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.11 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.32 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.20; m/z [M+H]⁺ 443.2.

40

【0 4 3 1】

実施例 12 (1938)

【化 1 2 8】



50

【0432】

1-(7-((2-((4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

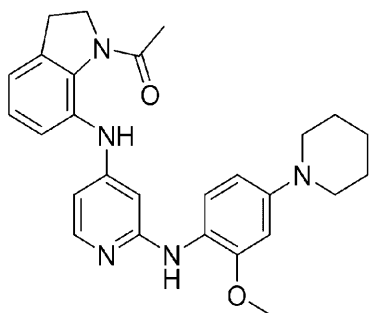
中間体 B 1 および 4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.38 (s, 1H), 7.76 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.19 - 7.13 (m, 2H), 7.13 - 7.07 (m, 1H), 6.94 - 6.88 (m, 3H), 6.32 - 6.24 (m, 2H), 4.12 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 3.23 - 3.16 (m, 4H), 3.11 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.64 (dd, J = 6.5, 3.5 Hz, 4H), 2.50 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.15 (t, J = 7.4, 3H). LCMS方法A; RT 1.31; m/z [M+H]⁺ 457.1.

10

【0433】

実施例 13 (1941)

【化129】



20

【0434】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(ピペリジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

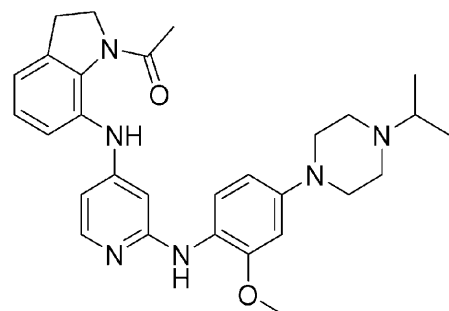
中間体 B 1 および 2-メトキシ-4-(1-ピペリジル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.65 (s, 1H), 7.67 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.33 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.22 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 6.57 - 6.44 (m, 2H), 6.28 (dd, J = 6.4, 2.1 Hz, 1H), 6.13 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.16 - 3.08 (m, 6H), 2.33 (s, 3H), 1.73 (p, J = 5.7 Hz, 4H), 1.63 - 1.55 (m, 2H). LCMS方法A; RT 1.52; m/z [M+H]⁺ 458.2.

30

【0435】

実施例 14 (1942)

【化130】



40

【0436】

1-(7-((2-((4-(4-イソプロピルピペラジン-1-イル)-2-メトキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 4-(4-イソプロピルピペラジン-1-イル)-2-メトキシ-アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.53 (d, J

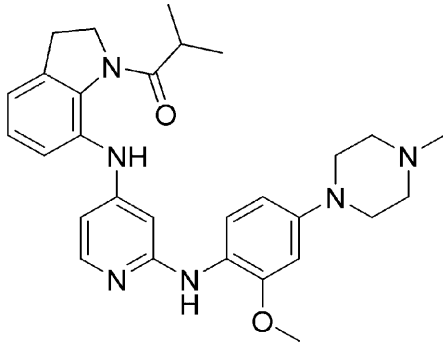
50

= 6.9 Hz, 1H), 7.25 - 7.18 (m, 2H), 7.15 (dd, J = 8.1, 5.1 Hz, 2H), 6.71 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.61 (dd, J = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 6.9, 2.2 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 4.19 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.33 - 3.30 (m, 4H), 3.16 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.93 - 2.90 (m, 5H), 2.34 (s, 3H), 1.22 (d, J = 6.6 Hz, 6H). LCMS方法A; RT 1.15; m/z [M+H]⁺ 501.2.

【0437】

実施例15 (1943)

【化131】



10

【0438】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)-2-メチルプロパン-1-オン

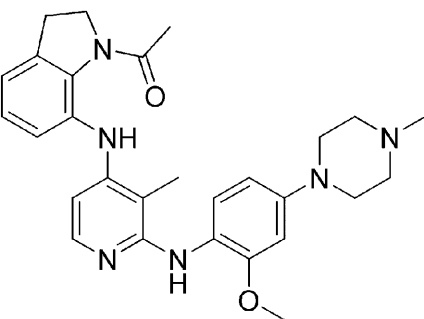
20

中間体 B 16 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.80 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.52 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 15.4, 8.3 Hz, 2H), 7.09 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 7.2, 1.3 Hz, 1H), 6.50 - 6.43 (m, 2H), 6.23 (dd, J = 6.9, 2.2 Hz, 1H), 5.97 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.15 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.23 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.11 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.89 (h, J = 6.7 Hz, 1H), 2.65 - 2.58 (m, 4H), 2.40 (s, 3H), 1.22 (d, J = 6.7 Hz, 6H). LCMS方法A; RT 1.35; m/z [M+H]⁺ 501.3.

【0439】

実施例16 (1944)

【化132】



40

【0440】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)-3-メチルピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 33 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.71 (s, 1H), 7.78 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.17 - 7.10 (m, 2H), 6.95 (dd, J = 6.8, 1.6 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.56 - 6.51 (m, 3H), 4.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.37 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.13 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.93 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.56 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.17 (s, 3H)

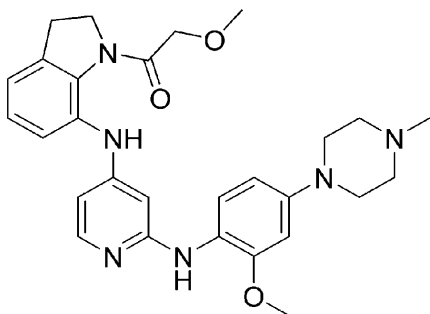
50

) . LCMS方法A; RT 1.24; m/z [M+H]⁺ 487.2.

【0441】

実施例17(1950)

【化133】



10

【0442】

2-メトキシ-1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

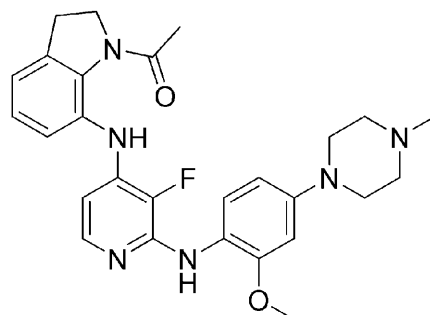
中間体B17および2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例3に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.80 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 7.53 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.20 - 7.09 (m, 3H), 7.03 (dd, J = 7.1, 1.3 Hz, 1H), 6.51 - 6.44 (m, 2H), 6.26 (dd, J = 6.9, 2.2 Hz, 1H), 5.97 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 4.10 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.46 (s, 3H), 3.26 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 3.13 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.68 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.42 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.10; m/z [M+H]⁺503.2.

20

【0443】

実施例18(1951)

【化134】



30

【0444】

1-(7-((3-フルオロ-2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体B18および2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例3に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.85 (s, 1H), 7.88 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 4.2 Hz, 3H), 7.03 (t, J = 4.3 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.49 - 6.38 (m, 2H), 4.16 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.10 (q, J = 5.8 Hz, 6H), 2.47 (d, J = 4.9 Hz, 4H), 2.31 (s, 3H), 2.24 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.14; m/z [M+H]⁺ 491.1.

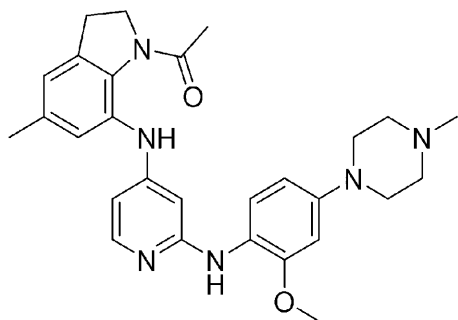
40

【0445】

実施例19(1958)

50

【化 1 3 5】



10

【0 4 4 6】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-5-メチルインドリン-1-イル)エタン-1-オン

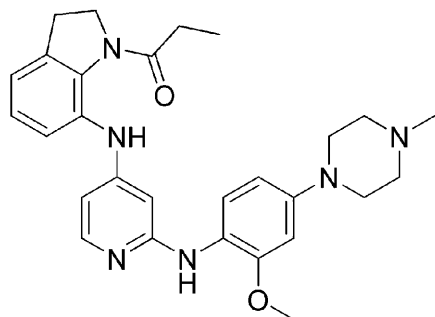
中間体 B 19 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 9.15 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.50 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.52 - 6.45 (m, 2H), 6.22 (dd, J = 7.0, 2.2 Hz, 1H), 6.01 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 4.09 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.24 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.08 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.65 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.28 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.25; m/z [M+H]⁺ 487.2.

20

【0 4 4 7】

実施例 20 (1959)

【化 1 3 6】



30

【0 4 4 8】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)プロパン-1-オン

中間体 B 20 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 9.07 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 7.51 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 8.4, 3.4 Hz, 2H), 7.09 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.50 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.47 (dd, J = 8.5, 2.6 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 6.9, 2.2 Hz, 1H), 5.96 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.25 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.67 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.57 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.28 - 1.23 (m, 3H). LCMS方法A; RT 1.26; m/z [M+H]⁺ 487.2.

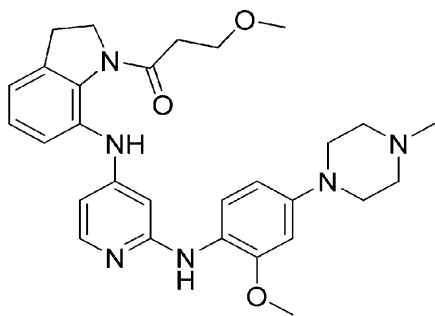
40

【0 4 4 9】

実施例 21 (1961)

50

【化 1 3 7】



10

【0 4 5 0】

3-メトキシ-1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)プロパン-1-オン

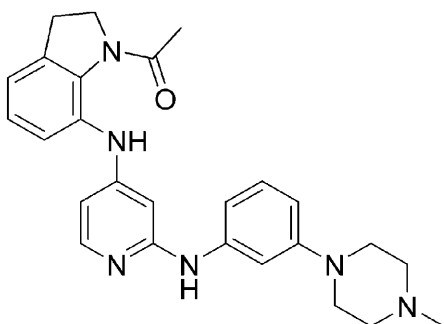
中間体 B 2 1 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 7.79 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.11 - 7.05 (m, 2H), 6.99 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.49 (dd, J = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 6.4, 2.3 Hz, 1H), 6.05 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 4.18 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.81 - 3.76 (m, 2H), 3.21 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.13 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 2.93 - 2.89 (m, 2H), 2.65 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 2.40 (s, 3 H), 2.18 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.16; m/z [M+H]⁺ 485.1.

20

【0 4 5 1】

実施例 2 2 (1968)

【化 1 3 8】



30

【0 4 5 2】

1-(7-((2-((3-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 3-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.83 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.68 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.25 - 7.17 (m, 2H), 7.13 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 7.2, 1.2 Hz, 1H), 6.77 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.75 - 6.70 (m, 1H), 6.67 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.31 (dd, J = 6.5, 2.1 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.25 - 3.16 (m, 4H), 3.13 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.61 - 2.51 (m, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.16; m/z [M+H]⁺ 443.2.

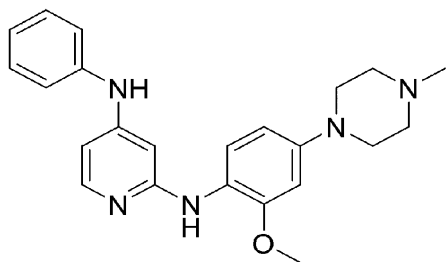
40

【0 4 5 3】

実施例 2 3 (1971)

50

【化 1 3 9】



【0 4 5 4】

10

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-フェニルピリジン-2,4-ジアミン

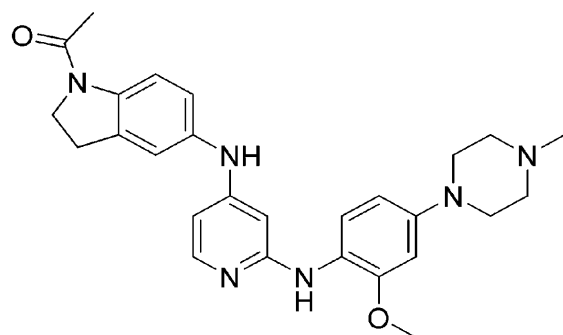
酢酸パラジウム (2 mg, 0.01 mmol)、炭酸セシウム (118 mg, 0.36 mmol) の混合物、中間体 C 1 (60 mg, 0.18 mmol)、アニリン (0.02 mL, 0.18 mmol)、XANTPHOS (6 mg, 0.01 mmol) の混合物を1,4-ジオキサン (2 mL) 中、100 °C で30分間マイクロ波加熱した。室温まで冷却した後、混合物をSCXカートリッジでろ過し、まずDCMで洗浄し、次にメタノール (7 M) 中のアンモニアで洗浄した。アンモニア層を減圧濃縮し、Biotage Isoleraで精製して表題化合物 (20 mg、収率28%) を得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.53 (s, 1H), 7.50 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.18 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 8.1, 2.2 Hz, 3H), 6.85 (s, 1H), 6.47 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.22 (dd, J = 6.9, 2.3 Hz, 1H), 5.88 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.28 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 2.86 - 2.78 (m, 4H), 2.49 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.09; m/z [M+H]⁺ 390.2.

20

【0 4 5 5】

実施例 2 4 (1989)

【化 1 4 0】



30

【0 4 5 6】

1-(5-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

40

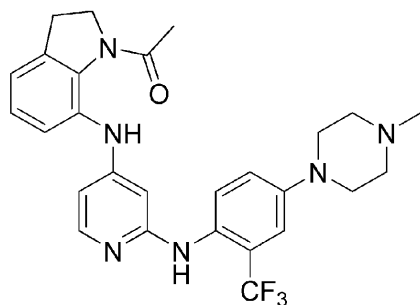
中間体 B 5 および2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)を用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.19 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.00 - 6.92 (m, 2H), 6.51 - 6.40 (m, 2H), 6.32 (dd, J = 6.8, 2.1 Hz, 1H), 5.99 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.07 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.23 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.14 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.66 (q, J = 5.4 Hz, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.23 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.03; m/z [M+H]⁺ 473.1.

【0 4 5 7】

実施例 2 5 (1992)

50

【化 1 4 1】



10

【0 4 5 8】

1-(7-((2-((4-(4-メチルピペラジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

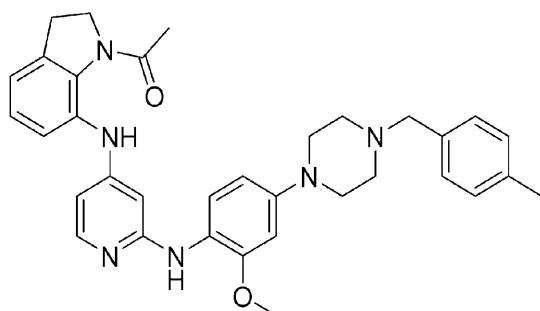
中間体 B 1 および 4-(4-メチルピペラジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.57 (s, 1H), 7.74 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 7.09 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.05 (dd, J = 8.9, 2.9 Hz, 1H), 6.95 (dd, J = 7.2, 1.2 Hz, 1H), 6.35 (dd, J = 6.3, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.29 - 3.19 (m, 4H), 3.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.64 - 2.57 (m, 4H), 2.39 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.20; m/z [M+H]⁺ 511.2.

20

【0 4 5 9】

実施例 2 6 (1993)

【化 1 4 2】



30

【0 4 6 0】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-(4-メチルベンジル)ピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および中間体 E 2 を用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.85 (s, 1H), 7.59 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.20 - 7.14 (m, 3H), 7.10 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.46 (dd, J = 8.6, 2.5 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 6.7, 2.2 Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 3.22 - 3.16 (m, 4H), 3.13 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.66 - 2.58 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.44; m/z [M+H]⁺ 563.3.

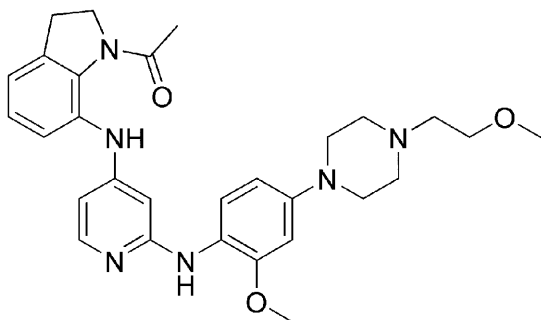
40

【0 4 6 1】

実施例 2 7 (1994)

50

【化 1 4 3】



10

【0 4 6 2】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(4-(2-メトキシエチル)ピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

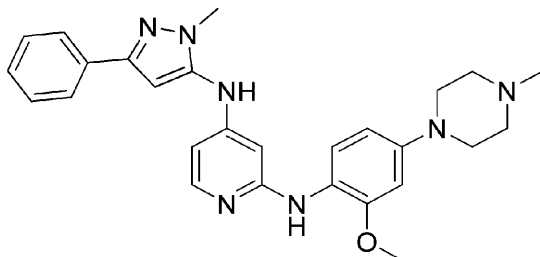
中間体 B 1 および中間体 E 1 を用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.26 (s, 1H), 7.83 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.30 - 7.27 (m, 1H), 7.10 (dd, J = 8.2, 7.3 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.91 (dt, J = 7.3, 1.1 Hz, 1H), 6.55 - 6.49 (m, 2H), 6.31 (dd, J = 5.9, 2.0 Hz, 1H), 6.26 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.13 - 4.05 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.57 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.39 (s, 3H), 3.22 - 3.16 (m, 4H), 3.10 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.73 - 2.62 (m, 6H), 2.32 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.19; m/z [M+H]⁺ 517.2.

20

【0 4 6 3】

実施例 2 8 (1995)

【化 1 4 4】



30

【0 4 6 4】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(1-メチル-3-フェニル-1H-ピラゾール-5-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 B 2 2 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.76 - 7.71 (m, 3H), 7.43 - 7.36 (m, 3H), 7.35 - 7.28 (m, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.49 - 6.42 (m, 2H), 6.35 (s, 1H), 6.23 (dd, J = 6.3, 2.1 Hz, 1H), 5.99 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.16 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 2.63 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.39 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.20; m/z [M+H]⁺ 470.1.

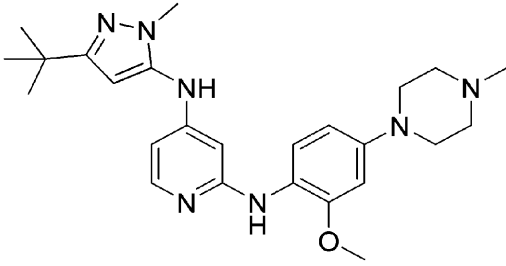
40

【0 4 6 5】

実施例 2 9 (1998)

50

【化 1 4 5】



【 0 4 6 6】

10

N4-(3-(tert-ブチル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)-N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

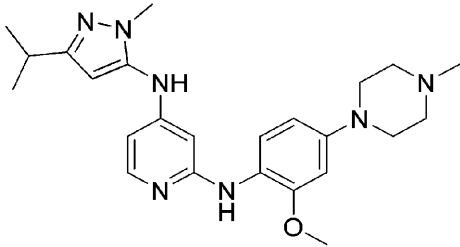
中間体 B 2 5 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.75 (s, 1H), 7.65 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.48 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 6.27 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 5.94 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.22 - 3.14 (m, 4H), 2.65 - 2.60 (m, 4H), 2.39 (s, 3H), 1.26 (s, 9H). LCMS方法 A; RT 1.25; m/z [M+H]⁺ 450.2.

【 0 4 6 7】

20

実施例 3 0 (2 0 0 0)

【化 1 4 6】



30

【 0 4 6 8】

N4-(3-イソプロピル-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)-N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 B 2 7 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7.73 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.53 - 6.42 (m, 2H), 6.19 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 5.95 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.86 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.20 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.90 (p, J = 6.9 Hz, 1H), 2.65 (d, J = 6.3 Hz, 4H), 2.40 (s, 3H), 1.26 (s, 6H). LCMS方法 A; RT 1.16; m/z [M+H]⁺ 436.2

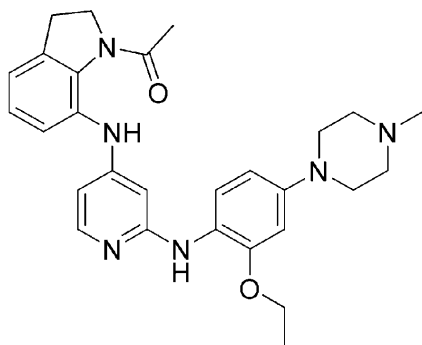
【 0 4 6 9】

40

実施例 3 1 (2 0 0 7)

50

【化 1 4 7】



10

【0 4 7 0】

1-(7-((2-((2-エトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

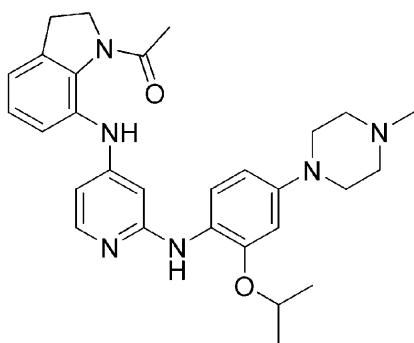
中間体 B 1 および中間体 D 3 を用い、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.12 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 7.50 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.19 - 7.07 (m, 3H), 7.05 - 6.98 (m, 1H), 6.53 - 6.45 (m, 2H), 6.24 (dd, J = 7.0, 2.2 Hz, 1H), 6.00 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 4.04 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.27 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 3.14 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.73 - 2.71 (m, 4H), 2.45 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 1.39 (t, J = 7.0 Hz, 3H). LCMS方法A; RT 1.23; m/z [M+H]⁺ 487.2.

20

【0 4 7 1】

実施例 3 2 (2008)

【化 1 4 8】



30

【0 4 7 2】

1-(7-((2-((2-イソプロポキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および中間体 D 2 を用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.99 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 7.52 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.11 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 6.54 - 6.45 (m, 2H), 6.25 (dd, J = 6.9, 2.2 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 4.50 (p, J = 6.1 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 3.14 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.67 (s, 4H), 2.42 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 1.31 (d, J = 6.1 Hz, 6H). LCMS方法A; RT 1.34; m/z [M+H]⁺ 501.2.

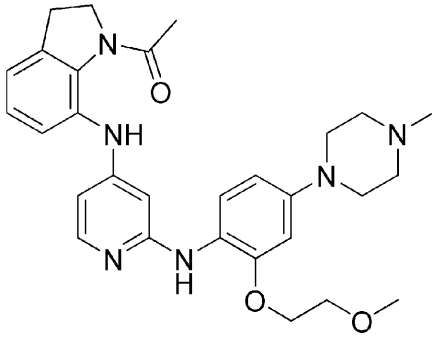
40

【0 4 7 3】

実施例 3 3 (2009)

50

【化 1 4 9】



10

【0 4 7 4】

1-(7-((2-((2-(2-メトキシエトキシ)-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

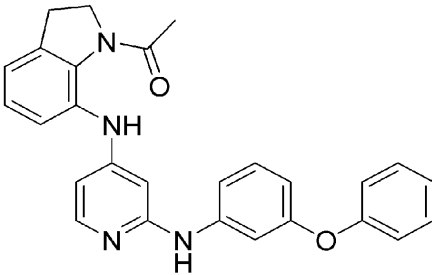
中間体 B 1 および中間体 D 1 を用い、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.93 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.57 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.27 - 7.17 (m, 2H), 7.10 (dd, J = 8.1, 7.3 Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 7.4, 1.1 Hz, 1H), 6.55 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 6.8, 2.2 Hz, 1H), 6.07 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.17 - 4.05 (m, 4H), 3.78 - 3.71 (m, 2H), 3.39 (s, 3H), 3.22 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 3.13 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.66 - 2.58 (m, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.27; m/z [M+H]⁺517.2.

20

【0 4 7 5】

実施例 3 4 (2010)

【化 1 5 0】



30

【0 4 7 6】

1-(7-((2-((3-フェノキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および3-フェノキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.38 (s, 1H), 7.86 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.37 - 7.31 (m, 2H), 7.29 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.23 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.13 - 7.07 (m, 2H), 7.07 - 6.97 (m, 4H), 6.92 (dq, J = 7.4, 1.1 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.61 (ddd, J = 8.1, 2.3, 0.9 Hz, 1H), 6.45 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 5.9, 2.0 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H). LCMS方法A; RT 2.13; m/z [M+H]⁺437.2.

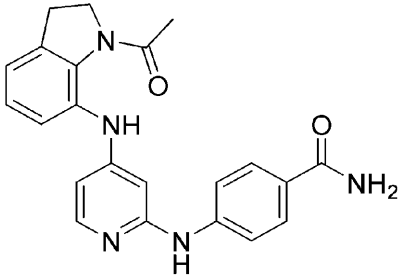
40

【0 4 7 7】

実施例 3 5 (2011)

50

【化 1 5 1】



【0 4 7 8】

10

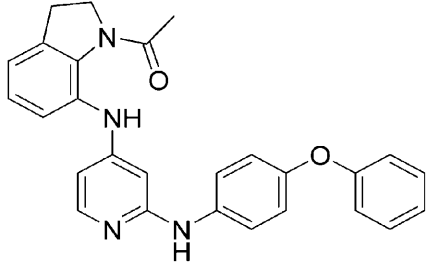
4-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)ベンズアミド
 中間体 B 1 および 4-アミノベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.53 (br s, 1H), 7.93 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.98 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.49 (s, 1H), 6.47 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 5.75 (br s, 2H), 4.14 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.49; m/z [M+H]⁺ 388.2.

【0 4 7 9】

実施例 3 6 (2013)

20

【化 1 5 2】



【0 4 8 0】

30

1-(7-((2-((4-フェノキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

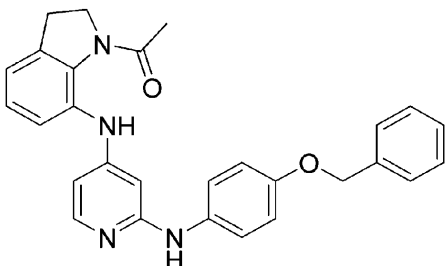
中間体 B 1 および 4-フェノキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.40 (s, 1H), 7.84 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.33 (dd, J = 8.5, 7.2 Hz, 2H), 7.27 - 7.24 (m, 3H), 7.15 - 7.06 (m, 2H), 7.03 - 6.96 (m, 4H), 6.94 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.36 (dd, J = 6.0, 2.0 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.12 (td, J = 7.4, 3.0 Hz, 2H), 3.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法A; RT 2.08; m/z [M+H]⁺ 437.2.

【0 4 8 1】

実施例 3 7 (2014)

40

【化 1 5 3】



【0 4 8 2】

50

1-(7-((2-((4-(ベンジルオキシ)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

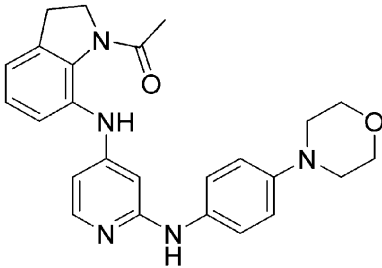
中間体 B 1 および 4-ベンジルオキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.50 (s, 1H), 7.76 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 7.47 - 7.43 (m, 2H), 7.43 - 7.38 (m, 2H), 7.37 - 7.31 (m, 1H), 7.23 (dd, J = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 7.20 - 7.16 (m, 2H), 7.09 (dd, J = 8.1, 7.3 Hz, 2H), 6.97 - 6.91 (m, 3H), 6.32 (dd, J = 6.1, 2.1 Hz, 1H), 6.23 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.14 - 4.06 (m, 2H), 3.11 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H). LCMS方法A; RT 2.09; m/z [M+H]⁺451.2.

【0483】

10

実施例 38 (2015)

【化154】



20

【0484】

1-(7-((2-((4-モルホリノフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

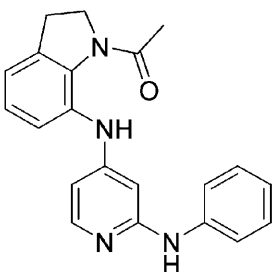
中間体 B 1 および N-(4-アミノフェニル)モルホリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.47 (s, 1H), 7.78 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 7.28 - 7.24 (m, 1H), 7.23 - 7.17 (m, 2H), 7.16 - 7.08 (m, 1H), 6.96 (dd, J = 7.3, 1.1 Hz, 2H), 6.93 - 6.89 (m, 2H), 6.34 (dd, J = 6.1, 2.1 Hz, 1H), 6.26 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.13 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.95 - 3.86 (m, 4H), 3.20 - 3.10 (m, 6H), 2.35 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.68; m/z [M+H]⁺430.1.

30

【0485】

実施例 39 (2016)

【化155】



40

【0486】

1-(7-((2-(フェニルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

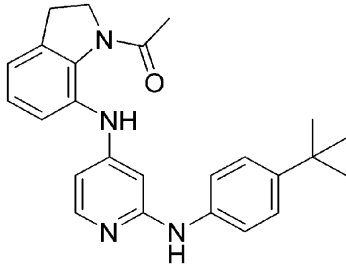
中間体 B 1 および アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.38 (br s, 1H), 7.85 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 3H), 7.25-7.24 (m, 2H), 7.12 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.01 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 6.92 (dd, J = 7.3および1.0 Hz, 1H), 6.68 (br s, 1H), 6.43 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.36 (dd, J = 5.9および2.0 Hz, 1H), 4.10 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.76; m/z [M+H]⁺345.2.

【0487】

50

実施例 40 (2017)

【化 156】



10

【0488】

1-(7-((2-((4-(tert-ブチル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

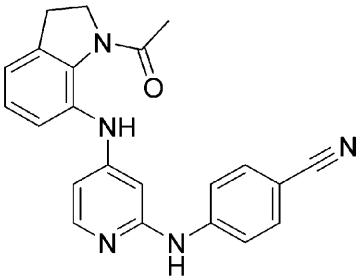
中間体 B 1 および 4-(tert-ブチル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.42 (br s, 1H), 7.79 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.11 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.93 (dd, J = 7.3 および 1.0 Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.38 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.33 (dd, J = 6.0 および 2.1 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.32 (s, 9H). LCMS 方法 A; RT 2.13; m/z [M+H]⁺ 401.2.

20

【0489】

実施例 41 (2018)

【化 157】



30

【0490】

4-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)ベンゾニトリル

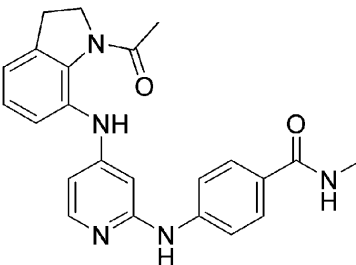
中間体 B 1 および 4-アミノベンゾニトリルを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.47 (br s, 1H), 7.95 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.43 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 7.2 および 1.0 Hz, 1H), 6.60 (br s, 1H), 6.48 (dd, J = 5.8 および 2.0 Hz, 1H), 6.39 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT 1.67; m/z [M+H]⁺ 370.2.

40

【0491】

実施例 42 (2019)

【化 158】



50

【0492】

4-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

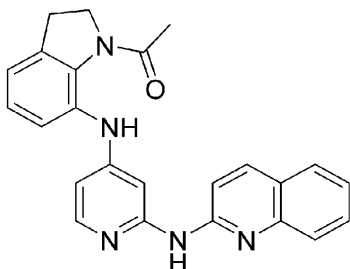
中間体 B 1 および 4-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.43 (br s, 1H), 7.91 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.14 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.69 (br s, 1H), 6.45-6.42 (m, 2H), 6.06 (br d, J = 4.9 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.00 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 2.33 (s, 3H). LC MS方法A; RT 1.44; m/z [M+H]⁺ 402.2.

10

【0493】

実施例 43 (2020)

【化159】



20

【0494】

1-(7-((2-(キノリン-2-イルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

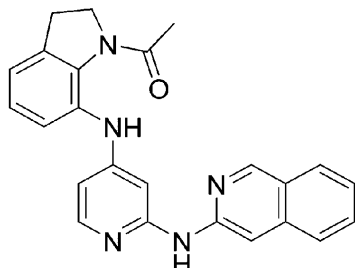
中間体 B 1 およびキノリン-2-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.85 (br s, 1H), 8.15 (br s, 1H), 7.99 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.69 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.39-7.30 (m, 4H), 7.06 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 6.1および2.2 Hz, 1H), 4.16 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H). LCMS方法A; RT 2.04; m/z [M+H]⁺ 396.2.

30

【0495】

実施例 44 (2021)

【化160】



40

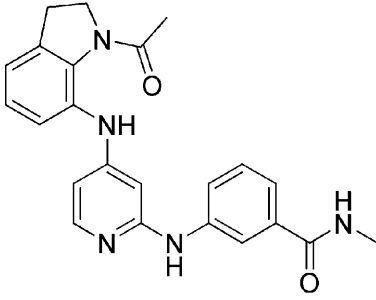
【0496】

1-(7-((2-(イソキノリン-3-イルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 およびイソキノリン-3-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.86 (s, 1H), 8.64 (br s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.82 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.50 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 7.33-7.27 (m, 2H), 7.19-7.13 (m, 2H), 6.92 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 6.38 (dd, J = 6.2および2.1 Hz, 1H), 4.06 (t, J = 7.8

50

【化 1 6 3】



10

【0 5 0 2】

3-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

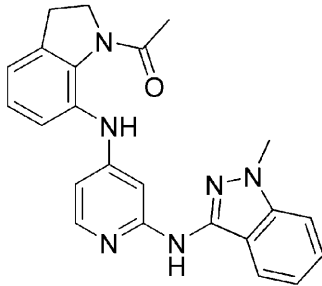
中間体 B 1 および 3-アミノ-N-メチル-ベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.44 (s, 1H), 7.88 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 7.72 (br s, 1H), 7.44-7.41 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 3H), 7.14 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.71 (br s, 1H), 6.40-6.38 (m 2H), 6.22 (br d, J = 3.4 Hz, 1H), 4.10 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.01 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 2.33 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.48; m/z [M+H]⁺ 402.2.

20

【0 5 0 3】

実施例 4 8 (2027)

【化 1 6 4】



30

【0 5 0 4】

1-(7-((2-((1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 1-メチルインダゾール-3-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.72 (br s, 1H), 7.82 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.46-7.40 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.18 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.12 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 7.4 および 0.8 Hz, 1H), 6.41 (dd, J = 6.2 および 2.2 Hz, 1H), 4.15 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.16 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.93; m/z [M+H]⁺ 399.2.

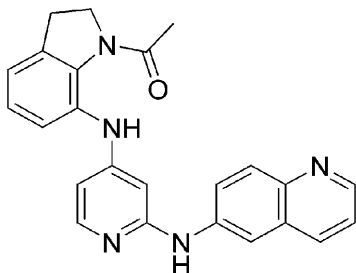
40

【0 5 0 5】

実施例 4 9 (2028)

50

【化165】



【0506】

10

1-(7-((2-(キノリン-6-イルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

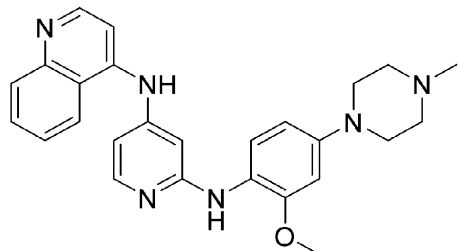
中間体 B 1 およびキノリン-6-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.68 (dd, J = 4.2 および 1.7 Hz, 1H), 8.38 (br s, 1H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.47 (dd, J = 9.0 および 2.5 Hz, 1H), 7.28 - 7.25 (m, 2H), 7.07 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.79 (br s, 1H), 6.44 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 5.9 および 2.0 Hz, 1H), 4.03 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.04 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.26 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT 1.40; m/z [M+H]⁺ 396.2.

20

【0507】

実施例 50 (2029)

【化166】



30

【0508】

N2-[2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル]-N4-(4-キノリル)ピリジン-2,4-ジアミン

キノリン-4-アミン (33 mg、0.23 mmol)、Pd(OAc)₂ (2.7 mg、0.012 mmol) および XANTPHOS (10 mg、0.018 mmol) をマイクロ波バイアルに入れ、DMA (1 mL) 中の中間体 C 1 (50 mg、0.15 mmol) を加えた。バイアルを密閉し、排気し、アルゴンで3回パーズした。水 (0.5 mL) 中の炭酸セシウム (98 mg、0.30 mmol) を添加し (バイアルを排気し、アルゴンでパーズした)、反応混合物をマイクロ波で 150 °C、1 時間加熱した。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、水 (3 x 25 mL) およびブライン (25 mL) で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、溶媒を減圧留去した。得られた残渣をフラッシュクロマトグラフィー (0 ~ 50% の 90/10/1 DCM/MeOH/NH₄OH) で精製した。適切なフラクションを合わせ、溶媒を減圧留去した。HPLC (XBridge カラム、0.1% NH₄OH 調整剤) でさらに精製した後、適切なフラクションから溶媒をゲネバックで蒸発させると、表題化合物 (9 mg、9%) が得られた。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.70 - 8.79 (1H, m), 8.04 - 8.17 (2H, m), 7.88 - 7.98 (1H, m), 7.69 - 7.80 (1H, m), 7.50 - 7.62 (2H, m), 7.31 - 7.37 (1H, m), 6.45 - 6.73 (6H, m), 3.87 (3H, s), 3.21 (4H, br. s.), 2.55 - 2.73 (4H, m), 2.39 (3H, s). LCMS 方法 B; RT = 0.67; m/z [M+H]⁺ 441.2.

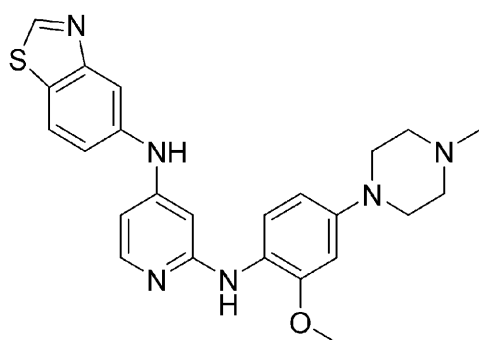
40

【0509】

50

実施例 5 1 (2031)

【化 1 6 7】



10

【 0 5 1 0】

N4-(ベンゾ[d]チアゾール-5-イル)-N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

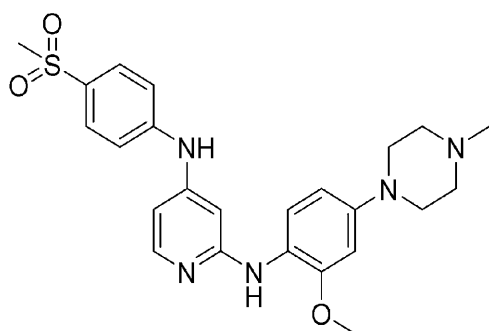
中間体 C 1 およびベンゾ[d]チアゾール-5-アミンを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.97 - 9.07 (1H, m), 7.93 - 8.00 (2H, m), 7.90 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.58 - 7.70 (1H, m), 6.47 - 6.63 (3H, m), 6.28 - 6.43 (2H, m), 6.05 (1H, s), 3.80 - 3.93 (3H, m), 3.07 - 3.25 (4H, m), 2.53 - 2.68 (4H, m), 2.38 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.19; m/z [M + H]⁺ 447.2.

20

【 0 5 1 1】

実施例 5 2 (2038)

【化 1 6 8】



30

【 0 5 1 2】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(4-(メチルスルホニル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 C 1 および4-(メチルスルホニル)アニリンを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.00 - 8.07 (1H, m), 7.80 - 7.87 (2H, m), 7.51 - 7.59 (1H, m), 7.16 - 7.25 (2H, m), 6.48 - 6.60 (3H, m), 6.41 - 6.47 (1H, m), 6.37 - 6.41 (1H, m), 6.25 - 6.33 (1H, m), 3.85 (3H, s), 3.12 - 3.28 (4H, m), 3.05 (3H, s), 2.52 - 2.67 (4H, m), 2.37 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.08; m/z [M + H]⁺ 468.2.

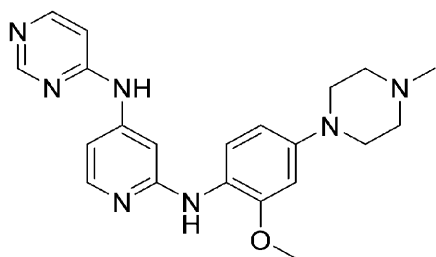
40

【 0 5 1 3】

実施例 5 3 (2039)

50

【化 1 6 9】



【0 5 1 4】

10

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(ピリミジン-4-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

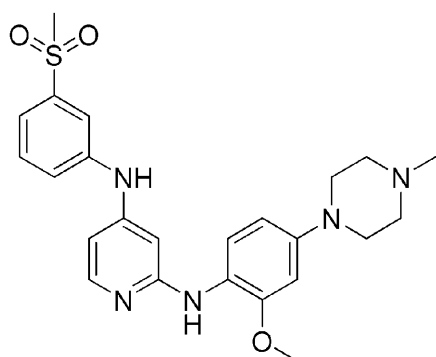
中間体 C 1 およびピリミジン-4-アミンを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.72 - 8.80 (1H, m), 8.34 - 8.41 (1H, m), 8.04 - 8.11 (1H, m), 7.56 - 7.63 (1H, m), 7.28 - 7.34 (1H, m), 6.89 - 6.94 (1H, m), 6.78 - 6.83 (1H, m), 6.73 - 6.77 (1H, m), 6.64 - 6.69 (1H, m), 6.50 - 6.57 (2H, m), 3.84 (1H, s), 3.09 - 3.29 (4H, m), 2.52 - 2.70 (4H, m), 2.37 (3H, s). LCMS方法B; RT = 0.94; m/z [M+H]⁺ 392.2.

【0 5 1 5】

実施例 5 4 (2043)

20

【化 1 7 0】



30

【0 5 1 6】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(3-(メチルスルホニル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

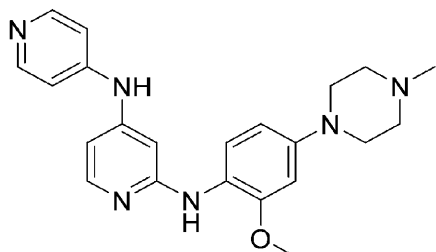
中間体 C 1 および3-メチルスルホニルアニリンを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): 8.88 (1H, s), 7.81 (1H, d, J = 5.5 Hz), 7.50 - 7.61 (4H, m), 7.40 - 7.49 (2H, m), 6.60 (1H, d, J = 2.3 Hz), 6.45 (1H, dd, J = 8.7, 2.4 Hz), 6.31 - 6.38 (2H, m), 3.79 (3H, s), 3.19 (3H, s), 3.06 - 3.14 (4H, m), 2.42 - 2.48 (4H, m), 2.22 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.07; m/z [M+H]⁺ 468.2.

40

【0 5 1 7】

実施例 5 5 (2045)

【化 1 7 1】



50

【0518】

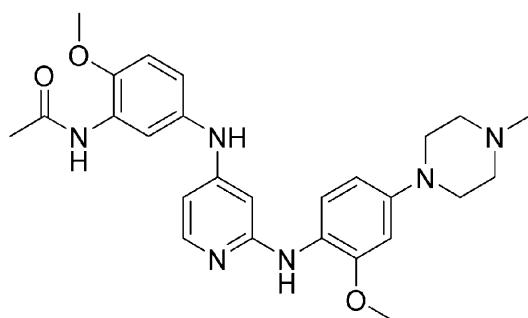
N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(ピリジン-4-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 C 1 およびピリジン-4-アミンを用いて、実施例 50 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.37 - 8.47 (2H, m), 8.07 (1H, d, J = 5.8 Hz), 7.50 - 7.62 (1H, m), 6.92 - 7.04 (2H, m), 6.52 - 6.60 (3H, m), 6.49 (1H, dd, J = 5.8, 2.0 Hz), 6.43 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.19 (1H, s), 3.87 (3H, s), 3.16 - 3.26 (4H, m), 2.56 - 2.68 (4H, m), 2.39 (3H, s). LCMS方法C; RT = 0.31; m/z [M+H]⁺ 391.1.

【0519】

実施例 56 (2046)

【化172】



10

20

【0520】

N-(2-メトキシ-5-((2-((2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)フェニル)アセトアミド

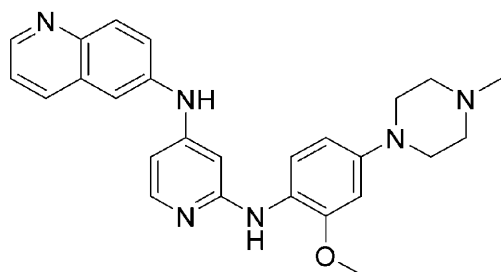
中間体 C 1 およびN-(5-アミノ-2-メトキシフェニル)アセトアミドを用いて、実施例 50 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.20 - 8.31 (1H, m), 7.85 - 7.91 (1H, m), 7.78 (1H, br. s.), 7.59 (1H, d, J = 8.5 Hz), 6.91 (1H, dd, J =, 8.7, 2.4 Hz), 6.81 - 6.87 (1H, m), 6.55 - 6.64 (2H, m), 6.52 (1H, dd, J = 8.5, 2.5 Hz), 6.25 (1H, dd, J = 5.9, 1.9 Hz), 6.20 (1H, s), 5.81 (1H, br. s.), 3.91 (3H, s), 3.85 (3H, s), 3.11 - 3.28 (4H, m), 2.56 - 2.71 (4H, m), 2.38 (3H, s), 2.23 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.16; m/z [M+H]⁺ 477.2.

30

【0521】

実施例 57 (2047)

【化173】



40

【0522】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(キノリン-6-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 C 1 およびキノリン-6-アミンを用いて、実施例 50 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.83 (1H, dd, J = 4.3, 1.83 Hz), 8.09 - 7.99 (3H, m), 7.60 - 7.50 (3H, m), 7.39 (1H, dd, J = 8.3, 4.3 Hz), 6.57 - 6.51 (3H, m), 6.46 - 6.41 (2H, m), 6.19 (1H, s), 3.86 - 3.86 (3H, m), 3.21 - 3

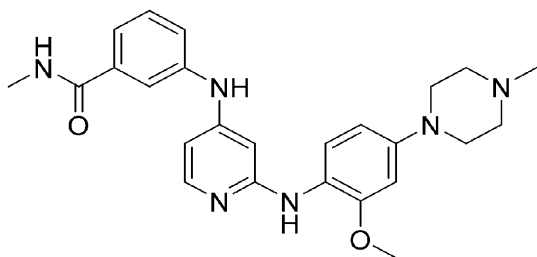
50

.17 (4H, m), 2.63 - 2.59 (4H, m), 2.39 - 2.38 (3H, m). LCMS方法B; RT = 1.06; m/z [M+H]⁺ 441.2.

【0523】

実施例58(2049)

【化174】



10

【0524】

3-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

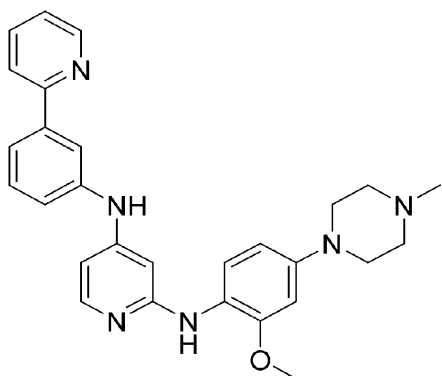
中間体C1および3-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて、実施例50に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.97 (1H, d, J = 6.0 Hz), 7.59 - 7.56 (2H, m), 7.39 - 7.37 (2H, m), 7.29 - 7.28 (1H, m), 6.57 - 6.48 (3H, m), 6.35 - 6.32 (2H, m), 6.14 (1H, d, J = 3.8 Hz), 6.01 (1H, s), 3.86 - 3.85 (3H, m), 3.21 - 3.17 (4H, m), 3.05 - 3.03 (3H, m), 2.63 - 2.59 (4H, m), 2.38 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.12; m/z [M+H]⁺ 447.2.

20

【0525】

実施例59(2052)

【化175】



30

【0526】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(3-(ピリジン-2-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体C1および3-(ピリジン-2-イル)アニリンを用いて、実施例50に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.73 - 8.71 (1H, m), 7.97 - 7.95 (1H, m), 7.88 (1H, t, J = 2.0 Hz), 7.81 - 7.67 (3H, m), 7.58 - 7.55 (1H, m), 7.44 (1H, t, J = 7.9 Hz), 7.28 (1H, s), 6.58 - 6.54 (2H, m), 6.42 - 6.34 (3H, m), 6.02 (1H, s), 3.84 (3H, s), 3.17 - 3.12 (4H, m), 2.62 - 2.58 (4H, m), 2.38 - 2.38 (3H, m). LCMS方法B; RT = 1.21; m/z [M+H]⁺ 467.2.

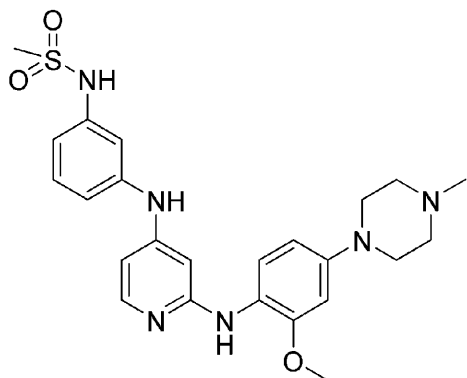
40

【0527】

実施例60(2054)

50

【化 1 7 6】



10

【0 5 2 8】

N-(3-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)フェニル)メタンスルホンアミド

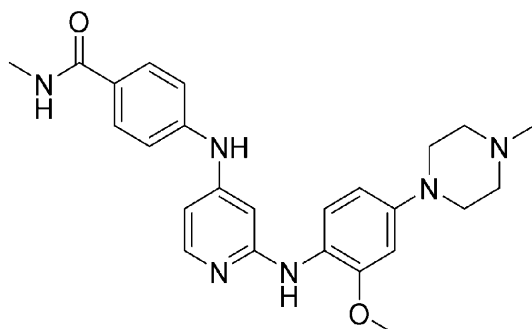
中間体 C 1 および N-(3-アミノフェニル)メタンスルホンアミドを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): 9.70 (1H, br. s.), 8.57 (1H, s), 7.75 (1H, d, J = 6.3 Hz), 7.57 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.39 (1H, s), 7.22 (1H, t, J = 8.0 Hz), 7.01 (1H, s), 6.85 - 6.94 (1H, m), 6.79 (1H, dd, J = 8.0, 1.3), 6.60 (1H, d, J = 2.5 Hz), 6.45 (1H, dd, J = 8.7, 2.4 Hz), 6.24 - 6.34 (2H, m), 3.78 (3H, s), 3.04 - 3.15 (4H, m), 2.98 (3H, s), 2.40 - 2.48 (4H, m), 2.23 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.09; m/z [M+H]⁺ 483.2.

20

【0 5 2 9】

実施例 6 1 (2055)

【化 1 7 7】



30

【0 5 3 0】

4-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

中間体 C 1 および 4-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.99 (1H, d, J = 5.5 Hz), 7.72 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.56 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.14 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.56 - 6.50 (3H, m), 6.39 - 6.36 (2H, m), 6.08 (2H, m), 3.85 (3H, s), 3.18 (4H, m), 3.02 (3H, 2 x s, 回転異性体), 2.60 (4H, m), 2.37 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.15; m/z [M+H]⁺ 447.3.

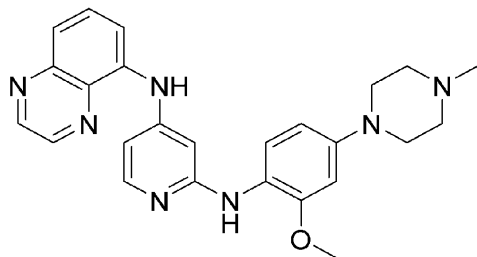
40

【0 5 3 1】

実施例 6 2 (2056)

50

【化 1 7 8】



【0 5 3 2】

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(キノキサリン-5-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 C 1 およびキノキサリン-5-アミンを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.90 (1H, d, J = 1.8 Hz), 8.73 (1H, d, J = 1.8 Hz), 8.20 (1H, br s), 8.08 (1H, d, J = 5.8 Hz), 7.72-7.62 (4H, m), 6.70 (1H, dd, J = 5.8, 2.0 Hz), 6.65 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.61 (1H, br s), 6.58-6.56 (2H, m), 3.87 (3H, s), 3.20 (4H, t, J = 5.0 Hz), 2.62 (4H, t, J = 5.0 Hz), 2.38 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.15; m/z [M+H]⁺ 447.3.

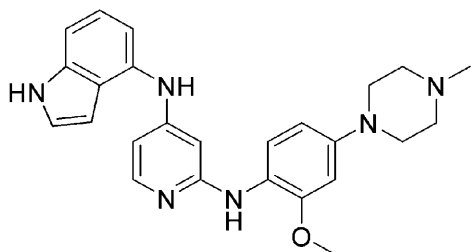
10

【0 5 3 3】

実施例 6 3 (2057)

20

【化 1 7 9】



【0 5 3 4】

N4-(1H-インドール-4-イル)-N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

アルゴンを10分間バブリングして、DMA (1.5 mL) 中の中間体 C 1 (75 mg、0.2 mmol)、1H-インドール-4-アミン (33 mg、0.25 mmol)、XANTPHOS (8 mg、0.014 mmol) および炭酸セシウム (147 mg、0.45 mmol) の混合物を脱気した。次に、Pd(OAc)₂ (2 mg、0.01 mmol) を加え、反応物を150 で90分間熱加熱した。反応物をMeOHで希釈し、MeOHで溶出した後、2 Mメタノール性アンモニアで溶出した5 gのSCXカートリッジに直接ロードした。塩基性フラクションを合わせ、真空中で減圧濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (DCM中0~10% MeOH) で精製すると、表題化合物が褐色固体として得られた (13 mg、収率13%)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.32 (1H, br s), 7.92 (1H, d, J = 5.8 Hz), 7.59 (1H, d, J = 8.6 Hz), 7.21 (2H, m), 7.16 (1H, t, J = 8.0 Hz), 7.03 (1H, m), 6.59-6.53 (2H, m), 6.50-6.47 (2H, m), 6.34 (1H, dd, J = 5.8, 2.0 Hz), 6.30 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.08 (1H, br s), 3.83 (3H, s), 3.16 (4H, m), 2.60 (4H, m), 2.37 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.01; m/z [M+H]⁺ 429.3.

30

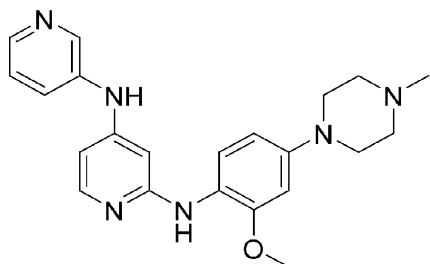
40

【0 5 3 5】

実施例 6 4 (2061)

50

【化180】



【0536】

10

N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(ピリジン-3-イル)ピ
リジン-2,4-ジアミン

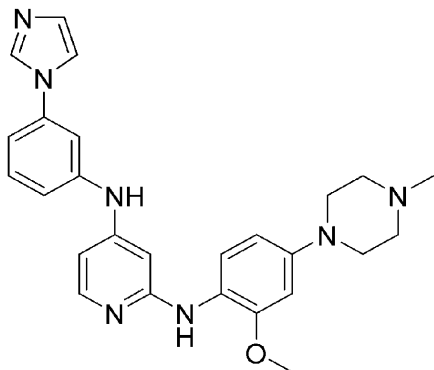
中間体 C 1 およびピリジン-3-アミンを用いて、実施例 50 に記載の手順で合成した。¹
H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.48 (1H, d, J = 2.5 Hz), 8.33 (1H, dd, J = 4.
7, 1.5 Hz), 7.99 (1H, d, J = 5.7 Hz), 7.58 (1H, d, J = 8.6 Hz), 7.53 (1H,
ddd, J = 8.3, 2.6, 1.7 Hz), 7.26 - 7.24 (1H, m), 6.57 (1H, d, J = 2.3 Hz),
6.54 (1H, dd, J = 8.6, 2.5 Hz), 6.51 (1H, s), 6.33 (1H, dd, J = 5.9, 2.1
Hz), 6.28 (1H, d, J = 2.0 Hz), 5.88 (1H, s), 3.86 (3H, s), 3.23 - 3.17 (4
H, m), 2.64 - 2.59 (4H, m), 2.59 (3H, s). LCMS方法B; RT = 0.57; m/z [M+
H]⁺ 391.0.

20

【0537】

実施例 65 (2063)

【化181】



30

【0538】

N4-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)フェニル)-N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン
-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 C 1 および3-(1H-イミダゾール-1-イル)アニリンを用いて、実施例 50 に記載
の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) : 8.71 (1H, s), 8.23 - 8.19
(1H, m), 7.78 (1H, d, J = 5.7 Hz), 7.68 (1H, t, J = 1.4 Hz), 7.55 (1H, d,
J = 8.7 Hz), 7.48 (1H, s), 7.41 (1H, t, J = 8.1 Hz), 7.33 (1H, t, J = 2.1
Hz), 7.17 (1H, ddd, J = 8.0, 2.3, 0.7 Hz), 7.11 (1H, t, J = 1.0 Hz), 7.09
(1H, ddd, J = 8.2, 2.0, 0.8 Hz), 6.58 (1H, d, J = 2.7 Hz), 6.41 (1H, d, J
= 2.0 Hz), 6.37 (1H, dd, J = 8.6, 2.7 Hz), 6.32 (1H, dd, J = 5.7, 2.1 Hz),
3.76 (3H, s), 3.11 - 3.02 (4H, m), 2.48 - 2.41 (4H, m), 2.22 (3H, s). LC
MS方法C; RT = 0.35; m/z [M+H]⁺ 456.2.

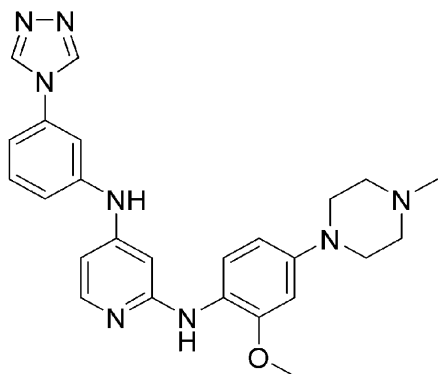
40

【0539】

実施例 66 (2064)

50

【化 1 8 2】



10

【0 5 4 0】

N4-(3-(4H-1,2,4-トリアゾール-4-イル)フェニル)-N2-(2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

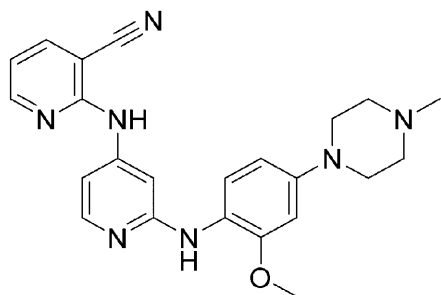
中間体 C 1 および 3-(1,2,4-トリアゾール-4-イル)アニリンを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): 9.10 (2H, s), 8.77 (1H, s), 7.79 (1H, d, J = 5.7 Hz), 7.58 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.49 - 7.43 (2H, m), 7.42 (1H, t, J = 2.2 Hz), 7.21 (1H, ddd, J = 8.0, 2.2, 0.7 Hz), 7.15 (1H, ddd, J = 8.2, 2.2, 0.8 Hz), 6.57 (1H, d, J = 2.7 Hz), 6.43 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.38 - 6.31 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.10 - 3.02 (4H, m), 2.47 - 2.41 (4H, m), 2.22 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.04; m/z [M+H]⁺ 416.0.

20

【0 5 4 1】

実施例 6 7 (2066)

【化 1 8 3】



30

【0 5 4 2】

2-((2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)ニコチノニトリル

中間体 C 1 および 2-アミノニコチノニトリルを用いて、実施例 5 0 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.43 - 8.54 (1H, m), 8.06 - 8.17 (1H, m), 7.86 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz), 7.73 (1H, d, J = 9.3 Hz), 7.24 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.97 - 7.05 (2H, m), 6.93 (1H, dd, J = 7.5, 5.0 Hz), 6.68 (1H, br. s.), 6.56 - 6.62 (2H, m), 3.88 (3H, s), 3.15 - 3.33 (4H, m), 2.59 - 2.70 (4H, m), 2.40 (3H, s). LCMS方法B; RT = 1.10; m/z [M+H]⁺ 416.0.

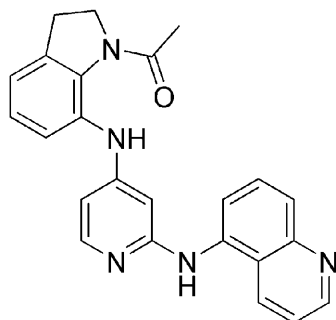
40

【0 5 4 3】

実施例 6 8 (2067)

50

【化 1 8 4】



10

【0 5 4 4】

1-(7-((2-(キノリン-5-イルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

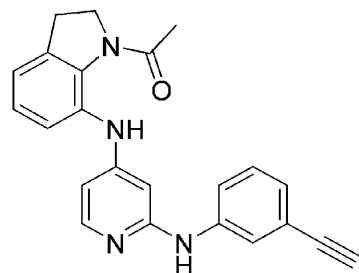
中間体 B 1 およびキノリン-5-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.87 (dd, J = 4.2 および 1.6 Hz, 1H), 8.36 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.31 (br s, 1H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.49 (dd, J = 7.5 および 1.0 Hz, 1H), 7.34 (dd, J = 8.5 および 4.2 Hz, 1H), 7.07-7.02 (m, 2H), 6.87 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.78 (dd, J = 7.2 および 0.9 Hz, 1H), 6.29 (dd, J = 6.0 および 2.0 Hz, 1H), 6.07 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 3.98 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.99 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.34; m/z [M+H]⁺ 396.2.

20

【0 5 4 5】

実施例 6 9 (2069)

【化 1 8 5】



30

【0 5 4 6】

1-(7-((2-((3-エチニルフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 3-アミノフェニルアセチレンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.54 (br s, 1H), 8.21 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.99-6.96 (m, 2H), 6.88 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 6.75 (dd, J = 8.2 および 2.4 Hz, 1H), 6.68-6.65 (m, 1H), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.68 (br s, 1H), 3.14 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H). LCM S 方法 A; RT = 1.59; m/z [M+H]⁺ 369.2.

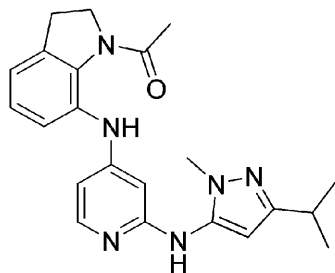
40

【0 5 4 7】

実施例 7 0 (2070)

50

【化186】



【0548】

10

1-(7-((2-((3-イソプロピル-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

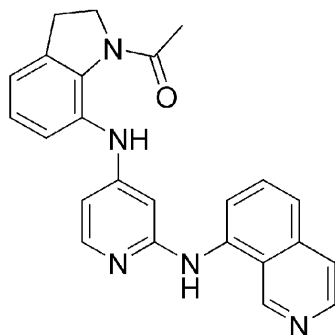
中間体 B 1 およびイソプロピル-2-メチル-ピラゾール-3-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.38 (br s, 1H), 7.73 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.02 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 7.3 および 1.0 Hz, 1H), 6.28 (dd, J = 6.0 および 2.1 Hz, 1H), 6.04 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.03 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.60 (s, 1H), 3.04 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.17 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.77; m/z [M+H]⁺ 391.2

【0549】

20

実施例 7 1 (2071)

【化187】



30

【0550】

1-(7-((2-(イソキノリン-8-イルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 およびイソキノリン-8-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 9.43 (s, 1H), 8.48 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 8.30 (br s, 1H), 7.82 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.61-7.54 (m, 3H), 7.48 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.12-7.10 (m, 2H), 6.93 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 6.0 および 2.0 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 4.00 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.01 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.22 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.30; m/z [M+H]⁺ 396.1

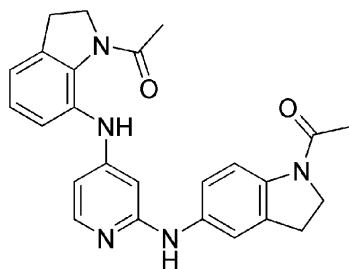
40

【0551】

実施例 7 2 (2072)

50

【化 1 8 8】



【0 5 5 2】

10

1-(7-((2-((1-アセチルインドリン-5-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

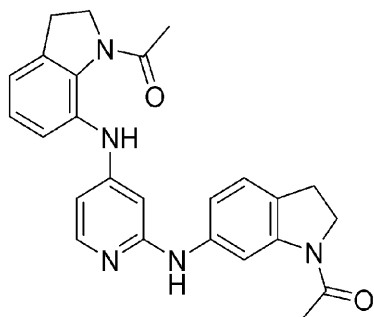
中間体 B 1 および 1-アセチル-5-アミノ-2,3-ジヒドロ(1H)インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.69 (br s, 1H), 8.13 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 7.64 (br s, 1H), 7.22 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.12 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 8.6 および 2.2 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.32-6.28 (m, 2H), 4.13-4.05 (m, 4H), 3.20-3.10 (m, 4H), 2.32 (s, 3H), 2.22 (s, 3H). LCMS方法A; RT = 1.65; m/z [M+H]⁺ 428.1.

【0 5 5 3】

20

実施例 7 3 (2073)

【化 1 8 9】



30

【0 5 5 4】

1-(7-((2-((1-アセチルインドリン-6-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 1-アセチル-6-アミノ-2,3-ジヒドロ-1H-インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.69 (br s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.79-7.69 (m, 2H), 7.32 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.10 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.98 (dd, J = 7.9 および 1.5 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.37 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.30 (dd, J = 6.3 および 1.9 Hz, 1H), 4.12-4.06 (m, 4H), 3.18-3.09 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 2.24 (s, 3H). LCMS方法A; RT = 1.7 3; m/z [M+H]⁺ 428.1.

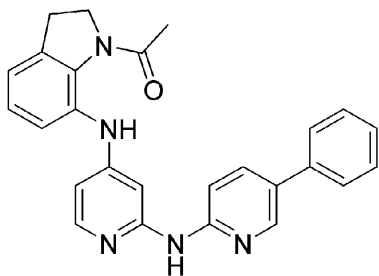
40

【0 5 5 5】

実施例 7 4 (2079)

50

【化190】



【0556】

10

1-((7-((2-((5-フェニルピリジン-2-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

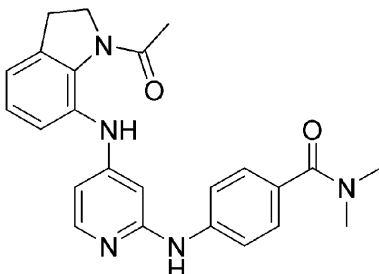
中間体 B 1 および 2-アミノ-5-フェニルピリジンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 9.61 (br s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.6 および 2.4 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.61 (br s, 1H), 7.53 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 7.47 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.45-7.33 (m, 4H), 7.10 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.47 (dd, J = 7.0 および 2.3 Hz, 1H), 4.17 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 2.25; m/z [M+H]⁺ 422.1.

【0557】

20

実施例 75 (2101)

【化191】



30

【0558】

4-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-N,N-ジメチルベンズアミド

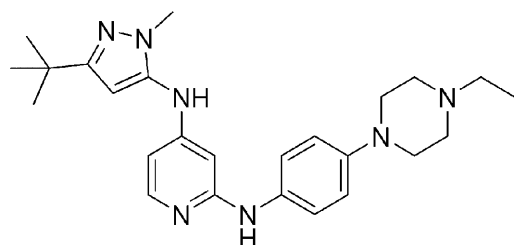
中間体 B 1 および 4-アミノ-N,N-ジメチル-ベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.50 (s, 1H), 7.86 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.13 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.00 (br s, 1H), 6.94 (dd, J = 7.3 および 1.0 Hz, 1H), 6.43 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.40 (dd, J = 6.0 および 2.0 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.12 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.06 (br s, 6H), 2.33 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.53; m/z [M+H]⁺ 416.2.

40

【0559】

実施例 76 (2102)

【化192】



50

【0560】

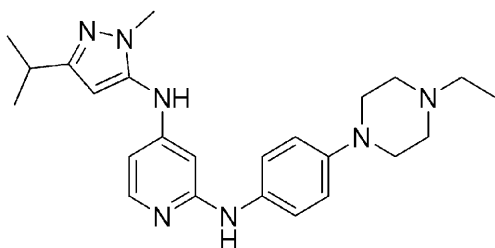
N4-(3-(tert-ブチル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)-N2-(4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 B 2 5 および 4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.70 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.29-6.27 (m, 1H), 6.06-6.05 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.22 (t, J = 5.6 Hz, 4H), 2.79 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.64 (q, J = 7.8 Hz, 2H), 1.27 (s, 9H), 1.20 (t, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS方法A; RT = 1.15; m/z [M+H]⁺ 434.2.

【0561】

実施例 7 7 (2103)

【化 1 9 3】



10

20

【0562】

N2-(4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(3-イソプロピル-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

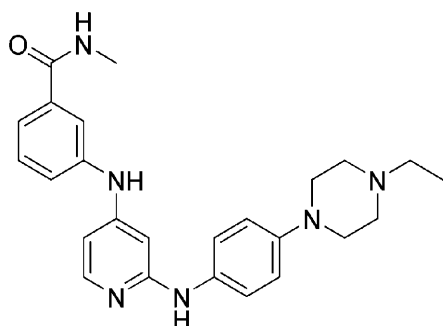
中間体 B 2 7 および 4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.69 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.27 (dd, J = 6.2 および 2.0 Hz, 1H), 6.07 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.94 (s, 1H), 3.22 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.86 (sept, J = 8.2 Hz, 1H), 2.79 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.64 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H). LCMS方法A; RT = 1.13; m/z [M+H]⁺ 420.2.

30

【0563】

実施例 7 8 (2104)

【化 1 9 4】



40

【0564】

3-((2-((4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

中間体 B 2 8 および 4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.71 (t, J = 1.8, 1H), 7.62 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.46 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.33 (m, 1H), 7.19 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.01 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.45

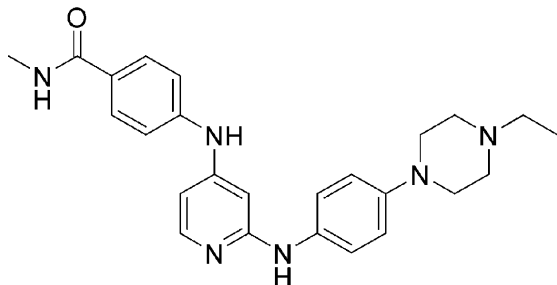
50

(dd, $J = 6.7$ および 2.2 Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.25 (t, $J = 4.9$ Hz, 4H), 2.93 (s, 3H), 2.82 (t, $J = 4.9$ Hz, 4H), 2.67 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.21 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). LCMS方法A; RT = 0.94; m/z $[M+H]^+$ 431.2.

【0565】

実施例79(2105)

【化195】



10

【0566】

4-((2-((4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

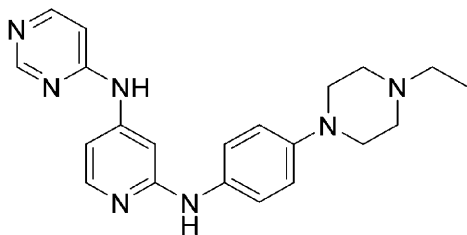
中間体B29および4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例1に記載の手順で合成した。 $^1\text{H NMR}$ (MeOD, 400 MHz): 7.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.71 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J = 8.7$ および 3.4 Hz, 4H), 6.97 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.47-6.44 (m, 2H), 3.20 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.91 (s, 3H), 2.76 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 2.61 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.18 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). LCMS方法A; RT = 1.13; m/z $[M+H]^+$ 431.2.

20

【0567】

実施例80(2106)

【化196】



30

【0568】

N2-(4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(ピリミジン-4-イル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体B32および4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例1に記載の手順で合成した。 $^1\text{H NMR}$ (MeOD, 400 MHz): 8.66 (s, 1H), 8.29 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 5.9$, 1H), 7.47 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.86 (dd, $J = 6.0$ および 1.1 Hz, 1H), 3.23 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 2.85 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 2.69 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.21 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). LCMS方法A; RT = 0.90; m/z $[M+H]^+$ 376.2.

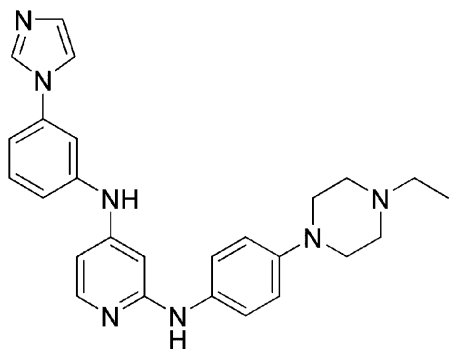
40

【0569】

実施例81(2107)

50

【化 1 9 7】



10

【0 5 7 0】

N4-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)フェニル)-N2-(4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

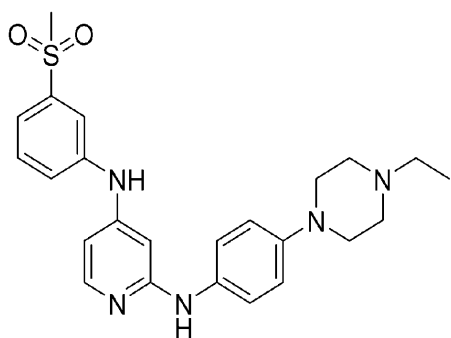
中間体 B 3 0 および 4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.12 (s, 1H), 7.69 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.48 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.40 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 7.26 (dd, J = 8.2 および 2.2 Hz, 1H), 7.20-7.17 (m, 4H), 6.91 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 3.22 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 2.85 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.71 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS 方法 A; RT = 0.70; m/z [M+H]⁺ 440.2.

20

【0 5 7 1】

実施例 8 2 (2108)

【化 1 9 8】



30

【0 5 7 2】

N2-(4-(4-エチルピペラジン-1-イル)フェニル)-N4-(3-(メチルスルホニル)フェニル)ピリジン-2,4-ジアミン

中間体 B 3 1 および 4-(4-エチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.76-7.73 (m, 2H), 7.59-7.56 (m, 2H), 7.46 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.00 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.45-6.42 (m, 2H), 3.25 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 3.10 (s, 3H), 2.86 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.71 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 1.22 (t, J = 7.3 Hz, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.04; m/z [M+H]⁺ 452.1.

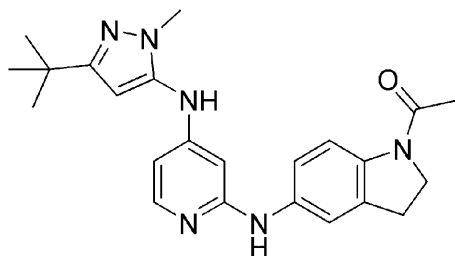
40

【0 5 7 3】

実施例 8 3 (2109)

50

【化199】



【0574】

1-(5-((4-((3-(tert-ブチル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 2 5 および 1-アセチル-5-アミノ-2,3-ジヒドロ(1H)インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.00 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.04 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.25 (dd, J = 5.9 および 1.7 Hz, 1H), 6.07 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 4.11 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 3.62 (s, 3H), 3.17 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.27 (s, 9H). LCMS 方法 A; RT = 1.63; m/z [M+H]⁺405.2.

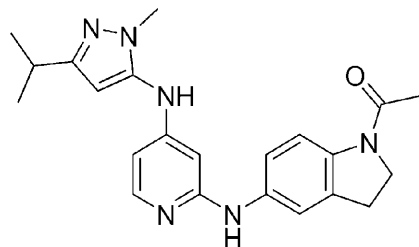
10

【0575】

実施例 8 5 (2110)

20

【化200】



【0576】

1-(5-((4-((3-イソプロピル-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 2 7 および 1-アセチル-5-アミノ-2,3-ジヒドロ(1H)インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.99 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.05 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.25 (dd, J = 6.0 および 2.0 Hz, 1H), 6.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.94 (s, 1H), 4.10 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.62 (s, 3H), 3.16 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.87 (sept, J = 6.9 Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 1.22 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.61; m/z [M+H]⁺391.2.

30

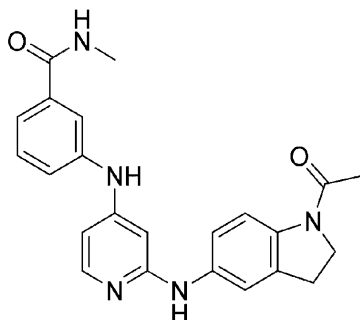
【0577】

実施例 8 6 (2111)

40

50

【化 2 0 1】



10

【 0 5 7 8】

3-((2-((1-アセチルインドリン-5-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

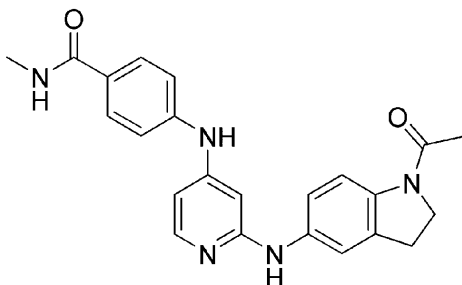
中間体 B 2 8 および 1-アセチル-5-アミノ-2,3-ジヒドロ(1H)インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 8.00 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 7.68 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.41 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.06 (dd, J = 8.6 および 1.9 Hz, 1H), 6.45-6.41 (m, 2H), 4.07 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.14 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.19 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.46; m/z [M+H]⁺ 402.2.

20

【 0 5 7 9】

実施例 8 7 (2 1 1 2)

【化 2 0 2】



30

【 0 5 8 0】

4-((2-((1-アセチルインドリン-5-イル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

中間体 B 2 9 および 1-アセチル-5-アミノ-2,3-ジヒドロ(1H)インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.99 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.79-7.76 (m, 3H), 7.27 (s, 1H), 7.20 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.06 (dd, J = 8.6 および 2.0 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 6.0 および 2.0 Hz, 1H), 4.08 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.19 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.42; m/z [M+H]⁺ 402.2.

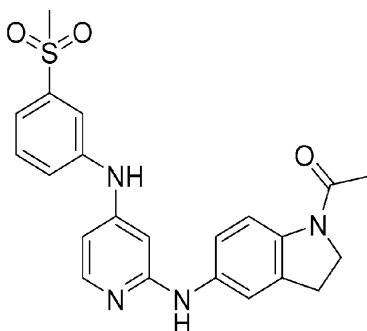
40

【 0 5 8 1】

実施例 8 8 (2 1 1 5)

50

【化203】



10

【0582】

1-(5-((4-((3-(メチルスルホニル)フェニル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

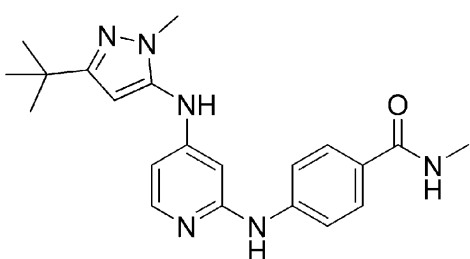
中間体 B 3 1 および 1-アセチル-5-アミノ-2,3-ジヒドロ(1H)インドールを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.92 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.46-7.45 (m, 2H), 7.38-7.35 (m, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.98 (dd, J = 8.6 および 2.1 Hz, 1H), 6.38 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.33 (dd, J = 6.0 および 2.0 Hz, 1H), 4.01 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 3.09 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.11 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.45; m/z [M+H]⁺ 423.1.

20

【0583】

実施例 89 (2116)

【化204】



30

【0584】

4-((4-((3-(tert-ブチル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

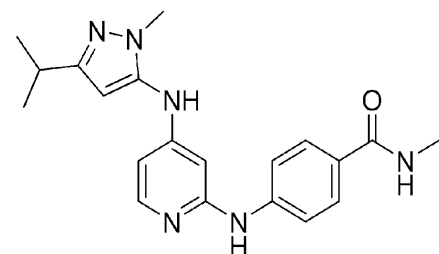
中間体 B 2 5 および 4-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.81 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.44 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.28 (dd, J = 5.9 および 2.0 Hz, 1H), 6.15 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 1.26 (s, 9H). LCMS 方法 A; RT = 1.48; m/z [M+H]⁺ 379.2.

40

【0585】

実施例 90 (2117)

【化205】



50

【0586】

4-((4-((3-イソプロピル-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-N-メチルベンズアミド

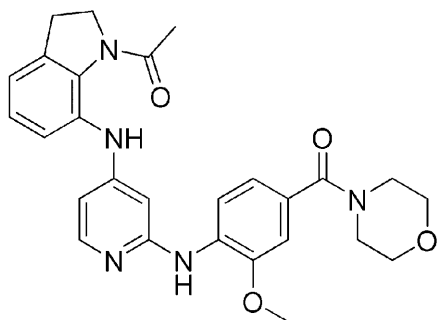
中間体 B 27 および 4-アミノ-N-メチルベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 7.86 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.34 (dd, J = 5.9 および 2.0 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.93-2.85 (m, 4H), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H). LCMS 方法 A; RT = 1.34; m/z [M+H]⁺ 365.2.

【0587】

実施例 9 1 (2347)

10

【化206】



20

【0588】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(モルホリン-4-カルボニル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

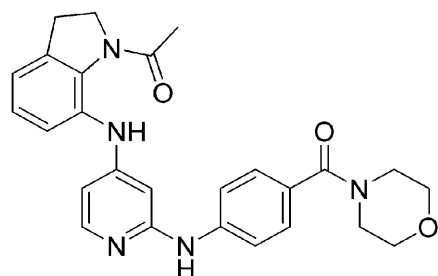
中間体 B 1 および (4-アミノ-3-メトキシフェニル)(モルホリノ)メタノンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.82 (bs, 1H), 8.13 (bs, 1H), 7.79 (d, J = 6 Hz, 1H), 7.20 (m, J = 8 Hz, 2H), 7.03 (s, 2H), 6.95 (dd, J = 6 Hz, 1H), 6.48 (bs, 1H), 6.33 (d, J = 6 Hz, 1H), 4.14 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.61 (m, J = 5 Hz, 4H), 3.52 (bs, 4H), 3.08 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.28 (s, 3H). LCMS 方法 C; RT = 2.02; m/z [M+H]⁺ 488.2.

【0589】

実施例 9 2 (2348)

30

【化207】



40

【0590】

1-(7-((2-((4-(モルホリン-4-カルボニル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

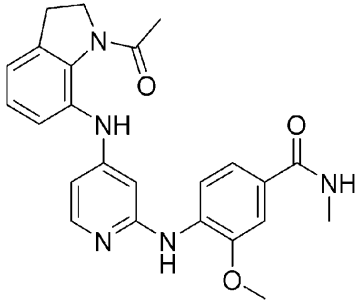
中間体 B 1 および (4-アミノフェニル)(モルホリノ)メタノンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.39 (s, 1H), 7.92 (t, J = 4 Hz, 1H), 7.38-7.28 (m, 5H), 7.13 (t, J = 8 Hz, 1H), 6.95-6.93 (m, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.428 (t, J = 4 Hz, 2H), 4.11 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.70-3.66 (br m, 9H), 3.12 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H). LCMS 方法 C; RT = 1.89; m/z [M+H]⁺ 458.2.

【0591】

50

実施例 9 3 (2349)

【化 2 0 8】



10

【 0 5 9 2】

4-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-3-メトキシ-N-メチルベンズアミド

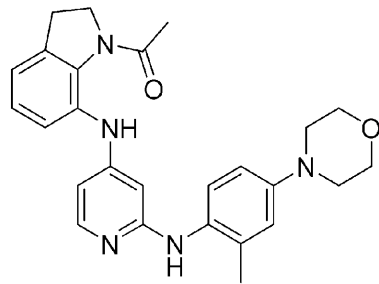
中間体 B 1 および 4-アミノ-3-メトキシ-N-メチルベンズアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) 9.44 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.53-7.35 (m, 3H), 7.14-7.05 (m, 5H), 6.31 (dd, J = 2 Hz, J = 2Hz, 1H), 6.16 (d, J = 2 Hz 1H), 4.13 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.87 (s, 1H), 3.14 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.02 (d, J = 5 3H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 1.96; m/z [M+H]⁺ 432.1.

20

【 0 5 9 3】

実施例 9 4 (2350)

【化 2 0 9】



30

【 0 5 9 4】

1-(7-((2-((2-メチル-4-モルホリノフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 2-メチル-4-モルホリノアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) 8.65 (bs, 1H), 7.9 (bs, 1H), 7.64 (d, J = 6Hz, 1H), 7.17-7.10, (m, 3H), 7.00 (d, J = 7Hz, 1H), 6.81 (d, J = 3Hz, 1H), 6.75 (dd, J = 6Hz, 1H), 6.16 (dd, J = 4Hz, 1H), 5.91 (s, 1H), 4.11 (t, J = 8Hz, 2H), 3.73 (m, 3H), 3.06 (m, 7H), 2.25 (s, 4H), 2.13 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 2.25; m/z [M+H]⁺ 444.2.

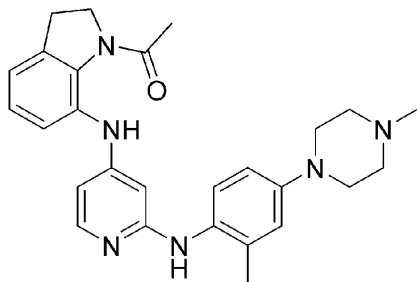
40

【 0 5 9 5】

実施例 9 5 (2351)

50

【化 2 1 0】



【0 5 9 6】

10

1-(7-((2-((2-メチル-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

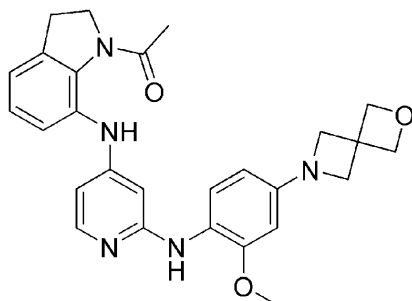
中間体 B 1 および 2-メチル-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) 9.80 (bs, 1H), 9.60 (bs, 1H), 9.26 (bs, 1H), 7.56 (d, J = 7Hz, 1H), 7.16 (m, 4H), 7.00 (d, J = 2Hz, 1H), 6.91 (dd, 1H), 6.38 (dd, J = 6Hz, 1H), 5.88 (d, J=2Hz, 1H), 4.11 (t, J = 8Hz, 2H), 3.84 (bs, 4H), 3.51 (bs, 3H), 3.09 (t, J = 8Hz, 2H), 2.87 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.13 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 1.55; m/z [M+H]⁺ 457.2.

【0 5 9 7】

20

実施例 9 6 (2353)

【化 2 1 1】



30

【0 5 9 8】

1-(7-((2-((2-メトキシ-4-(2-オキサ-6-アザスピロ[3.3]ヘプタン-6-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 および 2-メトキシ-4-(2-オキサ-6-アザスピロ[3.3]ヘプタン-6-イル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) 8.39 (s, 1H), 7.68 (d, J = 8Hz, 1H), 7.40 (d, J = 7 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.15-7.09 (m, 2H), 9.96-6.94 (m, 1H), 6.12-6.09 (m, 2H), 6.03 (s, 1H), 6.02-5.96 (m, 1H), 4.72 (s, 4H), 4.11 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.94 (s, 4H), 3.74 (s, 3H), 3.04 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.26 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 2.21; m/z [M+H]⁺ 472.2.

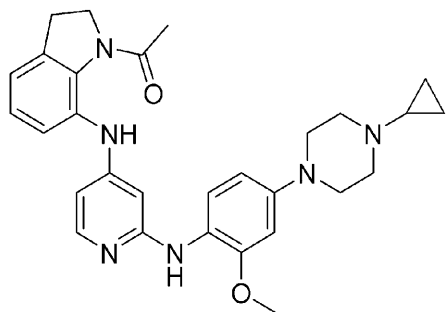
40

【0 5 9 9】

実施例 9 7 (2354)

50

【化 2 1 2】



10

【0600】

1-(7-((2-((4-(4-シクロプロピルピペラジン-1-イル)-2-メトキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

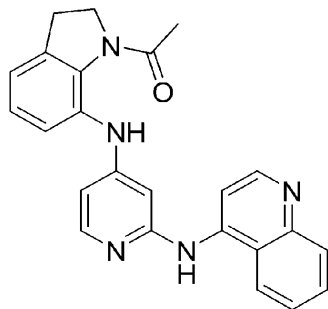
中間体 B 1 および 4-(4-シクロプロピルピペラジン-1-イル)-2-メトキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) 7.49 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 4.4 Hz, 2H), 7.20 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 7.4, 2.2 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 4.21 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.56 (s, 4H), 3.50 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.87 (s, 1H), 2.35 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 1.59; m/z [M+H]⁺ 499.3.

20

【0601】

実施例 98 (2355)

【化 2 1 3】



30

【0602】

1-(7-((2-(キノリン-4-イルアミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

中間体 B 1 およびキノリン-4-アミンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) 8.71 (d, J = 5 Hz 1H), 8.57 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8 Hz 1H), 8.02-7.98 (m, 2H), 7.70 (t, J = 6 Hz, 1H), 7.55-7.51 (m, 2H), 7.14 (t, J = 8 Hz, 2H), 6.96 (d, J = 3 Hz 1H), 6.68 (s, 1H), 6.68-6.54 (m, 1H), 4.12 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.94 (s, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.08 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 1.79; m/z [M+H]⁺ 396.1.

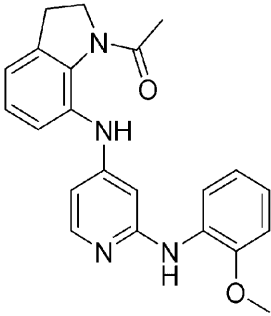
40

【0603】

実施例 99 (2356)

50

【化 2 1 4】



10

【0604】

1-(7-((2-((2-メトキシフェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

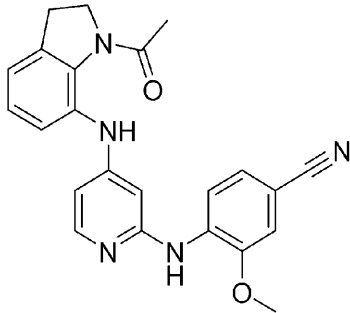
中間体 B 1 および 2-メトキシアニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) 8.21 (bs, 1H), 7.94-7.91 (m, 2H), 7.32 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.13 (t, J = 8 Hz, 1H), 6.93-6.87 (m, 4H), 6.78 (bs, 1H), 6.38 (s, 1H) 6.37 (d, J = 2 Hz, 1H), 4.12-4.08 (m, 2 H), 2.33 (d, J = 5 Hz, 3H). LCMS方法C; RT = 2.13; m/z [M+H]⁺ 375.1.

【0605】

実施例 100 (2357)

20

【化 2 1 5】



30

【0606】

4-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)-3-メトキシベンゾニトリル

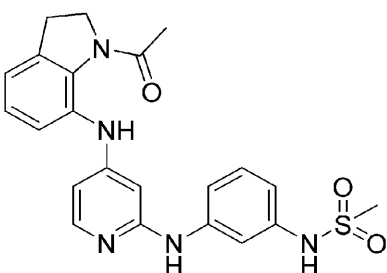
中間体 B 1 および 4-アミノ-3-メトキシベンゾニトリルを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) 8.46 (bs, 1H), 8.39 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 6 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 7 Hz, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.16 (t, J = 7 Hz, 1H), 7.09 (bs, 1H), 7.02 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 6 Hz, 1 H), 6.49 (dd, 1H), 6.38 (d, 1H), 4.12 (m, 2 H), 3.91 (s, 3H), 3.13 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 2.15; m/z [M+H]⁺ 400.1.

【0607】

実施例 101 (2358)

40

【化 2 1 6】



50

【0608】

N-(3-((4-((1-アセチルインドリン-7-イル)アミノ)ピリジン-2-イル)アミノ)フェニル)メタンスルホンアミド

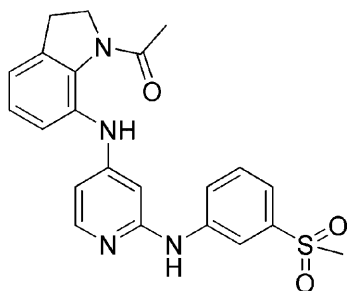
中間体 B 1 および N-(3-アミノフェニル)メタンスルホンアミドを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) 9.528 (bs, 1H), 8.73-8.57 (bd, 1H), 7.82 (d, J = 6Hz, 1H), 7.47 (t, J = 2Hz, 1H), 7.42 (dd, J = 8Hz, 1H), 7.24-7.11 (m, 3H), 7.01 (dd, J = 7Hz, 1H), 6.93 (t, J = 8Hz, 1H), 6.68 (dd, J = 7Hz, 1H), 6.46 (t, 1H), 6.31 (s, 1H), 6.25 (dd, J = 4Hz, 1H), 4.15 (t, J = 8Hz, 2H), 3.08 (t, J = 8Hz, 2H), 3.08 (s, 3H), 2.28 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 2.07; m/z [M+H]⁺ 438.1.

10

【0609】

実施例 102 (2359)

【化217】



20

【0610】

1-(7-((2-((3-(メチルスルホニル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)アミノ)インドリン-1-イル)エタン-1-オン

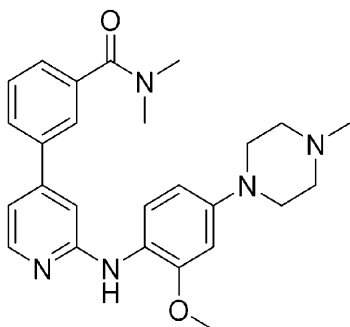
中間体 B 1 および 3-(メチルスルホニル)アニリンを用いて、実施例 1 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) 8.54 (bs, 1H), 7.95-7.93 (m, 2H), 7.62-7.59 (m, 1H), 7.49-7.46 (m, 2H), 7.43 (d, J = 8Hz, 1H), 7.32 (d, J = 8Hz, 1H), 7.18 (t, J = 8Hz, 1H), 6.94 (d, J = 7Hz, 1H), 6.49 (bs, 1H), 6.45 (dd, J = 2Hz, J = 2Hz, 1H), 6.39 (d, J = 2Hz, 1H), 4.11 (t, J = 8Hz, 2H), 3.12 (t, J = 8Hz, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.34 (s, 3H). LCMS方法C; RT = 1.93; m/z [M+H]⁺ 423.1.

30

【0611】

実施例 103 (1940)

【化218】



40

【0612】

3-(2-((2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アミノ)ピリジン-4-イル)-N,N-ジメチルベンズアミド

中間体 F 1 および 2-メトキシ-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリンを用いて、実施例 3 に記載の手順で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.23 (dd, J = 5.3, 0.8 Hz, 1H), 7.77 - 7.71 (m, 1H), 7.61 (dt, J = 7.1, 1.6 Hz, 2H), 7.51

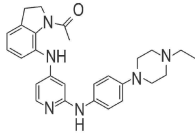
50

- 7.40 (m, 2H), 6.93 - 6.86 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.57 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.23 - 3.18 (m, 4H), 3.14 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.61 (dd, J = 6.2, 3.8 Hz, 4H), 2.37 (s, 3H). LCMS方法A; RT 1.08; m/z [M+H]⁺ 446.2.

【 図面 】

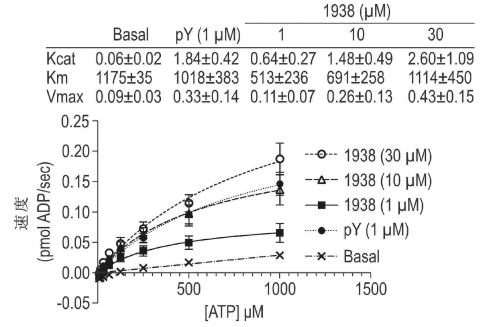
【 図 1 - 1 】

Fig. 1a



【 図 1 - 2 】

Fig. 1c



10

Fig. 1b

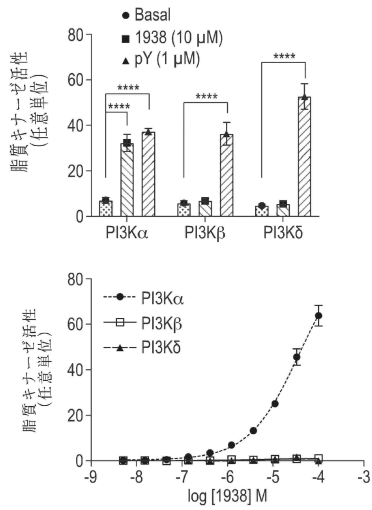
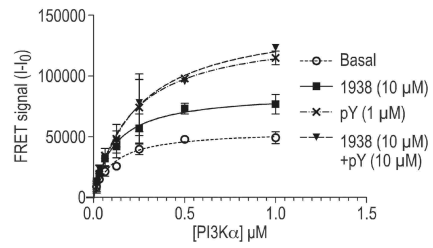


Fig. 1d



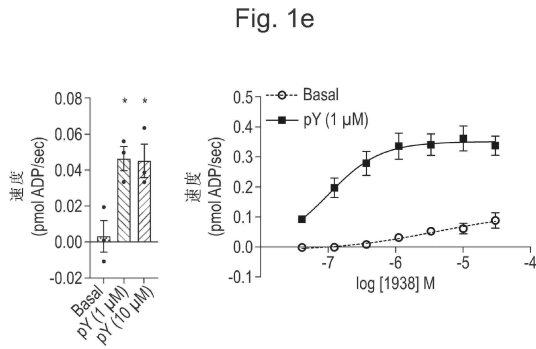
20

30

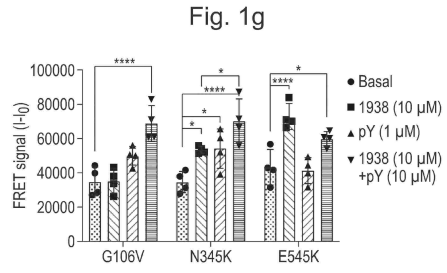
40

50

【 図 1 - 3 】



【 図 1 - 4 】



10

Fig. 1h

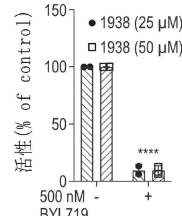
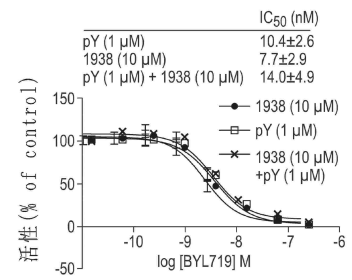
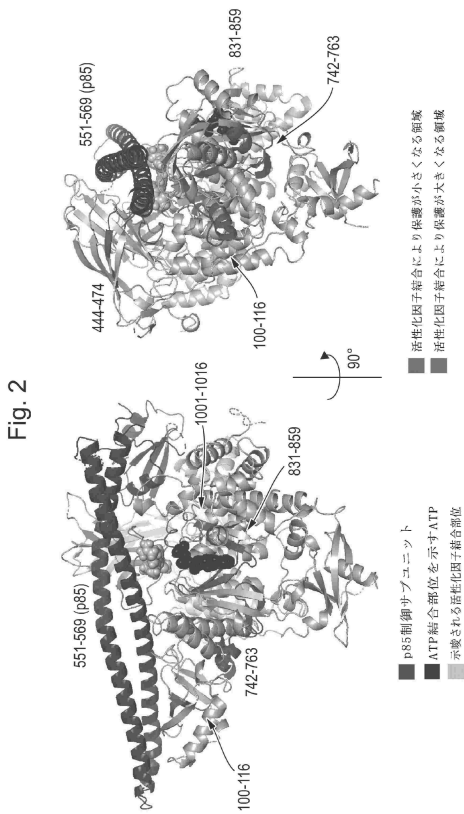


Fig. 1i

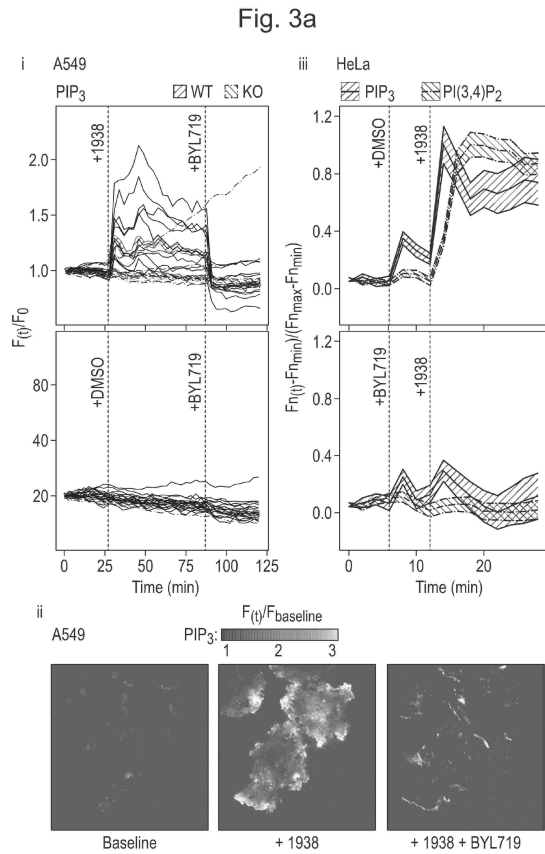


20

【 図 2 】



【 図 3 - 1 】



30

40

50

【 図 3 - 2 】

Fig. 3b

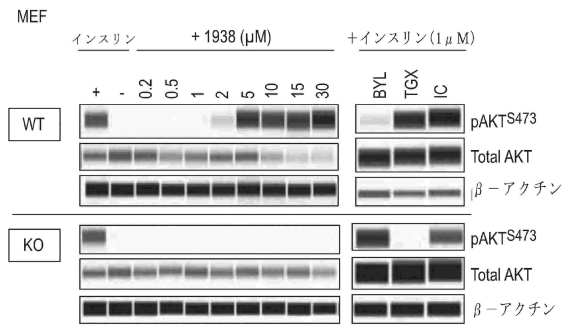


Fig. 3c

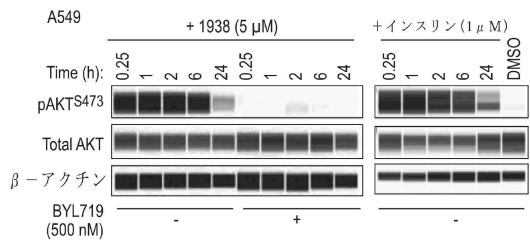


Fig. 3d

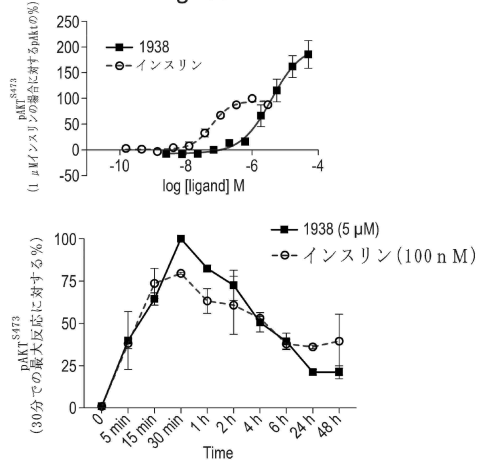
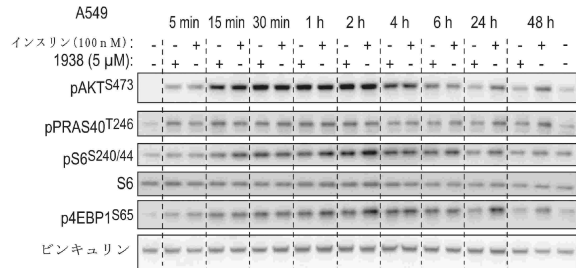
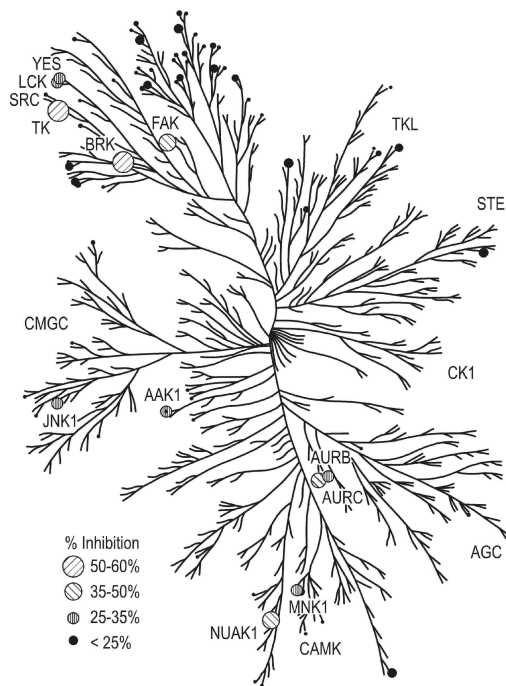


Fig. 3e



【 図 3 - 4 】

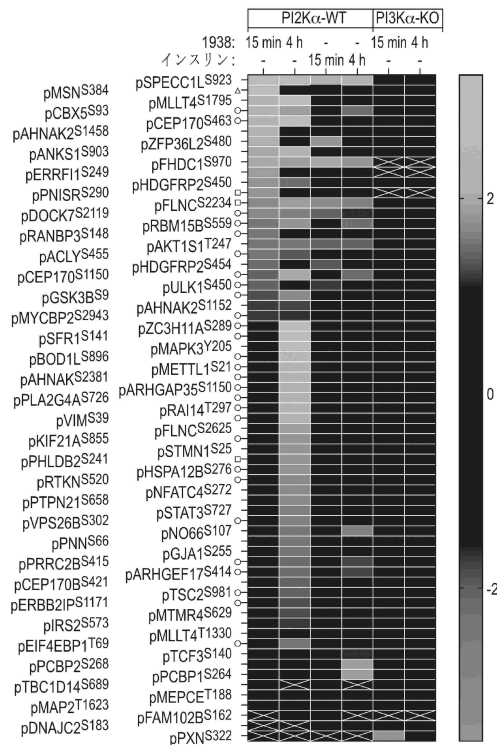
Fig. 3f



【 図 3 - 5 】

Fig. 3g

i 以下により制御されるPhosphoSitePlusによりレポートされるリン酸化部位:
 ○インスリン, PI3Kインヒビター (LY294002), AKTインヒビター (MK2206)
 □ mTOR阻害
 △ PDK1 阻害 (GSK2334470)



10

20

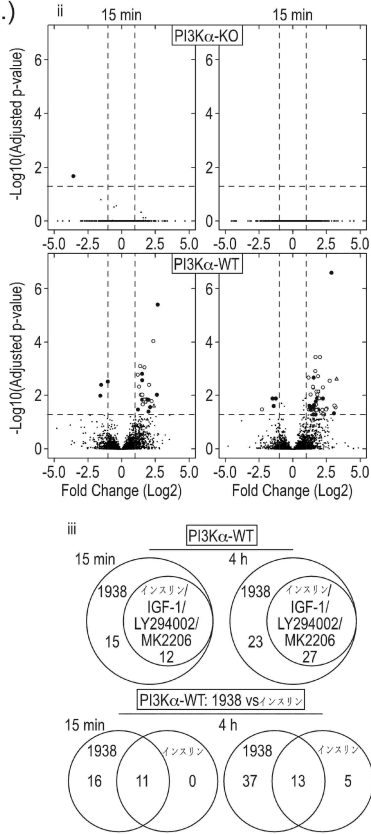
30

40

50

【 図 3 - 6 】

Fig. 3g (Cont.)



【 図 4 】

Fig. 4a

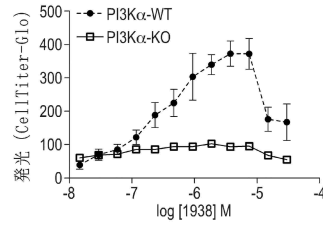


Fig. 4b

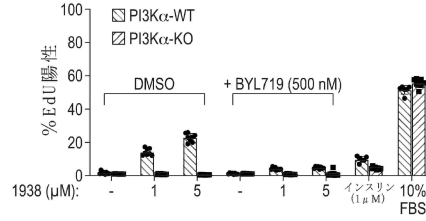
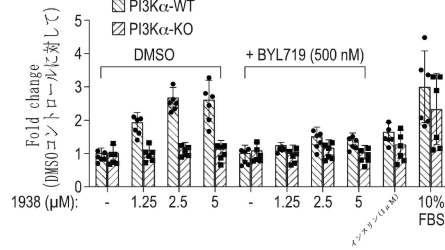


Fig. 4c



【 図 5 - 1 】

Fig. 5a

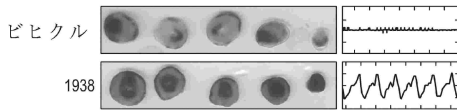


Fig. 5b

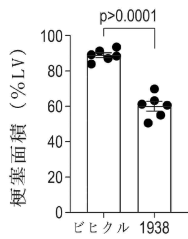


Fig. 5c

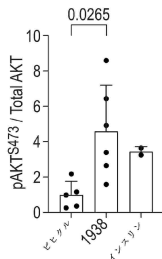
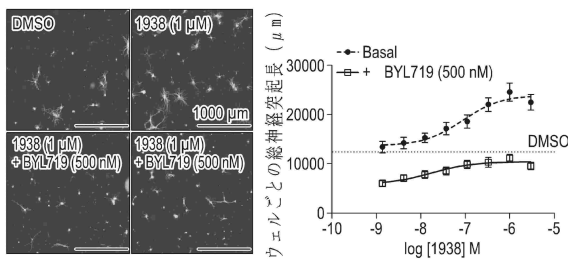


Fig. 5d



【 図 5 - 2 】

Fig. 5e

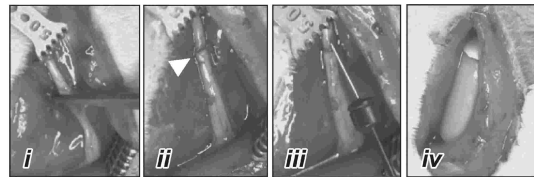


Fig. 5f

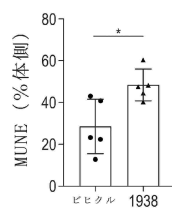


Fig. 5g

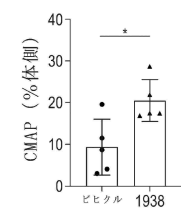
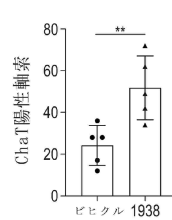


Fig. 5h



10

20

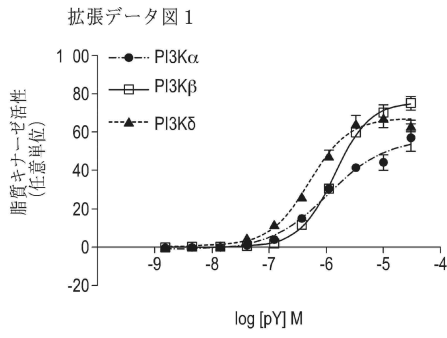
30

40

50

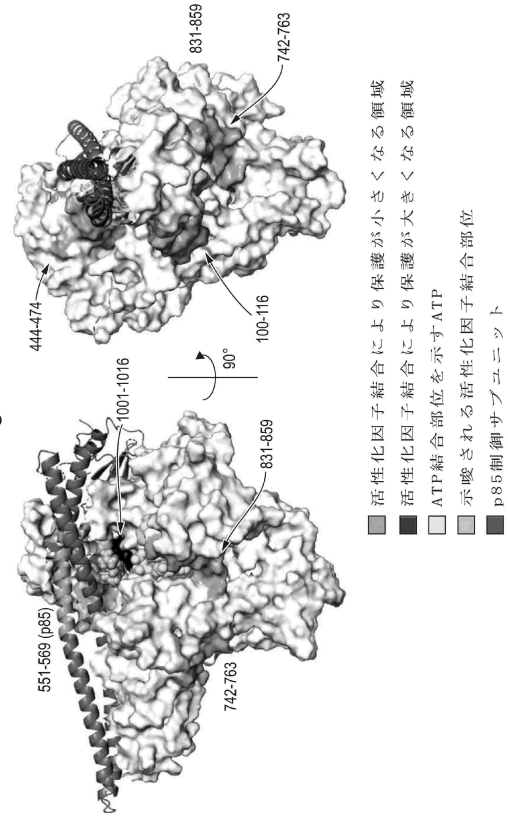
【 図 9 】

Fig. 9



【 図 1 0 】

Fig. 10

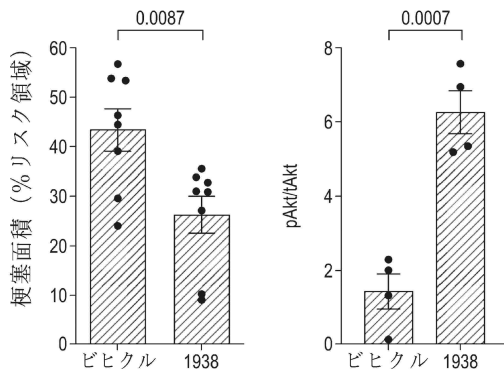


10

20

【 図 1 1 】

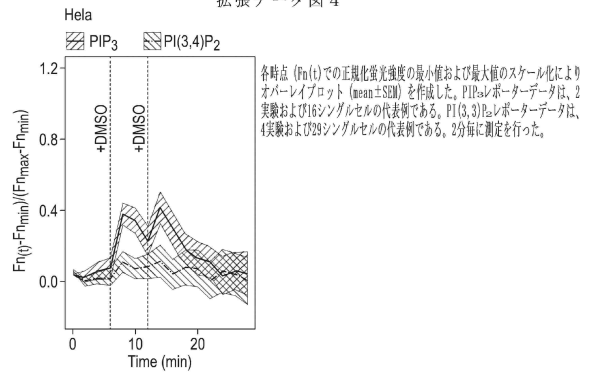
Fig. 11



【 図 1 2 】

Fig. 12

拡張データ図 4



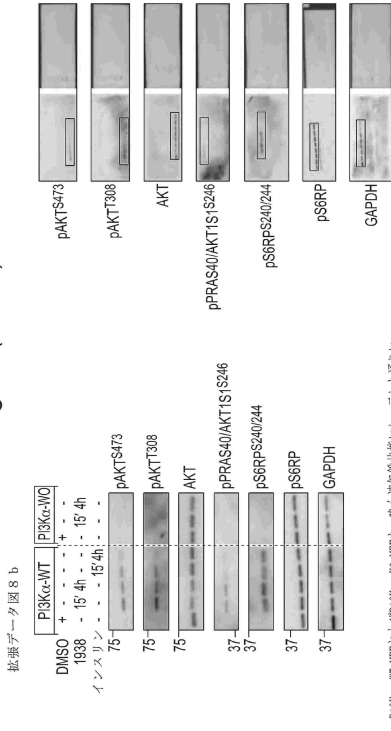
30

40

50

【 図 16 - 2 】

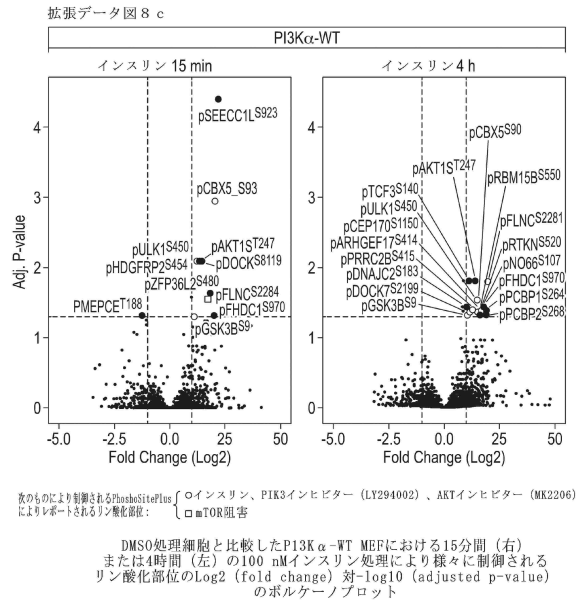
Fig. 16 (Cont. I)



PI3K α -WT MEFおよびPI3K α -KO MEFを一般血清飢餓状態にし、示した通りに、DMSO、5 nM 1938または100 nMインスリンで15分間または4時間刺激した。AKT^{total}、pAKT^{S308}、pAKT^{S473}、pPRAS40(AKT1S1S246)、pSRRP^{S40/244}、pS6RP、またはGAPDH抗体で上清を免疫染色した。サンプルは、代表的なリン酸化プロテオミクス表紙からのものである。

【 図 16 - 3 】

Fig. 16 (Cont II)



右のものより制御されるPhosphoSitePlus { } オインスリン、PI3Kインヒビター (LY294002)、AKTインヒビター (MK2206) によりレポートされるリン酸化部位: { } TOR阻害

DMSO処理細胞と比較したPI3K α -WT MEFにおける15分間(右)または4時間(左)の100 nMインスリン処理により様々な制御されるリン酸化部位のLog2 (fold change) 対-log10 (adjusted p-value) のボルカーノプロット

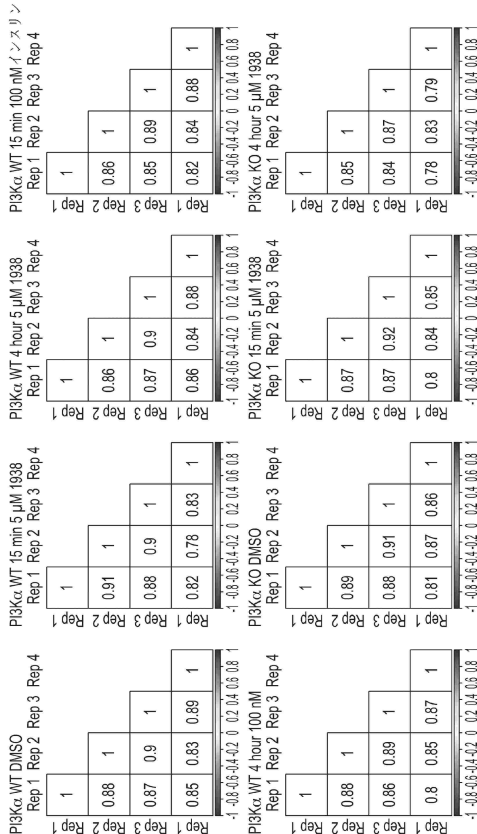
10

20

【 図 16 - 4 】

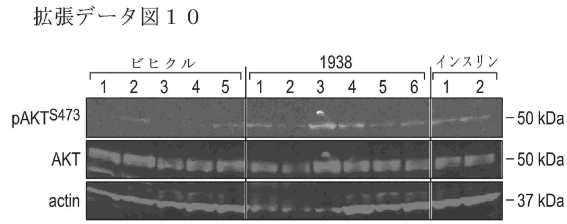
Fig. 16 (Cont. III)

拡張データ図 8 d



【 図 18 - 1 】

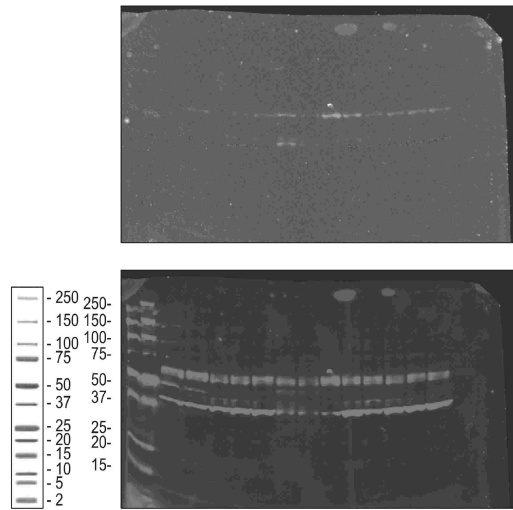
Fig. 18a



安定化のため10分間ラットを灌流し、45分の広範囲虚血および続く2時間の再灌流に供した。15分の最初の再灌流では、バッファーはビヒクル (0.1% DMSO)、1938 (5 μ M) またはインスリン (1 μ M) を含むものとした。2時間後、全ての心臓を凍結クランプし、液体窒素で凍結させ、RIPAバッファー中の組織抽出、SDS-PAGE、および示された抗体を用いた免疫染色に供した。
統計: 1-way ANOVA with Tukey's post test.
各レーンにはそれぞれの心臓の抽出物を含む: ビヒクル (n=5)、1938 (n=6) またはインスリン (n=2)

【 図 18 - 2 】

Fig. 18b



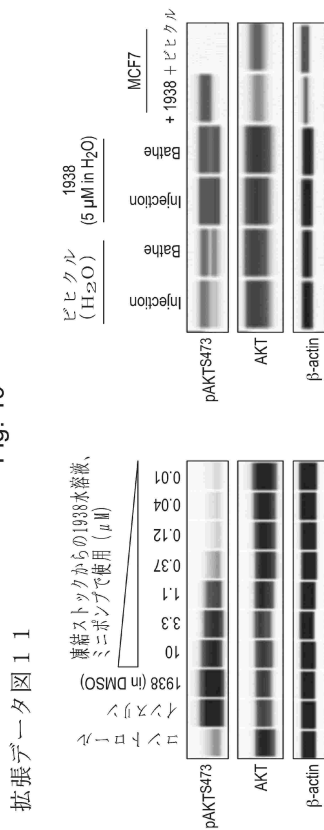
パネル a に示されるデータの全ライコアスキャンプロット。サイズマーカー: Precision Plus Protein™ Dual Xtra Prestained Protein Standards #1610377 (Blorad)

10

20

【 図 19 】

Fig. 19

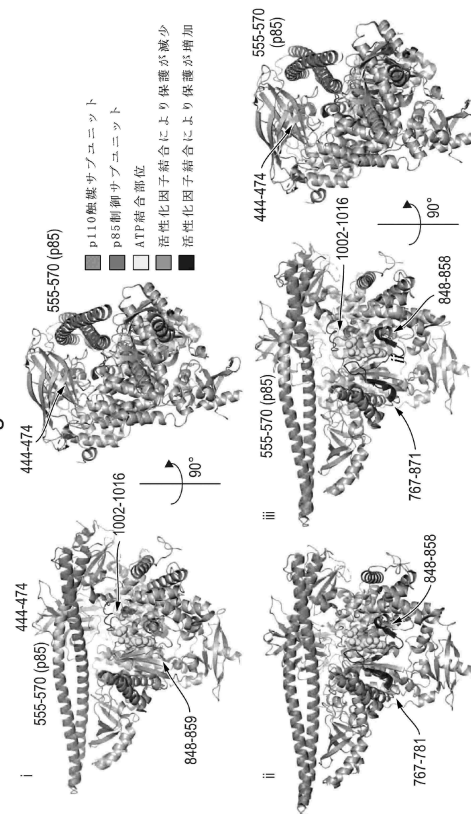


5 μ M 1938 または ビヒクル (DMSO) で 15 分間培養した MCF7 乳がん細胞の細胞抽出物を陽性コントロールとしてゲルにロードした

dH₂O 中 100 μ M の TRO-1938 のアリコートを溶解し、陽性コントロールとしてインスリン (1 μ M) または 1938 (DMSO 中 ストックから 10 μ M) を用いて、A549 細胞の 15 分処理により pAKT の誘導を試験した

【 図 20 - 1 】

Fig. 20a



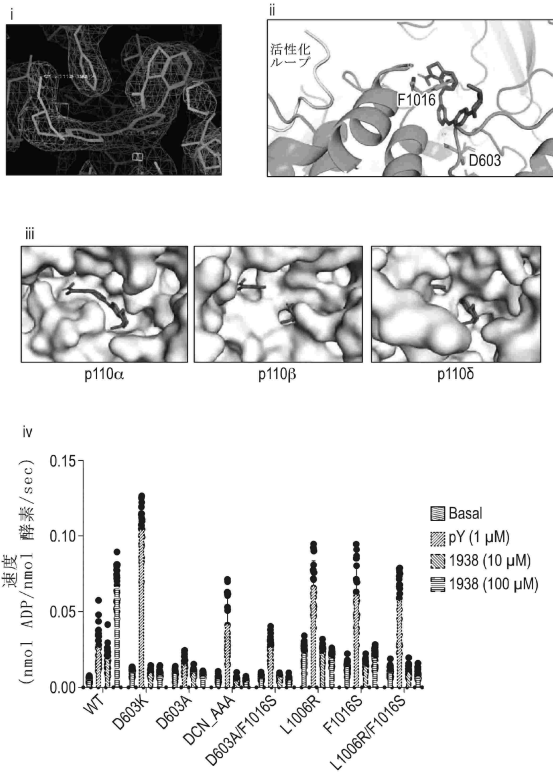
30

40

50

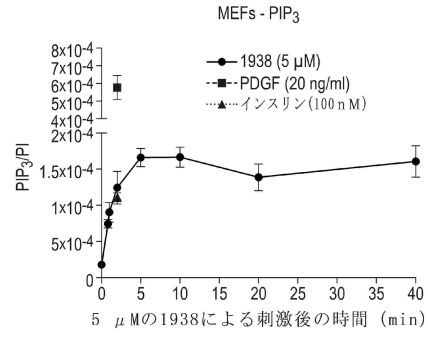
【 図 2 0 - 2 】

Fig. 20b



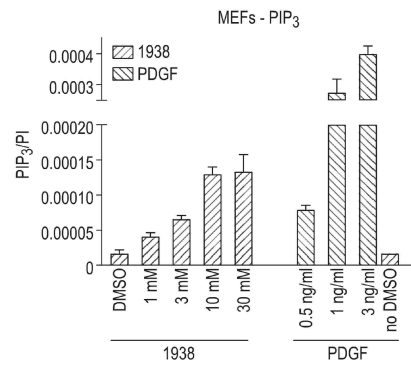
【 図 2 1 - 1 】

Fig. 21a



10

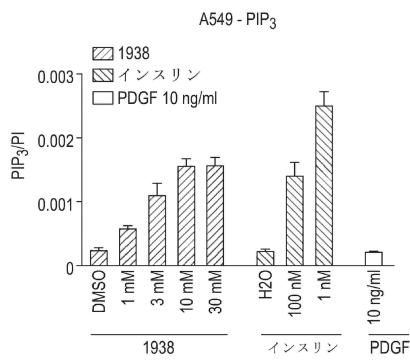
Fig. 21b



20

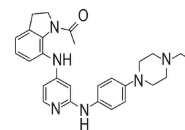
【 図 2 1 - 2 】

Fig. 21c



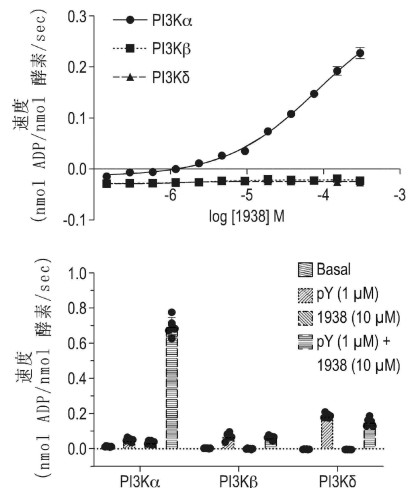
【 図 2 2 - 1 】

Fig. 22a



30

Fig. 22b

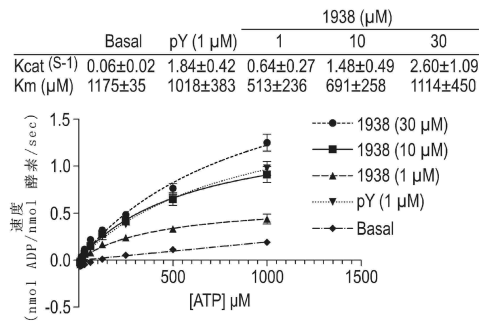


40

50

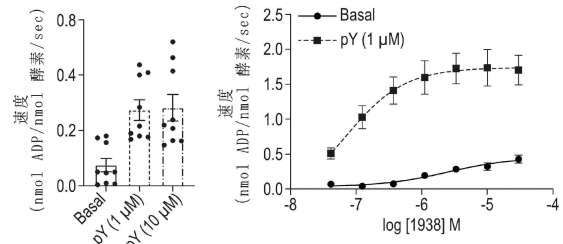
【 図 2 2 - 2 】

Fig. 22c



【 図 2 2 - 3 】

Fig. 22e



10

Fig. 22d

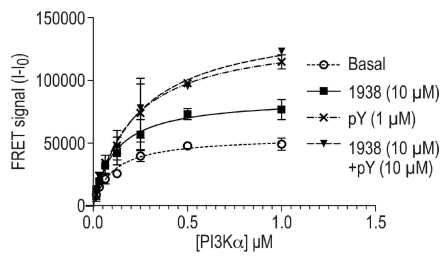
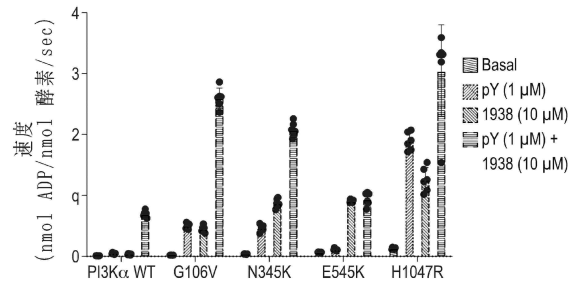


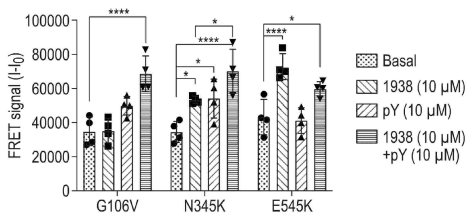
Fig. 22f



20

【 図 2 2 - 4 】

Fig. 22g



30

Fig. 22h

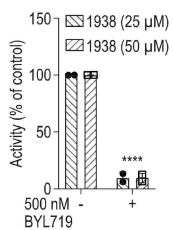
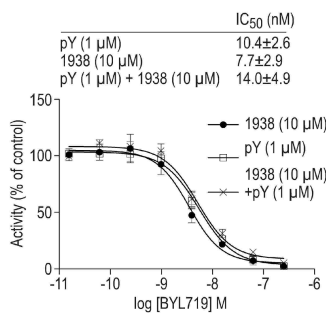


Fig. 22i



40

【 配列表 】

202453512800001.xml

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2022/052323
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07D213/74	C07D401/12	C07D401/14
A61P25/00	A61K31/44	A61K31/4427
A61K31/498	A61K31/4709	A61K31/4725
		A61K31/506
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) A61P C07D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SONG XINYI ET AL: "Synthesis and SAR of 2,4-diaminopyrimidines as potent c-jun N-terminal kinase inhibitors", MEDCHEMCOMM, vol. 3, no. 2, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 238-243, XP055982610, United Kingdom ISSN: 2040-2503, DOI: 10.1039/C1MD00219H compound 24	1-7, 10-12, 14, 18, 19
X	WO 2018/098561 A1 (APTOSE BIOSCIENCES INC [CA]) 7 June 2018 (2018-06-07) page 117; table 6 paragraph [00229] paragraph [00280] paragraph [00285]	1-9, 11, 12, 14, 18, 19
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 21 November 2022	Date of mailing of the international search report 01/12/2022	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Brandstetter, T	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 2

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2022/052323

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE PubChem compound [Online] NCBI; 11 February 2016 (2016-02-11), .: "N-methyl-3-[[2-(4-morpholin-4-ylanilino)pyridin-4-yl]amino]benzamide;2,2,2-trifluoroacetic acid", XP055982865, Database accession no. CID-117075983 abstract</p> <p>-----</p>	1-14
X	<p>DATABASE PubChem Compound [Online] 1 February 2016 (2016-02-01), .: "2-N,4-N-bis(4-morpholin-4-ylphenyl)pyridine-2,4-diamine;2,2,2-trifluoroacetic acid", XP055982924, Database accession no. CID-117076332 abstract</p> <p>-----</p>	1-14
X	<p>DATABASE PubChem Compound [Online] 11 February 2016 (2016-02-11), .: "4-N-(3H-benzimidazol-5-yl)-2-N-(4-morpholin-4-ylphenyl)pyridine-2,4-diamine", XP055982935, Database accession no. 117076580 abstract</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>WO 2008/115369 A2 (SCRIPPS RESEARCH INST [US]; LIANG CONGXIN [US] ET AL.) 25 September 2008 (2008-09-25) claims 1, 20</p> <p>-----</p>	1-21
X	<p>KOH S H ET AL: "Protective effects of statins on l-DOPA neurotoxicity due to the activation of phosphatidylinositol 3-kinase and free radical scavenging in PC12 cell culture", BRAIN RESEARCH, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 1370, 25 January 2011 (2011-01-25), pages 53-63, XP027587673, ISSN: 0006-8993 [retrieved on 2011-01-06] the whole document</p> <p>-----</p>	1-8, 10-12, 18-21

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 2

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2022/052323

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

- 1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
 - accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
- 2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
- 3. Additional comments:

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2022/052323

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018098561 A1	07-06-2018	AU 2017369753 A1	18-07-2019
		CN 110691782 A	14-01-2020
		EP 3548496 A1	09-10-2019
		JP 2019536820 A	19-12-2019
		KR 20190135464 A	06-12-2019
		US 2020095252 A1	26-03-2020
		WO 2018098561 A1	07-06-2018

WO 2008115369 A2	25-09-2008	CA 2681015 A1	25-09-2008
		CN 101679264 A	24-03-2010
		CN 103588704 A	19-02-2014
		DK 2134689 T3	30-06-2014
		EP 2134689 A2	23-12-2009
		EP 2727909 A1	07-05-2014
		ES 2485040 T3	12-08-2014
		JP 5569956 B2	13-08-2014
		JP 2010521458 A	24-06-2010
		JP 2014148542 A	21-08-2014
		PL 2134689 T3	31-10-2014
		TW 200901996 A	16-01-2009
		TW 201618780 A	01-06-2016
		US 2011046121 A1	24-02-2011
		US 2013281443 A1	24-10-2013
		WO 2008115369 A2	25-09-2008

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/02 (2006.01)
 A 6 1 K 31/44 (2006.01)
 A 6 1 K 31/496(2006.01)
 A 6 1 K 31/5377(2006.01)
 A 6 1 K 31/4545(2006.01)
 A 6 1 K 31/4725(2006.01)
 A 6 1 K 31/4709(2006.01)
 A 6 1 K 31/506(2006.01)
 A 6 1 K 31/498(2006.01)
 C 0 7 D 213/85 (2006.01)

F I

A 6 1 P 43/00 1 1 1
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 K 31/44
 A 6 1 K 31/496
 A 6 1 K 31/5377
 A 6 1 K 31/4545
 A 6 1 K 31/4725
 A 6 1 K 31/4709
 A 6 1 K 31/506
 A 6 1 K 31/498
 C 0 7 D 213/85

テーマコード (参考)

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
 M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY
 ,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,T
 H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

2 . T R I T O N

ージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス
 リミテッド内

(72)発明者

ウィリアムズ ロジャー エル

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

エンジェル リチャード

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

オルソップ ベン

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

アスクウィズ トレヴァー

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

フーパー アリス

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

イエロン デレク エム

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

チャン エーダブリュー イーディス

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

(72)発明者

オクセンフォード サリー

イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティージェイ グレーター ロンドン ロンドン トッテナム コ
 ート ロード 9 0 ユーシーエル ビジネス リミテッド内

F ターム (参考)

4C086 AA01 AA02 BC17 BC21 BC28 BC30 BC36 BC37 BC50 BC52

BC60 BC73 BC84 CB22 GA07 GA08 GA09 GA12 MA01 MA04 MA13

F ターム (参考)

MA17 MA22 MA23 MA28 MA35 MA37 MA41 MA43 MA52 MA56
MA57 MA59 MA60 MA63 MA66 NA14 ZA20 ZC02 ZC41