

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6625551号  
(P6625551)

(45) 発行日 令和1年12月25日 (2019. 12. 25)

(24) 登録日 令和1年12月6日 (2019. 12. 6)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 403/14 (2006. 01)

C O 7 D 403/14 C S P

A 6 1 K 31/5513 (2006. 01)

A 6 1 K 31/5513

A 6 1 K 31/498 (2006. 01)

A 6 1 K 31/498

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 38 (全 72 頁)

(21) 出願番号 特願2016-558669 (P2016-558669)  
 (86) (22) 出願日 平成27年3月26日 (2015. 3. 26)  
 (65) 公表番号 特表2017-511311 (P2017-511311A)  
 (43) 公表日 平成29年4月20日 (2017. 4. 20)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/056507  
 (87) 国際公開番号 W02015/144803  
 (87) 国際公開日 平成27年10月1日 (2015. 10. 1)  
 審査請求日 平成30年3月23日 (2018. 3. 23)  
 (31) 優先権主張番号 14161820.7  
 (32) 優先日 平成26年3月26日 (2014. 3. 26)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 504162110  
 アステックス、セラピューティックス、リ  
 ミテッド  
 A S T E X T H E R A P E U T I C S  
 L I M I T E D  
 イギリス国ケンブリッジ、ミルトン、ロー  
 ド、ケンブリッジ、サイエンス、パーク、  
 4 3 6  
 (74) 代理人 100091982  
 弁理士 永井 浩之  
 (74) 代理人 100091487  
 弁理士 中村 行孝  
 (74) 代理人 100082991  
 弁理士 佐藤 泰和

最終頁に続く

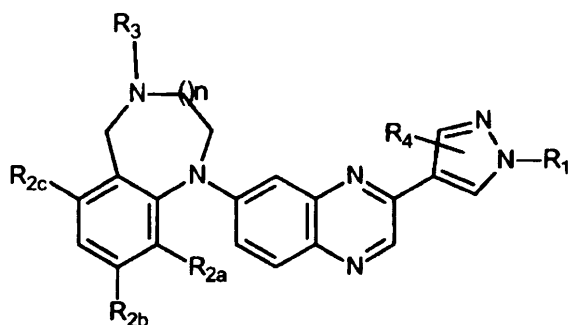
(54) 【発明の名称】 F G F R キナーゼ調節剤として有用なキノキサリン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) で示される化合物、またはその任意の互変異性型もしくは立体化学異性型、またはその薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物：

【化 1】



(I)

[ 式中、

n は、1 または 2 に等しい整数を表し；

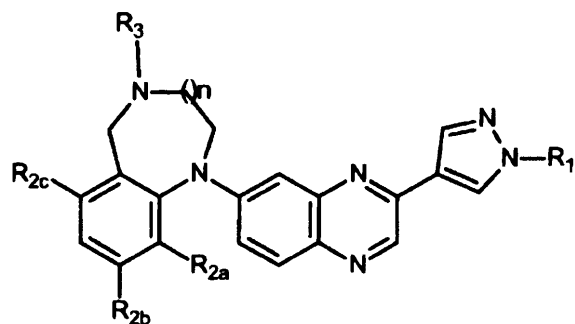
R<sub>1</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - 6 アルキル、ヒドロキシ C<sub>1</sub> - 6 アルキル、- C ( = O ) N H C  
 H<sub>3</sub> で置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキル、または - S ( = O )<sub>2</sub> - C<sub>1</sub> - 4 アルキルで置換され  
 た C<sub>1</sub> - 6 アルキルを表し；

$R_{2a}$  は、水素、フルオロまたはクロロを表し；  
 $R_{2b}$  または  $R_{2c}$  は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表し；  
 $R_3$  は、水素、 $C_{1-6}$  アルキル、 $C_{3-6}$  シクロアルキル、または  $C_{3-6}$  シクロアルキルで置換された  $C_{1-2}$  アルキルを表し；  
 $R_4$  は、水素、メチルまたはエチルを表す]。

【請求項 2】

下記構造：

【化 2】



(Ia)

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

$R_{2a}$  が水素またはフルオロを表す、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

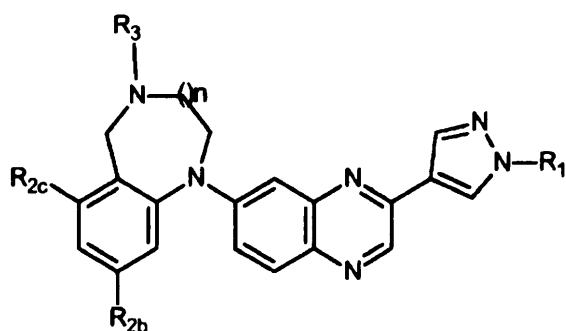
【請求項 4】

$R_{2a}$  がフルオロを表す、請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

下記構造：

【化 3】



(Ib)

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

$n$  が 1 に等しい整数を表す、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7】

$R_3$  が水素を表す、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 8】

$R_3$  が  $C_{1-6}$  アルキルを表す、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

$R_3$  が  $C_{1-4}$  アルキルを表す、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 10】

下記構造：

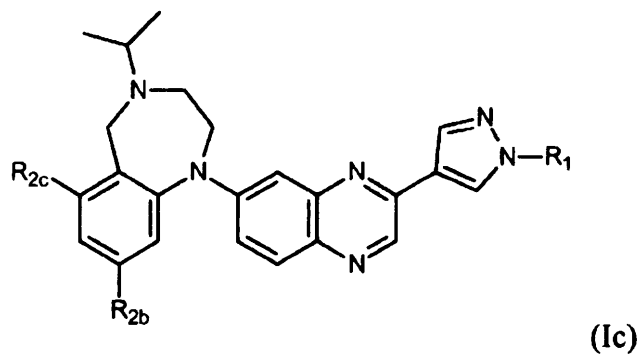
10

20

30

40

## 【化 4】



10

を有する、請求項 1 ~ 6、8 および 9 のいずれか一項に記載の化合物。

## 【請求項 11】

$R_1$  が水素または  $C_{1-6}$  アルキルを表す、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の化合物。

## 【請求項 12】

$R_1$  が  $C_{1-6}$  アルキルを表す、請求項 11 に記載の化合物。

## 【請求項 13】

$R_1$  がメチルを表す、請求項 12 に記載の化合物。

20

## 【請求項 14】

$R_{2b}$  がメトキシを表す、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の化合物。

## 【請求項 15】

$R_{2b}$  がヒドロキシを表す、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の化合物。

## 【請求項 16】

$R_{2c}$  がメトキシを表す、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

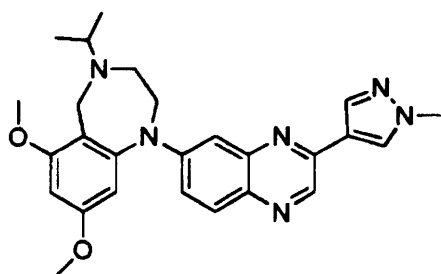
## 【請求項 17】

$R_{2c}$  がヒドロキシを表す、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

## 【請求項 18】

## 【化 5】

30

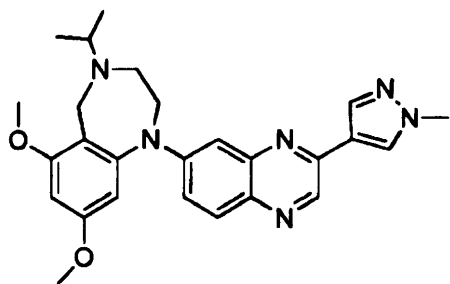


である、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩もしくは溶媒和物。

40

## 【請求項 19】

【化 6】

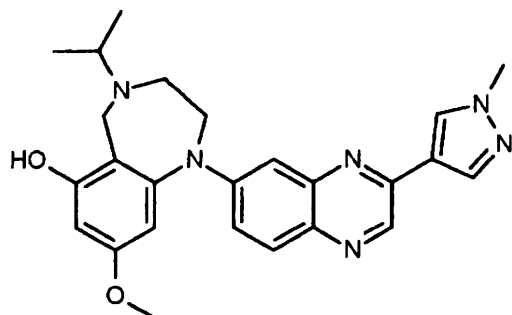


10

である、請求項 18 に記載の化合物。

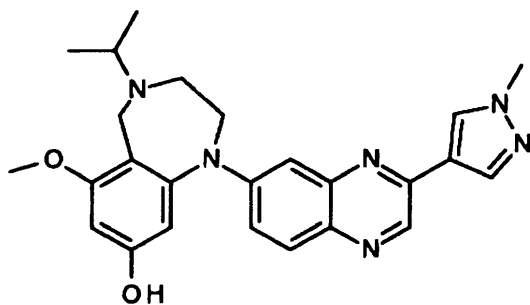
【請求項 20】

【化 7】



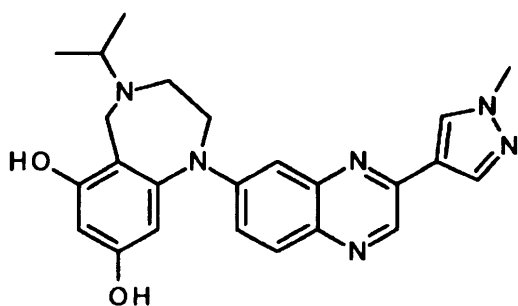
20

;



30

;および



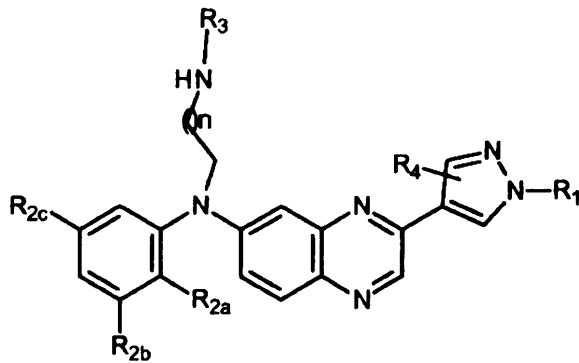
40

から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 21】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物の製造方法であって、  
式 (II) の化合物：

## 【化 8】



10

## (III)

(式中、 $R_1$ 、 $R_{2a}$ 、 $R_{2b}$ 、 $R_{2c}$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $n$  は請求項 1 に定義される通り) をジオキサン、 $N,N$ -ジメチルホルムアミド、または  $N,N$ -ジメチルアセトアミドの存在下、室温から還流までの範囲の温度でホルムアルデヒドと反応させることを含んでなる、方法。

## 【請求項 2 2】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の化合物を含んでなる、医薬組成物。

20

## 【請求項 2 3】

癌の予防または治療において使用するための、請求項 2 2 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 2 4】

前記癌が、膀胱癌、尿路上皮癌、転移性尿路上皮癌、外科摘出不能尿路上皮癌、乳癌、膠芽腫、肺癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞肺癌、肺の腺癌、肺腺癌、小細胞肺癌、卵巣癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、軟組織肉腫、頭頸部扁平上皮癌、胃癌、食道癌、食道の扁平上皮癌、食道の腺癌、胆管癌または肝細胞癌である、癌の治療において使用するための、請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 2 5】

前記癌が、尿路上皮癌、転移性尿路上皮癌または外科摘出不能尿路上皮癌である、請求項 2 4 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

30

## 【請求項 2 6】

前記癌が膀胱癌である、請求項 2 4 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

## 【請求項 2 7】

前記癌が FGF R 3 の染色体転座を伴う膀胱癌である、請求項 2 6 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

## 【請求項 2 8】

前記癌が FGF R 3 の点突然変異を伴う膀胱癌である、請求項 2 6 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

40

## 【請求項 2 9】

(i) 前記癌が、FGF R 1、FGF R 2、FGF R 3 若しくは FGF R 4 の突然変異体を有する腫瘍である、

(ii) 前記癌が、FGF R 2 若しくは FGF R 3 の機能獲得型突然変異体を有する腫瘍である、または

(iii) 前記癌が、FGF R 1 の過剰発現を伴う腫瘍である、  
請求項 2 3 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

## 【請求項 3 0】

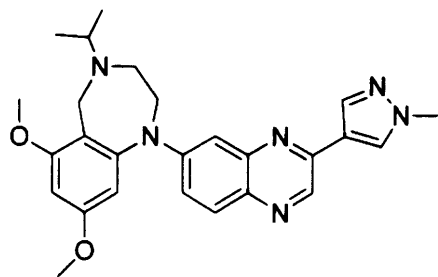
前記癌が胆管癌である、請求項 2 4 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

50

## 【請求項 3 1】

前記化合物が、式：

## 【化 9】



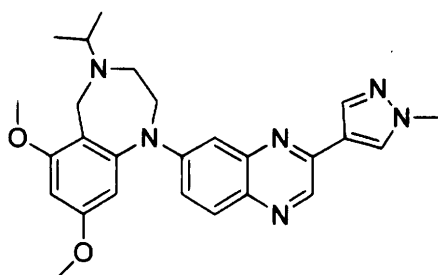
10

である、請求項 2 3 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

## 【請求項 3 2】

前記化合物が、式：

## 【化 1 0】



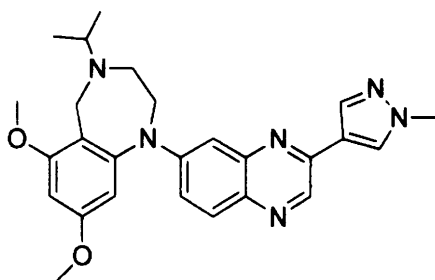
20

である、請求項 2 4 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

## 【請求項 3 3】

前記化合物が、式：

## 【化 1 1】



30

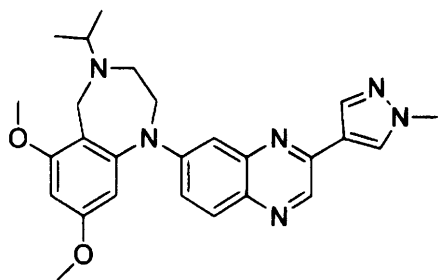
である、請求項 2 5 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

## 【請求項 3 4】

前記化合物が、式：

40

【化 1 2】



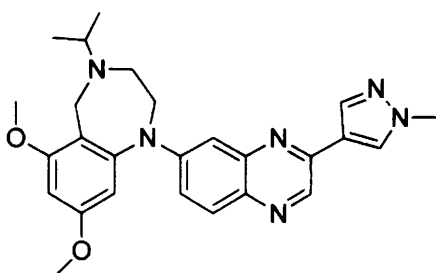
10

である、請求項 2 6 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

【請求項 3 5】

前記化合物が、式：

【化 1 3】



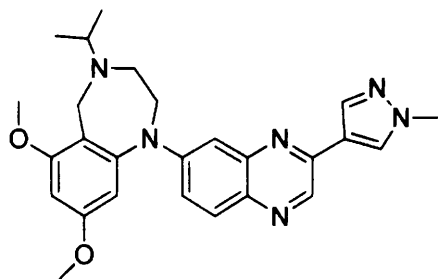
20

である、請求項 2 7 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

【請求項 3 6】

前記化合物が、式：

【化 1 4】



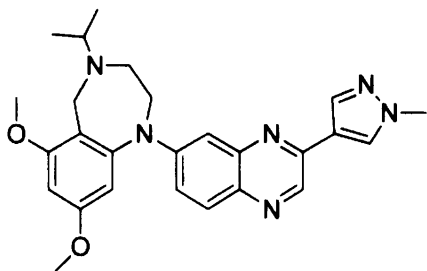
30

である、請求項 2 8 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

【請求項 3 7】

前記化合物が、式：

【化 1 5】



40

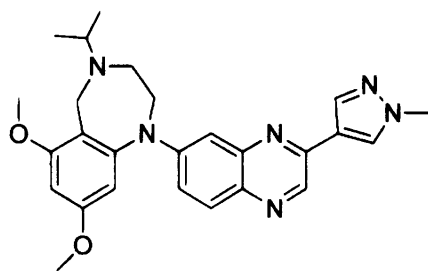
である、請求項 2 9 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

【請求項 3 8】

50

前記化合物が、式：

【化 1 6】



10

である、請求項 3 0 に記載の癌の治療において使用するための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

本発明は、新規なキノキサリン誘導体化合物、前記化合物を含んでなる医薬組成物、前記化合物の製造方法および、疾患、例えば癌の治療における前記化合物の使用に関する。

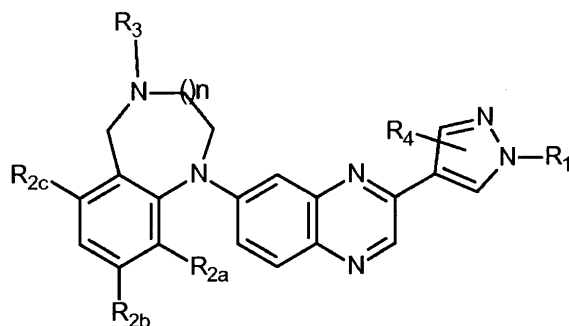
【発明の概要】

【 0 0 0 2 】

本発明の第一の側面によれば、式 ( I )：

【化 1】

20



(I)

30

[ 式中、

$n$  は、1 または 2 に等しい整数を表し；

$R_1$  は、水素、 $C_{1-6}$  アルキル、ヒドロキシ  $C_{1-6}$  アルキル、 $-C(=O)NHCH_3$  で置換された  $C_{1-6}$  アルキル、または  $-S(=O)_2-C_{1-4}$  アルキルで置換された  $C_{1-6}$  アルキルを表し；

$R_{2a}$  は、水素、フルオロまたはクロロを表し；

$R_{2b}$  または  $R_{2c}$  は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表し；

$R_3$  は、水素、 $C_{1-6}$  アルキル、 $C_{3-6}$  シクロアルキル、または  $C_{3-6}$  シクロアルキルで置換された  $C_{1-2}$  アルキルを表し；

$R_4$  は、水素、メチルまたはエチルを表す]

40

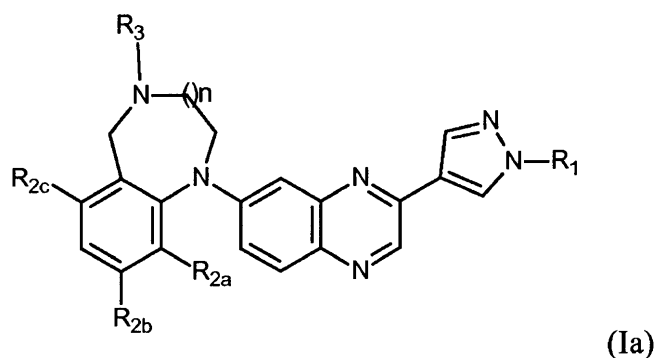
で示される、その任意の互変異性型または立体化学異性型を含む化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物が提供される。

【 0 0 0 3 】

一つの実施態様では、式 ( I a )：



## 【化2】



10

[ 式中、

n は、1 または 2 に等しい整数を表し；

R<sub>1</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - 6 アルキル、ヒドロキシ C<sub>1</sub> - 6 アルキル、- C(=O)NHCH<sub>3</sub> で置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキル、または - S(=O)<sub>2</sub> - C<sub>1</sub> - 4 アルキルで置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキルを表し；

R<sub>2a</sub> は、水素、フルオロまたはクロロを表し；R<sub>2b</sub> または R<sub>2c</sub> は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表し；

R<sub>3</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - 6 アルキル、C<sub>3</sub> - 6 シクロアルキル、または C<sub>3</sub> - 6 シクロアルキルで置換された C<sub>1</sub> - 2 アルキルを表す]

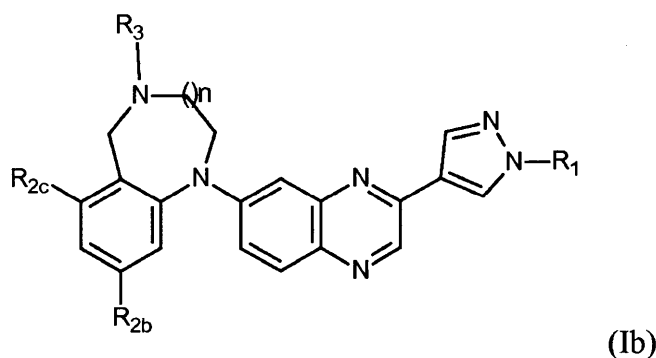
20

で示される、その任意の互変異性型または立体化学異性型を含む化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物が提供される。

## 【0004】

一つの実施態様では、式 (Ib)：

## 【化3】



30

[ 式中、

n は、1 または 2 に等しい整数を表し；

R<sub>1</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - 6 アルキル、ヒドロキシ C<sub>1</sub> - 6 アルキル、- C(=O)NHCH<sub>3</sub> で置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキル、または - S(=O)<sub>2</sub> - C<sub>1</sub> - 4 アルキルで置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキルを表し；

40

R<sub>2b</sub> または R<sub>2c</sub> は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表し；

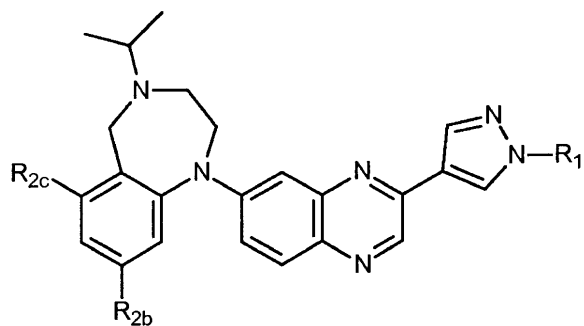
R<sub>3</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - 6 アルキル、C<sub>3</sub> - 6 シクロアルキル、または C<sub>1</sub> - 2 アルキルで置換された C<sub>3</sub> - 6 シクロアルキルを表す]

で示される、その任意の互変異性型または立体化学異性型を含む化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物が提供される。

## 【0005】

一つの実施態様では、式 (Ic)：

## 【化 4】



(Ic)

10

[ 式中、

R<sub>1</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - 6 アルキル、ヒドロキシ C<sub>1</sub> - 6 アルキル、- C(=O)NHCH<sub>3</sub> で置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキル、または - S(=O)<sub>2</sub> - C<sub>1</sub> - 4 アルキルで置換された C<sub>1</sub> - 6 アルキルを表し；

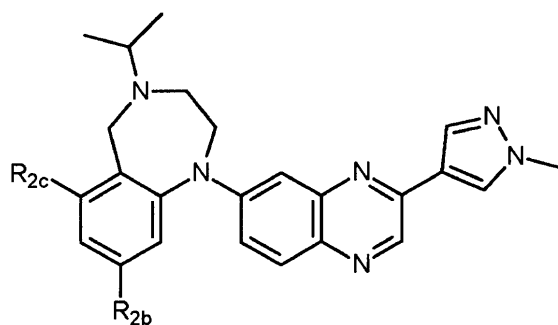
R<sub>2b</sub> または R<sub>2c</sub> は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表す ]  
 で示される、その任意の互変異性型または立体化学異性型を含む化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物が提供される。

## 【 0 0 0 6 】

20

一つの実施態様では、式 ( I d ) :

## 【化 5】



(Id)

30

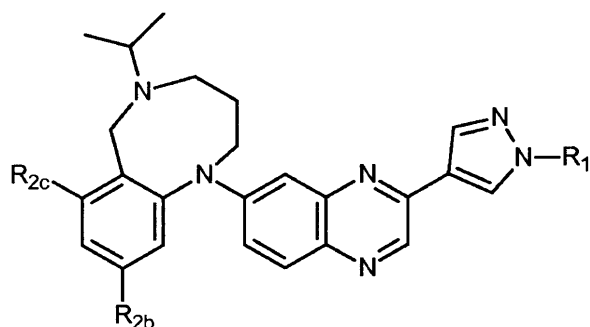
[ 式中、

R<sub>2b</sub> または R<sub>2c</sub> は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表す ]  
 で示される、その任意の互変異性型または立体化学異性型を含む化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物が提供される。

## 【 0 0 0 7 】

一つの実施態様では、式 ( I e ) :

## 【化 6】



(Ie)

10

[ 式中、

$R_1$  は、水素、 $C_{1-6}$  アルキル、ヒドロキシ  $C_{1-6}$  アルキル、 $-C(=O)NHCH_3$  で置換された  $C_{1-6}$  アルキル、または  $-S(=O)_2-C_{1-4}$  アルキルで置換された  $C_{1-6}$  アルキルを表し；

$R_{2b}$  または  $R_{2c}$  は、それぞれ独立に、メトキシまたはヒドロキシルを表す] で示される、その任意の互変異性型または立体化学異性型を含む化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物が提供される。

## 【0008】

20

それぞれ一連のヘテロシクリル誘導体を開示する WO 2006/092430、WO 2008/003702、WO 01/68047、WO 2005/007099、WO 2004/098494、WO 2009/141386、WO 2004/030635、WO 2008/141065、WO 2011/026579、WO 2011/028947、WO 2007/003419、WO 00/42026、WO 2012/154760、WO 2011/047129、WO 2003/076416、WO 2002/096873、WO 2000/055153、EP 548934、US 4166117、WO 2011/135376、WO 2012/073017、WO 2013/061074、WO 2013/061081、WO 2013/061077、WO 2013/061080、WO 2013/179034、WO 2013/179033、WO 2014/174307。

30

## 【発明の具体的説明】

## 【0009】

文脈がそうではないことを示さない限り、本明細書の総ての節において（本発明の使用、方法および他の側面を含む）式（I）という場合には、本明細書に定義される他の総ての部分式（例えば、I a、I b、I c、I d）、サブグループ、選択肢、実施態様および例に対する言及を含む。

## 【0010】

本明細書において接頭辞「 $C_{x-y}$ 」（ここで、 $x$  および  $y$  は整数である）は、所与の基における炭素原子の数を意味する。従って、 $C_{1-6}$  アルキル基は 1 ~ 6 個の炭素原子を含み、 $C_{3-6}$  シクロアルキル基は 3 ~ 6 個の炭素原子を含み、ヒドロキシ  $C_{1-6}$  アルキル基は 1 ~ 6 個の炭素原子を含むなどである。

40

## 【0011】

本明細書において基または基の一部としての用語「 $C_{1-2}$  アルキル」、「 $C_{1-4}$  アルキル」、または「 $C_{1-6}$  アルキル」は、1 または 2 個、または 1 ~ 4 個、または 1 ~ 6 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐型飽和炭化水素基を意味する。このような基の例としてはメチル、エチル、 $n$ -プロピル、イソプロピル、 $n$ -ブチル、イソブチル、 $sec$ -ブチル、 $tert$ -ブチル、 $n$ -ペンチル、イソペンチル、ネオペンチルまたはヘキシルなどが挙げられる。

## 【0012】

用語「 $C_{3-6}$  シクロアルキル」は本明細書において、3 ~ 6 個の炭素原子の飽和単環

50

式炭化水素環を意味する。このような基の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルが挙げられる。

【0013】

本明細書において基または基の一部としての用語「ヒドロキシ $C_{1-4}$ アルキル」または「ヒドロキシ $C_{1-6}$ アルキル」は、1または複数の水素原子がヒドロキシル基で置換されている、本明細書で定義される $C_{1-4}$ アルキルまたは $C_{1-6}$ アルキル基を意味する。従って、用語「ヒドロキシ $C_{1-4}$ アルキル」または「ヒドロキシ $C_{1-6}$ アルキル」は、モノヒドロキシ $C_{1-4}$ アルキル、モノヒドロキシ $C_{1-6}$ アルキルおよびまたポリヒドロキシ $C_{1-4}$ アルキルおよびポリヒドロキシ $C_{1-6}$ アルキルを含む。1、2、3またはそれを超える水素原子がヒドロキシル基で置換されてよく、従って、ヒドロキシ $C_{1-4}$ アルキルまたはヒドロキシ $C_{1-6}$ アルキルは1、2、3またはそれを超えるヒドロキシル基を有し得る。このような基の例としては、ヒドロキシメチル、ヒドロキシエチル、ヒドロキシプロピルなどが挙げられる。

10

【0014】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $n$ は、1に等しい整数を表す。

【0015】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $n$ は、2に等しい整数を表す。

【0016】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_1$ は、水素または $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-6}$ アルキル、より特には、メチルを表す。

20

【0017】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_1$ は、水素または $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-6}$ アルキル、より特には、エチルを表す。

【0018】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_1$ は、水素を表す。

【0019】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2a}$ は、水素またはフルオロを表す。

【0020】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2a}$ は、水素を表す。

30

【0021】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2a}$ は、フルオロを表す。

【0022】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2b}$ は、メトキシを表す。

【0023】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2b}$ は、ヒドロキシを表す。

【0024】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2c}$ は、メトキシを表す。

【0025】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2c}$ は、ヒドロキシを表す。

40

【0026】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2b}$ は、メトキシを表し、 $R_{2c}$ は、ヒドロキシルを表す。

【0027】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2b}$ は、ヒドロキシルを表し、 $R_{2c}$ は、メトキシを表す。

【0028】

一つの実施態様では、式(I)の化合物において、 $R_{2b}$ および $R_{2c}$ は両方ともメトキシを表す。

【0029】

50

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともヒドロキシを表す。

【0030】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、 $R_3$  は、水素を表す。

【0031】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、 $R_3$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルを表す。

【0032】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、 $R_3$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、メチルを表す。

10

【0033】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、 $R_4$  は、水素を表す。

【0034】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、 $R_4$  は、メチルまたはエチルを表す。

【0035】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、

$n$  は、1 に等しい整数を表し；

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルを表し；

$R_{2a}$  は、水素またはフルオロ、特に、水素を表し；

20

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表し；

$R_3$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルを表し；

$R_4$  は、水素を表す。

【0036】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、

$n$  は、1 または 2 に等しい整数を表し；

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルまたはエチルを表し；

30

$R_{2a}$  は、水素またはフルオロ、特に、水素を表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表し；

$R_3$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルまたはメチルを表し；

$R_4$  は、水素を表す。

【0037】

一つの実施態様では、式 (Ia) の化合物において、 $n$  は、1 に等しい整数を表す。

【0038】

一つの実施態様では、式 (Ia) の化合物において、 $n$  は、2 に等しい整数を表す。

40

【0039】

一つの実施態様では、式 (Ia) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、メチルを表す。

【0040】

一つの実施態様では、式 (Ia) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、エチルを表す。

【0041】

一つの実施態様では、式 (Ia) の化合物において、 $R_1$  は、水素を表す。

【0042】

一つの実施態様では、式 (Ia) の化合物において、 $R_{2a}$  は、水素またはフルオロを

50

表す。

【0043】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2a}$ は、水素を表す。

【0044】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2a}$ は、フルオロを表す。

【0045】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2b}$ は、メトキシを表す。

【0046】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2b}$ は、ヒドロキシを表す。

【0047】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2c}$ は、メトキシを表す。

【0048】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2c}$ は、ヒドロキシを表す。

【0049】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2b}$ は、をメトキシ表し、 $R_{2c}$ は、ヒドロキシルを表す。

【0050】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2b}$ は、ヒドロキシルを表し、 $R_{2c}$ は、メトキシを表す。

【0051】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2b}$ および $R_{2c}$ は両方ともメトキシを表す。

【0052】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_{2b}$ および $R_{2c}$ は両方ともヒドロキシルを表す。

【0053】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_3$ は、水素を表す。

【0054】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_3$ は、 $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-4}$ アルキル、いっそうより特には、イソプロピルを表す。

【0055】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、 $R_3$ は、 $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-4}$ アルキル、いっそうより特には、メチルを表す。

【0056】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、

$n$ は、1に等しい整数を表し；

$R_1$ は、 $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-4}$ アルキル、より特には、メチルを表し；

$R_{2a}$ は、水素またはフルオロ、特に、水素を表し；

$R_{2b}$ は、メトキシを表し；

$R_{2c}$ は、メトキシを表し；

$R_3$ は、水素または $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-6}$ アルキル、より特には、 $C_{1-4}$ アルキル、いっそうより特には、イソプロピルを表す。

【0057】

一つの実施態様では、式(I a)の化合物において、

$n$ は、1または2に等しい整数を表し；

$R_1$ は、 $C_{1-6}$ アルキル、特に、 $C_{1-4}$ アルキル、より特には、メチルまたはエチルを表し；

$R_{2a}$ は、水素またはフルオロ、特に、水素を表し；

$R_{2b}$ は、メトキシを表し；

$R_{2c}$ は、メトキシを表し；

$R_3$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルまたはメチルを表す。

【0058】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $n$  は、1 に等しい整数を表す。

【0059】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $n$  は、2 に等しい整数を表す。

【0060】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、メチルを表す。

【0061】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、エチルを表す。

【0062】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_1$  は、水素を表す。

【0063】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表す。

【0064】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシを表す。

【0065】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

【0066】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシを表す。

【0067】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表し、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシルを表す。

【0068】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシルを表し、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

【0069】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともメトキシを表す。

【0070】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともヒドロキシルを表す。

【0071】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_3$  は、水素を表す。

【0072】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_3$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルを表す。

【0073】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、 $R_3$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、メチルを表す。

【0074】

一つの実施態様では、式 (I b) の化合物において、

$n$  は、1 に等しい整数を表し；

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルを表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表し；

$R_3$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルを表す。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 7 5 】

一つの実施態様では、式 ( I b ) の化合物において、

$n$  は、1 または 2 に等しい整数を表し；

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルまたはエチルを表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表し；

$R_3$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルまたはメチルを表す。

## 【 0 0 7 6 】

10

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、メチルを表す。

## 【 0 0 7 7 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、エチルを表す。

## 【 0 0 7 8 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_1$  は、水素を表す。

## 【 0 0 7 9 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表す。

## 【 0 0 8 0 】

20

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシを表す。

## 【 0 0 8 1 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

## 【 0 0 8 2 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシを表す。

## 【 0 0 8 3 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表し、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシルを表す。

## 【 0 0 8 4 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシルを表し、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

30

## 【 0 0 8 5 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともメトキシを表す。

## 【 0 0 8 6 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともヒドロキシルを表す。

## 【 0 0 8 7 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルを表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表す。

40

## 【 0 0 8 8 】

一つの実施態様では、式 ( I c ) の化合物において、

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルまたはエチルを表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表す。

## 【 0 0 8 9 】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表す。

50



## 【0090】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシを表す。

## 【0091】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

## 【0092】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシを表す。

## 【0093】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表し、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシルを表す。

## 【0094】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシルを表し、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

## 【0095】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともメトキシを表す。

## 【0096】

一つの実施態様では、式 ( I d ) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともヒドロキシルを表す。

## 【0097】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、メチルを表す。

## 【0098】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、エチルを表す。

## 【0099】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_1$  は、水素を表す。

## 【0100】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表す。

## 【0101】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシを表す。

## 【0102】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

## 【0103】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシを表す。

## 【0104】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、メトキシを表し、 $R_{2c}$  は、ヒドロキシルを表す。

## 【0105】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2b}$  は、ヒドロキシルを表し、 $R_{2c}$  は、メトキシを表す。

## 【0106】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともメトキシを表す。

## 【0107】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、 $R_{2b}$  および  $R_{2c}$  は両方ともヒドロキシルを表す。

## 【0108】

一つの実施態様では、式 ( I e ) の化合物において、

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルを表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

10

20

30

40

50

$R_{2c}$  は、メトキシを表す。

【0109】

一つの実施態様では、式 (Ie) の化合物において、

$R_1$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルまたはエチルを表し；

$R_{2b}$  は、メトキシを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシを表す。

【0110】

一つの実施態様では、式 (I) の化合物において、

$n$  は、1 または 2 に等しい整数を表し；

10

$R_1$  は、水素または  $C_{1-6}$  アルキル、特に、 $C_{1-4}$  アルキル、より特には、メチルまたはエチルを表し；

$R_{2a}$  は、水素またはフルオロ、特に、水素を表し；

$R_{2b}$  は、メトキシまたはヒドロキシルを表し；

$R_{2c}$  は、メトキシまたはヒドロキシルを表し；

$R_3$  は、 $C_{1-6}$  アルキル、より特には、 $C_{1-4}$  アルキル、いっそうより特には、イソプロピルまたはメチルを表し；

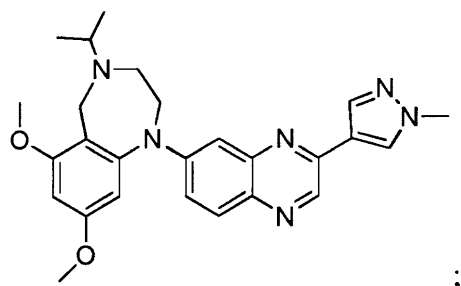
$R_4$  は、水素を表す。

【0111】

一つの実施態様では、本明細書で定義される式 (I) の化合物は下記化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物から選択されるか、または下記化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物の 1 つである。

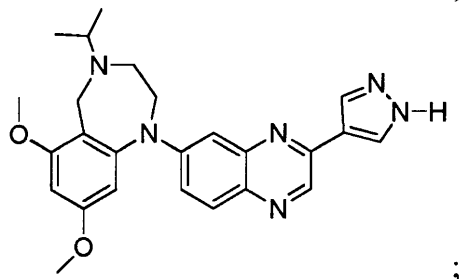
20

## 【化 7】

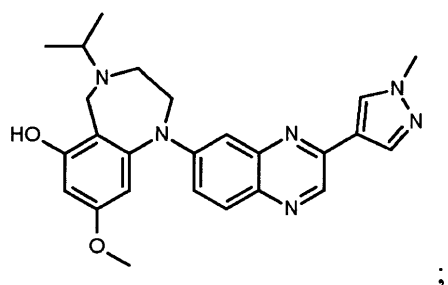


;

10

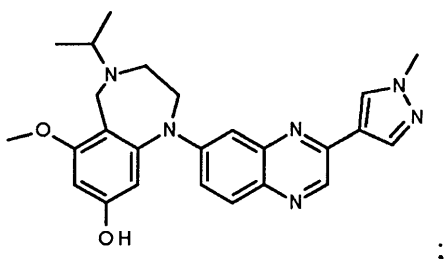


;



;

20



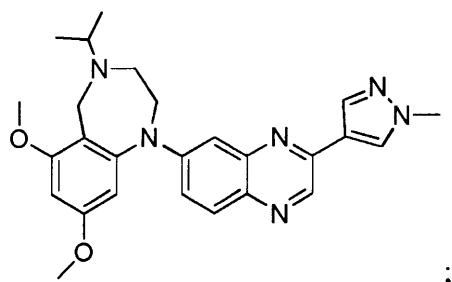
;

30

## 【 0 1 1 2 】

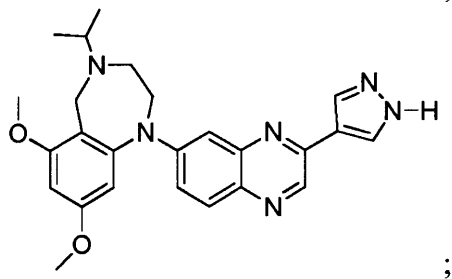
一つの実施態様では、本明細書で定義される式 (I) の化合物は、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物から選択されるか、または下記化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物の 1 つである。

## 【化 8】



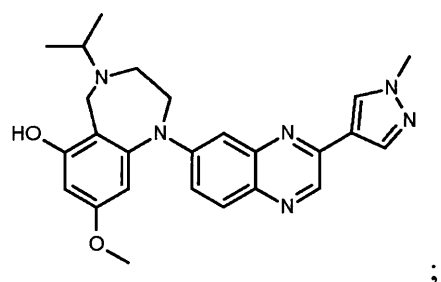
;

10



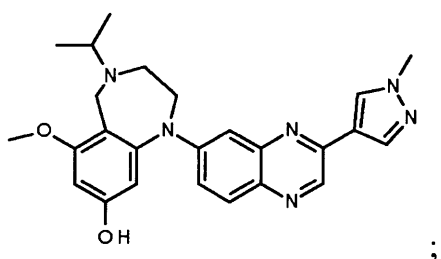
;

20

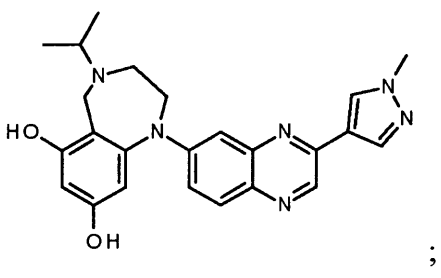


;

30

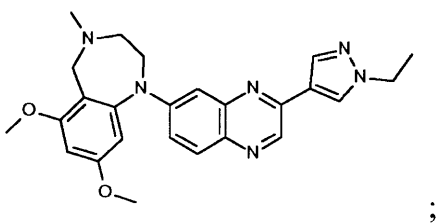


;

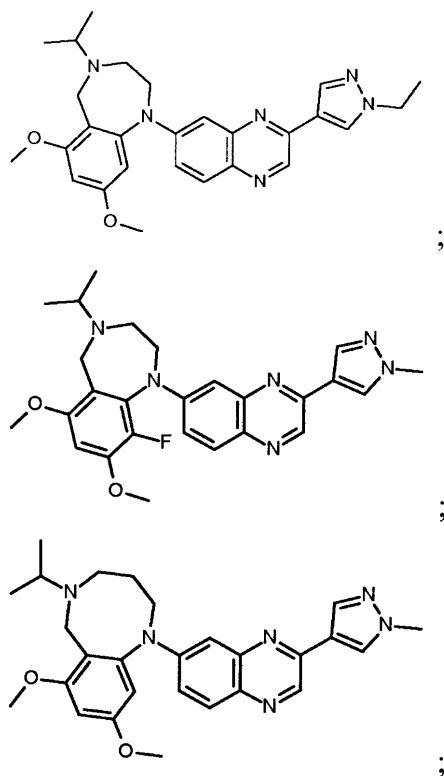


;

40



;



10

20

## 【0113】

疑念を避けるため、1つの置換基の一般的かつ具体的選択肢、実施態様および例のそれぞれは、本明細書に定義される1以上の、好ましくは、総ての他の置換基の一般的かつ具体的選択肢、実施態様および例のそれぞれと組み合わせることができ、また、このような実施態様は総て本出願に包含されると理解すべきである。

## 【0114】

## 式(I)の化合物の製造方法

本出願の他の総ての節と同様にこの節でも、文脈がそうではないことを示さない限り、式(I)という場合には、本明細書に定義される他の総てのそのサブグループおよび例も含む。

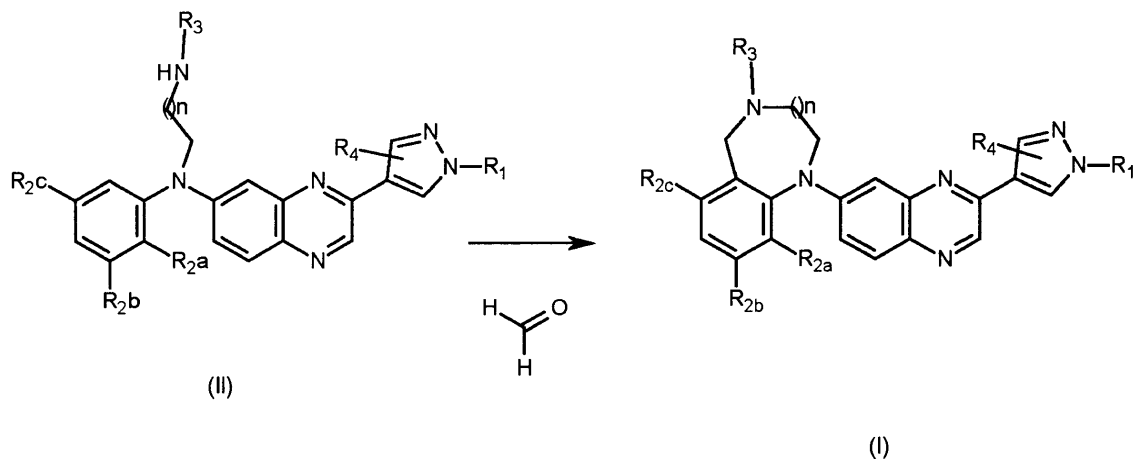
## 【0115】

一般に、式(I)の化合物は、下記反応スキーム1に従って製造することができる。

30

## 【化 9】

スキーム 1



10

## 【0116】

スキーム 1 では、下記反応条件が当てはまる：

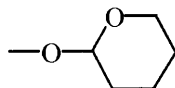
1：室温から還流までの範囲の温度で、好適な溶媒（例えば、ジオキサン、N，N - ジメチルホルムアミド、N，N - ジメチルアセトアミド）の存在下での、式（II）の中間体とホルムアルデヒドとの反応。

20

## 【0117】

どの条件で、分子のどの部分に保護基が適当であり得るかを認識することは当業者の知識の範囲内にあると考えられる。例えば、R<sub>1</sub> 置換基上もしくはピラゾール部分上の保護基、または R<sub>3</sub> 置換基上もしくは R<sub>2a</sub>、b、c 置換基上の保護基、またはそれらの組合せ。当業者ならば、例えば、-C(=O)-O-C<sub>1-4</sub> アルキルまたは

## 【化 10】



30

または O-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) または -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub> などの最も実現可能な保護基を認識することができると考えられる。

## 【0118】

本発明はまた、変性化合物を含んでなる。これらの変性化合物は、合成工程中で適当な変性中間体を使用することにより製造され得る。

## 【0119】

式（I）の化合物はまた、技術分野で公知の反応または官能基変換により互いに変換することもできる。

40

## 【0120】

R<sub>1</sub> が水素を表す式（I）の化合物は、好適な塩基（例えば、水素化ナトリウムまたは炭酸カリウム）および好適な溶媒（例えば、アセトニトリルまたは N，N - ジメチルホルムアミド）の存在下で、W が好適な脱離基（例えば、ハロ、例えば、ブromo など）を表す C<sub>1-6</sub> アルキル-W または ヒドロキシ C<sub>1-6</sub> アルキル-W と反応させることにより、R<sub>1</sub> が C<sub>1-6</sub> アルキルまたは ヒドロキシ C<sub>1-6</sub> アルキルを表す式（I）の化合物に変換することができる。

## 【0121】

R<sub>1</sub> が水素を表す式（I）の化合物はまた、好適な塩基（例えば、水素化ナトリウム）および好適な溶媒（例えば、N，N - ジメチルホルムアミド）の存在下で、W - C<sub>1-6</sub>

50

【 0 1 2 2 】

10

【 0 1 2 3 】

【 0 1 2 4 】

20

【 0 1 2 5 】

【化 1 1】

## 30

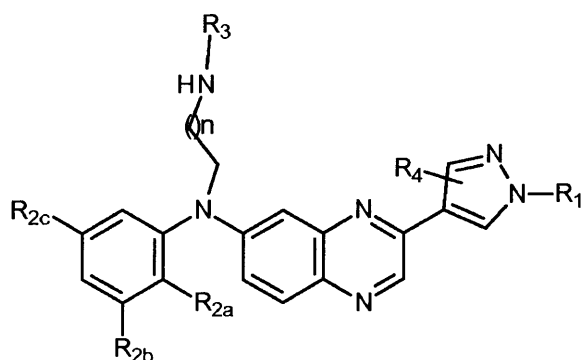


【 0 1 2 6 】

【 0 1 2 7 】

50

## 【化 1 2】



(II)

(式中、 $R_1$ 、 $R_{2a}$ 、 $R_{2b}$ 、 $R_{2c}$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $n$  は本明細書で定義される通り)

の化合物をホルムアルデヒド反応させること；および場合により、式 (I) のある化合物を式 (I) の別の化合物に変換することを含んでなる。

## 【0128】

薬学的に許容可能な塩、その溶媒和物または誘導体

本出願の他の総ての節と同様にこの節でも、文脈がそうではないことを示さない限り、式 (I) という場合には、本明細書に定義される他の総てのそのサブグループ、選択肢、実施態様および例も含む。

## 【0129】

特に断りのない限り、特定の化合物をさす場合には、例えば後述されるような、そのイオン形態、塩、溶媒和物、異性体、互変異性体、エステル、プロドラッグ、同位体および保護形態、好ましくは、そのイオン形態または塩または互変異性体または異性体または溶媒和物、より好ましくは、そのイオン形態または塩または互変異性体または溶媒和物または保護形態、いっそうより好ましくは、その塩または互変異性体または溶媒和物も含む。式 (I) の多くの化合物は、塩、例えば、酸付加塩、またはある特定の場合には、有機塩基および無機塩基の塩、例えば、カルボン酸塩、スルホン酸塩およびリン酸塩の形態で存在し得る。このような塩は総て、本発明の範囲内にあり、式 (I) の化合物という場合には、それらの化合物の塩形態も含む。「誘導体」という場合には、そのイオン形態、塩、溶媒和物、異性体、互変異性体、エステル、プロドラッグ、同位体および保護形態も含むと考えられる。

## 【0130】

本発明の一つの側面によれば、本明細書に定義される化合物またはその塩、互変異性体、または溶媒和物が提供される。本発明のさらなる側面によれば、本明細書に定義される化合物またはその塩もしくは溶媒和物が提供される。本明細書に定義される式 (I) の化合物およびそのサブグループという場合には、それらの化合物の塩または溶媒和物または互変異性体もそれらの範囲内に含む。

## 【0131】

本発明の化合物の塩形態は一般に薬学的に許容可能な塩であり、薬学的に許容可能な塩の例は Berge et al. (1977) "Pharmaceutically Acceptable Salts," J.Pharm. Sci., Vol. 66, 1-19 頁に記載されている。しかしながら、薬学的に許容可能なものではない塩が中間体形態として製造されてもよく、これらの中間体形態はその後、薬学的に許容可能な塩に変換することができる。例えば、本発明の化合物の精製または分離に有用であり得るこのような薬学的に許容可能なものではない塩形態も、本発明の一部をなす。



## 【 0 1 3 2 】

本発明の塩は、Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (編), Camille G. Wermuth (編), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388頁, 2002年8月に記載されている方法などの通常の化学法により、塩基性部分または酸性部分を含む親化合物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型または遊離塩基型を、水中または有機溶媒中、または両者の混合物中で適当な塩基または酸と反応させることにより製造することができ、一般には、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などの非水性媒体が用いられる。本発明の化合物は、塩が形成される酸の  $pK_a$  に応じて一塩または二塩として存在し得る。

10

## 【 0 1 3 3 】

酸付加塩は、無機および有機双方の多様な酸で形成できる。酸付加塩の例としては、酢酸、2,2-ジクロロ酢酸、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸（例えば、L-アスコルビン酸）、L-アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、4-アセトアミド安息香酸、酪酸、(+)-樟脳酸、カンファー-スルホン酸、(+)-(1S)-カンファー-10-スルホン酸、カブリン酸、カブロン酸、カプリル酸、桂皮酸、クエン酸、シクラミン酸、ドデシル硫酸、エタン-1,2-ニスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、ガラクトール酸、ゲンチジン酸、グルコヘプトン酸、D-グルコン酸、グルクロン酸（例えば、D-グルクロン酸）、グルタミン酸（例えば、L-グルタミン酸）、-オキシグルタル酸、グリコール酸、馬尿酸、臭化水素酸、塩酸、ヨウ化水素酸、イセチオン酸、乳酸（例えば、(+)-L-乳酸、(+)-D-L-乳酸）、ラクチオン酸、マレイン酸、リンゴ酸、(-)-L-リンゴ酸、マロン酸、(+)-D-L-マンデル酸、メタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸（例えば、ナフタレン-2-スルホン酸）、ナフタレン-1,5-ニスルホン酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、ニコチン酸、硝酸、オレイン酸、オロチン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、リン酸、プロピオン酸、L-ピログルタミン酸、ピルビン酸、サリチル酸、4-アミノ-サリチル酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、タンニン酸、(+)-L-酒石酸、チオシアン酸、トルエンスルホン酸（例えば、p-トルエンスルホン酸）、ウンデシレン酸および吉草酸からなる群から選択される酸、ならびにアシル化アミノ酸および陽イオン交換樹脂により形成される塩が挙げられる。

20

30

## 【 0 1 3 4 】

塩の1つの特定の群は、酢酸、塩酸、ヨウ化水素酸、リン酸、硝酸、硫酸、クエン酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、リンゴ酸、イセチオン酸、フマル酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸（メシル酸）、エタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、吉草酸、酢酸、プロパン酸、ブタン酸、マロン酸、グルクロン酸およびラクチオン酸から形成される塩からなる。酸付加塩の別の群としては、酢酸、アジピン酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、クエン酸、D-L-乳酸、フマル酸、グルコン酸、グルクロン酸、馬尿酸、塩酸、グルタミン酸、D-L-リンゴ酸、メタンスルホン酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸および酒石酸から形成される塩を含む。

## 【 0 1 3 5 】

化合物が陰イオン性であるか、または陰イオン性となり得る官能基を有する場合には、塩は、適切な陽イオンを伴って形成できる。適切な無機陽イオンの例としては、限定されるものではないが、 $Na^+$  および  $K^+$  などのアルカリ金属イオン、 $Ca^{2+}$  および  $Mg^{2+}$  などのアルカリ土類金属陽イオン、ならびに  $Al^{3+}$  などの他の陽イオンが挙げられる。適切な有機陽イオンの例としては、限定されるものではないが、アンモニウムイオン（すなわち、 $NH_4^+$ ）および置換アンモニウムイオン（例えば、 $NH_3R^+$ 、 $NH_2R_2^+$ 、 $NHR_3^+$ 、 $NR_4^+$ ）が挙げられる。

40

## 【 0 1 3 6 】

いくつかの適切な置換アンモニウムイオンの例としては、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エ

50

タノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミンおよびトロメタミン、ならびにリジンおよびアルギニンなどのアミノ酸に由来するものが挙げられる。一般的な第四級アンモニウムイオンの一例として、 $N(CH_3)_4^+$ が挙げられる。

#### 【0137】

式(I)の化合物がアミン官能基を含む場合、これらは、例えば当業者に周知の方法に従ったアルキル化剤との反応により、第四級アンモニウム塩を形成し得る。このような第四級アンモニウム化合物も式(I)の範囲内にある。また、アミン官能基を含む式(I)の化合物はN-オキシドを形成し得る。本明細書においてアミン官能基を含む式(I)の化合物という場合には、N-オキシドも含む。化合物がいくつかのアミン官能基を含む場合には、1以上の窒素原子を酸化して、N-オキシドを形成し得る。N-オキシドの特定の例として、窒素含有複素環の第三級アミンまたは窒素原子のN-オキシドがある。N-オキシドは、対応するアミンを過酸化水素または過酸(例えば、ペルオキシカルボン酸)などの酸化剤で処理することにより形成することができる(例えば、Advanced Organic Chemistry, Jerry March, 第4版, Wiley Interscience, pages. 参照)。より具体的には、N-オキシドは、L.W.Deady (Syn. Comm. 1977, 7, 509-514)の方法により製造することができ、この方法では、アミン化合物を、例えば、ジクロロメタンなどの不活性溶媒中、m-クロロペルオキシ安息香酸(MCPBA)と反応させる。

10

#### 【0138】

本発明の化合物は、例えば水との溶媒和物(すなわち、水和物)または一般的な有機溶媒との溶媒和物を形成し得る。本明細書において、用語「溶媒和物」は、本発明の化合物と1以上の溶媒分子との物理的会合を意味する。この物理的会合は、様々な程度のイオン結合および共有結合(水素結合を含む)を含む。ある特定の例では、溶媒和物は、例えば1以上の溶媒分子が結晶固体の結晶格子に組み込まれた場合に単離可能となる。用語「溶媒和物」には、液相および単離可能な溶媒和物の両方を包含するものとする。適切な溶媒和物の限定されない例としては、本発明の化合物と水、イソプロパノール、エタノール、メタノール、DMSO、酢酸エチル、酢酸またはエタノールアミンなどの組合せが挙げられる。本発明の化合物は、溶液中にある場合にそれらの生物学的効果を示し得る。

20

#### 【0139】

溶媒和物は製薬化学において周知である。溶媒和物は物質の製造方法(例えば、それらの精製、その物質の貯蔵(例えば、その安定性)およびその物質の取り扱いの容易さ)にとって重要となり得、化学合成の単離または精製工程の一部として形成される場合が多い。当業者ならば、ある化合物を製造するために使用される単離条件または精製条件によって水和物が形成されたか他の溶媒和物が形成されたかを、標準的かつ長く使用されている技術によって決定することができる。このような技術の例としては、熱重量分析(TGA)、示差走査熱量測定(DSC)、X線結晶学(例えば、単結晶X線結晶学またはX線粉末回折)および固体NMR(SS-NMR、Magic Angle Spinning NMRまたはMAS-NMRとしても知られる)が挙げられる。このような技術は、NMR、IR、HPLCおよびMSと同様に、熟練の化学者の標準点分析ツールキットの一部となっている。あるいは、当業者ならば、特定の溶媒和物に必要とされる溶媒の量を含む結晶化条件を用いて、溶媒和物を計画的に形成することができる。その後、上記の標準的方法を用いて、どの溶媒和物が形成されたか確認することができる。式(I)にはまた、これらの化合物の任意の錯体(例えば、シクロデキストリンなどの化合物との包接錯体もしくは包接体、または金属との錯体)が包含される。

30

40

#### 【0140】

さらに、本発明の化合物は、1以上の多型(結晶性)または非晶質形態を持つ場合があり、それら自体、本発明の範囲に含まれるものとする。

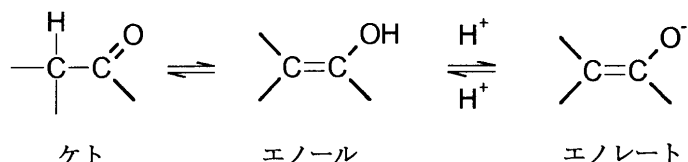
#### 【0141】

式(I)の化合物は、多数の異なる幾何異性型および互変異性型で存在することができる。式(I)の化合物には、このような形態を全て含む。疑念を避けるため、化合物は、

50

いくつかの幾何異性型または互変異性型のうちの1つで存在することができ、1つのみが具体的に記載または表示されている場合にも、他の全てのものがやはり式(I)に含まれる。互変異性型の他の例としては、例えば、次の互変異性体対：ケト/エノール(下記に示す)、イミン/エタミン、アミド/イミノアルコール、アミジン/エネジアミン、ニトロソ/オキシム、チオケトン/エネチオール、およびニトロ/アシ-ニトロなどの場合のように、例えば、ケト型、エノール型、およびエノレート型が挙げられる。

【化13】



10

【0142】

式(I)の化合物が1以上のキラル中心を含み、かつ、2以上の光学異性体の形態で存在し得る場合、式(I)の化合物には、特に断りのない限り、その総ての光学異性型(例えば、鏡像異性体、エピマーおよびジアステレオ異性体)を、個々の光学異性体として、または2以上の光学異性体の混合物(例えば、ラセミ混合物)のいずれかとして含む。これらの光学異性体はそれらの光学活性(すなわち、+および-異性体、またはdおよびl異性体として)特徴付けおよび同定することができるか、あるいは、それらの絶対的立体化学から、Cahn, Ingold and Prelog(Advanced Organic Chemistry by Jerry March, 第4版, John Wiley & Sons, New York, 1992, 109-114頁参照、また、Cahn, Ingold & Prelog (1966) Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 5, 385-415も参照)によって開発された「RおよびS」命名法を用いて特徴付けることができる。光学異性体は、キラルクロマトグラフィー(キラル支持体上でのクロマトグラフィー)を含むいくつかの技術によって分離することができ、このような技術は当業者に周知のものである。キラルクロマトグラフィーの別法として、光学異性体を、(+)-酒石酸、(-)-ピログルタミン酸、(-)-ジ-トルオイル-L-酒石酸、(+)-マンデル酸、(-)-リンゴ酸、および(-)-カンファースルホン酸などのキラル酸によりジアステレオ異性体塩を形成させ、優先的結晶化によりそのジアステレオ異性体を分離した後、それらの塩を解離させて遊離塩基の個々の鏡像異性体を得ることにより、分離することができる。

20

30

【0143】

式(I)の化合物が2以上の光学異性型として存在する場合、鏡像異性体対のうち一方の鏡像異性体は他方の鏡像異性体よりも、例えば生物活性の点で優位性を示すことがある。従って、ある状況では、鏡像異性体対の一方のみ、または複数のジアステレオ異性体のうち1つのみを治療薬として使用するのが望ましい場合がある。よって、本発明は、1以上のキラル中心を有する式(I)の化合物を含有し、式(I)の化合物の少なくとも55%(例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%または95%)が単一の光学異性体(例えば、鏡像異性体またはジアステレオ異性体)として存在している組成物を提供する。一般的な一つの実施態様では、式(I)の化合物の総量の99%以上(例えば、実質的に全部)が単一の光学異性体(例えば、鏡像異性体またはジアステレオ異性体)として存在することができる。具体的な異性型が特定される場合(例えば、S配置、またはE異性体)、これは前記の異性型が他の異性体を実質的に含まないこと、すなわち、前記の異性型が、本発明の化合物の総量の少なくとも55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%またはそれを超える割合で存在する(例えば、実質的に全部である)ことを意味する。

40

【0144】

常に、以上または以下で、化合物は下記の結合：

50

## 【化 1 4】



を含む。これは、その化合物が、未知の立体配置を有する単一の立体異性体または立体異性体の混合物であることを示す。

## 【0 1 4 5】

本発明の化合物は、1以上の同位体置換を有する化合物を含み、特定の元素は、その範囲内にその元素の総ての同位体を含む。例えば、水素の場合、その範囲内に $^1\text{H}$ 、 $^2\text{H}$  (D)、および $^3\text{H}$  (T)を含む。同様に、炭素および酸素の場合は、それらの範囲内にそれぞれ $^{12}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ および $^{14}\text{C}$ と、 $^{16}\text{O}$ および $^{18}\text{O}$ を含む。これらの同位体は放射性であっても非放射性であってもよい。本発明の一つの実施態様では、これらの化合物は非放射性同位体を含む。このような化合物は治療用として好ましい。しかしながら、別の実施態様では、これらの化合物は1以上の放射性同位体を含んでもよい。このような放射性同位体を含む化合物は診断の場合に有用であり得る。

## 【0 1 4 6】

カルボン酸基またはヒドロキシル基を有する式(I)の化合物のエステル、例えば、カルボン酸エステルおよびアシルオキシエステルも、式(I)に包含される。本発明の一つの実施態様では、式(I)はその範囲内に、ヒドロキシル基を有する式(I)の化合物のエステルを含む。本発明の別の実施態様では、式(I)はその範囲内に、ヒドロキシル基を有する式(I)の化合物のエステルを含まない。アシルオキシ(逆エステル)基の例は、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$  (式中、Rは、アシルオキシ置換基、例えば、 $\text{C}_{1-7}$ アルキル基、 $\text{C}_{3-20}$ ヘテロシクリル基または $\text{C}_{5-20}$ アリール基、好ましくは $\text{C}_{1-7}$ アルキル基である)で表される。アシルオキシ基の特定の例としては、限定されるものではないが、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$  (アセトキシ)、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{Ph}$ および $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Ph}$ が挙げられる。

## 【0 1 4 7】

例えば、いくつかのプロドラッグは、有効化合物のエステル(例えば、生理学的に許容される代謝上不安定なエステル)である。「プロドラッグ」とは、例えば、*in vivo*で式(I)の生物学的に活性な化合物に変換される化合物を意味する。代謝の際、エステル基は開裂して有効薬物を生じる。このようなエステルは、例えば、親化合物におけるヒドロキシル基のいずれかのエステル化により形成でき、適当であれば、親化合物に存在するいずれかの他の反応基を予め保護し、その後、必要に応じて脱保護する。

## 【0 1 4 8】

このような代謝上不安定なエステルの例としては、 $\text{C}_{1-6}$ アミノアルキル[例えば、アミノエチル；2-(N,N-ジエチルアミノ)エチル；2-(4-モルホリノ)エチル]；およびアシルオキシ- $\text{C}_{1-7}$ アルキル[例えば、アシルオキシメチル；アシルオキシエチル；ピバロイルオキシメチル；アセトキシメチル；1-アセトキシエチル；1-(1-メトキシ-1-メチル)エチル-カルボニルオキシエチル；1-(ベンゾイルオキシ)エチル；イソプロポキシ-カルボニルオキシメチル；1-イソプロポキシ-カルボニルオキシエチル；シクロヘキシル-カルボニルオキシメチル；1-シクロヘキシル-カルボニルオキシエチル；シクロヘキシルオキシ-カルボニルオキシメチル；1-シクロヘキシルオキシ-カルボニルオキシエチル；(4-テトラヒドロピラニルオキシ)カルボニルオキシメチル；1-(4-テトラヒドロピラニルオキシ)カルボニルオキシエチル；(4-テトラヒドロピラニル)カルボニルオキシメチル；および1-(4-テトラヒドロピラニル)カルボニルオキシエチル]である。また、いくつかのプロドラッグは、酵素的に活性化されて有効化合物を生じるか、またはさらなる化学反応の際に有効化合物を生じる化合物(例えば、抗原指向性酵素プロドラッグ療法(antigen-directed enzyme pro-drug

therapy) (A D E P T)、遺伝子指向性酵素プロドラッグ療法 (gene-directed enzyme pro-drug therapy) (G D E P T)、およびリガンド指向性酵素プロドラッグ療法 (lig and-directed enzyme pro-drug therapy) (L I D E P T) などの場合)。例えば、プロドラッグは、糖誘導体もしくは他の配糖体であってよく、またはアミノ酸エステル誘導体であってよい。

【 0 1 4 9 】

タンパク質チロシンキナーゼ ( P T K )

本明細書に記載される本発明の化合物は、特定のチロシンキナーゼの活性を阻害または調節するものであり、従って、これらの化合物は、これらのチロシンキナーゼ、特に F G F R により媒介される疾患状態もしくは病態の治療または予防、特に治療に有用である。

【 0 1 5 0 】

F G F R

タンパク質チロシンキナーゼ ( P T K ) 受容体の線維芽細胞増殖因子 ( F G F ) ファミリーは、有糸分裂誘発、創傷治癒、細胞分化、および血管新生を含む多様な一連の生理学的機能、ならびに発育を調節する。正常細胞および悪性細胞の両方の成長ならびに増殖は、オートクリンならびにパラクリン因子として作用する細胞外シグナル伝達分子である F G F の局部的濃度の変化によって影響を受ける。オートクリン F G F シグナル伝達は、ステロイドホルモン依存性癌のホルモン非依存性状態への進行において特に重要であり得る。F G F およびそれらの受容体はいくつかの組織および細胞株において高レベルで発現され、過剰発現が悪性表現型に寄与していると考えられている。さらに、いくつかの癌遺伝子は、増殖因子受容体をコードする遺伝子のホモログであり、ヒト膵臓癌において F G F 依存性シグナル伝達を異常に活性化する可能性がある (Knights et al., Pharmacology and Therapeutics 2010 125:1 (105-117); Korc M. et al Current Cancer Drug Targets 2009 9:5 (639-651))。

【 0 1 5 1 】

2つの原型メンバーは、酸性線維芽細胞増殖因子 ( a F G F または F G F 1 ) および塩基性線維芽細胞増殖因子 ( b F G F または F G F 2 ) であり、これまでのところ、少なくとも 20 の異なる F G F ファミリーメンバーが同定されている。F G F に対する細胞応答は、1 ~ 4 ( F G F R 1 ~ F G F R 4 ) の番号が付けられた 4 種類の高親和性トランスメンブランタンパク質チロシンキナーゼ線維芽細胞増殖因子受容体 ( F G F R ) を介して伝達される。

【 0 1 5 2 】

F G F R 1 経路の破壊は、腫瘍細胞の増殖に影響を与えるはずであり、これはこのキナーゼが内皮細胞を増殖させることに加えて多くの腫瘍種において活性化されるからである。腫瘍関連血管構造における F G F R 1 の過剰発現および活性化は、腫瘍血管新生におけるこれらの分子の役割を示唆している。

【 0 1 5 3 】

最近の研究から、古典的小葉癌 (Classic Lobular Carcinomas) ( C L C ) における F G F R 1 発現と腫瘍原性との間の関連が示されている。C L C は、全乳癌の 10 ~ 15 % を占め、一般に、p 5 3 および H e r 2 の発現が欠損しているが、エストロゲン受容体の発現は保持している。8 p 1 2 - p 1 1 . 2 の遺伝子増幅が C L C 症例の約 50 % で示され、これは F G F R 1 の発現増強と関連していることが示された。F G F R 1 に対して向けられた s i R N A または前記受容体の小分子阻害剤を用いた予備研究から、この増幅を有する細胞株がこのシグナル伝達経路の阻害に特に感受性を持つことが示された。最も一般的な小児軟部組織肉腫である横紋筋肉腫 ( R M S ) は、骨格筋形成の過程での異常な増殖および分化に起因している可能性がある。F G F R 1 は、原発性横紋筋肉腫の腫瘍で過剰発現され、5 ' C p G 島の低メチル化、ならびに A K T 1、N O G、および B M P 4 遺伝子の異常発現に関連している。F G F R 1 はまた、扁平上皮肺癌、結腸直腸癌、膠芽腫、星状細胞腫、前立腺癌、小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、子宮癌とも関連づけられている。

## 【 0 1 5 4 】

線維芽細胞増殖因子受容体 2 は、酸性および / または塩基性線維芽細胞増殖因子、ならびにケラチノサイト増殖因子リガンドに高い親和性を有する。線維芽細胞増殖因子受容体 2 はまた、骨芽細胞の成長および分化の際に F G F の強力な造骨作用を伝達する。複雑な機能的変化をもたらす線維芽細胞増殖因子受容体 2 における突然変異は、異常な頭蓋縫合骨化（頭蓋骨癒合症）を誘発することが示されており、膜内骨形成における F G F R シグナル伝達の主要な役割を暗示している。例えば、早期頭蓋縫合骨化を特徴とするアペール（ A P ）症候群では、ほとんどの場合が、機能獲得を生じる線維芽細胞増殖因子受容体 2 における点突然変異に関連している。さらに、症候性頭蓋癒合患者における突然変異スクリーニングでは、いくつかの反復 F G F R 2 突然変異が重症型のプファイファー症候群を説明することが示されている。F G F R 2 の特定の突然変異としては、F G F R 2 の W 2 9 0 C、D 3 2 1 A、Y 3 4 0 C、C 3 4 2 R、C 3 4 2 S、C 3 4 2 W、N 5 4 9 H、K 6 4 1 R が含まれる。

10

## 【 0 1 5 5 】

アペール症候群、クルーゾン症候群、ジャクソン - ワイス症候群、ベーレ - スチープンソン脳回状頭皮症候群、およびプファイファー症候群を含む、ヒト骨格発達におけるいくつかの重篤な異常が、線維芽細胞増殖因子受容体 2 における突然変異の発生に関連している。総てではなくともほとんどの場合、プファイファー症候群（ P S ）の症例は線維芽細胞増殖因子受容体 2 遺伝子の d e n o v o 突然変異によっても起こり、最近、線維芽細胞増殖因子受容体 2 における突然変異が、リガンド特異性を支配する基本規則のうちの 1 つを破ることが示された。すなわち、線維芽細胞増殖因子受容体の 2 つの突然変異スプライス型 F G F R 2 c および F G F R 2 b は、非定型 F G F リガンドと結合し、それにより活性化される能力を獲得していた。このリガンド特異性の欠損は異常なシグナル伝達をもたらし、これらの疾病症候群の重篤な表現型が異所性リガンドに依存する、線維芽細胞増殖因子受容体 2 の活性化によるものであることを示唆する。

20

## 【 0 1 5 6 】

F G F R 3 受容体チロシンキナーゼの、染色体転座または点突然変異などの遺伝子異常は、異所発現されるかまたは調節解除された構成的に活性な F G F R 3 受容体をもたらす。このような異常は多発性骨髄腫の一部および膀胱癌、肝細胞癌、口腔扁平上皮癌および子宮頸癌に関連している。従って、F G F R 3 阻害剤は多発性骨髄腫、膀胱癌および子宮頸癌の治療に有用となる。F G F R 3 はまた、膀胱癌、特に、浸潤性膀胱癌においても過剰発現される。F G F R 3 は、尿路上皮癌（ U C ）における突然変異により頻繁に活性化される。発現の増強は突然変異に関連していた（突然変異腫瘍の 8 5 % が高レベルの発現を示した）が、多くの筋肉浸潤性腫瘍を含め、検出可能な突然変異を持っていない、腫瘍の 4 2 % も過剰発現を示した。F G F R 3 はまた、子宮内膜癌および甲状腺癌にも関連している。

30

## 【 0 1 5 7 】

F G F R 4 の過剰発現は、前立腺癌および甲状腺癌の両方において予後の悪さと関連付けられている。さらに、生殖細胞系多型（ G l y 3 8 8 A r g ）が、肺癌、乳癌、結腸癌、肝臓癌（ H C C ）および前立腺癌の高い罹患率と関連している。また、末端切断型 F G F R 4 （キナーゼドメインを含む）が、下垂体腫瘍の 4 0 % に存在するが、正常組織には存在しないことが判明している。F G F R 4 過剰発現は、肝臓、結腸および肺の腫瘍で見出されている。F G F R 4 は、結腸直腸癌および肝臓癌に関連が見出されており、このような癌ではリガンド F G F 1 9 の発現が高まっている場合が多い。F G F R 4 はまた、星状細胞腫、横紋筋肉腫にも関連している。

40

## 【 0 1 5 8 】

線維症の病態は、線維組織の異常または過剰な沈着に起因する大きな医学的問題である。これは、肝硬変、糸球体腎炎、肺線維症、全身性線維症、関節リウマチを含む多くの疾患、ならびに創傷治癒の自然プロセスにおいて発生する。病的線維化機序は完全には理解されていないが、線維芽細胞の成長および細胞外マトリックスタンパク質（コラーゲンお

50

よびフィブロネクチンを含む)の沈着に関与する様々なサイトカイン(腫瘍壊死因子(TNF)、線維芽細胞増殖因子(FGF)、血小板由来増殖因子(PDGF)、および形質転換増殖因子(TGF)を含む)の作用に起因していると考えられる。これは組織構造および機能の変化、ならびにそれに続く病変をもたらす。

#### 【0159】

いくつかの前臨床研究では、肺線維症の前臨床モデルにおいて線維芽細胞増殖因子のアップレギュレーションが示されている。TGF- $\beta$ 1およびPDGFは、線維形成プロセスに関与していることが報告され、さらに公開された研究から、FGFの上昇、およびその結果としての線維芽細胞の成長の増大は、TGF- $\beta$ 1の上昇に応答したものであり得ることが示唆されている。特発性肺線維症(IPF)などの病態においてこの線維化機序を標的とすることの治療的利益の可能性が、報告されている抗線維症薬ピルフェニドンの臨床効果によって示唆されている。特発性肺線維症(原因不明線維性肺肺炎とも呼ばれる)は、肺の癒着化を伴う進行性の病態である。肺の気嚢が徐々に線維組織によって置き換えられ、それが厚みを増し、酸素を血流へ運搬する組織の能力の不可逆的喪失が引き起こされる。この病態の症状としては、息切れ、慢性乾性咳、疲労、胸痛、および急な体重減少をもたらす食欲不振が挙げられる。この病態は極めて重篤であり、5年後死亡率がおよそ50%である。

10

#### 【0160】

従って、FGFRを阻害する化合物は、特に血管新生を阻害することにより腫瘍の成長を妨げる、またはアポトーシスを誘発する手段を提供するのに有用となる。よって、これらの化合物は、癌などの増殖性障害を治療または予防するのに有用であることが分かるであろう。特に、受容体チロシンキナーゼ(RTK)の活性化突然変異または受容体チロシンキナーゼのアップレギュレーションを伴う腫瘍は、これらの阻害剤に特に感受性を持つ可能性がある。本明細書に述べられている特定のRTKのアイソフォームのいずれかの活性化突然変異を伴う患者、例えば、FGFR3-TACC3転座を有する膀胱または脳腫瘍などの腫瘍を有する患者でも、RTK阻害剤による治療が特に有益であることが分かるであろう。

20

#### 【0161】

#### 血管内皮増殖因子(VEGFR)

慢性増殖性疾患は、多くの場合、重大な血管新生を伴い、この血管新生は炎症および/もしくは増殖状態に寄与するかまたはこれを維持し、または血管の浸潤性増殖によって組織破壊をもたらす得る。

30

#### 【0162】

血管新生とは、一般に、新血管または交換血管の発生、または新生血管形成を表すために用いられる。血管新生は、それによって血管構造が胚で確立される、必要かつ生理的な正常プロセスである。血管新生は、一般に、ほとんどの正常成人組織では起こらない(例外として、排卵、月経および創傷治癒の部位がある)。しかしながら、多くの疾患は、持続的で制御を欠いた血管新生を特徴とする。例えば、関節炎では、新しい毛細血管が関節に侵入し、軟骨を破壊する。糖尿病(および多くの種々の眼疾患)では、新血管は、黄斑または網膜またはその他の眼構造に侵入し、失明を引き起こす場合がある。アテローム性動脈硬化症のプロセスも血管新生に関連付けられている。腫瘍の成長および転移が、血管新生に依存することが見出されている。

40

#### 【0163】

主要な疾患に血管新生が関与しているという認識は、血管新生の阻害剤を特定および開発するための研究に伴うものであった。これらの阻害剤は一般に、血管新生シグナルによる内皮細胞の活性化; 分解性酵素の合成および放出; 内皮細胞遊走; 内皮細胞の増殖; および毛細血管の形成などの血管新生カスケードにおける個々の標的に応じて分類される。従って、血管新生は多段階で起こり、これらの様々な段階で血管新生を遮断する働きをする化合物を発見および開発する試みが進行中である。

#### 【0164】

50

多様な機序で作用する血管新生の阻害剤が、癌および転移、眼疾患、関節炎および血管腫などの疾患に有益であることを教示する刊行物が存在する。

【0165】

ポリペプチドである血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は、*in vitro* では内皮細胞に対する有糸分裂促進性であり、*in vivo* では血管新生応答を刺激する。VEGF は、不適切な血管新生とも関連付けられている。VEGFR は、タンパク質チロシンキナーゼ (PTK) である。PTK は、細胞機能に関与するタンパク質内の特定のチロシン残基のリン酸化を触媒し、それによって細胞の成長、生存、および分化を制御する。

【0166】

VEGF に対する 3 つの PTK 受容体、すなわち、VEGFR-1 (Flt-1)、VEGFR-2 (Flk-1 または KDR)、および VEGFR-3 (Flt-4) が同定されている。これらの受容体は、血管新生に関与し、シグナル伝達に関わっている。特に注目されるのは VEGFR-2 であり、これは、主として内皮細胞で発現されるトランスメンブラン受容体 PTK である。VEGF による VEGFR-2 の活性化は、腫瘍血管新生を開始するシグナル伝達経路において極めて重要な段階である。VEGF 発現は、腫瘍細胞では構成的である場合もあるし、特定の刺激にตอบสนองしてアップレギュレーションされる場合もある。このような刺激の 1 つは低酸素であり、この場合、VEGF 発現は、腫瘍および関連する宿主組織の両方でアップレギュレーションされる。VEGF リガンドは、その細胞外 VEGF 結合部位と結合することにより、VEGFR-2 を活性化する。これは、VEGFR の受容体二量体化、および VEGFR-2 の細胞内キナーゼドメインにおけるチロシン残基の自己リン酸化をもたらす。キナーゼドメインは、ATP からチロシン残基へリン酸を転移する働きをし、このようにして VEGFR-2 の下流にシグナル伝達タンパク質のための結合部位を提供し、最終的には血管新生を開始させる。

【0167】

VEGFR-2 のキナーゼドメイン結合部位における阻害は、チロシン残基のリン酸化を遮断し、血管新生の開始を妨害する働きをする。

【0168】

血管新生は、血管新生因子と称される様々なサイトカインによって媒介される新血管形成の生理学的プロセスである。固形腫瘍におけるその潜在的な病態生理学的役割が 30 年以上にわたり広く研究されてきたが、最近になって、慢性リンパ性白血病 (CLL) およびその他の悪性造血系障害における血管新生の増大が認識されてきた。血管新生レベルの上昇は、CLL 患者の骨髄およびリンパ節の両方において、様々な実験的方法により報告されている。この疾患の病態生理学における血管新生の役割は完全には解明されていないが、実験データから、いくつかの血管新生因子が疾患の進行に役割を果たしていることが示唆される。血管新生の生物学的マーカーは、CLL の予後と関連することも示された。このことは、VEGFR 阻害剤が、CLL などの白血病の患者にも有益であり得ることを示している。

【0169】

腫瘍塊が限界サイズを超えるには、それに付随する血管構造を発達させる必要がある。腫瘍血管構造を標的とすることは、腫瘍の拡大を制限し、有用な癌治療となり得ると提案されている。腫瘍成長の観察によれば、小腫瘍塊は、腫瘍特異的血管構造を持たない組織において存続可能であることが示されている。血管構造のない腫瘍の成長停止は、腫瘍の中央部における低酸素の効果によるものであった。より最近では、様々な血管新生促進因子および血管新生抑制因子が同定され、腫瘍塊における血管新生の刺激と阻害剤の正常比の乱れが自律的血管新生を可能とするプロセス、「血管新生スイッチ (angiogenic switch)」の概念が導かれた。血管新生スイッチは、悪性化を駆動するものと同じ遺伝子変化、すなわち、癌遺伝子の活性化、および腫瘍抑制遺伝子の喪失により支配されると思われる。いくつかの増殖因子が、血管新生の正の調節因子として作用する。これらの中で最も重要なものが、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF)、およびアンギオゲニンである。トロンスポンジン (Tsp-1)、アンジオスタチ



ン、およびエンドスタチンなどのタンパク質は、血管新生の負の調節因子として機能する。

#### 【0170】

VEGFR1とは異なり、VEGFR2の阻害は、マウスモデルにおいて、血管新生スイッチ、持続的血管新生、および初期腫瘍成長を著しく妨害する。後期の腫瘍では、治療過程では、初期の成長抑制期間の後に腫瘍が再成長するにつれ、VEGFR2遮断に対する表現型耐性が現れた。VEGF遮断に対するこの耐性は、VEGFとは独立に、FGFファミリーのメンバーを含むその他の血管新生促進因子の、低酸素が媒介する誘発と関連する腫瘍血管新生の再活性化を伴う。このようなその他の血管新生促進シグナルは、VEGF阻害の状態にあってもFGF遮断が進行を低下させるので、機能的には、回避期における腫瘍の再血管形成および再成長に関係付けられる。

10

#### 【0171】

第2相試験でpan-VEGF受容体チロシンキナーゼ阻害剤AZD2171で処置された患者において、膠芽腫血管の正常化の証拠がある。血管正常化に関するMRI検査と循環バイオマーカーの組合せは、抗血管新生薬に対する応答を評価するための有効な手段を提供する。

#### 【0172】

##### PDGFR

悪性腫瘍は、制御を欠いた細胞増殖の産物である。細胞成長は、成長促進因子と成長阻害因子との間の微妙なバランスにより制御されている。正常組織では、これらの因子の産生および活性は、臓器の正常な完全性および機能性を維持する制御および調節された様式で成長する分化細胞をもたらす。悪性細胞はこの制御を回避しており、自然バランスが(様々な機構を介して)乱され、調節を欠いた異常な細胞成長が起こる。腫瘍発生において重要な増殖因子は、細胞表面チロシンキナーゼ受容体(PDGFR)を介してシグナルを伝達し、成長、増殖および分化を含む様々な細胞機能を刺激するペプチド増殖因子のファミリーを含んでなる血小板由来増殖因子(PDGF)である。

20

#### 【0173】

##### 選択的阻害剤の利点

差別化された選択性の特性を有するFGFRキナーゼ阻害剤の開発は、その疾患がFGFRの調節解除によって駆動されるものである患者のサブグループにおいてこれらの標的化剤を用いる新たな機会を提供する。付加的キナーゼ、特にVEGFR2およびPDGFR-<sub>β</sub>に対して阻害作用の低下を示す化合物は、差別化された副作用または毒性プロファイルを有する機会を提供し、従って、これら適応症のより効果的な治療が可能となる。VEGFR2およびPDGFR-<sub>β</sub>の阻害剤は、それぞれ、高血圧または浮腫などの毒性に関連する。VEGFR2阻害剤の場合、この高血圧作用は、多くの場合、用量制限的であり、特定の患者集団で禁忌となり得るものであり、臨床管理を要する。

30

#### 【0174】

##### 生物活性および治療用途

本発明の化合物およびそのサブグループは、線維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)阻害もしくは調節活性、および/または血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFR)阻害もしくは調節活性、および/または血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)阻害もしくは調節活性を有し、本明細書に記載の疾患状態または病態の予防または治療に有用となる。加えて、本発明の化合物およびそのサブグループは、キナーゼにより媒介される疾患または病態の予防または治療に有用となる。癌などの疾患状態または病態の回避または予防または治療という場合には、それらの範囲内に、癌の緩和またはその罹患率の軽減が含まれる。

40

#### 【0175】

本明細書において、キナーゼの活性に適用される用語「調節」は、タンパク質キナーゼの生物活性のレベルにおける変化を定義することを意図している。従って、調節には、関連するタンパク質キナーゼ活性の増強または低下を果たす生理学的変化が包含される。後

50

者の場合、調節は、「阻害」と記載することができる。調節は、直接的に起こっても間接的に起こってもよく、任意の機構により、例えば、遺伝子発現のレベル（例えば、転写、翻訳および／または翻訳後修飾を含む）、キナーゼ活性のレベルで直接的または間接的に作用する調節エレメントをコードする遺伝子の発現レベルを含む、任意の生理学的レベルで媒介されてよい。従って、調節は、遺伝子増幅（すなわち、複数の遺伝子コピー）を含むキナーゼの発現の上昇／抑制、または過剰発現もしくは過少発現、および／または転写作用による発現の増強または低下、ならびに突然変異によるタンパク質キナーゼの過剰（もしくは過少）活性および（非）活性化（（非）活性化を含む）を意味する場合がある。用語「調節された」、「調節している」、および「調節する」も、相応に解釈されるべきである。

10

**【 0 1 7 6 】**

本明細書において、例えば本明細書に記載されるキナーゼと組み合わせて用いられる（および、例えば様々な生理学的プロセス、疾患、状態、病態、療法、治療または介入に適用される）、用語「媒介される」とは、この用語が適用される様々なプロセス、疾患、状態、病態、治療および介入が、キナーゼが生物学的役割を果たすものである場合に限定して用いられることを意図している。この用語が、疾患、状態または病態に適用される場合、キナーゼが果たす生物学的役割は、直接的であってもまたは間接的であってもよく、その疾患、状態または病態の症状の顕在化（またはその病因もしくは進行）に必要および／または十分なものであり得る。従って、キナーゼ活性（特に、異常なレベルのキナーゼ活性、例えばキナーゼ過剰発現）は必ずしも疾患、状態または病態の基本的な原因である必要はなく、むしろ、キナーゼにより媒介される疾患、状態または病態には、問題のキナーゼが部分的に関与するだけである多因子性の病因および複雑な進行を有するものを含むことが意図される。この用語が、治療、予防または介入に適用される場合、キナーゼが果たす役割は、直接的であってもまたは間接的であってもよく、治療、予防の実施、または介入の転帰に必要および／または十分なものであり得る。従って、キナーゼにより媒介される疾患状態または病態には、任意の特定の抗癌剤または治療に対する耐性の発達を含む。

20

**【 0 1 7 7 】**

従って、例えば、本発明の化合物は、癌の緩和またはその罹患率の軽減に有用であり得る。

**【 0 1 7 8 】**

より詳細には、式（I）の化合物およびそのサブグループは、FGFRの阻害剤である。例えば、本発明の化合物は、FGFR1、FGFR2、FGFR3、および／またはFGFR4、特に、FGFR1、FGFR2およびFGFR3から選択されるFGFRに対して活性を有し、あるいは特に式（I）の化合物およびそのサブグループは、FGFR4の阻害剤である。

30

**【 0 1 7 9 】**

好ましい化合物は、FGFR1、FGFR2、FGFR3、およびFGFR4から選択される1以上のFGFRを阻害する化合物である。本発明の好ましい化合物は、0.1 μM未満のIC<sub>50</sub>値を有するものである。

**【 0 1 8 0 】**

本発明の化合物はまた、VEGFRに対しても活性を有する。

40

**【 0 1 8 1 】**

さらに、本発明の化合物の多くは、VEGFR（特にVEGFR2）および／またはPDGFRと比較して、FGFR1、2、および／または3、および／または4に対する選択性を示し、このような化合物は、本発明の1つの好ましい実施態様を表す。特に、本化合物は、VEGFR2を超える選択性を示す。例えば、本発明の多くの化合物は、FGFR1、2、および／または3、および／または4に対するIC<sub>50</sub>値が、VEGFR（特にVEGFR2）および／またはPDGFR Bに対するIC<sub>50</sub>の10分の1～100分の1の間である。特に、本発明の好ましい化合物は、FGFR、特に、FGFR1、FGFR2、FGFR3および／またはFGFR4に対する活性または阻害が、VEGFR

50

2 よりも、少なくとも 10 倍大きい。より好ましくは、本発明の化合物は、F G F R、特に、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3 および / または F G F R 4 に対する活性または阻害が、V E G F R 2 よりも少なくとも 100 倍大きい。これは本明細書に記載の方法を用いて測定することができる。

#### 【0182】

F G F R、および / または V E G F R キナーゼを調節または阻害するその活性の結果として、本化合物は、特に血管新生を阻害することによって、新生物の成長を妨げるかまたはアポトーシスを誘発する手段を提供する上で有用となる。従って、本化合物は、癌などの増殖性障害の治療または予防に有用となると考えられる。さらに、本発明の化合物は、増殖、アポトーシスまたは分化の障害がある疾患の治療に有用となり得る。

10

#### 【0183】

特に、V E G F R の活性化変異体または V E G F R のアップレギュレーションを有する腫瘍、および血清乳酸デヒドロゲナーゼレベルが高い患者は、本発明の化合物に特に感受性があり得る。本明細書に述べた特定の R T K のアイソフォームのいずれかの活性化変異体を有する患者にも、本発明の化合物による治療が特に有益であり得る。例えば、クローン前駆細胞が V E G F R を発現し得る急性白血病細胞における V E G F R の過剰発現。また、F G F R 1、F G F R 2、または F G F R 3、または F G F R 4 などの F G F R のアイソフォームのいずれかの活性化変異体またはアップレギュレーションもしくは過剰発現を有する特定の腫瘍も、本発明の化合物に特に感受性があり得、従って、このような特定の腫瘍を有する本明細書に述べた患者にも、本発明の化合物による治療が特に有益であり得る。治療は、本明細書に述べたものなどの受容体チロシンキナーゼの 1 つの変異型に関するか、またはそれに向けたものであることが好ましいと考えられる。このような突然変異を有する腫瘍の診断は、R T P C R および F I S H など、当業者に公知であり、本明細書に記載される技術を用いて実施することができる。

20

#### 【0184】

治療（または阻害）され得る癌の例としては、限定されるものではないが、癌腫、例えば、膀胱癌、乳癌、結腸癌（例えば、結腸腺癌および結腸腺腫などの結腸直腸癌）、腎臓癌、尿路上皮癌、子宮癌、表皮癌、肝臓癌、肺癌、（例えば、腺癌、小細胞肺癌および非小細胞肺癌、扁平上皮肺癌）、食道癌、頭頸部癌、胆嚢癌、卵巣癌、膵臓癌（例えば、膵外分泌癌）、胃癌、消化管癌（胃癌(gastric)としても知られる）（例えば、消化管間質腫瘍）、子宮頸癌、子宮内膜癌、甲状腺癌、前立腺癌、または皮膚癌（例えば、扁平上皮癌または隆起性皮膚線維肉腫）；下垂体癌；リンパ細胞系列の造血系腫瘍、例えば、白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、B 細胞リンパ腫（例えば、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫）、T 細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、ヘアリー細胞リンパ腫、またはパーキットリンパ腫；骨髓細胞系列の造血系腫瘍、例えば、白血病、急性および慢性骨髓性白血病、慢性骨髓単球性白血病（C M M L）、骨髓増殖性障害、骨髓増殖性症候群、骨髓異形成症候群、または前骨髓球性白血病；多発性骨髓腫；甲状腺濾胞癌；間葉系由来腫瘍（例えば、ユーイング肉腫）、例えば、線維肉腫または横紋筋肉腫；中枢または末梢神経系腫瘍、例えば、星状細胞腫、神経芽腫、神経膠腫（例えば、多形性膠芽腫）またはシュワン腫；黒色腫；精上皮腫；奇形癌；骨肉腫；色素性乾皮症；角化棘細胞腫；甲状腺濾胞癌；またはカポジ肉腫が挙げられる。特に、扁平上皮肺癌、乳癌、結腸直腸癌、膠芽腫、星状細胞腫、前立腺癌、小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、子宮癌、胃癌、肝細胞癌、子宮頸癌、多発性骨髓腫、膀胱癌、子宮内膜癌、尿路上皮癌、結腸癌、横紋筋肉腫、下垂体癌。

30

40

#### 【0185】

治療（または阻害）され得る癌の例としては、限定されるものではないが、膀胱癌、尿路上皮癌、転移性尿路上皮癌、外科摘出不能尿路上皮癌、乳癌、膠芽腫、肺癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞肺癌、肺の腺癌、肺腺癌、小細胞肺癌、卵巣癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、軟組織肉腫、頭頸部扁平上皮癌、胃癌、食道癌、食道の扁平上皮癌、食道の腺癌、胆管癌、肝細胞癌が挙げられる。

50

## 【 0 1 8 6 】

特定の癌は、特定の薬物による治療に対して耐性を有する。これは、腫瘍の種類に起因する場合もあり、または化合物による治療に起因して生じる場合もある。この点において、多発性骨髄腫という場合には、ボルテゾミブ感受性多発性骨髄腫または不応性多発性骨髄腫が含まれる。同様に、慢性骨髄性白血病という場合には、イミタニブ(imitinib)感受性慢性骨髄性白血病および不応性慢性骨髄性白血病が含まれる。慢性骨髄性白血病は、慢性骨髄球性白血病、慢性顆粒球性白血病、またはCMLとしても知られる。同様に、急性骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、急性顆粒球性白血病、急性非リンパ球性白血病、またはAMLとも称される。

## 【 0 1 8 7 】

10

本発明の化合物はまた、骨髄増殖性疾患など、前悪性であっても安定型であっても、異常細胞増殖の造血系疾患の治療にも用いることができる。骨髄増殖性疾患(「MPD」)とは、細胞が過剰に産生される骨髄の疾患群である。それらは、骨髄異形成症候群と関連しており、それへ進行する場合がある。骨髄増殖性疾患としては、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、および原発性骨髄線維症が挙げられる。さらなる血液性障害としては、好酸球増加症候群がある。T細胞リンパ増殖性疾患としては、ナチュラルキラー細胞に由来するものが含まれる。

## 【 0 1 8 8 】

加えて、本発明の化合物は、消化管癌(胃癌としても知られる)、例えば、消化管間質腫瘍に使用することもできる。消化管癌は、食道、胃、肝臓、胆管系、膵臓、腸、および肛門を含む消化管の悪性病態を意味する。

20

## 【 0 1 8 9 】

従って、異常な細胞成長を含む疾患または病態を治療するための本発明の医薬組成物、使用、または方法において、一つの実施態様では、異常な細胞成長を含む疾患または病態は癌である。

## 【 0 1 9 0 】

癌の特定のサブセットには、多発性骨髄腫、膀胱癌、子宮頸癌、前立腺癌、および甲状腺癌、肺癌、乳癌、および結腸癌が含まれる。

## 【 0 1 9 1 】

癌のさらなるサブセットには、多発性骨髄腫、膀胱癌、肝細胞癌、口腔扁平上皮癌、および子宮頸癌が含まれる。

30

## 【 0 1 9 2 】

FGFR1などのFGFR阻害活性を有する本発明の化合物は、乳癌、特に古典的小葉癌(CLC)の治療または予防に特に有用であり得る。

## 【 0 1 9 3 】

本発明の化合物はFGFR4活性を有するので、それらは前立腺癌または下垂体癌の治療にも有用であり、それらは乳癌、肺癌、前立腺癌、肝臓癌(HCC)または肺癌の治療に有用である。

## 【 0 1 9 4 】

特に、FGFR阻害剤としての本発明の化合物は、多発性骨髄腫、骨髄増殖性障害、子宮内膜癌、前立腺癌、膀胱癌、肺癌、卵巣癌、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、および口腔扁平上皮癌の治療に有用である。

40

## 【 0 1 9 5 】

癌のさらなるサブセットは、多発性骨髄腫、子宮内膜癌、膀胱癌、子宮頸癌、前立腺癌、肺癌、乳癌、結腸直腸癌、および甲状腺癌である。

## 【 0 1 9 6 】

特に、本発明の化合物は、多発性骨髄腫(特に、t(4;14)転座を有するかまたはFGFR3を過剰発現する多発性骨髄腫)、前立腺癌(ホルモン不応性前立腺癌)、子宮内膜癌(特に、FGFR2における活性化突然変異を有する子宮内膜腫瘍)、および乳癌(特に、小葉乳癌)の治療に有用である。

50

## 【 0 1 9 7 】

特に、本化合物は、C L C（古典的小葉癌）などの小葉癌の治療に有用である。

## 【 0 1 9 8 】

本化合物はF G F R 3に対して活性を有するので、それらは、多発性骨髄腫および膀胱癌の治療に有用である。

## 【 0 1 9 9 】

特に、本化合物はF G F R 3 - T A C C 3 転座を有する腫瘍、特に、F G F R 3 - T A C C 3 転座を有する膀胱または脳腫瘍に対して活性を有する。

## 【 0 2 0 0 】

特に、本化合物は、t ( 4 ; 1 4 ) 転座陽性多発性骨髄腫の治療に有用である。

10

## 【 0 2 0 1 】

一つの実施態様では、本化合物は肉腫の治療に有用であり得る。一つの実施態様では、本化合物は、肺癌、例えば、扁平上皮癌の治療に有用であり得る。

## 【 0 2 0 2 】

本化合物は、F G F R 2に対して活性を有するので、それらは、子宮内膜癌、卵巣癌、胃癌、肝細胞癌、子宮癌、子宮頸癌および結腸直腸癌の治療に有用である。F G F R 2はまた、上皮卵巣癌でも過剰発現されるので、本発明の化合物は、上皮卵巣癌などの卵巣癌の治療に特に有用であり得る。

## 【 0 2 0 3 】

一つの実施態様では、本化合物は、肺癌、特に、N S C L C、扁平上皮癌、肝臓癌、腎臓癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、前立腺癌の治療に有用であり得る。

20

## 【 0 2 0 4 】

本発明の化合物はまた、V E G F R 2 阻害剤またはV E G F R 2 抗体（例えば、アバスタチン）で前処置された腫瘍の治療にも有用であり得る。

## 【 0 2 0 5 】

特に、本発明の化合物は、V E G F R 2 耐性腫瘍の治療に有用であり得る。V E G F R 2 阻害剤および抗体は、甲状腺癌および腎細胞癌の治療に用いられ、従って、本発明の化合物は、V E G F R 2 耐性甲状腺癌および腎細胞癌の治療に有用であり得る。

## 【 0 2 0 6 】

癌は、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4 から選択されるいずれか 1 以上のF G F R、例えば、F G F R 1、F G F R 2 またはF G F R 3 から選択される 1 以上のF G F R の阻害に感受性のある癌であり得る。

30

## 【 0 2 0 7 】

特定の癌がF G F R またはV E G F R シグナル伝達の阻害に感受性があるものかどうかは、下記で示す細胞成長アッセイによって、または「診断方法」の表題の節で示す方法によって判断することができる。

## 【 0 2 0 8 】

本発明の化合物、および特にF G F R またはP D G F R 阻害活性を有する化合物は、高レベルのF G F R またはV E G F R の存在と関連するか、またはそれを特徴とするタイプの癌、例えば、この意味において本出願の導入の節に挙げた癌、の治療または予防に特に有用であり得る。

40

## 【 0 2 0 9 】

本発明の化合物は成人集団の治療に有用であり得る。本発明の化合物は、小児集団の治療にも有用であり得る。

## 【 0 2 1 0 】

一部のF G F R 阻害剤は、その他の抗癌剤と組み合わせて使用することができることが見出された。例えば、アポトーシスを誘発する阻害剤を、異なる機構によって細胞成長を調節する働きをする別の薬剤と組み合わせ、それによって癌の発達に特徴的な特性のうちの2つを治療することが有益であり得る。このような組合せの例を以下に示す。

## 【 0 2 1 1 】

50

本発明の化合物は、ⅠⅠ型または非インスリン依存性真性糖尿病、自己免疫疾患、頭部外傷、脳卒中、癲癇、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病、運動ニューロン疾患、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性症およびピック病）、例えば、自己免疫疾患および神経変性疾患などの増殖の障害に起因するその他の病態の治療に有用であり得る。

【0212】

本発明の化合物が有用であり得る疾患状態および病態の1つのサブグループは、炎症性疾患、心血管疾患および創傷治癒からなる。

【0213】

F G F RおよびV E G F Rはまた、アポトーシス、血管新生、増殖、分化、および転写において役割を果たしていることも知られており、従って、本発明の化合物はまた、癌以外の下記疾患：慢性炎症性疾患、例えば、全身性紅斑性狼瘡、自己免疫介在性糸球体腎炎、関節リウマチ、乾癬、炎症性腸疾患、自己免疫性真性糖尿病、湿疹性過敏反応、喘息、C O P D、鼻炎、および上気道疾患；心血管疾患、例えば、心肥大、再狭窄、アテローム性動脈硬化症；神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、エイズ関連認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、脊髄性筋萎縮症、および小脳変性症；糸球体腎炎；骨髓異形成症候群、虚血傷害関連心筋梗塞、脳卒中、および再灌流傷害、不整脈、アテローム性動脈硬化症、毒素誘発性またはアルコール関連肝疾患、血液疾患、例えば、慢性貧血および再生不良性貧血；筋骨格系の変性疾患、例えば、骨粗鬆症および関節炎；アスピリン感受性副鼻腔炎、嚢胞性線維症、多発性硬化症、腎臓疾患、ならびに癌性疼痛の治療にも有用であり得る。

【0214】

加えて、F G F R 2の突然変異は、ヒト骨格発達におけるいくつかの重度な異常と関連しており、従って、本発明の化合物は、異常な頭蓋縫合骨化（頭蓋骨癒合症）、アペール（A P）症候群、クルーゾン症候群、ジャクソン-ワイス症候群、ペーレ-スチーブソン脳回状頭皮症候群、およびプファイファー症候群を含む、ヒト骨格発達における異常の治療に有用であり得る。

【0215】

F G F R 2またはF G F R 3などのF G F R阻害活性を有する本発明の化合物は、骨格疾患の治療または予防に特に有用であり得る。特定の骨格疾患としては、軟骨形成不全または致死性小人症（致死性骨異形成症としても知られる）がある。

【0216】

F G F R 1、F G F R 2、またはF G F R 3などのF G F R阻害活性を有する本発明の化合物は、進行性線維症が症状である病態における治療または予防に特に有用であり得る。本発明の化合物が治療に有用であり得る線維症の病態としては、線維組織の異常なまたは過剰な沈着を示す疾患、例えば、肝硬変、糸球体腎炎、肺線維症、全身性線維症、関節リウマチ、ならびに創傷治癒の自然プロセスが挙げられる。特に、本発明の化合物は、肺線維症、特に、特発性肺線維症の治療にも有用であり得る。

【0217】

腫瘍関連血管構造におけるF G F RおよびV E G F Rの過剰発現および活性化はまた、腫瘍血管新生の開始を予防および妨害する上での本発明の化合物の役割も示唆している。特に、本発明の化合物は、癌、転移、C L Lなどの白血病、加齢性黄斑変性、特に、滲出型の加齢性黄斑変性などの眼疾患、未熟児網膜症（R O P）および糖尿病性網膜症などの虚血性増殖性網膜症、関節リウマチ、ならびに血管腫の治療に有用であり得る。

【0218】

F G F R 1～4、V E G F R、および/またはP D G F R A / Bの阻害剤としての本発明の化合物の活性は、以下の実施例で示すアッセイを用いて測定することができ、所定の化合物によって示される活性のレベルは、I C <sub>50</sub> 値として定義することができる。本発明の好ましい化合物は、I C <sub>50</sub> 値が1 μ M未満、より好ましくは0.1 μ M未満である化合物である。

【0219】

本発明は、F G F R 阻害または調節活性を有し、F G F R キナーゼにより媒介される疾患状態または病態の予防または治療に有用であり得る化合物を提供する。

【 0 2 2 0 】

一つの実施態様では、治療に使用される、薬として使用される本明細書に定義される化合物が提供される。さらなる実施態様では、F G F R キナーゼにより媒介される疾患状態または病態の予防または治療、特に治療、に使用される本明細書に定義される化合物が提供される。

【 0 2 2 1 】

従って、例えば、本発明の化合物は、癌の緩和またはその罹患率の軽減に有用であり得る。従って、さらなる実施態様では、癌の予防または治療、特に治療に使用される本明細書に定義される化合物が提供される。一つの実施態様では、本明細書に定義される化合物は、F G F R 非依存性癌の予防または治療において使用するためのものである。一つの実施態様では、本明細書に定義される化合物は、F G F R キナーゼにより媒介される癌予防または治療において使用するためのものである。

【 0 2 2 2 】

従って、本発明は、とりわけ、下記の方法を提供する。

・ F G F R キナーゼにより媒介される疾患状態または病態の予防または治療のための方法であって、それを必要とする被験体に、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

【 0 2 2 3 】

・ 本明細書に記載される疾患状態または病態の予防または治療のための方法であって、それを必要とする被験体に、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

【 0 2 2 4 】

・ 癌の予防または治療のための方法であって、それを必要とする被験体に、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

【 0 2 2 5 】

・ F G F R キナーゼにより媒介される疾患状態または病態を緩和する、またはその罹患率を軽減するための方法であって、それを必要とする被験体に、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

【 0 2 2 6 】

・ F G F R キナーゼを阻害する方法であって、該キナーゼを本明細書に定義される式 ( I ) のキナーゼ阻害化合物と接触させることを含んでなる方法。

【 0 2 2 7 】

・ 本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を用いて F G F R キナーゼの活性を阻害することにより細胞プロセス (例えば、細胞分裂) を調節する方法。

【 0 2 2 8 】

・ F G F R キナーゼの活性を阻害することにより、細胞プロセス (例えば、細胞分裂) のモジュレーターとして使用するための本明細書に定義される式 ( I ) の化合物。

【 0 2 2 9 】

・ 癌の予防または治療、特に、癌の治療において使用するための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物。

【 0 2 3 0 】

・ F G F R のモジュレーター (例えば、阻害剤) として使用するための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物。

【 0 2 3 1 】

・ F G F R キナーゼにより媒介される疾患状態または病態の予防または治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用 (該化合物は本明細書に定義される式 ( I ) を有する)。

【 0 2 3 2 】

・本明細書に記載される疾患状態または病態の予防または治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

【 0 2 3 3 】

・癌の予防または治療、特に、治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

【 0 2 3 4 】

・ F G F R の活性を調節する (例えば、阻害する) ことを目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

【 0 2 3 5 】

・ F G F R キナーゼの活性を阻害することにより、細胞プロセス (例えば、細胞分裂) を調節するための薬剤の製造における、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

10

【 0 2 3 6 】

・ F G F R キナーゼ (例えば、 F G F R 1 または F G F R 2 または F G F R 3 または F G F R 4 ) のアップレギュレーションを特徴とする疾患または病態の予防または治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

【 0 2 3 7 】

・癌の予防または治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用 (該癌は F G F R キナーゼ (例えば、 F G F R 1 または F G F R 2 または F G F R 3 または F G F R 4 ) のアップレギュレーションを特徴とするものである)。

【 0 2 3 8 】

20

・ F G F R 3 キナーゼの遺伝子異常を有する部分集団から選択される患者における癌の予防または治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

【 0 2 3 9 】

・ F G F R 3 キナーゼの遺伝子異常を有する部分集団の一部を形成すると診断された患者における癌の予防または治療を目的とする薬剤の製造のための、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物の使用。

【 0 2 4 0 】

・ F G F R キナーゼ (例えば、 F G F R 1 または F G F R 2 または F G F R 3 または F G F R 4 ) のアップレギュレーションを特徴とする疾患または病態の予防または治療のための方法であって、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

30

【 0 2 4 1 】

・ F G F R キナーゼ (例えば、 F G F R 1 または F G F R 2 または F G F R 3 または F G F R 4 ) のアップレギュレーションを特徴とする疾患または病態を緩和する、またはその罹患率を軽減するための方法であって、本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

【 0 2 4 2 】

・癌に罹患している、または罹患が疑われる患者における癌の予防または治療 (またはその緩和もしくはその罹患率の軽減) のための方法であって、 ( i ) 患者に対して、その患者が F G F R 3 遺伝子の遺伝子異常を有するかどうかを判定するための診断試験を行うこと ; および ( i i ) 前記患者が前記変異体を有する場合に、その後、前記患者に、 F G F R 3 キナーゼ阻害活性を有する本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

40

【 0 2 4 3 】

・ F G F R キナーゼ (例えば、 F G F R 1 または F G F R 2 または F G F R 3 または F G F R 4 ) のアップレギュレーションを特徴とする疾患状態または病態の予防または治療 (またはその緩和もしくはその罹患率の軽減) のための方法であって、 ( i ) 患者に対して、 F G F R キナーゼ (例えば、 F G F R 1 または F G F R 2 または F G F R 3 または F G F R 4 ) のアップレギュレーションに特徴的なマーカーを検出するための診断試験を行う

50



こと、および ( i i ) 前記診断試験が F G F R キナーゼのアップレギュレーションを示す場合に、その後、前記患者に、F G F R キナーゼ阻害活性を有する本明細書に定義される式 ( I ) の化合物を投与することを含んでなる方法。

#### 【 0 2 4 4 】

一つの実施態様では、F G F R キナーゼにより媒介される疾患は、腫瘍学関連疾患（例えば、癌）である。一つの実施態様では、F G F R キナーゼにより媒介される疾患は、非腫瘍学関連疾患（例えば、癌以外の本明細書で開示されるいずれかの疾患）である。一つの実施態様では、F G F R キナーゼにより媒介される疾患は、本明細書に記載される病態である。一つの実施態様では、F G F R キナーゼにより媒介される疾患は、本明細書に記載される骨格の病態である。ヒトの骨格発達における特定の異常としては、異常な頭蓋縫合骨化（頭蓋骨癒合症）、アペール（A P）症候群、クルーゾン症候群、ジャクソン・ワイズ症候群、ペーレ・スチーブンスン脳回状頭皮症候群、およびブファイファー症候群、軟骨形成不全および致死性小人症（致死性骨異形成症としても知られる）が挙げられる。

10

#### 【 0 2 4 5 】

#### 変異型キナーゼ

薬剤耐性キナーゼ突然変異が、キナーゼ阻害剤で治療された患者集団で発生する場合がある。これらは、一部、療法で用いられた特定の阻害剤と結合または相互作用するタンパク質の領域で発生する。このような突然変異は、問題のキナーゼと結合し、これを阻害する阻害剤の能力を低下または増大させる。これは、阻害剤と相互作用するか、または標的への前記阻害剤の結合を補助するのに重要なアミノ酸残基のいずれにおいても発生し得る。変異型アミノ酸残基との相互作用を必要とせずに標的キナーゼと結合する阻害剤は、突然変異によって影響を受けない可能性が高く、その酵素の効果的な阻害剤のままで維持されることになる。

20

#### 【 0 2 4 6 】

胃癌患者のサンプルの研究によれば、F G F R 2 に 2 つの突然変異、すなわち、エキソン I I I a における S e r 1 6 7 P r o およびエキソン I I I c におけるスプライス部位変異 9 4 0 - 2 A - G が存在することが示された。これらの突然変異は、頭蓋骨癒合症候群を引き起こす生殖細胞系列活性化突然変異と同一であり、供試原発性胃癌組織の 1 3 % で観察された。さらに、F G F R 3 における活性化突然変異は、供試患者サンプルの 5 % で観察され、F G F R の過剰発現は、この患者群における予後不良との相関が見られた。

30

#### 【 0 2 4 7 】

さらに、機能獲得型、過剰発現型、または構成的に活性な生物学的状態を生じる、F G F R で観察された染色体転座または点突然変異が存在する。

#### 【 0 2 4 8 】

従って、本発明の化合物は、F G F R などの変異型分子標的を発現する癌に関して適用が見出せる。このような突然変異を有する腫瘍の診断は、R T P C R および F I S H などの当業者に公知であり、本明細書に記載される技術を用いて実施することができる。

#### 【 0 2 4 9 】

F G F R の A T P 結合部位における、保存されているスレオニン残基の突然変異は、阻害剤耐性をもたらすことが示唆されている。F G F R 1 において、アミノ酸バリン 5 6 1 はメチオニンに変異しているが、これは、選択的阻害剤に対する耐性を付与することが示されている A b 1 ( T 3 1 5 ) および E G F R ( T 7 6 6 ) で見られる、これまでに報告された突然変異に相当する。F G F R 1 V 5 6 1 M に関するアッセイデータによれば、この突然変異が、野生型の場合と比較してチロシンキナーゼ阻害剤に対する耐性を付与したことが示された。

40

#### 【 0 2 5 0 】

#### 診断方法

式 ( I ) の化合物の投与前に、患者が罹患している、または罹患している可能性のある疾患または病態が、F G F R および / または V E G F R に対して活性を有する化合物での治療に感受性があるものかどうかを判定するために患者をスクリーニングすることができ

50

る。

【0251】

例えば、患者から採取した生体サンプルを分析し、その患者が罹患している、または罹患している可能性のある癌などの病態または疾患が、F G F Rおよび/またはV E G F Rのレベルまたは活性のアップレギュレーション、あるいは正常なF G F Rおよび/もしくはV E G F R活性へ向かう経路の増感、あるいは増殖因子リガンドレベルまたは増殖因子リガンド活性などの、これらの増殖因子シグナル伝達経路のアップレギュレーション、あるいはF G F Rおよび/またはV E G F R活性化の下流の生化学経路のアップレギュレーションをもたらす、遺伝子異常または異常なタンパク質発現を特徴とするものかどうかを判定することができる。

10

【0252】

F G F Rおよび/またはV E G F Rシグナルの活性化または増感をもたらすこのような異常の例としては、アポトーシス経路の欠損もしくは阻害、受容体もしくはリガンドのアップレギュレーション、または受容体もしくはリガンドの突然変異体、例えば、P T K変異体の存在が挙げられる。F G F R 1、F G F R 2もしくはF G F R 3もしくはF G F R 4の突然変異体、またはF G F R 1のアップレギュレーション、特に、過剰発現、またはF G F R 2もしくはF G F R 3の機能獲得型突然変異体を有する腫瘍は、F G F R阻害剤に対して特に感受性があり得る。

【0253】

例えば、機能獲得を生じるF G F R 2における点突然変異がいくつかの病態で同定されている。特に、F G F R 2における活性化突然変異は、子宮内膜腫瘍の10%で同定されている。

20

【0254】

さらに、異所発現されるかまたは調節解除された構成的に活性なF G F R 3受容体をもたらす染色体転座または点突然変異などのF G F R 3受容体チロシンキナーゼの遺伝子異常が同定され、多発性骨髄腫、膀胱癌および子宮頸癌のサブセットに関連づけられている。P D G F受容体の特定の突然変異T 6 7 4 Iが、イマチニブ処置患者で同定されている。さらに、8 p 1 2 - p 1 1 . 2の遺伝子増幅が小葉乳癌(C L C)症例の約50%で示され、これはF G F R 1の発現の増強と関連していることが示された。F G F R 1に対して向けられたs i R N Aまたは前記受容体の小分子阻害剤を用いた予備研究から、この増幅を有する細胞株がこのシグナル伝達経路の阻害に特に感受性を持つことが示された。

30

【0255】

あるいは、患者から採取した生体サンプルを、F G F RまたはV E G F Rの負のレギュレーターまたはサプレッサーが欠損しているかどうか分析してもよい。これに関して、用語「欠損」とは、レギュレーターまたはサプレッサーをコードする遺伝子の欠失、その遺伝子の末端切断(例えば、突然変異による)、その遺伝子の転写産物の末端切断、またはその転写産物の不活性化(例えば、点突然変異による)または別の遺伝子産物による隔離を包含する。

【0256】

用語アップレギュレーションには、発現増強または過剰発現(遺伝子増幅(すなわち、多重遺伝子コピー)および転写効果による発現増強を含む)、ならびに活性亢進および活性化(突然変異による活性化を含む)が含まれる。よって、患者に、F G F Rおよび/またはV E G F Rのアップレギュレーションに特徴的なマーカーを検出するための診断試験を行ってもよい。診断という用語にはスクリーニングを含む。マーカーには、例えば、D N A組成の評価を含め、F G F Rおよび/またはV E G F Rの突然変異を同定するための遺伝子マーカーを含めるものとする。マーカーという用語にはまた、酵素活性、酵素レベル、酵素状態(例えば、リン酸化されているかいないか)および前述のタンパク質のm R N Aレベルを含め、F G F Rおよび/またはV E G F Rのアップレギュレーションに特徴的なマーカーも含む。

40

【0257】

50

診断試験およびスクリーニングは一般に、例えば、腫瘍生検サンプル、血液サンプル（解離させた腫瘍細胞の単離および富化）、糞便生検、痰、染色体分析、胸膜液、腹腔液、頬側スミア(buccal smear)、生検または尿から選択される生体サンプルに対して行う。

【0258】

タンパク質の突然変異およびアップレギュレーションに関する同定および分析方法は当業者に公知である。スクリーニング方法としては、限定されるものではないが、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)、または蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)のようなin-situハイブリダイゼーションなどの標準的方法が挙げられる。

【0259】

FGFRおよび/またはVEGFRに突然変異を有する個体が特定されるということは、その患者がFGFRおよび/またはVEGFR阻害剤による治療に特に好適であることを意味し得る。優先的には、腫瘍を、治療前にFGFRおよび/またはVEGFR変異体の存在に関してスクリーニングすることができる。このスクリーニング方法は一般に、直接配列決定、オリゴヌクレオチドマイクロアレイ分析、または変異体特異的抗体を含む。さらに、このような突然変異を有する腫瘍の診断は、RT-PCRおよびFISHなど、当業者に公知であり、本明細書に記載される技術を用いて行うことができる。

【0260】

さらに、例えば、FGFRまたはVEGFR2の変異型は、PCRおよび上述のようにPCR産物の直接的配列決定を行う方法を用いた、例えば腫瘍生検の直接配列決定により同定することもできる。当業者ならば、上述のタンパク質の過剰発現、活性化または突然変異の検出のための、このような周知の技術が総て本場合に適用可能であることが認識できるであろう。

【0261】

RT-PCRによるスクリーニングでは、腫瘍におけるmRNAのレベルは、そのmRNAのcDNAコピーを作出した後、そのcDNAをPCRにより増幅することにより評価する。PCR増幅の方法、プライマーの選択、および増幅条件は当業者に公知である。核酸の操作およびPCRは、例えば、Ausubel, F. M. et al. 編(2004) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc.、またはInnis, M. A. et al. 編(1990) PCR Protocols: a guide to methods and applications, Academic Press, San Diegoに記載のような標準的な方法により行う。核酸技術を含む反応および操作はまた、Sambrook et al., (2001), 第3版, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている。あるいは、RT-PCR用の市販キット（例えば、Roche Molecular biochemicals）、または米国特許第4,666,828号明細書；同第4,683,202号明細書；同第4,801,531号明細書；同第5,192,659号明細書；同第5,272,057号明細書；同第5,882,864号明細書および同第6,218,529号明細書に示されている方法が使用でき、これらは引用することにより本明細書の一部とされる。mRNAの発現を評価するためのin situハイブリダイゼーション技術の一例は、蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH) (Angerer (1987) Meth. Enzymol., 152: 649)であろう。

【0262】

一般に、in situハイブリダイゼーションは以下の主要工程を含む：(1) 分析する組織の固定；(2) 標的核酸の接近性を高めるため、また、非特異的結合を軽減するためのサンプルのプレハイブリダイゼーション処理；(3) その核酸混合物と生体構造または組織中の核酸とのハイブリダイゼーション；(4) ハイブリダイゼーションで結合しなかった核酸断片を除去するためのハイブリダイゼーション後洗浄；および(5) ハイブリダイズした核酸断片の検出。このような適用で用いるプローブは一般に、例えば放射性同位体または蛍光リポーターで標識される。好ましいプローブは、ストリンジェント条件下で標的核酸と特異的ハイブリダイゼーションが可能となるように十分な長さ、例えば、約50、100、または200ヌクレオチド～約1000またはそれを超えるヌクレオチ

10

20

30

40

50

ドである。FISHを行うための標準的な方法は、Ausubel, F. M. et al.編(2004) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc and Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview by John M. S. Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, 第2版; ISBN: 1-59259-760-2; March 2004, pps. 077-088; Series :Methods in Molecular Medicineに記載されている。

【0263】

遺伝子発現プロファイリング法は、DePrimo et al.(2003), BMC Cancer, 3:3に記載されている。簡単に述べると、このプロトコールは次の通りである：第一鎖cDNA合成を誘導するための(dT)24オリゴマーを用い、全RNAから二本鎖cDNAを合成した後、ランダムヘキサマープライマーを用い、第二鎖cDNAを合成する。この二本鎖cDNAを、ピオチン化リボヌクレオチドを用いるcRNAのin vitro転写の鋳型として用いる。Affymetrix (Santa Clara, CA, USA)が記載しているプロトコールに従い、cRNAを化学的にフラグメント化した後、ヒトゲノムアレイに一晩ハイブリダイズさせる。

10

【0264】

あるいは、これらのmRNAから発現されたタンパク質産物を、腫瘍サンプルの免疫組織化学、マイクロタイタープレートを用いる固相イムノアッセイ、ウエスタンブロット法、二次元SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、ELISA、フローサイトメトリーおよび特定のタンパク質を検出するための当技術分野で公知の他の方法によりアッセイしてもよい。検出方法には、部位特異的抗体の使用が含まれる。当業者ならば、FGFRおよび/もしくはVEGFRのアップレギュレーションの検出、またはFGFRおよび/もしくはVEGFR変異体もしくは突然変異体の検出のための、このような周知の技術が総て本場合に適用可能であることが認識できるであろう。

20

【0265】

FGFRまたはVEGFRなどのタンパク質の異常なレベルは、標準的な酵素アッセイ、例えば、本明細書に記載されるアッセイを用いて測定することができる。また、活性化または過剰発現は、組織サンプル、例えば腫瘍組織において、Chemicon Internationalから入手できるものなどのアッセイを用いてチロシンキナーゼ活性を測定することによって検出することもできる。目的のチロシンキナーゼをサンプル溶解液から免疫沈降させ、その活性を測定する。

30

【0266】

そのアイソフォームを含めてFGFRまたはVEGFRの過剰発現または活性化を測定するための別法としては、微細血管密度の測定を含む。これは例えば、Orre and Rogers (Int J Cancer (1999), 84(2) 101-8)が記載している方法を用いて測定することができる。アッセイ法にはマーカーの使用も含み、例えば、VEGFRの場合には、これらにはCD31、CD34およびCD105が含まれる。

【0267】

よって、これらの技術は総て、本発明の化合物による治療に特に適切な腫瘍を同定するためにも使用可能である。

【0268】

本発明の化合物は、変異型FGFRを有する患者の治療に特に有用である。FGFR3におけるG697C突然変異は、口腔扁平上皮癌の62%に見られ、このキナーゼ活性の構成的活性化を引き起こす。FGFR3の活性化突然変異は膀胱癌の場合にも同定されている。これらの突然変異は、R248C、S249C、G372C、S373C、Y375C、K652Qという、様々な存在度の6種類であった。さらに、FGFR4におけるGly388Arg多型が、前立腺癌、結腸癌、肺癌、肝臓癌(HCC)および乳癌の罹患率の上昇および急速進行性に関連していることも判明している。本発明の化合物は、FGFR3-TACC3転座を有する患者の治療に特に有用である。

40

【0269】

よって、さらなる側面において、本発明は、スクリーニングを受け、かつ、FGFRに

50

対して活性を有する化合物による治療に感受性があると考えられる疾患または病態に罹患している、または罹患のリスクがあると判定された患者における、疾患状態または病態の治療または予防を目的とする薬剤の製造のための、本発明による化合物の使用を含む。

【0270】

患者がスクリーニングされる特定の突然変異としては、FGFR3におけるG697C、R248C、S249C、G372C、S373C、Y375C、K652Q突然変異、ならびにFGFR4におけるGly388Arg多型を含む。

【0271】

別の側面では、本発明は、FGFR遺伝子の変異体（例えば、FGFR3におけるG697C突然変異、およびFGFR4におけるGly388Arg多型）を有する部分集団から選択される患者において、本発明の予防または治療において使用するための化合物を含む。

10

【0272】

血管正常化のMRI測定（例えば、MRIグラジェントエコー、スピンエコー、ならびに血液容量、相対的血管サイズ、および血管透過性を評価するための造影）と循環バイオマーカー（循環前駆細胞（CPC）、CEC、SDF1、およびFGF2）の組合せを用い、本発明の化合物による治療に関するVEGFR2耐性腫瘍を同定することもできる。

【0273】

医薬組成物および組合せ

対象化合物は、それらの有用な薬理特性を考慮して、投与目的の種々の医薬形態に処方することができる。

20

【0274】

一つの実施態様では、医薬組成物（例えば、処方物）は、少なくとも1種類の本発明の有効化合物を、1種類以上の薬学的に許容可能な担体、アジュバント、賦形剤、希釈剤、増量剤、緩衝剤、安定剤、保存剤、滑沢剤、または当業者に周知の他の材料、および場合により他の治療薬または予防薬とともに含んでなる。

【0275】

本発明の医薬組成物を調製するためには、有効成分としての有効量の本発明の化合物を、薬学的に許容可能な担体と緊密に混合して組み合わせるが、担体は投与に望ましい製剤の形態に応じて多様な形態をとってよい。本医薬組成物は、経口投与、非経口投与、局所投与、鼻腔内投与、眼内投与、耳内投与、直腸投与、腔内投与、または経皮投与に適切な任意の形態であり得る。これらの医薬組成物は、好ましくは経口投与、直腸投与、経皮投与、または非経口注射に適切な単位投与形であることが望ましい。例えば、本組成物を経口投与形で調製する場合、懸濁液、シロップ剤、エリキシル剤および溶液などの経口液体製の場合には、例えば、水、グリコール、油、アルコールなど；または散剤、丸剤、カプセル剤および錠剤の場合には、デンプン、糖類、カオリン、滑沢剤、結合剤、崩壊剤などの固体担体といった、通常の製薬媒体のいずれを用いてもよい。

30

【0276】

投与が容易なために、錠剤およびカプセル剤が最も有利な経口投与単位となるが、この場合には、明らかに固体制薬担体を使用される。非経口組成物の場合、例えば溶解性を助けるために他の成分を含んでもよいが、担体は通常、少なくとも大部分が無菌水を含んでなる。例えば、注射溶液を調製してもよく、この場合には、担体は生理食塩水、グルコース溶液または生理食塩水とグルコース溶液の混合物を含んでなる。注射懸濁液も調製可能であり、この場合には、適当な液体担体、沈殿防止剤などを使用してよい。経皮投与に適切な組成物では、担体は場合により、浸透促進剤および/または適切な湿潤剤を、場合により、微量の適切な任意の天然添加物（このような添加物は皮膚に著しく有害な作用を及ぼさない）とともに含んでもよい。前記の添加物は皮膚への投与を助長し、かつ/または所望の組成物の調製を助け得る。これらの組成物は、例えば、経皮パッチとして、滴下剤として、軟膏としてなど、種々の方法で投与することができる。上述の医薬組成物は、投与の容易さと用量の均一性のために単位投与形で処方することが特に有利である。本明細

40

50

書で使用され、ここで特許請求される単位投与形は、各単位が所望の治療効果をもたらすように計算された所定量の有効成分を必要とされる製薬担体とともに含有する、単位用量として適切な物理的に別個の単位を意味する。このような単位投与形の例は、錠剤（割線入り錠剤またはコーティング錠剤）、カプセル剤、丸剤、パウダーパケット、ウエハース、注射溶液または懸濁液、ティースプーン 1 さじ、テーブルスプーン 1 さじなど、およびそれらの別個の複数物である。

【0277】

上述の医薬組成物は、投与の容易さと用量の均一性のために単位投与形で処方することが特に有利である。本明細書で使用され、ここで特許請求される単位投与形は、各単位が所望の治療効果をもたらすように計算された所定量の有効成分を必要とされる製薬担体とともに含有する、単位用量として適切な物理的に別個の単位を意味する。このような単位投与形の例は、錠剤（割線入り錠剤またはコーティング錠剤）、カプセル剤、丸剤、パウダーパケット、ウエハース、注射溶液または懸濁液、ティースプーン 1 さじ、テーブルスプーン 1 さじなど、およびそれらの別個の複数物である。

10

【0278】

本発明の化合物は、その抗腫瘍活性を発揮するに十分な量で投与される。

【0279】

当業者ならば、以下に示す試験結果から有効量を容易に決定することができる。一般に、治療上有効な量は  $0.005 \text{ mg/kg} \sim 100 \text{ mg/kg}$  体重、特に、 $0.005 \text{ mg/kg} \sim 10 \text{ mg/kg}$  体重であると考えられる。必要な用量を 1 回、または 1 日のうちに適当な間隔をおいて 2 回、3 回、4 回またはそれを超える分割用量で投与することが適当であり得る。前記の分割用量は、例えば、単位投与形当たり  $0.5 \sim 500 \text{ mg}$ 、特に  $1 \text{ mg} \sim 500 \text{ mg}$ 、さらに特に  $10 \text{ mg} \sim 500 \text{ mg}$  の有効成分を含有する単位投与形として処方することができる。

20

【0280】

投与様式に応じて、本医薬組成物は、好ましくは  $0.05 \sim 99$  重量%、より好ましくは  $0.1 \sim 70$  重量%、いっそうより好ましくは  $0.1 \sim 50$  重量%の本発明の化合物と、 $1 \sim 99.95$  重量%、より好ましくは  $30 \sim 99.9$  重量%、いっそうより好ましくは  $50 \sim 99.9$  重量%の薬学的に許容可能な担体とを含んでなる（パーセンテージは総て、組成物の総重量に基づくものである）。

30

【0281】

本発明の別の側面として、特に医薬として使用するための、より具体的には、癌または関連の疾患の治療に使用するための、本発明の化合物と別の抗癌剤との組合せが意図される。

【0282】

上記病態の治療のため、本発明の化合物は、1 以上の他の医薬剤、より詳しくは、他の抗癌剤または癌治療におけるアジュバントと組み合わせて使用することが有利であり得る。抗癌剤またはアジュバント（療法における補助薬剤）の例としては、限定されるものではないが、以下のものが挙げられる：

- ・白金錯体化合物、例えば、シスプラチン（場合によりアミフォスチン、カルボプラチンまたはオキサリプラチンと組み合わせてもよい）；
- ・タキサン化合物、例えば、パクリタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（アブラキサン（商標））またはドセタキセル；
- ・トポイソメラーゼ I 阻害剤、例えば、カンプトテシン化合物、例えば、イリノテカン、SN-38、トポテカン、トポテカン hcl；
- ・トポイソメラーゼ II 阻害剤、例えば、抗腫瘍エポドフィロトキシンまたはポドフィロトキシン誘導体、例えば、エトポシド、リン酸エトポシドまたはテニポシド；
- ・抗腫瘍ビンカルカロイド、例えば、ビンブラスチン、ピンクリスチンまたはビノレルビン；
- ・抗腫瘍ヌクレオシド誘導体、例えば、5-フルオロウラシル、ロイコボリン、ゲムシタ

40

50

ピン、ゲムシタピン h c 1、カペシタピン、クラドリピン、フルダラピン、ネララピン；  
 ・アルキル化剤、例えば、ナイトロジェンマスタードまたはニトロソ尿素、例えば、シクロホスファミド、クロラムブシル、カルムスチン、チオテパ、メファラン（メルファラン）、ロムスチン、アルトレタミン、ブスルファン、ダカルバジン、エストラムスチン、イフォスファミド（場合によりメスナと組み合わせてもよい）、ピボプロマン、プロカルバジン、ストレプトゾシン、テロゾロミド、ウラシル；

・抗腫瘍アントラサイクリン誘導体、例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン（場合によりデクスラゾキサソと組み合わせてもよい）、ドキシル、イダルビシン、ミトキサントロン、エピルビシン、エピルビシン h c 1、パルルビシン；

・ I G F - 1 受容体を標的とする分子、例えば、ピクロポドフィリン；

10

・テトラカルシン(tetracarcin)誘導体、例えば、テトラカルシン(tetracarcin) A；

・グルココルチコイド、例えば、プレドニゾン；

・抗体、例えば、トラスツズマブ（HER2 抗体）、リツキシマブ（CD20 抗体）、ゲムツズマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、セツキシマブ、ベルツズマブ、ペバシズマブ、アレムツズマブ、エクリズマブ、イブリツモマブ・チウキセタン、ノフェツモマブ、パニツムマブ、トシツモマブ、CNT0328；

・エストロゲン受容体拮抗薬または選択的エストロゲン受容体調節薬またはエストロゲン合成阻害剤、例えば、タモキシフェン、フルベストラント、トレミフェン、ドロロキシフェン、ファスロデックス、ラロキシフェンまたはレトロゾール；

・アロマターゼ阻害剤、例えば、エキセメスタン、アナストロゾール、レトラゾール、テストラクトンおよびボロゾール；

20

・分化剤、例えば、レチノイド、ビタミンDまたはレチノイン酸およびレチノイン酸代謝遮断剤（RAMBA）、例えば、アキュテイン；

・DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、アザシチジンまたはデシタピン；

・葉酸拮抗剤、例えば、プレメトレキセド(premetrexed)二ナトリウム；

・抗生物質、例えば、アンチノマイシン(antinomycin) D、ブレオマイシン、マイトマイシン C、ダクチノマイシン、カルミノマイシン、ダウノマイシン、レバミゾール、プリカマイシン、ミトラマイシン；

・代謝拮抗物質、例えば、クロファラビン、アミノプテリン、シトシンアラビノシドまたはメトトレキサート、アザシチジン、シタラビン、フロクスウリジン、ペントスタチン、チオグアニン；

30

・アポトーシス誘発剤および抗血管新生剤、例えば、Bcl-2 阻害剤、例えば、YC137、BH312、ABT737、ゴシポール、HA14-1、TW37またはデカン酸；

・チューブリン結合剤、例えば、コンプレスタチン、コルヒチンまたはノコダゾール；

・キナーゼ阻害剤（例えば、EGFR（上皮増殖因子受容体）阻害剤、MTKI（マルチターゲットキナーゼ阻害剤）、mTOR 阻害剤、cmet 阻害剤）、例えば、フラボペリドール(flavoperidol)、メシル酸イマチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、ダサチニブ、ラパチニブ、ニトシル酸ラパチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、マレイン酸スニチニブ、テムシロリムス、6- {ジフルオロ[6- (1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)] [1, 2, 4] トリアゾロ[4, 3-b] ピリダジン-3-イル] メチル} キノリンまたはその薬学的に許容可能な塩、6- [ジフルオロ(6-ピリジン-4-イル[1, 2, 4] トリアゾロ[4, 3-b] ピリダジン-3-イル) メチル] キノリンまたはその薬学的に許容可能な塩；

40

・ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、チピファルニブ；

・ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤、例えば、酪酸ナトリウム、ヒドロキサミン酸サブエロイルアニリド（SAHA）、デブシペプチド（FR901228）、NVPLAQ824、R306465、JNJ-26481585、トリコスタチンA、ボリノスタット；

・ユビキチン-プロテアソーム経路阻害剤、例えば、PS-341、MLN-41または

50

ボルテゾミブ；

- ・ ヨンデリス；
- ・ テロメラゼ阻害剤、例えば、テロメスタチン；
- ・ マトリックスメタロプロテインゼ阻害剤、例えば、バチマスタット、マリマスタット、プリノスタットまたはメタスタット；
- ・ 組換えインターロイキン、例えば、アルデスロイキン、デニロイキンディフチトクス、インターフェロン 2 a、インターフェロン 2 b、ペグインターフェロン 2 b；
- ・ M A P K 阻害剤；
- ・ レチノイド、例えば、アリトレチノイン、ベキサロテン、トレチノイン；
- ・ 三酸化ヒ素；
- ・ アスパラギナーゼ；
- ・ ステロイド、例えば、プロピオン酸ドロモスタノロン、酢酸メゲストロール、ナンドロロン（デカン酸、フェンプロピオン酸）、デキサメタゾン；
- ・ ゴナドトロピン放出ホルモン拮抗薬または作用薬、例えば、アバレリクス、酢酸ゴセレリン、酢酸ヒストレリン、酢酸ロイプロリド；
- ・ サリドマイド、レナリドマイド；
- ・ メルカプトプリン、ミトタン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペグアスパラガーゼ、ラスブリカーゼ；
- ・ B H 3 模倣薬、例えば、A B T - 7 3 7；
- ・ M E K 阻害剤、例えば、P D 9 8 0 5 9、A Z D 6 2 4 4、C I - 1 0 4 0；
- ・ コロニー刺激因子類似体、例えば、フィルグラスチム、ペグフィルグラスチム、サルグラモスチム；エリスロポエチンまたはその類似体（例えば、ダルベポエチン）；インターロイキン 1 1；オプレルベキン；ゾレドロネート、ゾレンドロン酸；フェンタニル；ビスホスホネート；パリフェルミン；
- ・ ステロイド系シトクロム P 4 5 0 1 7 - ヒドロキシラーゼ - 1 7，2 0 - リアーゼ阻害剤（C Y P 1 7）、例えば、アピラテロン、酢酸アピラテロン。

10

#### 【 0 2 8 3 】

一つの実施態様では、本発明は、式（ I ）の化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物、または任意のサブグループおよびその例と、6 - {ジフルオロ [ 6 - ( 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) [ 1，2，4 ] トリアゾロ [ 4，3 - b ] ピリダジン - 3 - イル ] メチル } キノリンまたはその薬学的に許容可能な塩との組合せに関する。

20

30

#### 【 0 2 8 4 】

一つの実施態様では、本発明は、式（ I ）の化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物、または任意のサブグループおよびその例と、6 - [ジフルオロ ( 6 - ピリジン - 4 - イル [ 1，2，4 ] トリアゾロ [ 4，3 - b ] ピリダジン - 3 - イル ) メチル ] キノリンまたはその薬学的に許容可能な塩との組合せに関する。

#### 【 0 2 8 5 】

一つの実施態様では、本発明は、式（ I ）の化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物、または任意のサブグループおよびその例と、6 - {ジフルオロ [ 6 - ( 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) [ 1，2，4 ] トリアゾロ [ 4，3 - b ] ピリダジン - 3 - イル ] メチル } キノリンまたはその薬学的に許容可能な塩とを含んでなる医薬組成物に関する。

40

#### 【 0 2 8 6 】

一つの実施態様では、本発明は、式（ I ）の化合物、その薬学的に許容可能な塩もしくはその溶媒和物、または任意のサブグループおよびその例と、6 - [ジフルオロ ( 6 - ピリジン - 4 - イル [ 1，2，4 ] トリアゾロ [ 4，3 - b ] ピリダジン - 3 - イル ) メチル ] キノリンまたはその薬学的に許容可能な塩とを含んでなる医薬組成物に関する。

#### 【 0 2 8 7 】

本発明の化合物はまた、腫瘍細胞を放射線療法および化学療法に増感させる上での治療

50



適用も持つ。

【0288】

従って、本発明の化合物は、「放射線増感剤」および/または「化学療法増感剤」として使用可能であるか、または別の「放射線増感剤」および/または「化学療法増感剤」と組み合わせて投与することもできる。

【0289】

本明細書において用語「放射線増感剤」は、電磁放射線に対する細胞の感受性を高めるため、かつ/または電磁放射線で治療可能な疾患の治療を促進するために、治療上有効な量で動物に投与される分子、好ましくは、低分子量分子と定義される。

【0290】

本明細書において用語「化学療法増感剤」は、化学療法に対する細胞の感受性を高めるため、かつ/または化学療法薬で治療可能な疾患の治療を促進するために、治療上有効な量で動物に投与される分子、好ましくは、低分子量分子と定義される。

【0291】

放射線増感剤の作用様式についていくつかの機構が文献で提案されており、これには下記のものが含まれる：低酸素細胞放射線増感剤（例えば、2-ニトロイミダゾール化合物、およびベンゾトリアジンジオキシド化合物）は、酸素を模倣するか、あるいはまた低酸素症下で生物還元剤のように振る舞う；非低酸素細胞放射線増感剤（例えば、ハロゲン化ピリミジン）は、DNA塩基の類似体であり得、癌細胞のDNAに優先的に組み込まれ、それにより、放射線により誘発されるDNA分子の破断を促進し、かつ/または正常なDNA修復機構を妨げる；疾患の治療における放射線増感剤に関して、他の種々の可能性のある作用機構が仮定されている。

【0292】

現行の多くの癌治療プロトコールが、X線照射とともに放射線増感剤を使用している。X線活性化放射線増感剤の例としては、限定されるものではないが、以下のもの：メトロナダゾール、ミソナダゾール、デスメチルミソナダゾール、ピモナダゾール、エタナダゾール、ニモラゾール、マイトマイシンC、RSU 1069、SR 4233、EO9、RB 6145、ニコチンアミド、5-プロモデオキシウリジン（BudR）、5-ヨードデオキシウリジン（IdR）、プロモデオキシシチジン、フルオロデオキシウリジン（FudR）、ヒドロキシ尿素、シスプラチン、ならびにその治療上有効な類似体および誘導体が挙げられる。

【0293】

癌の光線力学療法（PDT）では、増感剤の放射線活性化因子として可視光を用いる。光学的放射線増感剤の例としては、限定されるものではないが以下のもの：ヘマトポルフィリン誘導体、フォトフリン、ベンゾポルフィリン誘導体、スズエチオポルフィリン、フェオボルピド-a、バクテリアクロロフィル-a、ナフトロシアニン、フタロシアニン、亜鉛フタロシアニン、ならびにその治療上有効な類似体および誘導体が挙げられる。

【0294】

放射線増感剤は、限定されるものではないが、標的細胞への放射線増感剤の組み込みを促進する化合物；標的細胞への治療薬、栄養素および/または酸素の流入を制御する化合物；さらなる放射線を伴って、または伴わずに腫瘍で働く化学療法薬；または癌もしくは他の疾患を治療するための他の治療上有効な化合物を含む、治療上有効な量の他の1以上の化合物とともに投与することができる。

【0295】

化学療法増感剤は、限定されるものではないが、標的細胞への化学療法増感剤の組み込みを促進する化合物；標的細胞への治療薬、栄養素および/または酸素の流入を制御する化合物；腫瘍で働く化学療法薬；または癌もしくは他の疾患を治療するための他の治療上有効な化合物を含む、治療上有効な量の他の1以上の化合物とともに投与することができる。カルシウム拮抗薬、例えば、ベラパミルは、受け取られた化学療法薬に対して耐性のある腫瘍細胞において化学療法感受性を確立するため、また、薬物感受性悪性腫瘍におい

10

20

30

40

50

てこのような化合物の有効性を増強するために、抗悪性腫瘍薬と組み合わせると有用であることが分かっている。

【0296】

本発明による組合せの成分、すなわち、1以上の他の医薬剤と本発明による化合物は、それらの有用な薬理特性を考慮して、投与目的の種々の医薬形態に処方することができる。これらの成分は、個々の医薬組成物として個別に処方してもよいし、または総ての成分を含有する単一医薬組成物として処方してもよい。

【0297】

従って、本発明はまた、1以上の他の医薬剤および本発明による化合物を製薬担体とともに含んでなる医薬組成物に関する。

10

【0298】

本発明はさらに、腫瘍細胞の成長を阻害するための医薬組成物の製造における、本発明による組合せの使用に関する。

【0299】

本発明はさらに、第一の有効成分としての本発明による化合物、およびさらなる有効成分としての1以上の抗癌剤を含有する、癌に罹患している患者の治療において同時使用、個別使用または逐次使用するための組合せ製剤としての製品に関する。

【0300】

これら1以上の他の医薬剤と本発明による化合物は、同時に（例えば、別個の組成物または単一の組成物として）投与してもよいし、またはいずれかの順序で逐次投与してもよい。後者の場合、2種類以上の化合物が、有利な作用または相乗作用が達せられるように十分な期間内に、十分な量および様式で投与される。組合せの各成分の好ましい投与方法および投与順序、ならびに個々の用量および投与計画は、投与する特定の他の医薬剤および本発明の化合物、それらの投与経路、治療する特定の腫瘍および治療する特定の宿主によって異なる。最適な投与方法および投与順序、ならびに用量および投与計画は、当業者ならば、従来の方法を用い、本明細書に示されている情報を考慮して容易に決定することができる。

20

【0301】

組合せとして与える場合の、本発明による化合物と1以上の他の抗癌剤の重量比は、当業者により決定可能である。前記の比および厳密な用量および投与頻度は、当業者には周知であるように、本発明による特定の化合物および使用する他の抗癌剤、治療する特定の病態、治療する病態の重篤度、特定の患者の年齢、体重、性別、食事、投与時間および健康状態、投与様式、ならびにその個体が受けている可能性のある他の投薬によって異なる。さらに、この有効一日量は、治療を受けた被験体の応答に応じて、かつ/または本発明の化合物を指示する医師の評価に応じて、引き下げても引き上げてもよいということは明らかである。式(I)の本化合物と別の抗癌剤の特定の重量比は、 $1/10 \sim 10/1$ 、より特には $1/5 \sim 5/1$ 、いっそうより特には $1/3 \sim 3/1$ の範囲であり得る。

30

【0302】

白金錯体化合物は有利には、1治療クールにつき、 $1 \sim 500 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $50 \sim 400 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、特に、シスプラチンでは約 $75 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、カルボプラチンでは約 $300 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

40

【0303】

タキサン化合物は有利には、1治療クールにつき、 $50 \sim 400 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $75 \sim 250 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、特に、パクリタキセルでは約 $175 \sim 250 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、ドセタキセルでは約 $75 \sim 150 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

【0304】

カンプトテシン化合物は有利には、1治療クールにつき、 $0.1 \sim 400 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $1 \sim 300 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、特にイリノテカンでは約 $100 \sim 350 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、トポテカンでは約 $1 \sim 2 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与す

50

る。

【0305】

抗腫瘍ボドフィルトキシン誘導体は有利には、1治療クールにつき、 $30 \sim 300 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $50 \sim 250 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で、特に、エトボシドでは約  $35 \sim 100 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、テニボシドでは約  $50 \sim 250 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

【0306】

抗腫瘍ビンカアルカロイドは有利には、1治療クールにつき、 $2 \sim 30 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積の用量で、特に、ビンブラスチンでは約  $3 \sim 12 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、ピンクリスチンでは約  $1 \sim 2 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、ビノレルビンでは約  $10 \sim 30 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

10

【0307】

抗腫瘍ヌクレオシド誘導体は有利には、1治療クールにつき、 $200 \sim 2500 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $700 \sim 1500 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で、特に、5-FUでは  $200 \sim 500 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、ゲムシタピンでは約  $800 \sim 1200 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、カペシタピンでは約  $1000 \sim 2500 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

【0308】

ナイトロジェンマスタードまたはニトロソ尿素などのアルキル化剤は有利には、1治療クールにつき、 $100 \sim 500 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $120 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で、特に、シクロホスファミドでは約  $100 \sim 500 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、クロラムブシルでは約  $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} / \text{kg}$  の用量、カルムスチンでは約  $150 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、ロムスチンでは約  $100 \sim 150 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

20

【0309】

抗腫瘍アントラサイクリン誘導体は有利には、1治療クールにつき、 $10 \sim 75 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、例えば、 $15 \sim 60 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で、特に、ドキソルピシンでは約  $40 \sim 75 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、ダウノルピシンでは約  $25 \sim 45 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量、イダルビシンでは約  $10 \sim 15 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

【0310】

抗エストロゲン作用薬は有利には、特定の薬剤および治療する病態に応じて1日約  $1 \sim 100 \text{ mg}$  の用量で投与する。タモキシフェンは有利には、1日2回、 $5 \sim 50 \text{ mg}$ 、好ましくは  $10 \sim 20 \text{ mg}$  の用量で経口投与し、治療効果を達成および維持するのに十分な期間治療を継続する。トレミフェンは有利には、1日1回、約  $60 \text{ mg}$  の用量で経口投与し、治療効果を達成および維持するのに十分な期間治療を継続する。アナストロゾールは有利には、1日1回、約  $1 \text{ mg}$  の用量で経口投与する。ドロロキシフェンは有利には、1日1回、約  $20 \sim 100 \text{ mg}$  の用量で経口投与する。ラロキシフェンは有利には、1日1回、約  $60 \text{ mg}$  の用量で経口投与する。エキセメスタン是有利には、1日1回、約  $25 \text{ mg}$  の用量で経口投与する。

30

【0311】

抗体は有利には、約  $1 \sim 5 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積の用量で、異なる場合には当技術分野で公知のように投与する。トラスツズマブは有利には、1治療クールにつき、 $1 \sim 5 \text{ mg} / \text{平方メートル} (\text{mg} / \text{m}^2)$  体表面積、特に、 $2 \sim 4 \text{ mg} / \text{m}^2$  の用量で投与する。

40

【0312】

これらの用量は1治療クールにつき、例えば、1回、2回またはそれを超える回数投与してもよく、これを例えば7日、14日、21日または28日ごとに繰り返すことができる。

【0313】

式(I)の化合物、薬学的に許容可能な付加塩、特に、薬学的に許容可能な酸付加塩、

50

およびその立体異性形は、標識化合物と他の分子、ペプチド、タンパク質、酵素または受容体との間の複合体の形成を検出または同定するために使用可能であるという点で、有用な診断特性を持ち得る。

#### 【0314】

これらの検出または同定方法は、放射性同位体、酵素、蛍光物質、発光物質などの標識剤で標識された化合物を使用することができる。放射性同位体の例としては、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^3\text{H}$ および $^{14}\text{C}$ が挙げられる。酵素は通常、適当な基質とコンジュゲートし、これにより検出可能な反応を触媒することで検出可能となる。その例としては、例えば、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ペルオキシダーゼおよびリンゴ酸デヒドロゲナーゼ、好ましくは、セイヨウワサビペルオキシダーゼが挙げられる。発光基質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、エクオリンおよびルシフェラーゼが挙げられる。

10

#### 【0315】

生体サンプルは身体組織または体液と定義することができる。体液の例は、脳脊髄液、血液、血漿、血清、尿、痰、唾液などである。

#### 【実施例】

#### 【0316】

##### 一般合成経路

以下、実施例により本発明を説明するが、これらは単に例に過ぎず、特許請求の範囲を何ら限定するものではない。

20

#### 【0317】

##### 実験の部

以下、用語「DCM」はジクロロメタンを意味し、「Me」はメチルを意味し、「Et」はエチルを意味し、「MeOH」はメタノールを意味し、「DMF」はジメチルホルムアミドを意味し、「Et<sub>2</sub>O」はジエチルエーテルを意味し、「EtOAc」は酢酸エチルを意味し、「ACN」はアセトニトリルを意味し、「H<sub>2</sub>O」は水を意味し、「THF」はテトラヒドロフランを意味し、「MgSO<sub>4</sub>」は硫酸マグネシウムを意味し、「NH<sub>4</sub>OH」は水酸化アンモニウムを意味し、「K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>」は炭酸二カリウムを意味し、「MgCl<sub>2</sub>」は塩化マグネシウムを意味し、「iPrNH<sub>2</sub>」はイソプロピルアミンを意味し、「NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>」は重炭酸アンモニウムを意味し、「DMSO」はジメチルスルホキシドを意味し、「EDTA」はエチレンジアミン四酢酸を意味し、「NADP」はニコチン酸アミドアデニンジヌクレオチドリン酸を意味し、「SFC」は超臨界流体クロマトグラフィーを意味し、「MP」は融点を意味する。

30

#### 【0318】

##### A. 中間体の製造

中間体1またはN-(3,5-ジメトキシフェニル)-N'-(1-メチルエチル)-N-[3-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)キノキサリン-6-イル]エタン-1,2-ジアミンは、WO2011/135376に化合物4として記載され、そこで化合物4に関して記載されているプロトコールに従って製造することができる。

#### 【0319】

中間体2またはN-(3,5-ジメトキシフェニル)-N'-(1-メチルエチル)-N-[3-(1H-ピラゾール-4-イル)キノキサリン-6-イル]エタン-1,2-ジアミンは、WO2011/135376に塩基化合物137として記載され、そこで化合物137に関して記載されているプロトコールに従って製造することができる。

40

#### 【0320】

中間体3またはN-(3,5-ジメトキシフェニル)-N'-(1-メチル)-N-[3-(1-エチル-1H-ピラゾール-4-イル)キノキサリン-6-イル]エタン-1,2-ジアミンは、WO2011/135376に化合物449として記載され、そこで化合物449に関して記載されているプロトコールに従って製造することができる。

#### 【0321】

50

中間体 4 または N - ( 3 , 5 - ジメトキシフェニル ) - N ' - ( 1 - メチルエチル ) - N - [ 3 - ( 1 - エチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) キノキサリン - 6 - イル ] エタン - 1 , 2 - ジアミンは、WO 2 0 1 1 / 1 3 5 3 7 6 に化合物 1 3 5 として、遊離塩基または HCl 塩として記載され、そこで化合物 1 3 5 に関して記載されているプロトコールに従って製造することができる。

#### 【 0 3 2 2 】

中間体 5 または N - ( 3 , 5 - ジメトキシフェニル ) - N ' - ( 1 - メチルエチル ) - N - [ 3 - ( 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) キノキサリン - 6 - イル ] プロパン - 1 , 3 - ジアミンは、WO 2 0 1 1 / 1 3 5 3 7 6 に化合物 3 8 2 として記載され、そこで化合物 3 8 2 に関して記載されているプロトコールに従って製造することができる。

10

#### 【 0 3 2 3 】

中間体 6 または 7 - ブロモ - 2 - ( 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) - キノキサリンは、WO 2 0 1 1 / 1 3 5 3 7 6 に中間体 2 として記載され、そこで中間体 2 に関して記載されているプロトコールに従って製造することができる。

#### 【 0 3 2 4 】

WO 2 0 1 1 / 1 3 5 3 7 6 は、引用することにより本明細書の一部とされる。

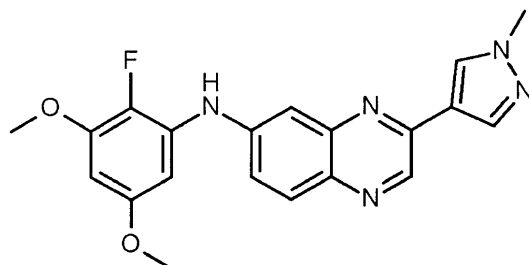
#### 【 0 3 2 5 】

#### 実施例 A 1

##### a ) 中間体 7 の製造

20

#### 【 化 1 5 】



30

#### 【 0 3 2 6 】

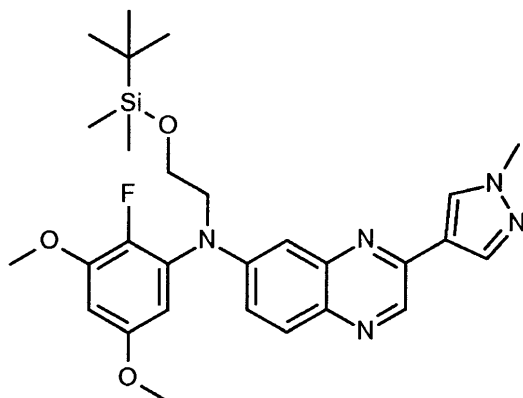
ジオキサソ ( 1 0 0 m L ) 中、中間体 6 ( 5 g ; 1 7 m m o l )、2 - フルオロ - 3 , 5 - ジメトキシアニリン ( 3 . 6 g ; 2 1 m m o l )、ナトリウム t e r t - ブトキシド ( 5 g ; 5 2 m m o l ) および r a c - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) - 1 , 1 ' - ビナフチル ( 0 . 5 4 g ; 0 . 8 7 m m o l ) の混合物を窒素流下、室温で脱気した。10 分後、酢酸パラジウム ( I I ) ( 3 8 8 m g ; 1 . 7 m m o l ) を窒素流下、室温で少量ずつ加えた。この反応混合物を 9 5 ° で 5 時間加熱した。反応混合物を室温まで冷却し、氷水および D C M に注いだ。この混合物をセライト ( 登録商標 ) パッドで濾過した。有機層を分離し、M g S O <sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。残渣をジエチルエーテルから結晶化させ、沈澱を濾別し、真空下で乾燥させ、4 g ( 6 1 % ) の中間体 7 を得た。

40

#### 【 0 3 2 7 】

##### b ) 中間体 8 の製造

## 【化 1 6】



10

## 【0328】

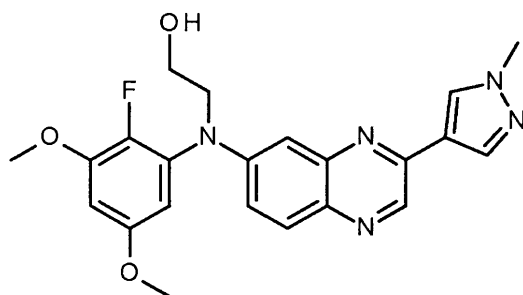
窒素流下、5 で、DMF (25 mL) 中、中間体 7 (0.7 g; 1.85 mmol) の溶液に、水素化ナトリウム (0.21 g; 5.35 mmol) を加えた。この混合物を 5 で 1 時間撹拌した。(2-プロモエトキシ)-tert-ブチルジメチルシラン (0.51 mL; 2.40 mmol) を窒素流下、5 で滴下し、この反応混合物を室温で 24 時間撹拌した。この混合物を冷水に注ぎ、生成物を EtOAc で抽出した。有機層を H<sub>2</sub>O で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、蒸発させて 1.2 g (定量) の中間体 8

20

## 【0329】

## c) 中間体 9 の製造

## 【化 1 7】



30

## 【0330】

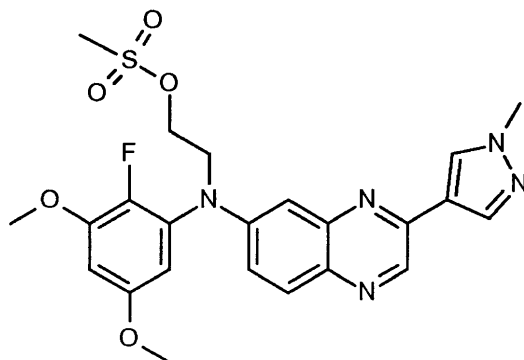
THF (20 mL) 中、中間体 8 (1 g; 1.85 mmol) の溶液に、フッ化テトラブチルアンモニウム (THF 中 1 M) (2 mL; 2 mmol) を加え、この反応混合物を室温で 3 時間撹拌した。この反応混合物を水と EtOAc とで分液した。有機層をブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。残渣 (1.2 g) をシリカゲルでのクロマトグラフィー (irregular SiOH、15~40 μm; 80 g; 溶出剤: 98% DCM、2% MeOH、0.1% NH<sub>4</sub>OH) により精製した。純粋な画分を回収し、溶媒を蒸発させた。残渣 (500 mg) をジエチルエーテルから結晶化させた。沈澱を濾過し、乾燥させ、410 mg (52%) の中間体 9 を得た。MP: 172 (K)。

40

## 【0331】

## d) 中間体 10 の製造

## 【化 18】



10

## 【0332】

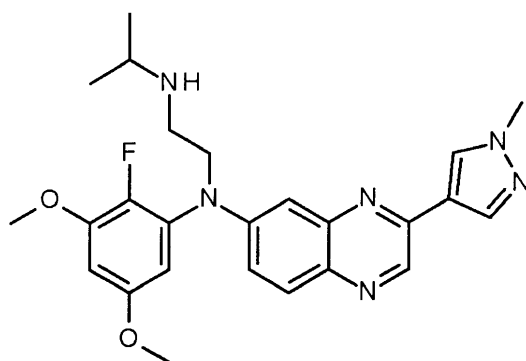
DCM (15 mL) 中、中間体 9 (547 mg; 1.29 mmol) およびトリエチルアミン (0.9 mL; 6.46 mmol) の溶液に、5 で、塩化メタンスルホニル (0.3 mL; 3.88 mmol) を滴下した。この反応混合物をこの温度で 1 時間攪拌し、DCM で希釈し、10%  $K_2CO_3$  水溶液に注いだ。有機層をデカントし、 $MgSO_4$  で乾燥させ、濾過し、蒸発させて 850 mg (>100%) の中間体 10 を得た。粗生成物を、精製を行わずに次の工程で使用した。

20

## 【0333】

## e) 中間体 11 の製造

## 【化 19】



30

## 【0334】

$CH_3CN$  (15 mL) 中、中間体 10 (0.648 g; 1.29 mmol) およびイソプロピルアミン (2.4 mL; 28 mmol) の混合物を、密閉試験管にて 100 で 24 時間加熱した。この反応混合物を室温まで冷却し、DCM で希釈し、水に注いだ。有機層をデカントし、 $MgSO_4$  で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのクロマトグラフィー (irregular  $SiOH$ ; 24 g; 勾配: 3% MeOH、97% DCM から 10% MeOH、90% DCM へ) により精製した。純粋な画分を回収し、蒸発させて 452 mg (75%) の中間体 11 を得た。

40

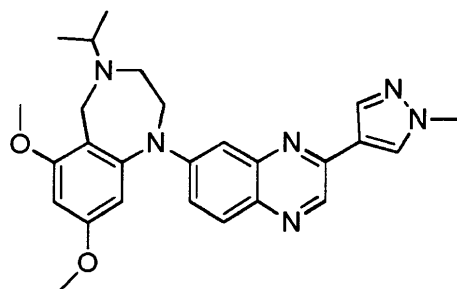
## 【0335】

## B. 式 (I) の化合物の製造

## 実施例 B1:

## 化合物 1 の製造

## 【化20】



10

## 【0336】

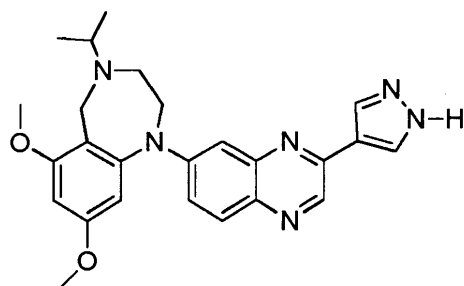
ジオキサン（8 mL）中、N - （3，5 - ジメトキシフェニル） - N' - （1 - メチルエチル） - N - [ 3 - （1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - イル）キノキサリン - 6 - イル ] エタン - 1，2 - ジアミン（中間体1）（0.42 g；0.9 mmol）、ホルムアルデヒド（水中37%溶液；0.21 mL；2.8 mmol）の溶液を室温で3日間撹拌した。水およびEtOAcを加えた。有機層をデカントし、水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣（0.52 g）をシリカゲルでのクロマトグラフィー（固定相：Spherical bareシリカ5 μm 150 × 30.0 mm、移動相：0.2% NH<sub>4</sub>OH、98% DCM、2% MeOHから1.2% NH<sub>4</sub>OH、88% DCM、12% MeOHへの勾配）により精製した。目的生成物を含有する画分を回収し、蒸発乾固させた。残渣（0.37 g）がMeOHとEt<sub>2</sub>Oの混合物から結晶化された。沈澱を濾別し、乾燥させ、0.27 g（64%）の化合物1（MP：190（DSC））を得た。

20

## 【0337】

実施例B2：  
化合物2の製造

## 【化21】



30

## 【0338】

ジオキサン（8 mL）中、N - （3，5 - ジメトキシフェニル） - N' - （1 - メチルエチル） - N - [ 3 - （1H - ピラゾール - 4 - イル）キノキサリン - 6 - イル ] エタン - 1，2 - ジアミン（中間体2）（0.24 g；0.52 mmol）、ホルムアルデヒド（水中37%溶液；0.12 mL；1.55 mmol）の溶液を、変換なく室温で3日間撹拌した。K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>（0.22 g；1.55 mmol）を加え、この溶液をさらに室温で3日間撹拌した。有機層を抽出し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣（0.176 g）をシリカゲルでのクロマトグラフィー（固定相：Spherical bareシリカ 5 μm 150 × 30.0 mm、移動相：0.2% NH<sub>4</sub>OH、98% DCM、2% MeOHから1.3% NH<sub>4</sub>OH、87% DCM、13% MeOHへの勾配）により精製した。目的生成物を含有する画分を回収し、蒸発乾固させた。残渣（79 mg）をアセトニトリル/水 20/80とともに凍結乾燥させ、66 mg（34%）の化合物2を黄色のガム質粉末として得た。

40

## 【0339】

50



## 実施例 B 3 :

## 化合物 3 および 4 の製造

50  $\mu$ M の中間体 1 を、ラット肝臓由来の 12,000 g 画分とともに、1 mg / ml タンパク質で、37 にて 60 分間インキュベートした。メタノール中、10 mM の中間体 1 の保存溶液を調製し、これをインキュベーション培地で 200 倍希釈した (50 ml 中、0.25 ml) (インキュベートの最終メタノール濃度 0.5%)。インキュベーションバッファーは、1 mM EDTA、5 mM  $MgCl_2$ 、および 100 mM リン酸カリウムバッファー (pH 7.4) を含んだ。反応は NADP (終濃度 1 mM) の添加により開始した。ドライアイス上でのフラッシュフリージングによりインキュベーションを停止した。

10

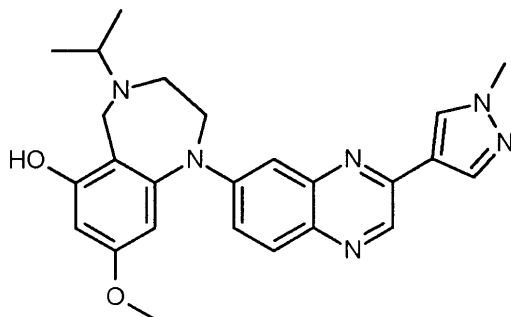
## 【0340】

生じた代謝産物をまず酢酸エチルを用いて抽出した。代謝産物画分を蒸発乾固させ、DMSO : 水 (1 : 1, v/v) 中で再構成し、逆相 UPLC を用いて分離した。分離は、2 本の Interchim Strategy C18-2、2.2  $\mu$ m (150 mm  $\times$  3.0 mm 径) カラムを用い、溶媒 A を 0.8 ml / 分にて 20 分で 5 - 70% B の直線勾配で用いて達成した。溶媒は、溶媒 A、25 mM 酢酸アンモニウム pH 4.0 と溶媒 B、アセトニトリル / メタノール (60 / 40, v/v) からなった。目的生成物に相当するピーク画分を回収し、蒸発乾固させ、化合物 3 および 4 を得た。

## 【化 2 2】

20

化合物 3



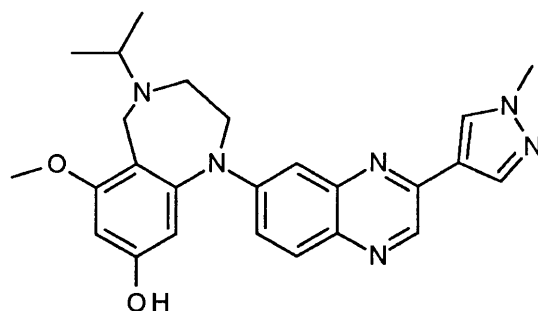
30

## 【0341】

化合物 3 はまた、WO 2011 / 135376 の化合物 645 から出発し、実施例 1 に記載のプロトコールに従って製造することもできる。

## 【化 2 3】

化合物 4



40

## 【0342】

あるいは、化合物 3 および 4 はまた、次のように製造した：

窒素流下、5 で、DCM (25 mL) 中、化合物 1 (485 mg ; 1.06 mmol) の溶液に、三臭化ホウ素 (DCM 中 1 M ; 6 mL ; 6 mmol) を滴下した。この溶液

50

を室温までゆっくり上昇させ、1.5時間攪拌した。この反応混合物をDCMで希釈し、ブラインに注ぎ、固体 $K_2CO_3$ で塩基性とした。有機層を分離し、ブラインで洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのクロマトグラフィー(irregular SiOH、40g; 移動相: 0.5%  $NH_4OH$ 、94.5% DCM、5% MeOHから0.5%  $NH_4OH$ 、89.5% DCM、10% MeOHへの勾配)により精製した。生成物を含有する画分を回収し、蒸発乾固させ、110mg (23%)の化合物1および287mgの化合物3と4の混合物を得た。この後者の画分をアキラルSFC(Chiralpak AD-H  $5\mu m$   $250 \times 30mm$ ; 移動相: 0.3% イソプロピルアミン、70%  $CO_2$ 、30% MeOH)により精製した。純粋な画分を回収し、濃縮し、 $Et_2O/ACN$ から結晶化した。沈澱を濾過し、53mg (11%)の化合物3(MP: 255、K)および148mg (31%)の化合物4(MP: 256、K)を得た。

10

#### 【0343】

##### 実施例B4:

2mMの中間体1の保存溶液をメタノールで調製し、これをインキュベーション培地で200倍希釈した(インキュベートの最終メタノール濃度0.5%)。ラット肝臓由来の12,000g画分とともに37にて60分間、1mg/mlタンパク質でインキュベーションを行った。インキュベーションバッファーは、1mM EDTA、5mM  $MgCl_2$ 、および100mMリン酸カリウムバッファー(pH 7.4)を含んだ。反応はNADP(終濃度1mM)に添加により開始した。ドライアイス上でのフラッシュフリーズによりインキュベーションを停止した。

20

#### 【0344】

得られたインキュベーション液(1ml)を5容量のアセトニトリルと混合し、ボルテックス混合し、10分間音波処理を施した。タンパク質を8にて3200rpmで30分の遠心分離により取り出した。上清を除去し、窒素流下、30で蒸発乾固させた。抽出物をアセトニトリル/水(1:1、v/v)で再構成した。サンプルは次のように分析した。

#### 【0345】

##### MS検出を用いたUPLC

- ・高性能液体クロマトグラフィーポンプ

30

Acquity Binary Solvent Manager/Waters 2777 CTC-Palインジェクター

- ・UV検出器:

Waters Acquity PDA

- ・MS検出器:

Waters G2(S) QToF MS/Thermo LTQ-Orbitrap

- ・データシステム:

Waters Masslynx 4.1

#### 【0346】

40

##### 操作条件:

- ・カラム:

Interchim、Strategy C18-2、 $2.2\mu m$   $2 \times (150mm \times 3.0mm)$ 径)

- ・カラム温度:

$T = 60$

- ・サンプル温度:

$T = 10$

- ・移動相:

溶媒A: 0.025M酢酸アンモニウムpH 4.0

50

溶媒 B : 60 / 40 ( v / v ) アセトニトリル / メタノール

・溶出モード :

直線勾配 :

【 0 3 4 7 】

【 表 1 】

時間(分)	0	5	22	22.5	25	25.5
%A	95	80	50	0	0	95
%B	5	20	50	100	100	5

10

・実施時間 : 30 分

・流速 : 0.8 ml / 分

【 0 3 4 8 】

シリンジ注入 :

・移動相 : アセトニトリル : 水 ( 1 : 1、v / v )

・流速 : 5  $\mu$  l / 分

【 0 3 4 9 】

検出条件

20

MS 条件 - w a t e r s s y n a p t g 2 および g 2 s 質量分析計

MS 分析は、デュアルエレクトロスプレーイオン化プローブを備えた Waters S Y N A P T G 2 および G 2 S 質量分析計を用いて行い、高解像度、陽イオンモードで作動させた。キャピラリー電圧は 3 k V に、コーン電圧は 40 V に設定した。イオン源温度は 120、脱溶媒和温度は 400 であった。質量分析計は Sample Spray を介して送達されるギ酸ナトリウム溶液で校正した。Lock Spray ( 商標 ) E S I プローブは、独立源のロックマスカリブラントとしてロイシンエンケファリンを提供した。m / z 556.2771 のロイシンイオンをフル MS ならびに MSMS モードでロックマスとして使用した。セントロイドモードにて種々のスキャン時間 ( 0.5 ~ 1.0 秒 ) で Q T O F データ ( MS、MSMS ) を取得した。データは総て Masslynx ソフトウェアを用いて処理した。

30

【 0 3 5 0 】

MS 条件 - t h e r m o l t q - o r b i t r a p 質量分析計

L T Q - O r b i t r a p 質量分析計は、陽イオンモードで作動するエレクトロスプレーイオン化源を備えた。外部校正またはロックマス校正 ( m / z 391.2843 のロックマスイオン ) を用いて正確な質量測定値を得た。ソースパラメーターは、10 ng /  $\mu$  L の非荷電薬物標準溶液を用いて最大感度に調整した。MS<sup>n</sup> フラグメンテーションの際に用いる最適衝突エネルギーの定義にも同じ溶液を使用した。データ依存的操作を用いて LC - MS トレースから MS<sup>n</sup> フラグメンテーションのための代謝産物を選択した。データはセントロイドモードで取得し、XCalibur ソフトウェアを用いて処理した。

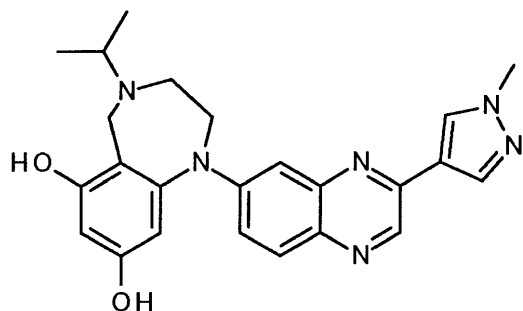
40

【 0 3 5 1 】

上記の実験で、化合物 4 ( [ M H ] + m / z 445 )、化合物 3 ( [ M H ] + m / z 445 ) および化合物 5 ( [ M H ] + m / z 431 ) が検出された。

## 【化 2 4】

化合物 5 :



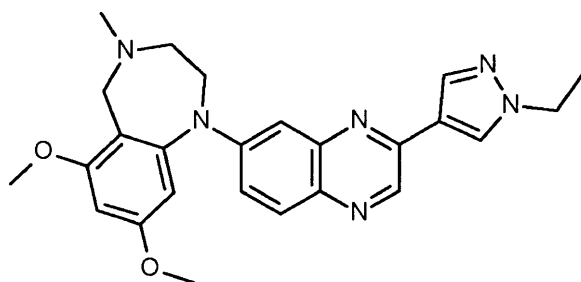
10

## 【 0 3 5 2 】

## 実施例 B 5

## 化合物 6 の製造

## 【化 2 5】



20

## 【 0 3 5 3 】

1, 4 - ジオキサン ( 5 . 4 8 m L ) 中、中間体 3 ( 2 9 2 m g ; 0 . 6 7 5 m m o l )、ホルムアルデヒド ( 水中 3 7 % 溶液 ; 1 5 1  $\mu$  L ; 2 . 0 2 m m o l ) の溶液を室温で 3 日間攪拌した。低い変換が認められたので、さらなるホルムアルデヒド ( 水中 3 7 % 溶液 ; 2 5 2  $\mu$  L ; 3 . 3 7 m m o l ) を追加し、反応混合物を 7 0 ° で 1 6 時間攪拌した。

30

## 【 0 3 5 4 】

H<sub>2</sub>O および E t O A c を加えた。有機層をデカントし、M g S O<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。

## 【 0 3 5 5 】

残渣 ( 0 . 3 2 5 g ) をシリカゲルクロマトグラフィー ( i r r e g u l a r S i O<sub>2</sub> H、4 0 g、移動相 : 9 5 % D C M、5 % M e O H、0 . 5 % N H<sub>4</sub> O H から 9 0 % D C M、1 0 % M e O H、1 % N H<sub>4</sub> O H への勾配 ) により精製した。生成物を含有する画分を混合し、濃縮して中間体画分 ( 1 0 6 m g ) を得、E t<sub>2</sub>O / A C N の混合物から結晶化させ、濾過および乾燥後に 8 6 m g ( 2 8 % ) の化合物 6 を得た。M P : 1 7 0 ° C ( K )

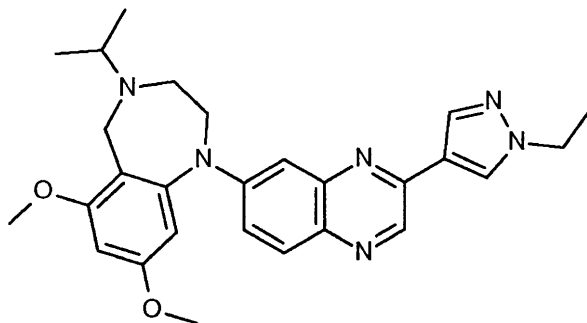
40

## 【 0 3 5 6 】

## 実施例 B 6

## 化合物 7 の製造

## 【化 2 6】



10

HCl 塩 (1.65 HCl 2.2 H<sub>2</sub>O) として

## 【0357】

1,4-ジオキサン (5.16 mL) 中、中間体 4 (293 mg; 0.638 mmol)、ホルムアルデヒド (水中 37% 溶液; 143  $\mu$ L; 1.91 mmol) の溶液を室温で 3 日間撹拌した。変換が認められなかったので、さらなるホルムアルデヒド (水中 37% 溶液; 238  $\mu$ L; 3.18 mmol) を追加し、反応混合物を 70 ° で 16 時間撹拌した。再び、さらなるホルムアルデヒド (水中 37% 溶液; 477  $\mu$ L; 6.36 mmol) を追加し、反応混合物を 70 ° で 16 時間撹拌した。H<sub>2</sub>O および EtOAc を加えた。有機層をデカントし、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。

20

## 【0358】

残渣 (0.48 g) をシリカゲルクロマトグラフィー (Spherical bare silica 5  $\mu$ m 150  $\times$  30.0 mm、移動相: 0.2% NH<sub>4</sub>OH、98% DCM、2% MeOH から 1% NH<sub>4</sub>OH、90% DCM、10% MeOH への勾配) により精製した。生成物を含有する画分を混合し、濃縮して 148 mg の中間体画分を得、これをアキラル SFC (固定相: シアノ 6  $\mu$ m 150  $\times$  21.2 mm、移動相: 90% CO<sub>2</sub>、10% MeOH (0.3% iPrNH<sub>2</sub>)) により精製した。生成物を含有する画分を混合し、濃縮して 100 mg の中間体画分を得、これを MeOH に溶かした。iPrOH 中 HCl (2 ~ 5 N) 0.1 mL を 0 ° で加えた。次に、この混合物を濃縮し、得られた残渣を Et<sub>2</sub>O に取った。沈澱を濾過し、乾燥させ、103 mg (29%) の化合物 7 を赤色溶液として得た。MP: 152 °C (K)

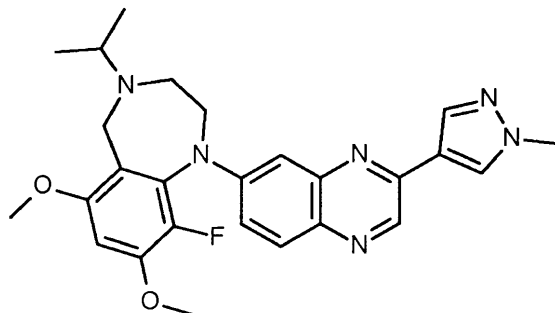
30

## 【0359】

## 実施例 B 7

## 化合物 8 の製造

## 【化 2 7】



40

## 【0360】

ジオキサン (10 mL) 中、中間体 11 (382 mg; 0.82 mmol) およびホルムアルデヒド (水中 37% 溶液; 308  $\mu$ L; 4.11 mmol) の溶液を 60 ° で 3 日間加熱した。H<sub>2</sub>O および EtOAc を加えた。有機層をデカントし、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのクロマトグラフィー (Spher

50

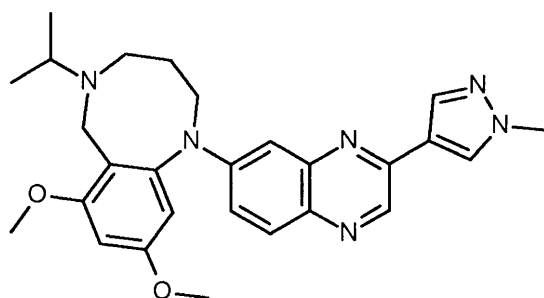
ical bare シリカ 5  $\mu$ m 150  $\times$  30.0 mm; 勾配: 71%ヘプタン、1% MeOH (+ 10% NH<sub>4</sub>OH)、28% EtOAc から 0%ヘプタン、20% MeOH (+ 10% NH<sub>4</sub>OH)、80% EtOAc へ) により精製した。純粋な画分を回収し、蒸発乾固させた。残渣 (65 mg) を逆相クロマトグラフィー (X - Bridge - C18 5  $\mu$ m 30  $\times$  150 mm; 勾配: 80% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0.5%、20% CH<sub>3</sub>CN から 0% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0.5%、100% CH<sub>3</sub>CN へ) により精製した。純粋な画分を回収し、蒸発させ、15 mg (4%) の化合物 8 を得た。MP: 266 (K)。

【0361】

#### 実施例 B 8

#### 化合物 9 の製造

【化 28】



【0362】

1, 4 - ジオキサン (8 mL) 中、中間体 5 (0.21 g; 0.46 mmol) およびホルムアルデヒド (水中 37% 溶液; 0.1 mL; 1.4 mmol) の溶液を室温で 3 日間撹拌した。1 週間後、さらなるホルムアルデヒド (水中 37% 溶液; 0.5 mL; 20.55 mmol) を加え、この混合物を室温でさらに 2 日間撹拌した。H<sub>2</sub>O および EtOAc を加えた。有機層を抽出し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、蒸発乾固させた。

【0363】

得られた残渣 (170 mg) を逆相 (固定相: X - Bridge - C18 5  $\mu$ m 30  $\times$  150 mm、移動相: 85% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0.5%、15% ACN から 0% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0.5%、100% ACN への勾配) により精製した。生成物を含む画分を混合し、濃縮して中間体画分 (10 mg) を得、これをアセトニトリル / 水 20 / 80 とともに凍結乾燥させ、9 mg (4%) の化合物 9 を黄色粉末として得た。MP: 80 (K) でガム。

【0364】

#### 分析の部

#### LCMS (液体クロマトグラフィー / 質量分析) (表 A1 参照)

LC 測定は、下記の個々の方法において明示されるように、デガスター付き二連ポンプ、オートサンプラー、ダイオードアレイデテクター (DAD) およびカラムを含んでなる UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) Acquity (Waters) システムを用いて行い、カラムは 4 のオンで保持する。カラムからの流は MS デテクターに導いた。MS デテクターはエレクトロスプレーイオン化源を用いて構成された。キャピラリーニードル電圧は 3 kV とし、イオン源温度は Quattro (Waters からの三連四重極式質量分析計) で 130 に維持した。窒素をネブライザガスとして使用した。データの取得は Waters - Micromass MassLynx - Openlynx データシステムで行った。

【0365】

逆相 UPLC は、Waters Acquity BEH (架橋エチルシロキサン / シリカハイブリッド) C18 カラム (1.7  $\mu$ m、2.1  $\times$  100 mm) にて、流速 0.3

10

20

30

40

50

43 ml / 分で行った。移動相（移動相 A：95% 7 mM 酢酸アンモニウム / 5% アセトニトリル；移動相 B：100% アセトニトリル）を用い、84.2% A および 15.8% B（0.49 分間保持）から 2.18 分で 10.5% A および 89.5% B（1.94 分間保持）への勾配条件を作り、0.73 分で最初の条件に戻し、0.73 分間保持した。注入容量 2  $\mu$  l を用いた。コーン電圧は陽性および陰性イオン化モードで 20 V とした。質量スペクトルは、0.1 秒の走査間遅延を用い、0.2 秒で 100 から 1000 まで走査することにより取得した。

【0366】

#### DSC

いくつかの化合物で、融点（MP）を DSC1（Mettler-Toledo）で測定した。融点は 10 / 分の温度勾配で測定した。最大温度は 350 であった。値は極大値である。

【0367】

いくつかの化合物では、融点は、直線温度勾配を有する加熱プレート、スライドポインターおよび摂氏度で示す温度目盛からなるコフラー（Kofler）ホットベンチを用いて得た。

【0368】

#### NMR

化合物 1、2、6～9 では、NMR 試験は、内部重水素ロックを使用し、インバース三重共鳴（ $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$  TXI）プローブヘッドを備えた Bruker Avance III 500 を用いて行った。化学シフト（ ）は 100 万分の 1（ppm）で報告する。

【0369】

化合物 3 および 4 では、各画分を 250  $\mu$  l の水不含 DMSO- $d_6$  に溶かし、得られた溶液を、各溶媒に適合した磁化率を備えた 5 mm Shigemi NMR 管に移した。

【0370】

試験は、インバース検出 5 mm クリオプローブ（CPTCI）を備えた Bruker Avance 600 MHz 分光計で記録した。1D  $^1\text{H}$  および 2D NOESY、HSQC および HMB C スペクトルを、標準的な Bruker パルスプログラムを実施して記録した。空間を通したつながり（through-space connectivities）の決定には NOESY スペクトルを用い、結合を通したつながり（through-bond connectivities）の決定には HMB C スペクトルを用いた。化学シフト（ ）は ppm で報告する。 $^1\text{H}$  NMR 化学シフトデータは、1D  $^1\text{H}$  スペクトルから 2.50 ppm における DMSO- $d_5$  多重線の中心または 1.94 ppm におけるアセトニトリル- $d_2$  多重線の中心を内部参照として用いて得た。結合定数は Hz で評価した。 $^{13}\text{C}$  NMR 化学シフトは、39.51 ppm における DMSO- $d_6$  多重線の中心を内部参照として用いて得た。

【0371】

#### 表 A1：

Co. No. は、化合物番号を意味し；保持時間（ $R_t$ ）は分で示し；MP は融点（ ）を意味する。

【0372】

当業者に理解されているように、示されているようなプロトコルを用いて合成された化合物は、溶媒和物、例えば、水和物として存在してもよく、かつ / または残留溶媒または微量な不純物を含有してもよい。

【0373】

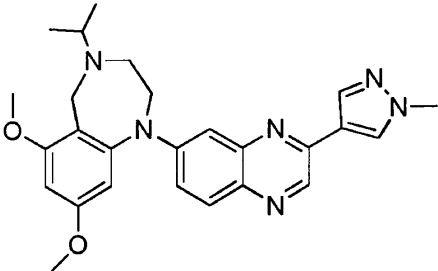
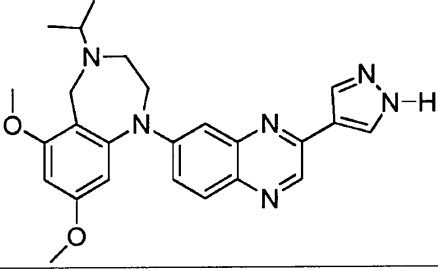
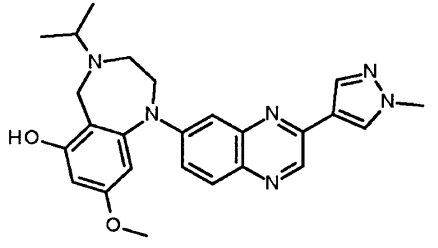
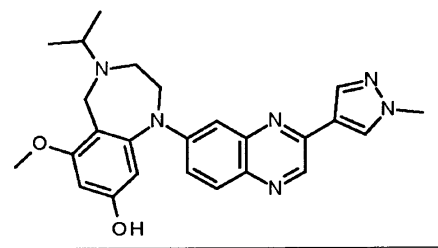
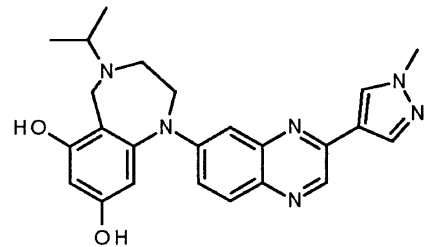
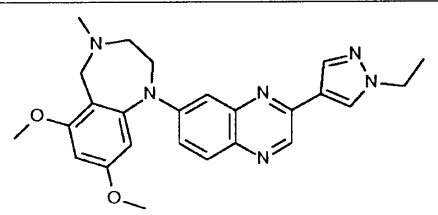
10

20

30

40

【表 2】

Co. No.	化合物	MP	(コラー(K)ま たは DSC)	R <sub>t</sub>	[M+H] <sup>+</sup>
1		190°C	DSC	2.46 (純度 98.1%)	459
2		80°C (ガム 質)	K	2.29 (純度 94.3%)	445
3		255°C	K	2.07 (純度 100%)	445
4		256°C	K	2.06 (純度 100%)	445
5					
6		170°C	K	2.47 (純度 99%)	445

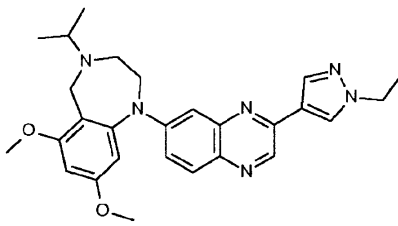
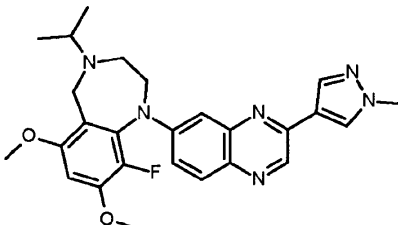
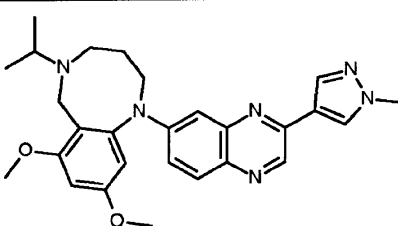
10

20

30

40



Co. No.	化合物	MP	(コフラー(K)ま たは DSC)	R <sub>t</sub>	[M+H] <sup>+</sup>
7	 as HCl salt	152°C (ガム 質)	K	2.64 (純度 95%)	473
8		266°C	K	2.58 (純度 95%)	477
9		80°C (ガム 質)	K	2.23 (純度 100%)	473

## 【 0 3 7 4 】

## 化合物 1

<sup>1</sup>H NMR は 3 5 0 ° K で行った。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm 0.99 (d, J=6.5 Hz, 6 H) 2.84 (spt, J=6.5 Hz, 1 H) 2.88 - 2.93 (m, 2 H) 3.56 (br. s., 2 H) 3.76 (s, 3 H) 3.82 - 3.91 (m, 5 H) 3.93 (s, 3 H) 6.42 (d, J=2.2 Hz, 1 H) 6.57 (d, J=2.2 Hz, 1 H) 6.97 (d, J=2.7 Hz, 1 H) 7.26 (dd, J=9.1, 2.7 Hz, 1 H) 7.75 (d, J=9.1 Hz, 1 H) 8.14 (s, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 8.87 (s, 1 H)

## 【 0 3 7 5 】

## 化合物 2

<sup>1</sup>H NMR は 3 5 0 ° K で行った。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm 0.99 (d, J=6.6 Hz, 6 H) 2.84 (spt, J=6.6 Hz, 1 H) 2.88 - 2.95 (m, 2 H) 3.56 (br. s., 2 H) 3.76 (s, 3 H) 3.80 - 3.95 (m, 5 H) 6.43 (d, J=2.2 Hz, 1 H) 6.57 (d, J=2.2 Hz, 1 H) 6.99 (d, J=2.7 Hz, 1 H) 7.26 (dd, J=9.5, 2.7 Hz, 1 H) 7.75 (d, J=9.5 Hz, 1 H) 8.35 (br. s., 2 H) 8.92 (s, 1 H) 13.08 (br. s., 1 H)

## 【 0 3 7 6 】

## 化合物 3

<sup>1</sup>H NMR は 3 0 0 ° K で行った。

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm 0.98 (d, J=6.42 Hz, 6 H) 2.82 (spt, J=6.50 Hz, 1 H) 2.88 (t, J=4.53 Hz, 2 H) 3.69 (s, 3 H) 3.91 (s, 3 H) 6.29 (d, J=2.27 Hz, 1 H) 6.42 (d, J=2.27 Hz, 1 H) 6.89 (br. s., 1 H) 7.25 (br. s., 1 H) 7.75 (d, J=9.07 Hz, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.53 (s, 1 H) 8.89 (s, 1 H)

## 【 0 3 7 7 】

## 化合物 4

<sup>1</sup>H NMR は 3 0 0 ° K で行った。

10

20

30

40

50

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ) ppm 0.96 (d,  $J=6.70$  Hz, 6 H) 2.81 (spt,  $J=6.70$  Hz, 1 H) 2.86 (t,  $J=4.34$  Hz, 2 H) 3.79 (s, 3 H) 3.91 (s, 3 H) 6.26 (d,  $J=1.89$  Hz, 1 H) 6.41 (d,  $J=2.27$  Hz, 1 H) 6.91 (br. s., 1 H) 7.27 (br. s., 1 H) 7.75 (d,  $J=9.4$  4 Hz, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.53 (s, 1 H) 8.89 (s, 1 H)

【 0 3 7 8 】

#### 化合物 6

$^1\text{H}$  NMR は 3 0 0 ° K で行った。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) ppm 1.43 (t,  $J=7.3$  Hz, 3 H) 2.22 (br s, 3 H) 2.82 (br s, 2 H) 3.50 - 4.10 (m, 10 H) 4.20 (q,  $J=7.3$  Hz, 2 H) 6.46 (d,  $J=1.9$  Hz, 1 H) 6.59 (d,  $J=1.9$  Hz, 1 H) 6.92 (br s, 1 H) 7.25 (br d,  $J=7.3$  Hz, 1 H) 7.77 (d,  $J=9.1$  Hz, 1 H) 8.20 (s, 1 H) 8.58 (s, 1 H) 8.92 (s, 1 H)

【 0 3 7 9 】

#### 化合物 7

$^1\text{H}$  NMR は 3 0 0 ° K で行った。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) ppm 1.32 (dd,  $J=9.8, 6.6$  Hz, 6 H) 1.44 (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H) 3.35 - 3.60 (m, 3 H) 3.93 (s, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 4.22 (q,  $J=7.5$  Hz, 2 H) 4.43 (br d,  $J=12.9$  Hz, 1 H) 4.58 (br s, 1 H) 6.56 (d,  $J=2.5$  Hz, 1 H) 6.70 (d,  $J=2.2$  Hz, 1 H) 7.17 (br d,  $J=1.9$  Hz, 1 H) 7.30 (dd,  $J=9.3, 2.4$  Hz, 1 H) 7.84 (d,  $J=9.1$  Hz, 1 H) 8.23 (s, 1 H) 8.62 (s, 1 H) 9.02 (s, 1 H) 10.26 (br s, 1 H)

【 0 3 8 0 】

#### 化合物 8

$^1\text{H}$  NMR は 3 5 0 ° K で行った。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) ppm 0.99 (d,  $J=6.6$  Hz, 6 H) 2.85 (spt,  $J=6.5$  Hz, 1 H) 2.92 (t,  $J=4.6$  Hz, 2 H) 3.58 (br s, 2 H) 3.80 - 4.05 (m, 11 H) 6.84 (d,  $J=6.9$  Hz, 1 H) 6.92 (br s, 1 H) 7.20 (br d,  $J=9.5$  Hz, 1 H) 7.79 (d,  $J=9.1$  Hz, 1 H) 8.15 (s, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 8.89 (s, 1 H)

【 0 3 8 1 】

#### 化合物 9

$^1\text{H}$  NMR は 3 0 0 ° K で行った。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) ppm 0.97 (br d,  $J=5.4$  Hz, 6 H) 1.64 (br s, 2 H) 2.7 2 (br s, 2 H) 2.84 (spt,  $J=6.4$  Hz, 1 H) 3.50 - 3.80 (m, 7 H) 3.84 (s, 3 H) 3.92 (s, 3 H) 6.21 (d,  $J=2.2$  Hz, 1 H) 6.61 (d,  $J=2.5$  Hz, 1 H) 6.92 (br s, 2 H) 7.71 (d,  $J=9.5$  Hz, 1 H) 8.19 (s, 1 H) 8.54 (s, 1 H) 8.91 (s, 1 H)

【 0 3 8 2 】

ジアゼピン環の一部のシグナルは、DMSO- $d_6$ にて300Kで測定したスペクトルは検出を越えてブロードとなる。

【 0 3 8 3 】

#### 薬理学の部

#### 生物学的アッセイ A

#### F G F R 1 ( 酵素アッセイ )

最終反応量 3 0  $\mu\text{L}$  で、F G F R 1 ( h ) ( 2 5 n g / m l ) を化合物 ( 最終 1 % DMSO ) の存在下、5 0 m M H E P E S p H 7 . 5、6 m M M n C l  $_2$ 、1 m M D T T、0 . 1 m M N a  $_3$  V O  $_4$ 、0 . 0 1 % T r i t o n - X - 1 0 0、5 0 0 n M B t n - F l t 3 および 5  $\mu\text{M}$  A T P とともにインキュベートした。室温で 6 0 分間インキュベートした後、反応を 2 . 2 7 n M E U - 抗 P - T y r、7 m M E D T A、3 1 . 2 5 n M S A - X L - 6 6 5 および 0 . 0 2 % B S A ( 室温で 6 0 分間存在させた ) で停止させた。その後、時間分解蛍光共鳴エネルギー移動 ( T R - F R E T ) シグナル ( e x 3 4 0 n m、E m 6 2 0 n m、e m 6 5 5 n m ) を測定し、結果を R F U ( 相対蛍光単位 ) で表す。このアッセイでは、種々の化合物濃度 ( 1 0  $\mu\text{M}$  ~ 0 . 1 n M の範囲 ) の阻害効果を測定し、これを用いて  $\text{IC}_{50}$  ( M ) および  $\text{pIC}_{50}$  ( - l o g  $\text{IC}_{50}$  )

10

20

30

40

50

）値を算出した。

#### 【0384】

##### FGFR2（酵素アッセイ）

最終反応量30 $\mu$ Lにおいて、FGFR2(h)(150ng/ml)を化合物（最終1%DMSO）の存在下、50mM HEPES pH7.5、6mM MnCl<sub>2</sub>、1mM DTT、0.1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、0.01%Triton-X-100、500nM B<sub>5</sub>tn-F<sub>1</sub>lt3および0.4 $\mu$ M ATPとともにインキュベートした。室温で60分間インキュベートした後、反応を2.27nM EU-抗P-Tyr、7mM EDTA、31.25nM SA-XL-665および0.02%B<sub>5</sub>SA（室温で60分間存在させた）で停止させた。その後、時間分解蛍光共鳴エネルギー移動（TR-FRET）シグナル（ex340nm、Em620nm、em655nm）を測定し、結果を（相対蛍光単位）で表す。このアッセイでは、種々の化合物濃度（10 $\mu$ M~0.1nMの範囲）の阻害効果を測定し、これを用いてIC<sub>50</sub>(M)およびpIC<sub>50</sub>(-logIC<sub>50</sub>)値を算出した。

10

#### 【0385】

##### FGFR3（酵素アッセイ）

最終反応量30 $\mu$ Lで、FGFR3(h)(40ng/ml)を化合物（最終1%DMSO）の存在下、50mM HEPES pH7.5、6mM MnCl<sub>2</sub>、1mM DTT、0.1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、0.01%Triton-X-100、500nM B<sub>5</sub>tn-F<sub>1</sub>lt3および25 $\mu$ M ATPとともにインキュベートした。室温で60分間インキュベートした後、反応を2.27nM EU-抗P-Tyr、7mM EDTA、31.25nM SA-XL-665および0.02%B<sub>5</sub>SA（室温で60分間存在させた）で停止させた。その後、時間分解蛍光共鳴エネルギー移動（TR-FRET）シグナル（ex340nm、Em620nm、em655nm）を測定し、結果をRFU（相対蛍光単位）で表す。このアッセイでは、種々の化合物濃度（10 $\mu$ M~0.1nMの範囲）の阻害効果を測定し、これを用いてIC<sub>50</sub>(M)およびpIC<sub>50</sub>(-logIC<sub>50</sub>)値を算出した。

20

#### 【0386】

##### FGFR4（酵素アッセイ）

最終反応量30 $\mu$ Lで、FGFR4(h)(60ng/ml)を化合物（最終1%DMSO）の存在下、50mM HEPES pH7.5、6mM MnCl<sub>2</sub>、1mM DTT、0.1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、0.01%Triton-X-100、500nM B<sub>5</sub>tn-F<sub>1</sub>lt3および5 $\mu$ M ATPとともにインキュベートした。室温で60分間インキュベートした後、反応を2.27nM EU-抗P-Tyr、7mM EDTA、31.25nM SA-XL-665および0.02%B<sub>5</sub>SA（室温で60分間存在させた）で停止させた。その後、時間分解蛍光共鳴エネルギー移動（TR-FRET）シグナル（ex340nm、Em620nm、em655nm）を測定し、結果をRFU（相対蛍光単位）で表す。このアッセイでは、種々の化合物濃度（10 $\mu$ M~0.1nMの範囲）の阻害効果を測定し、これを用いてIC<sub>50</sub>(M)およびpIC<sub>50</sub>(-logIC<sub>50</sub>)値を算出した。

30

40

#### 【0387】

##### KDR（VEGFR2）（酵素アッセイ）

最終反応量30 $\mu$ Lで、KDR(h)(150ng/ml)を化合物（最終1%DMSO）の存在下、50mM HEPES pH7.5、6mM MnCl<sub>2</sub>、1mM DTT、0.1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、0.01%Triton-X-100、500nM B<sub>5</sub>tn-F<sub>1</sub>lt3および3M ATPとともにインキュベートした。室温で120分間インキュベートした後、反応を2.27nM EU-抗P-Tyr、7mM EDTA、31.25nM SA-XL-665および0.02%B<sub>5</sub>SA（室温で60分間存在させた）で停止させた。その後、時間分解蛍光共鳴エネルギー移動（TR-FRET）シグナル（ex340nm、Em620nm、em655nm）を測定し、結果をRFU（相対蛍光

50

単位)で表す。このアッセイでは、種々の化合物濃度(10  $\mu$ M ~ 0.1 nMの範囲)の阻害効果を測定し、これを用いてIC<sub>50</sub>(M)およびpIC<sub>50</sub>(-log IC<sub>50</sub>)値を算出した。

【0388】

Ba/F3 - FGFR1 (IL3 不含またはIL3 含有) (細胞増殖アッセイ)

384ウェルプレートにて、100 nLの化合物のDMSO希釈溶液を噴霧した後に20000細胞/ウェルのBa/F3 - FGFR1トランスフェクト細胞を含有する50  $\mu$ Lの細胞培養培地(フェノールレッド不含RPMI - 1640、10%FBS、2 mM L - グルタミンおよび50  $\mu$ g/mLゲンタマイシン)を加えた。細胞を37 °および5%CO<sub>2</sub>のインキュベーターに入れた。24時間後、10  $\mu$ Lのアラマブルー溶液(0.5 mM K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、0.5 mM K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、0.15 mMレサズリンおよび100 mMリン酸バッファー)をこれらのウェルに加え、37 °および5%CO<sub>2</sub>下で4時間インキュベートした後、蛍光プレートリーダーでRFU(相対蛍光単位)(ex. 540 nm、em. 590 nm)を測定した。

10

【0389】

このアッセイでは、種々の化合物濃度(10  $\mu$ M ~ 0.1 nMの範囲)の阻害効果を測定し、これを用いてIC<sub>50</sub>(M)およびpIC<sub>50</sub>(-log IC<sub>50</sub>)値を算出した。

【0390】

対比スクリーンとして、10 ng/mLネズミIL3の存在下で同じ実験を行った。

20

【0391】

Ba/F3 - FGFR3 (IL3 不含またはIL3 含有) (細胞増殖アッセイ)

384ウェルプレートにて、100 nLの化合物のDMSO希釈溶液を噴霧した後に20000細胞/ウェルのBa/F3 - FGFR3トランスフェクト細胞を含有する50  $\mu$ Lの細胞培養培地(フェノールレッド不含RPMI - 1640、10%FBS、2 mM L - グルタミンおよび50  $\mu$ g/mLゲンタマイシン)を加えた。細胞を37 °および5%CO<sub>2</sub>のインキュベーターに入れた。24時間後、10  $\mu$ Lのアラマブルー溶液(0.5 mM K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、0.5 mM K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、0.15 mMレサズリンおよび100 mMリン酸バッファー)をこれらのウェルに加え、37 °および5%CO<sub>2</sub>下で4時間インキュベートした後、蛍光プレートリーダーでRFU(相対蛍光単位)(ex. 540 nm、em. 590 nm)を測定した。

30

【0392】

このアッセイでは、種々の化合物濃度(10  $\mu$ M ~ 0.1 nMの範囲)の阻害効果を測定し、これを用いてIC<sub>50</sub>(M)およびpIC<sub>50</sub>(-log IC<sub>50</sub>)値を算出した。

【0393】

対比スクリーンとして、10 ng/mLネズミIL3の存在下で同じ実験を行った。

【0394】

Ba/F3 - KDR (IL3 不含またはIL3 含有) (細胞増殖アッセイ)

384ウェルプレートにて、100 nLの化合物のDMSO希釈溶液を噴霧した後に20000細胞/ウェルのBa/F3 - KDRトランスフェクト細胞を含有する50  $\mu$ Lの細胞培養培地(フェノールレッド不含RPMI - 1640、10%FBS、2 mM L - グルタミンおよび50  $\mu$ g/mLゲンタマイシン)を加えた。細胞を37 °および5%CO<sub>2</sub>のインキュベーターに入れた。24時間後、10  $\mu$ Lのアラマブルー溶液(0.5 mM K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、0.5 mM K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、0.15 mMレサズリンおよび100 mMリン酸バッファー)をこれらのウェルに加え、37 °および5%CO<sub>2</sub>下で4時間インキュベートした後、蛍光プレートリーダーでRFU(相対蛍光単位)(ex. 540 nm、em. 590 nm)を測定した。

40

【0395】

このアッセイでは、種々の化合物濃度(10  $\mu$ M ~ 0.1 nMの範囲)の阻害効果を測

50

定し、これを用いて  $IC_{50}$  (M) および  $pIC_{50}$  ( $-\log IC_{50}$ ) 値を算出した。

【0396】

対比スクリーンとして、 $10\text{ ng/ml}$  ネズミ IL3 の存在下で同じ実験を行った。

【0397】

Ba/F3 - FGFR4 (細胞増殖アッセイ)

384ウェルプレートにて、 $100\text{ nl}$  の化合物の DMSO 希釈溶液を噴霧した後に  $20000$  細胞/ウェルの Ba/F3 - FGFR4 トランスフェクト細胞を含有する  $50\text{ }\mu\text{ l}$  の細胞培養培地 (フェノールレッド不含 RPMI - 1640、 $10\%$  FBS、 $2\text{ mM}$  L - グルタミンおよび  $50\text{ }\mu\text{ g/ml}$  ゲンタマイシン) を加えた。細胞を  $37^\circ\text{C}$  および  $5\%$   $\text{CO}_2$  のインキュベーターに入れた。24時間後、 $10\text{ }\mu\text{ l}$  のアラマーブルー溶液 ( $0.5\text{ mM}$   $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 、 $0.5\text{ mM}$   $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 、 $0.15\text{ mM}$  レサズリンおよび  $100\text{ mM}$  リン酸バッファー) をこれらのウェルに加え、 $37^\circ\text{C}$  および  $5\%$   $\text{CO}_2$  下で4時間インキュベートした後、蛍光プレートリーダーで RFU (相対蛍光単位) ( $\text{ex} . 540\text{ nm}$ 、 $\text{em} . 590\text{ nm}$ ) を測定した。

10

【0398】

このアッセイでは、種々の化合物濃度 ( $10\text{ }\mu\text{ M} \sim 0.1\text{ nM}$  の範囲) の阻害効果を測定し、これを用いて  $IC_{50}$  (M) および  $pIC_{50}$  ( $-\log IC_{50}$ ) 値を算出した。

【0399】

上記のアッセイにおける本発明の化合物のデータを表 A 2 に示す。

20

【0400】

【表 3】

表 A2

化合物 番号	FGFR 1 pIC50	FGFR 2 pIC50	FGFR 3 pIC50	FGFR 4 pIC50	VEGF R KDR pIC50	BAF3- FGFR1 (MIN IL3 pIC50)	BAF3- FGFR1 (PLUS IL3 pIC50)	BAF3- FGFR3 (MIN IL3 pIC50)	BAF3- FGFR3 (PLUS IL3 pIC50)	BAF3- KDR (MIN IL3 pIC50)	BAF3- KDR (PLUS IL3 pIC50)	BAF3- FGFR4 (pIC50)
1	6.3	6.5	6.1	5.3	5.6	5.2	<5	~5.0	<5	<5	<5	5.0

## 生物学的アッセイ B

## 酵素結合アッセイ (KINOMEScan (登録商標))

本明細書で開示される化合物酵素結合親和性を、DiscoverX Corporation、サンディエゴ、カリフォルニア州、USA (www.kinomescan.com) により実施さ

10

20

30

40

50

れた K I N O M E s c a n (登録商標) 技術を用いて決定した。表 A 3 は得られた K d 値 (nM) を報告し、この K d は阻害剤結合定数である。

【 0 4 0 1 】

【表 4】

表 A3

化合物	Kd FGFR1 (nM)	Kd FGFR2 (nM)	Kd FGFR3 (nM)	Kd FGFR4 (nM)	Kd VEGFR2 (nM)
1	314	674	325	778	>3010
2	17	63	68	68	741
3	720	620	300	1900	>3000
4	740	900	870	>3000	>3000
6	2400	2900	2200	>3000	>3000
7	79	340	170	230	1700
9	54	117	138	355	922

---

フロントページの続き

- (74)代理人 100105153  
弁理士 朝倉 悟
- (74)代理人 100120617  
弁理士 浅野 真理
- (74)代理人 100126099  
弁理士 反町 洋
- (74)代理人 100104617  
弁理士 池田 伸美
- (72)発明者 ウィム、フェレメレン  
ベルギー国ベール - 2340、ベアセ、トゥルンハウツェベーク、30、ヤンセン、ファーマス  
ティカ、ナムローゼ、フェンノートシャップ
- (72)発明者 スティーブン、アナ、ホスティン  
ベルギー国ベール - 2340、ベアセ、トゥルンハウツェベーク、30、ヤンセン、ファーマス  
ティカ、ナムローゼ、フェンノートシャップ
- (72)発明者 フィリップ、アルベール、セリーヌ、キューケン  
ベルギー国ベール - 2340、ベアセ、トゥルンハウツェベーク、30、ヤンセン、ファーマス  
ティカ、ナムローゼ、フェンノートシャップ
- (72)発明者 ラッセル、マーク、ジョーンズ  
スイス国ピンニゲン、ブルーダーホルツシュトラッセ、38
- (72)発明者 ディエゴ、フェルナンド、ドメニコ、ブロッジーニ  
スイス国シャフハウゼン、ホーホシュトラッセ、201、シラグ、アクチエンゲゼルシャフト

審査官 谷尾 忍

- (56)参考文献 特表2013-543883(JP,A)  
特表2013-528580(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C07D 403/14  
A61K 31/498  
A61K 31/5513  
CAplus/REGISTRY(STN)