

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-515992

(P2008-515992A)

(43) 公表日 平成20年5月15日(2008.5.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07D 213/55 (2006.01)</b>	C07D 213/55	4C055
<b>C07D 239/26 (2006.01)</b>	C07D 239/26 CSP	4C063
<b>A61K 31/505 (2006.01)</b>	A61K 31/505	4C086
<b>A61K 31/4418 (2006.01)</b>	A61K 31/4418	
<b>C07D 405/04 (2006.01)</b>	C07D 405/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 123 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-536867 (P2007-536867)	(71) 出願人	503369705
(86) (22) 出願日	平成17年10月13日 (2005.10.13)		ピーティーシー セラピューティクス、インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成19年6月1日 (2007.6.1)		アメリカ合衆国 07080 ニュージャージー州、サウス プレインフィールド、ミドルセックス ビジネス センター、コーポレート コート 100
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/036764	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開番号	W02006/044505		弁理士 平木 祐輔
(87) 国際公開日	平成18年4月27日 (2006.4.27)	(74) 代理人	100096183
(31) 優先権主張番号	60/617, 670		弁理士 石井 貞次
(32) 優先日	平成16年10月13日 (2004.10.13)	(74) 代理人	100118773
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 藤田 節
(31) 優先権主張番号	60/617, 633	(74) 代理人	100119183
(32) 優先日	平成16年10月13日 (2004.10.13)		弁理士 松任谷 優子
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 体細胞変異に起因する疾患の阻止／治療用医薬を製造するための規定化合物の使用

## (57) 【要約】

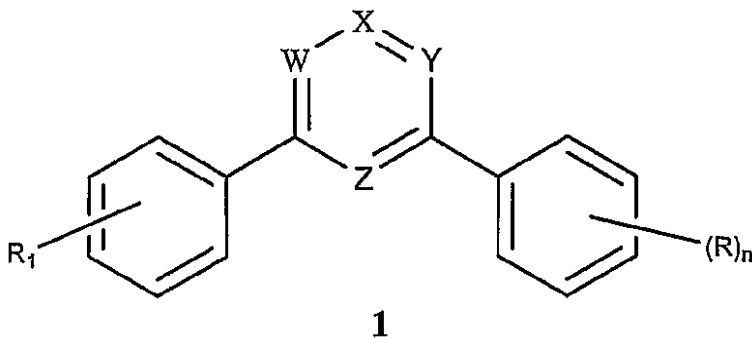
本発明は、本発明の化合物または組成物を投与することにより、mRNAのナンセンス突然変異に関する疾患を治療または阻止するための方法、化合物および組成物に関する。より具体的には、本発明は、mRNAのナンセンス突然変異に関する未熟な翻訳終了を抑制するための方法、化合物および組成物に関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

体細胞突然変異により生じる疾患を治療または阻止する方法であって、それを必要とする患者に、有効量の式 1 の化合物

## 【化 1】



10

(式中、

W、X、YおよびZは、NまたはC-R<sub>a</sub>から独立して選択され、R<sub>a</sub>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルカリ基であり、少なくともW、X、Y、またはZのうち1つがNであり、nは0、1、2、または3であり、

R<sub>1</sub>はシアノ基、一つまたは二つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されるカルバモイル基、またはヒドロキシ基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル基であり、

20

Rは、ヒドロキシ基、ハロゲン、一つ以上の独立して選択されるハロゲンまたはヒドロキシ基で任意に置換されたC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、一つ以上の独立して選択されるハロゲンまたはフェニル基で任意に置換されたC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、一つ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたC<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>シクロアルキル基、-R<sub>b</sub>基、-O-R<sub>b</sub>基、一つ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、オキソ基、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換された5から6員複素環、二つの環構造を有する9から10員複素環、ヒドロキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル基、一つまたは二つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、ニトロ基、シアノ基、ヒドロキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換されたチオ基、ヒドロキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換されたスルホニル基、一つ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、スルホニル基、またはカルボニル基で任意に置換されたアミノ基(アミノスルホニル基は、ヒドロキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換され、アミノカルボニル基はC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>ハロアルキル基、ベンズオキシ基、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換されたアミノ基から任意に置換された)、または結合するフェニル環とともにベンゾ[1,3]ジオキソールまたは2,3-ジヒドロ-ベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成する二つのR基から選択され、

30

ここで-R<sub>b</sub>は一つのヒドロキシ基、一つのハロゲン、一つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、一つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>ハロアルキル基、一つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基、一つ以上のC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基によって置換された一つのアミノ基のうちの一つ以上で任意に置換されたC<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アリールである)、

40

または前記式 1 の化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、多型体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする前記方法。

## 【請求項 2】

式 1 の化合物、またはその薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、多型体、ラセミ体、または立体異性体は、前記化合物および薬学的に許容しうる担体または希釈剤を含む組成物として投与される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記投与が皮下である、請求項 1 に記載の方法。

50

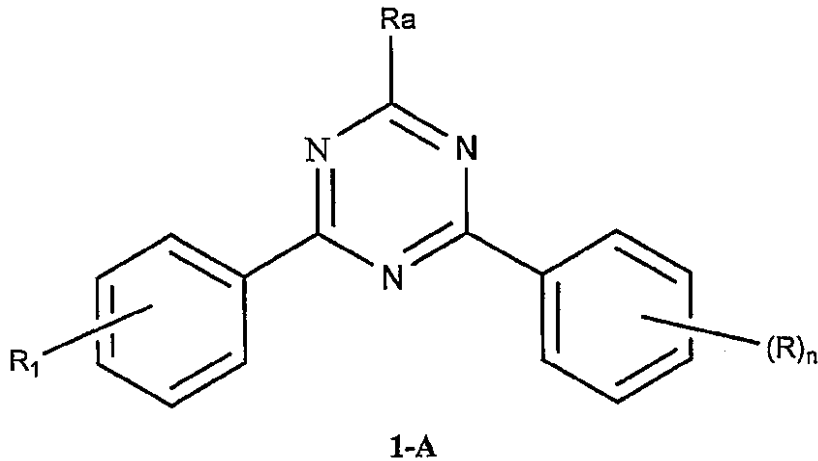
## 【請求項 4】

R<sub>1</sub> はメタまたはパラ位にある、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

W、Y、および Z はそれぞれ N であり、X は C - R<sub>a</sub> (式 1 - A) である、請求項 1 に記載の方法。

## 【化 2】



10

## 【請求項 6】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 5 に記載の方法。

20

## 【請求項 7】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 8】

n は 1 または 2 である、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 9】

n は 1 である、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 10】

R は、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、または C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ基から独立して選択される、請求項 5 に記載の方法。

30

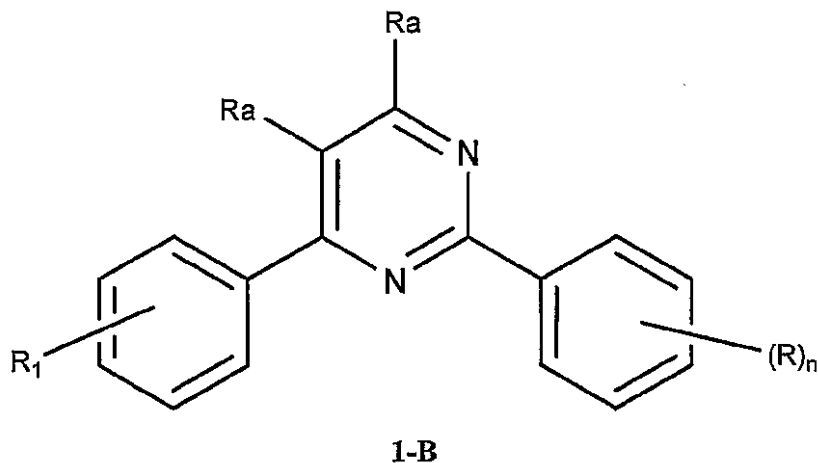
## 【請求項 11】

R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 12】

Y および Z はともに N であり、W および X はともに C - R<sub>a</sub> (式 1 - B) である、請求項 1 に記載の方法。

## 【化 3】



40

50

## 【請求項 13】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 14】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 15】

n は 0、1 または 2 である、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 16】

n は 1 または 2 である、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 17】

n は 0 または 1 である、請求項 12 に記載の方法。

10

## 【請求項 18】

R は、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルコキシ基、またはアミノ基から独立して選択される、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 19】

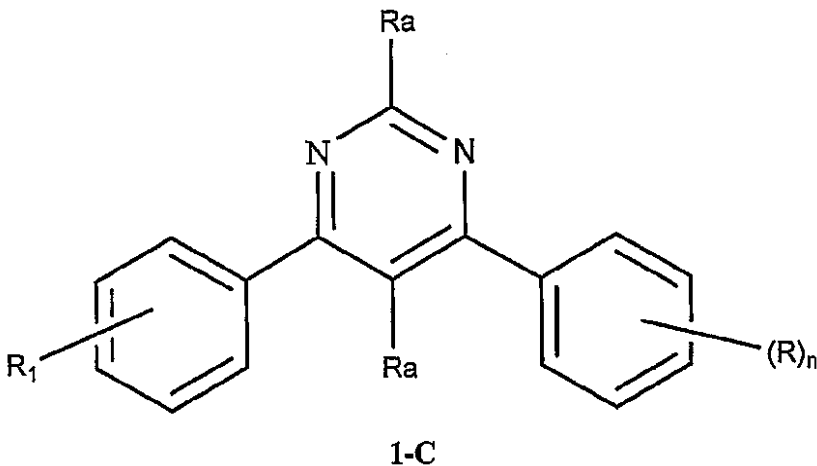
R は一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 20】

W および Y はともに N であり、X および Z はともに C - R<sub>a</sub> (式 1 - C) である、請求項 1 に記載の方法。

20

## 【化 4】



30

## 【請求項 21】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 22】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 23】

n は 1 または 2 である、請求項 20 に記載の方法。

40

## 【請求項 24】

n は 1 である、請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 25】

R は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基から独立して選択される、請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 26】

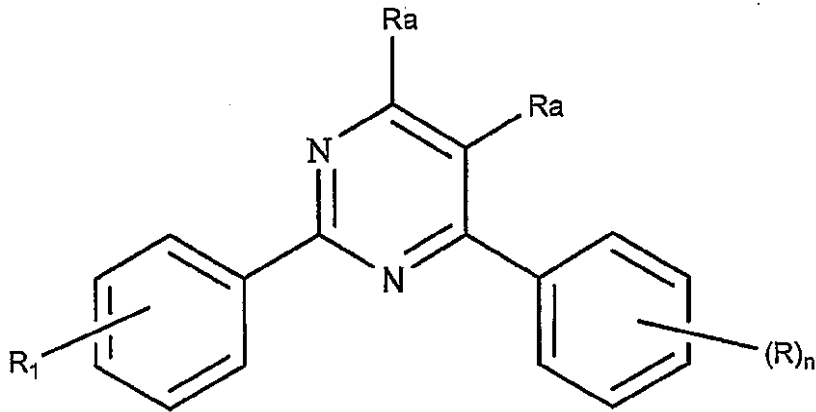
R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 27】

W および Z はともに N であり、X および Y はともに C - R<sub>a</sub> (式 1 - D) である、請求項 1 に記載の方法。

50

## 【化 5】



1-D

10

## 【請求項 28】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 27 に記載の方法。

## 【請求項 29】

R<sub>a</sub> は水素またはメチル基から独立して選択される、請求項 27 に記載の方法。

## 【請求項 30】

n は 1 または 2 である、請求項 27 に記載の方法。

20

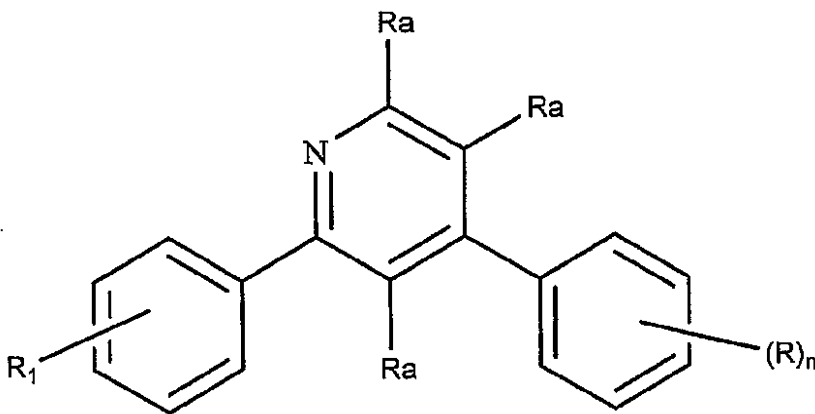
## 【請求項 31】

R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 27 に記載の方法。

## 【請求項 32】

W は N であり、X、Y、および Z はそれぞれ C - R<sub>a</sub> (式 1 - E) である、請求項 1 に記載の方法。

## 【化 6】



1-E

30

40

## 【請求項 33】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 32 に記載の方法。

## 【請求項 34】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 32 に記載の方法。

## 【請求項 35】

n は 1 または 2 である、請求項 32 に記載の方法。

## 【請求項 36】

n は 1 である、請求項 32 に記載の方法。

## 【請求項 37】

R は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基から独立して選択される、請求項 32 に記載の方法。

50

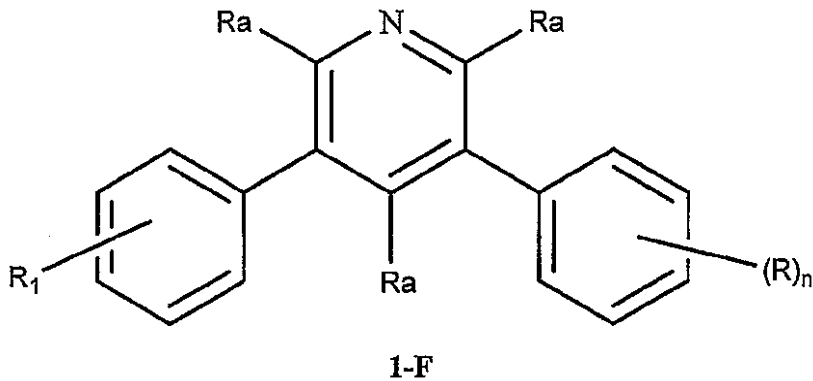
## 【請求項 38】

R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 32 に記載の方法。

## 【請求項 39】

X は N であり、W、Y、および Z はそれぞれ C - R<sub>a</sub> (式 1 - F) である、請求項 1 に記載の方法。

## 【化 7】



10

## 【請求項 40】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 39 に記載の方法。

20

## 【請求項 41】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 39 に記載の方法。

## 【請求項 42】

n は 1 または 2 である、請求項 39 に記載の方法。

## 【請求項 43】

n は 1 である、請求項 39 に記載の方法。

## 【請求項 44】

R は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基から独立して選択される、請求項 39 に記載の方法。

## 【請求項 45】

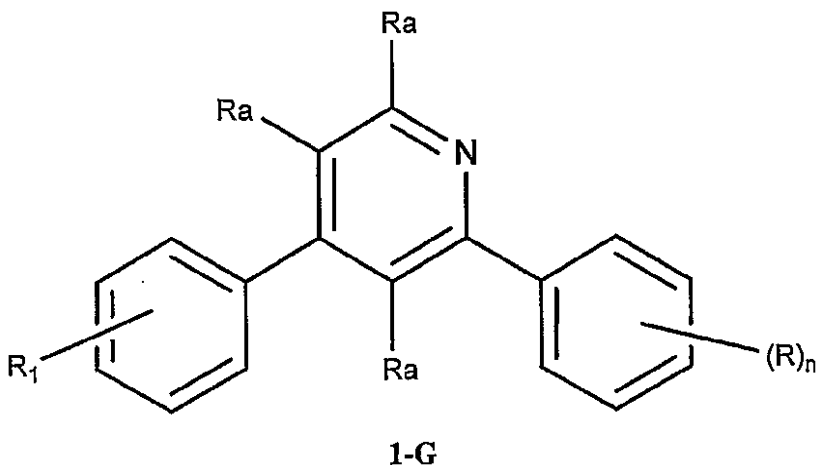
R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 39 に記載の方法。

30

## 【請求項 46】

Y は N であり、W、X、および Z はそれぞれ C - R<sub>a</sub> (式 1 - G) である、請求項 1 に記載の方法。

## 【化 8】



40

## 【請求項 47】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 46 に記載の方法。

50

## 【請求項 48】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 46 に記載の方法。

## 【請求項 49】

n は 1 または 2 である、請求項 46 に記載の方法。

## 【請求項 50】

n は 1 である、請求項 46 に記載の方法。

## 【請求項 51】

R は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基から独立して選択される、請求項 46 に記載の方法。

## 【請求項 52】

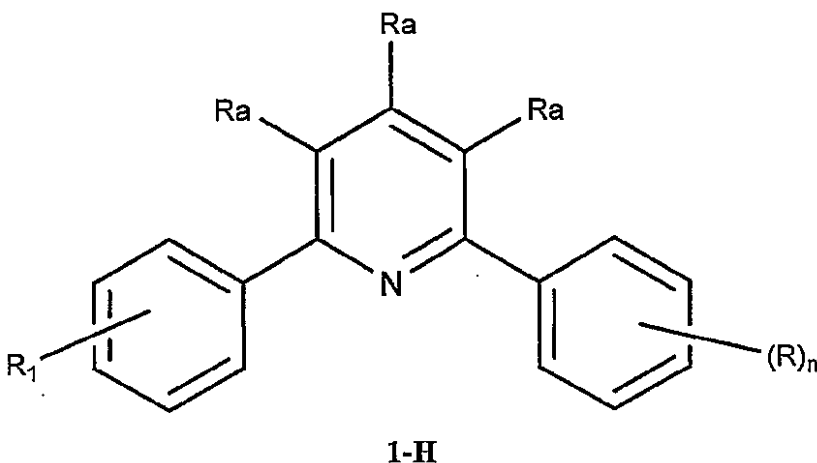
R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 46 に記載の方法。

10

## 【請求項 53】

Z は N であり、W、X、および Y はそれぞれ C - R<sub>a</sub> (式 1 - H) である、請求項 1 に記載の方法。

## 【化 9】



20

## 【請求項 54】

R<sub>1</sub> はカルボキシ基であり、メタまたはパラ位に位置する、請求項 53 に記載の方法。

30

## 【請求項 55】

R<sub>a</sub> は水素である、請求項 53 に記載の方法。

## 【請求項 56】

n は 0、1 または 2 である、請求項 53 に記載の方法。

## 【請求項 57】

n は 1 または 2 である、請求項 53 に記載の方法。

## 【請求項 58】

n は 0 または 1 である、請求項 53 に記載の方法。

## 【請求項 59】

R は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基から独立して選択される、請求項 53 に記載の方法。

40

## 【請求項 60】

R は、一つ以上のメタ位、一つ以上のパラ位、または一つ以上のメタかつパラ位に位置する、請求項 53 に記載の方法。

## 【請求項 61】

自己免疫疾患、血液疾患、膠原病、糖尿病、神経変性疾患、心血管疾患、肺疾患、炎症性疾患または中枢神経系疾患を治療または阻止する方法であって、それを必要とする患者に有効量の式 1 の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

## 【請求項 62】

前記投与が皮下である、請求項 61 に記載の方法。

50

## 【請求項 6 3】

前記自己免疫疾患は関節リウマチまたは移植片対宿主病である、請求項 6 1 に記載の方法。

## 【請求項 6 4】

前記炎症性疾患は関節炎である、請求項 6 1 に記載の方法。

## 【請求項 6 5】

前記中枢神経系疾患は、多発性硬化症、筋ジストロフィー症、ジュシェンヌ型筋ジストロフィー、アルツハイマー病、神経変性疾患またはパーキンソン病である、請求項 6 1 に記載の方法。

## 【請求項 6 6】

前記血液疾患は、血友病、フォン・ヴィレブランド病、血管拡張性失調症、型サラセミアまたは腎臓結石である、請求項 6 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 6 7】

前記膠原病は骨形成不全症または肝硬変である、請求項 6 1 に記載の方法。

## 【請求項 6 8】

家族性赤血球増加症、免疫不全、腎疾患、嚢胞性線維症、家族性高脂血症、網膜色素変性病、アミロイド症、血友病、アルツハイマー病、テイ・サックス病、ニーマン・ピック病、パーキンソン病、アテローム性動脈硬化、巨人症、低身長病、甲状腺機能亢進症、加齢、肥満症、ジュシェンヌ型筋ジストロフィー症またはマルファン症候群を治療または阻止する方法であって、それを必要とする患者に有効量の式 1 の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

20

## 【請求項 6 9】

前記投与が皮下である、請求項 6 8 に記載の方法。

## 【請求項 7 0】

ヒトの癌を治療または阻止する方法であって、これを必要とするヒトに有効量の式 1 の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

## 【請求項 7 1】

前記投与が皮下である、請求項 7 0 に記載の方法。

30

## 【請求項 7 2】

前記癌は、頭および頸、眼、皮膚、口、喉、食道、胸、骨、血液、肺、結腸、S 字結腸、直腸、胃、前立腺、乳房、卵巣、腎臓、肝臓、膵臓、脳、腸、心臓または副腎の癌である、請求項 7 0 に記載の方法。

## 【請求項 7 3】

前記化合物またはその薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体または立体異性体は、薬学的に許容しうる担体または希釈剤を含む、請求項 7 0 に記載の方法。

## 【請求項 7 4】

前記癌は、固形腫瘍である、請求項 7 0 に記載の方法。

## 【請求項 7 5】

前記癌は、肉腫、癌腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、グリオーマ、星細胞腫、髄芽種、頭蓋咽頭腫、上衣腫、カポジ肉腫、松果体腫、血管芽種、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、血行性腫瘍 (blood-born tumor) または多発性骨髄腫である、請求項 7 0 に記載の方法。

40

## 【請求項 7 6】

50

前記癌は、急性リンパ性白血病、急性リンパ性細胞白血病、急性リンパ性T細胞白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄芽球性白血病、急性単芽球性白血病、急性赤白血病、急性巨核芽球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性非リンパ性白血病、急性未分化白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、有毛細胞白血病または多発性骨髄腫である、請求項70に記載の方法。

【請求項77】

前記p53遺伝子の突然変異に関連した疾患を治療または阻止する方法であって、これを必要とする患者に有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

【請求項78】

前記投与が皮下である、請求項77に記載の方法。

【請求項79】

前記疾患は、肉腫、癌腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、髄索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膀胱癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳糖腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮癌、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、グリオーマ、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、カボジ肉腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、血行性腫瘍 (blood-born tumor) または多発性骨髄腫である、請求項77に記載の方法。

【請求項80】

癌細胞増殖を阻害する方法であって、癌細胞を有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体と接触させることを特徴とする方法。

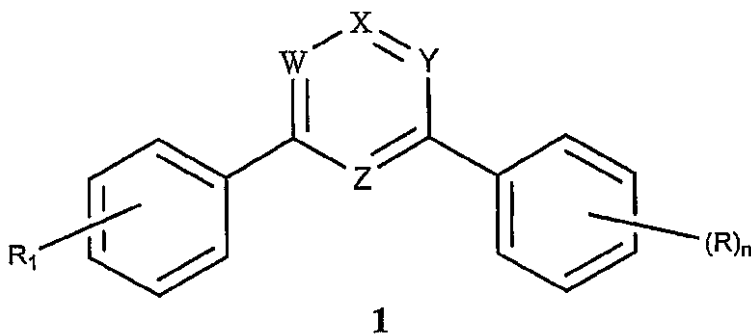
【請求項81】

哺乳類のタンパク質を選択的に産生する方法であって、前記哺乳類のナンセンス突然変異を含む遺伝子を転写することと、前記タンパク質がナンセンス突然変異を含む前記遺伝子から産生される、式1の有効量の化合物を前記哺乳類に提供することを特徴とし、前記タンパク質は前記哺乳類によって産生されるものである前記方法。

【請求項82】

式1の化合物

【化10】



(式中、

W、X、YおよびZは、NまたはC-R<sub>a</sub>から独立して選択され、R<sub>a</sub>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルカリ基であり、少なくともW、X、Y、またはZのうち1つがNであり、

nは0、1、2、または3であり、

R<sub>1</sub>はシアノ基、一つまたは二つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基に任意に置換されたカルボモイル基、またはヒドロキシ基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル基であり、

10

20

30

40

50

R は、ヒドロキシ基、ハロゲン、一つ以上の独立して選択されるハロゲンまたはヒドロキシ基で任意に置換された  $C_1 - C_4$  アルキル基、一つ以上の独立して選択されるハロゲンまたはフェニル基で任意に置換された  $C_1 - C_4$  アルコキシ基、一つ以上の独立して選択される  $C_1 - C_4$  アルキル基で任意に置換された  $C_4 - C_8$  シクロアルキル基、 $-R_b$  基、 $-O-R_b$  基、一つ以上の独立して選択される  $C_1 - C_4$  アルキル基、オキソ基、または  $-R_b$  基で任意に置換された 5 から 6 員複素環、二つの環構造を有する 9 から 10 員複素環、ヒドロキシ基、 $C_1 - C_4$  アルキル基、または  $C_1 - C_4$  アルコキシ基で置換されたカルボニル基、一つまたは二つの  $C_1 - C_4$  アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、ニトロ基、シアノ基、ヒドロキシ基、 $C_1 - C_4$  アルキル基または  $-R_b$  基で任意に置換されたチオ基、ヒドロキシ基、 $C_1 - C_4$  アルキル基、または  $-R_b$  基で任意に置換されたスルホニル基、一つ以上の独立して選択される  $C_1 - C_4$  アルキル基、スルホニル基、またはカルボニル基で任意に置換されたアミノ基から独立して選択され、ここでアミノスルホニル基は、ヒドロキシ基、 $C_1 - C_4$  アルキル基、または  $-R_b$  基で任意に置換され、アミノカルボニル基は  $C_1 - C_4$  アルキル基、 $C_1 - C_4$  ハロアルキル基、ベンズオキシ基、または  $-R_b$  基で任意に置換されたアミノ基（アミノスルホニル基は、ヒドロキシ基、 $C_1 - C_4$  アルキル基、または  $-R_b$  基で任意に置換され、アミノカルボニル基は  $C_1 - C_4$  アルキル基、 $C_1 - C_4$  ハロアルキル基、ベンズオキシ基、または  $-R_b$  基で任意に置換されたアミノ基から任意に置換される）、または結合するフェニル環とともにベンゾ[1,3]ジオキソールまたは 2,3-ジヒドロ-ベンゾ[1,4]ジオキソニル基を形成する二つの R 基から選択され、

ここで  $-R_b$  は一つのヒドロキシ基、一つのハロゲン基、一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基、一つの  $C_1 - C_4$  ハロアルキル基、一つの  $C_1 - C_4$  アルコキシ基、一つ以上の  $C_1 - C_4$  アルキル基によって置換された一つのアミノ基のうちの一つ以上で任意に置換された  $C_6 - C_8$  アリールである）、

または、前記式 1 の化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、多型体、ラセミ体、または立体異性体。

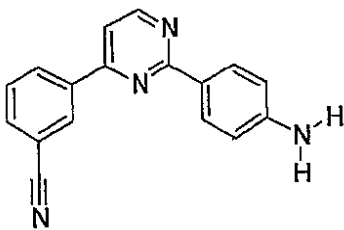
【請求項 8 3】

前記化合物は化合物 1 ~ 8 9 から選択されるものである、請求項 8 3 の化合物。

【請求項 8 4】

下記式（化合物番号 1）を有する化合物。

【化 1 1】



【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2004年10月13日に出願された米国出願番号 60/617,634、2004年10月13日に出願された米国出願番号 60/617,655、2004年10月13日に出願された米国出願番号 60/617,633、2004年10月13日に出願された米国出願番号 60/617,670（の 35 USC § 119 に基づく優先権および利益を主張し、その全体は、参照により本明細書に組入れるものとする。本出願は、2004年10月13日に出願された米国出願番号 60/617,653 および 2004年11月3日に出願された米国出願番号 60/624,170 についても、35 USC § 119 に基づく優先権および利益を主張する。2004年11月3日に出願された米国特

10

20

30

40

50

許番号60/624, 170も、参照によりその全体を本明細書に組入れるものとする。本出願はまた、2005年10月13日に出願され、代理人文書番号19025.040、19025.041、19025.042、19025.043および19025.044として特定される「ナンセンス抑制のための化合物とその使用方法」と題する国際特許出願についても、参照によりその全体を本明細書に組入れる。

#### 【0002】

##### 発明の分野

本発明は、本発明の化合物または組成物を投与することにより、mRNAのナンセンス突然変異に関する疾患を治療または阻止するための方法、化合物および組成物に関する。より具体的には、本発明は、mRNAのナンセンス突然変異に関する未熟な翻訳終了を抑制するための方法、化合物および組成物に関する。

10

#### 【背景技術】

#### 【0003】

##### 発明の背景

細胞の遺伝子発現は、転写および翻訳の順序プロセスに依存する。ともに、これらのプロセスは、その対応する遺伝子のヌクレオチド配列からタンパク質を生産する。

#### 【0004】

転写は、RNAポリメラーゼによるDNAからのmRNA合成を伴う。転写は、遺伝子のプロモーター領域で始まり、新生RNAにおけるステムループ構造の形成またはrho遺伝子産物の結合などにより終結が誘発されるまで継続する。

20

#### 【0005】

タンパク質は、それから、tRNA、tRNA合成酵素および様々な他のタンパク質およびRNA種の助けによりリボソーム上に生じる翻訳プロセスによりmRNAから生産される。翻訳は、開始、伸張および終結の三つのフェーズからなる。翻訳は、タンパク質因子、mRNA、tRNA、補助因子およびmRNA上で翻訳を開始するように翻訳装置を導くmRNA上のシグナルを認識するリボソームサブユニットからなる開始複合体の形成により開始される。一旦、開始複合体が形成されると、ポリペプチド鎖の成長は、リボソームだけでなくtRNAおよびtRNA合成酵素のペプチド生成酵素活性によるアミノ酸の反復的添加により生じる。リボソームのA部位における三つの終結コドン(UAA、UAG、UGA)のうちの一つの存在が、ポリペプチド鎖終結因子(RFs)に終結シグナルを結合し、認識するよう合図する。次に、リボソームのP部位に位置するtRNAの3ヌクレオチドと新生ポリペプチド鎖間のエステル結合が、加水分解され、完全ポリペプチド鎖が遊離し、リボソームサブユニットは、次の翻訳のために再利用される。

30

#### 【0006】

塩基数が変化するDNA配列の変異は、挿入または欠失変異(例えば、フレームシフト変異)として分類され、ゲノムの主な破壊を生じる可能性がある。一つの塩基を別の塩基に変化させ、アミノ酸置換を生じるDNAの変異は、ミスセンス変異と標識される。塩基置換は、移行(一つのプリンから別のプリンに、または一つのピリミジンから他のピリミジンに)およびトランスバージョン(プリンからピリミジンに、またはピリミジンからプリンに)のクラスに細分される。

40

#### 【0007】

移行およびトランスバージョン変異は、アミノ酸コドンを三つの停止コドンの一つに変化させるナンセンス変異を生じる可能性がある。これらの未熟な終結コドンは、未熟な翻訳終結の結果により、細胞において異常タンパク質を生産する可能性がある。必須遺伝子におけるナンセンス変異は致命的で、いくつか例をあげると、癌、リソソーム病、筋ジストロフィー症、嚢胞性線維症および血友病などの数多くのヒト疾患も引き起こす可能性がある。

#### 【0008】

ヒトp53遺伝子は、ヒト癌のなかで最も一般的な変異遺伝子である(Zambetti, G. P. およびLevine, A., FASEB 7: 855~865 (1993))

50

。遺伝および自然発生癌の双方で発見された50以上の異なるタイプのヒトにおける癌はp53変異を含み、この遺伝子の変異はヒトにおける癌全体の50～55%の確率で生じる(Hollstein, M.ら、Nucleic Acids Res. 22:3551～55(1994); International Agency for Research on Cancer (IARC) database)。結腸直腸癌の約70%、肺癌の50%および乳癌の40%が、変異体p53を含む(Koshland, D., Science 262:1953(1993))。p53の異常型は、予後不良、より進行性の腫瘍、転移および低い5年生存率(Id.)と関連する。DNA損傷に対する細胞増殖停止および/またはアポトーシスの誘発におけるp53の役割は、増殖の優位性を得た変異細胞の破壊に必要不可欠であると信じられている。さらに、p53は、急速に分化する細胞をアポトーシスシグナルに感作させる。p53遺伝子において15,000以上の報告された変異の約7%が、ナンセンス変異である。つまり、p53ナンセンス変異に向けられた安全で効果的な治療が必要とされる。

10

## 【0009】

ナンセンス変異を伴う菌種および真核生物菌株において、ナンセンス変異の抑制は、変異体tRNAがナンセンスコドンを認識できるためtRNA分子の一つにおける変異の結果として、翻訳プロセスに関わるタンパク質における変異の結果として、リボソーム(リボソームRNAまたはリボソームタンパク質のいずれか)における変異の結果として、または翻訳プロセス(例えば、シクロヘキシミドまたはアミノグリコシド系抗生物質)を変更することで知られる化合物の添加により起こる。結果は、アミノ酸がナンセンス変異の部位でポリペプチド鎖に組み込まれ、翻訳がナンセンスコドンで未熟に終結しない。挿入されたアミノ酸は、野生型タンパク質の本来のアミノ酸と必ず一致しないが、多くのアミノ酸置換は、タンパク質構造または機能において大きな作用をもたない。よって、ナンセンス変異の抑制により生産されたタンパク質は、野生型タンパク質のそれに近い活性を有する可能性がある。このシナリオは、ナンセンス変異の抑制を通して翻訳の未熟な終結を避けることによりナンセンス変異に関連する疾患を治療する機会を提供する。

20

## 【0010】

真核生物停止コドンの読み通しを促進するアミノグリコシド抗生物質の能力は、ナンセンス変異により生じるヒト疾患において有力な治療薬としてこれらの薬剤で関心を集めている。このような治療手段が実行可能である疾患の一つは、現在効果的な治療がない致命的な小児神経変性疾患である、ニューロンセロイド脂褐素症(LINCL)である。リソソームトリペプチジル-ポリペプチターゼ1(TPP-I)をエンコードした遺伝子CLN2における未熟な終結コドン変異は、LINCLと診断された子供の約半分において疾患と関係する。LINCL細胞株におけるTPP-I活性を回復するためのアミノグリコシドゲンタマイシンの能力が、調査されている。一般的に見られるナンセンス変異(Arg208Stop)と異なる稀なナンセンス変異に化合ヘテロ接合である患者から得られた細胞株において、TPP-Iの正常なレベルの約7%が、ゲンタマイシン治療を用いて、最大限に回復された。これらの結果は、アミノグリコシドまたは機能的に類似した薬剤によるナンセンス変異の薬理的抑制が、LINCLにおいて治療的に有効であることを示唆する(Sleatら、Eur. J. Ped., Neurology, 5: Suppl A57～62(2001))。

30

40

## 【0011】

嚢胞性線維症膜透過性調節因子(CFTR)遺伝子における未熟な終結コドンを有する培養細胞において、アミノグリコシドを用いた治療は、完全長のCFTRの生産を導いた(Bedwellら、Nat. Med., 3:1280～1284(1997); Howardら、Nat. Med., 2:467～469(1996))。ジュシェンヌ型筋ジストロフィーのためのマウスモデルにおいて、硫酸ゲンタマイシンが未熟な終結コドンで翻訳終結を抑制するのが観察され、結果として完全長ジストロフィンを生じた(Barton-Davisら、J. Clin. Invest., 104:375～381(1999))。467-469(1996)。ジュシェンヌ型筋ジストロフィーのためのマ

50

ウスモデルにおいて、硫酸ゲンタマイシンが未熟な終結コドンで翻訳終結を抑制するのが観察され、結果として完全長ジストロフィンを生じた (Barton-Davisら、*J. Clin. Invest.*, 104:375~381 (1999))。完全長ジストロフィン量のわずかな増加は、mdxマウスの縮小誘導 (contraction-induced) された損傷に対して保護を提供した。ナンセンスコドンの部位に挿入されたアミノ酸は、これらの研究では判断されなかった。

#### 【0012】

従って、ナンセンスコドンの誤読を媒介することにより未熟な翻訳終結を抑制する小型分子の治療法または予防法は、数多くの疾患の治療に役立つだろう。社会にナンセンス変異により生じる疾患に対して使用することができる選択的治療法または予防法の広範なスペクトラムを導く、小型分子薬剤、特に経口生物利用薬剤の発見は、まだ始まったばかりである。

10

#### 【0013】

クリトシン (Clitocine) (6-アミノ-5-ニトロ-4-( $\beta$ -D-リボ-furanosylamino)ピリミジン) は、マッシュルーム *Clitocybe inversa* から最初に分離された自然発生する環外アミノヌクレオシドである (Kubora、*Tet. Lett.*, 27:4277 (1986))。クリトシンの全合成も報告されている (Mossら、*J. Med. Chem.*, 31:786~790 (1988) および Kamikawara、*J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 195 (1998))。4277 (1986)。クリトシンは、白血病細胞系に対して殺虫作用および細胞増殖抑制作用を保持すると報告されている (Kubora、*Tet. Lett.*, 27:4277 (1986) および Mossら、*J. Med. Chem.*, 31:786~790 (1988))。しかし、ナンセンス変異に関連する疾患の治療としてのクリトシンの使用は、現在まで開示されていなかった。また、ナンセンス変異に関連する癌または疾患の治療として利用性をもつクリトシンの類似体または誘導体の開発を誰も報告していない。

20

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0014】

よって、mRNAのナンセンス変異に関連する疾患の治療または予防のための新薬の開発のために、主要分子を開発、特徴付けおよび最適化する必要がいまだ存在する。従って、このような化合物を提供することが、本発明の目的である。

30

#### 【0015】

本明細書に記載される全ての資料は、本明細書の説明を通して、参照により本出願に組入れるものとする。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0016】

本発明の要約

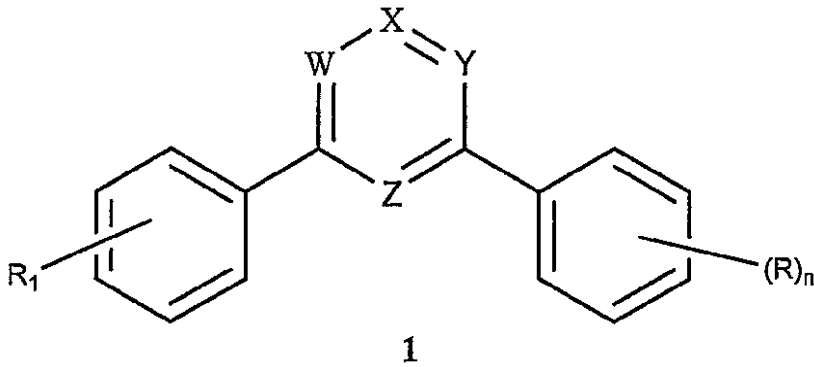
本発明により、mRNAのナンセンス変異に関連する未熟な翻訳終結を抑制する化合物が同定され、それらの使用方法が提供される。

40

#### 【0017】

本発明の様態の1つとして、mRNAのナンセンス変異に関連する未熟な翻訳終結を抑制するため、およびmRNAのナンセンス変異に関連する疾患を治療するために役立つ、式(1)の化合物が提供される。

## 【化 1】



10

## 【0018】

式中：

W, X, Y および Z は N または C - R<sub>a</sub> より独立して選択され、W, X, Y, または Z は N である、R<sub>a</sub> が水素または C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基の場合；

n は 0, 1, 2, または 3 であり；

R<sub>1</sub> は一つのシアノ基、一つまたは二つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、または一つのヒドロキシ基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、または一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ基で置換されたカルボニル基であり、

R は、ヒドロキシ基、ハロゲン、一つまたはそれ以上の独立して選択されるハロゲンまたはヒドロキシ基で任意に置換された C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、一つまたはそれ以上の独立して選択されるハロゲンまたはフェニル基で任意に置換された C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ、一つまたはそれ以上の独立して選択される C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基で任意に置換された C<sub>4</sub> - C<sub>8</sub> シクロアルキル、- R<sub>b</sub> 基、- O - R<sub>b</sub> 基、一つまたはそれ以上の独立して選択される C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、オキソ、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換された 5 から 6 員ヘテロ環、二つの環構造を有する 9 から 10 員ヘテロ環、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、または C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ基で置換されたカルボニル、一つまたは二つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、ニトロ基、シアノ基、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換されたチオ、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換されたスルホニル、一つまたはそれ以上の独立して選択される C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、スルホニル、またはカルボニル基で任意に置換されたアミノから独立して選択され、ここでアミノスルホニル基は、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換され、アミノカルボニル基は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、ベンズオキシ基、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換されたアミノ基から任意に置換された、またはベンゾ [ 1, 3 ] ジオキソールまたは 2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [ 1, 4 ] ジオキシニル基に付随するフェニル環を有する二つの R 基であり、- R<sub>b</sub> は以下の一つまたはそれ以上で任意に置換された C<sub>6</sub> - C<sub>8</sub> アリールである、体細胞突然変異により生じる疾患を治療または阻止する方法。

20

30

## 【0019】

ここで - R<sub>b</sub> は一つの C<sub>6</sub> - C<sub>8</sub> アリールであり、一つ以上の以下のものによって任意に置換された：一つのヒドロキシ基、一つのハロゲン基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ基、一つ以上の C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基によって置換された一つのアミノ基；

または、前述の式 1 の化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒化合物、多形体、ラセミ体、または立体異性体。

40

## 【0020】

本発明の一態様では、ナンセンス変異に関連する未熟な翻訳終結の抑制のために、また mRNA のナンセンス変異に関連する疾病の予防または治療法のための方法が提供される。このような疾患は、これに制限されるものではないが、CNS 疾患、炎症性疾患、神経変性疾患、自己免疫疾患、心血管疾患または肺疾患などのナンセンス変異に関連する未熟

50

な翻訳終結により生じる遺伝性疾患、より好ましくは疾患は癌（または他の増殖性疾患）、アミロイド症、アルツハイマー症、アテローム性動脈硬化、巨人症、低身長病、甲状腺機能低下、甲状腺機能亢進病、嚢胞性線維症、加齢、肥満症、パーキンソン病、ニーマン・ピック病、家族性高脂血症、網膜色素変性病、マルファン症候群、リソソーム病、筋ジストロフィー症、嚢胞性線維症、血友病またはニューロンセロイド脂褐素症（LINCL）である。

【0021】

実施形態の一つとして、本発明は、本発明の少なくとも一つの化合物のナンセンス抑制量を必要とする患者に投与することを含む、mRNAにおけるナンセンス変異に関連する未熟な翻訳終結の抑制方法に方向づけられる。

10

【0022】

さらに他の実施形態において、治療効果のある量の少なくとも一つの本発明の化合物を必要とする患者に投与することを含む、癌、リソソーム病、筋ジストロフィー症、嚢胞性線維症、血友病またはニューロンセロイド脂褐素症を治療する方法を提供する。

【0023】

これらと本発明の他の様態は、以下の好適な実施形態および詳細な説明を参照することにより、より明確に理解されるであろう。

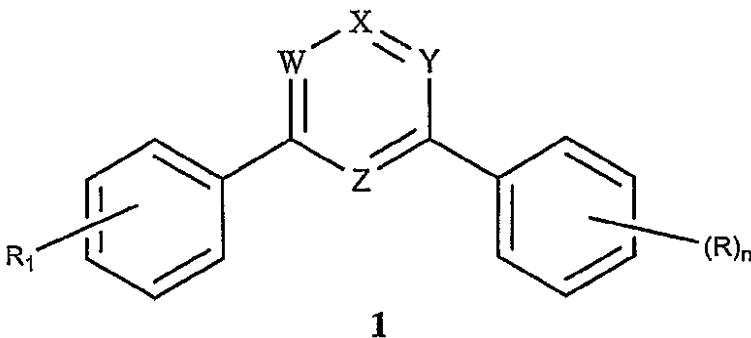
【0024】

特定の実施形態

1. 体細胞突然変異により生じる疾患を治療または阻止する方法であって、それを必要とする患者に、有効量の式1の化合物

20

【化2】



30

【0025】

式中：

W, X, YおよびZはNまたはC - R<sub>a</sub>より独立して選択され、W, X, Y, またはZはNである、R<sub>a</sub>が水素またはC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基の場合；

nは0, 1, 2, または3であり；

R<sub>1</sub>は一つのシアノ基、一つまたは二つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、または一つのヒドロキシ基、一つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基、または一つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル基であり、

Rは、ヒドロキシ基、ハロゲン、一つまたはそれ以上の独立して選択されたハロゲンまたはヒドロキシ基で任意に置換されたC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、一つまたはそれ以上の独立して選択されたハロゲンまたはフェニル基で任意に置換されたC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ、一つまたはそれ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたC<sub>4</sub> - C<sub>8</sub>シクロアルキル、- R<sub>b</sub>基、- O - R<sub>b</sub>基、一つまたはそれ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、オキソ、または- R<sub>b</sub>基で任意に置換された5から6員ヘテロ環、二つの環構造を有する9から10員ヘテロ環、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、またはC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル、一つまたは二つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、ニトロ基、シアノ基、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、または- R<sub>b</sub>基で任意に置換されたチオ、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、または- R<sub>b</sub>基で任意に置換されたスルホニル、一つまたはそれ以上の独立して選択される

40

50

C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、スルホニル、またはカルボニル基で任意に置換されたアミノから独立して選択され、ここでアミノスルホニル基は、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換され、アミノカルボニル基は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、ベンズオキシ基、または - R<sub>b</sub> 基で任意に置換されたアミノ基から任意に置換される、またはベンゾ [ 1 , 3 ] ジオキソールまたは 2 , 3 - ジヒドロ - ベンゾ [ 1 , 4 ] ジオキシニル基に付随するフェニル環を有する二つの R 基であり、- R<sub>b</sub> は以下の一つまたはそれ以上で任意に置換された C<sub>6</sub> - C<sub>8</sub> アリールである、体細胞突然変異により生じる疾患を治療または阻止する方法。一つのヒドロキシ基、一つのハロゲン基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルコキシ基、一つ以上の C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基によって置換された一つのアミノ基；

10

または、前述の式 1 の化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒化合物、多形体、ラセミ体、または立体異性体。

2. 式 1 の化合物、またはその薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒化合物、溶媒化合物、ラセミ体、または立体異性体を前記化合物および薬学的に許容しうる担体または希釈剤を含む組成物として投与される、前記実施形態 1 に記載の方法。

3. 前記投与が皮下である、前記実施形態 1 に記載の方法。

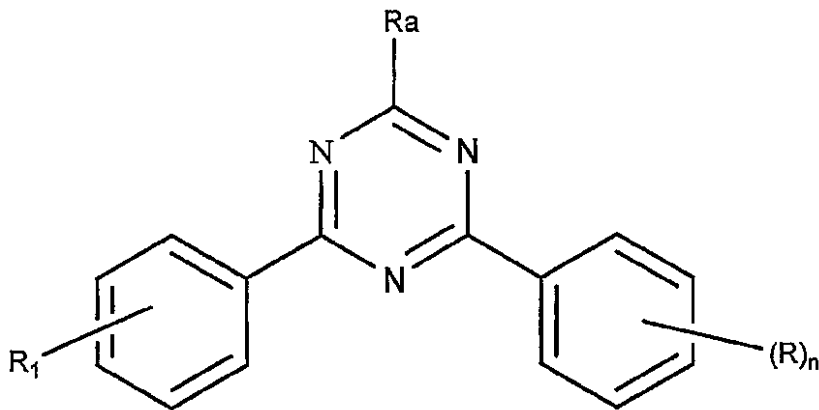
4. R<sub>1</sub> がメタ位またはパラ位にある、前記実施形態 1 に記載の方法。

【 0 0 2 6 】

5. W、Y、および Z はそれぞれ N であり、X が C - R<sub>a</sub> である、前記実施形態 1 に記載の方法 ( 式 1 - A ) 。

20

【 化 3 】



1-A

30

【 0 0 2 7 】

6. R<sub>1</sub> が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態 5 に記載の方法。

7. R<sub>a</sub> が水素である、前記実施形態 5 に記載の方法。

8. n が 1 または 2 である、前記実施形態 5 に記載の方法。

9. R が一つのハロゲン基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基、一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル基、または一つのアルコキシ基から独立して選択される、前記実施形態 5 に記載の方法

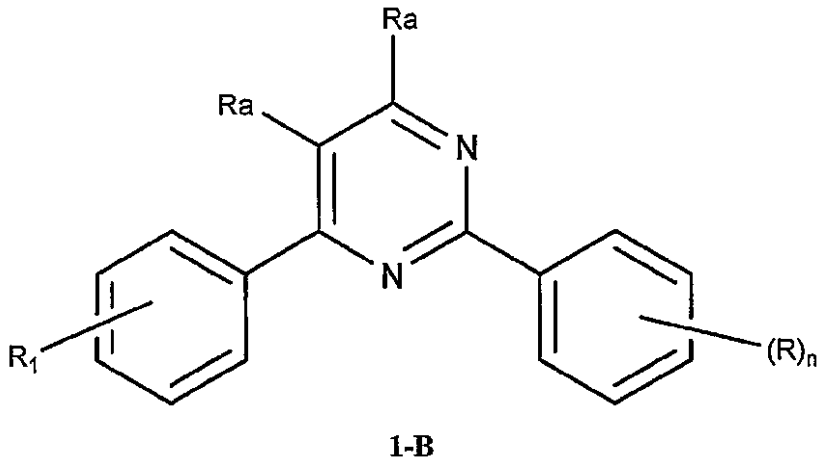
40

10. R がメタ位および / またはパラ位にある、前記実施形態 5 に記載の方法。

【 0 0 2 8 】

11. Y および Z がともに N であり、W および X がともに C - R<sub>a</sub> である、前記実施形態 1 に記載の方法 ( 式 1 - B ) 。

## 【化4】



10

## 【0029】

12.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態11に記載の方法。

13.  $R_a$  が水素である、前記実施形態11に記載の方法。

14.  $n$  が1または2である、前記実施形態11に記載の方法。

15.  $R$  が一つのハロゲン基、一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基、一つの  $C_1 - C_4$  ハロアルキル基、一つのアルコキシ基、一つのハロアルコキシ基、アミノ、またはピロリル基から独立して選択される、前記実施形態11に記載の方法。

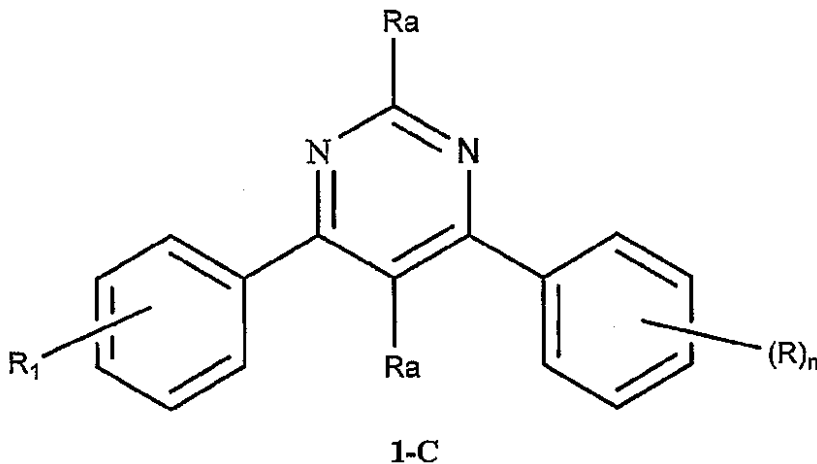
20

16.  $R$  がメタ位および/またはパラ位にある、前記実施形態11に記載の方法。

## 【0030】

17.  $W$  および  $Y$  がともに  $N$  であり、 $X$  および  $Z$  がともに  $C - R_a$  である、前記実施形態1に記載の方法（式1-C）。

## 【化5】



30

## 【0031】

18.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態17に記載の方法。

19.  $R_a$  が水素である、前記実施形態17に記載の方法。

20.  $n$  が1または2である、前記実施形態17に記載の方法。

21.  $R$  が一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基から独立して選択される、前記実施形態17に記載の方法。

22.  $R$  がメタ位および/またはパラ位にある、前記実施形態17に記載の方法。

40

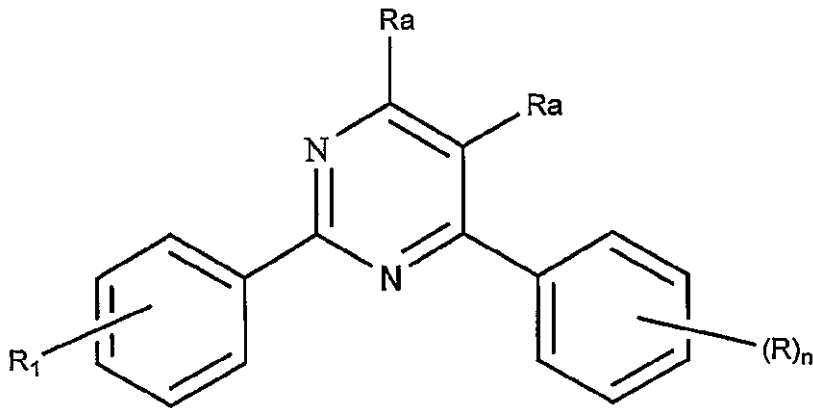
## 【0032】

23.  $W$  および  $Z$  がともに  $N$  であり、 $X$  および  $Y$  がともに  $C - R_a$  である、前記実施形態1

50

に記載の方法（式 1 - D）。

【化 6】



1-D

10

【 0 0 3 3】

24.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態23に記載の方法。

25.  $R_a$  が水素またはメチルから独立して選択された、前記実施形態23に記載の方法。

【 0 0 3 4】

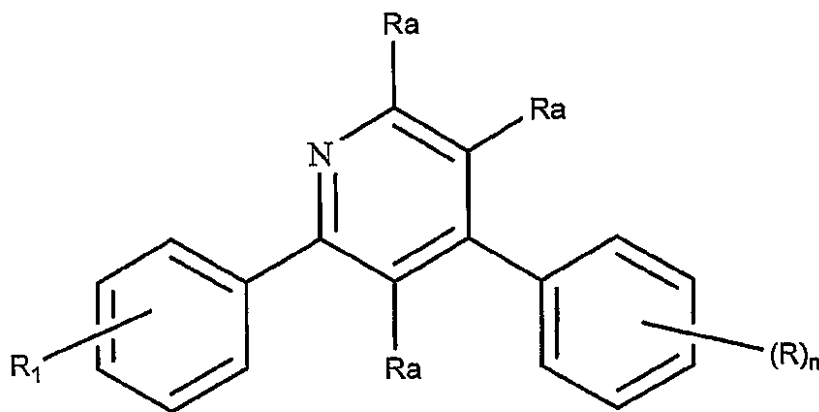
26.  $n$  が 1 または 2 である、前記実施形態23に記載の方法。

27.  $R$  がメタ位および / またはパラ位にある、前記実施形態23に記載の方法。

【 0 0 3 5】

28.  $W$  が  $N$  で、 $X$ 、 $Y$ 、および  $Z$  がそれぞれ  $C - R_a$  である、前記実施形態1に記載の方法（式 1 - E）。

【化 7】



1-E

30

【 0 0 3 6】

29.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態28に記載の方法。

30.  $R_a$  が水素である、前記実施形態28に記載の方法。

31.  $n$  が 1 または 2 である、前記実施形態28に記載の方法。

32.  $R$  が一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基から独立して選択される、前記実施形態28に記載の方法。

33.  $R$  がメタ位および / またはパラ位にある、前記実施形態28に記載の方法。

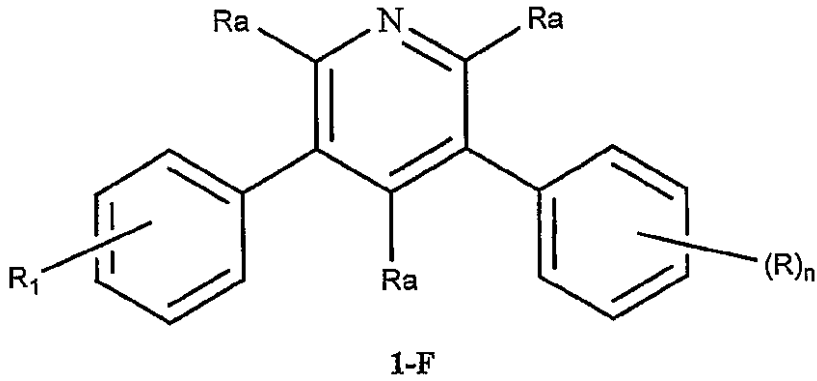
【 0 0 3 7】

34.  $X$  が  $N$  で、 $W$ 、 $Y$ 、および  $Z$  がそれぞれ  $C - R_a$  である、前記実施形態1に記載の方法（式 1 - F）。

40

50

## 【化8】



10

## 【0038】

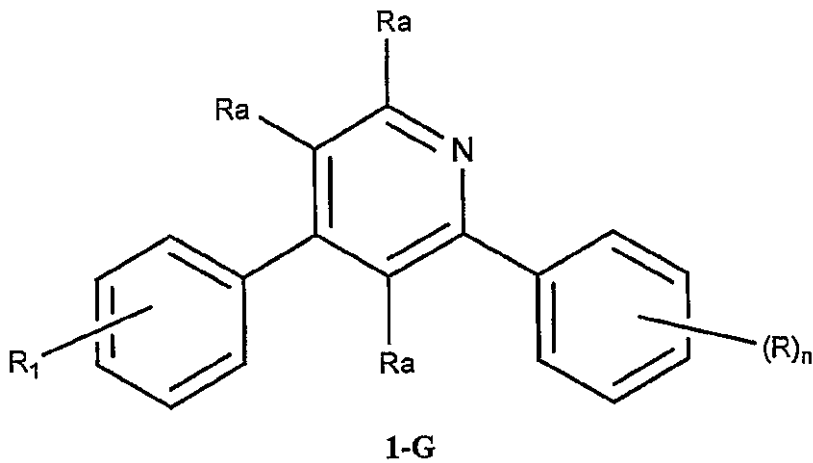
35.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態34に記載の方法。
36.  $R_a$  が水素である、前記実施形態34に記載の方法。
37.  $n$  が1または2である、前記実施形態34に記載の方法。
38.  $R$  が一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基から独立して選択される、前記実施形態34に記載の方法。
39.  $R$  がメタ位および/またはパラ位にある、前記実施形態34に記載の方法。

## 【0039】

40.  $Y$  が  $N$  で、 $W$ 、 $X$ 、および  $Z$  がそれぞれ  $C - R_a$  である、前記実施形態1に記載の方法(式1-G)。

20

## 【化9】



30

## 【0040】

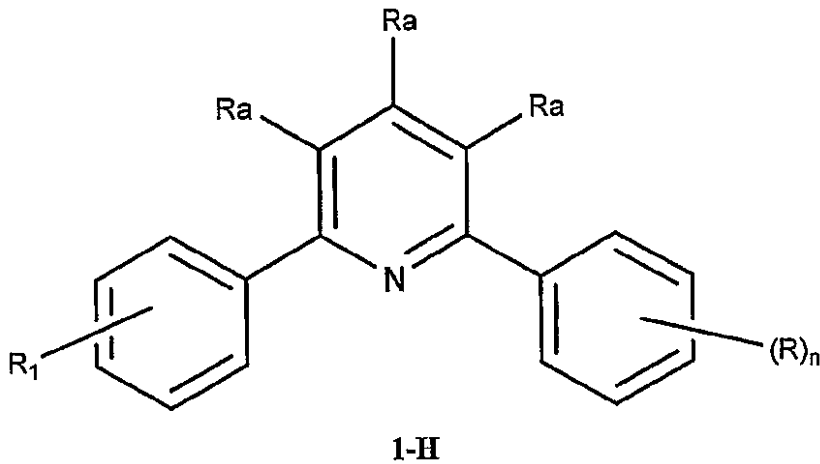
41.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態40に記載の方法。
42.  $R_a$  が水素である、前記実施形態40に記載の方法。
43.  $n$  が1または2である、前記実施形態40に記載の方法。
44.  $R$  が一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基から独立して選択される、前記実施形態40に記載の方法。
45.  $R$  がメタ位および/またはパラ位にある、前記実施形態40に記載の方法。

40

## 【0041】

46.  $Z$  が  $N$  で、 $W$ 、 $X$ 、および  $Y$  がそれぞれ  $C - R_a$  である、前記実施形態1に記載の方法(式1-H)。

【化10】



10

【0042】

47.  $R_1$  が一つのカルボキシ基であり、メタ位またはパラ位にある、前記実施形態46に記載の方法。

48.  $R_a$  が水素である、前記実施形態46に記載の方法。

49.  $n$  が1または2である、前記実施形態46に記載の方法。

50.  $R$  が一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基から独立して選択される、前記実施形態46に記載の方法。

20

51.  $R$  がメタ位および/またはパラ位にある、前記実施形態46に記載の方法。

【0043】

52. 自己免疫疾患、血液疾患、膠原病、糖尿病、神経変性疾患、心血管疾患、肺疾患、炎症性疾患または中枢神経系疾患を治療または阻止する方法であって、それを必要とする患者に有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

53. 前記投与が皮下である、前記実施形態52に記載の方法。

54. 前記自己免疫疾患は関節リウマチまたは移植片対宿主病である、前記実施形態52に記載の方法。

30

55. 前記炎症性疾患は関節炎である、前記実施形態52に記載の方法。

【0044】

56. 前記中枢神経系疾患は、多発性硬化症、筋ジストロフィー症、ジュシェンヌ型筋ジストロフィー、アルツハイマー病、神経変性疾患またはパーキンソン病である、前記実施形態52に記載の方法。

57. 前記血液疾患は、血友病、フォン・ヴィレブランド病、血管拡張性失調症、型サラセミアまたは腎臓結石である、前記実施形態52に記載の方法。

58. 前記膠原病は骨形成不全症または肝硬変である、前記実施形態52に記載の方法。

【0045】

59. 家族性赤血球増加症、免疫不全、腎疾患、嚢胞性線維症、家族性高脂血症、網膜色素変性病、アミロイド症、血友病、アルツハイマー病、テイ・サックス病、ニーマン・ピック病、パーキンソン病、アテローム性動脈硬化、巨人症、低身長病、甲状腺機能亢進症、加齢、肥満症、ジュシェンヌ型筋ジストロフィー症またはマルファン症候群を治療または阻止する方法であって、それを必要とする患者に有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

40

60. 前記投与が皮下である、前記実施形態59に記載の方法。

【0046】

61. ヒトの癌を治療または阻止する方法であって、これを必要とするヒトに有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ

50

体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

【0047】

62. 前記投与が皮下である、前記実施形態61に記載の方法。

63. 前記癌は、頭および頸、眼、皮膚、口、喉、食道、胸、骨、血液、肺、結腸、S字結腸、直腸、胃、前立腺、乳房、卵巣、腎臓、肝臓、膵臓、脳、腸、心臓または副腎の癌である、前記実施形態61に記載の方法。

64. 前記化合物またはその薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体または立体異性体は、薬学的に許容しうる担体または希釈剤を含む、前記実施形態61に記載の方法。

65. 前記癌は、固形腫瘍である、前記実施形態61に記載の方法。

10

66. 前記癌は、肉腫、癌腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、グリオーマ、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、カポジ肉腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、血行性腫瘍 (blood-born tumor) または多発性骨髄腫である、前記実施形態61に記載の方法。

67. 前記癌は、急性リンパ性白血病、急性リンパ性細胞白血病、急性リンパ性T細胞白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄芽球性白血病、急性単芽球性白血病、急性赤白血病、急性巨核芽球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性非リンパ性白血病、急性未分化白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、有毛細胞白血病または多発性骨髄腫である、前記実施形態61に記載の方法。

20

【0048】

68. 前記 p 5 3 遺伝子の突然変異に関連した疾患を治療または阻止する方法であって、これを必要とする患者に有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体を投与することを特徴とする方法。

69. 前記投与が皮下である、前記実施形態68に記載の方法。

30

70. 前記疾患は、肉腫、癌腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、髄索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳糖腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮癌、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、グリオーマ、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、カポジ肉腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、血行性腫瘍 (blood-born tumor) または多発性骨髄腫である、前記実施形態68に記載の方法。

【0049】

40

71. 癌細胞増殖を阻害する方法であって、癌細胞を有効量の式1の化合物、あるいは、その薬学的に許容しうる塩、水和物、溶媒和物、包接体、ラセミ体、または立体異性体と接触させることを特徴とする方法。

72. 哺乳類のタンパク質を選択的に産生する方法であって、前記哺乳類のナンセンス突然変異を含む遺伝子を転写することと、前記タンパク質がナンセンス突然変異を含む前記遺伝子から産生され、式1の有効量の化合物を前記哺乳類に提供することを特徴とし、前記タンパク質は前記哺乳類によって産生されるものである前記方法。

【発明を実施するための最良の形態】

【0050】

発明の詳細な説明

50

未熟な翻訳終結は異常な蛋白を作り出す原因となり、この異常な蛋白は致死的であったり、または多くの疾患を引き起こし、これらの疾患として、癌、リソソーム蓄積症、筋ジストロフィー、嚢胞性線維症や血友病などが含まれるがこれらに限定されない。本発明によって、ナンセンス変異を抑制する化合物が同定され、またその化合物の使用法が与えられた。

【0051】

A. 本発明の化合物

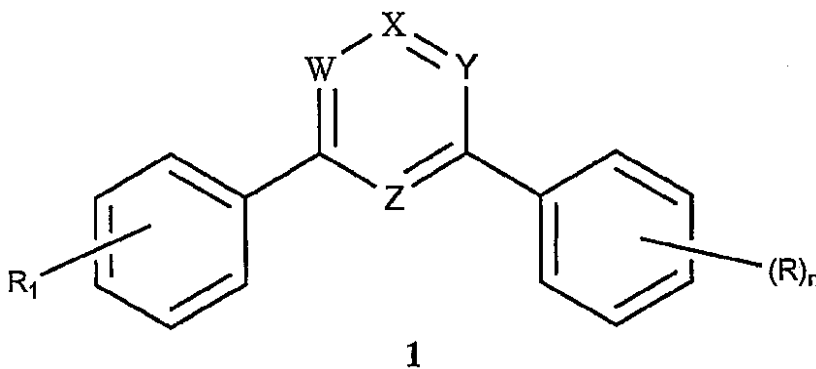
本発明の一つの態様では、ナンセンス変異の抑制に有用な本発明の化合物が提供された。ある実施形態においては、本発明の化合物は特異的にナンセンス変異を抑制し、また他の実施形態においては、本発明の化合物はナンセンス変異の抑制のみならず、疾患の治療にも寄与し、これらの疾患として、癌、リソソーム蓄積症、筋ジストロフィー、嚢胞性線維症や血友病などが含まれるがこれらに限定されない。

10

【0052】

ナンセンス変異抑制に本発明の好ましい化合物は、以下に示す式(1)を含む。

【化11】



20

【0053】

式中：

W, X, YおよびZはNまたはC - R<sub>a</sub>より独立して選択され、W, X, Y, またはZはNである、R<sub>a</sub>が水素またはC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基の場合；

nは0, 1, 2, または3であり；

30

R<sub>1</sub>は一つのシアノ基、一つまたは二つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、または一つのヒドロキシ基、一つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基、または一つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル基であり、

Rは、ヒドロキシ基、ハロゲン、一つまたはそれ以上の独立して選択されたハロゲンまたはヒドロキシ基で任意に置換されたC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、一つまたはそれ以上の独立して選択されるハロゲンまたはフェニル基で任意に置換されたC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ、一つまたはそれ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたC<sub>4</sub> - C<sub>8</sub>シクロアルキル、-R<sub>b</sub>基、-O-R<sub>b</sub>基、一つまたはそれ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、オキソ、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換された5から6員ヘテロ環、二つの環構造を有する9から10員ヘテロ環、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、またはC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ基で置換されたカルボニル、一つまたは二つのC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基で任意に置換されたカルバモイル基、ニトロ基、シアノ基、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換されたチオ、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換されたスルホニル、一つまたはそれ以上の独立して選択されるC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、スルホニル、またはカルボニル基で任意に置換されたアミノから独立して選択され、ここでアミノスルホニル基は、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換され、アミノカルボニル基はC<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルキル基、ベンゾオキシ基、または-R<sub>b</sub>基で任意に置換されたアミノ基から任意に置換された、またはベンゾ[1,3]ジオキソールまたは2,3-ジヒドロ-ベンゾ[1,4]ジオキシニル基に付随するフェニル環を有する二つのR基であり、-R<sub>b</sub>は

40

50

以下の一つまたはそれ以上で任意に置換された $C_6 - C_8$ アリアルである、体細胞突然変異により生じる疾患を治療または阻止する方法。

【0054】

ここで $R_b$ は一つの $C_6 - C_8$ アリアルであり、一つ以上の以下のものによって任意に置換された：一つのヒドロキシ基、一つのハロゲン基、一つの $C_1 - C_4$ アルキル基、一つの $C_1 - C_4$ ハロアルキル基、一つの $C_1 - C_4$ アルコキシ基、一つ以上の $C_1 - C_4$ アルキル基によって置換された一つのアミノ基；

または式1の当該化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶剤和物、包接体、ラセミ体、立体異性体、または多型体。

【0055】

他の好ましい式1の実施形態では、好ましいナンセンス変異の抑制で有用な本発明の化合物は、式(1)の化合物を含み、

ここで、Nは、0、1または2であり、

$R_1$ は、ヒドロキシル基で置換されたシアノ基、カルバモイル、またはカルボニル基であり、

Rは、ヒドロキシル基、ハロゲン、1つ以上の独立して選択されるハロゲンで任意に置換された $C_1 - C_4$ アルキル、1つ以上の独立して選択されるハロゲンで任意に置換された $C_1 - C_4$ アルコキシ、 $R_b$ 基、5から6員複素環、1または2つの独立して選択される $C_1 - C_4$ アルキルで任意に置換されたアミノから独立して選択されるか、または2つのR基およびそれらが結合するフェニル環とともに、 $R_b$ が $C_6 - C_8$ アリアルベンゾである、[1, 3]ジオキソールまたは2, 3ジヒドロベンゾ[1, 4]ジオキソニル基を形成するか、

または式1の当該化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶剤和物、包接体、ラセミ体、立体異性体、または多型体を含む。

【0056】

当業者によって理解されているように、ある本発明の化合物は少なくとも一つのキラル中心を含んでもよく、またそれ自体ラセミ混合物または鏡製像的に純粋な組成として存在してもよい。本明細書で用いられる“鏡製像的に純粋”とは、実質上単一の異性体を含む組成物を示しており、好ましくは90%、92%、95%、98%、99%または100%単一の異性体を含む。

【0057】

本明細書で用いられる“アルキル”とは、通常直鎖の飽和水酸カルボニル基、分枝または環状配置を示し、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、2-ブチル、3-ブチル、 $n$ -ペンチル、 $n$ -ヘキシル、シクロヘキシル、 $n$ -ヘプチル、オクチル、 $n$ -オクチルなどが含まれる。いくつかの実施形態において、アルキル置換基は、 $C_1$ から $C_8$ 、 $C_1$ から $C_6$ 、または $C_1$ から $C_4$ アルキル基でもよい。ある実施形態において、アルキル基は一つ以上のハロゲン基またはアルコキシ基によって任意に置換される。例えば、アルキル基はモノハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキルを含む、ハロアルキルであってもよい。

【0058】

本明細書で用いられるアルキレンとは、一つ以上の炭素-炭素の二重結合を有する直鎖、分枝、または環状のアルケン基を示しており、例えば3-プロペニルを含む $C_2$ から $C_6$ のアルキレン基などである。

【0059】

本明細書で用いられる“アリアル”とは炭素環式芳香環構造を示す。アリアル基の範囲に含まれるものとして、5から20個の炭素原子を有する芳香環がある。アリアル環構造は一つ以上の環状構造、例えば単環、二重環、三重環化合物を有する化合物を含む。アリアル基の例として、フェニル、トリル、アントラセニル、フルオレニル、インデニル、アズレニル、フェナントレニル(すなわちフェナントレン)、ナフチル(すなわちなフタレン)環状構造がある。ある実施形態において、アリアル基は任意に置換されてもよい。

10

20

30

40

50

## 【0060】

本明細書で用いられる“複素環”とは、一つ以上の原子を有する環構造を示し、ヘテロ原子は炭素以外の元素である。ヘテロ原子として典型的なものは、酸素、窒素、硫黄原子である。ヘテロ環に含まれる範囲の中で、さらに独立して選択可能なものは、酸素、窒素、硫黄複素環構造である。環構造は一つ以上の環構造、例えば単環、二重環、三重環を有する化合物を含んでもよく、また、芳香族であってもよい、すなわち環構造がヘテロアリアルであってもよい。複素環基の例として、モルフォリニル、ピロリジノリル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、などがある。ある実施形態において、複素環は任意に置換されてもよい。

## 【0061】

本明細書で用いられる“ヘテロアリアル”とは、一つまたはそれ以上の原子を有する芳香環構造を示し、ヘテロ原子は炭素以外の元素である。ヘテロ原子として典型的なものは、酸素、窒素、硫黄原子である。ヘテロアリアルに含まれる範囲の中で、さらに独立して選択可能なものは、酸素、窒素、硫黄ヘテロアリアル環構造である。環構造は一つまたはそれ以上の環状構造、例えば単環、二重環、三重環式化合物を有する化合物を含んでもよい。いくつかの実施形態において、ヘテロアリアル基は、二つまたはそれ以上、三つまたはそれ以上、四つまたはそれ以上のヘテロ原子をそれぞれ有するヘテロアリアル基の中から選択されるてもよい。ヘテロアリアル環構造は、五つまたはそれ以上の原子、六つまたはそれ以上の原子、八つまたはそれ以上の原子をそれぞれ有するヘテロアリアル環構造の中から選択されてもよい。好ましい実施形態において、ヘテロアリアルはは5から10個の原子を含んでいる。ヘテロアリアル環構造の例として、以下のものが含まれる：アクリジン、ベンズイミダゾール、ベンゾキサゾール、ベンゾフラン、1、3-ジアジン、1、2-ジアジン、1、2-ジアゾール、1,4-ジアザナフタレン、フラン、フラザン、イミダゾール、インドール、イソキサゾール、イソキノリン、イソチアゾール、オキサゾール、プリン、ピリダジン、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピロール、キノリン、キノキサリン、チアゾール、チオフェン、1、3、5-トリアジン、1、2、4-トリアジン、1、2、3-トリアジン、テトラゾール、キナゾリン。

## 【0062】

本明細書で用いられる“アルコキシ”とは、通常-O-R構造を有する基を示す。一定の実施形態においてRはアルキル基であることがある。例えば、C<sub>1</sub>からC<sub>8</sub>、C<sub>1</sub>からC<sub>6</sub>アルキル基、またはC<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>のアルキル基である。一定の実施形態において、アルコキシのR基は少なくとも一つのハロゲンによって任意に置換される。例えば、アルコキシのR基は、ハロアルキルであることがあり、すなわちハロアルコキシである。

## 【0063】

ハロゲン置換基はハロゲン類、例えばフッ素、塩素、臭素、ヨウ素、アスタチン、の中から独立して選択されることがある。

## 【0064】

本発明の解釈上、一つまたはそれ以上の官能基または置換基が組み込まれている場合、好ましい実施形態を含め、明らかにされた化合物の中の任意の位置に出現する官能基または置換基は、それぞれ独立して選択され、また必要に応じて置換される。さらに、より一般的な置換基がこれ以後分子の任意の位置に設定される場合には、一般的な置換基はより特異的な置換基によって置換されることがわかっており、結果として生じた分子は本発明の分子の範囲内にある。

## 【0065】

式1を参照すると、実施形態においては、Rは好ましくはメタ位、および/またはパラ位にあり、好ましくは一つのハロゲン、一つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>ハロアルキル、一つのC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシ、一つのハロアルコキシ、一つのアミノであり、これは一つまたはそれ以上のC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基、一つの-R<sub>b</sub>基、一つのピロリル基、一つのイミダゾリル基、または二つのR基によって任意に置換される。好ましいR基は、以下の表に示されるものを含む。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 6 6 】

式 1 の一実施形態では、R は、好ましくはハロゲン、 $C_1$   $C_4$  アルキル、 $C_1$   $C_4$  ハロアルキル、 $C_1$   $C_4$  アルコキシ、 $C_1$   $C_4$  ハロアルコキシ、1 つ以上の  $C_1$   $C_4$  アルキル基で任意に置換されたアミノ、 $R_b$  基、5 から 6 員複素環であるか、または 2 つの R 基およびそれらが結合するフェニル環とともに、ベンゾ [ 1 , 3 ] ジオキソール、または 2 , 3 -ジヒドロ ベンゾ [ 1 , 4 ] ジオキシニル基を形成する。

## 【 0 0 6 7 】

式 1 の一実施形態では、R は、ハロゲンである。他の式 1 の実施形態では、R は、フルオリン、塩素、または臭素である。

## 【 0 0 6 8 】

式 1 の一実施形態では、R は、5 から 6 員複素環である。他の式 1 の実施形態では、R は、1 つ以上の窒素を含む 5 員複素環である。式 1 の実施形態では、R は、1 つの窒素を含む 5 員複素環である。式 1 の実施形態では、R は、2 つの窒素を含む 5 員複素環である。式 1 の一実施形態では、R は、3 つの窒素を含む 5 員複素環である。式 1 の一実施形態では、R は、1 つの酸素を含む 5 員複素環である。式 1 の一実施形態では、R は、2 つの酸素を含む 5 員複素環である。式 1 の一実施形態では、R は、3 つの酸素を含む 5 員複素環である。さらなる式 1 の実施形態では、R は、1 つ以上の酸素および 1 つ以上の窒素を含む 5 員複素環である。

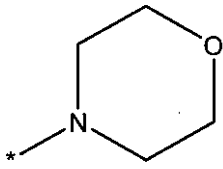
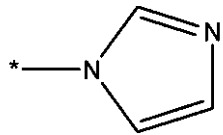
## 【 0 0 6 9 】

他の式 1 の実施形態では、R は、1 つ以上の窒素を含む 6 員複素環である。式 1 の実施形態では、R は、1 つの窒素を含む 6 員複素環である。式 1 の一実施形態では、R は、2 つの窒素を含む 6 員複素環である。式 1 の実施形態では、R は、3 つの窒素を含む 6 員複素環である。式 1 の実施形態では、R は、1 つの酸素を含む 6 員複素環である。式 1 の実施形態では、R は、2 つの酸素を含む 6 員複素環である。式 1 の一実施形態では、R は、3 つの酸素を含む 6 員複素環である。さらなる式 1 の実施形態では、R は、1 つ以上の酸素および 1 つ以上の窒素を含む 6 員複素環である。

## 【 0 0 7 0 】

式 1 の実施形態において、特に好ましい R 基は、下表に示したものを含む。

【表 1】

R		
	メチル	イソプロピル
t-ブチル	塩素	フッ素
臭素	-CF <sub>3</sub>	メトキシ
エトキシ	-O-CF <sub>3</sub>	アミノ
ジメチル-アミノ	フェニル	
		2 つの R 基およびそれらが結合するフェニル環とともに、2, 3 -ジヒドロ-ベンゾ [ 1 , 4 ] ジオキシニル基を形成する

## 【 0 0 7 1 】

式 1 の一実施形態では、n は 2 であり、R 基はともに同一の基である。

式 1 の一実施形態では、n は 3 であり、3 R 基はすべて同一の基である。

## 【 0 0 7 2 】

式 1 の他の実施形態では、R<sub>1</sub> は、好ましくはメタ位またはパラ位にあり、好ましくはシアノ、カルバモイルまたはヒドロキシル基、 $C_1$   $C_4$  アルキル、または  $C_1$   $C_4$  ア

10

20


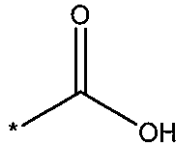
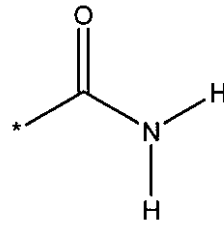
30

40

50

ルコキシ基で置換されたカルボニル基である。さらなる実施形態では、特に好ましい  $R_1$  基は、下表に示されるものを含む。

【表 2】

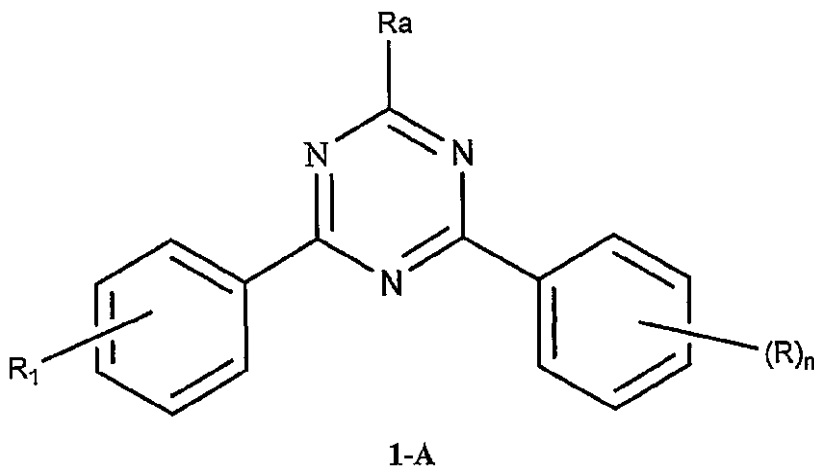
$R_1$		
		

10

【0073】

好ましい実施形態では、 $W$ 、 $Y$ 、および  $Z$  は、それぞれ  $N$  であり、 $X$  は  $C$   $R_a$  (式 1 A) である。

【化 1 2】



20

【0074】

一実施形態における式 1 - A を参照して、 $R_1$  は、好ましくはカルボキシ基、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式 1 A の他の好ましい実施形態では、 $R_a$  は水素である。式 1 A の他の好ましい実施形態では、 $R_1$  はメタ位またはパラ位にあるカルボキシ基であり、 $R_a$  は水素である。さらなる実施形態では、 $R_a$  は、好ましくは水素であり、 $n$  は、好ましくは 1 または 2 である。さらなる実施形態では、 $R_a$  は水素であり、 $n$  は 1 でありである。式 1 A の他の好ましい実施形態では、 $R_1$  は、メタ位またはパラ位にあるカルボキシ基であり、 $R_a$  は水素であり、 $n$  は 1 でありまたは 2 である。式 1 A の他の好ましい実施形態では、 $R_1$  は、メタ位またはパラ位にあるカルボキシ基であり、 $R_a$  は水素であり、 $n$  は 1 でありである。R は、好ましくは、ハロゲン、 $C_1$   $C_4$  アルキル、 $C_1$   $C_4$  ハロアルキル、または  $C_1$   $C_4$  アルコキシから独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、R は、メチル基、フルオリン基、メトキシ基、エトキシ基、およびトリフルオロメチル基から独立して選択される。

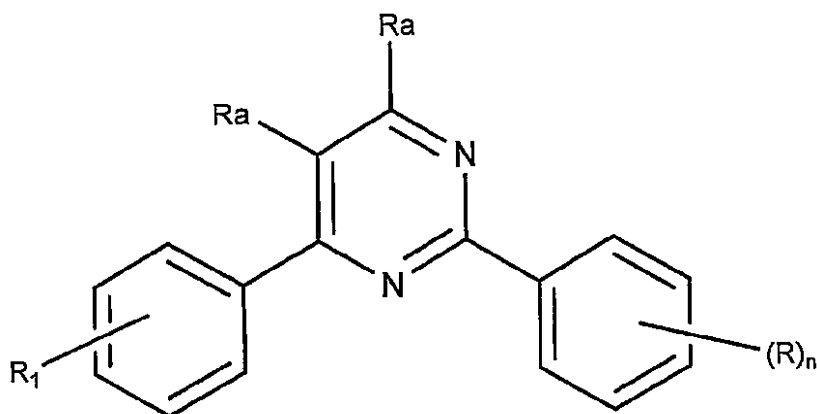
30

40

【0075】

他の好ましい実施形態では、 $Y$  および  $Z$  はともに  $N$  であり、 $W$  および  $X$  はともに  $C$   $R_a$  (式 1 B) である。

【化 1 3】



1-B

10

【 0 0 7 6】

式 1 Bを参照すると、好ましい実施形態では、R<sub>a</sub>は水素であり、nは0、1または2である。他の好ましい実施形態では、R<sub>a</sub>は水素であり、nは1でありまたは2である。式 1 Bのさらなる実施形態では、R<sub>a</sub>は水素であり、nは1でありである。

【 0 0 7 7】

式 1 Bの一実施形態では、Rは、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルコキシ、アミノ、またはピロリル基から独立して選択され、メタおよび/またはパラ位にあり、好ましくはパラ位にある。好ましい実施形態では、Rは、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルコキシ、およびアミノ基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。式 1 Bのさらなる実施形態では、R<sub>a</sub>は水素であり、nは1であり、Rは、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルコキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>ハロアルコキシ、およびアミノ基から独立して選択される。

20

【 0 0 7 8】

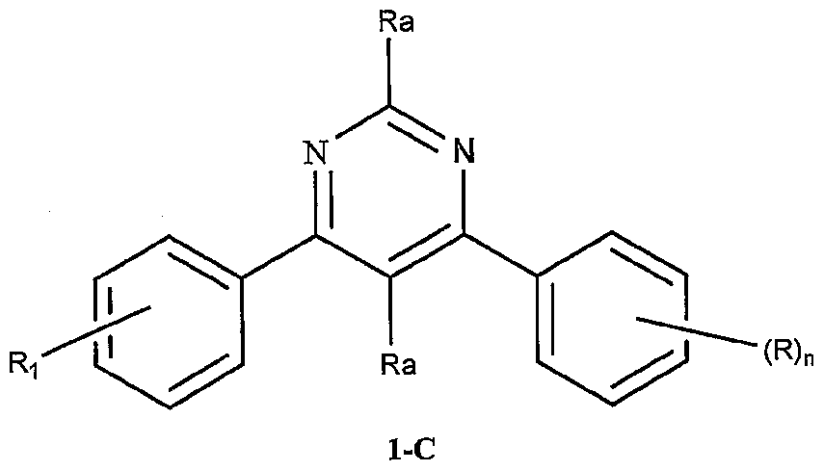
他の好ましい実施形態では、Rは、フルオリン、塩素、アミノ基、メチル基、イソプロピル基、t-ブチル基、メチル基、トリフルオロメチル基、メトキシ基、およびトリフルオロメトキシ基から独立して選択される。式 1 Bのさらなる実施形態では、R<sub>a</sub>は水素であり、nは1であり、Rは、フルオリン、塩素、アミノ基、メチル基、イソプロピル基、t-ブチル基、メチル基、トリフルオロメチル基、メトキシ基、およびトリフルオロメトキシ基から独立して選択される。

30

【 0 0 7 9】

さらに他の実施形態では、WおよびYはともにNであり、XおよびZはともにC - R<sub>a</sub> (式 1 C)である。

## 【化14】



10

## 【0080】

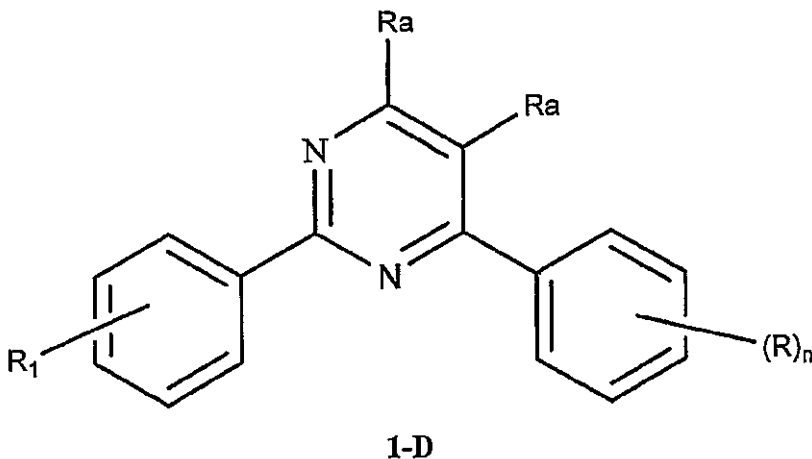
式1 Cを参照すると、一実施形態では、 $R_1$ は好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。さらなる式1 Cの実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は1でありまたは2である。式1 Cのさらなる実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は好ましくは1である。実施形態では、好ましくは $C_1$  -  $C_4$ アルキルであり、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。式1 Cの好ましい実施形態では、 $R$ はメチル基である。式1 Cの他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は好ましくは1であり、 $R$ は $C_1$  -  $C_4$ アルキルである。式1 Cの他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は好ましくは水素であり、 $n$ は好ましくは1であり、 $R$ はメチル基である。

20

## 【0081】

さらに他の実施形態では、 $W$ および $A$ はともに $N$ であり、 $X$ および $Y$ はともに $C - R_a$  (式1 D)である。

## 【化15】



30

## 【0082】

式1 Dを参照すると、好ましい実施形態では、 $R_1$ はカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。実施形態では、 $X$ は $C - CH_3$ であり、 $Y$ は $CH$ である。他の実施形態では、 $X$ は $CH$ であり、 $Y$ は $C - CH_3$ である。式1 Dの好ましい実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素または $C_1$  -  $C_4$ アルキルから独立して選択され、 $n$ は、好ましくは1または2である。式1 Dの他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素または $C_1$  -  $C_4$ アルキルから独立して選択され、 $n$ は、好ましくは1である。

40

## 【0083】

さらなる実施形態では、 $R_a$ は、水素またはメチルから独立して選択され、 $n$ は1であり

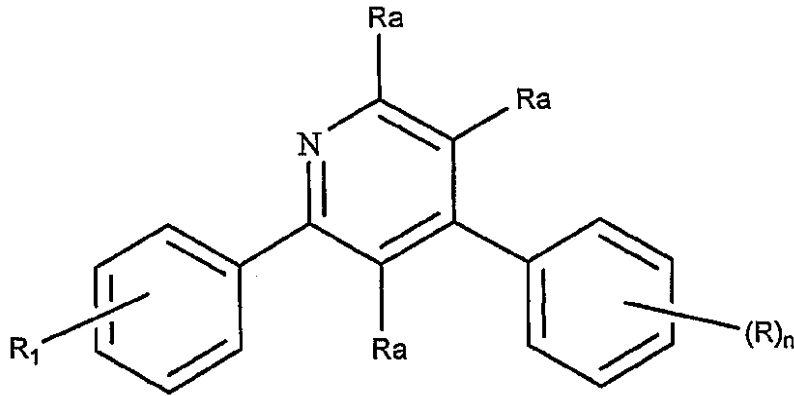
50

または2である。他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は、水素またはメチルから独立して選択され、 $n$ は1でありである。

【0084】

さらに他の実施形態では、 $W$ は $N$ であり、 $X$ 、 $Y$ 、および $Z$ はそれぞれ $C$   $R_a$  (式1 E)である。

【化16】



1-E

10

【0085】

式1 Eを参照すると、一実施形態では、 $R_1$ は、好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。さらなる実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は、好ましくは1または2である。好ましい実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は1でありである。式1 Eの実施形態では、 $R$ は、好ましくは $C_1$   $C_4$ アルキル基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。さらなる実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は、好ましくは1であり、 $R$ は、好ましくは $C_1$   $C_4$ アルキル基である。式1 Eの他の実施形態では、 $R$ は、好ましくはメチル基またはイソプロピル基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。さらなる実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は、好ましくは1であり、 $R$ は、好ましくはメチル基またはイソプロピル基である。

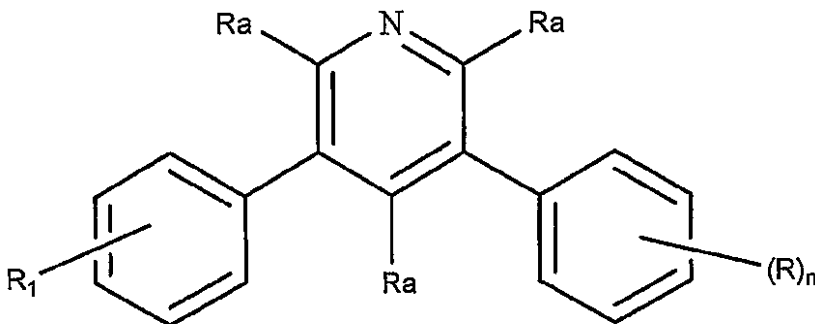
20

30

【0086】

さらに他の実施形態では、 $X$ は $N$ であり、 $X$ 、 $Y$ 、および $Z$ はそれぞれ $C$   $R_a$  (式1 F)である。

【化17】



1-F

40

【0087】

式1 Fを参照すると、一実施形態では、 $R_1$ は、好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式1 Fの他の実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は、好ましくは1または2である。式1 Fの好ましい実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は1でありである。他の好ましい実施形態では、 $R$ は、好ましくは $C_1$   $C_4$ アルキル基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり

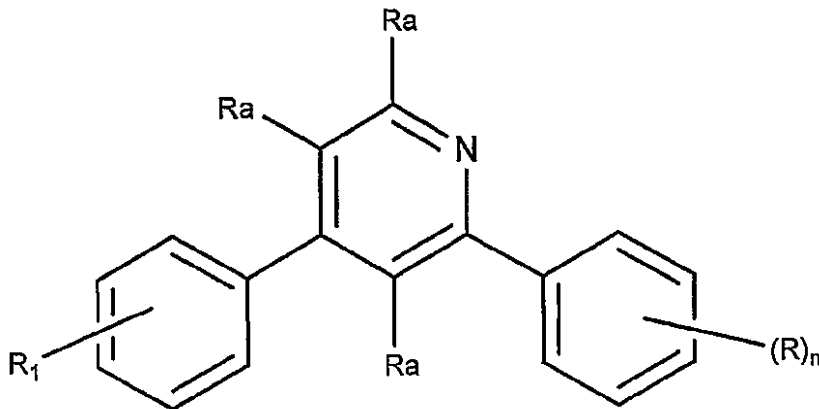
50

、さらに好ましくはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は1であり、 $R$ は $C_1$  -  $C_4$ アルキル基である。他の好ましい実施形態では、 $R$ はメチルおよびイソプロピル基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は1であり、 $R$ は、好ましくはメチルおよびイソプロピル基から選択される。

【0088】

さらに他の実施形態では、 $Y$ は $N$ であり、 $W$ 、 $X$ 、および $Z$ はそれぞれ $C$  -  $R_a$  (式1G)である。

【化18】



1-G

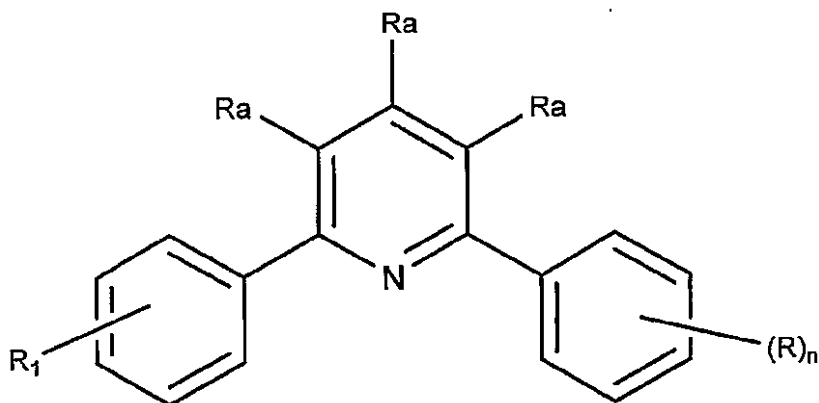
【0089】

式1Gを参照すると、好ましい実施形態では、 $R_1$ はカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は、好ましくは1または2である。さらなる実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素であり、 $n$ は、好ましくは1である。好ましい実施形態では、 $R$ は、好ましくは $C_1$  -  $C_4$ アルキル基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は1であり、 $R$ は $C_1$  -  $C_4$ アルキル基である。好ましい実施形態では、 $R$ は、好ましくはメチルまたはイソプロピル基から独立して選択され、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は1であり、 $R$ は、メチルまたはイソプロピル基である。

【0090】

さらに他の実施形態では、 $Z$ は $N$ であり、 $W$ 、 $X$ 、および $Y$ はそれぞれ $C$  -  $R_a$  (式1H)である。

【化19】



1-H

## 【0091】

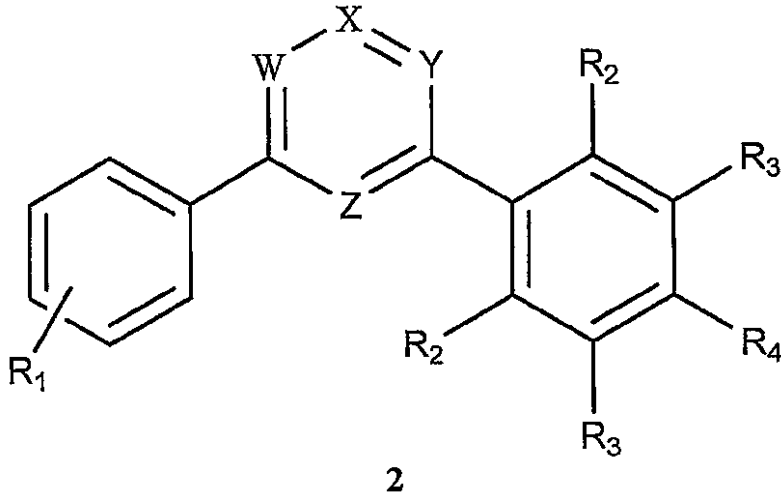
式1 Hを参照すると、好ましい実施形態では、 $R_1$ は、好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。さらなる実施形態では、 $R_a$ は水素であり、 $n$ は、好ましくは0または1である。好ましい実施形態では、 $n$ は1であり、 $R$ は $C_1$   $C_4$ アルキル基であり、 $R$ は、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。他の好ましい実施形態では、 $n$ は1であり、 $R$ はメチル基またはイソプロピル基であり、 $R$ は、好ましくはメタおよび/またはパラ位にあり、さらに好ましくはパラ位にある。

## 【0092】

他の実施形態では、本発明の好ましい化合物も式2の化合物、

## 【化20】

10



20

## 【0093】

式中、

$W$ 、 $X$ 、 $Y$ 、および $Z$ は、 $R_a$ が水素または $C_1$   $C_4$ アルキル基である、 $N$ または $C$   $R_a$ から独立して選択され、

$R_1$ は、シアノ基、1または2つの $C_1$   $C_4$ アルキル基で任意に置換されたカルバモイル、またはヒドロキシル基、 $C_1$   $C_4$ アルキル、または $C_1$   $C_4$ アルコキシ基で置換されたカルボニル基であり、

30

$R_2$ は、水素、ハロゲン、 $C_1$   $C_4$ アルキル基、または $C_1$   $C_4$ ハロアルキル基から独立して選択され、

$R_3$ および $R_4$ は、水素、ハロゲン、 $C_1$   $C_4$ アルキル、 $C_1$   $C_4$ ハロアルキル、 $C_1$   $C_4$ アルコキシ、 $C_1$   $C_4$ ハロアルコキシ、1つ以上の $C_1$   $C_4$ アルキル基で任意に置換されたアミノから独立して選択されるか、または2つの $R$ 基およびそれらが結合するフェニル環とともに、ベンゾ[1,3]ジオキソールまたは2,3ジヒドロベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成し、

ここで、 $R_b$ は、ヒドロキシル基、ハロゲン、 $C_1$   $C_4$ アルキル基、 $C_1$   $C_4$ ハロアルキル基、 $C_1$   $C_4$ アルコキシ基、または1つ以上の $C_1$   $C_4$ アルキル基で任意に置換されたアミノ基のうち1つ以上で任意に置換された $C_6$   $C_8$ アリーールである)

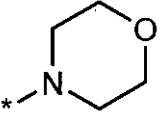
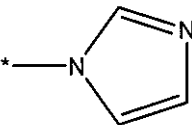
40

または式2の当該化合物の薬学的に許容しうる塩、水和物、溶剤和物、包接体、ラセミ体、立体異性体、または多型体を含む。

## 【0094】

式2を参照すると、 $R_1$ は、好ましくはシアノ基、カルバモイル基、またはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式2の一実施形態では、好ましい $R_2$ 、 $R_3$ 、および $R_4$ 基は、以下の表から独立して選択される。

【表 3】

R 2	R 3	R 4
水素	水素	水素
メチル	メチル	メチル
塩素	塩素	イソプロピル
フッ素	フッ素	t-ブチル
-CF <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	塩素
-OCF <sub>3</sub>	メトキシ	フッ素
	-O-CF <sub>3</sub>	臭素
	R <sub>4</sub> およびフェニル環とともに2, 3-ジヒドロベンゾ [1, 4] ジオキソニル基を形成する	R <sub>3</sub> およびフェニル環とともに2, 3-ジヒドロベンゾ [1, 4] ジオキソニル基を形成する
		-CF <sub>3</sub>
		メトキシ
		エトキシ
		-O-CF <sub>3</sub>
		アミノ
		ジメチル-アミノ
		フェニル
		
		

10

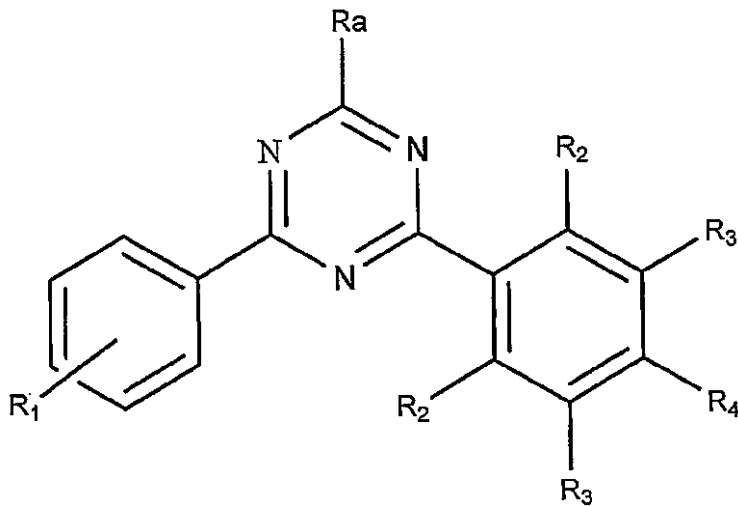
20

30

【0095】

式2の好ましい実施形態では、X、Y、およびZはそれぞれNであり、XはC R<sub>a</sub> (式2 A)である。

## 【化 2 1】



2-A

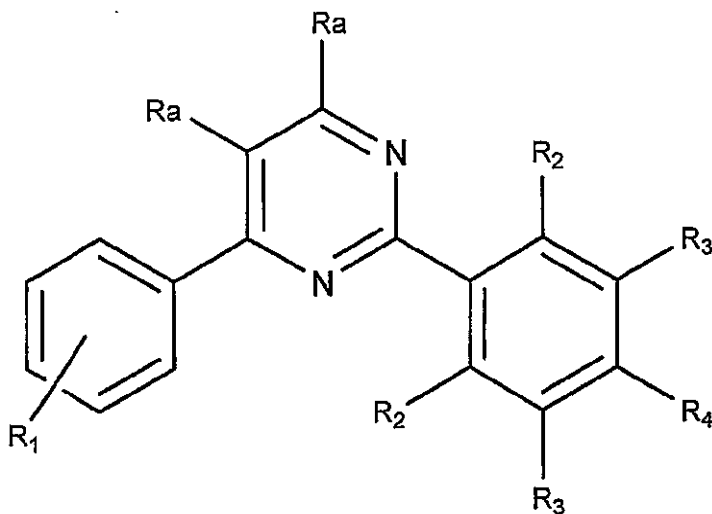
## 【 0 0 9 6】

式 2 A を参照すると、好ましい実施形態では、 $R_1$  は、好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式 2 A の他の好ましい実施形態では、 $R_a$  および  $R_2$  は、好ましくは水素である。式 2 A の好ましい実施形態では、 $R_3$  は、水素、ハロゲン、および  $C_1 - C_4$  アルコキシ基から独立して選択される。式 2 A の他の好ましい実施形態では、 $R_3$  は、水素、フルオリン、およびメトキシ基から独立して選択される。式 2 A の好ましい実施形態では、 $R_4$  は、水素、ハロゲン、 $C_1 - C_4$  アルキル、 $C_1 - C_4$  ハロアルキル、または  $C_1 - C_4$  アルコキシである。式 2 A の他の好ましい実施形態では、 $R_4$  は、フルオリン、メチル、トリフルオロメチル、メトキシまたはエトキシ基である。

## 【 0 0 9 7】

式 2 の他の好ましい実施形態では、 $Y$  および  $Z$  はともに  $N$  であり、 $W$  および  $X$  はともに  $C - R_a$  (式 2 B) である。

## 【化 2 2】



2-B.

## 【 0 0 9 8】

式 2 B を参照すると、好ましい実施形態では、 $R_1$  はカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。さらなる実施形態では、 $R_a$  は水素である。式 2 B の好ましい実施形態では、 $R_2$  は、水素、ハロゲン、 $C_1 - C_4$  アルキル、 $C_1 - C_4$  ハロアルキル、および  $C_1 - C_4$  ハロアルコキシから独立して選択される。式 2 B の他の好ま

10

20

30

40

50

しい実施形態では、 $R_2$  は、水素、フルオリン、塩素、メチル、トリフルオロメチルおよびトリフルオロメトキシ基から独立して選択される。

【0099】

式2 Bの一実施形態では、 $R_3$  は、好ましくは水素、ハロゲン、 $C_1$  -  $C_4$  アルコキシ、および  $C_1$  -  $C_4$  ハロアルコキシから独立して選択される。式2 Bの好ましい実施形態では、 $R_3$  は、水素、フルオリン、塩素、メトキシ、およびトリフルオロメトキシ基から独立して選択される。

【0100】

式2 Bの一実施形態では、 $R_4$  は、水素、ハロゲン、 $C_1$  -  $C_4$  アルキル、 $C_1$  -  $C_4$  ハロアルキル、 $C_1$  -  $C_4$  アルコキシ、 $C_1$  -  $C_4$  ハロアルコキシ、アミノ、またはピロリル基である。式2 Bの他の実施形態では、 $R_4$  は、好ましくは水素、ハロゲン、 $C_1$  -  $C_4$  アルキル、 $C_1$  -  $C_4$  ハロアルキル、 $C_1$  -  $C_4$  アルコキシ、 $C_1$  -  $C_4$  ハロアルコキシ、またはアミノ基である。式2 Bの好ましい実施形態では、 $R_4$  は、水素、フルオリン、塩素、メチル、イソプロピル、*t*-ブチル、トリフルオロメチル、メトキシ、トリフルオロメトキシ、またはアミノ基である。

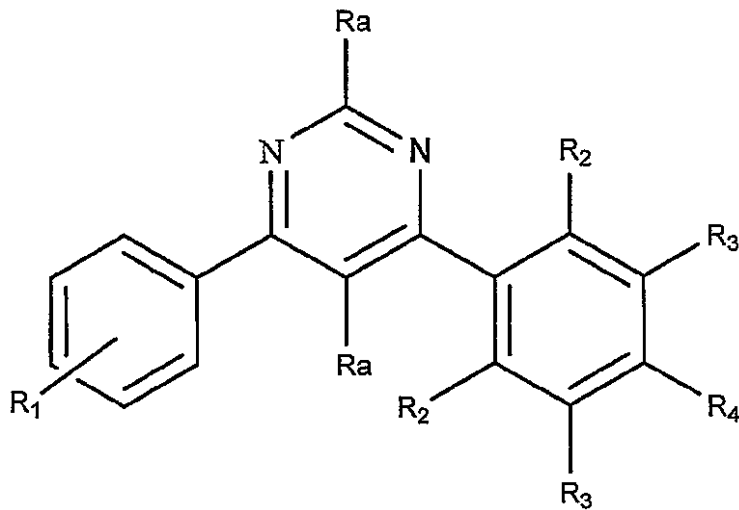
10

【0101】

式2のさらに他の実施形態では、 $W$  および  $Y$  はともに  $N$  であり、 $X$  および  $Z$  はともに  $C - R_a$  (式2 C) である。

【化23】

20



30

2-C

【0102】

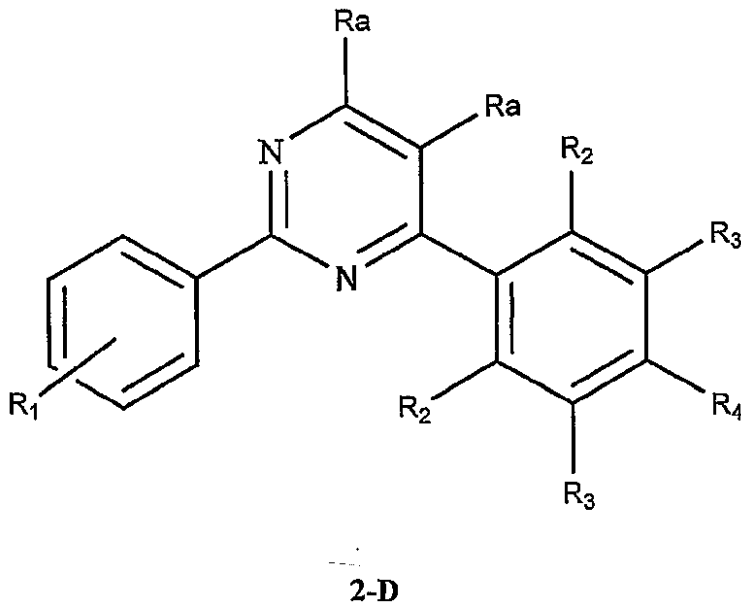
式2 Cを参照すると、好ましい実施形態では、 $R_1$  はカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式2 Cの好ましい実施形態では、 $R_a$  は水素である。式2 Cの他の好ましい実施形態では、 $R_3$  は、水素または  $C_1$  -  $C_4$  アルキルから独立して選択される。式2 Cのさらなる実施形態では、 $R_3$  は、水素またはメチル基から独立して選択される。式2 Cの他の好ましい実施形態では、 $R_4$  は水素または  $C_1$  -  $C_4$  アルキルである。式2 Cのさらなる実施形態では、 $R_4$  は水素またはメチル基である。

40

【0103】

式2のさらに他の実施形態では、 $W$  および  $A$  はともに  $N$  であり、 $X$  および  $Y$  はともに  $C - R_a$  (式2 D) である。

【化 2 4】



10

【0104】

式 2 Dを参照すると、一実施形態では、 $R_1$ は、好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式 2 Dの他の実施形態では、 $R_a$ は、好ましくは水素またはメチルから独立して選択される。実施形態では、 $X$ は $C-CH_3$ であり、 $Y$ は $CH$ である。他の実施形態では、 $X$ は $CH$ であり、 $Y$ は $C-CH_3$ である。

20

【0105】

式 2 Dの実施形態では、 $R_2$ は、好ましくは水素またはハロゲンから独立して選択される。式 2 Dの好ましい実施形態では、 $R_2$ は、水素またはフルオリンから独立して選択される。式 2 Dの実施形態では、 $R_3$ は、好ましくは水素、ハロゲン、 $C_1-C_4$ アルキル、 $C_1-C_4$ アルコキシ、 $C_1-C_4$ ハロアルコキシから独立して選択されるか、または $R_4$ および $R_3$ と $R_4$ が結合するフェニル環とともに、ベンゾ[1,3]ジオキサールまたは2,3ジヒドロベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成する。式 2 Dの他の実施形態では、 $R_3$ は、水素、ハロゲン、 $C_1-C_4$ アルコキシ基から独立して選択されるか、または $R_4$ および $R_3$ と $R_4$ が結合するフェニル環とともに、ベンゾ[1,3]ジオキサールまたは2,3ジヒドロベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成する。式 2 Dの好ましい実施形態では、 $R_3$ は、好ましくは水素、フルオリン、メチル基、トリフルオロメチル基、メトキシ基から独立して選択されるか、または $R_4$ および $R_3$ と $R_4$ が結合するフェニル環とともに、ベンゾ[1,3]ジオキサールまたは2,3ジヒドロベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成する。

30

【0106】

式 2 Dの一実施形態では、 $R_4$ は、好ましくは水素、ハロゲン、 $C_1-C_4$ アルキル、 $C_1-C_4$ ハロアルキル、 $C_1-C_4$ アルコキシ、 $C_1-C_4$ ハロアルコキシ、1または2つの $C_1-C_4$ アルキル基で任意に置換されたアミノ、 $R_b$ 基、イミダゾリル基、モルホリニル基であるか、または $R_3$ および $R_3$ と $R_4$ が結合するフェニル環とともに、ベンゾ[1,3]ジオキサールまたは2,3ジヒドロベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成する。式 2 Dの他の実施形態では、 $R_4$ は、好ましくは水素、ハロゲン、 $C_1-C_4$ アルキル、 $C_1-C_4$ ハロアルキル、 $C_1-C_4$ アルコキシ、 $C_1-C_4$ ハロアルコキシ、1または2つの $C_1-C_4$ アルキル基で任意に置換されたアミノ、 $R_b$ 基、イミダゾリル基であるか、または $R_3$ および $R_3$ と $R_4$ が結合するフェニル環とともに、ベンゾ[1,3]ジオキサールまたは2,3ジヒドロベンゾ[1,4]ジオキシニル基を形成する。式 2 Dの好ましい実施形態では、 $R_4$ は、フルオリン、臭素、メチル、イソプロピル、トリフルオロメチル、メトキシ、トリフルオロメトキシ、フェニル、イミダゾリル、モルホリニル、および2つのメチル基で置換されたアミノから選択される。

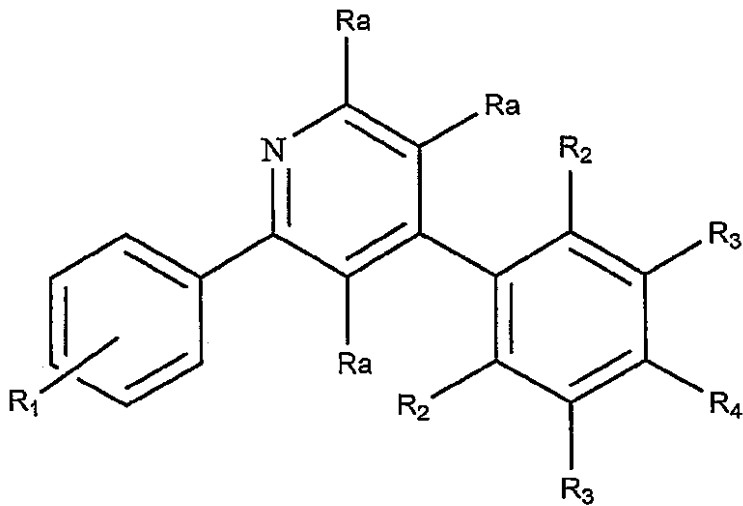
40

50

【 0 1 0 7 】

式 2 のさらに他の実施形態では、W は N であり、X、Y、および Z はそれぞれ C - R<sub>a</sub> (式 2 - E) である。

【 化 2 5 】



2-E

10

【 0 1 0 8 】

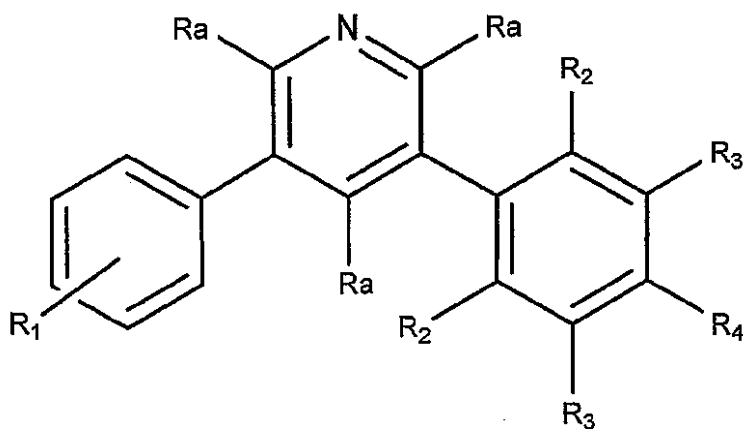
式 2 - E を参照すると、一実施形態において、R<sub>1</sub> は好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式 2 - E の他の実施形態において、R<sub>a</sub>、R<sub>2</sub>、および R<sub>3</sub> は好ましくは水素である。式 2 - E の好ましい実施形態において、R<sub>4</sub> は一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基である。式 2 - E の好ましい実施形態において、R<sub>4</sub> は一つのメトキシ基またはイソプロピル基である。

20

【 0 1 0 9 】

さらに式 2 の別な好ましい実施形態において、X が N で、W、Y、および Z がそれぞれ C - R<sub>a</sub> である (式 2 - F)。

【 化 2 6 】



2-F

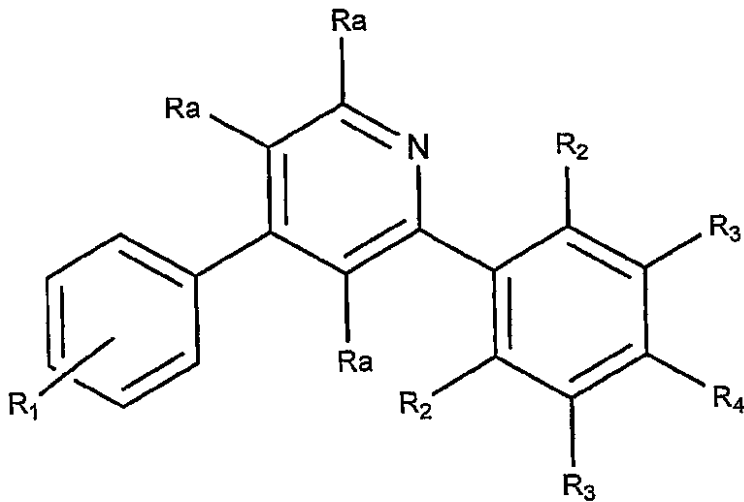
30

【 0 1 1 0 】

式 2 - F を参照すると、一実施形態において、R<sub>1</sub> は好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式 2 - E の好ましい実施形態において、R<sub>a</sub>、R<sub>2</sub>、そして R<sub>3</sub> は好ましくは水素である。式 2 - F の他の好ましい実施形態において、R<sub>4</sub> は一つの C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基である。式 2 - F の好ましい実施形態において、R<sub>4</sub> は一つのメトキシ基またはイソプロピル基である。さらに別な式 2 の実施形態において、Y が N で、W、Y、および Z がそれぞれ C - R<sub>a</sub> である (式 2 - G)。

40

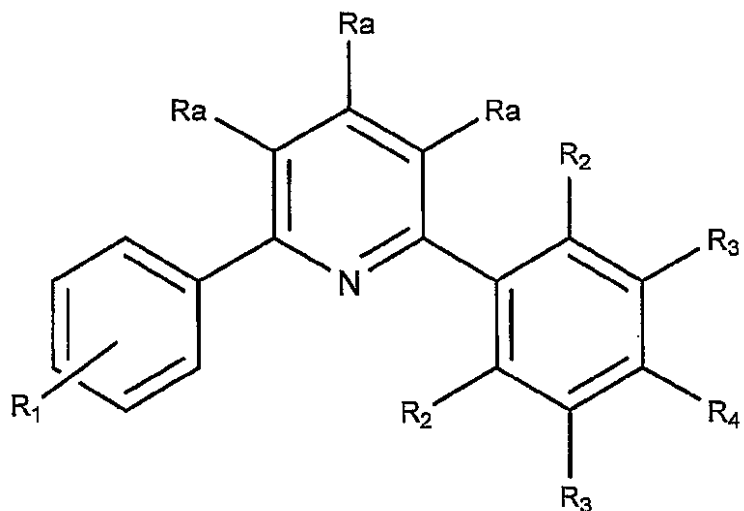
【化 2 7】



2-G

式 2 - G を参照すると、一実施形態において、 $R_1$  は好ましくはカルボキシ基であり、好ましくはメタ位またはパラ位にある。式 2 - G の好ましい実施形態において、 $R_a$ 、 $R_2$ 、そして  $R_3$  は好ましくは水素である。式 2 - G の他の好ましい実施形態において、 $R_4$  は一つの  $C_1 - C_4$  アルキル基である。式 2 - G の好ましい実施形態において、 $R_4$  は一つのメトキシ基またはイソプロピル基である。式 2 のさらに他の実施形態では、 $Z$  は  $N$  であり、 $W$ 、 $X$ 、および  $Y$  はそれぞれ  $C - R_a$  (式 2 - H) である。

【化 2 8】



2-H

【0111】

式 2 - H を参照すると、ある実施形態においては、 $R_1$  は、好ましくはカルボキシ基であり、また好ましくはメタ位またはパラ位にある。さらに、式 2 - H の好ましい実施形態では、 $R_a$ 、 $R_2$ 、および  $R_3$  は、好ましくは水素である。好ましい実施形態では、 $R_4$  は、水素または  $C_1 - C_4$  アルキル基である。他の好ましい実施形態では、 $R_4$  は、水素またはメチルまたはイソプロピル基である。さらなる実施形態では、 $R_4$  は水素である。他の好ましい実施形態では、 $R_4$  は、メチルまたはイソプロピル基である。

【0112】

好ましい本発明の化合物は、以下のものを含む：

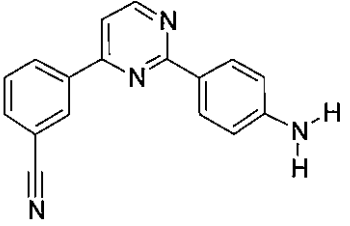
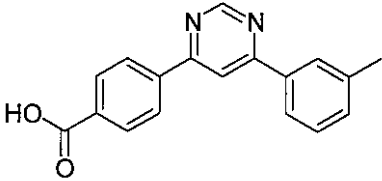
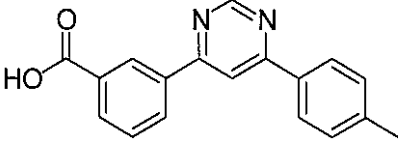
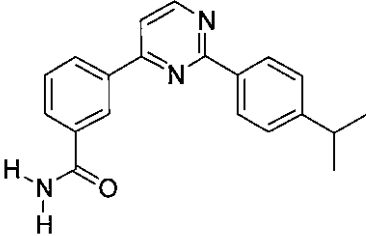
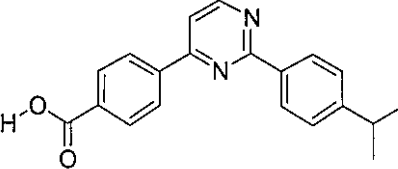
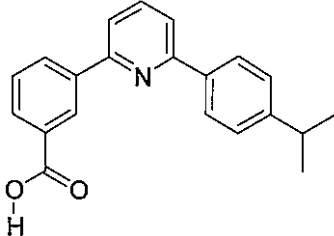
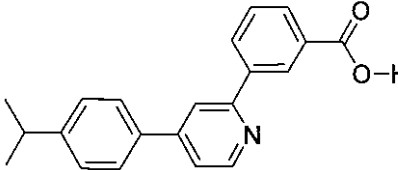
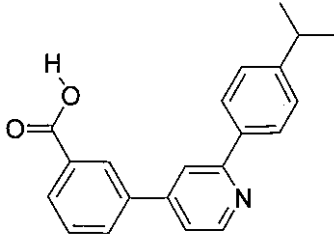
10

20

30

40

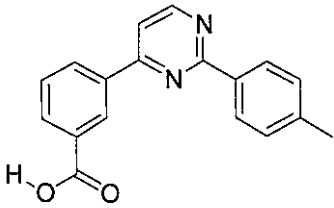
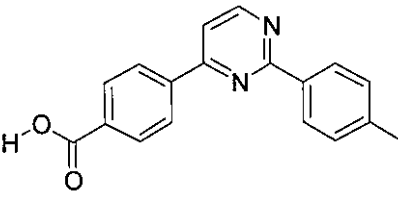
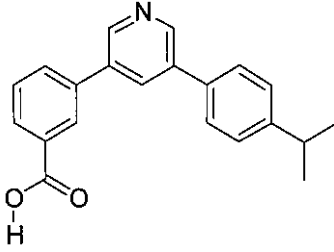
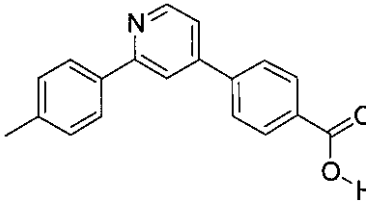
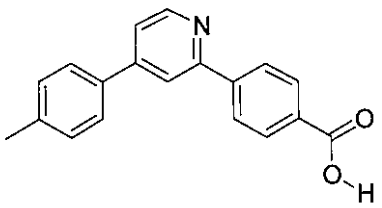
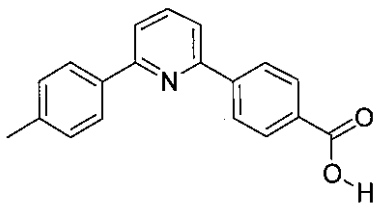
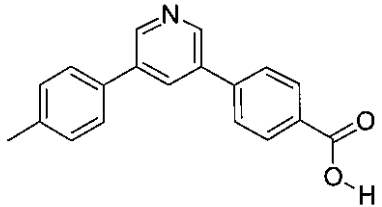
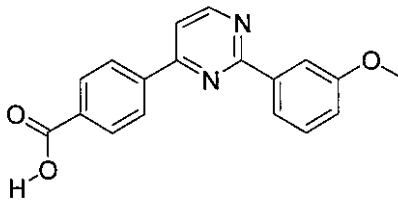
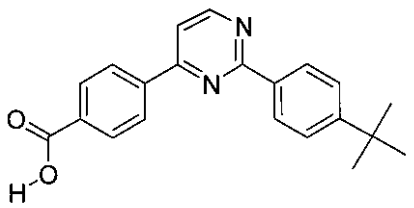
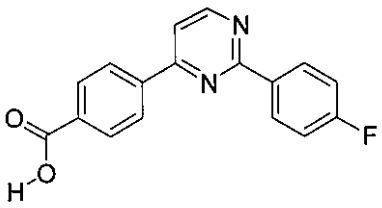
【表 4】

化合物	化合物
 1	 2
 3	 4
 5	 6
 7	 8

10

20

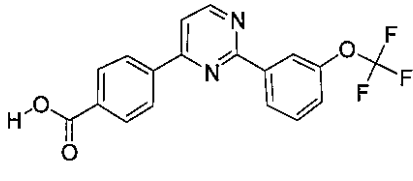
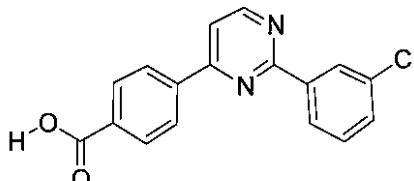
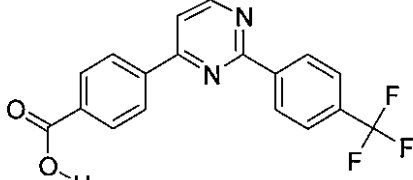
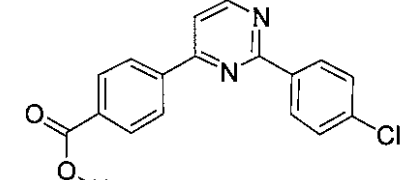
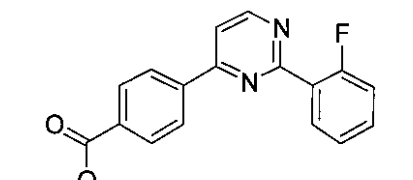
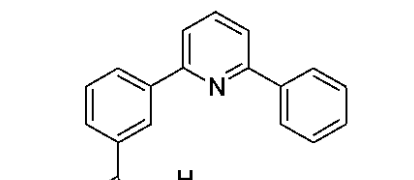
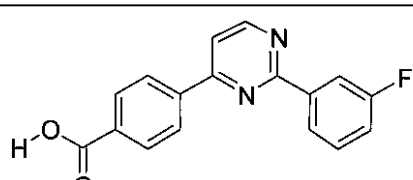
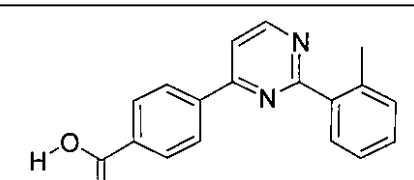
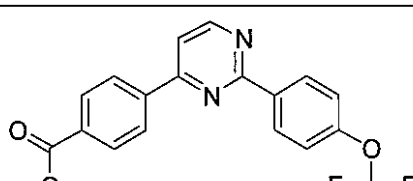
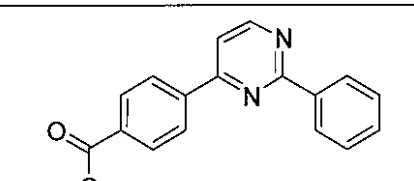
30

化合物	化合物
 <p>9</p>	 <p>10</p>
 <p>11</p>	 <p>12</p>
 <p>13</p>	 <p>14</p>
 <p>15</p>	 <p>16</p>
 <p>17</p>	 <p>18</p>

10

20

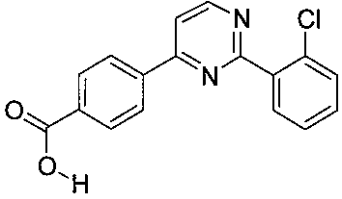
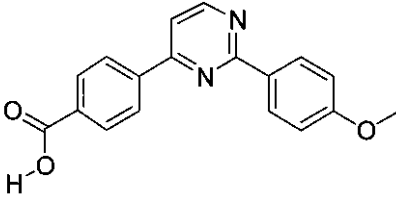
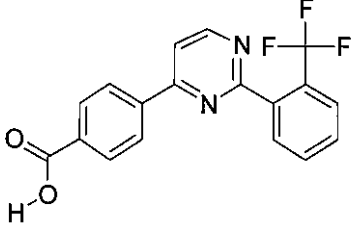
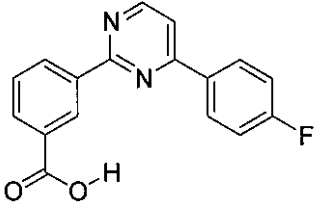
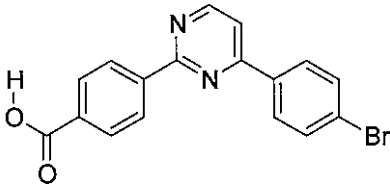
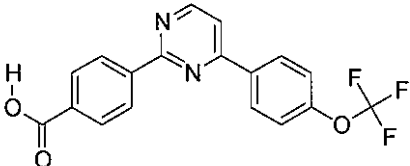
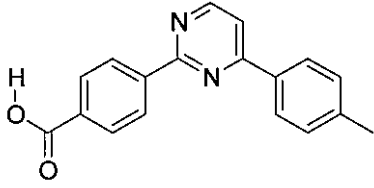
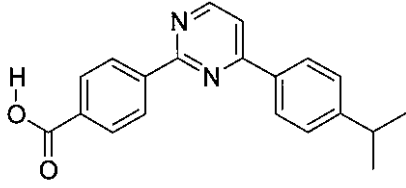
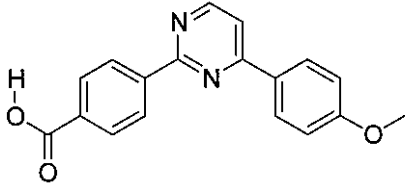
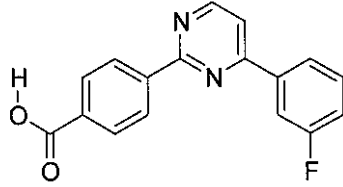
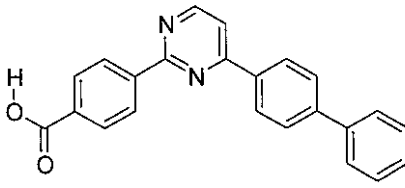
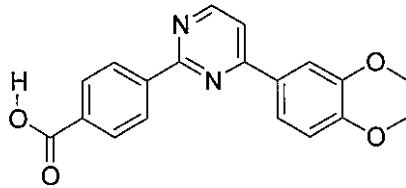
30

化合物	化合物
 <p>19</p>	 <p>20</p>
 <p>21</p>	 <p>22</p>
 <p>23</p>	 <p>24</p>
 <p>25</p>	 <p>26</p>
 <p>27</p>	 <p>28</p>

10

20

30

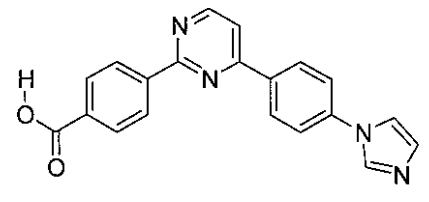
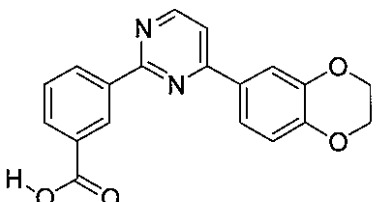
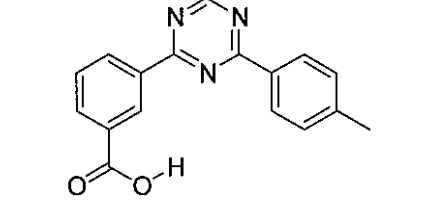
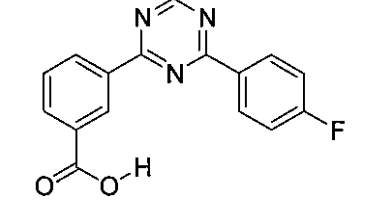
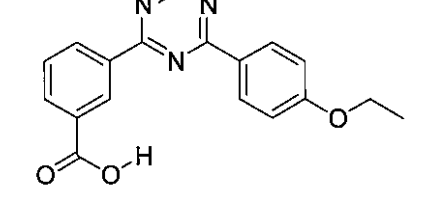
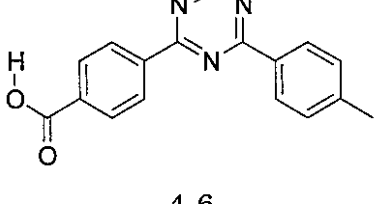
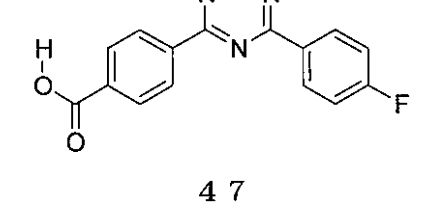
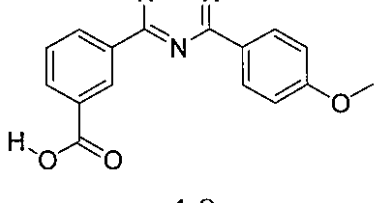
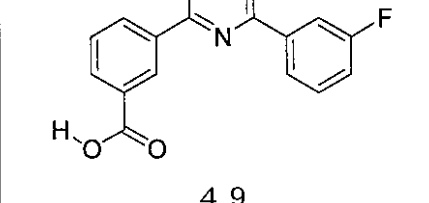
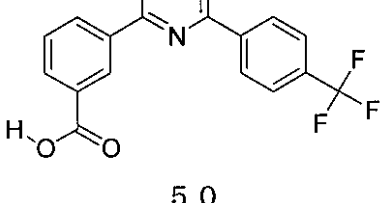
化合物	化合物
 <p>29</p>	 <p>30</p>
 <p>31</p>	 <p>32</p>
 <p>33</p>	 <p>34</p>
 <p>35</p>	 <p>36</p>
 <p>37</p>	 <p>38</p>
 <p>39</p>	 <p>40</p>

10

20

30

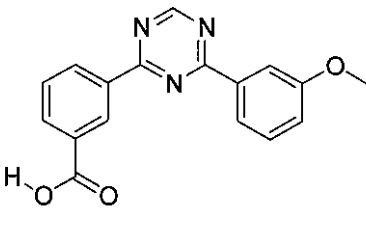
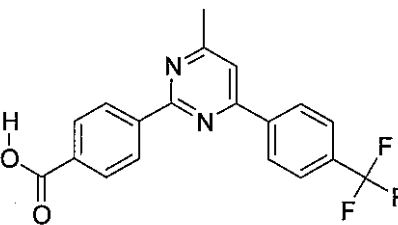
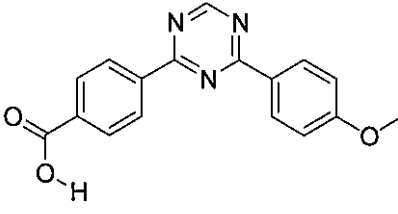
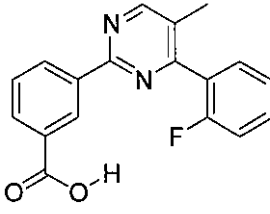
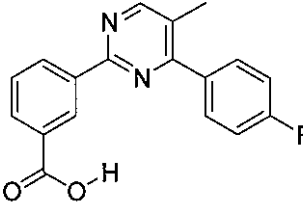
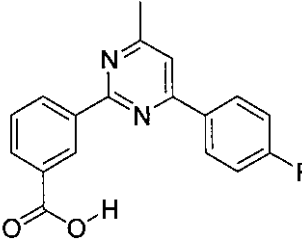
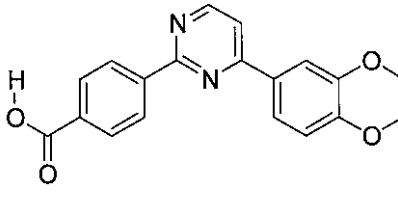
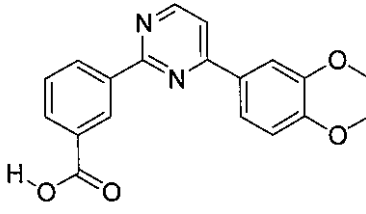
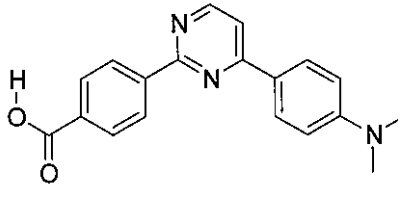
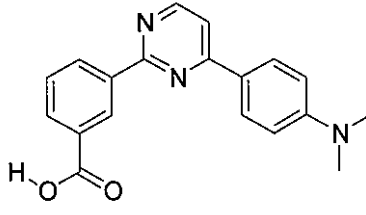
40

化合物	化合物
 4 1	 4 2
 4 3	 4 4
 4 5	 4 6
 4 7	 4 8
 4 9	 5 0

10

20

30

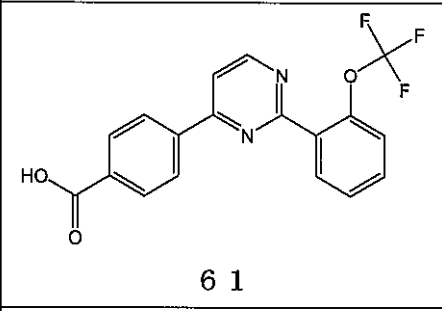
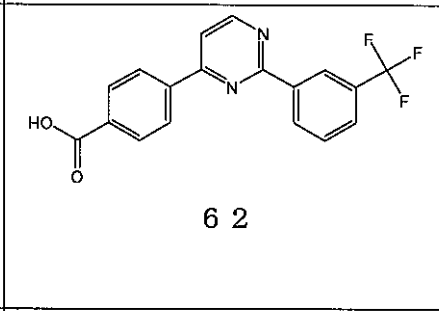
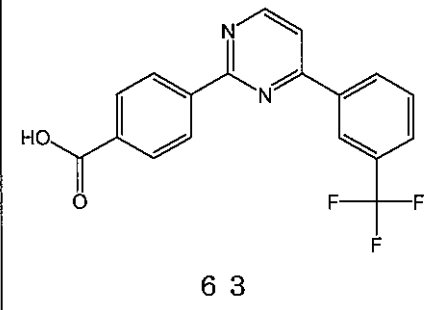
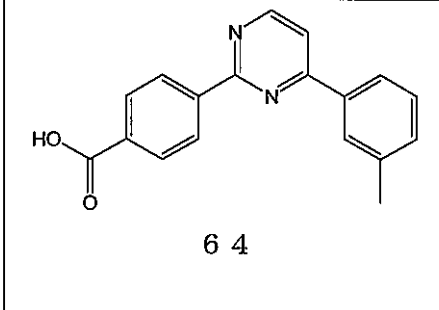
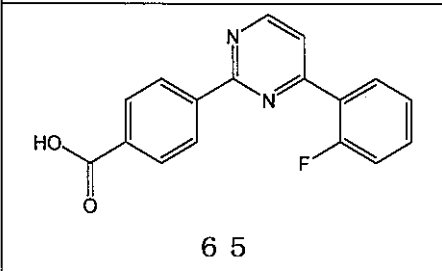
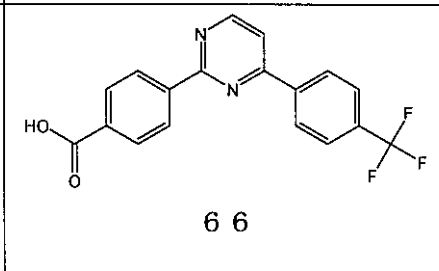
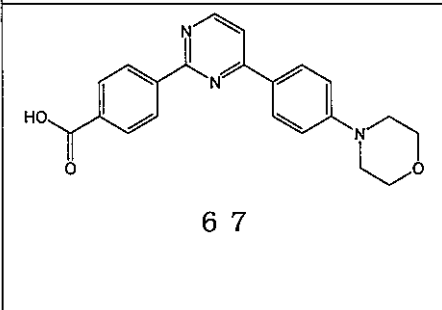
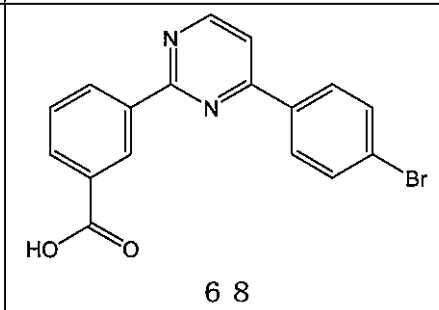
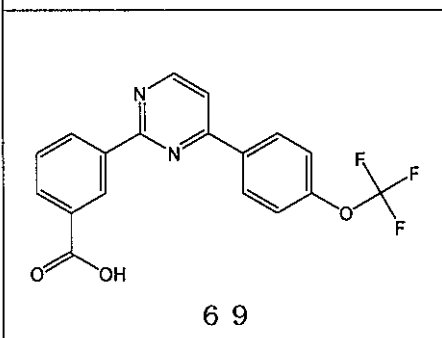
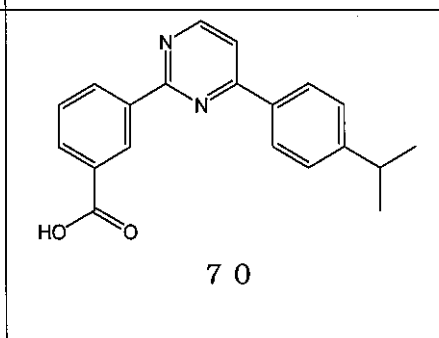
化合物	化合物
 <p>5 1</p>	 <p>5 2</p>
 <p>5 3</p>	 <p>5 4</p>
 <p>5 5</p>	 <p>5 6</p>
 <p>5 7</p>	 <p>5 8</p>
 <p>5 9</p>	 <p>6 0</p>

10

20

30

40

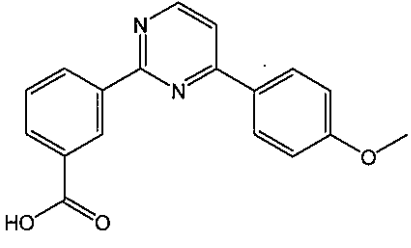
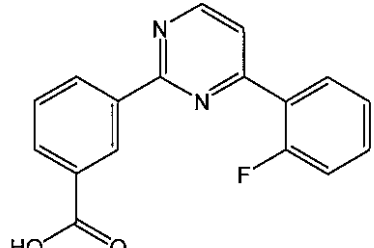
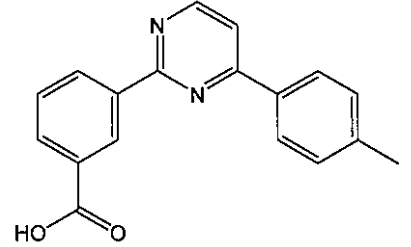
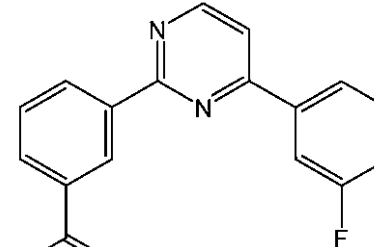
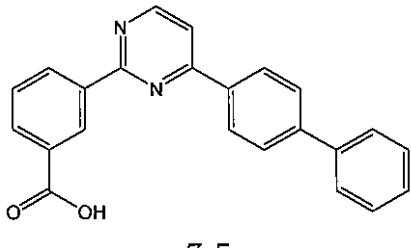
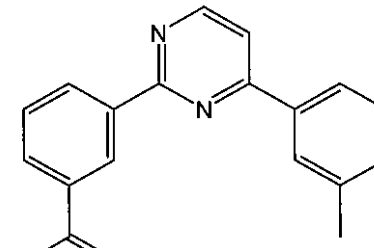
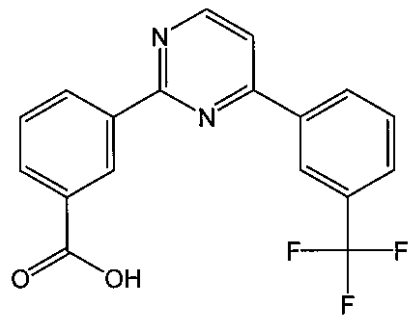
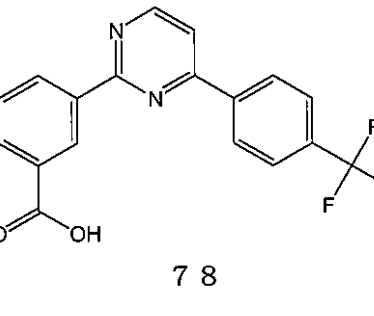
化合物	化合物
 <p>6 1</p>	 <p>6 2</p>
 <p>6 3</p>	 <p>6 4</p>
 <p>6 5</p>	 <p>6 6</p>
 <p>6 7</p>	 <p>6 8</p>
 <p>6 9</p>	 <p>7 0</p>

10

20

30

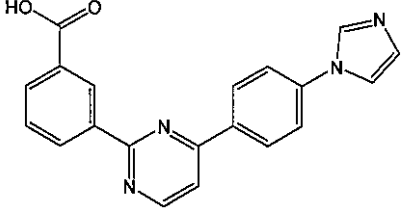
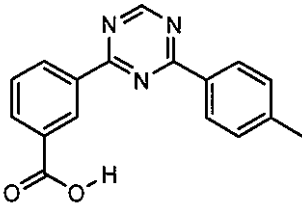
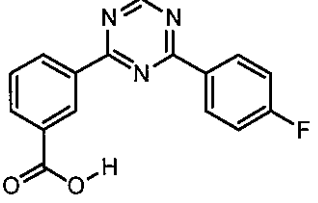
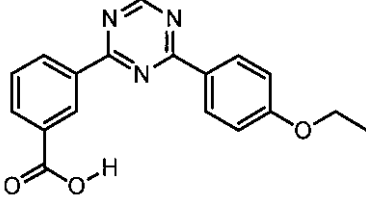
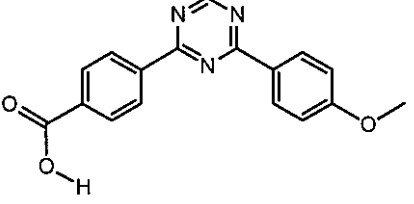
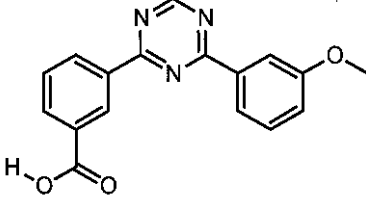
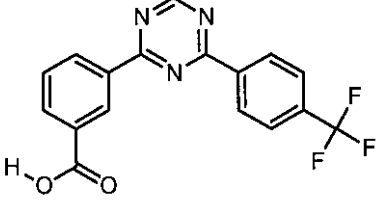
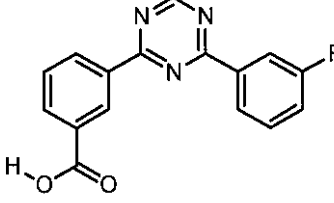
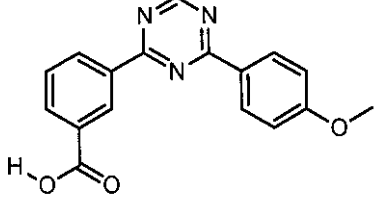
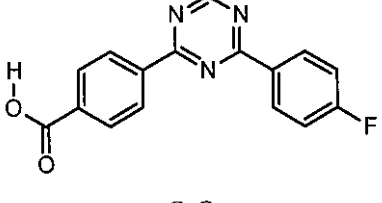
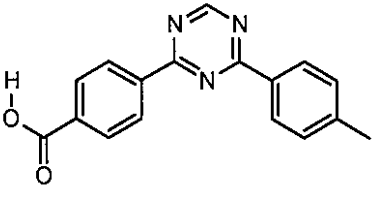
40

化合物	化合物
 <p>7 1</p>	 <p>7 2</p>
 <p>7 3</p>	 <p>7 4</p>
 <p>7 5</p>	 <p>7 6</p>
 <p>7 7</p>	 <p>7 8</p>

10

20

30

化合物	化合物
 <p style="text-align: center;">79</p>	 <p style="text-align: center;">80</p>
 <p style="text-align: center;">81</p>	 <p style="text-align: center;">82</p>
 <p style="text-align: center;">83</p>	 <p style="text-align: center;">84</p>
 <p style="text-align: center;">85</p>	 <p style="text-align: center;">86</p>
 <p style="text-align: center;">87</p>	 <p style="text-align: center;">88</p>
化合物	化合物
 <p style="text-align: center;">89</p>	

10

20

30

40

特に好ましい化合物の化合物番号は：10, 33, 35, 36, 37, 40, 42, 43, 56, 60, 63, 64, 65, 66, および71。

【0113】

50

上記実施形態 A において説明される方法は、本発明における以下の化合物の調合に使用されてもよい。当該の明細に基づいて、熟練した技術者は、ここで記述された方法に有用であると考えられる、本請求内に記載された発明の範囲内に含まれるよう意図された他の化合物を理解するであろう。

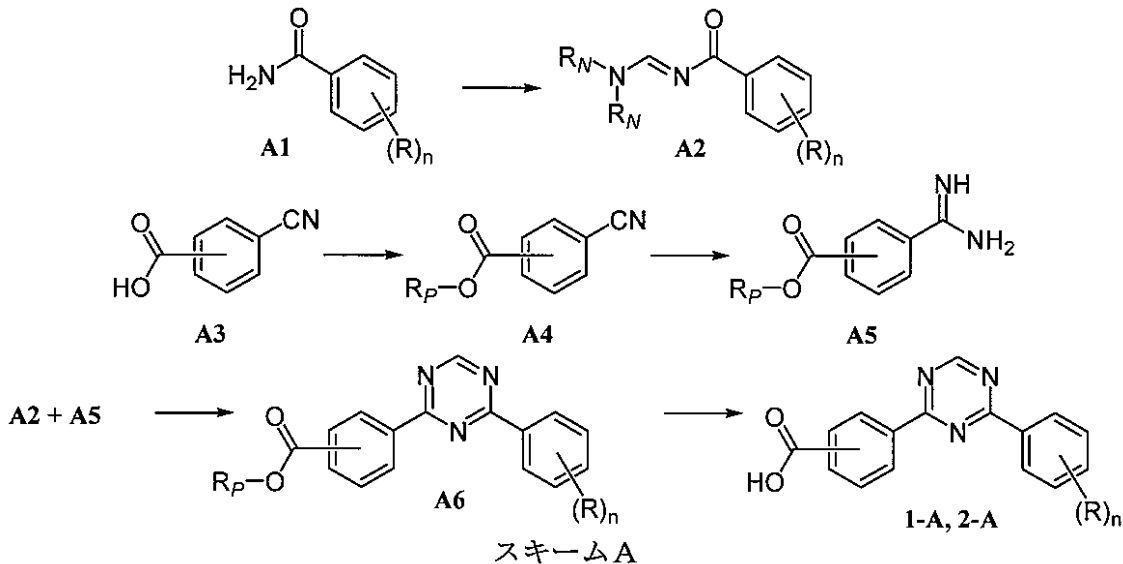
【0114】

#### B. 本発明の化合物の調製

本発明の化合物は、当業者に既知のいかなる方法でも産生できる。例として、本発明の化合物は個々のアジン環コア構造を参照して、以下の普遍的なスキームに従い調合されてもよい。例えば、式 1 A および 2 A のトリアジン化合物は、スキーム A に示される方法で調製されてよい。

10

【化 2 9】



20

【0115】

スキーム A に従って、式 A 1 のベンズアミド基質は、 $R_N$  はが通常、小さいアルキルであるか、 $R_N$  基とともに、5 または 6 員環（例えば、ピロリジン、ピペラジン、モルフォリンなど）を形成し、O アルキルが、メトキシまたはエトキシなどの小さいアルコキシ基である、式  $(R_N)_2 NCH(O \text{ アルキル})_2$  の試薬で処理される。この縮合反応は、無水のホルムアミドアセタール試薬または、エタノールまたは酢酸などの高い沸点を持つ溶剤のいずれかにおいて行われ、式 A 2 のベンゾイルホルムアミジン生成物を得てよい。

30

【0116】

別の反応では、式 A 3 のシアノ安息香酸試薬は、式 A 4 のエステル化合物に変換されてよい。基  $R_p$  は、アルキル基、直鎖または分枝鎖を意味する。かかるエステル化反応は、当業者に周知であり、これらに限定されないが、a) ベンゾイル塩化物に変換し、塩基の存在下で式  $R_p OH$  の対応するアルコール試薬で処理する、b) カルボジイミドなどで *in situ* 活性化する、c) ホスフィン化合物およびジアゾカルボン酸塩試薬を使用する光延条件の使用を含む。 $R_p$  は、上記で記述したように、好ましくはできるだけ大きく、*t*-ブチルであってよく、

40

イソブチレンとの酸触媒反応、またはベンゾイル塩化物での *t*-ブタノールの縮合によって結合してよい。他の実施形態では、固相は、中間体の精製において援助するかもしれない  $R_p$  として使用されてよい。Wang 樹脂、Janda 樹脂などを含む、組み合わせ合成化学において共通する固相は、使用されてよい。

【0117】

A 4 の化合物におけるニトリル基は、その後、アミジン基に変換され、式 A 5 の化合物が得られてよい。この変換は、氷点下から還流の範囲の温度で、テトラヒドロフランまたは 1, 4 ジオキサンなどのプロトン性溶剤において、リチウム、ナトリウムまたはカリウムヘキサメチルジシラザンなどの試薬で処理することによって成し遂げられてよい。水

50

性精密検査および中和は、その後、シリコン基の除去およびアミジン生成物の生産に使用されてよい。他のかかる変換は、ニトリル基の酸触媒アミノ化を含んでよい。

【0118】

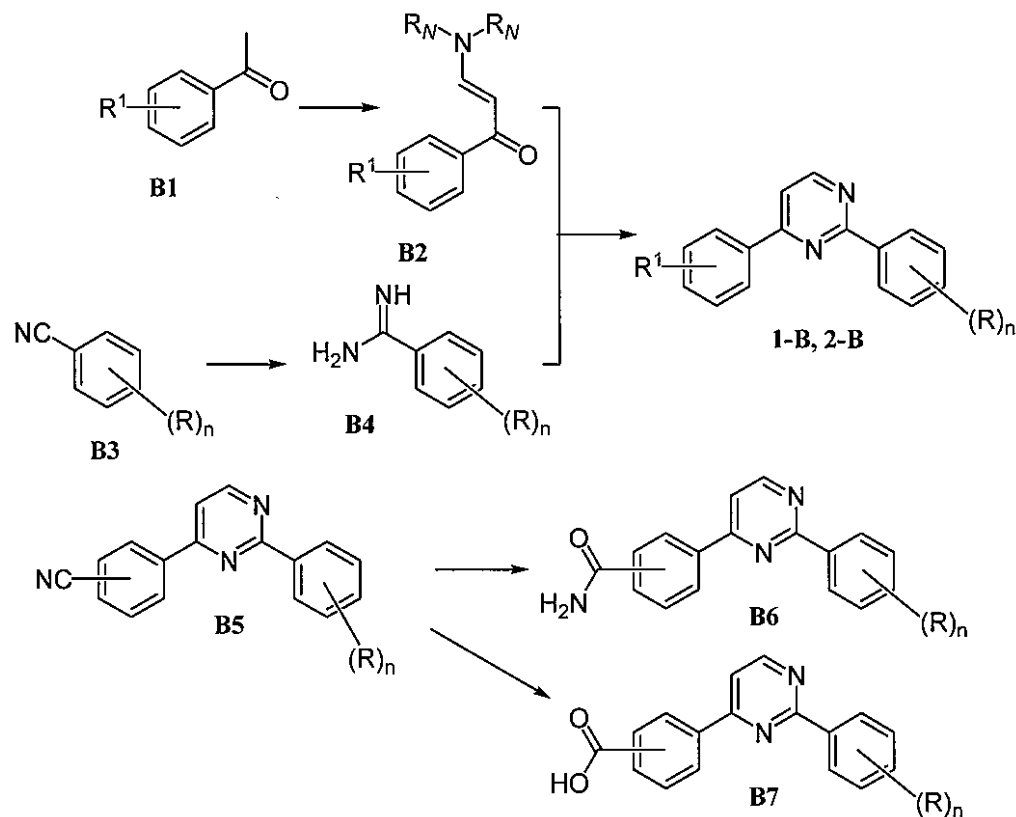
式 A 2 および A 5 の化合物は、その後、式 A 6 の化合物におけるトリアジン環に対して環縮合を行うことができよう。この反応は、酢酸、グリムなどの高い沸点を持つ溶剤において酸触媒されてよい。反応は、マイクロ波反応器を使用して、加速されてもよい。合成の最終段階は、通常、必要に応じて、式 A 6 の化合物におけるカルボキシレート基の脱保護を含む。立体的に込み合っていない  $R_p$  基に対して、これは、好ましくは、通常、大気から高温の少量の水の存在下で、エタノール、THF などの溶剤において、水酸化物塩（リチウム水酸化物または水酸化ナトリウムなど）で処理されることによって成し遂げられる。小さい  $R_p$  基（特にメチル）は、ジメチルスルホキシドまたはピリジンなどの極性溶剤における、リチウムヨウ化物などの求核剤によって除去されてよい。最終的に、 $t$ -ブチルなどの、酸に不安定な  $R_p$  基は、以前の反応（例えば、A 6 を得るため）の条件の下で切断され、必要ならば、強い酸性条件で、直接カルボン酸を得てよい。

10

【0119】

ピリミジンの合成（式 1 B および 2 B）で使用された一般的な方法をスキーム B に示す。

【化 30】



20

30

40

【0120】

式 B 1 のアセトフェノン基質は、変換 A 1 から A 2 と同様の方法で、ホルムアミドアセタール試薬と反応させ、式 B 2 の生成物を得てよい。別の反応では、式 B 3 のベンゾニトリル化合物は、A 4 から A 5 の変換に類似する方法で、式 B 4 のアミジンに変換されてよい。式 B 2 および B 4 の化合物の縮合反応は、その後、式 1 B または 2 B のピリミジン生成物を生産してよい。この反応は、高温で極性溶剤（エタノールまたは 1,4-ジオキサンなど）において塩基（水酸化ナトリウムまたはナトリウムエトキシド）の存在下で行われてよい。 $R_1$  基の相互交換は可能であり、式 B 5 のニトリル化合物の反応によって裏付けられる。ニトリルは、強い酸性水溶液（塩化水素系または硫黄系）を使用してカルボキサミドに加水分解し、式 B 6 の化合物を得てよい。同様に、基本の条件（例えば、水

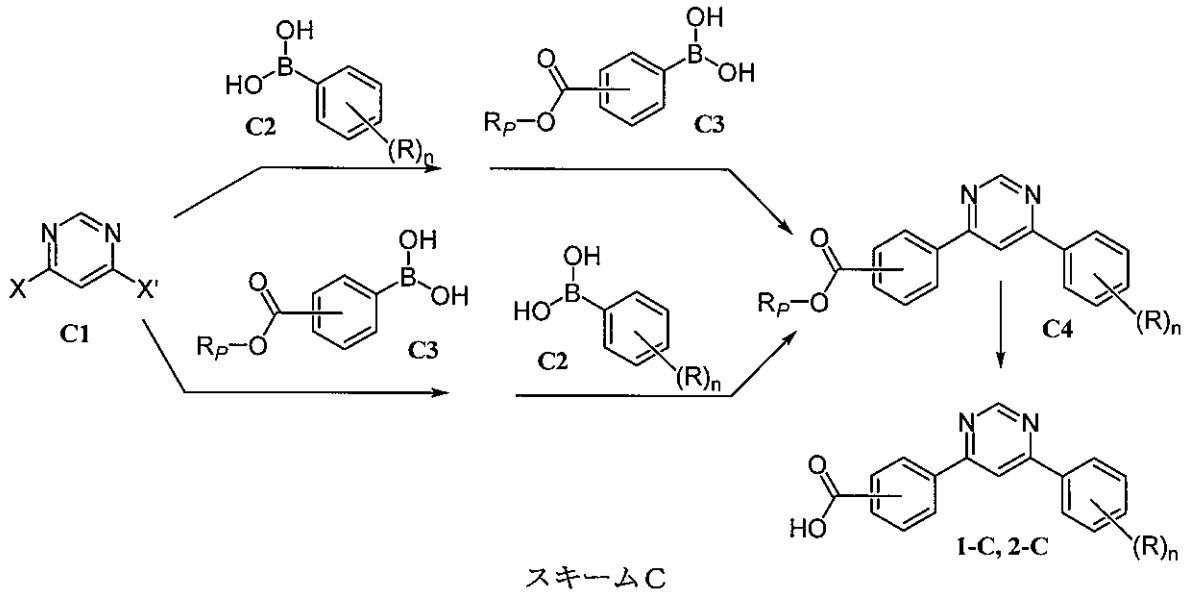
50

酸化ナトリウム)を使用して、式 B 7 の生成物におけるカルボキシ基にニトリル基を加水分解してよい。

【0121】

式 1 C および 2 C の 4, 6 ジアリアルピリミジンの合成において使用される一般的な方法を、以下のスキーム C に示す。

【化 3 1】



10

20

【0122】

式 C 1 の 4, 6 ジハロピリミジンは、X が、クロロ、ブロモ、ヨウ素またはトリフルオロメタンスルホニルなどのアリアルクロスカップリング反応において変位可能な基を意味する、2つのアリアル基(式 C 2 および C 3)のボロン酸誘導体との逐次的な鈴木反応で使用されてよい。変換全体の選択性を改善するために、基質を異なるハロゲン(例えば、X X')とともに使用することが必要かもしれない。他の方法は、例えば、ハロゲンによる変位の前に行われるジアゾ化によってハロゲンに変換することができるアリアルアミノ基など、潜在性ハロゲンである X' 基の使用を含んでよい。式 C 2 または C 3 の化合物が市販の供給源から入手できない場合、それらは、トリメチルホウ酸塩またはトリイソプロピルホウ酸塩などの、ホウ素の源で急冷する前に行われる金属ハロゲン交換(リチウム、マグネシウム、亜鉛などでのブロモまたはヨウ素の金属ハロゲン交換)によって、調製されてよい。

30

【0123】

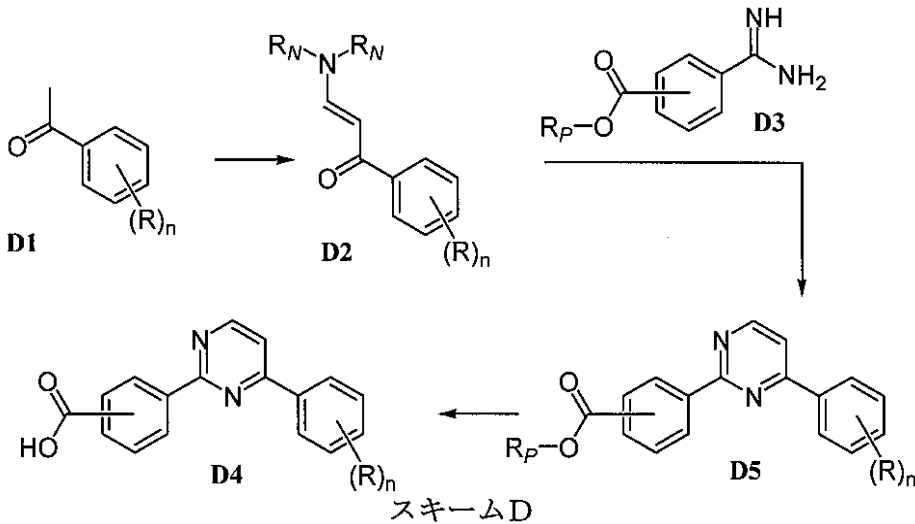
クロスカップリング反応は、任意にトリフェニルホスフィン、BINAPなどのホスフィンリガンドを添加して、テトラキス(トリフェニルホスフィン)、酢酸パラジウムまたはビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム二塩化物などの化合物によって触媒されてよい。反応は、炭酸ナトリウム、カリウム三リン酸塩またはセシウムフッ化物などの塩基の存在も必要としてよい。鈴木クロスカップリング反応に対する適切な溶剤は、エタノール、トルエン、1,4ジオキサンまたはグリムを含み、反応は、選択的に酸素の非存在下で進むため、溶剤は、好ましくは脱気されてよい。中間体のモノ結合した化合物の分離は、最終生成物精製に関して有利であるかもしれない。また、カルボン酸塩保護基は、必要に応じて、最終段階で除去され、式 1 C および 2 C の最終生成物を得てよい。

40

【0124】

スキーム B に関連して記述された一般的な方法は、以下のスキーム D に示されるように、式 1 D および 2 D の逆転ピリミジン位置異性体に適用されてよい。

## 【化 3 2】



10

## 【0125】

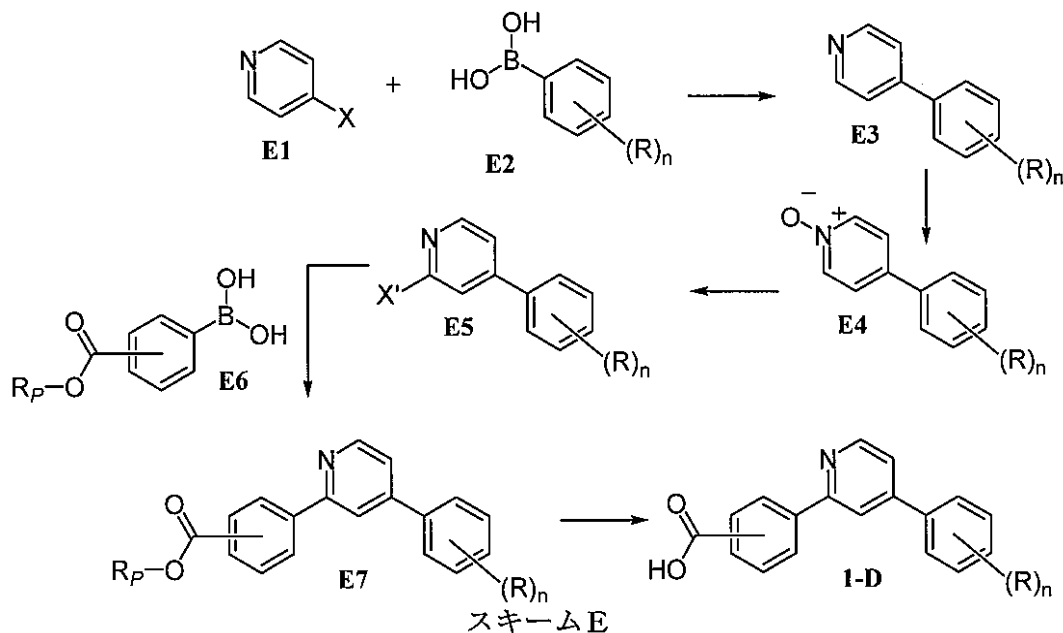
式 D 1 のアセトフェノンは、式 D 4 のピリミジンを生産するために式 D 3 (その合成は上記で記載されている) のアミジン試薬で、その後、凝縮されてよい、式 D 2 のアミノアクリロイル化合物を調製するために使用されてよい。従来のように、保護されたカルボン酸塩は、その後、式 1 D および 2 D の化合物において、必要に応じて、遊離カルボキシレート基を遊離するために使用されてよい。

20

## 【0126】

上記のスキーム C と同様のアリールクロスカップリング法は、式 1 E および 2 E のピリジン化合物を調製するために使用されてよい (以下のスキーム E 参照)。

## 【化 3 3】



30

40

## 【0127】

式 E 1 のピリジン試薬は、X が、クロロ、ブロモ、ヨウ素またはトリフルオロメタンスルホニルなどの、アリールクロスカップリング反応において変位可能な基を意味する、出発物質としてよい。カップリング反応は、式 E 2 のボロン酸などの試薬と行われてよい。式 E 2 の化合物が市販の供給源から入手できない場合、それらは、トリメチルホウ酸塩またはトリイソプロピルホウ酸塩などの、ホウ素の源で急冷する前に行われる金属ハロゲン交換 (リチウム、マグネシウム、亜鉛などでのブロモまたはヨウ素の金属ハロゲン交換) によって、調製されてよい。クロスカップリング反応は、任意にトリフェニルホスフ

50

イン、BINAPなどのホスフィンリガンドを添加して、テトラキス(トリフェニルホスフィン)、酢酸パラジウムまたはビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム二塩化物などの化合物によって触媒されてよい。反応は、炭酸ナトリウム、カリウム三リン酸塩またはセシウムフッ化物などの塩基の存在も必要としてよい。鈴木クロスカップリング反応に対する適切な溶剤は、エタノール、トルエン、1,4 ジオキサンまたはグリムを含み、反応は、選択的に酸素の非存在下で進むため、溶剤は、好ましくは脱気されてよい。

## 【0128】

式E3のピリジン化合物を一度得ると、窒素原子は、式E4のピリジンN 酸化物化合物に酸化してよい。この変換の試薬は、m クロロ過安息香酸または過酸化水素(さらに様々な添加剤)を含む。酸化物は、その後、式E5の化合物を生産するための転位反応が行われてよい。この変換の試薬は、オキシ塩化リン、三臭化リンまたはトリフルオロメタンスルホン酸を含む。X'基は、ハロゲンまたは疑似ハロゲン(Cl, Br, OTf)を意味し、ピリジン酸化物活性化反応条件および使用された試薬に依存する。反応で2 ピリドンが得られる場合、これは、簡便に2 X' ピリジンに変換される。例えば、ピリドンは、オキシ塩化リンに反応し、2 クロロピリジンが得られる。2 ハロピリジンは、その後、上記で記載された鈴木パラジウム触媒反応を使用して、式E6のボロン酸化合物とのクロスカップリング反応において使用され、式E7の2,4 ジアリアルピリジン化合物を得てよい。カルボン酸塩は、その後、必要に応じて、従来のように脱保護され、式1 Eおよび2 Eの最終生成物を生産してよい。

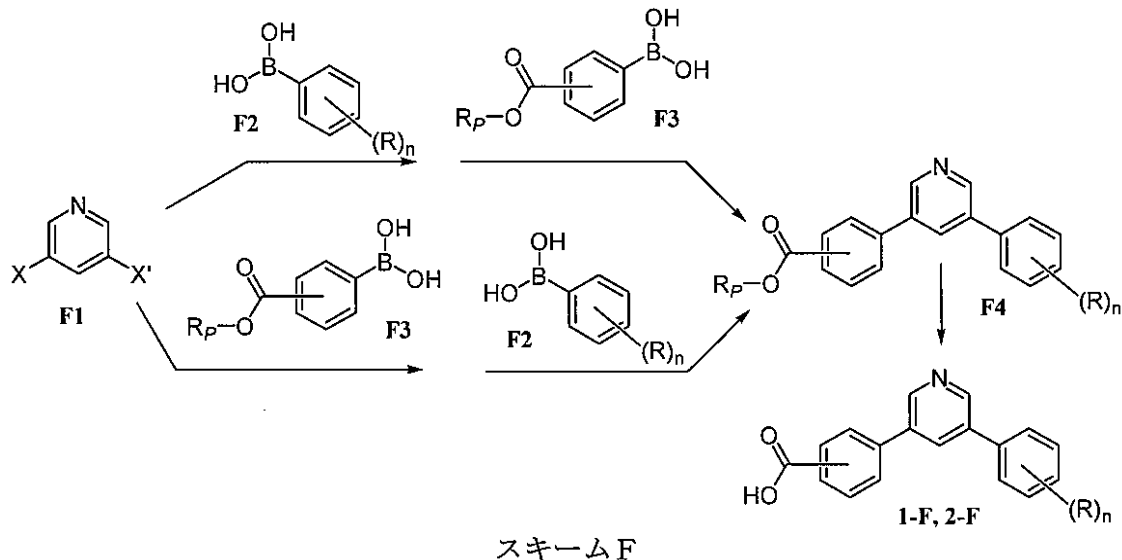
10

20

## 【0129】

上記のスキームEと同様の他の二重クロスカップリング法は、式1 Fおよび2 Fのピリジン化合物の合成(スキームF)に使用されてよい。

## 【化34】



30

## 【0130】

式F1の3,5 ジハロピリジンは、2つのアリール基(式F2およびF3)のボロン酸誘導体との逐次的鈴木反応において使用される。中間体モノ結合した化合物の分離は、最終生成物精製に関して有利であるかもしれない。変換全体の選択性を改善するために、基質を異なるハロゲン(例えば、X X')とともに使用することが望ましいかもしれない。他の方法は、例えば、ハロゲンによる変位の前行われるジアゾ化によってハロゲンに変換することができるアリールアミノ基など、潜在性ハロゲンであるX'基の使用を含んでよい。従来のように、カップリング反応の触媒の多くは、Pd(0)またはPd(2)ベースの触媒である。また、カルボン酸塩保護基は、最終段階で必要に応じて除去され、式1 Fおよび2 Fの最終生成物を得てよい。

40

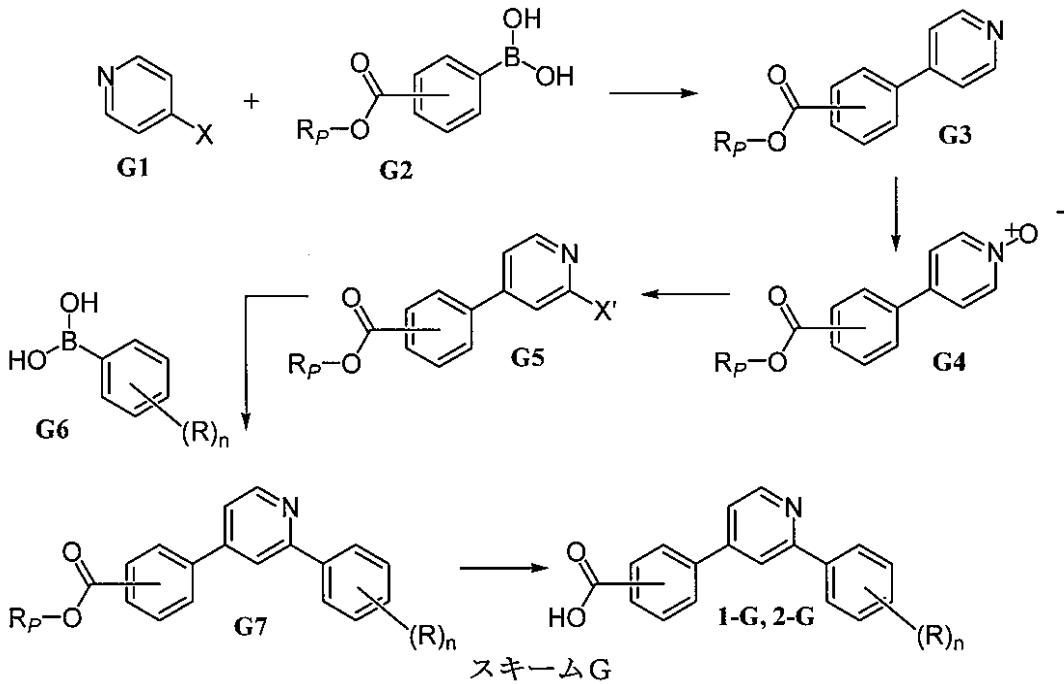
## 【0131】

式1 Gおよび2 G(スキームG)のピリジン化合物は、式1 Fおよび2 F(スキ

50

ーム F) の位置異性体の合成に類似する方法で調整されてよい。

【化 3 5】



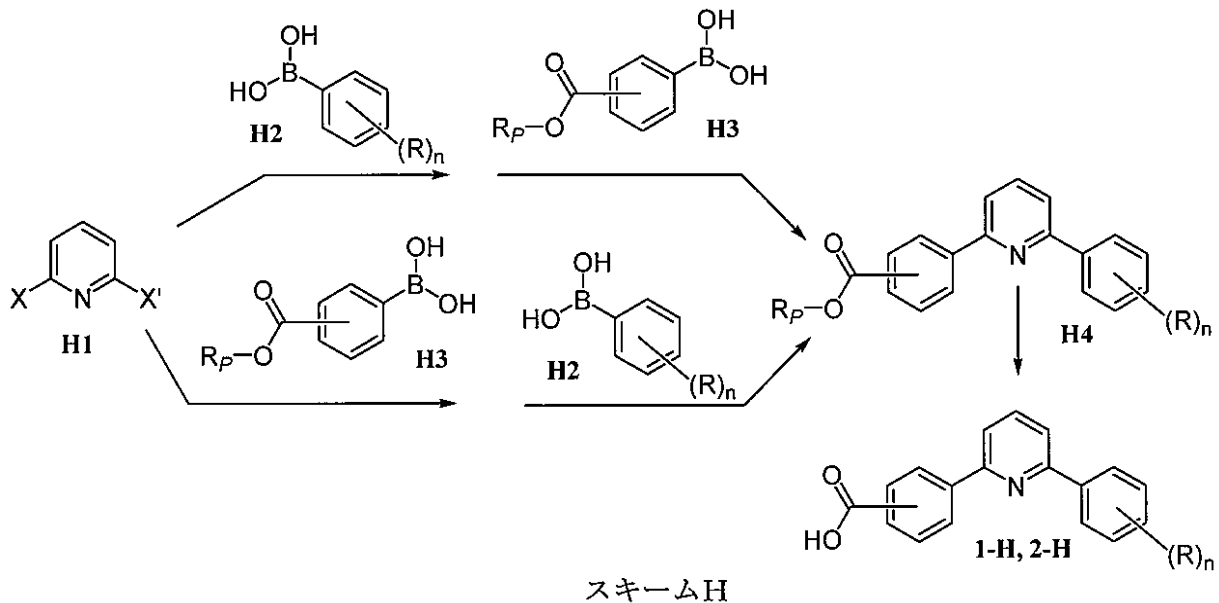
10

20

【 0 1 3 2】

式 1 G および 2 G (スキーム G) のピリジン 3, 5 異性体の調製方法は、式 1 H および 2 H (スキーム H) の 2, 6 異性体に使用可能である。従来のように 2 つのカップリング反応は、どちらがより便利であるかによって、いずれかの順序で行われてよい。

【化 3 6】



30

40

【 0 1 3 3】

ある好ましい実施形態において本発明の化合物は、既知の方法を用いて、鏡像異性的に純粋な組成物に分解されてもよく、または鏡像異性的に純粋な組成物として合成されてもよい。例として、鏡像異性体の直接的な結晶化、鏡像異性体のジアステレオマー塩形成、ジアステレオマーの形成および分離、またはラセミ混合物の酵素的な分解により、本発明の化合物は分解されてもよい。

【 0 1 3 4】

これらならびに他の反応方法論は、当業者に認められているように本発明の化合物を調

50

整する上で有用であってもよい。上記スキームおよび方法への、種々の修正は当業者にとって明白であり、本発明は、本発明の調製のための方法によって特別に制限されない。

【0135】

#### C. 本発明の方法

本発明の一態様では、ナンセンス変異に関連する未熟な翻訳終結の抑制のために、また疾病の予防または治療法のための方法が提供される。好ましい実施形態では、前記疾病は、mRNAの突然変異、特に、ナンセンス変異に関連している。典型的な疾病は、癌、リソソーム貯蔵障害、筋ジストロフィー、嚢胞性線維症、血友病、表皮水疱症、典型的な後期乳児型神経セロイドリポフスチン症を含むがそれらに限定されない。この実施形態では、癌、リソソーム貯蔵障害、筋ジストロフィー、嚢胞性線維症、血友病、または典型的な後期乳児型神経セロイドリポフスチン症の治療法が提供され、この治療法は、その必要のある対象に対する、本発明の少なくとも1つの化合物の治療効果のある量の投与を含む。

10

【0136】

一実施形態では、本発明は、1つ以上の特効のある、機能的なタンパク質の発現を増加する方法を対象とする。本発明の化合物はいずれも、特に機能的なタンパク質の発現を増加するために使用することができる。他の実施形態では、その必要のある対象に本発明の少なくとも1つの化合物の治療効果のある量を投与することにより未熟な翻訳終結が抑制されると、機能的なタンパク質の発現の特異的増加が起こる。好ましい実施形態では、未熟な翻訳終結は、mRNA内のナンセンス突然変異に関連している。他の実施形態では、患者においてmRNA崩壊が減少する場合、タンパク質の発現の特異的増加が起こる。好ましい実施形態では、患者における異常は、mRNA崩壊を突然変異媒介することにより起こる。特に好ましい実施形態では、変異媒介mRNA崩壊は、ナンセンス変異の結果である。本発明の方法は、いかなる特定の理論によって限定されない。

20

【0137】

本発明は、患者において、未熟な翻訳終結、ナンセンス媒介mRNA崩壊、または未熟な翻訳終結およびナンセンス媒介mRNA崩壊双方の抑制により改善される疾病または疾患を治療および予防する方法を含み、そのような治療または予防を要する患者に対する、治療効果のある量の本発明の化合物の投与を含む。

【0138】

一実施形態では、本発明は、未熟な翻訳終結、ナンセンス媒介mRNA崩壊、または未熟な翻訳終結およびナンセンス媒介mRNA崩壊双方を示す遺伝子に関連するいかなる疾病の治療または予防を含む。一実施形態では、前記疾病は、早期停止コドンから起こる遺伝子の発現の予定、発現の一部、発現の欠如、または低下である。未熟な翻訳終結および/またはナンセンス媒介mRNA崩壊に関連する未熟な翻訳終結および/またはナンセンス媒介mRNA崩壊および疾病を示す遺伝子の具体例を米国暫定特許出願第60/390,747号表記中から入手する。2002年6月21日に出願され、2003年6月23日に出願された、国際出願第PCT/US03/19760号の未熟な翻訳終結およびナンセンス媒介mRNA崩壊を調節する小分子を同定するための方法を、そのまま参照として、ここに取り入れる。

30

【0139】

未熟な翻訳終結、ナンセンス媒介mRNA崩壊、または未熟な翻訳終結およびナンセンス媒介mRNA崩壊双方の抑制により改善される疾病は、遺伝的疾患、体細胞疾患、癌、自己免疫疾患、血液の病気、膠原病、糖尿病、神経変性疾患、増殖性疾患、循環器疾患、肺疾患、炎症性疾患、または中枢神経系疾患を含むがそれらに限定されない。

40

【0140】

一実施形態では、治療効果のある量の本発明の化合物を必要とする患者に投与することにより治療または予防される疾病は、アミロイドーシス、血友病、アルツハイマー病、テイ・サックス病、ニーマン・ピック病、アテローム性動脈硬化症、巨人症、小人症、甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症、老化、肥満、パーキンソン病、嚢胞性線維症、筋ジストロフィー、心臓疾患、腎臓結石、血管拡張性失調症、家族性高コレステロール血症、網

50

膜色素変性症、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、表皮水疱症およびマルファン症候群を含むがそれらに限定されない。一実施形態では、疾病はナンセンス変異に関連する。

【0141】

一実施形態では、本発明の化合物は、自己免疫疾患を治療または予防するために有用である。一実施形態では、自己免疫疾患はナンセンス変異に関連する。好ましい実施形態では、自己免疫疾患は関節リウマチまたは移植片対宿主病である。

【0142】

他の実施形態では、本発明の化合物は、血液の病気を治療または予防するために有用である。一実施形態では、血液の病気はナンセンス変異に関連する。好ましい実施形態において、前記血液疾患は、血友病、フォン・ヴィレブランド病、血管拡張性失調症、型サラセミアまたは腎臓結石である。

10

【0143】

他の実施形態では、本発明の化合物は、膠原病を治療または予防するために有用である。一実施形態では、膠原病はナンセンス変異に関連する。好ましい実施形態では、膠原病は骨形成不全症または肝硬変である。

【0144】

他の実施形態では、本発明の化合物は、糖尿病を治療または予防するために有用である。一実施形態では、糖尿病はナンセンス変異に関連する。

【0145】

他の実施形態では、本発明の化合物は、炎症性疾患を治療または予防するために有用である。一実施形態では、炎症性疾患はナンセンス変異に関連する。好ましい実施形態では、炎症性疾患は関節炎、関節リウマチまたは骨関節炎である。

20

【0146】

他の実施形態では、本発明の化合物は、中枢神経系疾患を治療または予防するために有用である。一実施形態では、中枢神経系疾患はナンセンス変異に関連する。一実施形態では、中枢神経系疾患は神経変性疾患である。好ましい実施形態では、中枢神経系疾患は多発性硬化症、筋ジストロフィー、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、アルツハイマー病、テイ・サックス病、ニーマン・ピック病、後期乳児型神経セロイドリポフスチン症(LINCL)、パーキンソン病である。

【0147】

他の好ましい実施形態では、本発明の化合物は、特に人間における癌を治療または予防するために有用である。好ましい実施形態では、癌は頭および首、眼、皮膚、口、咽喉、食道、胸、骨、血液、肺、大腸、S字結腸、直腸、胃、前立腺、乳房、卵巣、腎臓、肝臓、脾臓、脳、腸、心臓または副腎におけるものである。一実施形態では、癌は腫瘍である。一実施形態では、癌はナンセンス変異に関連する。他の実施形態では、癌は遺伝子ナンセンス変異に関連する。他の実施形態では、癌は体細胞突然変異に関連する。いかなる理論により制限されることなく、癌に対する本発明の化合物の使用は、p53の遺伝子の突然変異に対する作用に関連する。

30

【0148】

一実施形態では、前記癌は血液癌ではない。他の実施形態では、前記癌は白血病ではない。他の実施形態では、前記癌は多発性骨髄腫ではない。他の実施形態では、前記癌は前立腺癌ではない。

40

【0149】

他の好ましい実施形態では、本発明の化合物は、癌抑制遺伝子の突然変異に関連する癌を治療または予防するために有用である。そのような遺伝子は、PTEN、BRCA1、BRCA2、Rb、およびp53遺伝子を含むがそれらに限定されない。一実施形態では、前記突然変異は遺伝子突然変異である。他の実施形態では、前記突然変異は体細胞突然変異である。本発明の方法は、癌抑制遺伝子のナンセンス変異に関連する癌を治療または予防するために特に有用である。好ましい実施形態では、本発明の方法は、アポトーシス内のp53の役割によるp53の遺伝子に関連する癌を治療または予防するために特に有

50

用である。理論により限定されることなく、ナンセンス変異の抑制を生じる、有効量の本発明の化合物を備える細胞に接触することにより、アポトーシスを誘発することができ、言い換えれば、それは、全長のp53の生成を生じることができると考えられる。ナンセンス変異は、p53遺伝子で特定され、癌に関係があると見なされる。p53遺伝子におけるいくつかのナンセンス変異が特定されている(例えば、Masudaら、Tokai J Exp Clin Med.、69-77、25(2)、(2000); Ohら、Mol Cells、275-80、10(3)、(2000); Liら、Lab Invest.、493-9、80(4)、(2000); Yangら、Zhonghua Zhong Liu Za Zhi、114-8、21(2)、(1999); Finkelsteinら、Mol Diagn.、37-41、3(1)、(1998); Kajiyamaら、Dis Esophagus.、279-83、11(4)、(1998); Kawamuraら、Leuk Res.、115-26、23(2)、(1999); Radigら、Hum Pathol.、1310-6、29(11)、(1998); Schuylerら、Int J Cancer、299-303、76(3)、(1998); Wang-Gohrkeら、Oncol Rep.、65-8、5(1)、(1998); Fulopら、J Reprod Med.、119-27、43(2)、(1998); Ninomiyaら、J Dermatol Sci.、173-8、14(3)、(1997); Hsiehら、Cancer Lett.、107-13、100(1-2)、(1996); Rallら、Pancreas.、10-7、12(1)、(1996); Fukutomiら、Nippon Rinsho.、2764-8、53(11)、(1995); Frebourgら、Am J Hum Genet.、608-15、56(3)、(1995); Doveら、Cancer Surv.、335-55、25、(1995); Adamsonら、Br J Haematol.、61-6、89(1)、(1995); Graysonら、Am J Pediatr Hematol Oncol.、341-7、16(4)、(1994); Lepelleyら、Leukemia.、1342-9、8(8)、(1994); McIntyreら、J Clin Oncol.、925-30、12(5)、(1994); Horioら、Oncogene.、1231-5、9(4)、(1994); Nakamuraら、Jpn J Cancer Res.、1293-8、83(12)、(1992); Davidoffら、Oncogene.、127-33、7(1)、(1992); およびIshiokaら、Biochem Biophys Res Commun.、901-6、177(3)、(1991)を参照; 全ての参考文献は、参照により本明細書に組み込まれる)。上記の参考文献に記載されているナンセンス変異を含むがそれらに限定されない、未熟な翻訳コドンを符号化するp53遺伝子に関連するいかなる疾病は、本発明の化合物により治療または予防できる。

#### 【0150】

他の実施形態では、そのような治療効果のある量の本発明の化合物を要する患者に対する投与により治療または予防される疾病は、非上皮性悪性腫瘍、上皮性悪性腫瘍、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑液腫瘍、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮性腫瘍、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、カポジ肉腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、メラノーマ、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、血液由来の腫瘍、または多発性骨髄腫などの固形腫瘍を含むがそれらに限定されない。

#### 【0151】

他の実施形態では、そのような治療効果のある量の本発明の化合物を要する患者に対する投与により治療または予防される疾病は、急性リンパ性白血病、B細胞急性リンパ性白

血病、T細胞急性リンパ性白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄球性白血病、急性単芽球性白血病、急性赤白血病、急性巨核芽球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性非リンパ性白血病、急性未分化白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、または多発性骨髄腫などの血液由来の腫瘍を含むがそれらに限定されない。例えば、Eugene Braunwald他、ハリソン内科学 第15版、491-762、(2001)参照)。

【0152】

さらに他の実施形態では、本発明は、固形腫瘍または血腫で苦しむヒトの治療を含む。

【0153】

好ましい実施形態では、本発明は、未熟な翻訳終結、ナンセンス媒介mRNA崩壊、または未熟な翻訳終結およびナンセンス媒介mRNA崩壊の双方の抑制により改善された疾病または疾患を治療および予防し、それに関連した1つ以上の症状を改善する方法を含み、この方法は、細胞を治療効果のある量の本発明の化合物に接触させることを含む。本発明の方法に含まれる細胞は、動物細胞、哺乳類細胞、細菌性細胞、およびウイルス感染細胞を含む。一実施形態では、ナンセンス変異は、遺伝子変異である(すなわち、前記ナンセンスコドンは前駆DNA中に含まれた)。他の実施形態では、ナンセンス変異は、体細胞突然変異である(すなわち、前記ナンセンスコドンは自然発生または突然変異生成から生じた)。

10

【0154】

一実施形態では、本発明の化合物を、植物、は虫類、鳥類、両性類または好ましくは哺乳類、さらに好ましくはヒトを含むがそれらに限定されない対象に、未熟な翻訳終結、ナンセンス媒介mRNA崩壊、または未熟な翻訳終結およびナンセンス媒介mRNA崩壊双方の予防策として投与する。

20

【0155】

好ましい実施形態では、患者が未熟な翻訳終結および/またはナンセンス媒介mRNA崩壊に関連する疾病で苦しんでいることを初めに決定する。他の実施形態では、患者がナンセンス変異の存在を決定する選考過程を受け、対象を選考すること、または許容されるナンセンス変異スクリーニング検定により抽出される細胞を含む。好ましい実施形態では、患者のDNAを、サザンブロット、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を配列し、従い、縦列反復配列多型(STR)、または制限断片長多型(RFLP)分析の使用して、ナンセンス変異が患者のDNAに存在するかどうかを決定した。一実施形態では、祖細胞DNAの比較により、ナンセンス変異が遺伝子変異または体細胞突然変異であるのかを決定する。あるいは、患者において、ナンセンス変異を有するタンパク質の変化レベルを、ウエスタンブロット法または他の免疫学的検定により、発現しているかどうかを決定することができる。他の実施形態では、患者は、ナンセンス変異の存在に対して子宮内にスクリーニングを受ける胎児である。本発明の化合物の投与は、出生前または出生後のどちらでも受けることができる。関連した実施形態では、治療法は、患者をナンセンス変異スクリーニング検定のためにスクリーニングし、本発明の1つ以上の化合物の投与により治療を独自のものにし、特に、例えば、疾病の種類、細胞の種類、および質問内の遺伝子による、特に質問の変異に適した化合物を用いて、患者を治療できる。そのような方法は、当業者には公知のことである。

30

40

【0156】

他の実施形態では、細胞(例えば、動物細胞、哺乳類細胞、細菌性細胞、植物細胞およびウイルス感染細胞)を上記に記載されたような方法(すなわち、細胞のDNAは、配列を決定し、サザンブロット、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、縦列反復配列多型(STR)の使用、または制限断片長多型(RFLP)分析に供し、ナンセンス変異が細胞のDNAに存在するかどうか決定することができる)、また細胞のRNAは定量リアルタイムPCRに供し、転写産物量を決定することができる)を用いて、未熟な翻訳終結および/またはナンセンス媒介mRNA崩壊のためにスクリーニングした。

【0157】

50

本発明の特定の方法は、さらに追加の治療剤（すなわち、本発明の化合物より他の治療剤）の投与を含む。本発明の一実施形態では、本発明の化合物を少なくとも1つの他の治療剤との併用で使用することができる。治療剤は、非オピオイド性鎮痛薬、非ステロイド性抗炎症薬、ステロイド、制吐薬、アドレナリン遮断薬、抗けいれん薬、抗うつ剤、 $Ca^{2+}$ チャンネル遮断薬、抗癌剤および抗生物質およびその混合物を含むがそれらに限定されない。

【0158】

ある実施形態では、本発明の化合物を抗癌剤との併用で投与または作成することができる。適する抗がん剤は、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード、葉酸キック抗体、プリン類拮抗物質、ピリミジン拮抗薬、紡錘体毒、トポイソメラーゼ阻害剤、アポптоーシス誘導薬剤、新生阻害剤、ポドフィロトキシン、ニトロソ尿素化合物、シスプラチン、カルボプラチン、インターフェロン、アスパラギナーゼ、タモキシフェン、ロイプロリド、フルタミド、メゲストロール、マイトマイシン、プレオマイシン、ドキシソルピシン、イリノテカンおよびタキソールを含むがそれらに限定されない。

10

【0159】

ある実施形態では、本発明の化合物を抗生物質との併用で投与または作成することができる。ある実施形態では、抗生物質は、アミノグルコシド（例えば、トブラマイシン）、セファロsporin（例えば、セファレキシン、セフラジン、セフロキシム、セフprozil、セファクロル、セフィキシムまたはセファドロキシル）、クラリスロマイシン（例えば、クラリスロマイシン）、マクロライド（例えば、エリスロマイシン）、ペニシリン（例えば、ペニシリンV）またはキノロン系薬剤（例えば、オフロキサシン、シプロフロキサシンまたはノルフロキサシン）である。好ましい実施形態では、抗生物質は、緑膿菌に対して活性を有する。

20

【0160】

理論に制限されることを意図せず、本発明の方法は、ナンセンス変異を抑制する機構の複合を通して行動することを信じる。好ましい実施形態では、本発明の方法は、本発明の少なくとも1つの化合物の治療効果のある量の投与、例えば、式1の化合物を含む。本発明の化合物の相対活量をここにある実施例2に記載された検定を含む、当業者に周知のいかなる方法で決定することができる。

【0161】

本発明の化合物を生体外ルシフェラーゼ・ナンセンス抑制検定を用いて特徴とすることができる。ルシフェラーゼ検定は、本発明の方法に含まれる。ルシフェラーゼを、機能リポーター遺伝子アッセイとして使用し（タンパク質が機能する場合のみ、光が生成される）、ルシフェラーゼは非常に敏感である（光度は、範囲内でルシフェラーゼ濃度に比例する）。一つの実施形態では、本発明のアッセイは、細胞に基づいたルシフェラーゼリポーターアッセイである。好ましい細胞に基づいたルシフェラーゼリポーターアッセイでは、未熟な終結コドン（UGA、UAA、またはUAG）を含むルシフェラーゼリポーター構造を、293のヒト胚腎臓細胞を安定に導入する。

30

【0162】

本発明の他の検定では、好ましい検定は、ウサギの網赤血球溶解物およびナンセンスを含むルシフェラーゼリポーターmRNAから成る生化学分析である。本発明の他のアッセイでは、検定は、細胞抽出物を調製し、最適化することから成る生化学分析である（Lie & Macdonald, Development, 4989-4996, 126(22), (1999) および Lie & Macdonald, Biochem. Biophys. Res. Commun., 473-481, 270(2), (2000)）。生化学分析では、未熟な終結コドン（UGA、UAA、またはUAG）を含むmRNAを、tRNA、ヘミン、クレアチンキナーゼ、アミノ酸類、K<sub>2</sub>OAc、Mg(OAc)<sub>2</sub>、およびホスホクレアチンで補うウサギの網赤血球溶解物を用いてインビトロ翻訳反応におけるリポーターとして、使用する。mRNAの翻訳を、ウイルス由来のリーダー配列内で開始し、それは、capped RNAが必要としないため、検定費用を大幅に削減

40

50

する。合成 mRNA を、T7 プロモーターおよび Mega Script 生体外 transcription kit (Ambion, Inc.; Austin, Texas) を用いて、生体外調製する。本発明の検定では、ゲンタマイシンの相加、未熟な終結コドンのリードスルーを容認するのが知られているアミノグルコシドは、増強されたルシフェラーゼ活性をもたらし、内標準として使用することができる。本発明の検定をハイスループットスクリーンで使用することができる。何十万もの化合物を細胞に基づいてスクリーニングし、本発明の生化学分析をすることができる。好ましい態様では、機能的な細胞に基づいた検定は、記載されたものに類似する。

#### 【0163】

本発明の化合物は、未熟な終結コドンを含む、mRNA 分子から特定の、機能的タンパク質発現を増強できる化合物を含む。一つの実施形態では、本発明の化合物は、未熟な翻訳終結を優先的に抑制できる。例えば、本発明の化合物は、変異が UAA を生じると、ナンセンス変異を抑制でき、変異が UAG を生じると、ナンセンス変異を抑制できない。他の限定されない実施形態は、本発明の化合物は、変異が UAA を生じ、+1 位置においてシトシンによるインフレームに続くと、ナンセンス変異を抑制でき、変異が UAA を生じ、+1 位置においてアデニンによるインフレームに続くと、ナンセンス変異を抑制できない。

10

#### 【0164】

UGA のナンセンスを含むルシフェラーゼ遺伝子を提供する安定細胞株を、検定化合物を用いて治療することができる。この実施形態では、細胞は、1% ペニシリンストレptomycin (P/S) と 10% のウシ胎仔血清 (FBS) で補う標準培地内に 70% の密集度までに育て、治療の前日に 1:1 に分割することができる。翌日、細胞をトリプシン処理し、40,000 の細胞を 96 のウェルのある組織培養皿の各ウェルに追加する。各化合物の連続希釈法を 2 つのログ (30 mM ~ 0.3 mM) に及ぶ 6 つのポイント投与応答曲線を生成するために、調製する。DMSO 溶剤の終末濃度は、各ウェル内に一定の 1% で維持する。1% の DMSO を用いて処理される細胞は、バックグラウンド標準としての機能を果たし、ゲンタマイシンを用いて処理される細胞は、陽性対照としての機能を果たす。

20

#### 【0165】

特定の遺伝病で変更された mRNA 上のナンセンス抑制化合物の効果に態様するために、アミノ酸 1282 (W1282X) でナンセンスコドンをもつ気管支上皮細胞株を本発明の化合物と共に処理し、CFTR 機能は、SPQ 分析を用いて cAMP 活性化塩素チャンネルとしてモニターされる (Yangら、Hum. Mol. Genet., 1253-1261, 2(8), (1993) および Howardら、Nat. Med., 467-469, 2(4), (1996))。本発明の化合物と共に処理される細胞内の SPQ 蛍光における増加を、cAMP および未処理の細胞と共に処理されたものと比較する。細胞内の SPQ 蛍光における増加は、CFTR 媒介ハロゲン流出およびナンセンスコドンのリードスルーにおける増加の刺激と一致する。本発明の化合物と共に処理に続いて、このナンセンスを含む対立遺伝子からの全長 CFTR 発現は、本発明の化合物と共に処理されると、嚢胞性繊維症細胞系列が塩素チャンネル活性を増加することを示す。

30

40

#### 【0166】

##### D. 本発明の化合物の代謝産物

本発明の化合物の範囲内の低下も、ここに記載される化合物の生体内の代謝産物である。そのような生成物は、主として酵素過程のため、例えば、酸化、整復、加水分解、アミド化、エステル化、および投与された化合物の同等のものから生じる。従って、本発明は、その代謝産物を生じるのに十分な時期を有するほ乳類組織または哺乳動物を用いてこの発明の化合物に接触することを含む処理により産出した化合物を含む。そのような生成物は、通常、本発明の放射標識した (例えば、C<sup>14</sup> または H<sup>3</sup>) 化合物を調製し、検出可能な適用量 (例えば、約 0.5 mg/kg 以上) でラット、ネズミ、モルモット、サル、またはヒトなどの哺乳動物に投与し、新陳代謝が起こるのに十分な時間 (通常、約 30 秒

50

から30時間)を許容し、尿、血液または他の生物試料から得た変換産物を隔離することにより、特定する。これらの生成物を、それらが標識化されているため、容易に隔離する(他のものを代謝物内で生存するエピトープを結合できる抗体の使用で隔離する)。代謝物構造は、従来の方法、例えば、MSまたはNMR分析により決定する。一般に、当業者に周知の従来薬物代謝研究と同様の方法で、代謝物の分析をすることができる。それらが別の方法で生体内で見つけれない限り、変換産物は、それらにそれら自身の生物活性が全くなくても、本発明の化合物の治療投与量のための診断分析で有用である。

【0167】

E. 本発明の医薬組成物

本発明の化合物にきちんと投与することが可能であるが、医薬組成物として化合物を調合することが好ましい。本発明のさらに他の実施態様では、本発明の方法に有用な医薬組成物を提供する。本発明の医薬組成物は、キャリアー、溶剤、安定剤、補助剤、賦形剤などの薬学的に許容しうる賦形剤と共に調合され、投与と剤形の特定の方法による。この医薬組成物は、一般的に、生理学的に適合するpHを達成するように調合されるべきであり、約pH3から約pH11まで、好ましくは、約pH3から約pH7まで及び、投与の調合および投与方法による。他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、約pH4から約pH7までのpH範囲で調整される。別の実施形態では、pHは、約pH5から約pH8までの範囲に調節することが好ましい。

10

【0168】

さらに詳しく、本発明の医薬組成物は、治療効果または予防効果のある量の本発明の少なくとも1つの化合物を含み、それは、1つ以上の薬学的に許容しうる賦形剤と共に含む。任意で、本発明の医薬組成物は、本発明の化合物の合成を含み、癌、糖尿病性網膜症、または滲出性の網膜黄斑部変性の治療に有用な2番目の活性成分を含む。

20

【0169】

肺内投与のための吸入可能な剤形は、一般に好ましい粉末製剤を用いた、一般に液体または粉末であるが、非経口または経口投与のための本発明の剤形は、例えば、固体、溶液、エマルジョン、懸濁液が最も通常である。本発明の好ましい医薬組成物も、投与前の生理学的に適合する溶剤で再編成される凍結乾燥した固体として調合される。本発明の別の医薬組成物は、シロップ、クリーム、軟膏剤、錠剤、および同様のものとして調合される。

30

【0170】

本発明の医薬組成物は、当業者に既知であるいかなる薬物送達経路を介して対象に対して投与できる。特定の模範的投与経路は、経口、眼球、直腸、口腔、局所、鼻、そして、点眼、皮下、筋肉内、静脈内(ボラスと注入)、脳内の経皮、および肺を含む。

【0171】

用語「薬学的に許容しうる賦形剤」は、本発明の化合物などの医薬品投与の賦形剤を示す。用語は、過度の毒性がなく投与できるいかなる医薬品賦形剤を示す。薬学的に許容しうる賦形剤を、組成物を投与するのに使用される特定の方法と同様に、投与する特定の組成物による一部において決定する。従って、本発明の医薬組成物の多種多様な適切な調合が存在する(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、18<sup>th</sup> Ed.、Mack Publishing Co.、(1990)参照)。

40

【0172】

適当な賦形剤は、タンパク質、多糖体、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、高分子アミノ酸、アミノ酸コポリマー、不活性ウイルス粒子などの大きくて、ゆっくり代謝された高分子を含んでいる担体分子である。他の模範的賦形剤は、アスコルビン酸などの酸化防止剤、EDTAなどのキレート剤、デキストリン、ヒドロキシアルキルセルロース、ヒドロキシアルキルメチルセルロース、ステアリン酸などの炭水化物、油、水、塩水、グリセリンおよびエタノールなどの液体、湿潤剤または乳化剤、pHバッファリング物質、および同等のものを含む。また、リポソームを薬学的に許容しうる賦形剤の定義内に含む。

50

## 【0173】

本発明の医薬組成物は、投与を意図する方法に適するあらゆる形で調合される。経口使用を意図する場合、例えば、錠剤、トローチ、トローチ剤、水か油の懸濁物、非水性溶液、分散粉末薬または顆粒のエマルジョン、硬カプセル剤または軟カプセル剤、シロップまたはエリキシル剤が調製される。経口使用を意図する組成物は、医薬組成物の製造のために当業者に既知のいかなる方法により調製され、そのような組成物は、口当たりのよい調合を提供するために、甘味剤、着香料、着色剤および保存剤を含んだ1つ以上の製剤を含む。

## 【0174】

錠剤と併用して使用するのに特に適する薬学的に許容しうる賦形剤は、例えば、セルロース、カルシウム、炭酸ソーダ、乳糖、カルシウムまたはリン酸水素ナトリウムなどの不活性希釈剤、クロスカルメロース、交差結合ポピドン、トウモロコシデンプン、またはアルギン酸などの崩壊剤、ポピドン、デンプン、ゼラチンまたはアカシアなどの結合剤、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸または滑石などの平滑剤を含む。錠剤は、消化管内で分解と吸着を遅らせるために、マイクロカプセル化を含む既知の方法でコーティングされたり、コーティングを施したりでき、その結果、長期間にわたり、持続した作用を提供する。例えば、モノステアリン酸グリセリンまたはグリセリルジステアリン酸などの遅延物質は、単独またはワックスを用いて使用することができる。

## 【0175】

経口使用のための錠剤はまた、活性成分が例えば、セルロース、乳糖、リン酸カルシウムまたはカオリンなどの不活性固体希釈剤と混合される硬ゼラチンカプセル、または活性成分がグリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ラッカセイ油、流動パラフィンまたはオリーブ油などの非水性か油の媒体に混ぜられる軟ゼラチンカプセルとして示すことができる。

## 【0176】

他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、懸濁液の製造に適した少なくとも1つの薬学的に許容しうる賦形剤を備える混合物に、本発明の化合物を含む懸濁液として調合させることができる。さらに他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、適した賦形剤の追加による懸濁液の調合に適した分散粉末薬および顆粒として調合させることができる。

## 【0177】

懸濁液に併用して使用に適した賦形剤は、繊維素グリコール酸ナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガント、アラビアゴムなどの懸濁化剤、自然発生ホスファチド（例えば、レシチン）などの分散剤または湿潤剤、脂肪酸（例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン）を有するアルキレンオキシドの縮合物、長鎖脂肪族アルコール（例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール）を有する酸化エチレンの縮合物、脂肪酸とヘキシトール無水物（例えば、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン）から生じる部分エステルを有する酸化エチレンの縮合物、およびカルボマ、蜜蝋、固形パラフィンまたはセチルアルコールなどの濃稠化剤を含む。また、懸濁液は酢酸、メチル、および/または、*n*-プロピル *p*-ヒドロキシ-安息香酸などの1つ以上の保存料、1つ以上の着色剤、1つ以上の着香料、および蔗糖またはサッカリンなどの1つ以上の甘味剤を含むことができる。

## 【0178】

本発明の医薬組成物はまた、水中油型乳剤の形であることができる。油の位相は、オリーブ油やラッカセイ油などの植物油、流動パラフィンなどの鉱油、またはこれらの混合物であってよい。適した乳化剤は、アラビアゴムやトラガントなどの自然発生ゴム、脂肪酸から生じる大豆レシチン、エステルまたは部分エステルなどの自然発生ホスファチド、モノオレイン酸ソルビタンなどのヘキシトール無水物、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどの酸化エチレンを有するこれらの部分エステルの縮合物を含む。エマルジョンはまた、甘味料および着香料を含んでもよい。シロップとエリキシル剤は、グリセリン、ソルビットまたは蔗糖などの甘味剤で調合されてもよい。そのような錠剤はまた、粘

10

20

30

40

50

漿薬、保存剤、または着色剤を含んでもよい。

【0179】

さらに、本発明の医薬組成物は、無菌注射剤水性乳剤および油性の懸濁液などの無菌注射剤調合の形であってもよい。既知の技術によると、このエマルジョンまたは懸濁液は、上記に記載されたそれらの適した分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を使用することで調合されてもよい。1, 2 - プロパンジオールにおける溶液などの非毒性非経口許容できる希釈剤が溶剤における滅菌注射液か懸濁液であってもよい。また、滅菌注射調合は、凍結乾燥した粉末として調製されてもよい。使用することができる許容される媒体および溶剤の中には、水、リンガー溶液、および生理食塩液がある。さらに、滅菌固定油は、溶剤または懸濁化剤として使用することができる。この目的のために、合成のモノグリセリドまたはジグリセリドを含む、いかなる無菌性の固定油が使用することができる。さらに、オレイン酸などの脂肪酸は、注射の調合で同様に使用することができる。

10

【0180】

一般に、本発明の方法で有用な本発明の化合物は、水に相当不溶性であり、最も薬学的に許容しうるプロトン性溶媒内、および植物油内でやや溶けにくいである。しかし、化合物は、一般に、中鎖脂肪酸（例えば、カプリル酸およびカプリン酸）またはトリグリセリドの中で可溶性であり、中鎖脂肪酸のプロピレングリコールエステルの中に高可溶性を有する。また、発明で熟考されているのは、例えば、エステル化、グリコシレーション、ペグ化など、それらを送達により適する化学的または生化学的部分の代替および相加によって変更された化合物（例えば、溶解性、生理活性、嗜好性の増加、副作用の減少など）である。

20

【0181】

好ましい実施形態では、本発明の化合物は、低溶解化合物に適する脂質ベースの剤形において経口投与のために調合されてもよい。脂質ベースの剤形は、一般に、そのような化合物の経口バイオアベイラビリティを強化することができる。そのような、本発明の好ましい医薬組成物は、治療効果または予防効果のある量の本発明の少なくとも1つの化合物を含み、それは、中鎖脂肪酸（例えば、カプリル酸およびカプリン酸などの食用の脂肪酸のプロピレングリコールエステル）またはそのプロピレングリコールエステルおよびポリオキシル40を水素添加ひまし油などの薬学的に許容しうる界面活性剤を構成する基から選択した1つ以上の薬学的に許容しうる賦形剤と共に含む。

30

【0182】

別の好ましい実施形態では、シクロデキストリンは、水溶解エンハンサーとして添加してもよい。好ましいシクロデキストリンは、ヒドロキシプロピル、ヒドロキシルエチル、グルコシル、マルトシル、および、およびサイクロデキストリンのマルトトリオシル派生物を含む。特に好ましいシクロデキストリン溶解エンハンサーは、ヒドロキシプロピル - シクロデキストリン（HPBC）であり、それは、本発明の化合物の水溶解特性をさらに改善するために上記に記載された組成物のいずれかに添加してもよい。一実施形態では、化合物は、0.1%から20%のヒドロキシプロピル - シクロデキストリン、さらに好ましくは1%から15%のヒドロキシプロピル - シクロデキストリン、およびまたさらに好ましくは2.5%から10%までヒドロキシプロピル - シクロデキストリンを含む。使用された溶解エンハンサーの量は、化合物における、本発明の化合物の量に依存する。

40

【0183】

ここで使用される治療効果のある量は、特定された疾病が状態を治療、改善、または調節し、検出可能な治療効果または抑制効果を示すための、本発明の医薬組成物量を示す。例えば、本発明のアッセイで効果を検出することができる。また、効果は疾病または状態が集団の個々の百分率または高い百分率のために予測される疾病または状態の予防である。

対象に対して正確な効果のある量は、対象の体重、サイズ、および健康、状態の本質および程度、投与のために選択された治療または治療の併用、タンパク質半減期、mRNA半

50

減期、およびタンパク質局在性に依存する。与えられた状況に対する治療効果のある量は、臨床家の技術および判断内である通常の実験で決定することができる。

【0184】

いかなる化合物に対して、治療効果のある量は、例えば、腫瘍細胞の細胞培養アッセイにおいて、または通常ラット、ネズミ、ウサギ、犬、またはブタの動物モデルにおいてのどちらかで、初めに見積ることができる。また、動物モデルは、適切な濃度域と投与経路を決定するのに使用することができる。その後、そのような情報は、ヒトに対して、有用な量および投与経路を決定するのに使用することができる。治療/予防の効果および毒性は、培養細胞または実験動物で標準の製薬の手順、例えば、ED<sub>50</sub>、(集団の50%に対して治療効果のある量)および、LD<sub>50</sub>(集団の50%での致死量)によって測定してもよい。毒性、および治療効果の間の用量比は治療係数であり、率、LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>として、言い表すことができる。大きい治療指数を示す医薬組成物が好ましい。細胞培養アッセイおよび動物研究から得たデータは、ヒトに使用するために一連の投与量を調合するのに使用してもよい。そのような組成物に含まれた投与量は、少しの毒性または毒性がないED<sub>50</sub>を含む血中濃度の範囲内で好ましい。使用された剤形、患者の感度、および投与経路によって、投与量はこの範囲内で異なってもよい。

10

【0185】

さらに特に、本発明の化合物に関して観測された濃度生物学的効果の関係は、約5 μg/mLから約100 μg/mLまで、好ましくは、約10 μg/mLから約50 μg/mL、さらに好ましくは、約10 μg/mLから約25 μg/mLまでの範囲の初期標的血液濃度を示す。そのような血液濃度を達成するために、本発明の化合物を、1 mg/kgから150 mg/kgに異なる用量で投与し、それは投与経路により異なる。特定の用量および送達の方法に関する指導は、文学に提供し、当業者における練習生には、一般に、利用可能である。一般に、用量は、約1 mg/日から約10 g/日まで、または約0.1 g/日から約3 g/日まで、または約0.3 g/日から約3 g/日、または約0.5 g/日から約2 g/日まで、1回で、分割して、または連続用量で、約40から約100 kgの間の体重の患者に対しての範囲である(用量は、この体重範囲の上下の患者、特に40 kg以下の子供に対して調節できる)。

20

【0186】

しかしながら、疾病または状態の急性投与または慢性投与における本発明の特定の活性成分の予防薬か治療量の重要性は、疾病または状態の本質および重症度、および活性成分の投与経路で異なる。また、個々の患者の年齢、体重、および反応に従って、用量、および恐らく用量数は異なる。当業者はそのような要因の慎慮で、容易に適当な投薬処方を選択することができる。一般に、ここに説明された状態に対する推奨される日用量の範囲は、1日あたり約1 mg/kgから約150 mg/kgの範囲内である。一つの実施形態では、本発明の化合物を、単一の1日1回の用量で与える。他の実施形態では、本発明の化合物を、1日を通して分割量で与える。さらに特に、日用量を単一用量または等しく分割量で与える。好ましくは、日用量の範囲は、1日あたり約5 mg/kgから約100 mg/kgまで、さらに好ましくは、1日あたり約10 mg/kgと約90 mg/kg、またさらに好ましくは、1日あたり20 mg/kgから60 mg/kgの間であるべきである。患者を管理するにおいて、療法は、より低い用量、恐らく約200 mgから約300 mgの投与から始め、必要に応じて、単一用量または分割量のどちらかで、1日あたり約600 mgから約4000 mgまで、患者のグローバルな反応によって増加されるべきである。症例によっては、ここに公開される範囲外で活性成分の用量を使用する必要がある、当業者には明らかである。さらに、臨床家または処理する医師は、どのように、いつ、個々の患者の反応に併用して療法を中断し、調整し、または終えるかを知ることが留意する。

30

40

【0187】

本明細書で使用される語句である、「治療効果のある量」、「予防効果のある量」および「治療または予防効果のある量」は、上記に記載される用量および投薬回数予定を含む

50

。異なる治療効果のある量は、異なる疾病および状態に対して適応され、それは、当業者に周知の容易なことである。同様に、そのような疾病を治療または予防するのに十分な量であるが、従来の療法に関連する副作用を引き起こすのに不十分な量であり、その副作用を減らすのに十分である量はまた、上記に記載された用量および投薬回数スケジュールを含む。

#### 【0188】

正確な服用量は治療を必要とする対象と関係がある要因を踏まえて、専門家によって決定される。用量および投与は、活性剤の十分なレベルを提供し、または望ましい効果を維持するように調整される。考慮に入れる要因は、疾病状態の重症度、対象の全体的な健康、年齢、体重、対象の性別、食事、時期、注目中半減期のタンパク質、注目中半減期のRNA、投与回数、複合薬、反応感度、および療法に対する耐性/反応を含む。長時間作用型の組成物は、3から4日間ごと、毎週、または2週間に一度に投与され、それは、特定の調合の半減期とクリアランス率による。

10

#### 【0189】

##### F. 併用療法

また、本発明のいかなる化合物をここに記載されるように、mRNAのナンセンス変異に関連する疾病の治療に有用な1つ以上の他の活性成分に組み合わせることが可能であり、それは、治療を必要としている患者に対して同時投与、または、連続投与を意図する単一の剤形、または別々の剤形を含む。連続投与する場合、併用は2つ以上の投与で投与してもよい。別の実施形態では、異なる経路で本発明の1つ以上の化合物および1つ以上の追加活性成分を投与することが可能である。

20

#### 【0190】

当業者は、本発明の化合物のナンセンス変異抑制する活性を増大し、相乗的に増加する本発明の化合物と併用して、さまざまな活性成分を投与することを認識する。

#### 【0191】

本発明の方法によると、活性成分の併用は、(1)併用調合において同時に共同調合および投与、または送達され、(2)代替で、別々の調合として同時に送達され、または(3)または、当業者に既知であるいかなる他の併用療法計画による。代替療法で提供される場合、本発明の方法は、例えば、別々の溶液、エマルジョン、懸濁液、錠剤、丸薬またはカプセル剤において、または別々の注射器の異なる注射において、活性成分を連続投与または提供することを含んでもよい。一般に、代替療法の間、それぞれの活性成分の有効量は、連続投与され、すなわち、同時の療法において、2つ以上の活性成分の有効量は一緒に投与される。また、間欠併用療法の様々な連鎖を使用してもよい。

30

#### 【0192】

##### G. 遺伝子療法

遺伝子療法との併用で、本発明の化合物または他のナンセンス化合物を利用することができる。この実施形態では、哺乳動物、好ましくは望ましい遺伝子において、特定のナンセンス変異を含むヒトに、遺伝子を導入するか、または提供することができる。好ましい態様では、望ましい遺伝子をIGF1、EPO、p53、p19ARF、p21、PTEN、E124およびApoA1を構成する基より選択する。患者および哺乳動物において、全長のポリペプチドの発現を得るために、そのようなポリペプチドを望む場合、本発明の化合物または他のナンセンス化合物の有効な量を患者および哺乳動物に提供する。

40

#### 【0193】

生体内および生体外にある患者の細胞内に、ナンセンス変異(ベクターにオプシオンで含まれている)を含む核酸を得る2つの主要な手法がある。生体内の提供に関しては、核酸は、患者に、通常ポリペプチドが必要である場所、すなわち、ポリペプチド統合の場所に、周知であれば、ポリペプチドの生物活性が必要である場所(例えば、固体の腫瘍)に、直接注入する。生体外治療において、患者の細胞を取り除き、核酸をこれらの分離細胞に導入し、修正細胞を直接患者に直接投与するか、または例えば、患者に植えつけられる多孔質膜内でカプセル化するかのどちらかである(例えば、米国特許第4,892,53

50

8号および第5, 283, 187号を参照)。核酸を生存細胞に導入するために利用可能なさまざまな方法がある。核酸を生体外に培養細胞に移すか、または意図されたホストの細胞内で生体内で移すかによって、方法は異なる。生体外は乳細胞への核酸の転送に適せつな方法は、に、リポソーム、エレクトロポレーション、微量注射法、形質導入、細胞融合、DEAE-デキストラン、リン酸カルシウム沈殿法などの使用を含む。形質導入は、複製欠損の会合、細胞受容体を有する組換え型ウイルス性(好ましくはレトロウイルス)粒子を含み、粒子を細胞に含んだ核酸の導入に続く。遺伝子の生体外送達のための一般的に使用されるベクターは、レトロウイルスである。

#### 【0194】

現在好ましい生体内核および移動法は、ウイルス性または非ウイルス性のベクター(アデノウイルス、レンチウイルス、単純ヘルペスウイルスI型、またはアデノ随伴ウイルス(AAV)など)、および脂質ベースのシステム(遺伝子の脂質媒介移動の有用な脂質は、例えば、DOTMA、DOPE、およびDC-Cholであり、例えば、Tonkinsonら、Cancer Investigation、54-65、14(1)、(1996)参照)があるトランスフェクションを含む。54-65(1996)。遺伝子療法における使用の最も好ましいベクターは、ウイルスであり、最も好ましくはアデノウイルス、AAV、レンチウイルス、またはレトロウイルスである。レトロウイルスベクターなどのウイルス性ベクターは、少なくとも1つの転写プロモーター/エンハンサーまたは遺伝子定義要素、または代替スプライシング、核RNA輸出、またはメッセンジャーの翻訳後修飾などの他手段で、遺伝子発現を制御する他の要素を含む。さらに、レトロウイルスベクターなどのウイルス性ベクターは、ポリペプチドをコード化している遺伝子を転写されると、コード配列に実施可能にリンクされ、翻訳開始配列として機能する核酸配列を含む。また、そのようなベクター構造は、パッケージングシグナル、長い末端反復配列(LTR)またはその部分、使用ウイルスに適切な正負ストランドプライマ結合部位を含む(これらがウイルス性ベクターで既に存在していない場合)。さらに、そのようなベクターは、それが置かれる宿主細胞からのポリペプチドの分泌のためのシグナル配列を通常含む。好ましくは、この目的に対するシグナル配列は、哺乳動物シグナル配列であり、最も好ましくは、ポリペプチドのための天然シグナル配列である。また、オプシオンで、ベクター構造は、1つ以上の制限部位および翻訳終結連鎖と同様に、ポリアデニル化を示す信号を含んでもよい。一例として、そのようなベクターは、5'LTR、tRNA結合部位、パッケージングシグナル、第二ストランドDNA合成の原点、および3'LTRがその部分を通常含む。使用することができる他のベクターは、カチオン脂質、ポリリジン、デンドリマなどの非ウイルス性である。

#### 【0195】

いくつかの状況で、標的細胞、細胞表面膜タンパク質または標的細胞のための特定の抗体、標的細胞の受容体のための配位子などを対象とする薬剤を有する核酸源に提供するのは望ましい。リポソームが使用される場所で、エンドサイトーシスに関連する細胞表面膜タンパク質に結合するタンパク質は、標的にするために使用、および/または、例えば、カプシドタンパク質または特定の細胞種のその屈性残留物、循環に対して内面を受けるタンパク質の抗体、および細胞内局在性を標的にし、細胞内半減期を強化するタンパク質を撮取するのを促進することができる。受容体媒体のエンドサイトーシスの方法を、例えば、Wuら、J. Biol. Chem.、4429-4432、262、(1987)、およびWagnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、3410-3414、87、(1990)に示す。現在既知の遺伝子標識および遺伝子療法実験計画書のレビューに関しては、Andersonら、Science、808-813、256、(1992)を参照。808-813(1992)。また、WO93/25673およびそこにある引用文献を参照。

#### 【0196】

レトロウイルス粒子および構造タンパク質を作るための適当な遺伝子療法および方法を、例えば、米国特許第5,681,746号、第6,800,604号および第6,80

10

20

30

40

50

0, 731号で検出できる。

【0197】

本発明を理解するのに役立つために、以下の実施例を含む。もちろん、この発明に関連する実験は、明確に本発明に制限すると解釈すべきではなく、本発明の変異、現在既知または、後に発展するものは、当業者の範囲内で、ここに記載され、以下に請求されるように、本発明の範囲内に入る。

【実施例】

【0198】

本発明は、これをさらに詳細に解説するために提供される以下の非限定的実施例により説明されるが、これは本発明の範囲を限定するものと解釈されるものではない。本実施例は、本発明における特定の化合物の調製ならびに、これらの化合物のインビトロおよび/またはインビボ試験について解説する。当業者であれば、これらの実施例において説明される技術は、発明者によって説明される、本発明を支障なく実施するための技術を表すものであり、ために本発明の実施の好ましい形態を構成するということを理解するであろう。しかし、当業者は、本開示を踏まえて、開示されている特定の方法においては多くの変更が可能であり、それでもなお本発明の精神と範囲から逸脱することなく、類似のまたは同様の結果を得ることができると認識すべきであるということが理解されねばならない。

10

【0199】

実施例1：本発明の化合物の調合

A. 3, 5トリアジンの製造

20

製法1 - Aおよび2 - Aのトリアジンは、通常以下の図式Aにのっとって調製されてもよい。

【0200】

3 - (4 - p - T o l y l - [ 1, 3, 5 ] トリアジン - 2 - y l ) 安息香酸 ( 化合物 43 ) の調製

パートA. 10 mLのマイクロ波管に、4 - メチルベンゼン ( 0.99 g, 7.32 mmol ) およびN, N - ジメチルホルムアミドジメチルアセタール ( 2.23 g, 18.67 mmol ) を加える。管は、250 psi、300 Wにて、150 で10分間加熱される。エーテル/ヘキサン ( 1 : 1 ) を加えることにより、白色の固体が沈澱する。1) . 目的の生成物 ( 1.26 g、生成率91% ) は、ろ過により収集され、ヘキサンにて洗浄される。採取された化合物、N - ジメチルアミノメチレン - 4 - メチル - ベンズアミドは、液体クロマトグラフィー質量分析 ( LC - MS ) による測定で純度 > 90% である。MS ( ES + ) : m / e 191.17.11。

30

【0201】

パートB. tert - ブタノール ( 3.50 g, 47.22 mmol )、ピリジン ( 3.72 g, 46.78 mmol ) およびメチレンクロライド中 ( 15 mL ) の cat. DMAPに、滴状の3 - シアノ安息香酸クロライド ( 6.81 g, 41.07 mmol ) および0 のメチレンクロライド中 ( 10 mL ) のピリジン ( 3 mL ) が加えられる。得られた混合物は、室温にて20時間攪拌される。この溶剤は気化され、残滓はフラッシュ・クロマトグラフィー ( 1 : 1 メチレンクロライド/ヘキサン ) によって精製され、3 - シアノ - 安息香酸 tert - ブチルエステル ( 6.84 g、生成率82.1% ) を白色固体として得る。<sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、CDCl<sub>3</sub> ) : 8.24 ( 1H、s )、8.20 ( 1H、dd、J = 7.9、1.2 Hz )、7.78 ( 1H、dd、J = 6.7、1.1 Hz )、7.52 ( 1H、m )、1.58 ( 9H、s )。

40

【0202】

パートC. 15 mLのTHF ( 無水 ) 中の3 - シアノ - 安息香酸 tert - ブチルエステル溶液 ( 6.54 g、31.98 mmol ) に、N<sub>2</sub>の保護のもとにリチウムヘキサメチルジシラザン ( 8.65 g、51.17 mmol、1.0 M THF中 ) が加えられる。この溶液は、出発原料が消滅するまで、室温にて3時間攪拌される ( TLCによるモニター )。この反応混合物は、THF ( 120 mL ) 中のシリカゲル ( 80 g ) スラリー内

50

に注ぎ込まれ、5分間攪拌され、その後シリカゲルはろ過される。ろ過ケーキは、THF/メタノール(2:1)によってさらに洗浄される。ろ過された液体の気化および真空下における残渣の結晶化により、目的の生成物である、3-カルバミドリル-安息香酸tert-ブチルエステル(5.80g、生成率82.5%)を得る。採取された化合物は、液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)による測定で純度>90%である。MS(ES+): m/e 212.20.11。

## 【0203】

パートD。N-ジメチルアミノメチレン-4-メチル-ベンズアミド(221.9mg、1.15mmol)および無水酢酸(8mL)中のカルバミドリル-安息香酸tert-ブチルエステル(196.0mg、0.89mmol)の混合物は、マイクロ波反応装置内において、150W、250psiで115℃まで30分間、出発原料の完全な消滅がTLCによって確認されるまで加熱される。白色固体は1N HClを加えることにより沈澱され、ろ過によって収集され、水およびヘキサンによって洗浄される。採取された固体は、フラッシュカラム・クロマトグラフィーによってさらに精製され、メタノール/メチレンクロライド(1:20)と溶離され、標題生成物を生成した(23.1mg、生成率5.3%)、m.p. 298-300℃。<sup>1</sup>H NMR (300MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): 9.40(1H、s)、8.63(2H、d、J=8.3Hz)、8.48(2H、d、J=8.0Hz)、8.13(2H、d、J=8.0Hz)、7.41(2H、m)、2.41(3H、s)。MS(ES+): m/e 292.30.11。

10

20

## 【0204】

上記実施例Aにおいて説明される方法は、本発明における以下の化合物の調合に使用されてもよい。

## 化合物44

3-[4-(4-フルオロフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 266~269℃。<sup>1</sup>H NMR (300MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.43(1H、s)、9.08(1H、s)、8.77(1H、dd、J=6.1、0.9Hz)、8.62(2H、m)、8.20(1H、dd、J=6.2、1.0Hz)、7.74(1H、m)、7.43(2H、m)。MS(ES+): m/e 297.25(20), 296.28(100)。MS(ES-): m/e 295.24(20), 294.26(100)。

30

## 【0205】

## 化合物45

3-[4-(4-エトキシフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 269-272℃。

## 【0206】

## 化合物45

3-[4-(4-エトキシフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-yl]-安息香酸: 融点 269~272.7℃。<sup>1</sup>H NMR (300MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.33(1H、s)、9.09(1H、s)、8.74(1H、dd、J=7.4、1.0Hz)、8.50(2H、d、J=8.8Hz)、8.20(1H、dd、J=6.4、0.8Hz)、7.71(1H、t、J=7.9Hz)、7.13(2H、d、J=8.8Hz)、4.14(2H、q、J=6.6Hz)、1.36(3H、t、J=6.8Hz)。MS(ES+): m/e 323.30(20)、322.33(100)。MS(ES-): m/e 321.30(20)、320.28(100)。

40

## 【0207】

## 化合物46

4-(4-p-トリル-[1,3,5]トリアジン-2-yl)-安息香酸: 融点 288~290℃。<sup>1</sup>H NMR (300MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.41(1H、s)、8.65(2H、d、J=8.5Hz)、8.47(2H、d、J=8.3Hz)

50

、8.13 (2H、d、 $J = 8.5 \text{ Hz}$ )、7.42 (2H、d、 $J = 8.3 \text{ Hz}$ )、2.06 (3H、s)。MS (ES+) :  $m/e$  293.31 (20)、292.30 (100)。MS (ES-) :  $m/e$  291.28 (20)、290.30 (100)。

## 【0208】

## 化合物47

4-[4-(4-フルオロフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-イル]-安息香酸：融点295~298。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz、DMSO- $d_6$ ) : d9.44 (1H、s)、8.65 (4H、m)、8.13 (2H、d、 $J = 8.3 \text{ Hz}$ )、7.45 (2H、m)。MS (ES+) :  $m/e$  297.24 (20)、296.22 (100)。MS (ES-) :  $m/e$  295.23 (20)、294.21 (100)。

10

## 【0209】

## 化合物48

3-[4-(4-メトキシフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-イル]-安息香酸：融点307~309。MS (ES+) :  $m/e$  309.27 (20)、308.26 (100)。MS (ES-) :  $m/e$  307.26 (20)、306.25 (100)。

## 【0210】

## 化合物49

3-[4-(3-フルオロフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-イル]-安息香酸：融点273~276。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz、DMSO- $d_6$ ) : d9.49 (1H、s)、8.68 (2H、m)、8.43 (1H、dd、 $J = 7.7、1.1 \text{ Hz}$ )、8.31 (1H、dd、 $J = 8.8、1.4 \text{ Hz}$ )、8.14 (2H、m)、7.67 (1H、m)、7.55 (1H、m)。MS (ES+) :  $m/e$  297.27 (20)、296.25 (100)。MS (ES-) :  $m/e$  295.26 (20)、294.24 (100)。

20

## 【0211】

## 化合物50

3-[4-(4-トリフルオメチルフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-イル]-安息香酸：融点290~293。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz、DMSO- $d_6$ ) : d9.53 (1H、s)、8.67 (2H、d、 $J = 8.3 \text{ Hz}$ )、8.52 (2H、m)、8.11 (2H、m)、7.97 (2H、d、 $J = 8.3 \text{ Hz}$ )。MS (ES+) :  $m/e$  347.23 (20)、346.22 (100)。MS (ES-) :  $m/e$  345.21 (20)、344.24 (100)。

30

## 【0212】

## 化合物51

3-[4-(3-メトキシフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-イル]-安息香酸：融点227~229。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz、DMSO- $d_6$ ) : d9.44 (1H、s)、8.65 (2H、m)、8.15 (3H、m)、8.06 (1H、s)、7.54 (1H、t、 $J = 7.7 \text{ Hz}$ )、7.24 (1H、dd、 $J = 8.0、1.2 \text{ Hz}$ )、3.87 (3H、s)。MS (ES+) :  $m/e$  309.27 (20)、308.26 (100)。MS (ES-) :  $m/e$  307.26 (20)、306.23 (100)。

40

## 【0213】

## 化合物53

4-[4-(4-メトキシフェニル)-[1,3,5]トリアジン-2-イル]-安息香酸：融点>300。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz、DMSO- $d_6$ ) : d9.35 (1H、s)、8.64 (2H、d、 $J = 8.5 \text{ Hz}$ )、8.53 (2H、d、 $J = 8.9 \text{ Hz}$ )、8.12 (2H、d、 $J = 8.5 \text{ Hz}$ )、7.13 (2H、d、 $J = 8.9 \text{ Hz}$ )、3.87 (3H、s)。MS (ES+) :  $m/e$  309.27 (20)、308.26 (100)。

50

26 (100)。MS (ES-) : m/e 307.26 (20)、306.25 (100)。

【0214】

B. 4. 2 - ピリミジンの調製

本発明のピリミジンは、通常以下の図式 B にしたがって調製されてもよい。

3 - [2 - (4 - アミノフェニル) - ピリミジン - 4 - イル] - ベンゾニトリル (化合物 1) の調製

パート A . 無水エタノール (10 mL) が入ったフラスコを 0 まで冷却し、水酸化ナトリウム (42 mg、鉍物油との重量比 60%、1.05 mmol) が加えられる。0、5 時間の攪拌ののち、溶液は 4 - アミノベンズアミジン二塩酸塩 (104 mg、0.50 mmol) で処理され、混合物は 5 分間攪拌される。次に、3 - (3 - ジメチルアミノ - アクリロイル) - ベンゾニトリル (100 mg、0.50 mmol) が加えられ、得られた混合物は 3 時間加熱還流され、次に室温まで冷却され、60 時間攪拌される。混合物は気化され、得られた混合物はジエチルエーテルとともに粉碎され、ろ過される。ろ過されたものは気化され、黄色の油を得、これはカラムクロマトグラフィー (1 : 1 酢酸エチル - ヘキサン) によって分離され、生成物 3 - [2 - (4 - アミノフェニル) - ピリミジン - 4 - イル] - ベンゾニトリル (76 mg、56%) を得る。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、CDCl<sub>3</sub>) : d 8.75 (1H、d、J = 6 Hz)、8.49 (1H、t、J = 2 Hz)、8.37 - 8.31 (3H、m)、7.75 (1H、dt、J = 8、2 Hz)、7.59 (1H、t、J = 8 Hz)、7.40 (1H、d、J = 6 Hz)、6.76 (2H、d、J = 9 Hz)、4.03 (2H、br s)。<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) : d 164.6、160.8、158.0、149.2、138.2、133.6、131.0、130.7、129.8 (2C)、129.5、127.2、118.5、114.5 (2C)、113.0、112.9。MS (ES+) : m/e 274 (20)、273 (100)。

【0215】

3 - [2 - (4 - イソプロピルフェニル) - ピリミジン - 4 - イル] - ベンズアミド (化合物 4) の調製

3 - [2 - (4 - イソプロピル - フェニル) - ピリミジン - 4 - イル] - ベンゾニトリル (50 mg、0.167 mmol) と水溶液の混合物 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (257 mL、0.65 M) は 70 で 12 時間加熱される。混合物は、冷却され、水酸化ナトリウム水溶液 (1 M) により pH 7 に調製される。混合物は、水と酢酸エチル間で分割され、有機層は、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄され、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化され、白色結晶性固体の標題化合物を得る (52 mg、98%)、融点 167 ~ 169 。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、アセトン - d<sub>6</sub>) : d 8.91 (1H、d、J = 6 Hz)、8.87 (1H、t、J = 2 Hz)、8.54 (2H、d、J = 9 Hz)、8.52 (1H、ddd、J = 8、2、1 Hz)、8.15 (1H、ddd、J = 8、2、1 Hz)、7.93 (1H、d、J = 6 Hz)、7.80 (1H、br s)、7.68 (1H、t、J = 8 Hz)、7.41 (2H、d、J = 9 Hz)、6.96 (1H、br s)、3.01 (1H、heptet、J = 7 Hz)、1.30 (6H、d、J = 7 Hz)。<sup>13</sup>C NMR (アセトン - d<sub>6</sub>) : d 205.9、168.4、164.8、163.4、159.0、152.4、137.8、136.2、135.9、130.6 (2C)、129.7、128.9、127.2 (2C)、126.8、115.4、34.7、24.1 (2C)。MS (ES+) : m/e 319 (25)、318 (100)。

【0216】

4 - [2 - (4 - イソプロピルフェニル) - ピリミジン - 4 - イル] - 安息香酸 (化合物 5) の調製

パート A . エタノール (5 mL) 中のメチル 4 - アセチル安息香酸エステル (1.00 g、5.61 mmol) とジメチルホルムアミドジメチルアセタール (746 mL、5.61 mmol) の溶液は 12 時間加熱還流される。溶液は冷却され、気化され、残留物は

、カラム・クロマトグラフィによって分離され、4 - ( 3 - ジメチルアミノ - アクリロイル ) 安息香酸 ( 679 mg ) のメチルとエチルエステルの混合物の生成物を得る。この物資の一部分 ( 121 mg ) は、エタノール ( 5 mL ) 中に溶解し、4 - イソプロピル - ベンズアミジン ( 81 mg ) で処理される。溶液は12時間加熱還流され、冷却され、セライトろ過され、気化される。残留物はクカラムクロマトグラフィー ( シリカゲル、1 : 4 酢酸エチル - ヘキサン ) によって分離され、生成物エチル 4 - [ 2 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリミジン - 4 - イル ] - 安息香酸エステルを得る。パート B . THF ~ 水 ~ エタノール ( 2 mL / 2 mL / 1 mL ) 中のエチル 4 - [ 2 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリミジン - 4 - イル ] - 安息香酸エステル溶液は、水酸化リチウム水和物で処理され、12時間攪拌される。溶液は気化され、その残留物は1 M 水溶液の間で分割される。HCl と酢酸エチル有機相は水 ( 20 mL ) で洗浄され、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化され、白色固体の標題化合物を得る ( 65 mg、41% )、融点 262 ~ 264 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、アセトン - d<sub>6</sub> ) : d 8.96 ( 1 H、d、J = 6 Hz )、8.48 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、8.23 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、8.12 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、7.98 ( 1 H、d、J = 6 Hz )、7.44 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、3.02 ( 1 H、heptet、J = 7 Hz )、1.33 ( 6 H、d、J = 7 Hz ) . MS ( ES+ ) : m / e 320 ( 20 )、319 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 318 ( 20 )、317 ( 100 ) .

10

## 【0217】

以下の化合物は、上記に説明された化合物 5 を参照して、同じように調製されてもよい。

20

## 化合物 10

4 - ( 2 - p - トリル - 1 H - ピロール - 3 - イル ) - 安息香酸 : m . p . > 310 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、DMSO - d<sub>6</sub> ) : d 8.40 . 49 ( 1 H、d、J = 2.5 Hz )、8.03 ( 2 H、d、J = 8.7 . 35 Hz )、7.99 ( 2 H、d、J = 8.7 Hz )、7.82 ( 2 H、d、J = 9.0 Hz )、7.09 ( 1 H、d、J = 2.5 Hz )、7.07 ( 2 H、d、J = 9.0 Hz )、3.79 ( 3 H、s ) . MS ( ES+ ) : m / e 292 ( 20 )、291 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 290 ( 20 )、289 ( 100 ) .

## 【0218】

3 - ( 2 - p - トリル - ピリミジン - 4 - イル ) 安息香酸 ( 化合物 9 ) の調製

パート A . 上記に説明したように、4 - メチルベンゾニトリルは、4 - メチルベンズアミジンを調製するのに使用され、これまでに説明した条件で、3 - ( 2 - p - トリル - ピリミジン - 4 - イル ) - ベンゾニトリルの合成過程で、3 - ( 3 - ジメチルアミノ - アクリロイル ) - ベンゾニトリルとともに使用される。

## 【0219】

パート B . エタノール ( 2 mL ) 中の 3 - ( 2 - p - トリル - ピリミジン - 4 - イル ) - ベンゾニトリル ( 87 mg、0.321 mmol ) 溶液は、水酸化ナトリウム水溶液 ( 1 mL、10 N ) で処理され、得られた溶液は、出発原料が液体クロマトグラフィー質量分析 ( LC - MS ) によって決定されるとおりに消滅するまで加熱還流される。冷却した後、溶液は気化され、水性精密検査を受ける。アミドと酸化合物の混合物を有する抽出物は、カラムクロマトグラフィーによって分離され、白色固形の純粋な標題化合物を得る、融点 225 ~ 226 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、DMSO - d<sub>6</sub> ) : d 8.94 ( 1 H、d、J = 6 Hz )、8.82 ( 1 H、s )、8.53 ( 1 H、d、J = 8 Hz )、8.39 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、8.11 ( 1 H、d、J = 8 Hz )、8.03 ( 1 H、d、J = 6 Hz )、7.71 ( 1 H、t、J = 8 Hz )、7.37 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、2.40 ( 3 H、s ) . MS ( ES+ ) : m / e 292 ( 20 )、291 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 290 ( 20 )、289 ( 100 ) .

40

## 【0220】

以下の化合物は、上記に説明された化合物 9 を参照して、同じように調製されてもよい。

50

。

## 化合物 16

4 - [ 2 - ( 3 - メトキシ - フェニル ) - ピリミジン - 4 - yl ] - 安息香酸 : m . p . 270 - 273 .  $^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz、 DMSO -  $d_6$  ) : d 13 . 22 ( 1H、 br s )、 9 . 00 ( 1H、 d、 J = 5 Hz )、 8 . 44 ( 2H、 d、 J = 8 Hz )、 8 . 14 - 8 . 03 ( 5H、 m )、 7 . 48 ( 1H、 t、 J = 8 Hz )、 7 . 16 - 7 . 11 ( 1H、 m )、 3 . 86 ( 3H、 s ) . MS ( ES+ ) : m / e 307 . 11 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 305 . 13 ( 100 ) .

【 0221】

10

## 化合物 17

4 - [ 2 - ( 4 - tert - Butyl - フェニル ) - ピリミジン - 4 - yl ] - 安息香酸 : m . p . 293 - 296 .  $^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz、 DMSO -  $d_6$  ) : d 13 . 23 ( 1H、 br s )、 8 . 97 ( 1H、 d、 J = 5 Hz )、 8 . 43 ( 4H、 d、 J = 8 Hz )、 8 . 12 ( 2H、 d、 J = 8 Hz )、 8 . 03 ( 1H、 d、 J = 5 Hz )、 7 . 57 ( 2H、 d、 J = 8 Hz ) . MS ( ES+ ) : m / e 333 . 18 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 331 . 15 ( 100 ) .

【 0222】

20

## 化合物 18

4 - [ 2 - ( 4 - フルオロ - フェニル ) - ピリミジン - 4 - yl ] - 安息香酸 : m . p . > 300 .  $^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz、 DMSO -  $d_6$  ) : d 13 . 21 ( 1H、 br s )、 8 . 99 ( 1H、 d、 J = 5 Hz )、 8 . 57 ( 2H、 dd、 J = 8、 6 Hz )、 8 . 44 ( 2H、 d、 J = 8 Hz )、 8 . 11 ( 2H、 d、 J = 8 Hz )、 8 . 08 ( 1H、 d、 J = 5 Hz )、 7 . 38 ( 2H、 t、 J = 8 Hz ) . MS ( ES+ ) : m / e 295 . 10 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 293 . 06 ( 100 ) .

【 0223】

30

## 化合物 19

4 - [ 2 - ( 3 - トリフルオロメトキシ - フェニル ) - ピリミジン - 4 - yl ] - 安息香酸 : m . p . > 300 .  $^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz、 DMSO -  $d_6$  ) : d 9 . 07 - 9 . 04 ( 1H、 m )、 8 . 37 ( 2H、 d、 J = 8 Hz )、 8 . 18 - 8 . 16 ( 1H、 m )、 8 . 13 - 8 . 08 ( 3H、 m )、 7 . 71 - 7 . 53 ( 3H、 m ) . MS ( ES+ ) : m / e 361 . 09 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 359 . 05 ( 100 ) .

。

【 0224】

## 化合物 20

40

4 - [ 2 - ( 3 - クロロ - フェニル ) - ピリミジン - 4 - yl ] - 安息香酸 : m . p . 291 - 294 .  $^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz、 DMSO -  $d_6$  ) : d 9 . 03 ( 1H、 d、 J = 5 Hz )、 8 . 49 - 8 . 43 ( 4H、 m )、 8 . 14 - 8 . 11 ( 3H、 m )、 7 . 65 - 7 . 60 ( 2H、 m ) . MS ( ES+ ) : m / e 311 . 07 ( 100 ) . MS ( ES- ) : m / e 309 . 06 ( 100 ) .

【 0225】

## 化合物 21

4 - [ 2 - ( 4 - トリフルオロメチルフェニル ) - ピリミジン - 4 - yl ] - 安息香酸 : 融点 > 300 .  $^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz、 DMSO -  $d_6$  ) :

50

d 13.22 (1H、br s)、9.06 (1H、d、J = 5 Hz)、8.70 (2H、d、J = 8 Hz)、8.46 (2H、d、J = 8 Hz)、8.15 (1H、d、J = 5 Hz)、8.12 (2H、d、J = 8 Hz)、7.93 (2H、d、J = 8 Hz)。MS (ES+): m/e 345.16 (100)。

## 【0226】

## 化合物61

4-[2-(2-トリフルオロメトキシ-フェニル)-ピリミジン-4-イル]-安息香酸: 融点 258-261。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.05 (1H、d、J = 5 Hz)、8.36 (2H、d、J = 8 Hz)、8.16-8.06 (4H、m)、7.70-7.51 (3H、m)。MS (ES+): m/e 361.12 (100)。

10

## 【0227】

## 化合物22

4-[2-(4-クロロ-フェニル)-ピリミジン-4-イル]-安息香酸: 融点 > 300。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 13.24 (1H、br s)、9.01 (1H、d、J = 5 Hz)、8.52 (2H、d、J = 8 Hz)、8.44 (2H、d、J = 8 Hz)、8.13-8.08 (3H、m)、7.62 (2H、d、J = 5 Hz)。MS (ES+): m/e 311.11 (100)。

20

## 【0228】

## 化合物23

4-[2-(2-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-4-イル]-安息香酸: 融点 > 300。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 13.22 (1H、br s)、9.04 (1H、d、J = 5 Hz)、8.39 (2H、d、J = 8 Hz)、8.14-8.08 (4H、m)、7.62-7.58 (1H、m)、7.40-7.36 (2H、m)。MS (ES+): m/e 295.15 (100)。

30

## 【0229】

## 化合物62

4-[2-(3-トリフルオロメチルフェニル)-ピリミジン-4-イル]-安息香酸: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.04 (1H、d、J = 5 Hz)、8.82 (1H、d、J = 8 Hz)、8.76 (1H、s)、8.42 (2H、d、J = 8 Hz)、8.16 (1H、d、J = 5 Hz)、8.07 (2H、d、J = 8 Hz)、7.94 (1H、d、J = 8 Hz)、7.82 (1H、d、J = 8 Hz)、7.55 (1H、s)。MS (ES+): m/e 345.21 (100)。

40

## 【0230】

## 化合物25

4-[2-(3-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-4-イル]-安息香酸: 融点 300-303。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 13.22 (1H、br s)、9.00 (1H、d、J = 5 Hz)、8.45-8.09 (7H、m)、7.59 (1H、m)、7.39 (1H、m)。MS (ES+): m/e 295.15 (100)。

## 【0231】

## 化合物26

4-(2-o-トリル-ピリミジン-4-イル)-安息香酸: 融点 198-200。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 13.21

50

(1H、br s)、9.02 (1H、d、J = 5 Hz)、8.37 (2H、d、J = 8 Hz)、8.11 - 8.07 (2H、m)、7.89 (1H、d、J = 5 Hz)、7.38 - 7.33 (3H、m)、2.58 (3H、s)。MS (ES+): m/e 291.20 (100)。

## 【0232】

## 化合物27

4-[2-(4-トリフルオロメトキシ-フェニル)-ピリミジン-4-yl]-安息香酸: m.p. 299-302。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.02 (1H、d、J = 5 Hz)、8.62 (2H、d、J = 8 Hz)、8.44 (2H、d、J = 8 Hz)、8.12 (1H、d、J = 5 Hz)、8.11 (2H、d、J = 8 Hz)、7.54 (2H、d、J = 8 Hz)。MS (ES+): m/e 361.18 (100)。

10

## 【0233】

## 化合物28

4-(2-フェニル-ピリミジン-4-yl)-安息香酸: m.p. >300。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.00 (1H、d、J = 5 Hz)、8.54 - 8.50 (2H、m)、8.45 (2H、d、J = 8 Hz)、8.11 (2H、d、J = 8 Hz)、8.08 (1H、d、J = 5 Hz)、7.57 - 7.54 (3H、m)。MS (ES+): m/e 277.22 (100)。

20

## 【0234】

## 化合物30

4-[2-(4-メトキシ-フェニル)-ピリミジン-4-yl]-安息香酸: m.p. >300。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 13.20 (1H、br s)、8.93 (1H、d、J = 5 Hz)、8.46 (2H、d、J = 8 Hz)、8.42 (2H、d、J = 8 Hz)、8.11 (2H、d、J = 8 Hz)、7.98 (1H、d、J = 5 Hz)、7.09 (2H、d、J = 8 Hz)、3.84 (3H、s)。MS (ES+): m/e 307.27 (100)。MS (ES-): m/e 305.23 (100)。

30

## 【0235】

## 化合物31

4-[2-(2-トリフルオロメチルフェニル)-ピリミジン-4-yl]-安息香酸: m.p. 251-252。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.04 (1H、d、J = 5 Hz)、8.35 (2H、d、J = 8 Hz)、8.19 (1H、d、J = 5 Hz)、8.08 (2H、d、J = 8 Hz)、7.92 - 7.73 (4H、m)。MS (ES+): m/e 345.29 (100)。

40

## 【0236】

## C. 4、6-ピリミジン

通常以下のように図式Cにしたがって、式1-Cおよび2-Cの4、6ピリミジンを調製してもよい。

4-(6-m-トリル-ピリミジン-4-yl)-安息香酸 (化合物2)の調製  
 パートA. 50 mLの三口丸底フラスコは、2、4-ジクロロピリミジン(0.58 g、3.89 mmol)、3-メチルフェニル硼酸(0.31 g、2.28 mmol)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.73 g、6.88 mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(13.0 mg、1.12 × 10<sup>-2</sup> mmol)で満たされる。フラスコは気化され、N<sub>2</sub>・DMF(15 mL、無水)で再び満たされ、その次にフラスコに

50

加えられる。フラスコは再び気化され、 $N_2$  で再び満たされ、2度繰り返される。反応物は一晩中100度に加熱される。反応混合物は、エチルエーテルと水との間に分割される。有機層は塩水で洗浄され、 $MgSO_4$  で乾燥され、その後、除去される。残留物はフラッシュカラムクロマトグラフィーによってさらに精製され、塩化メチレン/ヘキサン(1:10)と溶離され、45.7mg(生成率5.8%)の目的の生成物を得る。採取された化合物(4-クロロ-6-m-トリル-ピリミジン)は、液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)による測定で純度>80%である。MS(ES+): m/e 205.23。

#### 【0237】

パートB. 10mLのマイクロ波管は、4-クロロ-6-m-トリル-ピリミジン(45.7mg、0.22mmol)、4-カルボキシフェニルボロン酸(39.2mg、0.23mmol)、(235.3mg、2.22mmol)、 $Na_2CO_3$ (70.6mg、0.67mmol)、テトラブチルアンモニウムヨウ化物(83.0mg、0.22mmol)、酢酸パラジウム(0.5mg、 $2.2 \times 10^{-3}$  mmol)および2mLの水で満たされる。反応混合物は、250psi、60wにて、マイクロ波反応装置内において150で10分間加熱される。反応混合物は、5mLの6N HClに加えられ、酢酸エチル(10mL)によって抽出される。有機部分は飽和 $NaHCO_3$  および塩水で洗浄され、( $MgSO_4$ )乾燥され、回転式蒸発器で濃縮される。油状の残留物は、酢酸エチル/ヘキサン(1:1)中で懸濁され、目的の生成物融点211~213の9.8mg(生成率15.1%)の白色粉末を得る。 $^1H$  NMR(300 MHz、DMSO- $d_6$ ): 9.31(1H、s)、8.66(1H、s)、8.46(2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、8.20(1H、s)、8.15(1H、dd、 $J = 8.0$ 、1.2 Hz)、8.09(2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、7.45(1H、t、 $J = 7.7$  Hz)、7.38(1H、dd、 $J = 7.7$ 、1.0 Hz)。MS(ES+): m/e 291.58。

#### 【0238】

以下の化合物は、上記に説明された化合物2を参照して、同じように調製されてもよい。

#### 化合物3

3-(6-p-トリル-ピリミジン-4-イル)-安息香酸: 融点. 201~203.  $^1H$  NMR(300 MHz、DMSO- $d_6$ ): 9.19(1H、s)、8.69(1H、s)、8.30(1H、dd、 $J = 7.9$ 、1.1 Hz)、8.11(1H、dd、 $J = 7.7$ 、1.0 Hz)、8.06(1H、s)、7.97(2H、d、 $J = 8.2$  Hz)、7.52(1H、t、 $J = 7.7$  Hz)、7.25(2H、d、 $J = 8.2$  Hz)。MS(ES+): m/e 292.40(20)、291.37(100)。MS(ES-): m/e 291.46(20)、290.47(100)。

#### 【0239】

#### D. 2、4-ピリミジンの調製

通常以下のように図式Dにしたがって、式1-Dおよび2-Dの2、4ピリミジンを調製してもよい。

3-[4-(4-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-2-イル]-安息香酸(化合物32)の調製。

#### 【0240】

パートA. 4-フルオロアセトフェノン(1.01g、7.31mmol)およびN-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール(0.87g、7.32mmol)が10mLのマイクロ波管に加えられた。管は、250psi、300Wにて、100で10分間加熱される。ヘキサンを加えることにより、黄色固形物が沈殿する。目的の生成物

(1.03 g、生成率73.0%)は、ろ過により収集され、ヘキサンにて洗浄される。採取された化合物、3-ジメチルアミノ-1-(4-フルオロ-フェニル)-プロパン-1-オンは、液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)による測定で純度>90%である。MS(ES+): m/e 194.14。

## 【0241】

パートB. 3-カルバミドリル-安息香酸tert-ブチルエステル(220.2 mg、0.94 mmol)、3-ジメチルアミノ-1-(4-フルオロ-フェニル)-プロパン-1-オン(182.6 mg、0.95 mmol)および水酸化ナトリウム(39.2 mg、1.63 mmol、ヘキサン中60%)の混合物に乾燥エタノール(5.0 mL)を加える。出発原料の完全な消滅がTLCによって確認されるまで、得られた混合物は8時間還流で攪拌される。溶剤は除去され、残留物は1NHCl(15 mL)に加えられ、黄色固形物を沈殿させる。標題生成物(137.8 mg、生成率41.3%)は、水で、その次に順にエチルエーテル融点239~241で洗浄後、生成される。<sup>1</sup>H NMR(300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): 9.05(1H、s)、8.97(1H、d、J=5.0 Hz)、8.73(1H、dd、J=7.7、1.2 Hz)、8.38(2H、m)、8.11(1H、dd、J=8.0、1.2 Hz)、8.04(1H、d、J=5.3 Hz)、7.68(1H、t、J=7.8 Hz)、7.43(2H、m)。MS(ES+): m/e 295.27。

10

## 【0242】

以下の化合物は、上記に説明された化合物32を参照して、同じように調製されてもよい。

20

## 化合物33

4-[4-(4-ブromo-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 302-305. <sup>1</sup>H NMR(300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.00(1H、d、J=5.1 Hz)、8.60(2H、d、J=8.3 Hz)、8.30(2H、d、J=8.5 Hz)、8.10(3H、m)、7.85(2H、d、J=8.5 Hz)。MS(ES+): m/e 358.13(20)、357.12(100)。MS(ES-): m/e 356.01(20)、355.08(100)。

30

## 【0243】

## 化合物34

4-[4-(4-トリフルオロメトキシ-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 234-236. <sup>1</sup>H NMR(300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 9.01(1H、d、J=5.4 Hz)、8.58(2H、d、J=8.3 Hz)、8.46(2H、d、J=8.8 Hz)、8.09(3H、m)、7.57(2H、d、J=8.3 Hz)。MS(ES+): m/e 362.22(20)、361.23(100)。MS(ES-): m/e 360.20(20)、359.20(100)。

40

## 【0244】

## 化合物35

4-(4-p-トリル-ピリミジン-2-イル)-安息香酸: 融点 287~289. <sup>1</sup>H NMR(300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>): d 8.94(1H、d、J=5.4 Hz)、8.60(2H、d、J=8.3 Hz)、8.23(2H、d、J=8.3 Hz)、8.10(2H、d、J=8.5 Hz)、8.02(1H、d、J=5.4 Hz)、7.38(2H、d、J=8.1 Hz)、2.40(3H、s)。MS(ES+): m/e 292.29(20)、291.26(100)。

50

0) . MS (ES-) : m/e 290.24 (20)、289.26 (100)。

## 【0245】

## 化合物36

4-[4-(4-イソプロピル-フェニル)-ピリミジン-2-イル]-安息香酸:

融点 . 243~245 . <sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 8.95 (1H、d、J = 5.1 Hz)、8.60 (2H、d、J = 8.0 Hz)、8.25 (2H、d、J = 8.3 Hz)、8.10 (2H、d、J = 8.3 Hz)、8.01 (1H、d、J = 5.1 Hz)、7.45 (2H、d、J = 8.0 Hz)、2.97 (1H、m)、1.25 (6H、d、J = 5.1 Hz) . MS (ES+) : m/e 320.30 (20)、319.29 (100) . MS (ES-) : m/e 318.30 (20)、317.30 (100) .

10

## 【0246】

## 化合物37

4-[4-(4-メトキシ-フェニル)-ピリミジン-2-イル]-安息香酸: 融点

263~265 . <sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 8.89 (1H、d、J = 5.5 Hz)、8.59 (2H、d、J = 7.2 Hz)、8.32 (2H、d、J = 7.5 Hz)、8.10 (2H、d、J = 7.2 Hz)、8.00 (1H、d、J = 5.5 Hz)、7.12 (2H、d、J = 7.5 Hz)、3.84 (3H、s) . MS (ES+) : m/e 308.26 (20)、307.25 (100) . MS (ES-) : m/e 306.34 (20)、305.25 (100) .

20

## 【0247】

## 化合物38

4-[4-(3-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-2-イル]-安息香酸: 融点

. 249-252 . <sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 9.02 (1H、d、J = 5.5 Hz)、8.61 (2H、d、J = 8.0 Hz)、8.12 (5H、m)、7.65 (1H、m)、7.41 (1H、m) . MS (ES+) : m/e 296.22 (20)、295.20 (100) . MS (ES-) : m/e 294.26 (20)、293.21 (100) .

30

## 【0248】

## 化合物39

4-(4-Biフェニル-4-yl-ピリミジン-2-イル)-安息香酸: 融点

293-296 . <sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 9.01 (1H、d、J = 5.2 Hz)、8.63 (2H、d、J = 8.5 Hz)、8.45 (2H、d、J = 8.0 Hz)、8.12 (3H、m)、7.89 (2H、d、J = 8.3 Hz)、7.77 (2H、d、J = 8.3 Hz)、7.44 (3H、m) . MS (ES+) : m/e 354.26 (20)、353.24 (100) . MS (ES-) : m/e 352.25 (20)、351.23 (100) .

40

## 【0249】

## 化合物40

4-[4-(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-yl)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 272-274 . <sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 8.89 (1H、d、J = 5.3 Hz)、8.58 (2H、d、J = 8.4 Hz)、8.0

50

9 (2H、d、J = 8.4 Hz)、7.97 (1H、d、J = 5.3 Hz)、7.87 (2H、m)、7.03 (1H、d、J = 9.1 Hz)、4.32 (4H、t、J = 1.2 Hz)。MS (ES+) : m/e 336.27 (20)、335.25 (100)。MS (ES-) : m/e 334.31 (20)、333.29 (100)。

## 【0250】

## 化合物41

4-[4-(4-Imidazol-1-yl-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸 : m.p. >305。MS (ES+) : m/e 344.25 (20)、343.23 (100)。MS (ES-) : m/e 342.28 (20)、341.27 (100)。

10

## 【0251】

## 化合物63

4-[4-(3-トリフルオロメチルフェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸 : m.p. 271-273。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 9.04 (1H、d、J = 5.2 Hz)、8.60 (4H、m)、8.20 (1H、d、J = 5.2 Hz)、8.10 (2H、d、J = 8.3 Hz)、7.95 (1H、dd、J = 7.4、0.9 Hz)、7.82 (1H、t、J = 7.4 Hz)。MS (ES+) : m/e 346.28 (20)、345.26 (100)。MS (ES-) : m/e 344.25 (20)、343.25 (100)。

20

## 【0252】

## 化合物64

4-(4-m-トリル-ピリミジン-2-yl)-安息香酸 : m.p. 220-222。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 8.97 (1H、d、J = 4.3 Hz)、8.60 (2H、d、J = 7.4 Hz)、8.12 (4H、m)、8.06 (1H、d、J = 4.3 Hz)、7.45 (2H、m)、2.43 (3H、s)。MS (ES+) : m/e 292.29 (20)、291.28 (100)。MS (ES-) : m/e 290.29 (20)、289.29 (100)。

30

## 【0253】

## 化合物65

4-[4-(2-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸 : m.p. 234-236。MS (ES+) : m/e 296.22 (20)、295.20 (100)。MS (ES-) : m/e 294.25 (20)、293.23 (100)。

## 【0254】

## 化合物66

4-[4-(4-トリフルオロメチルフェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸 : m.p. 282-285。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、DMSO-d<sub>6</sub>) : d 9.05 (1H、d、J = 5.2 Hz)、8.59 (2H、d、J = 7.7 Hz)、8.51 (2H、d、J = 8.3 Hz)、8.14 (1H、d、J = 5.2 Hz)、8.09 (2H、d、J = 7.7 Hz)、7.92 (2H、d、J = 8.3 Hz)。MS (ES+) : m/e 346.39 (20)、345.42 (100)。MS (ES-) : m/e 344.45 (20)、343.45 (100)。

40

## 【0255】

## 化合物67

4-[4-(4-Morpholin-4-yl-フェニル)-ピリミジン-2-yl]

50

] - 安息香酸 : m . p . 289 - 291 .  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO -  $d_6$ ) : d 8.83 (1H、d、 $J = 5.5$  Hz)、8.58 (2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、8.22 (2H、d、 $J = 8.5$  Hz)、8.08 (2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、7.90 (1H、d、 $J = 5.5$  Hz)、7.08 (2H、d、 $J = 8.5$  Hz)、3.74 (4H、t、 $J = 1.2$  Hz)、3.26 (4H、t、 $J = 1.2$  Hz) . MS (ES+) : m/e 363.32 (20)、362.31 (100) . MS (ES-) : m/e 361.31 (20)、360.29 (100) .

## 【0256】

10

## 化合物68

3 - [4 - (4 - ブロモ - フェニル) - ピリミジン - 2 - yl] - 安息香酸 : m . p . >300 . MS (ES+) : m/e 357 (100)、355 (100) .

## 【0257】

## 化合物69

3 - [4 - (4 - トリフルオロメトキシ - フェニル) - ピリミジン - 2 - yl] - 安息香酸 : m . p . 241 - 243 .  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO -  $d_6$ ) : d 9.05 (1H、s)、9.00 (1H、d、 $J = 5.5$  Hz)、8.73 (1H、dd、 $J = 8.0$ 、1.1 Hz)、8.43 (2H、d、 $J = 8.6$  Hz)、8.07 (2H、m)、7.68 (1H、t、 $J = 8.0$  Hz)、7.57 (2H、d、 $J = 8.6$  Hz) . MS (ES+) : m/e 362.24 (20)、361.23 (100) . MS (ES-) : m/e 360.25 (20)、359.25 (100) .

20

## 【0258】

## 化合物70

3 - [4 - (4 - イソプロピル - フェニル) - ピリミジン - 2 - yl] - 安息香酸 : m . p . 242 - 244 .  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO -  $d_6$ ) : d 9.07 (1H、s)、8.94 (1H、d、 $J = 5.2$  Hz)、8.73 (1H、dd、 $J = 7.7$ 、1.0 Hz)、8.23 (2H、d、 $J = 8.4$  Hz)、8.10 (1H、dd、 $J = 8.0$ 、1.2 Hz)、7.98 (1H、d、 $J = 5.2$  Hz)、7.69 (1H、t、 $J = 7.7$  Hz)、7.45 (2H、d、 $J = 8.4$  Hz)、2.95 (1H、m)、1.23 (6H、d、 $J = 6.9$  Hz) . MS (ES+) : m/e 320.30 (20)、319.29 (100) . MS (ES-) : m/e 318.40 (20)、317.30 (100) .

30

## 【0259】

## 化合物71

3 - [4 - (4 - メトキシ - フェニル) - ピリミジン - 2 - yl] - 安息香酸 : m . p . 243 - 244 .  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO -  $d_6$ ) : d 9.06 (1H、s)、8.89 (1H、d、 $J = 5.2$  Hz)、8.72 (1H、dd、 $J = 7.4$ 、1.0 Hz)、8.30 (2H、d、 $J = 9.0$  Hz)、8.09 (1H、dd、 $J = 7.4$ 、1.0 Hz)、7.95 (1H、d、 $J = 5.5$  Hz)、7.66 (1H、t、 $J = 7.7$  Hz)、7.13 (2H、d、 $J = 9.0$  Hz)、3.85 (3H、s) . MS (ES+) : m/e 308.30 (20)、307.29 (100) . MS (ES-) : m/e 306.26 (20)、305.25 (100) .

40

50

## 【0260】

## 化合物72

3-[4-(2-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 201-203.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): d 9.01 (2H, m), 8.70 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.0$  Hz), 8.23 (1H, t,  $J = 6.9$  Hz), 8.10 (1H, dd,  $J = 7.7, 0.9$  Hz), 7.85 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz), 7.61 (2H, m), 7.41 (2H, m). MS (ES+): m/e 296.27 (20), 295.27 (100). MS (ES-): m/e 294.28 (20), 293.26 (100).

10

## 【0261】

## 化合物42

3-[4-(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-yl)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 239-241.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): d 9.05 (1H, s), 8.88 (1H, d,  $J = 5.2$  Hz), 8.70 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.2$  Hz), 8.09 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 7.95 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz), 7.86 (1H, s), 7.82 (1H, m), 7.67 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.01 (1H, dd,  $J = 8.3, 1.3$  Hz), 4.32 (4H, t,  $J = 1.2$  Hz). MS (ES+): m/e 336.27 (20), 335.25 (100). MS (ES-): m/e 334.22 (20), 333.23 (100).

20

## 【0262】

## 化合物73

3-(4-p-トリル-ピリミジン-2-yl)-安息香酸: m.p. 252-253.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): d 9.06 (1H, s), 8.93 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz), 8.73 (1H, dd,  $J = 7.4, 1.0$  Hz), 8.22 (2H, d,  $J = 7.7$  Hz), 8.09 (1H, dd,  $J = 6.9, 0.8$  Hz), 7.99 (1H, d,  $J = 5.2$  Hz), 7.68 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.39 (2H, d,  $J = 7.7$  Hz), 2.38 (3H, s). MS (ES+): m/e 292.30 (20), 291.28 (100). MS (ES-): m/e 290.33 (20), 289.15 (100).

30

## 【0263】

## 化合物74

3-[4-(3-フルオロ-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 253-255.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): d 9.05 (1H, s), 9.00 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz), 8.74 (1H, dd,  $J = 7.2, 1.0$  Hz), 8.18 (4H, m), 7.68 (2H, m), 7.43 (1H, m). MS (ES+): m/e 296.41 (20), 295.39 (100). MS (ES-): m/e 294.41 (20), 293.42 (100).

40

## 【0264】

## 化合物75

3-(4-Biフェニル-4-yl-ピリミジン-2-yl)-安息香酸: m.p. 296-299.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): d 9.18 (1H, s), 9.00 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz),

50

8.77 (1H、dd、 $J = 7.8, 1.1$  Hz)、8.43 (2H、d、 $J = 8.0$  Hz)、8.17 (2H、m)、7.95 (2H、d、 $J = 8.0$  Hz)、7.87 (3H、m)、7.43 (3H、m)。MS (ES+):  $m/e$  354.28 (20)、353.31 (100)。MS (ES-):  $m/e$  352.29 (30)、351.21 (100)。

## 【0265】

## 化合物76

3-(4-m-トリル-ピリミジン-2-yl)-安息香酸: m.p. 217-219。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO- $d_6$ ): d 9.06 (1H、s)、8.96 (1H、d、 $J = 5.5$  Hz)、8.77 (1H、dd、 $J = 7.9, 1.0$  Hz)、8.13 (3H、m)、8.02 (1H、d、 $J = 5.5$  Hz)、7.69 (1H、t、 $J = 7.0$  Hz)、7.41 (2H、m)、2.43 (3H、s)。MS (ES+):  $m/e$  292.30 (20)、291.28 (100)。MS (ES-):  $m/e$  290.18 (20)、289.26 (100)。

10

## 【0266】

## 化合物77

3-[4-(3-トリフルオロメチルフェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 271-273。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO- $d_6$ ): d 9.02 (2H、m)、8.70 (1H、dd、 $J = 8.8, 1.2$  Hz)、8.68 (2H、m)、8.15 (1H、d、 $J = 5.2$  Hz)、8.08 (1H、dd、 $J = 7.2, 1.0$  Hz)、7.91 (1H、m)、7.80 (1H、m)、7.67 (1H、t、 $J = 7.0$  Hz)。MS (ES+):  $m/e$  346.26 (20)、345.26 (100)。MS (ES-):  $m/e$  344.26 (20)、343.25 (100)。

20

## 【0267】

## 化合物78

3-[4-(4-トリフルオロメチルフェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. 271-273。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO- $d_6$ ): d 9.04 (2H、m)、8.72 (1H、dd、 $J = 7.7, 1.0$  Hz)、8.49 (2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、8.10 (2H、m)、7.93 (2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、7.68 (1H、t、 $J = 7.4$  Hz)。MS (ES+):  $m/e$  346.26 (20)、345.26 (100)。MS (ES-):  $m/e$  344.22 (20)、343.24 (100)。

30

## 【0268】

## 化合物79

3-[4-(4-Imidazol-1-yl-フェニル)-ピリミジン-2-yl]-安息香酸: m.p. >310。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、DMSO- $d_6$ ): d 9.64 (1H、s)、9.03 (2H、m)、8.73 (1H、dd、 $J = 7.8, 1.0$  Hz)、8.52 (2H、d、 $J = 8.3$  Hz)、8.32 (1H、s)、8.15 (4H、m)、7.70 (2H、m)。MS (ES+):  $m/e$  344.30 (20)、343.30 (100)。MS (ES-):  $m/e$  342.27 (20)、341.27 (100)。

40

## 【0269】

## 化合物57

50

4 - [ 4 - ( 3, 4 - Diメトキシ - フェニル ) - ピリミジン - 2 - yl ] - 安息香酸  
 : m.p. 250 - 252 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz, DMSO -  
 d<sub>6</sub> ) : d 8.89 ( 1H, d, J = 5.5 Hz ), 8.59 ( 2  
 H, d, J = 8.5 Hz ), 8.10 ( 2H, d, J = 8.5  
 Hz ), 8.01 ( 1H, d, J = 5.5 Hz ), 7.93 ( 1H,  
 d, J = 8.5 Hz ), 7.88 ( 1H, s ), 7.12 ( 1H,  
 d, J = 8.5 Hz ), 3.90 ( 3H, s ), 3.84 ( 3H,  
 s ). MS ( ES+ ) : m/e 338.27 ( 20 ), 337.22 ( 100 ). MS ( ES- ) : m/e 336.26 ( 20 ), 335.26 ( 100 ).

10

## 【0270】

## 化合物58

3 - [ 4 - ( 3, 4 - Diメトキシ - フェニル ) - ピリミジン - 2 - yl ] - 安息香酸  
 : m.p. 240 - 243 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz, DMSO -  
 d<sub>6</sub> ) : d 8.90 ( 1H, d, J = 5.2 Hz ), 8.60 ( 2  
 H, m ), 8.09 ( 2H, m ), 8.02 ( 1H, d, J = 5.  
 2 Hz ), 7.86 ( 1H, dd, J = 8.5, 1.3 Hz ), 7.  
 70 ( 1H, s ), 7.14 ( 1H, dd, J = 8.3, 1.2  
 Hz ), 3.91 ( 3H, s ), 3.84 ( 3H, s ). MS ( ES+ ) : m/e 338.28 ( 20 ), 337.25 ( 100 ). MS ( ES- ) : m/e 336.27 ( 20 ), 335.26 ( 100 ).

20

## 【0271】

## 化合物59

4 - [ 4 - ( 4 - ジメチルアミノ - フェニル ) - ピリミジン - 2 - yl ] - 安息香酸 :  
 m.p. 292 - 295 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz, DMSO - d<sub>6</sub> ) : d 8.78 ( 1H, d, J = 5.5 Hz ), 8.58 ( 2H, d, J = 8.5 Hz ), 8.21 ( 2H, d, J = 9.1 Hz ), 8.09 ( 2H, d, J = 8.5 Hz ), 7.85 ( 1H, d, J = 5.5 Hz ), 6.84 ( 2H, d, J = 9.1 Hz ), 3.02 ( 6H, s ). MS ( ES+ ) : m/e 321.32 ( 20 ), 320.30 ( 100 ). MS ( ES- ) : m/e 319.33 ( 20 ), 318.30 ( 100 ).

30

## 【0272】

## 化合物60

3 - [ 4 - ( 4 - ジメチルアミノ - フェニル ) - ピリミジン - 2 - yl ] - 安息香酸 :  
 融点 281 - 283 . MS ( ES+ ) : m/e 321.32 ( 50 ), 320.30 ( 100 ). MS ( ES- ) : m/e 319.33 ( 20 ), 318.29 ( 100 ).

## 【0273】

4 - [ 4 - メチル 6 - ( 4 - トリフルオロメチルフェニル ) - ピリミジン - 2 - yl ] - 安息香酸 ( 化合物 52 ) [ PTC - 0169003 ] の調製

40

パート A . 10 mL のマイクロ波管に 4 - トリフルオロメチルアセトフェノン ( 0.95 g, 7.32 mmol ) およびジメチルアセトアミドジメチルアセタール ( 1.60 g, 12.01 mmol ) を加える。管は、250 psi、300 W にて 140 で 30 分間加熱される。ヘキサン加えることによって、白色固形物が沈殿する。目的の生成物 ( 290.1 mg、生成率 22.1% ) はろ過により収集され、ヘキサンで洗浄される。採取された化合物、3 - ジメチルアミノ - 1 - ( 4 - トリフルオロメチルフェニル ) - ブタ - 2 - エン - 1 - オンは、液体クロマトグラフィー質量分析 ( LC - MS ) による測定で純度 > 90% である。MS ( ES+ ) : m/e 258.20.

## 【0274】

50

パートB. 3-ジメチルアミノ-1-(4-トリフルオロメチルフェニル)-ブタ-2-エン-1-オン(290.1mg、1.13mmol)、4-カルバミドリル-安息香酸tert-ブチルエステル(220.3mg、1.00mmol、3-カルバミドリル-安息香酸tert-ブチルエステルと同じように調製される)および水酸化ナトリウム(79.9mg、2.00mmol、ヘキサン中60%)の混合物に乾燥エタノール(5.0mL)を加える。出発原料の完全な消滅がTLCによって確認されるまで、得られた混合物は14時間還流で攪拌される。溶剤は除去され、残留物はpHが<7になるまで1N HClによって中和され、白色固形物を沈殿させ、これはろ過により収集され、続いて水およびエチルエーテル/ヘキサン(1:1)で洗浄される。採取された固形物は、フラッシュカラムクロマトグラフィーによってさらに精製され、メタノール/塩化メチレン(1:40)と溶離され、標題生成物(10.7mg、生成率2.7%)、融点272-275を得る。<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 2 drops DMSO-d<sub>6</sub>): 8.54(2H, d, J = 8.3 Hz)、8.23(2H, d, J = 8.6 Hz)、8.09(2H, d, J = 8.3 Hz)、7.71(2H, d, J = 8.6 Hz)、7.48(1H, s)、2.61(3H, s)。MS(ES+): m/e 359.27。

以下の化合物は、上記に説明された化合物52を参照して、同じように調製されてもよい。

#### 化合物56

3-[4-(4-フルオロ-フェニル)-6-メチルピリミジン-2-イル]-安息香酸: 融点. 305-307. <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): d 8.60(2H, d, J = 8.0 Hz)、8.41(2H, m)、8.08(2H, d, J = 8.0 Hz)、7.96(1H, s)、7.41(2H, m)、2.60(3H, s)。MS(ES+): m/e 310.34(20)、309.34(100)。MS(ES-): m/e 308.30(20)、307.32(100)。

#### 【0275】

3-[4-(4-フルオロ-フェニル)-5-メチルピリミジン-2-イル]-安息香酸(化合物55)の調製

パートA. 4-フルオロプロピオフェノン(1.83g、10.60mmol)およびN,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール(4.45g、37.35mmol)の混合物は加熱され、16時間還流される。溶剤(3-ジメチルアミノ-1-(4-フルオロ-フェニル)-プロパン-1-オンを含有する)を除去した後で採取される残留物は、精製することなく次のステップで使用される。

#### 【0276】

パートB. 無水酢酸(8mL)中の3-ジメチルアミノ-1-(4-フルオロ-フェニル)-プロパン-1-オン(641.9mg、3.10mmol)および3-カルバミドリル-安息香酸tert-ブチルエステル(426.1mg、1.91mmol)の混合物は、250psi、300Wにて、マイクロ波反応装置内において130で30分加熱される。1N HClを加えることによって、白色固形物が沈殿し、ろ過により収集され、続いて、水およびヘキサンで洗浄される。採取された固形物は、フラッシュカラムクロマトグラフィーによってさらに精製され、メタノール/塩化メチレン(1:40)と溶離され、標題生成物(114.1mg、生成率12.0%)、融点 272~275

を得る。<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.50(2H, d, J = 8.0 Hz)、8.06(2H, d, J = 8.0 Hz)、7.85(2H, m)、8.13(2H, m)、7.38(2H, m)、2.40(3H, s)。MS(ES+): m/e 309.34。

#### 【0277】

以下の化合物は、上記に説明された化合物 55 を参照して、同じように調製されてもよい。

#### 化合物 54

3 - [ 4 - ( 2 - フルオロ - フェニル ) - 5 - メチルピリミジン - 2 - イル ] - 安息香酸 : 融点 . 279 - 281 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz, DMSO - d<sub>6</sub> ) : δ 8.92 ( 1H, s ), 8.46 ( 2H, m ), 8.05 ( 2H, m ), 7.43 ( 2H, m ), 7.38 ( 2H, m ), 2.22 ( 3H, s ). MS ( ES+ ) : m/e 310.29 ( 20 ), 309.27 ( 100 ). MS ( ES- ) : m/e 308.29 ( 20 ), 307.27 ( 100 ).

【 0278 】

#### E . 2、4 - ピリジンの調製

通常以下のように図式 E にのっとして、式 1 - E および 2 - E の 2、4 ピリミジンを調製してもよい。

3 - [ 4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 2 - イル ] - 安息香酸 ( 化合物 7 ) の調製

パート A . アセトニトリル - 水 ( 50 mL / 20 mL ) 中の 4 - プロモピリジン塩酸塩 ( 1.0 g、6.3 mmol ) 溶液は、4 - イソプロピルベンゼンボロン酸 ( 1.04 g、6.3 mmol ) および炭酸ソーダ ( 2.1 g、25.2 mmol ) で処理される。混合物は 2 度ガス抜きされ、テトラキス ( トリフェニルホスフィン ) の触媒量が加えられる。混合物は 12 時間加熱還流され、その後冷却され、水 ( 50 mL ) に注入される。混合物はろ過され、酢酸エチル ( 3 × 50 mL ) によって抽出される。抽出物を混合し、塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、気化し、1.01 g の十分な純粋な生成物、4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジンを得る。

【 0279 】

パート B . ジクロロメタン ( 20 mL ) 中の 4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン ( 1.01 g、5.1 mmol ) 溶液は 0 まで冷却され、ジクロロメタン ( 20 mL ) 中の m - クロロペルオキシ安息香酸 ( 1.33 g、7.6 mmol ) 溶液は滴状に加えられる。混合物は 12 時間以上攪拌しながら室温に温められ、その後、2 時間加熱還流される。m - クロロペルオキシ安息香酸 ( 0.5 g ) の超過分が加えられ、引き続き 2 時間還流される。溶液は冷却され、引き続き、10% の亜硫酸ナトリウム水溶液、10% の炭酸ソーダ水溶液および飽和塩水で洗浄される。有機相は無水硫酸マグネシウムで乾燥され、気化される。残留物はフラッシュクロマトグラフィーによって分離され、4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - N - 酸化物 ( 0.85 g、78% ) を得る。

【 0280 】

パート C . 4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - N - 酸化物 ( 126 mg、0.59 mmol ) およびオキシ塩化リン ( 5 mL ) の混合物を 12 時間加熱還流させる。混合物は冷却され、気化され、残留物は水中に溶解し、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 飽和水溶液によって中和され、酢酸エチルによって抽出される。抽出物は塩水で洗浄され、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物はカラムクロマトグラフィーによって分離され、2 - クロロ - 4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン ( 110 mg、81% ) をえる。

【 0281 】

パート D . アセトニトリル - 水 ( 1 mL / 0.5 mL ) 中の 2 - クロロ - 4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン ( 110 mg、0.48 mmol ) 溶液は、3 - カルボエトキシベンゼンボロン酸 ( 186 mg、0.96 mmol )、炭酸ソーダ ( 153 mg、1.44 mmol ) およびテトラキス ( トリフェニルホスフィン ) パラジウム ( 触媒量 ) で処理される。混合物は 12 時間加熱還流され、その後冷却され、水と酢酸エチル間で分割される。有機相は塩水で洗浄され、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物はカラムクロマトグラフィーによって分離され、エチル 3 - [ 4 - ( 4

10

20

30

40

50

- イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 2 - イル ] - 安息香酸エステル ( 116 mg、70% ) を得る。

【0282】

パートE . メタノール水 ( 3 mL / 1 mL ) 中のエチル 3 - [ 4 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 2 - イル ] - 安息香酸エステル ( 116 mg、0.34 mmol ) 溶液は、水酸化リチウム水和物 ( 41 mg、1.7 mmol ) で処理される。混合物は室温で12時間攪拌され、その後、水とジエチルエーテル間で分割される。水相は3N HCl水溶液によりpH7まで中和され、酢酸エチルによって抽出される。抽出物は塩水で洗浄され、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化され、白色粉末 ( 92 mg、85% )、融点233~234 の標題化合物を得る。<sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、メタノール-d<sub>4</sub> ) : d 8.66 ( 1H、s )、8.65 ( 1H、d、J = 8 Hz )、8.25 ( 1H、d、J = 8 Hz )、8.14 - 8.11 ( 2H、m )、7.78 ( 2H、d、J = 9 Hz )、7.69 - 7.62 ( 2H、m )、7.42 ( 2H、d、J = 9 Hz )、3.00 ( 1H、heptet、J = 7 Hz )、1.30 ( 6H、d、J = 7 Hz ) . MS ( ES+ ) : m/e x . MS ( ES- ) : m/e 319 ( 20 )、318 ( 100 ) .

10

【0283】

以下の化合物は、上記に説明された化合物7を参照して、同じように調製されてもよい。

20

化合物13

4 - ( 4 - p - トリル - ピリジン - 2 - イル ) - 安息香酸 : 融点 288 ~ 291 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、DMSO - d<sub>6</sub> ) : d 8.78 ( 1H、d、J = 7 Hz )、8.42 ( 1H、s )、8.30 ( 2H、d、J = 9 Hz )、8.08 ( 2H、d、J = 9 Hz )、7.94 - 7.90 ( 3H、m )、7.38 ( 2H、d、J = 9 Hz )、2.39 ( 3H、s ) . MS ( ES+ ) : m/e 291 ( 19 )、290 ( 100 ) .

【0284】

F . 3、5 - ピリジン

30

通常以下のように図式Fにのっとり、式1 - Fおよび2 - Fの3、5ピリミジンを調製してもよい。

3 - [ 5 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 3 - イル ] - 安息香酸 ( 化合物11 ) の調製

パートA . エタノール - トルエン - 水 ( 10 mL / 5 mL / 3 mL ) の混合物中の3、5 - ジプロモピリジン ( 1.0 g、4.2 mmol ) と4 - イソプロピルベンゼンボロン酸 ( 346 mg、2.1 mmol ) の溶液は、炭酸ソーダ ( 450 mg ) で処理される。混合物は2度ガス抜きされ、テトラキス ( トリフェニルホスフィン ) パラジウムの触媒量で処理され、攪拌しながら12時間80度まで加熱する。混合物は冷却され、ろ過され、気化される。残留物は水と酢酸エチルとの間で分割され、有機相は塩水洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物はカラムクロマトグラフィーによって分離され、3 - プロモ - 5 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン ( 300 mg、55% ) を得る。

40

【0285】

パートB . Aエタノール - トルエン - 水 ( 10 mL / 5 mL / 3 mL ) 中の3 - プロモ - 5 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン ( 300 mg、1.1 mmol ) と3 - カルボエトキシベンゼンボロン酸 ( 180 mg、1.1 mmol ) の溶液は、炭酸ソーダ ( 345 mg ) で処理される、2度ガス抜きされ、テトラキス ( トリフェニルホスフィン ) パラジウムの触媒量で処理される。出発原料がTLCによって決定されるとおりに消滅するまで、混合物は攪拌されながら80度まで加熱される。その後、混合物は冷却さ

50

れ、ろ過、気化され、残留物質は水と酢酸エチルとの間で分割される。有機相は塩水で洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化され、残留物はカラムクロマトグラフィーによって分離され、エチル 3 - [ 5 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 3 - イル - 安息香酸エステル ( 252 mg、79% ) を得る。

【 0 2 8 6 】

パート C . メタノール水 ( 3 mL / 1 mL ) 中のエチル 3 - [ 5 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 3 - イル ] - 安息香酸エステル ( 100 mg ) 溶液は、水酸化リチウム水和物 ( 50 mg ) で処理され、溶液は 12 時間 40 ~ 50 に加熱される。冷却後、溶液は 3 N HCl によって pH 7 まで中和され、酢酸エチルによって抽出される。抽出物は塩水で洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化され、粉末 ( 80 mg、87% )、融点 155 ~ 156 の標題化合物を得る。<sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、CDCl<sub>3</sub> ) : d 8.93 - 8.90 ( 2 H、m )、8.44 ( 1 H、s )、8.21 - 8.19 ( 2 H、m )、7.89 ( 1 H、d、J = 7 Hz )、7.64 ( 1 H、t、J = 8 Hz )、7.61 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、7.39 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、3.00 ( 1 H、heptet、J = 7 Hz )、1.30 ( 6 H、d、J = 7 Hz ) . MS ( ES+ ) : m/e 319 ( 22 )、318 ( 100 )。

10

【 0 2 8 7 】

以下の化合物は、上記に説明された化合物 11 を参照して、同じように調製されてもよい。

20

化合物 15

4 - ( 5 - p - トリル - ピリジン - 3 - イル ) - 安息香酸 : 融点 260 ~ 262 . <sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz、DMSO - d<sub>6</sub> ) : d 8.92 ( 2 H、s )、8.38 ( 1 H、s )、8.05 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、7.98 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、7.75 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、7.33 ( 2 H、d、J = 9 Hz )、2.36 ( 3 H、s ) . MS ( ES+ ) : m/e 291 ( 20 )、290 ( 100 )。

30

【 0 2 8 8 】

G . 4、2 - ピリジン

通常以下のように図式 G にのっとして、式 1 - G および 2 - G の 4、2 ピリミジンを調製してもよい。

3 - [ 2 - ( 4 - イソプロピル - フェニル ) - ピリジン - 4 - イル ] - 安息香酸 ( 化合物 8 ) の調製

パート A . アセトニトリル - 水 ( 10 mL / 5 mL ) 中の 4 - プロモピリジン ( 1.0 g、5.2 mmol ) 溶液は、3 - カルボエトキシベンゼンボロン酸 ( 0.93 g、5.2 mmol )、炭酸ソーダ ( 2.2 g、21 mmol ) および触媒テトラキス ( トリフェニルホスフィン ) パラジウムで処理される。溶液は 12 時間加熱還流され、その後、冷却され、酢酸エチルによって抽出される。抽出物は塩水で洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物質はフラッシュクロマトグラフィーによって分離され、エチル 3 - ピリジン - 4 - yl - 安息香酸エステル ( 1.0 g、86% ) を得る。

40

【 0 2 8 9 】

パート B . Aジクロロメタン ( 5 mL ) 中のエチル 3 - ピリジン - 4 - yl - 安息香酸エステル ( 150 mg、0.66 mmol ) 溶液は、m - クロロペルオキシ安息香酸 ( 340 mg、2.0 mmol ) で処理される。2 日間攪拌した後、混合物は 350 mg 多い m - クロロペルオキシ安息香酸で処理され、反応混合物は一晩中加熱還流される。溶液は冷却され、引き続き、10% 亜硫酸ナトリウム水溶液、10% 炭酸ソーダ水溶液および塩水で洗浄される。有機相は無水硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化され、十分純粋なエチル 3 - ピリジン - 4 - イル - 安息香酸エステル - N - 酸化物を得る。この物質

50

はオキシ塩化リン中に溶解し、12時間加熱還流される。反応混合物は冷却され、気化され、残留物が酢酸エチル内に得られる。この溶液は炭酸ソーダ飽和水溶液、水および塩水で洗浄され、その後、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物はフラッシュクロマトグラフィーによって分離され、エチル3-(2-クロロ-ピリジン-4-イル)-安息香酸エステル(81mg、全部で47%)を得る。

【0290】

パートC. Aアセトニトリル-水(2mL/0.5mL)中のエチル3-(2-クロロ-ピリジン-4-イル)-安息香酸エステル(81mg、0.31mmol)、炭酸ソーダ(99mg、0.93mmol)および4-イソプロピルベンゼンボロン酸(60mg)の溶液は、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムの触媒量で処理され、24時間加熱還流される。混合物は水(60mL)に注入され、この混合物はジエチルエーテル(3×60mL)によって抽出される。抽出物は混合され、塩水で洗浄され、硫酸マグネシウムで乾燥され、ろ過され、気化され、エチル3-[2-(4-イソプロピル-フェニル)-ピリジン-4-イル]-安息香酸エステル(75mg、76%)を得る。

10

【0291】

パートD. 標準水酸化リチウムエステル加水分解方法が、エチル3-[2-(4-イソプロピル-フェニル)-ピリジン-4-イル]-安息香酸エステルを標題化合物、融点247~249に変化させるのに使用される。<sup>1</sup>H NMR(300MHz、CDCl<sub>3</sub>): d 8.80(1H、d、J = 8Hz)、8.45(1H、s)、8.21(1H、d、J = 8Hz)、7.99(2H、d、J = 9Hz)、7.98-7.94(2H、m)、7.64(1H、t、J = 8Hz)、7.52-7.48(1H、m)、7.37(2H、d、J = 9Hz)、2.99(1H、heptet、J = 7Hz)、1.30(6H、d、J = 7Hz)。MS(ES+): m/e 319(24)、318(100)。

20

【0292】

以下の化合物は、上記に説明された化合物8を参照して、同じように調製されてもよい。

化合物12

4-(2-p-トリル-ピリジン-4-イル)-安息香酸: 融点286~289。<sup>1</sup>H NMR(300MHz、CDCl<sub>3</sub>): d 8.71(1H、br d、J = 6Hz)、8.22(1H、s)、8.12-8.02(6H、m)、7.30(2H、d、J = 9Hz)、2.36(3H、s)。MS(ES+): m/e 291(20)、290(100)。

30

【0293】

H. 2, 6-ピリジン

通常以下のように図式Hにのっとして、式1-Hおよび2-Hの4, 2ピリミジンを調製してもよい。

【0294】

3-[6-(4-イソプロピル-フェニル)-ピリジン-2-yl]-安息香酸(化合物6)の調製

40

パートA. Aアセトニトリル(20mL)中の2, 6-ジブromoピリジン(6.16g、26mmol)および3-カルボエトキシベンゼンボロン酸(0.5g、2.6mmol)の溶液は、水(5mL)中の炭酸ソーダ(0.88g)溶液で処理される。混合物は2度ガス抜きされ、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムの触媒量は加えられる。反応混合物は80℃まで加熱され、12時間攪拌され、その後、冷却され、ろ過され、気化される。残留物は水と酢酸エチルとの間で分割され、有機相は塩水飽和水溶液で洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物質はカラムクロマトグラフィーによって分離され、エチル3-(6-ブromo-ピリジン-2-イル)-安息香酸エステル(154mg、20%)を得る。

50

## 【0295】

パートB. アセトニトリル中のエチル3-(6-プロモ-ピリジン-2-イル)-安息香酸エステル(154mg、0.5mmol)および4-イソプロピルベンゼンボロン酸(83mg、0.5mmol)の溶液は、水(1mL)中の炭酸ソーダ溶液(160mg)で処理される。混合物は2度ガス抜きされ、窒素に保護されてテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムの触媒量は加えられる。出発原料の消滅がTLCによって観察されるまで、反応混合物は80で攪拌される。混合物は冷却され、ろ過され、気化され、残留物質は水と酢酸エチルとの間で分割される。有機相は塩水で洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化される。残留物はカラムクロマトグラフィーによって精製され、エチル3-[6-(4-イソプロピル-フェニル)-ピリジン-2-イル]-安息香酸エステル(120mg、69%)を得る。

10

## 【0296】

パートC. A 3mLメタノール-1mL水中のエチル3-[6-(4-イソプロピル-フェニル)-ピリジン-2-イル]-安息香酸エステル(90mg)溶液は、水酸化リチウム水和物(50mg)で処理される。溶液は攪拌されながら40から50の間に12時間加熱され、その後、冷却され、3N HCl水溶液でpH7まで中和される。混合物は酢酸エチルによって抽出され、抽出物は塩水で洗浄され、硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、気化され、粉末(70mg、85%)の標題生成物、融点215~216を得る。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.86 (1H, s)、8.47 (1H, d, J = 8 Hz)、8.18 (1H, d, J = 8 Hz)、8.08 (2H, d, J = 9 Hz)、7.85 (1H, t, J = 7 Hz)、7.77 (1H, d, J = 7 Hz)、7.76 (1H, d, J = 7 Hz)、7.62 (1H, t, J = 8 Hz)、7.38 (2H, d, J = 9 Hz)、2.99 (1H, heptet, J = 7 Hz)、1.30 (6H, d, J = 7 Hz). MS (ES+): m/e 319 (20), 318 (100).

20

## 【0297】

以下の化合物は、上記に説明された化合物6を参照して、同じように調製されてもよい。

30

## 化合物14

4-(6-p-トリル-ピリジン-2-イル)-安息香酸: 融点283~284

3-(6-フェニル-ピリジン-2-yl)-安息香酸 (化合物24)の調製

パートA. エタノール(50mL)中のメチル4-アセチル安息香酸エステル(5.00g、28.1mmol)懸濁液は、ビス(ジメチルアミノ)-メトキシメタン(7.50mL、56.1mmol)で処理され、混合物は攪拌されながら2日間80度まで加熱される。溶剤は減圧下で除去され、白色固形物の目的の生成物(メチル4-(3-ジメチルアミノ-アクリロイル)-安息香酸エステル)を得る。

## 【0298】

パートB. A 酢酸(5mL)中の(メチル4-(3-ジメチルアミノ-アクリロイル)-安息香酸エステル)(100mg)溶液は、アセトフェノンおよび酢酸アンモニウム(77mg)で処理される。得られた混合物は18時間80まで加熱され、その後、冷却され、窒素を流しながら気化される。得られた固形物は、酢酸エチル-ヘキサンで再結晶され、メチル3-(6-フェニル-ピリジン-2-イル)-安息香酸エステルを得る。

40

MS (ES+): m/e 290.2 (100).

## 【0299】

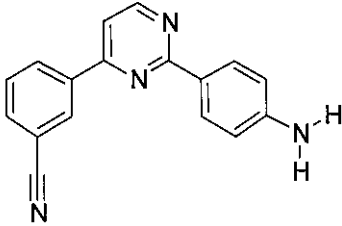
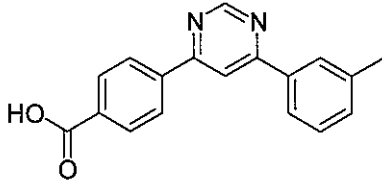
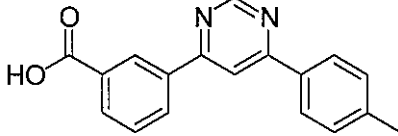
パートC. 水酸化ナトリウムおよび標題酸生成物が得られる精密検査を使用して、メチル3-(6-フェニル-ピリジン-2-イル)-安息香酸エステルは鹼化される。MS (ES+): m/e 276 (100).

## 【0300】

50

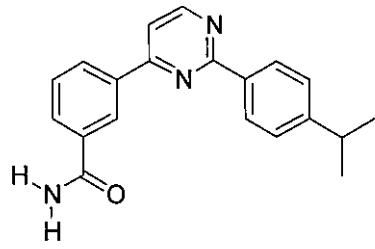
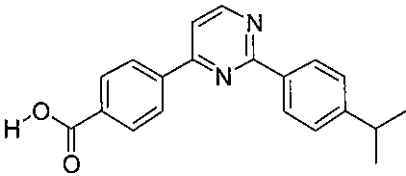
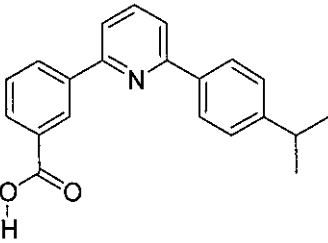
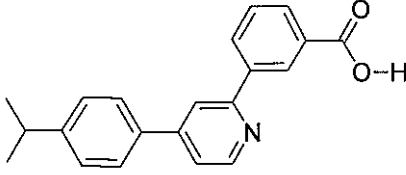
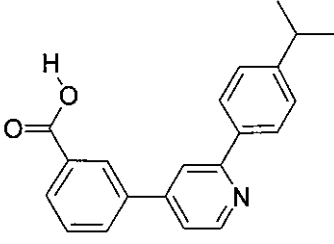
本発明のある好ましい化合物の融点および質量分析データは、以下の表に示されている。

【表 5】

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 1		273
 2	211-2 13	291.58
 3	201-2 03	291

10

20

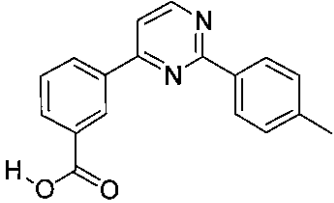
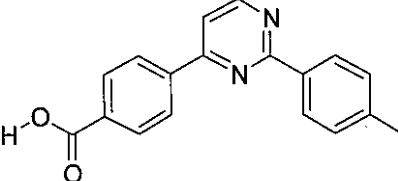
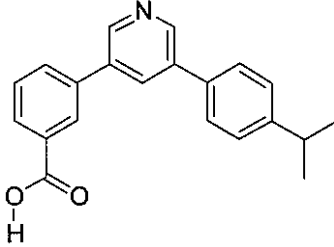
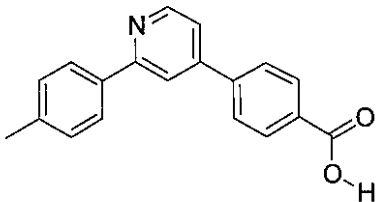
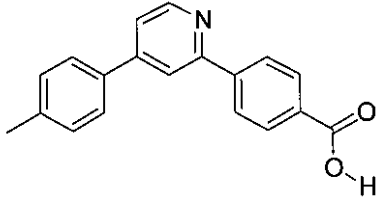
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">4</p>	<p style="text-align: center;">1 6 7 - 1 6 9</p>	<p style="text-align: center;">3 1 8</p>
 <p style="text-align: center;">5</p>	<p style="text-align: center;">2 6 2 - 2 6 4</p>	<p style="text-align: center;">3 1 7</p>
 <p style="text-align: center;">6</p>	<p style="text-align: center;">2 1 5 - 2 1 6</p>	<p style="text-align: center;">3 1 8</p>
 <p style="text-align: center;">7</p>	<p style="text-align: center;">2 3 3 - 2 3 4</p>	<p style="text-align: center;">3 1 8</p>
 <p style="text-align: center;">8</p>	<p style="text-align: center;">2 4 7 - 2 4 9</p>	<p style="text-align: center;">3 1 8</p>

10

20

30

40

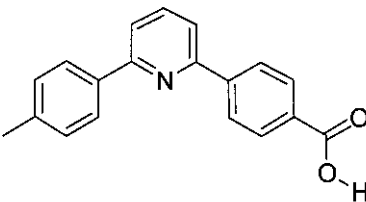
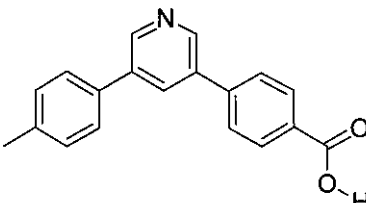
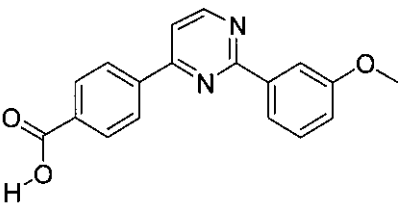
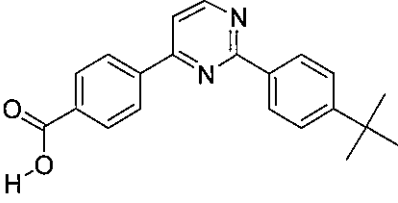
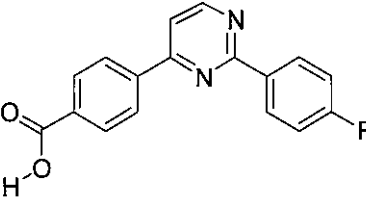
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">9</p>	<p style="text-align: center;">225-2 26</p>	<p style="text-align: center;">289</p>
 <p style="text-align: center;">10</p>	<p style="text-align: center;">&gt;310</p>	<p style="text-align: center;">289</p>
 <p style="text-align: center;">11</p>	<p style="text-align: center;">155-1 56</p>	<p style="text-align: center;">318</p>
 <p style="text-align: center;">12</p>	<p style="text-align: center;">286-2 89</p>	<p style="text-align: center;">290</p>
 <p style="text-align: center;">13</p>	<p style="text-align: center;">288-2 91</p>	<p style="text-align: center;">290</p>

10

20

30

40

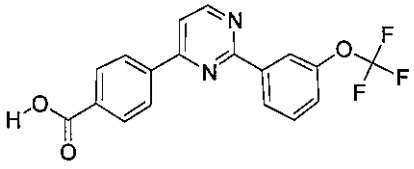
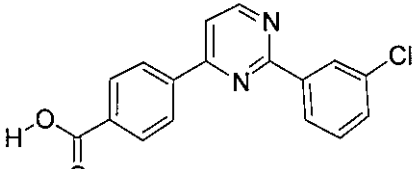
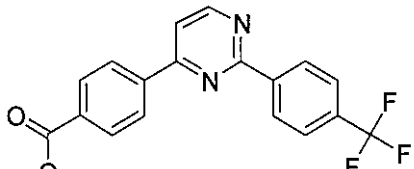
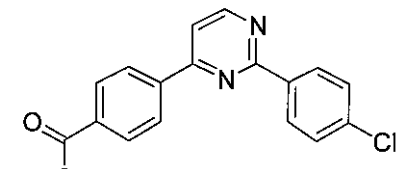
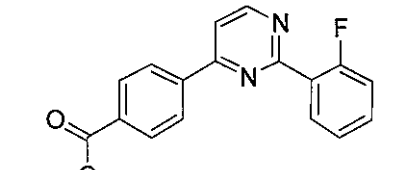
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">14</p>	<p style="text-align: center;">283-2 84</p>	
 <p style="text-align: center;">15</p>	<p style="text-align: center;">260-2 62</p>	<p style="text-align: center;">290</p>
 <p style="text-align: center;">16</p>	<p style="text-align: center;">270-2 73</p>	<p style="text-align: center;">305</p>
 <p style="text-align: center;">17</p>	<p style="text-align: center;">293-2 96</p>	<p style="text-align: center;">333</p>
 <p style="text-align: center;">18</p>	<p style="text-align: center;">&gt;300</p>	<p style="text-align: center;">295</p>

10

20

30

40

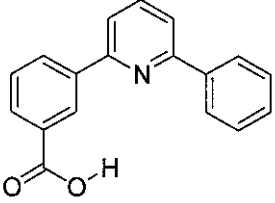
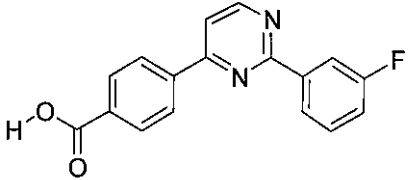
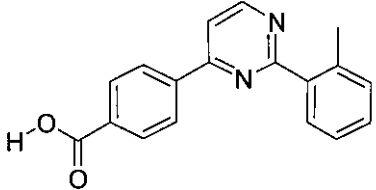
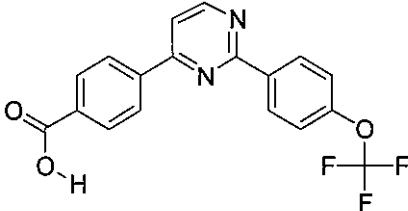
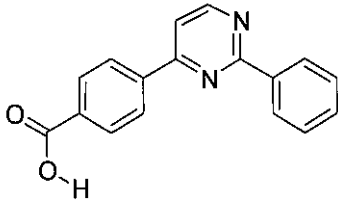
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">19</p>	> 300	361
 <p style="text-align: center;">20</p>	291-294	311
 <p style="text-align: center;">21</p>	> 300	345
 <p style="text-align: center;">22</p>	> 300	311
 <p style="text-align: center;">23</p>	> 300	295

10

20

30

40

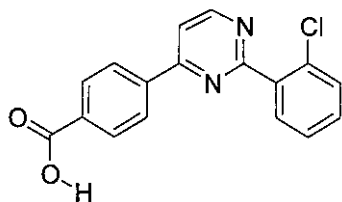
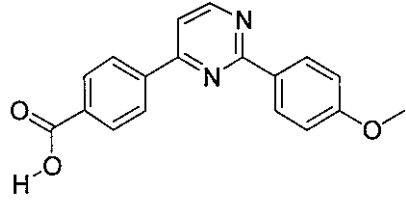
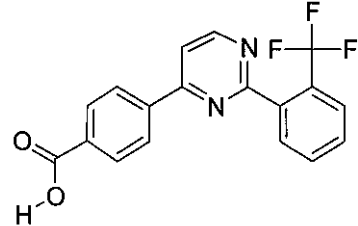
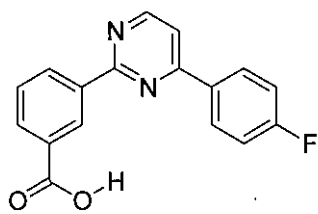
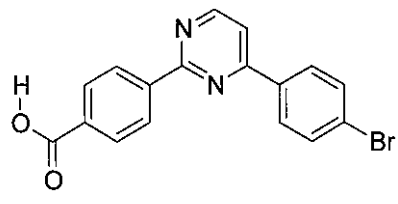
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">24</p>		276
 <p style="text-align: center;">25</p>	300-303	295
 <p style="text-align: center;">26</p>	198-200	291
 <p style="text-align: center;">27</p>	299-302	361
 <p style="text-align: center;">28</p>	>300	277

10

20

30

40

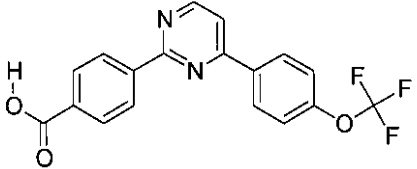
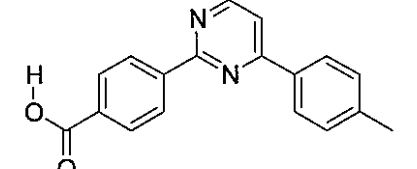
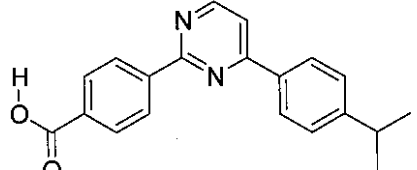
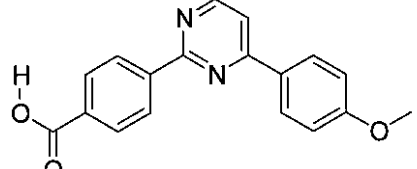
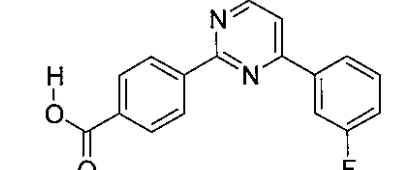
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">29</p>		
 <p style="text-align: center;">30</p>	> 300	307
 <p style="text-align: center;">31</p>	251-2 52	345
 <p style="text-align: center;">32</p>	239-2 41	295
 <p style="text-align: center;">33</p>	302-3 05	358

10

20

30

40

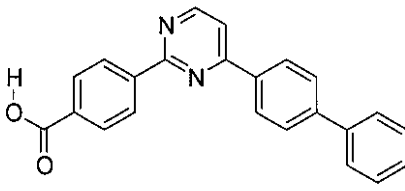
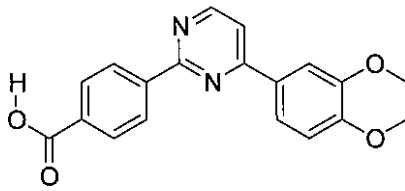
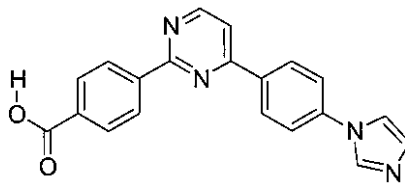
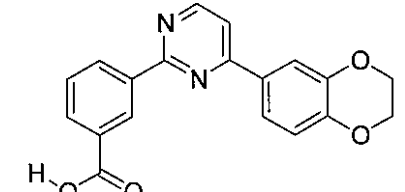
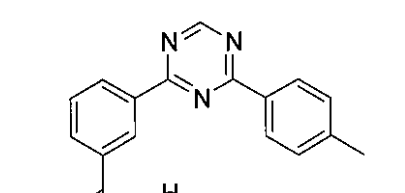
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p>34</p>	234-2 36	362
 <p>35</p>	287-2 89	291
 <p>36</p>	243-2 45	319
 <p>37</p>	263-2 65	307
 <p>38</p>	249-2 52	295

10

20

30

40

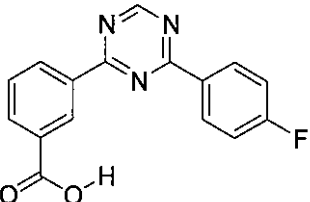
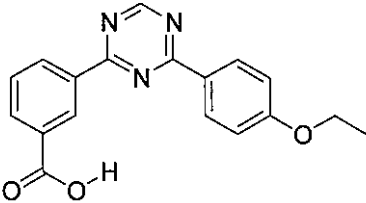
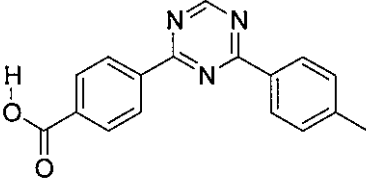
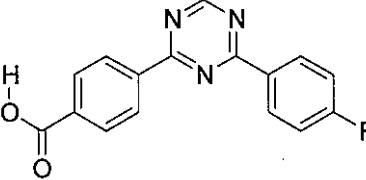
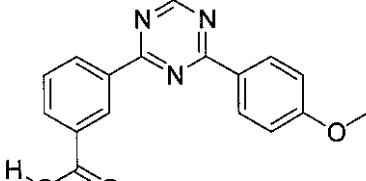
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p>39</p>	293-2 96	353
 <p>40</p>	272-2 74	335
 <p>41</p>	>305	342
 <p>42</p>	239-2 41	335
 <p>43</p>	298-3 00	292

10

20

30

40

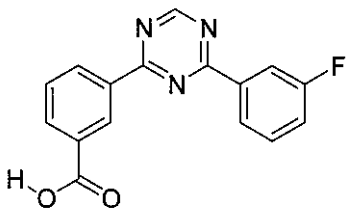
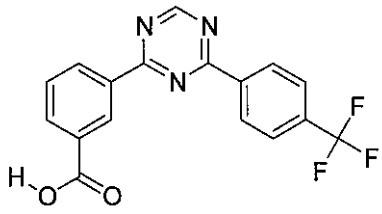
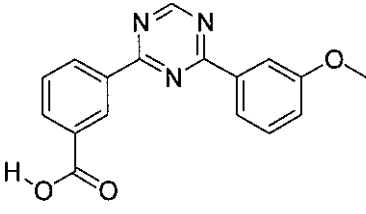
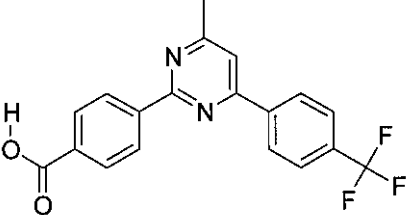
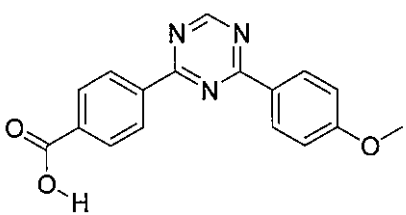
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p>44</p>	266-269	297
 <p>45</p>	269-272	322
 <p>46</p>	288-290	292
 <p>47</p>	295-298	296
 <p>48</p>	307-309	308

10

20

30

40

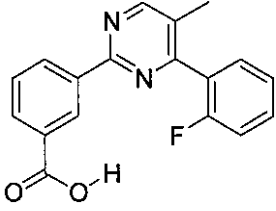
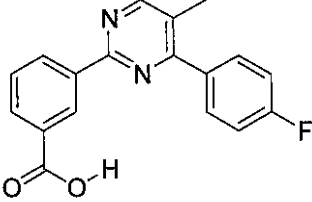
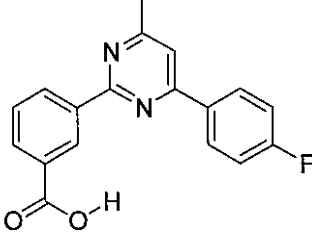
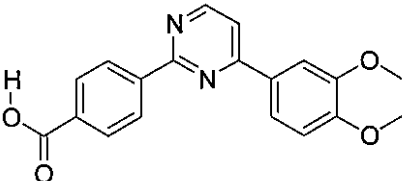
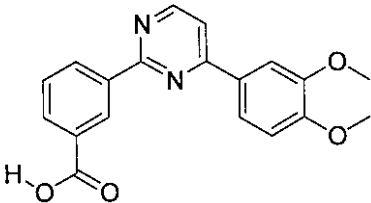
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p>49</p>	273-276	296
 <p>50</p>	290-293	346
 <p>51</p>	227-229	308
 <p>52</p>	272-275	359
 <p>53</p>	>300	308

10

20

30

40

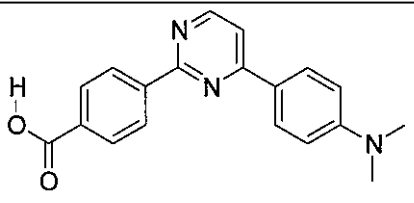
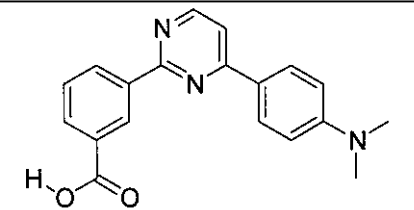
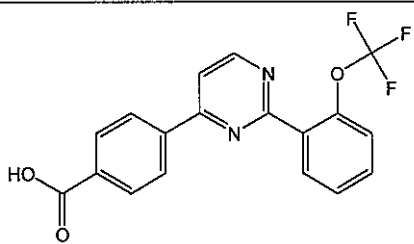
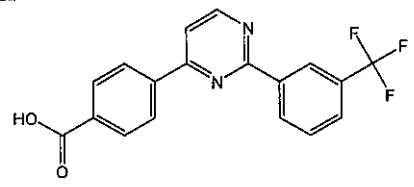
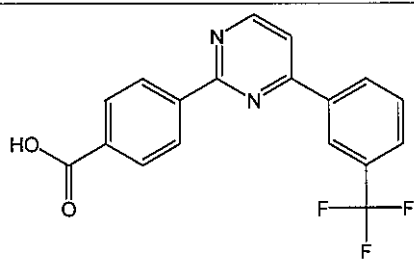
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p>54</p>	279-2 81	307
 <p>55</p>	272-2 75	309
 <p>56</p>	305-3 07	307
 <p>57</p>	250-2 52	337
 <p>58</p>	240-2 43	337

10

20

30

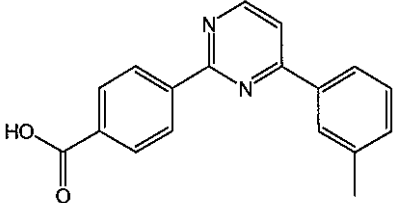
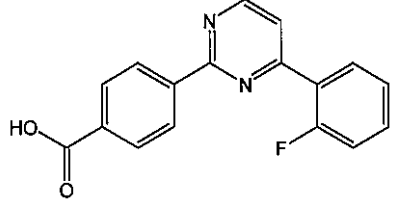
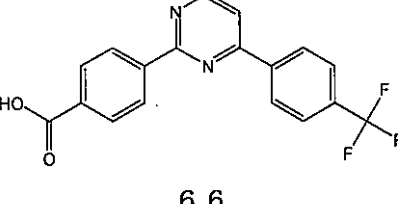
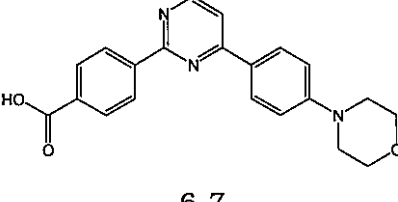
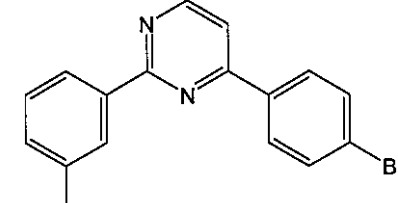
40

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">59</p>	<p style="text-align: center;">292-2 95</p>	<p style="text-align: center;">320</p>
 <p style="text-align: center;">60</p>	<p style="text-align: center;">281-2 83</p>	<p style="text-align: center;">318</p>
 <p style="text-align: center;">61</p>	<p style="text-align: center;">258-2 61</p>	<p style="text-align: center;">361</p>
 <p style="text-align: center;">62</p>		<p style="text-align: center;">345</p>
 <p style="text-align: center;">63</p>	<p style="text-align: center;">271-2 73</p>	<p style="text-align: center;">345</p>

10

20

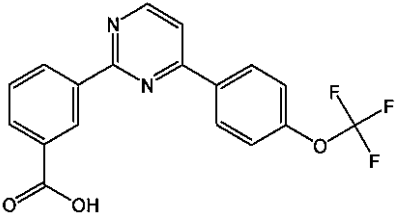
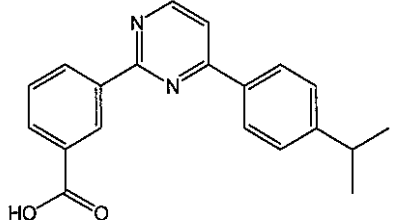
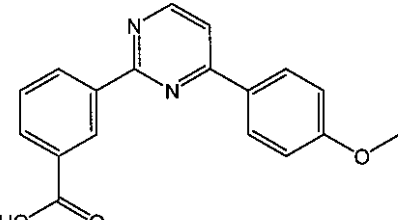
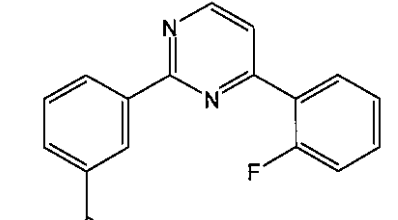
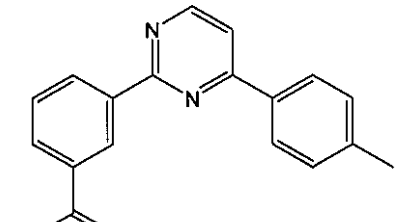
30

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">64</p>	220-222	291
 <p style="text-align: center;">65</p>	234-236	295
 <p style="text-align: center;">66</p>	282-285	345
 <p style="text-align: center;">67</p>	289-291	362
 <p style="text-align: center;">68</p>	>300	355

10

20

30

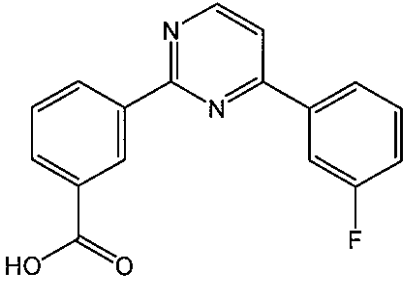
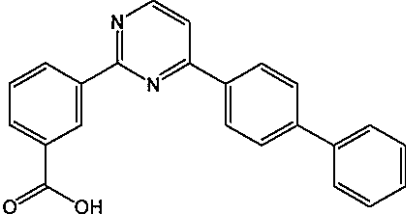
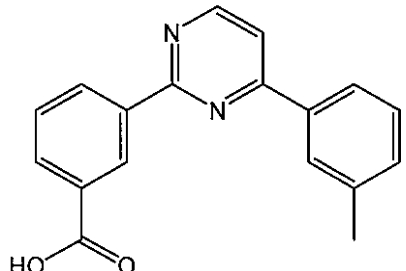
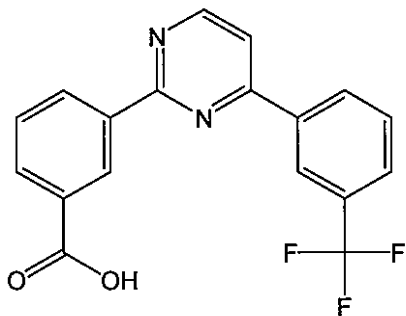
化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">69</p>	241-243	361
 <p style="text-align: center;">70</p>	242-244	319
 <p style="text-align: center;">71</p>	243-244	307
 <p style="text-align: center;">72</p>	201-203	295
 <p style="text-align: center;">73</p>	252-253	291

10

20

30

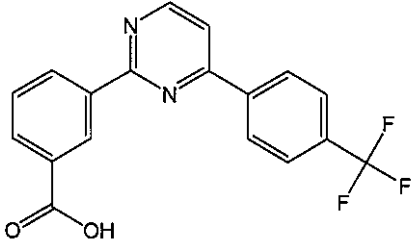
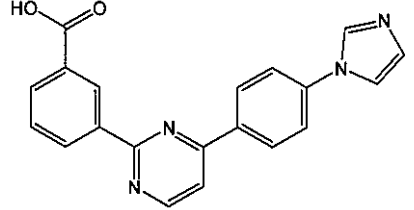
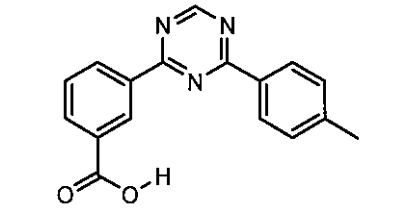
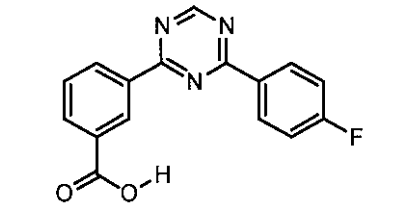
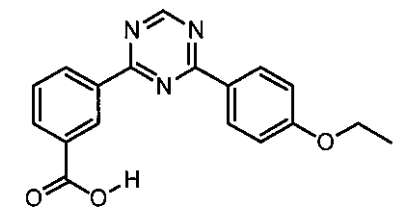
40

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">7 4</p>	2 5 3 - 2 5 5	2 9 5
 <p style="text-align: center;">7 5</p>	2 9 6 - 2 9 9	3 5 3
 <p style="text-align: center;">7 6</p>	2 1 7 - 2 1 9	2 9 1
 <p style="text-align: center;">7 7</p>	2 7 1 - 2 7 3	3 4 5

10

20

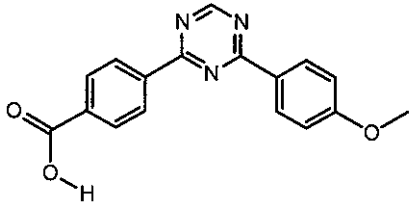
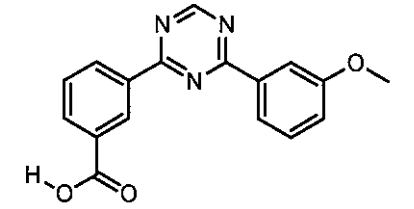
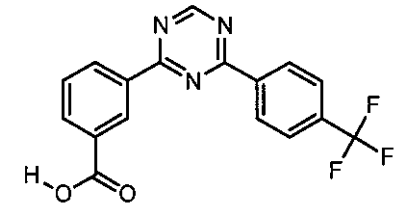
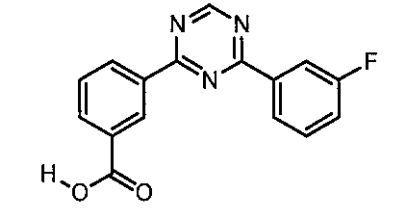
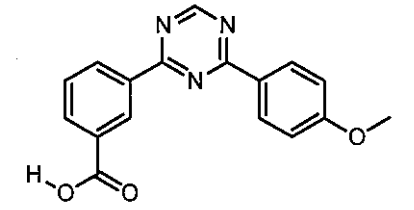
30

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">78</p>	271-273	345
 <p style="text-align: center;">79</p>	> 310	343
 <p style="text-align: center;">80</p>	298-300	292.30
 <p style="text-align: center;">81</p>	266-269	296.28
 <p style="text-align: center;">82</p>	269-272	322.27

10

20

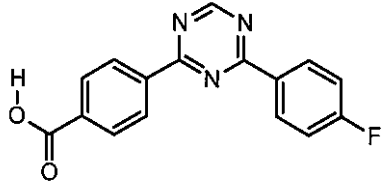
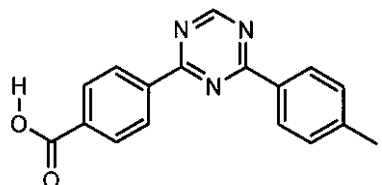
30

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">83</p>	> 300	308.26
 <p style="text-align: center;">84</p>	227-2 29	308.26
 <p style="text-align: center;">85</p>	290-2 93	346.22
 <p style="text-align: center;">86</p>	273-2 76	296.25
 <p style="text-align: center;">87</p>	307-3 09	308.26

10

20

30

化合物	融点 °C	質量分析 (ES+)
 <p style="text-align: center;">88</p>	295-298	296.22
 <p style="text-align: center;">89</p>	288-290	292.30

10

## 【0301】

## 実施例2：ナンセンス抑圧活性

ルシフェラーゼを媒介とする化学発光による、機能的な、細胞に基づいた翻訳アッセイ（国際出願 PCT/US 2003/023185、2003年7月23日出願、参照することによりその全体がここに組み込まれる）により、ナンセンス抑制レベルの定量的評価が可能となる。ヒト胎児腎臓細胞（293細胞）をウシ胎仔血清（FBS）を含む培地で培養する。この細胞には、190番のアミノ酸に未熟期終結コドンを含むルシフェラーゼ遺伝子を安定的に導入することができる。この位置に通常存在するルシフェラーゼ遺伝子トレオニンコドン（ACA）の代わりに、前後関係上重要な、ナンセンスコドンの次の下流プラス1に位置する、3つの可能な各ナンセンスコドン（TAA、TAG、またはTGA）、および4つの可能な各ヌクレオチド（アデニン、チミン、シトシン、またはグアニン）が、部位指定変異導入によって導入される。このように、未熟期終結コドンを含むルシフェラーゼ遺伝子上の190番のアミノ酸は、TAA、TAG、またはTGAである。各終止コドンに対し、未熟期終結コドンを含むルシフェラーゼ遺伝子の190番のアミノ酸に続くヌクレオチドは、アデニン、チミン、シトシン、あるいはグアニン（A、T、C、G）で置換することができ、これらの変異は、ルシフェラーゼ遺伝子のリーディングフレームを変更しない。これらの構成の図式を、図1に示す。

20

30

## 【0302】

上述の本発明における細胞に基づいたルシフェラーゼレポーターアッセイによる、ナンセンス抑圧活性を以下の表（Table 2）に示す。ヒト胎児腎臓293細胞は、190番位置にUGAナンセンス変異を含むルシフェラーゼレポーター構成を安定的に導入されるが、インフレームでアデニンヌクレオチドが後続する。

## 【0303】

Table 2における活性測定の決定は、本発明のUGA未熟期終結コドンを備える構成である細胞に基づいたルシフェラーゼレポーターアッセイにおいておこなわれる。アミノ配糖体系抗生物質であり、未熟期終結コドンのリードスルーを起こすことで知られるゲンタマイシンが、内部標準として使用される。活性測定は、細胞内で一定のタンパク質を産生するために必要な化合物の最低濃度とその濃度で細胞によって産生されるタンパク質の量の定性比に基づいている。タンパク質合成の非常に高い効力および効果、あるいはそのどちらかを有すると確認された化合物は、「\*\*\*\*」と分類される。タンパク質合成の中程度に効力、および/または効果を有すると確認された化合物は、「\*\*\*\*」、「\*\*\*」、あるいは「\*\*」と分類される。同様に、タンパク質合成の低度の効力、および/または効果を有すると確認された化合物は、「\*\*\*\*」、「\*\*\*」、あるいは「\*\*」と分類される。

40

50

【表 6】

化合物	UGA
1	*
2	***
3	**
4	*
5	**
6	***
7	**
8	*
9	***
10	*****
11	**
12	***
13	****
14	****
15	***
16	**
17	***
18	*
19	*
20	***
21	***
22	*
23	**
24	***
25	*
26	**
27	***
28	*
29	*

10

20

30

40

化合物	UGA
30	**
31	*
32	**
33	***
34	***
35	*****
36	***
37	****
38	*
39	**
40	****
41	*
42	*****
43	****
44	*
45	***
46	***
47	**
48	***
49	**
50	***
51	***
52	***
53	***
54	**
55	****
56	*****
57	***
58	**
59	***

10

20

30

40

化合物	UGA
60	****
61	*
62	*
63	*****
64	****
65	***
66	*****
67	*
68	*
69	*
70	**
71	**
72	*
73	**
74	**
75	**
76	*****
77	***
78	*
79	*
80	****
81	*
82	***
83	***
84	***
85	***
86	**
87	***
88	**
89	***

10

20

30

40

## 【0304】

前述のアッセイにおけるナンセンス抑制活性を以下のTable 3に示す。190番位置にUGAナンセンス変異を有する構成で、インフレームでシトシンヌクレオチドが後続する(UGAC)、190番位置にUAGナンセンス変異を有する構成で、インフレームでアデニンヌクレオチドが後続する(UAGA)、190番位置にUAAナンセンス変異を有する構成で、インフレームでアデニンヌクレオチドが後続する(UAAA)。「POS

50

WB」は、本発明の化合物がUGAナンセンス変異、続いてシトシンヌクレオチド(UGAC)を有する本発明のアッセイで使用される場合、陽性示唆がウエスタンブロット法で生成されることを示している。

【表7】

Table 3

化合物番号	UGAC	UAG	UAA
33		*	**
35		*	*
43		*	
44		*	
45		*	
46		*	*
47		*	*
48		*	*
49		*	*
50	POSWB	*	*
51	POSWB	*	*
52		*	*
53		*	*
56		*	*
60		*	*

10

20

30

40

50

【0305】

実施例3：読み合わせアッセイ

ルシフェラーゼを媒介とする化学発光による、機能的な、細胞に基づいた翻訳アッセイ(国際出願PCT/US2003/023185、2003年7月23日出願、参照することにより、その全体がここに組み込まれる)により、mRNAにおける通常終止コドンの翻訳読み合わせの評価が可能となる。ヒト胎児腎臓細胞(293細胞)をウシ胎仔血清(FBS)を含む培地で培養する。この細胞には、190番のアミノ酸に未熟期終止コドンを含むルシフェラーゼ遺伝子を安定的に導入することができる。この位置に通常存在するルシフェラーゼ遺伝子トレオニンコドン(ACA)の代わりに、前後関係上重要な、ナンセンスコドンの次の下流プラス1に位置する、3つの可能な各ナンセンスコドン(TAA、TAG、またはTGA)、4つの可能な各ヌクレオチド(アデニン、チミン、シトシン、またはグアニン)が、部位指定変異導入によって導入される。このように、未熟期終止コドンを含むルシフェラーゼ遺伝子上の190番のアミノ酸は、TAA、TAG、またはTGAである。各終止コドンに対し、未熟期終止コドンを含むルシフェラーゼ遺伝子の190番のアミノ酸に続くヌクレオチドは、アデニン、チミン、シトシン、あるいはグアニン(A、T、C、G)で置換することができ、これらの変異は、ルシフェラーゼ遺伝子のリーディングフレームを変更しない。これらの構成の図式は、上記図1に示す。

【0306】

本発明の別のアッセイにより、ナンセンス変異抑圧を促進する化合物を評価することができる。上記の図1に示すルシフェラーゼ構成には、ルシフェラーゼタンパクのN-末端に2つのエピトプタグを組み込まれている。ルシフェラーゼタンパク産生に基づき、これらの構成は翻訳リードスルーのレベルを定性的に評価する。未熟期終止コドンの抑制によって産生された全長ルシフェラーゼタンパクの存在は、抑制されたルシフェラーゼタンパクの免疫沈降によって測定され(His-tag抗体を使用)、続いて1番目のエピトプ(Xpress<sup>TM</sup>エピトプ、Invitrogen(登録商標)、Carlsbad、California)に対する抗体を使用してのウエスタンブロット法で測定される。これらの構成の図式を、図2に示す。

図2の構成を有する細胞は、本発明の化合物で処理することで、全長のタンパク質の産

生が増加を示す。20時間の処理後、図2の構成を有する細胞を収集し、Hisエピトープを認識する抗体はルシフェラーゼタンパクを免疫沈降させるために使用される。免疫沈降に続いて、Xpress<sup>TM</sup>エピトープ(Invitrogen(登録商標)、Carlsbad, California)に抗体を使用してウエスタンブロット法を実施し、短縮ルシフェラーゼ(ナンセンス抑制が行われなかった場合に産生される)を検知し、また全長のタンパク質(ナンセンスコドンの抑制によって産生される)を検知する。試験化合物による細胞処理では、全長のタンパク質が産生され、リードスルータンパク質は産生されなかった(例として図3参照)。リードスルータンパク質は通常終結コドンの抑制が行われた場合に産生される。本発明の化合物は、ルシフェラーゼmRNAにおいて、未熟期、すなわちナンセンス変異は抑制するが、通常終結コドンは抑制しない。

10

#### 【0307】

本発明の化合物は、哺乳類において、未熟期終結コドンには選択的に作用するが、通常終結コドンには作用しない。

ラットとイヌに、高用量の化合物(最高1800mg/kg)を1日1回、14日間にわたり強制経口(経口)投与する。処置後、組織を採取し、溶解物を調整し、ウエスタンブロットアッセイを実行する。通常終結コドンのリードスルーを評価するためのタンパク質の選定は、主に通常終結コドンとともにインフレームである3'-UTRに2番目の終止コドンを有する対応するmRNAに基づく。これら2つの終止コドン間で、選択された各タンパク質は、1番目の終結コドンのリボソームのリードスルーが起きた場合にタンパク質の伸長をコードするヌクレオチドの介在配列を備えている。化合物に非特異的なリボゾームのリードスルーを誘発する能力がある場合、ウエスタンブロット法を用いて、細長いタンパク質を野生型タンパク質と区別する。ラットから組織を採取し、ビメンチンmRNAにおける通常終結コドン(UAA)の抑制を分析する。明らかな抑制は確認されない。イヌから組織を採取し、本発明の化合物で処理する。UAG終止コドンを有するベータ活性の通常終結コドンの抑制は確認されなかった。

20

健康人ボランティアにおいて、本発明化合物の経口単回投与(200mg/kg)を実施する。血液検体を採取し、血漿を調整し、男女被験者の血漿検体を使用してウエスタンブロット法を実施する。UGA末端コドンを有するC反応性タンパク質(CRP)を用い、本発明の化合物で被験者を治療することにより、CRP mRNAにおいて通常終結コドンが抑制されるかどうかを判断する。ルシフェラーゼアッセイと未熟期終結アッセイとの組み合わせで、未熟期終結コドンの選択的抑制は実証されるが、通常終結コドンの抑制は実証されない。

30

#### 【0308】

##### 実施例4：動物モデル

また、動物モデル系を用いて、本発明の化合物の安全性と有効性を実証することもできる。関心のある疾患、症状、または症候群に対する本発明の化合物の生物活動を動物モデルを用いてテストする。これには機能的な読み出し装置と連結した、標的RNA要素を有するように操作された動物、例えばトランスジェニックマウスなどが含まれる。

#### 【0309】

##### 嚢胞性線維症

嚢胞性線維症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、cftf(-/-)マウス(例としては、Freedmanら、2001、Gastroenterology 121(4):950-7参照)、cftf(tm1HGU/tm1HGU)マウス(例としては、Bernhardら、2001、Exp Lung Res 27(4):349-66参照)、CFTR-欠損cAMP媒介Cl(-)コンダクタンス障害マウス(例としては、Stotlandら、2000、Pediatr Pulmonol 30(5):413-24参照)、またC57BL/6-Cftf(m1UNC)/Cftf(m1UNC)ノックアウトマウス(例としては、Stotlandら、2000、Pediatr Pulmonol 30(5):413-24参照)が挙げられる。

40

#### 【0310】

50

## 筋ジストロフィー

筋ジストロフィーの動物モデルの例としては、これらに限定されないが、マウス、ハムスター、ネコ、イヌ、およびシー・エレガンスが挙げられる。筋ジストロフィーのマウスモデルの例としては、これらに限定されないが、dy - / - マウス（例としては、Connollyら、2002、*J Neuroimmunol* 127(1-2):80-7参照）、筋ジストロフィー筋炎(mdm)マウス変異体（例としては、Garveyら、2002、*Genomics* 79(2):146-9参照）、mdxマウス（例としては、Nakamuraら、2001、*Neuromuscul Disord* 11(3):251-9参照）、ユートロフィンジストロフィンノックアウト(dko)マウス（例としては、Nakamuraら、2001、*Neuromuscul Disord* 11(3):251-9参照）、dy/dyマウス（例としては、Dubowitzら、2000、*Neuromuscul Disord* 10(4-5):292-8参照）、mdx(Cv3)マウスモデル（例としては、Pillersら、1999、*Laryngoscope* 109(8):1310-2参照）、および筋緊張症ADR-MDX変異マウス（例としては、Kramerら、1998、*Neuromuscul Disord* 8(8):542-50参照）が挙げられる。筋ジストロフィーのハムスターモデルの例としては、これらに限定されないが、サルコグリカン欠損ハムスター（例としては、Nakamuraら、2001、*Am J Physiol Cell Physiol* 281(2):C690-9参照）、およびBIO 14.6ジストロフィーハムスター（例としては、Schlenker、Burbach共著、1991、*J Appl Physiol* 71(5):1655-62参照）が挙げられる。筋ジストロフィーのネコモデルの例としては、これらに限定されないが、肥大性筋ジストロフィーネコモデル（例としては、Gaschen、Burgunder共著、2001、*Acta Neuropathol (Berl)* 101(6):591-600参照）が挙げられる。筋ジストロフィーのイヌモデルの例としては、これらに限定されないが、筋ジストロフィーゴールデンレトリバー（例としては、Fletcherら、2001、*Neuromuscul Disord* 11(3):239-43参照）、およびイヌX-連鎖筋ジストロフィー（例としては、Valentineら、1992、*Am J Med Genet* 42(3):352-6参照）が挙げられる。筋ジストロフィーのシー・エレガンスモデルの例は、Chamberlain、Benian共著、2000、*Curr Biol* 10(21):R795-7、およびCuletto、Sattelle共著、2000、*Hum Mol Genet* 9(6):869-77に記載される。

## 【0311】

## 家族性高コレステロール血症

家族性高コレステロール血症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、機能性LDL受容体遺伝子欠乏マウス（例としては、Ajiら、1997、*Circulation* 95(2):430-7参照）、Yoshidaラット（例としては、Fantappieら、1992、*Life Sci* 50(24):1913-24参照）、JCR:LA-cpラット（例としては、Richardsonら、1998、*Atherosclerosis* 138(1):135-46）、ブタ（例としては、Hasler-Rapaczら、1998、*Am J Med Genet* 76(5):379-86参照）、およびWatanabe遺伝性高脂血症ウサギ（例としては、Tsutsumiら、2000、*Arzneimittelforschung* 50(2):118-21; Harschら、1998、*Br J Pharmacol* 124(2):227-82; およびTanakaら、1995、*Atherosclerosis* 114(1):73-82参照）が挙げられる。

## 【0312】

## ヒト癌

ヒト癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、一般的に、コンパニオン

アニマルに自発的に生じる腫瘍（例としては、Vail、MacEwen共著、2000、Cancer Invest 18(8):781-92参照）が挙げられる。肺癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、Zhang、Roth共著により記述される肺癌動物モデル（1994、In Vivo 8(5):755-69）、およびp53機能破壊トランスジェニックマウスモデル（例としては、Morrisら、1998、J La State Med Soc 150(4):179-85参照）が挙げられる。乳癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、サイクリンD1過剰発現トランスジェニックマウス（例としては、Hosokawaraら、2001、Transgenic Res 10(5):471-8参照）が挙げられる。結腸癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、TCRbetaおよびp53ダブルノックアウトマウス（例としては、Kadoら、2001、Cancer Res 61(6):2395-8参照）膵臓癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、膵臓腫瘍Panc02マウス膵臓腺癌転位モデル（例としては、Wangら、2001、Int J Pancreatol 29(1):37-46参照）および、皮下に脾臓腫瘍を発生させたnu-nuマウス（例としては、Ghanehら、2001、Gene Ther 8(3):199-208参照）が挙げられる。非ホジキンリンパ腫の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、重症複合型免疫不全症（「SCID」）マウス（例としては、Bryantら、2000、Lab Invest 80(4):553-73参照）、およびIgHmu-HOX11トランスジェニックマウス（例としては、Houghら、1998、Proc Natl Acad Sci USA 95(23):13853-8参照）が挙げられる。食道癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、ヒトパローマウイルス16型E7腫瘍遺伝子導入トランスジェニックマウス（例としては、Herberら、1996、J Virol 70(3):1873-81参照）が挙げられる。結腸直腸癌の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、Apcマウスモデル（例としては、Fodde、Smits共著、2001、Trends Mol Med 7(8):369-73、およびKuraguchiら、2000、Oncogene 19(50):5755-63参照）が挙げられる。神経線維腫症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、変異NF1マウス（例としては、Cichowskiら、1996、Semin Cancer Biol 7(5):291-8）が挙げられる。網膜芽腫の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、網膜にシミアンウイルス40T抗原発現のトランスジェニックマウス（例としては、Howesら、1994、Invest Ophthalmol Vis Sci 35(2):342-51、およびWindleら、1990、Nature 343(6259):665-9参照）、および近交系ラット（例としては、Nishidaら、1981、Curr Eye Res 1(1):53-5、およびKobayashiら、1982、Acta Neuropathol (Berl) 57(2-3):203-8参照）が挙げられる。ウィルムス腫瘍の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、WT1ノックアウトマウス（例としては、Scharnhorstら、1997、Cell Growth Differ 8(2):133-43参照）、神経芽細胞腫多発の垂系ラット（例としては、Mesfin、Breech共著、1996、Lab Anim Sci 46(3):321-6参照）、およびWistar/Furthウィルムス腫瘍ラット（例としては、Murphyら、1987、Anticancer Res 7(4B):717-9参照）が挙げられる。

### 【0313】

#### 網膜色素変性症

網膜色素変性症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、英国外科医師会（「RCS」）ラット（例としては、Vollrathら、2001、Proc Natl Acad Sci USA 98(22):12584-9、およびHanitzschら、1998、Acta Anat (Basel) 162(2-3):119-26参照）、ロドプシンノックアウトマウス（例としては、Jaisleら、2001、

10

20

30

40

50

Invest Ophthalmol Vis Sci 42(2):506-13 参照)、およびWag/Rijラット(例としては、Lairら、1980、Am J Pathol 98(1):281-4 参照)が挙げられる。

【0314】

肝硬変

肝硬変の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、CCl<sub>4</sub>-暴露ラット(例としては、Kloehnら、2001、Horm Metab Res 33(7):394-401 参照)、および細菌性細胞成分または結腸炎により誘発されたげっ歯類モデル(例としては、Vierling、2001、Best Pract Res Clin Gastroenterol 15(4):591-610 参照)が挙げられる。

10

【0315】

血友病

血友病の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、血友病Aげっ歯類モデル(例としては、Reipertrら、2000、Thromb Haemost 84(5):826-32; Jarvisら、1996、Thromb Haemost 75(2):318-25; およびBirら、1995、Nat Genet 10(1):119-21 参照)、血友病Aイヌモデル(例としては、Gallo-Pennら、1999、Hum Gene Ther 10(11):1791-802、およびConnellyら、1998、Blood 91(9):3273-81 参照)、血友病Bマウスモデル(例としては、Snyderら、1999、Nat Med 5(1):64-70; Wangら、1997、Proc Natl Acad Sci USA 94(21):11563-6; およびFangら、1996、Gene Ther 3(3):217-22 参照)、血友病Bイヌモデル(例としては、Mountら、2002、Blood 99(8):2670-6; Snyderら、1999、Nat Med 5(1):64-70; Fangら、1996、Gene Ther 3(3):217-22; および、Kayら、1994、Proc Natl Acad Sci USA 91(6):2353-7 参照)、および血友病Bアカゲザルモデル(例としては、Lozierら、1999、Blood 93(6):1875-81 参照)が挙げられる。

20

【0316】

フォン・ヴィレブランド病

フォン・ヴィレブランド病の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、近交系マウス系統RIIS/J(例としてはNicholsら、1994、83(11):3225-31、およびSweeneyら、1990、76(11):2258-65 参照)、ボトロセチン投与ラット(例としては、Sandersら、1988、Lab Invest 59(4):443-52 参照)、およびフォン・ヴィレブランド病ブタモデル(例としては、Nicholsら、1995、Proc Natl Acad Sci USA 92(7):2455-9; Johnson、Bowie共著、1992、J Lab Clin Med 120(4):553-8; およびBrinkhousら、1991、Mayo Clin Proc 66(7):733-42 参照)が挙げられる。

30

40

【0317】

ベータ・サラセミア

ベータ・サラセミアの動物モデルの例としては、これらに限定されないが、グロビン遺伝子変異マウスモデル(例としては、Lewisら、1998、Blood 91(6):2152-6; Rajaら、1994、Br J Haematol 86(1):156-62; Poppら、1985、445:432-44; およびSkowら、1983、Cell 34(3):1043-5 参照)が挙げられる。

【0318】

腎臓結石

腎臓結石の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、遺伝性高カルシウム尿

50

症ラット（例としては、Bushinskyら、1999、Kidney Int 55 (1) : 234 - 43、およびBushinskyら、1995、Kidney Int 48 (6) : 1705 - 13）、化学物質で処理されたラット、（例としては、Grasesら、1998、Scand J Urol Nephrol 32 (4) : 261 - 5; Burgessら、1995、Urol Res 23 (4) : 239 - 42; Kumarら、1991、J Urol 146 (5) : 1384 - 9; Okadaら、1985、Hinyokika Kiyō 31 (4) : 565 - 77; およびBluestoneら、1975、Lab Invest 33 (3) : 273 - 9）、高シュウ酸尿症ラット（例としては、Jonesら、1991、J Urol 145 (4) : 868 - 74）、片側逆行軟性腎盂鏡検査におけるブタ（例としては、Seifmahら、2001、57 (4) : 832 - 6）、および上部尿路閉塞ウサギ（例としては、Itataniら、1979、Invest Urol 17 (3) : 234 - 40参照）が挙げられる。

### 【0319】

#### 血管拡張性失調症

血管拡張性失調症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、血管拡張性失調症マウスモデル（例としては、Barlowら、1999、Proc Natl Acad Sci USA 96 (17) : 9915 - 9、およびInoueら、1986、Cancer Res 46 (8) : 3979 - 82）が挙げられる。

### 【0320】

#### リソソーム蓄積症

リソソーム蓄積症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、ムコ多糖症VII型マウスモデル（例としては、Brooksら、2002、Proc Natl Acad Sci U S A. 99 (9) : 6216 - 21; Monroyら、2002、Bone 30 (2) : 352 - 9; Voglerら、2001、Pediatr Dev Pathol. 4 (5) : 421 - 33; Voglerら、2001、Pediatr Res. 49 (3) : 342 - 8; およびWolfeら、2000、Mol Ther. 2 (6) : 552 - 6参照）、異染性白質萎縮症マウスモデル（例としては、Matznerら、2002、Gene Ther. 9 (1) : 53 - 63参照）、サンドホフ病マウスモデル、（例としては、Sangoら、2002、Neuropathol Appl Neurobiol. 28 (1) : 23 - 34）、ムコ多糖症IIIA型マウスモデル（例としては、Bhattacharyyaら、2001、Glycobiology 11 (1) : 99 - 10、およびBhaumikら、1999、Glycobiology 9 (12) : 1389 - 96参照）、アリアルスルファターゼA (ASA) - 欠乏マウス（例としては、DHoogeら、1999、Brain Res. '847 (2) : 352 - 6、およびDHoogeら、1999、Neurosci Lett. '273 (2) : 93 - 6参照）; アスパルチルグルコサミン尿症変異マウス（例としては、Jalankoら、1998、Hum Mol Genet. 7 (2) : 265 - 72参照）; ムコ多糖症VI型ネコモデル（例としては、Crawleyら、1998、J Clin Invest. 101 (1) : 109 - 19、およびNorrudinら、1995、Bone 17 (5) : 485 - 9参照）; ニーマン・ピック病C型ネコモデル（例としては、Marchら、1997、Acta Neuropathol (Berl) . 94 (2) : 164 - 72参照）; 酸性スフィンゴミエリナーゼ - 欠損マウス（例としては、Otterbach、Stoffel共著、1995、Cell 81 (7) : 1053 - 6参照）、およびウシマンノシドーシス（例としては、Jollyら、1975、Birth Defects Orig Arctic Ser. 11 (6) : 273 - 8参照）が挙げられる。 11 (6) : 273 - 8）。

#### 結節硬化症

結節硬化症の動物モデルの例としては、これらに限定されないが、TSC1マウスモデル（例としては、Kwiatkowskiら、2002、Hum Mol Genet. 11 (6) : 273 - 8）。

11(5):525-34参照}、Tsc1(TSC1ホモログ)ノックアウトマウス(例としては、Kobayashiら、2001、Proc Natl Acad Sci U S A. 2001年7月17日;98(15):8762-7参照)、TSC2遺伝子変異(Eker)ラットモデル(例としては、Hino2000、Nippon Rinsho 58(6):1255-61; Mizuguchiら、2000、J Neuropathol Exp Neurol. 59(3):188-9;およびHinoら、1999、Prog Exp Tumor Res. 35:95-108};およびTsc2(+/-)マウス(例としては、Ondaら、1999、J Clin Invest. 104(6):687-95参照}が挙げられる。

#### 【0321】

##### 実施例5:mdxマウス、動物モデル研究

mdxマウスにおける427kDaのジストロフィンポリペプチドの未熟な翻訳終結を起こす変異は、エクソン23の3185の位置でのCからTまでの翻訳として示されてきた(Sicinskiら、Science 244(4912):1578-1580(1989))。生後1日のmdxマウス由来のマウス骨格筋初代培養を前述のように調整する(Barton-Davisら、J. Clin. Invest. 104(4):375-381(1999))。細胞を本発明の化合物の存在下で10日間培養する。4日ごとに培地を取り替え、筋芽細胞培養液内ジストロフィンの存在を前述の免疫染色によって検知する(Barton-Davisら、J. Clin. Invest. 104(4):375-381(1999)、参照することにより、その全体がここに組み込まれる)。ジストロフィタンパク質のC-末端に対するモノクローナル一次抗体を不希釈で使用し、ローダミン抱合の抗マウスIgGを二次抗体として使用する。この抗体が、ナンセンスコドンの抑制によって産生された全長のタンパク質を検知する。ライカDMR顕微鏡、デジタルカメラ、および関連画像ソフトを使用して染色を観察する。

#### 【0322】

前述のように(Barton-Davisら、J. Clin. Invest. 104(4):375-381(1999))、化合物は麻酔マウスの皮下に移植したアルゼット浸透圧ポンプによって供給される。本発明の化合物を2回投与する。ゲンタマイシンが正の制御として働き、溶剤を満たしたポンプは、負の制御としてのみ働く。ポンプを適当な化合物で満たし、組織が暴露される算出した投与量が10mMおよび20mMとなるようにする。約200mMの組織暴露が得られるよう、ゲンタマイシンの濃度を計算する。初期実験にてマウスを14日間治療し、その後マウスにケタミン麻酔をかけ、放血させる。次に実験動物の前脛骨(TA)筋を摘出し、凍結し、横紋筋へのジストロフィンの取り込みの免疫蛍光分析に使用する。前述のように、TA筋内のジストロフィンの存在を免疫染色によって検知する(Barton-Davisら、J. Clin. Invest. 104(4):375-381(1999))。

#### 【0323】

##### ウエスタンブロット分析

本発明の化合物で4週間処置したmdxマウスの大腿四頭筋を市販のジストロフィン抗体を用いてウエスタンブロット法で分析する。野生型マウスの大腿四頭筋から抽出したタンパク質が、正の対照の役割を果たす。処置動物において、全長のジストロフィンの産生が見られる。ナンセンス抑制の結果産生された全長のジストロフィンの量は、この理論には限定されないが、野生型の発現レベルの約10%である。

#### 【0324】

##### 免疫蛍光分析

mdx雄マウス(生後9~11週間)を、本発明の別の化合物で処置する(少なくとも各化合物について、n=2)。これらの化合物のSQを1日1回、2週間にわたり、25mg/kgで投与する。2週間の処置後、マウスから筋肉を摘出し、ジストロフィンのロードスルー効率を判断する。10μmの低温切開片に対し、ジストロフィン抗体を用いて免疫蛍光分析(IF)を実施する。抗体が、mdxマウスに見られる未熟停止変異への工

10

20

30

40

50

ピトープC - 末端を認識する。全ての部位について同一の方法で画像分析を行う。処置済みおよび未処置のマウスの画像を分析し、未処置の対照におけるシグナルよりも大きなシグナルは陽性とし、ジストロフィンmRNAにおける未熟期終結コドンの抑制を示す。

### 【0325】

#### 筋力学

動物のEDL筋において、摘出された全筋の筋力学を実施する。最適筋長(L<sub>0</sub>)を最大単収縮張力を産み出す長さとする。L<sub>0</sub>での強直性の最大力を、120Hz、500ミリ秒パルス、最大上電圧で測定する。5回の伸張性の強直性痙攣による機械的損傷に対する防御をモニターする。これらの測定は700ミリ秒の刺激時間で実施され、その間、最初の500ミリ秒間は筋肉は等尺性収縮に抑えられ、その後0.5L<sub>0</sub>/秒の率で8または10%L<sub>0</sub>の伸張が続く。機械的損傷に対する防御を80Hzの刺激頻度で判定する。損傷がある場合は、最初と最後の伸張性収縮間に力が低下したと判断する。

10

#### 実施例6：P53遺伝子におけるナンセンス変異の抑制

動物モデル系について、CAOV-3細胞(1×10<sup>7</sup>)をnude/nudeマウスの脇腹に投与する。12日後、マウスを任意抽出し(グループごとにマウス10匹)、本発明の化合物を3mg/kg皮下に投与(週5日)、あるいは本発明の化合物を30mg/kg腹腔内に投与(週1日)投与する。毎週、腫瘍の容積を測定する。本発明の化合物によってp53におけるナンセンス変異を抑制することで、in vivoでの癌増殖を阻害することができる。

20

### 【0326】

#### 実施例7：本発明の化合物により、28S rRNAの特定のヌクレオチドへのアクセスを修正することができる

以前の研究では、翻訳の忠実度を低下させるゲンタマイシンおよびその他のアミノグリコシド群は、16S rRNAのA部位に結合することが明らかにされてきた。化学的なフットプリンティング、UV架橋、およびNMRによって、ゲンタマイシンはrRNAのA部位(ヌクレオチド1400-1410、および1490-1500、大腸菌番号付け)の、ヌクレオチド1406、1407、1494、および1496に結合することが示されてきた(Moazed、Noller共著、Nature 327(6121):389-394(1978); Woodcockら、EMBO J. 10(10):3099-3103(1991); および、Schroederら、EMBO J. 19:1-9(2000))。

30

### 【0327】

ヒラ細胞から調整されたりボソームを小分子とともに培養し(100mMの濃度で)、化学変性剤(硫酸ジメチル[DMS]およびkethoxal[KE])で処理する。化学修飾に続いて、rRNAをフェノール-クロロフォルム抽出、エタノール沈殿、3つのrRNAの別の部位にハイブリダイズする末端標識されたオリゴヌクレオチドを用いてプライマー伸長反応分析を行い、6%ポリアクリルアミドゲルに溶解させる。プライマー伸長は、18S(7個のオリゴヌクレオチドプライマー)、28S(24個のオリゴヌクレオチドプライマー)、および5S(1個のプライマー)rRNAの全体について試験する。これらの実験の対照には、DMSO(DMSOに起因するrRNA到達性の変化の対照)、パロマイシン(18S rRNA結合のマーカー)、およびアニソマイシン(28S rRNA結合のマーカー)が含まれる。

40

### 【0328】

ここで引用する出版物および特許出願書類の全ては、個々の出版物あるいは特許出願書類が特異的かつ個別に、参照することによって組み込まれることが示唆される程度に、参照することによりここに組み込まれる。

### 【0329】

特定の実施例を詳細に上述したが、当業者は、その内容から逸脱しない限り、実施例への多くの変更が可能であると明確に理解されたい。それらの変更全ては本発明の請求項の範囲に含まれるよう意図しなければならない。

50

【図面の簡単な説明】

【0330】

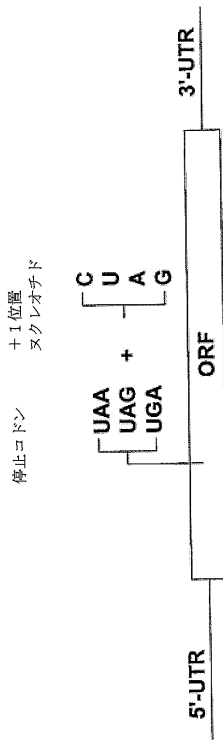
【図1】図1は、ナンセンス変異を評価するために用いるルシフェラーゼベースアッセイの構成を概略的に説明している。

【図2】図2は、ルシフェラーゼタンパク質のN末端に一つ以上のエピトープタグを有するように操作されたルシフェラーゼ構成の概略図である。

【図3】図3は、リードスルーの効率を評価するために用いるルシフェラーゼベースアッセイの構成を概略的に説明している。

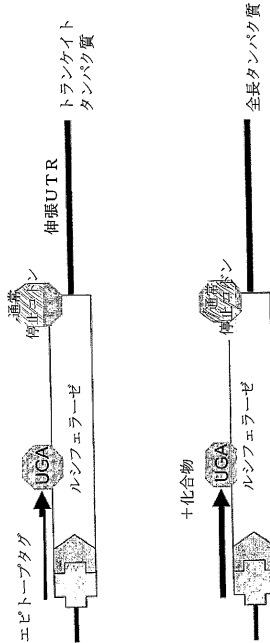
【図1】

図1：ルミネセンスアッセイ



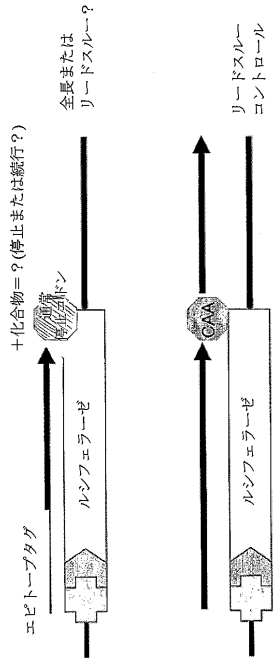
【図2】

図2：ルシフェラーゼタンパク質



【 図 3 】

図 3 : リードスルーアッセイ



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No /US2005/036764
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/44 A61K31/495 A61K31/53		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 03/016280 A (LION BIOSCIENCE AG; BAUER, ULRIKE; CHERUVALLATH, ZACH; DEUSCHLE, ULRIC) 27 February 2003 (2003-02-27) pages 33-35 figures 4A, 4B claims 1, 8-13, 29-32	1-84
A	WO 2004/074244 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION; DAVIS-WARD, RONDA; MOOK, ROBERT, ANTHO) 2 September 2004 (2004-09-02) claims 1, 27, 29	1-84
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 March 2006		Date of mailing of the international search report 03/04/2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Schifferer, H

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.  
 PCT/US2005/036764
**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  

Although claims 1-81 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No  
/US2005/036764

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03016280	A	27-02-2003	NONE	
WO 2004074244	A	02-09-2004	EP 1597251 A2	23-11-2005

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
C 0 7 D 403/10	(2006.01)	C 0 7 D 403/10	
C 0 7 D 251/24	(2006.01)	C 0 7 D 251/24	
A 6 1 K 31/506	(2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 K 31/53	(2006.01)	A 6 1 K 31/53	
A 6 1 K 31/5377	(2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 37/02	(2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 7/00	(2006.01)	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 9/00	(2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 11/00	(2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02	1 0 1
A 6 1 P 37/06	(2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/16	(2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 7/04	(2006.01)	A 6 1 P 7/04	
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 1/16	(2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 19/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 3/06	(2006.01)	A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 3/04	(2006.01)	A 6 1 P 3/04	1 0 5
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	

- (31)優先権主張番号 60/617,655  
(32)優先日 平成16年10月13日(2004.10.13)  
(33)優先権主張国 米国(US)  
(31)優先権主張番号 60/617,653  
(32)優先日 平成16年10月13日(2004.10.13)  
(33)優先権主張国 米国(US)  
(31)優先権主張番号 60/624,170  
(32)優先日 平成16年11月3日(2004.11.3)  
(33)優先権主張国 米国(US)

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

- (72)発明者 アルムステッド, ニール  
 アメリカ合衆国 08540 ニュージャージー州, プリンストン, ロングビュー ドライブ 1  
 79
- (72)発明者 カーブ, ギャリー, エム.  
 アメリカ合衆国 08550 ニュージャージー州, プリンストン ジャンクション, カートライ  
 ト ドライブ 37
- (72)発明者 ワイルド, リチャード  
 アメリカ合衆国 08876 ニュージャージー州, サマービル, カスケーズ テラス 13
- (72)発明者 ウェルチ, エレン  
 アメリカ合衆国 07830 ニュージャージー州, カリフォン, ホロウ ブルック ロード 3  
 3
- (72)発明者 レン, ホンギョ  
 アメリカ合衆国 08810 ニュージャージー州, デイトン, ブラッサム サークル 407
- F ターム(参考) 4C055 AA01 BA02 BA03 BA08 BA33 BB02 BB03 CA01 CA03 CA08  
 CA33 CB02 DA01 DA08 DA33 DB02  
 4C063 AA01 BB01 BB06 CC31 CC82 DD25 DD31 EE01  
 4C086 AA01 AA02 AA03 BC17 BC42 BC60 BC73 GA02 GA07 GA09  
 GA12 MA02 MA05 MA65 NA14 ZA01 ZA16 ZA33 ZA36 ZA45  
 ZA51 ZA53 ZA59 ZA70 ZA75 ZA81 ZA96 ZB07 ZB08 ZB11  
 ZB15 ZB21 ZB26 ZB27 ZC33 ZC35