

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4468810号  
(P4468810)

(45) 発行日 平成22年5月26日 (2010. 5. 26)

(24) 登録日 平成22年3月5日 (2010. 3. 5)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 417/04 (2006. 01)

C O 7 D 417/04 C S P

A 6 1 K 31/428 (2006. 01)

A 6 1 K 31/428

A 6 1 K 31/4439 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4439

A 6 1 K 31/454 (2006. 01)

A 6 1 K 31/454

A 6 1 K 31/496 (2006. 01)

A 6 1 K 31/496

請求項の数 42 (全 125 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-523674 (P2004-523674)  
 (86) (22) 出願日 平成15年7月23日 (2003. 7. 23)  
 (65) 公表番号 特表2006-505512 (P2006-505512A)  
 (43) 公表日 平成18年2月16日 (2006. 2. 16)  
 (86) 国際出願番号 PCT/CA2003/001078  
 (87) 国際公開番号 W02004/011460  
 (87) 国際公開日 平成16年2月5日 (2004. 2. 5)  
 審査請求日 平成18年7月24日 (2006. 7. 24)  
 (31) 優先権主張番号 60/398, 504  
 (32) 優先日 平成14年7月24日 (2002. 7. 24)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 504424937  
 キューエルティー インコーポレーティッ  
 ド  
 カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州  
 バンクーバー グレート ノーザン ウ  
 ェイ 887  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100128048  
 弁理士 新見 浩一  
 (72) 発明者 チャン ツァイファイ  
 カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州  
 バンクーバー マクドナルド ストリー  
 ト 4038

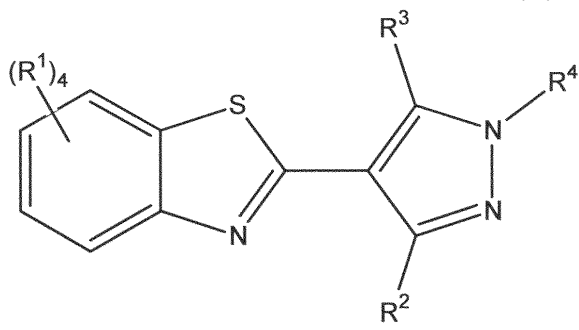
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピラゾリルベンゾチアゾール誘導体および治療薬としてのそれらの使用法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

薬学的に許容される賦形剤と、化学式(1)：



の化合物を単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物として；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物とを含む薬学的組成物であって、

式中、各場合のR<sup>1</sup>およびR<sup>3</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルホニル、アリール、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミドから選択され；

R<sup>2</sup>はアミノであり；

R<sup>4</sup>は、水素およびメチルから選択され；ここで、

前記ヘテロアルキルが、アミノヒドロカルボイル、アミド、カルボン酸、シアノ、ジヒドロカルビルアミド、ジヒドロカルビルアミノ、ジ(ヒドロカルビル)ホスフィド、ホルミル、ヒドロカルボイル、ヒドロカルボイルオキシ、ヒドロカルビルアミノ、ヒドロカルビルオキシ、ヒドロカルビルオキシカルボニル、ヒドロカルビルシロキシ、ヒドロカルビルシリルアミノ、ヒドロカルビルスルフィド、ヒドロカルビルチオ、ヒドロカルビルアミド、N-複素環、パーフルオロヒドロカルビル、ならびにアルキルアミノ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アジド、ジアルキルアミノ、ハロゲン、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミドから選択される1または複数の基により置換されたヒドロカルビルから選択され；および

前記化学式(1)の化合物から、

4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾル-3-アミン、

4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾル-3,5-ジアミン、

4-(2-ベンゾチアゾリル)-N<sup>3</sup>-(4-メチルフェニル)-1H-ピラゾル-3,5-ジアミン、および

4-(2-ベンゾチアゾリル)-N<sup>3</sup>-フェニル-1H-ピラゾル-3,5-ジアミンが除かれる、薬学的

組成物。

#### 【請求項2】

ヒドロカルビルが、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールからなる群より選択され、ここで、

アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>1</sup>基で各々選択的に置換され、ここで各Hy<sup>1</sup>基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され；

シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールは、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレンおよびアリールから選択される1または複数のHy<sup>2</sup>基により各々選択的に置換され；

ただし、Hy<sup>2</sup>がアルキル、アルケニル、またはアルキニルから選択される場合、Hy<sup>2</sup>は、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>3</sup>基により置換されてもよく、ここで各Hy<sup>3</sup>基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>4</sup>基により選択的に置換され、Hy<sup>2</sup>がシクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される場合、Hy<sup>2</sup>は1または複数のHy<sup>4</sup>基により選択的に置換されることを条件とし；

さらに、アリールは非芳香族炭化水素環に縮合されたアリール環を含むことを条件とする、請求項1記載の組成物。

#### 【請求項3】

各場合のR<sup>1</sup>が水素である、請求項1記載の組成物。

#### 【請求項4】

R<sup>4</sup>が水素である、請求項1記載の組成物。

#### 【請求項5】

R<sup>4</sup>がメチルである、請求項1記載の組成物。

#### 【請求項6】

R<sup>3</sup>がフェニルおよび置換フェニルから選択される、請求項1記載の組成物。

#### 【請求項7】

R<sup>3</sup>が、アミノ、アミノスルホニル、アリール、ハロゲン、ヒドロカルビル、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミドから選択される1または複数の置換基により置換されたフェニルである、請求項6記載の組成物。

#### 【請求項8】

R<sup>3</sup>がヘテロアルキルである、請求項1記載の組成物。

#### 【請求項9】

R<sup>3</sup>が、アミノ、ヒドロカルビルアミノ、およびジヒドロカルビルアミノから選択される、請求項1記載の組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 10】

R<sup>3</sup>がヒドロカルビルアミノであり、ここでヒドロカルビルはアラルキルである、請求項9記載の組成物。

## 【請求項 11】

R<sup>3</sup>がヒドロカルビルアミノであり、ここでヒドロカルビルはアルキルである、請求項9記載の組成物。

## 【請求項 12】

R<sup>3</sup>がアミノである、請求項9記載の組成物。

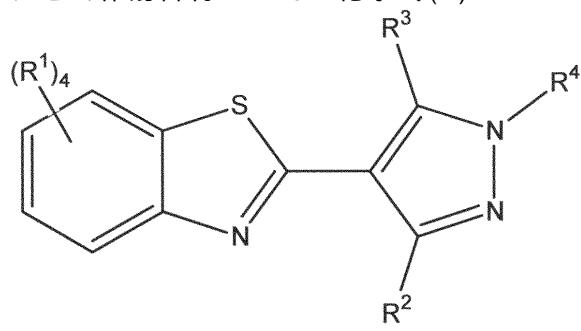
## 【請求項 13】

R<sup>3</sup>がヒドロカルビルである、請求項1記載の組成物。

10

## 【請求項 14】

単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：



(1)

20

の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物であって；ここで、

各場合のR<sup>1</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルホニル、アリール、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミド、から選択され；

R<sup>2</sup>はアミノであり；

R<sup>3</sup>は複素環、水素、ハロゲン置換ヒドロカルビルおよびヒドロカルビルから選択され；

R<sup>4</sup>は、水素およびメチルから選択され；

前記ヘテロアルキルが、アミノヒドロカルボイル、アミド、カルボン酸、シアノ、ジヒドロカルビルアミド、ジヒドロカルビルアミノ、ジ(ヒドロカルビル)ホスフィド、ホルミル、ヒドロカルボイル、ヒドロカルボイルオキシ、ヒドロカルビルアミノ、ヒドロカルビルオキシ、ヒドロカルビルオキシカルボニル、ヒドロカルビルシロキシ、ヒドロカルビルシリルアミノ、ヒドロカルビルスルフィド、ヒドロカルビルチオ、ヒドロカルビルアミド、N-複素環、パーフルオロヒドロカルビル、ならびにアルキルアミノ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アジド、ジアルキルアミノ、ハロゲン、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミドから選択される1または複数の基により置換されたヒドロカルビルから選択され；および

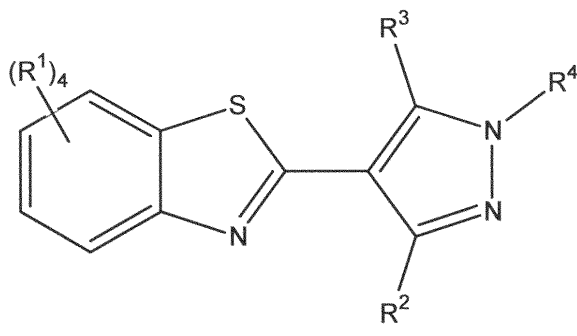
30

前記化学式(1)の化合物から、4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾル-3-アミンが除かれる、化合物。

40

## 【請求項 15】

単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：



の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物であって；ここで、  
 各場合のR¹はそれぞれ、アミノ、アミノスルホニル、アリール、ハロゲン、ヘテロアル  
キル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホン  
アミドから選択され；

R²はアミノであり；

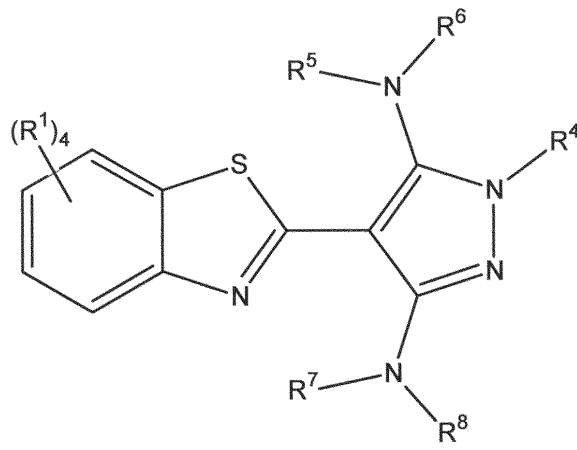
R³は、ヒドロカルビル、-O-ヒドロカルビル、および-S-ヒドロカルビルから選択され；

R⁴は、水素およびメチルから選択され；および

前記ヘテロアルキルが、アミノヒドロカルボイル、アミド、カルボン酸、シアノ、ジヒ  
ドロカルビルアミド、ジヒドロカルビルアミノ、ジ(ヒドロカルビル)ホスフィド、ホルミ  
ル、ヒドロカルボイル、ヒドロカルボイルオキシ、ヒドロカルビルアミノ、ヒドロカルビ  
ルオキシ、ヒドロカルビルオキシカルボニル、ヒドロカルビルシロキシ、ヒドロカルビル  
シリルアミノ、ヒドロカルビルスルフィド、ヒドロカルビルチオ、ヒドロカルビルアミド  
、N-複素環、パーフルオロヒドロカルビル、ならびにアルキルアミノ、アミノ、アミノス  
ルフィニル、アミノスルホニル、アジド、ジアルキルアミノ、ハロゲン、ヒドロキシル、  
ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミドから選択される1または複数の基により  
置換されたヒドロカルビルから選択される、化合物。

#### 【請求項 16】

単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(2)：



の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物であって；ここで、  
 各場合のR¹はそれぞれ、アミノ、アミノスルホニル、アリール、ハロゲン、ヘテロアル  
キル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホン  
アミドから選択され；

R⁴は、水素およびメチルから選択され；

各場合のR⁵、R⁶、R⁷、およびR⁸はそれぞれ、ヘテロアルキル、ヒドロカルビル、および  
水素から選択され、ただし、R⁷およびR⁸は一緒になり、両方に結合されている窒素を含む  
 複素環を形成してもよいことを条件とし；

前記ヘテロアルキルが、アミノヒドロカルボイル、アミド、カルボン酸、シアノ、ジヒ  
ドロカルビルアミド、ジヒドロカルビルアミノ、ジ(ヒドロカルビル)ホスフィド、ホルミ

ル、ヒドロカルボイル、ヒドロカルボイルオキシ、ヒドロカルビルアミノ、ヒドロカルビルオキシ、ヒドロカルビルオキシカルボニル、ヒドロカルビルシロキシ、ヒドロカルビルシリルアミノ、ヒドロカルビルスルフィド、ヒドロカルビルチオ、ヒドロカルビルアミド、N-複素環、パーフルオロヒドロカルビル、ならびにアルキルアミノ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アジド、ジアルキルアミノ、ハロゲン、ヒドロキシル、ニトロ、スルファモイル、およびスルホンアミドから選択される1または複数の基により置換されたヒドロカルビルから選択され；および

前記化学式(2)の化合物から、

4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾル-3,5-ジアミン、

4-(2-ベンゾチアゾリル)-N<sup>3</sup>-(4-メチルフェニル)-1H-ピラゾル-3,5-ジアミン、および

4-(2-ベンゾチアゾリル)-N<sup>3</sup>-フェニル-1H-ピラゾル-3,5-ジアミンが除かれる、

化合物。

#### 【請求項 17】

薬学的に許容される賦形剤と、以下からなる群より選択される化合物を、単一の互変異性体、互変異性体の混合物、単一の立体異性体、立体異性体の混合物、もしくはラセミ混合物として；またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物とを含む薬学的組成物：

(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-[2-(1H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-アミン；

(4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イル)-メチル-アミン；

[2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；

[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-5-イル]-メタノール；

[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；

2-(3-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾール-7-スルホン酸アミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,6-ジメチル-ピリミジン-4-イル)-アミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-7-カルボン酸メチルエステル；

2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルアミン；

2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-4-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン

10

20

30

40

50

酸(ピリジン-4-イルメチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-オル；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-スルホン酸メチルアミ  
ド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロ  
キシ-エチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-メトキ  
シ-エチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸-4-フルオ  
ロ-ベンジルアミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-チオフ  
エン-2-イル-エチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸-4-クロロ-  
ベンジルアミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-メトキシ  
-ベンジルアミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸ベンジルア  
ミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸フェネチル  
-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸[2-(4-アミ  
ノ-フェニル)-エチル]-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-モルホ  
リン-4-イル-エチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,2,2-トリ  
フルオロ-エチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸シクロプロ  
ピルメチル-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸[2-(3H-イ  
ミダゾル-4-イル)-エチル]-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-アミノ-  
ベンジルアミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(ピリジン-  
4-イルメチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ジメチ  
ルアミノ-エチル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(3-ジメチ  
ルアミノ-プロピル)-アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(酢酸ヒド  
ラジド)アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(フェニル  
ヒドラジノ)アミド；  
2-(5-アミノ-3-ピリジン-4-イル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸  
アミド；  
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エタノール；  
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-シクロペンタノール  
；  
2-{[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルメチル]-アミノ

10

20

30

40

50

}-エタノール；

3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オル；

3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-プロパン-1-オル；

3-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミノ]-プロパン-1-オル；

3-{[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イルメチル]アミノ}-ベンゼンスルホンアミド；

4-(4-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ブタン-1-オル；

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-ブタン-1-オル；

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-酪酸；

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-N-チアゾル-2-イル-ベンゼンスルホンアミド；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フェニル-シクロプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-ニトロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-メトキシ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(5-ニトロ-フラン-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-イソキサゾル-5-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フェニル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-トリフルオロメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ブロモ-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン

10

20

30

40

50

- ;
- 4-(6-プロモ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-クロロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-ジメチルアミノメチル-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-ジメチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-メタンスルホニル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(6-ニトロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-(7-クロロ-4-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- ;
- 4-(7-クロロ-5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-[(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-メチル]-ベンゼン  
スルホンアミド ;
- 4-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エチル]-フェノ  
ール ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-メチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ジメチルアミノ-ブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-メチルアミノ-ブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ニトロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-シクロプロピル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-エチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フェニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペラジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-3-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミ  
ン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチレン)-1H-ピラゾール-3,5-ジア  
ミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-ジメチルアミノ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン  
 ;
- ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-エチルアミノ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-メトキシ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-ピロリジン-1-イル-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミ  
ン ;
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミ



ン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-イミダゾル-1-イル-プロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-[2-(1H-インドル-3-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-ピペリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(2-モルホリン-4-イル-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-エチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-3-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

5-(2-クロロ-ピリジン-3-イル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-(3-アミノ-プロピル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-シクロプロピル-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン

；

5-メチル-4-(6-メチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン

；

5-メチル-4-(6-モルホリン-4-イルメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-(6-ピロリジン-1-イルメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-[6-(4-メチル-ピペラジン-1-イルメチル)-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-[6-(4-メチル-ピペラジン-1-スルホニル)-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-アセトアミド

；

N-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エチル]-アセトアミド；

N-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェニル]-ヒドロキシルアミン；

N-{2-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルアミノ]-エチル}-アセトアミド；

N-{2-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミノ]-エチル}-アセトアミド；

N<sup>3</sup>-(2-アミノ-エチル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-(2-ジメチルアミノ-エチル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-5-カルボン酸エチルエステル；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ベンジル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

10

20

30

40

50

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-モルホリン-4-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-メチルピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(3,5-ジクロロフェニル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(3-トリフルオロメタンスルホニル-フェニル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-キノリン-6-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-キノリン-5-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-3-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-メチルブチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；および  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-2-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン。

10

【請求項 18】

以下からなる群より選択される、請求項14記載の化合物：

(4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イル)-メチル-アミン；  
[2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；  
[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-5-イル]-メタノール；  
[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；  
2-(3-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；  
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾール-7-  
スルホン酸アミド；  
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-カルボン  
酸メチルエステル；  
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸；  
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエ  
テル；  
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-7-カルボン酸メチルエ  
テル；  
2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルアミン；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸  
アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン  
酸アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-オル；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸アミド；  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；  
2-(5-アミノ-3-ピリジン-4-イル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸  
アミド；  
4-(4-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フルオロ-フェニル)-2H-ピラ  
ゾル-3-イルアミン；  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フェニル-シクロプロピル)-2H-  
-ピラゾル-3-イルアミン；  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-フルオロ-フェニル)-2H-ピラ  
ゾル-3-イルアミン；  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-フルオロ-フェニル)-2H-ピラ  
ゾル-3-イルアミン；  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(5-ニトロ-フラン-2-イル)-2H-ピ  
ラゾル-3-イルアミン；  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イ

20

30

40

50

ルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-イソキサゾル-5-イル-2H-ピラゾ  
ル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミ  
ン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フェニル-2H-ピラゾル-3-イルア  
ミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-  
3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-  
イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-  
3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン  
；

4-(5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-トリフルオロメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ブロモ-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン  
；

4-(6-ブロモ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-クロロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ジメチルアミノメチル-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル  
-3-イルアミン；

4-(6-ジメチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミ  
ン；

4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミ  
ン；

4-(6-ニトロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(7-クロロ-4-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン  
；

4-(7-クロロ-5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-  
イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-シクロプロピル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-エチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フェニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペラジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-3-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-(2-クロロ-ピリジン-3-イル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-  
ピラゾル-3-イルアミン；

10

20

30

40

50

5-シクロプロピル-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-メチル-4-(6-メチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン

N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-アセトアミド

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-5-カルボン酸エチルエステル；および

4-ベンゾチアゾル-2-イル-2-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン。

#### 【請求項 19】

以下からなる群より選択される、請求項15記載の化合物：

[2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；

[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-5-イル]-メタノール；

[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾール-7-スルホン酸アミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-7-カルボン酸メチルエステル；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-オール；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；

4-(4-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フェニル-シクロプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フェニル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ブromo-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ブromo-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-クロロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ジメチルアミノメチル-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル

10

20

30

40

50

- 3-イルアミン；
- 4-(6-ジメチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-(7-クロロ-4-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-(7-クロロ-5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-シクロプロピル-2H-ピラゾル-3-イルアミン； 10
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-エチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フェニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 5-シクロプロピル-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 5-メチル-4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；
- 5-メチル-4-(6-メチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン 20
- ；
- N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-アセトアミド；および
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-5-カルボン酸エチルエステル。
- 【請求項 20】
- 以下からなる群より選択される化合物：
- 2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-5-イル]-メタノール； 30
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール；
- 2-(3-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；
- 2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾール-7-スルホン酸アミド；
- 2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル；
- 2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸；
- 2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル；
- 2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-7-カルボン酸メチルエステル； 40
- 2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イルアミン；
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-5-オル；
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸アミド；
- 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド；
- 2-(5-アミノ-3-ピリジン-4-イル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 50

アミド；

4-(4-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フェニル-シクロプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-ニトロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-メトキシ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フェニル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(5-トリフルオロメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ブロモ-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ブロモ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-クロロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ジメチルアミノメチル-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ジメチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(6-ニトロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(7-クロロ-4-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-(7-クロロ-5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-(2-クロロ-ピリジン-3-イル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-シクロプロピル-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

10

20

30

40

50

5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン ;  
5-メチル-4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン  
;  
5-メチル-4-(6-メチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン  
;  
N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-アセトアミド  
;  
N-{2-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミノ]-エチル}-アセトアミド ;  
N<sup>3</sup>-(2-ジメチルアミノ-エチル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-  
ピラゾール-3,5-ジアミン ;  
N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1-  
H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;  
N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピ  
ラゾール-3,5-ジアミン ; および  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-5-カルボン酸エチルエス  
テル。

【請求項 2 1】

以下からなる群より選択される、請求項16記載の化合物：

2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エタノール ;  
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-シクロペンタノール  
;  
3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-プロパン-1-オール ;  
3-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルア  
ミノ]-プロパン-1-オール ;  
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-ブタン-1-オール ;  
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-酪酸 ;  
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エ  
チル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;  
4-[(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-メチル]-ベンゼン  
スルホンアミド ;  
4-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エチル]-フェノ  
ール ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミ  
ン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチレン)-1H-ピラゾール-3,5-ジア  
ミン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-ジメチルアミノ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン  
;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-エチルアミノ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-メトキシ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-ピロリジン-1-イル-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミ  
ン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミ  
ン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-イミダゾル-1-イル-プロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジア  
ミン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-[2-(1H-インドル-3-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジ  
アミン ;  
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-ピペリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン ;

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-(2-モルホリン-4-イル-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-エチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-3-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)-エチル]-アセトアミド；

N-{2-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3-イルアミノ]-エチル}-アセトアミド；

N<sup>3</sup>-(2-アミノ-エチル)-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-(2-ジメチルアミノ-エチル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾール-4-イル)-エチル]-4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-ベンジル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-(3,5-ジクロロフェニル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-キノリン-6-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>3</sup>-キノリン-5-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-3-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン；および

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-メチルブチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン。

#### 【請求項 22】

単一の互変異性体、互変異性体の混合物、単一の立体異性体、立体異性体の混合物、もしくはラセミ混合物としての、以下からなる群より選択される化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和化合物：

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド；

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,6-ジメチル-ピリミジン-4-イル)-アミド；

2-(5-アミノ-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-4-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(ピリジン-4-イルメチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-スルホン酸メチルアミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-メトキシ-エチル)-アミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸-4-フルオロ-ベンジルアミド；

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-チオフ

10

20

30

40

50



エン-2-イル-エチル)-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸-4-クロロ-  
ベンジルアミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-メトキシ  
-ベンジルアミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸ベンジルア  
ミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸フェネチル  
-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸[2-(4-アミ  
ノ-フェニル)-エチル]-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-モルホ  
リン-4-イル-エチル)-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,2,2-ト  
リフルオロ-エチル)-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸シクロプロ  
ピルメチル-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸[2-(3H-イ  
ミダゾル-4-イル)-エチル]-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-アミノ-  
ベンジルアミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(ピリジン-  
4-イルメチル)-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ジメチ  
ルアミノ-エチル)-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(3-ジメチ  
ルアミノ-プロピル)-アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(酢酸ヒド  
ラジド)アミド ;  
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(フェニル  
ヒドラジノ)アミド ;  
2-{[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルメチル]-アミノ  
}-エタノール ;  
3-{[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルメチル]-アミノ  
}-ベンゼンスルホンアミド ;  
4-(6-メタンスルホニル-ベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン ;  
5-メチル-4-(6-モルホリン-4-イルメチル-ベンゾチアゾール-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イル  
アミン ;  
5-メチル-4-(6-ピロリジン-1-イルメチル-ベンゾチアゾール-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イル  
アミン ;  
5-メチル-4-[6-(4-メチル-ピペラジン-1-イルメチル)-ベンゾチアゾール-2-イル)-2H-ピラ  
ゾル-3-イルアミン ;  
5-メチル-4-[6-(4-メチル-ピペラジン-1-スルホニル)-ベンゾチアゾール-2-イル)-2H-ピラ  
ゾル-3-イルアミン ;  
N-{2-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルアミノ  
]-エチル}-アセトアミド ;  
(4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-[2-(1H-イミダゾール-4-イル)-エチル]-  
アミン ;  
3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オル ;  
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ブタン-1-オル ;

10

20

30

40

50

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-N-チアゾル-2-イル-ベンゼンスルホンアミド；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-メチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ジメチルアミノ-ブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-メチルアミノ-ブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ニトロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-(3-アミノ-プロピル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；

5-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン；および  
N-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェニル]-ヒドロキシ  
ルアミン。

10

【請求項 2 3】

患者における過増殖疾患を治療するための薬剤の調製のための、請求項1記載の組成物、または請求項14～22のいずれか一項記載の化合物の使用。

【請求項 2 4】

過増殖疾患が腫瘍細胞の増殖、新生内膜過形成、またはリンパ増殖疾患を含む、請求項23記載の使用。

【請求項 2 5】

過増殖疾患が血管形成(angiogenesis)または新血管形成(neovascularization)を含む、請求項24記載の使用。

20

【請求項 2 6】

新血管形成が眼の新血管形成である、請求項25記載の使用。

【請求項 2 7】

眼の新血管形成が、角膜、虹彩、網膜、または脈絡膜の新血管形成である、請求項26記載の使用。

【請求項 2 8】

眼の新血管形成が、加齢関連黄斑変性、または加齢関連糖尿病性網膜症に関連する、請求項27記載の使用。

【請求項 2 9】

薬剤が、光感受性剤と組み合わせて用いられる、請求項26記載の使用。

30

【請求項 3 0】

光感受性剤がベルテポルフィンである、請求項29記載の使用。

【請求項 3 1】

細胞の遊走または浸潤に起因する疾患を患う患者における、細胞の遊走または浸潤を阻害するための薬剤の調製のための、請求項1記載の組成物、または請求項14～22のいずれか一項記載の化合物の使用。

【請求項 3 2】

細胞が癌細胞である、請求項31記載の使用。

【請求項 3 3】

細胞が好中球である、請求項31記載の使用。

40

【請求項 3 4】

細胞がマクロファージである、請求項31記載の使用。

【請求項 3 5】

患者における炎症を阻害するための薬剤の調製のための、請求項1記載の組成物、または請求項14～22のいずれか一項記載の化合物の使用。

【請求項 3 6】

炎症がマクロファージの活性化を含む、請求項35記載の使用。

【請求項 3 7】

炎症が、リウマチ性関節炎、接触性皮膚炎、アレルギー性皮膚炎、および乾癬からなる群より選択される、請求項35記載の使用。

50

## 【請求項 38】

炎症が喘息に関連する、請求項35記載の使用。

## 【請求項 39】

患者における腎疾患を治療するための薬剤の調製のための、請求項1記載の組成物、または請求項14～22のいずれか一項記載の化合物の使用。

## 【請求項 40】

疾患が高血圧症によって引き起こされる、請求項39記載の使用。

## 【請求項 41】

疾患が高血圧症によって引き起こされない、請求項39記載の使用。

## 【請求項 42】

薬剤が、ACE阻害剤と組み合わせて用いられる、請求項39記載の使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

発明の分野

本発明はピラゾリルベンゾチアゾール誘導体、これら誘導体を含む薬学的組成物、および治療薬としてのこれら誘導体の使用方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

発明の背景

細胞死が多細胞生物の健全性にとって細胞分裂と同じくらい重要であること；増殖がある場合、細胞子孫を調節する手段がなければならないことが、近年次第に明らかになってきている。発生または組織修復における細胞分裂および分化を繰り返すことにより、余分な、または有害でさえある細胞が発生し、それらは除去、または殺されなければならない。成人では、老化細胞が除去され、新しく発生した細胞と置き換えられて、恒常性が維持されている。

## 【0003】

生物における増殖と細胞死との間の微妙な相互作用は、個々の細胞が細胞分裂を受ける；細胞周期で静止する；またはプログラムされた細胞死を受けるかどうかを決定する複雑な分子均衡において映し出される。シグナル伝達は、細胞外シグナル、例えばホルモン、成長因子、神経伝達物質、サイトカインなどを特定の細胞内応答、例えば遺伝子発現、細胞分裂、またはアポトーシスに変換する過程を説明する用語である。この過程は、細胞膜で開始する。細胞膜では、外部刺激により細胞内部の酵素反応カスケードが開始し、この反応は典型的には下流過程のメディエータとしての蛋白質のリン酸化を含む。これらの過程はほとんどの場合、細胞核内のイベントとなる。これらのシグナル伝達経路のチェックおよび均衡は、「前進 - 前進せず (go-no go)」制御点を制御する相互作用分子の重なりネットワークとして考えることができる。周知の疾患のほとんど全てがこれらのネットワークにおいて機能異常を示すので、疾患に関係するシグナル伝達成分に基づいて標的および治療薬を提供する研究に対する熱意が高くなっている。

## 【0004】

細胞増殖の調節障害、または適当な細胞死の欠如は、広範囲にわたる臨床上の意義を有する。そのような調節障害に関連する多くの疾患には、過剰増殖、炎症、組織再構築、および修復が含まれる。このカテゴリにおいてよく知られている徴候としては、癌、再狭窄、新生内膜過形成、血管形成、子宮内膜症、リンパ球増殖性疾患、移植片拒絶、ポリープ症、組織再構築の場合の神経機能の損失などが挙げられる。そのような細胞では、細胞分裂の正常な調節制御が失われ、適した細胞死を受けることができなくなることもある。

## 【0005】

1つの例では、上皮細胞、内皮細胞、筋細胞などが、細胞外基質との接触を失う、または不適当なインテグリンを介して結合すると、アポトーシスを受ける。この現象は「アノイキス」(「家がないこと」のギリシア語)と呼ばれ、脱落した上皮細胞が他の場所で定着

10

20

30

40

50

するのを防ぎ、これにより新生物形成、子宮内膜症などに対し保護される。この現象はまた、胚発生の初期のキャピテーション段階、乳腺退化において重要な機構であり、腫瘍血管新生を阻止するために利用されている。上皮細胞は、インテグリンシグナル伝達の過活性化によりアノイキスに対して抵抗性となることがある。アノイキス抵抗性はまた、アポトーシスシグナル伝達の喪失、例えば、Bcl-2の過剰発現またはカスパーゼ活性の阻害により生じうる。

【0006】

腫瘍増殖に関連することが多い過剰増殖の局面は、血管形成である。新規血管の増殖は固形腫瘍増殖の後期に必須である。血管形成は、血管を形成する内皮細胞の遊走および増殖により引き起こされる。

【0007】

別の例では、全身性自己免疫疾患の主要群は、リンパ球活性化および増殖の終結の欠陥の結果である異常なリンパ球増殖と関連する。そのような疾患は、炎症、例えば関節リウマチ、インスリン依存性糖尿病、多発性硬化症、全身性紅斑狼瘡などと関連することが多い。これらの異常の原因および結果の理解が最近進んでいる。分子レベルで複数の欠陥が起こり、これにより機能的なアポトーシス機構を構成することができなくなる。

【0008】

特に望ましくない細胞を選択的に標的とする、過剰増殖性疾患を阻止する化合物の開発が、医学的および市場的に大きな関心を引いている。

【0009】

関連文献

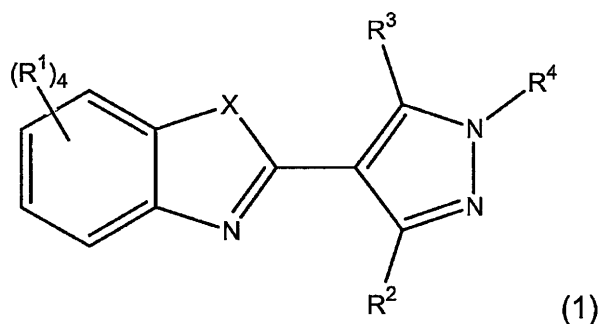
ホスファチジルイノシトール(3,4,5)三リン酸によるインテグリン結合キナーゼの調節が、Delcommenneら(1998) Proc Natl Acad Sci 95:11211-6により記述されている。複素環合成における活性化ニトリルが、Kandeelら(1985) J.Chem.Soc.Perkin.Trans 1499において記述されている。

【発明の開示】

【0010】

発明の概要

本発明は、薬学的に許容される賦形剤と、化学式(1)：



の化合物を単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物として；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物とを含み；ここで、各場合のR¹、R²、およびR³はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され；R⁴は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；Xは、S、O、およびNR⁹から選択され、R⁹は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される、薬学的組成物に関する。

## 【0011】

本発明のこれらの化合物は、本明細書では、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物または誘導体もしくは類似体と呼ばれ、これらの用語は同じ意味で使用される。技術的には、ベンゾチアゾール化合物はSに相当するXを有する。しかしながら、XがOまたはNR<sup>9</sup>である場合、化合物はピラゾリルベンゾチアゾール類似体であると考えることができる。

## 【0012】

別の局面では、本発明は化学式(1)の一定の化合物に関する。例えば、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物としての化学式(1)の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物であり；ここで、Xは、S、O、およびNR<sup>9</sup>から選択され、R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合のR<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され；R<sup>3</sup>は複素環であり；R<sup>4</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。

## 【0013】

別の例として、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物としての化学式(1)の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、およびNR<sup>9</sup>から選択され、R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合のR<sup>1</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され；R<sup>2</sup>はアミノであり；R<sup>3</sup>は、ヒドロカルビル、-O-ヒドロカルビル、および-S-ヒドロカルビルから選択され；R<sup>4</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。

## 【0014】

別の例として、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物としての化学式(1)の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、およびNR<sup>9</sup>から選択され、R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合のR<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され；R<sup>3</sup>は水素であり；R<sup>4</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。

## 【0015】

別の例として、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物としての化学式(1)の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、およびNR<sup>9</sup>から選択され、R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合のR<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒド

ロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^3$ はヒドロカルビルであり； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。

#### 【0016】

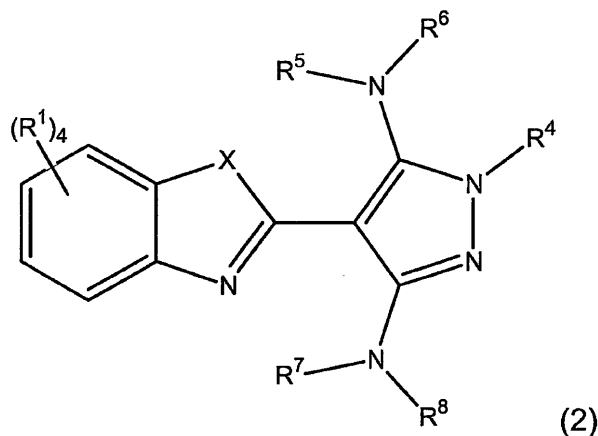
別の例として、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物としての化学式(1)の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され、 $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ 、 $R^2$ 、および $R^3$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され、ただし、 $R^1$ は $R^1$ の少なくとも1つの場合において水素ではないことを条件とし； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。

#### 【0017】

別の例として、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物としての化学式(1)の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され、 $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ および $R^2$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^3$ はハロゲン置換ヒドロカルビルであり； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。

#### 【0018】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物として、化学式(2)：



の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され； $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、お

よびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、および $R^8$ はそれぞれ、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドロカルビル、および水素から選択され、ただし、 $R^7$ および $R^8$ は一緒になり、両方に結合されている窒素を含む複素環を形成してもよいことを条件とする。

10

## 【0019】

関連する局面では、本発明は、上述した局面において記述した化合物を、薬学的に許容される賦形剤と共に含む薬学的組成物を提供する。

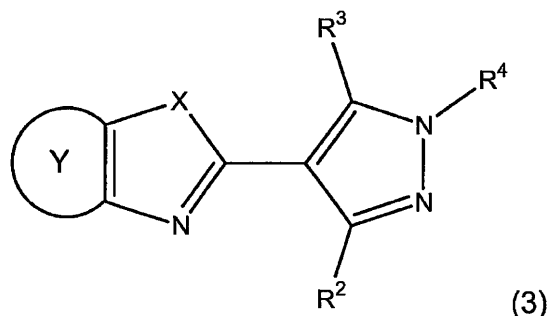
## 【0020】

別の局面では、本発明は、過剰増殖および組織再構築または修復、炎症、細胞遊走および浸潤、ならびに腎疾患に関連する疾患の治療における、上述した化学式(1)の化合物の使用、および使用方法に関する。これら化合物はまた、特定の蛋白質キナーゼ、例えばインテグリン結合キナーゼの阻害において有益である。

## 【0021】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ混合物として化学式(3)：

20



30

の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、各場合の $R^2$ および $R^3$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され、 $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；Yは1または2の窒素原子を有する6員複素環であり、選択的に、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択される1または複数の基によりさらに置換される。

40

## 【0022】

発明の態様の詳細な説明

本発明は、本明細書内に記述する新規化合物、組成物、および方法を提供する。全体的

50

に、本明細書で使用した科学技術用語は、特に明確に記載がなければ、本発明が属する技術分野における当業者が通常理解する意味と同じ意味を有する。明らかにするために、本発明を記述するために本明細書で使用した一定の用語に対する定義を以下に列挙する。これらの用語は本明細書全体を通じて使用されているが、特に明確に示されていなければ、これらの定義がこれら用語に適用される。

#### 【0023】

##### 用語の定義

本明細書で使用されるように、単数形「1つの(a)」、「1つの(and)」、および「その(the)」は、文脈で特に明確に示されていなければ、複数の指示対象を含む。例えば、「1つの化合物(a compound)」は、1または複数のそのような化合物を示し、「その酵素(the enzyme)」は、特定の酵素だけでなく、当業者に周知のその他のファミリーメンバーおよび等価物をも含む。明細書および添付の請求の範囲において使用されるように、別に記載がなければ、下記の用語は示した意味を有する。

#### 【0024】

「アルキル」は炭素および水素原子のみで構成され、不飽和を含まず、1~8の炭素原子を有し、分子の残りに単結合で結合される直鎖または分枝一価炭化水素鎖ラジカルを示し、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、1-メチルエチル(イソ-プロピル)、n-ブチル、n-ペンチル、1,1-ジメチルエチル(t-ブチル)などである。本明細書で特に記載がなければ、下記で定義されるように、置換アルキルまたはアルケニル基を含むラジカルでは、置換はアルキル基の任意の炭素上で起こることが可能であることが理解される。

#### 【0025】

「アルキレン鎖」は、炭素および水素原子のみで構成され、不飽和を含まず、1~8の炭素原子を有する直鎖または分枝二価炭化水素鎖を示し、例えば、メチレン、エチレン、プロピレン、n-ブチレンなどである。

#### 【0026】

「アルケニル」は、炭素および水素原子のみで構成され、少なくとも1つの二重結合を含み、2~8の炭素原子を有し、分子の残りに単結合で結合される直鎖または分枝一価炭化水素鎖ラジカルを示し、例えば、エテニル、プロプ-1-エニル、ブト-1-エニル、ペント-1-エニル、ペンタ-1,4-ジエニルなどである。

#### 【0027】

「アルコキシ」は、化学式-OR<sub>a</sub>(式中、R<sub>a</sub>は上記で定義したようなアルキルラジカルである)のラジカルを示し、例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、1-メチルエトキシ(イソ-プロポキシ)、n-ブトキシ、n-ペントキシ、1,1-ジメチルエトキシ(t-ブトキシ)などである。

#### 【0028】

「アリール」はフェニルまたはナフチルラジカルを示す。本明細書で特に記載がなければ、「アリール」という用語または接頭辞「アル(ar-)」(例えば、「アラルキル」におけるもの)は、本明細書で定義されるような、アルキル、アルコキシ、ヒドロキシ、ハロ、ハロアルキル、ハロアルコキシ、アミノ、およびカルボキシからなる群より選択される1または複数の置換基により選択的に置換されるアリールラジカルを含むことを意味する。

#### 【0029】

「アラルキル」は、化学式-R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>(式中、R<sub>a</sub>は上記で定義したようなアルキルラジカルであり、R<sub>b</sub>は上記で定義したような1または複数のアリールラジカルである)のラジカルを示し、例えば、ベンジル、ジフェニルメチルなどである。アリールラジカルは、上記のように選択的に置換されてもよい。

#### 【0030】

「アラルケニル」は、化学式-R<sub>e</sub>-R<sub>b</sub>(式中、R<sub>b</sub>は上記で定義したようなアリールラジカルであり、R<sub>e</sub>は上記で定義したようなアルケニルラジカルである)のラジカルを示し、例えば、2-フェニルエテニルなどである。

#### 【0031】



「カルボキシ」は-C(O)OHラジカルを示す。

【0032】

「シクロアルキル」は、炭素および水素原子のみから構成され、3～10の炭素原子を有し、飽和されており、単結合により分子の残りに結合されている安定な一価の単環式または二環式炭化水素ラジカルを示し、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、デカリニルなどである。本明細書で特に記載がなければ、「シクロアルキル」は、アルキル、アルコキシ、ハロ、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヒドロキシ、アミノ、およびカルボキシからなる群から独立して選択される1または複数の置換基により選択的に置換されるシクロアルキルラジカルを含むことを意味する。

【0033】

「ハロ」は、フロモ、クロロ、ヨード、またはフルオロを示す。

【0034】

「ハロアルキル」は、上記で定義したような1または複数のハロラジカルにより置換された、上記で定義したようなアルキルラジカルを示し、例えば、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、トリクロロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、1-フルオロメチル-2-フルオロエチル、3-フロモ-2-フルオロプロピル、1-フロモメチル-2-フロモメエチルなどである。

【0035】

「ハロアルコキシ」は、化学式-OR<sub>c</sub>(式中、R<sub>c</sub>は上記で定義したようなハロアルキルラジカルである)のラジカルを示し、例えば、トリフルオロメトキシ、ジフルオロメトキシ、トリクロロメトキシ、2,2,2-トリフルオロエトキシ、1-フルオロメチル-2-フルオロエトキシ、3-フロモ-2-フルオロプロボキシ、1-フロモメチル-2-フロモエトキシなどである。

【0036】

「ヘテロシクリル」は、炭素原子、ならびに窒素、酸素、および硫黄からなる群より選択される1～5のヘテロ原子から構成される安定な3～15員環ラジカルを示す。本発明の目的のために、ヘテロシクリルラジカルは、単環式、二環式、または三環式構造であってもよく、これらは縮合または架橋環構造を含んでもよく；ヘテロシクリルラジカル内の窒素、炭素、または硫黄原子は選択的に酸化されてもよく；窒素原子は選択的に四級化されてもよく；ヘテロシクリルラジカルは芳香族であってもよく、または部分的もしくは完全に飽和されてもよい。ヘテロシクリルラジカルは、いずれかのヘテロ原子で分子の残りに結合していてもよい。そのようなヘテロシクリルラジカルの例としては、アゼピニル、アクリジニル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、ベンゾキサゾリル、ベンゾピラニル、ベンゾピラノニル、ベンゾフラニル、ベンゾフラノニル、ベンゾチエニル、カルバゾリル、シノリニル、デカヒドロイソキノリル、ジオキサラニル、フラニル、フラノニル、イソチアゾリル、イミダゾリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリジニル、インドリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、インドリジニル、イソキサゾリル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、ナフチリジニル、オキサジアゾリル、オクタヒドロインドリル、オクタヒドロイソインドリル、2-オキソピペラジニル、2-オキソピペリジニル、2-オキソピロリジニル、2-オキサゼピニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、オキシラニル、ピペリジニル、ピペラジニル、4-ピペリドニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、フタラジニル、プテリジニル、プリニル、ピロリル、ピロリジニル、ピラゾリル、ピラゾリジニル、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、キノリニル、キヌクリジニル、イソキノリニル、チアゾリル、チアゾリジニル、チアジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、テトラヒドロフリル、トリアジニル、テトラヒドロピラニル、チエニル、チアモルホリニル、チアモルホリニルスルホキシド、およびチアモルホリニルスルホンが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で特に記載がなければ、「ヘテロシクリル」という用語は、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ニトロ、シアノ、アミノ、およびカルボキシからなる群より選択される1または複数の

10

20

30

40

50

置換基により選択的に置換される、上記で定義したようなヘテロシクリルラジカルを含むことを意味する。 $R^5$ に対する好ましいヘテロシクリルラジカルは、フラニル、イソオキサゾリル、ピリジニル、チエニル、ピロリル、キノリニル、ベンゾチエニル、ベンゾジオキサリル、ベンゾオキサジアゾリル、ピラゾール、チアジアゾリル、およびキノキサリニルからなる群より選択されるラジカルである。

#### 【0037】

「N-ヘテロシクリル」は、その中に含まれる1~5のヘテロ原子が窒素のみから選択される、上記で定義したようなヘテロシクリルラジカルを示す。 $R^2$ に対する好ましいN-ヘテロシクリルラジカルは、ピリジニル、チアゾリル、テトラゾリル、ピラゾリル、イソキノリニル、キノリニル、およびフタラジニルからなる群より選択されるラジカルである。

10

#### 【0038】

「ヘテロシクリルアルキル」は、化学式- $R_aR_d$ (式中、 $R_a$ は上記で定義したようなアルキルラジカルであり、 $R_d$ は上記で定義したようなヘテロシクリルラジカルである)のラジカルを示し、ヘテロシクリルが窒素含有ヘテロシクリルである場合、ヘテロシクリルは窒素原子のところでアルキルラジカルに結合されてもよい。 $R^3$ に対する好ましいヘテロシクリルアルキルラジカルは、モルホリニルアルキルであり； $R^5$ に対する好ましいヘテロシクリルアルキルラジカルは、イソインドールジオニルアルキル、モルホリニルアルキル、およびトリアゾリルアルキルからなる群より選択されるラジカルである。

#### 【0039】

「ヘテロシクリルカルボニル」は、化学式-C(=O)- $R_d$ (式中、 $R_d$ は上記で定義したようなヘテロシクリルラジカルである)のラジカルを示し、ヘテロシクリルが窒素含有ヘテロシクリルである場合、ヘテロシクリルは窒素原子のところでカルボニルに結合されてもよい。 $R^3$ に対する好ましいヘテロシクリルカルボニルラジカルは、ピリジニルカルボニルである。

20

#### 【0040】

「ヒドロカルビル」は、「Hy」と略記される場合があり、炭素と水素のみから構成されるラジカルを示す。ヒドロカルビル基は飽和または不飽和としてもよく、独立して、直鎖、分枝、または環状形態で配列された炭素を有してもよい。本発明の様々な選択的な態様において、ヒドロカルビル部分は、1~100、または1~90、または1~80、または1~70、または1~60、または1~50、または1~45、または1~40、または1~35、または1~30、または1~29、または1~28、または1~27、または1~26、または1~25、または1~24、または1~23、または1~22、または1~21、または1~20、または1~19、または1~18、または1~17、または1~16、または1~15、または1~14、または1~13、または1~12、または1~11、または1~10、または1~9、または1~8、または1~7、または1~6、または1~5、または2~100、または2~90、または2~80、または2~70、または2~60、または2~50、または2~45、または2~40、または2~35、または2~30、または2~29、または2~28、または2~27、または2~26、または2~25、または2~24、または2~23、または2~22、または2~21、または2~20、または2~19、または2~18、または2~17、または2~16、または2~15、または2~14、または2~13、または2~12、または2~11、または2~10、または2~9、または2~8、または2~7、または2~6、または2~5、3~100、または3~90、または3~80、または3~70、または3~60、または3~50、または3~45、または3~40、または3~35、または3~30、または3~29、または3~28、または3~27、または3~26、または3~25、または3~24、または3~23、または3~22、または3~21、または3~20、または3~19、または3~18、または3~17、または3~16、または3~15、または3~14、または3~13、または3~12、または3~11、または3~10、または3~9、または3~8、または3~7、または3~6、または3~5の炭素を有する。独立して、ヒドロカルビル部分は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、またはアリール部分として記述してもよく、ここで、アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数の $Hy^1$ 基で選択的に置換され、ここで各 $Hy^1$ 基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロア

30

40

50

ルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され；シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールは、1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され、ただし、Hy<sup>2</sup>が、アルキル、アルケニル、またはアルキニルから選択される場合、Hy<sup>2</sup>は、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>3</sup>基により置換されてもよく、ここで各Hy<sup>3</sup>基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>4</sup>基により選択的に置換され、Hy<sup>2</sup>が、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される場合、Hy<sup>2</sup>は1または複数のHy<sup>4</sup>基により選択的に置換されることを条件とし、さらに、アリールは非芳香族炭化水素環に縮合されたアリール環を含むことを条件とする。ハロゲン-置換ヒドロカルビルは、1または複数の水素が等しい数のハロゲンと置換されたヒドロカルビル基を示す。

10

【0041】

「哺乳類」は、ヒトおよび家畜、例えば、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウサギなどを含む。

【0042】

本明細書で使用されるように、「当業者に周知の方法」は、様々な参考図書およびデータベースにより認識されうる。本発明の化合物を調製するのに有益な反応物の合成の詳細を記述している、または調製について記述している記事に言及している、適した参考図書および論文としては、例えば、“Synthetic Organic Chemistry”、John Wiley & Sons, Inc. New York ; S.R. Sandlerら、“Organic Functional Group Preparations”、第2版、Academic Press, New York, 1983 ; H.O. House、“Modern Synthetic Reactions”、第2版、W.A.Benjamin, Inc. Menlo Park, Calif. 1972 ; T.L. Gilchrist、“Heterocyclic Chemistry”、第2版、John Wiley & Sons, New York, 1992 ; J. March、“Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure”、第4版、Wiley-Interscience, New York, 1992が挙げられる。特定のおよび類似の反応物はまた、米国化学会のケミカルアブストラクトサービス(Cheical Abstract Service)により作製された周知の薬品のインデックス(ほとんどの公共図書館および大学図書館において入手可能である)、ならびにオンラインデータベース(詳細については、米国化学会、ワシントンD.C.、www.acs.org.を参照しうる)により同定されうる。周知ではあるがカタログで市販されていない薬品は、特別注文化学合成ハウスにより調製してもよい。この場合、多くの標準薬品供給ハウス(例えば、上述したもの)が特別注文の合成サービスを提供している。

20

30

【0043】

「選択的」または「選択的に」という用語は、続いて記述した事情の事象が起こる、または起こらないこと、その記述にはそのような事象または事情が起こる場合、およびそのような事象または事情が起こらない場合が含まれることを意味する。例えば、「選択的に置換されたアリール」は、アリールラジカルが置換されてもされなくてもよいこと、その記述には置換アリールラジカルおよび置換のないアリールラジカルの両方が含まれることを意味する。

【0044】

「薬学的に許容される塩」は、酸および塩基付加塩の両方を含む。

40

【0045】

「薬学的に許容される酸付加塩」は、遊離塩基の生物学的効果および特性を保持する塩を示し、生物学的に、またはその他の点で望ましくないものではなく、無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸など、および有機酸、例えば、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などと共に形成される。

【0046】

「薬学的に許容される塩基付加塩」は、遊離酸の生物学的効果および特性を保持する塩を示し、生物学的に、またはその他の点で望ましくないものではない。これらの塩は、無

50

機塩基または有機塩基を遊離酸に添加することにより調製される。無機塩基に由来する塩としては、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、アルミニウム塩などが挙げられるが、これらに限定されない。好ましい無機塩は、アンモニウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、およびマグネシウム塩である。有機塩基に由来する塩としては、1級、2級、および3級アミン、天然置換アミンを含む置換アミン、環状アミンおよび塩基イオン交換樹脂、例えばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、2-ジメチルアミノエタノール、2-ジエチルアミノエタノール、ジシクロヘキシルアミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、ヒドラバミン、コリン、ベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、メチルグルカミン、テオ

10

【0047】

本明細書で使用されるように「薬学的に許容される賦形剤」は、合衆国食品医薬品局によりヒトまたは家畜において使用するのに許容できるものとして認可されている、任意のアジュバント、担体、賦形剤、流動促進剤、甘味剤、希釈剤、保存剤、染料/着色剤、香味増強剤、界面活性剤、湿潤剤、分散剤、懸濁剤、安定化剤、等張剤、溶媒、乳化剤、または安定化剤を含むものとするが、これらに限定されない。

20

【0048】

「プロドラッグ」は、生理条件下で、または加溶媒分解により本発明の生物学的に活性な化合物に変換することができる化合物を示すことを意味する。このように、「プロドラッグ」という用語は、薬学的に許容される本発明の化合物の代謝前駆体を示す。プロドラッグは、それを必要とする患者に投与した際には不活性であってもよいが、インビボで本発明の活性化合物に変換される。プロドラッグは典型的にはインビボで迅速に変換され、例えば血液中で加水分解により、本発明の親化合物が得られる。プロドラッグ化合物は、哺乳類において溶解性、組織適合性、または遅延放出という利点を提供することが多い(Bundgard, H., Design of Prodrugs(1985), pp.7-9, 21-24(Elsevier, アムステルダム)を参照のこと)。

30

【0049】

プロドラッグについての議論は、Higuchi, T.ら、“Pro-drugs as Novel Delivery Systems”, A.C.S. Symposium Series, Vol. 14, およびBioreversible Carriers in Drug Design, Edward B. Roche編、American Pharmaceutical Association and Pergamon Press、1987において提供されており、これらはいずれも参照として全体が本明細書に組み込まれる。

【0050】

「プロドラッグ」という用語はまた、そのようなプロドラッグが哺乳類被験体に投与されるとインビボで本発明の活性化合物を放出する任意の共有結合により結合された担体を含むことを意味する。本発明の化合物のプロドラッグは、ルーチン操作またはインビボで修飾が開裂し、本発明の親化合物となるように、本発明の化合物中に存在する官能基を修飾することにより調製してもよい。プロドラッグとしては、哺乳類被験体に本発明の化合物のプロドラッグが投与されると、開裂して自由なヒドロキシ、自由なアミノ、または自由なメルカプト基をそれぞれ形成する、ヒドロキシ、アミノ、またはメルカプト基が任意の基に結合されている本発明の化合物が挙げられる。プロドラッグの例としては、本発明の化合物中のアルコールおよびアミン官能基のアセテート、ホルメート、およびベンゾエート誘導体などが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0051】

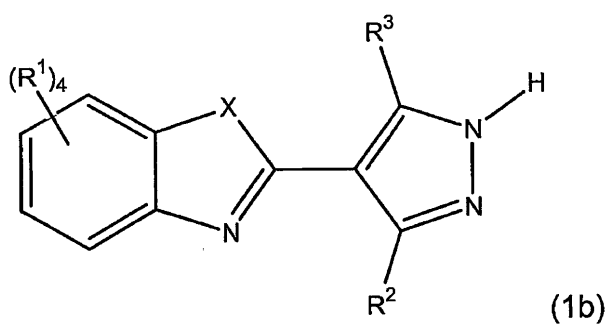
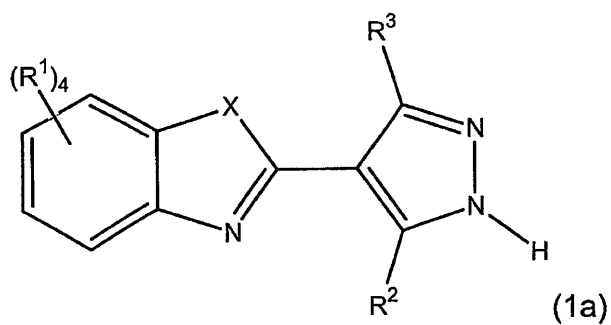
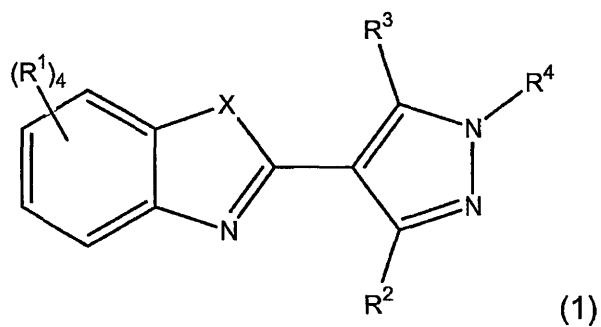
「安定な化合物」および「安定な構造」は、反応混合物から有益な程度の純度まで単離すること、および製剤化し有効な治療薬にすることができるよう、十分強固である化合物

50

を示すことを意味する。

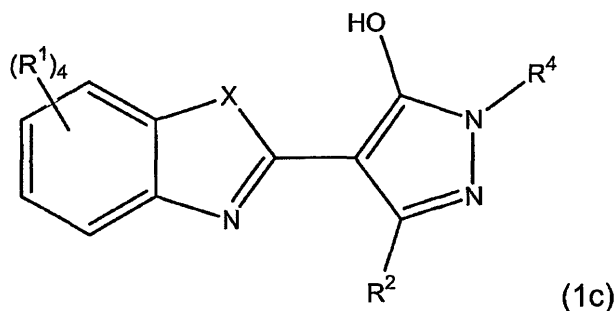
【 0 0 5 2 】

互変異性体は、1または複数の二重結合の移動(shifting)および水素原子の同時移動のみが異なる化合物の様々な形態を示す。例えば、化学式(1)において $R^4$ が水素である場合、2つの二重結合は移動し、化学式(1a)および(1b)で示される2つの互変異性型が提供される。

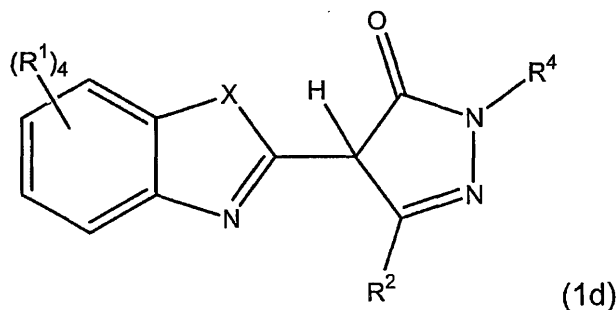


【 0 0 5 3 】

互変異性の別の例は、ピラゾール環上の置換基が二重結合に隣接し、水素置換を有することができる場合である。特定の例を化学式(1c)および(1d)に示す。



10



## 【 0 0 5 4 】

20

「治療上有効量」は、その量の本発明の化合物を、それを必要とする哺乳類、特にヒトに投与した場合、下記で規定するように、その量が過剰増殖性疾患を治療するのに十分である量を示す。「治療上有効量」を構成する本発明の化合物の量は、化合物、過剰増殖性疾患およびその重篤度、ならびに治療すべき哺乳類の年齢によって変動するが、当業者は自分の知識およびこの開示内容を考慮して日常作業的に決定することができる。

## 【 0 0 5 5 】

本明細書で使用されるように「治療する」または「治療」は、哺乳類、好ましくはヒトの過剰増殖性疾患の治療を含み、

(i) 特に、そのような哺乳類がその疾患にかかりやすいが、まだそうであるとは診断されていない時に、ヒトにおいて疾患が発症するのを予防する；

30

(ii) その疾患を阻害する、すなわちその進行を停止させる；または

(iii) 疾患を軽減する、すなわち疾患の退行を引き起こす；  
ことが含まれる。

## 【 0 0 5 6 】

本発明の化合物、または薬学的に許容されるそれらの塩は、1または複数の不斉中心を含んでもよく、このため、絶対立体化学の観点から、(R)-もしくは(S)-として、またはアミノ酸では(D)-もしくは(L)-として規定されうる鏡像異性体、ジアステレオマー、および他の立体異性型が生じることがある。本発明はこのような可能な異性体全て、ならびにそれらのラセミ型および光学的に純粋な型を含むことを意味する。光学的に活性な(R)-および(S)-、または(D)-および(L)-異性体は、キラルシントンまたはキラル試薬を使用して調製してもよく、または従来の技術を用いて分割してもよい。本明細書で記述した化合物がオレフィン二重結合または他の幾何学不斉中心を含む場合、特に記載がなければ、化合物はEおよびZの幾何学異性体の両方を含むことを意図する。

40

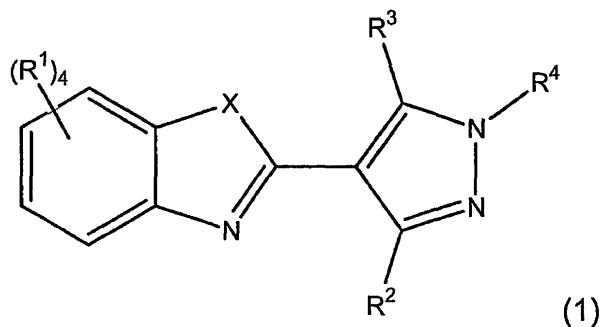
## 【 0 0 5 7 】

命名法により別に示されていなければ、化合物名は、任意の単一の互変異性体、単一の立体異性体、鏡像異性体、ラセミ体、またはそれらの混合物を含むことを意図する。

## 【 0 0 5 8 】

好ましい態様

前述のように、1つの局面では、本発明は、薬学的に許容される賦形剤と、化学式(1)：



10

の化合物を単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物として；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物とを含む薬学的組成物であって；ここで、Xは、S、O、およびNR<sup>9</sup>から選択され、R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合のR<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、およびR<sup>3</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され；R<sup>4</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される、薬学的組成物を提供する。

本発明の様々な選択的な態様では、化学式(1)の化合物を含む組成物は、化学式(1)の化合物を記述するために下記の基準のうちの1または複数が使用される、本発明の薬学的組成物中に存在しうる化学式(1)の化合物群を記述するためにこれらの基準のうちの任意の2つまたはそれ以上が含まれて使用される、化学式(1)の化合物を含むものとして記述される：

ヘテロアルキルは、アミノヒドロカルボイル(すなわち、-NH-C(=O)-Hy)、アミド(すなわち、-C(=O)-NH<sub>2</sub>)、カルボン酸(すなわち、-COOH)、シアノ(すなわち、-CN)、ジヒドロカルビルアミド(すなわち、-C(=O)-N(Hy)(Hy))、ジヒドロカルビルアミノ(すなわち、-N(Hy)(Hy))、ジ(ヒドロカルビル)ホスフィド、ホルミル(すなわち、-C(=O)H)、ヒドロカルボイル(すなわち、-C(=O)-Hy)、ヒドロカルボイルオキシ(すなわち、-O-C(=O)-Hy)、ヒドロカルビルアミノ(すなわち、-NH-Hy)、ヒドロカルビルオキシ(すなわち、-O-Hy)、ヒドロカルビルオキシカルボニル(すなわち、-C(=O)-O-Hy)、ヒドロカルビルシロキシ、ヒドロカルビルシリルアミノ、ヒドロカルビルスルフィド(すなわち、-S-Hy)、ヒドロカルビルチオ、ヒドロカルビルアミド(すなわち、-C(=O)-N(H)(Hy))、イソチオシアネート、N-複素環、パーフルオロヒドロカルビル、チオシアネート、ならびにアルキルアミノ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アジド、ジアルキルアミノ、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択される1または複数の基により置換されたヒドロカルビルのうちの1または複数であり；ヒドロカルビルは、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールのうちの1または複数であり、ここで、アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>1</sup>基により選択的に置換され、ここで各Hy<sup>1</sup>基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され；シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールは、1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され、ただし、Hy<sup>2</sup>基がアルキル、アルケニル、またはアルキニルから選択される場合、Hy<sup>2</sup>はシクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>3</sup>基により置換されてもよく、

20

30

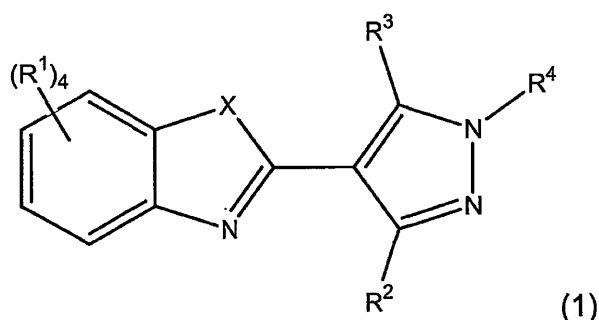
40

50

ここで、各 $\text{Hy}^3$ 基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数の $\text{Hy}^4$ 基により選択的に置換され、 $\text{Hy}^2$ がシクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される場合、 $\text{Hy}^2$ は1または複数の $\text{Hy}^4$ 基により選択的に置換されることを条件とし、さらに、アリールは非芳香族炭化水素環に縮合されたアリール環を含むことを条件とし；各場合の $\text{R}^1$ は水素であり； $\text{R}^4$ は水素であり； $\text{R}^4$ は $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ ヒドロカルビルであり； $\text{R}^2$ は水素であり； $\text{R}^2$ は低級アルキルおよび低級ハロアルキルから選択され； $\text{R}^2$ はアミノであり； $\text{R}^2$ は複素環であり； $\text{R}^2$ はN-複素環であり； $\text{R}^2$ はヒドロカルビルであり； $\text{R}^3$ は水素であり； $\text{R}^3$ はフェニルおよび置換フェニルから選択され； $\text{R}^3$ は、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択される1または複数の置換基により置換されたフェニルであり； $\text{R}^3$ は、ヒドロキシル、低級アルコキシ、および低級アルキルから選択された1または複数の置換基で置換されたフェニルであり； $\text{R}^3$ はヘテロアルキルであり； $\text{R}^3$ は、アミノ、ヒドロカルビルアミノ、およびジヒドロカルビルアミノから選択され； $\text{R}^3$ はヒドロカルビルアミノであり、ここでヒドロカルビルはアラルキルであり； $\text{R}^3$ はヒドロアルビルアミノであり、ここでヒドロカルビルはアルキルであり； $\text{R}^3$ はアミノであり； $\text{R}^3$ はヒドロカルビルである。選択的に、下記化合物のうちの1つまたは複数は、本発明の薬学的組成物において有益な化合物の範囲から除外される：1H-ピラゾール-3,5-ジアミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)；1H-ピラゾール-3,5-ジアミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-N3-(4-メチルフェニル)；1H-ピラゾール-3,5-ジアミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-N3-フェニル；および3H-ピラゾール-3-オン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-1,2-ジヒドロ-5-(4-ニトロフェニル)。

# 【 0 0 5 9 】

本発明はまた、本明細書で開示した方法において使用しうる化合物を提供する。1つの局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：



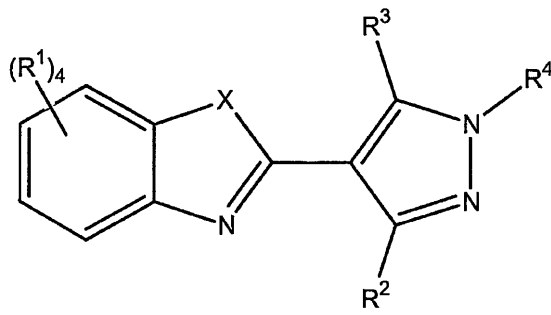
の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $\text{NR}^9$ から選択され、 $\text{R}^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $\text{R}^1$ および $\text{R}^2$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $\text{R}^3$ は複素環であり； $\text{R}^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。本発明のこの局面の様々な選択的な態様では、1または複数の下記基準を使用して化合物を記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせ一群の化合物を記述してもよいが、2つの基準が矛盾している場合、



それらの矛盾した基準は択一的に組み合わせることのみ可能である： $R^1$ は4つの場合の各々で水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの3つで水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの2つで水素であり； $R^2$ はアミノであり； $R^2$ はヘテロアルキルであり； $R^2$ はヘテロアリールであり； $R^2$ はヒドロカルビルであり； $R^2$ は水素であり； $R^2$ はヒドロキシルであり； $R^3$ はN-複素環であり、すなわち、 $R^3$ の複素環は環原子として窒素を含み、この窒素原子はピラゾール環に直接結合され； $R^3$ は、O、SおよびNから選択される1～3のヘテロ原子および1～5の炭素原子を含み； $R^4$ は水素であり； $R^4$ はヒドロカルビルであり； $R^4$ はアルキルであり； $R^4$ は $C_1$ - $C_8$ アルキルである。

【0060】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：



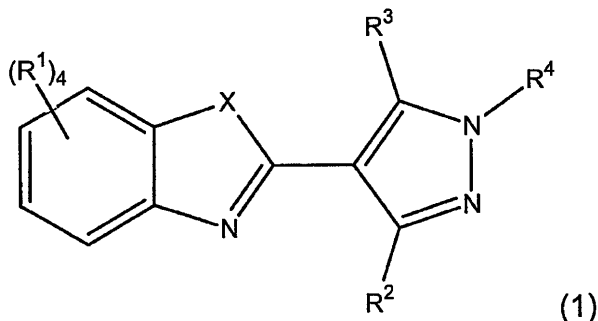
(1)

の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され； $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^2$ はアミノであり； $R^3$ は、ヒドロカルビル、-O-ヒドロカルビル、および-S-ヒドロカルビルから選択され； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。本発明のこの局面の様々な選択的な態様では、1または複数の下記基準を使用して化合物を記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせ一群の化合物を記述してもよいが、2つの基準が矛盾している場合、それらの矛盾した基準は択一的に組み合わせることのみ可能である： $R^1$ は4つの場合の各々で水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの3つで水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの2つで水素であり； $R^3$ はヒドロカルビルであり； $R^3$ は-O-ヒドロカルビルであり； $R^3$ は-S-ヒドロカルビルであり； $R^3$ のヒドロカルビル部分は、下記の1または複数から選択され、ここで下記ラジカルの任意の2つまたはそれ以上のものとを組み合わせ基を形成させ、これから、 $R^3$ のヒドロカルビル部分を選択してもよく：アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリール、ここで、アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数の $Hy^1$ 基により選択的に置換され、ここで各 $Hy^1$ 基はアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数の $Hy^2$ 基により選択的に置換され；シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールは、1または複数の $Hy^2$ 基により選択的に置換され、ただし、 $Hy^2$ がアルキル、アルケニル、またはアルキニルから選択される場合、 $Hy^2$ はシクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数の $Hy^3$ 基により置換されてもよく、ここで、各 $Hy^3$ 基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数の $Hy^4$ 基により選択的に置換され、 $Hy^2$ がシクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される場合、 $Hy^2$ は1または複数の $Hy^4$ 基に

より選択的に置換されることを条件とし、さらに、アリールは非芳香族炭化水素環に縮合されたアリール環を含むことを条件とし； $R^4$ は水素であり； $R^4$ はヘテロアルキルであり； $R^4$ はヘテロアリールであり； $R^4$ はヒドロカルビルであり； $R^4$ はアルキルであり； $R^4$ は $C_1$ - $C_8$ アルキルである。選択的に、本発明のこの局面では、本発明の化合物は1H-ピラゾール-5-アミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-1,3-ジフェニルを除外する。

【0061】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：



の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され； $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ および $R^2$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^3$ は水素であり； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。本発明のこの局面の様々な選択的な態様では、1または複数の下記基準を使用して化合物を記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせて一群の化合物を記述してもよいが、2つの基準が矛盾している場合、それらの矛盾した基準は択一的に組み合わせることのみ可能である： $R^1$ は4つの場合の各々で水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの3つで水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの2つで水素であり； $R^2$ はアミノであり； $R^2$ はヘテロアルキルであり； $R^2$ はフェニルであり； $R^2$ は置換フェニルであり； $R^2$ は、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドのうちの任意の2またはそれ以上から選択される1または複数の置換基で置換されたフェニルであり； $R^2$ はヘテロアリールであり； $R^2$ はヒドロカルビルであり； $R^2$ は水素であり； $R^2$ はヒドロキシルであり； $R^4$ は水素であり； $R^4$ はヒドロカルビルであり； $R^4$ はアルキルであり； $R^4$ は $C_1$ - $C_8$ アルキルである。選択的に、下記化合物のうちの1つまたは複数本発明のこの局面内の化合物の範囲から除外される：3H-ピラゾール-3-オン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-2,4-ジヒドロ；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾール-3-イル]；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾール-3-イル]-6-エチル-1-メタンスルホネート；ベンゾチアゾール、2-(1H-ピラゾール-4-イル)；フェノール、2-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾール-3-イル]-5-メトキシ-4-プロピル；フェノール、2-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾール-3-イル]-5-[(4-ニトロフェニル)メトキシ]；1H-ピラゾール-3-アミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-1H-ピラゾ

10

20

30

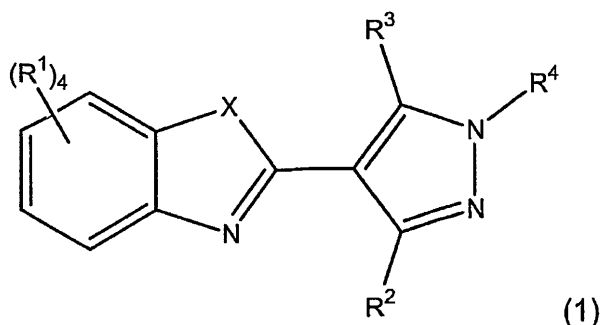
40

50

ール-3-イル]-6-エチル；1H-ピラゾール-5-アミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-1-フェニル；およびベンゾチアゾール、2-(1-フェニル-1H-ピラゾール-4-イル)。

【0062】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：

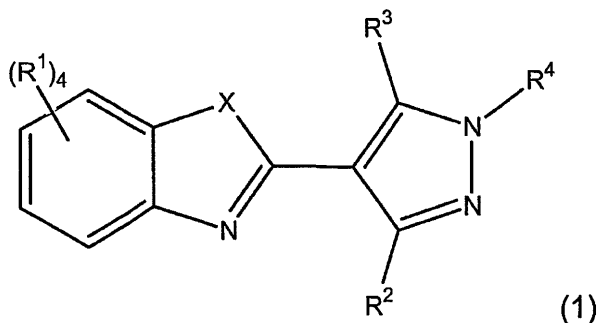


の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、およびNR<sup>9</sup>から選択され；R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合のR<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され；R<sup>3</sup>はヒドロカルビルであり；R<sup>4</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。本発明のこの局面の様々な選択的な態様では、1または複数の下記基準を使用して化合物を記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせることで一群の化合物を記述してもよいが、2つの基準が矛盾している場合、それらの矛盾した基準は択一的に組み合わせることのみ可能である：R<sup>1</sup>は4つの場合の各々で水素であり；R<sup>1</sup>は4つの場合のうちの3つで水素であり；R<sup>1</sup>は4つの場合のうちの2つで水素であり；R<sup>2</sup>は水素であり；R<sup>2</sup>はヒドロカルビルであり；R<sup>2</sup>はヘテロアルキルであり；R<sup>2</sup>はヒドロキシルであり；R<sup>2</sup>はヘテロアリールであり；R<sup>2</sup>はアミノであり；R<sup>2</sup>はフェニルであり；R<sup>2</sup>は置換フェニルであり、ここで置換基は、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドのうちの任意の2またはそれ以上からなる群より選択され；R<sup>3</sup>(および、独立して、R<sup>2</sup>がカルビルの場合のR<sup>2</sup>)は、下記の1または複数から選択され、ここで下記ラジカルの任意の2つまたはそれ以上を組み合わせることで基を形成させ、これから、ヒドロカルビルを選択してもよい：アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリール、ここで、アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>1</sup>基により選択的に置換され、ここで各Hy<sup>1</sup>基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され；シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールは、1または複数のHy<sup>2</sup>基により選択的に置換され、ただし、Hy<sup>2</sup>がアルキル、アルケニル、またはアルキニルから選択される場合、Hy<sup>2</sup>は、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>3</sup>基により置換されてもよく、ここで、各Hy<sup>3</sup>基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される1または複数のHy<sup>4</sup>

基により選択的に置換され、 $\text{Hy}^2$ がシクロアルキル、シクロアルキレン、およびアリールから選択される場合、 $\text{Hy}^2$ は1または複数の $\text{Hy}^4$ 基により選択的に置換されることを条件とし、さらに、アリールは非芳香族炭化水素環に縮合されたアリール環を含むことを条件とし； $\text{R}^4$ は水素であり； $\text{R}^4$ はヘテロアルキルであり； $\text{R}^4$ はヘテロアリールであり； $\text{R}^4$ はヒドロカルビルであり； $\text{R}^4$ はアルキルであり； $\text{R}^4$ は $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ アルキルである。選択的に、下記化合物のうちの1つまたは複数の、本発明のこの局面内の化合物の範囲から除外される：1H-ピラゾール-5-アミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-1,3-ジフェニル；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル]-6-プロピル；フェノール、2-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル]-4-エチル-5-メトキシ；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル]-2-メチル；ベンゾチアゾール、2-(1,3-ジメチル-5-フェニル-1H-ピラゾール-4-イル)；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル]-6-エチル；1,3-ベンゼンジオール、4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル]；1,3-ベンゼンジオール、および4-[4-(2-ベンゾチアゾリル)-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル]-6-エチル-2[(1,3,3-トリメチル-6-アザビシクロ[3.2.1]オクト-6-イル)メチル]。

# 【 0 0 6 3 】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(1)：

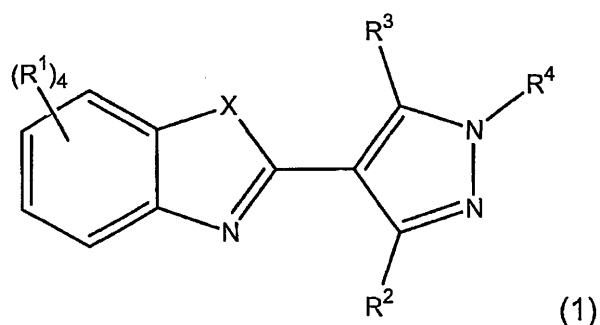


の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $\text{NR}^9$ から選択され； $\text{R}^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、および $\text{R}^3$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィニル酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され、ただし、 $\text{R}^1$ は $\text{R}^1$ の少なくとも1つの場合において水素ではないことを条件とし； $\text{R}^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。本発明のこの局面の様々な選択的な態様では、化学式(1)の化合物は1または複数の下記基準を満たすものとして記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせて化学式(1)の一群の化合物を記述してもよい：ヘテロアルキルは、アミノヒドロカルボイル(すなわち、 $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{Hy}$ )、アミド(すなわち、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2$ )、カルボン酸(すなわち、 $-\text{COOH}$ )、シアノ(すなわち、 $-\text{CN}$ )、ジヒドロカルビルアミド(すなわち、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{Hy})(\text{Hy})$ )、ジヒドロカルビルアミノ(すなわち、 $-\text{N}(\text{Hy})(\text{Hy})$ )、ジ(ヒドロカルビル)ホスフィド、ホルミル(すなわち、 $-\text{C}(=\text{O})\text{H}$ )、ヒドロカルボイル(すなわち、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{Hy}$ )、ヒドロカルボイルオキシ(すなわち、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{Hy}$ )、ヒドロカルビルアミノ(すなわち、 $-\text{NH}-\text{Hy}$ )、ヒドロカルビルオキシ(すなわち、 $-\text{O}-\text{Hy}$ )、ヒドロカルビルオキシカルボニル(すなわち、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{Hy}$ )、ヒドロカルビルシロキシ、ヒドロカルビルシリルアミノ、ヒドロカルビルスルフィド(すなわち、 $-\text{S}-\text{Hy}$ )、ヒドロカルビルチオ、ヒドロカルビルアミ

ド(すなわち、 $-C(=O)-N(H)(Hy)$ )、イソチオシアネート、N-複素環、パーフルオロヒドロカルビル、チオシアネート、ならびにアルキルアミノ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アジド、ジアルキルアミノ、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択される1または複数の基により置換されたヒドロカルビルのうちの1または複数であり；ヒドロカルビルは、下記の1または複数であり： $R^1$ は、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、およびチオールから選択され；少なくとも1つの場合で、 $R^1$ はアミノであり、または $R^1$ はアミノスルフィニルであり、または $R^1$ はアミノスルホニルであり、または $R^1$ はアリールであり、または $R^1$ はアジドであり、または $R^1$ はハロゲンであり、または $R^1$ はヘテロアルキルであり、または $R^1$ はヘテロアリールであり、または $R^1$ はヒドラジニルであり、または $R^1$ はヒドロカルビルであり、または $R^1$ は水素であり、または $R^1$ はヒドロキシルであり、または $R^1$ はニトロであり、または $R^1$ はニトロソであり、または $R^1$ はチオールであり； $R^2$ は水素であり； $R^2$ は低級アルキルおよび低級ハロアルキルから選択され； $R^2$ はアミノであり； $R^2$ は複素環であり； $R^2$ はN-複素環であり； $R^2$ はヒドロカルビルであり； $R^3$ は水素であり； $R^3$ はフェニルおよび置換フェニルから選択され； $R^3$ は、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択される1または複数の置換基により置換されたフェニルであり； $R^3$ は、ヒドロキシル、低級アルコキシ、および低級アルキルから選択される1または複数の置換基により置換されたフェニルであり； $R^3$ はヘテロアルキルであり； $R^3$ は、アミノ、ヒドロカルビルアミノ、およびジヒドロカルビルアミノから選択され； $R^3$ は、ヒドロカルビルがアルキルであるヒドロカルビルアミノであり； $R^3$ は、ヒドロカルビルがアルキルであるヒドロカルビルアミノであり； $R^3$ はアミノであり； $R^3$ はヒドロカルビルであり； $R^4$ は水素であり； $R^4$ は $C_1-C_8$ ヒドロカルビルである。

【 0 0 6 4 】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物として化学式(1)：

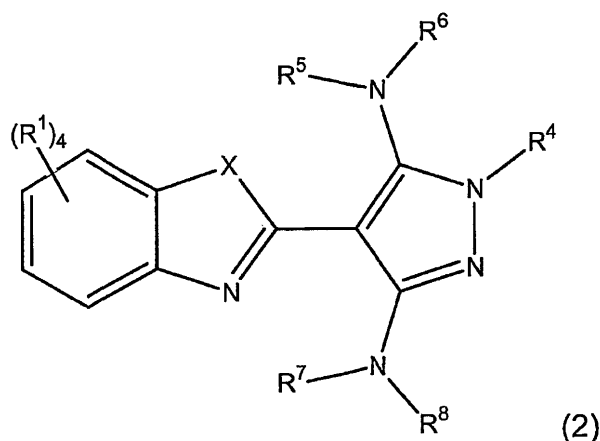


の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され； $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ および $R^2$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホ

リル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^3$ はハロゲン置換ヒドロカルビルであり； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択される。本発明のこの局面の選択的な態様では、1または複数の下記基準を使用して化合物を記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせてもよい： $R^1$ は4つの場合の各々で水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの3つで水素であり； $R^1$ は4つの場合のうちの2つで水素であり； $R^2$ はアミノであり； $R^2$ はヘテロアルキルであり； $R^2$ はフェニルであり； $R^2$ は置換フェニルであり； $R^2$ は下記のうちの任意の2またはそれ以上から選択される1または複数の置換基により置換されたフェニルであり：アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイド； $R^2$ はヘテロアリールであり； $R^2$ はヒドロカルビルであり； $R^2$ は水素であり； $R^2$ はヒドロキシルであり； $R^3$ はトリフルオロメチルであり； $R^3$ は1フッ素を含み； $R^3$ は2フッ素を含み； $R^3$ は3フッ素を含み； $R^3$ は過フッ素化され； $R^4$ は水素であり； $R^4$ はヒドロカルビルであり； $R^4$ はアルキルであり； $R^4$ は $C_1$ - $C_8$ アルキルである。

# 【 0 0 6 5 】

別の局面では、本発明は、単一の互変異性体、互変異性体混合物、単一の立体異性体、立体異性体混合物、もしくはラセミ体混合物としての化学式(2)：



の化合物；または薬学的に許容されるそれらの塩もしくは溶媒和物を提供し；ここで、Xは、S、O、および $NR^9$ から選択され； $R^9$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^1$ はそれぞれ、アミノ、アミノスルフィニル、アミノスルホニル、アリール、アジド、ハロゲン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドラジニル、ヒドロカルビル、水素、ヒドロキシル、ニトロ、ニトロソ、ホスフェート、ホスフィネート、ホスホネート、ホスホニウム、ホスホロチオエート、ホスホリル、スルファモイル、スルフェート、スルフィン酸、スルホンアミド、スルホネート、スルホン酸、スルホニル、スルホキシド、チオール、チオウレイド、およびウレイドから選択され； $R^4$ は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され；各場合の $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、および $R^8$ はそれぞれ、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヒドロカルビル、および水素から選択され、ただし、 $R^7$ および $R^8$ は一緒になり、両方に結合されている窒素を含む複素環を形成してもよいことを条件とする。本発明の選択的な態様では、1または複数の下記基準を使用して本発明のこの局面における化合物を記述してもよく、この場合、任意の2またはそれ以上の基準を組み合わせてもよい： $R^1$ は各々の場合で水素であり； $R^1$ は1つの場合で水素を除外し； $R^1$ は2つの場合で水素を除外し； $R^4$ は水素であり

; R<sup>4</sup>はヒドロカルビルであり; R<sup>4</sup>はC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>ヒドロカルビルであり; R<sup>4</sup>はアルキルであり; R<sup>4</sup>はC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルキルであり; R<sup>5</sup>は水素であり; R<sup>6</sup>は水素であり; R<sup>7</sup>は水素であり; R<sup>8</sup>はヒドロカルビルであり; R<sup>8</sup>はヘテロアルキルであり; R<sup>8</sup>はヘテロアリールである。選択的に、1または複数の下記化合物は本発明のこの局面の範囲から除外される: 1H-ピラゾール-3,5-ジアミン、4-(2-ベンゾチアゾリル); 1H-ピラゾール-3,5-ジアミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-N3-(4-メチルフェニル); および1H-ピラゾール-3,5-ジアミン、4-(2-ベンゾチアゾリル)-N3-フェニル。

#### 【0066】

本発明の化合物および組成物ならびに方法の各々において、1つの局面では、XはSである(すなわち、化合物はベンゾチアゾール化合物である)。本発明の化合物および組成物ならびに方法の各々において、1つの局面では、XはOである(すなわち、化合物はベンゾオキサゾール化合物である)。本発明の化合物および組成物ならびに方法の各々において、1つの局面では、XはNR<sup>9</sup>であり(すなわち、化合物はベンゾイミダゾール化合物である)、ここで、R<sup>9</sup>は、水素、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、およびヒドロカルビルから選択され、本発明のこの局面の様々な選択的な態様では、R<sup>9</sup>は水素であり、またはR<sup>9</sup>はヒドロカルビルであり、またはR<sup>9</sup>はヘテロアルキルであり、またはR<sup>9</sup>はヘテロアリールであり、例えばXは-N(H)-であってもよい。

10

#### 【0067】

本発明の化合物の調製

下記の説明において、示した化学式の置換基および/または変数の組み合わせは、安定な化合物が得られる場合のみ可能であることが理解される。

20

#### 【0068】

当業者であれば、下記の過程において、中間体化合物の官能基を適した保護基により保護する必要がある可能性があることも認識できるであろう。そのような官能基としては、ヒドロキシ、アミノ、メルカプト、およびカルボン酸が挙げられる。ヒドロキシのための適した保護基としては、トリアルキルシリルまたはジアリールアルキルシリル(例えば、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル、またはトリメチルシリル)、テトラヒドロピラニル、ベンジルなどが挙げられる。アミノ、アミジノ、およびグアニジノのための適した保護基としては、t-ブトキシカルボニル、ベンジロキシカルボニルなどが挙げられる。メルカプトのための適した保護基としては、-C(O)-R(式中、Rは、アルキル、アリール、またはアラルキルである)、p-メトキシベンジル、トリチルなどが挙げられる。カルボン酸のための適した保護基としては、アルキル、アリール、またはアラルキルエステルが挙げられる。

30

#### 【0069】

保護基は、当業者に周知であって本明細書で記述されているような標準技術に従って付加または除去してもよい。

#### 【0070】

保護基の使用については、Green、T.W.およびP.G.M.Wutz、Protective Groups in Organic Synthesis (1991)、第2版、Wiley-Interscienceにおいて詳細に記述されている。保護基はまた、ワング樹脂(Wang resin)または2-クロロトリチルクロリド樹脂などのポリマー樹脂としてもよい。

40

#### 【0071】

当業者であれば、発明の概要において上記で記述したように、化学式(1)の化合物のそのような保護誘導体はそれ自体薬理活性を有さないかもしれないが、癌または炎症を患う哺乳類に投与し、その後体内で代謝されると、薬理活性を有する本発明の化合物が形成されうることも認識できるであろう。そのため、そのような誘導体は「プロドラッグ」として記述されうる。化学式(1)の化合物のプロドラッグは全て、本発明の範囲内に含まれる。

#### 【0072】

下記反応スキームは、化学式(1)の化合物を作製するための方法を説明したものである

50

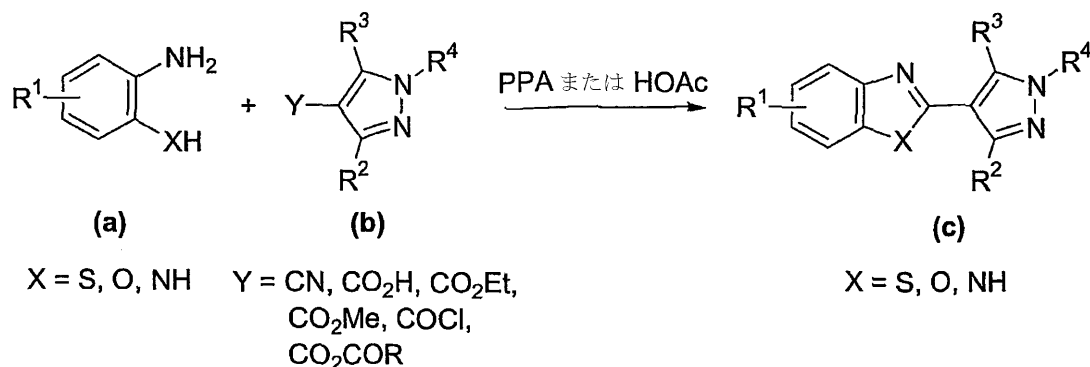
。当業者であれば、同様の方法または当業者に周知の方法により化学式(1)の化合物を作製することができることは理解される。概して、開始構成要素は、アルドリッチ(Aldrich)などの供給源から得てもよく、または当業者に周知の情報源に従い合成してもよい(例えば、SmithおよびMarch、March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure、第5版(Wiley Interscience、ニューヨーク)を参照のこと)。さらに、基 $R^1 \sim R^5$ は、明細書において上記に示されるような構成要素から選択され、開始構成要素、中間構成要素、および/または最終生成物に当業者に周知のスキームに従い結合されてもよい。下記反応スキームでは、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、および $R^5$ は、発明の概要において上記で規定した通りであり、Rは水素または低級アルキル基のいずれかを示す。

## 【0073】

10

本発明の組成物および方法において記載した化合物は、文献において開示された方法により、および/または下記スキームにおいて要約されているように、調製してもよい。

## 反応スキーム1



20

## 【0074】

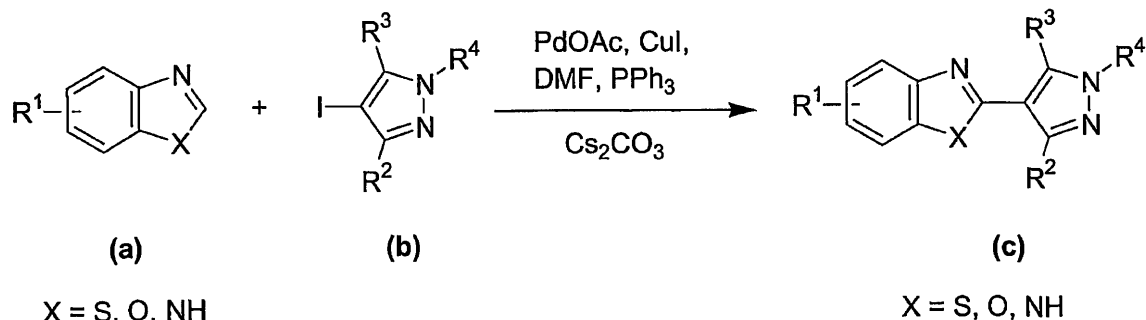
一般に、化学式(c)の化合物(2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾチアゾール(X=S)、ベンゾキサゾール(X=O)、ベンズイミダゾール(X=NH))は、置換2-アミノベンゼンチオール、または2-アミノフェノール、または1,2-フェニルジアミンを、置換1H-ピラゾール-4-カルボン酸またはカルボン酸誘導体と、酢酸またはポリリン酸などの酸中、高温で、文献(Shi D.-F.; Bradshaw, T.D.; Wrigley, S.; J. Med. Chem. (1996), 39, 3375)に記述されている手順と同様に反応させることにより調製することができる。溶液を水で希釈しアンモニア溶液で中和する。生成物を濾過または抽出により単離し、必要であれば、フラッシュクロマトグラフィまたは調製TLCにより精製する。

30

## 【0075】

また、本発明の化合物は、反応スキーム2において記述されているように調製することができる。

## 反応スキーム2



40

## 【0076】

一般に、文献(Pivsa-Art, S.; Satoh, T.; Kawamura, Y. Bull. Chem. Soc. Jpn., (1998) 71, 467)に記述されているように、化学式(c)の化合物(2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾチアゾール(X=S)、2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾキサゾール(X=O)、および2-(1H-

50

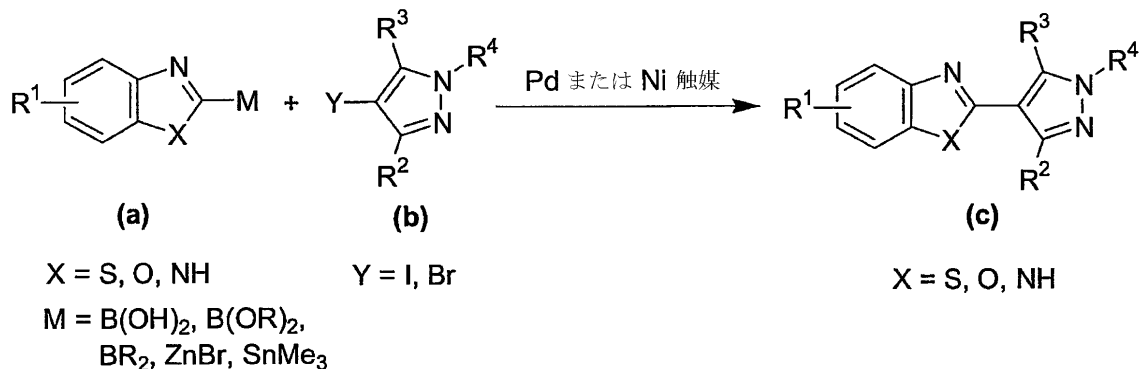


ピラゾール-4-イル)ベンズイミダゾール( $X=NH$ )は、化学式(a)の化合物を化学式(b)の置換4-ヨードピラゾールと、DMFなどの溶媒中、遷移金属触媒、例えば酢酸パラジウムおよびヨウ化銅、トリフェニルホスフィン、および $Cs_2CO_3$ などの塩基の存在下でカップリングさせることにより調製することができる。

【0077】

また、本発明の化合物は、反応スキーム3において記述されているように調製することができる。

反応スキーム3



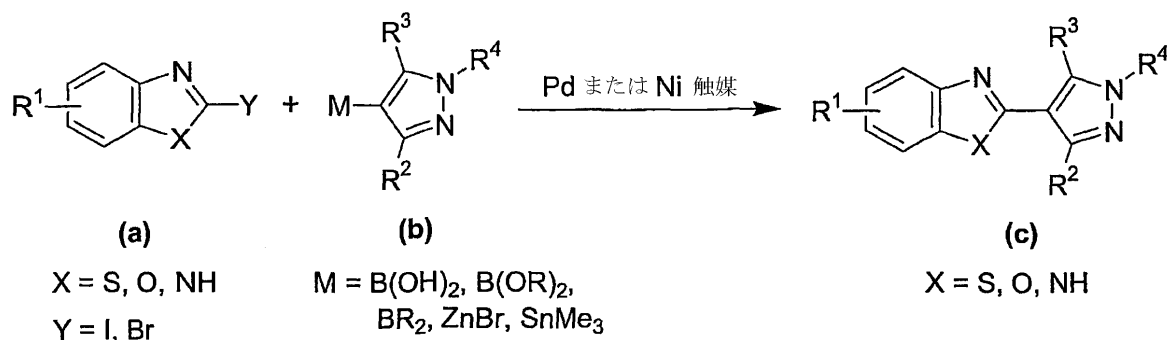
【0078】

一般に、化学式(c)の化合物(2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾチアゾール( $X=S$ )、2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾキサゾール( $X=O$ )、および2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンズイミダゾール( $X=NH$ ))は、化学式(a)のメタレーション(metallated)化合物を化学式(b)の置換4-ハロピラゾールと、遷移金属触媒、例えばパラジウム、ニッケルなどの存在下でカップリングさせることにより調製することができる。化学式(a)のメタレーション化合物は、当業者に周知の通常の経路、例えば有機金属試薬を用いたメタレーションにより、または金属ハロゲン交換により、またはトランスメタレーション(transmetallation)により調製してもよい。金属元素は、ホウ素、亜鉛、スズ、マグネシウム、リチウムなどとすることができる。

【0079】

また、本発明の化合物は反応スキーム4において記述されているように調製することができる。

反応スキーム4



【0080】

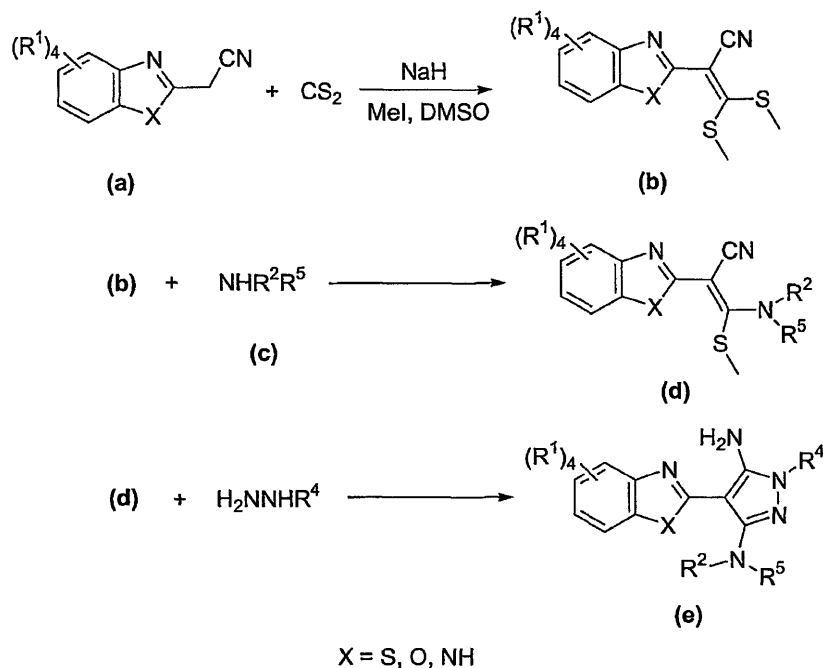
一般に、化学式(c)の化合物(2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾチアゾール( $X=S$ )、2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンゾキサゾール( $X=O$ )、および2-(1H-ピラゾール-4-イル)ベンズイミダゾール( $X=NH$ ))は、化学式(b)のメタレーション化合物を置換2-ハロベンゾチアゾールと、遷移金属触媒、例えばパラジウム、ニッケルなどの存在下でカップリングさせることにより調製することができる。化学式(a)のメタレーション化合物は、当業者に周知の通常の経路、例えば有機金属試薬を用いたメタレーションにより、または金属ハロゲン交換

により、またはトランスメタレーションにより調製してもよい。金属元素は、ホウ素、亜鉛、スズ、マグネシウム、リチウムなどとすることができる。

【 0 0 8 1 】

また、本発明の化合物は反応スキーム5において記述されているように調製することができる。

反応スキーム5



10

20

【 0 0 8 2 】

一般に、化学式(b)の化合物は、文献に記述されているように(Augustin, M. ; Doelling, W. ; J. Prakt. Chem. (1982)1、3)、化学式(a)の置換アセトニトリルから、塩基、例えば水素化ナトリウム、およびアルキル化剤、例えばヨウ化メチルの存在下、二硫化炭素と反応させることにより調製される。得られた化学式(b)の化合物をその後、文献に記述されているように(Augustin, M. ; Doelling, W.、上記参照)化学式(c)の求核試薬で置換すると、化学式(d)の化合物が得られる。その後、化学式(d)の化合物は、ヒドラジンまたは置換ヒドラジンと、エタノール、THF、またはジオキサンなどの溶媒中で反応させて、文献(Fadda, A.A. ; Amer, F.A. ; Zaki, M.E.A. ; Samir, K.H. ; Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem. (1999)、155、59)で記述されているのと同様の様式で、化学式(e)の化合物が得られる。化合物は再結晶またはフラッシュクロマトグラフィにより精製することができる。遊離塩基または塩として単離することができる。

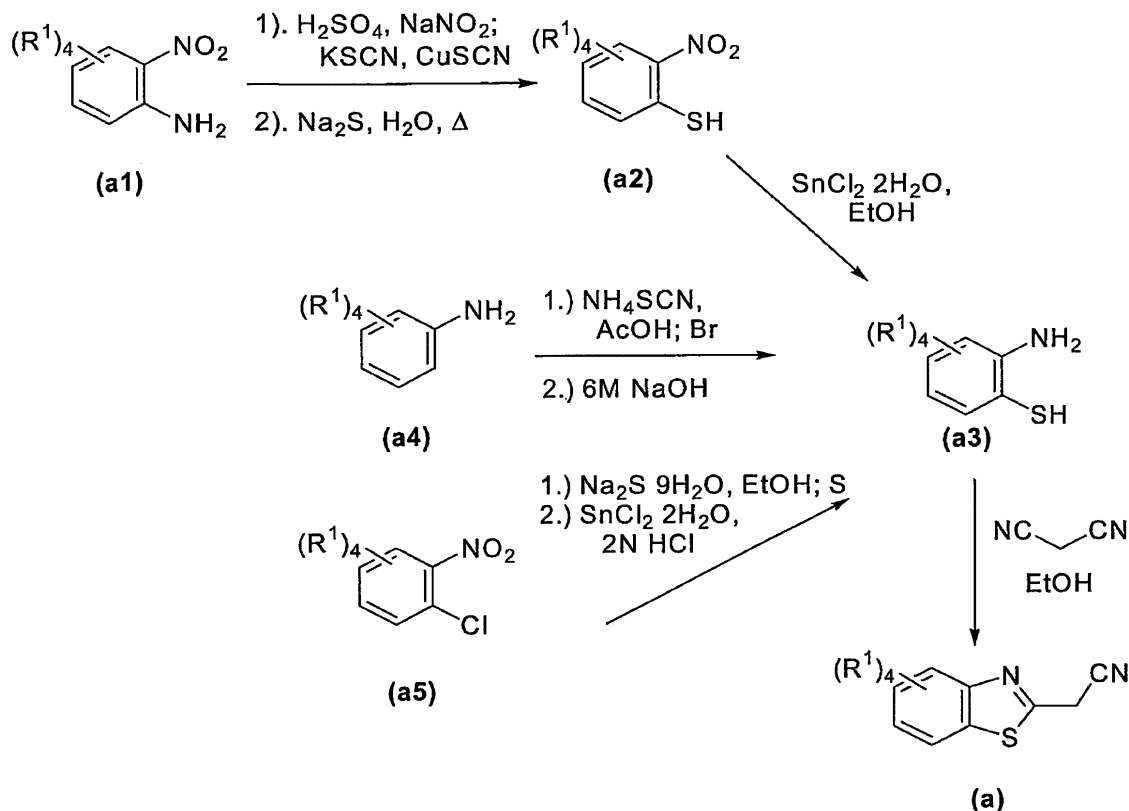
30

【 0 0 8 3 】

化学式(a)の化合物は反応スキーム6に示した方法の1つにより調製することができる。

反応スキーム6

40



10

20

## 【 0 0 8 4 】

化学式(a1)の2-ニトロアニリンはジアゾ化することができ、その後、チオシアン酸カリウムおよびチオシアン酸銅と反応させることができる。得られた生成物は硫化ナトリウムの存在下で還元させることができ、化学式(a2)の化合物が得られる。得られた化学式(a2)の置換ニトロベンゼンは、塩化スズ(II)二水和物の存在下で、材料をエタノールなどの適した溶媒中で還流させることにより還元させることができ、化学式(a3)の化合物が得られる。また、化学式(a3)の化合物は、化学式(a4)の置換アニリンをチオシアン酸アンモニウムと酢酸中で反応させ、続いて臭素を添加することにより調製することができる。得られた生成物は、水酸化ナトリウムの6M溶液などの水酸化物の適した供給源を使用することにより加水分解することができる。化学式(a3)の化合物はまた、化学式(a5)の置換2-クロロニトロベンゼンを、硫化ナトリウム9水和物を熱エタノールに溶解し続いて硫黄を添加することにより生成させた二硫化ナトリウムの溶液と反応させることにより生成させることができる。この反応により二硫化物が生じ、中間体を塩化スズ(II)二水和物および2N塩酸の存在下で還流させることにより還元させることができ、化学式(a3)の化合物が生成する。

30

## 【 0 0 8 5 】

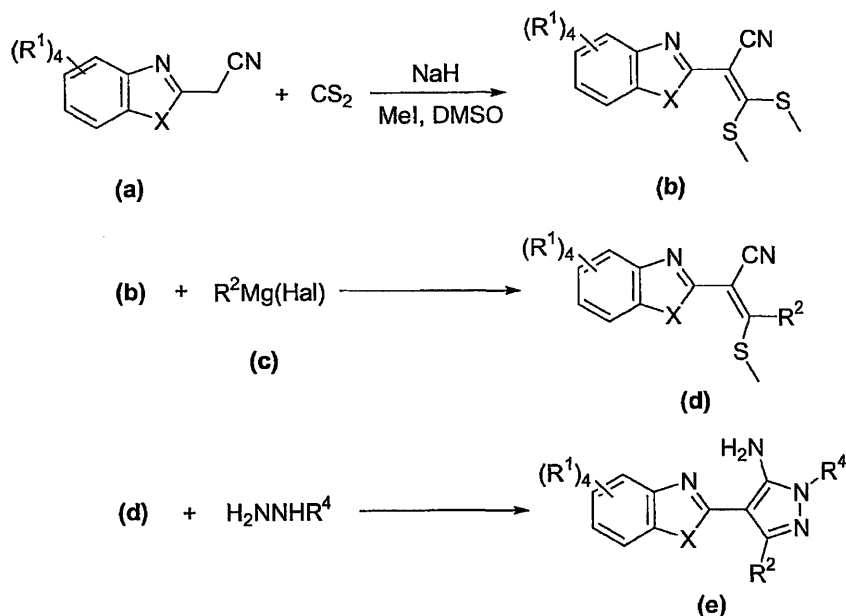
化学式(a)の化合物はその後、化学式(a3)の化合物を、還流エタノール中、マロノニトリルで処理することにより調製することができる。生成物は、濾過により単離し、再結晶またはフラッシュクロマトグラフィーにより精製することができる。

40

## 【 0 0 8 6 】

また、本発明の化合物は反応スキーム7で記述されているように調製することができる。

反応スキーム7



Hal = Cl, Br

X = S, O, NH

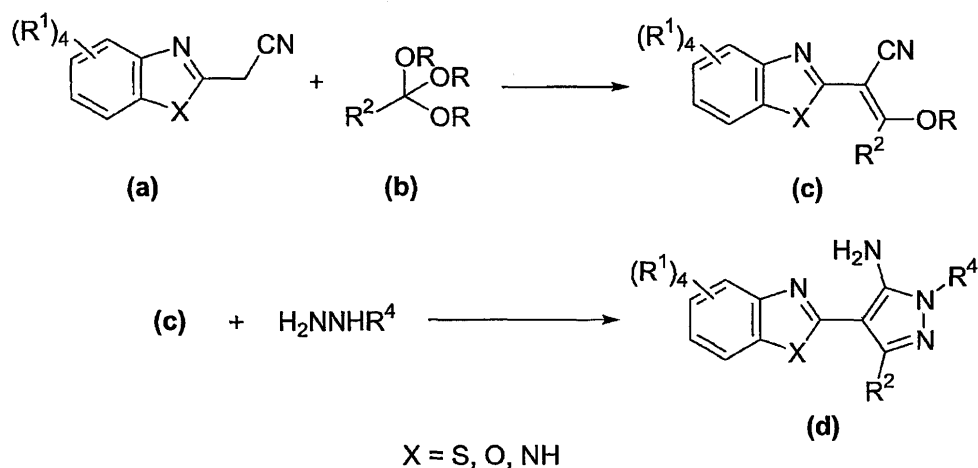
## 【 0 0 8 7 】

一般に、化学式(b)の化合物は、文献に記述されているように(Augustin, M. ; Doelling, W. ; 上記参照)、化学式(a)の置換アセトニトリルから、水素化ナトリウムなどの塩基およびヨウ化メチルなどのアルキル化剤の存在下、二硫化炭素と反応させることにより調製される。得られた化学式(b)の化合物はその後、化学式(c)のグリニャール試薬または有機リチウム化合物で置換することができ、化学式(d)の化合物が得られる。化学式(d)の化合物はその後、エタノール、THF、またはジオキサンなどの溶媒中で、ヒドラジンまたは置換ヒドラジンと反応し、文献(Fadda, A.A. ; Amer, F.A. ; Zaki, M.E.A. ; Samir, K.H. ; P hosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.(1999)、155、59)に記述されているのと同様の様式で、化学式(e)の化合物が得られる。化合物は再結晶またはフラッシュクロマトグラフィーにより精製することができ、遊離塩基または塩として単離することができる。

## 【 0 0 8 8 】

また、本発明の化合物は反応スキーム8で記述されているように調製することができる。

## 反応スキーム8



## 【 0 0 8 9 】

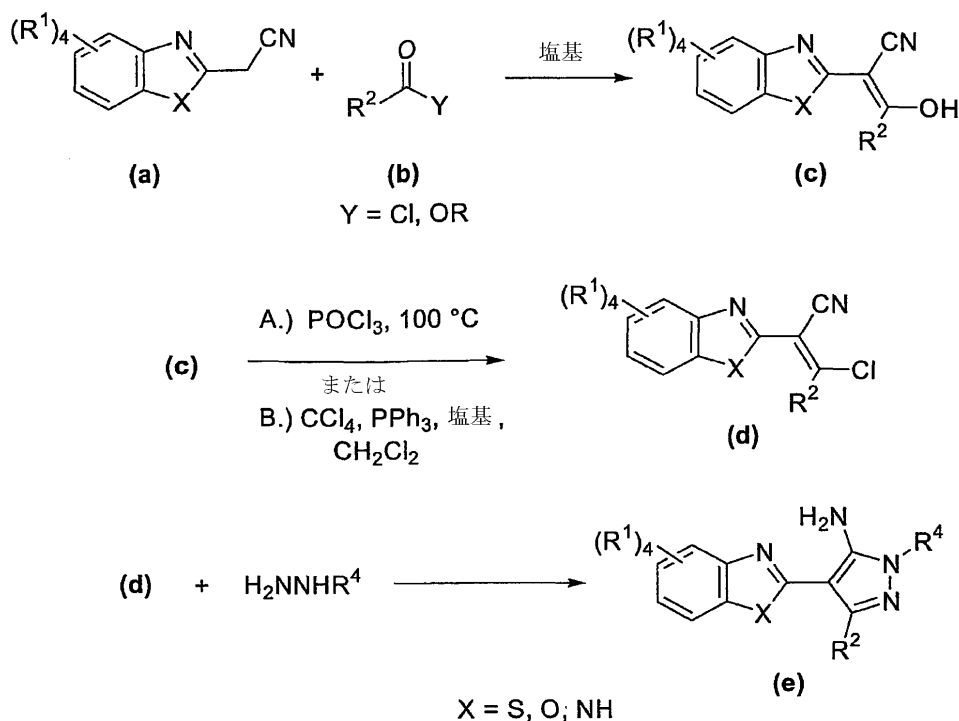
一般に、化学式(c)の化合物は、文献に記述されているように(Bontems, R.J. ; Anderson, J.D. ; Smees, D.F. ; Jin, A. ; Alaghamandan, H.A. J.Med.Chem.(1990)、8、2174)、化

学式(a)の置換アセトニトリルから、無水酢酸などの媒質中、化学式(b)の置換オルトエステルと反応させて調製することができる。その後、化学式(c)の化合物は、エタノール、THF、またはジオキサンなどの溶媒中で、ヒドラジンまたは置換ヒドラジンと反応し、化学式(d)の化合物が得られる。生成物は再結晶またはフラッシュクロマトグラフィーにより精製することができ、遊離塩基または塩として単離することができる。

【0090】

また、本発明の化合物は反応スキーム9で記述されているように調製することができる。

反応スキーム9



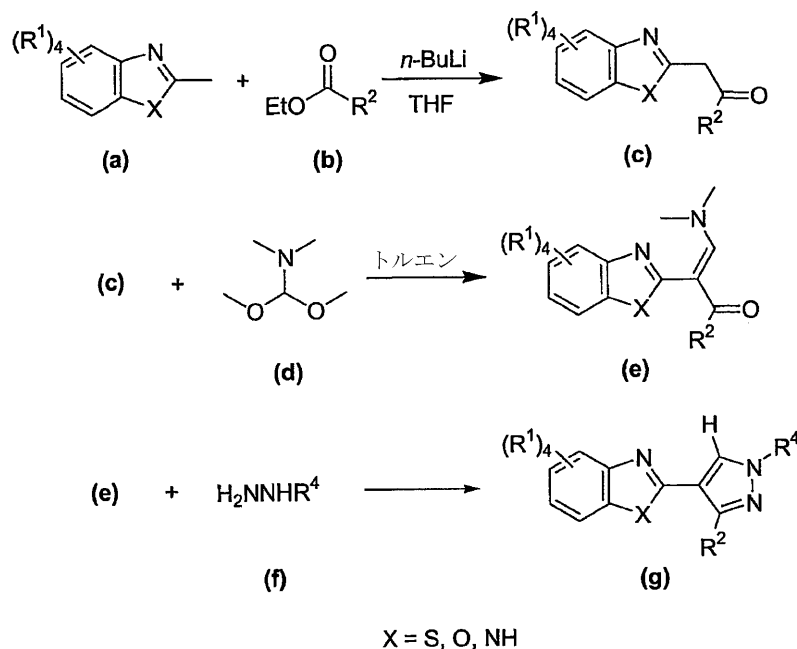
【0091】

一般に、化学式(a)のアセトニトリルは、トリエチルアミンなどの適した塩基の存在下で化学式(b)の活性化カルボニルと反応させることができ、化学式(c)の化合物が得られる。化学式(c)の化合物はその後、100 でニートな (neat) オキシ塩化リン中で材料を反応させることにより塩素化することができ、化学式(d)の化合物が得られる。さらに、化学式(d)の化合物は、化学式(c)の化合物をトリフェニルホスフィン(ニートまたは樹脂に結合)、および四塩化炭素と、トリエチルアミンなどの適した塩基の存在下で反応させることにより生成させることができる。化学式(e)の化合物はその後、化学式(d)の化合物から、エタノール、THF、またはジオキサンなどの溶媒中で、ヒドラジンまたは置換ヒドラジンと反応させることにより調製することができる。

【0092】

また、本発明の化合物は反応スキーム10で記述されているように調製することができる。

反応スキーム10



10

## 【 0 0 9 3 】

一般に、化学式(c)の化合物は、化学式(a)の適当な化合物を $n-BuLi$ などの塩基と反応させ、得られたアニオンを、THFなどの適した非プロトン性溶媒中、化学式(b)のエステルで処理することにより調製することができる(Fogagnolo, M ; Giovannini, P.P. ; Guerrini, A ; Medici, A. ; Pedrini, P. ; Colombi, N. Tetrahedron Asymmetry (1998)9, 2317)。得られた中間体を、DMFジメチルアセタールおよび、水和物または酸塩としてのヒドラジン、または適当に置換されたヒドラジンと、エタノール、THF、またはジオキサンなどの溶媒中で縮合させると、所望の生成物が得られた(Dawood, K.M. ; Kandeel, Z.E. ; Farag, A.M. J. Chem. Res. Synop. (1998)、4、208において4-ベンゾチアゾール-2-イル-2H-ピラゾール-3-イルアミンの調製について記述されているように)。

20

## 【 0 0 9 4 】

発明の特定の化合物の調製について、下記実施例においてより詳細に記述する。

30

## 【 0 0 9 5 】

## 製剤

本発明の化合物は、治療投与のために様々な製剤中に組み入れることができる。より特定のには、本発明の化合物は、適当な薬学的に許容される担体または希釈剤と組み合わせることにより製剤化して薬学的組成物とすることができ、また、製剤化し、固体、半固体、液体、または気体形態、例えば、錠剤、カプセル、粉末、顆粒、軟膏、溶液、坐薬、注射薬、吸入薬、ゲル、微小球、およびエアロゾルの調合物とすることができる。そのようなものとして、化合物の投与は様々な様式で達成することができ、例えば、経口、口腔、直腸、非経口、腹腔内、皮内、経皮、くも膜下投与などである。活性剤は投与後全身性であってもよく、または局所投与、壁内投与を用いることにより、もしくは埋め込み部位で活性用量を保持するように作用するインプラントの使用により、限局化させてもよい。

40

## 【 0 0 9 6 】

薬学的剤形では、化合物は薬学的に許容される塩の形態で投与されてもよい。化合物は、他の薬学的に活性な化合物と適当に組み合わせ使用してもよい。下記方法および賦形剤は例示にすぎず、決して制限するものではない。

## 【 0 0 9 7 】

経口調製物では、化合物は、単独で、または適当な添加剤、例えば、従来の添加剤、例えば乳糖、マンニトール、トウモロコシデンプン、またはジャガイモデンプンと；結合剤、例えば、結晶セルロース、セルロース誘導体、アカシア、トウモロコシデンプン、またはゼラチンと；崩壊剤、例えば、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、またはカ

50

ルボキシメチルセルロースナトリウムと；潤滑剤、例えばタルクまたはステアリン酸マグネシウムと；所望であれば、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤、および香味剤と組み合わせられて使用され、錠剤、粉末、顆粒、またはカプセルが製造される。

【0098】

化合物は、水性溶媒または非水溶媒、例えば、植物油もしくは他の同様の油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステル、またはプロピレングリコールに；所望であれば、従来の添加剤、例えば可溶化剤、等張剤、懸濁剤、乳化剤、安定化剤、および保存剤と共に、溶解、懸濁、または乳化させることにより、製剤化して注射用の調製物とすることができる。

【0099】

化合物は、吸入により投与するためのエアロゾル製剤に使用することができる。本発明の化合物は、加圧した許容される噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの中に製剤化することができる。

【0100】

さらに、化合物は、乳化塩基または水溶性塩基などの様々な塩基と混合することにより、坐薬とすることができる。本発明の化合物はまた、坐薬により直腸投与することができる。坐薬は、ココアバター、カーボワックス(carbowax)、およびポリエチレングリコールなどのビヒクルを含むことができる。これらのビヒクルは体温で融解するが、室温で固化する。

【0101】

シロップ、エリキシル、および懸濁液などの経口または直腸投与用の単位用量形態を提供してもよい。この場合、各用量単位、例えば、茶さじ1杯、大さじ1杯、錠剤、または坐薬は、本発明の1または複数の化合物を含む組成物を予め決められた量含む。同様に、注射または静脈内投与用の単位用量形態は、滅菌水溶液、生理食塩水、または別の薬学的に許容される担体溶液として、組成物中に本発明の化合物を含んでもよい。

【0102】

持続放出製剤のためのインプラントは、当技術分野において周知である。インプラントは、微小球、スラブなどとして、生物分解性または非生物分解性ポリマーと共に製剤化される。例えば、乳酸および/またはグリコール酸のポリマーは、宿主によりよく容認される浸食ポリマーを形成する。阻害化合物を含むインプラントを腫瘍部位に近接して配置すると、活性剤の局所濃度は身体に残りに比べ増大する。

【0103】

本明細書で使用されるように、「単位用量形態」という用語は、ヒトおよび動物被験体のための単位用量として適した物理的に別個の単位を示し、各単位が予め決められた量の本発明の化合物を含み、その量は、薬学的に許容される希釈剤、担体、またはビヒクルと共に用いて所望の効果が得られるのに十分な量として計算される。本発明の新規単位投与形態に対する詳細は、使用する特定の化合物および達成すべき効果、ならびに宿主における各化合物に関連する薬物動態に依存する。

【0104】

薬学的に許容される賦形剤、例えばビヒクル、アジュバント、担体、または希釈剤は、公的に容易に入手可能である。さらに、薬学的に許容される補助的な物質、例えばpH調節剤および緩衝剤、張力調節剤、安定化剤、湿潤剤なども公的に容易に入手可能である。

【0105】

提供した阻害化合物をその他の細胞毒性薬と組み合わせて使用すると、個々の薬剤に対し必要とされる用量が少なくなり、異なる薬剤の効果が相補的となるという利点がある。治療すべき患者および状態、ならびに投与経路によって、対象の阻害化合物は、0.1  $\mu\text{g}$  ~ 10mg/kg体重/日の用量で投与されてもよい。この範囲は広い。一般に、異なる哺乳類に対する治療効果の有効性は大きく変動し、用量はラットに比べヒトでは典型的に20、30、または40倍小さくなる(単位体重あたり)からである。同様に、投与様式は用量に大きな影響を与えることがある。このように、例えば、ラットにおける経口用量は注射用量の10倍と

10

20

30

40

50

なることがある。局所送達経路では、より高い用量を使用してもよい。

【0106】

典型的な用量は、静脈内投与に適した溶液；1日につき2～6回摂取される錠剤、または1日に1回摂取され、含まれる活性成分濃度が比例的に増加する1個の持続放出カプセルもしくは錠剤などとしてもよい。持続放出効果は、異なるpH値で溶解するカプセル材料、浸透圧により徐々に放出するカプセル、または他の周知の制御放出手段により得てもよい。

【0107】

当業者は、用量レベルが、特定の化合物、症状の重篤度、および被験体の副作用への感受性の関数として変動することを容易に認識するであろう。特定の化合物のうちのいくつかは、他のものより強力である。所定の化合物に対する好ましい用量は、当業者により、様々な手段を用いて容易に決定することができる。好ましい手段は、所定の化合物の生理学的効力を測定するものである。

【0108】

対象方法において使用するために、対象化合物は、他の薬学的に活性な作用物質、特に他の抗転移薬、抗腫瘍薬、または抗血管新生薬と共に製剤化してもよい。対象の血管新生抑制(angiostatic)化合物としては、アンギオスタチン、エンドスタチン、コラーゲン (XV)のカルボキシ末端ペプチドなどが挙げられる。対象の細胞毒性および細胞増殖抑制薬としては、アドリマイシン、アルケラン、アラ-C、BICNU、ブスルファン、CNNU、シスプラチナム、サイトキサン、ダウノルピシン、DTIC、5-FU、ハイドレア、イホスファミド、メトトレキサート、ミトラマイシン、マイトマイシン、ミトキサントロン、ナイトロジェンマスタード、ベルパン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、VP-16、カルボプラチナム、フルダラビン、ゲムシタビン、イダルビシン、イリノテカン、ロイスタチン、ナベルピン、タキソール、タキソテレ、トポテカンなどが挙げられる。

【0109】

使用方法

対象化合物を、過剰増殖性疾患を患う被験体に、例えば、腫瘍の増殖を阻止するため、血管新生を阻止するため、リンパ増殖性疾患に関連する炎症を減少させるため、移植片拒絶または組織修復による神経障害を阻止するためなどの目的で投与する。本発明の化合物は、予防または治療目的で有益である。本明細書で使用されるように、「治療」という用語は、疾患の予防および既存症状の治療の両方を示すために使用される。例えば、腫瘍の再増殖を予防する、転移性増殖を予防する、心血管手術に関連する再狭窄を減少させるなどのために、明らかな疾患の発症前に対象化合物を投与することにより増殖が予防される。また、化合物を使用して、患者の臨床症状を安定化または改善することにより、進行中の疾患が治療される。

【0110】

宿主、すなわち患者は、任意の哺乳類種、例えば霊長類種、特にヒト；齧歯類、例えばマウス、ラット、およびハムスター；ウサギ；ウマ、ウシ、イヌ、ネコ；などとしてもよい。動物モデルは、ヒトの疾患のためのモデルを提供する実験調査にとって興味深い。

【0111】

対象化合物を用いた治療に対する特定の細胞の感受性は、インビトロ試験により決定される。典型的には、細胞培養物を様々な濃度の対象化合物と、活性剤が細胞死を誘導するまたは遊走を阻止するのに十分な期間、通常約1時間～1週間の間、一緒にさせる。インビトロ試験では、生検サンプル由来の培養細胞を使用してもよい。治療後残った生存細胞を計数する。

【0112】

用量は、使用する特定の化合物、特定疾患、患者の状態などにより変動する。典型的には、薬用量は、標的組織内の望ましくない細胞群を実質的に減少させるが、患者の生存度を維持するのに十分なものである。治療は一般に、細胞量(cell burden)が実質的に減少するまで、例えば少なくとも50%の減少となるまで続けられ、体内の望ましくない細胞が本質的に検出されなくなるまで続けられる。



## 【0113】

化合物はまた、蛋白質キナーゼにより媒介されるシグナル伝達経路の特定の阻害において使用される。蛋白質キナーゼは、細胞外シグナルおよび細胞周期チェックポイントに対する応答などの重要な細胞活性に対するシグナル伝達経路に関係する。特定の蛋白質キナーゼの阻害は、これらの伝達経路に介入する手段、例えば、細胞外シグナルの効果をブロックする、細胞周期チェックポイントから細胞を開放するなどの手段を提供する。蛋白質キナーゼの活性の欠損は、蛋白質キナーゼにより媒介されるシグナル伝達の欠陥が存在する様々な病的状態または臨床症状と関連する。そのような状態としては、細胞周期調節または細胞外シグナルに対する応答における欠陥と関連する状態が挙げられ、例えば、高血糖ならびにI型およびII型糖尿病、免疫疾患、例えば自己免疫疾患および免疫不全症；過剰増殖性疾患が挙げられ、乾癬、関節炎、炎症、血管新生、子宮内膜症、瘢痕化、癌などが含まれる。

10

## 【0114】

本発明の化合物は、精製したキナーゼ蛋白質を阻害する活性を有する。すなわち、その化合物が存在すると、特定の基質のリン酸化が減少する。特に興味深い蛋白質キナーゼは、インテグリン結合キナーゼ(ILK)である。ILKはセリン・トレオニンキナーゼである。DNAおよび予測アミノ酸配列は、Genbank番号U40282で、またはHanniganら、Nature(1996)379:91-96で公表されているようにアクセスしうる。ILKは、細胞内からそのインテグリンサブユニットとの直接相互作用を介してインテグリン細胞外活性(ECM相互作用)を調節する。ILK活性を阻害すると、インテグリン機能を特異的に標的とすることができるが、他の本質的なシグナル伝達経路は無傷なままである。細胞ILK活性レベルが増大すると、細胞の増殖を調節する際の細胞外膜への接着に対する正常な要求が避けられる。このように、ILK活性を阻害すると、接着に依存しない細胞増殖が阻止される。

20

## 【0115】

細胞外基質蛋白質との適当な接触が維持されないと多くの細胞型がアポトーシスを受けることも周知である(アノイキス)。そのような細胞における対象化合物によるアポトーシスの誘導から、ILKシグナル伝達経路との関係が予測される。

## 【0116】

本発明の化合物は、高い親和力で蛋白質キナーゼに結合し、そのようなキナーゼの単離および/または精製のためのアフィニティ試薬として有用である。アフィニティクロマトグラフィーは、作用する阻害薬に対する酵素の生物化学親和力を使用して蛋白質キナーゼおよびホスファターゼを分離・精製する方法として使用される。化合物はマトリクスまたはゲルに結合する。好ましくは、支持体として微小球またはマトリクスを使用する。そのような支持体は、当技術分野で周知であり、市販されている。阻害薬結合支持体を使用して、部分的に精製されていてもよい複合混合物、例えば細胞ライセートから、阻害薬に結合する酵素を分離する。サンプル混合物を、非特異的結合を最小に抑えた条件下で、阻害薬が結合した支持体と接触させる。当技術分野で周知の方法には、カラム、ゲル、キャピラリーなどが含まれる。未結合化合物は樹脂から洗い流され、結合した蛋白質はその後、適した緩衝液中に溶離される。

30

## 【0117】

本発明の化合物はまた、シグナル伝達または本出願にわたって列挙した任意の臨床疾患を研究するための試薬として有益である可能性がある。

40

## 【0118】

関心対象の過剰増殖性疾患

細胞増殖の調節不全に関連する多くの疾患が存在する。興味深い状態としては下記状態が挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0119】

平滑筋細胞および/または炎症細胞の血管内膜への増殖および/または遊走が起こり、そのため、その血管を通る血流が制限された、すなわち新生内膜閉塞性病変となる、様々な状態の治療に対象方法を適用する。興味深い閉塞性血管状態としては、アテローム性動脈

50

硬化症、移植後の移植冠血管疾患、静脈移植狭窄、周囲吻合補綴移植狭窄、血管形成またはステント配置後の再狭窄などが挙げられる。

#### 【0120】

過剰増殖および組織再構築または再生組織の修復が存在する疾患、例えば、子宮、睾丸、および卵巣癌、子宮内膜症、頸部の扁平上皮癌および腺上皮癌などでは、対象化合物を投与することにより細胞数が減少する。

#### 【0121】

腫瘍細胞は、制御されない増殖、周囲組織への浸潤、および遠位部位への転移性伝播により特徴づけられる。増殖および拡大には、増殖することができるだけでなく、細胞死(アポトーシス)を下方調節し、腫瘍新生脈管構造を生成するための血管新生を活性化することができる能力が必要である。血管新生は、細胞外環境と相互作用し、遊走する細胞能力(これはインテグリン特異的機能である)に影響を与えることにより、または内皮細胞のアポトーシスを調節することにより、阻止されうる。インテグリンは、細胞-細胞、細胞-細胞外基質(ECM)接着相互作用において機能し、ECMからのシグナルを細胞内部に伝達し、そしてその逆も行う。これらの性質は、細胞遊走、浸潤、血管内異物侵入および管外遊出、ならびに血小板相互作用にインテグリンが関与することを示すので、腫瘍増殖および転移におけるインテグリンの役割は明らかである。

#### 【0122】

治療の対象となる腫瘍としては、癌、例えば、結腸癌、十二指腸癌、前立腺癌、乳癌、メラノーマ、腺癌、肝癌、膵癌、腎癌、子宮内膜癌、胃癌、形成異常口腔粘膜、ポリープ症、浸潤口腔癌、非小細胞肺癌、移行上皮および有棘細胞泌尿器癌など；神経悪性腫瘍、例えば、神経芽細胞腫、神経膠腫など；血液悪性腫瘍、例えば、小児急性白血病、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ性白血病、悪性皮膚T細胞、菌状息肉腫、非-MF皮膚T細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹症、T-細胞リッチ皮膚リンパ球腫、水疱性類天疱瘡、円盤状紅斑性狼瘡、扁平苔癬など；が挙げられる。

#### 【0123】

特に興味深い癌には、主に腺癌サブタイプである乳癌が含まれる。非浸潤性乳管癌(DCIS)は最も一般的な型の非浸潤性乳癌である。DCISでは、悪性細胞が管を通して胸の脂肪組織内に転移していない。浸潤性(infiltratingまたはinvasive)腺癌(IDC)は管の壁を通して転移し、胸の脂肪組織に浸潤する。浸潤性小葉腺癌(ILC)は、体内の他の場所に転移する可能性があるという点でIDCと類似する。浸潤性乳癌の約10~15%が浸潤性小葉腺癌である。

#### 【0124】

非小細胞肺癌もまた興味深い。非小細胞肺癌(NSCLC)は概して肺癌の3つのサブタイプから構成される。類表皮癌(扁平上皮癌とも呼ばれる)は通常、大気管支の1つで始まり、比較的ゆっくり増殖する。これらの腫瘍のサイズは非常に小さいものからかなり大きなものまで様々である。腺癌は肺の外表面近くで増殖し始め、サイズおよび増殖速度のどちらも様々である。増殖の遅い腺癌は肺胞細胞癌として記述される。大細胞癌は肺の表面近くで始まり、急速に増殖し、腫瘍は診断時には通常かなり大きくなっている。他のあまり一般的でない肺癌の形態は、カルチノイド、円柱腫、類表皮、および悪性中皮腫である。

#### 【0125】

メラノーマはメラニン細胞の悪性腫瘍である。ほとんどメラノーマは皮膚で起こるが、粘膜表面から、または神経堤細胞が遊走する他の部位で起こることもある。メラノーマは主に成人で起こり、皮膚の見かけ上正常な領域で起こるものが、症例の半分以上を超える。予後は、臨床的および組織学的因子、ならびに病変の解剖学的位置により影響される。メラノーマの浸潤の厚みおよび/またはレベル、分裂指数、腫瘍浸潤リンパ球、ならびに原発部位での潰瘍形成または出血が予後に影響する。臨床病期は、腫瘍が局所リンパ節または遠隔部位に広がっているかどうかに基づく。臨床的に原発部位に限定される疾患では、メラノーマの局所浸潤の厚さおよび深さが大きくなるほど、リンパ節転移の可能性が高くなり、予後が悪くなる。メラノーマは局所拡大により(リンパ管を介して)、および/または

血行経路により遠隔部位まで広がりうる。任意の器官に転移が起こりうるが、肺および肝臓がよく起こる部位である。

【0126】

他の興味深い過剰増殖性疾患は、表皮過剰増殖、組織再構築および修復に関する。例えば、乾癬の慢性皮膚炎は、過形成表皮角化細胞、浸潤単核細胞、例えばCD4+記憶T細胞、好中球、およびマクロファージと関連する。

【0127】

免疫細胞の増殖は、多くの自己免疫疾患およびリンパ増殖性疾患と関連する。興味深い疾患としては、多発性硬化症、関節リウマチ、およびインスリン依存性糖尿病が挙げられる。証拠から、アポトーシスの異常が、全身性エリトマトーデス(SLE)の病因において一定の役割を果たすことが示唆される。他のリンパ増殖性状態は、自己免疫性のリンパ増殖性症候群である、リンパ球アポトーシスの遺伝性疾患、ならびに多くの白血病およびリンパ腫である。環境および食品(food agent)に対するアレルギー症状、ならびに炎症性大腸炎もまた、本発明の化合物により軽減される。

【0128】

本発明の1つの局面では、本明細書で開示したピラゾリルベンゾチアゾール化合物を使用して、免疫システムが直接病態形成に影響する、乾癬などの炎症疾患および自己免疫疾患の治療のためにインテグリン結合キナーゼ(ILK)を阻害しうる。インテグリン結合キナーゼ(ILK)は、様々な細胞が他の細胞または細胞外基質の様々な成分へ接着することを仲介する分子である、1および3インテグリンの細胞質テール部分と結合する、59kDaのセリン/トレオニンキナーゼである。さらに、ILKは多くの細胞内蛋白質と結合し、相互作用する。ILKの酵素活性は、ILK発現細胞の細胞外基質(ECM)成分フィブロネクチン、インテグリンクラustering、ならびに様々な成長因子との相互作用により調節される。ILK活性は、多くの下流シグナル伝達イベントと関連する。ECMに接着すると、インテグリンおよび細胞骨格蛋白質およびシグナル伝達蛋白質の選択群は細胞基質接触部位に動員され、そこで、アクチン細胞骨格がECMに結合されるように機能する。これらの結合は、細胞内コンパートメントと細胞外コンパートメントとの間の連絡を調節するように機能する。

【0129】

このように、1つの局面では、本発明は、ILK活性を阻害する化合物を使用する、自己免疫疾患を含む炎症疾患の治療のための治療組成物および方法に関する。そのような疾患および疾病としては、乾癬、関節リウマチ、多発性硬化症、強皮症、全身性エリトマトーデス、シェーグレン症候群、アトピー性皮膚炎、喘息、およびアレルギーが挙げられるが、これらに限定されない。治療を受けやすい標的細胞には、自己免疫反応の扇動に関係する細胞ならびに自己免疫攻撃または炎症イベントの影響を受けるまたはそれらに応答する細胞が含まれる。

【0130】

上述したように、ILK阻害薬として機能するピラゾリルベンゾチアゾール化合物は、製剤化して様々な組成物としうる。ILK阻害薬と共に使用するための適した賦形剤としては、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、クレマフォア(Cremaphor、商標)、エタノールなどが挙げられる。これらの組成物は、追加の成分、例えば、従来の送達薬および賦形剤、例えば、等張化剤、pH調節剤、溶媒、可溶化剤、染料、ゲル化剤、増粘剤、緩衝剤、およびそれらの組み合わせをさらに含んでもよい。炎症/自己免疫疾患、例えば乾癬を改善するために、ILK阻害薬を適当な手段により投与する。そのような手段としては、経口、静脈内、皮下、筋内、または局所経路が挙げられるが、これらに限定されない。ILK阻害薬の局所などの局所送達では、治療部位で高濃度となり、そのような化合物の全身性送達と関連する望ましくない非特異的なまたは他の望ましくない影響の可能性は低くなる。乾癬および他の皮膚炎または自己免疫状態に対するピラゾリルベンゾチアゾール化合物の局所送達では、化合物は、約0.01~約10mg/mlの濃度を含む賦形剤中で直接皮膚に塗布され、投与されてもよい。全身性送達が必要である場合、0.1mg/kg~100mg/kg体重、好ましくは10mg/kg未満の範囲の用量が投与される。ピラゾリルベンゾチアゾール化合

物は1日あたり最大3回まで投与してもよい。経口送達は、錠剤、カプセル、液体懸濁液、または溶液の形態でなされてもよい。

【0131】

乾癬は命を脅かす病気ではないが、疾患に関連する社会的な不名誉および生活の質の低下は、これらの患者および家族にとって深刻な問題である。確立された抗乾癬治療は、抑止型および鎮静型に分類される。抑止療法(例えば、シクロスポリン、局所カルシトリオール、メトトレキサート、レチノイド)は、プラーククリアランス(plaque clearance)を生じさせるが、これらの薬剤は、皮膚薬力学的マーカーの完全正常化またはプラークT細胞数の大きな減少とは関係しない。紫外(UV)B(280~320nm)光のみを用いるまたはコールタール誘導体と組み合わせた光線療法および8-メトキシソラレンをUVA(320~400nm)光(PUVA)と組み合わせた光化学療法は、鎮静型抗乾癬療法に分類される。UVB光およびPUVAは典型的には、複数の治療セッション(週に数回であることが多い)で、プラーククリアランスが達成されるまで送達される。本発明は、確立された抗乾癬療法と組み合わせて投与してもよいピラゾリルベンゾチアゾール化合物を提供する。

10

【0132】

腎疾患

本発明の1つの局面では、本明細書で開示したピラゾリルベンゾチアゾール化合物を使用して、腎疾患の治療のためにインテグリン結合キナーゼ(ILK)を調節してもよい。このように、本発明は、腎疾患を治療するための治療用組成物および方法を提供し、特に、ILKの活性を調節、特に阻害し、蛋白尿、または尿細管障害もしくは尿細管間質性障害により特徴づけられる状態となることがある糸球体性腎疾患状態を改善するための治療用組成物および方法を提供する。好ましいピラゾリルベンゾチアゾール化合物は、ILK-系機能アッセイ法における生物活性、例えばインビトロまたはインビボILKキナーゼ活性に対するスクリーニングにより同定しても良い。

20

【0133】

現在の治療法によれば、腎疾患の慢性的な経過は、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬を用いると、6~12ヶ月間遅らせることができるが、この時点では、透析および最終的な臓器移植の他に、他の満足のいく治療はない。本発明によれば、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物を適当な時間に、腎疾患を治療するための第2の療法の前後、または同時に投与してもよい。ここで、第2の療法としては、ACE阻害薬、または薬学的に許容されるその塩、および薬学的に許容される担体の、治療に必要な哺乳類への投与が挙げられるが、これに限定されない。ACE阻害薬としては、カプトプリル、ペナゼプリル、エナラプリル、フォシノプリル、リシノプリル、キナプリル、ラミプリル、イミダプリル、ペリンドプリル、エルブミン、およびトランドラプリルが挙げられるが、これらに限定されない。ACE受容体遮断薬もまた、ACE阻害薬の代わりに、またはACE阻害薬と共に使用してもよく、例えば、ロサルタン、イルベサルタン、カンデサルタン、シレキセチル、およびバルサルタンが挙げられる。

30

【0134】

このように、1つの局面では、本発明は、患者に有効量の、本明細書で開示したようなピラゾリルベンゾチアゾール化合物またはピラゾリルベンゾチアゾール化合物を含む組成物を投与する過程を含む、腎機能障害患者を治療するための方法を提供する。様々な態様では、化合物は経口投与され、または化合物は静脈内投与され、または化合物は腹腔内投与される。化合物は腎臓内の腔内に、または腎臓周囲に投与される。患者はまた、ACE阻害薬により治療されてもよい。

40

【0135】

1つの局面では、本発明は、患者に有効量の、本明細書で開示したピラゾリルベンゾチアゾール化合物またはピラゾリルベンゾチアゾール化合物を含む組成物を投与する過程を含む、尿中の蛋白質レベルを低下させるための方法を提供する。様々な態様では、化合物は、経口、静脈内、または腹腔内投与される。化合物は腎臓内の腔内に、または腎臓周囲に投与してもよい。患者はまた、ACE阻害薬により治療されてもよい。

50

## 【0136】

## 眼疾患

1つの局面では、本発明は、角膜、虹彩、網膜、または脈絡膜の新血管形成の病態が明らかである様々な眼疾患の治療における、本明細書で開示したピラゾリルベンゾチアゾールの使用に関する。対象となる方法は、眼疾患を治療し、角膜、虹彩、網膜、または脈絡膜の新血管形成のために二次的に生じる視力の損失ならびに視覚の損失を予防、軽減、または逆転させるために予防または治療目的で使用される。「治療」という用語は、疾患の予防および既存の状態の治療の両方を示すために使用される。初期段階での治療が望ましいが、疾患の不都合な症状は、後期治療により少なくとも部分的には軽減されうる。

## 【0137】

1つの局面では、インテグリン結合キナーゼ(ILK)の活性を調節するピラゾリルベンゾチアゾール化合物を全身投与または局所投与し、眼新血管形成を特徴とする明らかな病状を有する眼疾患を治療する。そのような治療を、単一の療法として単独で使用し、または補助としての第2療法と組み合わせて使用し、角膜、虹彩、網膜、または脈絡膜の新血管形成のために二次的に生じる視力の損失ならびに視覚の損失を予防、軽減、または逆転させる。

## 【0138】

例えば、1つの局面では、本発明は、新生血管病変を有する動物の目において、動物の目の病変を同定する過程、前記病変に局在化するのに十分な一定量の本明細書で開示したピラゾリルベンゾチアゾール化合物を動物に投与する過程を含む、眼新血管形成を予防、軽減、または改善する方法に関する。持続放出インプラント、粘性溶液、または他の局所製剤を使用してもよい、長期局在化した濃度を提供する局所投与を使用する方法は特に興味深い。ピラゾリルベンゾチアゾール化合物は、単一の療法として単独で投与してもよく、または第2療法と組み合わせて、例えば、適当な時間、第2療法の前後、または第2療法と同時に投与してもよい。第2療法としては、眼新血管形成に対する補助的治療としてのビスダイン(Visudyne、商標)療法、光凝固、または経瞳孔温熱療法が挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0139】

本発明の様々な態様により治療してもよい眼疾患のいくつかの例としては、網膜疾患(網膜下血管新生による糖尿病性網膜症、慢性緑内障、網膜剥離、鎌状赤血球網膜症、加齢性黄斑変性症(AMD))；虹彩ルベオシス；炎症疾患；慢性ブドウ膜炎；新生物(網膜芽腫、偽網膜膠腫)；フックス虹彩毛様体炎；血管新生緑内障；角膜新血管形成(虹彩の炎症、移植、発育形成不全)；硝子体切除および水晶体切除の併用による新血管形成；血管疾患(網膜虚血、脈絡膜血管不全、脈絡膜血栓症、頸動脈虚血)；視神経の新血管形成；および目のせん孔または打撲性眼損傷による新血管形成などが挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0140】

眼新血管形成を特徴とする際だった病状を有する眼疾患において、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物を使用する治療法を実施する場合、治療上有効量のピラゾリルベンゾチアゾール化合物を、新血管形成に関連する疾患または疾病を患う被験体に、または新血管形成した組織に投与する。阻害薬もまた、本発明の方法に従い、単独で、または新血管形成に対する他の周知の療法と共に投与してもよい。1または複数の他の療法と共に投与する場合、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物は他の治療と同時に、または順次、投与してもよい。順次投与する場合、担当医は適当な投与順を決定する。その順序は第2療法の前後としてもよい。

## 【0141】

対象となる第2療法としては、光線力学療法、例えばベルテポルフィン(VISUDYNE、商標)療法、例えば、Madreperla(2001) Arch Ophthalmol. 119(11):1606-1610；Harding(2001) Eye 15(Pt3):407-12；Sharma(2001) Can Fam Physician 47:955、963を参照のこと、光凝固または経瞳孔温熱療法、例えば、Rogersら(2001) Curr Opin Ophthalmol 12(3):212

10

20

30

40

50

-5; Ardjomandら(2001) *Ophthalmologica* 215(3):241-4; Mainsterら(2000) *Ophthalmic Surg Lasers* 31(5):359-73を参照のこと、が挙げられる。他の療法としては、米国特許第6,297,228号“Use of angiostatic steroids in photodynamic therapy”; 米国特許第6,271,233号“Method for treating ocular neovascular diseases”; 米国特許第6,248,734号“Use of photodynamic therapy for prevention of secondary cataracts”; 米国特許第RE37,180号“Photochemotherapeutical obstruction of newly-formed blood vessels”; 米国特許第6,225,303号“Use of green porphyrins to treat neovasculation in the eye”; 米国特許6,217,895号“Method for treating and/or preventing retinal diseases with sustained release corticosteroids”; 米国特許第6,214,819号“Method for treating ocular neovascular diseases”などにおいて説明されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

10

#### 【0142】

眼疾患の中には、急性期治療に適しているものもあり、長期療法を必要とするものもある。増殖性網膜症は、ROP、糖尿病性網膜症のいくつかの症例、および血管新生緑内障において見られるように数日中に閾値に到達することがある。早産児は、妊娠35週、誕生後数週頃に新血管形成の危険があり、網膜に血管が新生するまでの短い期間の間危険が続く。糖尿病性網膜症は急性であるが、かなり長期にわたり増殖期でくすぶることもある。適した用量を決定するのに適した動物モデルが存在するが、異なる哺乳類に対する治療効果の効能は大きく変動し、例えば、用量は、ラットに比べヒトでは典型的には20、30、または40倍少なくなる(単位体重あたり)。同様に、投与様式も用量に大きく影響することがある。酸素により誘発した網膜血管新生のマウスモデルが確立されており、処置動物の100%で生じ、定量化可能である(Smithら(1994) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci* 35:101-111)。生物活性は、いくつかの方法、例えば、Miles血管透過性アッセイ法(MilesおよびMiles, *J. Physiol. (Lond.)* (1952)118:228)(血管透過性を測定する)、および内皮細胞分裂促進性(細胞増殖を測定する)により決定することができる。

20

#### 【0143】

局部塗布のためには、適当な製剤の約0.05~0.2の範囲または約0.5mg/mlのピラゾリルベンゾチアゾール化合物を眼内(硝子体内、網膜下、前房内、強膜内)、眼周囲または角膜上の局部のいずれかに投与する。全身投与では、0.05~100mg/kg体重の範囲、好ましくは約10mg/kg未満を投与して眼疾患を治療する。眼内または眼周囲投与では、注射用製剤のピラゾリルベンゾチアゾール化合物が、上記濃度、2~6ヶ月毎に1回の頻度の眼内注射により、または一定期間ILK阻害薬の持続放出が可能なILK阻害薬装置もしくは特定の製剤の眼内埋め込みにより投与される。角膜用途では、適当な製剤のILK阻害薬は局所的に角膜上に、4~6時間に1回の頻度で適用される。全身用途では、適当な製剤のILK阻害薬は経口により1日に1~3回投与される。

30

#### 【0144】

このように、1つの局面では、本発明は眼新血管形成を治療するための方法を提供し、その方法は、本明細書で記述したピラゾリルベンゾチアゾール化合物またはそのような化合物を含む組成物を投与して、眼新血管形成を治療する過程を含む。選択的に、治療により、角膜、虹彩、網膜、または脈絡膜の新血管形成のために二次的に生じる視力の損失が軽減し、改善する。本方法は、眼新血管形成のための第2療法を適用する過程をさらに含んでもよい。ここで、適した第2療法は、光線力学療法、光凝固、および経瞳孔温熱療法からなる群より選択される。本発明の方法では、眼新血管形成は、糖尿病性網膜症、慢性緑内障、網膜剥離、鎌状赤血球網膜症、網膜下血管新生による加齢性黄斑変性症(AMD); 虹彩ルベオシス; 炎症疾患; 慢性ブドウ膜炎; 新生物; フックス虹彩毛様体炎; 血管新生緑内障; 角膜新血管形成; 硝子体切除および水晶体切除の併用による新血管形成; 網膜虚血、脈絡膜血管不全、脈絡膜血栓症、頸動脈虚血; 視神経の新血管形成; および目のせん孔または打撲性眼損傷による新血管形成からなる群より選択されうる。様々な態様では、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物は全身的に、または眼内に、または眼周囲に投与され、または角膜上に局所的に投与され、または眼内注射により投与され、または眼内埋め

40

50

込みにより投与される。

【0145】

下記実施例は、当業者に、対象となる発明をどのように作製し、使用するかについて完全に開示、説明するために示したものであり、本発明の範囲を制限しようとするものではない。使用した数値(例えば、量、温度、濃度など)に関しては正確さを保証するために努力したが、いくらかの実験誤差および偏差は許容されるべきである。特に記載がなければ、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は であり、圧力は大気圧、またはほぼ大気圧である。実施例で使用した開始材料は、アルドリッチ(Aldrich)およびランカスター(Lancaster)などの薬品供給者から購入することができ、または本明細書で記述した調製手順に従い調製することができる。

10

【0146】

実施例

実施例1

調製1: 2-アミノ-4-フルオロベンゼンチオール合成

室温で脱イオン水(30mL)に溶解した2-クロロ-5-フルオロニトロベンゼン(1.81g、10.31mmol)の溶液に硫化ナトリウム9水和物(9.90g、41.24mmol)を一度に加えた。得られた溶液を加熱還流し、窒素雰囲気下で32時間撹拌した。次いで、得られた淡黄色溶液を室温まで冷却し、酢酸エチル(5×50mL)で洗浄した。有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、黄色油状物を得た。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィーでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=10:1により溶出して精製し、表題化合物を得た(0.36g、25%)。

20

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 144.0 (M+1, 100%); IR (KBr): 3430, 3340, 1615, 1573, 1482, 1281, 1248, 1172, 1124, 1044, 975, 840, 792 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 6.89 (dt, 1H), 6.50 (dd, 1H), 6.21 (dt, 1H), 5.80 (br s, 2H)

【0147】

調製2: チアゾロ[5,4-b]ピリジン-2-イルアミンの合成

エタノール(23mL)中の2-クロロ-3-アミノピリジン(3g、23mmole)およびチオシアン酸アンモニウム(3.5g、46.5mmole)の懸濁液を濃HClでpH約1まで(約1.8mL)酸性化した。反応混合物を85℃で3日間加熱した。この時点で溶媒を蒸発させ、残留水を2-プロパノールの蒸留により共沸除去した。黄色残渣を7M水酸化アンモニウム(12mL)およびクロロホルム(7mL)と混合した。固体をろ過により単離し、生成物を白色粉末で得た(1.50g、43%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 152 (M+1, 100%)。

30

【0148】

調製3: 4-フルオロベンゾチアゾル-2-イルアミンの合成

クロロホルム(25mL)中の(2-フルオロフェニル)チオ尿素(1.7g、10.0mmol)の懸濁液に、臭素(0.51mL; 10.0mmol)の溶液を室温で滴下した。得られた混合物を3時間加熱還流した。溶媒を蒸発させ、水を加え、混合物を水酸化アンモニウムで中和した。得られた白色沈殿をろ取し、乾燥して、表題化合物を得(1.2g、72%)、これをそれ以上精製せずに次の段階で用いた。

40

【0149】

調製4: 7-クロロ-4-メトキシベンゾチアゾル-2-イルアミンの合成

表題化合物を、(5-クロロ-2-メトキシフェニル)チオ尿素(2.17g、10.0mmol)から調製3に記載のものと同様の方法を用いて調製した。表題化合物を収量2.1g(98%)で単離した。

【0150】

調製5: 4-アミノ-2-フルオロ安息香酸の合成

酢酸およびメタノール(1:1)の混合物(20mL)中の2-フルオロ-4-ニトロ安息香酸(1.0g、5.4mmol)の溶液に、触媒量の炭素担持パラジウム(25mg)を加えた。反応混合物を水素ガス雰囲気下、室温で終夜撹拌した。次いで、混合物をセライトを通してろ過し、溶

50

媒を蒸発により除去して、表題化合物をクリーム色の固体で得た (0.86g、100%)。

【0151】

調製6: 4-アミノ-2-フルオロ-N-メチルベンゼンスルホンアミドの合成

クロロスルホン酸 (150mL) 中のN-(3-フルオロフェニル)アセトアミド (20.0、0.13mol) の溶液を75℃で1時間加熱した。溶液を室温まで冷却し、氷上に注いだ。得られたスラリーをジクロロメタンで抽出した。合わせた有機抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、4-アセチルアミノ-2-フルオロベンゼンスルホニルクロリドをペーストで得た (15.5g、47%)。粗生成物をそれ以上精製せずに次の段階で用いた。

【0152】

上で調製した4-アセチルアミノ-2-フルオロベンゼンスルホニルクロリド (2g、7.9mmol) をジクロロメタンに溶解し、メチルアミン (THF中の2M溶液9.9mL、19.9mmol) を加えた。反応混合物を室温で2時間撹拌した。次いで、溶媒を減圧下で蒸発させ、得られた固体を水 (50mL) に懸濁した。固体をろ過により単離し、乾燥して、N-(3-フルオロ-4-メチルスルファモイルフェニル)アセトアミドを得 (1.55g、79%)、これをそれ以上精製せずに次の段階で用いた。

【0153】

上で調製したN-(3-フルオロ-4-メチルスルファモイルフェニル)アセトアミド (1.55g、6.3mmol) を6M HCl (40mL) に懸濁し、1時間加熱還流した。反応混合物を氷浴中で冷却し、NaOH溶液を加えて混合物をpH5に調節した。得られた白色沈殿をろ過により単離し、水洗し、乾燥して、表題化合物を得た (1.07g、83%)。

MS (*m/z*,

ES<sup>+</sup>): 205.0 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.35 (m, 1H), 7.12 (m, 1H), 6.40 (m, 2H), 6.23 (s, 2H), 2.40 (s, 3H)

【0154】

調製7: 4-アミノ-N-メチルベンゼンスルホンアミドの合成

無水THF (60mL) 中の4-ニトロベンゼンスルホニルクロリド (2.7g、12mmol) およびトリエチルアミン (27mmol) の氷冷溶液に、メチルアミン (THF中の2M溶液8mL、16mmol) を加えた。混合物を室温で終夜撹拌した。食塩水を加え、反応溶液を酢酸エチルで抽出した。合わせた有機抽出物を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、4-ニトロベンゼンスルホン酸メチルアミドを油状物で得た。粗生成物をそれ以上精製せずに次の反応で用いた。

【0155】

上で調製した粗4-ニトロベンゼンスルホニルメチルアミドのエタノール (45mL) 中の溶液に、ラネーニッケルのスラリー (1mL) を加えた。ヒドラジン1水和物 (18mmol) を数回に分けてゆっくり加えた。溶液の色の黄色から無色への変化は反応が完了したことを示していた。混合物をさらに1時間撹拌した。固体をろ去し、溶媒を蒸発させた。得られた粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1により溶出して精製し、表題化合物を淡橙色粉末で得た (2.09g、2段階で90%)。

【0156】

調製8: 2-アミノベンゾチアゾール-7-カルボン酸の合成

エタノール (40mL) 中の3-イソチオシアナト安息香酸 (1.0g、5.6mmol) を、アンモニアガスを溶液に通気しながら室温で1時間撹拌した。得られた白色沈殿をろ過により単離した。ろ液を減量して追加の白色固体の沈殿を誘導し、これもろ過により単離した。3-チオウレイド安息香酸の合計収量は1.06g (97%) であった。

【0157】

クロロホルム (25mL) 中の3-チオウレイド安息香酸 (1.06g、5.41mmol) の懸濁液に、臭素 (0.4mL、8.0mmol) の溶液を室温で滴下した。得られた混合物を3時間加熱還流し、室温で60時間撹拌した。溶媒を蒸発させ、水を加え、得られた固体をろ過により単離した

10

20

30

40

50



。粗生成物を水洗し、乾燥して、表題化合物を灰色固体で得た(1.03g、98%)。

【0158】

調製9：2-シアノメチルベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミドの合成

1. 酢酸(400mL)中の4-アミノ-N-メチルベンゼンスルホンアミド(43g、250mmol)の懸濁液に、チオシアン酸アンモニウム(49g、650mmol)を数回に分けて加えた。混合物を室温で30分間攪拌した後、酢酸(160mL)中の臭素(13mL、250mmol)の溶液を滴下した。次いで、反応混合物を室温で64時間攪拌した。得られた固体をろ過により単離し、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液および水で洗浄し、乾燥して、生成物(60g)を得た。ろ液を蒸発乾固させ、残渣を飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液に懸濁し、追加の生成物を酢酸エチル中に抽出した。有機抽出物を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、追加の生成物(6.2g)を得、合計66gの2-アミノベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミドを得た。

10

【0159】

2. 水(400mL)中の2-アミノベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド(66g、287mmol)およびNaOH(90g、2.3mol)の溶液をアルゴン雰囲気下で終夜還流した。反応溶液を氷浴中で冷却し、濃HCl(約180mL)を加えてほぼpH3まで酸性化した。得られた沈殿をろ過により単離し、乾燥して、4-アミノ-3-メルカプトベンゼンスルホンアミドを白色粉末で得た(74g)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 205 (M+1, 100%)。

【0160】

3. 濃HCl(1.3mL)を含むエタノール(650mL)中の4-アミノ-3-メルカプトベンゼンスルホンアミド(74g、208mmol)およびマロニトリル(25g、375mmol)の懸濁液をアルゴン雰囲気下で終夜還流した。暗褐色固体をろ過により単離し、エタノールおよびエーテルで洗浄して、粗生成物(約30g)を得た。ろ液を蒸発により減量し、沈殿した固体をろ過により単離して、追加の生成物(12g)を得た。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィーでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:アンモニア(60:20:1mL)により溶出して精製し、表題化合物を橙色粉末で得た(合計22.2g、3段階で35%)。

20

【0161】

調製10：(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール-2-イル)アセトニトリルの合成

表題化合物を、6-フルオロ-5-メトキシアニリン(1.41g、10mmol)およびチオシアン酸アンモニウム(1.83g、24mmol)から出発し、調製9に記載のものと同様の方法を用いて、2段階で調製した。表題化合物を収量240mg(3段階で10%)で単離した。

30

【0162】

調製11：(6-メトキシベンゾチアゾール-2-イル)アセトニトリルの合成

表題化合物を、6-メトキシベンゾチアゾール-2-イルアミン(10g、55mmol)から出発して、調製9に記載のものと同様の方法を用いて、2段階で調製した。表題化合物を収量8.5g(2段階で75%)で単離した。

【0163】

調製12：2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリルの合成

無水ジメチルスルホキシド(40mL)中の2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)アセトニトリル(1.48g、6.65mmol)、二硫化炭素(0.90mL、15mmol)、およびヨードメタン(1.7mL、27mmol)の攪拌した冷溶液に、水素化ナトリウム(鉱油中60%スラリー540mg、13.5mmol)を不活性雰囲気下で分割して加えた。暗赤色反応混合物を5で30分間と、次いで室温で2時間攪拌した後、飽和塩化アンモニウム水溶液(20mL)で反応停止し、蒸留水で希釈した。得られた橙色沈殿物をろ過により単離し、水洗し、イソプロパノールに懸濁し、再度ろ過した。次いで、沈殿を減圧下で乾燥し、表題化合物を黄色固体で得た(1.61g、74%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 328 (M+1, 100%)。

40

【0164】

調製13：2-(6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリルの合成

表題化合物を、2-(6-メトキシベンゾチアゾール)-アセトニトリル(1.50g、7.34mmol

50

）から、調製12に記載のものと同様の方法を用いて調製した。表題化合物を収量1.63g（72％）で単離した。MS ( $m/z$ , ES+): 309 (M+1, 60%), 465 (副生成物, 100%)。

【0165】

調製14：2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリルの合成

表題化合物を、ベンゾチアゾル-2-イルアセトニトリル（1.74g、10mmol）から、調製12に記載のものと同様の方法を用いて調製した。表題化合物を収量1.25g（45％）で単離した。MS ( $m/z$ , ES+): 279 (M+1, 100%)。  $m/z$

【0166】

調製15：ベンゾキサゾル-2-イルアセトニトリルの合成

10

Sakamoto, M.; Nozaka, A.; Shimamoto, M.; Ozaki, H.; Suzuki, Y.; Yoshioka, S.; Nagano, M.; Okamura, K.; Date, T.; Tamura, O. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I (1995), 1759およびその中の引用文献）中のこの方法により調製された化合物。

【0167】

無水エタノール（115mL）および氷酢酸（8mL）に溶解した2-アミノフェノール（5.0g、45.8mmol）の溶液に、マロニトリル（9.08g、140mmol）を100 で加えた。得られた均質溶液を24時間還流し、溶媒を減圧下で除去して、赤褐色油状物を得た。油状物を $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ （100mL）で希釈し、次いでいかなる残留固体もろ去した。母液を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で2回と、水で2回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、生成物を黄色油状物で得た（5.2g、71％）。この物質をそれ以上精製せずに次の反応で用いた。

20

【0168】

調製16：2-ベンゾキサゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリルの合成（Augustin, M.; Doelling, W.; J. Prakt. Chem. (1982) 1, 3）

室温、アルゴン雰囲気下でDMSO（35mL）に溶解したベンゾキサゾル-2-イルアセトニトリル（2.07g、13.1mmol）の溶液に、二硫化炭素（1.10g、14.4mmol）と、続いてヨードメタン（5.20g、36.7mmol）を加えた。次いで、この溶液を10 に冷却し、水素化ナトリウム（1.05g、油中60重量％、26.3mmol）を数分かけて加えた。溶液を室温に戻し、終夜撹拌した。次いで、反応を塩化アンモニウム溶液で停止し、酢酸エチル（5×50mL）で抽出した。酢酸エチルを食塩溶液（3×50mL）および水（3×30mL）で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、赤色油状物を得た。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィで $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ：MeOH = 98：2により溶出して精製し、所望の生成物を黄色油状物で得た（1.96g、57％）。MS ( $m/z$ , ES+): 236.68 (M+1, 100%)。

30

【0169】

以下の実施例は本発明において開示する化合物の調製を例示する。

【0170】

実施例2

4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

ポリリン酸（3g）中の2-アミノベンゼンチオール（100mg、0.8mmol）および3-アミノピラゾール-4-カルボニトリル（86mg、0.8mmol）の混合物を200 で3時間加熱した。次いで、混合物を氷水に注ぎ、濃水酸化アンモニウム溶液で中和した。得られた黄色固体をろ過により単離し、冷水で洗浄して、表題化合物を得た（70mg、40％）。

40

MS ( $m/z$ ,

ES+): 217 (M+1, 100%);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, ppm, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.97 (d,  $^3J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.84 (d,  $^3J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.42 (m, 1H), 7.29 (m, 1H), 6.3 (br s, 2H)

【0171】

以下の化合物を実施例2に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0172】

4-(1H-ベンゾイミダゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン：表題化合物（0.031g）

50

を、1,2-フェニルジアミン (0.30g、2.8mmol) および3-アミノピラゾール-4-カルボニトリル (0.30g、2.8mmol) から出発して調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 200 ( $M+1$ , 100%)。収率 = 6%。

【0173】

4-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン: 表題化合物 (0.047g) を、1,2-フェニルジアミン (0.46g、4.22mmol) および3,5-ジアミノピラゾール-4-カルボニトリル (0.52g、4.22mmol) から出発して調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 215 ( $M+1$ , 100%)。収率 = 5%。

【0174】

2-(1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール: 表題化合物 (0.055g) を、無水エタノール (5mL) および氷酢酸 (1mL) 中の2-アミノフェノール (0.11g、0.090mmol) および4-ピラゾールカルボン酸 (0.10g、0.90mmol) から出発し、24時間還流して調製した。

MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 202 ( $M+1$ , 100%); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz,

ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 13.45 (br s, 1H), 8.32 (br s, 2H), 8.00 (dd, 2H), 7.43 (dt, 2H)

収率 = 34%。

【0175】

### 実施例3

#### 4-(6-プロモベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾール-3-イルアミンの合成

1. 酢酸 (15mL) 中の4-プロモアニリン (1.72g、10mmol) およびチオシアン酸アンモニウム (3.05g、40mmol) の混合物を、均質な溶液が得られるまで約15分間撹拌した。次いで、得られた混合物に酢酸 (7mL) 中の臭素 (1.6g、10mmol) の溶液を20分かけて加えた。反応混合物を室温で終夜撹拌した。得られた沈殿をろ過により単離し、高減圧下で乾燥して粗生成物を得、これをそれ以上精製せずに次の反応で用いた。

【0176】

2. 上で調製した6-プロモベンゾチアゾール-2-イルアミン (2.29g、10mmol) の水酸化ナトリウム (6M溶液40mL、240mmol) 中の懸濁液を、アルゴン雰囲気下で終夜還流した。反応混合物を氷浴中で冷却し、濃HClでpH3から5の間まで酸性化した。得られた沈殿をろ過により単離し、水洗し、高減圧下で乾燥して粗生成物を得、これをそれ以上精製せずに次の反応で用いた。

【0177】

3. エタノール (20mL) 中の2-アミノ-5-プロモベンゼンチオール (1.29g、6.3mmol) およびマロノニトリル (0.66g、10mmol) の混合物を終夜加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、得られた沈殿をろ過により単離して粗生成物を得、これをそれ以上精製せずに次の反応で用いた。

【0178】

4. 無水酢酸 (12mL) 中の(6-プロモベンゾチアゾール-2-イル)アセトニトリル (4.9mmol) およびオルト酢酸トリメチル (0.71g、5.88mmol) の混合物を100℃で5時間加熱した。次いで、反応混合物を室温まで冷却した。得られた沈殿をろ過により単離して粗生成物を得、これをそれ以上精製せずに次の反応で用いた。

【0179】

5. メタノール (30mL) 中の2-(6-プロモベンゾチアゾール-2-イル)-3-メトキシブタ-2-エニトリル (0.96g、3.1mmol) およびヒドラジン水和物 (0.3mL、5.4mmol) の溶液を、終夜加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで冷却した。得られた固体をろ過により単離し、フラッシュクロマトグラフィで精製して、表題化合物を得た。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 308.9 ( $Br^{79}M+1$ , 100%), 310.9 ( $Br^{81}M+1$ , 100%)。収率 = 5%。

【0180】

以下の化合物を実施例3に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0181】

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド:

10

20

30

40

50

表題化合物 (23mg) を、4-アミノベンゼンスルホンアミド (3.4g、20mmol) から出発し、5段階で調製した。

MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 310 (M+1, 100%). <sup>1</sup>H NMR (300

MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 11.78 (br s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.86 (d, 1H), 6.68 (br s, 2H), 7.37 (s, 2H), 2.41 (s, 3H)

【 0 1 8 2 】

4-(6-メタンスルホニルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (46mg) を、2-アミノ-6-メタンスルホニルベンゾチアゾール (1.0g、4.4mmol) から出発し、4段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 309 (M+1, 100%)。 10

【 0 1 8 3 】

4-(6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (32mg) を、(6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)アセトニトリル (140mg、0.68mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 261 (M+1, 100%)。

【 0 1 8 4 】

4-(6-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (55mg) を、2-アミノ-6-フルオロベンゾチアゾール (1.0g、5.95mmol) から出発し、4段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 248 (M+1, 100%)。

【 0 1 8 5 】

5-メチル-4-チアゾロ[5,4-*b*]ピリジン-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (162mg) を、チアゾロ[5,4-*b*]ピリジン-2-イルアミン (1.5g、10mmol) から出発し、4段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 232 (M+1, 100%)。 20

【 0 1 8 6 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (42mg) を、ベンゾチアゾル-2-イルアセトニトリル (174mg、1.0mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 231 (M+1, 100%)。

【 0 1 8 7 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン (474-98E) : 表題化合物 (32mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)アセトニトリル (0.24g、0.86mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 279.1 (M+1, 100%)。 30

【 0 1 8 8 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸アミド (574-3B) : 表題化合物 (64mg) を、4-アミノベンズアミド (1.4g、10mmol) から出発し、5段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 274.0 (M+1, 100%)。

【 0 1 8 9 】

N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]アセトアミド (574-8E) : 表題化合物 (160mg) を、N-(4-アミノフェニル)アセトアミド (1.5g、10mmol) から出発し、5段階で調製した。 40

MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 245.1 (M-42, 100%); MS

(*m/z*, ES<sup>-</sup>): 243.2 (M-44, 100%); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.9-11.6 (br s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.24 (d, 1H), 6.50 (br s, 1H), 5.78 (br s, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.38 (br s, 3H); IR (KBr): 3518, 3207, 1607 (vs), 1544, 1506, 1023, 963, 821 cm<sup>-1</sup>

【 0 1 9 0 】

4-(6-クロロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (598-38) 50

：表題化合物（396mg）を、6-クロロ-2-アミノベンゾチアゾール（1.0g、5.4mmol）から出発し、4段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら濃HCl（4滴）を加えてピラゾール環を形成した。MS ( $m/z$ , ES+): 265.0 ( $Cl^{35} M+1$ , 100%), 267.0 ( $Cl^{37} M+1$ , 50%)。

【0191】

4-(4-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン（598-45）：表題化合物（325mg）を、4-フルオロベンゾチアゾル-2-イルアミン（1.22g、7.3mmol）から出発し、4段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら濃HCl（4滴）を加えてピラゾール環を形成した。固体をろ去し、得られた溶液を蒸発させて表題化合物を得た。MS ( $m/z$ , ES+): 249.0 ( $M+1$ , 100%)。

10

【0192】

4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン（598-66）：表題化合物（621mg）を、2-アミノ-4-トリフルオロメチルベンゼンチオール塩酸塩（1.0g、4.4mmol）から出発し、3段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら濃HCl（4滴）を加えてピラゾール環を形成した。MS ( $m/z$ , ES+): 299.0 ( $M+1$ , 100%)。

【0193】

4-(7-クロロ-4-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン（598-58）：表題化合物（176mg）を、7-クロロ-4-メトキシベンゾチアゾル-2-イルアミン（2.1g、9.8mmol）から出発し、4段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら触媒量のp-トルエンスルホン酸を加えてピラゾール環を形成した。MS ( $m/z$ , ES+): 295.0 ( $Cl^{35} M+1$ , 100%), 297.0 ( $Cl^{37} M+1$ , 50%)。

20

【0194】

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸（574-26E1）：表題化合物（1.58g）を、4-アミノ安息香酸エチルエステル（16.5g、100mmol）から出発し、5段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら濃HCl（4滴）を加えてピラゾール環を形成した。MS ( $m/z$ , ES+): 275 ( $M+1$ , 100%)。

【0195】

4-(6-ブロモ-5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン（574-28E）：表題化合物（765mg）を、4-ブロモ-3-フルオロアニリン（5.0g、26.3mmol）から出発し、5段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら触媒量のp-トルエンスルホン酸を加えてピラゾール環を形成した。MS ( $m/z$ , ES+): 327.0 ( $Br^{79} M+1$ , 100%), 329.0 ( $Br^{81} M+1$ , 100%)。

30

【0196】

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,6-ジメチル-ピリミジン-4-イル)-アミド（474-92B）：表題化合物（93mg）を、スルフィソミジンから出発し、例外として段階2でKOHを硫化ナトリウム（5.0g）に置き換えて、5段階で調製した。MS ( $m/z$ , ES+): 416.0 ( $M+1$ , 100%)。

【0197】

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド（503-55B）：表題化合物（168mg）を、4-アミノ-N-メチルベンゼンスルホンアミド（2.0g、11mmol）から出発し、5段階で調製した。

40

MS ( $m/z$ ,

ES+): 324.0 ( $M+1$ , 100%).  $^1H$  NMR (400 MHz, ppm, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.80-12.15 (br, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.99-5.87 (br m, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.74 (dd, 1H), 6.72 (br s, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.42 (s, 3H)

【0198】

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン

50

酸メチルアミド (574-37E) : 表題化合物 (3mg) を、4-アミノ-2-フルオロ-N-メチルベンゼンスルホンアミド (1.9g、10mmol) から出発し、5段階で調製した。MS (m/z, ES+): 342.2 (M+1, 100%)。

【 0 1 9 9 】

4-(5-フルオロ-6-メチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (610-89) : 表題化合物 (24mg) を、3-フルオロ-4-メチルアニリンから出発し、5段階で調製した。MS (m/z, ES+): 263.04 (M+1, 100%)。

【 0 2 0 0 】

5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン (598-75) : 表題化合物 (520mg) を、2,3,4-トリフルオロアニリン (3.0g、20mmol) から出発し、5段階で調製した。最終段階で、溶液を還流しながら濃HCl (4滴) を加えてピラゾール環を形成した。MS (m/z, ES+): 285.0 (M+1, 100%)。

10

【 0 2 0 1 】

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-7-カルボン酸メチルエステル (598-85) : 表題化合物 (33mg) を、2-アミノベンゾチアゾール-7-カルボン酸 (1.1g、5.6mmol) から出発し、2段階で調製した。過剰のオルト酢酸トリメチル (8.0mmol) を用いて、酸基をメチルエステルに変換した。最終段階で、溶液を還流しながら触媒量のp-トルエンスルホン酸を加えてピラゾール環を形成した。MS (m/z, ES+): 289.2 (M+1, 100%)。

【 0 2 0 2 】

20

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル (574-45F) : 表題化合物 (50mg) を、4-アミノ-2-フルオロ安息香酸 (860mg、5.5mmol) から出発し、5段階で調製した。段階4で、過剰のオルト酢酸トリメチルを用いて、酸基をメチルエステルに変換した。最終段階で、溶液を還流しながら濃HCl (4滴) を加えてピラゾール環を形成した。MS (m/z, ES+): 307.0 (M+1, 100%)。

【 0 2 0 3 】

4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (29mg) を、2-アミノ-4-トリフルオロメチルベンゼンチオール塩酸塩 (1.1g、5.0mmol) から出発し、3段階で調製した。オルト酢酸トリメチルの代わりにオルトカルボン酸トリエチル (1.2当量) を用いた。MS (m/z, ES+): 285 (M+1, 100%)。

30

【 0 2 0 4 】

4-(6-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン (474-67B) : 表題化合物 (37mg) を、2-アミノ-6-フルオロベンゾチアゾールから出発し、4段階で調製した。オルト酢酸トリメチルの代わりにオルトカルボン酸トリエチル (1.2当量) を用いた。MS (m/z, ES+): 235.0 (M+1, 100%)。

【 0 2 0 5 】

2-(3-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド (574-42B) : 表題化合物 (58mg) を、4-アミノ-2-フルオロ-N-メチルベンゼンスルホンアミドから出発し、5段階で調製した。オルト酢酸トリメチルの代わりにオルトカルボン酸トリエチル (1.2当量) を用いた。

40

MS (m/z, ES+): 314.0 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.16 (br s, 1H), 8.46 (d, 7.1 Hz, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.8-8.0 (m, 1H), 7.63 (s, 2H), 6.7-5.5 (2H)

【 0 2 0 6 】

4-(5-フルオロ-6-メチルベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (610-93) : 表題化合物 (54mg) を、3-フルオロ-4-メチルアニリンから出発し、5段階で調製した。オルト酢酸トリメチルの代わりにオルトカルボン酸トリエチル (1.2当量) を用いた。MS (m/z, ES+): 249.05 (M+1, 100%)。

50

## 【 0 2 0 7 】

2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド (599-77B2) : 表題化合物 (107mg) を、4-アミノ-N-メチルベンゼンスルホンアミドから出発し、5段階で調製した。オルト酢酸トリメチルの代わりにN,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール (1.2当量) を用いた。

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 310.0 (M+1,

100%); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.1 (br s, 1H), 8.43 (d, 1H), 8.0 (br s, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.78 (dd, 1H), 7.38 (q, 1H), 6.5 (br s, 1H), 5.9 (br s, 1H), 2.44 (d, 3H)

10

## 【 0 2 0 8 】

4-ベンゾチアゾール-2-イル-5-エチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン : 表題化合物 (75mg) を、ベンゾチアゾール-2-イルアセトニトリル (174mg、1.0mmol) およびオルトプロピオン酸トリエチル (211mg、1.2mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 245 (M+1, 100%)。

## 【 0 2 0 9 】

## 実施例4

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-スルホン酸メチルアミド (574-12E) の合成

20

1. THF (10mL) 中の4-クロロ-3-ニトロベンゼンスルホニルクロリド (2.0g、7.8mmol) の溶液に、過剰のメチルアミン (THF中2M溶液) を加えた。反応溶液を室温で1時間撹拌した。次いで、水を加え、生成物をクロロホルム中に抽出した。合わせた抽出物を洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、粗4-クロロ-N-メチル-3-ニトロベンゼンスルホンアミドを油状物で得た (2.3g)。粗生成物をそれ以上精製せずに次の段階で用いた。

## 【 0 2 1 0 】

2. 硫化ナトリウム9水和物 (2.0g、8.5mmol) を熱エタノール (9mL) に溶解し、次いで硫黄 (0.27g、8.5mmol) を加えることにより、二硫化ナトリウムのエタノール溶液を調製した。これを室温まで冷却し、上で調製した粗4-クロロ-N-メチル-3-ニトロベンゼンスルホンアミド (2.3g) のエタノール (15mL) 溶液に滴下した。滴下完了後、得られた沈殿をろ過により単離し、エタノールで洗浄して、4,4'-ジチオビス(N-メチル-3-ニトロベンゼンスルホンアミド)を黄色粉末で得た (1.5g、2段階で79%)。MS (m/z, ES<sup>-</sup>): 492.9 (M-1, 100%)。

30

## 【 0 2 1 1 】

3. エタノール (70mL) 中の4,4'-ジチオビス(N-メチル-3-ニトロベンゼンスルホンアミド) (1.5g、3.1mmol) の溶液に、塩酸 (2N溶液10mL) 中の塩化スズ2水和物 (5.5g) の溶液を加えた。反応混合物を終夜加熱還流し、次いでマロニトリル (660mg、10mmol) を加えた。得られた混合物をさらに5時間還流し、次いで室温まで冷却し、水で希釈した。固体をろ過により単離し、フラッシュクロマトグラフィで精製して、2-シアノメチルベンゾチアゾール-5-スルホン酸メチルアミドを得た (120mg、8%)。

40

## 【 0 2 1 2 】

4. 無水酢酸 (2mL) 中の2-シアノメチルベンゾチアゾール-5-スルホン酸メチルアミド (120mg、0.45mmol) およびオルト酢酸トリメチル (270mg、2.2mmol) の混合物を、100で5時間加熱した。反応混合物を室温まで冷却した。得られた沈殿をろ過により単離し、2-(1-シアノ-2-メトキシプロペニル)ベンゾチアゾール-5-スルホン酸メチルアミドを得た (120mg、83%)。生成物をそれ以上精製せずに次の段階で用いた。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 324 (M+1, 100%)。

## 【 0 2 1 3 】

5. メタノール (4mL) 中の2-(1-シアノ-2-メトキシプロペニル)ベンゾチアゾール-5-

50

スルホン酸メチルアミド (120mg、0.37mmol) の懸濁液に、ヒドラジン水和物 (20  $\mu$ L) を加えた。混合物を5時間加熱還流し、次いで反応混合物に濃塩酸 (1滴) を加えた。混合物をさらに5分間還流し、次いで冷却した。溶媒量を減圧下で減量し、固体が生じた。固体をろ過により単離し、メタノールと、次いで水で洗浄し、乾燥して、表題化合物をクリーム色の粉末で得た (51mg、43%)。MS ( $m/z$ , ES+): 324.0 ( $M+1$ , 100%)。

#### 【0214】

以下の化合物を実施例4に記載の方法と同様の様式で調製した。

#### 【0215】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-5-カルボン酸エチルエステル (574-19) : 表題化合物 (0.50g) を、4-クロロ-3-ニトロ安息香酸エチルエステル (5.0g、22mmol) から出発し、4段階で調製した。MS ( $m/z$ , ES+): 303 ( $M+1$ , 100%)。

#### 【0216】

##### 実施例5

##### 4-(5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

1. 濃硫酸 (3mL) および水 (3mL) 中の4-フルオロ-2-ニトロアニリン (1.6g、10mmol) の溶液を5 に冷却し、これに水 (3mL) 中の亜硝酸ナトリウム (760mg、11mmol) を加えた。40分間攪拌後、水 (2mL) 中のチオシアン酸カリウム (1.0g、10mmol) の溶液を加えた。次いで、水 (6mL) 中のチオシアン酸銅 (1.8g、15mmol) の懸濁液を5 で激しく攪拌しながら、これに前述の溶液を注いだ。得られた混合物を2時間攪拌し、冷蔵庫内に終夜放置した。得られた固体をろ過により単離し、熱ジクロロメタンで洗浄した。ジクロロメタン抽出物を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、黄色固体を得 (1.90g、96%)、これをそれ以上精製せずに次の反応で用いた。IR (KBrディスク): 2158 ( $m$ )  $\text{cm}^{-1}$ 。

#### 【0217】

2. エタノール (10mL) 中の上で調製した粗生成物 (1.90g) の懸濁液に、水 (30mL) 中の硫化ナトリウム溶液を加えた。得られた濃赤色混合物を1時間加熱還流した。混合物を冷却し、約pH5まで酸性化し、ジクロロメタンで抽出した。有機抽出物を合わせ、水洗し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、粗4-フルオロ-2-ニトロベンゼンチオール (2.1g) を得、これをそれ以上精製せずに次の段階で用いた。MS ( $m/z$ , ES+): 174.0 ( $M+1$ , 100%)。

#### 【0218】

3. 上で調製した粗4-フルオロ-2-ニトロベンゼンチオール (2.1g) のエタノール中の溶液に、 $\text{SnCl}_2$  2水和物 (6.7g、約3当量) を加えた。混合物を終夜加熱還流した。この混合物にマロノニトリル (400mg) を加えた。さらに5時間還流後、反応混合物を冷却してろ過した。溶媒量を蒸発により減量し、水を加えて、沈殿の生成を誘導した。粗生成物 (940mg) をろ過により単離し、次いでフラッシュクロマトグラフィでヘキサン : EtOAc = 1 : 1 により溶出して精製し、5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)アセトニトリルを淡緑色固体で得た (360mg、3段階で19%)。MS ( $m/z$ , ES+): 193 ( $M+1$ , 100%)。

#### 【0219】

4. 無水酢酸 (2mL) 中の5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)アセトニトリル (360mg、1.9mmol) およびオルト酢酸トリメチル (270mg、2.3mmol) の混合物を、100 で5時間加熱した。反応混合物を冷却し、得られた沈殿をろ過により単離し、エーテルで洗浄し、乾燥して、2-(5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-3-メトキシブタ-2-エンニトリルを赤色固体で得た (330mg、71%)。MS ( $m/z$ , ES+): 249 ( $M+1$ , 100%)。

#### 【0220】

5. メタノール (40mL) 中の2-(5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-3-メトキシブタ-2-エンニトリル (330mg、1.3mmol) およびヒドラジン水和物 (70  $\mu$ L) の懸濁液を終夜加熱還流した。次いで溶液を室温まで冷却し、得られた固体をろ過により単離した。粗生成物をエタノールから再結晶し、表題化合物を得た (260mg、78%、5段階で10%)。MS ( $m/z$ , ES+): 249.0 ( $M+1$ , 100%)。



## 【 0 2 2 1 】

以下の化合物を実施例5に記載の方法と同様の様式で調製した。

## 【 0 2 2 2 】

4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (574-7E) : 表題化合物 (16mg) を、4-メトキシ-2-ニトロアニリン (1.6g、7.6mmol) から出発し、5段階で調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 261.0 (M+1, 100%)。

## 【 0 2 2 3 】

## 実施例6

## 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

エタノール (2mL) 中の2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (50mg、0.18mmol) の懸濁液に、ヒドラジン水和物 (15  $\mu$ L) を加えた。混合物を2時間加熱還流した。次いで、反応混合物を冷却し、水を加えた。得られた沈殿をろ過により単離し、表題化合物を黄色固体で得た (21mg、44%)。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 263 (M+1, 100%)。

## 【 0 2 2 4 】

## 実施例7

## 4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミンの合成

エタノール (5mL) 中の2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.5mmol) の懸濁液に、アンモニア溶液 (エタノール中2N溶液6mL、12mmol) を加えた。反応混合物を密封反応容器内、70℃で5時間加熱した。室温まで冷却後、ヒドラジン水和物 (60  $\mu$ L、1.7mmol) を加え、反応混合物を2日間加熱還流した。次いで、溶媒を蒸発させ、粗生成物をフラッシュクロマトグラフィで、CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 9 : 1により溶出して精製し、表題化合物を淡桃色粉末で得た (0.027g、23%)。

MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 232 (M+1, 100%). <sup>1</sup>H NMR (ppm, 300 MHz, DMSO-

$d_6$ ):  $\delta$ 10.85 (br s, 1H), 7.98 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H), 7.78 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 7.39 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 7.23 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 5.55 (br s, 4H)

## 【 0 2 2 5 】

## 実施例8

## 4-ベンゾキサゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミンの合成

表題化合物 (0.020g) を、2-ベンゾキサゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (1.90g、7.3mmol) から出発し、実施例7に記載の方法に下記の変更を加えて調製した。エタノール中の飽和アンモニア溶液 (300mL) を用い、反応混合物を1時間還流した後、溶媒を蒸発させ、得られた粗生成物を精製した。次いで、この中間体をヒドラジン水和物で処理して、生成物を得た。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 216.72 (M+1, 100%)。収率 = 1%。

## 【 0 2 2 6 】

## 実施例9

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ベンジル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミンの合成

エタノール (50mL) 中の2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (200mg、0.73mmol) およびベンジルアミン (160mg、1.5mmol) の溶液を90分間加熱還流した。次いで、ヒドラジン水和物 (35  $\mu$ L、1.0mmol) を反応混合物に加えた。溶液を、TLC分析で調べて反応が完了するまで加熱還流した。反応溶液を室温まで冷却し、表題化合物 (124mg) をろ過により単離し、エタノールで洗浄し、高減圧下で乾燥した。

MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 322 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ μ11.32 (br s, 1/3H), 10.89 (s, br., 2/3H), 7.98 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, 1H), 7.82 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 1H), 7.41-7.28 (m, 6H), 7.22 (m, 1H), 6.15 (br s, 9/10H), 4.95 (br s, 1/10H), 4.48 (d, <sup>3</sup>*J* = 4.7 Hz, 1H)

収率 = 53%。

【 0 2 2 7 】

以下の化合物を実施例9に記載の方法と同様の様式で調製した。

10

【 0 2 2 8 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン：表題化合物 (53mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.50mmol) およびピロリジン (53mg、0.75mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 286 (M+1, 100%)。収率 = 37%。

【 0 2 2 9 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-エチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (48mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (139mg、0.50mmol) およびエチルアミンの70重量%水溶液 (0.059mL、0.75mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 260 (M+1, 100%)。収率 = 37%。

20

【 0 2 3 0 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-モルホリン-4-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン：表題化合物 (46mg) を、(139mg、0.50mmol) から出発し、2段階で調製した。

【 0 2 3 1 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-メチルピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン：表題化合物 (7mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (139mg、0.50mmol) および1-メチルピペラジン (75mg、0.75mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 315 (M+1, 100%)。収率 = 4%。

【 0 2 3 2 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(3,5-ジクロロフェニル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン：表題化合物 (30mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および3,5-ジクロロフェニルアミン (117mg、0.72mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 376 (Cl<sup>35</sup>Cl<sup>35</sup>M+1, 100%), 378 (Cl<sup>37</sup>Cl<sup>35</sup>M+1, 70%)。収率 = 22%。

30

【 0 2 3 3 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(3-トリフルオロメタンスルホニル-フェニル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン：表題化合物 (9mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol)、3-トリフルオロメタン-スルホニルフェニルアミン (81mg、0.72mmol)、およびトリエチルアミン (0.04mL) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 440 (M+1, 100%)。収率 = 6%。

40

【 0 2 3 4 】

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-N-チアゾル-2-イル-ベンゼンスルホンアミド：表題化合物 (20mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および4-アミノ-N-チアゾル-2-イルベンゼンスルホンアミド (93mg、0.36mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 470 (M+1, 100%)。収率 = 12%。

【 0 2 3 5 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-キノリン-6-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン：表題化合物 (91mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および6-アミノキノリン (103mg、0.72mmol) から出発し、2段階

50

で調製した。MS (m/z, ES+): 359 (M+1, 100%)。収率 = 70%。

【 0 2 3 6 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-キノリン-5-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン：表題化合物 (33mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および5-アミノキノリン (103mg、0.72mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 359 (M+1, 100%)。収率 = 25%。

【 0 2 3 7 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-3-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン：表題化合物 (69mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および3-アミノピリジン (68mg、0.72mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 309 (M+1, 100%)。収率 = 62%。

10

【 0 2 3 8 】

トランス-2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)シクロペンタノール：表題化合物 (69mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (139mg、0.50mmol) およびトランス-2-アミノ-シクロペンタノール (75mg、0.75mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 316 (M+1, 100%)。収率 = 44%。

【 0 2 3 9 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン：表題化合物 (32mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (83mg、0.30mmol) および4-(アミノメチル)ピリジン (64mg、0.60mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 323 (M+1, 100%)。収率 = 33%。

20

【 0 2 4 0 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-ピリジン-3-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (474-42B)：表題化合物 (33mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (83mg、0.30mmol) および3-(アミノメチル)ピリジン (64mg、0.60mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 323.1 (M+1, 100%)。収率 = 34%。

【 0 2 4 1 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(2-モルホリン-4-イルエチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (474-42C)：表題化合物 (40mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (83mg、0.30mmol) および2-モルホリン-4-イルエチルアミン (78mg、0.60mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 345.2 (M+1, 100%)。収率 = 43%。

30

【 0 2 4 2 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-イミダゾル-1-イルプロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-13-2)：表題化合物 (69mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (280mg、1.0mmol) およびヒスタミン (260mg、2.1mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 340.1 (M+1, 65%), 272 (M-67, 100%)。収率 = 43%。

40

【 0 2 4 3 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノプロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-14)：表題化合物 (130mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.50mmol) およびN,N-ジメチルアミノプロピルアミン (82mg、0.80mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 317.1 (M+1, 100%)。収率 = 80%。

【 0 2 4 4 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-ピロリジン-1-イルエチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-18)：表題化合物 (126mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.50mmol) および1-(2-アミノエチル)ピロリジン

50

(62mg、0.55mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 329.1 (M+1, 100%), 258.1 (M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N, 40%)。収率 = 88%。

【0245】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-メトキシエチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-27) : 表題化合物 (10mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および2-メトキシエチルアミン (30mg、0.40mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 290.1 (M+1, 100%)。収率 = 10%。

【0246】

3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)プロパン-1-オール (590-28) : 表題化合物 (83mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および3-プロパノールアミン (30mg、0.40mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 290.1 (M+1, 100%)。収率 = 80%。

【0247】

4-[(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)メチル]ベンゼンスルホンアミド (590-29) : 表題化合物 (35mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.37mmol)、4-(アミノメチル)ベンゼンスルホンアミド塩酸塩水和物 (93mg、0.42mmol)、およびトリエチルアミン (100mg、1.0mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 401.1 (M+1, 100%)。収率 = 24%。

【0248】

N-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エチル]アセトアミド (590-33) : 表題化合物 (93mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.50mmol) およびN-アセチルエチレンジアミン (93mg、0.55mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 317.1 (M+1, 99%), 299.1 (M-17, 100%)。収率 = 59%。

【0249】

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)ブタン-1-オール (590-44) : 表題化合物 (54mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および4-アミノ-1-ブタノール (40mg、0.45mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 304.1 (M+1, 100%)。収率 = 50%。

【0250】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (590-58) : 表題化合物 (50mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (75mg、0.30mmol) およびピペラジン (28mg、0.36mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 301.1 (M+1, 100%)。収率 = 55%。

【0251】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-ピペリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (610-38E) : 表題化合物 (14mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) および4-アミノメチルピペリジン (47mg、0.41mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 329.2 (M+1, 25%), 244.1 (M-84, 45%), 232.1 (M-96, 100%)。収率 = 12%。

【0252】

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)酪酸 (523-29-B) : 表題化合物 (50mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (530mg、2.0mmol)、4-アミノ酪酸 (250mg、2.3mmol)、およびトリエチルアミン (0.6mL) から出発し、2段階で調製した。

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 318.1 (M+1, 100%),

300.1 (M-H<sub>2</sub>O, 95%); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.5 (br s, 2H), 7.8 (d, 1H), 7.7 (d, 1H), 7.4 (d, 1H), 7.2 (d, 1H), 6.0 (br s, 1H), 5.5 (br s, 2H), 3.2 (m, 2H), 2.3 (t, 2H), 1.8 (m, 2H)

収率 = 8%。

【 0 2 5 3 】

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>3</sup>-[2-(1H-イミダゾール-4-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (523-31C) : 表題化合物 (310mg) を、2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (530mg、2.0mmol)、ヒスタミン (500mg、4.5mmol)、およびトリエチルアミン (0.6mL) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 326.09 (M+1, 100%)。収率 = 48%。

10

【 0 2 5 4 】

2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)-エタノール (523-34A) : 表題化合物 (140mg) を、2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (530mg、2.0mmol)、モノエタノールアミン (500mg、8.0mmol)、およびトリエチルアミン (0.5mL) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 276.02 (100%, M+1)。収率 = 25%。

【 0 2 5 5 】

4-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)-エチル]-フェノール (523-36) : 表題化合物 (210mg) を、2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (530mg、2.0mmol)、4-(2-アミノエチル)-フェノール (0.60g、4.4mmol)、およびトリエチルアミン (0.6mL) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 352.05 (M+1, 100%)。収率 = 30%。

20

【 0 2 5 6 】

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>3</sup>-(3-メチルブチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (523-27A) : 表題化合物 (150mg) を、2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (530mg、2.0mmol)、N,N-ジメチルアミノエチレンジアミン (220mg、3.0mmol)、およびトリエチルアミン (0.6mL) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 303.2 (M+1, 100%)。収率 = 25%。

30

【 0 2 5 7 】

4-ベンゾチアゾール-2-イル-N<sup>3</sup>-[2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-37) : 表題化合物 (45mg) を、2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.36mmol) およびトリブタミン (62mg、0.39mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 375.1 (M+1, 100%)。収率 = 49%。

【 0 2 5 8 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール-2-イル)-N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾール-4-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (597-33A) : 表題化合物 (35mg) を、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (80mg、0.25mmol) およびヒスタミン (30mg、0.27mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 374.1 (M+1, 100%)。収率 = 35%。

40

【 0 2 5 9 】

N-{2-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-1H-ピラゾール-3-イルアミノ]-エチル}アセトアミド (597-35) : 表題化合物 (200mg) を、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (350mg、1.1mmol) およびN-アセチルエチレンジアミン (140 μL、1.3mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 365.1 (M+1, 100%)。収率 = 51%。

【 0 2 6 0 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-5-ピペリジン-1-イル-2H-ピラゾール-3-イ

50

ルアミン (597-36) : 表題化合物 (20mg) を、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (120mg、0.37mmol) およびピペリジン (40mg、0.46mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 349.1 (M+1, 100%)。収率 = 16%。

【0261】

N<sup>3</sup>-(2-ジメチルアミノエチル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (597-40A) : 表題化合物 (35mg) を、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.31mmol) およびN,N-ジメチルエチレンジアミン (40 μL、0.36mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 351.1 (M+1, 100%)。収率 = 33%。

10

【0262】

N<sup>3</sup>-(3-ジメチルアミノプロピル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (597-40B) : 表題化合物 (40mg) を、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.31mmol) および3-(ジメチルアミノ)プロピルアミン (46 μL、0.37mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 365.1 (M+1, 100%)。収率 = 35%。

【0263】

3-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3-イルアミノ]-プロパノール (597-45) : 表題化合物 (72mg) を、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.31mmol) および3-アミノプロパノール (30 μL、0.39mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 338.3 (M+1, 100%)。収率 = 70%。

20

【0264】

N<sup>3</sup>-[2-(3H-イミダゾール-4-イル)-エチル]-4-(6-メトキシベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (597-42) : 表題化合物 (72mg) を、2-(6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.32mmol) およびヒスタミン (36mg、0.32mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 356.1 (M+1, 100%)。収率 = 28%。

【0265】

4-(6-メトキシベンゾチアゾール)-5-ピペリジン-1-イル-2H-ピラゾール-3-イルアミン (597-43) : 表題化合物 (39mg) を、2-(6-メトキシベンゾチアゾール)-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (100mg、0.32mmol) およびピペリジン (28mg、0.33mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 331.1 (M+1, 100%)。収率 = 36%。

30

【0266】

実施例10

N<sup>3</sup>-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-24) の合成

1. エタノール (5mL) 中の2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.50mmol) および4'-アセチルアミノアニリン (90mg、0.60mmol) の混合物を3時間還流した。反応混合物を冷却すると黄色固体が生じた。得られた沈殿をろ過により単離し、エタノールで洗浄して、N-[4-(2-ベンゾチアゾール-2-イル-2-シアノ-1-メチルスルファニルビニルアミノ)フェニル]アセトアミドを得た (150mg、78%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 381.1 (M+1, 100%)。

40

【0267】

2. 上の反応からの生成物 (150mg、0.39mmol) およびエタノール (5mL) 中のヒドラジン水和物 (50mg、1.0mmol) を終夜加熱還流した。溶媒のほぼ半量を蒸発させると、固体が生じた。固体をろ過により単離し、エタノールで洗浄して、N-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)フェニル]アセトアミドを得た (33mg、23%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 365.1 (M+1, 100%)。母液を濃縮して、追加の粗生成物 (110mg) を赤色固体で得た。

50

## 【0268】

3. 上で単離した粗生成物 (110mg、0.3mmol) をエタノール (10mL) および濃HCl (5mL) の混合物中で1時間還流した。冷却すると黄色固体が生じた。固体をろ過により単離し、エタノールで洗浄した。得られた塩酸塩 (51mg) を水 (10mL) に溶解し、希NaOH溶液を加えて中性pHに調節した。生成物を酢酸エチル中に抽出し、合わせた抽出物を食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、表題化合物をクリーム色の固体で得た (26mg、27%)。MS (m/z, ES+): 323.1 (M+1, 100%)。

## 【0269】

以下の化合物を実施例10に記載の方法と同様の様式で調製した。

## 【0270】

N<sup>3</sup>-(2-アミノエチル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-46) : 表題化合物 (43mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニル-アクリロニトリル (140mg、0.50mmol) およびN-アセチルエチレンジアミン (65mg、0.55mmol) から出発し、3段階で調製した。MS (m/z, ES+): 275.1 (M+1, 100%)。収率 = 54%。

## 【0271】

## 実施例11

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>3</sup>-(2-エチルアミノエチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (590-73)

1. エタノール (10mL) 中の2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビス-メチルスルファニルアクリロニトリル (200mg、0.74mmol) およびN-アセチルエチレンジアミン (83mg、0.81mmol) の混合物を90分間還流した。この溶液に、ヒドラジン水和物 (61mg、1.2mmol) を加え、得られた混合物を終夜還流した。冷却すると固体が生じた。得られた結晶をろ過し、エタノールで洗浄して、N-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)エチル]アセトアミドを得た (150mg、66%)。MS (ES+): 317.1 (M+1, 100%)。

## 【0272】

2. N-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)エチル]アセトアミド (80mg、0.25mmol) および水素化アルミニウムリチウム (92mg) を無水THF (10mL) 中で3時間還流した。得られた混合物を飽和塩化アンモニウム溶液 (50mL) 中に注いだ。水相を酢酸エチル (3×50mL) で抽出した。合わせた抽出物を食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、粗生成物を得た (54mg)。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィで、0.5%NH<sub>3</sub>を含むCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 5:1により溶出して精製した。表題化合物を収量36mg (48%) で単離した。MS (m/z, ES+): 303.1 (M+1, 100%)。

## 【0273】

## 実施例12

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロキシエチル)-アミド (474-86D) の合成

1. 出発原料4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (500mg、2.2mmol) を、氷浴中で冷却しておいたニートのクロロスルホン酸 (2.5mL) にゆっくり加えた。溶液を150℃で5時間加熱した。次いで、反応混合物を氷上に注ぎ、得られた固体をろ過により単離した。固体を乾燥して、粗生成物を、2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-6-スルホン酸および2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-4-スルホニルクロリドの3:1混合物で得た (770mg)。粗生成物をそれ以上精製せずに次の段階で用いた。

## 【0274】

2. 2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリドの調製からの粗生成物 (130mg、0.39mmol) をクロロホルムに懸濁した。次いで、トリエチルアミン (0.1mL) および2-アミノエタノール (26mg、0.43mmol) を加えた。反応混合物を室温で終夜攪拌した。溶媒を蒸発させ、生成物を調製用TLCを用い、EtOAc:ヘキサン:MeOH = 6/4/0.3により溶出して精製し、生成物をクリーム色の粉末で得た (22mg、1

10

20

30

40

50

6% )。

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 354 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.25-11.75 (br s, 1H, exchangeable), 8.47 (s, 1H), 7.99 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.59 (br s, 1H, SO<sub>2</sub>NH, exchangeable), 7-5.5 (br s, 2H, exchangeable), 4.66 (t, J = 5.6 Hz, 1H, OH, exchangeable), 3.34 (m, J = 6.2 Hz, 2H), 2.80 (br s, 2H), 2.41 (s, 3H)

【 0 2 7 5 】

10

以下の化合物を実施例12に記載の方法と同様の様式で調製した。

【 0 2 7 6 】

5-メチル-4-[6-(4-メチルピペラジン-1-スルホニル)-ベンゾチアゾール-2-イル]-2H-ピラゾール-3-イルアミン (474-86F) : 表題化合物 (30mg) を、粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (128mg、0.39mmol)、4-メチルピペラジン (39mg、0.43mmol)、およびトリエチルアミン (0.1mL) から調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 393.1 (M+1, 100%)。収率 = 20%。

【 0 2 7 7 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-メトキシエチル)-アミド (551-8) : 表題化合物 (33mg) を、メタノール (4mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (75mg、0.23mmol)、2-メトキシエチルアミン (39mg、0.43mmol)、およびポリスチレン樹脂結合塩基N-3-(モルホリノ)プロピルポリスチレンスルホンアミド (PS-NMM) (0.24g、0.45mmol) から調製した。

20

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 368.5 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.8-12.1 (br s, 1H), 8.5 (s, 1H), 7.99 (br d, 1H), 7.83 (d, 1H), 7.73 (t, 1H), 5.9-6.7 (br s, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.94 (dt, 2H), 2.41 (br s, 3H)

収率 = 46%。

30

【 0 2 7 8 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-フルオロ-ベンジルアミド (551-9) : 表題化合物 (8mg) を、クロロホルム (4mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (75mg、0.23mmol)、4-フルオロベンジルアミン (29 μL、0.25mmol)、およびPS-NMM (0.22g、0.45mmol) から調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 418.3 (M+1, 100%)。収率 = 9%。

【 0 2 7 9 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-チオフエン-2-イルエチル)-アミド (551-10) : 表題化合物 (8mg) を、クロロホルム (4mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (75mg、0.23mmol)、2-チオフエン-2-イルエチルアミン (29 μL、0.25mmol)、およびPS-NMM (0.22g、0.45mmol) から調製した。

40

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 420.4 (M+1, 100); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.8-12.2 (br s, 1H), 8.5 (s, 1H), 8.0 (d, 1H), 7.8 (m, 2H), 7.32 (d, 1H), 6.93 (dd, 1H), 6.86 (d, 1H), 6.0 (br s, 2H), 3.03 (q, 2H), 2.92 (t, 2H), 2.43 (br s, 3H)

収率 = 8%。

【 0 2 8 0 】

50



2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-クロロベンジルアミド (551-11B) : 表題化合物 (21mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、4-クロロベンジルアミン (74  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 434.4 ( $\text{Cl}^{35}$  M+1, 100%), 436.4 ( $\text{Cl}^{37}$  M+1, 40%)。収率 = 16%。

【 0 2 8 1 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-メトキシベンジルアミド (551-12B) : 表題化合物 (15mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、4-メトキシベンジルアミン (79  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 430.5 (M+1, 100%)。収率 = 11%。

【 0 2 8 2 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸ベンジルアミド (551-13B) : 表題化合物 (16mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、ベンジルアミン (66  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 400.5 (M+1, 100%)。収率 = 13%。

【 0 2 8 3 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸フェネチルアミド (551-14B) : 表題化合物 (9mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、フェネチルアミン (76  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 414.5 (M+1, 100%)。収率 = 7%。

【 0 2 8 4 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸[2-(4-アミノフェニル)-エチル]-アミド (551-15B) : 表題化合物 (25mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、フェネチルアミン (80  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 429.5 (M+1, 100%)。収率 = 19%。

【 0 2 8 5 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-モルホリン-4-イルエチル)-アミド (551-16) : 表題化合物 (56mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、2-モルホリン-4-イルエチルアミン (80  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 423.5 (M+1, 100%)。収率 = 43%。

【 0 2 8 6 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,2,2-トリフルオロエチル)-アミド (551-17B) : 表題化合物 (11mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、2,2,2-トリフルオロエチルアミン (48  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 392.4 (M+1, 100%)。収率 = 9%。

【 0 2 8 7 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸シクロプロピルメチルアミド (551-18B) : 表題化合物 (27mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、C-シクロプロピルメチルアミン (53  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 364.5 (M+1, 100%)。収率 = 21%。

## 【 0 2 8 8 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸[2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-アミド (551-19B) : 表題化合物 (8mg) を、メタノール (5 mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エチルアミン (68mg、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 404.3 (M+1, 100%)。収率 = 6%。

## 【 0 2 8 9 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸4-アミノベンジルアミド (551-20) : 表題化合物 (15mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、4-アミノメチルフェニルアミン (69  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 415.4 (M+1, 100%)。収率 = 12%。

## 【 0 2 9 0 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(ピリジン-4-イルメチル)-アミド (551-21) : 表題化合物 (13mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、C-ピリジン-4-イルメチルアミン (62  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 401.3 (M+1, 100%)。収率 = 11%

。

## 【 0 2 9 1 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(3-ジメチルアミノ-プロピル)-アミド (551-22C) : 表題化合物 (2mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-ジメチルプロパン-1,3-ジアミン (77  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 395.3 (M+1, 100%)。収率 = 2%。

## 【 0 2 9 2 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(酢酸ヒドラジド)アミド (551-23A) : 表題化合物 (13mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、酢酸ヒドラジド (45mg、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 367.3 (M+1, 100%)。収率 = 12%。

## 【 0 2 9 3 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ジメチルアミノ-エチル)-アミド (551-24D) : 表題化合物 (11mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-ジメチルエタン-1,2-ジアミン (67  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 381.4 (M+1, 50%)。収率 = 9%。

## 【 0 2 9 4 】

N-{2-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルアミノ]-エチル}-アセトアミド (551-25B) : 表題化合物 (52mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100mg、0.30mmol)、N-(2-アミノエチル)-アセトアミド (58  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES+): 395.6 (M+1, 100%)。収率 = 43%。

## 【 0 2 9 5 】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(フェニルヒドラジノ)アミド (551-26B) : 表題化合物 (32mg) を、メタノール (5mL) 中の粗2-(

5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド (100 mg、0.30mmol)、フェニルヒドラジン (66  $\mu$ L、0.60mmol)、およびPS-NMM (0.320g、0.60mmol) から調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 401.4 (M+1, 100%)。収率 = 26%。

#### 【0296】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド (574-14) : 表題化合物 (30mg) を、4-(5-フルオロベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (90mg) のクロロスルホン化から誘導された粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸、およびエタノールに溶解した過剰のアンモニア溶液から、2段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 328.0 (M+1, 100%)。収率 = 25%。

#### 【0297】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド (574-22A) および2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-4-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド (574-22AA) : 表題化合物を、クロロホルム中の、4-(5-フルオロベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (50mg) のクロロスルホン化から誘導された粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド、エタノールアミン (183mg、0.30mmol)、およびトリエチルアミン (0.50mL) から、2段階で調製した。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィで、CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 9 : 1により溶出して精製し、2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミドを得た (12mg、21%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 372.0 (M+1, 100%)。2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-4-スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミドを収量1mg (2%) で単離した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 372.0 (M+1, 100%)。

#### 【0298】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸(ピリジン-4-イルメチル)-アミド (574-22B) : 表題化合物 (15mg) を、クロロホルム中の、4-(5-フルオロベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (90mg) のクロロスルホン化から誘導された粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリド、C-ピリジン-4-イルメチルアミン (32mg、0.30mmol)、およびトリエチルアミン (0.50mL) から調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 419.1 (M+1, 100%), 210.0 (100%)。収率 = 24%。

#### 【0299】

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド (598-49) : 表題化合物 (280mg) を、4-(4-フルオロベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (320mg) のクロロスルホン化から誘導された粗2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-7-スルホニルクロリド、およびエタノールに溶解した過剰のアンモニア溶液から調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 328.0 (M+1, 100%)。収率 = 72%。

#### 【0300】

#### 実施例13

#### 4-ベンゾチアゾール-2-イル-5-フェニル-1H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

無水THF (40mL) 中の2-ベンゾチアゾール-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (278mg、1mmol) の溶液に、無水THF (10mL) 中のプロモベンゼン (152mg、1mmol) およびマグネシウム (25mg、1mmol) から調製した臭化フェニルマグネシウム (1mmol) を加えた。混合物を室温で60分間と、次いで50℃で60分間攪拌した。得られた混合物を飽和塩化アンモニウム溶液中に注いだ。水相を酢酸エチルで抽出した。抽出物を洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィで、ヘキサン : EtOAc = 1 : 0 ~ 4 : 1により溶出して精製し、所望の化合物を得た (50mg、16%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 309 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 0 1 】

上で調製した中間体 (50mg、0.16mmol) およびヒドラジン水和物 (20mg、0.4mmol) の混合物をエタノール中で6時間還流した。溶媒を蒸発させ、得られた残渣をフラッシュクロマトグラフィで $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : MeOH = 1 : 0 ~ 9 : 1により溶出して精製し、黄色固体を得た。固体をジエチルエーテル中で攪拌し、不溶性物質をろ去した。エーテル相を濃縮して表題化合物を黄色固体で得た (25mg、53%)。MS (m/z, ES+): 293 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 0 2 】

## 実施例14

## 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-シクロプロピル-1H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-シクロプロピル-1H-ピラゾル-3-イルアミン (23mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (556mg、2.0mmol) から出発し、実施例13に記載の方法を用いて調製した。無水THF (8mL) 中の臭化シクロプロピル (484mg、4mmol) およびマグネシウム (100mg、4mmol) から調製した臭化シクロプロピルマグネシウムを、TLCで調べて出発原料が消費されてしまうまで加えた。表題化合物を収率5%で単離した。MS (m/z, ES+): 257 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 0 3 】

## 実施例15

## 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-3-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

1. THF中の3-ピリジニルリチウムの黄色懸濁液を、文献 (Cama, L. D.; Wildonger, K. J.; Guthikonda, R.; Ratcliffe, R. W.; Christensen, B. G. Tetrahedron (1983), 39, 2531) に従い、N-BuLi (シクロヘキサン中2M溶液0.25mL、0.5mmol) を無水エーテル (3mL) 中の3-プロモピリジン (87mg、0.5mmol) の溶液に-78℃で加えた。このスラリーに無水THF (5mL) 中の2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニルアクリロニトリル (140mg、0.5mmol) の溶液をアルゴン雰囲気下で速やかに加えた。得られた混合物を-78℃で1時間攪拌し、次いで室温までゆっくり加温し、その温度で2時間攪拌した。反応完了後、混合物を飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液中に注いだ。水相を酢酸エチルで抽出した。有機相を食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。次いで、粗生成物をフラッシュクロマトグラフィで $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : MeOH = 1 : 0 ~ 19 : 1により溶出して精製し、所望の生成物を褐色油状物で得た (100mg、65%)。MS (m/z, ES+): 310 (M+1, 25%), 263 (M-46, 100%)。

## 【 0 3 0 4 】

2. 上の中間体 (100mg、0.32mmol) およびヒドラジン水和物 (25mg、0.5mmol) の混合物をEtOH (10mL) 中、70℃で4時間加熱した。混合物を飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液中に注いだ。水相を酢酸エチルで抽出した。得られた褐色油状物を調製用TLCで $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : MeOH = 1 : 10により溶出して2回精製し、表題化合物をクリーム色の固体で得た (21mg、22%)。MS (m/z, ES+): 294 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 0 5 】

以下の化合物を実施例15に記載の方法と同様の様式で調製した。

## 【 0 3 0 6 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (549-68B) : 表題化合物 (90mg) を、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3,3-ビスメチルスルファニル-アクリロニトリル (560mg、2.0mmol) および4-プロモピリジン塩酸塩 (390mg、2.0mmol) から出発し、2段階で調製した。MS (m/z, ES+): 294.08 (M+1, 100%)。収率 = 15%。

## 【 0 3 0 7 】

## 実施例16

## 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ニトロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

1. 無水ジクロロメタン (50mL) 中のベンゾタゾール-2-アセトニトリル (1.74g、10mmol) の溶液に、無水ジクロロメタン (20mL) 中のトリエチルアミン (1.95g、11mmol) および塩化4-ニトロベンゾイル (1.88g、10mmol) を室温に加えた。得られた混合物を室温で3時間攪拌した。得られた懸濁液にメタノール (0.5mL) および氷酢酸 (0.5mL) を加え

た。得られた黄色固体をろ過により単離し、乾燥して、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-ヒドロキシ-3-(4-ニトロフェニル)-アクリロニトリルを得た(1.93g、60%)。MS (m/z, ES+): 324.0 (M+1, 100%)。

【0308】

2. 上で調製した2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-ヒドロキシ-3-(4-ニトロフェニル)-アクリロニトリル(500mg、1.55mmol)をPOCl<sub>3</sub>(12mL)に懸濁した。懸濁液を100℃で4時間加熱し、次いで氷水(25mL)中に注いだ。水相のpHを中性に調節した。固体をろ過により単離し、乾燥して、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-クロロ-3-(4-ニトロフェニル)-アクリロニトリルを得た(505mg、95%)。MS (m/z, ES+): 341.92 (Cl<sup>35</sup>M+1, 100%), 343.92 (Cl<sup>37</sup>M+1, 45%)

10

【0309】

3. 上で調製した2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-クロロ-3-(4-ニトロフェニル)-アクリロニトリル(500mg、1.46mmol)およびヒドラジン水和物(150mg、3mmol)をエタノール(15mL)中で6時間還流した。溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=9:1により溶出して精製し、表題化合物を黄色固体で得た(182mg、37%)。MS (m/z, ES+): 338.04 (M+1, 100%)。

【0310】

以下の化合物を実施例16に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0311】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン(597-34): 表題化合物(260mg)を、(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル(700mg、3.15mmol)、塩化イソニコチニル塩酸塩(1.10g、6.20mmol)、トリエチルアミン(1.7mL、12.2mmol)、および触媒量のDMAPから出発し、3段階で調製した。MS (m/z, ES+): 342.1 (M+1, 100%)。収率=20%。

20

【0312】

2-(5-アミノ-3-ピリジン-4-イル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド(590-62): 表題化合物(5mg)を、2-シアノメチルベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド(102mg、0.40mmol)、塩化イソニコチニル塩酸塩(70mg、0.40mmol)、およびトリエチルアミン(228mL、1.6mmol)から出発し、3段階で調製した。MS (m/z, ES+): 373.0 (M+1, 100%)。収率=3%。

30

【0313】

実施例17

5-(4-アミノフェニル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン(549-82)の合成

エタノール(20mL)中の4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ニトロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン(115mg、0.34mmol)の懸濁液に、ラネーNiの水溶液(1mL)を加えた。激しく攪拌中のこの溶液に、ヒドラジン水和物を3回に分けて滴下し(3×50mg、合計3mmol)、次いで得られた混合物を2時間攪拌した。固体をろ去し、母液を蒸発させて、粗生成物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=9:1により溶出して精製し、表題化合物をクリーム色の固体で得た(26mg、25%)。MS (m/z, ES+): 308.1 (M+1, 100%)。

40

【0314】

実施例18

N-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェニル]-ヒドロキシルアミン(590-6)の合成

DMF(4mL)および95%エタノール(4mL)中の4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ニトロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン(218mg、0.65mmol)の溶液に、室温で急速に攪拌しながら、塩化アンモニウム水溶液(水2mL中0.15g)中の亜鉛末(200mg)の懸濁液を加えた。次いで、得られた混合物を2時間攪拌した。残留亜鉛をろ去し、母液を水(100mL)中に注いだ。黄色固体をろ去した。水相を酢酸エチル(2×75mL)で抽出した。合わせた抽

50

出物を水、食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。得られた粗生成物を調製用TLCで10:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=10:1により溶出して精製し、表題化合物をクリーム色の固体で得た(7mg、4%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 324.1 (M+1, 100%)。

【0315】

#### 実施例19

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン(549-92)の合成

1. 無水ジクロロメタン(25mL)中のベンゾタゾール-2-アセトニトリル(700mg、4mmol)の溶液に、トリエチルアミン(1.2g、11.9mmol)および塩化2-フロイル(522mg、4mmol)を室温で滴下した。得られた混合物を室温で5時間撹拌した。次いで、ジクロロメタン(100mL)を加えた。有機相を1%HCl水溶液、水、食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。得られた粗生成物をメタノールで洗浄し、乾燥して、フラン-2-カルボン酸2-ベンゾチアゾル-2-イル-2-シアノ-1-フラン-2-イル-ビニルエステルを黄色固体で得た(590mg、55%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 363.01 (M+1, 100%)。

10

【0316】

2. エタノール(20mL)中のフラン-2-カルボン酸2-ベンゾチアゾル-2-イル-2-シアノ-1-フラン-2-イル-ビニルエステル(660mg、1.82mmol)およびKOH(108mg、1.93mmol)の混合物を、まず室温で終夜と、次いで50℃で2時間撹拌した。得られた懸濁液を水(200mL)中に注ぎ、溶液を5%HCl溶液を用いてpH7に調節した。固体をろ過により単離し、水洗し、風乾して、粗2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-フラン-2-イル-3-ヒドロキシアクリロニトリルを得(474mg、97%)、これをそれ以上精製せずに次の段階で用いた。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 268.98 (M+1, 100%)。

20

【0317】

3. 2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-フラン-2-イル-3-ヒドロキシアクリロニトリル(474mg、1.77mmol)をPOCl<sub>3</sub>(5mL)に懸濁した。懸濁液をまず50℃で1時間撹拌し、次いで固体が完全に溶解するまで30分間還流した。得られた褐色溶液を砕氷(200mL)上に注いだ。得られた固体をろ過により単離し、洗浄水のpHが中性になるまで洗浄し、風乾して、2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-クロロ-3-フラン-2-イルアクリロニトリルを得た(477mg、94%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 287.0 (Cl<sup>35</sup>M+1, 100%), 289.0 (Cl<sup>37</sup>M+1, 45%)。

【0318】

4. 上で調製した2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-クロロ-3-フラン-2-イルアクリロニトリル(480mg、1.7mmol)およびヒドラジン水和物(100mg、2mmol)をメタノール(15mL)中で3時間還流した。次いで溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィでC H<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=9:1により溶出して精製し、生成物を得た(130mg)。これを調製用TLCでC H<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=9:1により溶出してさらに精製し、表題化合物を得た(23mg、5%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 283.0 (M+1, 100%)。

30

【0319】

以下の化合物を実施例19に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0320】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン(590-42): 表題化合物(30mg)を、ベンゾタゾール-2-アセトニトリル(870mg、5mmol)および塩化2-チオフェンカルボニル(1.6g、11mmol)から出発し、4段階で調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 299.0 (M+1, 100%)。収率=19%。

40

【0321】

#### 実施例20

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン(549-60)の合成

1. 無水ジクロロメタン中の(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル(150mg、0.675mmol)、塩化2-フロイル(135μL、1.37mmol)、およびトリエチルアミン(235μL、1.69mmol)の溶液を室温で約3時間撹拌し、暗褐色溶液を得た。粗生成物、フラン-2-カルボン酸2-シアノ-2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)

50

-1-フラン-2-イル-ビニルエステルを、質量分析により同定した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 410.97 (M+1, 80%), 520.98 (100%)。

【 0 3 2 2 】

2. 上の反応混合物に、触媒量のDMAP (約10mg) を加えた。混合物を室温で2時間撹拌した。TLC分析により反応完了が示された後、少量の濃HCl (約1mL) を加えて、エノールを沈殿させた。次いで、生成物をろ過により単離し、10% メタノール/ジクロロメタンで洗浄して、2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-3-フラン-2-イル-3-ヒドロキシアクリロニトリルをオフホワイトの固体で得た (175mg、73%)。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 317 (M+1, 100%)。

【 0 3 2 3 】

3. 無水ジクロロメタン (3mL) および四塩化炭素 (2mL) 中の2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-3-フラン-2-イル-3-ヒドロキシアクリロニトリル (70mg、0.199mmol) の懸濁液に、トリフェニルホスフィン (175mg、0.667mmol) を加えた。反応混合物を還流点で3時間と、次いで室温で終夜撹拌し、3-クロロ-2-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-3-フラン-2-イルアクリロニトリルを含む暗褐色溶液を得た。次いで、ヒドラジン1水和物 (30  $\mu$ L、0.62mmol) およびメタノール (1mL) を加え、溶液を2時間還流した。この時点で、濃HCl (0.7mL) を加え、溶液をさらに1時間還流した。次いで、混合物を室温まで冷却し、水酸化アンモニウムで中和した。溶媒を蒸発させ、粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 9 : 1により溶出して精製し、表題化合物を褐色固体で得た (15mg、21%)。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 331.1 (M+1, 100%)。

【 0 3 2 4 】

実施例21

5-シクロプロピル-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-65) の合成

無水ジクロロメタン (4mL) 中の(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)アセトニトリル (100mg、0.45mmol) を含む10mL反応容器に、塩化シクロプロパンカルボニル (21  $\mu$ L、0.231mmol)、1.35当量のトリエチルアミン (85  $\mu$ L)、および触媒量のDMAP (10mg) を加えた。反応混合物を室温で約3時間撹拌した。この時点で、溶媒を蒸発させ、CCl<sub>4</sub> (4mL)、2.5当量のポリスチレン樹脂結合トリフェニルホスフィン (725mg、1.55mmol/g)、およびトリエチルアミン (85  $\mu$ L) を加えた。65 で最短でも3時間撹拌した後、反応混合物を濃縮した。次いで、エタノール (4mL) およびヒドラジン1水和物 (40  $\mu$ L、1.8当量) を加え、混合物を約6時間還流した。次いで、濃HCl (数滴) を加えてピラゾール環を確実に環化させた。反応完了後、固体をろ去し、樹脂を10% メタノール/ジクロロメタンで3回洗浄した。次いで、ろ液を濃縮し、フラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 50 : 1により溶出して精製し、表題化合物をクリーム色の固体で得た (40mg、29%)。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 305.1 (M+1, 100%)。

【 0 3 2 5 】

以下の化合物を実施例21に記載の方法と同様の様式で調製した。

【 0 3 2 6 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-フェニル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-67A) : 表題化合物 (48mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (100mg、0.45mmol) および塩化ベンゾイル (58  $\mu$ L、0.50mmol) から出発して調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 341.1 (M+1, 100%)。収率 = 31%。

【 0 3 2 7 】

5-(2-クロロピリジン-3-イル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-67C) : 表題化合物 (26mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (100mg、0.45mmol) および塩化2-クロロニコチノイル (87mg、0.50mmol) から出発して調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 376.1 (Cl<sup>35</sup>M+1, 100%), 378.1 (Cl<sup>37</sup>M+1, 40%)。収率 = 15%。

【 0 3 2 8 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-フルオロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-67D) : 表題化合物 (26mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (100mg、0.45mmol) および塩化4-フルオロベンゾイル (59  $\mu$ L、0.50mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 359.1 (M+1, 100%)。収率 = 28%。

【 0 3 2 9 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-フルオロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-67E) : 表題化合物 (37mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (100mg、0.45mmol) および塩化3-フルオロベンゾイル (59  $\mu$ L、0.50mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 359.1 (M+1, 100%)。収率 = 22%。

10

【 0 3 3 0 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-メトキシフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-69A) : 表題化合物 (32mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (80mg、0.36mmol) および塩化4-メトキシベンゾイル (68mg、0.4mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 371.1 (M+1, 100%)。収率 = 24%。

【 0 3 3 1 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-イソキサゾール-5-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-69F) : 表題化合物 (5mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (80mg、0.36mmol) および塩化5-イソキサゾールカルボニル (38  $\mu$ L、0.4mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 332.0 (M+1, 100%), 318.0 (エノール, 30%)。収率 = 11%。

20

【 0 3 3 2 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-ニトロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-69B) : 表題化合物 (24mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (80mg、0.36mmol) および塩化3-ニトロベンゾイル (74mg、0.4mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 386.1 (M+1, 100%)。収率 = 17%。

【 0 3 3 3 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-フルオロフェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-69D) : 表題化合物 (26mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (80mg、0.36mmol) および塩化4-フルオロベンゾイル (47  $\mu$ L、0.4mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 359.0 (M+1, 100%)。収率 = 20%。

30

【 0 3 3 4 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-69E) : 表題化合物 (32mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (80mg、0.36mmol) および塩化2-チオフェンカルボニル (42  $\mu$ L、0.4mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 347.0 (M+1, 100%)。収率 = 25%。

40

【 0 3 3 5 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(5-ミトロフラン-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-69G) : 表題化合物 (12mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (80mg、0.36mmol) および塩化5-ニトロ-2-フロイル (70mg、0.4mmol) から出発して調製した。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 376.0 (M+1, 100%)。収率 = 9%。

【 0 3 3 6 】

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フェニルシクロプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (597-71B) : 表題化合物 (5mg) を、(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-アセトニトリル (100mg、0.45mmol) および塩化トランス-2-フェ

50



ニルシクロプロピルカルボニル (75  $\mu$ L, 0.48mmol) から出発して調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 381.1 (M+1, 100%)。収率 = 4%。

【 0 3 3 7 】

#### 実施例22

3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オール

1. 無水ジクロロメタン (50mL) 中のベンゾチアゾル-2-アセトニトリル (870mg, 5mmol) の溶液に、まずトリエチルアミン (1.11g, 11mmol) を加え、次いで塩化4-プロモブチリル (1.85g, 10mmol) を室温で滴下した。得られた混合物を室温で4時間攪拌した。トリエチルアミン (0.22g) および塩化4-プロモブチリル (0.48g) を追加し、さらに2時間攪拌を続けた。反応溶液をジクロロメタン (100mL) で希釈した。有機相を0.1% NaOH、水、食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。得られた粗生成物をメタノールで洗浄し、乾燥して、ベンゾチアゾル-2-イル-(ジヒドロフラン-2-イリデン)-アセトニトリルを得た (97mg, 6%)。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 343 (M+1, 100%)。

【 0 3 3 8 】

2. 上で調製したベンゾチアゾル-2-イル-(ジヒドロフラン-2-イリデン)-アセトニトリル (90mg, 0.37mmol) およびヒドラジン水和物 (25mg, 0.5mmol) をエタノール (15mL) 中で10時間還流した。溶媒を蒸発させ、得られた残渣をジクロロメタンで粉砕した。固体をろ過により単離し、次いでジクロロメタンおよびメタノールで洗浄して、表題化合物をクリーム色の固体で得た (60mg, 67%)。

MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 275.1 (M+1, 100). <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm), 11.5-12.2 (br s, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.77 (t, 2H), 7.29 (t, 1H), 7.00-5.20 (br m, 2H), 4.55 (s, 1H), 3.52 (q, 2H), 2.83 (br s, 2H), 1.84 (q, 2H)

【 0 3 3 9 】

以下の化合物を実施例22に記載の方法と同様の様式で調製した。

【 0 3 4 0 】

4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ブタン-1-オール: 表題化合物 (47mg) を、ベンゾチアゾル-2-アセトニトリル (522mg, 3mmol) および塩化5-プロモペンタノイル (538mg, 3.6mmol) から出発して調製した。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 289.1 (M+1, 100%)。収率 = 48%。

【 0 3 4 1 】

#### 実施例23

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-メチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

1. 濃H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3mL) および臭化水素酸 (48% 6mL) の溶液に、3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オール (810mg, 3.0mmol) を加えた。得られた混合物を2時間還流した。混合物を室温まで冷却し、氷水中に注ぎ、5% NaOH溶液を用いてpH3~4に調節した。得られた粘稠固体をろ過により単離し、水洗し、風乾して、4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-プロモプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミンをクリーム色の固体で得た (815mg, 80%)。粗生成物をそれ以上精製せずに次の段階で用いた。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 337.1 (Br<sup>79</sup>M+1, 61%), 339.1 (Br<sup>81</sup>M+1, 59%), 257.2 (M-HBr, 100%)。

【 0 3 4 2 】

2. 4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-プロモプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (130mg, 0.39mmol) およびメチルアミン (THF中2M溶液5mL, 10mmol) の混合物を室温で60時間攪拌した。得られた固体をろ過により単離し、THFで洗浄し、次いで水洗した。生成物を風乾して、表題化合物をオフホワイトの固体で得た (38mg, 32%)。MS ( $m/z$ , ES<sup>+</sup>): 288.2 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 4 3 】

以下の化合物を実施例23に記載の方法と同様の様式で調製した。

## 【 0 3 4 4 】

5-(3-アミノプロピル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (590-86A) : 表題化合物 (12mg) を、3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オールから誘導された4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-ブロモプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (130mg、0.39mmol)、およびエタノール中のアンモニアガスの飽和溶液を用いて調製した。MS (m/z, ES+): 274.2 (M+1, 100%), 257.2 (M-NH<sub>2</sub>, 70%)。

## 【 0 3 4 5 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-ジメチルアミノプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (590-87A) : 表題化合物 (100mg) を、3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オールから誘導された4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-ブロモプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (200mg、0.59mmol)、およびTHF中のジメチルアミンの2M溶液 (5mL、10mmol) を用いて調製した。MS (m/z, ES+): 302.1 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 4 6 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-メチルアミノブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (590-94) : 表題化合物 (30mg) を、4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ブタン-1-オールから誘導された4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ブロモブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (185mg、0.39mmol)、およびTHF中のメチルアミンの2M溶液 (5mL、10mmol) を用いて調製した。MS (m/z, ES+): 302.4 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 4 7 】

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ジメチルアミノブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (590-95) : 表題化合物 (41mg) を、4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ブタン-1-オールから誘導された4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ブロモブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (185mg、0.39mmol)、およびTHF中のジメチルアミンの2M溶液 (5mL、10mmol) を用いて調製した。MS (m/z, ES+): 316.4 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 4 8 】

## 実施例24

4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (610-48) の合成

1. 室温、アルゴン雰囲気下の、無水ジクロロメタン (60mL) 中の、ベンゾチアゾール-2-アセトニトリル (700mg、4mmol)、トリエチルアミン (1.1g、10.9mmol)、および触媒量のDMAPの溶液に、塩化1-アセチルピペリジン-4-カルボニル塩酸塩 (1.1g、4.46mmol) を少量ずつ2時間かけて加えた。得られた混合物を室温で終夜攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈した。有機相を水、食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。得られた粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 20 : 1により溶出して精製し、3-(1-アセチルピペリジン-4-イル)-2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-ヒドロキシアクリロニトリルを淡褐色固体で得た (880mg、67%)。MS (m/z, ES+): 328.1 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 4 9 】

2. 室温、アルゴン雰囲気下の、無水ジクロロメタン (20mL) 中の、上で調製した3-(1-アセチルピペリジン-4-イル)-2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-ヒドロキシアクリロニトリル (415mg、1.27mmol) の溶液に、トリエチルアミン (193mg、1.9mmol) およびトシルクロリド (303mg、1.59mmol) を少量ずつ加えた。得られた混合物を室温で6時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈した。有機相を1% HCl、0.5% NaOH、水、食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。得られた粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 20 : 1により溶出して精製し、トルエン-4-スルホン酸1-(1-アセチルピペリジン-4-イル)-2-ベンゾチアゾル-2-イル-2-シアノビニルエステルを得た (140mg、23%)。MS (m/z, ES+): 482.1 (M+1, 100%)。

## 【 0 3 5 0 】

3. メタノール中の上で調製したトルエン-4-スルホン酸1-(1-アセチルピペリジン-4-イル)-2-ベンゾチアゾル-2-イル-2-シアノビニルエステル (140mg、0.29mmol) およびヒドラジン水和物 (25mg、0.5mmol) の混合物を終夜還流した。溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 20 : 1により溶出して精製し、1-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ピペリジン-1-イル]-エタノンを得た (54mg、55%)。MS (ES<sup>+</sup>): 342.1 (M+1, 100%)。

【0351】

4. 6N HCl (10mL) 中の上で調製した1-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ピペリジン-1-イル]-エタノン (54mg、0.158mmol) の溶液を6時間還流し、室温まで冷却して終夜放置した。得られた混合物を砕氷 (20mL) 上に注ぎ、溶液を10% NaOH溶液を用いて中性pHに調節した。得られた溶液にNaClを飽和させ、酢酸エチル (10 × 50mL) で抽出した。合わせた抽出物を食塩水で1回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。得られた粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィで1% アンモニアを含むCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 20 : 1により溶出して精製し、表題化合物を得た (15mg、32%)。MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 300.14 (M+1, 100%)。

【0352】

#### 実施例25

#### 2-(3-フェニル-1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール

THF中の2-メチルベンゾチアゾール (149mg、1mmol) の溶液に、n-BuLi (シクロヘキサン中2M溶液0.5mL、1mmol) を-70 で加えた。混合物をこの温度で1.5時間攪拌し、次いで安息香酸エチル (150mg、1mmol) を滴下した。さらに1.5時間攪拌した後、NH<sub>4</sub>Clの飽和溶液を滴下した。次いで、反応混合物を5 まで加温し、得られた沈殿をろ過により単離し、水洗した。得られた粗生成物をメタノールから再結晶して、所望の中間体を得た。

【0353】

トルエン (5mL) 中の上で調製した中間体 (147mg、0.58mmol) およびDMFジメチルアセタール (76mg、0.64mmol) の溶液を室温で終夜攪拌し、次いで2時間加熱還流した。混合物を減圧濃縮し、残渣を再結晶により精製して、所望の生成物を得た。

【0354】

上で調製した中間体 (86mg、0.28mmol) をメタノール (10mL) に溶解し、次いでヒドラジン水和物 (30mg、0.6mmol) で処理した。混合物を室温で16時間攪拌した。この時点で、溶媒を減圧除去し、残渣を再結晶により精製して、表題化合物を得た (71mg)。

MS (m/z, ES<sup>+</sup>): 278 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, ppm,

CDCl<sub>3</sub>): δ 13.57 (br s, 1H), 8.6 and 8.1 (br, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.72-7.66 (m, 2H), 7.55-7.40 (m, 4H), 7.35 (dd, 1H)

収率 = 27%。

【0355】

以下の化合物を実施例25に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0356】

2-[3-(4-メトキシフェニル)-1H-ピラゾル-4-イル]ベンゾチアゾール：表題化合物 (457 mg) を、2-メチルベンゾチアゾール (1.49g、10mmol) および4-メトキシ安息香酸メチル (1.66g、10mmol) から出発し、3段階で調製した。

10

20

30

40

MS (*m/z*,

ES<sup>+</sup>): 308 (M+1, 100%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.28 (s, 1H), 8.00 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H), 7.75 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 7.57 (d, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H), 7.44 (dd, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H), 7.33 (dd, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 7.00 (d, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H)

収率 = 18%。

【 0 3 5 7 】

2-[3-(2-メトキシフェニル)-1H-ピラゾル-4-イル]ベンゾチアゾール：表題化合物 (430 mg) を、2-メチルベンゾチアゾール (1.49g、10mmol) および2-メトキシ安息香酸メチル (1.66g、10mmol) から出発し、4段階で調製した。ヒドラジンとの反応後、付加生成物をメタノールに溶解し、触媒量のp-TSA (15mg) と共に2時間加熱還流して、表題化合物を得た。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 308 (M+1, 100%)。収率 = 14%。

【 0 3 5 8 】

2-(3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール (515-84)：表題化合物 (970mg) を、2-メチルベンゾチアゾールおよび酢酸エチルから出発し、3段階で調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 216.04 (M+1, 100%)。

【 0 3 5 9 】

実施例26

4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)フェノールの合成

2-[3-(4-メトキシフェニル)-1H-ピラゾル-4-イル]ベンゾチアゾール (100mg、0.33mmol) の懸濁液に、トリプロモボラン (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中1M溶液3.3mL、3.3mmol) をゆっくり加えた。混合物を終夜撹拌した。次いで、メタノールを加えて反応停止した。混合物を炭酸ナトリウム溶液で中和し、酢酸エチルで3回抽出した。有機抽出物を合わせ、食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、ろ過し、蒸発させた。粗生成物を酢酸エチルから再結晶して、表題化合物を黄色固体で得た (64mg、66%)。

MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 294 (M+1, 100%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz,

ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.5 (br s, 1H), 9.80 (br s, 1H), 8.22 (br s, 1H), 7.98 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H), 7.91 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H), 7.45 (dd, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H), 7.34 (dd, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H), 6.89 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H)

【 0 3 6 0 】

実施例27

2-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)フェノールの合成

2-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)フェノール (82mg) を、2-[3-(2-メトキシフェニル)-1H-ピラゾル-4-イル]ベンゾチアゾール (100mg、0.33mmol) から出発し、実施例26に記載の方法と同様に調製した。MS (*m/z*, ES<sup>+</sup>): 294 (M+1, 100%)。収率 = 85%。

【 0 3 6 1 】

実施例28

4-ベンゾチアゾル-2-イル-2-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミンの合成

トルエン (6mL) 中のベンゾチアゾル-2-イルアセトニトリル (522mg、3mmol) およびDMFジメチルアセタール (394mg、3.3mmol) の溶液を3時間加熱還流し、次いで室温で終夜撹拌した。混合物を濃縮し、残渣を2-プロパノールからの再結晶により精製して、生成物を淡黄色固体で得た (350mg、51%)。

【 0 3 6 2 】

EtOH (10mL) 中の上で調製した2-ベンゾチアゾル-2-イル-3-ジメチルアミノアクリロニ

10

20

30

40

50

トリル (96mg、0.42mmol) およびトリエチルアミン (0.3mL) の混合物を硫酸メチルヒド  
ラジン (180mg、1.25mmol) で処理し、混合物を2日間加熱還流した。溶液を減圧濃縮し、  
残渣をフラッシュクロマトグラフィ (ヘキサン : EtOAc = 1 : 1) で精製して、表題化合物  
を黄色粉末で得た (47mg、49%)。MS (m/z, ES+): 231 (M+1, 100%)。

【 0 3 6 3 】

#### 実施例29

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエス  
テル (574-26E2) の合成

HClガスを含む無水メタノール (500mL) 中の2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イ  
ル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸 (1.52g、5.5mmol) の溶液を、5時間加熱還流した。  
過剰のメタノールを蒸留により除去し、溶液を飽和炭酸ナトリウム溶液を加えて中和した。  
得られた固体をろ過により単離し、表題化合物を黄色固体で得た (500mg)。MS (m/z,  
ES+): 289.1 (M+1, 100%)。

【 0 3 6 4 】

#### 実施例30

2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4,5,6-トリフルオロベンゾチアゾール-7-ス  
ルホン酸アミド (598-79) の合成

5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン  
(474mg; 1.67mmol) をクロロスルホン酸 (4ml) 中、140 ~ 150 で72時間加熱した。室温  
まで冷却後、混合物を氷上に注ぎ、生成物を酢酸エチル中に抽出した。合わせた抽出物を  
水洗し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させた。残渣をエタノールに溶解し、エ  
タノール (15ml) 中のアンモニア溶液を加えた。反応混合物を、アンモニアガスを通気し  
ながら、室温で1時間攪拌した。次いで、溶媒を蒸発させて減量し、水を加えた。得られ  
たページュの沈殿をろ過し、減圧乾燥して、表題化合物 (490mg、81%) を得た。

MS (m/z, ES+): 313.0 (Cl<sup>35</sup>M+1, 100%), 315.0

(Cl<sup>37</sup>M+1, 50%); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.75 (br s, 1H), 7.80 (d, 1H,  
J<sub>HF</sub> = 11.4 Hz), 6.25 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.39 (s, 3H)

【 0 3 6 5 】

#### 実施例31

4-(7-クロロ-5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-  
イルアミン (598-80) の合成

4-(5-フルオロ-6-メトキシベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミ  
ン (596mg; 2.14mmol) を塩化スルフリル (4mL) と混合した。反応混合物を室温で数時間  
攪拌し、次いで水を加えて反応停止した。得られた沈殿をろ過により単離し、表題化合物  
を得た (417mg、62%)。MS (m/z, ES+): 364.2 (M+1, 100%)。

【 0 3 6 6 】

#### 実施例32

2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-オール (574-13) の合成

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5mL) 中の4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-  
イルアミン (60mg、0.23mmol) の懸濁液に、トリプロモボラン (ジクロロメタン中1M溶液  
2.3mL、2.3mmol) を4 でゆっくり加えた。反応温度を4 に維持し、溶液を終夜攪拌した  
。次いで、混合物を炭酸ナトリウム溶液で中和した。得られた固体をろ過により単離し、  
フラッシュクロマトグラフィでCHCl<sub>3</sub> : MeOH = 9 : 1により溶出して精製し、表題化合物を  
クリーム色の固体で得た (10mg、19%)。MS (m/z, ES+): 247.1 (M+1, 100%)。

【 0 3 6 7 】

#### 実施例33

[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-イル]-メタノール (574  
-21) の合成

THF (1mL) 中の2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-カルボン酸エチルエステル (30mg) の溶液に、水素化アルミニウムリチウム (4mg) を加えた。反応混合物を室温で5時間攪拌し、この時点で硫酸ナトリウム9水和物を加えた。得られた混合物をさらに30分間攪拌した。固体をろ去した。次いで、溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーで $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 9 : 1により溶出して精製し、表題化合物をクリーム色の固体で得た (21mg, 81%)。MS (m/z, ES+): 261.1 (M+1, 100%)。

【0368】

以下の化合物を実施例33に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0369】

[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イル]-メタノール (574-36A) : 表題化合物 (340mg) を、2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル (470mg, 1.63mmol) から出発して調製した。最終生成物をエタノール/水混合物からの再結晶により精製した。MS (m/z, ES+): 261.0 (M+1, 100%)。収率 = 80%。

【0370】

[2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-イル]-メタノール (574-50A) : 表題化合物 (30mg) を、2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾール-6-カルボン酸メチルエステル (54mg, 0.18mmol) から出発して調製した。最終生成物をエタノール/水混合物からの再結晶により精製した。MS (m/z, ES+): 279.1 (M+1, 100%)。収率 = 61%。

【0371】

#### 実施例34

5-メチル-4-(6-ピロリジン-1-イルメチル)-ベンゾチアゾール-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (574-36C) の合成

1. 濃 $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0.3mL) および臭化水素酸 (48%, 0.6mL) の溶液に、[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イル]-メタノール (52mg, 0.2mmol) を加えた。得られた混合物を2時間還流した。室温まで冷却した後、混合物を氷水中に注ぎ、乳状溶液を得た。懸濁液を5% NaOH溶液でpH3~4に中和した。得られたクリーム色の固体をろ過により単離し、水洗し、風乾して、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミンを得た (58mg)。粗生成物をそれ以上精製せずに次の段階で用いた。

【0372】

2. エタノール (1mL) 中の4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (20mg) の懸濁液に、過剰のピロリジンを加えた。反応混合物を室温で終夜攪拌した。次いで、溶媒を蒸発により除去し、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーで $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 9 : 1により溶出して精製し、表題化合物をクリーム色の固体で得た (2.7mg)。MS (m/z, ES+): 314.1 (M+1, 45%), 243.0 (M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N, 100%)。

【0373】

以下の化合物を実施例34に記載の方法と同様の様式で調製した。

【0374】

5-メチル-4-(6-メチルアミノメチルベンゾチアゾール-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (574-36E) : 表題化合物 (1.6mg) を、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (18mg) および過剰のメチルアミンから出発して調製した。MS (m/z, ES+): 274.1 (M+1, 100%), 243.1 (M-CH<sub>3</sub>NH, 60%)。

【0375】

5-メチル-4-[6-(4-メチルピペラジン-1-イルメチル)-ベンゾチアゾール-2-イル]-2H-ピラゾル-3-イルアミン (574-36D) : 表題化合物 (9mg) を、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (20mg) および過剰の1-メチルピペラジンから出発して調製した。MS (m/z, ES+): 343.1 (M+1, 20%), 244.1 (M-CH<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N+1, 100%)。

## 【 0 3 7 6 】

5-メチル-4-(6-モルホリン-4-イルメチルベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン (574-38B) : 表題化合物 (27mg) を、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (40mg) および過剰のモルホリンから出発して調製した。MS (m/z, ES+) : 330.1 (M+1, 30%), 243 (M-O(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N, 100%)。

## 【 0 3 7 7 】

4-(6-ジメチルアミノメチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (574-38A) : 表題化合物 (24mg) を、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (40mg) および過剰のジメチルアミンから出発して調製した。MS (m/z, ES+) : 288.1 (M+1, 20%), 243.1 (M-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N, 100%)。

10

## 【 0 3 7 8 】

2-{{2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イルメチル}-アミノ}-エタノール (574-38C) : 表題化合物 (10mg) を、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (40mg) および過剰の2-アミノエタノールから出発して調製した。MS (m/z, ES+) : 304.1 (M+1, 10%), 243.2 (M-HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, 100%)。

## 【 0 3 7 9 】

3-{{2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イルメチル}-アミノ}-N-メチルベンゼンスルホンアミド (574-38F) : 表題化合物 (9mg) を、4-(6-ブロモメチルベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン (40mg) および過剰の3-アミノ-N-メチルベンゼンスルホンアミドから出発して調製した。MS (m/z, ES+) : 429.2 (M+1, 100%)。

20

## 【 0 3 8 0 】

4-(6-ジメチルアミノメチル-5-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン (574-50C) : 表題化合物 (28mg) を、[2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロベンゾチアゾル-6-イル]メタノール (30mg, 0.1mmol) から出発し、2段階で調製した。臭化物の反応を過剰のジメチルアミンで実施した。MS (m/z, ES+) : 306.1 (M+1, 43%), 261.1 (60%), 153.5 (100%)。

## 【 0 3 8 1 】

## 実施例35

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチレン)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (610-49)

メタノール (10mL) 中の4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (50mg, 0.22mmol) および2-イミダゾールカルボニルアルデヒド (22mg, 0.22mmol) の混合物を終夜還流した。溶媒を蒸発させ、得られた粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 20 : 1により溶出して精製し、表題化合物を得た (21mg, 31%)。MS (m/z, ES+) : 310.1 (M+1, 15%), 232.1 (M-77, 60%), 142.0 (M-167, 68%), 101.1 (100%)。

30

## 【 0 3 8 2 】

## 実施例36

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチレン)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (610-52)

4-ベンゾチアゾル-2-イル-N<sup>5</sup>-(1H-イミダゾル-2-イルメチレン)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン (13mg, 0.042mmol) およびNaBH<sub>4</sub> (10mg) の混合物を室温で3時間攪拌した。次いで、溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィでCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> からCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 4 : 1の勾配により溶出して精製し、表題化合物を得た (12mg, 84%)。MS (m/z, ES+) : 312.1 (M+1, 80%), 232.1 (100%)。

40

## 【 0 3 8 3 】

## 実施例37

2-(1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド (523-88-39) の合成

50

ニートのクロロスルホン酸中の2-(1H-ピラゾル-4-イル)ベンゾチアゾール (600mg、0.30mmol) の溶液を150 で5時間加熱した。次いで、反応混合物を氷上に注ぎ、得られた沈殿をろ過により単離して、2-(1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホニルクロリドおよび2-(1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-4-スルホニルクロリドの混合物を得た。

【0384】

上で調製した粗生成物をエタノール中で水酸化アンモニウムと反応させた。溶媒を蒸発させ、粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して、<sup>1</sup>H NMRで調べて約25%の2-(1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-4-スルホン酸アミドが混入した表題化合物 (37mg) を得た。

<sup>1</sup>H NMR. MS (m/z, ES+): 281.2 (M+1, 100%); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz,

ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 13.50 (br s, 1H), 8.7 (d, 1H), 8.8 (br s, 2H), 8.08 (d, 1H), 7.9 (dd, 1H), 7.42 (br s, 2H)

(主異性体)。

【0385】

実施例38

(4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イル)-メチルアミン (523-32A) の合成

ギ酸 (20mL) 中の4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン (1.1g、5.0mmol) の溶液を70 で終夜加熱した。ギ酸を減圧下で蒸発させ、得られた粗生成物をエタノールから再結晶して、N-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ホルムアミドを得た (1.1g、90%)。

【0386】

無水THF (50mL) 中の上で調製したN-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ホルムアミド (0.50g、2.0mmol) に、水素化アルミニウムリチウム (0.50g) を0 で加えた。反応混合物を1時間攪拌し、次いで飽和塩化アンモニウム溶液を加えて反応停止した。固体をろ去した。次いで、溶媒を蒸発させ、粗生成物をアセトンからの再結晶により精製して、表題化合物を得た (280mg、61%)。MS (m/z, ES+): 231.1 (M+1, 100%)。

【0387】

下記の生物学の実施例について、条件は特に記載がない限り室温である。

【0388】

実施例39

キナーゼのインビトロ活性プロフィール

酵素の調製および使用

標的ILKはバキュロウイルス感染によりHi5昆虫細胞内で発現される全長組換え蛋白質である。組換えILK蛋白質は培養昆虫細胞およびバキュロウイルス発現系を用いて発現させた。DNA操作の標準技術を用いて、組換えDNA分子およびバキュロウイルスを生成した (Sambrook, J., Fritsch, E.F.およびManiatis, T. 1989, Molecular cloning, a laboratory manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Crossen, R.およびGruenwald, S. 1998. Baculovirus expression Vector System Manual, 第5版 (Pharmingen、カリフォルニア州サンディエゴ)。5'および3'非翻訳領域を除くILKのオープンリーディングフレーム (Hanniganら、上記) をバキュロウイルストランスファーベクターpAcG2T (Pharmingen) に挿入して、強いAcNPVポリヘドリンプロモーターの制御下にGST融合蛋白質を生成した。次いで、このILKトランスファー構築物をBaculoGold (商標) DNA (Pharmingen) によりSf9昆虫細胞 (Invitrogen) 中に同時形質移入し、GST-ILK組換えバキュロウイルスの高力価調製物をSf9細胞内での増幅により生成した。GST-ILK組換え蛋白質のリットル規模の発現を、1000mL攪拌培養フラスコ (Bellco) において、Ex-Cell (商標) 400無血清培地 (JRH Biosciences) 中、感染多重度約5で培養した、Hi5昆虫細胞 (Invitrogen) の感染により行った。感染の3日後に細胞を回収し、氷上、ILK溶解緩衝液 (ILB: 10mMイ

10

20

30

40

50



ミダゾール、pH7.5、50mM NaCl、0.1%NP-40、0.1% -メルカプトエタノール、0.5mM PMSF、1mMベンズアミジン）中、ダウンス組織粉碎器（Kontes）で溶解した。溶解物を4、10,000gで15分間遠心分離し、上清を廃棄した。ペレットをホモジェナイザーを用いてILBに再懸濁し、前述のとおり遠心分離した。次いで、ペレットをILK抽出緩衝液（IEB、10mMイミダゾール、pH7.5、400mM NaCl、1%NP-40、0.1% -メルカプトエタノール、0.5mM PMSF、1mMベンズアミジン）中で2回洗浄した。次いで、ペレットをDNアーゼ-ATP緩衝液緩衝液（DAB、10mMイミダゾール、pH7.5、400mM NaCl、5mM EDTA、1%NP-40、0.1% -メルカプトエタノール、0.5mM PMSF、1mMベンズアミジン、10ug/mL DNアーゼI、1mM ATP、10mM MgCl<sub>2</sub>、1mM MnCl<sub>2</sub>、5uM -メチルアスパラギン酸、2mM NaF）中に再懸濁し、室温で30分間撹拌した。混合物を10,000 × gで20分間遠心分離し、ペレットを高塩濃度緩衝液（HSB、10mMイミダゾール、pH7.5、400mM NaCl、5mM EDTA、0.1% -メルカプトエタノール、0.5mM PMSF、1mMベンズアミジン）中に再懸濁し、1回洗浄した。懸濁液を室温で30分間撹拌し、次いで10,000gで20分間遠心分離した。最後に、ペレットをILK保存緩衝液（ISB、10mMイミダゾール、pH7.5、0.2mM EDTA、0.1% -メルカプトエタノール、0.5mM PMSF、30%グリセロール）中に再懸濁し、-80 で保存した。

10

## 【0389】

活性化酵素の生化学的分析を、組換えヒトILK1蛋白質調製物で、「キナーゼのインビトロ活性プロフィール」なる表題の項で概説した実験プロトコルを用いて実施した。典型的には、ILK1調製物は、50 μM [ -<sup>32</sup>P]-ATPおよび159 μM ILK1基質（アミノ酸配列：CKRRRLASLR-アミド）存在下、室温で15分間の反応中に、蛋白質ホスホトランスフェラーゼ活性を示すことが明らかにされた。

20

## 【0390】

化合物を、ILKの活性を阻害する能力について下記のアッセイで試験した。特定の阻害剤の所望のインビトロ効力は、化合物が治療薬として、すなわち、ナノモルまたはマイクロモルの範囲で有用であるようなものである。下記の表1を参照されたい。

## 【0391】

## A. アッセイの説明

試験化合物を凍結乾燥し、-20 で保存した。化合物を秤量し、それらをジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解して標準濃度、通常は20mMとすることにより、保存溶液を作成し、-20 で保存した。化合物を1%DMSO中で出発中間体濃度250 μMに希釈し、次いで連続2倍希釈段階を用いて96穴プレートの一行全域で連続希釈した。希釈した100%DMSOを陰性対照として用いた。

30

## 【0392】

各化合物希釈物（5 μL）を同じプレート配置を維持しているCostar（商標）セロクラスタープレートに自動装置で分注した。すべてのアッセイ混合物の構成は下記のとおりであった：

- 5 μL 希釈化合物
- 10 μL 標的酵素調製物
- 1 μL 基質
- 5 μL アッセイATP

40

## 【0393】

次いで、アッセイ混合物を室温で15分間インキュベートした。

## 【0394】

各アッセイ混合物から、アッセイ混合物10 μLをMillipore Multiscreen-PH（商標）不透明プレート上にスポットし、1%リン酸中で10分間の洗浄を2回行った。プレートを40で30分間乾燥し、次いで基質-リン酸複合体をシンチレーション計数で定量した。これらのMilliporeプレートはウェル中にP81ホスホセルロース膜が固定された96穴様式である。基質のリン酸化および非リン酸化体はいずれも膜に結合するが、ATP（取り込まれていないリン酸）はその後の洗浄段階で除去される。

## 【0395】

50

B.  $IC_{50}$ の算出

試験化合物によるILKの阻害を、アッセイの最後にく紙上に固定された特異的基質上への放射性リン酸の取り込みをシンチレーション計数することにより評価する。意味のある阻害評価を行うために、アッセイは特異的で既知の阻害剤の存在下および非存在下両方で行い、取り込まれた放射能の量を比較して基準の値を求める。

## 【0396】

「基準活性」とは、標的阻害剤非存在下で取り込まれる放射能の量である。標的阻害剤存在下で取り込まれる放射能の量は「試料活性」と呼び、阻害%を下記の式で表し：

$$\text{阻害\%} = 100 - (\text{試料活性} / \text{基準活性} \times 100)$$

通常は化合物濃度と合わせて表す。標的阻害剤濃度の範囲を用いることにより、阻害剤の $IC_{50}$ を見積もる（すなわち、酵素活性が50%低下する濃度）。特定の標的に対する様々な阻害剤の $IC_{50}$ を比較することができ、 $IC_{50}$ が低いほど効力の高い阻害剤であることを示す。

10

## 【0397】

表1：インビトロ酵素アッセイにおけるILKの阻害

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-[2-(1H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-アミン	0.2
(4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イル)-メチル-アミン	1.7
[2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-6-イル]- メタノール	0.1
[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-5-イル]-メタノール	3.7
[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール	0.9
2-(1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール	1.6
2-(1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド	0.5
2-(3-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド	0.02
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾール-7- スルホン酸アミド	0.07
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6- カルボン酸メチルエステル	0.06
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6- スルホン酸メチルアミド	0.04
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸	1.1
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸 メチルエステル	0.3
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 メチルアミド	0.07
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸(2,6- ジメチル-ピリミジン-4-イル)-アミド	2.6
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-7-カルボン酸 メチルエステル	0.7
2-(3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール	0.9
2-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェノール	4.6
2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルアミン	0.5
2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸メチルアミド	0.06

10

20

30

40

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-4-フルオロベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	0.04
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-4-スルホン酸 (2-ヒドロキシ-エチル)-アミド	0.15
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	0.007
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2-ヒドロキシ-エチル)-アミド	0.05
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (ピリジン-4-イルメチル)-アミド	0.13
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-オール	0.2
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-5-スルホン酸 メチルアミド	1.9
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-カルボン酸 アミド	0.3
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	0.01
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2- ヒドロキシ-エチル)-アミド	0.2
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2- メトキシ-エチル)-アミド	0.6
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 4- フルオロ-ベンジルアミド	4.8
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2- チオフェン-2-イル-エチル)-アミド	1.7
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 4- クロロ-ベンジルアミド	0.9
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 4- メトキシ-ベンジルアミド	1.0
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸	0.8

10

20

30

40

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
ベンジルアミド	
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 フェネチル-アミド	0.8
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 [2-(4- アミノ-フェニル)-エチル]-アミド	0.2
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2- モルホリン-4-イル-エチル)-アミド	3.0
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2,2,2-トリフルオロ-エチル)-アミド	0.09
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 シクロプロピルメチル-アミド	0.7
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 [2- (3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-アミド	0.2
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 4- アミノ-ベンジルアミド	0.6
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (ピリジン-4-イルメチル)-アミド	0.04
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2- ジメチルアミノ-エチル)-アミド	0.3
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (3- ジメチルアミノ-プロピル)-アミド	3.2
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (酢酸ヒドラジド)アミド	0.03
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (フェニルヒドラジノ)アミド	0.9
2-(5-アミノ-3-ピリジン-4-イル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	0.05
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エタノール	0.4
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-シクロペンタノール	3.5
2-[[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イルメチル]-	0.1

10

20

30

40

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
アミノ}-エタノール	
3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-プロパン-1-オール	0.2
3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-プロパン-1-オール	0.4
3-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミノ]-プロパン-1-オール	0.5
3-{[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル-6-イルメチル]-アミノ}-ベンゼンスルホンアミド	0.8
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-6-エチル-ベンゼン-1,3-ジオール	1.9
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール	3.3
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェノール	3.4
4-(4-フルオロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.4
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ブタン-1-オール	1.0
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-ブタン-1-オール	1.7
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-酪酸	4.3
4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-N-チアゾル-2-イル-ベンゼンスルホンアミド	3.5
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	4.0
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(2-フェニル-シクロプロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	2.1
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	2.3
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(3-ニトロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.9
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-フルオロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	2.4
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(4-メトキシ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	2.0
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-(5-ニトロ-フラン-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.3

10

20

30

40

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.04
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-イソキサゾル-5-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.1
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.06
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-フェニル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	2.3
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.07
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.7
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-N3-[2-(3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.2
4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.05
4-(5-フルオロ-6-メチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.3
4-(5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.04
4-(5-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	3.7
4-(5-トリフルオロメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン	1.1
4-(6-プロモ-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
4-(6-プロモ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.4
4-(6-クロロベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.3
4-(6-ジメチルアミノメチル-5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.6
4-(6-ジメチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.4
4-(6-メタンスルホニル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.5
4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.34

10

20

30

40

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
4-(6-ニトロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	3.4
4-(7-クロロ-4-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	1.0
4-(7-クロロ-5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.4
4-[(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-メチル]- ベンゼンスルホンアミド	2.9
4-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)-エチル]-フェノール	2.9
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.3
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.7
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3-メチルアミノ-プロピル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.02
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ジメチルアミノ-ブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.4
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-メチルアミノ-ブチル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.1
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4-ニトロ-フェニル)-2H-ピラゾル-3-イルアミン	4.0
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-シクロプロピル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.6
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-エチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.8
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.1
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.3
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	1.1
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フェニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.9
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.19
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピペリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.06
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-3-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.6
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.1
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	3.7
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-チオフェン-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.9
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(1H-イミダゾル-2-イルメチル)-1H-ピラゾール-3,5- ジアミン	2.5
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(1H-イミダゾル-2-イルメチレン)-1H-ピラゾール-3,5-	1.0

10

20

30

40



化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
ジアミン	
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(2-ジメチルアミノ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.5
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(2-エチルアミノ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.15
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(2-メトキシ-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.7
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(2-ピロリジン-1-イル-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	1.9
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-1H-ピラゾール-3,5- ジアミン	0.3
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(3-イミダゾル-1-イル-プロピル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.5
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-[2-(1H-インドル-3-イル)-エチル]-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	3.3
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-ピペリジン-4-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	2.7
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N5-(2-モルホリン-4-イル-エチル)-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	1.5
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N5-エチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	1.7
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N5-ピリジン-3-イルメチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	2.9
5-(2-クロロ-ピリジン-3-イル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	3.4
5-(3-アミノ-プロピル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.01
5-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	0.1
5-シクロプロピル-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3- イルアミン	1.0
5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン	0.2
5-メチル-4-(5-トリフルオロメチルベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン	2.8
5-メチル-4-(6-メチルアミノメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3- イルアミン	0.5
5-メチル-4-(6-モルホリン-4-イルメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3- イルアミン	0.5
5-メチル-4-(6-ピロリジン-1-イルメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-2H-ピラゾル-3- イルアミン	0.9
5-メチル-4-[6-(4-メチル-ピペラジン-1-イルメチル)-ベンゾチアゾル-2-イル]-2H- ピラゾル-3-イルアミン	5.0
5-メチル-4-[6-(4-メチル-ピペラジン-1-スルホニル)-ベンゾチアゾル-2-イル]-2H-	4.9

10

20

30

40

化学名	IC <sub>50</sub> 平均値 (μM)
ピラゾール-3-イルアミン	
N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-イル]-アセトアミド	0.4
N-[2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)-エチル]- アセトアミド	1.1
N-[4-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-フェニル]- ヒドロキシルアミン	1.6
N-{2-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-ベンゾチアゾール-6- スルホニルアミノ]-エチル}-アセトアミド	0.7
N-{2-[5-アミノ-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H-ピラゾール-3- イルアミノ]-エチル}-アセトアミド	1.8
N3-(2-アミノ-エチル)-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.02
N3-(2-ジメチルアミノ-エチル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H- ピラゾール-3,5-ジアミン	0.3
N3-(3-ジメチルアミノ-プロピル)-4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)- 1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	0.2
N3-(4-アミノ-フェニル)-4-ベンゾチアゾール-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	5.0
N3-[2-(3H-イミダゾール-4-イル)-エチル]-4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-1H- ピラゾール-3,5-ジアミン	0.6

## 【 0 3 9 8 】

## 実施例40

## 細胞毒性アッセイ

この方法を用いて、細胞生存度に関し、様々な細胞株に対して化合物が有する効果を評価した。細胞生存度を、カルセインAMを用い、その蛍光生成物（カルセイン）への変換を蛍光計で測定して定量する。

## 【 0 3 9 9 】

このアッセイの原理は、生存細胞で見いだされる広範な細胞内エステラーゼ活性の存在に基づいている。エステラーゼの酵素反応により、蛍光を持たない細胞浸透性のカルセインAMが強い蛍光を有するカルセインに変換される。ポリアニオン性色素のカルセインは生存細胞中に保持され、生存細胞中で緑色蛍光を生じる。カルセインAMは水分に曝露されると加水分解されやすいことに留意すべきである。したがって、カルセインAMを含む作業（working）水溶液は使用直前に調製し、ほぼ1日以内に使用されたい。

## 【 0 4 0 0 】

このアッセイを行うために利用可能なキットは、Molecular Probesによる「LIVE/DEAD（登録商標）Viability/Cytotoxicity Kit（L-3224）」である。

## 【 0 4 0 1 】

細胞を組織培養フラスコから回収し、トリプシン処理し、遠心分離し、再懸濁し、計数した。細胞を播種して、80～90%コンフルエント（正常細胞では、10,000細胞/ウェル（H UVEC細胞では、8,000細胞/ウェル））とした。各ウェル90 μLの量を用いて、110,000細胞/mL（H UVEC細胞では、88,000細胞/ウェル）の細胞濃度を調製する。

## 【0402】

8-チャンネルマルチ分配分注器を用い、細胞をプレート（Nunclon（商標）96穴平底プレート）の中央の列に播種し、周辺の上下の列は同量の培地だけを入れておいた。プレートを37℃、5%CO<sub>2</sub>で終夜、約24時間インキュベートした。

## 【0403】

試験化合物について、細胞培養培地（例えば、RPMI + 10%FBS）、20mM保存化合物から所望の最終濃度の10×化合物溶液を調製した。この10×化合物溶液10μlを、すでに96穴プレートに入れた細胞90μLに加え、以前の試験から既知の細胞毒性化合物を陽性対照として用いる。陰性対照は化合物と同じ率に希釈した100%DMSOである。

## 【0404】

プレートを37℃で約24時間インキュベートし、室温、2400rpmで10分間回転させた後、培地を吸引する。各ウェルに1×DPBS（CaCl<sub>2</sub>なし、MgCl<sub>2</sub>なし（GibcoBRL, cat#14190-144））100μLを加える。

## 【0405】

カルセインAM溶液を、カルセインAM結晶（m.w. = 994.87g/mol、Molecular Probes、オレゴン州ユージーン）（50μg）および無水DMSO（Sigma Aldrich）を加えて1mM保存溶液を作り、アッセイ直前に保存溶液を1×DPBS中で所望の最終濃度の2×に希釈することにより調製する。次いで、100μLをウェル中のDPBS 100μLに加え、プレートを室温で30分間インキュベートする。蛍光データを読み取り、記録した（Fluoroskan Ascent（登録商標）FL蛍光計（励起-485nm、発光-527nm））。

## 【0406】

重複測定（通常6回）の値を平均し、阻害%を下記のとおりに算出する：

阻害% = 100 - [(AVG処理 - AVG陽性対照) / (AVG陰性対照 - AVG陽性対照) × 100]

## 【0407】

細胞株HUVEC、HS27、およびLL-86に対し、表1の62の代表的化合物5μMおよび25μM濃度での細胞毒性は、0%から20%の範囲であった。測定値のほとんどは10%未満であった。

## 【0408】

## 実施例41

Matrigel（商標）細胞外基質抽出物における細胞浸潤

この方法を用いて、Matrigel（商標）でコーティングしたFluoroblok（商標）インサートを通っての腫瘍細胞浸潤に対する化合物の効果を評価する。浸潤により、腫瘍細胞は原発腫瘍以外の部位に拡散することが可能となる。下記のアッセイはこのシステムを用いて、Matrigel（商標）細胞外基質の層を通っての抗腫瘍細胞浸潤に対する化合物の効果を評価する。

## 【0409】

用いた細胞株は、HT 1080（ATCC、Cat# CCL-121）、DU-145（ATCC、Cat# HTB-81）、PC 3（ATCC、Cat# CRL-1435）、またはB16F1（ATCC、Cat# CRL-6323）である。

## 【0410】

浸潤試験システム（BD Bioscienceの蛍光遮断膜のFluoroBlok（商標）24-Multiwell Insert System（商標）を備えたBD BioCoat（商標）Matrigel（商標）Invasion Chambersを含むBioCoat（商標）FluoroBlok（商標）Invasion System）を-20℃で保存した包装から取り出し、室温に戻す。PBSをインサート内部に加え、これらを37℃で2時間再水和させる。次いで、培地を除去し、腫瘍細胞（50～70%コンフルエントになるまで培養し、トリプシン処理し、無血清培地に1×10<sup>6</sup>/mLで再懸濁した）の細胞懸濁液450μLを上チャンバーに加える。試験化合物を所望の最終濃度の10×で50μLを上チャンバーに加える。DMSOは対照としてはたらく。

## 【0411】

次いで、10%FBS含有50%新鮮増殖培地および50%NIH 3T3-馴化培地を含む培地750μLを下各ウェルに加える。浸潤システムを、5%CO<sub>2</sub>雰囲気下、37℃で24から48時間インキュベートする。

10

20

30

40

50

## 【0412】

インキュベート後、インサートプレートを、ハンス液（HBSS）中5  $\mu$ g/mLカルセインA M（0.5mL）を含む第二の24穴プレートに移し、プレートを、37℃、5%CO<sub>2</sub>で1時間インキュベートする。

## 【0413】

細胞浸潤を示す蛍光データを、Fluoroskan Ascent（商標）FL（LabSystems）において励起/発光波長485/538nmでボトム測定により読み取る。

## 【0414】

データを24穴あたり真ん中の25領域の合計から蛍光ユニット（FU）で、または下記の式による浸潤阻害パーセンテージで表す：浸潤阻害% = 100 - 化合物処理細胞浸潤のFU/DMSO 10  
処理細胞浸潤のFU × 100。

## 【0415】

表1の21の代表的化合物をこのアッセイで試験し、阻害パーセントは20から80%の範囲であった。したがって、化合物は癌の転移予防および組織再構築において有用である。

## 【0416】

## 実施例42

炎症応答が化合物存在下で調節される

炎症アッセイパネルの確立

マクロファージは、感染に対する生得的免疫の重要な要素で、感染因子に曝露され、それにより活性化される免疫応答における最初の細胞型の一つである。IFN- $\gamma$  およびLPSはマクロファージの強力な活性化因子であり、様々な生物学的効果のためにマクロファージを準備する。IFN- $\gamma$  は、最初は感染に応答してNKおよびT細胞により分泌され、マクロファージを休止状態から活性化状態に変換し、細胞内病原体の死滅増加によって現れる抗菌活性、ならびに抗原の処理およびリンパ球への提示のためにマクロファージを準備する。IFN- $\gamma$  の作用はLPSセカンドメッセンジャーと相乗作用し、NF- $\kappa$ Bの活性化を通じてマクロファージの刺激を促進し、これにより誘導性酸化窒素シンターゼ（iNOS）を含む細胞性免疫応答に関与するいくつかの遺伝子の転写アップレギュレーションが起こる。活性化マクロファージは静止マクロファージと質的に異なる。これらの違いは典型的には、増殖指数の増大、MHC-IIの発現のアップレギュレーション、および様々な生物活性分子の産生により認められる。後者の生物学的効果は酸化窒素（NO）放出および炎症誘発性サイトカイン（IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1）の産生増大によって仲介される。Balb/cおよびRAW 264.7細胞（Balb/cバックグラウンド）由来の一次マクロファージを用いて、迅速かつ信頼の置ける読み出しができるインビトロ炎症モデルを確立した。

## 【0417】

材料および方法

## 1. 試薬

iNOS阻害剤NG-モノメチル-L-アルギニン（L-NMMA）およびマウスrIFN- $\gamma$  は、Calbiochem（カリフォルニア州サンディエゴ）から購入した。無蛋白質フェノール/水抽出LPS（大腸菌血清型0111:B4 0127:B8由来）、ザイモサンA、デキサメタゾンおよびヒドロコルチゾン、スルファニルアミドおよびN-(1-ナフチル)-エチレンジアミンは、Sigma（ミズーリ州セントルイス）から購入した。ヒト組換え血管内皮増殖因子（VEGF）はR&D Systems（ミネソタ州ミネアポリス）から購入した。抗マウスiNOS/NOS II型抗体はTransduction Laboratories（ケンタッキー州レキシントン）から入手した。6~12週齢の雌BALB/cマウスはHarlan Inc.（インディアナ州インディアナポリス）から購入し、Canadian Council on Animal Care standardsに従って維持した。

## 【0418】

## 2. 一次マウスマクロファージの単離

腹腔滲出マクロファージを、BALB/cマウスに滅菌ザイモサンA（1mg/0.5mL 0.9%食塩水、0.5mL）を腹腔内注射した24時間後に、氷冷滅菌生理食塩水で腹腔内洗浄することにより単離した。細胞を洗浄し、1mM D-グルコース、1mMピルビン酸ナトリウム、100単位/mL 50

ペニシリン、100 µg/mLストレプトマイシン、および5%FBSを補足したRPMI 1640に再懸濁した。

【0419】

3. IL-12放出の阻害評価

マウス一次マクロファージは、IFN- $\gamma$  の最適以下用量存在下でのLPSとのインキュベーション後に活性化される。活性化後、マクロファージは初期炎症応答を増幅する生物活性分子を放出することにより、炎症開始に活発に参加する。刺激されたマクロファージはMHC-II受容体のアップレギュレートされた発現、NOの放出増大を示し、IL-12、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MIP-1 $\alpha$ 、およびMIP-1 $\beta$ を含むいくつかの炎症誘発性サイトカインを産生する。

【0420】

要するに、刺激されたマクロファージからの上清のIL-2レベルを、抗マウスIL-12抗体対およびマウスrIL-12標準 (PharMingen) を用いて開発されたPharMingenのOptEIA (商標) ELISAセットで定量した。Maxisorp (商標) F16マルチウェルストリップ (Nunc、デンマーク、ロスキレ) を0.1M NaHCO<sub>3</sub>、pH9.5中、100 µL/ウェルの抗マウスIL-12捕捉Ab (推奨濃度) で、4℃で終夜コーティングした。プレートをPBS中0.05%トゥイーン20 (PBST) で3回洗浄し、PBS中10%FCS (ブロックおよび希釈緩衝液) 200mL/ウェルで1時間ブロックした。プレートをPBSTで3回洗浄し、希釈緩衝液中の重複試料 (100 µL/ウェル) または標準 (100 µL/ウェル) を2時間インキュベートした。プレートをPBSTで5回洗浄し、ビオチン化抗マウスIL-12およびアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) 複合体 (製造者による推奨濃度) と共に1時間インキュベートした。プレートをPBSTで7回洗浄し、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン基質溶液 (100 µl) を各ウェルに加えた。室温で15~30分間のインキュベーション後、発色を2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50 µL) を加えて停止した。吸光度を、EL 312eマイクロプレート読み取り器により450nmで読み取った。IL-12の検出限界は15.6pg/mlであった。

【0421】

組織培養上清中のインターロイキン-12の測定に関する議論については、例えば、Skeen M.J., Miller M.A., Shinnick T.M.ら、J Immunol. (1996) 156(3):1196-206を参照されたい。表2に、IL-12研究に関する結果を代表的な化合物について示す。

【0422】

4. TNF $\alpha$  放出の阻害評価:

マウス一次マクロファージは、IFN- $\gamma$  の最適以下用量存在下でのLPSとのインキュベーション後に活性化される。活性化後、マクロファージは初期炎症応答を増幅する生物活性分子を放出することにより、炎症開始に活発に参加する。活性化されたマクロファージはMHC-II受容体のアップレギュレートされた発現、NOの放出増大を示し、TNF- $\alpha$ を含むいくつかの炎症誘発性サイトカインを産生する。

【0423】

刺激されたマクロファージからの上清のTNF- $\alpha$  レベルを、PharMingenのOptEIA TNF- $\alpha$  キット (PharMingen) で定量した。実験は、特に記載がない限り、室温、約21℃で実施した。

【0424】

マイクロウェル (F8 Maxisorp (商標) Loose/Nunc-Immuno Module; Gibco/BRL) を100 µl/ウェルの捕捉抗体 (推奨濃度) でコーティングし、4℃で終夜インキュベートした。プレートを100 µl/ウェルの洗浄緩衝液 (1×PBS中0.05%トゥイーン20) で洗浄し、200 µl/ウェルのアッセイ希釈緩衝液 (1×PBS中10%FBS) で1時間ブロックした。次に、溶液を除去し、プレートを洗浄緩衝液で5×洗浄した。

【0425】

希釈緩衝液中の重複試料 (100 µl/ウェル) または標準 (100 µl/ウェル) を加えてTNF- $\alpha$  分析を開始し、2時間インキュベートした。溶液を除去し、プレートを洗浄緩衝液で5×洗浄した。ビオチン化マウスTNF- $\alpha$  モノクローナル抗体およびアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ複合体 (製造者による推奨濃度) を含む酵素試薬 (100 µl) を各

10

20

30

40

50

ウェルに加えた。プレートを1時間インキュベートし、溶液を除去し、プレートを洗浄緩衝液で7×洗浄した。最後に、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMB) 基質溶液 (100  $\mu$ l) を各ウェルに加え、プレートを暗所で15~30分間インキュベートした。発色を2N  $H_2SO_4$  (50  $\mu$ L) を加えて停止した。吸光度を、EL 312eマイクロプレート読み取り器により450nmで測定した。TNF- $\alpha$  の検出限界は15.6pg/mlであった。

【0426】

データは下記の式によるTNF- $\alpha$  阻害のパーセンテージで表す：TNF- $\alpha$  阻害% = 100 - (AVG 処理 / AVG DMSO対照)  $\times$  100。

【0427】

腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$  組織培養上清) の測定に関する議論については、例えば、Drew, P.D.およびJ. Chavis, 「Inhibition of Microglial Cell Activation by Cortisol」Brain Research Bulletin. (2000) 52(5):391-396; Drew, P.D.およびJ. Chavis「Female Sex Steroids: Effects Upon Microglial Cell Activation」J. Neuroimmunology. (2000) 111(1-2):77-85を参照されたい。

【0428】

代表的化合物をこのアッセイで試験し、結果を表2に示す。

【0429】

5. IFN- $\gamma$  放出の阻害評価：

マウス脾臓から得たT-リンパ球は、この免疫学的に重要な細胞型の活性化特性を調べるのに適した試料である。T-リンパ球は炎症の主要な調節因子である。コンカナバリンA (ConA) はT-リンパ球の有効な活性化因子で、T-リンパ球の増殖を可能にし、インターフェロン (IFN- $\gamma$ ) などの炎症性サイトカインおよびインターロイキン (IL-10) などの調節サイトカインを生成する。

【0430】

マウス脾臓からのT-リンパ球の単離

脾臓をBalb/cマウスから摘出し、無血清RPMI 1640 (Gibco/BRL) (3ml) 中に入れ、使用準備が整うまで氷上に保存した。脾臓を氷冷RPMI-5 (1 $\times$ ピルビン酸ナトリウムおよび5%FBS、10ml) を含むメッシュスクリーン上に移し、乳棒で緩やかに粉碎した。細胞懸濁液を4、1500rpmで6分間遠心分離した。赤血球を細胞溶解緩衝液 (2ml) を加えて1分間で溶解し、RPMI-5 (10ml) を加えることにより反応を速やかに停止した。上清を廃棄し、ペレットをさらに2回洗浄した。細胞をRPMI-5中に再懸濁し、細胞懸濁液を合わせた。細胞を計数し、それらの濃度をRPMI-5を用いて $2.8 \times 10^6$ 細胞/mlに調節した。

【0431】

脾細胞の刺激と処理

単離した脾細胞 ( $2.8 \times 10^6$ 細胞/ml、180  $\mu$ l/ml) を96穴プレートに加え、最終濃度 $5 \times 10^5$ 細胞/ウェルとした。ConAの作業濃度は2.5  $\mu$ l/mlであった。コンカナバリンAの20 $\times$ 作業濃度は50  $\mu$ l/mlで、RPMI-5を用いて調製した。試験化合物、ジメチルスルホキシド (DMSO) 陰性媒体対照、およびスタウロsporin陽性対照を、RPMI-5を用いて20倍希釈した。DMSOおよびスタウロsporin各10  $\mu$ Lを脾細胞を含む培地180  $\mu$ Lとウェル中で混合し、50  $\mu$ g/mlのConA (10  $\mu$ l) をただちに加えた。ConAを含まない培地を対照ウェルに加えた。非刺激脾細胞に対する化合物を試験するために、ConA溶液の代わりにRPMI-5 (10  $\mu$ l) を各ウェルに加えた。INF- $\gamma$  のためにプレートを加湿条件下、5%CO<sub>2</sub>中37 $^{\circ}$ Cで終夜 (18~24時間) インキュベートした。

【0432】

マウスINF- $\gamma$  のための酵素イムノアッセイ

前述の刺激完了時に、プレートを2000rpmで10分間回転させた。各ウェルからの上清 (100  $\mu$ l) をELISAによるINF- $\gamma$  分析用の新しいプレートに移した。

【0433】

刺激脾細胞からの上清中のINF- $\gamma$  レベルを、PharMingenのOptEIA (商標) INF- $\gamma$  キット (PharMingen) で製造者の指示に従って定量した。下記の表2に示すデータは、下記の式に

よる INF 阻害のパーセンテージで表す：INF 阻害 % =  $100 - (\text{AVG 処理} / \text{AVG DMSO 対照}) \times 100$ 。

【0434】

6. MTS染色による細胞毒性の測定

化合物曝露後の細胞生存度の評価を、可溶性テトラゾリウム塩[3-(4,5-ジメチルチアゾル-2-イル)-5-(3-カルボキシメトキシフェニル)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム、内部塩] (MTS) を用いた細胞毒性アッセイを使用することにより定量的に行った。MTS 溶液を新しく低照明下で作成した。電子カップリング試薬フェナジンメトサルフェート (PMS) をアッセイの時点で加えた。組織培養液100  $\mu\text{L}$  あたり MTS 溶液20  $\mu\text{L}$  を各ウェルに加えた。非刺激および18-24 ConA刺激脾細胞について、プレートに37 で4時間インキュベートした。吸光度を490nmの波長で読み取った。このアッセイを行うために利用可能なキットは、Promegaによる「CellTiter 96 (登録商標) AQueous Kit (G5421)」である。

10

【0435】

4つの重複測定の値を平均し、阻害 % を下記のとおりに算出する：生存 % =  $100 - [(\text{AVG 処理} - \text{AVG 陽性対照}) / (\text{AVG 陰性対照} - \text{AVG 陽性対照}) \times 100]$ 。結果を表2に示す。

【0436】

組織培養上清中の INF の測定に関する議論については、例えば、Uzonna, J., Kaushik, R., Gordon, J., および Tabel, H. J. Immuno. (1998), 161:5507-5515; Xi S., Cohen D., および Chen L. J. of Lipid Research. (1998), 39, 1677-1687. Product Information, 「LIVE/DEAD (登録商標) Viability/Cytotoxicity Kit (L-3224)」 by Molecular Probes (2001年1月24日改訂) を参照されたい。

20

【0437】

7. MCP-1放出の阻害

炎症誘発性サイトカイン TNF- による内皮細胞の活性化は、いくつかのケモカインの産生につながる。これらのケモカインの放出は、炎症中の白血球の輸送および白血球の血管外遊走における重要な役割を果たす。MCP-1 および IL-8 は TNF- によるヒト内皮細胞 (HUV EC) の刺激後に放出されるケモカインの仲間であり、単球の炎症部位への遊走に寄与する。細胞は7回以上継代すべきではない。

【0438】

細胞を、組織培養フラスコ (T75) 内の内皮細胞増殖培地 (EGM、Clonetics) 中に他の5つの補足物質 [ヒト組換え内皮増殖因子 (hEGF)、ヒドロコルチゾン (HC)、ウシ脳抽出物 (BBE)、ウシ胎仔血清 (FBS) およびゲンタマイシン (GA)] を含む培地 (EGM-5) 中で37、5% CO<sub>2</sub> でインキュベートして維持および増殖させた。細胞は最大20継代で増殖させるべきである。

30

【0439】

細胞をトリプシン (0.25%) 処理し、組織培養フラスコから回収し、遠心分離し、EGM-5 に再懸濁し、計数した。細胞濃度を EGM-5 培地で  $2.2 \times 10^4$  細胞/ml に調節した。HUVEC を96穴プレートに、最終播種密度4,000細胞/ウェルとなるよう、 $2.2 \times 10^4$  細胞/ml を180  $\mu\text{L}$  で播種した。プレートを37、5% CO<sub>2</sub> で終夜インキュベートし、細胞が接着して増殖できるようにした。

40

【0440】

TNF の作業濃度は1,000pg/mlであった。TNF の20倍の作業濃度は20,000pg/mlで、EGM-5を用いて調製した。試験化合物、DMSO陰性媒体対照、およびスタウロスポリン陽性対照をEGM-5を用いて20倍希釈した。化合物、DMSO、およびスタウロスポリン各10  $\mu\text{L}$  を、HUVEC細胞を含む培地180  $\mu\text{L}$  と混合した。化合物添加直後、50  $\mu\text{g/ml}$  の TNF (10  $\mu\text{L}$ ) をウェルに加えた。TNF を含まない培地を対照ウェルに加えた。非刺激HUVEC細胞に対する化合物を試験するために、TNF 溶液の代わりEGM-5 (10  $\mu\text{L}$ ) を各ウェルに加えた。TNF のためにプレートを加湿条件下、5% CO<sub>2</sub> 中37 で終夜 (18~24時間) インキュベートした。

【0441】

刺激完了時に、プレートを2000rpmで10分間回転させた。各ウェルからの上清をELISAに

50

よるMCP1分析用の新しいプレートに移した。

【0442】

刺激リンパ球からの上清中のTNF レベルを、PharMingenのOptEIA (商標) MCP1キット (PharMingen) で製造者の指示に従って定量した。吸光度を、EL 312eマイクロプレート読み取り器により450nmで測定した。MCP1の検出限界は15.6pg/mlであった。

【0443】

データは下記の式によるMCP1阻害のパーセンテージで表す：MCP1阻害% = 100 - (AVG処理 / AVG DMSO対照) × 100。結果を表2に示す。

【0444】

組織培養上清中のMCP1の測定に関する議論については、例えば、Kalogeris T.J., Laroux F.S., Cockrell A.ら、Am J Physiol. 276 (4 Pt 1):C856-864 ; PharMingen OptEIAヒトMCP-1セット (PharMingen, Cat#555179) が提供する説明書を参照されたい。

【0445】

MTS染色による細胞毒性の測定を前述の通りに実施した。

【0446】

重複測定の値を平均し、阻害%を下記のとおりに算出する：生存% = 100 - [(AVG処理 - AVG陽性対照) / (AVG陰性対照 - AVG陽性対照) × 100]。

結果を表2に示す。

【0447】

表2：刺激マクロファージおよび脾細胞に対する化合物のIC<sub>50</sub>

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFNγ (μM)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFα (μM)	マクロ ファージ に対する IL-12 (μM)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 (μM)
(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H- ピラゾル-3-イル)-[2-(1H- イミダゾル-4-イル)-エチル]-アミン	8.4 uM	>25	11.76 uM	8.1 uM	14.5 uM	21.3 uM
[2-(3-アミノ-5-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾル-6-イル]-メタノール	2.026	>25				
2-(1H-ピラゾル-4-イル)- ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	10.3 uM	>25				

10

20

30



化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFNg ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
2-(3-アミノ-1H-ピラゾル-4- イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸アミド	2.126	>25				
2-(3-アミノ-5-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-4,5,6- トリフルオロ-ベンゾチアゾール-7- スルホン酸アミド	1.9 $\mu$ M	10.2 $\mu$ M				
2-(3-アミノ-5-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾール-6-カルボン酸 メチルエステル	1.03	>25				
2-(3-アミノ-5-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 メチルアミド	.368 $\mu$ M	11.6 $\mu$ M				
2-(3-アミノ-5-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸メチルアミド	0.8 $\mu$ M	23.0	1.5	1.6	6.4	4.2
2-(3-メチル-1H-ピラゾル-4- イル)-ベンゾチアゾール	21.4 $\mu$ M	N	>25	12.4	>25	>25
2-(5-アミノ-1H-ピラゾル-4- イル)-ベンゾチアゾール-6- スルホン酸メチルアミド	2.461	>25				
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-4- フルオロベンゾチアゾール-6- スルホン酸アミド	3.2 $\mu$ M	>25	6.6 $\mu$ M	11.7 $\mu$ M	>25	>25

10

20

30

40

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFN $\gamma$ ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾール-4-スルホン酸 (2-ヒドロキシ-エチル)- アミド	8.9 $\mu$ M	>25	5.204 $\mu$ M	12.4 $\mu$ M	>25	>25
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	1 $\mu$ M	15.1 $\mu$ M	.9 $\mu$ M	2.7 $\mu$ M	6.7 $\mu$ M	2.7 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (2-ヒドロキシ-エチル)- アミド	3.4 $\mu$ M	>25	2.0 $\mu$ M	4.8 $\mu$ M	14.597 $\mu$ M	9.0 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ- ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 (ピリジン-4-イルメチル)- アミド	3.3 $\mu$ M	14.8 $\mu$ M	4.4 $\mu$ M	6.9 $\mu$ M	23.4 $\mu$ M	11.7 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 5-オール	11.2 $\mu$ M	>25	7.6 $\mu$ M	5.5 $\mu$ M	>25	N
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-カルボン酸アミド	4.7 $\mu$ M	>25	8.0 $\mu$ M	9.6 $\mu$ M	>25	16.2 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸 (2-メトキシ- エチル)-アミド	6.9 $\mu$ M	N		10.6 $\mu$ M	>25	14.2 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-	5.4 $\mu$ M	>25	21.7 $\mu$ M	7.8 $\mu$ M	>25	14.5 $\mu$ M

10

20

30

40

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFN $\gamma$ ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸 [2-(4-アミノ- フェニル)-エチル]-アミド						
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸 (ピリジン-4- イルメチル)-アミド	1.5 $\mu$ M	3.8 $\mu$ M	3.3 $\mu$ M	2.1 $\mu$ M	9.7 $\mu$ M	6.3 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸アミド	2.8 $\mu$ M	>25	3.9	3.4	7.0	12.4
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸 (2,2,2- トリフルオロ-エチル)-アミド	3.7 $\mu$ M	23.1 $\mu$ M	5.6 $\mu$ M	3.0 $\mu$ M	14.7 $\mu$ M	5.9 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸 (2-ヒドロキシ- エチル)-アミド	3.5 $\mu$ M	>25	6.13 $\mu$ M	5.8 $\mu$ M	14.8 $\mu$ M	11.9 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール- 6-スルホン酸 (2- ジメチルアミノ-エチル)-アミド	10.8 $\mu$ M	>25	7.9 $\mu$ M	5.1 $\mu$ M	>25	14.9 $\mu$ M
2-(5-アミノ-3-ピリジン-4-イル- 1H-ピラゾル-4-イル)- ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	11.7 $\mu$ M	>25	13.2 $\mu$ M	17.7 $\mu$ M	>25	>25
2-([2-(5-アミノ-3-メチル- 1H-ピラゾル-4-イル)- ベンゾチアゾール-6-イルメチル]-	8.1 $\mu$ M	20.1 $\mu$ M				

10

20

30

40

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFNg ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
アミノ}-エタノール						
3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル- 2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)- プロパン-1-オール	10.3 $\mu$ M	N	>25	14.0 $\mu$ M	N	~25
3-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル- 2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミノ)- プロパン-1-オール	9.4 $\mu$ M	>25	18.2 $\mu$ M	10.6 $\mu$ M	>25	17.3 $\mu$ M
4-(5-フルオロ-6-メトキシ- ベンゾチアゾル-2-イル)-5- イソキサゾル-5-イル-2H-ピラゾル- 3-イルアミン	2.028	22.803				
4-(5-フルオロ-6-メトキシ- ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル- 1H-ピラゾル-3-イルアミン	1.9 $\mu$ M	24.5 $\mu$ M	10.9 $\mu$ M	5.2 $\mu$ M	>25	5.6 $\mu$ M
4-(5-フルオロ-6-メトキシ- ベンゾチアゾル-2-イル)-5- ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル- 3-イルアミン	6.1 $\mu$ M	17.5 $\mu$ M	14.7 $\mu$ M	23.4 $\mu$ M	>25	10.9 $\mu$ M
4-(5-フルオロ-6-メトキシ- ベンゾチアゾル-2-イル)-5-ピリジン- 4-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	1.4 $\mu$ M	>25	>25	7.7 $\mu$ M	>25	>25
4-(5-フルオロ-6-メトキシ- ベンゾチアゾル-2-イル)-N3-[2- (3H-イミダゾル-4-イル)-エチル]- 1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	16.6 $\mu$ M	>25				
4-(5-フルオロ-6-メチル- ベンゾチアゾル-2-イル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	>25	>25				
4-(5-フルオロ-6-メチル- ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル- 2H-ピラゾル-3-イルアミン	7.822	>25				

10

20

30

40

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFNg ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
4-(5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2- イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3- イルアミン	10.3 $\mu$ M	22.6 $\mu$ M	10.7 $\mu$ M	5.0 $\mu$ M	20.7 $\mu$ M	18.5 $\mu$ M
4-(6-クロロベンゾチアゾル-2- イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3- イルアミン	5.6 $\mu$ M	>25	>25	7.6 $\mu$ M	16.7 $\mu$ M	7.3 $\mu$ M
4-(6-ジメチルアミノメチル- 5-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)- 5-メチル-1H-ピラゾル-3- イルアミン	2.351	>25				
4-(6-ジメチルアミノメチル- ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル- 2H-ピラゾル-3-イルアミン	1.5 $\mu$ M	19.1 $\mu$ M				
4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2- イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン	11.6 $\mu$ M	N	>25	13.9 $\mu$ M	>25	~25
4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル- 2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3- イルアミン	2.8 $\mu$ M	>25	18.5	10.1	21.1	24.5
4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル- 2-イル)-5-ピペラジン-1-イル-2H- ピラゾル-3-イルアミン	5.9 $\mu$ M	20.5 $\mu$ M				
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H- ピラゾル-3-イルアミン	12.6 $\mu$ M	N		7.6		
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3- ジメチルアミノ-プロピル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	13 $\mu$ M	~25				
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(3- メチルアミノ-プロピル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	9.1 $\mu$ M	24.6 $\mu$ M				14.8 $\mu$ M

10

20

30

40

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFNg ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4- ジメチルアミノ-ブチル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	16.4 $\mu$ M	23.6 $\mu$ M				
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-(4- メチルアミノ-ブチル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	11.3 $\mu$ M	~25				
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5- ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾル- 3-イルアミン	7.9 $\mu$ M	22.112 $\mu$ M	>25	16.1 $\mu$ M	>25	16.2 $\mu$ M
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5- ピリジン-4-イル-2H-ピラゾル- 3-イルアミン	2.3 $\mu$ M	>25	5.1	>25	>25	18.5
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N3-(3- ジメチルアミノ-プロピル)-1H- ピラゾール-3,5-ジアミン	5.7 $\mu$ M	>25	N	13.2 $\mu$ M	>25	12.8 $\mu$ M
5-(3-アミノ-プロピル)-4- ベンゾチアゾル-2-イル-2H- ピラゾル-3-イルアミン	7.0 $\mu$ M	22.8 $\mu$ M	13.2 $\mu$ M	17.3 $\mu$ M	18.9 $\mu$ M	10.8 $\mu$ M
5-(4-アミノ-フェニル)-4- ベンゾチアゾル-2-イル-2H- ピラゾル-3-イルアミン	1.0 $\mu$ M	21.5	4.3	2.3	21.3	17.7
5-メチル-4-(4,5,6-トリフルオロ- ベンゾチアゾル-2-イル)-1H- ピラゾル-3-イルアミン	18.3 $\mu$ M	>25				
5-メチル-4-(6- メチルアミノメチル- ベンゾチアゾル-2-イル)-2H- ピラゾル-3-イルアミン	.5 $\mu$ M	.9 $\mu$ M				
5-メチル-4-(6-モルホリン-4- イルメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)- 2H-ピラゾル-3-イルアミン	3.8 $\mu$ M	>25				

10

20

30

40

化学名	ConA 1° 脾細胞に 対する IFNg ( $\mu$ M)	ConA 1° 脾細胞の 生存	マクロ ファージに 対する TNFa ( $\mu$ M)	マクロ ファージ に対する IL-12 ( $\mu$ M)	マクロ ファージ の生存	HUVECS に対する MCP1 ( $\mu$ M)
N-[2-(5-アミノ-3-メチル-1H- ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾル- 6-イル]-アセトアミド	9.9 $\mu$ M	>25	18.442 $\mu$ M	7.7 $\mu$ M	18.4 $\mu$ M	12.6 $\mu$ M
N <sub>3</sub> -(2-アミノ-エチル)-4- ベンゾチアゾル-2-イル-1H- ピラゾール-3,5-ジアミン	16.6 $\mu$ M	>25	23.9 $\mu$ M	N	>25	>25
N3-(2-ジメチルアミノ- エチル)-4-(5-フルオロ-6- メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)- 1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	11.0 $\mu$ M	>25	17.147 $\mu$ M	>25	>25	>25
N3-(3-ジメチルアミノ- プロピル)-4-(5-フルオロ-6- メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)- 1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	10.2 $\mu$ M	~25				

10

20

## 【 0 4 4 8 】

## 7. 酸化窒素の阻害

腹腔滲出マクロファージを、BALB/cマウスに滅菌ザイモサンA (1mg/0.5mL 0.9%食塩水、0.3ml) を腹腔内注射した24時間後に、氷冷滅菌生理食塩水で腹腔内洗浄することにより単離した。細胞を洗浄し、2mM L-グルタミン、100単位/mLペニシリン、100  $\mu$ g/mLストレプトマイシン、および5%FBSを補足したRPMI 1640に再懸濁した。1.5  $\times 10^5$ 細胞/ウェルを96穴プレートに播種した後、5%CO<sub>2</sub>、37℃で3時間インキュベートし(マクロファージを付着させた)、細胞を試験化合物存在下または非存在下、LPS (0.5mg/mL) およびIFN- $\gamma$  (100U/mL) で刺激した。全ての処理を6回重複して行った。細胞をさらに24時間インキュベートし、NOおよびサイトカイン定量のために各ウェルから無細胞培養上清を回収した。残っている細胞をクリスタルバイオレットで染色し、細胞生存に対する化合物の効果を調べた。

30

## 【 0 4 4 9 】

NOおよびサイトカイン定量のための一次マウス腹腔マクロファージの刺激に関する議論については、例えば、Calandra T., Spiegel L.A., Metz C.N., およびBucala R. Proc Natl Acad Sci USA (1998) 95(19): 11383-8; Lu L., Bonham C.A., Chambers F.G.ら、J Immunol. (1996) 157(8): 3577-86; Keil D.E., Luebke R.W., およびPruett S.B. Int J Immunopharmacol (1995) 17(3): 157-66; ならびにSkeen M.J., Miller M.A., Shinnick T.M.ら、J Immunol. (1996) 156(3): 1196-206を参照されたい。

40

## 【 0 4 5 0 】

代表的化合物の試験において、脾細胞からのIFN $\gamma$ の放出は対照に比べて阻害された。上記の表2を参照されたい。

## 【 0 4 5 1 】

## NO放出の阻害評価:

NOの産生を、NOと分子酸素との安定な反応生成物であるNO<sub>2</sub><sup>-</sup>について培養上清を分析することにより定量する。要するに、培養上清100  $\mu$ Lを等量のグリース (Griess) 試薬と室温で10分間反応させた。550nmの吸光度を読み取った。全ての測定を6回行った。NO<sub>2</sub><sup>-</sup>の濃度を、NaNO<sub>2</sub>を用いて作成した標準曲線との比較により算出した。

50

## 【 0 4 5 2 】

組織培養上清中の酸化窒素の測定に関する議論については、例えば、Amano F.およびNo da T.「Improved detection of nitric oxide radical (NO) production in an activated macrophage culture with a radical scavenger, carboxy PTIO and Griess reagent」FEBS Lett. (1995) 368(3): 425-8; Archer S.「Measurement of Nitric oxide in biological models」(1993) FASEB J. 7:349-360、ならびにAmin A.R.「Regulation of nitric oxide and prostaglandin E2 production by CSAIDS (SB203580) in murine macrophages and bovine chondrocytes stimulated with LPS」Inflamm Res. (1999) 48(6):337-43を参照されたい。

## 【 0 4 5 3 】

表3：代表的化合物25 μmでの刺激マクロファージに対する酸化窒素の阻害パーセント

化学名	阻害 %
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸アミド amide	100
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)-シクロペンタノール	78.6
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-6-エチル-ベンゼン-1,3-ジオール	99.3
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェノール	69.6
4-(6-ブromo-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	100
4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	61.5
4-(6-メタンスルホニル-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル-3-イルアミン	52.9
4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	100
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	53.6
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	96.4
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	69.2
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-フェニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	76.7
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	52.6
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N5-キノリン-6-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	66.1

## 【 0 4 5 4 】

## 実施例43

## インビトロ血管形成アッセイ

血管形成、すなわち既存の内皮からの新しい血管の形成は、多くの生理学的および病理学的状態に関与する非常に重要なプロセスである。この厳密に制御されたプロセスの崩壊は、慢性炎症および固形腫瘍増殖の両方に関与するとされている。Matrigel（商標）形態形成アッセイは、内皮細胞がインビボで毛細血管を形成するプロセスを模するために用いられるインビトロモデルである。ヒト臍静脈内皮細胞（HUVEC）を、可溶性基底膜成分の複合混合物であるmatrigel上に置き、特定の増殖因子を含む低血清培地中、試験化合物存在下で培養した。0.5%FCSを含むM199中で24時間培養したHUVEC細胞を、0.5%FCSを含むM199中のMatrigel（10.7mg/mL）300 μLであらかじめコーティングした12穴ウェル中、VEGF（1ng/mL）存在下、試験化合物存在下または非存在下で、 $6 \times 10^5$ 細胞/ウェルで播種した。5%CO<sub>2</sub>-加湿雰囲気中、37℃で5時間インキュベートした後、細胞の三次元構成（毛管様構造）を倒立光学顕微鏡を用いて検査した。細胞をクリスタルバイオレット（20%エタノール中0.05%）で固定し、デジタルカメラを用いて撮影した。定性分析は、試験ウェル中で形成された血管のパターン、サイズ、および完全性をVEGF対照ウェルのものと比べることにより行った。定量分析は、Image-Pro Plusソフトウェアプログラムを用いて収集した画像上で実施した。選択した化合物での結果について、表4を参照されたい。

## 【 0 4 5 5 】

インビトロ血管形成アッセイに関する詳しい議論については、例えば、Grant D.S., Le

10

20

30

40

50



Ikes P.I., Fukuda K., および Kleinman H.K. 「Intracellular mechanisms involved in basement membrane induced blood vessel differentiation in vitro」 *In Vitro Cell Dev Biol.* (1991) 27A(4):327-36 ; Kubota Y., Kleinman H.K., Martin G.R., および Lawley T.J. 「Role of laminin and basement membrane in the morphological differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures」 *J Cell Biol.* (1988) 107(4):1589-98 ; Passaniti A., Taylor R.M., Pili R. 他, 「A simple, quantitative method for assessing angiogenesis and antiangiogenic agents using reconstituted basement membrane, heparin, and fibroblast growth factor」 (1992) *Lab. Invest.* 67:519-528 を参照されたい。

【 0 4 5 6 】

10

表4：血管形成の阻害パーセント

化学名	阻害 %
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	32
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	50
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	84
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	64

【 0 4 5 7 】

20

#### 実施例44

#### 腫瘍細胞遊走アッセイ

用いたプレートは、膜の最上部に薄いMatrigel（商標）層を追加せず、上下のチャンバーを分割する多孔膜だけで構築されている（BD Fluoroblock（商標）プレート）こと以外は、実施例16の記載と同様の様式で、腫瘍細胞遊走アッセイを行った。遊走の阻害パーセントを、実施例16の例示と同じ様式で求めた。

【 0 4 5 8 】

浸潤および遊走アッセイに関するその他の議論については、例えば、Crouch M.F. (2000) 「An automated fluorescence based assay of neurite formation」 *J Neurosci Methods* 104(1):87-91 ; および Repesh L.A. (1989) 「A new in vitro assay for quantitating tumor cell invasion」 *Invasion Metastasis* 9(3):192-208 を参照されたい。

30

【 0 4 5 9 】

代表的化合物を試験し、結果を表5に示す。

【 0 4 6 0 】

表5：25  $\mu$ M 化合物でのPC3細胞における遊走の阻害パーセント

化学名	阻害 %
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-6-エチル-ベンゼン-1,3-ジオール	80.0
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール	44.8
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	26.3
4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	27.9
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N5-エチル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	61.5
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-ピロリジン-1-イル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	47.4
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチルスルファニル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	51.6
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	41.7
4-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェノール	50.9
2-(4-ベンゾチアゾル-2-イル-1H-ピラゾル-3-イル)-フェノール	17.1
4-(5-トリフルオロメチル-ベンゾチアゾル-2-イル)-1H-ピラゾル-3-イルアミン	56.1
4-ベンゾチアゾル-2-イル-5-エチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	54.2
4-ベンゾチアゾル-2-イル-N5-キノリン-6-イル-1H-ピラゾール-3,5-ジアミン	81.0
2-(5-アミノ-4-ベンゾチアゾル-2-イル-2H-ピラゾル-3-イルアミノ)- シクロペンタノール	23.1
4-(6-メトキシ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	79.4
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 アミド	16.7
4-(6-フルオロ-ベンゾチアゾル-2-イル)-5-メチル-1H-ピラゾル-3-イルアミン	45.3
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 メチルアミド	30.5
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6- スルホン酸アミド	42.9
-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6- スルホン酸 (2-ヒドロキシ-エチル)-アミド	38.9

## 【 0 4 6 1 】

## 実施例45

## 刺激物接触皮膚炎モデル (ICD)

この実験では雌Ba1b/c (H2-<sup>d</sup>) マウスを用いた (n=8)。ICDを13-酢酸12-ミリスチン酸ホルボール (PMA) 4 μg/耳 (アセトン20 μL中) で誘導した。陽性対照としてデキサメタゾンを用い (0.5mg/kg)、刺激前に50mL量で皮下投与した。刺激物を右耳介の背側に塗布した。試験化合物を経口胃管栄養法により50~300mg/kg (10mL/kg) の用量で送達した。耳の厚みをばね荷重ダイヤルマイクロメーターで、刺激前と、刺激物塗布の3、6、および24時間後に測定した。試験化合物の抗炎症効果の有効性を、炎症耳と対照耳の厚さの比較により評価した。

## 【 0 4 6 2 】

## 実施例46

10

20

30

40

50

## 正所性肺モデル

NCI-H460ヒト肺大規模癌細胞を、トリプシン処理および最終濃度 $1 \times 10^6$ 細胞/80mLに調節して回収した。雄ヌードラット (CR:NIH-RNU) に、小さい気管切開により右尾肺葉内へ挿入した20ゲージ、2インチのTeflon (商標) カテーテルを用いて、 $1 \times 10^6$ 腫瘍細胞を気管支内に移植した。

### 【0463】

#### 腫瘍断片の移植

これらの腫瘍を有するラットを移植後3週間の時点で屠殺し、それらの腫瘍を冷RPMI 1640中に回収した。生腫瘍を、「交差メス (crossed scalpels)」法により直径1~2mmの細片に切断した。50mg分を16ゲージ、2インチのTeflon (商標) カテーテル内に入れ、6週齢の雄ヌードラットに、同様の技術を用いて移植した。ラットを水中0.35mg/mLのAugmentin (商標) 補足物質で2週間処置した。

### 【0464】

試験化合物を、無菌条件下で許容できる容器中に10mg/mLで溶解することにより、毎日新しく調製した。シスプラチン注射 (1mg/mL) を病院薬局から得た。

### 【0465】

試験には次の4部門があった：対照；試験化合物単独；シスプラチン単独；試験化合物とシスプラチンの組み合わせ。また、試験には2グループがあった：グループIでは、最長生存期間を評価するために、すべてのラットが死ぬまで観察し、グループIIでは、対照ラットが重度の悪液質を生じるか、死んだため、各治療部門からすべてのラットを同時に屠殺した。これにより、一次腫瘍重量、腫瘍/体重比、縦隔リンパ節重量、および転移パターンなどの、腫瘍関連の終点に対する、各試験部門の治療効果を、同じ時点で直接比較することができる。毒性の可能性を評価するために、各ラットの腎および肝機能も、血清生化学検査により調べた。

### 【0466】

試験化合物 (1日5mg) およびシスプラチン (1週間に5mg/kgを3週間) は両方とも腹腔内注射により投与した。治療は試験化合物およびシスプラチンでそれぞれ、移植後7日および14日の時点で開始した。ラットが顕著な病的状態または切迫死の徴候を示した時点で屠殺した。剖検時に、心肺ブロック、腎臓、脳、および胸壁を摘出し、連続切断し、染色し、病理学者が盲検様式で検査した。

### 【0467】

生存期間、一次腫瘍重量、体重、および縦隔リンパ節重量についての統計解析を、ANOVAまたは対応のないスチューデントt検定を用いて評価した。転移発生率を、フィッシャーの正確確立検定による分割表を用いて評価した。P<0.05の差を有意と考えた。

### 【0468】

#### 免疫細胞化学

H-460細胞株を8-チャンバースライドに播種し ( $10^4$ 細胞/ウェル)、60~80%コンフルエンスに達した後、25  $\mu$ Mの試験化合物で処理した。細胞を、処理の2、4、8、および24時間後に回収し、一次抗体と共に4で終夜インキュベートした。リン酸化Akt/PKB発現のために、抗-ホスホ-Akt/PKB (Ser-473) を2  $\mu$ g/mLの濃度で用いた後、二次抗体のビオチン化ウサギ-IgG (7  $\mu$ g/mL) とインキュベートした。リン酸化GSK-3 発現のために、抗-ホスホ-GSK-3 (Ser-9) を6  $\mu$ g/mLの濃度で用いた後、同じ二次抗体と共にインキュベートした。ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼを検出システムとして用いた。DABを色素原として用い、対比染色をヘマトキシリンで実施した。スライドを染色の量および強度に従って陽性または陰性と評価した。ホスホ-Akt/PKBおよびホスホ-GSK-3 の反応性を、Image-Pro (商標) システムおよび通常の光学顕微鏡を用い、コンピューター画像分析により定量した。

### 【0469】

#### 実施例47

ILK発現は正常皮膚に比べてヒト乾癬皮膚で高い

10

20

30

40

50

乾癬斑内の表皮層の厚さは、健常者の正常皮膚または乾癬患者の非患部皮膚よりも劇的に厚い。

#### 【 0 4 7 0 】

ILK発現について試験するために、皮膚試料を健常皮膚を持つヒト被検者および免疫仲介状態の乾癬を患っている患者から得た。皮膚調製物を、日常的なホルマリン固定およびパラフィン包埋技術を用いて処理した。切片を切断し、抗原回復法で処理し、ウサギ抗ILKポリクローナル抗体（カタログ#06-592、Upstate Biotechnology、ニューヨーク州レークプラシッド）で染色した。次いで、切片をペルオキシダーゼ-結合ヤギ抗ウサギポリクローナル抗体と共にインキュベートした。次いで、スライドを標準の技術を用いて発色させた。

10

#### 【 0 4 7 1 】

正常皮膚では、皮膚角化細胞の上基底層（supra-basal layer）において低レベルのILK発現が明白であった。皮膚角化細胞のこれらの上基底層は、ほぼ確実に終末分化のプロセスを受けていた。ILKに対する染色強度は、より外側の角質層付近の角化細胞でより強かった。真皮血管内皮ではILK染色はほとんど、またはまったく見られなかった。これとは対照的に、ILK染色は乾癬患者の斑内の過剰増殖角化細胞で非常に強かった。乾癬患者の斑の真皮領域内で、脈管構造を構成する細胞はILKに対して強く染色された。さらに、真皮領域にある炎症細胞のいくつかは、ILKに対して陽染された。全体として、正常皮膚とは対照的に、ILKは乾癬患者の皮膚斑内の表皮および真皮領域内ではるかに高レベルで発現された。

20

#### 【 0 4 7 2 】

##### 実施例48

乾癬組織におけるILKの発現は疾患の重症度に相関する

乾癬皮膚内のILKの発現を、3ヶ月間にわたり患者から得た一連の斑生検試料について評価した。ILKの存在および発現パターンを、免疫組織学的分析により評価した。すべての切片を同時に染色した。乾癬について、疾患状態は表皮の相対的厚さによって判断することができる。評価した一連の生検試料について、ILKの発現レベルは組織レベルで乾癬の疾患状態に密接に近似していた。

#### 【 0 4 7 3 】

第一の試料（パネルA）を、患者が活動性疾患を経験中のスクリーニングで得た。ILKに対する染色は、標的斑内の角化細胞で強かった。斑の真皮領域内では、脈管構造内の細胞ならびに領域に浸潤した細胞もILKに対して強く染色された。第二の試料（パネルB）を、1ヶ月後、疾患の活動性がさらに強化された時点で得た。この試料でのILK染色強度は第一の試料よりもはるかに強かった。第三の試料は、試料Bの約4週間後、この被検者が疾患の改善および表皮厚さの減少を示している時期に採取した。この試料（パネルC）について、表皮角化細胞および真皮脈管構造の細胞内の両方で、ILK染色強度の対応する低下が見られた。試料4は、試料1の3ヶ月後、被検者が疾患の活動性の再燃を経験している時期に得た。試料4の表皮厚さは試料3よりも厚かった。この時点で、真皮脈管構造および細胞浸潤物内、ならびに表皮角化細胞について、ILK染色強度の増大が明白であった（パネルD）。このように、乾癬斑内のILKの発現レベルは疾患の活動性に応じて変動し、高いILK発現は活動性疾患の症状に相関していた。

30

40

#### 【 0 4 7 4 】

##### 実施例49

抗ILK化合物は好中球の炎症部位への流入を阻害する

ザイモサンなどの特定の炎症誘発性物質のマウス腹腔内への投与は、好中球のこの領域への急速な流入を誘発する。これらの細胞の腹腔内への遊走は、サイトカイン、ケモカイン、および細胞接着分子の協調相互作用を必要とする。そのようなシステムを用いて、炎症誘発性の刺激に応答しての細胞の遊走を変更する可能性がある化合物の作用を評価することができる。

#### 【 0 4 7 5 】

50

ザイモサンをマウスに投与した場合、4時間以内に腹腔好中球の数が約4倍増加した。しかし、ザイモサン投与時に本発明の化合物を200mg/kgで経口投与すると、腹腔内の細胞数は4時間前に食塩水対照溶媒の投与を受けたマウスと同等であった。このように、特異的インビトロ抗ILK活性を有する化合物は、インビボでの強い炎症誘発シグナルの送達後に起こる、細胞の組織への流入に影響をおよぼすことができる。

#### 【0476】

刺激物接触皮膚炎 (ICD) およびアレルギー性接触皮膚炎 (ACD) を含む、急性炎症モデルに関する議論については、例えば、Artik S., von Vultee C., Gleichmann E., Schwar z T., および Griem P. 「Nickel allergy in mice: enhanced sensitization capacity of nickel at higher oxidation states」 J. Immunol. (1999) 163(3):1143-52 ; Becker D., Lempertz U., Enk A., Saloga J., および Knop J. 「Contact sensitizers modulate mechanisms of receptor-mediated endocytosis but not fluid-phase endocytosis in murine epidermal Langerhans cells」 Exp. Dermatol. (1995) 4(4 Pt 1):211-7 ; Griswold D. E., Martin L.D., Badger A.M., Breton J., および Chabot-Fletcher M. 「Evaluation of the cutaneous anti-inflammatory activity of azaspiranes」 Inflamm. Res. (1998) 47 (2):56-61 ; ならびに Moreno J.J. 「Effect of retinoids on dermal inflammation and on arachidonic acid mobilization and metabolism in murine 3T6 fibroblasts retinoids, arachidonate release and metabolism」 Int. J Immunopharmacol. (1996) 18(8-9): 459-65を参照されたい。

#### 【0477】

##### 実施例50

腎障害インビトロマウス足細胞モデルにおける治療的介入としてのILK阻害の証明

##### 1. 足細胞における生存アッセイ

糸球体内臓上皮細胞 (足細胞) の高濃度ピューロマイシンアミノヌクレオシド (PAN) による処理は、顕著な細胞毒性効果を引き起こす。細胞毒曝露後の細胞生存度の評価は、クリスタルバイオレットでの染色後の細胞表現型における変化を調べることにより質的に判断することができ、あるいは可溶性テトラゾリウム塩[3-(4,5-ジメチルチアゾル-2-イル)-5-(3-カルボキシメトキシフェニル)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム、内部塩] (MTS) を用いた細胞毒性アッセイを使用することにより定量的に評価することもできる。そのようなシステムを用いて、PANまたは他の細胞毒性物質への曝露後に、ILK化合物が足細胞に対して有する生存効果を評価することができる。

#### 【0478】

足細胞モデルのために用いた細胞株はマウスK5P5であった。細胞を維持し、組織培養フラスコ (T75) 内の10U/mlのIFN を補足したRPMI 1640 + 10%FBS培地中で増殖させ、5%CO<sub>2</sub>、37 でインキュベートした。細胞は最大20継代までで増殖させた。

#### 【0479】

細胞をトリプシン (0.25%) 処理し、組織培養フラスコから回収し、遠心分離し、再懸濁して、計数した。

#### 【0480】

コラーゲンコーティングしたフラスコを、100 µg/mlのコラーゲンI (Biochrom) 1ml/25 cm<sup>2</sup>を加えることにより調製し、37 で1時間結合させた。次いで、フラスコをPBSで2回洗浄し、未結合のコラーゲンIを除去した。

#### 【0481】

足細胞の細胞分化を、細胞 (1 × 10<sup>6</sup>) をコラーゲンIでコーティングしたフラスコ (T150) 上のIFN を含まないRPMI 1640 + 10%FBS培地中に播種することにより開始した。フラスコを5%CO<sub>2</sub>、37 で3日間インキュベートした。

#### 【0482】

細胞をトリプシン (0.25%) 処理し、組織培養フラスコから回収し、遠心分離し、再懸濁して、計数した。

#### 【0483】

足細胞の細胞分化を、細胞 ( $7 \times 10^5$ ) をコラーゲンIでコーティングしたフラスコ (T150) 上のIFN を含まないRPMI 1640 + 10%FBS培地中に播種することにより継続した。フラスコを5%CO<sub>2</sub>、37 で4日間インキュベートした。

【0484】

コラーゲンコーティングした96穴プレートを、100 µg/mlのコラーゲンI (Biochrom) 75 µl/ウェルを加えることにより調製し、37 で1時間結合させた。次いで、フラスコをPBSで2回洗浄し、未結合のコラーゲンIを除去した。

【0485】

細胞をトリプシン (0.25%) 処理し、組織培養フラスコから回収し、遠心分離し、再懸濁して、計数した。足細胞の細胞分化を、細胞 ( $3.5 \times 10^3$ ) をコラーゲンIでコーティングした96穴プレート上のIFN を含まない10%FBS RPMI 1640培地に播種することにより継続した。フラスコを5%CO<sub>2</sub>、37 で3日間インキュベートした。

【0486】

10日目に96穴プレートから上清を除去し、2%FBS RPMI 1640に置き換えて終夜放置した。

【0487】

試験化合物について、細胞培養培地 (例えば、RPMI 1640 + 2%FBS)、40mM保存化合物から所望の最終濃度の10×化合物溶液を調製した。

【0488】

この10×化合物溶液10 µlを、すでに96穴プレートに入れた細胞80 µlに加える。細胞毒性処理を行っている細胞について、ピューロマイシニアミノヌクレオシド (PAN、Sigma P7130) 10×濃度で細胞90 µlに加えた。陽性対照は化合物なしのPAN処理である。陰性対照はPANなしで化合物と同じ倍率に希釈した100%DMSOである。

【0489】

プレートを5%CO<sub>2</sub>、37 で、PAN濃度に応じて48から72時間 (すなわち、低い濃度のPANほど長いインキュベーション時間が必要である) インキュベートする。プレートを室温、2400rpmで10分間回転させた後、培地を吸引する。1×DPBS (100 µl、CaCl<sub>2</sub>なし、MgCl<sub>2</sub>なし) を各ウェルに加える。

【0490】

MTS (Promega) を、低照明条件下、MTS (4.0g) を1×DPBS (1.8l) に溶解することにより調製する。溶液を10分間放置し、pHを6.2に調節する。H<sub>2</sub>Oを加えて2Lとする。PMS (100 ml) を加え (PMS (0.92g) を1×DPBS (1.0l) に溶解する)、MTS (20 µl) を各ウェルにゆっくり加え、37 で4時間インキュベートする。マイクロプレート読み取り器で490nmの吸光度を測定する。

【0491】

このアッセイを行うために利用可能なキットは、Promegaによる「CellTiter 96 (登録商標) AQueous Kit (G5421)」である。

【0492】

4つの重複測定の値を平均し、阻害%を下記のとおり算出する：  
生存% = 100 - [(AVG処理 - AVG陽性対照) / (AVG陰性対照 - AVG陽性対照) × 100]。

【0493】

5つの代表的化合物の細胞防御活性を表6に示す。IC<sub>50</sub>測定値のいくつかは2.5から12.5 µMの範囲で、化合物の2つはPAN存在下でK5P5足細胞の生存80%に達した (データは示していない)。MTSアッセイで観察された化合物の効果をさらに評価するために、細胞を形態変化について分析した。細胞をクリスタルバイオレットで染色後に撮影した。結果は、MTSアッセイで観察された細胞生存の増大が、足細胞の正常な表現型の修復に相関していることを示していた。したがって、化合物の用量増大は、細胞のサイズ、細胞拡散 (付着) および全体の細胞数の増大を引き起こした (データは示していない)。

【0494】

表6：処理K5P5足細胞株のPANについての生存% (IC<sub>50</sub>、µM)

10

20

30

40

50

化学名	生存%
2-(3-アミノ-5-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-ベンゾチアゾール-6-スルホン酸 メチルアミド	12.5
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6- スルホン酸アミド	30% @ 12.5
2-(5-アミノ-3-メチル-1H-ピラゾル-4-イル)-5-フルオロ-ベンゾチアゾール-6- スルホン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド	30% @ 25
4-(5-フルオロ-6-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル)-5-フラン-2-イル-2H-ピラゾル- 3-イルアミン	2.5
4-(6-ジメチルアミノメチル-ベンゾチアゾール-2-イル)-5-メチル-2H-ピラゾル- 3-イルアミン	12.5

10

## 【 0 4 9 5 】

## 2. トランスジェニックマウスモデル

メタロチオネインIプロモーター下でウシ成長ホルモン（GH）の遺伝子導入マウスを用いる（Wanke, R.ら、Pediatric Nephrol (1991) 5:513-521）。遺伝子型を、ウシGH特異的プライマー（Wanke, R.ら、上記）を用いてのゲノムPCRにより確認することができる。複数の動物からの腎臓をプールした後に、糸球体を単離することができる。動物モデルの場合、加速腎毒性血清腎炎（NTX）を4から6週齢の雌で、以前に報告されているとおりに誘導する（Schadde, E.ら、Nephrol Dial Transplant (2000) 15:1046-1053 ; Neugarten, J.ら、J Am Soc Nephrol (1995) 5:1903-1909）。ウサギIgGによる予備免疫の5日後に、腎毒性ウサギ抗マウスGBM抗血清の蛋白質A精製IgG画分400 μgを静脈内に注射し、一方、対照群には担体のみを投与する。各群のマウスを0、2、および7日後に屠殺し、発現分析のためのプールした糸球体画分を各群から得る。アルブミン尿を、市販のマウスアルブミン特異的ELISAシステム（Exocell、ペンシルヴァニア州フィラデルフィア）を用いて定量する。

20

30

## 【 0 4 9 6 】

## 3. 足細胞からのILKのレベル測定

候補ピルゾリルベンゾチアゾール化合物のインビボでの有効性を評価するために、下記の足細胞抽出法を用いることができる。単細胞RT-PCRを、Schroppel, B.ら、Kidney Int (1998) 53:119-124に記載のとおり実施する。CD-1マウスから新しく解剖した糸球体を、パッチクランプ器具上に移す。細胞をマイクロピペット中に吸引することにより、単一の足細胞を選択的に回収する。逆転写およびRT-PCRを、本質的には前述のとおりであるが、30サイクルの代わりに50サイクルを用いて実施する。糸球体の次に吸引した灌流培地を、並行して処理し、陰性対照とする。単細胞ILK RT-PCR生成物の同一性を、制限酵素消化により検証した。単一足細胞RNAを、発表されている実時間RT-PCRテクノロジー（Heid, C.A.ら、Genome Res (1996) 6:986-994）を用いて定量する。単一足細胞cDNAあたりのILKコピー数の定量のために、コピー数が既知のILKプラスミドcDNAの連続希釈液の標準曲線を用いる。足細胞cDNAあたりのILKコピーを、Ct値マイナス希釈率および100,000から10の間のILKプラスミドコピーの対数倍希釈液の重複増幅反応から作成した標準曲線（ $y = -1,6227\ln(x) + 39$ ,  $R^2 = 0,9935$ ）を用いて算出する。

40

## 【 0 4 9 7 】

## 4. アドリアマイシン誘導性蛋白尿モデル

このモデルは巣状糸球体硬化症（FGS）を来とし、Wang, Y.ら、Kidney Int (2000) 58:1797-1804に詳しく記載されている。BALB/cマウスの群に、10～11mg/kgのアドリアマイシ

50

ン（ADR、ドキソルピシン塩酸塩、Pharmacia & Upjohn）の一回用量、または媒体対照を第0日に静脈内注射する。各群6から8匹のマウスを分析する。

【0498】

群	処置
陰性対照群	静脈内に、第0日に担体、第0日から毎日媒体
陽性対照群	静脈内に、第0日にADR、第0日から毎日媒体
試験群	静脈内に、第0日にADR、第0日から様々な用量のILK阻害剤

10

【0499】

ピラゾリルベンゾチアゾール化合物を経口、腹腔内、または皮下注入ポンプにより、0.01～200mg/kgの範囲の1日用量で、第0日に開始して投与する。媒体（担体）対照を同じ経路により等しい量で投与する。

【0500】

実験的読み出しには、毎週の体重、尿量、尿蛋白質、血清クレアチニンおよびアルブミン、ならびに終点での組織病理学検査が含まれる。陰性対照マウスは、実験的読み出しにおいて有意な変化を示さない。陽性対照群は、実験的読み出しを用いて、急速進行性の腎疾患（FGS）に関連する有意な変化、すなわち、蛋白質尿、低アルブミン血、高クレアチニン血、および組織検査による進行性の腎傷害を示す。様々な用量のピラゾリルベンゾチアゾール化合物で治療した実験群では、陽性対照群に比べて、進行性腎疾患の測定パラメーターにおける低下が見られ、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物の投与はこの急性進行性巣状系球体硬化症のモデルで治療上の利益があることを示している。

20

【0501】

5. マウス片側尿管閉塞モデル

このモデルは、腎線維症における上皮－間葉分化転換を起こし、Vielhauer V.ら、J Am Soc Nephrol（2001）12:1173-1187に記載されている。要するに、体重約20～26gの雌近交系C57BL/6マウスを入手し、ほぼ12時間毎の明暗周期で維持する。飼料と水は自由に摂取させる。全身麻酔下で、UUOを来す片側尿管結紮を、左遠位尿管を2/0Mersilene（商標）縫合糸で下部正中線腹部切開を通して結紮することにより実施する。非閉塞の対側腎を対照とする。

30

【0502】

UUOモデルのための実験計画

群（マウス8～10匹）	前処置	処置
陰性対照群	偽手術マウス	担体のみを10日間投与
陽性対照群	1つの腎を閉塞させたマウス	担体のみを10日間投与
試験群	1つの腎を閉塞させたマウス	様々な用量のILK阻害剤を10日間投与

40

【0503】

試験化合物を経口、腹腔内、または皮下注入ポンプにより、0.01～200mg/kgの範囲の1

50



日用量で投与する。媒体（担体）対照を同じ経路により等しい量で投与する。実験的読み出しには、組織学的線維症スコア、血清尿素、コラーゲンレベル、およびILK mRNA発現が含まれた。ILK mRNAレベルの分析も、UUOモデルの腎線維症における細胞選別後の浸潤細胞（マクロファージおよびT細胞）において実施する。陰性対照（偽手術）マウスは、実験的読み出しにおいて有意な変化を示さない。UUO対照群は、実験的読み出しを用いて、結紮した腎の腎線維症に関連する有意な変化を示す。これらのマウスで同様に観察されるのは、ILK mRNA誘導の増大である。様々な用量のピラゾリルベンゾチアゾール化合物で治療した実験群では、非結紮腎を内部対照として用い、非結紮腎は実験的読み出しを用いて尿細管間質性線維症に関連する有意な変化を示さないが、損傷腎はUUO対照群に比べて、腎線維症の測定パラメーターにおける低下が見られる。この結果は、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物の投与はこの腎尿細管間質性線維症のモデルにおいて治療上の利益があることを示している。

10

【0504】

## 実施例51

Visudyne（商標）療法の補助剤としてILK阻害剤を用いたAMDの治療

AMDにおけるピラゾリルベンゾチアゾール化合物の治療効果を、一次臨床転帰として視力を用いて評価する。AMDによる脳弓下CNV損傷を有する患者を、封入体（inclusion）基準に合う損傷が存在するか検査する。封入体基準は、フルオレセイン血管造影および視力検査に基づき、古典的CNVの徴候を有する最大直線寸法5400  $\mu\text{m}$ 以下の損傷があり、最良補正視力が約20/40から20/200であると定義される。AMDの治療を受ける資格があると認定された者を4群に無作為に割り付ける。A、B、およびC群を標準のVisudyne（商標）療法およびILK阻害剤を用いた補助療法で治療する。D群の患者は標準のVisudyne（商標）療法とILK阻害剤のブラシーボとの組み合わせで治療する。

20

【0505】

標準のVisudyne（商標）療法の場合、患者に30mlのVisudyne（商標）（体重1kgあたり0.15mg）を投与する。投与は10分間の静脈内注入である。注入収量から15分後、レーザー光線を、50J/cm<sup>2</sup>の光線曝露を得られることがわかっている倍率の眼底コンタクトレンズを通してCNV損傷に83秒間適用する。損傷領域を含む約6000ミクロンの円形スポットをレーザー光線に曝露する。

【0506】

30

補助療法の場合、A、B、およびC群の患者に、ILK阻害剤をそれぞれ体重1kgあたり5、10、20mgの用量で毎日経口投与する。補助療法は、患者が標準のVisudyne（商標）療法を受ける3日後に開始し、1ヶ月間続ける。

【0507】

追跡管理として、患者を3ヶ月毎に検査する。定期的に計画した各追跡管理来診時に、最良補正視力測定、コントラスト閾値測定、検眼鏡検査、立体視眼底写真、およびフルオレセイン血管造影を行う。

【0508】

## 実施例52

ILK阻害剤を用いた糖尿病性網膜症の治療

40

増殖性糖尿病性網膜症におけるピラゾリルベンゾチアゾール化合物の治療効果を、一次臨床転帰として視力を用いて評価する。増殖性糖尿病性網膜症で各眼の視力20/100以上の患者を臨床評価に含める。患者を3治療群および1ブラシーボ群に無作為に割り付ける。A、B、およびC群を、体重1kgあたり5、10、20mgの用量のピラゾリルベンゾチアゾール化合物を毎日経口投与して治療する。D群の患者はブラシーボを投与する。治療は24ヶ月にわたる。

【0509】

追跡管理として、患者を4ヶ月毎に検査する。定期的に計画した各追跡管理来診時に、最良補正視力測定、コントラスト閾値測定、間接検眼鏡検査、立体視眼底写真、フルオレセイン血管造影、および78-または90-ジオプトリーレンズを用いてスリット-ランプ検査

50

を行う。

【0510】

#### 実施例53

##### 眼血管組織におけるILK発現の評価

この実施例は、眼の血管新生が根元的病理である疾患の治療標的としてのILKの妥当性を示している。

【0511】

ヒヒの剖検眼試料を、眼血管におけるILKの発現についての免疫組織学的分析にかけた。新しく得た組織を、液体窒素のジュワー（Dewar）びんに浸漬することにより、急速凍結した。5～10ミクロンの横断切片を調製し、冷アセトン（-20℃）中に固定した。免疫組織検査を、ウサギ抗ILK抗体（Upstate Biotechnology Institute、ニューヨーク、Cat.# 06-550）およびZymed Histostatin（商標）Plusキット（Zymed、Cat.#85-9743）を用いて実施した。

【0512】

ヒヒの剖検眼試料の脈絡膜および網膜内皮で、ILKの多量の発現が検出された。同様の条件下で、網膜着色上皮細胞において有意なレベルのILK発現は検出されなかった。加えて、ニューロンおよび光受容体でも有意なILKの発現は認められなかった。

【0513】

#### 実施例54

##### 角膜血管新生のILK阻害剤による治療

下記のモデルは、ピラゾリルベンゾチアゾール化合物の抗血管形成活性を評価するために用いることができる、定量可能なインビボアッセイを提供する。角膜血管新生は、硝酸銀焼灼術として知られる方法によって誘導される。この方法は、硝酸銀塗布具（Graham-Field、ニューヨーク、Item# 1590、75%硝酸銀、25%硝酸カリウム）で結膜/縁を1秒間静かにさわった後、麻酔マウスの中心角膜を8秒間さわることにより、角膜上に硝酸銀を局所適用することを含む。その直後、眼を食塩水10mlで洗浄し、続いてGentak（商標）Ophthalmic Ointment（0.3%硫酸ゲンタマイシン）を眼に局所適用して、細菌感染を防ぐ。

【0514】

カラービデオカメラおよびコンピューターに接続した立体解剖顕微鏡を用いて毎日角膜を検査し、撮影することにより、角膜血管新生を記録し、評価する。血管形成を、以前の無血管角膜内での新しい血管増殖に基づき、角膜における血管新生なしから非常に重度の血管新生まで評価する評点システム（0～4点）を用いて評価する。加えて、実験完了（第5～7日）後、角膜血管新生を、剖検全角膜マウントにおける色素染色血管のコンピューター画像分析（Image Pro Plus、Media Cybernetics、ML）を用いて定量する。角膜脈管構造を安楽死前の麻酔マウスに高分子量FITC-デキストランをIV注射することにより染色する。

【0515】

動物に、硝酸銀焼灼法の2日後に開始して、実験終了の24時間前まで、5、25、または50 mg/kgの用量でピラゾリルベンゾチアゾール化合物を毎日腹腔内投与する。ILK阻害剤治療動物の角膜血管新生を、媒体治療動物と比較する。

【0516】

#### 実施例55

##### CNVのサルモデルを用いた脈絡膜血管新生のILK阻害剤による治療

下記のモデルは、CNV治療のためのピラゾリルベンゾチアゾール化合物の治療能力を評価するために用いることができる、インビボアッセイを提供する。CNVを、Ryanのモデルの改変版を用いて、カニクイザルの斑に置いたアルゴングリーンレーザー熱傷により誘導する。直径50 μmのレーザー熱傷を、アルゴンレーザー（Coherent Argon Dye Laser #920、Coherent Medical Laser、カリフォルニア州パロアルト）を用いて、514nmの350～450mWレーザー光線に0.1秒曝露することにより誘導する。

【0517】

CNVを眼底写真およびフルオレセイン血管造影による週ごとの検査でモニターする。実験終了（CNV誘導の2～3ヶ月後）時、深麻酔下で眼を摘出し、改変Kanovsky固定液中で固定する。固定の20分後に2等分する。次いで、組織を包埋し、組織学的および免疫組織学的分析のために、CD-31およびVE-カドヘリンを含む脈管構造特異的マーカーに対する抗体を用いて、切片を作成する。血管新生の程度を、Image Pro Plus（Media Cybernetics、ML）によるコンピューター画像分析システムを用いて定量する。

【0518】

動物に、CNV発生後（レーザー処置の2～3週間後）に開始して、10、50、または100mg/kgの用量でピラゾリルベンゾチアゾール化合物を毎日経口投与する。対照として、サル群に媒体のみの経口治療を毎日行う。ILK阻害剤治療動物のCNVを媒体治療動物と、CNVの血管造影および免疫組織学的徴候について比較する。

10

【0519】

実施例56

虚血誘導性網膜症のマウスモデルを用いた網膜血管新生のILK阻害剤による治療

下記のモデルは、網膜症治療のためのピラゾリルベンゾチアゾール化合物の治療能力を評価するために用いることができる、インビボアッセイを提供する。これは未熟児の網膜症のマウスモデルである。マウスの網膜症を新生仔マウスで誘導する。マウスをその授乳母と共に生後7日から12日まで75%酸素/25%窒素に曝露し、次いで室内雰囲気に戻す。

【0520】

第17日に、すべての仔マウスを秤量し、安楽死させ、左心室を通して1mlの固定液（4%パラホルムアルデヒド/8%ショ糖/リン酸ナトリウム緩衝液、pH7.2）で灌流する。眼を摘出し、固定液の中に入れる。固定組織をパラフィン包埋し、4μm切片を切断する。CD-31およびVE-カドヘリンを含む内皮特異的マーカーに対する抗体を用いて免疫組織学的方法を実施し、網膜血管新生の程度を評価する。血管特異的染色を、コンピューター画像分析法（Image Pro Plus、Media Cybernetics、ML）を用いて定量する。

20

【0521】

第12日から第16日まで、5、25、または50mg/kgの用量でピラゾリルベンゾチアゾール化合物を毎日腹腔内注射により投与する。対照群には媒体を毎日注射する。化合物で処置したマウスおよび媒体のみで処置したマウスの血管染色の程度を比較することにより、網膜血管新生に対するILK阻害剤の阻害効果を評価する。

30

【0522】

前述の内容から、本明細書において本発明の特定の態様を例示のために記載してきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、様々な変更を加えうることが理解されるであろう。したがって、本発明は添付の特許請求の範囲による以外は制限されることはない。

【配列表】

0004468810000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)		A 6 1 K 31/5377
A 6 1 K 41/00 (2006.01)		A 6 1 K 41/00
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 11/06 (2006.01)		A 6 1 P 11/06
A 6 1 P 17/02 (2006.01)		A 6 1 P 17/02
A 6 1 P 17/06 (2006.01)		A 6 1 P 17/06
A 6 1 P 19/02 (2006.01)		A 6 1 P 19/02
A 6 1 P 27/02 (2006.01)		A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 29/00 (2006.01)		A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/08 (2006.01)		A 6 1 P 37/08
C 0 7 D 417/14 (2006.01)		C 0 7 D 417/14

- (72)発明者 デイナルド チモシー エス .  
カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州 バンクーバー ウェスト 62nd アベニュー 1  
836
- (72)発明者 ワン シセン  
カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州 コキュートラム レイブン コート 2550
- (72)発明者 デュ チンヤオ  
カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州 リッチモンド カンピエ ロード 69-12551
- (72)発明者 チョピウク グレゴリー ビー .  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ ウェスト オーシャン エアー ドライブ  
387-10994
- (72)発明者 ヤン ジュン  
カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州 コキュートラム アルダーソン アベニュー 819
- (72)発明者 チェン ジャンシン  
カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州 ウェスト 18ス アベニュー 3948
- (72)発明者 シビリドブ サーグエイ ブイ .  
カナダ国 ブリティッシュ コロンビア州 バーナビー オリーブ アベニュー 1904-58  
85

審査官 安藤 倫世

- (56)参考文献 国際公開第01/053331(WO, A1)  
特開昭52-108427(JP, A)  
国際公開第98/046594(WO, A1)  
国際公開第03/055860(WO, A1)  
国際公開第01/009121(WO, A1)  
国際公開第01/077080(WO, A1)  
特表2005-526802(JP, A)  
特表2004-520394(JP, A)  
特表2005-509036(JP, A)  
国際公開第03/080610(WO, A1)  
国際公開第02/062804(WO, A1)  
国際公開第03/042214(WO, A1)  
Dawood, Kamal M., Heterocyclic synthesis via enamionitriles: a convenient route to some new pyrazole, isoxazole, pyrimidine, pyrazolo[1,5-a]pyrimidine, pyrimido[1,2-a]ben

- zimidazole and pyrido[1,2-a]benzimidazole derivatives, Journal of Chemical Research, Synopses, 1998年, No.4, p.208-209
- Nawwar, Galal A., Synthesis of 2-substituted benzothiazoles containing amino acid, imino or heteroaryl moieties with anticipated fungicidal activity, Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1995年, Vol.60, No.12, p.2200-2208
- Fadda, A. A., Revised synthesis of some new 2-heterocyclic benzothiazolyl derivatives of biological interest, Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, 1999年, Vol.155, p.59-66
- Gorbulyenko, N. V., Chemistry of isoflavone hetero analogs. 16. Benzothiazole analogs of isoflavones, Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii, 1994年, No.4, p.464-471
- Nawwar, Galal A., Some reactions of 2-(cyanomethyl)benzothiazole versus the corresponding benzimidazole derivative, Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, 1993年, Vol.79, No.1-4, p.195-205
- Moharram, H. H., Synthesis of some benzothiazole derivatives of expected biological activity, Egyptian Journal of Chemistry, 1983年, Vol.26, No.3, p.261-266
- Jayanth, M. R., Vilsmeier-Haack reaction. VIII. Synthesis of new heterocyclic derivatives from benzothiazole, 6-methoxybenzoxazole, naphth-1,2-oxazole and naphth-2,1-oxazole, Indian Journal of Chemistry, 1973年, Vol.11, No.11, p.1112-1114
- DATABASE REGISTRY, Chemical ABSTRACTS SERVICE, Columbus, OHIO, US; Registry No. 304889-61-0, Entered STN: 29 Nov 2000, 2000年
- DATABASE REGISTRY, Chemical ABSTRACTS SERVICE, Columbus, OHIO, US; Registry No. 302575-57-1, Entered STN: 29 Nov 2000, 2000年
- DATABASE REGISTRY, Chemical ABSTRACTS SERVICE, Columbus, OHIO, US; Registry No. 385424-29-3, Entered STN: 22 Jan 2002, 2002年
- DATABASE REGISTRY, Chemical ABSTRACTS SERVICE, Columbus, OHIO, US; Registry No. 384367-09-3, Entered STN: 22 Jan 2002, 2002年
- Nawwar, Galal A., Studies on 2-substituted methylazoles: the preparation and reactions of 2-cyanomethylimidazo[4,5-b]pyridine, Anales de Quimica, 1993年, Vol.89, No.3, p.375-378

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C07D 417/04-417/14

A61K 31/428-31/554

CA/REGISTRY(STN)