

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-535226

(P2018-535226A)

(43) 公表日 平成30年11月29日(2018.11.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 403/14 (2006.01)	C 0 7 D 403/14 C S P	4 C 0 6 3
A 6 1 K 31/501 (2006.01)	A 6 1 K 31/501	4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁)

(21) 出願番号 特願2018-526706 (P2018-526706)
 (86) (22) 出願日 平成28年11月25日 (2016.11.25)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年5月22日 (2018.5.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2016/078899
 (87) 国際公開番号 W02017/089587
 (87) 国際公開日 平成29年6月1日 (2017.6.1)
 (31) 優先権主張番号 1520959.6
 (32) 優先日 平成27年11月27日 (2015.11.27)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

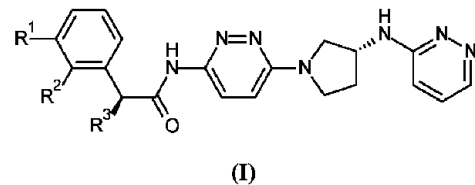
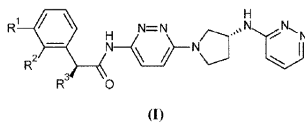
(71) 出願人 391008951
 アストラゼネカ・アクチエボラグ
 ASTRAZENECA AKTIEBO
 LAG
 スウェーデン国エスエー 1 5 1 8 5 セ
 ーデルティエ
 (71) 出願人 598176569
 キャンサー・リサーチ・テクノロジー・リ
 ミテッド
 CANCER RESEARCH TEC
 HNOLOGY LIMITED
 イギリス・イーシー1ヴィー・4エーディ
 ー・ロンドン・セント・ジョン・ストリー
 ト・407・エンジェル・ビルディング

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ビスーピリダジン化合物およびがんの治療におけるその使用

(57) 【要約】

式 (I) の化合物:



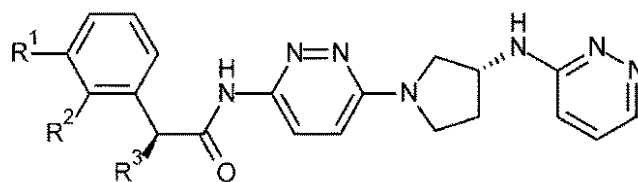
またはその薬学的に許容できる塩 (式中、 R^1 は、ヒドロ、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり得； R^2 は、ヒドロ、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルであり得；かつ R^3 は、ヒドロまたはメトキシであり得る) に関する。式 (I) の化合物は、グルタミナーゼ、例えば GLS 1 を阻害し得る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の化合物：

【化 1】



(I)

10

またはその薬学的に許容できる塩（式中、

R¹ は、ヒドロ、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり；

R² は、ヒドロ、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルであり；
かつ

R³ は、ヒドロまたはメトキシである）。

【請求項 2】

R¹ がメトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシである、請求項 1 に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

20

【請求項 3】

R¹ がメトキシである、請求項 2 に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 4】

R² がヒドロである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 5】

R² がメトキシである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 6】

R³ がメトキシである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

30

【請求項 7】

R³ がヒドロである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 8】

R¹ がメトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり；

R² がヒドロであり；かつ

R³ がメトキシである、

請求項 1 に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

40

【請求項 9】

R¹ がヒドロであり；

R² がメトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルであり；かつ

R³ がヒドロである、

請求項 1 に請求される式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 10】

式 (I) の化合物が、

(2S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ)フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド；

50

(2S) - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド ;

(2S) - 2 - メトキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド ;

2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド ;

N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメチル)フェニル]アセトアミド ; および

10

N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメトキシ)フェニル]アセトアミドから選択される、式(I)の化合物、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に請求される式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも 1 つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物。

【請求項 1 2】

20

治療に用いられる、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に請求される式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 1 3】

がんの治療に用いられる、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に請求される式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩。

【請求項 1 4】

がんの治療用の薬剤の製造における、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に請求される式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の使用。

【請求項 1 5】

かかる治療を必要とする温血動物におけるがんを治療するための方法であって、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に請求される式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩を治療有効量で前記温血動物に投与するステップを含む、方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本明細書は、一般に、ビス - ピリダジン化合物およびその薬学的に許容できる塩に関する。これらの化合物は、グルタミナーゼ 1 酵素(「GLS1」)に作用し、それ故、本明細書はまた、がんを含む GLS1 媒介性疾患を治療または予防するためのかかる化合物およびその塩の使用に関する。本明細書は、さらに、ビス - ピリダジン化合物およびその薬学的に許容できる塩を含む医薬組成物 ; かかる化合物および塩を含むキット ; かかる化合物および塩を作製する方法 ; かかる化合物および塩の作製に有用な中間体 ; ならびにがんを含む GLS1 キナーゼ媒介性疾患にかかる化合物および塩を用いて治療する方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

グルタミンは、最も豊富な血漿アミノ酸であり、多数の成長促進経路に関与する。特に、グルタミンは、トリカルボン酸回路における酸化および細胞のレドックス平衡の維持に関与し、ひいてはヌクレオチドおよびアミノ酸合成に窒素を提供する(非特許文献 1 ; 非特許文献 2)。多数のがん細胞が、解糖のピルビン酸がアセチル CoA を生成するのに用いられるのではなく乳酸に変換される場合のワールブルグ効果を含む、細胞内での代謝変化

50

の結果としてのグルタミン代謝に依存する（非特許文献３）。グルタミン代謝に対するこの依存性の結果として、かかるがん細胞は、外因性グルタミンレベルにおける変化に対して感受性を示す。さらに、グルタミノリシスが特定のがん型における主要な役割を担い（非特許文献４）、Mycなどの公知の発癌性ドライバーに関連する（非特許文献５）ことを示唆する多くの証拠が存在する。

【０００３】

グルタミン酸塩に対するグルタミン異化の最初のステップは、２つのアイソフォーム、GLS 1およびGLS 2（当初、腎臓および肝臓にて各々発現されるものとして同定された）として存在するグルタミナーゼにより触媒される。腎臓グルタミナーゼ（GLS 1）は、肝臓グルタミナーゼ（GLS 2）よりも広範に発現されることが知られており、２つのスプライスバリエント、KGAおよびより短いGACアイソフォームを有し、それら双方はミトコンドリア内に位置する（非特許文献６；非特許文献７）。GLS 1の発現は、多数の疾患型における腫瘍成長および悪性度に関連する（非特許文献８；非特許文献９）。したがって、GLS 1の阻害剤は、がんの単独療法としての治療または他の抗がん剤と組み合わせた治療において有用であることが想定される。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００４】

【非特許文献１】Curi et al., Front. Biosci. 2007, 12, 344 - 57

20

【非特許文献２】DeBardinis and Cheng, Oncogene 2009, 313 - 324

【非特許文献３】Koppenol et al., Nature Reviews 2011, 11, 325 - 337

【非特許文献４】Hensley et al., J. Clin. Invest. 2013, 123, 3678 - 3684

【非特許文献５】Dang, Cancer Res. 2010, 70, 859 - 863

【非特許文献６】Elgadi et al., Physiol. Genomics 1999, 1, 51 - 62

【非特許文献７】Cassago et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 2012, 109, 1092 - 1097

30

【非特許文献８】Wang et al., Cancer Cell 2010, 18, 207 - 219

【非特許文献９】van der Heuvel et al., Cancer Bio. Ther. 2012, 13, 1185 - 1194

【発明の概要】

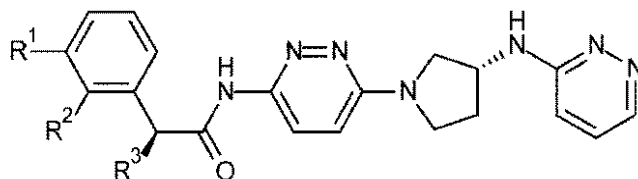
【課題を解決するための手段】

【０００５】

簡潔に述べると、本明細書は、部分的に、式（I）の化合物：

【化１】

40



(I)

またはその薬学的に許容できる塩（式中、

R¹ は、ヒドロ、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり；

R² は、ヒドロ、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルであり；

50

かつ

R^3 は、ヒドロまたはメトキシである)

を説明する。

【0006】

本明細書はまた、部分的に、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも1つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物を説明する。

【0007】

本明細書はまた、部分的に、治療に用いられる、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩を説明する。

10

【0008】

本明細書はまた、がんの治療に用いられる、部分的に、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩を説明する。

【0009】

本明細書はまた、部分的に、がんの治療用の薬剤の製造における、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の使用を説明する。

【0010】

本明細書はまた、部分的に、かかる治療を必要とする温血動物におけるがんを治療するための方法であって、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩を治療有効量で前記温血動物に投与するステップを含む、方法を説明する。

20

【発明を実施するための形態】

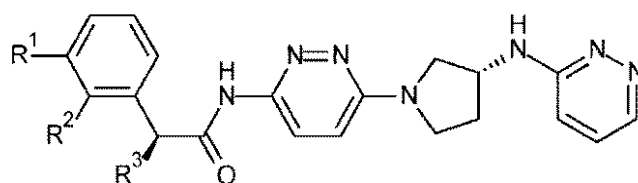
【0011】

多数の実施形態が、本明細書全体を通じて詳述され、当該技術分野に精通した読者にとって明白になるであろう。本発明は、その任意の特定の実施形態に限定されるものとして解釈されるべきでない。

【0012】

第1の実施形態では、式(I)の化合物：

【化2】



(I)

30

またはその薬学的に許容できる塩(式中、

R^1 は、ヒドロ、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり；

R^2 は、ヒドロ、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルであり；

かつ

40

R^3 は、ヒドロまたはメトキシである)

が提供される。

【0013】

ヒドロ基は、単一の水素原子である。例えば、 R^3 がヒドロである場合、式(I)中のカルボニル基に隣接した基はメチレン基である。 R^1 または R^2 がヒドロである場合、それらおよびそれらが付着される炭素原子は、芳香族CH基を形成する。

【0014】

用語「薬学的に許容できる」は、対象(例えば塩、剤形、希釈剤または担体)が患者における使用に適することを明示するために用いられる。薬学的に許容できる塩の事例リストが、Handbook of Pharmaceutical Salts: Prop

50

erties, Selection and Use, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, Weinheim / Zurich: Wiley-VCH / VHC A, 2002 中に見出すことができる。式 (I) の化合物の好適な薬学的に許容できる塩は、例えば酸付加塩である。式 (I) の化合物の酸付加塩は、化合物を当業者に公知の条件下で好適な無機酸または有機酸と接触状態にすることにより形成されてもよい。酸付加塩は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、およびリン酸から選択される無機酸を用いて形成されてもよい。酸付加塩はまた、例えば、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、またはベンゼンスルホン酸から選択される有機酸を用いて形成されてもよい。

【0015】

したがって、一実施形態では、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容できる塩が提供され、ここで薬学的に許容できる塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、またはベンゼンスルホン酸の塩である。

【0016】

一実施形態では、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容できる塩が提供され、ここで薬学的に許容できる塩は、塩酸または臭化水素酸の塩である。

【0017】

他の薬学的に許容できる塩を適切な PK_a の他の好適な酸とともに形成することが可能で有り得、これらが「薬学的に許容できる塩」の定義中に含まれることは理解されるべきである。

【0018】

式 (I) の化合物のさらなる好適な薬学的に許容できる塩は、塩基付加塩である。式 (I) の化合物の塩基付加塩は、化合物を当業者に公知の条件下で好適な無機塩基もしくは有機塩基と接触状態にすることにより形成されてもよい。塩基付加塩は、例えば、アルカリ金属水酸化物 (ナトリウム、カリウム、またはリチウム水酸化物など) またはアルカリ土類金属水酸化物 (水酸化カルシウムまたは水酸化マグネシウムなど) から選択される無機塩基を用いて形成されてもよい。塩基付加塩はまた、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリンおよびトリス - (2 - ヒドロキシエチル) アミンから選択される有機塩基を用いて形成されてもよい。

【0019】

したがって、一実施形態では、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容できる塩が提供され、ここで薬学的に許容できる塩は、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリン、またはトリス - (2 - ヒドロキシエチル) アミンの塩である。

【0020】

一実施形態では、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容できる塩が提供され、ここで薬学的に許容できる塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリン、またはトリス - (2 - ヒドロキシエチル) アミンの塩である。

【0021】

他の薬学的に許容できる塩基を他の好適な塩基とともに形成することが可能で有り得、これらが「薬学的に許容できる塩」の定義中に含まれることは理解されるべきである。

【0022】

さらなる実施形態は、本明細書で定義される実施形態のいずれか (例えば請求項 1 の実施形態) を、実施例 1、2、3、4、5 および 6 から選択される 1 つ以上の特定の実施例 (例えば、1 つ、2 つまたは 3 つの特定の実施例、または代替的に 1 つの特定の実施例) が個別に請求されないという条件で提供する。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 3 】

式 (I) 中の変数群の一部の値は以下の通りである。さらなる実施形態を提供するため、かかる値は、本明細書で定義される定義、請求項 (例えば請求項 1)、または実施形態のいずれかと組み合わせ用いられてもよい。

- a) R^1 は、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシである。
- b) R^1 は、メトキシまたはジフルオロメトキシである。
- c) R^1 は、メトキシまたはトリフルオロメトキシである。
- d) R^1 は、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシである。
- e) R^1 は、ヒドロである。
- f) R^1 は、メトキシである。
- g) R^1 は、ジフルオロメトキシである。
- h) R^1 は、トリフルオロメトキシである。
- i) R^2 は、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルである。
- j) R^2 は、ヒドロである。
- k) R^2 は、メトキシである。
- l) R^2 は、トリフルオロメトキシである。
- m) R^2 は、トリフルオロメチルである。
- n) R^3 は、ヒドロである。
- o) R^3 は、メトキシである。

10

【 0 0 2 4 】

20

一実施形態では、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩 (式中、
 R^1 は、ヒドロ、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり ;
 R^2 は、ヒドロであり ; かつ
 R^3 は、メトキシである)

が提供される。

【 0 0 2 5 】

一実施形態では、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩 (式中、
 R^1 は、メトキシ、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり ;
 R^2 は、ヒドロであり ; かつ
 R^3 は、メトキシである)

30

が提供される。

【 0 0 2 6 】

一実施形態では、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩 (式中、
 R^1 は、ヒドロであり ;
 R^2 は、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはトリフルオロメチルであり ; かつ
 R^3 は、ヒドロである)

が提供される。

【 0 0 2 7 】

一実施形態では、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩が提供され、こ
 こで式 (I) の化合物は、

40

(2 S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 -
 [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン -
 3 - イル] アセトアミド ;

(2 S) - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 -
 [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン
 - 3 - イル] アセトアミド ;

(2 S) - 2 - メトキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3 R) - 3
 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] アセ
 トアミド ;

2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イル

50

アミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド;

N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル]
ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメチル) フェニル] アセトアミド ;
および

N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル]
ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] アセトアミド
から選択される。

【 0 0 2 8 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メト
キシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル]
ピリダジン - 3 - イル] アセトアミド、またはその薬学的に許容できる塩が提供され
る。

10

【 0 0 2 9 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メト
キシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル]
ピリダジン - 3 - イル] アセトアミドが提供される。

【 0 0 3 0 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メト
キシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル]
ピリダジン - 3 - イル] アセトアミドの薬学的に許容できる塩が提供される。

20

【 0 0 3 1 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メ
トキシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 -
イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミド、またはその薬学的に許容できる塩が提供さ
れる。

【 0 0 3 2 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メ
トキシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 -
イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミドが提供される。

【 0 0 3 3 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メ
トキシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 -
イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミドの薬学的に許容できる塩が提供される。

30

【 0 0 3 4 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - メトキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) - N - [6
- [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン
- 3 - イル] アセトアミド、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。

【 0 0 3 5 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - メトキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) - N - [6
- [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン
- 3 - イル] アセトアミドが提供される。

40

【 0 0 3 6 】

一実施形態では、(2 S) - 2 - メトキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) - N - [6
- [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン
- 3 - イル] アセトアミドの薬学的に許容できる塩が提供される。

【 0 0 3 7 】

一実施形態では、2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリ
ダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミド
、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。

【 0 0 3 8 】

50

一実施形態では、2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミドが提供される。

【 0 0 3 9 】

一実施形態では、2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミドの薬学的に許容できる塩が提供される。

【 0 0 4 0 】

本明細書に記載の化合物および塩は、溶媒和形態および非溶媒和形態で存在してもよい。例えば、溶媒和形態は、水和形態、例えば、半水化物、一水和物、二水和物、三水和物またはその代替量であってもよい。本発明は、式 (I) の化合物のすべてのかかる溶媒和および非溶媒和形態を包含する。

10

【 0 0 4 1 】

本明細書に記載の化合物および塩の原子は、それらの同位体として存在してもよい。本発明は、原子がその同位体の 1 つ以上によって置き換わる場合の式 (I) のすべての化合物 (例えば、1 つ以上の炭素原子が ^{13}C もしくは ^{12}C 炭素同位体である場合、または 1 つ以上の水素原子が ^2H (ジュウテリウム) もしくは ^1H (トリチウム) 同位体である場合の式 (I) の化合物) を包含する。

【 0 0 4 2 】

本明細書に記載の化合物および塩は、互変異性体の混合物として存在してもよい。「互変異性体」は、水素原子の転位に起因する平衡状態で存在する構造異性体である。本発明は、式 (I) の化合物のあらゆる互変異性体を含む。

20

【 0 0 4 3 】

式 (I) の化合物は、それらの不斉炭素原子のために光学活性型で存在する。

【 0 0 4 4 】

式 (I) の特定化合物 (例えば、 R^3 が水素である場合) は、単一の鏡像異性体として存在する。したがって、一実施形態では、95%、98%または99%の鏡像体過剰率 (% e e) で存在する単一の鏡像異性体である、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。一実施形態では、単一の鏡像異性体は、99%の鏡像体過剰率 (% e e) で存在する。

30

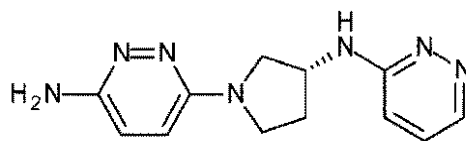
【 0 0 4 5 】

式 (I) の特定化合物 (例えば、 R^3 がメトキシである場合) は、単一のジアステレオマーとして存在する。したがって、一実施形態では、95%、98%または99%のジアステレオマー過剰率 (% d e) で存在する単一のジアステレオマーである、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。一実施形態では、単一のジアステレオマーは、99%のジアステレオマー過剰率 (% d e) で存在する。

【 0 0 4 6 】

式 (I) の化合物は、例えば、式 (I I) の化合物 :

【 化 3 】

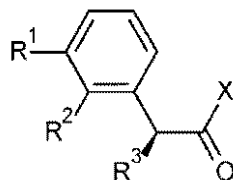


(II)

40

と式 (I I I) の化合物 :

【化 4】



(III)

(式中、 R^1 、 R^2 および R^3 は、本明細書中の実施形態のいずれかに定義され、かつ X は、ハロゲン原子 (例えば塩素原子) またはヒドロキシ基などの脱離基である) との反応により調製されてもよい。反応は、好適な溶媒 (例えば、DMF または DMA) 中、かつ好適な温度で (例えば、約 20 ~ 30 の環境温度でまたは上昇した温度、例えば 80 ~ 120 の間で、または代替的に約 100 で) 塩基 (例えば DIPEA) の存在下で便宜的に実施される。 X がヒドロキシ基である場合、アミド結合を形成するため、好適なカップリング剤 (例えば HATU) が用いられる。

【0047】

したがって、式 (II) の化合物、およびその塩は、式 (I) の化合物の調製における中間体として有用であり、さらなる実施形態を提供する。

【0048】

一実施形態では、6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - アミン、またはその塩が提供される。

【0049】

一実施形態では、6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - アミンが提供される。

【0050】

式 (III) の化合物、およびその塩は同様に、式 (I) の化合物の調製における中間体として有用であり、さらなる実施形態を提供する。

【0051】

一実施形態では、式 (III) の化合物、またはその塩 (式中、 R^1 は、ジフルオロメトキシまたはトリフルオロメトキシであり； R^2 は、ヒドロであり； R^3 は、メトキシであり；かつ X は、脱離基である) が提供される。一実施形態では、 X は、ヒドロキシまたはクロロである。一実施形態では、 X はヒドロキシである。

【0052】

一実施形態では、2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ酢酸、またはその塩が提供される。

【0053】

一実施形態では、2 - メトキシ - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] 酢酸、またはその塩が提供される。

【0054】

一実施形態では、2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ酢酸が提供される。

【0055】

一実施形態では、2 - メトキシ - 2 - [3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] 酢酸が提供される。

【0056】

式 (II) および式 (III) の化合物は、実施例セクションに示される方法と類似の方法により調製され得る。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 7 】

式 (I I) の化合物の好適な塩は、例えば酸付加塩である。式 (I I) の化合物の酸付加塩は、化合物を当業者に公知の条件下で好適な無機酸もしくは有機酸と接触状態にすることにより形成されてもよい。かかる酸は、式 (I I) の化合物と対合されるとき、薬学的に許容できる塩を生成する必要はない。酸付加塩は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、およびリン酸から選択される無機酸を用いて形成されてもよい。酸付加塩はまた、例えば、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸およびベンゼンスルホン酸から選択される有機酸を用いて形成されてもよい。

【 0 0 5 8 】

したがって、一実施形態では、式 (I I) の化合物またはその塩が提供され、ここで塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸またはベンゼンスルホン酸の塩である。

【 0 0 5 9 】

式 (I I I) の化合物の好適な塩は、塩基付加塩である。式 (I I I) の化合物の塩基付加塩は、化合物を当業者に公知の条件下で好適な無機塩基もしくは有機塩基と接触状態にすることにより形成されてもよい。かかる塩基は、式 (I I I) の化合物と対合されるとき、薬学的に許容できる塩を生成する必要はない。塩基付加塩は、例えば、アルカリ金属水酸化物 (ナトリウム、カリウム、またはリチウム水酸化物など) またはアルカリ土類金属水酸化物 (水酸化カルシウムまたは水酸化マグネシウムなど) から選択される無機塩基を用いて形成されてもよい。塩基付加塩はまた、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリンおよびトリス - (2 - ヒドロキシエチル) アミンから選択される有機塩基を用いて形成されてもよい。

【 0 0 6 0 】

したがって、一実施形態では、式 (I I I) の化合物またはその塩が提供され、ここで塩は、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリンまたはトリス - (2 - ヒドロキシエチル) アミンの塩である。

【 0 0 6 1 】

それらの G L S 1 阻害活性の結果として、式 (I) の化合物、およびその薬学的に許容できる塩は、治療、例えば少なくとも一部には G L S 1 により媒介される疾患または医学的状態、例えばがんの治療において有用であることが想定される。

【 0 0 6 2 】

「がん」について言及する場合、これが非転移性がん、さらには転移性がんの双方を含むことから、がんの治療は原発性腫瘍、さらには腫瘍転移の双方の治療を含む。

【 0 0 6 3 】

一実施形態では、がんは、転移性がんである。

【 0 0 6 4 】

一実施形態では、がんは、非転移性がんである。

【 0 0 6 5 】

「 G L S 1 阻害活性」は、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の存在に対する直接的または間接的応答としての G L S 1 の活性における、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の不在下での G L S 1 の活性に対する減少を指す。活性におけるかかる減少は、式 (I) の化合物、もしくはその薬学的に許容できる塩と G L S 1 との直接的相互作用に起因する、または式 (I) の化合物、もしくはその薬学的に許容できる塩と G L S 1 活性に次々に影響する 1 つ以上の他の因子との相互作用に起因することがある。例えば、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩は、 G L S 1 に直接的に結合することにより、別の因子による G L S 1 活性の減少を (直接的または間接的に) 引き起こすことにより、または細胞もしくは生物に存在する G L S 1 の量を (直接的または間接的に) 低減することにより、 G L S 1 を減少させることがある。

【 0 0 6 6 】

用語「治療法」は、疾患に対して、その症状の１つ、一部もしくは全部を全体的もしくは部分的に軽減するか、または基礎的病理を矯正もしくは補正するように対処するというその正常な意味を有することが意図される。用語「治療法」はまた、「予防」を、それに対する具体的な指示がない限り、含む。用語「治療的な」および「治療的に」は、対応する様式で解釈されるべきである。

【 0 0 6 7 】

用語「予防」は、その正常な意味を有することが意図され、疾患の発生を予防するための一次予防および疾患が既に発生しており、患者が疾患の増悪もしくは悪化または疾患に関連した新たな症状の発生に対して一時的もしくは持続的に保護される場合の二次予防を含む。

10

【 0 0 6 8 】

用語「治療」は、「治療法」と同義的に用いられる。同様に、用語「治療する」は、「治療法」が本明細書で定義される通りである場合での治療法を適用するものとして見なされ得る。

【 0 0 6 9 】

一実施形態では、治療に用いられる、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。

【 0 0 7 0 】

一実施形態では、薬剤の製造における、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の使用が提供される。

20

【 0 0 7 1 】

任意の実施形態では、式（Ⅰ）の化合物は、実施例から選択される。任意の実施形態では、式（Ⅰ）の化合物は、実施例 1、2、3、4、5 および 6 から選択される。

【 0 0 7 2 】

一実施形態では、G L S 1 によって媒介される疾患の治療において用いられる、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。一実施形態では、G L S 1 によって媒介される前記疾患は、がんである。一実施形態では、前記がんは、乳がん（例えばトリプルネガティブ乳がん）、肺がん（例えば非小細胞肺がん）、膵がんおよび肝細胞がんから選択される。

30

【 0 0 7 3 】

「トリプルネガティブ乳がん」は、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体および H e r 2 / n e u における遺伝子を発現しない任意の乳がんである。

【 0 0 7 4 】

一実施形態では、がんの治療に用いられる、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容できる塩が提供される。

【 0 0 7 5 】

一実施形態では、G L S 1 によって媒介される疾患の治療用の薬剤の製造における、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の使用が提供される。一実施形態では、G L S 1 によって媒介される前記疾患は、がんである。一部の実施形態では、前記がんは、乳がん（例えばトリプルネガティブ乳がん）、肺がん（例えば非小細胞肺がん）、膵がんおよび肝細胞がんから選択される。

40

【 0 0 7 6 】

一実施形態では、がんの治療用の薬剤の製造における、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容できる塩の使用が提供される。

【 0 0 7 7 】

任意の実施形態では、式（Ⅰ）の化合物は、実施例から選択される。任意の実施形態では、式（Ⅰ）の化合物は、実施例 1、2、3、4、5 および 6 から選択される。

【 0 0 7 8 】

一実施形態では、G L S 1 の阻害がかかる治療を必要とする温血動物において有利である疾患を治療するための方法であって、式（Ⅰ）の化合物、またはその薬学的に許容でき

50

る塩を治療有効量で前記温血動物に投与するステップを含む、方法が提供される。

【0079】

用語「治療有効量」は、被験者における「治療法」を提供する、または被験者における疾患もしくは障害を「治療する」のに有効である、本明細書中の実施形態のいずれかに記載のような式(I)の化合物の量を指す。がんの場合、治療有効量は、上記の「治療法」、「治療」および「予防」の定義において記載の通り、被験者において観測可能または測定可能な変化のいずれかを引き起こすことがある。例えば、有効量は、がんまたは腫瘍細胞の数を低減し得る；総腫瘍サイズを低減し得る；腫瘍細胞の例えば軟部組織および骨を含む末梢臓器への浸潤を阻害または停止し得る；腫瘍転移を阻害および停止し得る；腫瘍成長を阻害および停止し得る；がんに関連する症状の1つ以上をある程度まで軽減し得る；罹患率および死亡率を低減し得る；生活の質を改善し得る；またはかかる効果の組み合わせであり得る。有効量は、GLS1活性の阻害に対して応答する疾患の症状を低減するのに十分な量であってもよい。がん療法については、インビボでの有効性は、例えば、生存の持続時間、疾患進行までの時間(TTP)、応答速度(RR)、応答の持続時間、および/または生活の質を評価することにより測定され得る。当業者によって理解されるように、有効量は、投与経路、賦形剤の使用、および他の薬剤との同時使用に応じて変動してもよい。例えば、併用療法が用いられる場合、本明細書に記載の式(I)の化合物または薬学的に許容できる塩の量および他の薬学的活性剤の量は、組み合わせられるとき、動物患者における標的化された障害を治療するのに一緒に有効である。これに関連して、組み合わせられた量は、組み合わせられるとき、上記のようなGLS1活性の阻害に対して応答する疾患の症状を低減するのに十分である場合、「治療有効量」に含まれる。典型的には、かかる量は、例えば、式(I)の化合物またはその薬学的に許容できる塩についての本明細書に記載の用量範囲に始まり、他の薬学的活性化合物の認可されたまたはそうでなければ公表された用量範囲により、当業者によって決定されてもよい。

10

20

【0080】

「温血動物」は、例えばヒトを含む。

【0081】

一実施形態では、かかる治療を必要とする温血動物におけるがんを治療するための方法であって、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩を治療有効量で前記温血動物に投与するステップを含む、方法が提供される。一実施形態では、前記がんは、乳がん(例えばトリプルネガティブ乳がん)、肺がん(例えば非小細胞肺がん)、膵がんおよび肝細胞がんから選択される。

30

【0082】

任意の実施形態では、式(I)の化合物は、実施例から選択される。任意の実施形態では、式(I)の化合物は、実施例1、2、3、4、5および6から選択される。

【0083】

本明細書に記載の抗がん治療は、唯一の治療として適用されてもよく、または式(I)の化合物の投与に加えて、通常の手術、放射線療法、もしくは化学療法；もしくはかかる追加的な治療法の組み合わせを含んでもよい。かかる通常の手術、放射線療法、または化学療法は、式(I)の化合物を用いる治療に対して、同時に、連続的に、または別々に施されてもよい。

40

【0084】

したがって、一実施形態では、がんの治療に用いられる、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも1つの追加的な抗腫瘍物質が提供される。

【0085】

一実施形態では、がんの同時の、別々のまたは連続的な治療に用いられる、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも1つの追加的な抗腫瘍物質が提供される。

【0086】

一実施形態では、がんの治療に用いられる、式(I)の化合物、またはその薬学的に許

50

容できる塩が提供され、ここで式 (I) の化合物は、少なくとも 1 つの追加的な抗腫瘍物質に対して同時に、別々に、または連続的に投与される。

【0087】

一実施形態では、かかる治療を必要とする温血動物におけるがんを治療する方法であって、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩および少なくとも 1 つの追加的な抗腫瘍物質を前記温血動物に投与するステップを含む、方法が提供され、ここで式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および追加的な抗腫瘍物質の量は、抗がん効果をもたらす上で一緒に有効である。

【0088】

一実施形態では、かかる治療を必要とする温血動物におけるがんを治療する方法であって、式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩を前記温血動物に投与するステップと、少なくとも 1 つの追加的な抗腫瘍物質を同時に、別々にまたは連続的に前記温血動物に投与するステップと、を含む、方法が提供され、ここで式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および追加的な抗腫瘍物質の量は、抗がん効果をもたらす上で一緒に有効である。

10

【0089】

任意の実施形態では、追加的な抗腫瘍物質はタキサンである。一実施形態では、タキサンはパクリタキセルである。一実施形態では、タキサンはドセタキセルである。

【0090】

任意の実施形態では、追加的な抗腫瘍物質は白金治療薬である。一実施形態では、白金治療薬は、シスプラチン、オキサリプラチン、またはカルボプラチンである。

20

【0091】

一実施形態では、式 (I) の化合物および少なくとも 1 つの追加的な抗腫瘍物質を含む医薬組成物が提供される。一実施形態では、医薬組成物はまた、少なくとも 1 つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む。

【0092】

一実施形態では、がんの治療に用いられる、式 (I) の化合物および少なくとも 1 つの追加的な抗腫瘍物質を含む医薬組成物が提供される。一実施形態では、医薬組成物はまた、少なくとも 1 つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む。

【0093】

一実施形態では、追加的な抗腫瘍物質はタキサンである。一実施形態では、タキサンはパクリタキセルである。一実施形態では、タキサンはドセタキセルである。

30

【0094】

一実施形態では、追加的な抗腫瘍物質は白金治療薬である。一実施形態では、白金治療薬は、シスプラチン、オキサリプラチン、またはカルボプラチンである。

【0095】

任意の実施形態では、式 (I) の化合物は、実施例から選択される。任意の実施形態では、式 (I) の化合物は、実施例 1、2、3、4、5 および 6 から選択される。

【0096】

さらなる実施形態によると、

40

a) 第 1 の単位剤形中の式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容できる塩；

b) さらなる単位剤形中のさらなる追加的な抗腫瘍物質；

c) 前記第 1 の単位剤形およびさらなる単位剤形を含有するための容器；および任意選択的には

d) 使用説明書

を含むキットが提供される。

【0097】

一実施形態では、追加的な抗腫瘍物質はタキサンである。一実施形態では、タキサンはパクリタキセルである。一実施形態では、タキサンはドセタキセルである。

【0098】

50

一実施形態では、追加的な抗腫瘍物質は白金治療薬である。一実施形態では、白金治療薬は、シスプラチン、オキサリプラチン、またはカルボプラチンである。

【0099】

一実施形態では、式(I)の化合物は、実施例から選択される。一実施形態では、式(I)の化合物は、実施例1、2、3、4、5および6から選択される。

【0100】

式(I)の化合物、およびその薬学的に許容できる塩は、1つ以上の薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物として投与されてもよい。

【0101】

したがって、一実施形態では、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも1つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物が提供される。

【0102】

一実施形態では、式(I)の化合物は、実施例から選択される。一実施形態では、式(I)の化合物は、実施例1、2、3、4、5および6から選択される。

【0103】

本発明の組成物は、経口使用(例えば、錠剤、トローチ剤、硬もしくは軟カプセル剤、水性もしくは油性懸濁液、乳剤、分散性散剤もしくは顆粒剤、シロップ剤またはエリキシル剤として)、局所使用(例えば、クリーム、軟膏剤、ゲル剤、または水性もしくは油性の溶液または懸濁液として)、吸入による投与(例えば、微粉化粉末または液体エアロゾルとして)、ガス注入による投与(例えば、微粉化粉末として)または非経口投与(例えば、静脈内、皮下、筋肉内もしくは筋肉内投与用の滅菌水性もしくは油性溶液として)、または直腸投与用の坐剤として好適な形態であってもよい。本発明の組成物は、当該技術分野で周知の、通常の医薬賦形剤を用いる通常の手順により得てもよい。したがって、経口使用を意図した組成物は、例えば、1つ以上の着色剤、甘味剤、香味剤、および/または防腐剤を含有してもよい。

【0104】

一実施形態では、治療に用いられる、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも1つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物が提供される。

【0105】

一実施形態では、がんの治療に用いられる、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、および少なくとも1つの薬学的に許容できる希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物が提供される。一実施形態では、前記がんは、乳がん(例えばトリプルネガティブ乳がん)、肺がん(例えば非小細胞肺がん)、膵がんおよび肝細胞がんから選択される。

【0106】

任意の実施形態では、式(I)の化合物は、実施例から選択される。任意の実施形態では、式(I)の化合物は、実施例1、2、3、4、5および6から選択される。

【0107】

式(I)の化合物は通常、 $5 \sim 5000 \text{ mg} / \text{m}^2$ (動物の体面積)、すなわち例えば約 $0.1 \sim 100 \text{ mg} / \text{kg}$ の範囲内の単位用量で温血動物に投与されることになり、これは通常、治療有効用量をもたらす。錠剤またはカプセル剤などの単位用量形態は通常、例えば $1 \sim 250 \text{ mg}$ の活性成分を含有することになる。一日量は、必然的に、治療される宿主、特定の投与経路、同時投与されている任意の治療薬、および治療中の疾病の重症度に応じて変動することになる。したがって、任意の特定患者を治療中の施術者が、最適用量を決定してもよい。

【実施例】

【0108】

様々な実施形態が以下の実施例によって例示される。本発明は、実施例に限定されるものとして解釈されるべきではない。実施例の調製に際して、一般に次のことが言える。

10

20

30

40

50

i . 操作は、特に指定のない限り、環境温度、すなわち約 17 ~ 30 の範囲内でかつ窒素などの不活性ガスの雰囲気下で実施した；

ii . 回転蒸発または真空中で Geneva c 機器を利用することにより蒸発を行い、固形残留物の濾過による除去後に精査手順を実施した；

iii . フラッシュクロマトグラフィー精製は、Grace Resolve プレバックシリカカラムを用いた自動化された Isco Combiflash Companion、RediSep Gold C18 カラムを用いた Isco Combiflash Rf (逆相フラッシュ) 上で実施した；

iv . 収量 (存在する場合) は必ずしも最大の達成可能な収量とは限らない；

v . 式 (I) の最終生成物の構造は、スケールで測定される NMR 化学シフトを用いた核磁気共鳴 (NMR) 分光により確認した。プロトン磁気共鳴スペクトルは、Bruker Avance 700 (700 MHz)、Bruker Avance 500 (500 MHz)、Bruker 400 (400 MHz) または Bruker 300 (300 MHz) 機器を用いて測定し； ^{19}F NMR は、282 MHz または 376 MHz で測定し； ^{13}C NMR は、75 MHz または 100 MHz で測定し；測定値は、特に指定されない限り、約 20 ~ 30 で取得し；以下の略称：s，一重線；d，二重線；t，三重線；q，四重線；m，多重線；dd，二重線の二重線；ddd，二重線の二重線の二重線；dt，三重線の二重線；bs，幅広いシグナル、を用いている。

vi . 式 (I) の最終生成物はまた、2996 PDA および 2000 amu ZQ 単一四重極質量分析計を有する Waters 2790 / 95 LC システムに基づく HPLC システムを用いての液体クロマトグラフィー後の質量分析 (LCMS) により特徴づけた。用いた溶媒は、A = 水、B = アセトニトリル、C = 50 : 50 のアセトニトリル：水 / 0.1 % ギ酸 および D = 50 : 50 のアセトニトリル：水 / 0.1 % 水酸化アンモニウムであった。1.1 mL / 分の流速で、試料 5 μL を 50 \times 2.1 5 μm の Phenomenex Gemini NX カラム上に注入した。勾配は、4.0 分間で 95 % の A から 95 % の B へ移行し、C (酸分析用、D は塩基分析用に用いる) の 5 % 一定注入を伴った。開始条件に戻す前、95 % の B で 0.5 分間フローを保持した。データは、質量分析計で正および負モードの双方にて 150 ~ 850 amu、および PDA で 220 ~ 320 nm が得られた。LCMS はまた、サンプルマネージャーを有する Waters Acquity Binary ポンプ、Acquity PDA および SQD 質量分析計を用いた UPLC システム上で実施した。用いた溶媒は、A1 = 0.1 % ギ酸 (水性)、B1 = アセトニトリル中 0.1 % ギ酸、A2 = 0.1 % 水酸化アンモニウム (水性) および B2 = アセトニトリル中 0.1 % 水酸化アンモニウムであった。1 mL / 分の流速で、試料 1 μL は、50 \times 2.1 1.7 μm の Waters BEH カラム (40) 上に注入した。0.2 分間保持され、開始条件に戻す前、勾配は 1.30 分かけて 97 % の A1 から 97 % の B1 へ移行した (塩基分析においては、A1 および B1 を A2 および B2 に置き換える)。データは、質量分析計で正および負イオンモードにて 150 ~ 1000 amu、および PDA で 245 ~ 320 amu が得られた。

vii . 中間体は、完全に特徴づけることは一般的でなく、純度は、薄層クロマトグラフィー、質量スペクトル、HPLC および / または NMR 分析により評価した。

viii . 以下の略称：h = 時間；r . t . = 室温 (約 17 ~ 30)；conc . = 濃縮された；FCC = シリカを用いたフラッシュカラムクロマトグラフィー；DCM = ジクロロメタン；DIPEA = ジ - イソプロピルエチルアミン；DMA = N , N - ジメチルアセトアミド；DMF = N , N - ジメチルホルムアミド；DMSO = ジメチルスルホキシド；Et₂O = ジエチルエーテル；EtOAc = 酢酸エチル；EtOH = エタノール；HATU = 1 - [ビス (ジメチルアミノ) メチレン] - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾロ [4, 5 - b] ピリジニウム 3 - オキシドヘキサフルオロホスフェート；K₂CO₃ = 炭酸カリウム；MeOH = メタノール；MeCN = アセトニトリル；MgSO₄ = 無水硫酸マグネシウム；Na₂SO₄ = 無水硫酸ナトリウム；TFA = トリフルオロ酢酸；THF = テトラヒドロフラン；sat . = 飽和水溶液、を用いている。

10

20

30

40

50

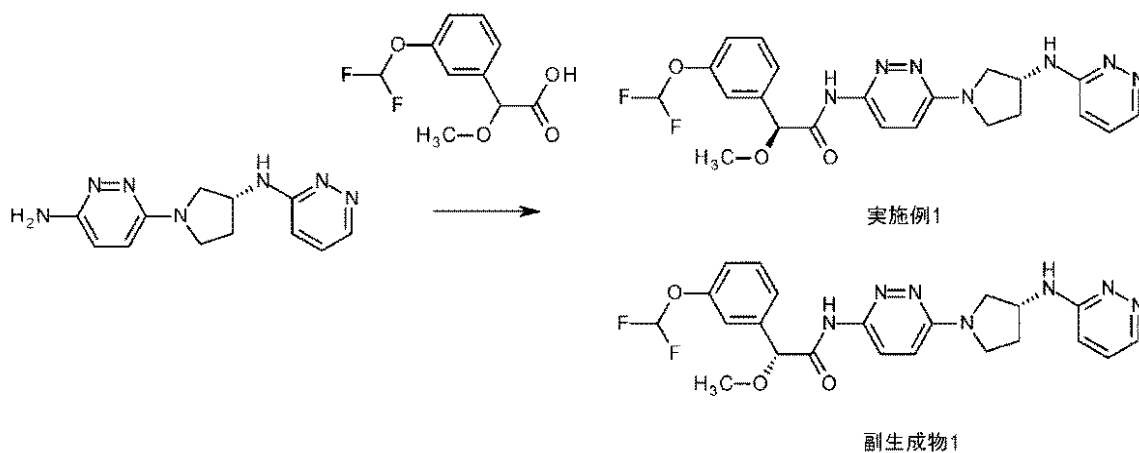
i x . I U P A C 名は、O p e n E y e L e x i c h e m ツールキットに基づいて構築された専売プログラム「S m i T o S d」を用いて生成した (h t t p : / / w w w . e y e s o p e n . c o m / l e x i c h e m - t k) 。

【 0 1 0 9 】

実施例 1

(2 S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミド

【 化 5 】



10

20

H A T U (9 3 1 m g 、 2 . 4 5 ミリモル) を、D M F (1 2 m L) 中、6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - アミン (中間体 1 、 5 2 5 m g 、 2 . 0 4 ミリモル) 、 2 - (3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル) - 2 - メトキシ酢酸 (中間体 6 、 5 2 1 m g 、 2 . 2 4 ミリモル) および D I P E A (1 . 0 6 6 m L 、 6 . 1 2 ミリモル) に添加した。得られた溶液を、0 で 5 分間、次いで室温で 3 時間撹拌した。この溶液を M e O H (7 m L) で希釈し、2 0 g の S C X - 2 カートリッジに通過させ、M e O H を流して不純物を除去し、次いで M e O H 中アンモニアの 1 N 溶液を流すことで、生成物を得た。溶媒を低下下で蒸発させ、粗生成物を得た。残渣を F C C (溶出勾配が D C M 中 M e O H 0 ~ 6 %) により精製した。生成物を含む画分を蒸発させて乾燥し、2 - (3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル) - 2 - メトキシ - N - (6 - ((R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル) ピリダジン - 3 - イル) アセトアミド (4 9 0 m g 、 5 0 %) を固体として得た。粗生成物を分取 H P L C (C h i r a l p a k I F カラム、2 0 μ m のシリカ、5 0 m m の直径、2 5 0 m m の長さ) により精製し、1 5 0 m L / 分、M e O H 1 0 0 % で溶出した。所望される化合物を含む画分を蒸発させて乾燥し、次を得た。

30

【 0 1 1 0 】

(2 S) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] アセトアミド (実施例 1) を第 1 溶出異性体として (1 6 9 m g 、 1 8 %) 。

40

¹ H N M R (4 0 0 M H z , D M S O , 3 0) 2 . 0 - 2 . 1 (1 H , m) , 2 . 2 9 - 2 . 3 9 (1 H , m) , 3 . 3 7 (3 H , s) , 3 . 3 9 - 3 . 4 5 (1 H , m) , 3 . 5 1 - 3 . 6 6 (2 H , m) , 3 . 8 3 (1 H , d d) , 4 . 5 8 - 4 . 6 7 (1 H , m) , 5 . 0 2 (1 H , s) , 6 . 8 1 (1 H , d d) , 6 . 9 8 (1 H , d) , 7 . 0 4 - 7 . 4 8 (7 H , m) , 7 . 9 1 (1 H , d) , 8 . 4 6 (1 H , d d) , 1 0 . 5 8 (1 H , s) ; m / z : E S + [M + H] + 4 7 2 .

【 0 1 1 1 】

(2 R) - 2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ - N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3

50

-イル]アセトアミド(副生成物1)を第2溶出異性体として(178mg、19%)。
 ^1H NMR(400MHz, DMSO, 30) 2.04 - 2.15(1H, m), 2.32 - 2.44(1H, m), 3.41(3H, s), 3.46(1H, dd), 3.55 - 3.71(2H, m), 3.87(1H, dd), 4.62 - 4.72(1H, m), 5.07(1H, s), 6.86(1H, d), 7.02(1H, d), 7.09 - 7.53(7H, m), 7.95(1H, d), 8.50(1H, d), 10.65(1H, s); m/z: ES⁺[M+H]⁺ 472.

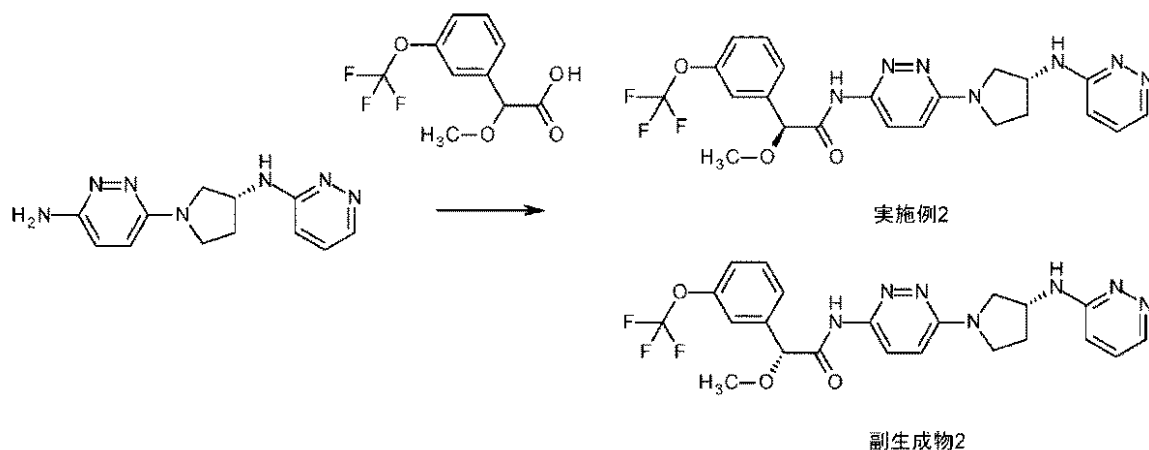
【0112】

実施例2

(2S)-2-[3-(トリフルオロメトキシ)フェニル]-2-メトキシ-N-[6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-イル]アセトアミド

10

【化6】



20

HATU(355mg、0.93ミリモル)を、21でDMF(4mL)中の2-メトキシ-2-(3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)酢酸(中間体7、214mg、0.86ミリモル)、6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-アミン(中間体1、200mg、0.78ミリモル)、およびDIPEA(0.406mL、2.33ミリモル)に添加した。次に得られた溶液を環境温度で1時間攪拌した。粗生成物を、SCXカラムを用いてイオン交換クロマトグラフィーにより精製した。粗生成物を、1Mアンモニア/MeOHを用いてカラムから溶出し、シリカに吸着させた。粗生成物を、DCM中MeOH(7Mアンモニア/MeOHの場合)0~7%の溶出勾配でのFCCにより精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、ジアステレオ異性体の混合物をガム状物として得た(150mg)。次に混合物を、MeOHを溶出剤として用いる分取キラルHPLC(20μmのシリカ、50mmの直径、250mmの長さ)を用いて分離した。所望される化合物を含有する画分を蒸発させて乾燥し、次を得た。

30

【0113】

(2R)-2-[3-(トリフルオロメトキシ)フェニル]-2-メトキシ-N-[6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-イル]アセトアミド(副生成物2)を第1溶出異性体として(47.0mg、12%)。

40

^1H NMR(400MHz, DMSO, 30) 2.2 - 2.14(1H, m), 2.26 - 2.43(1H, m), 3.38(3H, s), 3.42(1H, m), 3.51 - 3.66(2H, m), 3.83(1H, m), 4.53 - 4.71(1H, m), 5.07(1H, s), 6.81(1H, dd), 6.97(1H, d), 7.08(1H, d), 7.24(1H, dd), 7.3 - 7.4(1H, m), 7.48(1H, s), 7.52 - 7.59(2H, m), 7.90(1H, d), 8.45(1H, dd),

50

10.63 (1H, s); m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 490.

【0114】

(2S)-2-[3-(トリフルオロメトキシ)フェニル]-2-メトキシ-N-[6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-イル]アセトアミド(実施例2)を第2溶出異性体として(178mg、19%)。

¹H NMR(400MHz, DMSO, 30) 2.2-2.14(1H, m), 2.26-2.43(1H, m), 3.38(3H, s), 3.42(1H, m), 3.51-3.66(2H, m), 3.83(1H, m), 4.53-4.71(1H, m), 5.07(1H, s), 6.81(1H, dd), 6.97(1H, d), 7.08(1H, d), 7.24(1H, dd), 7.3-7.4(1H, m), 7.48(1H, s), 7.52-7.59(2H, m), 7.90(1H, d), 8.45(1H, dd), 10.63(1H, s); m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 490.

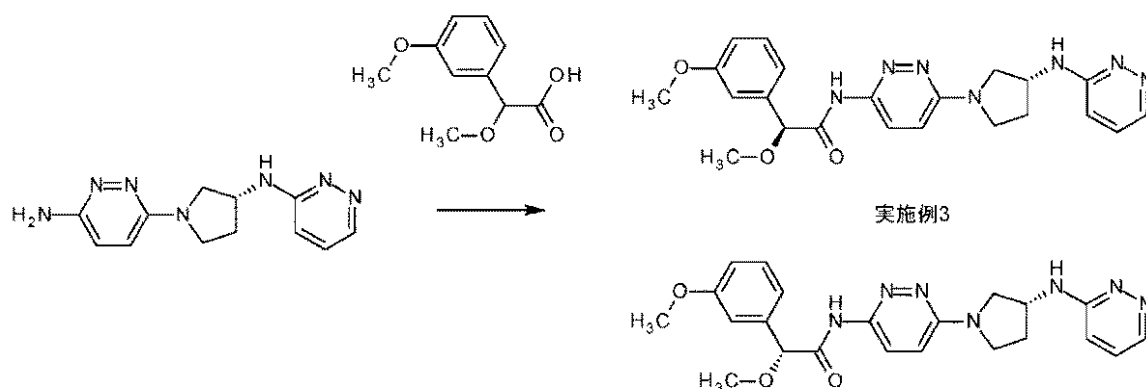
10

【0115】

実施例3

(2S)-2-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-N-[6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-イル]アセトアミド

【化7】



20

実施例3

副生成物3

30

HATU(355mg、0.93ミリモル)を、21でDMF(4mL)中の2-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)酢酸(中間体8、168mg、0.86ミリモル)、6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-アミン(中間体1、200mg、0.78ミリモル)、およびDIPEA(0.406mL、2.33ミリモル)に添加した。次に得られた溶液を環境温度で1時間攪拌した。粗生成物を、SCXカラムを用いてイオン交換クロマトグラフィーにより精製した。所望される生成物を、1Mアンモニア/MeOHを用いてカラムから溶出し、純粋画分をシリカに吸着させた。粗生成物を、DCM中MeOH(7Mアンモニア/MeOHの場合)0~7%の溶出勾配でのFCCにより精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、ジアステレオ異性体の混合物を固体として得た。粗生成物を、100mL/分、50/50のEtOH/MeOHでのキラル分取HPLC(Phenomenex Lux C2カラム、20μmのシリカ、50mmの直径、250mmの長さ)により精製した。所望される化合物を含有する画分を蒸発させて乾燥し、次を得た。

40

【0116】

(2S)-2-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-N-[6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-イル]アセトアミド(実施例3)を第1溶出異性体として(80mg、24%)。

¹H NMR(500MHz, DMSO, 30) 1.95-2.16(1H, m), 2.21-2.42(1H, m), 3.35(3H, s), 3.42(1H, m), 3

50

. 52 - 3.68 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.82 (1H, m), 4.55 - 4.7 (1H, m), 4.95 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.86 - 6.93 (1H, d), 6.98 (1H, d), 7.04 - 7.15 (3H, m), 7.25 (1H, dd), 7.28 - 7.32 (1H, dd), 7.91 (1H, d), 8.46 (1H, dd), 10.47 (1H, s); m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 436.

【0117】

(2R) - 2 - メトキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド (副生成物3) を第2溶出異性体として (75 mg、22%)。

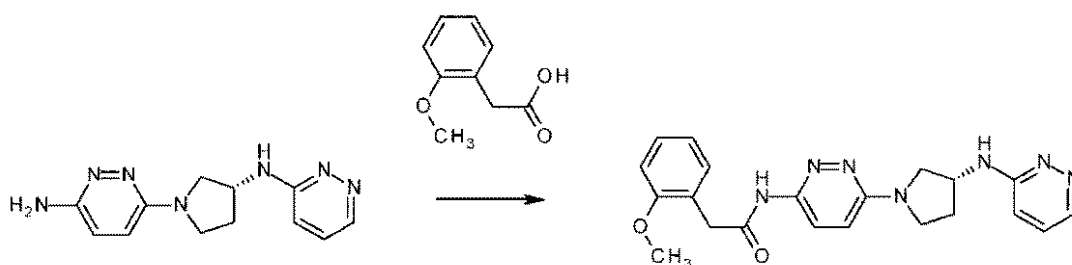
¹H NMR (500 MHz, DMSO, 30) 1.95 - 2.16 (1H, m), 2.21 - 2.42 (1H, m), 3.35 (3H, s), 3.42 (1H, m), 3.52 - 3.68 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.82 (1H, m), 4.55 - 4.7 (1H, m), 4.95 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.86 - 6.93 (1H, d), 6.98 (1H, d), 7.04 - 7.15 (3H, m), 7.25 (1H, dd), 7.28 - 7.32 (1H, dd), 7.91 (1H, d), 8.46 (1H, dd), 10.47 (1H, s); m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 436.

【0118】

実施例 4

2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド

【化 8】



6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - アミン (中間体 1、0.03 g、0.117 ミリモル) および (2 - メトキシフェニル) 酢酸 (0.02 g、0.117 ミリモル) を DMF (1 mL) に溶解した。その後、HATU (0.04 g、0.117 ミリモル) を添加し、反応物を 5 分間撹拌した。次に DIPEA (0.04 g、0.291 ミリモル) を少しずつ添加し、混合物を室温で 15 時間撹拌しておいた。溶媒を低下圧で除去し、粗生成物をシリカ上に吸収させ、100% DCM から 10% MeOH 90% DCM にかけての溶媒勾配での FCC により精製した。画分を結合させ、低下圧で濃縮し、無色ガム状物を得た (30 mg)。この材料の LCMS によると、それが不純物であることが示されたことから、固体を DMSO に溶解し、溶出剤として水 (0.1% のギ酸を含有) およびアセトニトリル (0.1% のギ酸を含有) の減少する極性の混合物を用いて、分取 HPLC (Waters C18 SunFire カラム、5 μm の孔径、4.60 mm の直径、50 mm の長さ) により精製した。所望される化合物を含有する画分を蒸発させて乾燥し、MeOH に溶解し、SCX カラムに通過させ、MeOH を流し、次に生成物を MeOH 中 2 M アンモニアで溶出した。溶媒を低下圧で蒸発させ、2 - (2 - メトキシフェニル) - N - [6 - [(3R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ)ピロリジン - 1 - イル]ピリダジン - 3 - イル]アセトアミド (17 mg、47%) をクリーム色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO, 21.8) 2.04 - 2.12 (1H, m), 2.32 - 2.41 (1H, m), 3.44 - 3.47 (m, 1H), 3.56 - 3.68 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.85 (dd, 1H), 4.62 - 4.69 (m, 1H), 6.85 (dd, 1H), 6.93 (td, 1H), 7.01 (d, 2H

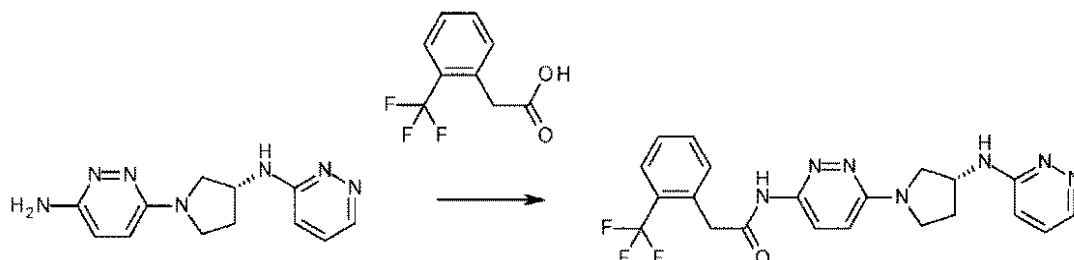
), 7.17 (d, 1H), 7.23 - 7.30 (m, 3H), 8.01 (d, 1H), 8.49 (dd, 1H), 10.65 (s, 1H); m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 406.3.

【0119】

実施例 5

N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメチル) フェニル] アセトアミド

【化 9】



10

乾燥 DMF (1 mL) 中、 6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - アミン (中間体 1、 0.041 g、 0.159 ミリモル)、 2 - [2 - (トリフルオロメチル) フェニル] 酢酸 (0.032 g、 0.159 ミリモル) および HATU (0.061 g、 0.159 ミリモル) の攪拌混合物を DIPEA (0.052 g、 0.398 ミリモル) に添加し、混合物を窒素雰囲気下で 15 時間攪拌放置した。溶媒を低圧下での蒸発により除去し、褐色ガム状物を得て、それを DMSO に溶解し、溶出剤として水 (0.1 % のギ酸を含有) およびアセトニトリル (0.1 % のギ酸を含有) の減少する極性の混合物を用いて、分取 HPLC (Waters C18 SunFire カラム、 5 μm の孔径、 4.60 mm の直径、 50 mm の長さ) により精製した。所望される化合物を含有する画分を蒸発させて乾燥し、N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメチル) フェニル] アセトアミドを無色粉末として得た (0.065 g、 41 %)。

20

¹H NMR (400 MHz, DMSO, 21.8) 2.07 - 2.12 (1H, m), 2.30 - 2.38 (1H, m), 3.48 - 3.51 (m, 1H), 3.55 - 3.66 (m, 2H), 3.83 (dd, 1H), 4.00 (s, 2H), 4.59 - 4.61 (m, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.11 (d, 1H), 7.43 (br s, 1H), 7.47 - 7.53 (m, 2H), 7.63 - 7.66 (m, 1H), 7.70 - 7.73 (m, 2H) 8.00 (d, 1H), 8.53 (br s, 1H), 10.95 (s, 1H); m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 444.

30

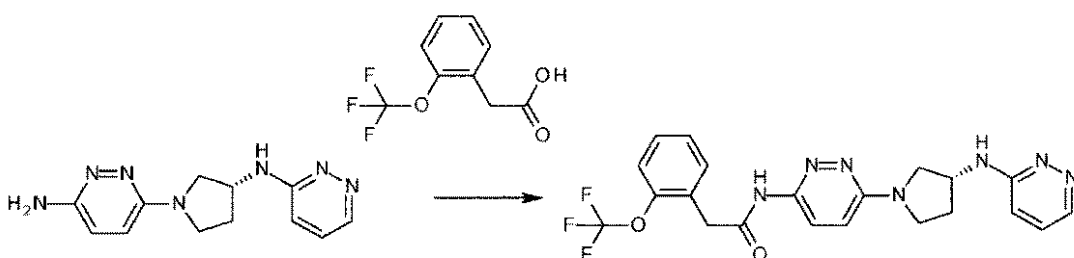
【0120】

実施例 6

N - [6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - イル] - 2 - [2 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] アセトアミド

40

【化 10】



2 - [2 - (トリフルオロメトキシ) フェニル] 酢酸 (0.04 g、 0.159 ミリモ

50

ル)および6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-アミン(中間体1、0.04g、0.159ミリモル)を丸底フラスコ中で秤量した。DMF(1mL)およびHATU(0.06g、0.159ミリモル)を添加し、5分間攪拌し、溶解を生じさせた。次にDIPEA(0.05g、0.398ミリモル)を少しずつ添加し、混合物を室温で15時間攪拌しておいた。溶媒を低下下で除去し、シリカ上に吸収させ、100%DCMから10%メタノールアンモニア:90%DCMに至る溶出勾配でのフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物を淡黄色固体として溶出した(50mg)。LCMS分析によると、ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)の不純物が5%存在することが示された。固体をDMSO(1mL)に溶解し、質量誘導LCMS(Waters C18 SunFireカラム、5μmの孔径、4.60mmの直径、50mmの長さ)により精製した。流速は25mL/分であり、水およびアセトニトリルの移動相は0.1%ギ酸を含有した。溶出は、95%水:5%アセトニトリルで開始し、それを1.5分間保持し、10分かけて5%水:95%アセトニトリルまで上昇させた。次にこれを30秒間保持することで、全実行期間は12分であった。適切な画分をSCXカートリッジに添加し、メタノールで洗浄し、次に表題化合物をメタノール中2Mアンモニアで溶出した。溶媒を低下下で蒸発させ、N-[6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-イル]-2-[2-(トリフルオロメトキシ)フェニル]アセトアミドを白色固体として得た(0.038g、51%)。

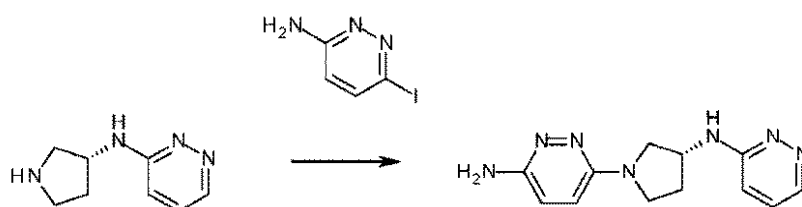
¹H NMR(400MHz, DMSO, 21.8) 2.01-2.08(1H, m), 2.28-2.37(1H, m), 3.42(dd, 1H), 3.52-3.64(m, 2H), 3.81(dd, 1H), 3.85(s, 2H), 4.60-4.63(m, 1H), 6.81(dd, 1H), 6.98(d, 1H), 7.13(d, 1H), 7.24(dd, 1H), 7.32-7.43(m, 3H), 7.47-7.49(m, 1H), 7.95(d, 1H), 8.45(dd, 1H), 10.90(s, 1H); m/z: ES⁺[M+H]⁺ 460.

【0121】

中間体1

6-[(3R)-3-(ピリダジン-3-イルアミノ)ピロリジン-1-イル]ピリダジン-3-アミン

【化11】



(2S, 4R)-4-ヒドロキシピロリジン-2-カルボン酸(0.240g、1.83ミリモル)を、乾燥DMSO(12mL)中、(R)-N-(ピロリジン-3-イル)ピリダジン-3-アミン(中間体2、1.5g、9.13ミリモル)の溶液に添加した。次に、銅(I)ヨウ化物(0.174g、0.91ミリモル)、次いで6-ヨードピリダジン-3-アミン(中間体3、2.62g、11.88ミリモル)、次にリン酸カリウム(5.82g、27.40ミリモル)を順に添加した。次に反応混合物を、窒素下、室温で24時間攪拌した。混合物をMeOH(12mL)および水(12mL)で希釈した。混合物を酢酸で中和し、固体の沈殿を生じさせ、それを収集した。液体層をSCXステップでの使用のためにデカントし、固体をMeOH(2×5mL)で洗浄し、洗浄層を先行ステップからの液体層と結合させ、20gのSCXカートリッジに通過させ、MeOHを流して不純物を除去し、次いでMeOH中アンモニアの1N溶液を流すことで、生成物を取り出した。溶媒を低下下で蒸発させ、残渣をDCM中(MeOH中7Nアンモニア)0

～ 10 % の溶出勾配での F C C により精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、6 - [(3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - イル] ピリダジン - 3 - アミン (1 . 2 2 0 g 、 5 2 %) をガム状物として得た。

^1H NMR (4 0 0 MHz , DMSO , 30) 1 . 9 9 (1 H , m) , 2 . 2 2 - 2 . 3 7 (1 H , m) , 3 . 4 4 (1 H , m) , 3 . 5 3 (1 H , m) , 3 . 7 3 (1 H , m) , 4 . 0 5 (1 H , m) , 4 . 5 5 - 4 . 6 6 (1 H , m) , 5 . 4 3 (2 H , s) , 6 . 7 5 (1 H , d) , 6 . 7 9 - 6 . 8 8 (2 H , m) , 7 . 0 4 (1 H , d) , 7 . 2 3 (1 H , dd) , 8 . 4 4 (1 H , dd) ; m / z : ES + [M + H] + 2 5 8 .

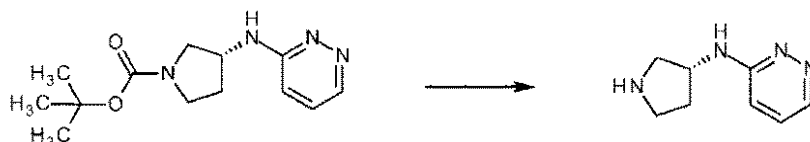
【 0 1 2 2 】

10

中間体 2

N - [(3 R) - ピロリジン - 3 - イル] ピリダジン - 3 - アミン

【 化 1 2 】



TFA (1 2 . 0 0 mL) を、DCM (8 0 mL) 中の tert - ブチル (3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (中間体 3 、 2 . 2 g 、 8 . 3 2 ミリモル) に添加し、黄色溶液を環境温度で 1 時間撹拌放置した。粗生成物を、SCX カラムを用いてイオン交換クロマトグラフィーにより精製した。所望される生成物を 7 M アンモニア / MeOH を用いてカラムから溶出し、純粋画分を蒸発させて乾燥し、N - [(3 R) - ピロリジン - 3 - イル] ピリダジン - 3 - アミン (1 . 3 9 g 、 1 0 2 %) を黄色ガム状物として得た。

20

^1H NMR (4 0 0 MHz , DMSO , 30) 1 . 5 7 (1 H , m) , 1 . 9 1 - 2 . 1 (1 H , m) , 2 . 6 1 (1 H , m) , 2 . 7 8 (1 H , m) , 2 . 8 9 (1 H , m) , 3 . 0 4 (1 H , m) , 4 . 1 4 - 4 . 3 8 (1 H , m) , 6 . 7 6 (2 H , m) , 7 . 2 0 (1 H , d) , 8 . 4 0 (1 H , d) ; m / z : ES + [M + H] + 1 6 5 .

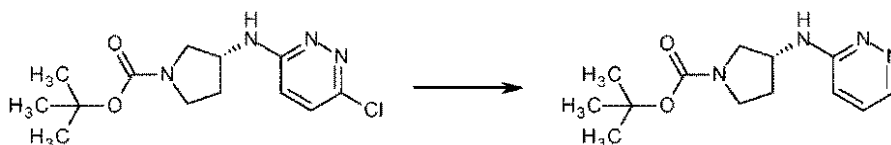
30

【 0 1 2 3 】

中間体 3

tert - ブチル (3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - カルボン酸塩

【 化 1 3 】



40

炭素上パラジウム 10 % (0 . 8 1 0 g 、 7 . 6 1 ミリモル) を、窒素下、21 でエタノール (2 0 0 mL) 中、tert - ブチル (3 R) - 3 - [(6 - クロロピリダジン - 3 - イル) アミノ] ピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (中間体 5 、 7 g 、 1 5 . 2 3 ミリモル) およびギ酸アンモニウム (1 4 . 4 0 g 、 2 2 8 . 4 4 ミリモル) に添加した。得られた混合物を還流しながら 3 時間撹拌した。反応混合物を、セライトを通して濾過し、MeOH / DCM で洗浄し終えた。粗生成物を、DCM 中 MeOH 0 ~ 1 5 % の溶出勾配での F C C により精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、tert - ブチル (3 R) - 3 - (ピリダジン - 3 - イルアミノ) ピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (2 . 2 3 0 g 、 5 5 %) を黄色固体として得た。

^1H NMR (4 0 0 MHz , DMSO , 30) 1 . 4 0 (9 H , s) , 1 . 8 6

50

(1H, m), 2.16 (1H, m), 3.29 - 3.46 (3H, m), 3.60 (1H, m), 4.43 (1H, m), 6.81 (1H, dd), 7.00 (1H, d), 7.24 (1H, dd), 8.45 (1H, dd); m/z: ES⁺ [M + H]⁺ 265. 【0124】

中間体 4

6 - ヨードピリダジン - 3 - アミン

【化14】



10

6 - クロロピリダジン - 3 - アミン (3.7 g、28.56ミリモル) を、還流コンデンサーおよび磁気攪拌バーを備えた100 mLの丸底フラスコに充填した。次にこれにヨウ化水素 (水中57 wt % 溶液、20 mL、265.96ミリモル) を添加し、得られた暗褐色溶液を加熱して穏やかに還流し、6時間攪拌放置した。混合物を室温に冷却し、粗製固体を濾過除去し、反応容器上のフィルターケーキをさらなる容量の氷冷水 (2 × 約30 mL) ですすいだ。得られた固体を酢酸エチルおよび2 N水酸化ナトリウム水溶液間で分配し、有機層を鹼水溶液で洗浄し、乾燥し、濾過し、低圧下で蒸発させ、6 - ヨードピリダジン - 3 - アミン (4.10 g、65 %) を固体として得た。

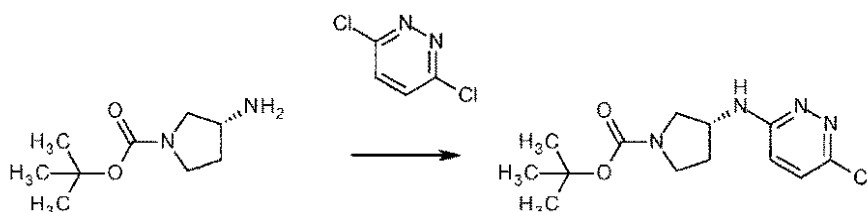
¹H NMR (400 MHz, DMSO, 27 °C) 6.52 (2H, s), 6.55 (1H, d), 7.54 (1H, d). 20

【0125】

中間体 5

tert - ブチル (3R) - 3 - [(6 - クロロピリダジン - 3 - イル) アミノ] ピロリジン - 1 - カルボン酸塩

【化15】



30

DIPEA (22.44 mL、128.86ミリモル) を、窒素下、21 °C で、NMP (150 mL) 中の3, 6 - ジクロロピリダジン (6.40 g、42.95ミリモル)、tert - ブチル (3R) - 3 - アミノピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (8 g、42.95ミリモル) に添加した。混合物を150 °C で24時間攪拌した。反応混合物をEtOAc (400 mL) で希釈し、水 (200 mL) で2回洗浄した。有機層をNa₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、シリカに吸着させた。粗生成物を、ヘプタン中EtOAc 20 ~ 70 % の溶出勾配でのFCCにより精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、tert - ブチル (3R) - 3 - [(6 - クロロピリダジン - 3 - イル) アミノ] ピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (7.10 g、55 %) を淡紅色 / 赤色固体として得た。

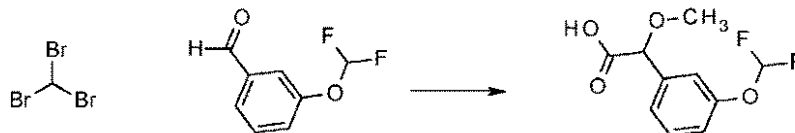
40

¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.40 (9H, s), 1.86 (1H, m), 2.15 (1H, m), 3.16 (1H, m), 3.33 - 3.49 (2H, m), 3.59 (1H, m), 4.38 (1H, m), 6.91 (1H, d), 7.31 (1H, d), 7.38 (1H, d); m/z: ES⁺ [M - H]⁺ 297. 【0126】

中間体 6

2 - [3 - (ジフルオロメトキシ) フェニル] - 2 - メトキシ酢酸

【化 16】



固体水酸化カリウム（5.38 g、95.86ミリモル）を、0 で3 -（ジフルオロメトキシ）ベンズアルデヒド（3 g、17.43ミリモル）、プロモホルム（1.829 mL、20.91ミリモル）および無水MeOH（25 mL）の攪拌溶液に1時間かけて少しずつ添加した。冷却槽を除去し、反応物を環境温度で攪拌した（強い発熱反応が開始された）。反応物を一晩攪拌放置した。無機固体を濾過除去し、MeOHで洗浄した。濾液を真空で小容量に濃縮し、水（100 mL）で希釈し、Et₂Oで2回洗浄し（2 × 50 mL）、37% HClの緩徐な添加によりpH 2に酸性化した。混合物を酢酸エチル（3 × 50 mL）で抽出した。有機層をNa₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、蒸発させ、粗生成物を得た。粗生成物を0.5%のギ酸を有するヘプタン中酢酸エチル0 ~ 60%の溶出勾配でのFCCにより精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、2 - [3 -（ジフルオロメトキシ）フェニル] - 2 - メトキシ酢酸（1.710 g、42%）をガム状物として得た。

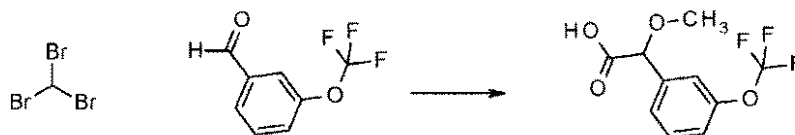
¹H NMR（400 MHz, DMSO-d₆, 30 °C） 3.33（3H, s）, 4.82（1H, s）, 7.16（2H, dd）, 7.28（1H, d）, 7.23（1H, t）, 7.42 - 7.47（1H, m）, 12.93（1H, s）; m/z: ES⁺ [M - H]⁺ 231.25.

【0127】

中間体7

2 - メトキシ - 2 - [3 -（トリフルオロメトキシ）フェニル] 酢酸

【化 17】



MeOH（10 mL）中、水酸化カリウム（1.851 g、33.00ミリモル）の溶液を、0 でMeOH（5.00 mL）中、3 -（トリフルオロメトキシ）ベンズアルデヒド（1.141 g、6ミリモル）およびプロモホルム（0.630 mL、7.20ミリモル）の攪拌混合物に2時間かけて少しずつ添加した。次に混合物を室温に温めておき、一晩攪拌放置した。白色沈殿物が反応混合物中に形成していた。反応物を一晩静置状態にした。固体を低圧下で濾過し、MeOH（15 mL）ですすいだ。濾液溶液を蒸発させて濃厚白色ペーストにし、次に水（50 mL）に再溶解した。次にこれをEt₂O（50 mL）で洗浄し、次に水相をpH 2に酸性化し（約5 mLの2M HCl溶液）、混濁水層を得た。水相を酢酸エチル（3 × 50 mL）中に抽出した。結合した有機物を無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、次に濾過し、溶媒を低圧下で蒸発させ、無色油を得た。粗生成物を、ヘプタン中酢酸エチル10 ~ 50%の溶出勾配でのFCCにより精製した。純粋画分を蒸発させて乾燥し、2 - メトキシ - 2 - [3 -（トリフルオロメトキシ）フェニル] 酢酸（0.832 g、55%）を無色油として得た。

¹H NMR（400 MHz, CDCl₃, 30 °C） 3.47（3H, s）, 4.81（1H, s）, 7.2 - 7.24（1H, m）, 7.33（1H, s）, 7.37 - 7.46（2H, m）; m/z: ES⁺ [M - H]⁺ 249.4.

【0128】

中間体8

2 - メトキシ - 2 -（3 - メトキシフェニル）酢酸

10

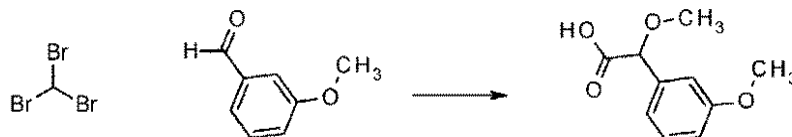
20

30

40

50

【化 18】



MeOH (10 mL) 中水酸化カリウム (2.267 g、40.40 ミリモル) の溶液を、0 で MeOH (5.00 mL) 中、3-メトキシベンズアルデヒド (1 g、7.34 ミリモル) およびプロモホルム (0.771 mL、8.81 ミリモル) の攪拌混合物に 2 時間かけて少しずつ添加した。次に混合物を室温に温めておき、一晚攪拌放置した。固体を低圧下で濾過し、固体を MeOH (15 mL) ですすいだ。濾液を蒸発させて濃厚白色ペーストにし、次に水 (50 mL) に再溶解した。次にこれを Et₂O (50 mL) で洗浄し、次に水性部分を pH = 2 に酸性化した (約 5 mL の 2 M HCl 溶液)。次に水相を酢酸エチル (3 x、50 mL) で抽出した。結合した有機物を無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、次に濾過し、溶媒を低圧下で蒸発させ、2-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)酢酸を黄色油として得て (1.4 g、97%)、それをさらに精製せずに用いた。

10

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30) 3.18 (3H, s), 3.75 (3H, s), 4.74 (1H, s), 6.82 - 7.05 (3H, m), 7.29 (1H, m), 12.78 (1H, s).

20

【0129】

生物検定

本明細書の化合物の効果を測定するため、以下のアッセイ：a) GLS 酵素効力アッセイ；b) GLS 細胞効力アッセイ；c) GLS 細胞増殖アッセイを用いた。アッセイの説明に際して、一般に次のことが言える。

i. 以下の略称：CO₂ = 二酸化炭素；DMEM = ダルベッコ変法イーグル培地；DMSO = ジメチルスルホキシド；EDTA = エチレンジアミン四酢酸；EGTA = エチレンジアミン四酢酸；FCS = 胎児ウシ血清；h = 時間；NBS = 非結合表面；SDS = ドデシル硫酸ナトリウム；TRIS = トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン、を用いている。

30

ii. IC₅₀ 値を、Genedata におけるスマートフィッティングモデルを用いて算出した。IC₅₀ 値は、生物学的活性の 50% を阻害する試験化合物の濃度であった。

【0130】

アッセイ a) : GLS 酵素効力アッセイ

化合物がインビトロで GLS 1 に結合し、GLS 1 の活性を阻害する能力を測定するため、グルタミン酸オキシダーゼ / Amplex Red 共役アッセイを用いた。大腸菌 (E. coli) 中で発現される 6 His タグ化 GLS タンパク質 (アミノ酸 63 ~ 669) を精製し、一定分量を -80 で貯蔵した。GLS 1 を 2 x 作業濃度に希釈し、室温でインキュベートし、四量体 / 二量体型が定常状態に達することを可能にした。アッセイ測定は、50 mM トリス (pH 7.8)、100 mM NaPO₄、pH 7.8、0.001 % v/v のツイーン 20 を含む緩衝液中で実施した。精製した組換え GLS 1 タンパク質をアッセイ緩衝液で 12 nM に希釈し、室温で 30 分間予備インキュベートした。試験化合物を 100 % DMSO での希釈により調製し、12 点濃度応答における正確な用量範囲および適切な容量 (2.5 ~ 60 nL) を得て、Labcyte Echo 555 アコースティックディスペンサーを用いて 384 ウェルマイクロアッセイプレート (Greiner の製品コード 784900) に分注した。DMSO 濃度を、DMSO 溶液の戻し充填により 2 % で維持した。次に、希釈した GLS 1 タンパク質 (12 nM) 3 μL を、BioRaptor 自動ディスペンサー (Beckman-Coulter) を用いて各ウェルに分注し、室温で 15 分間インキュベートした。次に、アッセイ緩衝液で希釈した 10

40

50

0 mMのグルタミン 3 μ Lを添加し、反応物を室温で60分間インキュベートした。次に、100 mMトリス (pH 7.5) 中、45 μ Mの6 - (2 - プロモエチニル) - 2, 3 - ジメチル - キナゾリン - 4 - オン、75 μ MのAmplex Red、0.375 単位/mLの西洋わさびペルオキシダーゼ、0.12 単位/mLのグルタミン酸オキシダーゼの添加により反応を停止させた。暗所、室温で30分後、535 / 590 nmの光学フィルターを用いてPerkin Elmer EnVisionでプレートを読み取り、生データをGeneDataを用いて分析し、IC₅₀ 値を得た。また、アッセイ成分に対する非特異的効果を除外するため、6Hisタグ化GLSタンパク質およびグルタミンをアッセイ緩衝液と交換する場合のアッセイのアーチファクトバージョンを用いた。

【0131】

アッセイb) : GLS細胞効力アッセイ

化合物を、細胞のGLS活性をそれらが阻害する可能性について、細胞のグルタミン酸枯渴を測定するPC3共役アッセイの使用により評価した。試験化合物を100% DMSOでの希釈により調製し、12点濃度応答における正確な用量範囲および適切な容量 (5 ~ 120 nL) を得て、Labcyte Echo 555アコースティックディスペンサーを用いて384ウェルマイクロアッセイプレート (Corningの製品コード3712) に分注した。DMSO濃度を、DMSO溶液の戻し充填により0.3%で維持した。PC3細胞を、フェノールを含まないDMEM、10% 透析FCS、2 mMグルタミンで成長させ、トリプシン処理による分散後、分注した化合物を含有する384ウェルアッセイプレート内に直接的に増殖培地40 μ L中、5.6 $\times 10^3$ 個の細胞/ウェルで蒔いた。37、5% CO₂ で6時間のインキュベーション後、増殖培地を吸引し、10 mMトリス (pH 7.4)、100 mM NaCl、1 mM EDTA、1 mM EGTA、1 mM NaF、20 mM Na₄P₂O₇、2 mM Na₃VO₄、1% トリトンX100、10% グリセロール、0.1% SDSおよび0.5% デオキシコール酸塩を含有する緩衝液15 μ Lに細胞を溶解した。次に、細胞可溶化物4 μ Lを384ウェルNBSプレート (Corningの製品コード3575) に移し、35 μ Lの27.5 μ M Amplex Red、0.1375 U/mLの西洋わさびペルオキシダーゼ、0.044 U/mLのグルタミン酸オキシダーゼ、100 mMトリス (pH 7.5) を添加した。暗所、室温で30分後、535 / 590 nmの光学フィルターを用いてPerkin Elmer EnVisionでプレートを読み取り、生データを専売ソフトウェアを用いて分析し、IC₅₀ 値を得た。

【0132】

アッセイc) : GLS細胞増殖アッセイ

化合物が細胞成長を阻害する能力を、384ウェルプレートNCI-H1703細胞増殖アッセイを用いて測定した。NCI-H1703細胞を、フェノールレッドを含まないRPMI 1640、10% FCSおよび2 mMグルタミンで成長させ、クリアボトム384ウェルアッセイプレート (Corningの製品コード3712) 内に増殖培地40 μ L中、750細胞/ウェルの密度で播種し、37、5% CO₂ で24時間インキュベートした。試験化合物を100% DMSOでの希釈により調製し、12点濃度応答における正確な用量範囲および適切な容量 (5 ~ 120 nL) を得て、蒔いた細胞を含有するアッセイプレート内に直接的に分注した。DMSO濃度を、DMSO溶液の戻し充填により0.3%で維持した。プレートを37、5% CO₂ で5日間インキュベートし、Sytoxグリーンおよびサボニン各最終濃度が2 μ Mおよび0.25%になるまで添加し、分析前に6時間インキュベートした。488 nmの励起および放射用のFITCフィルターセット (500 ~ 530 nm) を用いてAcumen eX3 (TTP Labtech) でプレートを読み取った。IC₅₀ 値を、GeneDataソフトウェア分析を用いて、0日目成長の最大阻害に対するカーブフィッティングを行うことにより算出した。

【0133】

アッセイa) ~ c) における本発明の実施例の効力を表1に示す。結果は、複数の試験の平均であってもよく、異なる実施例は、様々な数の試験で試験していてもよい。結果は

10

20

30

40

50

、特定の数の小数位に丸める。

【 0 1 3 4 】

【 表 1 】

表 1: アッセイ a)~c) での実施例 1~4 における効力データ

実施例	アッセイ a) GLS 酵素 効力アッセイ IC ₅₀ (μ M)	アッセイ b) GLS 細胞 効力アッセイ IC ₅₀ (μ M)	アッセイ c) GLS 細胞 増殖アッセイ (μ M)
1	0.0247	0.001	0.009
2	0.0957	0.001	0.011
3	0.0298	0.001	0.003
4	0.0309	0.007	0.043
5	0.0306	0.001	0.003
6	0.0252	0.001	0.012

10

20

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/078899

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D403/14 A61K31/501 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2015/101957 A2 (RHIZEN PHARMACEUTICALS SA [CH]) 9 July 2015 (2015-07-09) whole document specially claim 1 and examples	1-15
A,P	----- WO 2015/181539 A1 (ASTRAZENECA AB [SE]; CANCER REC TECH LTD [GB]) 3 December 2015 (2015-12-03) Whole document, specially claim 1 -----	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 December 2016

Date of mailing of the international search report

10/01/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sahagún Krause, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/078899

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015101957 A2	09-07-2015	AU 2015204210 A1	07-07-2016
		CA 2934700 A1	09-07-2015
		CA 2934702 A1	09-07-2015
		CN 105960405 A	21-09-2016
		CN 106029659 A	12-10-2016
		EP 3092235 A2	16-11-2016
		EP 3092236 A2	16-11-2016
		SG 11201605478X A	30-08-2016
		US 2016297761 A1	13-10-2016
		US 2016318921 A1	03-11-2016
		WO 2015101957 A2	09-07-2015
		WO 2015101958 A2	09-07-2015

WO 2015181539 A1	03-12-2015	AU 2015265703 A1	15-12-2016
		TW 201609720 A	16-03-2016
		UY 36145 A	08-01-2016
		WO 2015181539 A1	03-12-2015

フロントページの続き

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

(74)代理人 100106518

弁理士 松谷 道子

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 モーリス・レイモンド・バーショイル・フィンレイ

英国シービー４・０エフゼット、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、ミルトン・ロード、ケンブリッジ・サイエンス・パーク、ダーウィン・ビルディング、アストラゼネカ・アール・アンド・デイ・ケンブリッジ

Fターム(参考) 4C063 AA03 BB09 CC28 DD03 EE01

4C086 AA01 AA02 AA03 BC41 GA07 NA14 ZB26 ZC20