

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-508304

(P2008-508304A)

(43) 公表日 平成20年3月21日(2008.3.21)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C07D 471/04 (2006.01)	C07D 471/04	106C 4B024
C12N 9/99 (2006.01)	C07D 471/04	CSP 4C050
C07D 487/04 (2006.01)	C12N 9/99	ZNA 4C065
A61K 31/437 (2006.01)	C07D 487/04	14O 4C086
A61K 31/5377 (2006.01)	A61K 31/437	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 136 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-523809 (P2007-523809)	(71) 出願人	505229634 エスジーエックス ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成17年7月27日 (2005.7.27)		アメリカ合衆国 92121 カリフォルニア、サンディエゴ、ローズル ストリート 10505
(85) 翻訳文提出日	平成19年3月28日 (2007.3.28)	(74) 代理人	100068526 弁理士 田村 恒生
(86) 國際出願番号	PCT/US2005/026794	(74) 代理人	100100158 弁理士 鮫島 瞳
(87) 國際公開番号	W02006/015124	(74) 代理人	100087114 弁理士 齋藤 みの里
(87) 國際公開日	平成18年2月9日 (2006.2.9)	(74) 代理人	100126778 弁理士 品川 永敏
(31) 優先権主張番号	60/591,778		
(32) 優先日	平成16年7月27日 (2004.7.27)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/591,886		
(32) 優先日	平成16年7月27日 (2004.7.27)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/680,091		
(32) 優先日	平成17年5月11日 (2005.5.11)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子

## (57) 【要約】

本発明は、新規な縮合環複素環キナーゼ調節因子、および該新規な縮合環複素環キナーゼ調節因子を用いる、キナーゼ活性により媒介される疾患の治療方法を提供する。

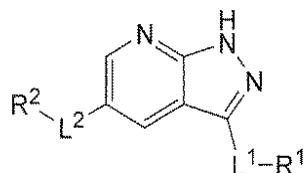
MLPICLKLVGCCKSKKCLSSSSCYLEEALQRPVASDFEPQGLSEAARWN  
 1 KENLLAGPSENDPNLPLVALYDFVASGDNLTITKGKLRVLQYNNINGEW  
 51 C 100  
 EAQTAKNGQQGWVPSNYITPVNSLEKHSWYHGPVSRNAAEYLSSGINGSFL  
 101 150  
 151 VRESESSPGQRQSISLRYEGRVYHYRINTASDGKLYSSSESRFNTILAEVLVH  
 200  
 HEISTVADGLITLHYPAPKRKNPKTVYGVSPNYDKWEMERTDITMKHKLGG  
 201 250  
 GQYGEVYEGVWVKYSLTVAVKTLKEDTMEVEEFLKHAAMKBEKIPNLVQ  
 251 300  
 LLGVCTIREPPFYLTETMFTVGNLLDVLRECNRQBVNAVVLLYMATQISSA  
 301 350  
 351 MEYLEKKNPFIHRDLAARNCLVGNEHLVKADEFGLSLRMLTGTYTAAHAGAK  
 352 400  
 FPKWTAPESLAYNPKSIKSVDVVAFKVLLWEIATYGMSPYPGIDLSQVYE  
 401 450  
 LLEKDYRMERPEGCPEKVYELMRACWQWNPSDRPSFAEHHQAFETMPQES  
 451 500  
 SISDEVEKELGKQGVVRGAVENTLQAPELPTKTRTSRRAAEHRDTTDVPEM  
 501 550  
 PHSKCQQGESDPLDHEPAVSPLLPRKERGPPEGGLNEDERLLPKDKKTNLF  
 551 600  
 SALIKKKKKTAPTPPKRSSSFRMDGQPERRGAGEEGGRDINGALAFTP  
 601 650  
 LDADPAKSPKPKSNGAGVPNGALRESOGSGQFRSPHLWKKSSLTSSRLAT  
 651 700  
 GEIEGGGSSSKRFLRSACSASCVPHGAKDTIEWRSVTLPRLQSTGRQFDSS  
 701 750  
 TFGGHKSEKPAIPRKRAGENRSDQVTRGTVTPPPRLVKKNEBAADEVFKD  
 751 800  
 DMESSPGSSPPNLTPKPLRRQTVAPASGLPHKEFAEKGSALGTPAAAEP  
 801 850  
 VITPTISKAGSGAPGGTSKGPAEESRVRRHCHSSESPGRDKGKLSRLKPAPP  
 851 900  
 PPPAASAGKAGGKPSQSPSQEAAGEAVLGAKTKATSLSVDAVNSDAAKPSQ  
 901 950  
 PGEGLKKPVLPATPKPKQSAKPSGTPISPAPVPSLPSASSALAGDQPSST  
 951 1000  
 APIPLISTRVSLRKTRQPERIASGAIKGVVLDSTEALCLAIRRNSEQCM  
 1001 1050  
 ASHISAVLEAGKNLTYTCVSYVDSIQQMNRKFAFREAINKLENLRELQIC  
 1051 1100  
 PATAGSGPAATQDFSKLSSVKEISDIVQR  
 1101

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式：

## 【化 1】



10

## [式中、

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>は独立して、結合、-S(O)<sub>n</sub>-、-O-、-NH-、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレンまたは非置換2～5員ヘテロアルキレンであり（ここに、nは0～2の整数である）、

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであり、

但し、R<sup>1</sup>は置換または非置換ピロリルではなく、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>が共に非置換フェニルである場合にL<sup>1</sup>は非置換2～5員ヘテロアルキレンではなく、R<sup>2</sup>が非置換ピペラジニルである場合にL<sup>1</sup>は-S(O)<sub>2</sub>-ではなく、R<sup>2</sup>が非置換ピリジニルである場合にR<sup>1</sup>は置換または非置換イソキサゾリルではない]

20

で示される化合物。

## 【請求項 2】

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>が独立して、結合、-S(O)<sub>n</sub>-、-O-、-NH-または非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレンである、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項 3】

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>が結合である、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項 4】

L<sup>1</sup>またはL<sup>2</sup>が結合である、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項 5】

R<sup>1</sup>が、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換の5もしくは6員ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである、請求項1に記載の化合物。

30

## 【請求項 6】

R<sup>1</sup>が、置換もしくは非置換6員ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項 7】

R<sup>1</sup>が、

- (1) 非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル；
- (2) 非置換3～7員ヘテロシクロアルキル；
- (3) 非置換ヘテロアリール；
- (4) 非置換アリール；
- (5) 置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル；
- (6) 置換3～7員ヘテロシクロアルキル；
- (7) 置換アリール；または
- (8) 置換ヘテロアリール；

40

（ここに、

（5）および（6）は、オキソ、-OH、-CF<sub>3</sub>、-COOH、シアノ、ハロゲン、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3

50

~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-L<sup>12</sup>-C(X<sup>1</sup>)R<sup>7</sup>、-L<sup>12</sup>-OR<sup>8</sup>、-L<sup>12</sup>-NR<sup>91</sup>R<sup>92</sup>、または-L<sup>12</sup>-S(O)<sub>m</sub>R<sup>10</sup>で置換されており、

(7)および(8)は、-OH、-CF<sub>3</sub>、-COOH、シアノ、ハロゲン、R<sup>11</sup>-置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>12</sup>-置換もしくは非置換ヘテロアリール、-L<sup>12</sup>-C(X<sup>1</sup>)R<sup>7</sup>、-L<sup>12</sup>-OR<sup>8</sup>、-L<sup>12</sup>-NR<sup>91</sup>R<sup>92</sup>または-L<sup>12</sup>-S(O)<sub>m</sub>R<sup>10</sup>で置換されており、ここに、

(a) X<sup>1</sup>は、=S、=Oまたは=NR<sup>151</sup>(式中、R<sup>151</sup>は、H、-OR<sup>151</sup>、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ここに、R<sup>151</sup>は、水素またはR<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである)であり；

(b)mは、0~2の整数であり；

(c) R<sup>7</sup>は、水素、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-OR<sup>71</sup>または-NR<sup>72</sup>R<sup>73</sup>(式中、R<sup>71</sup>、R<sup>72</sup>およびR<sup>73</sup>は独立して、水素、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、R<sup>72</sup>およびR<sup>73</sup>は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい)であり

(d) R<sup>8</sup>、R<sup>91</sup>およびR<sup>92</sup>は独立して、水素、-CF<sub>3</sub>、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-C(X<sup>2</sup>)R<sup>81</sup>、または-S(O)<sub>w</sub>R<sup>81</sup>であり、R<sup>91</sup>およびR<sup>92</sup>は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよく、ここに、

(i) X<sup>2</sup>は、=S、=Oまたは=NR<sup>16</sup>(式中、R<sup>16</sup>はR<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである)であり；

(ii) wは、0~2の整数であり；

(iii) R<sup>81</sup>は、水素、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、または-NR<sup>811</sup>R<sup>812</sup>(式中、R<sup>811</sup>およびR<sup>812</sup>は独立して、水素、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>~C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、R<sup>811</sup>およびR<sup>812</sup>は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい)であ

り；

(e)  $R^{10}$ は、水素、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、または $-NR^{101}R^{102}$ （式中、(i)  $R^{101}$ および $R^{102}$ は独立して、水素、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、 $R^{101}$ および $R^{102}$ は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、または $R^{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい）であり；

(f)  $L^{12}$ は、結合、非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン、または非置換ヘテロアルキレンであり；

(g)  $R^{11}$ は、オキソ、-OH、-COOH、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、アミノ、ハロゲン、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $2 \sim 10$ 員アルキル、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{14}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{14}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり；

(h)  $R^{12}$ は、-OH、-COOH、アミノ、ハロゲン、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $2 \sim 10$ 員アルキル、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、 $R^{13}$ 置換もしくは非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{14}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{14}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり；

(i)  $R^{13}$ は、オキソ、-OH、-COOH、アミノ、ハロゲン、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールであり；

(j)  $R^{14}$ は、-OH、-COOH、アミノ、ハロゲン、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールである）である、請求項1に記載の化合物。

#### 【請求項8】

$R^1$ が、置換もしくは非置換6員ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである、請求項7に記載の化合物。

#### 【請求項9】

$L^1$ が結合である、請求項8に記載の化合物。

#### 【請求項10】

$R^1$ が、(7)または(8)であり、ここに、(7)および(8)が、-OH、-CF<sub>3</sub>、ハロゲン、非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、非置換 $2 \sim 10$ 員ヘテロアルキル、非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、非置換 $3 \sim 7$ 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、または $-L^{12}-OR^8$ （式中、 $L^{12}$ は結合である）で置換されている、請求項7に記載の化合物。

#### 【請求項11】

$R^8$ がCF<sub>3</sub>である、請求項10に記載の化合物。

#### 【請求項12】

$R^1$ が、(7)または(8)であり、ここに、(7)および(8)が、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、ハロゲン、またはシクロプロピルオキシで置換されている、請求項7に記載の化合物。

#### 【請求項13】

10

20

30

40

50

$L^1$  および  $L^2$  が結合である、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 14】

$R^2$  が、

- (1) 非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル；
- (2) 非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル；
- (3) 非置換ヘテロアリール；
- (4) 非置換アリール；
- (5) 置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル；
- (6) 置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル；
- (7) 置換アリール；または
- (8) 置換ヘテロアリール

10

(ここに、

(5) および (6) は、オキソ、-OH、-CF<sub>3</sub>、-COOH、シアノ、ハロゲン、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または  $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、-L<sup>22</sup>-C(X<sup>3</sup>)R<sup>3</sup>、-L<sup>22</sup>-OR<sup>4</sup>、-L<sup>22</sup>-NR<sup>51</sup>R<sup>52</sup>、または -L<sup>22</sup>-S(O)<sub>q</sub>R<sup>6</sup>で置換されており、

(7) および (8) は、-OH、-CF<sub>3</sub>、-COOH、シアノ、ハロゲン、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、-L<sup>22</sup>-C(X<sup>3</sup>)R<sup>3</sup>、-L<sup>22</sup>-OR<sup>4</sup>、-L<sup>22</sup>-NR<sup>51</sup>R<sup>52</sup>、または -L<sup>22</sup>-S(O)<sub>q</sub>R<sup>6</sup>で置換されており、ここに、

20

(a) X<sup>3</sup> は、=S、=O、または =NR<sup>17</sup> (式中、R<sup>17</sup> は、H、-OR<sup>171</sup>、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または  $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ここに、R<sup>171</sup> は、H または  $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキルである) であり；

30

(b) q は、0 ~ 2 の整数であり；

(c) R<sup>3</sup> は、水素、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、-OR<sup>31</sup>、または -NR<sup>32</sup>R<sup>33</sup> (式中、(i) R<sup>31</sup>、R<sup>32</sup> および R<sup>33</sup> は独立して、水素、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または  $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、R<sup>32</sup> および R<sup>33</sup> は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または  $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい) であり；

40

(d) R<sup>4</sup>、R<sup>51</sup> および R<sup>52</sup> は独立して、水素、-CF<sub>3</sub>、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、-C(X<sup>4</sup>)R<sup>41</sup>、または -S(O)<sub>v</sub>R<sup>41</sup> であり、R<sup>51</sup> および R<sup>52</sup> は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または  $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよく、ここに、

(i) X<sup>4</sup> は、=S、=O または =NR<sup>18</sup> (式中、R<sup>18</sup> は、 $R^{21}$ 置換もしくは非置

50

換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールである) であり;

( i i )  $v$  は、0 ~ 2 の整数であり;

( i i i )  $R^{41}$  は、水素、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$  置換もしくは非置換アリール、 $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリール、または  $-NR^{411}R^{412}$  (式中、 $R^{41}$  および  $R^{412}$  は独立して、水素、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールから選択され、 $R^{411}$  および  $R^{412}$  は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または  $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい) であり;

( e )  $R^6$  は、水素、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$  置換もしくは非置換アリール、 $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリール、または  $-NR^{61}R^{62}$  (式中、( i )  $R^{61}$  および  $R^{62}$  は、水素、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、 $R^{61}$  および  $R^{62}$  は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキルまたは  $R^{22}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい) であり;

( f )  $L^{22}$  は、結合、非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンまたは非置換ヘテロアルキレンであり;

( g )  $R^{21}$  は、オキソ、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CN$ 、アミノ、ハロゲン、 $R^{23}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員アルキル、 $R^{23}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{23}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{23}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{24}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{24}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールであり;

( h )  $R^{22}$  は、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、アミノ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CN$ 、 $R^{23}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員アルキル、 $R^{23}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{23}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{24}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{24}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールであり;

( i )  $R^{23}$  は、オキソ、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、アミノ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CN$ 、 $-CN$ 、非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールであり;

( j )  $R^{24}$  は、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、アミノ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CN$ 、非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールである) である、請求項 1、7 または 13 の一項に記載の化合物。

### 【請求項 15】

$L^2$  が結合である、請求項 14 に記載の化合物。

### 【請求項 16】

$R^2$  が、(3)、(4)、(7) または (8) である、請求項 14 に記載の化合物。

10

20

30

40

50

**【請求項 17】**

$R^2$ が、(7)または(8)である、請求項15に記載の化合物。

**【請求項 18】**

(7)および(8)が、 $-L^{22}-C(X^3)R^3$ 、 $-L^{22}-OR^4$ 、 $-L^{22}-NR^{51}R^{52}$ 、 $-L^{22}-C(NH)-NR^{32}R^{33}$ または $-L^{22}-S(O)_qR^6$ で置換されている、請求項17に記載の化合物。

**【請求項 19】**

$R^3$ が、 $-NR^{32}R^{33}$ であり；

$X^3$ が、=Oまたは=N $R^{17}$ であり；

$R^6$ が、 $-NR^{61}R^{62}$ であり；

$R^{51}$ が、 $-C(O)R^{41}$ または $-S(O)_vR^{41}$ である、請求項18に記載の化合物。

10

**【請求項 20】**

$R^{41}$ が $-NR^{411}R^{412}$ である、請求項19に記載の化合物。

**【請求項 21】**

$R^2$ が、(7)または(8)であり、ここに、(7)および(8)が、 $-OH$ 、 $-CF_3$ 、 $-COOH$ 、アミノ、ハロゲン、非置換2~10員ヘテロアルキル、非置換 $C_3$ ~ $C_7$ シクロアルキル、非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールまたは $-L^{22}-C(X^3)R^3$

(式中、

$X^3$ は、=Oであり；

20

$R^3$ は、非置換 $C_1$ ~ $C_{10}$ アルキル、非置換2~10員ヘテロアルキル、非置換 $C_3$ ~ $C_7$ シクロアルキル、非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、または $-NR^{32}R^{33}$ (式中、 $R^{32}$ および $R^{33}$ は独立して、水素、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_1$ ~ $C_{10}$ アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_3$ ~ $C_7$ シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、 $R^{32}$ および $R^{33}$ は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい)である)

で置換されている、請求項15に記載の化合物。

30

**【請求項 22】**

$R^2$ が、(7)または(8)であり、ここに、(7)および(8)は、非置換2~10員ヘテロアルキルまたは $-L^{22}-C(O)R^3$

(式中、

$L^{22}$ は、結合であり、

$R^3$ は、 $-NR^{32}R^{33}$ (式中、 $R^{32}$ および $R^{33}$ は独立して、水素、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_1$ ~ $C_{10}$ アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_3$ ~ $C_7$ シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、 $R^{32}$ および $R^{33}$ は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成してもよい)である)

40

で置換されている、請求項15に記載の化合物。

**【請求項 23】**

$R^1$ が、置換もしくは非置換縮合環アリール、または置換もしくは非置換縮合環ヘテロアリールである、請求項1に記載の化合物。

**【請求項 24】**

$R^2$ が、置換もしくは非置換インドリル、置換もしくは非置換キノリニル、または置換もしくは非置換ベンゾジオキソリルである、請求項1に記載の化合物。

**【請求項 25】**

50

$R^2$ が、置換もしくは非置換縮合環アリール、または置換もしくは非置換縮合環ヘテロアリールである、請求項1に記載の化合物。

【請求項26】

$R^1$ が、置換もしくは非置換インドリル、置換もしくは非置換キノリニル、または置換もしくは非置換ベンゾジオキソリルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項27】

$R^1$ および $R^2$ が独立して、置換もしくは非置換ヒダントイニル、置換もしくは非置換ジオキソラニル、置換もしくは非置換ジオキサニル、置換もしくは非置換トリオキサニル、置換もしくは非置換テトラヒドロチエニル、置換もしくは非置換テトラヒドロフラニル、置換もしくは非置換テトラヒドロチオフェニル、置換もしくは非置換テトラヒドロピラニル、置換もしくは非置換テトラヒドロチオピラニル、置換もしくは非置換ピロリジニル、置換もしくは非置換モルホリノ、置換もしくは非置換ピペリジニル、置換もしくは非置換ピラゾリル、置換もしくは非置換フラニル、置換もしくは非置換イミダゾリル、置換もしくは非置換イソキサゾリル、置換もしくは非置換オキサジアゾリル、置換もしくは非置換オキサゾリル、置換もしくは非置換ピリジル、置換もしくは非置換ピラジル、置換もしくは非置換ピリミジル、置換もしくは非置換ピリダジニル、置換もしくは非置換チアゾリル、置換もしくは非置換イソチオアゾリル、置換もしくは非置換トリアゾリル、置換もしくは非置換チエニル、置換もしくは非置換トリアジニル、置換もしくは非置換チアジアゾリル、または置換もしくは非置換テトラゾリルである、請求項14に記載の化合物。

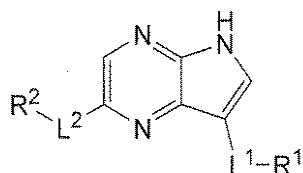
10

【請求項28】

20

式：

【化2】



[式中、

$L^1$ および $L^2$ は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、非置換 $C_1 \sim C_5$ アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレン（ここに、 $n$ は0～2の整数である）であり、

$R^1$ および $R^2$ は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである]

30

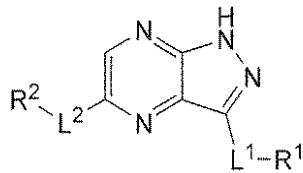
で示される化合物。

【請求項29】

式：

【化3】

40



[式中、

$L^1$ および $L^2$ は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、非置換 $C_1 \sim C_5$ アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレン（ここに、 $n$ は0～2の整数である）であり、

$R^1$ および $R^2$ は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘ

50

テロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである]  
で示される化合物。

**【請求項 3 0】**

プロテインキナーゼを請求項 1、28 または 29 の一項に記載の化合物と接触させることを特徴とする、プロテインキナーゼの活性を調節する方法。

**【請求項 3 1】**

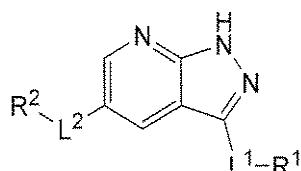
治療を必要とする対象における癌、アレルギー、喘息、炎症、閉塞性気道疾患、自己免疫疾患、代謝疾患、感染、CNS 疾患、脳腫瘍、肥満、喘息、血液学的疾患、神経変性疾患、心血管疾患、または血管新生、新血管新生もしくは脈管形成を伴う疾患の治疗方法であって、対象に、治療的有効量の請求項 1、28 または 29 の一項に記載の化合物を投与することを含む方法。

10

**【請求項 3 2】**

プロテインキナーゼを、式：

**【化 4】**



20

[式中、

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>は独立して、結合、-S(O)<sub>n</sub>-、-O-、-NH-、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレン（ここに、nは0～2の整数である）であり、

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである]

で示される化合物と接触させることを特徴とする、プロテインキナーゼの活性を調節する方法。

30

**【請求項 3 3】**

プロテインキナーゼが、アベルソンチロシンキナーゼ、R<sub>on</sub>受容体チロシンキナーゼ、Met受容体チロシンキナーゼ、Fms様チロシンキナーゼ-3、オーロラキナーゼ、p21活性化キナーゼ-4、または3-ホスホイノシチド依存性キナーゼ-1である、請求項32に記載の方法。

**【請求項 3 4】**

プロテインキナーゼが、M244V、L248V、G250E、G250A、Q252H、Q252R、Y253F、Y253H、E255K、E255V、D276G、F311L、T315I、T315N、T315A、F317V、F317L、M343T、M351T、E355G、F359A、F359V、V379I、F382L、L387M、H396P、H396R、S417Y、E459KおよびF486Sからなる群から選択される変異を有するBcr-Ab1キナーゼである、請求項32に記載の方法。

40

**【請求項 3 5】**

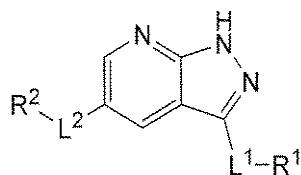
プロテインキナーゼが、T315I変異を有する、請求項34に記載の方法。

**【請求項 3 6】**

治療を必要とする対象における癌、アレルギー、喘息、炎症、閉塞性気道疾患、自己免疫疾患、代謝疾患、感染、CNS 疾患、脳腫瘍、肥満、喘息、血液学的疾患、神経変性疾患、心血管疾患、または血管新生、新血管新生もしくは脈管形成を伴う疾患の治疗方法であって、対象に、式：

50

## 【化5】



[式中、

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>は独立して、結合、-S( O )<sub>n</sub>-、-O-、-NH-、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレン（ここに、nは0～2の整数である）であり、

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである]

で示される治療的有効量の化合物を投与することを含む方法。

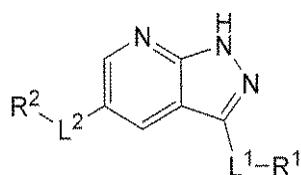
## 【請求項37】

癌が、白血病または脊髄増殖性疾患から選択される、請求項36に記載の方法。

## 【請求項38】

医薬的に許容される賦形剤と、請求項1、28もしくは29の一項に記載の化合物または式：

## 【化6】



[式中、

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>は独立して、結合、-S( O )<sub>n</sub>-、-O-、-NH-、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレン（ここに、nは0～2の整数である）であり、

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである]

で示される化合物とを含む医薬組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2004年7月27日に出願された米国仮特許出願第60/591778号、2004年7月27日に出願された米国仮特許出願第60/591886号、および2005年5月11日に出願された米国仮特許出願第60/680091号の利益を主張し、それぞれが全ての目的のためにそのまま本明細書に引用される。

## 【0002】

## (発明の背景)

哺乳動物のプロテインキナーゼは、細胞機能の重要な制御因子である。プロテインキナーゼ活性の機能不全がいくつかの疾患および障害に関連するので、プロテインキナーゼは、薬剤開発の標的である。

## 【0003】

チロシンキナーゼ受容体であるFMS様チロシンキナーゼ3(FLT3)は、急性骨髓

10

20

30

40

50

性白血病（AML）、急性リンパ球性白血病（ALL）、および脊髄異形成のような白血病を含む癌に関係している。AML患者の約4分の1から3分の1は、FLT3突然変異を有し、これはキナーゼおよび下流のシグナル伝達経路の常時活性化に導く。正常なヒトではFLT3は正常な脊髄前駆細胞およびリンパ球前駆細胞により主に発現されるが、FLT3はAMLおよびALLの患者の70～80%の白血病細胞において発現される。FLT3を標的とする阻害剤は、変異および/または常時活性型FLT3を発現する白血球細胞に毒性であることが報告されている。従って、白血病のような疾患および障害を治療するために用いることができる有効なFLT3阻害剤を開発する必要がある。

#### 【背景技術】

#### 【0004】

アベルソン非受容体チロシンキナーゼ（c-Abl）は、その基質タンパク質のリン酸化を介してシグナル伝達に関わる。細胞内で、c-Ablは細胞質と核との間を往復し、その活性は、通常、いくつかの異なる機構により厳密に制御されている。Ablは、成長因子およびインテグリンシグナル伝達、細胞周期、細胞分化および神経発生、アポトーシス、細胞接着、細胞骨格構造、ならびにDNA損傷および酸化ストレスに対する応答の制御に関係している。

#### 【0005】

c-Ablタンパク質は、N末端キャップ領域、SH3およびSH2ドメイン、チロシンキナーゼドメイン、核局在化配列、DNA結合ドメインならびにアクチン結合ドメインに編成される約1150のアミノ酸残基を含有する。

10

20

30

#### 【0006】

慢性骨髓性白血病（CML）は、染色体9と22の間のフィラデルフィア染色体転座に関連している。この転座は、bcr遺伝子とc-Ablをコードする遺伝子との間の異所融合を発生する。得られるBcr-Abl融合タンパク質は、常時活性型のチロシンキナーゼ活性を有する。上昇したキナーゼ活性は、CMLの主要な原因因子であると報告され、細胞形質転換、成長因子依存性の欠失および細胞増殖の原因である。

#### 【0007】

2-フェニルアミノピリミジン化合物であるイマチニブ（STI-571、CGP 57148またはグリベックともよばれる）は、Bcr-Abl、ならびに他の2つのチロシンキナーゼであるc-kitおよび血小板由来成長因子受容体の特異的且つ有効な阻害剤であるとして同定されている。イマチニブは、これらのタンパク質のチロシンキナーゼ活性をブロックする。イマチニブは、CMLの全ての段階の治療のための効果的な治療剤であると報告されている。しかし、進行段階または急性転化のCMLの患者の大多数は、薬剤に対する耐性の発生のために、継続的なイマチニブでの治療にもかかわらず、再発に苦しんでいる。しばしば、この耐性の分子的な基礎は、Bcr-Ablのキナーゼドメインのイマチニブ耐性変異形の出現である。最も一般的に観察される根底にあるアミノ酸置換は、Glu255Lys、Thr315Ile、Tyr293PheおよびMet351Thrを含む。

#### 【0008】

METは、N-メチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジンで治療されたヒト骨肉腫細胞系統におけるトランスフォーミングDNA再構成（TPR-MET）として最初に同定された（Cooperら, 1984）。MET受容体チロシンキナーゼ（肝細胞成長因子受容体、HGF-R、METまたはc-Metとしても知られる）およびそのリガンドである肝細胞成長因子（「HGF」）は、増殖、生存、分化および形態形成の刺激、分枝管形成（branching tubulogenesis）、細胞運動ならびに侵入性成長を含む多数の生物活性を有する。病理学的には、METは、腎臓癌、肺癌、卵巣癌、肝癌および乳癌を含む多くの異なる形態の癌の成長、侵入および転移に関係している。METにおける活性化体細胞変異は、ヒト癌腫転移および乳頭状腎細胞癌のような散発性癌において見出されている。METが転移の進行を制御する長年探し求められてきた腫瘍遺伝子の1つであり、よって非常に興味深い標的であるとの証拠が増え続けている。癌のほかに、MET阻害は、リステ

40

50

リア侵入、多発性骨髄腫に付随する骨溶解、マラリア感染、糖尿病性網膜症、乾癬および関節炎を含む種々の適応症の治療において価値があり得るとの証拠がある。

#### 【0009】

チロシンキナーゼ RON は、マクロファージ刺激タンパク質の受容体であり、受容体チロシンキナーゼの MET ファミリーに属する。MET と同様に、RON は、胃癌および膀胱癌を含むいくつかの異なる形態の癌の増殖、侵入および転移に関係する。

#### 【0010】

セリン / スレオニン (threonine) キナーゼのオーロラファミリーは、有糸分裂の進行に必須である。オーロラ (Arurora) キナーゼの発現および活性は、細胞周期の間に厳密に制御される。細胞分裂において役割を有する種々のタンパク質は、オーロラキナーゼ基質として同定されている。オーロラキナーゼの既知の機能に基づいて、それらの活性の阻害は、細胞周期を妨害し、増殖をブロックし、よって腫瘍細胞生存力をブロックすると考えられる。Harringtonら, Nature Medicine, advanced publication online (2004)。10

#### 【0011】

3 - ホスホイノシチド依存性キナーゼ 1 (PDK1) は、Akt / PKB、プロテインキナーゼ C (PKC)、PKC 関連キナーゼ (PRK1 および PRK2)、p70 リボソーム S6 - キナーゼ (S6K1)、ならびに血清およびグルココルチコイド制御キナーゼ (SGK) を含む AGC キナーゼスーパーファミリーの中のいくつかのキナーゼをリン酸化および活性化できる Ser / Thr プロテインキナーゼである。最初に同定された PDK1 基質は、癌原遺伝子 Akt である。多くの研究は、黒色腫、ならびに乳癌、肺癌、胃癌、前立腺癌、血液の癌および卵巣癌を含む一般的な腫瘍の種類の多くの割合 (30 ~ 60%) において高レベルの活性 Akt を見出している。したがって、PDK1 / Akt シグナル伝達経路は、癌の治療に有用であり得る小分子阻害剤の開発の魅力ある標的である。Feldmanら, JBC Papers in Press. 2005年3月16日出版、Manuscript M501367200。20

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0012】

キナーゼは、癌のような多くの疾患および状態に関係しているので、治療に用い得る新規で有効なプロテインキナーゼ阻害剤の開発が必要とされる。本発明は、当技術分野におけるこれらのおよびその他の必要性を充足する。特定のプロテインキナーゼが本明細書において具体的に挙げられているが、本発明は、これらのキナーゼの阻害剤に限定されず、その範囲内に、関連するプロテインキナーゼの阻害剤および同種のタンパク質の阻害剤を含む。30

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0013】

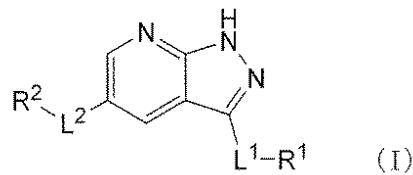
#### (発明の概要)

驚くべきことに、本発明の縮合環ヘテロ環化合物が、キナーゼ活性を調節し、キナーゼ活性により媒介される疾患を治療するために用い得ることが見出された。これらの新規な縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子は、以下に詳細に説明される。さらに、選択される化合物の阻害活性も本明細書で開示される。40

#### 【0014】

ある態様において、本発明は、式：

## 【化1】



で示される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子を提供する。

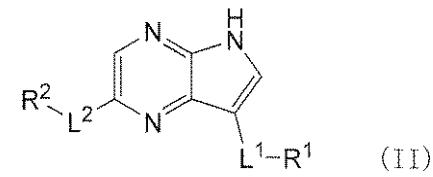
## 【0015】

式(I)において、L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>は独立して、結合、-S(O)<sub>n</sub>-、-O-、-NH-、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレンである。記号nは、0～2の整数である。R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである。いくつかの具体的な構造において、R<sup>1</sup>は、置換または非置換フェニルである場合、非置換2～5員ヘテロアルキレンではない。他の具体的な構造において、R<sup>2</sup>が非置換ピペラジニルである場合、L<sup>1</sup>は-S(O)<sub>2</sub>-ではない。

## 【0016】

別の構造において、本発明は、式：

## 【化2】



で示される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子（本明細書において、これもまた「本発明の化合物」という）を提供する。

## 【0017】

式(II)において、L<sup>1</sup>、L<sup>2</sup>、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、式(I)の説明において上記で定義されるとおりである。

## 【0018】

別の構造において、本発明は、式：

## 【化3】



で示される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子（本明細書において、これもまた「本発明の化合物」という）を提供する。

## 【0019】

式(III)において、L<sup>1</sup>、L<sup>2</sup>、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は、式(I)の説明において上記で定義されるとおりである。

## 【0020】

別の構造において、本発明は、本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子を用いる、プロテインキナーゼ活性の調節方法を提供する。該方法は、プロテインキナーゼを、縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子と接触させることを含む。

## 【0021】

10

20

30

40

50

別の態様において、本発明は、キナーゼ活性により媒介される疾患（キナーゼ媒介疾患または障害）をその治療を必要とする対象（例えばヒトのような哺乳動物）において治療する方法を提供する。該方法は、治療的有効量の本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子を該対象に投与することを含む。

#### 【0022】

別の態様において、本発明は、医薬的に許容される賦形剤と混合して縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子を含む医薬組成物を提供する。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0023】

##### （発明の詳細な記載）

10

###### 定義

本明細書において用いる略語は、化学および生物学の技術におけるそれらの通常の意味を有する。

#### 【0024】

置換基が、左から右に記載されるそれらの慣例的な化学式で特定されている場合、これらは、構造を右から左に記載して得られる化学的に同一の置換基を等しく包含し、例えば、-CH<sub>2</sub>O-は、-OCH<sub>2</sub>-と等価である。

#### 【0025】

用語「アルキル」は、それ自体でまたは別の置換基の一部分として、特に明記しない限りは、完全に飽和、モノ不飽和またはポリ不飽和であってよく、示される炭素原子数を有する（すなわち、C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>は1～10の炭素を意味する）二価および多価の基を含むことができる、直鎖（すなわち分岐していない）または分岐鎖または環状の炭化水素基、あるいはそれらの組合せを意味する。飽和炭化水素基の例は、限定されないが、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、t-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、シクロヘキシリル、（シクロヘキシリル）メチル、シクロプロピルメチル、例えばn-ペンチル、n-ヘキシリル、n-ヘプチル、n-オクチルなどの同族体および異性体などの基を含む。不飽和アルキル基は、1以上の二重結合または三重結合を有するものである。不飽和アルキル基の例は、限定されないが、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-(ブタジエニル)、2,4-ペンタジエニル、3-(1,4-ペンタジエニル)、エチニル、1-および3-プロピニル、3-ブチニルならびに高級同族体および異性体を含む。炭化水素基に限定されるアルキル基を、「ホモアルキル」とよぶ。

20

#### 【0026】

用語「アルキレン」は、それ自体でまたは別の置換基の一部分として、アルキルから誘導される二価の基を意味し、限定されないが、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-および-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-が例示される。典型的には、アルキル（またはアルキレン）基は、1～24個の炭素原子を有し、10以下の炭素原子を有する基が本発明において好ましい。「低級アルキル」または「低級アルキレン」は、通常、8以下の炭素原子を有する短鎖アルキルまたはアルキレン基である。

30

#### 【0027】

用語「ヘテロアルキル」は、それ自体でまたは別の用語と組み合わせて、特に明示しない限りは、少なくとも1個の炭素原子とO、N、P、SiおよびSからなる群から選択される少なくとも1個のヘテロ原子（ここに、窒素、硫黄およびリン原子は適宜酸化されていてよく、窒素ヘテロ原子は適宜四級化されていてよい）とからなる安定な直鎖または分岐鎖または環状の炭化水素基あるいはそれらの組合せを意味する。ヘテロ原子O、N、PおよびSおよびSiは、ヘテロアルキル基のいずれの内部の位置またはアルキル基が分子の残部に結合している位置に位置してもよい。例としては、これらに限定されないが、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-S(O)-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(O)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、-CH=CH-O-CH<sub>3</sub>、-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-

40

50

$\text{CH} = \text{N} - \text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH} = \text{CH} - \text{N}(\text{CH}_3) - \text{CH}_3$ 、 $\text{O} - \text{CH}_3$ 、 $-\text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}$  $\text{H}_3$ および $-\text{CN}$ が挙げられる。例えば $-\text{CH}_2 - \text{NH} - \text{OCH}_3$ および $-\text{CH}_2 - \text{O} - \text{Si}(\text{CH}_3)_3$ のように、2または3個までのヘテロ原子が連続してよい。同様に、用語「ヘテロアルキレン」は、それ自体でまたは別の置換基の一部分として、ヘテロアルキルから誘導される二価の基を意味し、限定されないが、 $-\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 -$ および $-\text{CH}_2 - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_2 -$ が例示される。ヘテロアルキレン基について、ヘテロ原子は、鎖末端のいずれかまたは両方を占めることもできる（例えばアルキレンオキソ、アルキレンジオキソ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど）。さらに、アルキレンおよびヘテロアルキレン連結基について、連結基の式が記載される方向に、連結基の方向は関係しない。例えば、式 $-\text{C(O)OR}' -$ は、 $-\text{C(O)OR}' -$ および $-\text{R}'\text{OC(O)} -$ の両方を表す。上記のように、本明細書で用いる場合、ヘテロアルキル基は、 $-\text{C(O)R}'$ 、 $-\text{C(O)NR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{SR}'$ および/または $-\text{SO}_2\text{R}'$ のようにヘテロ原子を介して分子の残部に結合する基を含む。「ヘテロアルキル」と記載して、次いで $-\text{NR}'\text{R}''$ などの具体的なヘテロアルキル基と記載する場合、用語ヘテロアルキルと $-\text{NR}'\text{R}''$ とは、重複または互いに排他的ではないことが理解されよう。むしろ、具体的なヘテロアルキル基は、明確性を加えるために記載される。従って、用語「ヘテロアルキル」は、本明細書において、 $-\text{NR}'\text{R}''$ などの具体的なヘテロアルキル基を除外すると解釈されるべきでない。

10

## 【0028】

用語「シクロアルキル」および「ヘテロシクロアルキル」は、それら自体でまたは他の用語と組み合わせて、特に明示しない限りは、それぞれ「アルキル」および「ヘテロアルキル」の環状の種類を表す。さらに、ヘテロシクロアルキルについて、ヘテロ原子は、ヘテロ環が分子の残部に結合している位置を占めることができる。シクロアルキルの例は、限定されないが、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどを含む。ヘテロシクロアルキルの例は、限定されないが、1-(1,2,5,6-テトラヒドロピリジル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニルなどを含む。用語「シクロアルキレン」および「ヘテロシクロアルキレン」は、それぞれシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルの二価の誘導体をいう。

20

## 【0029】

用語「ハロ」または「ハロゲン」は、それら自体でまたは別の置換基の一部分として、特に明示しない限りは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素原子を意味する。さらに、「ハロアルキル」のような用語は、モノハロアルキルおよびポリハロアルキルを含むことを意味する。例えば、用語「ハロ( $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ )アルキル」は、限定されないが、トリフルオロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブロモプロピルなどを含むことを意味する。

30

## 【0030】

用語「アリール」は、特に明示しない限りは、共に縮合しているかもしくは共有結合している単環または多環（好ましくは1～3環）であり得るポリ不飽和で芳香族の炭化水素置換基を意味する。用語「ヘテロアリール」は、N、OおよびSから選択される1～4個のヘテロ原子（ここに、窒素および硫黄原子は適宜酸化されていてもよく、窒素原子は適宜四級化されていてもよい）を（多環の場合はそれぞれの別個の環の中に）含むアリール基（または環）をいう。ヘテロアリール基は、炭素またはヘテロ原子を介して分子の残部に結合できる。アリールおよびヘテロアリール基の非限定的な例は、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、4-ビフェニル、1-ピロリル、2-ピロリル、3-ピロリル、3-ピラゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、ピラジニル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、2-フェニル-4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、3-イソキサゾリル、4-イソキサゾリル、5-イソキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、

40

50

5 - チアゾリル、2 - フリル、3 - フリル、2 - チエニル、3 - チエニル、2 - ピリジル、3 - ピリジル、4 - ピリジル、2 - ピリミジル、4 - ピリミジル、5 - ベンゾチアゾリル、ブリニル、2 - ベンズイミダゾリル、5 - インドリル、1 - イソキノリル、5 - イソキノリル、2 - キノキサリニル、5 - キノキサリニル、3 - キノリルおよび6 - キノリルを含む。上記のアリールおよびヘテロアリール環系のそれぞれについての置換基は、以下に記載する許容される置換基の群から選択される。用語「アリーレン」および「ヘテロアリーレン」は、それぞれアリールおよびヘテロアリールの二価の基をいう。

#### 【0031】

簡略のために、用語「アリール」は、他の用語と組み合わせて用いる場合に（例えばアリールオキソ、アリールチオキソ、アリールアルキル）、上記で定義するようなアリールおよびヘテロアリール環の両方を含む。したがって、用語「アリールアルキル」は、アリール基が、炭素原子（例えばメチレン基）が例えれば酸素原子で置換されたアルキル基（例えばフェノキシメチル、2 - ピリジルオキシメチル、3 - (1 - ナフチルオキシ)プロピルなど）を含むアルキル基に結合した基（例えればベンジル、フェネチル、ピリジルメチルなど）を含むことを意味する。しかし、本明細書で用いる場合、用語「ハロアリール」は、1以上のハロゲンで置換されるアリールのみに用いられることを意味する。

10

#### 【0032】

ヘテロアルキル、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリールが特定の数の員を含む場合（例えは「3 ~ 7 員」）、用語「員」は、炭素またはヘテロ原子をいう。

20

#### 【0033】

用語「オキソ」は、本明細書で用いる場合、炭素原子に二重結合している酸素を意味する。

#### 【0034】

上記の用語（例えは「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「シクロアルキル」および「ヘテロシクロアルキル」、「アリール」、「ヘテロアリール」ならびにそれらの二価の基の誘導体）のそれぞれは、記載した基の置換体および非置換体の両方を含むことを意味する。各種類の基の好ましい置換基は、以下に示す。

#### 【0035】

アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルの一価および二価の誘導基の置換基（アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニルおよびヘテロシクロアルケニルとしばしばよばれる基を含む）は、限定されないが、 $0 \sim (2m' + 1)$ （式中、 $m'$  はこのような基の炭素原子の合計数である）の範囲の数の - OR'、= O、= NR'、= N - OR'、- NR'R'、- SR'、- ハロゲン、- SiR'R'R'、- OC(O)R'、- C(O)R'、- CO<sub>2</sub>R'、- C(O)NR'R'、- OC(O)NR'R'、- NR'C(O)R'、- NR - C(NR'R') = NR'、- S(O)R'、- S(O)<sub>2</sub>R'、- S(O)<sub>2</sub>NR'R'、- NR SO<sub>2</sub>R'、- CN および - NO<sub>2</sub>から選択される1種または複数種の基であり得る。 $R'$ 、 $R''$ 、 $R'''$  および  $R''''$  はそれぞれ、好ましくは独立して水素、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール（例えは1 ~ 3個のハロゲンで置換されたアリール）、置換もしくは非置換アルキル、アルコキシもしくはチオアルコキシ基、またはアリールアルキル基をいう。本発明の化合物が二以上のR基を含む場合、例えは、各R基は独立して、二以上のこれらの基が存在する場合の  $R'$ 、 $R''$ 、 $R'''$  および  $R''''$  基のそれぞれと同様に選択される。 $R'$  および  $R''$  が同じ窒素原子に結合している場合、これらは窒素原子と一緒にになって4 - 、5 - 、6 - または7 - 員環を形成することができる。例えは、- NR'R' は、限定されないが、1 - ピロリジニルおよび4 - モルホリニルを含むことを意味する。上記の置換基の説明から、当業者は、用語「アルキル」が、ハロアルキル（例えは、- CF<sub>3</sub> および - CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>）およびアシリル（例えは - C(O)CH<sub>3</sub>、- C(O)

30

40

50

)  $\text{C}_2\text{F}_5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{OC}_2\text{H}_5$ など)のような水素基以外の基に結合する炭素原子を含む基を含むことを意味することを理解する。

#### 【0036】

上記のアルキル基について記載した置換基と同様に、アリールおよびヘテロアリール基(ならびにそれらの二価の誘導体)についての置換基の例は多様であり、例えば、0から芳香環系の開放原子価(open valence)の総数までの範囲の数でのハロゲン、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、ハロゲン、 $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$ 、 $-\text{OC(O)R}'$ 、 $-\text{C(O)R}'$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{C(O)NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OC(O)NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C(O)R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C(O)NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{NR}''\text{C(O)OR}'$ 、 $-\text{NR}-\text{C(NR}'\text{R}''\text{R}'''$  $=\text{NR}''''$ 、 $-\text{NR}-\text{C(NR}'\text{R}''$  $)=\text{NR}''''$ 、 $-\text{S(O)R}'$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{R}'$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CN}$ および $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{R}'$ 、 $-\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{Ph})_2$ 、フルオロ( $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ )アルコキソおよびフルオロ( $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ )アルキルから選択される(ここに、 $\text{R}'$ 、 $\text{R}''$ 、 $\text{R}'''$ および $\text{R}''''$ は好ましくは独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリールおよび置換もしくは非置換ヘテロアリールから選択される)。本発明の化合物が二以上のR基を含む場合、例えば、各R基は独立して、二以上のこれらの基が存在する場合に $\text{R}'$ 、 $\text{R}''$ 、 $\text{R}'''$ および $\text{R}''''$ 基のそれぞれと同様に選択される。

#### 【0037】

アリールまたはヘテロアリール環に隣接する原子上の2つの置換基は、適宜式 $-\text{T}-\text{C(O)-}(\text{CRR}')_q-\text{U-}$ (式中、TおよびUは独立して、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CRR}'$ -または単結合であり、qは0~3の整数である)の環を形成してもよい。あるいは、アリールまたはヘテロアリール環に隣接する原子上の2つの置換基は、適宜式 $-\text{A}-\text{(CH}_2)_r-\text{B-}$ (式中、AおよびBは独立して、 $-\text{CRR}'$ -、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S(O)-}$ 、 $-\text{S(O)}_2-$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{NR}'$ -または単結合であり、rは1~4の整数である)の置換基で置換されていてもよい。このようにして形成された新しい環の単結合の1つは、適宜二重結合で置換されていてもよい。あるいは、アリールまたはヘテロアリール環に隣接する原子上の2つの置換基は、適宜式 $-(\text{CRR}')_s-\text{X}'-\text{(C}'\text{R}''')$ d-(式中、sおよびdは独立して、0~3の整数であり、X'は、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}'$ -、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S(O)-}$ 、 $-\text{S(O)}_2-$ 、または $-\text{S(O)}_2\text{NR}'$ -である)の置換基で置換されていてもよい。置換基R、 $\text{R}'$ 、 $\text{R}''$ および $\text{R}'''$ は好ましくは独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリールおよび置換もしくは非置換ヘテロアリールから選択される。

#### 【0038】

本明細書で用いる場合、用語「ヘテロ原子」または「環ヘテロ原子」は、酸素(O)、窒素(N)、硫黄(S)、リン(P)およびケイ素(Si)を含むことを意味する。

#### 【0039】

本明細書で用いる場合、「アミノアルキル」は、アルキレンリンカーに共有結合したアミノ基をいう。アミノ基は $-\text{NR}'\text{R}''$ (式中、 $\text{R}'$ および $\text{R}''$ は、典型的に、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールから選択される)である。

#### 【0040】

本明細書で用いる場合、「置換基」は、以下の部分から選択される基を意味する：

#### 【0041】

(A)  $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NO}_2$ 、オキソ、ハロゲン、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、ならびに

10

20

30

40

50

## 【0042】

(B) 以下から選択される少なくとも一つの置換基で置換される、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールおよびヘテロアリール：

## 【0043】

(i) オキソ、-OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、ハロゲン、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、ならびに

## 【0044】

(ii) 以下から選択される少なくとも一つの置換基で置換される、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールおよびヘテロアリール：

10

## 【0045】

(a) オキソ、-OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、ハロゲン、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、および

## 【0046】

(b) オキソ、-OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、ハロゲン、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリールおよび非置換ヘテロアリールから選択される少なくとも一つの置換基で置換される、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール。

20

## 【0047】

本明細書で用いる場合、「サイズ限定置換基 (size-limited substituent)」または「サイズ限定置換基 (size-limited substituent group)」は、「置換基」についての上記全ての置換基から選択される基を意味し、ここに、それぞれの置換または非置換アルキルは、置換または非置換C<sub>1</sub>～C<sub>20</sub>アルキルであり、それぞれの置換または非置換ヘテロアルキルは、置換または非置換2～20員ヘテロアルキルであり、それぞれの置換または非置換シクロアルキルは、置換または非置換C<sub>4</sub>～C<sub>8</sub>シクロアルキルであり、それぞれの置換または非置換ヘテロシクロアルキルは、置換または非置換4～8員ヘテロシクロアルキルである。

30

## 【0048】

本明細書で用いる場合、「低級置換基 (substituent)」または「低級置換基 (substituent group)」は、「置換基」についての上記全ての置換基から選択される基を意味し、ここに、それぞれの置換または非置換アルキルは、置換または非置換C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキルであり、それぞれの置換または非置換ヘテロアルキルは、置換または非置換2～8員ヘテロアルキルであり、それぞれの置換または非置換シクロアルキルは、置換または非置換C<sub>5</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキルであり、それぞれの置換または非置換ヘテロシクロアルキルは、置換または非置換5～7員ヘテロシクロアルキルである。

40

## 【0049】

本発明の化合物は、塩として存在することができる。本発明は、そのような塩を含む。適用可能な塩形態の例は、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、硝酸塩、マレイン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩（例えば（+）-酒石酸塩、（-）-酒石酸塩またはそのラセミ混合物を含む混合物）、コハク酸塩、安息香酸塩、およびグルタミン酸などのアミノ酸との塩を含む。これらの塩は、当業者に知られる方法により調製することができる。ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ、またはマグネシウムの塩あるいは類似の塩のような塩基付加塩も含まれる。本発明の化合物が比較的塩基性の官能基を含む場合、無溶媒または適切な不活性溶媒中のいずれかで、そのような化合物の中性形態を十分量の所望の酸と接触させることにより、酸付加塩を得ることができる。許容される酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸一水素 (monohydrogencarbonic)、リン酸、リン酸一水素 (monohydrogenphosphoric)、リン酸二水素 (dihydrogenphosphoric)、硫酸、硫酸一水素 (monohydrogensulfuric)。

50

)、ヨウ化水素酸、または亜リン酸などの無機酸から誘導されるもの、および酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スペリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、タル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸などの有機酸から誘導される塩を含む。アルギネートなどのアミノ酸の塩、およびグルクロン酸またはガラクトロン酸 (galactunoric) などの有機酸の塩も含まれる。本発明の特定の具体的な化合物は、化合物が塩基付加塩または酸付加塩のいずれかに変換されることを可能にする塩基性および酸性の官能基の両方を含む。

#### 【0050】

化合物の中性形態は、塩を塩基または酸と接触させ、かつ親化合物を従来の方法で単離することにより、再生することが好ましい。化合物の親形態は、極性溶媒での溶解性のようある物理的特性において、種々の塩形態と異なる。

10

#### 【0051】

本発明のある化合物は、非溶媒和形態および水素化された形態を含む溶媒和形態で存在できる。一般に、溶媒和形態は非溶媒和形態と均等であり、本発明の範囲内に含まれる。本発明のある化合物は、多結晶体または非晶質体で存在し得る。一般に、全ての物理的形態は、本発明により意図される使用について均等であり、本発明の範囲内であることを意図する。

#### 【0052】

本発明のある特定の化合物は、不斉炭素原子（光学またはキラル中心）または二重結合を有し；絶対立体化学の点で (R) - もしくは (S) - またはアミノ酸については (D) - もしくは (L) - として定義され得る、鏡像異性体、ラセミ体、ジアステレオマー、互変異性体、幾何異性体、立体異性体、および個別の異性体は、本発明の範囲に含まれる。本発明の化合物は、不安定すぎて合成および／または単離できないと当技術分野において知られているものは含まない。本発明は、ラセミ体および光学的に純粋な形態の化合物を含むことを意味する。光学活性な (R) - および (S) - 、または (D) - および (L) - 異性体は、キラルシントンもしくはキラル試薬を用いて製造してよいか、または従来の技術を用いて分割してよい。本明細書で記載される化合物がオレフィン結合または他の幾何不斉中心を含む場合、特に明示しない限りは、該化合物は E および Z の幾何異性体の両方を含むことを意図する。

20

#### 【0053】

本明細書で用いる場合、用語「互変異性体」は、平衡して存在し、一方の異性体から他方へと容易に変換される 2 以上の構造異性体の 1 つをいう。

30

#### 【0054】

当業者には、本発明の特定の化合物が互変異性体にて存在してよく、該化合物のこのような互変異性体の全てが本発明の範囲内であることが明らかである。

#### 【0055】

特に明記しない限りは、本明細書において記載する構造は、該構造の全ての立体化学的形態、すなわち、各不斉中心についての R および S 立体配置を含むことも意味する。よって、本発明の化合物の单一の立体化学的異性体ならびに鏡像異性およびジアステレオ混合物は、本発明の範囲内である。

40

#### 【0056】

特に明記しない限りは、本明細書において記載する構造は、1 以上の同位体濃縮された原子の存在のみが異なる化合物を含むことも意味する。例えば、重水素もしくはトリチウムによる水素の置換、または<sup>13</sup>C - もしくは<sup>14</sup>C - 富化された炭素による炭素の置換を除き、本発明の構造を有する化合物は、本発明の範囲内である。

#### 【0057】

本発明の化合物は、該化合物を構成する 1 以上の原子において原子同位体の非天然の割合を有してもよい。例えば、化合物は、例えばトリチウム (<sup>3</sup>H)、ヨウ素 - 125 (<sup>125</sup>I) または炭素 - 14 (<sup>14</sup>C) のような放射活性同位体で放射性標識することができる。本発明の化合物の全ての同位体の種は、放射活性であろうとなかろうと、本発明の範囲内

50

に包含される。

【0058】

用語「医薬的に許容される塩」は、本明細書に記載される化合物について見出される特定の置換部分に応じて、比較的無毒性の酸または塩基を用いて製造される活性化合物の塩を含むことを意味する。本発明の化合物が比較的酸性の官能基を含む場合、このような化合物の中性形態を、無溶媒または適切な不活性溶媒中のいずれかで、十分量の所望の塩基と接触させることにより、塩基付加塩を得ることができる。医薬的に許容される塩基付加塩の例は、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノもしくはマグネシウム塩または類似の塩を含む。本発明の化合物が比較的塩基性の官能基を含む場合、該化合物の中性形態を、無溶媒または適切な不活性溶媒中のいずれかで、十分量の所望の酸と接触させることにより、酸付加塩を得ることができる。医薬的に許容される酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸一水素、リン酸、リン酸一水素、リン酸二水素、硫酸、硫酸一水素、ヨウ化水素酸、またはリン酸などの無機酸から誘導されるもの、ならびに酢酸、プロピオン酸、イソブチル酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スペリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、タル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸などの比較的無毒性の有機酸から誘導される塩を含む。アルギネートなどのアミノ酸の塩、およびグルクロン酸またはガラクトロン酸(galactunoric)のような有機酸の塩も含む(例えばBergeら, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1~19を参照されたい)。本発明のいくつかの特定の化合物は、化合物が塩基付加塩または酸付加塩のいずれかに変換されることを可能にする塩基性および酸性の両方の官能基を含む。

10

20

30

【0059】

塩の形態に加えて、本発明は、プロドラッグ形態の化合物を提供する。本明細書に記載の化合物のプロドラッグは、生理条件下で化学変化を容易に受けて本発明の化合物を与える化合物である。さらに、プロドラッグは、生体外(ex vivo)環境において化学的または生化学的方法により本発明の化合物に変換できる。例えば、プロドラッグは、適切な酵素または化学薬品と共に経皮パッチ容器内に置いた場合、本発明の化合物に徐々に変換することができる。

【0060】

本明細書において置換基の基について用いる場合、用語「a」、「an」または「a(n)」は、少なくとも1つを意味する。例えば、ある化合物が「an」アルキルまたはアリールで置換される場合、該化合物は、適宜少なくとも1つのアルキルおよび/または少なくとも1つのアリールで置換される。さらに、ある部分がR置換基で置換される場合、その基は「R置換」ということができる。ある部分がR置換である場合、該部分は少なくとも1つのR置換基で置換されており、各R置換基は適宜異なる。

40

【0061】

本発明の化合物の記載は、当業者に知られる化学結合の原理により制限される。よって、ある基が1以上の置換基により置換されてよい場合、このような置換基は、化学結合の原理に適合し、本来不安定ではなくかつ/または水性、中性およびいくつかの既知の生理条件のような周囲条件の下で不安定になりそうであると当業者に知られていると考えられる化合物を与えるように選択される。例えば、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリールは、当業者に知られる化学結合の原理に従って、分子の残部に環ヘテロ原子を介して結合し、それにより本来不安定な化合物を回避する。

【0062】

特定の疾患についての用語「治療する」または「治療」は、疾患の予防を含む。

【0063】

記号

## 【化4】

~~~~~

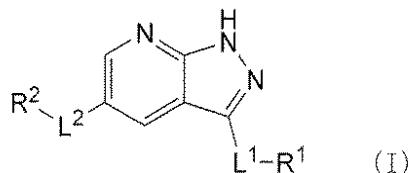
は、分子の残部への部分の結合点を表す。

## 【0064】

I. 縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子

ある態様において、本発明は、式：

## 【化5】



10

で示される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子（本明細書において「本発明の化合物」ともいう）を提供する。

## 【0065】

式(I)において、 $L^1$ および $L^2$ は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_5$ アルキレン、または置換もしくは非置換2～5員ヘテロアルキレンである。いくつかの具体的な態様において、 $L^1$ および $L^2$ は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、非置換 $C_1 \sim C_5$ アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレンである。記号nは、0～2の整数である。 $R^1$ および $R^2$ は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールである。

20

## 【0066】

いくつかの具体的な態様において、 $R^1$ は、置換または非置換ピロリルではない。他の具体的な態様において、 $R^1$ および $R^2$ が共に非置換フェニルである場合、 $L^1$ は非置換2～5員ヘテロアルキレンではない。他の具体的な態様において、 $R^2$ が非置換ピペラジニルである場合、 $L^1$ は $-S(O)_2-$ ではない。

30

## 【0067】

いくつかの具体的な態様において、 $R^1$ は、置換または非置換5員ヘテロアリールではない。他の具体的な態様において、 $R^1$ は、置換もしくは非置換6員ヘテロアリール、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。 $R^1$ は、置換もしくは非置換6員ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであることができる。

## 【0068】

他の具体的な態様において、 $R^1$ および $R^2$ が共に非置換アリールである場合、 $L^1$ は非置換2～5員ヘテロアルキレンではない。他の具体的な態様において、 $R^1$ および $R^2$ が共に置換もしくは非置換フェニルである場合、 $L^1$ は非置換2～5員ヘテロアルキレンではない。他の具体的な態様において、 $L^1$ は、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ および非置換 $C_1 \sim C_5$ アルキレンから選択される。他の具体的な態様において、nは0または1である。他の具体的な態様において、 $L^1$ は、結合、 $-O-$ 、 $-NH-$ および非置換 $C_1 \sim C_5$ アルキレンから選択される。

40

## 【0069】

いくつかの具体的な態様において、 $R^2$ が置換もしくは非置換ピペラジニルである場合、 $L^1$ は $-S(O)_2-$ ではない。他の具体的な態様において、 $R^2$ が非置換ヘテロシクロアルキルである場合、 $L^1$ は $-S(O)_2-$ ではない。他の具体的な態様において、 $R^1$ が置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキルである場合、 $L^1$ は $-S(O)_2-$ ではない。他の具体的な態様において、nは0または1である。他の具体的な態様において、 $L^2$ が結合である場合、 $L^1$ は $-S(O)_2-$ ではない。

50

## 【0070】

いくつかの具体的な状態において、 $R^2$ は非置換6員ヘテロシクロアルキルではない。他の具体的な状態において、 $R^2$ は置換または非置換6員ヘテロシクロアルキルではない。他の具体的な状態において、 $R^2$ は、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換5員ヘテロシクロアルキル、置換または非置換アリール、および置換または非置換シクロアルキルから選択される。 $R^2$ は、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであることもできる。

## 【0071】

いくつかの具体的な状態において、 $R^2$ が非置換ピリジニルである場合、 $R^1$ は置換または非置換イソキサゾリルではない。他の具体的な状態において、 $L^1$ が結合または $-CH_2-$ である場合、 $R^1$ は置換または非置換イソキサゾリルではない。他の具体的な状態において、 $R^1$ は置換または非置換イソキサゾリルではない。他の具体的な状態において、 $R^1$ は4-置換イソキサゾリルではない。他の具体的な状態において、 $R^1$ は5-イル-イソキサゾリルではない。他の具体的な状態において、 $R^1$ は4-置換-5-イル-イソキサゾリルではない。他の具体的な状態において、 $R^1$ は、フルオロ置換アリールで置換されたイソキサゾリルではない。

10

## 【0072】

$L^1$ および $L^2$ は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ または非置換 $C_1-C_5$ アルキレンであることができる。いくつかの具体的な状態において、 $L^1$ および $L^2$ は結合である。他の具体的な状態において、 $L^1$ または $L^2$ は結合である。

20

## 【0073】

$R^1$ は、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換5もしくは6員ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであることができる。 $R^1$ は、置換もしくは非置換6員ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであることもできる。

## 【0074】

他の具体的な状態において、 $R^1$ は、(1)非置換 $C_3-C_7$ シクロアルキル；(2)非置換3~7員ヘテロシクロアルキル；(3)非置換ヘテロアリール；(4)非置換アリール；(5)置換 $C_3-C_7$ シクロアルキル；(6)置換3~7員ヘテロシクロアルキル；(7)置換アリール；または(8)置換ヘテロアリールである。いくつかの関連する具体的な状態において、(5)および(6)は、オキソ、 $-OH$ 、 $-CF_3$ 、 $-COOH$ 、シアノ、ハロゲン、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_1-C_{10}$ アルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_3-C_7$ シクロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $-L^{12}-C(X^1)R^7$ 、 $-L^{12}-OR^8$ 、 $-L^{12}-NR^{91}R^{92}$ 、または $-L^{12}-S(O)_mR^{10}$ で置換される。 $X^1$ は、=S、=Oまたは=NR<sup>15</sup>(ここに、 $R^{15}$ は、H、-OR<sup>151</sup>、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_1-C_{10}$ アルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_3-C_7$ シクロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールである)である。 $R^{151}$ は、水素または $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_1-C_{10}$ アルキルである。記号mは、0~2の整数である。

30

## 【0075】

他の関連する具体的な状態において、(7)および(8)は、 $-OH$ 、 $-CF_3$ 、 $-COOH$ 、シアノ、ハロゲン、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_1-C_{10}$ アルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換2~10員ヘテロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換 $C_3-C_7$ シクロアルキル、 $R^{11}$ 置換もしくは非置換3~7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $R^{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $-L^{12}-C(X^1)R^7$ 、 $-L^{12}-OR^8$ 、 $-L^{12}-NR^{91}R^{92}$ 、または $-L^{12}-S(O)_mR^{10}$ で置換される。 $L^{12}$ は、結合、非置

40

50

換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキレン、または非置換ヘテロアルキレンである。 $X^1$  および  $m$  は、上記で定義するとおりである。

#### 【0076】

$R^7$  は、水素、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$  置換もしくは非置換アリール、 $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $-OR^{71}$ 、または  $-NRR^{72}R^{73}$  である。 $R^{71}$ 、 $R^{72}$  および  $R^{73}$  は独立して、水素、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールである。 $R^{72}$  および  $R^{73}$  は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または  $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

10

#### 【0077】

$R^8$ 、 $R^{91}$  および  $R^{92}$  は独立して、水素、 $-CF_3$ 、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$  置換もしくは非置換アリール、 $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $-C(X^2)R^8$   $^1$ 、または  $-S(O)_wR^{81}$  である。 $X^2$  は、=S、=O、または=N $R^{16}$  である。 $R^{16}$  は、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールである。記号  $w$  は、0 ~ 2 の整数である。 $R^{91}$  および  $R^{92}$  は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または  $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

20

#### 【0078】

$R^{81}$  は、水素、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$  置換もしくは非置換アリール、 $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリール、または  $-NRR^{811}R^{812}$  である。

30

#### 【0079】

$R^{811}$  および  $R^{812}$  は独立して、水素、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^1$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 $R^{12}$  置換もしくは非置換アリール、または  $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールである。 $R^{811}$  および  $R^{812}$  は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または  $R^{12}$  置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

#### 【0080】

いくつかの具体的な態様において、 $R^{81}$  および  $R^{16}$  は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。他の具体的な態様において、 $R^{811}$  および  $R^{16}$  は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。他の具体的な態様において、 $R^{81}$  および  $R^{92}$  は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。他の具体的な態様において、 $R^{811}$  および  $R^{92}$  は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

40

#### 【0081】

$R^{10}$  は、水素、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{10}$  アルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、 $R^{11}$  置換もしくは非置換  $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、 $R^{11}$  置換

50

もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、または-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>である。R<sup>101</sup>およびR<sup>102</sup>は独立して、水素、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>12</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。R<sup>101</sup>およびR<sup>102</sup>は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>11</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、またはR<sup>12</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

## 【0082】

R<sup>11</sup>は、オキソ、-OH、-COOH、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、アミノ、ハロゲン、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換2～10員アルキル、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>14</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>14</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

10

## 【0083】

R<sup>12</sup>は、-OH、-COOH、アミノ、ハロゲン、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換2～10員アルキル、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>13</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>14</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>14</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

20

## 【0084】

R<sup>13</sup>は、オキソ、-OH、-COOH、アミノ、ハロゲン、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、非置換2～10員ヘテロアルキル、非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールである。

## 【0085】

R<sup>14</sup>は、-OH、-COOH、アミノ、ハロゲン、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CN、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、非置換2～10員ヘテロアルキル、非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールである。

30

## 【0086】

いくつかの具体的な態様において、R<sup>1</sup>は、(1)、(2)、(4)、(5)、(6)または(7)である(すなわち、それぞれ、非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、置換3～7員ヘテロシクロアルキル、または置換アリールである)。いくつかの具体的な態様において、R<sup>1</sup>が(3)または(8)である場合、ヘテロアリールは6員ヘテロアリールである。

## 【0087】

R<sup>1</sup>が(7)または(8)である場合(すなわち、置換アリールまたは置換ヘテロアリール)、(7)および(8)は、-OH、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、ハロゲン、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、非置換2～10員ヘテロアルキル、非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、または-L<sup>12</sup>-OR<sup>8</sup>で置換することができる。関連する具体的な態様において、L<sup>12</sup>は結合である。他の関連する具体的な態様において、(7)および(8)は、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、ハロゲン、またはシクロプロピルオキシで置換することができる。

40

## 【0088】

R<sup>2</sup>は、(1)非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル；(2)非置換3～7員ヘテロシクロアルキル；(3)非置換ヘテロアリール；(4)非置換アリール；(5)置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル；(6)置換3～7員ヘテロシクロアルキル；(7)置換アリール；または(8)置換ヘテロアリールであることができる。いくつかの関連する具体的な態様において、

50

(5) および(6)は、オキソ、-OH、-CF<sub>3</sub>、-COOH、シアノ、ハロゲン、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-C(X<sup>3</sup>)R<sup>3</sup>、-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-OR<sup>4</sup>、-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-NR<sup>5</sup><sup>1</sup>R<sup>5</sup><sup>2</sup>、または-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-S(O)<sub>q</sub>R<sup>6</sup>で置換される。X<sup>3</sup>は、=S、=O、または=NR<sup>17</sup>(ここに、R<sup>17</sup>は、H、-OR<sup>17</sup>、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである)である。R<sup>17</sup>は、HまたはR<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキルである。記号qは、0～2の整数である。

10

## 【0089】

他の関連する具体的な態様において、(7)および(8)は、-OH、-CF<sub>3</sub>、-COOH、シアノ、ハロゲン、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-C(X<sup>3</sup>)R<sup>3</sup>、-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-OR<sup>4</sup>、-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-NR<sup>5</sup><sup>1</sup>R<sup>5</sup><sup>2</sup>、または-L<sup>2</sup><sup>2</sup>-S(O)<sub>q</sub>R<sup>6</sup>で置換される。L<sup>2</sup><sup>2</sup>は、結合、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキレン、または非置換ヘテロアルキレンである。X<sup>3</sup>およびqは、上記で定義されるとおりである。

20

## 【0090】

R<sup>3</sup>は、水素、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-OR<sup>31</sup>、または-NR<sup>32</sup>R<sup>33</sup>である。R<sup>32</sup>およびR<sup>33</sup>は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、またはR<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

## 【0091】

R<sup>31</sup>、R<sup>32</sup>およびR<sup>33</sup>は独立して、水素、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

30

## 【0092】

R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup><sup>1</sup>およびR<sup>5</sup><sup>2</sup>は独立して、水素、-CF<sub>3</sub>、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリール、-C(X<sup>4</sup>)R<sup>4</sup><sup>1</sup>、または-S(O)<sub>v</sub>R<sup>4</sup><sup>1</sup>である。R<sup>5</sup><sup>1</sup>およびR<sup>5</sup><sup>2</sup>は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、またはR<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

40

## 【0093】

X<sup>4</sup>は、=S、=O、または=NR<sup>18</sup>(ここに、R<sup>18</sup>は、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、またはR<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである)である。記号vは、0～2の整数である。

## 【0094】

R<sup>4</sup><sup>1</sup>は、水素、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換C<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>1</sup>置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換アリール、R<sup>2</sup><sup>2</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

50

置換もしくは非置換ヘテロアリール、または - N R<sup>411</sup> R<sup>412</sup> である。R<sup>411</sup> および R<sup>412</sup> は独立して、水素、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、R<sup>22</sup>置換もしくは非置換アリール、または R<sup>22</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールから選択される。R<sup>411</sup> および R<sup>412</sup> は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または R<sup>22</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

#### 【0095】

いくつかの具体的な態様において、R<sup>41</sup> および R<sup>18</sup> は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。他の具体的な態様において、R<sup>411</sup> および R<sup>18</sup> は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。他の具体的な態様において、R<sup>41</sup> および R<sup>52</sup> は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。他の具体的な態様において、R<sup>411</sup> および R<sup>52</sup> は、適宜それらが結合している原子と一緒にになって、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、または置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

#### 【0096】

R<sup>6</sup> は、水素、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、R<sup>22</sup>置換もしくは非置換アリール、または - N R<sup>61</sup> R<sup>62</sup> である。R<sup>61</sup> および R<sup>62</sup> は、水素、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、R<sup>22</sup>置換もしくは非置換アリール、または R<sup>22</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。R<sup>61</sup> および R<sup>62</sup> は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、R<sup>21</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、または R<sup>22</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

#### 【0097】

R<sup>21</sup> は、オキソ、- OH、- COOH、- CF<sub>3</sub>、- OCF<sub>3</sub>、- CN、アミノ、ハロゲン、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員アルキル、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、R<sup>24</sup>置換もしくは非置換アリール、または R<sup>24</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

#### 【0098】

R<sup>22</sup> は、- OH、- COOH、アミノ、ハロゲン、- CF<sub>3</sub>、- OCF<sub>3</sub>、- CN、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員アルキル、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、R<sup>23</sup>置換もしくは非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、R<sup>24</sup>置換もしくは非置換アリール、または R<sup>24</sup>置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

#### 【0099】

R<sup>23</sup> は、オキソ、- OH、- COOH、アミノ、ハロゲン、- CF<sub>3</sub>、- OCF<sub>3</sub>、- CN、非置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールである。

#### 【0100】

R<sup>24</sup> は、- OH、- COOH、アミノ、ハロゲン、- CF<sub>3</sub>、- OCF<sub>3</sub>、- CN、非置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、非置換 2 ~ 10 員ヘテロアルキル、非置換 C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル、非置換 3 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールである。

10

20

30

40

50

## 【0101】

いくつかの具体的な構造において、 $R^2$ は、(1)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)または(8)である(すなわち、それぞれ、非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、非置換ヘテロアリール、非置換アリール、置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、置換3～7員ヘテロシクロアルキル、置換アリール、または置換ヘテロアリール)。 $R^2$ は、(3)、(4)、(7)または(8)であることもできる。他の具体的な構造において、 $R^2$ は、(7)または(8)である。

## 【0102】

いくつかの具体的な構造において、 $R^2$ が(7)および(8)であるときは、(7)および(8)は、 $-L^{22}-C(X^3)R^3$ 、 $-L^{22}-OR^4$ 、 $-L^{22}-NR^{51}R^{52}$ 、 $-L^{22}-C(NH)-NR^{32}R^{33}$ 、または $-L^{22}-S(O)_qR^6$ で置換される。

10

## 【0103】

いくつかの具体的な構造において、 $R^3$ は $-NR^{32}R^{33}$ である。 $X^3$ は、=Oまたは=NR<sup>17</sup>であることができる。 $R^6$ は $-NR^{61}R^{62}$ であることができる。 $R^4$ は $-C(O)R^{41}$ または $-S(O)vR^{41}$ であることができる。 $R^{41}$ は $-NR^{411}R^{412}$ であることができる。

17

## 【0104】

$R^2$ が(7)および(8)である他の具体的な構造において、(7)または(8)は、 $-OH$ 、 $-CF_3$ 、 $-COOH$ 、アミノ、ハロゲン、非置換2～10員ヘテロアルキル、非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、または $-L^{22}-C(X^3)R^3$ で置換することができる。 $X^3$ は、=Oであることができる。

20

## 【0105】

$R^3$ は、非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、非置換2～10員ヘテロアルキル、非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、または $-NR^{32}R^{33}$ であることができる。 $R^{32}$ および $R^{33}$ は独立して、水素、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであることができる。 $R^{32}$ および $R^{33}$ は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

30

## 【0106】

$R^2$ が(7)または(8)である別の具体的な構造において、(7)および(8)は、非置換2～10員ヘテロアルキル、または $-L^{22}-C(O)R^3$ で置換することができる。 $L^{22}$ は結合であることができる。 $R^3$ は $-NR^{32}R^{33}$ であることができる。 $R^{32}$ および $R^{33}$ は独立して、水素、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換2～10員ヘテロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、 $R^{22}$ 置換もしくは非置換アリール、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールであることができる。 $R^{32}$ および $R^{33}$ は、適宜それらが結合している窒素と一緒にになって、 $R^{21}$ 置換もしくは非置換3～7員ヘテロシクロアルキル、または $R^{22}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールを形成する。

40

## 【0107】

いくつかの具体的な構造において、 $R^1$ は、置換もしくは非置換縮合環アリール、または置換もしくは非置換縮合環ヘテロアリールである。他の具体的な構造において、 $R^2$ は、置換もしくは非置換インドリル、置換もしくは非置換キノリニル、または置換もしくは非置換ベンゾジオキソリルである。 $R^2$ は、置換もしくは非置換縮合環アリール、または置換もしくは非置換縮合環ヘテロアリールであることができる。 $R^1$ は、置換もしくは非置換インドリル、置換もしくは非置換キノリニル、または置換もしくは非置換ベンゾジオキソリルであることができる。

## 【0108】

50

$R^1$ および $R^2$ は独立して、置換もしくは非置換ヒダントイニル、置換もしくは非置換ジオキソラニル、置換もしくは非置換ジオキサニル、置換もしくは非置換トリオキサニル、置換もしくは非置換テトラヒドロチエニル、置換もしくは非置換テトラヒドロフラニル、置換もしくは非置換テトラヒドロチオフェニル、置換もしくは非置換テトラヒドロピラニル、置換もしくは非置換テトラヒドロチオピラニル、置換もしくは非置換ピロリジニル、置換もしくは非置換モルホリノ、置換もしくは非置換ピペリジニル、置換もしくは非置換ピラゾリル、置換もしくは非置換フラニル、置換もしくは非置換イミダゾリル、置換もしくは非置換イソキサゾリル、置換もしくは非置換オキサジアゾリル、置換もしくは非置換オキサゾリル、置換もしくは非置換ピリジル、置換もしくは非置換ピラジル、置換もしくは非置換ピリミジル、置換もしくは非置換ピリダジニル、置換もしくは非置換チアゾリル、置換もしくは非置換イソチオアゾリル(isothioazolyl)、置換もしくは非置換トリアゾリル、置換もしくは非置換チエニル、置換もしくは非置換トリアジニル、置換もしくは非置換チアジアゾリル、または置換もしくは非置換テトラゾリルであることができる。

10

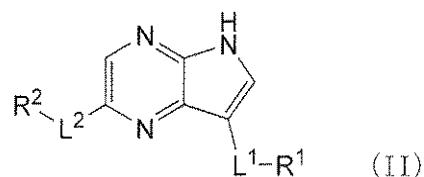
## 【0109】

別の具体的態様において、本発明の化合物は、表1～18または20、および／または以下の実施例の項の方法2～61の化合物のいずれか1つである。

## 【0110】

別の態様において、本発明は、式：

## 【化6】



20

で示される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子（本明細書において、「本発明の化合物」ともいう）を提供する。

## 【0111】

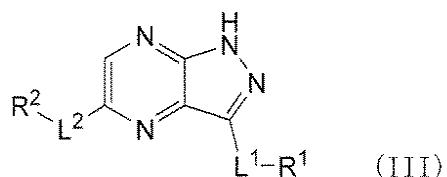
式(II)において、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $R^1$ および $R^2$ は、式(I)の説明において上記で定義されるとおりである。

30

## 【0112】

別の態様において、本発明は、式：

## 【化7】



で示される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子（本明細書において、「本発明の化合物」ともいう）を提供する。

40

## 【0113】

式(III)において、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $R^1$ および $R^2$ は、式(I)の説明において上記で定義されるとおりである。

## 【0114】

いくつかの具体的態様において、式(I)～(III)の化合物において上記で定義される各置換基は、少なくとも1つの置換基で置換される。より具体的には、いくつかの具体的態様において、式(I)～(III)の化合物において上記で定義される置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、および／または置換ヘテロアルキレンのそれ

50

それは、少なくとも 1 つの置換基で置換される。他の具体的な態様において、少なくとも 1 つまたは全てのこれらの基は、少なくとも 1 つのサイズ限定置換基で置換される。あるいは、少なくとも 1 つまたは全てのこれらの基は、少なくとも 1 つの低級置換基で置換される。

#### 【 0 1 1 5 】

式 ( I ) ~ ( I I I ) の化合物の他の具体的な態様において、置換もしくは非置換アルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{20}$  アルキルであり、置換もしくは非置換ヘテロアルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換 2 ~ 20 員ヘテロアルキルであり、置換もしくは非置換シクロアルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換  $C_4 \sim C_8$  シクロアルキルであり、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換 4 ~ 8 員ヘテロシクロアルキルであり、置換もしくは非置換アルキレンのそれぞれは、置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_{20}$  アルキレンであり、かつ / または置換もしくは非置換ヘテロアルキレンのそれぞれは、置換もしくは非置換 2 ~ 20 員ヘテロアルキレンである。

10

#### 【 0 1 1 6 】

あるいは、置換もしくは非置換アルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_8$  アルキルであり、置換もしくは非置換ヘテロアルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換 2 ~ 8 員ヘテロアルキルであり、置換もしくは非置換シクロアルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換  $C_5 \sim C_7$  シクロアルキルであり、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキルのそれぞれは、置換もしくは非置換 5 ~ 7 員ヘテロシクロアルキルであり、置換もしくは非置換アルキレンのそれぞれは、置換もしくは非置換  $C_1 \sim C_8$  アルキレンであり、かつ / または置換もしくは非置換ヘテロアルキレンのそれぞれは、置換もしくは非置換 2 ~ 8 員ヘテロアルキレンである。

20

#### 【 0 1 1 7 】

##### 合成例

本発明の化合物は、一般的によく知られた合成方法の適切な組合せにより合成される。本発明の化合物を合成するのに有用な技術は、当業者に明らかでありかつ当業者が利用できる。以下の説明は、本発明の下で請求する化合物を基本的にどのようにして入手するかを説明し、本発明の化合物を製造するのに用いるために利用可能ないくつかの多様な方法の詳細を提供するために与えられる。しかし、以下の説明は、本発明の化合物の製造において有用な反応または反応順序の範囲を規定または限定することを意図しない。本発明の化合物は、以下の実施例の項で開示される手順および技術により、および既知の有機合成技術により製造してよい。反応式 1、2 および 3 において、 $L^1$ 、 $R^1$ 、 $L^2$  および  $R^2$  は、上記で定義されるとおりである。

30

#### 【 0 1 1 8 】

3, 5 - 二置換 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン誘導体の合成のための重要な中間体は、5 - ブロモ - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンおよび 5 - ブロモ - 3 - ヨード - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンである。これらの構成単位に存在する s p<sup>2</sup> 混成芳香族炭素原子上のヨウ素および / または臭素の置換基は、いずれかの位置での官能化のための多数の合成の可能性を提供する。このような合成方法は多種存在し、これらの手順は一般に当業者によく知られておりかつ当業者が精通しており、限定しない例として、遷移金属触媒法（最も著名な方法はパラジウム、鉄、ニッケルまたは銅の触媒を用いる）、および金属 - ハロゲン交換反応（最も著名なこの方法は、リチウムまたはマグネシウムを導入する）、および直接または有機金属種の反応性を最適化するために金属交換反応を介しての、適切な反応性の求電子体との一過性または単離された有機金属誘導体のその後の反応を含む。

40

## 【化8】



## 【0119】

このような方法を用いて、1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンコアの3位および5位への異なる置換基の導入が、5 - ブロモ - 1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンから出発して、選択した置換基の5位での導入、およびその後の1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンコアの3位でのハロゲン化、特にヨウ素化により達成でき、上記の方法を用いてその位置に最適な別の置換基を導入することを可能にする。あるいは、上記で概説したいくつかの方法を用いて、臭化置換基を越えてヨウ化置換基と選択的に反応することにより、5 - ブロモ - 3 - ヨード - 1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンを3位にて選択的に官能化してもよい。芳香族臭化置換基に比べて芳香族ヨウ化置換基とより高い反応性を示す種々のパラジウム触媒が知られており、容易に利用可能であるかまたは入手可能であること、およびこののような触媒は選択的にヨウ素を置換する適切な条件下で用いてよいことは、一般的に当業者によく知られておりかつ当業者が精通している。

10

20

## 【0120】

5 - ブロモ - 1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンまたは適切な保護基を有する誘導体は、フリーデル - クラフツアシル化のような一般的に当業者によく知られておりかつ当業者が精通している種々の求電子的芳香族置換反応を介して、3位にて官能化してもよい。

20

## 【0121】

このようにしていざれかの位置に導入された置換基は、本発明の下で請求されるもののような完全に修飾された化合物であってもよいし、または限定しない例として、アミン、カルボン酸もしくはエステル、ニトリル、オレフィンまたはハロゲンのような官能基を、遊離または適切な保護基を有して含有してもよく、これは次いで一般的によく知られている合成変換における出発材料として用いて本発明の下で請求される化合物を合成してもよい。

30

## 【0122】

本発明の化合物を合成するのに有用な、適切に官能化されたピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン誘導体、特に5 - ブロモ - 1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンおよび5 - ブロモ - 3 - ヨード - 1H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンは、市販の5 - ブロモ - 2 - フルオロピリジンから反応式1に概説するようにして製造できる。5 - ブロモ - 2 - フルオロピリジンは、Schlosser, M., Organometallics in Synthesis, 第2版, Wiley - VCH, 2002; Clayden, J., Organolithiums: Selectivity for Synthesis, Pergamon, 2002; およびMonginら, Tetrahedron (2001) 57, 4059 ~ 4090に記載される一般的方法に類似する方法での2 - フルオロピリジンの一般的によく知られている選択的メタル化により3位にて選択的に官能化できる。つまり、メタル化は、非プロトン性溶媒（例えばTHF、ヘキサン、エーテルまたはそれらの混液）中で、低温、典型的には-78またはそれ未満にて、適切な非求核性の強塩基（例えばリチウムジ - イソ - プロピルアミドまたはリチウム2,2,6,6 - テトラメチルピペリジド）との処理により達成してよい。

40

## 【0123】

未精製のメタル化された中間体は、DMF、N - ホルミル - N - メチルアニリン、N - ホルミルモルホリン、N - ホルミルピペリジンまたはギ酸エチルのようなホルミル化試薬

50

との処理により、対応する 3 - カルバルデヒド 2 に変換できる。直接または適切な保護基（例えばアセタール）を用いるアルデヒドを保護しながらのカルバルデヒドとヒドラジンまたは適切なヒドラジン誘導体（例えばカルバジン酸ヒドラジン - t e r t - ブチル、またはヒドラジン塩酸塩のようなヒドラジンから誘導される溶解性の有機もしくは無機の塩）との反応により、5 - ブロモ - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンが得られる。さらなる修飾のための 3 位での適切な基の導入は、求電子的芳香族置換（例えば臭素化またはヨウ素化）のような当技術分野において一般的によく知られている方法により達成できる。つまり、ヨウ化物 4 は、このような変換を促進する条件下での N - ヨードスクシンイミド、一塩化ヨウ素またはヨウ素のような適切な試薬との処理により、3 から得られる。求電子的芳香族置換による官能化のその他の例は、限定しない例として、例えばプロモアセチルクロリド、アクリロイルクロリドまたはトリクロロアセチルクロリドのような官能化されたハロゲン化アシルを、ジクロロメタン中の三塩化アルミニウムの存在下に、周囲温度またはそれ未満で用いるフリーデル - クラフツアシル化である。当業者に認識されるように、このような反応の生成物は、あるヘテロ環式化合物の合成の出発材料として用いてよい。

10

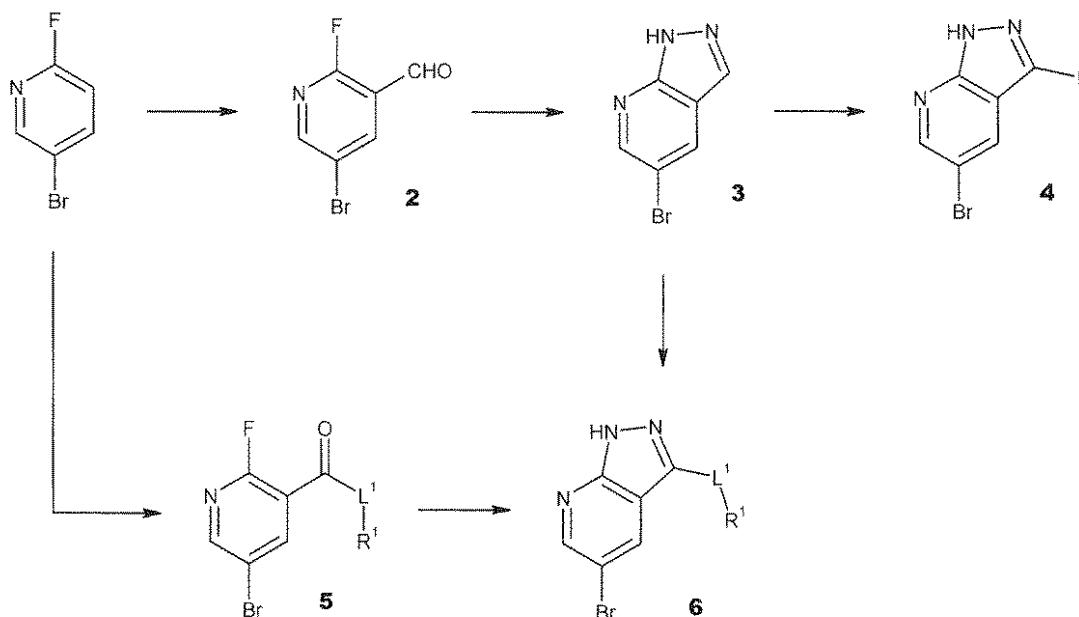
## 【 0 1 2 4 】

あるいは、5 - ブロモ - 2 - フルオロピリジンの脱プロトン化から誘導されるメタル化中間体は、適切な条件下でトランスメタル化して、有機銅酸塩試薬を作ることができる（Lippshutz, B., Organometallics in Synthesis, 第2版, Wiley - VCH, 2002 参照）。ハロゲン化アシルを用いてこのようにして作製した銅酸塩の反応により、一般構造 5 のケトンを得て、これをヒドラジンまたはヒドラジンから誘導される溶解性の有機もしくは無機の塩（例えばヒドラジン塩酸塩）を用いる反応により閉環して、一般構造 6 の対応する 3 - 置換 5 - ブロモ - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンを得ることができる。

20

## 【 化 9 】

反応式 1



## 【 0 1 2 5 】

ハロゲン化物 3、4 または 6 の修飾は、以下の反応式 2 に概説するもののような一般的によく知られている方法により容易に達成できる。例えば、金属触媒クロスカップリング反応は、種々の既知の遷移金属化合物（例えばパラジウム、鉄またはニッケルから誘導される化合物）を用いて行ってよい。このような変換の例は、次の参考文献で見い出すことができる：Diederich, F., Stang, P. J. - Metal-catal

50

y z e d C r o s s - c o u p l i n g R e a c t i o n s , W i l e y - V C H , 1 9 9 8 ; B e l l e r , M . , T r a n s i t i o n M e t a l s f o r O r g a n i c S y n t h e s i s , W i l e y - V C H , 1 9 9 8 ; T s u j i , J . , P a l l a d i u m R e a g e n t s a n d C a t a l y s t s , W i l e y - V C H , 第1および第2版, 1995, 2004; F u e r s t n e r , A . ら , J . A m . C h e m . S o c . ( 2 0 0 2 ) 1 2 4 , 1 3 8 5 6 ; ならびに B o l m , C . ら , C h e m . R e v . ( 2 0 0 4 ) 1 0 4 , 6 2 1 7 。その他の有用な方法は、一般的によく知られている方法（例えば金属ハロゲン交換、および適切または必要であれば、その後の溶解性で反応性のホウ素、マグネシウム、亜鉛、錫、ケイ素もしくは銅の化合物を用いるトランスマタル化；このような方法の代表的な例は：S c h l o s s e r , M . , O r g a n o m e t a l l i c s i n S y n t h e s i s , 第2版, W i l e y - V C H , 2 0 0 2 を参照されたい）を用いる、臭素またはヨウ素置換基の金属またはメタロイド置換基（例えば有機ホウ素、有機リチウム、有機錫、有機ケイ素、有機亜鉛、有機銅または有機マグネシウム化合物）への変換を含む。このようにして得られる有機金属誘導体は、芳香族またはオレフィン性のハロゲン化物またはトリフレートとの遷移金属触媒カップリング反応においてそれ自体で有用であり得るか、あるいは十分に反応性があれば、例えばある有機ハロゲン化物、マイケル受容体、オキシラン、アジリジン、アルデヒド、ハロゲン化アシル、またはニトリルのような適切な求電子体と直接反応してよい。

10

## 【 0 1 2 6 】

3位または5位のいずれかでの選択的官能化は、いずれかの位置で官能基を導入するために用いる変換の性質、特にいずれかの位置での官能化の順序に応じて、異なる手順を必要とし得る。つまり、導入される具体的な基の性質、このような変換を達成するために必要な方法、または用いる方法の本来の選択性に応じて、5位での官能化の前に3位での官能化を達成することが有利または必要であり得る場合があり、逆のアプローチが必要とされる場合もあり得る。例えば、電子が欠乏しており、かつ／または1つもしくは複数の置換基をホウ素・炭素結合に対してオルトに有する、例えばいくつかのボロン酸またはこれらのエステルのようないくつかの反応物（例えば1つもしくは複数の電子求引性置換基を有するか、またはあるヘテロ環系の誘導体であるもの）は、反応性が高いパラジウム触媒（例えばV i l a r , R . , C h r i s t m a n , U . - A n g e w . C h e m . ( 2 0 0 5 ) 1 1 7 , 3 7 0 ; L i t t k e , A . F . , F u , G . - A n g e w . C h e m . ( 2 0 0 2 ) 1 1 4 , 4 3 5 0 で言及されるもの）の使用、ならびに高温および／または長い反応時間のような、より促進的な条件を必要とし得る。このような条件は、5-ブロモ-3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンの反応においてかなりの選択性を達成するために行うことは可能ではないと考えられる。よって、このような場合、5-ブロモ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンにおける臭素の逐次置換、3位でのヨウ素化、および上記の方法によるその後の3位での第二の置換基の導入により、選択性の問題を全て回避することが有利であろう。一般的に、5-ブロモ-3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンに存在する2つのハロゲン原子間の高レベルの選択性には一般的に好ましくない条件下で、いずれかの位置でのハロゲン原子の置換が高反応性の触媒または試薬を用いる条件を必要とする場合、この逐次アプローチを用いることが有利であり得る。

20

## 【 0 1 2 7 】

適切な保護基でのL<sup>1</sup>、L<sup>2</sup>、R<sup>1</sup>および／またはR<sup>2</sup>ならびにピラゾロ[3,4-b]ピリジン骨格（例えば1位のプロトン）のうちの反応性基の保護が有利または必要であり得ることも認識される。例えば、いくつかのクロスカップリング反応において、1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン骨格の1位の窒素を、(2-トリメチルシリルエトキシ)-メチルまたは(2-メトキシ-エトキシ)メチル基のその位置での導入により保護することが有利であることが見い出された。これらの保護基の導入および除去は、化学文献においてよく知られている方法により簡便に達成できる。上記のいずれの方法により得られる化合物は、遊離または保護された官能基を有してよく、これを一般的によく知られている

30

40

50

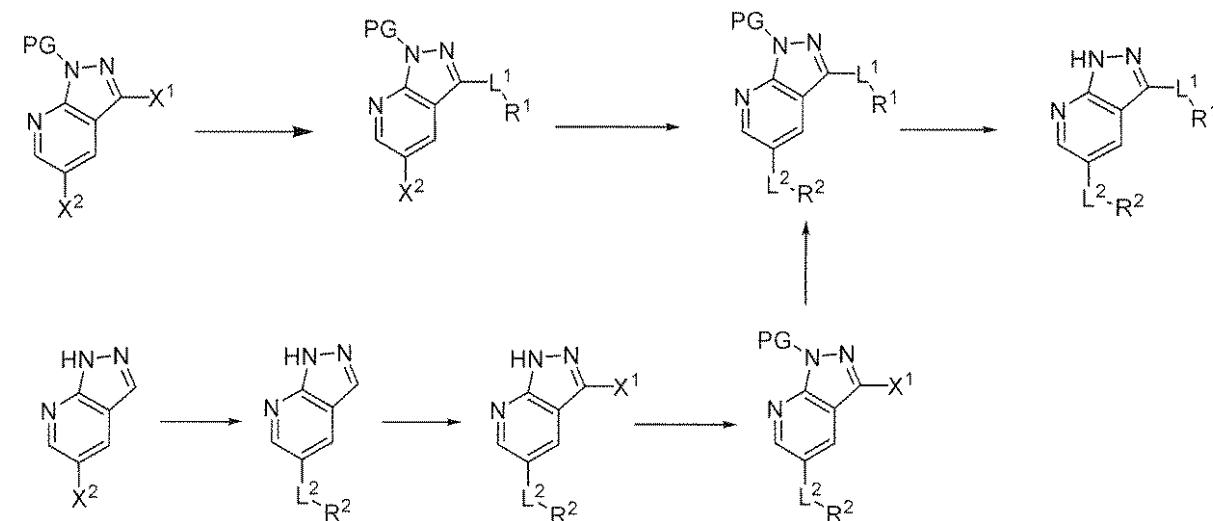
方法によりさらに修飾することができる。

【0128】

本発明の下で請求される化合物の合成におけるクロスカップリング法の利用により詳細な説明を、反応式2に示す：X<sup>1</sup>およびX<sup>2</sup>は、限定されないが、ハロゲン、ボロン酸もしくはエステル、トリフルオロホウ酸塩、有機マグネシウム、有機亜鉛または有機錫から選択される。個別の残基である-L<sup>1</sup>-R<sup>1</sup>または-L<sup>2</sup>-R<sup>2</sup>の導入について、上記で概説したような変換は、標準的なハロゲンクロスカップリング法により達成できる。

【化10】

反応式2



【0129】

対応する臭化物またはヨウ化物(X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>=Br、I)の、ボロン酸およびボロネート、有機ボラン、有機スタンナン、有機亜鉛化合物、有機マグネシウム化合物、オレフィンまたは末端アルキン(購入するかまたは一般的によく知られている実験計画により得る)のような適切な試薬とのカップリングは、適切な遷移金属触媒(例えばパラジウム化合物)の存在下で行うことができる。カップリングは、適宜ホスフイン、ジホスフイン、アルデュエンゴ型のヘテロ環カルベンまたはアルシンのような配位子の存在下で行ってよい。有機または無機の塩基(例えば第3級もしくは第2級アミン、アルカリ炭酸塩、重炭酸塩またはリン酸塩)および/またはその他のよく知られている添加物(例えば塩化リチウム、ハロゲン化銅または銀塩)を用いてこのような変換を補助または促進してよい。

【0130】

これらのクロスカップリング反応は、THF、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジグライム、ジクロロメタン、ジクロロエタン、アセトニトリル、DMF、N-メチルピロリドン、水、またはそれらの混液のような適切な溶媒中で、25～200の範囲の温度を用いて行い得る。温度は、適宜加熱、従来の加熱またはマイクロ波照射を用いて維持してよい。3-ヨード-5-ブロモ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンの場合、ブロモ置換基よりもヨード置換基の選択的または優先的な置換は、適切な遷移金属触媒を用いてより低い温度またはより短い反応時間のような一般的により促進的でない条件下で可能である。遷移金属触媒変換によるジハロゲン化合物またはオリゴハロゲン化合物の選択的官能化は、化学文献に詳しく記載されている：例えばJi, J.ら, Org. Lett (2003) 5, 4611; Bach, T.ら, J. Org. Chem (2002) 67, 5789; Adamczyk, M.ら, Tetrahedron (2003) 59, 8129を参照されたい。

【0131】

この方法は、適宜アルコール、チオールまたはアミンの適切な保護基を含んでいてよい非炭素ベースの求核試薬(例えばアルコール、チオール、第1級または第2級アミン)

10

20

30

40

50

の組込みまで延長してよい。このような基の例は、Greene, T. ら, Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley & Sons, 1999に見い出すことができる。保護の方法の例は、Levy, S. ら, Angew. Chem. (2003) 115, 5558; Wolfe, J. ら, Acc. Chem. Res. (1998) 31, 805; Hartwig, Acc. Chem. Res. (1998) 31, 852; Navarro, O. ら, J. Org. Chem. (2004) 69, 3173, Ji, J. ら, Org. Lett (2003) 5, 4611に記載されている。このような方法により得られる化合物は、よく知られている方法によりさらに修飾して、本発明の別の化合物を得ることができる。

## 【0132】

10

それぞれのハロゲン誘導体を、対応する有機金属誘導体（例えばボロン酸またはエステル、トリフルオロボレート塩、有機マグネシウム、有機亜鉛または有機錫化合物）にまず変換することにより、炭素または非炭素原子へのクロスカップリングを達成することが有利になり得る場合がある。このような化合物は、ハロゲン化物部分を適切な金属またはメタロイドで置換することにより得ることができる。存在するいずれの官能基（例えばピラゾロ[3,4-b]ピリジンの1位の環窒素）は、適切な保護基（「PG」）により保護する必要があると考えられる。Greeneら, 1999を参照されたい。

## 【0133】

20

このような金属またはメタロイドの導入は、金属を用いるメタル化または金属-ハロゲン交換反応のような一般的によく知られている方法により達成できる。メタル化に有用な金属は、アルカリ金属もしくはアルカリ土類金属またはこのような金属の活性形を含む。金属ハロゲン交換反応における使用に適する試薬は、有機リチウムまたは有機マグネシウム化合物（例えばn-ブチルリチウム、tert-ブチルリチウムまたは塩化もしくは臭化イソ-プロピルマグネシウム）を含む。有機金属中間体のその後のトランスメタル化反応は、塩化マグネシウム、臭化マグネシウム、塩化トリ-n-ブチル錫、塩化トリメチル錫、トリメチルボレート、トリエチルボレート、トリ-イソ-プロピルボレート、亜鉛トリフレートまたは塩化亜鉛のような適切な溶解性で反応性の金属化合物を用いて必要により行ってよい。ボロン酸ピナコールエステルの導入は、ジクロロ[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]パラジウム(II)および適切な塩基（例えば酢酸カリウムまたは酢酸ナトリウム）の存在下に、DMSO、DMF、DMAまたはN-メチルピロリドンのような溶媒中で、80~160の範囲の温度にて、ハロゲン誘導体をビス(ピナコラート)ジボロンと直接反応させることにより簡便に達成できる。従来の加熱またはマイクロ波照射を用いて、適切な温度を維持してよい（類似の変換について記載した文献については、Ishiyama, T. ら, J. Org. Chem. (1995) 60, 7508を参照されたい）。

30

## 【0134】

この方法により得られたボロン酸ピナコールエステルの、ボロン酸、ボロネートまたはトリフルオロボレート塩のような他のボロン酸誘導体への変換の方法は、一般的によく知られている。当業者には明らかなように、このような有機金属誘導体は、ピラゾロ[3,4-b]ピリジンのハロゲン含有誘導体の場合に上述したものと同様のクロスカップリング反応において用いてよい。このようなカップリングは、上記の方法と同一もしくは明らかに類似のおよび/または上記の方法に関連する条件下で、芳香族、ヘテロ芳香族ハロゲン化物またはオレフィン性試薬のような適切なカップリングパートナーを用いて行うことができる。

40

## 【0135】

その他の方法は、上記のいずれの方法によりピラゾロ[3,4-b]ピリジンのハロゲン含有誘導体から作製した有機金属誘導体の反応性を利用してよい。例えば、アルカリ金属またはアルカリ土類金属を含有する誘導体（例えば有機リチウム、有機マグネシウムまたは有機亜鉛化合物）は、例えば活性化オレフィン（マイケル受容体）、アルデヒド、ニトリル、芳香族ニトロ化合物、カルボン酸誘導体、オキシラン、アジリジン、有機ジスル

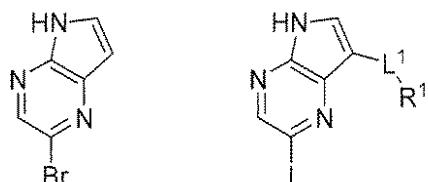
50

フィドまたは有機ハロゲン化物のような一連のその他の求電子性のカップリングパートナーへの直接のカップリングにおいて用いてよい。このような変換は、当技術分野において一般的によく知られている（芳香族ニトロ化合物を用いる反応について、例えば S a p o u n t z i s , I . ら , J . A m . C h e m . S o c . ( 2 0 0 2 ) 1 2 4 , 9 3 9 0 を参照されたい）。

### 【 0 1 3 6 】

3 , 5 - 二置換 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン誘導体を得るために用いる合成法は、1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン誘導体について上述した方法に近接に関連し、主要な違いは、1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン骨格自体の合成に関連する。用いられる重要な中間体は、3 - 置換 5 - ヨード - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン誘導体および 5 - ブロモ - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン自体である。  
10

### 【 化 1 1 】



### 【 0 1 3 7 】

3 , 5 - 二置換 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンから得るための上記で概説した一般的な合成方法は、3 , 5 - 二置換 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン誘導体を 5 - ブロモ - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジンおよび 3 - 置換 5 - ヨード - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン誘導体から得ることにも関係する。しかし、そうでなければ類似または同一の変換についての厳密な条件は、1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン誘導体について非常によく異なり、用いられる骨格に応じた最適化が望まれると考えられる。  
20

### 【 0 1 3 8 】

5 - ブロモ - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジンは、3 - アミノ - 2 , 6 - ジブロモ - ピラジンのトリメチルシリルアセチレンとの位置選択性的なソノガシラカップリング ( A d a m c z y k , M . ら . - T e t r a h e d r o n ( 2 0 0 3 ) 5 9 , 8 1 2 9 を参照されたい) 、N - アシル化およびその後の - n - プチルアンモニウムフルオリド ( この反応の先の開示については W O 2 0 0 4 / 0 3 2 8 7 4 A 2 を参照されたい ) を用いる閉環により得ることができる。市販の 3 - アミノ - 2 , 6 - ジブロモ - ピラジンから出発して、5 - ブロモ - 3 - トリメチルシラニルエチニル - ピラジン - 2 - イルアミンを、テトラキス ( トリフェニルホスフィノ ) パラジウム ( 0 ) のようなパラジウム触媒および触媒量の銅 ( I ) ヨウ化物のような銅助触媒の存在下で、D M F とトリエチルアミンのような塩基性第 3 級有機アミンの混合物中に、上昇した温度にて、トリメチルシリルアセチレンとの反応により得ることができる。2 0 ~ 6 0 °C でのピリジン中の塩化アセチルを用いるアセチル化により、N - ( 5 - ブロモ - 3 - トリメチルシラニルエチニル - ピラジン - 2 - イル ) - アセトアミドが得られ、還流での T H F 中のテトラ - n - プチルアンモニウムフルオリドを用いるその後の閉環により、5 - ブロモ - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジンを得る。  
30

### 【 0 1 3 9 】

さらなる修飾のための 3 位での適切な基の導入は、求電子的芳香族置換（例えば臭素化またはヨウ素化）のような当技術分野で一般的によく知られている方法により達成できる。つまり、5 - ブロモ - 3 - ヨード - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジンは、5 - ブロモ - 1 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジンから、このような変換を促進する条件下で、N - ヨードスクシンイミド、一塩化ヨウ素またはヨウ素のような適切な試薬での処理により得ることができる。  
40

### 【 0 1 4 0 】

求電子的芳香族置換による官能化のその他の例は、限定しない例として、例えば塩化ブロモアセチル、塩化アクリロイルまたは塩化トリクロロアセチルのような官能化したハロゲン化アシルを、ジクロロメタン中の三塩化アルミニウムの存在下で、周囲温度またはそれ未満にて用いるフリーデル-クラフツアシル化である。当業者に認識されるように、このような反応の生成物は、本発明の下で請求される化合物であるか、またはこのような化合物、最も顕著にはあるヘテロ環式化合物の合成の出発材料として用いてよい。

## 【0141】

5-ブロモ-3-ヨード-1H-ピロロ[2,3-b]ピラジンにおけるハロゲン化物D( $X^2 = Br, I$ )のさらなる修飾、および両方のハロゲン置換基の選択的逐次置換は、一般的によく知られている方法により容易に達成でき、例えば種々の既知の遷移金属化合物（例えばパラジウム、鉄またはニッケルから誘導される化合物）を用いる逐次金属触媒クロスカップリング反応を行ってよい。このような変換の例は、次の参考文献：Diehrich, F., Stang, P. J. - Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions, Wiley-VCH, 1998; Belcher, M., Transition Metals for Organic Synthesis, Wiley-VCH, 1998; Tsuji, J., Palladium Reagents and Catalysts, Wiley-VCH, 第1および第2版, 1995, 2004; Fuertner, A.ら, J. Am. Chem. Soc. (2002) 124, 13856; およびBolm, C.ら, Chem. Rev. (2004) 104, 6217に見い出すことができる。化学文献において既知でありかつ当業者が精通している一般的な方法は、1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン誘導体を用いる類似または同一の変換について上述した方法と本質的に同じである。

10

20

30

## 【0142】

1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンについて説明したように、当業者は、3位または5位のいずれかでの選択的官能化が、いずれかの位置での官能基の導入のために用いる変換の性質、特にいずれかの位置での官能化の順序に依存して異なる方法を必要とし得ることを認識する。つまり、導入される具体的な基の性質、このような変換を達成するために必要な方法、または用いる方法の固有の選択性に応じて、5位での官能化の前に3位での官能化を達成することが有利または必要な場合があり、逆のアプローチが必要とされる場合もあり得る。

## 【0143】

3-ヨード-5-ブロモ-1H-ピロロ[2,3-b]ピラジンの場合、ブロモ置換基よりもヨード置換基の選択的または優先的な置換は、適切な遷移金属触媒を用いてより低い温度またはより短い反応時間のような一般的により促進的でない条件下で可能である。遷移金属触媒変換によるジハロゲン化合物またはオリゴハロゲン化物の選択的官能化は、化学文献に詳しく記載されている：例えばJi, J.ら, Org. Lett (2003) 5, 4611; Bach, T.ら, J. Org. Chem (2002) 67, 5789, Adamczyk, M.ら, Tetrahedron (2003) 59, 8129を参照されたい。

40

## 【0144】

ハロゲン化物D( $X^2 = Br, I$ )の場合、その他の有用な方法は、一般的によく知られている方法（例えば金属ハロゲン交換、および適切であるかもしくは必要である場合に、その後のホウ素、マグネシウム、亜鉛、錫、ケイ素または銅の溶解性で反応性の化合物を用いるトランスメタル化；そのような方法の代表的な例は：Schlosser, M., Organometallics in Synthesis, 第2版, Wiley-VCH, 2002を参照されたい）を用いる臭素またはヨウ素置換基の金属またはメタロイド置換基（例えば有機ボロン、有機リチウム、有機錫、有機ケイ素、有機亜鉛、有機銅または有機マグネシウム化合物）への変換を含んでよい。このようにして得られる有機金属誘導体は、芳香族またはオレフィン性のハロゲン化物またはトリフレートとの遷移金属触媒カップリング反応においてそれ自体で有用であり得るか、あるいは十分に反応性があ

50

れば、例えはある有機ハロゲン化物、マイケル受容体、オキシラン、アジリジン、アルデヒド、ハロゲン化アシル、またはニトリルのような適切な求電子体と直接反応してよい。ここでも、化学文献において知られる一般的な方法は、1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン誘導体を用いる類似または同一の変換について上述した方法と本質的に同じである。

#### 【0145】

特定のこのような変換において、例え必要により窒素または酸素に結合した水素原子、および特に1H-ピロロ[2,3-b]ピラジン骨格の1位の水素原子のような酸性プロトンを一時的に置換するために、化学文献においてよく知られている方法 (T. W. Greene, P. G. M. Wuts - Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley & Sons, 1999を参照されたい) により1つまたは複数の適切な保護基を導入することが有利または必要であり得る。

#### 【0146】

上記のクロスカップリング法は、アルコール、チオールまたはアミンの適切な保護基を所望により有してよい非炭素ベースの求核試薬（例えはアルコール、チオール、第1級または第2級アミン）の組み込みまで延長してよい。このような基の例は、Greene, T. ら, Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley & Sons, 1999に見い出すことができる。保護の方法の例は、Ley, S. ら, Angew. Chem. (2003) 115, 5558; Wolfe, J. ら, Acc. Chem. Res. (1998) 31, 805; Hartwig, Acc. Chem. Res. (1998) 31, 852; Navarro, O. ら, J. Org. Chem. (2004) 69, 3173, Ji, J. ら, Org. Lett (2003) 5, 4611に記載されている。このような方法により得られる化合物は、反応式の方法によりさらに修飾して、本発明の別の化合物を得ることができる。1H-ピロロ[2,3-b]ピラジンの5-ヨードまたは5-ブロモ置換基のアミン、アルコールまたはチオールでの直接置換は、それぞれそのままのアミン、アルコールもしくはチオールのいずれかの中でまたは例えはDMF、NMP、DMSOもしくはアセトニトリルのような適切な非プロトン性溶媒中で、例え酢酸のような弱酸または例えは水素化ナトリウムのような非求核性強塩基の存在下で、周囲温度または上昇した温度にて順調に達成し得る場合がある。

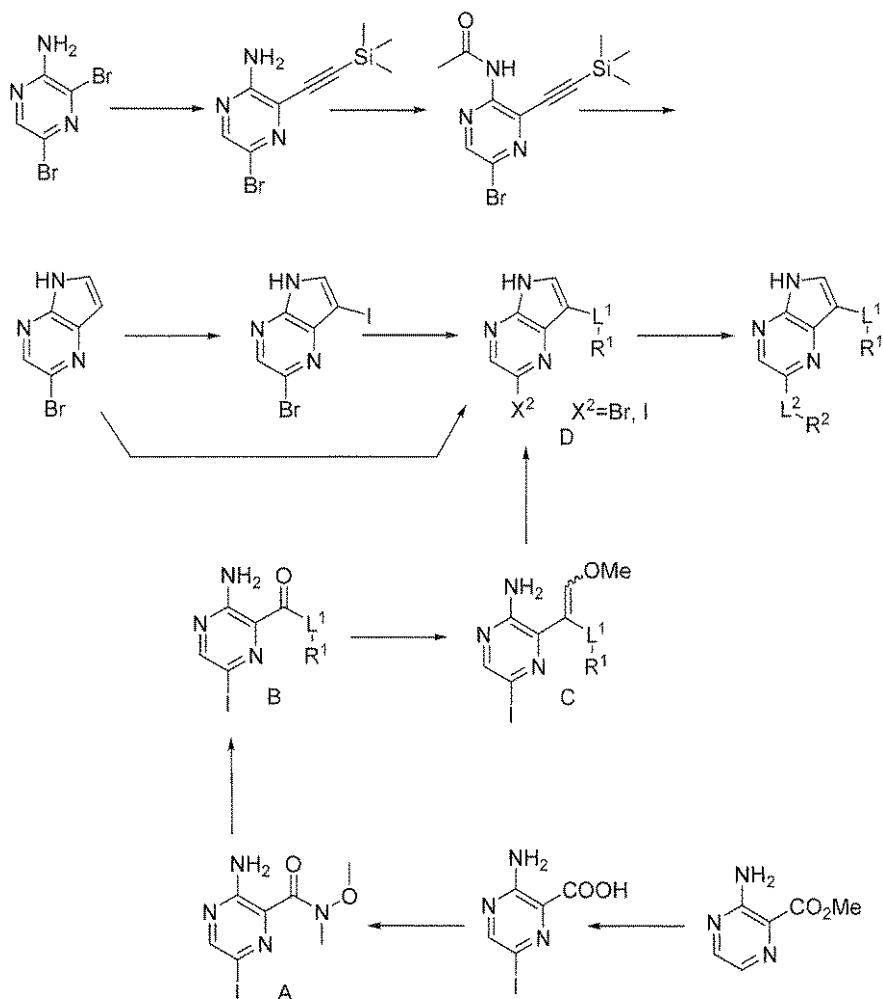
10

20

30

## 【化12】

反応式3



## 【0147】

3, 5 - 二置換 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン誘導体の合成の別 の方法は、メチル 2 - アミノ - 3 - ピラジンカルボキシレートから出発して開発され、5 位へヨウ素原子を導入してメチル 2 - アミノ - 5 - ヨード - 3 - ピラジンカルボキシレートを得ることは、N - ヨードスクシンイミドとのエタノール中での還流による反応のような種々の既知の方法により達成できる。このような手段により得られるハロゲン化エステルは、次いで、標準的な方法により加水分解してよい。例えば、周囲温度での T H F - 水の混液中の水酸化リチウムとの処理により、対応する酸が得られる。

## 【0148】

ケトン中間体 B の合成は、対応するワインレブアミド A ( 3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸メトキシ - メチル - アミド ) またはその塩酸塩を、適切な有機金属種と、例えば有機マグネシウムまたは有機リチウム化合物を用いて処理することにより達成できる。( 例えは N - メトキシ - N - メチルアミド ( ワインレブアミド ) をケトン合成において用いる、 S . N a m , S . M . W e i n r e b - T e t r a h e d r o n L e t t . 1 9 8 1 , 2 2 , 3 8 1 5 を参照されたい。 ) 3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸メトキシ - メチル - アミド ( A ) は、酸の予めの活性化または現場での直接縮合もしくは直接縮合を経由することのいずれかによる、アミド形成の標準的な方法を用いる、親の酸の N , O - ジメチルヒドロキシリルアミンとの縮合により得ることができる。両方の変換のための方法および試薬は、限定されないが、 P y B O P 、 H B T U または H A T U のような適切なカップリング試薬を用いる直接法の場合のように化学文献に

記載され、当業者によく知られている。

【0149】

Bにケトン残基  $L^1 R^1$  を導入するためには必要な有機金属試薬は、市販されているかまたは限定されないが有機塩化物、臭化物またはヨウ化物のマグネシウムとのグリニヤール反応 (J. March - Advanced Organic Chemistry, 第3版, John Wiley & Sons, 1992を参照されたい)、限定されないがn-ブチルリチウム、tert-ブチルリチウムまたは塩化もしくは臭化イソ-プロピルマグネシウムのような適切な有機リチウムあるいは有機マグネシウム化合物を用いる有機臭化物またはヨウ化物の金属ハロゲン交換反応(例えばJ. Clayden - Organolithiums: Selectivity for Synthesis, Pergamon, 2002; A. Boudier, L. O. Broomm, M. Lotz, P. Knochel - Angew. Chem. Int. Ed. (2000) 39, 4414.)、あるいは例えばピリミジン、ピラジン、2-クロロ-もしくは2-フルオロピリジンのような十分に酸性の化合物の、例えばリチウムN,N-ジイソプロピルアミドまたはリチウム2,2,6,6-テトラメチルピペリジドのような適切な塩基を用いる脱プロトン化(J. Clayden - Organolithiums: Selectivity for Synthesis, Pergamon, 2002; A. Turck, N. Ple, F. Mongin, G. Queguiner - Tetrahedron (2001) 57, 4489; F. Mongin, G. Queguiner - Tetrahedron (2001) 57, 4059を参照されたい)のように文献に記載される種々の方法により合成できる。特定のこの変換において、化学文献においてよく知られている方法(T. W. Greene, P. G. M. Wuts - Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley & Sons, 1999を参照されたい)により、酸性プロトン(例えば窒素または酸素に結合した水素原子)を必要により一時的に置換するために、1つまたは複数の適切な保護基を導入することが有利または必要であると考えられる。

【0150】

ケトン中間体Bのメトキシビニル誘導体Cへの変換は、いくつかの既知の方法により達成できるが、市販のメトキシメチルトリフェニルホスホニウムクロリドと、適切な塩基、限定されないが例えばビス(トリメチルシリル)アミンのリチウム、ナトリウムまたはカリウム塩のような限定されないが非求核性アミドのような有機金属強塩基とから得られるイridを用いるウイッティヒ反応により最も簡便に行われる(B. E. Maryanoff, A. B. Reitz - Chem. Rev. (1989) 89, 863を参照されたい)。

【0151】

EもしくはZ形またはこれらの両方の形の混合物のいずれかで用いることができる得られたオレフィンCのその後の閉環は、通常の酸触媒条件下で達成でき、3-置換1H-5-ヨード-ピロロ[2,3-b]ピラジンを得る。このような方法は、0~160の範囲の温度にて適切な溶媒(例えばTHF、ジオキサン、ジエチルエーテル、ジメトキシエタン、ジグライム、ジクロロメタン、ジクロロエタンもしくはクロロホルム、水、メタノールもしくはエタノールまたはこれらの混液)中の硫酸、過塩素酸、塩酸、トリフルオロメタンスルホン酸もしくはトリフルオロ酢酸のような無機または有機の強酸を用いてよい。同様の閉環は、Sakamotoら, Heterocycles (1992), 34(12), 2379~84により記載されている。ここで、著者らは、2-ニトロ-3-(2-エトキシビニル)ピリジンの、親のピロロ[2,3-b]ピリジンへの変換を記載している。ビニル基の形成は、3-ブロモ類縁体のトリブチル-2-エトキシビニルスタンナンとのスタイルカップリングにより達成されたことが報告された。

【0152】

3-置換1H-5-ヨード-ピロロ[2,3-b]ピラジンの、本発明の下で請求する化合物の合成における使用は、上記の方法に基づいて、当業者に明らかである。当業者は

、以下の実施例の項を含む本明細書に記載された合成方法は、式(Ⅰ)、(Ⅱ)および/または(Ⅲ)の化合物を得るために用いるかおよび/または修飾できることを容易に理解するだろう。

#### 【0153】

##### A. 保護基

用語「保護基」は、化合物のいくつかまたは全ての反応性部分をブロックし、保護基が除去されるまでこのような部分が化学反応に参加することを妨げる化学的部分のことをいい、例えばこれらの部分はT. W. Greene, P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley & Sons (1999) に列挙され記載されている。異なる保護基を用いる場合、各(異なる)保護基が異なる手段により除去されることが有利であると考えられる。全く異なる反応条件下で切断される保護基は、このような保護基の差動式の除去を可能にする。例えば、保護基は、酸、塩基および加水分解により除去できる。トリチル、ジメトキシトリチル、アセタールおよびtert-ブチルジメチルシリルのような基は、酸不安定性であり、水素化分解により除去可能なCbz基および塩基不安定性であるFmoc基で保護されたアミノ基の存在下でカルボキシおよびヒドロキシの反応性部分の保護に用いてよい。カルボン酸およびヒドロキシ反応性部分は、tert-ブチルカルバメートのような酸不安定性基または酸にも塩基にも安定性であるが加水分解により除去可能なカルバメートでブロックされたアミンの存在下で、限定されないがメチル、エチルおよびアセチルのような塩基不安定性基でブロックしてよい。

10

20

30

#### 【0154】

カルボン酸およびヒドロキシ反応性部分は、ベンジル基のような加水分解により除去可能な保護基でブロックしてもよく、一方、酸と水素結合可能なアミン基は、Fmocのような塩基不安定性基でブロックしてよい。カルボン酸反応性部分は、例えば2,4-ジメトキシベンジルのような酸化により除去可能な保護基でブロックしてよく、一方、同時に存在するアミノ基はフッ素不安定性のシリルカルバメートでブロックしてよい。

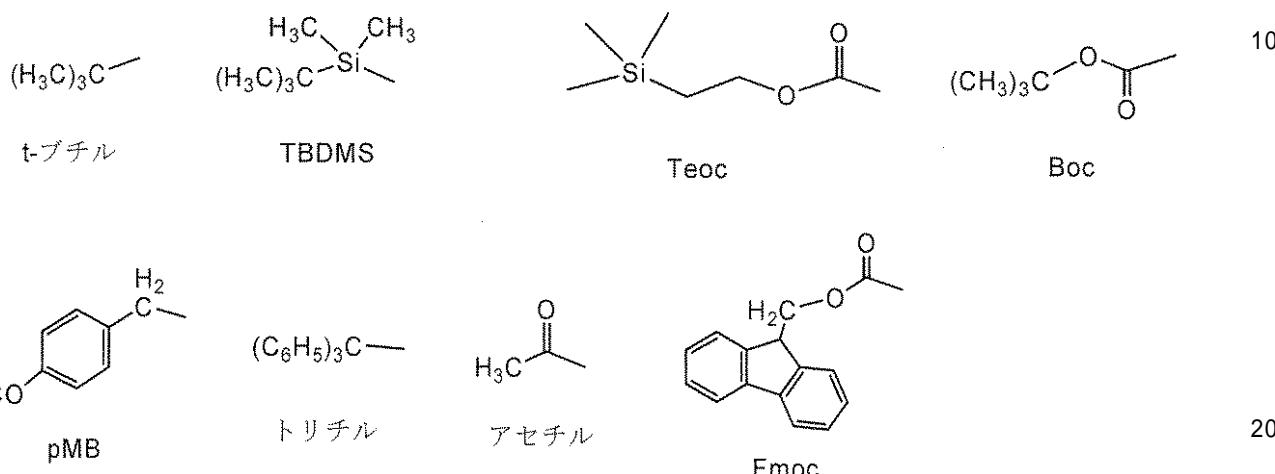
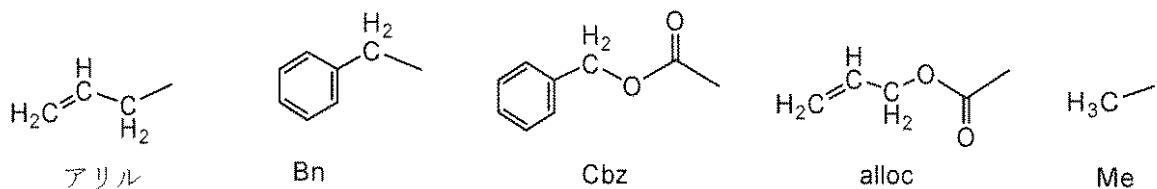
#### 【0155】

アリルブロック基は、酸保護基および塩基保護基の存在下で有用である。なぜなら、前者は安定であります金属またはpi酸触媒によりその後除去できるからである。例えば、アリルでブロックされたカルボン酸は、酸不安定性のt-ブチルカルバメートまたは塩基不安定性のアセテートアミン保護基の存在下で、パラジウム(0)触媒反応で脱保護できる。保護基のさらに別の形は、化合物または中間体が結合していてもよい樹脂である。樹脂に残基が結合している限り、官能基はブロックされ、反応できない。樹脂から一旦離れると、官能基は反応のために利用できる。

#### 【0156】

典型的なブロック/保護基は、限定されないが、以下の部分を含む。

## 【化13】



## 【0157】

## I I . キナーゼの阻害方法

別の観点において、本発明は、本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子を用いてプロテインキナーゼ活性を調節する方法を提供する。本明細書で用いる場合、用語「キナーゼ活性を調節する」とは、プロテインキナーゼの活性が、本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子と接触した場合、縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子の不在時の活性に比べて増加または減少することを意味する。よって、本発明は、プロテインキナーゼを本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子（例えば式（I）～（I I I）のいずれか1つの化合物）と接触させることによる、プロテインキナーゼ活性を調節する方法を提供する。

## 【0158】

例示的な具体的な態様において、縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子は、キナーゼ活性を阻害する。本明細書で用いる場合、キナーゼ活性に関しての用語「阻害する」とは、縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子の不在時の活性に比べて、縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子と接触した場合、キナーゼ活性が減少することを意味する。よって、本発明は、プロテインキナーゼを本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子と接触させることによる、プロテインキナーゼ活性を阻害する方法をさらに提供する。

## 【0159】

ある具体的な態様において、プロテインキナーゼは、プロテインチロシンキナーゼである。本明細書で用いる場合、プロテインチロシンキナーゼは、リン酸供与体（例えばATPのようなヌクレオチドリン酸供与体）を用いてタンパク質中のチロシン残基のリン酸化を触媒する酵素のことをいう。プロテインチロシンキナーゼは、例えばアベルソンチロシンキナーゼ（「A b l」）（例えばc - A b l およびv - A b l）、R o n 受容体チロシンキナーゼ（「R O N」）、M e t 受容体チロシンキナーゼ（「M E T」）、F m s 様チロシンキナーゼ（「F L T」）（例えばF L T 3）、s r c ファミリーチロシンキナーゼ（例えばl y n 、C S K）、ならびにp 2 1 - 活性化キナーゼ - 4（「P A K」）、F L T 3、オーロラキナーゼ、B リンパ球チロシンキナーゼ（「B l k」）、サイクリン依存性キナーゼ（「C D K」）（例えばC D K 1 およびC D K 5）、s r c ファミリー関連プロテインチロシンキナーゼ（例えばF y n キナーゼ）、グリコーゲンシルターゼキナーゼ（

30

40

50

「G S K」) (例えば G S K 3 および G S K 3 )、リンパ球プロテインチロシンキナーゼ (「L c k」)、リボソーム S 6 キナーゼ (例えば R s k 1、R s k 2 および R s k 3)、精子チロシンキナーゼ (例えば Y e s)、ならびにチロシンキナーゼ活性を示すサブタイプおよび同族体を含む。ある具体的な状態において、プロテインチロシンキナーゼは、A b 1、R O N、M E T、P A K または F L T 3 である。別の具体的な状態において、プロテインチロシンキナーゼは、F L T 3 または A b 1 ファミリーの構成要素である。

#### 【0160】

いくつかの具体的な状態において、キナーゼは、アベルソンチロシンキナーゼ、R o n 受容体チロシンキナーゼ、M e t 受容体チロシンキナーゼ、F m s 様チロシンキナーゼ - 3 、オーロラキナーゼ、p 2 1 - 活性化キナーゼ - 4 、および 3 - ホスホイノシチド依存性キナーゼ - 1 から選択される。

10

#### 【0161】

別の具体的な状態において、キナーゼは、変異の B c r - A b 1 キナーゼ、F L T 3 キナーゼまたはオーロラキナーゼのような変異キナーゼである。有用な変異 B c r - A b 1 キナーゼは、以下の臨床的に単離された変異形の少なくとも 1 つを有するものを含む : M 2 4 4 V、L 2 4 8 V、G 2 5 0 E、G 2 5 0 A、Q 2 5 2 H、Q 2 5 2 R、Y 2 5 3 F、Y 2 5 3 H、E 2 5 5 K、E 2 5 5 V、D 2 7 6 G、F 3 1 1 L、T 3 1 5 I、T 3 1 5 N、T 3 1 5 A、F 3 1 7 V、F 3 1 7 L、M 3 4 3 T、M 3 5 1 T、E 3 5 5 G、F 3 5 9 A、F 3 5 9 V、V 3 7 9 I、F 3 8 2 L、L 3 8 7 M、H 3 9 6 P、H 3 9 6 R、S 4 1 7 Y、E 4 5 9 K および F 4 8 6 S。ある具体的な状態において、変異 A b 1 キナーゼは、T 3 1 5 I 変異を有する。上記のアミノ酸変異の位置を表す番号付けの規則は、A B L エキソン I a によるよく知られている野生型 A B L の番号付けである。D e i n i n g e r , M . ら , B l o o d 1 0 5 ( 7 ) , 2 6 4 0 ( 2 0 0 5 ) を参照されたい。番号付けの規則は、図 1 に再現する。いくつかの具体的な状態において、変異 B c r - A b 1 キナーゼは、上記で列挙した変異の少なくとも 1 つを含み、図 1 の配列と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有する。いくつかの具体的な状態において、変異 B c r - A b 1 キナーゼは、上記で列挙した変異の少なくとも 1 つを含み、上述したような図 1 との配列同一性を有し、少なくとも 5 0 、1 0 0 、1 5 0 、2 0 0 、2 5 0 、3 0 0 、3 5 0 、4 0 0 、4 5 0 、5 0 0 、5 5 0 、6 0 0 、6 5 0 、7 0 0 、7 5 0 、8 0 0 、8 5 0 、9 0 0 、9 5 0 、1 0 0 0 、1 0 5 0 または 1 1 0 0 のアミノ酸を含む。

20

#### 【0162】

いくつかの具体的な状態において、キナーゼは、既知のキナーゼと相同である (本明細書において「相同キナーゼ」ともいう)。相同キナーゼの生物活性を阻害するのに有用な化合物または組成物は、例えば結合アッセイにおいて初期にスクリーニングしてよい。相同酵素は、全長既知キナーゼのアミノ酸配列に少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、もしくは少なくとも 9 0 % 同一である同じ長さのアミノ酸配列を含むか、または既知のキナーゼ活性ドメインに 7 0 %、8 0 % または 9 0 % の相同性を有する。相同性は、例えば、限定されないが A l t s c h u l ら , N u c . A c i d s R e c . 2 5 : 3 3 8 9 ~ 3 4 0 2 ( 1 9 9 7 ) に記載されるもののような P S I

40

B L A S T サーチを用いて決定してよい。ある具体的な状態において、配列の少なくとも 5 0 %、または少なくとも 7 0 % がこの分析において整列される。アラインメントを行う他のツールは、アラインメントの P o s t S c r i p t バージョンを作製するのに用いられ得る、例えば D b C l u s t a l および E S P r i p t を含む。T h o m p s o n ら , N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h , 2 8 : 2 9 1 9 ~ 2 6 , 2 0 0 0 ; G ouet ら , B i o i n f o r m a t i c s , 1 5 : 3 0 5 ~ 0 8 ( 1 9 9 9 ) を参照されたい。同族体は、例えば少なくとも 1 0 0 アミノ酸にわたって F L T 3 、A b 1 もしくは他の既知のキナーゼ、または F L T 3 、A b 1 もしくは他の既知のキナーゼのいずれの機能的ドメインと  $1 \times 10^{-6}$  の B L A S T E の値を有する (A l t s c h u l ら , N u c l e i c A c i d s R e s . , 2 5 : 3 3 8 9 ~ 4 0 2 ( 1 9 9 7 ) )。

50

## 【0163】

相同性は、酵素の活性部位結合ポケットを既知のキナーゼの活性部位結合ポケットと比較することにより決定してもよい。例えば、相同酵素において、分子または同族体のアミノ酸の少なくとも50%、60%、70%、80%または90%が、約1.5、約1.25、約1、約0.75、約0.5および/または約0.25までのアルファ炭素原子の根平均二乗変位を有するキナーゼドメインにサイズにおいて匹敵するドメインのアミノ酸の構造的同調性を有する。

## 【0164】

本発明の化合物および組成物は、キナーゼ活性の阻害およびATPに結合するその他の酵素の阻害に有用である。これらは、よって、このようなATP結合酵素活性を阻害することにより緩和できる疾患および障害の治療のために有用である。このようなATP結合酵素を決定する方法は、当業者に知られるもの、相同酵素の選択に関して本明細書において説明するもの、およびタンパク質のファミリーもしくはドメインのサイン、配列パターン、モチーフまたはプロフィールを有する酵素を同定し得るデータベースPROSITEを用いることによるものを含む。10

## 【0165】

本発明の化合物およびその誘導体は、キナーゼ結合剤として用いてよい。結合剤としては、このような化合物および誘導体は、アフィニティークロマトグラフィーでの使用のためにテザー(tethered)基質として安定な樹脂に結合してよい。本発明の化合物およびその誘導体は、それらを酵素もしくはポリペプチドの特徴づけ、構造および/または機能の探索において用いるために、修飾(例えば放射性標識またはアフィニティー標識など)してもよい。20

## 【0166】

例示的な具体的な態様において、本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子は、キナーゼ阻害剤である。いくつかの具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、1マイクロモル未満のIC<sub>50</sub>または阻害定数(K<sub>i</sub>)を有する。別の具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、500マイクロモル未満のIC<sub>50</sub>または阻害定数(K<sub>i</sub>)を有する。別の具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、10マイクロモル未満のIC<sub>50</sub>またはK<sub>i</sub>を有する。別の具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、1マイクロモル未満のIC<sub>50</sub>またはK<sub>i</sub>を有する。別の具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、500ナノモル未満のIC<sub>50</sub>またはK<sub>i</sub>を有する。別の具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、10ナノモル未満のIC<sub>50</sub>またはK<sub>i</sub>を有する。別の具体的な態様において、キナーゼ阻害剤は、1ナノモル未満のIC<sub>50</sub>またはK<sub>i</sub>を有する。30

## 【0167】

## I I I . 治療方法

別の態様において、本発明は、対象(例えばヒトのような哺乳動物)においてキナーゼ活性により媒介される疾患(キナーゼ媒介疾患または障害)を治療する方法を提供する。「キナーゼ媒介」または「キナーゼ関連」疾患は、疾患または症状がキナーゼ活性の阻害により緩和できる疾患を意味する(例えば、キナーゼが疾患プロセスのシグナル伝達、仲介、調節または調整に携わる)。「疾患」は、疾患または疾患の症状を意味する。上記の方法は、本発明の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子(例えば式(I)~(III)のいずれか1つの化合物)の有効量を対象に投与することを含む。40

## 【0168】

キナーゼ関連疾患の例は、癌(例えば白血病、腫瘍および転移)、アレルギー、喘息、肥満、炎症(例えば炎症性気道疾患のような炎症性疾患)、血液学的疾患、閉塞性気道疾患、喘息、自己免疫疾患、代謝疾患、感染(例えば細菌、ウイルス、酵母、真菌)、CNS疾患、脳腫瘍、神経変性疾患、心血管疾患、ならびに血管新生、新血管新生および脈管形成を伴う疾患を含む。例示的な具体的な態様において、化合物は、白血病を含む癌、および脊髄増殖性疾患のような異常細胞増殖を伴うその他の疾患または障害の治療のために有用である。50

## 【0169】

本発明の化合物により治療される癌のより具体的な例は、乳癌、肺癌、黒色腫、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、扁平細胞癌、神経膠芽細胞腫、膵臓癌、カポジ肉腫、多発性骨髄腫、および白血病（例えば骨髄性、慢性骨髄性、急性リンパ芽球性、慢性リンパ芽球性、ホジキンならびにその他の白血病および血液の癌）を含む。

## 【0170】

本発明の化合物または組成物による治療が治療もしくは予防のために有用である疾患または障害のその他の特定の例は、限定されないが、移植片拒絶（例えば腎臓、肝臓、心臓、肺、島細胞、膵臓、骨髄、角膜、小腸、皮膚の同種移植片または異種移植片およびその他の移植）、移植片対宿主疾患、骨関節炎、リウマチ性関節炎、多発性硬化症、糖尿病、糖尿病性網膜症、炎症性腸疾患（例えばクローン病、潰瘍性大腸炎およびその他の腸疾患）、腎臓疾患、悪液質、敗血症性ショック、狼瘡、重症筋無力症、乾癬、皮膚炎、湿疹、脂漏症、アルツハイマー病、パーキンソン病、化学療法中の幹細胞の保護、自家もしくは同種間の骨髄移植のための体外での選択または体外での除去、眼の疾患、網膜症（例えば黄斑変性、糖尿病性網膜症およびその他の網膜症）、角膜の疾患、緑内障、感染（例えば細菌、ウイルスまたは真菌）、限定されないが再狭窄を含む心臓疾患を含む。

10

## 【0171】

## IV. アッセイ

本発明の化合物は、プロテインキナーゼを調節し、プロテインキナーゼに結合し、かつ/または細胞成長もしくは増殖を妨げるそれらの能力を決定するために簡単にアッセイできる。有用なアッセイのいくつかの例を、以下に示す。

20

## 【0172】

## A. キナーゼ阻害および結合アッセイ

種々のキナーゼの阻害は、本明細書に示す種々の方法およびUpstate Kinase Profiler Assay Protocols 2003年6月の出版物で説明されるもののような当業者に知られる方法により測定される。

20

## 【0173】

例えば、in vitroアッセイが行われる場合、キナーゼは、典型的には、適切な濃度に希釈されてキナーゼ溶液を形成する。キナーゼの基質およびATPのようなリン酸供与体は、キナーゼ溶液に加えられる。キナーゼは、リン酸をキナーゼ基質に移動してリン酸化基質を形成することを可能にする。リン酸化基質の形成は、放射活性（例えば[<sup>32</sup>P-ATP]）または検出可能な二次抗体の使用（例えばELISA）のようないずれの適切な手段により直接検出してよい。あるいは、リン酸化基質の形成は、ATP濃度（例えばKinase-Glo（登録商標）アッセイ系（Promega））の検出のようないずれの適切な方法を用いて検出してよい。キナーゼ阻害剤は、試験化合物の存否におけるリン酸化基質の形成の検出により同定される（以下の実施例の項を参照されたい）。

30

## 【0174】

化合物がキナーゼを細胞内で阻害する能力は、当技術分野においてよく知られている方法を用いてアッセイしてもよい。例えば、キナーゼを含有する細胞を、キナーゼを活性化する活性化剤（例えば成長因子）と接触させてよい。試験化合物の存否において形成される細胞内のリン酸化基質の量は、細胞を溶解し、いずれの適切な方法（例えばELISA）によりリン酸化基質の存在を検出することにより決定してよい。試験化合物の存在下で產生されたリン酸化基質の量が、試験化合物の非存在下で產生された量に比べて減少する場合は、キナーゼ阻害が示される。より詳細な細胞性キナーゼアッセイは、以下の実施例の項において説明する。

40

## 【0175】

化合物のキナーゼへの結合を測定するために、当業者に知られるいずれの方法を用いてよい。例えば、Discoverx（Fremont, CA）により製造される試験キットであるED-Staurosporine NSIP（商標）Enzyme Bind

50

ing Assay Kit (米国特許第5643734号を参照されたい) を用いてよい。キナーゼ活性は、2003年7月8日に発行された米国特許第6589950号のようにしてアッセイしてもよい。

#### 【0176】

適切なキナーゼ阻害剤は、本発明の化合物から、例えばその全体が全ての目的のために参考として本明細書に組み込まれるAnthony samyら, PCT公報WO03087816A1に開示されるようにして、タンパク質結晶学的スクリーニングにより選択してよい。

#### 【0177】

本発明の化合物は、種々のキナーゼに結合し、かつ／または阻害するそれらの能力をアッセイしかつ視覚化するために、計算的にスクリーニングしてよい。構造は、本発明の複数の化合物を用いて計算的にスクリーニングして、種々の部位でキナーゼに結合するそれらの能力を決定してよい。このような化合物は、例えば可能性のある治療上の重要物の阻害剤を同定するための医薬品化学の成果における標的または導入として用いることができる(Travis, Science, 262: 1374, 1993)。このような化合物の三次元構造は、キナーゼまたはその活性部位もしくは結合ポケットの三次元表示に重ね合わせて、化合物が該表示に、つまりタンパク質に空間的に適合するかを評価してよい。このスクリーニングにおいて、このような物体または化合物が結合ポケットに適合する質は、形状相補性または推定相互作用エネルギーのいずれかにより判断してよい(Mengら, J. Comp. Chem. 13: 505~24, 1992)。

10

20

30

40

#### 【0178】

キナーゼに結合し、かつ／または調節する(例えばキナーゼを阻害または活性化する)本発明の化合物の本発明によるスクリーニングは、一般的に2つの因子を考慮することを含む。まず、化合物は、物理的にかつ構造的に、共有的または非共有的にキナーゼと結合できなければならない。例えば、共有的相互作用は、タンパク質の不可逆的または自己不活化阻害剤を設計するために重要であり得る。キナーゼの化合物との結合に重要な非共有的分子相互作用は、水素結合、イオン相互作用、ファンデルワールス、および疎水性相互作用を含む。第二に、化合物は、結合ポケットとの関係において化合物のキナーゼとの結合を可能にする立体配置および配向を想定できなければならない。化合物のある部分はキナーゼとのこの結合に直接参加しないが、これらの部分は、分子の全体の立体配置に影響することができ、効力に対して重要な影響を有するとみられる。立体配置の要件は、結合ポケットの全てまたは一部分に關係する化学基または化合物の全体の三次元構造および配向、あるいはキナーゼと直接相互作用するいくつかの化学基を含む化合物の官能基同士の間隔を含む。

#### 【0179】

例えばDOCKまたはGOLDのような本明細書に記載されるドッキングプログラムは、活性部位および／または結合ポケットに結合する化合物を同定するのに用いられる。化合物は、タンパク質構造の1つより多い結合ポケット、または同じタンパク質について1組より多い座標に対して、タンパク質の異なる分子動力学的立体配置を考慮してスクリーニングしてよい。次いで、コンセンサススコアリングを用いて、タンパク質に最も適合する化合物を同定してよい(Charifson, P. S. ら, J. Med. Chem. 42: 5100~9 (1999))。1つより多いタンパク質分子構造から得られるデータは、Klinglerら、2002年5月3日に出願された“Computer Systems and Methods for Virtual Screening of Compounds”の表題の米国特許出願に記載される方法により評点してもよい。最も適合する化合物は、化学ライブラリの製造者から得られるか、または合成されて、結合アッセイおよびバイオアッセイにおいて用いられる。

#### 【0180】

コンピュータモデル法は、化合物のキナーゼへの可能性のある調節または結合の影響を評価するのに用いてよい。コンピュータモデルが強い相互作用を示す場合、次いで分子を

50

合成して、キナーゼに結合しその活性に（阻害または活性化により）影響するその能力を試験してよい。

### 【0181】

キナーゼの調節化合物またはその他の結合化合物は、キナーゼの個別の結合ポケットまたはその他の領域と結合するそれらの能力について化学基またはフラグメントがスクリーニングされ、選択される一連の工程により、計算的に評価してよい。このプロセスは、例えば、キナーゼの座標に基いて、コンピュータスクリーン上で活性部位の視覚的探索により開始してよい。選択されたフラグメントまたは化学基は、次いで、キナーゼの個別の結合ポケット内で種々の配向で配置するかまたはドッキングしてよい (Blaney, J. M. および Dixon, J. S., *Perspectives in Drug Discovery and Design*, 1: 301, 1993)。手作業のドッキングは、Insight II (Accelrys, San Diego, CA) MOE (Chemical Computing Group, Inc., Montreal, Quebec, Canada) およびSYBYL (Tripos, Inc., St. Louis, MO, 1992) のようなソフトウェアを用い、続いてCHARMM (Brooksら, J. Comp. Chem. 4: 187~217, 1983)、AMBER (Weinerら, J. Am. Chem. Soc. 106: 765~84, 1984) およびCMFF (Merck Molecular Force Field; Accelrys, San Diego, CA) のようなエネルギー最小化および/または標準的分子力学力場を用いる分子動力学により達成してよい。より自動化されたドッキングは、DOC K (Kuntzら, J. Mol. Biol., 161: 269~88, 1982; DOC Kは、University of California, San Francisco, CAから入手可能である); AUTODOCK (Goodsell およびOlsen, Proteins: Structure, Function, and Genetics 8: 195~202, 1990; AUTODOCKはScripps Research Institute, La Jolla, CAから入手可能である)、GOLD (Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC); Jonesら, J. Mol. Biol. 245: 43~53, 1995)、およびFLEXX (Tripos, St. Louis, MO; Rarey, M. , ら, J. Mol. Biol. 261: 470~89, 1996) のようなプログラムを用いることにより達成してよい。その他の適切なプログラムは例えばHalperinらに記載される。

### 【0182】

上記の方法による化合物の選択の間に、該化合物がキナーゼに結合する効率を試験し、計算的評価により最適化してよい。例えば、キナーゼ阻害剤として機能するように設計されたかまたは選択された化合物は、本来の基質が結合する場合、活性部位残基により占められる嵩と重複しない嵩を占めてよい。しかし、当業者は、主鎖および側鎖の再編成を可能にするある程度の柔軟性が存在することを認識するであろう。さらに、当業者は、例えば適合が誘導されるような、結合の際にタンパク質再編成を利用し得る化合物を設計してよい。効率的なキナーゼ阻害剤は、その結合状態と遊離状態の間で比較的小さいエネルギーの差を示すであろう（すなわち、結合の変形エネルギーが小さく、かつ/または結合の際に立体配置的ゆがみが低いはずである）。つまり、最も有効なキナーゼ阻害剤は、例えば、10 kcal/mol 以下、7 kcal/mol 以下、5 kcal/mol 以下、または2 kcal/mol 以下の結合の変形エネルギーを有するように設計するべきである。キナーゼ阻害剤は、全体の結合エネルギーが同様の1つより多い立体配置でタンパク質と相互作用してよい。これらの場合、結合の変形エネルギーは、遊離の化合物のエネルギーと阻害剤が酵素に結合する場合、観察される立体配置の平均エネルギーとの間の差である。

### 【0183】

化合物の変形エネルギーおよび静電的相互作用を評価するための具体的なコンピュータ

10

20

30

40

50

ソフトウェアが、当技術分野において利用可能である。このような使用のために設計されたプログラムの例は：Gaussian 94、改訂版C (Frisch, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA. (C) 1995)；AMBER、バージョン7. (Kollman, University of California at San Francisco, (C) 2002)；QUANTA / CHARMM (Accelrys, Inc., San Diego, CA, (C) 1995)；Insight II / Discover (Accelrys, Inc., San Diego, CA, (C) 1995)；DelPhi (Accelrys, Inc., San Diego, CA, (C) 1995)；およびAMSOL (University of Minnesota) (Quantum Chemistry Program Exchange, Indiana University) を含む。これらのプログラムは、例えば、LINUX、SGIまたはSunワークステーションのような当技術分野においてよく知られているコンピュータワークステーションを用いて実行してよい。その他のハードウェアシステムおよびソフトウェアパッケージは、当業者に知られている。

10

## 【0184】

当業者は、当技術分野において知られる方法および本明細書に記載される方法を用いてキナーゼタンパク質を発現してよい。本明細書に記載される天然および変異のキナーゼポリペプチドは、当技術分野においてよく知られている方法を用いて全体または部分的に化学合成してよい（例えばCreighton, Proteins: Structures and Molecular Principles, W. H. Freeman & Co., NY, 1983を参照されたい）。

20

## 【0185】

遺伝子発現系は、天然および変異のポリペプチドの合成のために用いてよい。天然または変異のポリペプチドコーディング配列と当業者に知られる適切な転写 / 翻訳制御シグナルとを含有する発現ベクターを構築してよい。これらの方法は、*in vitro*組換えDNA技術、合成技術および*in vivo*組換え / 遺伝子組み換えを含む。例えば、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 2001およびAusubelら, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, NY, 1989に記載される方法を参照されたい。

30

## 【0186】

宿主 - 発現ベクター系は、キナーゼの発現に用いてよい。これらは、限定されないが、コーディング配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNAまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌のような微生物；コーディング配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母；コーディング配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えばバキュロウイルス）で感染させた昆虫細胞系；コーディング配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えばカリフラワーモザイクウイルスCaMV；タバコモザイクウイルストマV）で感染させたか、または組換えプラスミド発現ベクター（例えばTiプラスミド）で形質転換した植物細胞系；あるいは動物細胞系を含む。タンパク質は、例えば個体においてタンパク質の量を増大させるかまたは工作された治療上のタンパク質を発現するタンパク質を発現することを含むヒト遺伝子治療系において発現させてもよい。これらの系の発現要素は、その強度および特異性が異なっている。

40

## 【0187】

具体的に設計されたベクターは、細菌 - 酵母または細菌 - 動物細胞のような宿主間でDNAが往復することを可能にする。適切に構築された発現ベクターは、宿主細胞内での自己複製のための複製起点、1つまたは複数の選択マーカー、限定数の有用な制限酵素部位、高コピー数のための能力、および活性プロモーターを含んでよい。プロモーターは、R

50

N A ポリメラーゼが D N A に結合し、 R N A 合成を開始することを支配する D N A 配列として規定される。強いプロモーターは、 m R N A を高い頻度で開始させる。

#### 【 0 1 8 8 】

発現ベクターは、例えば構成性および誘導性プロモーターを含む転写および翻訳に影響する種々の要素も含んでよい。これらの要素は、しばしば宿主および／またはベクター依存性である。例えば、細菌系でクローニングする場合、 T 7 プロモーター、バクテリオファージ の p L 、 p l a c 、 p t r p 、 p t a c ( p t r p - l a c ハイブリッドプロモーター)などの誘導性プロモーターなどを用いてよい。昆虫細胞系でクローニングする場合、バキュロウイルスポリヘドリンプロモーターのようなプロモーターを用いてよい。植物細胞系にクローニングする場合、植物細胞のゲノムに由来する(例えば熱ショックプロモーター； R U B I S C O の小サブユニットのプロモーター；クロロフィル a / b 結合タンパク質のプロモーター)か、または植物ウイルスから(例えば C a M V の 3 5 S R N A プロモーター； T M V のコートタンパク質プロモーター)のプロモーターを用いてよい。哺乳動物細胞系においてクローニングする場合、哺乳動物プロモーター(例えばメタロチオネインプロモーター)または哺乳動物ウイルスプロモーター(例えばアデノウイルス後期プロモーター、ワクシニアウイルス 7 . 5 K プロモーター、 S V 4 0 プロモーター；ウシ乳頭腫ウイルスプロモーター；エブスタイン - バーウィスルプロモーター)を用いてよい。

10

#### 【 0 1 8 9 】

ベクターを宿主細胞に導入するために種々の方法、例えば形質転換、トランスフェクション、感染、プロトプラスト融合およびエレクトロポレーションを用いてよい。発現ベクター含有細胞はクローンとして増殖し、適切なポリペプチドを産生するかを決定するために個別に分析される。例えば抗生物質耐性を含む種々の選択法を用いて、形質転換された宿主細胞を同定してよい。ポリペプチド発現宿主細胞クローンの同定は、限定されないが、抗キナーゼ抗体との免疫学的反応性および宿主細胞関連活性の存在を含むいくつかの方法により行ってよい。

20

#### 【 0 1 9 0 】

c D N A の発現は、 i n v i t r o で産生された合成 m R N A を用いて行ってよい。合成 m R N A は、限定されないが、コムギ胚芽抽出物および網状赤血球抽出物を含む種々の無細胞系において効率的に翻訳できると共に、限定されないが、カエル卵母細胞へのマイクロインジェクションを含む細胞に基づく系で効率的に翻訳できる。

30

#### 【 0 1 9 1 】

最適なレベルの活性および／またはタンパク質を産生する c D N A 配列を決定するために、修飾 c D N A 分子を構築する。修飾 c D N A の限定されない例は、 c D N A が発現される宿主細胞に c D N A のコドン使用を最適化したものである。宿主細胞は、 c D N A 分子で形質転換され、キナーゼ R N A および／またはタンパク質のレベルを測定する。

#### 【 0 1 9 2 】

宿主細胞でのキナーゼタンパク質のレベルは、イムノアフィニティーおよび／またはリガンドアフィニティー法のような種々の方法を用いて定量され、キナーゼ特異的アフィニティー ビーズまたは特異的抗体を用いて <sup>35</sup> S - メチオニン標識または未標識のタンパク質を単離する。標識または未標識のタンパク質は、 S D S - P A G E により分析される。未標識のタンパク質は、特異的抗体を用いるウェスタンプロッティング、 E L I S A または R I A により検出される。

40

#### 【 0 1 9 3 】

組換え宿主細胞でのキナーゼの発現に続いて、ポリペプチドを回収してタンパク質を活性形にする。いくつかの精製法が利用可能であり、用いるのに適する。組換えキナーゼは、細胞溶解物からまたは馴化培地から、当技術分野において知られる分画またはクロマトグラフィー工程の種々の方法の組合せまたは単独での適用により精製してよい。

#### 【 0 1 9 4 】

さらに、組換えキナーゼは、全長の新生タンパク質またはそのポリペプチドフラグメン

50

トに特異的なモノクローナルまたはポリクローナル抗体を用いて作製したイムノアフィニティーカラムを用いることにより、その他の細胞性タンパク質から分離できる。当技術分野において知られるその他のアフィニティーに基づく精製法も用いてよい。

#### 【0195】

あるいは、ポリペプチドは、折り畳まれていない不活性の形で宿主細胞から、例えば細菌のインクルージョンボディから回収してよい。この形で回収されるタンパク質は、変性剤、例えば塩酸グアニジンを用いて可溶化し、次いで透析のような当業者に知られる方法を用いて活性形に再び折り畳んでよい。

#### 【0196】

##### B. 細胞成長アッセイ

種々の細胞成長アッセイが当技術分野において知られており、細胞成長および／または増殖を阻害（例えば減少）できる縮合環ヘテロ環化合物（すなわち「試験化合物」）を同定するために有用である。

#### 【0197】

例えば、種々の細胞は、成長および／または増殖のために特定のキナーゼを必要とすることが知られている。このような細胞が試験化合物の存在下に成長する能力を評価し、試験化合物の非存在下での成長と比較することにより、試験化合物の抗増殖特性が同定される。この種類のある一般的な方法は、分裂細胞のDNAへのトリチウム化チミジンのような標識の取り込みの程度を測定することである。あるいは、細胞増殖の阻害は、細胞数に対応する代用マーカーを用いて細胞の全代謝活性を決定することによりアッセイしてもよい。細胞は、試験化合物の存否において代謝の指標と処理してよい。生細胞は代謝の指標を代謝し、それにより検出可能な代謝産物を形成する。検出可能な代謝産物のレベルが、試験化合物の非存在下に比べて試験化合物の存在下で減少する場合、細胞の成長および／または増殖の阻害を表す。代謝の指標の例は、例えばテトラゾリウム塩およびAlamo r Blue（登録商標）を含む（以下の実施例の項を参照されたい）。

#### 【0198】

##### V. 医薬組成物および投与

別の態様において、本発明は、医薬的に許容される賦形剤を混合した縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子を含む医薬組成物を提供する。当業者は、該医薬組成物が、上記の縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子の医薬的に許容される塩を含むことを認識する。

#### 【0199】

治療上および／または診断上の適用において、本発明の化合物は、全身および局所を含む投与または局部投与の種々の形態のために処方できる。方法および処方は、一般的に、Remington: The Science and Practice of Pharmacy（第20版）Lippincott, Williams & Wilkins（2000）に見い出し得る。

#### 【0200】

本発明による化合物は、広い投与量範囲にわたって有効である。例えば、ヒトの成人の治療において、用いてよい投与量の例は、1日当たり0.01～1000mg、0.5～100mg、1～50mg、および1日当たり5～40mgの投与量である。最も好ましい投与量は、1日当たり10～30mgである。正確な投与量は、投与経路、化合物が投与される形、治療される対象、治療される対象の体重、ならびに治療する医師の選択および経験に依存する。

#### 【0201】

医薬的に許容される塩は、当業者に一般的によく知られており、限定しない例として、酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベシル酸塩、安息香酸塩、炭酸水素塩、酒石酸水素塩、臭化物、エデト酸カルシウム、カルニシレート（carnsylate）、炭酸塩、クエン酸塩、エデト酸塩、エジシレート、エストレート、エシレート、フマル酸塩、グルセブテート、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニル酸塩、ヘキシリレゾルシネット、ヒドラバミン、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトエート、ヨウ化物、イセチオン酸

10

20

30

40

50

塩、乳酸塩、ラクトビオネート、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ムケート、ナプシレート、硝酸塩、パモエート（エンボネート）、パントテン酸塩、リン酸塩／ニリン酸塩、ポリガラクツロン酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩またはテオクル酸塩を含んでよい。その他の医薬的に許容される塩は、例えば Remington : The Science and Practice of Pharmacy (第20版) Lippincott, Williams & Wilkins (2000) に見出し得る。好ましい医薬的に許容される塩は、例えば、酢酸塩、安息香酸塩、臭化物、炭酸塩、クエン酸塩、グルコン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、マレイン酸塩、メシル酸塩、ナプシレート、パモエート（エンボネート）、リン酸塩、サリチル酸塩、コハク酸塩、硫酸塩または酒石酸塩を含む。

10

## 【0202】

治療される具体的な状態に応じて、このような作用剤は、液体または固体の剤形に処方され、全身または局部的に投与される。作用剤は、例えば、当業者に知られるような持続性または徐放性の形で送達してよい。処方および投与の方法は、Remington : The Science and Practice of Pharmacy (第20版) Lippincott, Williams & Wilkins (2000) に見出し得る。適切な経路は、経口、頸側、吸込スプレーにより、舌下、直腸、経皮、経腔、経粘膜、経鼻、または腸管の投与；筋肉内、皮下、髄内の注入、ならびにくも膜下腔内、心室内直接、静脈内、関節内、胸骨内、滑膜内、肝臓内、病巣内、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内、または眼内の注入を含む非経口デリバリー、あるいはデリバリーのその他の形態を含んでよい。

20

## 【0203】

注入のために、本発明の作用剤は、ハンク溶液、リンゲル溶液または生理食塩緩衝液のような生理的に適合した緩衝液のような水溶液中に処方して希釈してよい。このような経粘膜投与のために、浸透されるバリアに適する浸透剤を処方中に用いる。このような浸透剤は、当技術分野において一般的に知られている。

30

## 【0204】

本発明の実施のために、本明細書に開示される化合物を全身投与用に適する剤形に処方するために医薬的に許容される不活性担体を用いることは、本発明の範囲内である。適切な担体の選択および適切な製造の実施により、本発明の組成物、特に溶液として処方されるものは、静脈内注射などにより非経口投与してよい。化合物は、当技術分野においてよく知られている医薬的に許容される担体を用いて、経口投与用に適する剤形に容易に処方できる。このような担体は、本発明の化合物を、治療される患者が経口摂取するための錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、ゲル、シロップ剤、スラリー、懸濁剤などに処方することを可能にする。

40

## 【0205】

経鼻または吸入のデリバリーのために、本発明の作用剤は、当業者に知られる方法により処方もよろしく。例えば、限定しない例として、食塩水のような可溶化物質、希釈物質または分散物質の例、ベンジルアルコールのような防腐剤、吸収促進剤およびフルオロカーボンを含んでよい。

## 【0206】

本発明における使用に適する医薬組成物は、活性成分がその意図する目的を達成する有効量で含有される組成物を含む。有効量の決定は、特に本明細書の詳細な開示に鑑みて、当業者の能力の範囲内である。

## 【0207】

活性成分に加えて、これらの医薬組成物は、活性化合物の製剤への修飾を促進する、医薬的に用いることができる賦形剤および添加剤を含む適切な医薬的に許容される担体を含んでよい。経口投与用に処方される製剤は、錠剤、糖衣剤、カプセル剤または溶液の形であつてよい。

## 【0208】

50

経口用の医薬製剤は、活性化合物を、固体の賦形剤と合わせ、得られた混合物を所望により粉碎し、かつ必要であれば適切な添加剤を加えた後に顆粒混合物を修飾して、錠剤または糖衣剤の核を得ることにより得ることができる。適切な賦形剤は、特に、ラクトース、スクロース、マンニトールまたはソルビトールを含む糖類のような充填剤；例えばトウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、バレイショデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース（CMC）ナトリウムおよび／またはポリビニルピロリドン（PVP：ポビドン）のようなセルロース調製物である。必要であれば、架橋ポリビニルピロリドン、アガーまたはアルギン酸またはアルギン酸ナトリウムのようなその塩のような崩壊剤を加えてよい。

10

## 【0209】

糖衣剤の核には、適切なコーティングを施す。この目的のために濃縮糖溶液を用いてよく、該濃縮糖衣溶液は、アラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール（PEG）および／または二酸化チタン、ラッカー溶液、ならびに適切な有機溶媒または溶媒混合物を所望により含有してよい。活性化合物の異なる混合用量を同定または特徴付けるために、錠剤または糖衣錠のコーティングに染料または色素を加えてよい。

## 【0210】

経口使用できる医薬製剤は、ゼラチンでできたプッシュフィットカプセル、ならびにゼラチンおよびグリセロールまたはソルビトールのような可塑剤でできたソフトシールカプセルを含む。プッシュフィットカプセルは、ラクトースのような充填剤、デンプンのような結合剤および／またはタルクもしくはステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤、ならびに所望により安定剤と混合した活性成分を含有できる。ソフトカプセルでは、活性化合物は、脂肪油、流動パラフィン、または液状ポリエチレングリコール（PEG）のような適切な液体に溶解または懸濁してよい。さらに、安定剤を加えてよい。

20

## 【0211】

治療または予防される具体的な症状または疾患の状態により、その症状を治療または予防するために通常は投与される付加的な治療剤を、本発明の阻害剤と一緒に投与してよい。例えば、化学療法剤またはその他の増殖抑制剤を本発明の阻害剤と組み合わせて、増殖性疾患および癌を治療してよい。既知の化学療法剤の例は、限定されないが、アドリアマイシン、デキサメタゾン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、フルオロウラシル、トポテカン、タキソール、インターフェロンおよび白金誘導体を含む。

30

## 【0212】

本発明の阻害剤である作用剤のその他の例は、限定されないが、コルチコステロイド、TNFブロッカー、IL-1RA、アザチオプリン、シクロホスファミドおよびスルファサラジンのような抗炎症剤；シクロスボリン、タクロリムス、ラバマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、インターフェロン、コルチコステロイド、シクロホスファミド、アザチオプリンおよびスルファサラジンのような免疫調節剤ならびに免疫抑制剤；アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、MAO阻害剤、インターフェロン、抗痙攣剤、イオンチャネルブロッカー、リルゾールおよび抗パーキンソン病剤のような神經向性因子；ブロッカー、ACE阻害剤、利尿剤、硝酸塩、カルシウムチャネルブロッカーおよびスタチンのような心血管疾患の治療薬；コルチコステロイド、コレステラミン、インターフェロンおよび抗ウイルス剤のような肝臓疾患の治療剤；コルチコステロイド、抗白血病薬および成長因子のような血液学的疾患の治療剤；インシュリン、インシュリン類縁体、グルコシダーゼ阻害剤、ビグアナイドおよびインシュリン感受性改善薬のような糖尿病の治療剤；ならびにグロブリンのような免疫不全症の治療剤を含んで組み合わせてもよい。

40

## 【0213】

これらの付加的な作用剤は、阻害剤含有組成物とは別に、複数回投与計画の一部分として投与してよい。あるいは、これらの剤は、单一組成物中に阻害剤と混合した単回投与形態の一部分であってよい。

50

## 【0214】

本発明は、本発明の一つの態様の説明を意図する実施例によりその範囲を限定されない。実際に、本明細書に記載されるものの他に本発明の種々の修飾が、上記の記載から当業者には明らかになる。このような修飾は、本発明の範囲内であることを意図する。さらに、本発明の任意の具体的態様の1つまたは複数の特徴は、本発明の範囲を逸脱せずに、本発明の任意のその他の具体的態様の任意の1つまたは複数のその他の特徴と組み合わせてよい。例えば、縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子の項に記載される縮合環ヘテロ環キナーゼ調節因子は、本明細書に記載される治療方法およびキナーゼの阻害方法に等しく適用可能である。本明細書を通して引用される参考文献は、当技術分野のレベルの例であり、以前に具体的に組み込まれているか否かによらず、全ての目的のためにその全体が本明細書に参照として組み込まれる。

10

## 【実施例】

## 【0215】

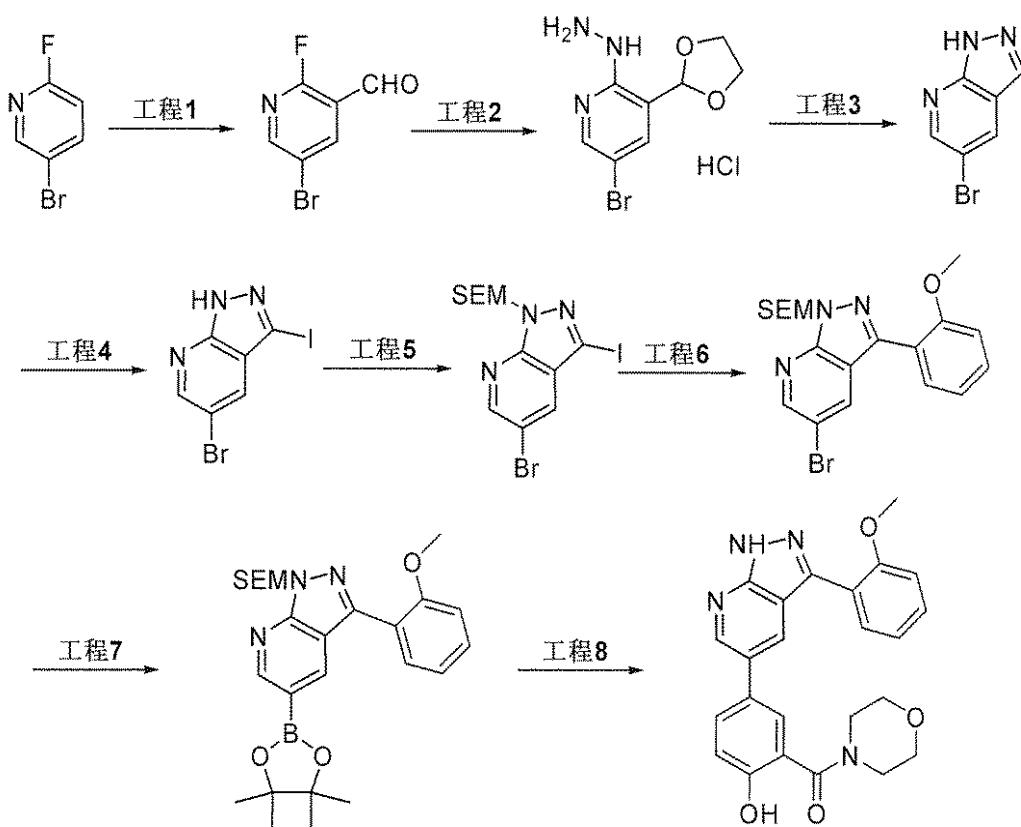
以下の実施例は、本発明を限定せずに説明するために与えられる。本発明の実施形態の製造は、以下の実施例に記載される。当業者は、与えられる化学反応および合成方法は、本発明のその他の多くの化合物を製造するために修飾してよいことを理解するであろう。本発明の化合物が例示されていない場合、当業者は、これらの化合物は、本明細書に記載される合成方法を修飾することにより、当技術分野において知られる合成方法を用いることにより製造できることを認識するであろう。

20

## 化合物の合成

## 方法1：

## 【化14】



30

## 【0216】

## 工程1：5 - ブロモ - 2 - フルオロ - ピリジン - 3 - カルバルデヒドの合成

リチウムジ - イソ - プロピルアミン (5 mL、3.5 mmol) の無水THF (40 mL) 溶液を、窒素の下で -78°C に冷却し、n - プチルリチウム (ヘキサン中に 2.5 M、1.2 mL、3.0 mmol) を加えた。次いで、混合物を -78°C にて 15 分間攪拌した後に、5 - ブロモ - 2 - フルオロ - ピリジン (5 g、2.8 mmol) を加えた。次いで、得

40

50

られた混合物を -78 °C にて 90 分間攪拌した。N-ホルミルピペリジン (4 mL、36 mmol) を、懸濁物に -78 °C にて非常に迅速に加え、混合物を 60 秒間激しく攪拌した。反応を、10% (w/v) クエン酸水溶液の添加により直ちに停止した。混合物を室温まで温め、水とジクロロメタンとに分配した。水層をジクロロメタンで 3 回抽出し、有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。シクロヘキサンからの粗生成物の結晶化により、5-ブロモ-2-フルオロ-ピリジン-3-カルバルデヒド (2.993 g、収率 52%) を、淡いベージュの薄片状の結晶として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 10.07 (s, 1H), 8.70 (dd, 1H), 8.55 (dd, 1H). MS: m/z 236, 238 [MNa<sup>+</sup>], 204, 206 [MH<sup>+</sup>], 176, 178 [MH-CO<sup>+</sup>].

## 【0217】

工程 2 および 3 : 5-ブロモ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンの合成  
5-ブロモ-2-フルオロ-ピリジン-3-カルバルデヒド (13.66 g、66.96 mmol)、ピナコール (8.75 g、74.0 mmol) およびパラ-トルエンスルホン酸一水和物 (1.50 g、7.89 mmol) を、ディーン-スターク冷却器を備えたフラスコに入れ、無水ベンゼン (400 mL) に溶解した。混合物を還流まで加熱し、留出物が透明なままになるまで溶媒を留去したところ、残存容量は約 200 mL であった。混合物を酢酸エチル (300 mL) で希釈し、炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液および塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。得られた残渣を、エタノール (400 mL) とジ-イソ-プロピル-エチル-アミン (25 mL) との混液に溶解した。次いで、無水ヒドラジン (15 mL、0.48 mol) を加え、得られた混合物を還流条件下で 4 時間攪拌した。次いで、混合物を濃縮乾燥し、得られた残渣を水とトルエンに分配した。有機相を塩水で 2 回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。残渣を無水エーテル (700 mL) に溶解し、無水エーテル (2 M、70 mL) 中の塩化水素を、激しく攪拌している溶液に徐々に加えた。沈殿物をろ過し、エーテルおよびヘキサンで洗浄し、次いで、真空乾燥した。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 10.31 (s, br, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.37 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 6.08 (s, 1H), 3.56 (s, br), 1.27 (s, 6H), 1.19 (s, 6H). MS: m/z 198, 200 [MH<sup>+</sup>].

## 【0218】

上記の固体を、水 (500 mL)、エタノール (200 mL) および濃塩酸水溶液 (50 mL) の混液に 50 ~ 65 °C にて溶解した。次いで、混合物を室温にて 16 時間攪拌し、その後、炭酸水素ナトリウムで pH = 8 に中和した。得られた沈殿物をろ過し、水相を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機相を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。得られた残渣および得られた沈殿物をエタノールから結晶化して、5-ブロモ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン (6.615 g、収率 50%) を、ベージュから淡いオリーブがかった緑色の結晶固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 13.91 (s, 1H), 8.60 (d, 1H), 8.54 (d, 1H), 8.16 (s, br, 1H). MS: m/z 198, 200 [MH<sup>+</sup>].

## 【0219】

工程 4 : 5-ブロモ-3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンの合成  
5-ブロモ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン (3.00 g、15.2 mmol) および N-ヨードスクシンイミド (3.60 g、16.0 mmol) を、無水ジクロロエタン (100 mL) に溶解した。得られた混合物を還流条件下で 6 時間攪拌し、室温まで冷却し、THF (300 mL) で希釈した。得られた溶液を、チオ硫酸ナトリウムの飽和水溶液 (100 mL) および塩水で洗浄し、次いで硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。残渣を、ジクロロメタンおよびエーテルの 1:1 混液、次いでエーテルで粉碎した後に真空乾燥して、5-ブロモ-3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン (3.795 g、収率 77%) を、ベージュがかった茶色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 14.31 (s, 1H), 8.65 (d, 1H), 8.20 (d, 1H). MS: m/z 323, 325 [MH<sup>+</sup>].

## 【0220】

10

20

20

30

40

50

工程 5 : 5 - プロモ - 3 - ヨード - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンの合成

窒素の下で、5 - プロモ - 3 - ヨード - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 2 . 68 g, 8 . 27 mmol ) を無水 DMF ( 40 mL ) に溶解した。溶液を 0 ~ 5 ℃ に冷却し、過剰の乾燥水素化ナトリウムを、さらなる添加により水素が形成されなくなるまで加えた。得られた懸濁物に、塩化 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ( 2 . 5 mL, 14 mmol ) を 0 ~ 5 ℃ にて滴下した。得られた混合物を 0 ℃ にて 1 時間攪拌し、その後、メタノールおよび続いで塩化アンモニウムの飽和水溶液の添加により反応停止した。次いで、混合物を 50 ℃ にて減圧下に濃縮乾燥した。得られた残渣を水、塩水およびジクロロメタンに分配した。次いで、水層をジクロロメタンで抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。粗生成物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、5 - プロモ - 3 - ヨード - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 2 . 929 g, 収率 78 % ) を、ベージュから茶色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.85 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.69 (t, 2H), 0.92 (t, 2H), 0.11 (s, 9H).

### 【 0221 】

工程 6 : 5 - プロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンの合成

アセトニトリル ( 8 mL ) 中の 5 - プロモ - 3 - ヨード - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 1 . 606 g, 3 . 537 mmol ) 、 2 - メトキシ - フェニル - ボロン酸 ( 575 mg, 3 . 78 mmol ) および 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 145 mg, 0 . 178 mmol ) と炭酸ナトリウム水溶液 ( 2 M, 8 mL ) の混合物を、密閉バイアル中で 85 ℃ にて 100 分間攪拌した。次いで、得られた混合物を、炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液とジクロロメタンに分配し、水相をジクロロメタンで 3 回抽出した。合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。粗生成物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、5 - プロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 1 . 002 g, 収率 65 % ) を、オフホワイトの油として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.70 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.50 (ddd, 1H), 7.23 (dd, 1H), 7.10 (ddd, 1H), 5.81 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.66 (t, 2H), 0.84 (t, 2H), -0.10 (s, 9H). MS: m/z 456, 458 [MNa<sup>+</sup>].

### 【 0222 】

工程 7 : 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - [ 1 , 3 , 2 ] ジオキサボロラン - 2 - イル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンの合成

ビス ( ピナコラート ) ジボロン ( 1 . 20 g, 4 . 73 mmol ) 、 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 100 mg, 0 . 122 mmol ) および無水酢酸ナトリウム ( 625 mg, 7 . 62 mmol ) を、窒素を通気したバイアルに入れた。ここに、5 - プロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 1 . 002 g, 2 . 307 mmol ) の無水 DMF ( 15 mL ) 溶液を加えた。得られた混合物に、Personal Chemistry Optimizer 中で 130 ℃ にて 60 分間放射線照射し、次いで、50 ℃ にて減圧下に濃縮した。得られた残渣をエーテルと塩水に分配し、水相をエーテルで抽出した。有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、組成生物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - [ 1 , 3 , 2 ]

10

20

30

40

50

ジオキサボロラン - 2 - イル) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 1 . 3 7 0 g 、 収率 1 2 3 % ) を、 淡いオリーブがかった緑色の固体として得た。  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $d_6$ -DMSO) 8.76 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 7.59 (dd, 1H), 7.51 (ddd, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.12 (ddd, 1H), 5.84 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67 (t, 2H), 1.33 (s, 12H), 0.84 (t, 2H), -0.10 (s, 9H).

## 【 0 2 2 3 】

工程 8 : { 2 - ヒドロキシ - 5 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - モルホリン - 4 - イル - メタノンの合成

アセトニトリル ( 2 mL ) 中の 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - [ 1 , 3 , 2 ] ジオキサボロラン - 2 - イル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 1 0 0 mg 、 0 . 2 1 mmol ) 、 ( 5 - プロモ - 2 - ヒドロキシ - フェニル ) - モルホリン - 4 - イル - メタノン ( 6 6 mg 、 0 . 2 3 mmol ) および 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( I I ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 9 mg 、 1 1  $\mu\text{mol}$  ) と、 炭酸ナトリウム水溶液 ( 2 M 、 2 mL ) の混合物に、 Personal Chemistry Optimizer 中で 1 3 5 にて 2 0 分間放射線照射した。粗反応混合物をジクロロメタンと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。次いで、水相をジクロロメタンで抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、粗生成物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、 { 2 - ヒドロキシ - 5 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - モルホリン - 4 - イル - メタノン ( 3 5 mg 、 収率 3 0 % ) を無色の固体として得た。  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $d_6$ -DMSO) 8.86 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 7.64 (dd, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.49 (ddd, 1H), 7.24 (d, br, 1H), 7.11 (ddd, 1H), 7.00 (d, 1H), 5.84 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.69 (t, 2H), 3.7-3.2 (m, 8H), 0.86 (t, 2H), -0.08 (s, 9H). MS: m/z 583 [MNa<sup>+</sup>] , 561 [MH<sup>+</sup>] , 443 [MH<sup>+</sup>-(Me<sub>3</sub>Si(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O)]

## 【 0 2 2 4 】

{ 2 - ヒドロキシ - 5 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - モルホリン - 4 - イル - メタノン ( 3 4 mg 、 6 1  $\mu\text{mol}$  ) のジクロロメタン ( 1 5 mL ) 溶液を 0 ~ 5 に冷却し、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯塩 ( 1 0 0  $\mu$  l 、 0 . 8 mmol ) を加えた。次いで、混合物を 0 ~ 5 にて 4 0 分間攪拌した後に、 1 0 mL の 1 0 % ( w / v ) 水酸化カリウム溶液を加えた。混合物を室温にてさらに 1 時間攪拌した。次いで、 pH を約 3 ~ 4 にクエン酸の添加により調整し、水相を硫酸ナトリウムで飽和した。得られた混合物をジクロロメタン ( 3 × ) で抽出した。有機相を合わせ、炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させて { 2 - ヒドロキシ - 5 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - モルホリン - 4 - イル - メタノン ( 1 1 . 5 mg 、 収率 4 4 % ) を、無色の固体として得た。  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $d_6$ -DMSO) 13.76 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.78 (d, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.64 (dd, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.46 (ddd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.10 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.7-3.2 (m, 8H). MS: m/z 431 [MH<sup>+</sup>].

## 【 0 2 2 5 】

方法 1 により製造されるその他の化合物 :

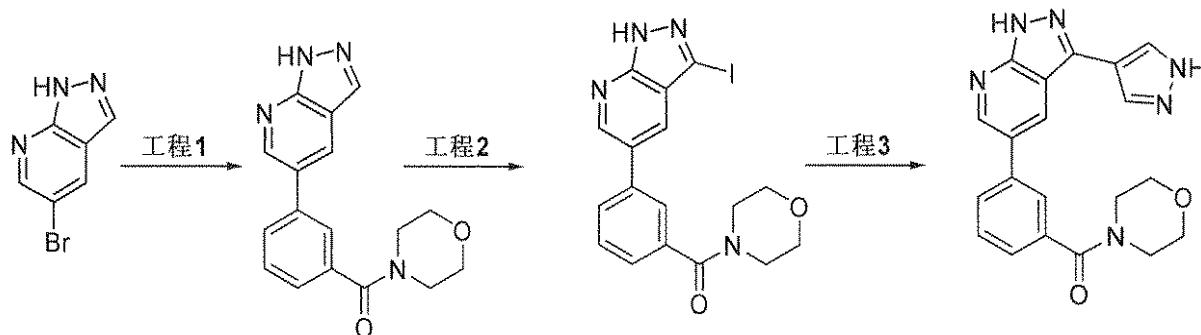
〔表1〕

第 1 表  
構造

The chemical structure shows a 2-hydroxybenzyl group (a benzene ring with a hydroxyl group at position 2 and a methylamino group (-NHCH<sub>3</sub>) at position 4) attached to the 2-position of a 4-pyrimidinyl ring. The 4-pyrimidinyl ring is further substituted with a 4-methoxyphenyl group at its 2-position.

## 方法 2：

【化 1 5 】



【 0 2 2 6 】

## 工程 1：モルホリン - 4 - イル - [ 3 - ( 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) - フェニル ] - メタノンの合成

ジメトキシエタン (8 mL) 中の 5 - ブロモ - 1H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン (1.50 g、7.57 mmol)、3 - (モルホリン - 4 - カルボニル) フェニルボロン酸 (2.136 g、9.09 mmol) およびテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) (435 mL、0.376 mmol) と炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液 (8 mL) の混合物に、Personal Chemistry Optimizer 中で、175 にて 60 分間放射線照射した。粗反応混合物を、ジクロロメタンと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。次いで、水相をジクロロメタン、次いで酢酸エチルで抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮することにより、80% のモルホリン - 4 - イル - [3 - (1H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 5 - イル) - フェニル] - メタノン (2.30 g、収率 80%) および 20% のトリフェニルホスフィンオキシドを含有する淡い緑色の泡状物を得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 3.75 (s, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.54 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.77 (m, 1H), 7.58 (t, 1H), 7.41 (m, 1H).

【 0 2 2 7 】

工程 2 : [ 3 - ( 3 - ヨード - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) -

### フェニル] - モルホリン - 4 - イル - メタノンの合成

モルホリン - 4 - イル - [ 3 - ( 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) - フェニル ] - メタノン ( 2 . 30 g、純度 80 %、約 6 mmol ) および N - ヨードスクシンイミド ( 2 . 50 g、11 . 1 mmol ) を、ジクロロエタン ( 180 mL ) に溶解した。混合物を還流条件下で 5 時間攪拌し、次いで、室温まで冷却し、ジクロロメタンで希釈した。溶液を、チオ硫酸ナトリウムの飽和水溶液 ( 1 × ) 、次いで臭化ナトリウムの飽和水溶液 ( 2 × ) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。得られた残渣をエーテル ( 80 mL ) で洗浄し、乾燥して、[ 3 - ( 3 - ヨード - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) - フェニル ] - モルホリン - 4 - イル - メタノンを、ベージュの粉末として得た ( 2 . 881 g、2 工程の収率 88 % )。<sup>1</sup>H-NMR ( 500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO ) 14.19 ( s, 1H ), 8.92 ( d, 1H ), 8.14 ( d, 1H ), 7.91 ( m, 1H ), 7.83 ( m, 1H ), 7.59 ( ddd, 1H ), 7.44 ( dt, 1H ), 3.75-3.35 ( m, 8H ).

#### 【 0228 】

工程 3 : モルホリン - 4 - イル - { 3 - [ 3 - ( 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - メタノンの合成

アセトニトリル ( 2 mL ) 中の [ 3 - ( 3 - ヨード - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) - フェニル ] - モルホリン - 4 - イル - メタノン ( 25 mg、5.8 μmol ) 、 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 5 mg、6 μmol ) および 1 H - ピラゾール - 4 - イルボロン酸 ( 11 mg、9.8 μmol ) と炭酸ナトリウムの 2 M 溶液 ( 1 mL ) の混合物に、Personal Chemistry Optimizer 中で 175 にて 30 分間放射線照射した。粗反応混合物を、水 ( 1 mL ) および酢酸エチル ( 3 mL ) で希釈し、有機相を分離し、ろ過して濃縮した。次いで、得られた粗混合物を、0 . 1 % ギ酸を含有する水中のアセトニトリルの勾配を用いる質量誘発逆相 HPLC により精製して、モルホリン - 4 - イル - { 3 - [ 3 - ( 1 H - ピラゾール - 4 - イル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - メタノン ( 6 . 2 mg、収率 29 % ) を、無色の粉末として得た。<sup>1</sup>H-NMR ( 500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO ) 13.59 ( s, 1H ), 13.17 ( s, 1H ), 8.87 ( d, 1H ), 8.73 ( d, 1H ), 8.60 ( s, br, 1H ), 8.17 ( s, br, 1H ), 7.95 ( ddd, 1H ), 7.89 ( t, 1H ), ( t, 1H ), 7.59 ( t, 1H ), 7.43 ( ddd, 1H ), 3.80-3.35 ( m, 8H ). MS: m/z 397 [MNa<sup>+</sup>] , 375 [MH<sup>+</sup>].

#### 【 0229 】

方法 2 により製造されるその他の化合物 :

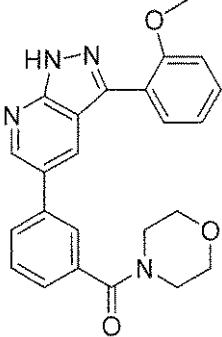
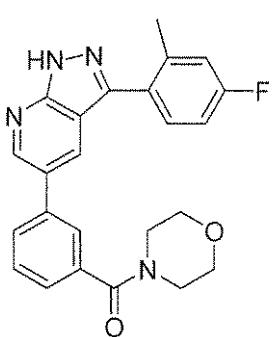
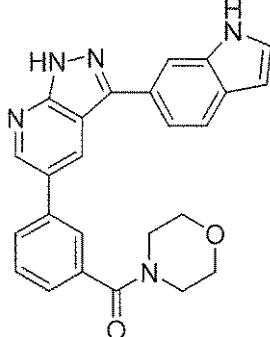
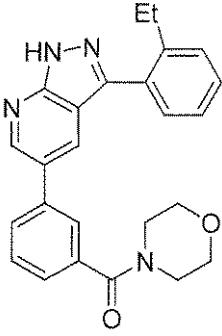
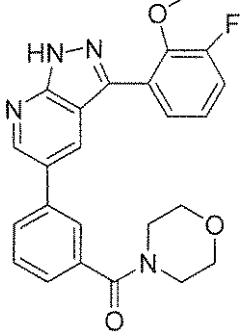
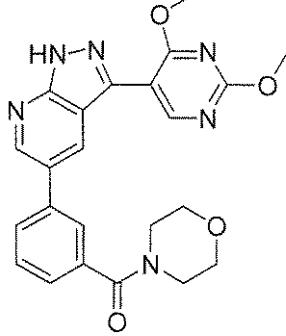
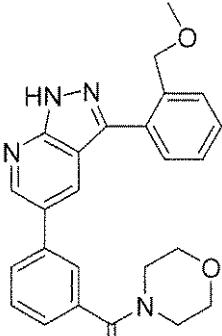
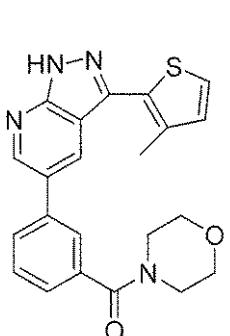
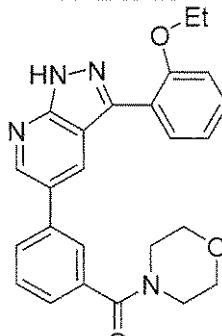
10

20

30

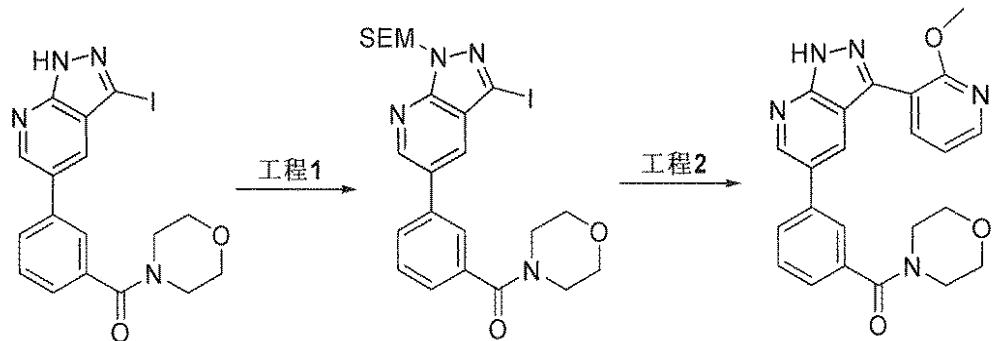
【表2】

第2表

| 構造                                                                                  | 構造                                                                                  | 構造                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |    |
| MS: $m/z$ 415 ( $M+H^+$ )                                                           | MS: $m/z$ 417 ( $M+H^+$ )                                                           | MS: $m/z$ 424 ( $M+H^+$ )                                                             |
|   |   |   |
| MS: $m/z$ 413 ( $M+H^+$ )                                                           | MS: $m/z$ 433 ( $M+H^+$ )                                                           | MS: $m/z$ 447 ( $M+H^+$ )                                                             |
|  |  |  |
| MS: $m/z$ 429 ( $M+H^+$ )                                                           | MS: $m/z$ 405 ( $M+H^+$ )                                                           | MS: $m/z$ 429 ( $M+H^+$ )                                                             |

方法3:

## 【化16】



## 【0230】

工程1：{3-[3-ヨード-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-モルホリン-4-イル-メタノンの合成

[3-(3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)-フェニル]-モルホリン-4-イル-メタノン(2.12g、4.88mmol)の無水DMF(30mL)溶液に、水素化ナトリウム(鉱物油中に60%、750mg、30mmol)を0~5にて加えた。混合物を数分間攪拌した後に、塩化トリメチルシリルエトキシメチル(2.0ml、11mmol)を同じ温度にて滴下した。混合物を0~室温にて4時間攪拌し、次いで、0~5に冷却し、メタノールの添加により反応を停止した。次いで、得られた懸濁物を水、塩化アンモニウムの飽和水溶液およびエーテルに分配した。水層をエーテルで3回抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、粗生成物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、{3-[3-ヨード-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-モルホリン-4-イル-メタノンを、ベージュがかった茶色の泡状物として得た(1.806g、<sup>1</sup>H-NMRにより66%、副生成物はモルホリン-4-イル-{3-[2-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-2H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-メタノンと同定された)。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 9.08(d, 1H), 8.29(d, 1H), 8.01(m, 1H), 7.95(t, br, 1H], 7.69(t, 1H), 7.55(d, br, 1H), 5.88(s, 2H), 3.71(t, 2H), 3.85-3.45(m, 8H), 0.94(t, 2H), -0.2(s, 9H). MS: m/z 565 [MNa<sup>+</sup>], 537 [MH<sup>+</sup>], 447 [MH<sup>+</sup>-(Me<sub>3</sub>Si(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O)].

## 【0231】

工程2：{3-[3-(2-メトキシ-ピリジン-3-イル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-モルホリン-4-イル-メタノンの合成

アセトニトリル(2mL)中の{3-[3-ヨード-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-モルホリン-4-イル-メタノン(33mg、純度66%、38μmol)、1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム(II)-ジクロリドジクロロメタン付加物(5mg、6μmol)および3-トリフルオロメチルフェニルボロン酸(14mg、92μmol)と炭酸ナトリウムの2M溶液(1mL)の混合物に、Personnal Chemistry Optimizer中で175にて20分間放射線照射した。粗反応混合物を、臭化ナトリウムの飽和水溶液(1mL)および酢酸エチル(4mL)で希釈し、有機相を分離し、シリカに吸着させ、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、{3-[3-(2-メトキシ-ピリジン-3-イル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-モルホリン-4-イル-メタノン(24mg、収率116%)を、オフホワイトの残渣として得た。MS: m/z 568 [MNa<sup>+</sup>], 546 [MH<sup>+</sup>], 428 [MH<sup>+</sup>-(Me<sub>3</sub>Si(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O)]

10

20

30

40

50

## 【0232】

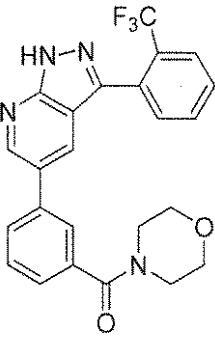
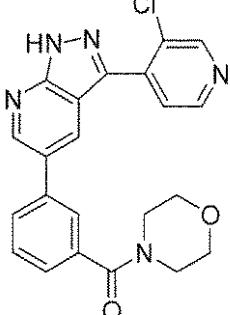
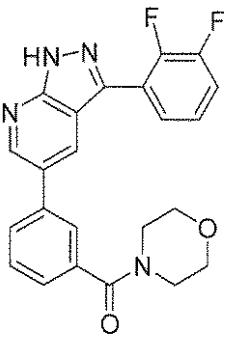
この残渣をT H F ( 2 m l ) に溶解し、4 の活性モレキュラーシーブを混合物に加えた。T H F 中のテトラ - n - プチルアンモニウムフルオリド ( 1 M 溶液、0 . 5 m l 、0 . 5 m m o l ) を加え、混合物を 7 0 °C にて 2 6 時間攪拌した。混合物を室温まで冷却し、1 m l のカチオン交換樹脂 ( A m b e r l y s t 、 N a<sup>+</sup>型) を加え、混合物を 4 0 分間振とうした。残渣およびシーブをろ過し、ジクロロメタンおよびメタノールで洗浄し、得られたろ過物を濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル中に 1 5 % ( v / v ) のメタノールを含有する酢酸エチルの勾配を用いるシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。生成物のフラクションを合わせ、濃縮し、0 . 1 % ギ酸を含有する水中のアセトニトリルの勾配を用いる質量誘発逆相H P L C で精製して、{ 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - ピリジン - 3 - イル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - モルホリン - 4 - イル - メタノン ( 3 . 2 m g 、収率 2 0 % ) を、無色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR ( 500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO ) 14.01 ( s, 1H ), 8.91 ( d, 1H ), 8.51 ( d, 1H ), 8.31 ( dd, 1H ), 8.11 ( dd, 1H ), 7.87 ( ddd, 1H ), 7.80 ( t, 1H ), 7.59 ( t, 1H ), 7.43 ( dt, 1H ), 7.18 ( dd, 1H ), 3.97 ( s, 3H ), 3.70-3.35 ( m, 8H ). MS: m/z 416 [M<sup>+</sup>].

10

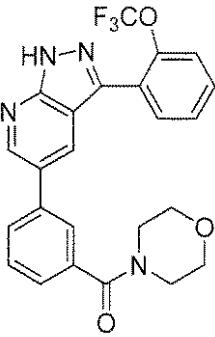
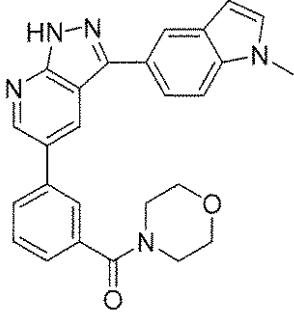
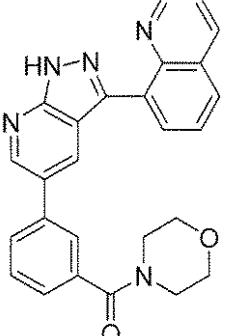
## 【0233】

方法 3 により製造されるその他の化合物 :

【表3】

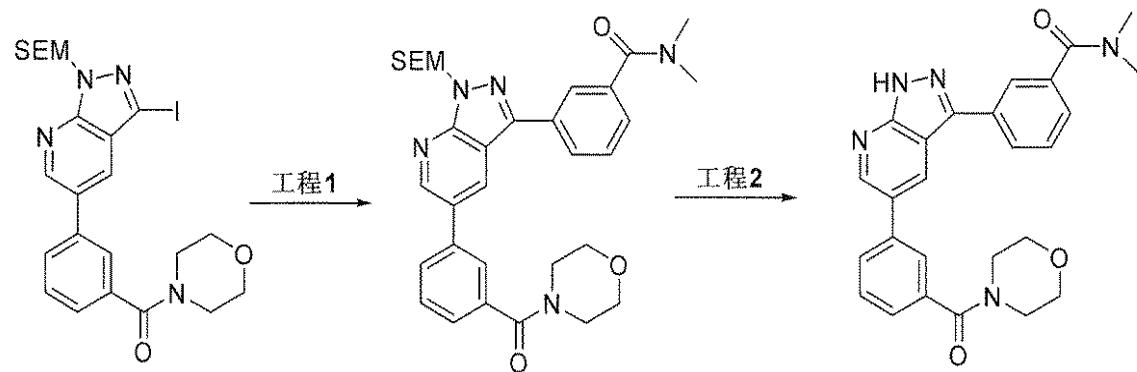
| 構造                                                                                | 構造                                                                                | 構造                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |
| MS: $m/z$ 453 ( $M+H^+$ )                                                         | MS: $m/z$ 420 ( $M+H^+$ )                                                         | MS: $m/z$ 421 ( $M+H^+$ )                                                          |

|                                                                                    |                                                                                    |                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |
| MS: $m/z$ 469 ( $M+H^+$ )                                                          | MS: $m/z$ 438 ( $M+H^+$ )                                                          | MS: $m/z$ 436 ( $M+H^+$ )                                                           |

方法4:

【化17】



【0234】

工程1: N,N-ジメチル-3-(5-(3-(モルホリン-4-カルボニル)フェニル)ピリミジン-2-イド)ヒドラジン

10

20

30

40

50

ル) - 1 - ((2 - (トリメチルシリル)エトキシ)メチル) - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 3 - イル)ベンズアミドの合成

アセトニトリル (1 mL) 中の (3 - (3 - ヨード - 1 - ((2 - (トリメチルシリル)エトキシ)メチル) - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 5 - イル)フェニル) (モルホリノ)メタノン (50 mg, 0.089 mmol)、3 - (ジメチルカルバモイル)フェニルボロン酸 (34 mg, 0.177 mmol)、[1, 1'] - ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム (II) のジクロロメタン錯体 (3.6 mg, 0.0045 mmol) および炭酸ナトリウム (2 M 水溶液、0.134 mL, 0.267 mmol) の混合物を、Personalマイクロ波中で 90 °C にて 30 分間加熱した。得られた混合物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。粗生成物のシリカゲルクロマトグラフィー精製により、N, N - ディメチル - 3 - (5 - (3 - (モルホリン - 4 - カルボニル)フェニル) - 1 - ((2 - (トリメチルシリル)エトキシ)メチル) - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 3 - イル)ベンズアミドを得た。MS: m/z 586.2 [M+H<sup>+</sup>].

#### 【0235】

工程 2 : N, N - ディメチル - 3 - (5 - (3 - (モルホリン - 4 - カルボニル)フェニル) - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 3 - イル)ベンズアミドの合成

N, N - ディメチル - 3 - (5 - (3 - (モルホリン - 4 - カルボニル)フェニル) - 1 - ((2 - (トリメチルシリル)エトキシ)メチル) - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 3 - イル)ベンズアミドの 5 % 過塩素酸含有酢酸 (1 mL) 溶液を、室温にて 1 時間攪拌した。次いで、飽和炭酸水素ナトリウム溶液を、上記の溶液に pH 約 8 までゆっくりと加え、混合物を室温にて 24 時間攪拌した。次いで、酢酸エチルを抽出に用い、有機層を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。質量誘発逆相 HPLC 精製により、N, N - ディメチル - 3 - (5 - (3 - (モルホリン - 4 - カルボニル)フェニル) - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - b] ピリジン - 3 - イル)ベンズアミド (7.4 mg, 2 工程の収率 18 %) を、明黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.99 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.46 (br, 2H), 3.61 (br, 2H), 3.76 (br, 4H), 7.40 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.64 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.98 (m, 2H), 8.62 (s, 1H), 8.85 (br, 1H). MS: m/z 456.1 (M+H<sup>+</sup>).

#### 【0236】

方法 4 により製造されるその他の化合物 :

#### 【0237】

工程 2 での条件は、以下の表の化合物について変動してよい。炭酸水素ナトリウムの代わりに炭酸ナトリウムが必要な場合があり、反応時間は 30 分 ~ 24 時間で変動する。

10

20

30

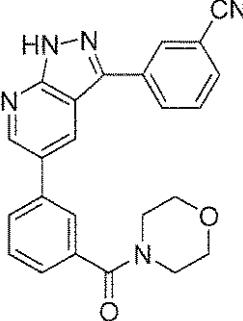
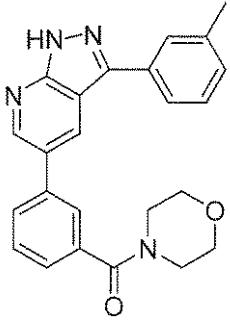
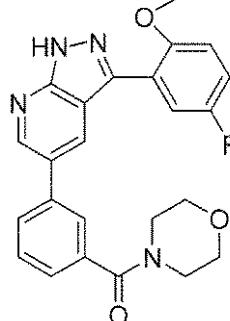
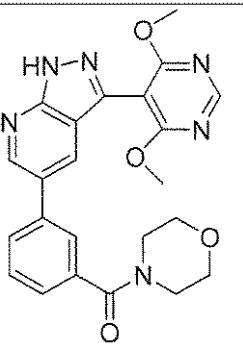
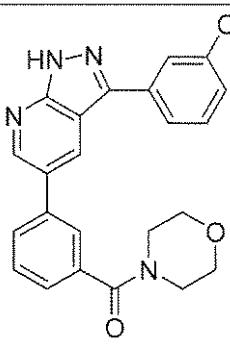
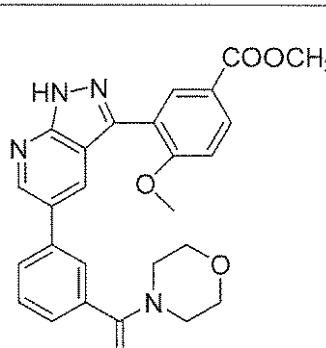
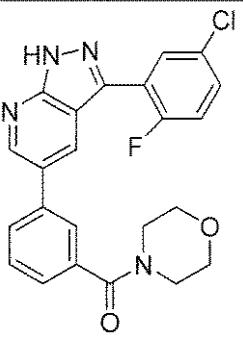
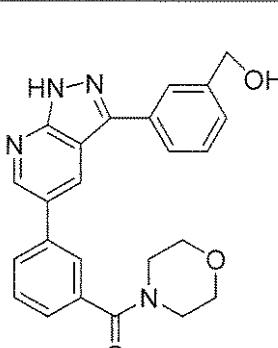
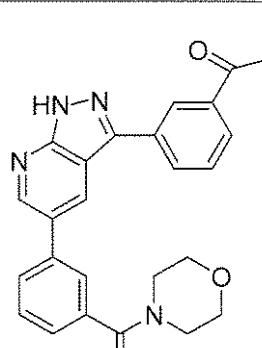
【表4-1】

第4表

| 構造                                                     | 構造                                                     | 構造                                                     |    |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----|
| <p>MS: <math>m/z</math> 405.1 (<math>M+H^+</math>)</p> | <p>MS: <math>m/z</math> 449.0 (<math>M+H^+</math>)</p> | <p>MS: <math>m/z</math> 417.1 (<math>M+H^+</math>)</p> | 10 |
| <p>MS: <math>m/z</math> 403.1 (<math>M+H^+</math>)</p> | <p>MS: <math>m/z</math> 433.1 (<math>M+H^+</math>)</p> | <p>MS: <math>m/z</math> 416 (<math>M+H^+</math>)</p>   | 20 |
| <p>MS: <math>m/z</math> 421.1 (<math>M+H^+</math>)</p> | <p>MS: <math>m/z</math> 419.1 (<math>M+H^+</math>)</p> | <p>MS: <math>m/z</math> 449 (<math>M+H^+</math>)</p>   | 30 |

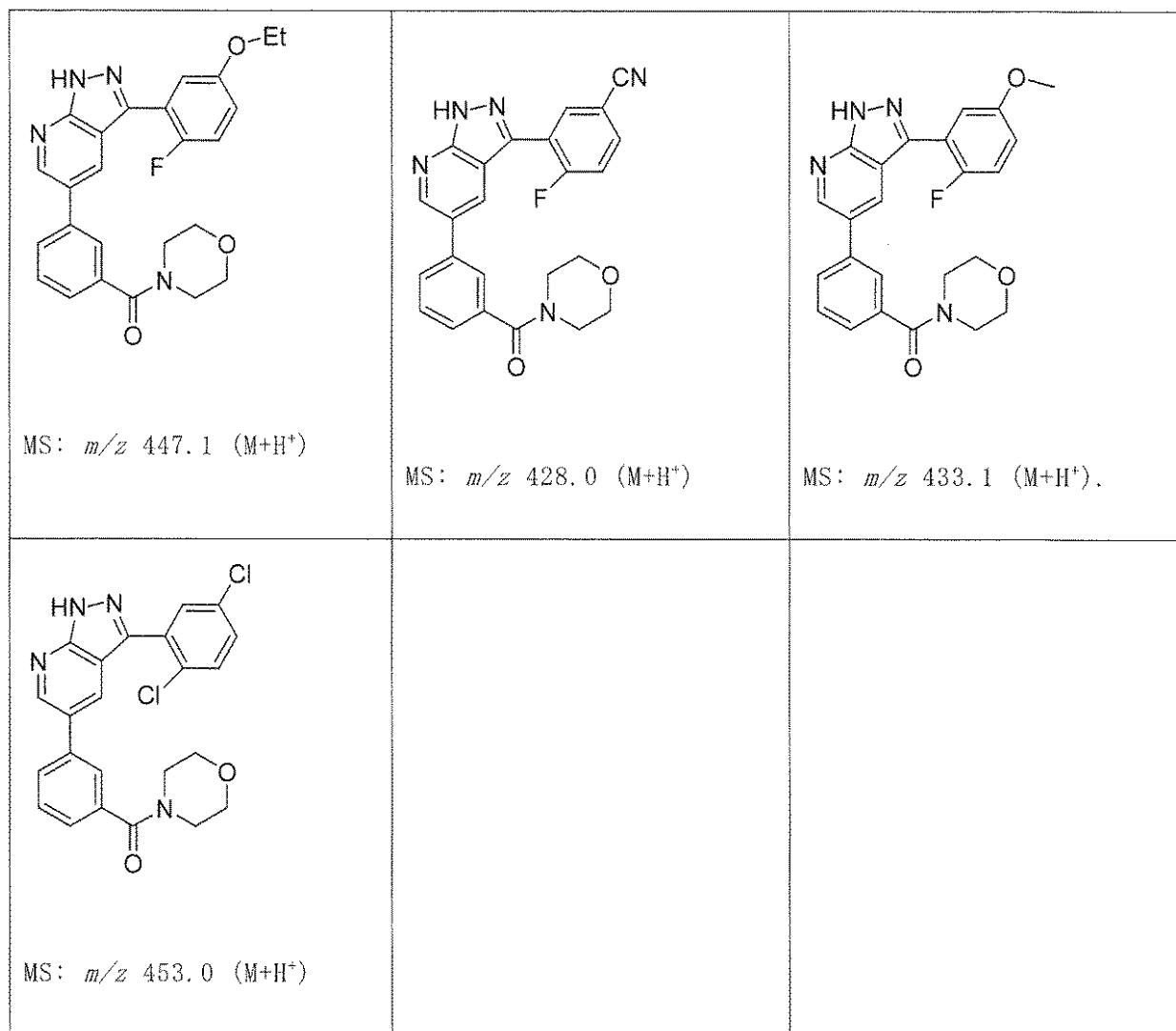
【0238】

【表4-2】

|                                                                                                                                            |                                                                                                                                            |                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>MS: <math>m/z</math> 410.1 (<math>M+H^+</math>)</p>   |  <p>MS: <math>m/z</math> 399.1 (<math>M+H^+</math>)</p>   |  <p>MS: <math>m/z</math> 433 (<math>M+H^+</math>)</p>     |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 447.1 (<math>M+H^+</math>)</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 443.1 (<math>M+H^+</math>)</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 473.1 (<math>M+H^+</math>)</p>  |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 437.0 (<math>M+H^+</math>)</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 415.1 (<math>M+H^+</math>)</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 427.1 (<math>M+H^+</math>)</p> |

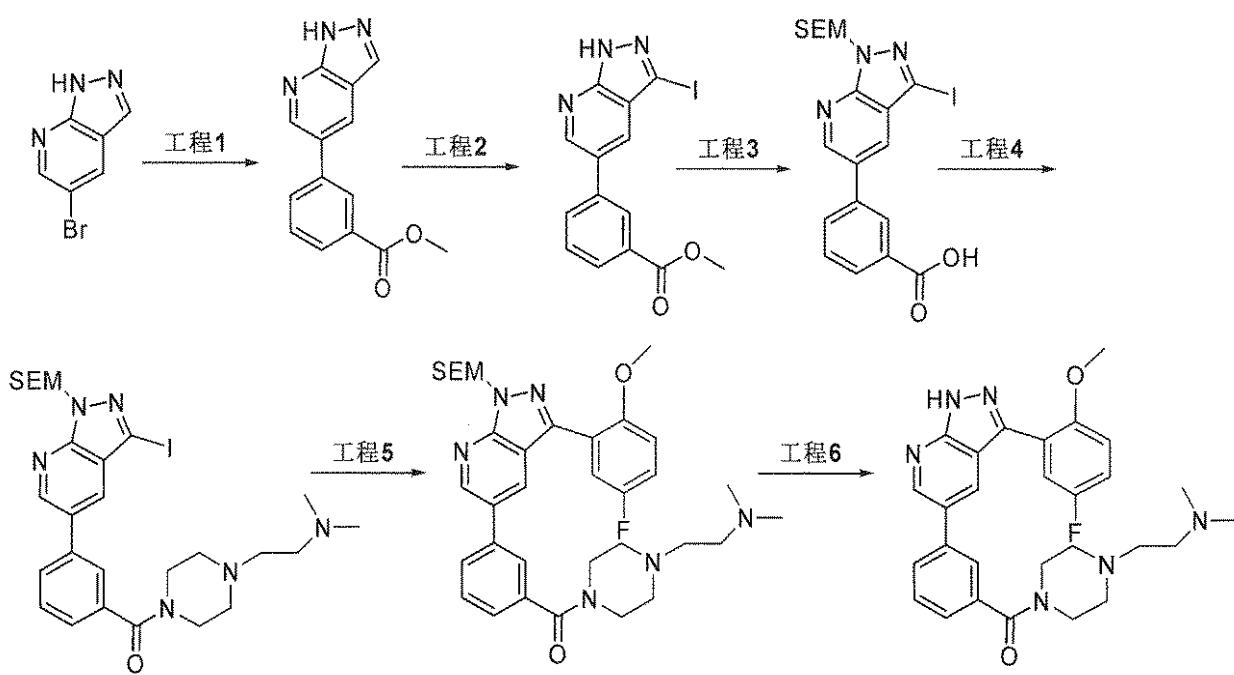
【0239】

【表 4 - 3】



方法 5 :

【化 1 8】



## 【0240】

工程1：メチル3-(1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)ベンゾエートの合成

ジオキサン／水(40mL/10mL)中の5-ブロモ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン(2.00g、10.10mmol)、3-(メトキシカルボニル)フェニルボロン酸(2.20g、12.12mmol)、炭酸水素ナトリウム(2.2g、6.00mmol)、およびテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(0.250g、0.202mmol)の混合物を、110にて15時間攪拌した。次いで、混合物を氷水に注ぎ、酢酸エチル(3×)で抽出した。有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。粗生成物のシリカゲルクロマトグラフィーにより、メチル3-(1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)ベンゾエート(8)(1.65g、収率65%)を得た。MS: m/z 254.0 (M+H<sup>+</sup>)。

10

## 【0241】

工程2：メチル3-(3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)ベンゾエートの合成

メチル3-(1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)ベンゾエート(1.65g、6.52mmol)のジクロロエタン(40mL)溶液に、NIS(1.81g、8.04mmol)を加え、混合物を70にて6時間攪拌した。溶媒を減圧により除去し、粗生成物をシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、メチル3-(3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)ベンゾエート(9)(988mg、収率40%)を得た。MS: m/z 379.9 (M+H<sup>+</sup>)。

20

## 【0242】

工程3：3-(3-ヨード-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)安息香酸の合成

メチル3-(3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)ベンゾエート(988mg、2.61mmol)のDMF溶液に、水素化ナトリウム(鉱物油中に60%、525mg、13.03mmol)を-40にて加えた。混合物を60分間攪拌した後に、SEMCl(920μl、5.22mmol)を加えた。反応物を室温まで温め、メタノールおよび水で反応を停止した。次いで、酢酸を用いてpHを4~5に調整した。次いで、混合物を酢酸エチル(3×)で抽出し、有機層を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。得られた粗生成物のシリカゲルクロマトグラフィー精製により、3-(3-ヨード-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)安息香酸(200mg、収率15%)を得た。MS: m/z 517.9 (M+Na<sup>+</sup>)。

30

## 【0243】

工程4：(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)(3-(3-ヨード-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)メタノンの合成

DMF(2mL)中の粗3-(3-ヨード-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)安息香酸(200mg、0.404mmol)、N,N-ジメチル-2-(ピペラジン-1-イル)エタナミン(76mg、0.485mmol)、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(185mg、0.485mmol)、トリエチルアミン(0.700mL、0.485mmol)の混合物を、Personal Microwave中で90にて1時間攪拌した。次いで、水を混合物に加え、酢酸エチル(3×)で抽出した。有機層を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。粗生成物のシリカゲルクロマトグラフィーにより、(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)(3-(3-ヨード-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)メタノン(110mg、収率43%)を得た。オフホワイ

40

50

トの固体として得た。MS: m/z 635.1 (M+H<sup>+</sup>) .

【 0 2 4 4 】

工程 5 : ( 4 - ( 2 - ( ジメチルアミノ ) エチル ) ピペラジン - 1 - イル ) ( 3 - ( 3 - ( 5 - フルオロ - 2 - メトキシフェニル ) - 1 - ( ( 2 - ( トリメチルシリル ) エトキシ ) メチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) フェニル ) メタノンの合成

アセトニトリル ( 1 mL ) 中の ( 4 - ( 2 - ( ジメチルアミノ ) エチル ) ピペラジン - 1 - イル ) ( 3 - ( 3 - ヨード - 1 - ( ( 2 - ( トリメチルシリル ) エトキシ ) メチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) フェニル ) メタノン ( 50 mg, 0.079 mmol ) 、 5 - フルオロ - 2 - メトキシフェニルボロン酸 ( 20 mg, 0.118 mmol ) 、 [ 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセン ] ジクロロバラジウム ( II ) のジクロロメタン錯体 ( 7.9 mg, 0.10 mmol ) および炭酸ナトリウム ( 2 M 水溶液、 0.119 mL, 0.237 mmol ) を、 Personal マイクロ波中で 90 °C にて 30 分間加熱した。得られた混合物を水で希釈し、 酢酸エチルで抽出した。有機相を合わせ、 硫酸ナトリウムで乾燥し、 ろ過して濃縮乾燥した。粗生成物のシリカゲルクロマトグラフィー精製により、 ( 4 - ( 2 - ( ジメチルアミノ ) エチル ) ピペラジン - 1 - イル ) ( 3 - ( 3 - ( 5 - フルオロ - 2 - メトキシフェニル ) - 1 - ( ( 2 - ( トリメチルシリル ) エトキシ ) メチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) フェニル ) メタノンを、 明黄色の油として得た。MS: m/z 633.3 (M+H<sup>+</sup>) .

【 0 2 4 5 】

工程 6 : ( 4 - ( 2 - ( ジメチルアミノ ) エチル ) ピペラジン - 1 - イル ) ( 3 - ( 3 - ( 5 - フルオロ - 2 - メトキシフェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) フェニル ) メタノンの合成

工程 5 からの ( 4 - ( 2 - ( ジメチルアミノ ) エチル ) ピペラジン - 1 - イル ) ( 3 - ( 3 - ( 5 - フルオロ - 2 - メトキシフェニル ) - 1 - ( ( 2 - ( トリメチルシリル ) エトキシ ) メチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) フェニル ) メタノンの 5 % 過塩素酸含有メタノール ( 1 mL ) 中の溶液を、 室温にて 45 分間攪拌した。次いで、 水酸化ナトリウム溶液 ( 2 M ) を溶液に、 pH 約 8 までゆっくりと加えた。次いで、 酢酸エチルを抽出に用い、 有機相を合わせ、 濃縮乾燥し、 次いでこれをメタノール ( 1 mL ) および炭酸ナトリウム ( 2 M, 1 mL ) に再溶解した。混合物を室温にて 15 時間攪拌した後に、 水で希釈して、 酢酸エチル ( 3 × ) で抽出した。有機相を合わせ、 硫酸ナトリウムで乾燥し、 ろ過して濃縮乾燥した。質量誘発逆相 HPLC 精製により、 ( 4 - ( 2 - ( ジメチルアミノ ) エチル ) ピペラジン - 1 - イル ) ( 3 - ( 3 - ( 5 - フルオロ - 2 - メトキシフェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ) フェニル ) メタノン ( 25.6 mg, 12 からの収率 64 % ) を、 白色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 2.42 (s, 6H), 2.49 (br, 2H), 2.59 (m, 4H), 2.69 (m, 2H), 3.54 (br, 2H), 3.81 (br, 2H), 3.85 (s, 3H), 7.17 (m, 2H), 7.40 (dd, J = 3.0, 9.5 Hz, 1H), 7.44 (d, br, J = 7.5 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.72 (br, 1H), 7.77 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.39 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.80 (d, J = 2.5 Hz, 1H).

MS: m/z 503.2 (M+H<sup>+</sup>) .

方法 6 :

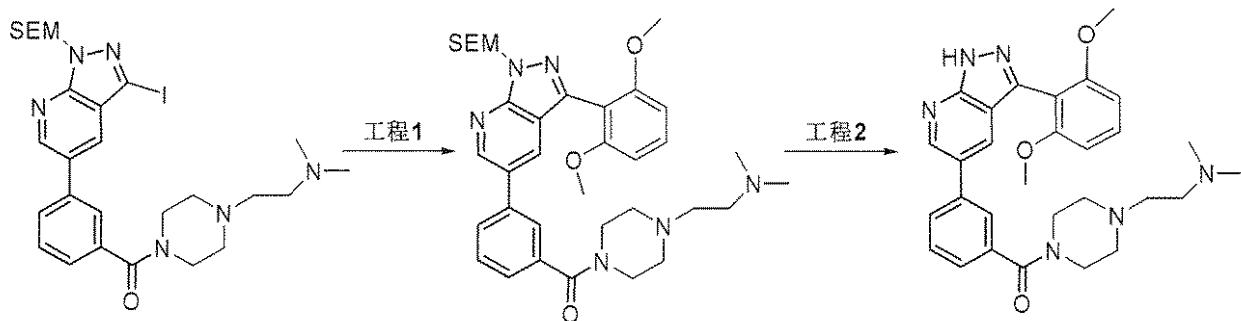
10

20

30

40

## 【化19】



## 【0246】

工程1：(3-(3-(2,6-ジメトキシフェニル)-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)メタノンの合成  
アセトニトリル(1mL)中の(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)(3-(3-ヨード-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)メタノン(50mg、0.079mmol)、2,6-ジメトキシフェニルボロン酸(22mg、0.118mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(9.1mg、0.10mmol)および炭酸ナトリウム(2M水溶液、0.119mL、0.237mmol)の混合物を、Personalマイクロ波中で120にて30分間加熱した。得られた混合物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。粗生成物のシリカゲルクロマトグラフィー精製により、(3-(3-(2,6-ジメトキシフェニル)-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)メタノンを透明な油として得た。  
MS: m/z 645.3 (M+H<sup>+</sup>)。

20

## 【0247】

工程2：(3-(3-(2,6-ジメトキシフェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)メタノンの合成  
(3-(3-(2,6-ジメトキシフェニル)-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)メタノンの5%過塩素酸含有酢酸(1mL)溶液を、室温にて45分間攪拌した。次いで、水酸化ナトリウム溶液(2M)を、pH約8までゆっくりと溶液に加えた。次いで、酢酸エチルを抽出に用い、有機相を合わせ、濃縮乾燥し、次いでこれをメタノール(1mL)および炭酸ナトリウム(2M、1mL)中に再溶解した。混合物を室温にて15時間攪拌した後に、水で希釈し、酢酸エチル(3×)で抽出した。有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮乾燥した。質量誘発逆相HPLC精製により、(3-(3-(2,6-ジメトキシフェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル)フェニル)(4-(2-(ジメチルアミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)メタノン(22.70mg、2工程の収率56%)を白色固体として得た。  
MS: m/z 515.2 (M+H<sup>+</sup>)。

30

40

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 2.48 (br, 2H), 2.52 (s, 6H), 2.60 (m, 4H), 2.69 (m, 2H), 3.51 (br, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.80 (br, 2H), 6.80 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.43 (m, 2H), 7.56 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 2 Hz, 1H), 8.81 (d, J = 2 Hz, 1H).  
MS: m/z 515.2 (M+H<sup>+</sup>)。

40

## 【0248】

方法6により製造されるその他の化合物：

## 【0249】

50

工程2での条件は、以下の表の化合物について変動してよい。炭酸水素ナトリウムの代わりに炭酸ナトリウムが必要な場合があり、反応時間は30分～24時間で変動する。

【表5】

| 第5表                             |                                 |                                 |
|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 構造                              | 構造                              | 構造                              |
| <br>MS: $m/z$ 449.1 ( $M+H^+$ ) | <br>MS: $m/z$ 433.1 ( $M+H^+$ ) | <br>MS: $m/z$ 413.1 ( $M+H^+$ ) |
| <br>MS: $m/z$ 447.1 ( $M+H^+$ ) | <br>MS: $m/z$ 453.0 ( $M+H^+$ ) |                                 |

\* 工程1 鈴木カップリング条件: 150°C, 1h,  $\mu$ w。

\*\* 工程1 鈴木カップリング条件: 120°C, 1h,  $\mu$ w。

\*\*\* 工程1 鈴木カップリング条件:  $Pd_2(dba)_3$ ,  $K_3PO_4$ およびジシクロヘキシリルフェニルホスフィン,  $CH_3CN$ , 150°C, 4h,  $\mu$ w。

方法7:

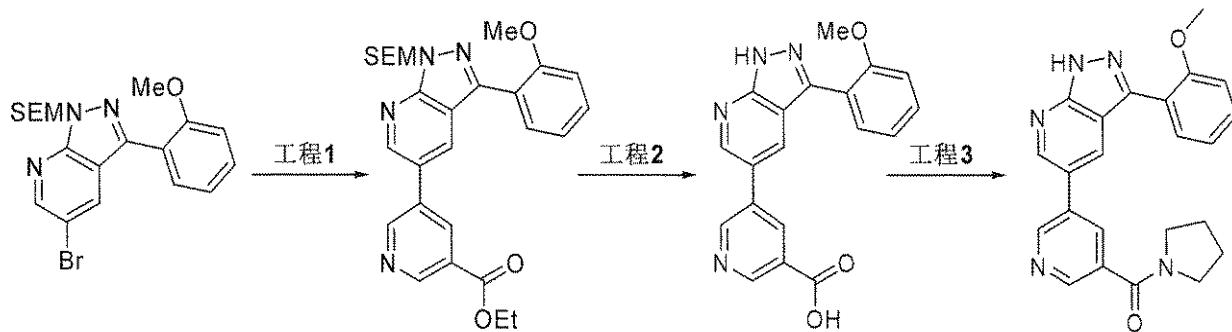
10

20

30

40

## 【化20】



## 【0250】

工程1：5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチン酸エチルエステルの合成

3-エトキシカルボニル-5-ピリジルボロン酸(529mg、1.91mmol)、1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム(II)-ジクロロドジクロロメタン付加物(66mg、0.09mmol)および5-ブロモ-3-ヨード-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン(780mg、1.80mmol)アセトニトリル(5mL)の混合物および2M炭酸ナトリウム水溶液(5mL)を加え、混合物に、Personal Chemistry Optimizer中で90にて30分間放射線照射した。粗反応混合物を酢酸エチルおよび水に分配した。水相を酢酸エチルで3回抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。粗生成物は、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチン酸エチルエステル(552mg、収率61%)を得た。

黄色の油として得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 9.24(d, 1H), 9.12(d, 1H), 9.03(d, 1H), 8.60(t, 1H), 8.56(d, 1H), 7.66(dd, 1H), 7.51(ddd, 1H), 7.25(dd, 1H), 7.12(dt, 1H), 5.88(s, 2H), 4.40(q, 2H), 3.87(s, 3H), 3.71(t, 2H), 1.37(t, 3H), 0.87(t, 2H), -0.073(t, 9H). MS: m/z 505 [MH<sup>+</sup>].

## 【0251】

工程2：5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチン酸の合成

5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチン酸エチルエステル(494mg、0.98mmol)のTHF(20mL)溶液に、THF中のテトラ-n-ブチルアンモニウムフルオリド(1M、10mL、10mmol)および4の活性モレキュラーシーブを加えた。得られた混合物を70にて7時間攪拌した。シーブをろ過し、酢酸エチルで洗浄し、得られたろ液を濃縮した。残渣を、ジクロロメタンおよび水に分配した。水相をジクロロメタンで3回抽出し、有機相を合わせて硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮することにより、5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチン酸(654mg、純度62%、405mg、収率119%)を得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 13.98(s, 1H), 8.99(d, 1H), 8.95(s, 1H), 8.88(d, 1H), 8.43(t, 1H), 8.40(d, 1H), 7.67(dd, 1H), 7.47(ddd, 1H), 7.23(d, 1H), 7.10(dt, 1H), 3.86(s, 3H). MS: m/z 345 (96%) [M-H<sup>-</sup>].

## 【0252】

工程3：{5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ピリジン-3-イル}-ピロリジン-1-イル-メタノンの合成

10

20

30

40

50

(5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチン酸(350mg、純度62%、0.63mmol)を、無水DMF(20mL)に50~60にて溶解し、PS-HOBt樹脂(Argonaut Technicalnologies)(0.9mmol·g<sup>-1</sup>ロード、2.20g、1.98mmol)、DMAP(32mg、0.26mmol)およびEDCI(375mg、1.95mmol)を加えたとき、溶液を室温まで冷却した。混合物を室温にて16時間振とうした。樹脂をろ過し、DMFで6回、続いてエーテルで3回洗浄して乾燥した。樹脂および(5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ニコチネート)(460mg、理論上のロード105μmol)を、ピロリジン(110μl、1.3mmol)含有無水DMF(3mL)に懸濁し、22時間振とうした。樹脂をろ過し、ジクロロメタン、エーテルおよびDMFで洗浄する。ろ過物および洗浄物を合わせて濃縮した。得られた残渣を、0.1%ギ酸含有水中のアセトニトリルの勾配を用いる、質量誘発逆相HPLCで精製して、{5-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-ピリジン-3-イル}・ピロリジン-1-イル-メタノン(2.4mg、6μmol、収率6%)を、明茶色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, d<sub>6</sub>-MeOH) 8.98(d, 1H), 8.87(d, 1H), 8.74(d, 1H), 8.50(d, 1H), 8.31(t, 1H), 7.67(dd, 1H), 7.48(ddd, 1H), 7.21(d, 1H), 7.11(dt, 1H), 3.89(s, 3H), 3.65(t, 2H), 3.58(t, 2H), 2.02(m, 2H), 1.96(m, 2H). MS: m/z 400 [M<sup>+</sup>].

## 【0253】

方法7により製造されるその他の化合物：

10

20

【表 6 - 1】

第6表

| 構造                                   | 構造                                   | 構造                                   |
|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <br>MS: $m/z$ 417 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: $m/z$ 402 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: $m/z$ 443 [MH <sup>+</sup> ] |
| <br>MS: $m/z$ 386 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: $m/z$ 374 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: $m/z$ 414 [MH <sup>+</sup> ] |
| <br>MS: $m/z$ 486 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: $m/z$ 473 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: $m/z$ 526 [MH <sup>+</sup> ] |

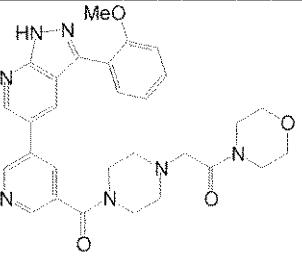
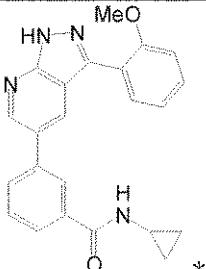
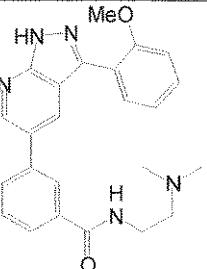
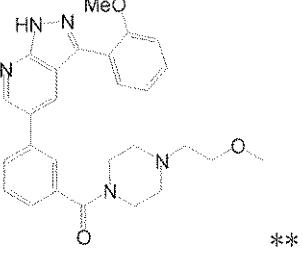
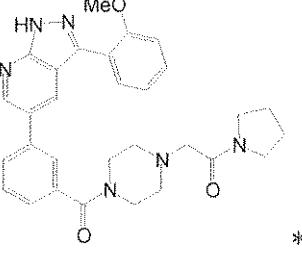
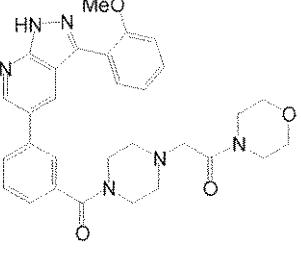
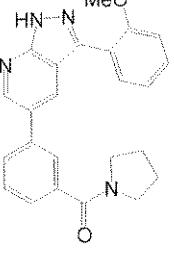
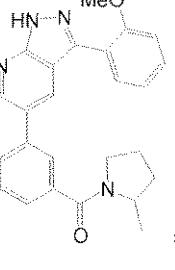
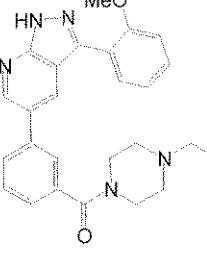
10

20

30

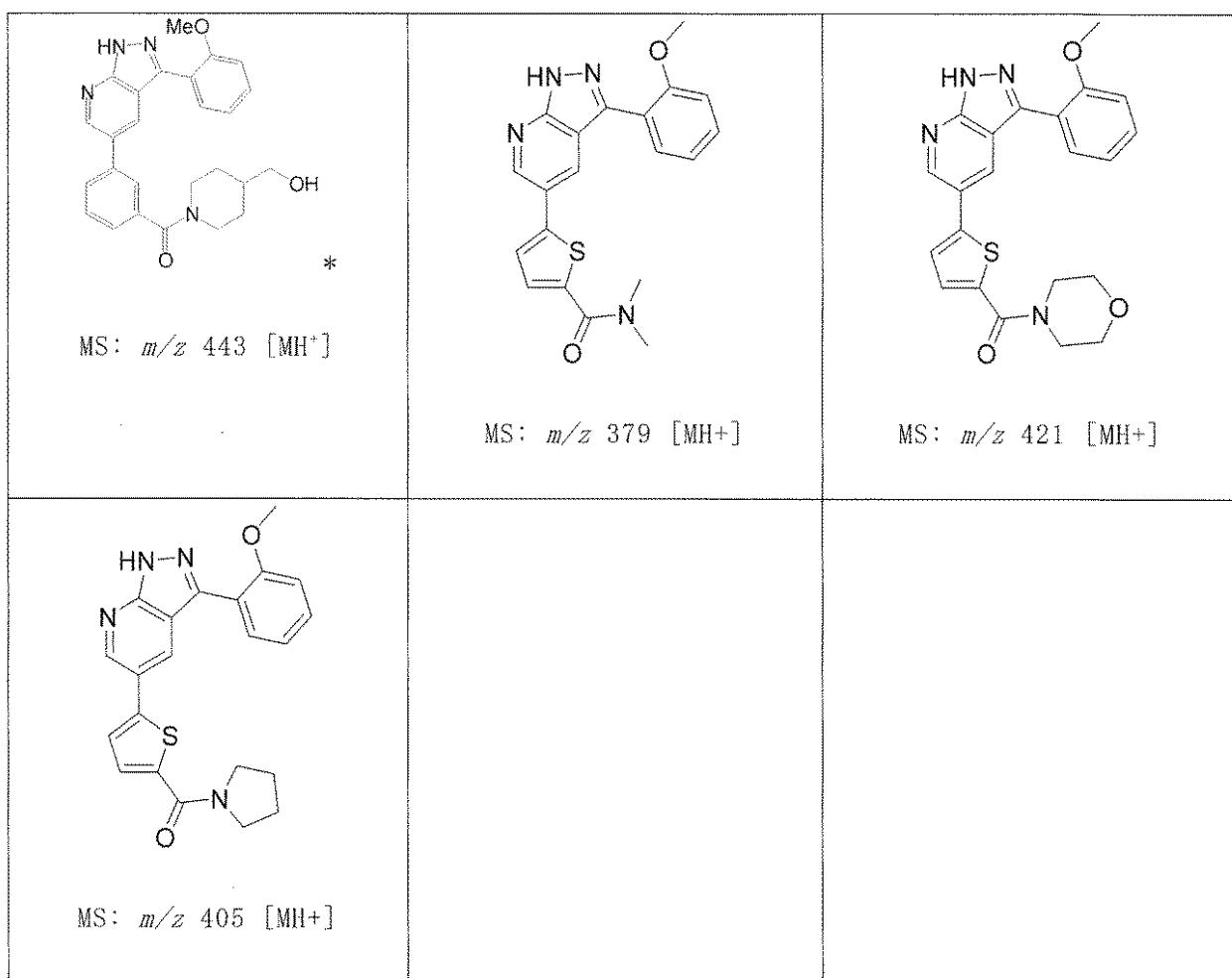
【0254】

【表 6 - 2】

|                                                                                     |                                                                                     |                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |    |
| MS: $m/z$ 542 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 385 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 416 [MH <sup>+</sup> ]                                                      |
|    |    |    |
| MS: $m/z$ 472 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 525 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 541 [MH <sup>+</sup> ]                                                      |
|  |  |  |
| MS: $m/z$ 399 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 413 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 442 [MH <sup>+</sup> ]                                                      |

【0 2 5 5】

【表 6 - 3】

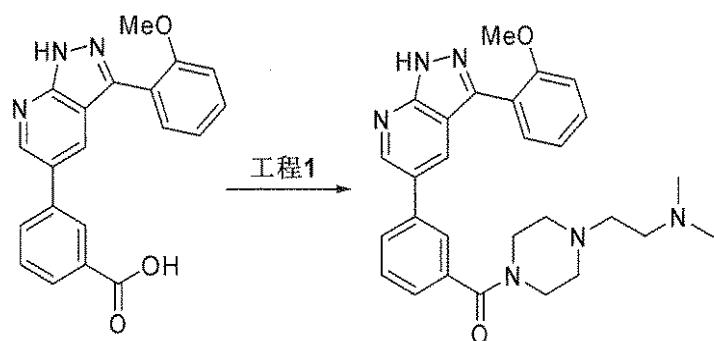


\* 3-[3-(2-メトキシフェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]安息香酸から出発して合成し、ヘキサン中の 20%v/v メタノール／酢酸エチルの勾配を用いたシリカゲルフラッショクロマトグラフィーにより精製。

\*\* 3-[3-(2-メトキシフェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]安息香酸から出発して合成。

## 方法 8 :

【化 2 1】



【0 2 5 6】

工程 1 : [4 - (2 - ジメチルアミノ - エチル) - ピペラジン - 1 - イル] - {3 - [3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル] - フェニル} - メタノンの合成

10

20

30

40

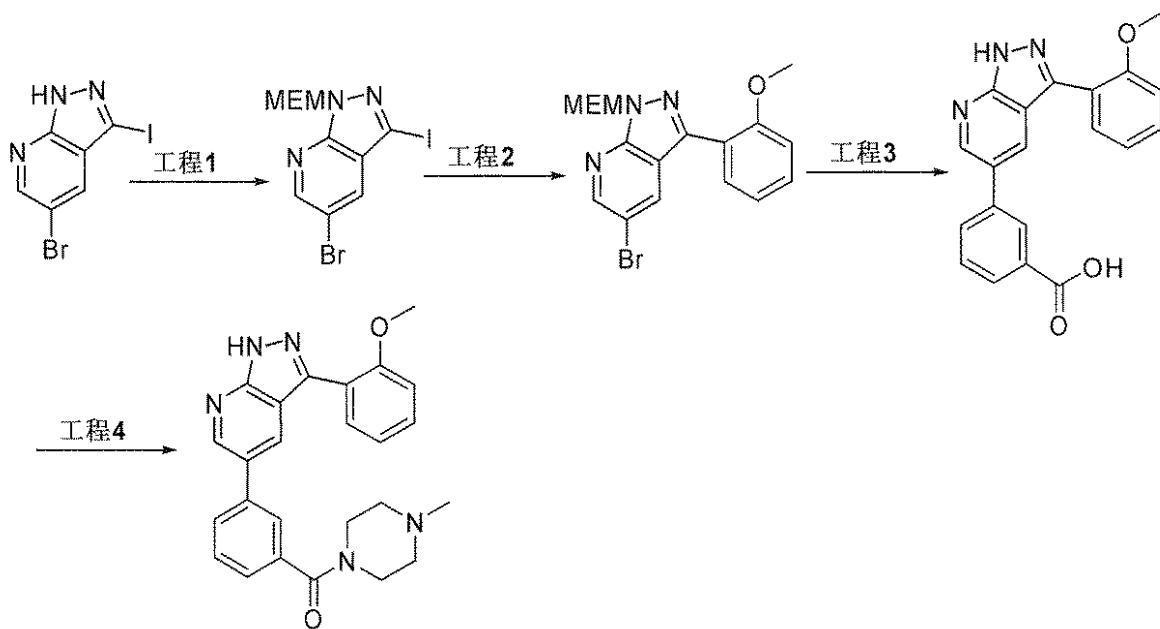
50

3-[3-[2-メトキシ-フェニル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-安息香酸(338mg、0.79mmol)およびO-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(300mg、0.79mmol)を、20mlのアセトニトリルと10mlのメタノールの混液に溶解した。131mg(0.83mmol)の1-(2-ジメチルアミノエチル)-ピペラジンを加え、混合物を周囲温度にて6時間攪拌した。得られた混合物を、ジクロロメタンと2M炭酸ナトリウム水溶液に分配した。相を分離し、水層をジクロロメタンで3回抽出した。合わせた有機層を合わせ、臭化ナトリウムの飽和水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥して蒸発した。粗物質を、酢酸エチルと、35重量%アンモニア水溶液を2容量%含有する酢酸エチル、ジクロロメタンおよびメタノールの4:4:1の混合溶媒の段階勾配を用いるシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、[4-(2-ジメチルアミノ-エチル)-ピペラジン-1-イル]-{3-[2-メトキシ-フェニル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル}-フェニル}-メタノン(160mg、42%)を、油として得た。<sup>1</sup>H-NMR( $d_6$ -CDCl<sub>3</sub>)(: 8.87(d)[1H], 8.36(d)[1H], 7.75(dd)[1H], 7.68(t)[1H], 7.67(m)[1H], 7.53(m)[1H], 7.46(mt)[1H], 7.42(md)[1H], 7.13(dt)[1H], 7.10(d)[1H], 3.89(s)[3H], 3.81-3.86(m)[2H], 3.48-3.55(m)[2H], 2.58-2.64(m)[2H], 2.56(m)[2H], 2.50(m)[2H], 2.44-2.52(m)[2H]. MS: m/z 485(M+H<sup>+</sup>).

10

方法9:  
【化22】

20



30

## 【0257】

工程1: 5-ブロモ-3-ヨード-1-(2-メトキシ-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジンの合成

40

5-ブロモ-3-ヨード-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン(470mg、1.45mmol)、鉱物油中の60%の水素化ナトリウム(104mg、4.35mmol)およびヨウ化テトラ-n-ブチルアンモニウム(134mg、0.36mmol)のDMF(10mL)溶液に、塩化メトキシエトキシメチル(248μl、2.18mmol)を室温にて加え、混合物を同温度で4時間攪拌し、続いてメタノールの添加により反応停止した。次いで、混合物をエーテルと塩水に分配し、有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。粗生成物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、5-ブロモ-3-ヨード-1-(2-メトキシ-エトキシメチル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン(254mg、0.69mmol、収率74%)を、無色の固体として得た(位置異性体5-ブロモ-3-ヨー

50

ド - 2 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンとの 1 : 1 混合物 ) 。  $^1\text{H-NMR}$  ( 500 MHz,  $d_6$ -DMSO ) isomer A ( 50% ) 8.75 ( d, 1H ), 8.29 ( d, 1H ), 5.78 ( s, 1H ), 3.61-3.63 ( m, 2H ), 3.37-3.39 ( m, 2H ), 3.17 ( s, 3H ); isomer B ( 50% ) 8.74 ( d, 1H ), 8.28 ( d, 1H ), 5.77 ( s, 1H ), 3.61-3.63 ( m, 2H ), 3.37-3.39 ( m, 2H ), 3.16 ( s, 3H ).

#### 【 0 2 5 8 】

工程 2 : 5 - ブロモ - 1 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンの合成

密閉バイアル中のアセトニトリル ( 3 mL ) 中の 5 - ブロモ - 3 - ヨード - 1 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 180 mg, 0 . 44 mmol ) 、 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 18 mg, 25  $\mu\text{mol}$  ) および 2 - メトキシフェニルボロン酸 ( 82 mg, 0 . 51 mmol ) と 2 M 炭酸ナトリウム水溶液 ( 3 mL ) の混合物を、 60 °C にて 2 時間攪拌した。粗混合物を酢酸エチルと塩水に分配した。水層を酢酸エチル ( 3 × ) で抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、粗物質を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、 5 - ブロモ - 1 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 80 mg, 0 . 2 mmol, 収率 46 % ) を、黄色の油として得た。  $^1\text{H-NMR}$  ( 500 MHz,  $d_6$ -DMSO ) 8.70 ( d, 1H ), 8.40 ( d, 1H ), 7.62 ( dd, 1H ), 7.49 ( ddd, 1H ), 7.22 ( d, 1H ), 7.09 ( dt, 1H ), 5.85 ( s, 2H ), 3.85 ( s, 3H ), 3.68-3.70 ( m, 2H ), 3.39-3.41 ( m, 2H ), 3.18 ( s, 3H ). MS: m/z 316, 318 [MH $^+$ ].

#### 【 0 2 5 9 】

工程 3 : 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸の合成

アセトニトリル ( 4 mL ) 中の 5 - ブロモ - 3 - ヨード - 1 / 2 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 560 mg, 1 . 36 mmol ) 、位置異性体混合物 ) 、 2 - メトキシフェニルボロン酸 ( 217 mg, 1 . 4 mmol ) および 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 50 mg, 68  $\mu\text{mol}$  ) と、 2 M 炭酸ナトリウム水溶液 ( 2 mL ) の混合物を、密閉バイアル中で 70 °C にて 105 分間攪拌した。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配した。水相を酢酸エチル ( 3 × ) で抽出し、合わせた有機相を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、濃縮して、 5 - ブロモ - 1 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 780 mg, 純度 75 %, 1 . 12 mmol, 収率 82 % ) を、濃い色の粗油として得た。  $^1\text{H-NMR}$  ( 500 MHz,  $d_6$ -DMSO ) 8.70 ( d, 1H ), 8.40 ( d, 1H ), 7.62 ( dd, 1H ), 7.49 ( ddd, 1H ), 7.22 ( d, 1H ), 7.09 ( dt, 1H ), 5.85 ( s, 2H ), 3.85 ( s, 3H ), 3.68-3.70 ( m, 2H ), 3.39-3.41 ( m, 2H ), 3.18 ( s, 3H ). MS: m/z 316, 318 [MH $^+$ ].

#### 【 0 2 6 0 】

アセトニトリル ( 5 mL ) 中の上記の粗油 ( 1 . 12 mmol ) 、 3 - カルボキシフェニルボロン酸 ( 259 mg, 1 . 56 mmol ) および 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物 ( 54 mg, 75  $\mu\text{mol}$  ) と、 2 M 炭酸ナトリウム水溶液 ( 5 mL ) の混合物に、 Personal Chemistry Optimizer 中で 165 °C にて 20 分間放射線照射した。粗生成物をアセトニトリルで希釈し、有機相を分離して濃縮した。残渣を、水酸化カリウム水溶液 ( 10 % w/v, 15 mL ) に溶解し、酢酸エチル ( 3 × ) で洗浄し、セライトを通してろ過した。次いで、ろ液を濃塩酸水溶液の添加により pH 3 ~ 4 まで酸性化し、沈殿物を回収した。次いで、ジクロロメタンを沈殿物に加え、不溶性の物質をろ過し、ろ液を濃縮して 3 - [ 1 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸 ( 369 mg, 50 % ) を得た。

0.85 mmol、収率57%）を、濃い色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.95 (d, 1H), 8.42 (d, 1H), 8.26 (t, 1H), 8.02 (dt, 1H), 7.98 (dt, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.51 (ddd, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.12 (dt, 1H), 5.91 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.73-3.75 (m, 2H), 3.43-3.45 (m, 2H), 3.21 (s, 3H). MS: m/z 432 [M-H<sup>-</sup>].

#### 【0261】

得られた固体をジクロロメタンに溶解し、PS-チオフェノール(Argonaut Technologies) (1.4 mmol·g<sup>-1</sup>、1.2 g、1.7 mmol) およびトリフルオロ酢酸(6 mL)を加えた。得られた混合物を、50にて8.5時間静かに攪拌した。樹脂をろ過し、ジクロロメタンおよびエーテルで洗浄した。合わせたろ液を濃縮し、炭酸水素ナトリウムの飽和溶液とジクロロメタンに分配した。水相をジクロロメタンで3回洗浄し、次いで、濃塩酸の添加によりpH3~4まで酸性化した。得られた水相を、酢酸エチルで3回抽出した。合わせた酢酸エチル相を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、濃縮して3-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-安息香酸(117 mg、0.34 mmol、収率40%、3工程で25%)を、黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.87 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.24 (t, 1H), 8.02 (dt, 1H), 7.98 (dt, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.86 (s, 3H). MS: m/z 346 [MH<sup>+</sup>].

#### 【0262】

工程4: {3-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-(4-メチル-ピペラジン-1-イル)-メタノンの合成

3-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-安息香酸(25 mg、72 μmol)の無水DMF(1.5 mL)溶液に、PS-DCC樹脂(Argonaut Technologies) (180 mg、0.22 mmol、1.21 mmol·g<sup>-1</sup>)およびN-メチルピペラジン(9.6 μl、86 μmol)を加えた。得られた混合物を、60にて16時間攪拌した。樹脂をろ過し、ジクロロメタンおよびエーテルで洗浄し、ろ液を濃縮した。残渣をジクロロメタンに溶解し、PS-トリスアミン樹脂(Argonaut Technologies) (20 mg)で処理した。樹脂をろ過により再び除去し、ジクロロメタンおよびエーテルで洗浄した。ろ液を濃縮して、得られた粗生成物を、0.1%ギ酸を含有する水中のアセトニトリルの勾配を用いる質量誘発逆相HPLCにより精製して、{3-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-フェニル}-(4-メチル-ピペラジン-1-イル)-メタノン(1.7 mg、4.0 μmol、収率6%)を得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.87 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.24 (t, 1H), 8.02 (dt, 1H), 7.98 (dt, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.86 (s, 3H). MS: m/z 346 [MH<sup>+</sup>].

#### 【0263】

方法9により製造されるその他の化合物：

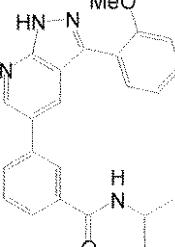
10

20

30

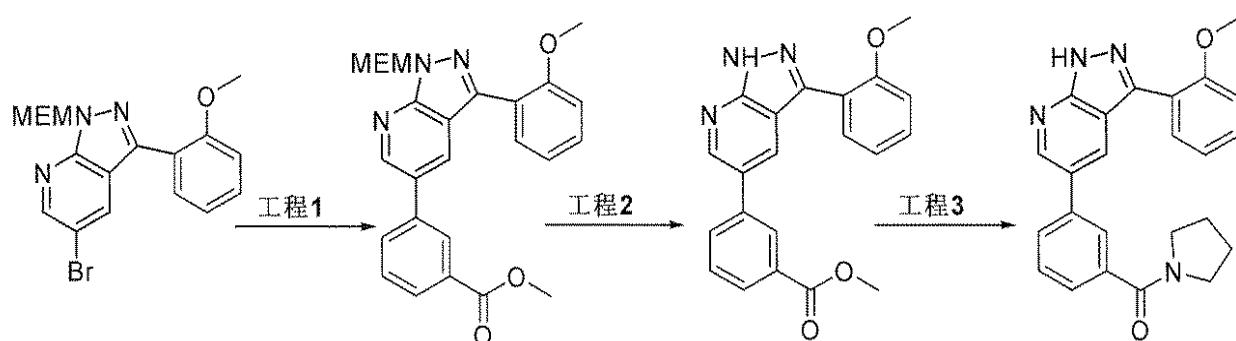
40

【表7】

| 第7表                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 構造                                                                                |    |
|  | 10 |
| MS: $m/z$ 387 [MH <sup>+</sup> ]                                                  |    |

方法10:

## 【化23】



## 【0264】

工程1: 3-[1-(2-メトキシ-エトキシメチル)-3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-安息香酸メチルエステルの合成

アセトニトリル(7mL)中の5-ブロモ-1-(2-メトキシ-エトキシメチル)-3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン(535mg、1.36mmol)、3-メトキシカルボニルフェニルボロン酸(258mg、1.43mmol)および1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム(I)(I)-ジクロリドジクロロメタン付加物(50mg、68μmol)と、2M炭酸ナトリウム水溶液(7mL)の混合物に、Personal Chemistry Optimizer中で90にて10分間放射線照射した。得られた混合物を、酢酸エチルと水に分配した。水相を酢酸エチルで2回抽出し、合わせた有機相を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。粗物質を、酢酸エチルおよびヘキサンの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、3-[1-(2-メトキシ-エトキシメチル)-3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-安息香酸メチルエステル(612mg、1.36mmol、収率100%)を得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.96(d, 1H), 8.43(d, 1H), 8.28(t, 1H), 8.07(td, 1H), 7.99(td, 1H), 7.67-7.69(m, 2H), 7.51(ddd, 1H), 7.25(d, 1H), 7.12(dt, 1H), 5.92(s, 2H), 3.90(s, 3H), 3.87(s, 3H), 3.73-3.75(m, 2H), 3.43-3.45(m, 2H), 3.21(s, 3H). MS: m/z 372 [MH<sup>+</sup>].

## 【0265】

10

20

30

40

50

工程 2 : 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸メチルエステルの合成

3 - [ 1 - ( 2 - メトキシ - エトキシメチル ) - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸メチルエステル ( 573 mg, 1.28 mmol ) のジクロロメタン ( 25 mL ) 溶液を、0 ~ 5 ℃ に冷却し、三フッ化ホウ素エーテル錯塩 ( 0.8 mL, 6.4 mmol ) を加えた。混合物を、室温までゆっくりと温め、16時間攪拌した。形成された黄色の沈殿物をろ過して、3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸メチルエステル ( 110 mg, 0.29 mmol, 収率 23% )を得た。<sup>1</sup>H-NMR ( 500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO ) 8.88 ( d, 1H ), 8.39 ( d, 1H ), 8.27 ( t, 1H ), 8.06 ( td, 1H ), 7.99 ( td, 1H ), 7.65-7.68 ( m, 2H ), 7.48 ( ddd, 1H ), 7.23 ( d, 1H ), 7.11 ( dt, 1H ), 3.90 ( s, 3H ), 3.87 ( s, 3H ). MS: m/z 360 [MH<sup>+</sup>]. 10

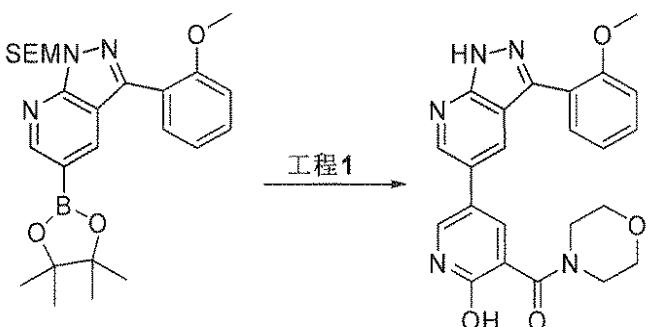
#### 【 0266 】

工程 3 : { 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - ピロリジン - 1 - イル - メタノンの合成

3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸メチルエステル ( 30 mg, 83 μmol ) をピロリジン ( 0.35 mL, 4.15 mmol ) に溶解し、混合物を 90 ℃ にて 16 時間攪拌した。次いで、混合物を濃縮し、粗生成物を、酢酸エチル中の 10 容量 % のメタノールの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、{ 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - フェニル } - ピロリジン - 1 - イル - メタノンを、黄色の固体として得た ( 22 mg, 55 μmol, 収率 67% )。<sup>1</sup>H-NMR ( 500 MHz, d<sub>6</sub>-MeOH ) 8.82 ( d, 1H ), 8.39 ( d, 1H ), 7.83 ( t, 1H ), 7.79 ( td, 1H ), 7.66 ( dd, 1H ), 7.55-7.59 ( m, 2H ), 7.48 ( ddd, 1H ), 7.20 ( d, 1H ), 7.11 ( dt, 1H ), 3.88 ( s, 3H ), 3.63 ( t, 2H ), 3.52 ( t, 2H ), 2.02 ( m, 2H ), 1.92 ( m, 2H ). MS: m/z 399 [MH<sup>+</sup>]. 20

#### 方法 1 1 :

#### 【 化 24 】



#### 【 0267 】

工程 1 : { 2 - ヒドロキシ - 5 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - ピリジン - 3 - イル } - モルホリン - 4 - イル - メタノンの合成

122 mg ( 0.25 mmol ) の 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - [ 1 , 3 , 2 ] ジオキサボロラン - 2 - イル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン、150 mg ( 0.52 mmol ) の ( 5 - プロモ - 2 - フルオロ - ピリジン - 3 - イル ) - モルホリン - 4 - イル - メタノン、および 15 mg ( 18 μmol ) の 1 , 1 ' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセンパラジウム ( II ) - ジクロリドジクロロメタン付加物を、スミスバイアルに入れた。2 mL のアセトニトリル、1 mL の水および 1 mL の炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液を加え、得られた混合物に、Personal Chemist 30

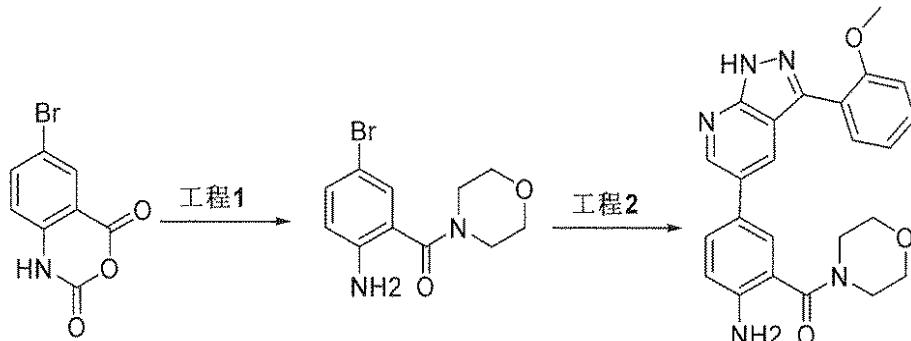
ry Optimizer 中で 100 にて 30 分間放射線照射した。得られた残渣を、ジクロロメタンと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。相を分離し、水相をジクロロメタンで 2 回抽出した。有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、粗生成物を、15 容量% のメタノールおよびヘキサンを含有する酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーで精製して、137 mg のペジュの油を得た。

## 【0268】

油を、24 mL のジメトキシエタンおよび濃塩酸水溶液の 1 : 1 混液に溶解した。混合物を 55 にて 1 時間加熱し、次いで、炭酸水素ナトリウムの添加により中和した。得られた混合物を、酢酸エチルと水に分配し、水相を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機相を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発した。粗物質を、0.1% ギ酸を含有する水中のアセトニトリルの勾配を用いる質量誘発逆相 HPLC により精製して、12.3 mg (28 μmol、収率 11%) の {2 - ヒドロキシ - 5 - [3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 1H - ピラゾロ [3,4-b] ピリジン - 5 - イル] - ピリジン - 3 - イル} - モルホリン - 4 - イル - メタノンを、凍結乾燥してオフホワイトの固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 13.79 (s, 1H), 12.25 (s, 1H), 8.77 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.46 (ddd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.09 (ddd, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.7-3.2 (m, 8H). MS: m/z 432 [MH<sup>+</sup>].

方法 1 :

## 【化 25】



## 【0269】

工程 1：(2 - アミノ - 5 - プロモ - フェニル) - モルホリン - 4 - イル - メタノンの合成

8 mL のねじ蓋つきバイアルに、5 - プロモイサトイン酸無水物 (0.200 g、0.826 mmol)、無水 THF (5 mL) およびモルホリン (101 mg、1.16 mmol) を加えた。バイアルを密閉し、60 のヒートブロックに 1.5 時間入れた後、これを真空濃縮した。粗生成物を、Et<sub>2</sub>O / ヘキサンで粉碎して、111 mg (94%) の (2 - アミノ - 5 - プロモ - フェニル) - モルホリン - 4 - イル - メタノンを、黄褐色の固体として得た。m/z 285/287 [MH<sup>+</sup>].

## 【0270】

工程 2：{2 - アミノ - 5 - [3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 1H - ピラゾロ [3,4-b] ピリジン - 5 - イル] - フェニル} - モルホリン - 4 - イル - メタノンの合成  
5 mL の Personal Chemistry マイクロ波反応バイアルに、3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 5 - (4,4,5,5 - テトラメチル - [1,3,2] ジオキサボロラン - 2 - イル) - 1 - (2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル) - 1H - ピロロ [2,3-b] ピリジン (0.0498 g、0.103 mmol)、(2 - アミノ - 5 - プロモ - フェニル) - モルホリン - 4 - イル - メタノン (0.0378 g、0.132 mmol)、1,1' - ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセンパラジウム (II) - ジクロリドジクロロメタン付加物 (13.4 mg、0.017 mmol)、アセトニトリル (1 mL) および飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (1 mL) を加えた。バイアルを密閉し、

10

20

30

40

50

$N_2$ でページし、Personal Chemistry Optimizer中で90にて5分間放射線照射した。層を分離し、水相をEtOAcで3回抽出した。合わせた有機相を塩水で処理し、乾燥し( $Na_2SO_4$ )、ろ過して濃縮した。粗生成物を、1部の $HClO_4$ (70%、ACS)および20部の冰酢酸からなる溶液5mLに溶解し、溶液を室温にて8時間攪拌した。反応混合物を真空濃縮し、飽和 $NaHCO_3$ の後に固体 $NaHCO_3$ を用いてpH7に中和した。反応停止した反応混合物を、EtOAcと水に分配し、層を分離し、水相をEtOAcで2回抽出した。合わせた有機相を塩水で処理し、乾燥し( $Na_2SO_4$ )、ろ過して濃縮した。C-18逆相カラム(Thomson Instrument Co. ODS-A 100A、 $5\mu$ 、 $50 \times 21.3\text{ mm}$ 、20mL/分にて5~95%勾配のアセトニトリル(0.1%ギ酸含有)および水(0.1%ギ酸含有)で溶出)での質量誘発LC(ポジティブモード、ESI)による精製により、表題の化合物を得て、これは凍結乾燥により茶色の粘性の油となった(12.9mg、29%)。 $^1H$ -NMR(500MHz,  $d_6$ -DMSO) 13.71(br. s, 1H), 8.74(d,  $J=2.0\text{ Hz}$ , 1H), 8.16(d,  $J=2.0\text{ Hz}$ , 1H), 7.62(d,  $J=7.5\text{ Hz}$ , 1H), 7.49(dd,  $J=2.5, 8.0\text{ Hz}$ , 1H), 7.45(m, 1H), 7.37(d,  $J=2.0\text{ Hz}$ , 1H), 7.20(d,  $J=8.0\text{ Hz}$ , 1H), 7.08(t,  $J=8.5\text{ Hz}$ , 1H), 6.81(d,  $J=8.0\text{ Hz}$ , 1H), 5.37(s, 2H), 3.83(s, 3H), 3.60(m, 4H), 3.49(m, 4H); MS: m/z 430.1 [MH<sup>+</sup>].

10

## 【0271】

方法12により製造されるその他の例:

20

## 【表8】

第8表

| 構造 | 構造 |
|----|----|
|    |    |

MS: m/z 388 [MH<sup>+</sup>]

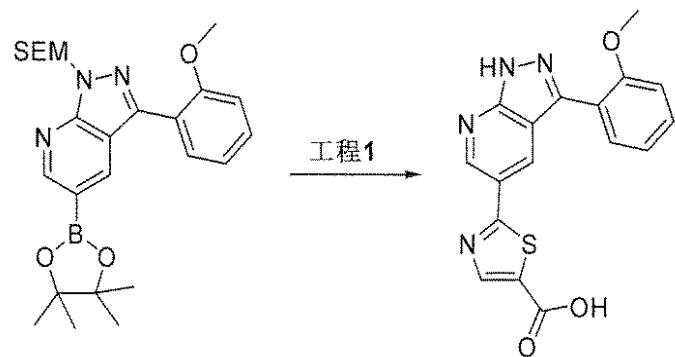
MS: m/z 414 [MH<sup>+</sup>]

30

## 方法13:

## 【化26】

40



50

## 【0272】

工程1：2-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-チアゾール-5-カルボン酸の合成

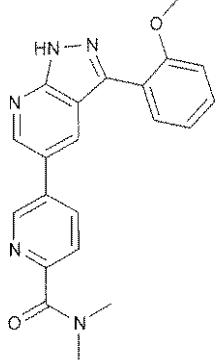
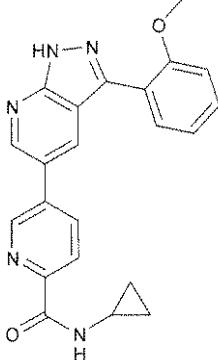
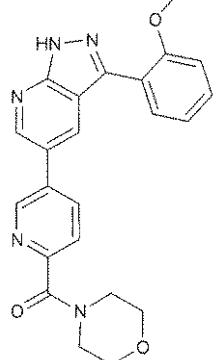
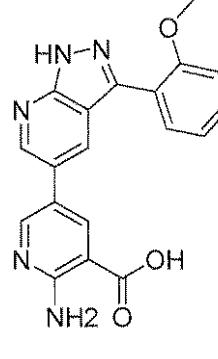
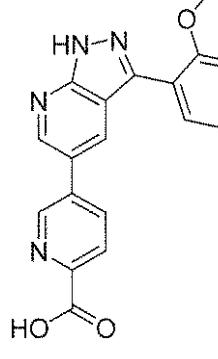
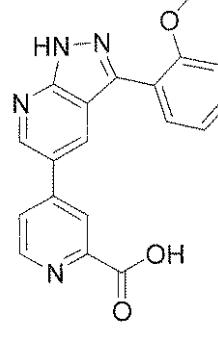
20mLのPersonal Chemistryマイクロ波反応バイアルに、3-(2-メトキシ-フェニル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-[1,3,2]ジオキサボロラン-2-イル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン(0.4992g、1.038mmol)、2-ブロモ-チアゾール-5-カルボン酸メチルエステル(0.2592g、1.167mmol)、1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム(II)-ジクロリドジクロロメタン付加物(95.4mg、0.117mmol)、アセトニトリル(5mL)および2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(5mL)を加えた。バイアルを密閉し、N<sub>2</sub>でバージし、Personal Chemistry Optimizer中で130にて30分間放射線照射した。反応混合物をEtOAcで希釈し、酢酸を用いてpH5まで酸性化した。層を分離し、水相をEtOAcで5回抽出した。合わせた有機相を塩水で処理し、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、ろ過して濃縮した。粗生成物を、1部のHClO<sub>4</sub>(70%、ACS)および20部の氷酢酸からなる溶液10mLに溶解し、溶液を室温にて4時間攪拌した。反応混合物を真空濃縮し、飽和NaHCO<sub>3</sub>の後に固体NaHCO<sub>3</sub>を用いてpH7に中和した。反応停止した反応混合物を、EtOAcと水に分離し、層を分離し、水相をEtOAcで2回抽出した。次いで、水相を、酢酸を用いてpH4まで酸性化し、EtOAcで5回抽出した。合わせた有機抽出物を塩水で処理し、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、ろ過して濃縮した。Et<sub>2</sub>Oを用いた粉碎により、表題の化合物を緑がかった茶色の粉末として得た(0.296g、収率81%)。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 13.73(br. s, 1H), 9.16(s, 1H), 8.71(s, 1H), 8.40(s, 1H), 7.68(d, J=8.0Hz, 1H), 7.48(t, J=8.0Hz, 2H), 7.24(d, J=8.0Hz, 1H), 7.10(t, J=7.5Hz 1H), 3.87(s, 3H); MS: m/z 353.1 [MH<sup>+</sup>].

## 【0273】

方法13により製造されるその他の例：

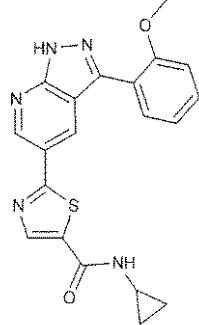
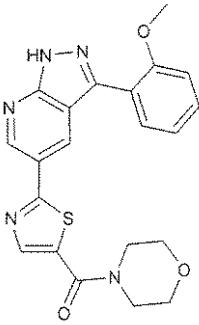
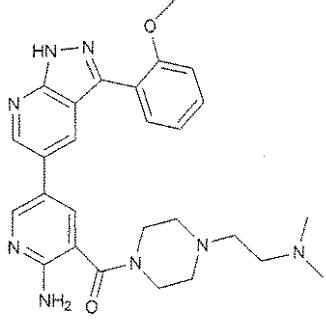
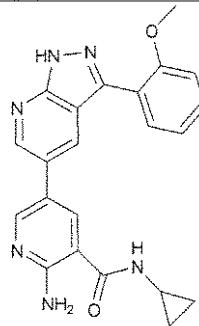
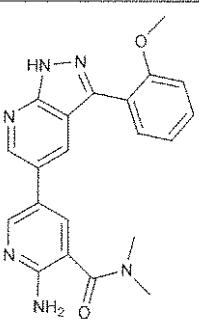
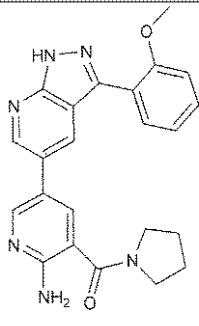
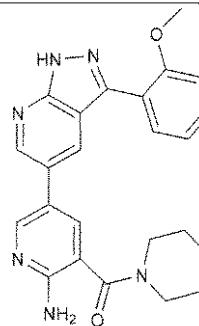
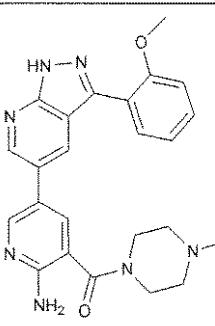
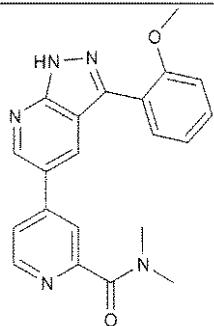
【表 9 - 1】

第9表

| 構造                                                                                 | 構造                                                                                 | 構造                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
|   |   |   | 10 |
| MS: $m/z$ 374 [MH <sup>+</sup> ]                                                   | MS: $m/z$ 386 [MH <sup>+</sup> ]                                                   | MS: $m/z$ 416 [MH <sup>+</sup> ]                                                    |    |
|  |  |  | 20 |
| MS: $m/z$ 362.1 [MH <sup>+</sup> ].                                                | MS: $m/z$ 347.1 ( $M + H^+$ ).                                                     | MS: $m/z$ 347 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | 30 |

【0274】

【表 9 - 2】

|                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |    |
| MS: $m/z$ 392 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 422 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 501 [MH <sup>+</sup> ]                                                     |
|    |    |    |
| MS: $m/z$ 401 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 389 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 415 [MH <sup>+</sup> ]                                                     |
|  |  |  |
| MS: $m/z$ 431 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 444 [MH <sup>+</sup> ]                                                    | MS: $m/z$ 374 [MH <sup>+</sup> ]                                                     |

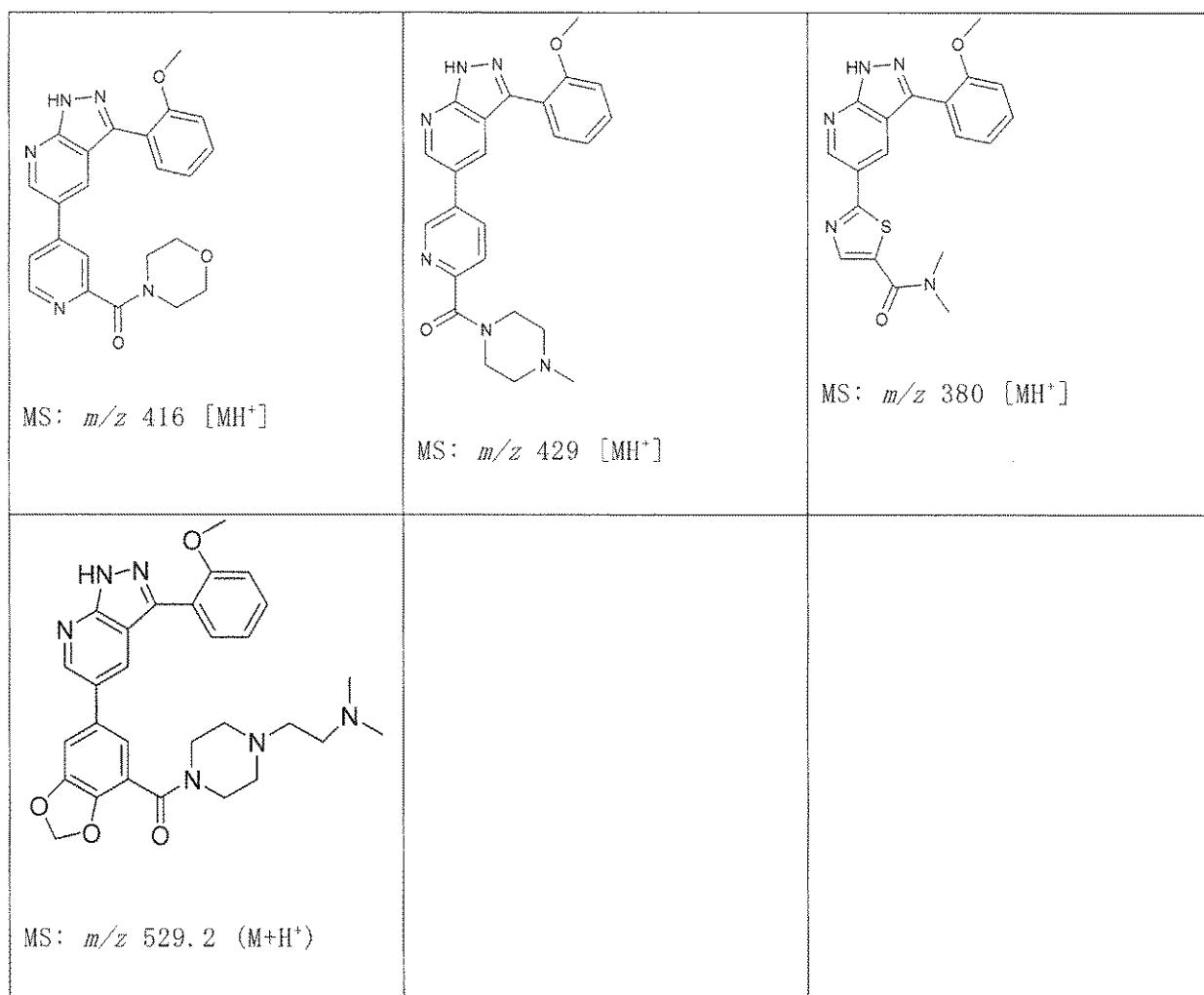
【0 2 7 5】

10

20

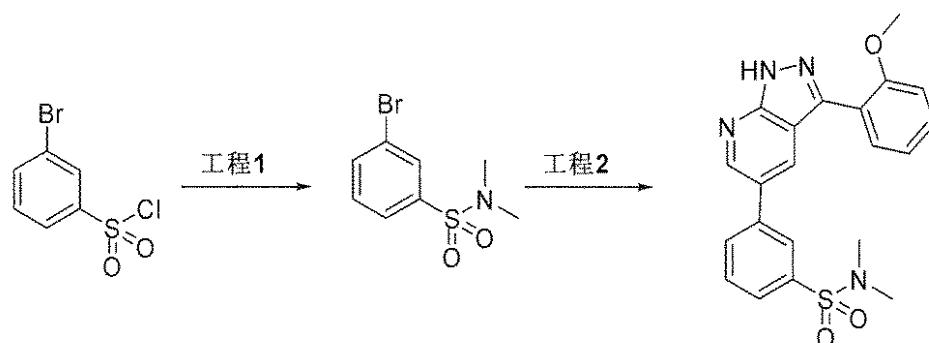
30

【表 9 - 3】



方法 1 4 :

【化 2 7】



【0 2 7 6】

工程 1 : 3 - ブロモ - N , N - ジメチル - ベンゼンスルホンアミドの合成

20 mL のシンチレーショントライアルに、塩化 3 - ブロモベンゼンスルホニル (0.301 g、1.179 mmol) および無水ピリジン (5 mL) を加えた。2 M のジメチルアミンの THF 溶液 (1.0 mL、2.0 mmol) を滴下し、反応混合物を室温にて N<sub>2</sub> の下で 5 時間攪拌した後に、これを真空濃縮した。粗残渣を、EtOAc と 1 M クエン酸に分配した。層を分離し、有機相を 1 M クエン酸で 3 回洗浄し、塩水で処理し、乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、ろ過して濃縮した。Et<sub>2</sub>O での粉碎により、3 - ブロモ - N , N - ジメチル - ベンゼンスルホンアミドを白色粉末として得た (0.297 g、96%)。MS: m/z 263.9/265.9 [MH<sup>+</sup>].

40

50

## 【0277】

工程2: 3-[3-(2-メトキシ-フェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル]-N,N-ジメチル-ベンゼンスルホンアミドの合成

5 mLのPersonal Chemistryマイクロ波反応バイアルに、3-(2-メトキシ-フェニル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-[1,3,2]ジオキサボロラン-2-イル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン(0.0496 g, 0.103 mmol)、3-ブロモ-N,N-ジメチル-ベンゼンスルホンアミド(0.0417 g, 0.143 mmol)、1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム(II)-ジクロリドジクロロメタン付加物(13.9 mg, 0.017 mmol)、アセトニトリル(1 mL)および飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(1 mL)を加えた。バイアルを密閉し、N<sub>2</sub>でバージし、Personal Chemistry Optimizer中で90にて15分間放射線照射した。層を分離し、水相をEtOAcで3回抽出した。合わせた有機相を塩水で処理し、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、ろ過して濃縮した。粗生成物を、1部のHClO<sub>4</sub>(70%、ACS)および20部の冰酢酸からなる溶液5 mLに溶解し、溶液を室温にて1時間攪拌した。反応混合物を真空濃縮し、飽和NaHCO<sub>3</sub>の後で固体NaHCO<sub>3</sub>を用いてpH 7まで中和した。反応停止した反応混合物をEtOAcと水に分配し、層を分離し、水相をEtOAcで2回抽出した。合わせた有機相を塩水で処理し、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、ろ過して濃縮した。C-18逆相カラム(Thomson Instrument Co. ODS-A 100A、5 μ、50 × 21.3 mm、20 mL/分にて5~95%勾配のアセトニトリル(0.1%ギ酸含有)および水(0.1%ギ酸含有)を用いて溶出)での質量誘発LC(ポジティブモード、ESI)による精製により、表題の化合物を得て、これは凍結乾燥により明黄色の粉末となった(10.4 mg、25%)。<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) = 13.91(br. s, 1H), 8.92(d, J=2.0 Hz, 1H), 8.44(d, J=2.0 Hz, 1H), 8.12(m, 1H), 8.01(br.s, 1H), 7.76(m, 2H), 7.67(dd, J=2.0, 7.5 Hz, 1H), 7.45(m, 1H), 7.22(d, J=8.0 Hz, 1H), 7.09(t, J=8.0 Hz, 1H), 3.85(s, 3H), 2.66(s, 6H); MS: m/z 409.1 [MH<sup>+</sup>].

## 【0278】

方法14により製造されるその他の化合物：

10

20

【表 10 - 1】

第10表

| 構造                               | 構造                               | 構造                               |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                                  |                                  |                                  |
| MS: $m/z$ 421 [MH <sup>+</sup> ] | MS: $m/z$ 409 [MH <sup>+</sup> ] | MS: $m/z$ 435 [MH <sup>+</sup> ] |
|                                  |                                  |                                  |
| MS: $m/z$ 451 [MH <sup>+</sup> ] | MS: $m/z$ 464 [MH <sup>+</sup> ] | MS: $m/z$ 421 [MH <sup>+</sup> ] |
|                                  |                                  |                                  |
| MS: $m/z$ 409 [MH <sup>+</sup> ] | MS: $m/z$ 435 [MH <sup>+</sup> ] | MS: $m/z$ 485 [MH <sup>+</sup> ] |

【0279】

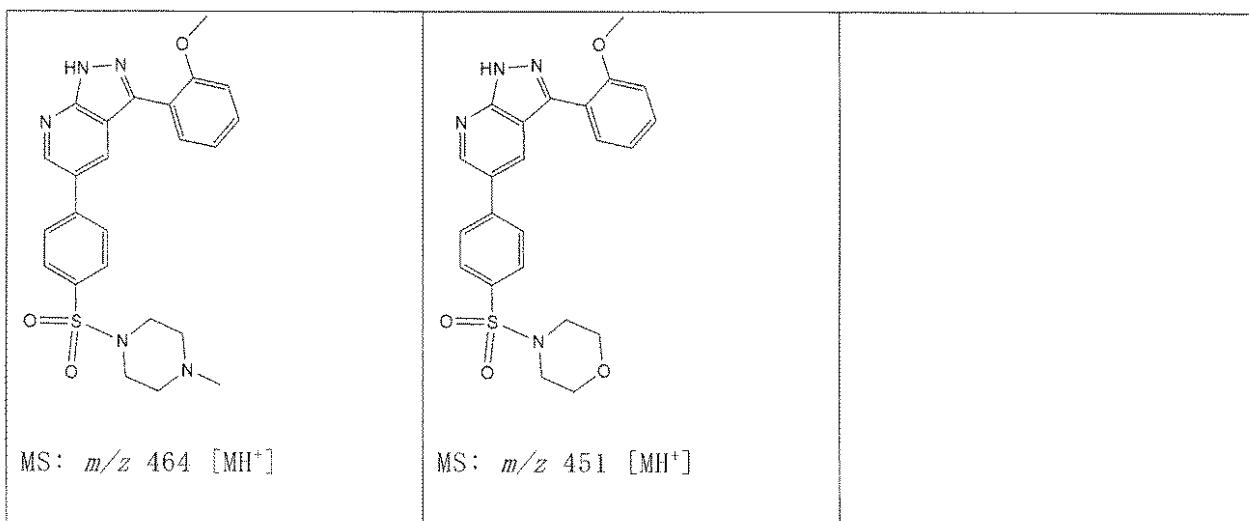
10

20

30

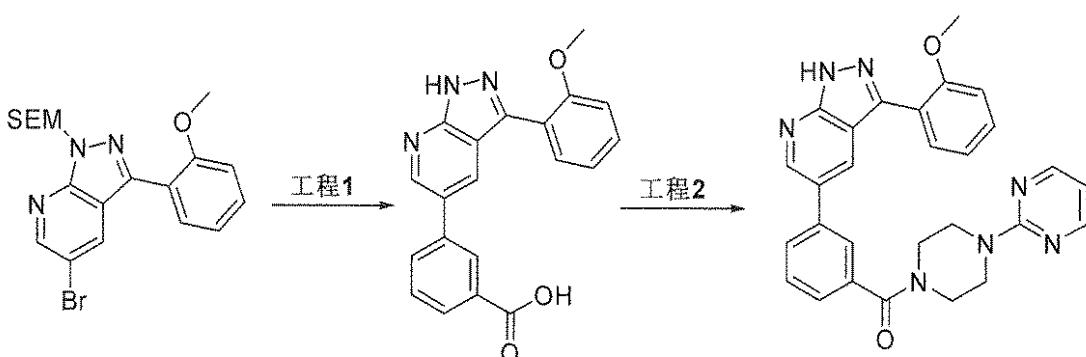
40

【表 10 - 2】



方法 15 :

## 【化 28】



## 【0280】

工程 1 : 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - 安息香酸の合成

マイクロ波バイアル中の 5 - ブロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリアメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 997 mg, 2.30 mmol ) のアセトニトリル ( 15 mL ) 溶液および飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 ( 10 mL ) に、3 - カルボキシフェニルボロン酸、ピナコールエステル ( 625 mg, 2.52 mmol ) および [ 1 , 1' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセン ] ジクロロパラジウム ( II ) 、ジクロロメタン錯体 ( 1 : 1 ) ( 94 mg, 0.12 mmol ) を加えた。バイアルに蓋をし、N<sub>2</sub> を通気し、真空下で排気し、マイクロ波中で 90 °C にて 1500 秒間加熱した。アセトニトリルを回転蒸発により除去した。酢酸エチルを加え、次いで、水層から分離した。有機層は濃い茶色であり、LC / MS は、生成物がこの層に残存することを示した。濃い茶色の油まで濃縮し、5 % 過塩素酸含有酢酸溶液 ( 10 mL ) に再溶解した。反応溶液を、周囲温度にて 4.5 時間攪拌した。過塩素酸を回転蒸発により除去して、酢酸エチルおよび H<sub>2</sub>O を加えた。炭酸水素ナトリウムの粉末を、pH = 3 まで加えた。有機層を分離し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥し、真空濃縮して茶色の粉末を得た ( 580 mg、収率 62 % )。<sup>1</sup>H NMR ( 500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO ) 13.81 ( br s, 1H ), 8.81 ( d, J = 2.5 Hz, 1H ), 8.31 ( d, J = 2.5 Hz, 1H ), 8.18 ( s, 1H ), 7.95 ( d, J = 7.5 Hz, 1H ), 7.90 ( d, J = 7.5 Hz, 1H ), 7.59 ( m, 2H ), 7.41 ( t, J = 7.0 Hz, 1H ), 7.17 ( d, J = 8.0 Hz, 1H ), 7.04 ( t, J = 7.5 Hz, 1H ), 3.80 ( s, 3H ). MS: m/e 346.1 ( M + H<sup>+</sup> ).

## 【0281】

工程 2 : { 3 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピ

30

40

50

リジン - 5 - イル] - フェニル} - (4 - ピリミジン - 2 - イル - ピペラジン - 1 - イル) - メタノンの合成

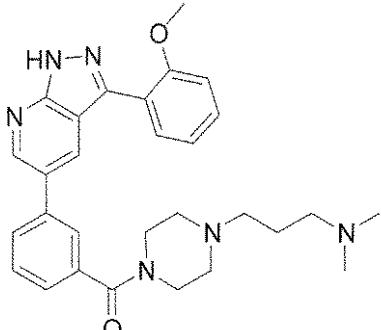
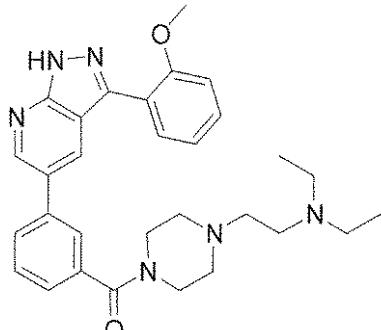
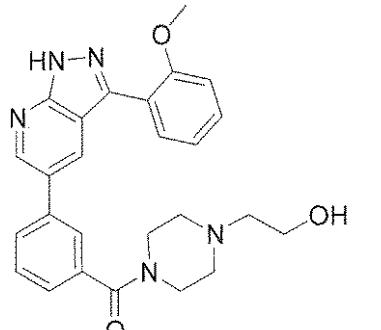
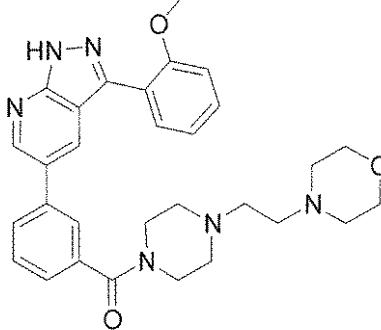
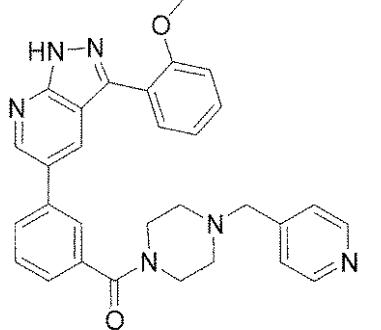
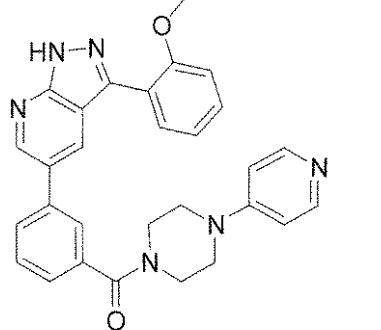
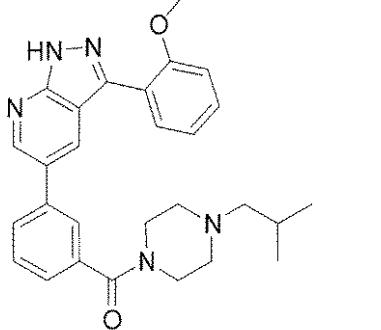
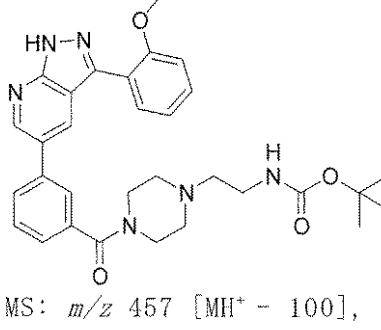
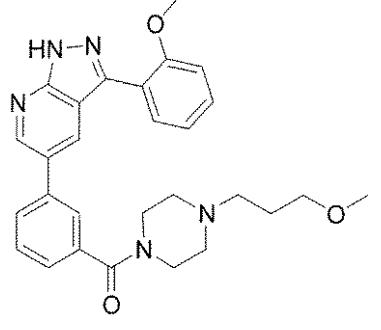
3 - [3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル] - 安息香酸(18mg、0.05mmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(20mg、0.05mmol)および1 - (2 - ピリミジル)ピペラジン(11uL、0.08mmol)を加えた。反応溶液を、周囲温度にて16時間攪拌した。粗生成物を酢酸エチルに抽出し、H<sub>2</sub>Oで洗浄した。有機層をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、ろ過してシリカゲルに吸着させた。酢酸エチル(10%のMeOH含有)およびヘキサンの勾配を用いるフラッシュクロマトグラフィーによる精製により、表題の化合物を白色粉末として得た(7.2mg、収率28%)。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CD<sub>3</sub>OD) 8.85(d, J = 2Hz, 1H), 8.42(d, J = 2Hz, 1H), 8.35(d, J = 4.5Hz, 2H), 7.83(d, J = 8Hz, 1H), 7.79(s, 1H), 7.64(m, 2H), 7.50(m, 2H), 7.20(d, J = 8.5Hz, 1H), 7.11(t, J = 8Hz, 1H), 6.64(t, J = 4.5Hz, 1H), 3.96(br s, 2H), 3.89(s, 3H), 3.86(br s, 4H), 3.60(br s, 2H). MS: m/z 492.1(M + H<sup>+</sup>). 10

【0282】

方法15により製造されるその他の化合物：

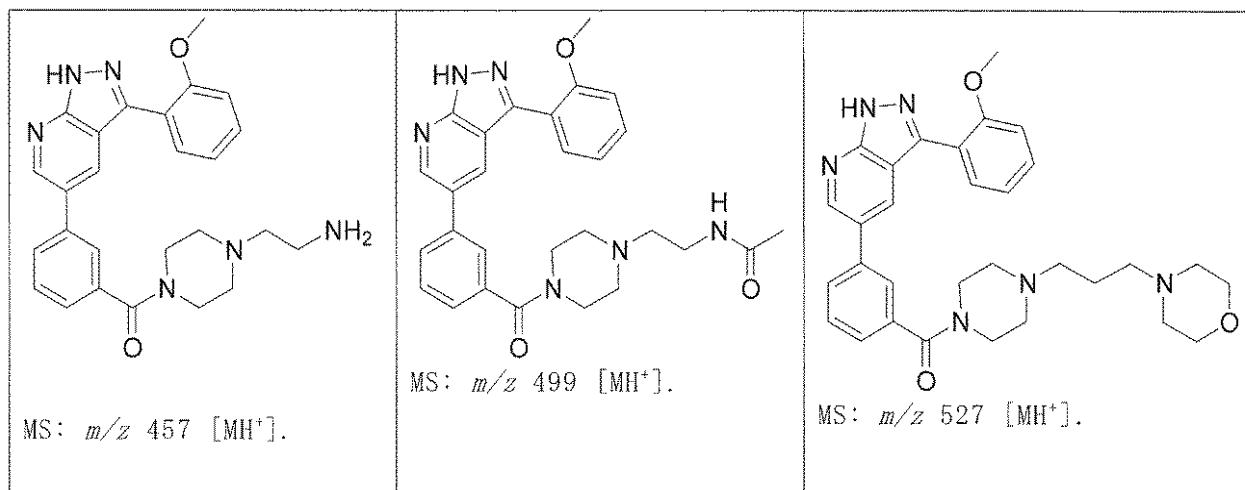
【表 11-1】

第11表

| 構造                                                                                                                                    | 構造                                                                                                                                                                    | 構造                                                                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>MS: <math>m/z</math> 499 [MH<sup>+</sup>].</p>   |  <p>MS: <math>m/z</math> 513 [MH<sup>+</sup>].</p>                                   |  <p>MS: <math>m/z</math> 458 [MH<sup>+</sup>].</p>   |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 527 [MH<sup>+</sup>].</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 505 [MH<sup>+</sup>].</p>                                  |  <p>MS: <math>m/z</math> 491 [MH<sup>+</sup>].</p>  |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 470 [MH<sup>+</sup>].</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 457 [MH<sup>+</sup> - 100],<br/>557 [MH<sup>+</sup>].</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 486 [MH<sup>+</sup>].</p> |

【0283】

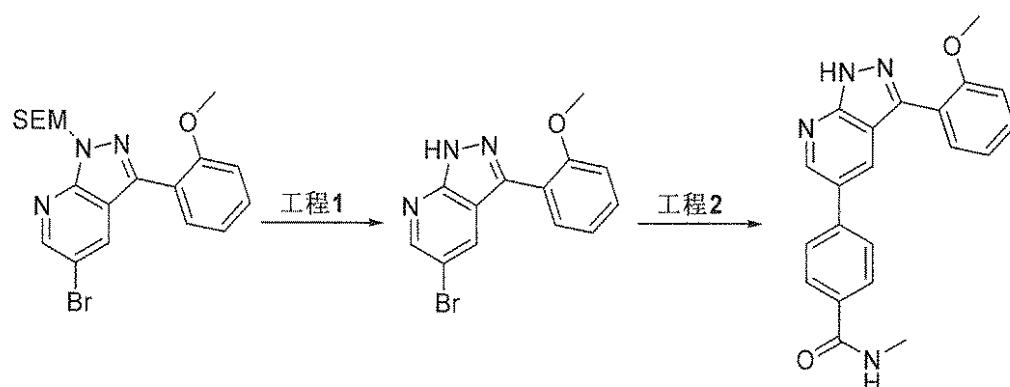
【表 11 - 2】



10

## 方法 16 :

【化 29】



20

【0284】

工程 1 : 5 - ブロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンの合成

5 - ブロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 - ( 2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 260 mg, 0.60 mmol ) の THF ( 3 mL ) 溶液に、フッ化テトラブチルアンモニウム ( 1 M の THF 溶液を 6 mL, 6.00 mmol ) およびモレキュラーシーブを加えた。溶液を、攪拌せずに 4 時間還流加熱した ( 70 °C ) 。溶液を周囲温度まで冷却し、希酢酸の MeOH 溶液の滴下により pH = 5 まで酸性化した。溶液をろ過し、ろ液を回転蒸発により濃縮した。物質を EtOAc に抽出し、H<sub>2</sub>O で 3 回洗浄した。有機層を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥し、濃縮して 5 - ブロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジンを、オレンジ色の固体として得た ( 177 mg, 収率 97 % ) 。 MS : m/z 303.9, 305.9 [ M + H<sup>+</sup> ] . 物質は、さらなる精製を行わずに工程 2 で直接用いた。

30

【0285】

工程 2 : 4 - [ 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル ] - N - メチル - ベンズアミドの合成

マイクロ波バイアル中の 5 - ブロモ - 3 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 1 H - ピラゾロ [ 3 , 4 - b ] ピリジン ( 26 mg, 0.085 mmol ) のアセトニトリル ( 1 mL ) 溶液および飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 ( 1 mL ) に、4 - ( N - メチルアミノカルボニル ) フェニルボロン酸 ( 17 mg, 0.094 mmol ) および [ 1 , 1' - ビス ( ジフェニルホスフィノ ) フェロセン ] ジクロロパラジウム ( II ) 、ジクロロメタン錯体 ( 1 : 1 ) ( 3.5 mg, 0.004 mmol ) を加えた。バイアルに蓋をし、N<sub>2</sub> を通気し、

40

40

50

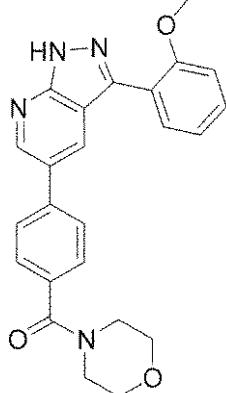
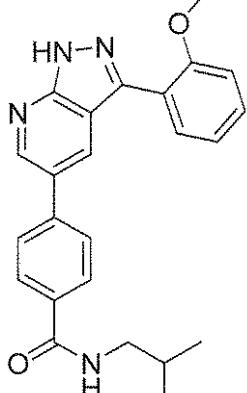
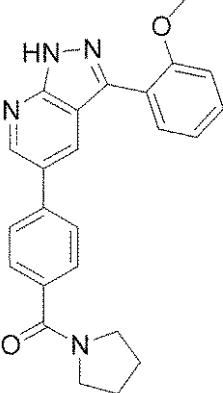
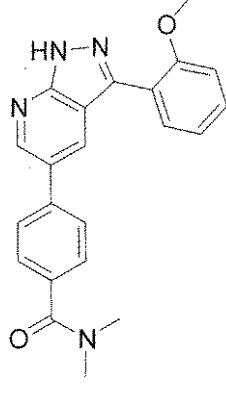
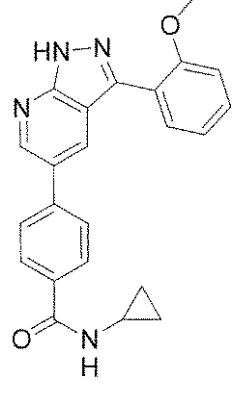
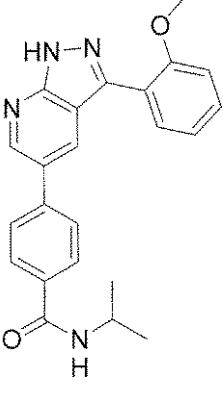
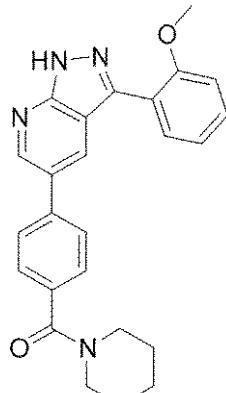
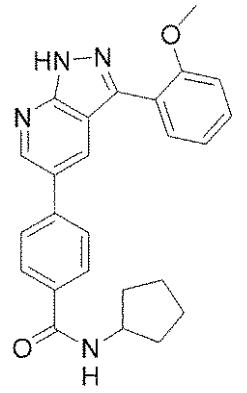
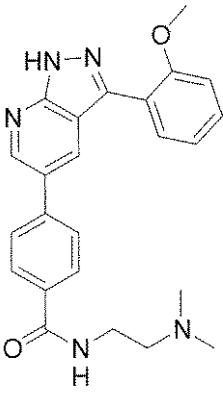
真空中で排気し、マイクロ波中で 130 °C にて 1800 秒間加熱した。物質を EtOAc に抽出し、有機層を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥した。物質を SiO<sub>2</sub> に吸着させ、EtOAc (10% MeOH 含有) およびヘキサンの勾配でのフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。清明なフラクションを回転蒸発により濃縮して、表題の化合物を白色粉末として得た (5.9 mg、収率 20%)。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.85 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.94 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.48 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 2.95 (s, 3H)。MS: m/z 359.1 [M + H<sup>+</sup>]。

【0286】

方法 16 により製造されるその他の化合物：

【表 12 - 1】

第12表

| 構造                                                                                  | 構造                                                                                  | 構造                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |    |
| MS: $m/z$ 415 [MH $^+$ ].                                                           | MS: $m/z$ 401 [MH $^+$ ].                                                           | MS: $m/z$ 399 [MH $^+$ ].                                                            |
|   |   |   |
| MS: $m/z$ 373 [MH $^+$ ].                                                           | MS: $m/z$ 385 [MH $^+$ ].                                                           | MS: $m/z$ 387 [MH $^+$ ].                                                            |
|  |  |  |
| MS: $m/z$ 413 [MH $^+$ ].                                                           | MS: $m/z$ 413 [MH $^+$ ].                                                           | MS: $m/z$ 416 [MH $^+$ ].                                                            |

【0287】

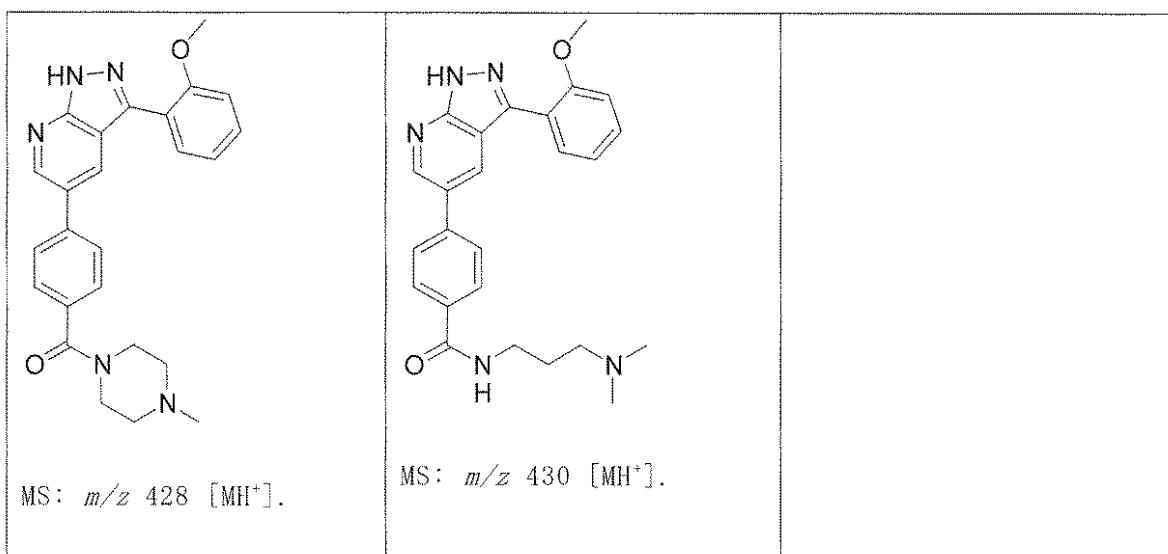
10

20

30

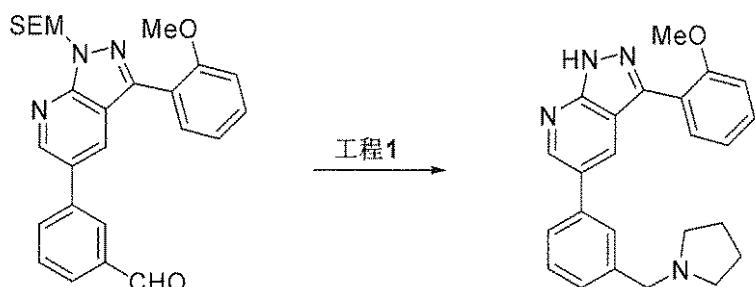
40

【表 12 - 2】



方法 17 :

## 【化 30】



## 【0288】

工程 1 : 3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 5 - (3 - ピロリジン - 1 - イルメチル - フェニル) - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - b ] ピリジンの合成

3 - [3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 1 - (2 - トリメチルシラニル - エトキシメチル) - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - b ] ピリジン - 5 - イル] - ベンズアルデヒド (23 mg、0 . 050 mmol) およびピロリジン (5 u1、0 . 082 mmol) の 1 . 5 mL ジクロロエタン溶液に、3 u1 の AcOH を加えた。混合物を室温にて 30 分間攪拌し、次いで混合物に、トリオキシアセチル水素化ホウ素ナトリウム (22 mg、0 . 10 mmol) を一度に加えた。反応を、室温にてさらに 2 時間継続し、次いで、混合物を濃縮して SEM 生成物を得て、これを 5 % 過塩素酸塩の酢酸溶液 (2 mL) で、室温にて 1 時間処理した。溶媒を蒸発させ、残渣を炭酸水素ナトリウムの粉末で中和し、次いで、酢酸エチル、次に EtOAc / DCM / MeOH / NH4OH (4 / 4 / 1 / 0 . 05) の混液を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、3 - (2 - メトキシ - フェニル) - 5 - (3 - ピロリジン - 1 - イルメチル - フェニル) - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - b ] ピリジン (8 . 50 mg、収率 44 %) を、白色固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 1.89 (d, J = 3 Hz, 4H), 2.76 (d, J = 1.5 Hz, 4H), 3.89 (s, 2H), 3.9 (s, 2H), 7.11 (t, J = 1 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.65 (t, J = 6.75 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 8.39 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.83 (d, J = 2 Hz, 1H). MS: m/z 385 [MH<sup>+</sup>].

## 【0289】

方法 17 により製造されるその他の化合物 :

10

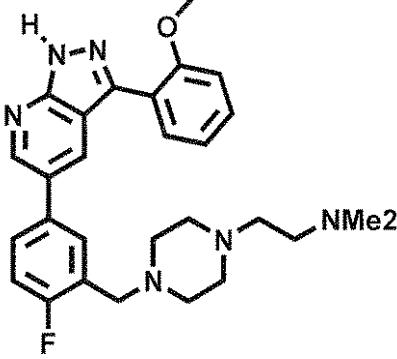
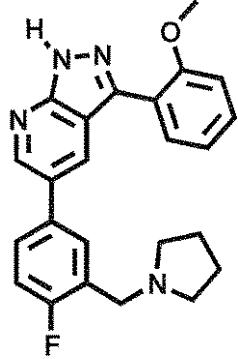
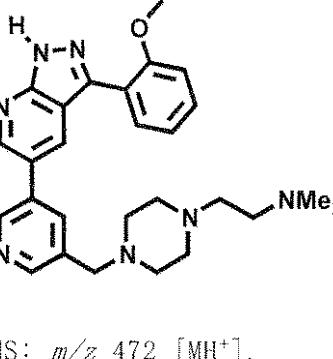
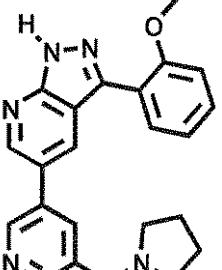
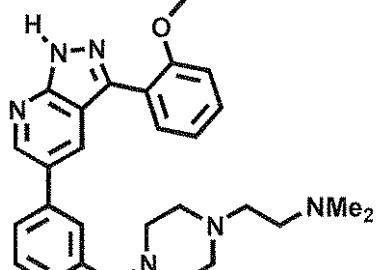
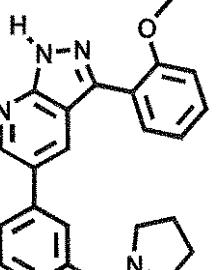
20

30

40

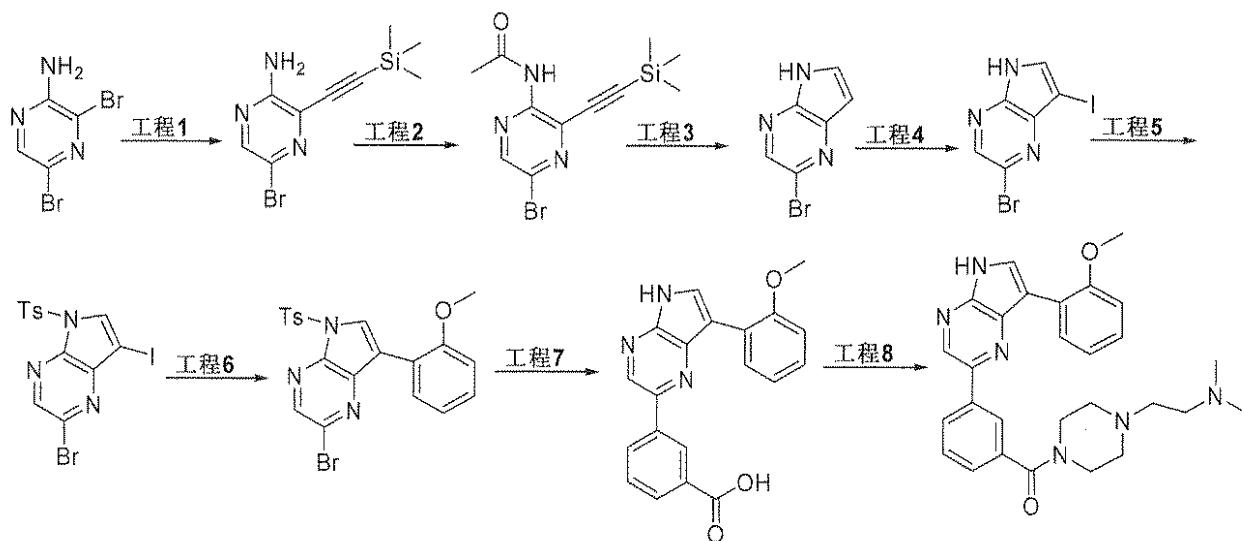
【表 13】

第 13 表

| 構造                                                                                                                                      | 構造                                                                                                                                      | 構造                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>MS: <math>m/z</math> 489 [MH<math>^+</math>].</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 403 [MH<math>^+</math>].</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 472 [MH<math>^+</math>].</p>  |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 386 [MH<math>^+</math>].</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 471 [MH<math>^+</math>].</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 385 [MH<math>^+</math>].</p> |

方法 18 :

【化 31】



【0290】

工程 1 : 5 - ブロモ - 3 - トリメチルシラニルエチニル - ピラジン - 2 - イルアミンの

## 合成

3, 5 -ジブロモ - ピラジン - 2 - イルアミン (3.00 g、11.86 mmol) の D M F (35 ml) 溶液に、トリエチルアミン (16 ml)、次いでテトラキストリフェニルフィンパラジウム (0) (685 mg、0.59 mmol) およびヨウ化銅 (I) (271 mg、1.42 mmol) を連続して加えた。最後に、トリメチルシリルアセチレン (2.0 ml、14.3 mmol) を滴下した。反応混合物を 120 にて 30 分間攪拌し、次いで、シリカゲルに直接吸着させた。酢酸エチル / ヘキサンの勾配を用いるシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーによる精製により、表題の化合物 (2.30 g、収率 71%) を、黄色の油として得た。MS: m/z 270.0/272.0 [MH<sup>+</sup>].

## 【0291】

工程 2 : N - (5 - ブロモ - 3 - トリメチルシラニルエチニル - ピラジン - 2 - イル) - アセトアミドの合成

5 - ブロモ - 3 - トリメチルシラニルエチニル - ピラジン - 2 - イルアミン (2.30 g、8 mmol) の無水 T H F (35 ml) 溶液およびピリジン (1.62 ml、20.0 mmol) に、塩化アセチル (682 μl、9.6 mmol) を加えた。混合物を室温にて一晩攪拌し、次いで 60 にて 5 時間攪拌した。溶媒を真空除去し、得られた茶色の残渣を、酢酸エチル / ヘキサンの勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、表題の化合物 (474 mg、1.52 mmol) を、明黄色でオフホワイトの固体として得た。MS: m/z 311.9/313.9 [MH<sup>+</sup>].

## 【0292】

工程 3 : 2 - ブロモ - 5 H - ピロロ [2, 3 - b] ピラジンの合成

N - (5 - ブロモ - 3 - トリメチルシラニルエチニル - ピラジン - 2 - イル) - アセトアミド (474 mg、1.52 mmol) の T H F (4 ml) 溶液に、1 M のフッ化テトラ - n - プチルアンモニウムの T H F 溶液 (3.3 ml、3.3 mmol) を滴下した。還流にて 15 時間攪拌した後に、反応混合物を真空濃縮し、水を加えた。水層をジクロロメタンで 3 回抽出し、合わせた抽出物をシリカゲルに直接吸着させた。酢酸エチル / ヘキサンの勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーによる精製により、表題の化合物 (130 mg、収率 43%) を、黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 12.38 (s br, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.95 (d, 3.5Hz, 1H), 6.61 (d, 3.5Hz, 1H). MS: m/z 197.9/199.9 [MH<sup>+</sup>].

## 【0293】

工程 4 : 2 - ブロモ - 7 - ヨード - 5 H - ピロロ [2, 3 - b] ピラジンの合成

2 - ブロモ - 5 H - ピロロ [2, 3 - b] ピラジン (258 mg、1.3 mmol) のアセトン溶液 (5 ml) に、N - ヨードスクシンイミド (324 mg、1.44 mmol) を一度に加えた。反応混合物を室温にて 45 分間攪拌した。得られた沈殿物をろ過紙、最少量のアセトンで洗浄し、真空乾燥して、表題の化合物を明茶色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 12.81 (s br, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.19 (d, 3.0Hz, 1H). MS: m/z 323.8/325.8 [MH<sup>+</sup>].

## 【0294】

工程 5 : 2 - ブロモ - 7 - ヨード - 5 - (トルエン - 4 - スルホニル) - 5 H - ピロロ [2, 3 - b] ピラジンの合成

2 - ブロモ - 7 - ヨード - 5 H - ピロロ [2, 3 - b] ピラジン (290 mg、0.895 mmol) の T H F 中の懸濁液 (5 ml) に、NaH (60%、43 mg、1.08 mmol) を一度に 0 にて加えた。得られた混合物を 20 分間攪拌した後に、塩化パラ - トルエンスルホニル (188 mg、0.98 mmol) の T H F (2 mL) 溶液を加えた。次いで、反応混合物を室温にて 3 時間攪拌した。溶媒を除去し、得られた濃い茶色の残渣を K O H 水溶液、水で洗浄し、乾燥して表題化合物 (423 mg、収率 99%) を、明茶色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 8.60 (d, 11.5Hz, 1H), 7.99 (d, 11.5Hz, 2H), 7.44 (d, 7.5Hz, 2H), 2.34 (s, 3H). MS: m/z 477.8/479.8 [MH<sup>+</sup>].

## 【0295】

10

20

30

40

50

工程 6 : 2 - プロモ - 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( トルエン - 4 - スルホニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジンの合成

50mLの丸底フラスコに、2 - プロモ - 7 - ヨード - 5 - ( トルエン - 4 - スルホニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン ( 423mg, 0.885mmol ) 、2 - メトキシフェニルボロン酸 ( 148mg, 0.973mmol ) およびジクロロビス ( トリフェニルホスフィノ ) パラジウム ( II ) ( 31mg, 0.04mmol ) を入れた。この混合物に、アセトニトリル ( 10mL ) および 2M 炭酸水素ナトリウム水溶液 ( 5mL ) を加えた。反応混合物を 40 °C にて 1 時間、次いで 55 °C にてさらに 1 時間攪拌した。粗反応混合物を、酢酸エチルと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。次いで、水相を酢酸エチルで抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、粗生成物を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、2 - プロモ - 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( トルエン - 4 - スルホニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン ( 139mg, 収率 34% ) を、明黄色の固体として得た。ビス - 付加産物である 2 , 7 - ビス - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( トルエン - 4 - スルホニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン ( 213mg, 収率 50% ) も得られた。MS : m/z 457.9 / 460.0 [ MH<sup>+</sup> ] ; MS : m/z 486.1 [ MH<sup>+</sup> ] ( ビス - 付加産物 )。

#### 【 0296 】

工程 7 : 3 - [ 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 2 - イル ] - 安息香酸の合成

アセトニトリル ( 2mL ) 中の 2 - プロモ - 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 - ( トルエン - 4 - スルホニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン ( 70mg, 0.15mmol ) 、 3 - ( 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - [ 1 , 3 , 2 ] ジオキサボロラン - 2 - イル ) - 安息香酸 ( 57mg, 0.23mmol ) およびジクロロビス ( トリフェニルホスフィノ ) パラジウム ( II ) ( 5.4mg, 0.008mmol ) と炭酸ナトリウム水溶液 ( 2M, 2mL ) の混合物に、Personal Chemistry Optimizer 中で 95 °C にて 20 分間放射線照射した。粗反応混合物を、ジクロロメタンと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。次いで、水相をジクロロメタンで抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。

#### 【 0297 】

次いで、茶色の粗残渣を MeOH ( 2mL ) に溶解し、5N KOH ( 150μL ) を加えた。次いで、混合物を 40 °C にて 2 時間攪拌した後に、溶媒を除去した。得られた黄色の残渣を、希 HCl ( 2mL ) 、水で洗浄し、乾燥して、粗酸である 3 - [ 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 2 - イル ] - 安息香酸を得て、これを直接工程 8 に用いた。MS: m/z 346.0 [ MH<sup>+</sup> ].

#### 【 0298 】

工程 8 : [ 4 - ( 2 - ジメチルアミノ - エチル ) - ピペラジン - 1 - イル ] - { 3 - [ 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 2 - イル ] - フェニル } - メタノンの合成

D MF ( 1mL ) 中の 3 - [ 7 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 5 H - ピロ口 [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 2 - イル ] - 安息香酸 ( 35mg, 0.1mmol ) 、 EDCI ( 77mg, 0.40mmol ) 、 HBTU ( 3.8mg, 0.01mmol ) およびジイソプロピルエチルアミン ( 175μl, 1.0mmol ) の混合物に、2 - ( ジメチルアミノ ) エチルピペラジン ( piperazine ) ( 55μl, 0.3mmol ) を加えた。混合物を 70 °C にて 5 時間攪拌した後に、溶媒を除去した。得られた黄色の油を水で洗浄し、DMSO に溶解し、逆相 HPLC で精製して、表題の化合物 ( 8.6mg, 2 工程で 12% ) を、黄色の固体として得た。MS: m/z 485.2 [ MH<sup>+</sup> ].

#### 【 0299 】

方法 18 により製造されるその他の化合物 :

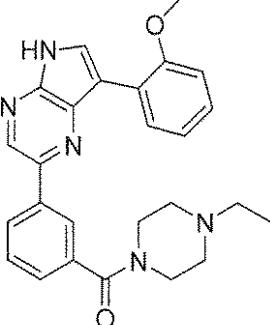
10

20

30

40

【表14】

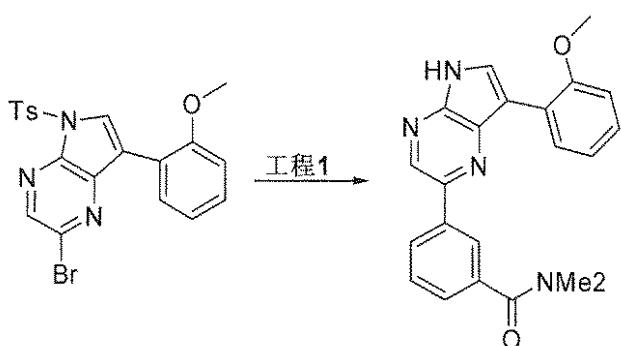
| 第14表                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 構造                                                                                                                                    |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 442.2 [MH<sup>+</sup>].</p> |

10

## 方法19:

【化32】

20



30

【0300】

工程1: 3-[7-(2-メトキシ-フェニル)-5H-ピロロ[2,3-b]ピラジン-2-イル]-N,N-ジメチル-ベンズアミドの合成

アセトニトリル(1mL)中の2-ブロモ-7-(2-メトキシ-フェニル)-5-(トルエン-4-スルホニル)-5H-ピロロ[2,3-b]ピラジン(30mg、0.065mmol)、3-ジメチルアミノカルボニルフェニルボロン酸(25.3mg、0.130mmol)およびジクロロビス(トリフェニルホスフィノ)パラジウム(II)(2.5mg、0.003mmol)と炭酸水素ナトリウム水溶液(2M、1mL)の混合物に、Personal Chemistry Optimizer中で90にて15分間放射線照射した。粗反応混合物を、ジクロロメタンと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。次いで、水相をジクロロメタンで抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過して濃縮した。次いで、茶色の粗残渣をMeOH(5mL)、5N KOH(50μL)に溶解し、混合物を室温にて75分間攪拌した。溶媒の除去により、黄色の残渣が得られ、次いでこれをヘキサン中の酢酸エチル、次いでEtOAc中の10% MeOHの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、3-[7-(2-メトキシ-フェニル)-5H-ピロロ[2,3-b]ピラジン-2-イル]-N,N-ジメチル-ベンズアミド(13.0mg、収率54%)を、淡黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, CD3OD) 8.89(m, 1H), 8.80(m, 1H), 8.40(m, 1H), 8.25(m, 2H), 7.62(m, 1H), 7.50(m, 1H), 7.25(m, 1H), 7.10(m, 2H), 3.97(m, 3H), 3.17(m, 3H), 3.10(m, 3H). MS:  $m/z$  373.1 [MH<sup>+</sup>].

40

50

## 【0301】

方法19により製造されるその他の化合物：

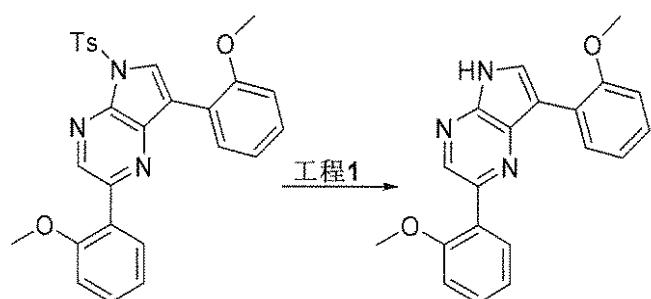
## 【表15】

| 第15表                                |
|-------------------------------------|
| 構造                                  |
|                                     |
| MS: $m/z$ 399.1 [MH <sup>+</sup> ]. |

10

## 方法20：

## 【化33】



20

30

## 【0302】

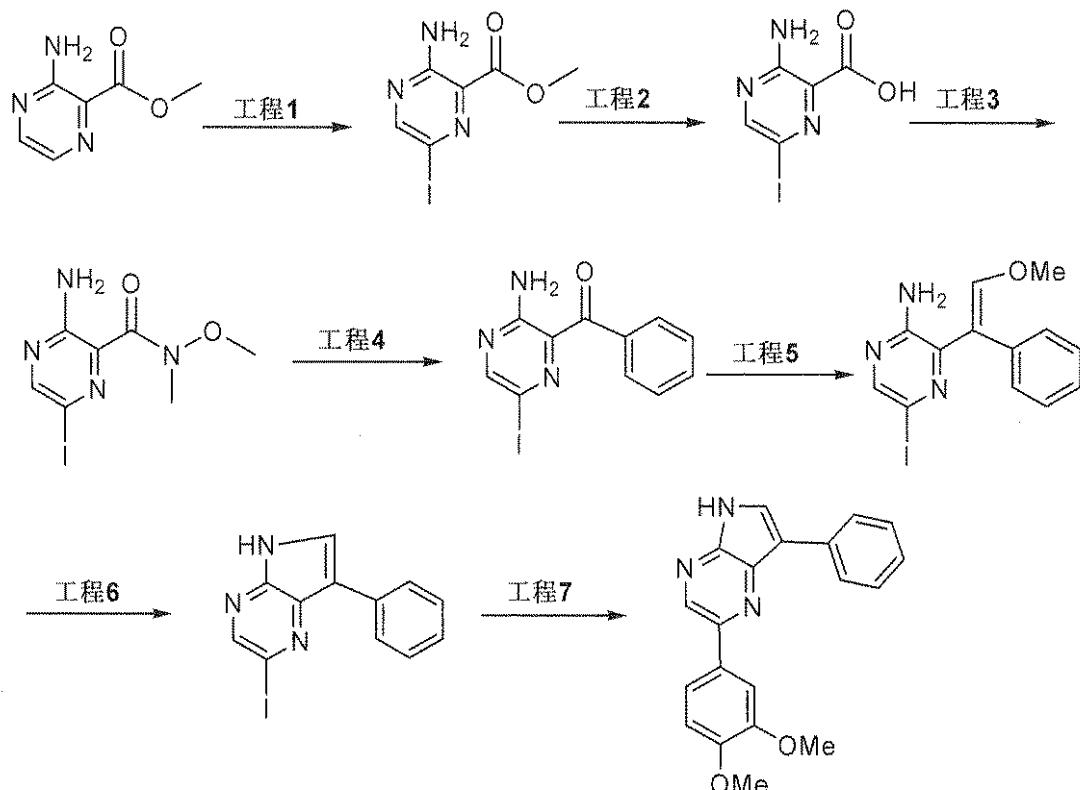
工程1：2,7-ビス-(2-メトキシ-フェニル)-5H-ピロロ[2,3-b]ピラジンの合成

2,7-ビス-(2-メトキシ-フェニル)-5-(トルエン-4-スルホニル)-5H-ピロロ[2,3-b]ピラジン(200mg、0.412mmol)のMeOH(5mL)溶液に、NaOH(66mg、1.65mmol)の水(200μL)溶液を加えた。混合物を室温にて3.5時間攪拌した後に、溶媒を除去した。次いで、得られた黄色の残渣を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、2,7-ビス-(2-メトキシ-フェニル)-5H-ピロロ[2,3-b]ピラジン(43mg、収率32%)を得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, CD3OD) 12.21(s br, 1H), 8.80(dd, 6.0Hz, 1.75Hz, 1H), 8.69(s, 1H), 7.76(dd, 6.0Hz, 1.75Hz, 1H), 7.43(dt, 7.5Hz, 1.75Hz, 1H), 7.20(m, 2H), 7.13(m, 2H), 7.04(t, 7.3Hz, 1H), 3.92(s, 3H), 3.85(s, 3H). MS: m/z 332.1 [MH<sup>+</sup>].

40

## 方法21：

## 【化34】



## 【0303】

工程1：3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸メチルエステルの合成

メチル3 - アミノ - 2 - ピラジンカルボキシレート(10g、65.3mmol)およびN - ヨードスクシンイミド(24g、106.7mmol)を、無水DMF(150mL)に溶解し、混合物を70℃にて15時間、窒素雰囲気下に攪拌した。次いで、混合物を室温まで冷却し、チオ硫酸ナトリウムの飽和水溶液(400mL)を加えた。懸濁物を15分間超音波処理し、真空濃縮して水に分散させた。粗生成物をろ過し、冷エタノールで洗浄した。残渣をエタノールから脱色炭を用いて結晶化させて、3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸メチルエステル(11.2g、収率61%)を、オレンジ色の針状物として得た。<sup>1</sup>H-NMR(d<sub>6</sub>-DMSO) : 8.57 [1H] s, 7.59 [2H] s, br, 3.93 [3H] s. MS: m/z 280 [MH<sup>+</sup>].

## 【0304】

工程2：3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸の合成

3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸メチルエステル(45g、161mmol)を、750mLのTHFに溶解した。90mLの水および40mLの4Mの水酸化リチウム水溶液を加えた。混合物を室温にて2時間、またはTLC分析がベースライン物質のみを示すまで攪拌した。10%クエン酸水溶液を加えてpHを約3~4に調整した。混合物をジクロロメタンで希釈し、有機相を分離した。水層をジクロロメタンで3回抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発した。残渣を減圧乾燥して、37.0g(140mmol、収率87%)の3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸を、黄色の粉末として得た。<sup>1</sup>H-NMR(d<sub>6</sub>-DMSO) : 11.70 s, weak, 8.44 [1H] s, 7.50 [2H] s, br. MS: m/z 266 [MH<sup>+</sup>].

## 【0305】

工程3：3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸メトキシ - メチル - アミドの合成

27.50g(0.104mol)の3 - アミノ - 6 - ヨード - ピラジン - 2 - カルボン酸、63.0g(0.125mol)のPyBOP(1 - ベンゾトリアゾイルオキシ -

10

20

30

40

50

トリス(ピロリジノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート)および18.70 g (0.193 mol)のN, O-ジメチルヒドロキシリアルアミン塩酸塩を、窒素を通気したフラスコに入れ、次いで、100 mlの無水DMFおよび27 mlのN,N-ジ-イソ-プロピルエチルアミンの混液に溶解した。混合物を、80 °Cにて16時間加熱した。溶媒を、減圧下で50~60 °Cにて蒸発させて、濃い色の油を得た。この油を、300 mlのトルエンで3~4回抽出した。トルエン相を合わせて、蒸発させた。得られた油を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、18.40 g (59.72 mmol, 58%)の3-アミノ-6-ヨード-ピラジン-2-カルボン酸メトキシ-メチル-アミドを、黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) : 8.28 [1H] s, 6.78 [2H] s, 3.66 [3H] s, 3.25 [3H] s. MS: m/z 309 [MH<sup>+</sup>].

10

## 【0306】

工程4：(3-アミノ-6-ヨード-ピラジン-2-イル)-フェニル-メタノンの合成

8.00 g (25.97 mmol)の3-アミノ-6-ヨード-ピラジン-2-カルボン酸メトキシ-メチル-アミドを、窒素の下で100 mlの無水THFに溶解した。溶液を55 °Cに冷却し、27 mlの3 M 臭化フェニルマグネシウムのエーテル溶液を加えた。混合物を10 °Cまで温め、10%クエン酸水溶液を加えた。混合物をジクロロメタンで希釈し、相を分離した。水相を、ジクロロメタンで3回抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発した。得られた固体をエタノールから結晶化させて、5.74 g (17.66 mmol; 68%)の(3-アミノ-6-ヨード-ピラジン-2-イル)-フェニル-メタノンを、黄色がかったオレンジ色の結晶として得た。<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) : 8.52 [1H] s, 7.94 [2H] s, br, 7.85 [2H] d, 7.62 [1H] t, 7.52 [2H] t. MS: m/z 326 [MH<sup>+</sup>].

20

## 【0307】

工程5：5-ヨード-3-(2-メトキシ-1-フェニル-ビニル)-ピラジン-2-イルアミンの合成

2.52 g (12.6 mmol)のビス(トリメチルシリル)アミドカリウムを、150 mlの無水THFに、窒素の下で溶解した。3.80 g (11.1 mmol)の塩化メトキシメチルトリフェニルホスホニウムを加え、混合物を室温にて1時間攪拌した。得られた混合物に、2.50 g (7.69 mmol)の(3-アミノ-6-ヨード-ピラジン-2-イル)-フェニル-メタノンを加え、反応混合物を室温にて1時間攪拌した。得られた反応混合物を、20時間還流加熱した。冷却後に、混合物をジクロロメタンで希釈し、塩化アンモニウムの飽和水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を蒸発させ、残渣を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、1.942 g (5.50 mmol; 72%)の部分的に分割されたE-およびZ-5-ヨード-3-(2-メトキシ-1-フェニル-ビニル)-ピラジン-2-イルアミンを、淡黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) : isomer A 8.12 [1H] s, 7.33-7.26 [4H] m, 7.20 [1H] m, 6.66 [1H] s, 6.00 [2H] s, br, 3.81 [3H] s; isomer B 8.09 [1H] s, 7.27 [2H] t, 7.17 [1H] t, 7.11 [2H] d, 6.98 [1H] s, 6.24 [2H] s, br, 3.76 [3H] s. MS: m/z 354 [MH<sup>+</sup>].

30

## 【0308】

工程6：5-ヨード-3-フェニル-1H-ピロロ[2,3-b]ピラジンの合成

780 mg の5-ヨード-3-(2-メトキシ-1-フェニル-ビニル)-ピラジン-2-イルアミン(E形、Z形または混合物)を、40 mlの希塩酸水溶液(約1~2 N)とエタノールの1:1混液に分散させた。混合物を、2時間還流加熱した。得られた懸濁物に氷を加え、沈殿物をろ過して480 mg の5-ヨード-3-フェニル-1H-ピロロ[2,3-b]ピラジンを、淡黄色の粉末として得た。ろ液を、炭酸水素ナトリウムの添加により塩基性にし、ジクロロメタンで3回抽出した。合わせた抽出物を硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させた。残渣をエタノールから結晶化して、76 mg の5-ヨード-3-フェニル-1H-ピロロ[2,3-b]ピラジンを、緑がかった茶色の結晶針状物として

40

50

得て、合わせた収量は 5.56 mg であった (78%)。<sup>1</sup>H-NMR (d6-DMSO) : 12.56 [1H] s, br, 8.53 [1H] s, 8.46 [1H] d, 8.14 [2H] d, 7.45 [2H] dd, 7.25 [1H] dd. MS: m/z 322 [MH<sup>+</sup>].

【0309】

工程 7 : 5 - (3, 4 -ジメトキシ -フェニル) -3 -フェニル -1 H -ピロロ[2, 3 -b]ピラジンの合成

5.0 mg (0.16 mmol) の 5 -ヨード -3 -フェニル -1 H -ピロロ[2, 3 -b]ピラジン、3.8 mg (0.20 mmol) の 3, 4 -ジメトキシフェニルボロン酸および 6 mg (5 mol %) のジクロロビス(トリフェニルホスフィノ)パラジウム (II) を、バイアルに入れ、1 mL のアセトニトリルおよび 1 mL の 2 M 炭酸ナトリウム水溶液を加え、混合物に、Personal Chemistry (登録商標) マイクロ波反応器中で 165 にて 1200 秒間放射線照射した。得られた混合物を、1.5 mL の炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液および 7.5 mL のジクロロメタンに分配した。有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させた。粗物質を、ジクロロメタン中のメタノールの勾配を用いるシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。単離した生成物を、熱エタノールから結晶化させて、1.4 mg (4.3 μmol、収率 27%) の 5 - (3, 4 -ジメトキシ -フェニル) -3 -フェニル -1 H -ピロロ[2, 3 -b]ピラジンを、オレンジ色の粉末として得た。<sup>1</sup>H-NMR (d6-DMSO) : 12.30 [1H] s, 8.92 [1H] s, 8.43 [1H] s, 8.35 [2H] d, 7.80 [1H] (m), 7.79 [1H] d(m), 7.46 [2H] dd, 7.25 [1H] dd(d), 7.13 [1H] d, 3.92 [3H] s, 3.84 [3H] s. MS: m/z 332 [MH<sup>+</sup>].

【0310】

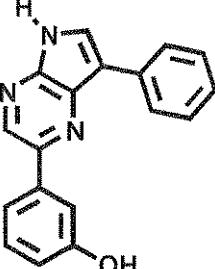
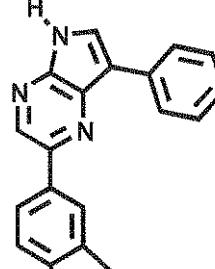
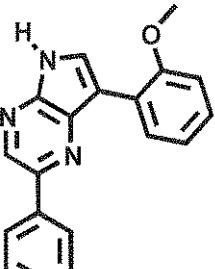
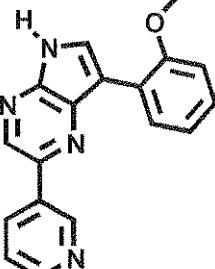
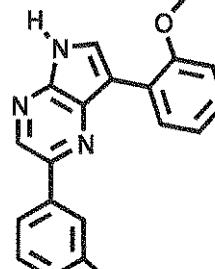
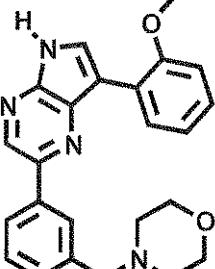
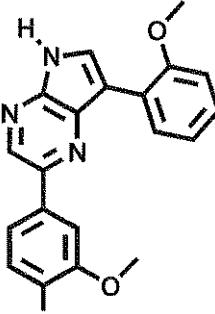
方法 2.1 により製造されるその他の化合物 :

10

20

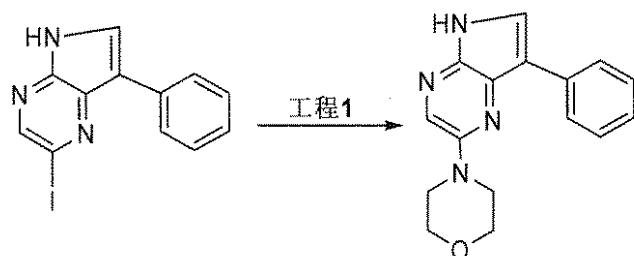
【表 16】

第 16 表

| 構造                                                                                                                                       | 構造                                                                                                                                      | 構造                                                                                                                                       |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|  <p>MS: <math>m/z</math> 288 [MH<math>^+</math>].</p>   |  <p>MS: <math>m/z</math> 311 [MH<math>^+</math>].</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 318 [MH<math>^+</math>].</p>  | 10 |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 303 [MH<math>^+</math>].</p>  |  <p>MS: <math>m/z</math> 341 [MH<math>^+</math>].</p> |  <p>MS: <math>m/z</math> 415 [MH<math>^+</math>].</p> | 20 |
|  <p>MS: <math>m/z</math> 318 [MH<math>^+</math>].</p> |                                                                                                                                         |                                                                                                                                          | 30 |
|                                                                                                                                          |                                                                                                                                         |                                                                                                                                          | 40 |

方法 2 2 :

## 【化35】



## 【0311】

10

工程1：5 - (モルホリン - 4 - イル) - 3 - フェニル - 1H - ピロロ[2,3-b]ピラジンの合成

25 mg (80 μmol) の 5 - ヨード - 3 - フェニル - 1H - ピロロ[2,3-b]ピラジンを、1 ml のモルホリンに溶解した。200 μl の冰酢酸を加え、混合物を、Personal Chemistry (登録商標)マイクロ波反応器中で 250 まで 2400 ~ 4800 秒間加熱した。粗物質を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いる、予めのワークアップなしのシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、13 mg (46 μmol、収率 58%) の 2 - モルホリン - 4 - イル - 7 - フェニル - 1H - ピロロ[2,3-b]ピラジンを、ベージュの固体として得た。1H-NMR (d6-DMSO) : 11.89 [1H] s, 8.19 [1H] s, 8.18 [2H] d, 7.39 [2H] dd, 7.17 [1H] dd, 3.80 [4H] t, 3.52 [4H] t. MS, m/z: 281 [MH<sup>+</sup>].

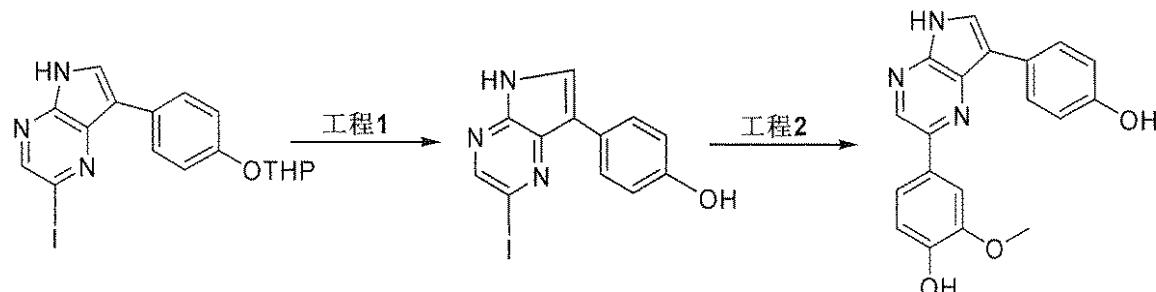
## 【表17】

| 第17表                               |                                    |
|------------------------------------|------------------------------------|
| 構造                                 | 構造                                 |
| <br>MS: m/z 294 [MH <sup>+</sup> ] | <br>MS: m/z 269 [MH <sup>+</sup> ] |
|                                    |                                    |

方法23：

## 【化36】

30



## 【0312】

50

工程 1 : 4 - ( 5 - ヨード - 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 3 - イル ) - フェノールの合成

680 mg の 5 - ヨード - 3 - { 2 - メトキシ - 1 - [ 4 - ( テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ ) - フェニル ] - ビニル } - ピラジン - 2 - イルアミンを、 70 ml の希塩酸水溶液 ( 1 ~ 2 N ) に分散させた。メタノールを加えて出発原料を溶解 ( 10 ~ 20 容量 % ) することにより、清明な溶液を得た。0.5 ml の濃塩酸を加え、混合物を 7 時間還流まで加熱した。混合物を室温に冷却し、16時間攪拌した。混合物を、炭酸水素ナトリウムの添加により中性にし、塩を溶液に保つのに必要であれば水を加えた。得られた混合物をジクロロメタンで 4 回抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させて 428 mg ( 1.27 mmol 、収率 85 % ) の 4 - ( 5 - ヨード - 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 3 - イル ) - フェノールを、十分な純度 (> 85 %) のオレンジ色の固体として得て、これはジクロロメタン - 酢酸エチルから再結晶化でき、 195 mg ( 578 μmol 、収率 39 % ) の純粋な 4 - ( 5 - ヨード - 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 3 - イル ) - フェノールを、黄色がかかったオレンジ色の結晶として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (d6-DMSO) : 12.37 [1H] (d), 9.43 [1H] s, 8.49 [1H] s, 8.26 [1H] d, 7.92 [2H] d, 8.85 [2H] d. MS: m/z 338 [MH<sup>+</sup>].

【 0313 】

工程 2 : 4 - { 5 - [ 3 - メトキシ - 4 ヒドロキシフェニル ] - 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 3 - イル } - フェノールの合成

84 mg ( 0.25 mmol ) の 4 - ( 5 - ヨード - 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 3 - イル ) - フェノール、 120 mg ( 0.33 mmol ) の 2 - [ 3 - メトキシ - 4 - ( 4 - メトキシ - ベンジルオキシ ) - フェニル ] - 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - [ 1 , 3 , 2 ] ジオキサボロラン、および 15 mg ( 8 mol % ) のジクロロビス ( トリフェニルホスフィノ ) パラジウム ( II ) をバイアルに入れ、 1.5 ml のアセトニトリルおよび 1.5 ml の 2 M 炭酸ナトリウム水溶液を加えた。混合物に、 Personnal Chemistry ( 登録商標 ) マイクロ波反応器中で 165 まで 1200 秒間放射線照射した。得られた混合物を、ジクロロメタンと炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液に分配した。水層をジクロロメタンで 2 回抽出し、合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発した。粗物質を、ヘキサン中の酢酸エチルの勾配を用いるシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。得られた中間体を、 120 ml のジクロロメタンに溶解し、 1.5 g ( 2.12 mmol ) の PS - チオフェノール ( Argonaut Technologies ) を加えた。ここに、 2 ml のトリフルオロ酢酸を加え、混合物を室温にて 1 時間攪拌した。樹脂をろ過し、ジクロロメタンで洗浄した。ろ液を炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液で洗浄した。相を分離し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。全ての有機相を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させた。残渣をアセトニトリルと共に加熱し、室温まで冷却し、上清を除去した。残渣を真空乾燥して、 15 mg ( 45 μmol 、収率 18 % ) の 4 - { 5 - [ 3 - メトキシ - 4 ヒドロキシフェニル ] - 1 H - ピロロ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 3 - イル } - フェノールを、ベージュの粉末として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (d6-DMSO) : 12.06 [1H] d, 9.35 [1H] s, 9.30 [1H] s, 8.83 [1H] s, 8.20 [1H] d, 8.12 [2H] d(m), 7.75 [1H] d, 7.65 [1H] dd, 6.93 [1H] d, 6.85 [2H] d(m), 3.91 [3H] s. MS, m/z: 334 [MH<sup>+</sup>].

方法 2 4 :

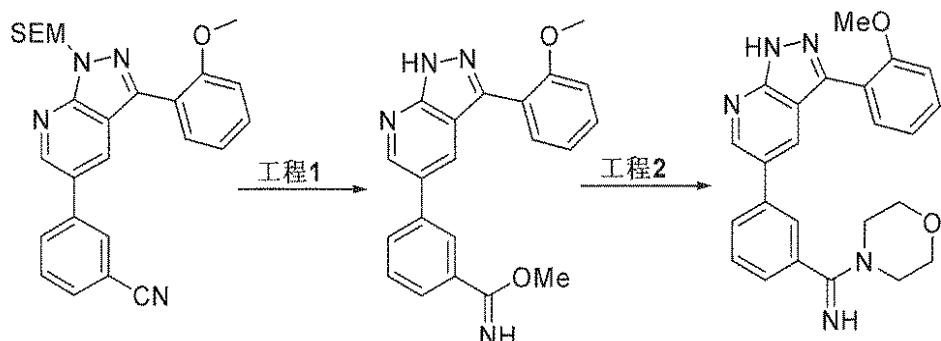
10

20

30

40

## 【化37】



## 【0314】

工程1：メチル3 - (3 - (2 - メトキシフェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル)ベンズイミデートの合成

HClの気体を、3 - [3 - (2 - メトキシフェニル) - 1 - (2 - トリメチルシリル - エトキシメチル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル] - ベンゾニトリル(40mg、0.088mmol)の2.5mLの無水MeOH中の懸濁物に、0℃にて3分間通気した。室温にて23時間の攪拌の後に、エーテル(10mL)を加え、沈殿物が発生した。ろ過の後に固体を回収して乾燥することにより、メチル3 - (3 - (2 - メトキシフェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル)ベンズイミデートを、黄色の固体として得た。

## 【0315】

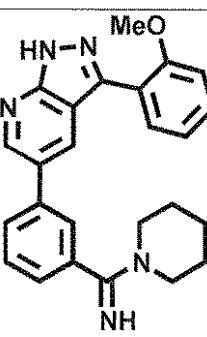
工程2：C - {3 - [3 - (2 - メトキシフェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル] - フェニル} - C - モルホリン - 4 - イル - メチレンアミンの合成

工程からのメチル3 - (3 - (2 - メトキシフェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル)ベンズイミデートのMeOH(1.0mL)溶液に、モルフィリン(15.3mg、0.176mmol)およびトリエチルアミン(90mg、0.88mmol)を加え、混合物を室温にて3日間攪拌した。次いで、溶媒を除去し、粗生成物を逆相HPLCにより精製して、C - {3 - [3 - (2 - メトキシフェニル) - 1H - ピラゾロ[3,4-b]ピリジン - 5 - イル] - フェニル} - C - モルホリン - 4 - イル - メチレンアミン(3.7mg、2工程の収率10%)を、白色固体として得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz, CD3OD) δ: 8.86(d, 2Hz, 1H), 8.45(d, 2Hz, 1H), 8.37(br s, 1H), 8.02(m, 1H), 7.96(t, 1.8Hz, 1H), 7.76(t, 7.8Hz, 1H), 7.66(dd, 1.8Hz, 7.8Hz, 1H), 7.63(m, 1H), 7.49(m, 1H), 7.21(d, 8Hz, 1H), 7.12(dt, 1Hz, 7.8Hz, 1H), 3.95(m, 2H), 3.88(s, 3H), 3.82(m, 2H), 3.78(m, 2H), 3.59(m, 2H). MS: m/z 414.1 [MH<sup>+</sup>].

## 【0316】

方法24により製造されるその他の化合物：

## 【表18】

| 第18表                                                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 構造                                                                                |
|  |
| MS: $m/z$ 412.1 [MH <sup>+</sup> ].                                               |

10

## 【0317】

20

## バイオアッセイ：

当業者に知られるキナーゼアッセイを、本発明の化合物および組成物の阻害活性をアッセイするのに用いてよい。キナーゼアッセイは、限定されないが、次の例を含む。

## 【0318】

これらの例の最初のものは、A b 1 T 3 1 5 I の変異形のキナーゼドメイン（「A b 1 T 3 1 5 I K D」）を用いるが、キナーゼアッセイは、例えばタンパク質全体、キナーゼドメインまたはそれらの一部分（例えばA b 1 Y 3 9 3 F）を含む変異体および野生型酵素の種々の形を用いてよい。アッセイにおいて用いられるキナーゼは、リン酸化状態も多様であってよい。c - A b 1 の例において、ゼロリン酸化状態の変異体キナーゼが用いられた。

## 【0319】

30

## c - A b 1 ピルビン酸キナーゼ / 乳酸デヒドロゲナーゼ連結酵素アッセイ

c - A b 1 ピルビン酸キナーゼ（PK）/ 乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）連結アッセイにおいて、基質ペプチドのプロテインキナーゼ依存性リン酸化を、NADHの酸化と連結した。NADHからNAD<sup>+</sup>への酸化は、340 nmでの吸光度の減少を監視することにより検出した。

## 【0320】

材料：A b 1 基質ペプチド = E A I Y A A P F A K K K - O H (Biopeptide, San Diego, CA)； NADH (Sigmaカタログ番号N-8129, FW=709.4)；2M MgCl<sub>2</sub>；1M HEPES緩衝液、pH 7.5；ホスホエノールピルベート（PEP）(Sigmaカタログ番号P-7002, FW=234)；乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）(Worthington Biochemicalカタログ番号2756)；ピルビン酸キナーゼ（PK）(Sigmaカタログ番号P-9136)；ATP (Sigmaカタログ番号A-3377, FW=551)；Greiner 384ウェルUVstarプレート；および精製されリン酸化されていないT315I A b 1 キナーゼドメイン。

40

## 【0321】

ストック溶液：1日毎に新たに作製する10 mM NADH (miliQ H<sub>2</sub>O中に7.09 mg/ml)；-20にて保存した10 mMのA b 1 基質ペプチド (miliQ H<sub>2</sub>O中に13.4 mg/ml)；100 mM HEPES緩衝液、pH 7.5 (5 mlの1 Mストック + 45 mlのmiliQ H<sub>2</sub>O)；100 mM MgCl<sub>2</sub> (5 mlの2

50

MgCl<sub>2</sub> + 9.5 ml dH<sub>2</sub>O) ; -20 °C にて保存した 100 mM PEP (dH<sub>2</sub>O中に 23.4 mg/ml) ; -20 °C にて保存した 10 mM ATP (dH<sub>2</sub>O中の 5.51 mg/ml) (50 μl を合計 10 ml の miliiQ H<sub>2</sub>O に 1 日毎に希釈 = 50 μM の ATP 作業ストック) ; 液体 N<sub>2</sub> で急速冷凍され -80 °C にて保存された 1000 U/ml LDH (U/mg はロットにより変動する) ; および液体 N<sub>2</sub> で急速冷凍され -80 °C にて保存された 1000 U/ml PK (U/mg はロットにより変動する)。

## 【0322】

3.8.4 ウエルフォーマットの標準的アッセイのセットアップ (反応物 50 μl) : 300 μM NADH; 10 mM MgCl<sub>2</sub>; 2 mM PEP; 45 U/ml PK; 60 U/ml LDH; 200 μM Ab1 基質ペプチド; 2.5 μl 試験化合物 (DMSO 中) ; 2 μg/ml Ab1 キナーゼドメイン; 10 μM ATP; 100 mM HEPES 緩衝液。陽性対照は、試験化合物を含まない DMSO を含んでいた。陰性対照は、5 μl の 0.5 M EDTA (アッセイ中で 50 mM) を含んでいた。c-Ab1-T315I 变異体の脱リン酸化された形は、生化学的スクリーニングアッセイにおいて用いた。キナーゼ反応は、時間 t = 0 に、ATP の添加により開始した。

## 【0323】

活性は、340 nm での吸光分光により NADH の時間依存的な損失を追跡することにより測定した。次いで、得られた経過曲線の直線部分を直線回帰により分析して、吸光度単位 / 時間の活性を得て、その最適近似直線の傾きとして報告した (モル数 / 単位時間は、340 nm での NADH のモル吸光係数である 6250 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> を用いて計算できる)。

## 【0324】

データは、等式:  $Z' = 1 - [3^* (\mu_+ + \mu_-) / (\mu_+ - \mu_-)]$  (Zhangら, 1999 J Biomol Screening 4(2) 67~73) (式中、μ は平均を表し、μ は標準偏差を表す) を用いて評価した。下付き文字は、ポジティブまたは陰性対照を表す。耐性のあるスクリーニングアッセイについての Z' スコアは、0.50 であるはずである。典型的な閾値 =  $\mu_+ - 3^* \mu_-$ 。閾値未満のいずれの値も、「ヒット」と表した。

## 【0325】

用量応答は、等式:  $y = \min + \{(\max - \min) / (1 + 10^{[\text{化合物}] - \log IC_{50}})\}$  (式中、y は観察された初期傾きであり、max = 阻害剤の非存在下での傾き、min = 無限の阻害剤での傾き、IC<sub>50</sub> は観察された全振幅の 1/2 に相当する [化合物] である (振幅 = max - min)) を用いて分析した。

## 【0326】

Ab1 KD の調節、活性化または阻害を測定するために、試験化合物を一連の濃度でアッセイに加えた。阻害剤は、マイクロモルの範囲、ナノモルの範囲または例えばナノモル以下の範囲の IC<sub>50</sub> にて Ab1 KD 活性を阻害し得る。

## 【0327】

付加的なキナーゼアッセイ  
c-Ab1 PK/LDH 連結アッセイ (上記) に加えて、同種の発光ベースの阻害剤スクリーニングアッセイを、c-Ab1、MET、AurA および PDK1 のキナーゼ (なかでも) について開発した。これらのアッセイのそれぞれは、ATP 喪失アッセイ (Kinase-Glo (商標), Promega Corporation, Madison, WI) を用いてキナーゼ活性を定量した。Kinase-Glo (商標) のフォーマットは、熱安定性のルシフェラーゼを用いて、キナーゼ反応の後の溶液中に残存している ATP からの発光シグナルを発生させる。発光シグナルは、キナーゼ活性の量と反比例の関係にある。

## 【0328】

c-Ab1 発光ベースの酵素アッセイ

材料: Ab1 基質ペプチド = EAIIYAAPFAKKK-OH (Biopeptide)

10

20

20

30

40

50

, San Diego, CA)、ATP (Sigmaカタログ番号A-3377, FW=551)、HEPES緩衝液、pH7.5、ウシ血清アルブミン( BSA ) (Roche 92423420)、MgCl<sub>2</sub>、スタウロスボリン(Streptomyces sp. Sigmaカタログ番号85660-1MG)、Costar白色384ウェル平底プレート(VWRカタログ番号29444-088)、Ab1キナーゼ(以下を参照)、Kinase-Glo(商標)(Promegaカタログ番号V6712)。

#### 【0329】

ストック溶液：-20にて保存した10mM Ab1基質ペプチド(miliiQH<sub>2</sub>O中に13.4mg/ml)；100mM HEPES緩衝液、pH7.5(5mlの1Mストック+45mlのmiliiQH<sub>2</sub>O)；-20にて保存した10mM ATP(dH<sub>2</sub>O中に5.51mg/ml)(50μlを合計10mlのmiliiQH<sub>2</sub>Oに1日毎に希釈=50μMのATP作業ストック)；1% BSA(100mlの0.1M HEPES、pH7.5中に1gのBSA、-20にて保存)、100mM MgCl<sub>2</sub>；200μMスタウロスボリン、2×Kinase-Glo(商標)試薬(新たに作製するかまたは-20にて保存する)。

#### 【0330】

384ウェルフォーマットの標準的アッセイのセットアップ(20μlキナーゼ反応、40μl検出反応)：10mM MgCl<sub>2</sub>；100μM Ab1基質ペプチド；0.1% BSA；1μl試験化合物(DMSO中)；0.4μg/ml Ab1キナーゼドメイン；10μM ATP；100mM HEPES緩衝液。陽性対照は、試験化合物を含まないDMSOを含んでいた。陰性対照は、10μMのスタウロスボリンを含んでいた。キナーゼ反応は、時間t=0に、ATPの添加により開始した。キナーゼ反応は、21にて30分間インキュベートし、20μlのKinase-Glo(商標)試薬を各ウェルに加えてキナーゼ反応を停止し、発光反応を開始した。21での20分間のインキュベーションの後に、発光をプレート読み取りルミノメータで検出した。

#### 【0331】

##### MET発光ベースの酵素アッセイ

材料：ポリGlu-Tyr(4:1)基質(Sigmaカタログ番号P-0275)、ATP(Sigmaカタログ番号A-3377, FW=551)、HEPES緩衝液、pH7.5、ウシ血清アルブミン( BSA ) (Roche 92423420)、MgCl<sub>2</sub>、スタウロスボリン(Streptomyces sp. Sigmaカタログ番号85660-1MG)、Costar白色384ウェル平底プレート(VWRカタログ番号29444-088)。METキナーゼ(以下を参照)、Kinase-Glo(商標)(Promegaカタログ番号V6712)。

#### 【0332】

ストック溶液：-20にて保存した10mg/mlのポリGlu-Tyr水溶液；100mM HEPES緩衝液、pH7.5(5mlの1Mストック+45mlのmiliiQH<sub>2</sub>O)；-20にて保存した10mM ATP(50μlを合計10mlのmiliiQH<sub>2</sub>Oに1日毎に希釈=50μMのATP作業ストック)；1% BSA(100mlの0.1M HEPES、pH7.5中に1gのBSA、-20にて保存)、100mM MgCl<sub>2</sub>；200μMスタウロスボリン、2×Kinase-Glo(商標)試薬(新たに作製するかまたは-20にて保存する)。

#### 【0333】

384ウェルフォーマットの標準的アッセイのセットアップ(20μlキナーゼ反応、40μl検出反応)：10mM MgCl<sub>2</sub>；0.3mg/mlのポリGlu-Tyr；0.1% BSA；1μl試験化合物(DMSO中)；0.4μg/ml METキナーゼ；10μM ATP；100mM HEPES緩衝液。陽性対照は、試験化合物を含まないDMSOを含んでいた。陰性対照は、10μMのスタウロスボリンを含んでいた。キナーゼ反応は、時間t=0に、ATPの添加により開始した。キナーゼ反応は、21にて60分間インキュベートし、次いで20μlのKinase-Glo(商標)試薬を各

10

20

50

30

40

50

ウェルに加えてキナーゼ反応を停止し、発光反応を開始した。21での20分間のインキュベーションの後に、発光をプレート読み取りルミノメータで検出した。

### 【0334】

#### AurA発光ベースの酵素アッセイ

材料：Kemptideペプチド基質 = LRRASLG (Biopeptide, San Diego, CA)、ATP (Sigmaカタログ番号A-3377, FW=551)、HEPES緩衝液、pH7.5、10% Brij35 (Calbiochemカタログ番号203728)、MgCl<sub>2</sub>、スタウロスボリン (Streptomyces sp. Sigmaカタログ番号85660-1MG)、Costar白色384ウェル平底プレート (VWRカタログ番号29444-088)、自己リン酸化されたAurAキナーゼ (以下を参照)、Kinase-Glo (商標) (Promegaカタログ番号V6712)。

10

### 【0335】

ストック溶液：-20にて保存した10mM Kemptideペプチド (水中に7.72mg/ml)；100mM HEPES緩衝液 + 0.015% Brij35、pH7.5 (5mlの1M HEPESストック + 75μLの10% Brij35 + 45mlのmilliQ H<sub>2</sub>O)；-20にて保存した10mM ATP (dH<sub>2</sub>O中に5.51mg/ml) (50μlを合計10mlのmilliQ H<sub>2</sub>Oに1日毎に希釈 = 50μMのATP作業ストック)；100mM MgCl<sub>2</sub>；200μMスタウロスボリン、2×Kinase-Glo (商標) 試薬 (新たに作製するかまたは-20にて保存する)。

20

### 【0336】

AurA自己リン酸化反応：ATPおよびMgCl<sub>2</sub>を、それぞれ10mMおよび100mMの最終濃度で、1~5mg/mlのAurAに加えた。自己リン酸化反応は、21にて2~3時間インキュベートした。反応を、EDTAを最終濃度50mMまで加えて停止し、試料を液体N<sub>2</sub>で急速冷凍し、-80にて保存した。

20

### 【0337】

384ウェルフォーマットの標準的アッセイのセットアップ (20μlキナーゼ反応、40μl検出反応)：10mM MgCl<sub>2</sub>；0.2mM Kemptideペプチド；1μl試験化合物 (DMSO中)；0.3μg/ml自己リン酸化されたAurA kinase；10μM ATP；100mM HEPES + 0.015% Brij緩衝液。陽性対照は、試験化合物を含まないDMSOを含んでいた。陰性対照は、5μMのスタウロスボリンを含んでいた。キナーゼ反応は、時間t=0に、ATPの添加により開始した。キナーゼ反応は、21にて45分間インキュベートし、次いで20μlのKinase-Glo (商標) 試薬を各ウェルに加えてキナーゼ反応を停止し、発光反応を開始した。21での20分間のインキュベーションの後に、発光をプレート読み取りルミノメータで検出した。

30

### 【0338】

#### PDK1発光ベースの酵素アッセイ

材料：PDKtideペプチド基質 = (Upstateカタログ番号12-401)、ATP (Sigmaカタログ番号A-3377、FW=551)、HEPES緩衝液、pH7.5、10% Brij35 (Calbiochemカタログ番号203728)、MgCl<sub>2</sub>、スタウロスボリン (Streptomyces sp. Sigmaカタログ番号85660-1MG)、Costar白色384ウェル平底プレート (VWRカタログ番号29444-088)、PDK1キナーゼ (以下を参照)、Kinase-Glo (商標) (Promegaカタログ番号V6712)。

40

### 【0339】

ストック溶液：-20にて保存した1mM PDKtide基質 (200μl中に1mg、Upstateにより供給されたまま)；100mM HEPES緩衝液、pH7.5 (5mlの1M HEPESストック + 45mlのmilliQ H<sub>2</sub>O)；-20にて

50

て保存した10 mM ATP (dH<sub>2</sub>O中に5.51 mg/ml) (25 μlを合計10 mlのmiliQ H<sub>2</sub>Oに1日毎に希釈=25 μMのATP作業ストック); 100 mM MgCl<sub>2</sub>; 2~8にて保存した10% Bright 35; 200 μMスタウロスボリン、2×Kinase-Glo(商標)試薬(新たに作製するかまたは-20にて保存する)。

#### 【0340】

384ウェルフォーマットの標準的アッセイのセットアップ(20 μlキナーゼ反応、40 μl検出反応): 10 mM MgCl<sub>2</sub>; 0.01 mM PDK tide; 1 μl試験化合物(DMSO中); 0.1 μg/ml PDK1キナーゼ; 5 μM ATP; 10 mM MgCl<sub>2</sub>; 100 mM HEPEs+0.01% Bright緩衝液。陽性対照は、試験化合物を含まないDMSOを含んでいた。陰性対照は、10 μMのスタウロスボリンを含んでいた。キナーゼ反応は、時間t=0に、ATPの添加により開始した。キナーゼ反応は、21にて40分間インキュベートし、次いで20 μlのKinase-Glo(商標)試薬を各ウェルに加えてキナーゼ反応を停止し、発光反応を開始した。21での20分間のインキュベーションの後に、発光をプレート読み取りルミノメータで検出した。

10

#### 【0341】

##### 同時発現プラスミドの調製

ホスファターゼ同時発現プラスミドを、次のようにして構築した。

20

#### 【0342】

オーロラキナーゼについてのオープンリーディングフレームを、ホモ・サピエンス(ヒト)HepG2 cDNAライブラリー(ATCC HB-8065)から、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により、次のプライマー:

フォワードプライマー: TCAAAAAAGAGGCAGTGGCTTTG

リバースプライマー: CTGAATTGCTGTGATCCAGG

を用いて増幅した。

30

#### 【0343】

PCR産物(795塩基対が予想された)を、次のようにしてゲル精製した。PCR産物を、1%アガロースゲルでのTAE緩衝液中の電気泳動により精製し、適切なサイズのバンドをゲルから切り出し、標準的なゲル抽出キットを用いて溶出した。溶出したDNAを、トポイソメラーゼを用いてpSB2-TOP1に室温にて5分間連結した。ベクターpSB2-TOP1は、トポイソメラーゼにより活性化されたpET26b(Novagen, Madison, WI)の修飾型であり、次の配列:

30

CATAATGGGCCATCATCATCATCACGGT GGTATATGTCCCTT

がNdeI部位に、かつ次の配列:

AAGGGGGATCTAAACTGCAGAGATCC

がBamHI部位にそれぞれ挿入されている。得られたプラスミドの、シャイン・ダルガルノ配列から「元来の」NdeI部位、停止部位および「元来の」BamHI部位までの配列は、次のとおりである:

AAGGAGGAGATATACATAATGGGCCATCATCATCATCACGGTGGTCATATGTCCCTT [ORF] AAGGGGGATCCTAACTGCAGAGATCC

40

このベクターを用いて発現させたオーロラキナーゼは、N末端に14アミノ酸(MetGlyHisHisHisHisHisGlyGlyHisMetSerLeu)およびC末端に4アミノ酸(GluGlyGlySer)が付加されている。

#### 【0344】

次いで、ホスファターゼ同時発現プラスミドを、バクテリオファージからのホスファターゼ遺伝子を、上記のプラスミドに挿入することにより作製した(Matsui Tら, Biochem. Biophys. Res. Commun., 2001, 284: 798~807)。ホスファターゼ遺伝子を、PCRを用いて、鑄型であるバクテリオファージDNA(HindIII消化、New England Biolabs)から、次

50

のオリゴヌクレオチドプライマー：

フォワードプライマー (P P f o r) : GCAGAGATCCGAATTGAGCTC CGTCGACGGATGGAGTGAAAG AGATGCGC

リバースプライマー (P P r e v) : GGTGGTGGTGCTCGAGTGCAGGCCCAA GCTTCATCATGCGCCTT CTCCCTGTAC

を用いて増幅した。

#### 【0345】

PCR 産物 (744 塩基対が予想された) を、ゲル精製した。次いで、精製 DNA および非同時発現プラスミド DNA を、Sac I および Xho I の制限酵素で消化した。次いで、消化したプラスミドおよび PCR 産物の両方を、ゲル精製し、T4 DNA リガーゼを用いて 16 にて 8 時間連結し、標準的な手法を用いて Top 10 細胞を形質転換した。同時発現プラスミド中のホスファターゼ遺伝子の存在は、配列決定により確認した。ここで行った標準的な分子生物学のプロトコルについては、例えば、Sambrook ら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 2001 および Ausubel ら, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, NY, 1989 に記載される技術も参照されたい。

#### 【0346】

この同時発現プラスミドは、オーロラキナーゼと ホスファターゼの両方の遺伝子を、lac プロモーターの制御下に含み、それぞれがそれ自体のリボソーム結合部位を有している。マルチクローニングサイトの真中で標的遺伝子の下流にホスファターゼをクローニングすることにより、ホスファターゼを他のプラスミドへサブクローニングするための便利な制限部位が利用可能である。これらの部位は、Sac I, Sal I および Eco RI をキナーゼとホスファターゼの間に含み、Hind III, Not I および Xho I をホスファターゼの下流に含む。

#### 【0347】

##### プロテインキナーゼの発現

c - Ab1 についてのオープンリーディングフレームを、新しく採取したマウスの肝臓から調製したムス・ムスクリス (マウス) の cDNA ライブラリーから、市販のキット (Invitrogen) を用いて、次のプライマーを用いる PCR により増幅した：

フォワードプライマー : GACAAGTGGGAAATGGAGC

リバースプライマー : CGCCTCGTTCCCCAGCTC

#### 【0348】

PCR 産物 (846 塩基対が予想された) を、PCR 反応混合物から、PCR クリーンアップキット (Qiaqen) を用いて精製した。精製 DNA を、トポイソメラーゼを用いて pSGX3 - TOPO に室温にて 5 分間連結した。ベクター pSGX3 - TOPO は、トポイソメラーゼにより活性化された pET26b (Novagen, Madison, Wisconsin) の修飾型であり、次の配列 : CATATGTCCCTT が Nde I 部位に、かつ次の配列 : AAGGGCATCATCACCATCACCACTGATCC が Bam HI 部位に挿入されている。得られたプラスミドの、シャイン - ダルガルノ配列から停止部位および Bam HI 部位までの配列は、次のとおりである：

AAGGAGGA GATATACATATGTC CCTT[ORF]AAGGGCATCAT CACCATCACCACTGATCC

このベクターを用いて発現させた c - Ab1 は、その N 末端に 3 アミノ酸 (Met Ser Leu) およびその C 末端に 8 アミノ酸 (Glu Gly His His His His His) が付加されていた。

#### 【0349】

次いで、c - Ab1 / ホスファターゼ同時発現プラスミドを、実施例 1 のオーロラ同時発現プラスミドからホスファターゼを上記のプラスミドにサブクローニングすることによ

10

20

30

40

50

り作製した。オーロラ同時発現プラスミドおよびA b 1 非同時発現プラスミドの両方を、制限酵素E c o R I およびN o t I で3時間消化した。DNA断片をゲル精製し、オーロラプラスミドからのホスファターゼ遺伝子を、消化したc - A b 1 プラスミドと16にて8時間連結し、T o p 1 0 細胞を形質転換した。得られた構築物中のホスファターゼ遺伝子の存在は、制限消化分析により確認した。

### 【0350】

このプラスミドは、c - A b 1 および ホスファターゼの同時発現をコードする。これは、標的遺伝子の上流に2つのユニークな制限部位であるX b a I およびN d e I を有するというさらなる利点を有し、これは、その他の標的タンパク質をこのホスファターゼ同時発現プラスミドにサブクローニングするのに用いることができる。

10

### 【0351】

A b 1 T 3 1 5 I を、Q u i c k C h a n g e 突然変異誘発キット ( S t r a t a g e n e ) を製造業者の推奨手順に従って用い、以下のオリゴヌクレオチド：

Mm05582dS4 5'-CCACCATTCTACATAATCATTGAGTCATGACCTATGGG-3'

Mm05582dA4 5'-CCCATAGGTCAACTCAATGATTATGTAGAATGGTGG-3'

を用いてA b 1 プラスミドを修飾することにより調製した。

### 【0352】

ホスファターゼ同時発現プラスミドからのタンパク質は、次のようにして精製した。非同時発現プラスミドを、化学的にコンピテントなB L 2 1 ( D E 3 ) C o d o n + R I L ( S t r a t a g e n e ) 細胞に形質転換し、同時発現プラスミドを、B L 2 1 ( D E 3 ) p S A 0 1 4 5 ( ファージの溶菌遺伝子を発現し、凍結融解により溶菌する株 ( C r a b t r e e S , C r o n a n J E J r . J B a c t e r i o l 1 9 8 4 A p r ; 1 5 8 ( 1 ) : 3 5 4 ~ 6 ) ) に形質転換し、カナマイシン含有L B アガードラム含有L B 中で - 8 0 にて貯蔵した。このグリセロール含有L B アガードラム含有L B の1 0 m l 培養に植菌するのに用い、これを振とうしながら3 0 にて一晩インキュベートした。この培養を、カナマイシンおよびクロラムフェニコール含有L B の5 0 0 m l を含む2 L フラスコに植菌するのに用い、これを3 7 にて対数中期まで増殖させ、I P T G を0 . 5 m M の最終濃度まで添加することにより誘導した。誘導の後に、フラスコを振とうしながら2 1 にて1 8 時間インキュベートした。

20

### 【0353】

c - A b 1 T 3 1 5 I K D ( キナーゼドメイン ) は、次のようにして精製した。細胞を遠心分離により回収し、希釈した分解緩衝液 ( 5 0 m M T r i s H C l 、p H 7 . 5 、5 0 0 m M K C l 、0 . 1 % T w e e n 2 0 、2 0 m M イミダゾール ) 中で超音波破碎を用いて溶解し、遠心分離して細胞破片を除去した。可溶性画分は、ニッケルを充填したI M A C カラム ( P h a r m a c i a , U p p s a l a , S w e d e n ) にかけて精製し、5 0 m M T r i s 、p H 7 . 8 、5 0 0 m M N a C l 、1 0 m M メチオニン、1 0 % グリセロール中にイミダゾールの2 0 m M ~ 5 0 0 m M の勾配を用いて、未変性条件下で溶出した。次いでタンパク質を、G F 5 緩衝液 ( 1 0 m M H E P E S 、p H 7 . 5 、1 0 m M メチオニン、5 0 0 m M N a C l 、5 m M D T T および1 0 % グリセロール ) で平衡化したS u p e r d e x 7 5 調製グレードのカラムを用いるゲルろ過によりさらに精製した。精製c - A b 1 T 3 1 5 I K D キナーゼドメインを含む画分をプールした。得られたタンパク質は、S D S ポリアクリルアミドゲルでの電気泳動から判断して、9 8 % の純度であった。精製タンパク質の質量分光分析は、これは主に一リン酸化されていることを示した。次いで、タンパク質を、シュリンプアルカリホスファターゼ ( M B I F e r m e n t a s , B u r l i n g t o n , C a n a d a ) を、次の条件下で用いて、脱リン酸化した：1 m g のc - A b 1 T 3 1 5 I K D 当たり1 0 0 U のシュリンプアルカリホスファターゼ、1 0 0 m M M g C l <sub>2</sub> および2 5 0 m M のさらなるN a C l 。反応は、2 3 にて一晩行った。タンパク質は、質量分光分析により、リン

30

40

40

50

酸化されていないことが決定された。いずれの沈殿物をスピノにより除去し、G F 4 緩衝液(10 mM HEPES, pH 7.5, 10 mM メチオニン、150 mM NaCl、5 mM DTTおよび10%グリセロール)で平衡化したSuperdex 75調製グレードカラムを用いるゲルろ過により、可溶性画分を反応物から分離した。

#### 【0354】

##### Met の精製：

ヒトMetのキナーゼドメインを発現する12LのSf9昆虫細胞培養の半分から得た細胞ペレットを、元の培養物1L当たり約40mlの容量の、50 mM Tris-HCl pH 7.7および250 mM NaClを含有する緩衝液に再懸濁した。Roche Complete、EDTAフリープロテアーゼ阻害剤カクテル(カタログ番号1873580)1錠を、元の培養物1L当たり加えた。懸濁物を4にて1時間攪拌した。39,800×gで4にて30分間の遠心分離により、破片を除去した。上清を500 mlビーカーにデカントし、50 mM Tris-HCl pH 7.8、50 mM NaCl、10%グリセロール、10 mM イミダゾールおよび10 mM メチオニンで予め平衡化した10 mlのQiagen Ni-NTA Agarose(カタログ番号30250)の50%スラリーを加え、4にて30分間攪拌した。次いで、試料をドリップカラムに4にて注ぎ、10カラム容量の50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10%グリセロール、10 mM イミダゾールおよび10 mM メチオニンで洗浄した。50 mM、200 mM および500 mM のイミダゾールを含有する同じ緩衝液のそれぞれ2カラム容量ずつを順次用いる段階勾配を用いて、タンパク質を溶出した。6×ヒスチジンタグは、タンパク質1 mg当たり40ユニットのTEVプロテアーゼ(Invitrogenカタログ番号10127017)を一晩用いて、50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10%グリセロール、10 mM イミダゾールおよび10 mM メチオニン中で4にて透析しながら切断した。ニッケルを充填し、50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10%グリセロール、10 mM イミダゾールおよび10 mM メチオニンで平衡化したPharmacia 5 ml IMACカラム(カタログ番号17-0409-01)に試料を通すことにより、6×ヒスチジンタグを除去した。切断したタンパク質は、ニッケルカラムに低い親和性で結合し、段階勾配を用いて溶出された。段階勾配は、15%、次いで80%のB-side(A-side=50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10%グリセロール、10 mM イミダゾールおよび10 mM メチオニン; B-side=50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10%グリセロール、500 mM イミダゾールおよび10 mM メチオニン)をそれぞれ4カラム容量用いて行った。Metタンパク質は第一段階(15%)で溶出されたが、非切断Metおよび切断されたヒスチジンタグは、80%画分に溶出された。15%の画分は、SDS-PAGEゲル分析により切断されたMetの存在を確認した後にプールし、50 mM Tris-HCl pH 8.5、150 mM NaCl、10%グリセロールおよび5 mM DTTで平衡化したAmersham Biosciences HiLoad 16/60 Superdex 200調製グレード(カタログ番号17-1069-01)でのゲルろ過クロマトグラフィーによりさらに精製した。最もきれいなフラクションを合わせ、Amicon Ultra-15 10,000Da MWCO遠心フィルターユニット(カタログ番号UFC901024)中の遠心分離により、約10.4 mg/mlまで濃縮した。

#### 【0355】

##### AurA の精製：

ヒトオーロラ-2を発現する培養細胞6Lから得たSf9昆虫細胞ペレット(約18 g)を、50 mM リン酸Na pH 8.0、500 mM NaCl、10%グリセロール、0.2%n-オクチル-β-D-グルコピラノシド(BOG)および3 mM β-メルカプトエタノール(BME)中に再懸濁した。Roche Complete、EDTAフリープロテアーゼ阻害剤カクテル(カタログ番号1873580)1錠および85ユニッ

10

20

30

40

50

トのベンゾナーゼ (Novagen カタログ番号 70746-3) を、元の培養物 1 L 当たり加えた。ペレットを、元の培養物 1 L 当たり約 50 mL 中に再懸濁し、次いで、氷上で 2 回の 30 ~ 45 秒のバーストを用いて超音波破碎した (100% デューティーサイクル)。破片を遠心分離により除去し、上清を 0.8 μm のシリンドリカルフィルターを通した後に、5 mL の Ni<sup>2+</sup> HiTrap カラム (Pharmacia) にロードした。カラムを、50 mM リン酸 Na pH 8.0、500 mM NaCl、10% グリセロール、3 mM BME の 6 カラム容量で洗浄した。500 mM イミダゾールを含有する同じ緩衝液の直線勾配を用いて、タンパク質を溶出した。溶出液 (24 mL) を、50 mM リン酸 Na pH 8.0、500 mM NaCl、10% グリセロール、3 mM BME および 10,000 ユニットの TEV (Invitrogen カタログ番号 10127-017) を含有する緩衝液中で 4 時間に一晩切断した。タンパク質を、上記のような二番目のニッケル親和性カラムに通した。フロースルーを回収した。切断されたタンパク質画分を合わせ、スピノ濃縮器を用いて濃縮した。さらなる精製は、50 mM リン酸 Na (pH 8.0)、250 mM NaCl、1 mM EDTA、0.1 mM AMP-PNP または ATP 緩衝液、および 5 mM DTT 中での S75 分級カラムでのゲルろ過クロマトグラフィーにより行った。最もきれいな画分を合わせ、約 8 ~ 11 mg / mL に濃縮し、120 μL の一定量で液体窒素中で急速冷凍し、-80 ℃ にて貯蔵するか、または 4 ℃ にて貯蔵した。

## 【0356】

## PDK1 の精製 :

ヒト PDK1 を発現する 6 L の Sf9 昆虫細胞から得た細胞ペレットを、元の培養物 1 L 当たり約 40 mL の容量で 50 mM Tris-HCl pH 7.7 および 250 mM NaCl を含有する緩衝液に再懸濁した。Roche Complete、EDTA フリー プロテアーゼ阻害剤カクテル (カタログ番号 1873580) 1 錠および 85 ユニットのベンゾナーゼ (Novagen カタログ番号 70746-3) を、元の培養物 1 L 当たり加えた。懸濁物を 4 ℃ にて 1 時間攪拌した。39,800 × g で 4 時間に 30 分間の遠心分離により、破片を除去した。上清を 500 mL ビーカーにデカントし、50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10% グリセロール、10 mM イミダゾールおよび 10 mM メチオニンで予め平衡化した 10 mL の Qiagen Ni-NTA Agarose (カタログ番号 30250) の 50% スラリーを加え、4 ℃ にて 30 分間攪拌した。次いで、試料をドリップカラムに 4 ℃ にて注ぎ、10 カラム容量の 50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10% グリセロール、10 mM イミダゾールおよび 10 mM メチオニンで洗浄した。50 mM および 500 mM のイミダゾールを含有する同じ緩衝液のそれぞれ 2 カラム容量ずつを順次用いる段階勾配を用いて、タンパク質を溶出した。6 × ヒスチジンタグは、タンパク質 1 mg 当たり 40 ユニットの TEV プロテアーゼ (Invitrogen カタログ番号 10127017) を一晩用いて、50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10% グリセロール、10 mM イミダゾールおよび 10 mM メチオニン中で 4 ℃ にて透析しながら切断した。ニッケルを充填し、50 mM Tris-HCl pH 7.8、500 mM NaCl、10% グリセロール、10 mM イミダゾールおよび 10 mM メチオニンで平衡化した Pharmacia 5 mL IMAC カラム (カタログ番号 17-0409-01) に試料を通すことにより、6 × ヒスチジンタグを除去した。切断したタンパク質は、フロースルー中に溶出されたが、切断されていないタンパク質および His タグは、Ni カラムに結合したままであった。切断したタンパク質の画分を合わせ、スピノ濃縮器を用いて濃縮した。さらなる精製は、25 mM Tris-HCl pH 7.5、150 mM NaCl および 5 mM DTT で平衡化した Amersham Biosciences Hiload 16/60 Superdex 200 調製グレード (カタログ番号 17-1069-01) でのゲルろ過クロマトグラフィーにより行った。最もきれいな画分を合わせ、Amicon Ultra-15 10,000 Da MWCO 遠心分離フィルターユニット (カタログ番号 UFC901024) での遠心分離により、約 50

15 mg / ml まで濃縮した。

【0357】

細胞アッセイ

MV4-11およびTHP細胞を、10%胎児ウシ血清(FBS)およびペニシリン/ストレプトマイシンを補ったイスコブ改変ダルベッコ培地で維持し、Ba/F3細胞を、10%FBS、ペニシリン/ストレプトマイシンおよび5ng/mlの組換えマウスIL-3を補ったRPMI1640で維持した。

【0358】

細胞生存アッセイ

化合物を、以下のアッセイにおいて二重に試験した。

10

【0359】

96ウェルXTTアッセイ：細胞を、種々の濃度の化合物（二重）を含有する増殖培地中で96ウェルプレートにおいて、37にて72時間増殖させた。最初の細胞数は、ウェル当たり5000~8000細胞であり、容量は120μlであった。72時間のインキュベーションの後に、40μlのXTT標識混合物(3'-[1-(フェニルアミノカルボニル)-3,4-テトラゾリウム]-ビス(4-メトキシ-6-ニトロ)ベンゼンスルホン酸ナトリウム水和物と電気的共役試薬：PMS(N-メチルジベンゾピラジンメチルサルフェート)の50:1溶液)を、プレートの各ウェルに加えた。37にてさらに2~6時間インキュベーションした後に、650nmでのバックグラウンドを補正した405nmでの吸光度の読みを、分光光度計で測定した。

20

【0360】

384ウェルアラマーブルーアッセイ：90μlの細胞懸濁物を、0.5μlのDMSO中の化合物またはDMSOのみを予め入れた384ウェルプレートの各ウェルに入れた。最初の細胞数は、ウェル当たり4000細胞であった。72時間のインキュベーションの後に、10μlのアラマーブルー溶液(440μMラザズリンのPBS溶液)を、プレートの各ウェルに加えた。37にてさらに2時間インキュベーションした後に、励起535nmおよび発光591nmを用いるTECANプレート読み取り蛍光光度計を用いて蛍光を測定した。

【0361】

BCLR-ABLホスホ-ELISAアッセイ

30

以下の表は、BCLR-ABLホスホ-ELISA(「P-ELISA」)アッセイにおいて典型的に用いた試薬を示す。

【表 19 - 1】

| 第19表. BCR-ABLホスホ-ELISA(p-ELISA)典型試薬リスト                       |                            |                     |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------|
| 記載                                                           | 製造元                        | カタログ番号              |
| RPMI 1640                                                    | Invitrogen                 | 11875-135           |
| 特徴付けされた、熱不活性化<br>10% ウシ胎仔血清                                  | VWR                        | 16777-014           |
| ヒト血漿、抗凝固剤=EDTA                                               | Bioreclamation<br>Inc.     | HMPLEDTA            |
| c-Ab1 (Ab-3)モノクローナル<br>抗体                                    | VWR                        | 80001-286           |
| 組換え型マウスインターロイ<br>キン-3                                        | Chemicon                   | IL015               |
| 粘着性プレートシール                                                   |                            |                     |
| 96ウェル PP 325μl 温度制御<br>用蓋 (lid TC) を有する丸底<br>プレート            | Thompson Instr<br>ument Co | 932465              |
| 96ウェル Nunc Maxisorpプレ<br>ート(比色分析について)                        | Fisher Scienti<br>fic      | 12-565-136          |
| 96ウェル 白色平底プレート<br>(発光分析について)                                 | Matrix                     | 4923                |
| 溶解緩衝成分                                                       |                            |                     |
| Tris-C1 pH7.4 (20mM)                                         |                            |                     |
| NP-40 (1%)                                                   |                            |                     |
| EDTA (5mM)                                                   |                            |                     |
| ピロリン酸ナトリウム<br>(NaPP; 5mM)                                    |                            |                     |
| NaF (5mM)                                                    |                            |                     |
| NaCl (150mM)                                                 |                            |                     |
| プロテアーゼ阻害剤カクテル                                                | Sigma                      | P2714               |
| PMSF (1mM)                                                   |                            |                     |
| バナジウム酸ナトリウム<br>(NaVO <sub>4</sub> ; 2mM)                     |                            |                     |
| PBS, 氷冷                                                      |                            |                     |
| 抗ホスホチロシン (4G10 <sup>TM</sup> ),<br>HRPコンジュゲートまたは非<br>コンジュゲート | Upstate                    | 16-105または<br>05-321 |
| ヤギ抗マウス IgG, HRPコンジ<br>ュゲート (非コンジュゲート<br>ならば4G10を用いる)         | Upstate                    | 12-349              |

10

20

30

40

【0362】

【表19-2】

| 記載                                                     | 製造元            | カタログ番号 |
|--------------------------------------------------------|----------------|--------|
| BD OptEIA試薬セットB                                        | BD Biosciences | 550534 |
| コーティング緩衝液<br>(0.1M 炭酸Na, pH 9.5)                       |                |        |
| アッセイ希釈                                                 |                |        |
| 洗浄緩衝液 (.05%Tween/PBS)                                  |                |        |
| ストップ(Stop) 溶液<br>(2N硫酸)                                |                |        |
| 基質試薬A&B                                                |                |        |
| SuperSignal ELISA ピコ化学<br>発光基質(基質試薬A&Bの代わりに使用することができる) | Pierce         | 37070  |

10

## 【0363】

細胞(WT BCR-ABL、その他のキナーゼ、またはBCR-ABLのT315I、Y253Fもしくはその他の変異形でトランスフェクションしたBa/F<sub>3</sub>細胞)を、IL-3の非存在下で、アッセイ前に少なくとも1/2週間増殖させた。アッセイの前日に、細胞に新鮮な培地を供給することにより、アッセイ時に細胞を対数期にした。IL-3の非存在下で少なくとも1/2週間増殖したBa/F<sub>3</sub>細胞を、RPMI1640に再懸濁して、96ウェルプレートの各ウェルが約200,000細胞を含むようにした。細胞を、試験化合物を一連の希釈濃度で含有する96ウェルプレートに分配した。細胞を、試験化合物の存否で、5%CO<sub>2</sub>、37°Cにて60~120分間典型的にインキュベートした。インキュベーションは、10%FCSまたは50%ヒト血漿のようなその他の添加物の存否で行った。化合物のインキュベーションの後に、溶解緩衝液を加え、10~15分間インキュベーションした。溶解物は、遠心分離により清明にした。

20

## 【0364】

ELISAプレートを作製するために、市販の抗ABL抗体(例えばAb-3, Calbiochem OP20)を、コーティング緩衝液(0.1M炭酸Na、pH 9.5)中に0.125μg/mlの濃度で調製し、プレート当たり10mlを入れた(12.5μl 100μg/ml Ab/10ml)。高結合マルチウェルプレートにおいて、コーティング緩衝液中の100μlのAbを各ウェルに加え、各プレートをプレートシールで覆い、4°Cにて一晩インキュベートした。

30

## 【0365】

過剰の抗体を除去し、ELISAプレートを、200μlの洗浄緩衝液(PBS中に0.05%Tween、pH 7.4)で3~4回洗浄した。150μlの溶解物(上記を参照)を、ELISAプレートに移した。プレートをシールし、室温にて2時間インキュベートした。検出抗体(例えばHRP複合抗pTyrまたは未複合の-p-Y-4G10, Upstate)を、アッセイ希釈液中に調製した。抗体を、アッセイ希釈液中に1:1000(ストック=2μg/μl、100μl中に200μg; f.c.=2μg/ml)に希釈し、プレート当たり10mlの希釈した抗体を加えた。溶解物をELISAプレートから除去し、ウェルを、ウェル当たり200μlの洗浄緩衝液で4回洗浄した。100μlの検出抗体を、各ウェルに加えた; プレートを覆い、室温(21°C)にて1時間インキュベートした。過剰の検出抗体をELISAプレートから除去し、ウェルを、ウェル当たり200μlの洗浄緩衝液で4回洗浄した。

40

## 【0366】

所望により(すなわち、未複合の抗pTyr抗体について)、二次抗体(ヤギ抗ウサギHRP)を、アッセイ希釈液中に1:3000で希釈し(10mlの希釈液当たり3.33μl)、プレート当たり10mlの希釈した抗体を加えた。過剰の二次抗体をELIS

50

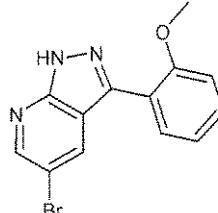
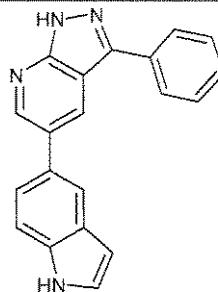
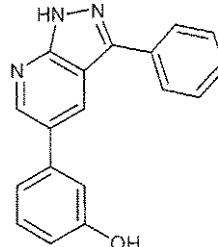
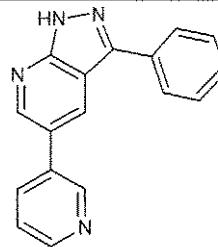
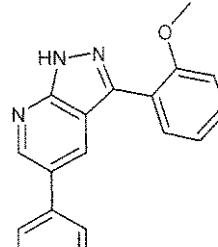
A プレートから除去し、プレートをウェル当たり  $200\text{ }\mu\text{l}$  の洗浄緩衝液で 4 回洗浄した。

【 0 3 6 7 】

基質試薬 A および基質試薬 B ( Pierce カタログ番号 37070 SuperSignal E L I S A Pico Chemiluminescent Substrate ) を、使用の直前に加えた ( プレート当たり  $10\text{ ml}$  の得られた溶液 )。  $100\text{ }\mu\text{l}$  の基質を各ウェルに加え、1 分間混合して、化学発光シグナルを、ルミノメータを用いて測定した。

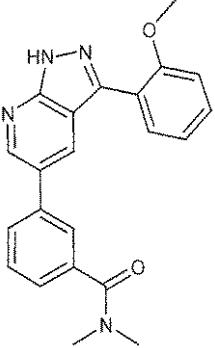
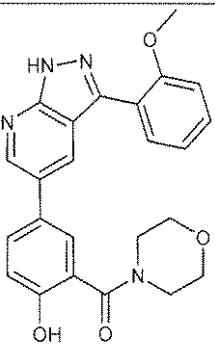
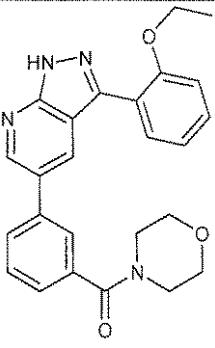
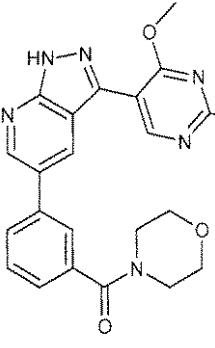
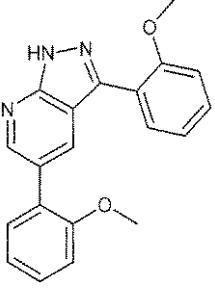
【表 20 - 1】

第20表 選択されたアッセイ結果 :

| 化合物                                                                                 | Abl_T<br>315I_0<br>P IC50 | Abl_Y<br>393F I<br>C50 | P_Elisa_[T315<br>I_細胞]またはB<br>a/F3 T315I増殖<br>(XTT) | AurA I<br>C50 | MET I<br>C50 | PDK1<br>IC50 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------|---------------|--------------|--------------|
|    | C                         | C                      | B                                                   |               |              |              |
|    | C                         | C                      | B                                                   |               |              |              |
|   | C                         | C                      | C                                                   |               |              |              |
|  | C                         | C                      | A                                                   |               |              |              |
|  | C                         | C                      | B                                                   |               |              |              |

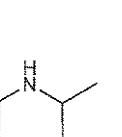
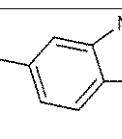
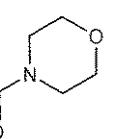
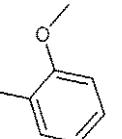
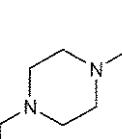
【0 3 6 8】

【表 20 - 2】

|                                                                                     |   |   |   |  |  |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|--|--|--|--|
|    | C | C | C |  |  |  |  |
|    | C | C | C |  |  |  |  |
|   | C | C | B |  |  |  |  |
|  | C | C | B |  |  |  |  |
|  | C | C | B |  |  |  |  |

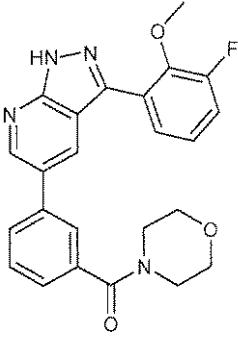
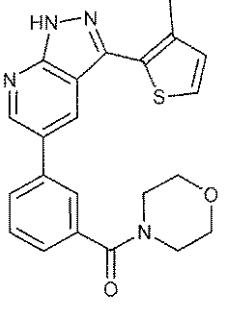
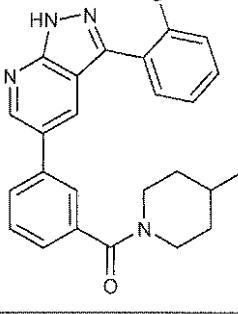
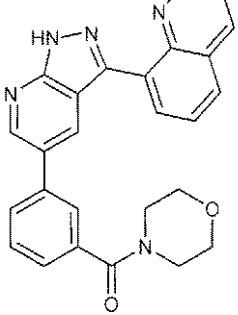
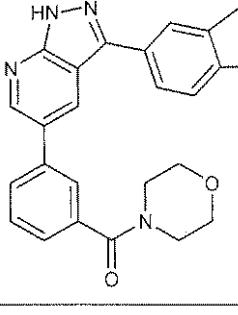
【0369】

【表 2 0 - 3】

|                                                                                     |   |   |   |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|--|--|
|    | C | C | B |  |  |
|    | C | C | B |  |  |
|    | C | C | C |  |  |
|   | C | C | C |  |  |
|  | C | C | B |  |  |

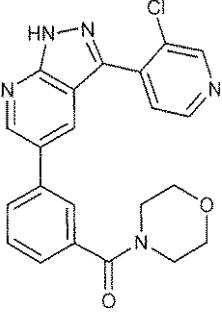
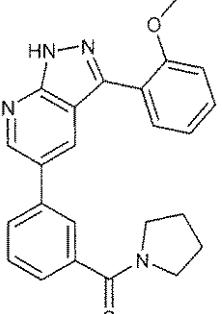
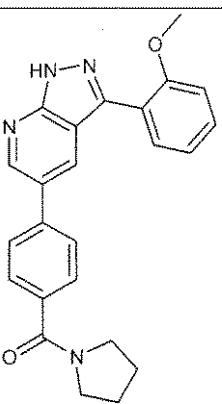
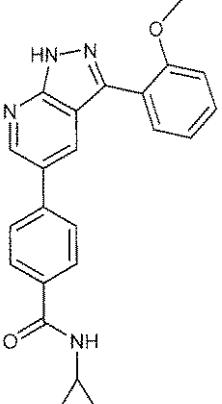
【 0 3 7 0 】

【表 20 - 4】

|                                                                                     |   |   |   |  |  |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|--|--|--|--|
|    | C | C | C |  |  |  |  |
|    | C | C | C |  |  |  |  |
|   | C | C | C |  |  |  |  |
|  | C | C | C |  |  |  |  |
|  | C | C | B |  |  |  |  |

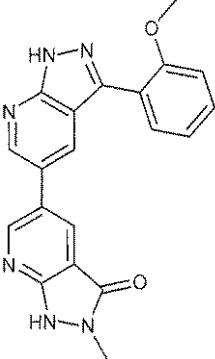
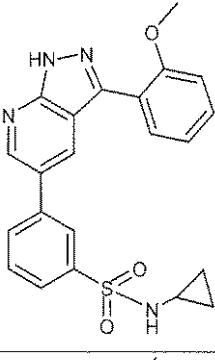
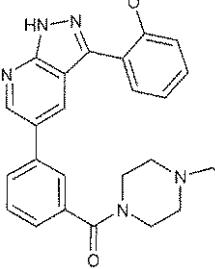
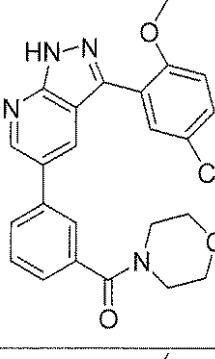
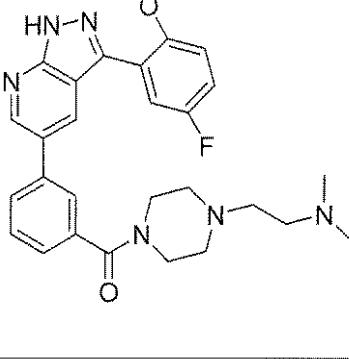
【0371】

【表 20 - 5】

|                                                                                     |   |   |   |  |  |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|--|--|--|--|
|    | C | C | B |  |  |  |  |
|    | C | C | C |  |  |  |  |
|   | C | C | B |  |  |  |  |
|  | C | C | C |  |  |  |  |

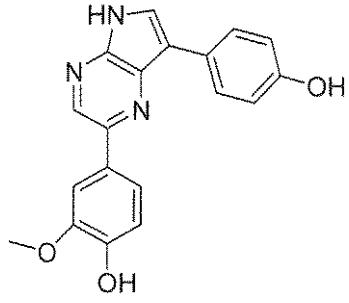
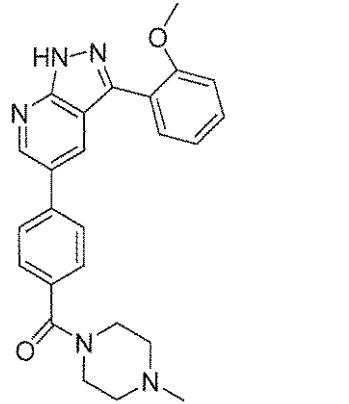
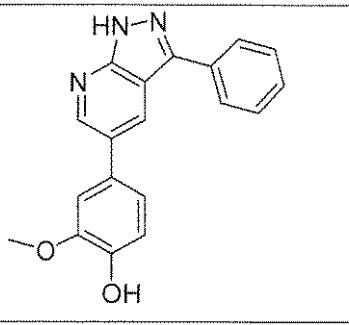
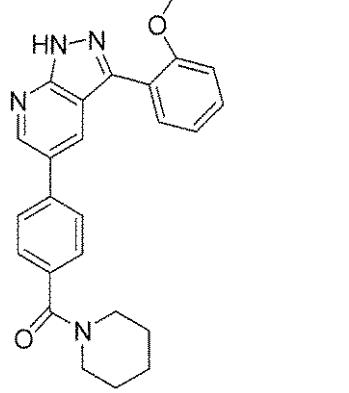
【0372】

【表 20 - 6】

|                                                                                     |   |   |   |   |   |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|--|--|
|    | C | C | B |   |   |  |  |
|    | C | C | C |   |   |  |  |
|   | C | C | C |   |   |  |  |
|  | C | C | A | C |   |  |  |
|  | C | C | C |   | B |  |  |

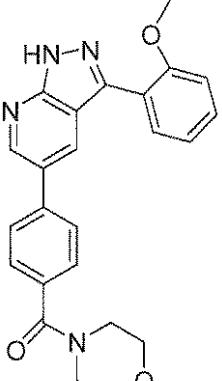
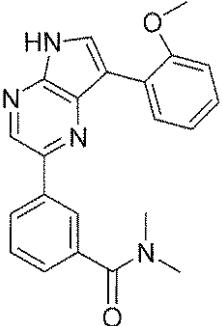
【0373】

【表 20 - 7】

|                                                                                     |   |   |   |  |   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|--|---|----|
|    | C | C | C |  | B | 10 |
|    | C | C | C |  | B | 20 |
|   | C | C | B |  | B | 30 |
|  | C | B |   |  | B | 40 |

【0374】

【表 20 - 8】

|                                                                                   |   |   |   |  |  |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|--|--|---|
|  | C | C | B |  |  | B |
|  | C | C | A |  |  |   |

上記第21表について、活性記号は、以下のようにIC50を示す：A>10  $\mu$ M；B=1~10  $\mu$ M；C<1  $\mu$ M。

【図面の簡単な説明】

【0375】

【図1】図1は、ABLエキソンIaによる野生型ABLの番号付けを示す。

10

20

## 【図1】

```

MLEICLKLVGCKSKKGGLSSSSCYLEEAALQRPVASDFEPQGLSEAARWNS
1
KENLLAGPSENDPNLFVALYDFVAGDNTLSTIKGEKLRVLGYNHNGEWC
51      50
EAQTKNGQGWVPSNYITPVNSLEKHSWYHGPVSRNAAEYLSSGINGSFL
101     100
VRESESSPCQRISIISRYEGRVYHYRINTASDGKLYVSSSERFNTLAELVH
151     150
151      200
HHSTVADGLITLHYPAPKRNPVTYGVSPNYDKWEMERTDITMKHKLGG
201     250
GQYGEVVEGVWKYSLTAVAKTLKEDTMEVEEFLKEAAVMKEIKHPNLVQ
251     300
LLGVCTREPPFYITEMTYGNLLDLRECNRQEVDNAVVLLYMATQISSA
301     350
351
MEYLEKKNFUHRDLAARNCLVGENHLVKVADGLSRLMTCDTTAHAGAK
351     400
400
FPPIKWTAPESLAYNKFSIKSDVWAFGVLLWEIATYGMSPYPGIDLSQVYE
401     450
451
LLEKDYRMRERPEGCPKVEYLMRACWQWNPSDRPSFAEIHQAFETMFQES
451     500
500
SISDEVEKELGKQGVGRGAVSTLLQAPELPTKTRTSRRRAAEHRITTDVPEM
501     550
551
PHSKGQGESDPLDHEPAVSPLLPRKERGPPEGGLNEDERLPKDKKTNLF
551     600
600
SAJJKKKKKTAPTPKRSSSFREMDGQPERRGAGEEEGRDJSNGALAPF
601     650
650
LDTADPAKSPKPSNGAGVPNALRESGGSGFRSPHLWKKSSLTSSRLAT
651     700
700
GEEEGBGSSSKRFLRSCSASCVPHGAKDTEWRSTVTPRLQSTGRQFDSS
701     750
750
TFGGHKSEKPALPRKRAGENRSQVTTRGTVTPPRILVKKNEEADEVFKD
751     800
800
IMESSPGSSPPNLTPKPLRRQVTAVASGLPHKEEAEKGSALGTAAEP
801     850
850
VTPTSKAGSGAPGGTSKGPAEESVRRRHKHSSESPGRDKGKLSRLKAPP
851     900
900
PPPAASAGKAGGKPSQSPSQAEGEAVLGAKTKATSLVDAVNSDAAKPSQ
901     950
950
PGEGLKKVLPATPKPQSAKPSGTPISPAPVPSLPSASSALAGDQPSST
951     1000
1000
AFIPLISTRVSLRKTRQPPBRIASGAITKGVVLDSTEALCLAISRNSEQM
1001    1050
1050
ASHSAVLEAGKNLYTFCVSYVDSIQQMRNKFAFREAINKLENNLRELQIC
1051    1100
1100
PATAGSGPAATQDFSKLLSSVKEISDIVQR
1101    1130

```

## 【手続補正書】

【提出日】平成18年10月25日(2006.10.25)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項32

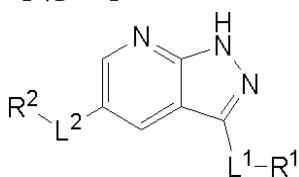
【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項32】

プロテインキナーゼを、式：

【化4】



[式中、

L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>は独立して、結合、-S(O)<sub>n</sub>-、-O-、-NH-、非置換C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレン、または非置換2～5員ヘテロアルキレン（ここに、nは0～2の整数である）であり、

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであるが、但し、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>が共に非置換フェニルであるとき、L<sup>1</sup>は非置換2～5員ヘテロアルキレンではない]

で示される化合物と接触させることを特徴とする、プロテインキナーゼの活性を調節する方法。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項36

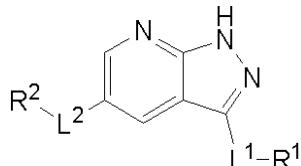
【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項36】

治療を必要とする対象における癌、アレルギー、喘息、炎症、閉塞性気道疾患、自己免疫疾患、代謝疾患、感染、CNS疾患、脳腫瘍、肥満、喘息、血液学的疾患、神経変性疾患、心血管疾患、または血管新生、新血管新生もしくは脈管形成を伴う疾患の治療方法であって、対象に、式：

【化5】



〔式中、

$L^1$  および  $L^2$  は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、非置換  $C_1 \sim C_5$  アルキレン、または非置換 2～5員ヘテロアルキレン（ここに、 $n$  は 0～2 の整数である）であり、

$R^1$  および  $R^2$  は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであるが、但し、 $R^1$  および  $R^2$  が共に非置換フェニルであるとき、 $L^1$  は非置換 2～5 員ヘテロアルキレンではない]

で示される治療的有効量の化合物を投与することを含む方法。

【手続補正3】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項38

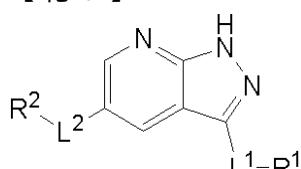
【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項38】

医薬的に許容される賦形剤と、請求項1、28もしくは29の一項に記載の化合物または式：

【化6】



〔式中、

$L^1$  および  $L^2$  は独立して、結合、 $-S(O)_n-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、非置換  $C_1 \sim C_5$  アルキレン、または非置換 2～5 員ヘテロアルキレン（ここに、 $n$  は 0～2 の整数である）であり、

$R^1$  および  $R^2$  は独立して、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアリール、または置換もしくは非置換アリールであるが、但し、 $R^1$  および  $R^2$  が共に非置換フェニルであるとき、 $L^1$  は非置換 2～5 員ヘテロアルキレンではない]

で示される化合物とを含む医薬組成物。

【手続補正書】

【提出日】平成19年3月28日(2007.3.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2008508304000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                    |                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Int'l application No.                                                                                                                                                                                                                            | PCT/US2005/026794                                                                                                                                  |                                                              |
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                    |                                                              |
| INV.                                                                                                                                                                                                                                             | C07D471/04 C07D487/04 A61K31/437 A61K31/4985 A61P35/00                                                                                             |                                                              |
|                                                                                                                                                                                                                                                  | A61P37/00 A61P29/00 A61P25/00 A61P9/00                                                                                                             |                                                              |
| ADD.                                                                                                                                                                                                                                             | C07D231/00 C07D221/00 C07D241/00 C07D209/00                                                                                                        |                                                              |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                |                                                                                                                                                    |                                                              |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b>                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                    |                                                              |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>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 practical, search terms used)<br>EPO-Internal, CHEM ABS Data                                                                                        |                                                                                                                                                    |                                                              |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                    |                                                              |
| Category*                                                                                                                                                                                                                                        | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                 | Relevant to claim No.                                        |
| X                                                                                                                                                                                                                                                | WO 03/045949 A (SMITHKLINE BEECHAM P.L.C.; HAIGH, DAVID; HICKEY, DEIRDRE, MARY, BERNADE) 5 June 2003 (2003-06-05)<br>claims 1,9-12; table 1        | 1,30-32,<br>36,38                                            |
| A                                                                                                                                                                                                                                                | WO 02/24694 A (SMITHKLINE BEECHAM, P.L.C.; GARLAND, STEPHEN; HAIGH, DAVID; HICKEY, DEI) 28 March 2002 (2002-03-28)<br>claims 1,7,12-16; tables 1,2 | 1,28-38                                                      |
| A                                                                                                                                                                                                                                                | WO 03/068773 A (GLAXO GROUP LIMITED; WITHERINGTON, JASON) 21 August 2003 (2003-08-21)<br>claims 1,8-11; table 1                                    | 1,28-38                                                      |
|                                                                                                                                                                                                                                                  | -/-                                                                                                                                                |                                                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                    | <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. |
| * Special categories of cited documents:                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                    |                                                              |
| *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                                                                                                                                         |                                                                                                                                                    |                                                              |
| *E* earlier document but published on or after the International filing date                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                    |                                                              |
| *L* document which may throw doubt 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 |                                                                                                                                                    |                                                              |
| *B* document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                    |                                                              |
| Date of the actual completion of the international search                                                                                                                                                                                        | Date of mailing of the International search report                                                                                                 |                                                              |
| 25 July 2006                                                                                                                                                                                                                                     | 04/08/2006                                                                                                                                         |                                                              |
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 MV Rijswijk<br>Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl,<br>Fax: (+31-70) 340-3016                                                          | Authorized officer                                                                                                                                 |                                                              |
|                                                                                                                                                                                                                                                  | Hass, C                                                                                                                                            |                                                              |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|                      |
|----------------------|
| Int'l application No |
| PCT/US2005/026794    |

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                 |                                                   |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                              | Relevant to claim No.                             |
| A                                                    | WO 03/082868 A (EISAI LONDON RESEARCH LABORATORIES LIMITED; GRACZYK, PIOTR; NUMATA, HI) 9 October 2003 (2003-10-09)<br>claims 1,16,28-63<br>-----               | 1,28-38                                           |
| A                                                    | WO 00/43393 A (MERCK & CO., INC; FRALEY, MARK, E; HUNGATE, RANDALL, W; TEBBEN, ANDREW) 27 July 2000 (2000-07-27)<br>page 3, lines 12-20; claims 1,9-24<br>----- | 1,28-38                                           |
| P,X                                                  | WO 2005/028475 A (VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED; ARONOV, ALEX; LAUFFER, DAVID, J;) 31 March 2005 (2005-03-31)<br><br>claims 1,22-43; example 168<br>----- | 1-5,7,<br>10,<br>12-16,<br>27,<br>30-33,<br>36-38 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**International application No.  
PCT/US2005/026794**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 30-37 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

**Remark on Protest**

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l application No  
PCT/US2005/026794

| Patent document cited in search report |   | Publication date | Patent family member(s)                                                                                   |  | Publication date                                                                 |
|----------------------------------------|---|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------------------------------------------------------|
| WO 03045949                            | A | 05-06-2003       | AU 2002352142 A1                                                                                          |  | 10-06-2003                                                                       |
| WO 0224694                             | A | 28-03-2002       | AU 8789801 A<br>EP 1319001 A1<br>JP 2004509891 T<br>US 2004019052 A1                                      |  | 02-04-2002<br>18-06-2003<br>02-04-2004<br>29-01-2004                             |
| WO 03068773                            | A | 21-08-2003       | AU 2003245700 A1                                                                                          |  | 04-09-2003                                                                       |
| WO 03082868                            | A | 09-10-2003       | AU 2003214412 A1<br>CA 2480317 A1<br>CN 1656094 A<br>EP 1490364 A1<br>JP 2005534618 T<br>US 2005272761 A1 |  | 13-10-2003<br>09-10-2003<br>17-08-2005<br>29-12-2004<br>17-11-2005<br>08-12-2005 |
| WO 0043393                             | A | 27-07-2000       | AU 2851200 A<br>CA 2356349 A1<br>EP 1147107 A1<br>JP 2002535331 T                                         |  | 07-08-2000<br>27-07-2000<br>24-10-2001<br>22-10-2002                             |
| WO 2005028475                          | A | 31-03-2005       | AU 2004274404 A1<br>CA 2537731 A1<br>EP 1664043 A2                                                        |  | 31-03-2005<br>31-03-2005<br>07-06-2006                                           |

## フロントページの続き

| (51) Int.Cl.              | F I             | テーマコード(参考) |
|---------------------------|-----------------|------------|
| A 6 1 K 31/444 (2006.01)  | A 6 1 K 31/5377 |            |
| A 6 1 K 31/496 (2006.01)  | A 6 1 K 31/444  |            |
| A 6 1 K 31/4545 (2006.01) | A 6 1 K 31/496  |            |
| A 6 1 K 31/4985 (2006.01) | A 6 1 K 31/4545 |            |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01)   | A 6 1 K 31/4985 |            |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01)   | A 6 1 P 43/00   | 1 1 1      |
| A 6 1 P 37/08 (2006.01)   | A 6 1 P 35/00   |            |
| A 6 1 P 11/06 (2006.01)   | A 6 1 P 37/08   |            |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01)   | A 6 1 P 11/06   |            |
| A 6 1 P 11/16 (2006.01)   | A 6 1 P 29/00   |            |
| A 6 1 P 37/02 (2006.01)   | A 6 1 P 11/16   |            |
| A 6 1 P 3/00 (2006.01)    | A 6 1 P 37/02   |            |
| A 6 1 P 31/00 (2006.01)   | A 6 1 P 3/00    |            |
| A 6 1 P 25/00 (2006.01)   | A 6 1 P 31/00   |            |
| A 6 1 P 3/04 (2006.01)    | A 6 1 P 25/00   | 1 0 1      |
| A 6 1 P 7/00 (2006.01)    | A 6 1 P 3/04    |            |
| A 6 1 P 9/10 (2006.01)    | A 6 1 P 7/00    |            |
| C 1 2 N 15/09 (2006.01)   | A 6 1 P 25/00   |            |
|                           | A 6 1 P 9/10    |            |
|                           | C 1 2 N 15/00   | A          |

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. Linux

- (72) 発明者 ウィリアム・ディ・アーノルド  
アメリカ合衆国 9 2 1 3 1 カリフォルニア州サンディエゴ、レッド・シーダー・ドライブ 1 1 0 2  
4 番
- (72) 発明者 アンドレアス・ゴスペルク  
アメリカ合衆国 9 2 0 7 8 カリフォルニア州サン・マルコス、ソーリー・ウェイ 1 7 0 2 番
- (72) 発明者 チェ・リ  
アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州サンディエゴ、ナンバー 1 7 3、ショアライン・ドラ  
イブ 7 2 2 4 番
- (72) 発明者 ルオ・ダブリュー・スティーンスマ  
アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア州ラ・ホラ、アベニダ・マナナ 6 5 0 9 番
- (72) 発明者 マーク・イー・ウィルソン  
アメリカ合衆国 9 2 0 6 5 カリフォルニア州ラモーナ、ノース・カルボー・ストリート 1 1 7 番

F ターム(参考) 4B024 AA11 BA10 BA11 CA02 CA09 DA06 EA03 EA04  
4C050 AA01 BB05 CC08 EE04 FF05 GG01 HH02 HH04  
4C065 AA04 BB05 CC01 DD03 EE02 HH03 JJ01 KK03 LL01 PP03  
PP11 PP12

4C086 AA01 AA02 AA03 CB05 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA02 ZA40  
ZA51 ZA59 ZA60 ZA70 ZB07 ZB11 ZB13 ZB26 ZB27 ZB32  
ZC20 ZC21