

(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2013-516479

(P2013-516479A)

(43) 公表日 平成25年5月13日(2013.5.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07D 215/26 (2006.01)	C07D 215/26 CSP	4C031
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00 111	4C063
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00 ZNA	4C086
A61P 9/00 (2006.01)	A61P 9/00	4H045
A61P 17/06 (2006.01)	A61P 17/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 284 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-548125 (P2012-548125)
 (86) (22) 出願日 平成23年1月6日 (2011.1.6)
 (85) 翻訳文提出日 平成24年9月5日 (2012.9.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/020414
 (87) 国際公開番号 W02011/085126
 (87) 国際公開日 平成23年7月14日 (2011.7.14)
 (31) 優先権主張番号 61/292,776
 (32) 優先日 平成22年1月6日 (2010.1.6)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508222520
 ジョゼフ・ピー・エリコ
 Joseph P. ERRICO
 アメリカ合衆国08812ニュージャージー
 州グリーン・ブルック、ディア・パス・
 サークル29番
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 稔
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子
 (74) 代理人 100146259
 弁理士 橋本 諭志

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 標的薬物を開発する方法および組成物

(57) 【要約】

抗増殖作用を有する化合物が提供される。また、EGFRなどの、二量化アームおよびドメイン内テザーを含む複数のドメイン蛋白の活性を制御しうる化合物も提供され、ここでテザー化されていない伸長された構造は活性状態であり、テザー化された構造は不活性状態であり、自己抑制された配置がもたらされる。かかる化合物を同定するための方法およびファーマコフォアも提供される。他の態様は、増殖正疾患、障害または症状、例えばEGFRと関連するものを治療的に処置する方法を提供する。

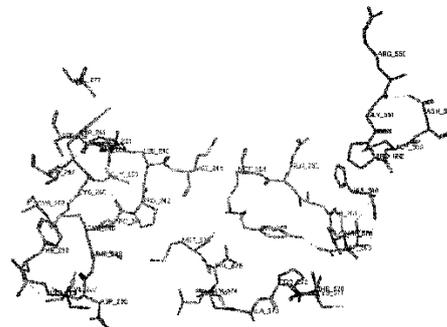


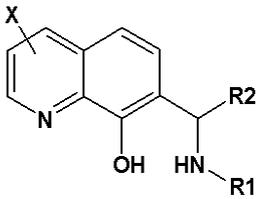
FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

【化 1】



式 (2) (1 5 0 5 類 A 型)

10

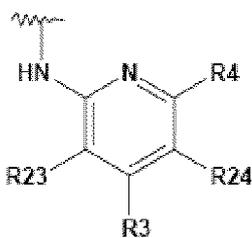
[式中

X 1 は、水素、2 - メチル、5 - クロロ、5 - ニトロおよび 6 - ヒドロキシルからなる群より選択され；

R 1 は

(i) 式 (3) ；

【化 2】



式 (3)

20

{ 式中

R 2 3 は水素；フルオロ；クロロ；トリフルオロメチル；メチル；エチル；およびメトキシからなる群より選択され；

R 3 は水素；フルオロ；クロロ；メチル；エチル；メトキシ；直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルを含むアリールあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリール；およびアルコキシ - OR 1 0 (ここで、R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである) からなる群より選択され；

30

R 2 4 は水素；フルオロ；クロロ；およびトリフルオロメチルからなる群より選択され；および

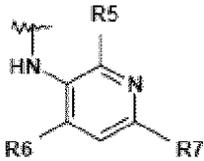
R 4 は水素；メチル；直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルを含むアリールあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリール；およびアルコキシ - OR 1 0 (ここで、R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである) からなる群より選択される }

40

で示される 2 - ピリジル環；

(i i) 式 (4) ；

【化 3】

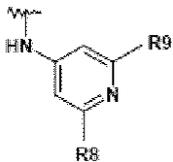


式(4)

{ 式中、R 5、R 6 および R 7 は、直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有するヘテロアリアルを含むアリアル；およびアルコキシ - OR 10 (ここで、R 10 は直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される} 10
 で示される 3 - ピリジル環；

(i i i) 式 (5) :

【化 4】



式(5)

{ 式中、R 8 および R 9 は、直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有するヘテロアリアルを含むアリアル；およびアルコキシ - OR 10 (ここで R 10 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである) からなる群より独立して選択される} 20
 で示される 4 - ピリジル環；

(i v) 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有するヘテロアリアルを含むアリアル；アルコキシ - OR 10 (ここで R 10 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである) ；トリフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；ジフルオロメトキシ；3, 4 - メチレンジオキシ；2, 3 - メチレンジオキシ；ニトロ；およびハロゲンから選択される 1 または複数の基で置換されているフェニル環； 30
 40

(v) 置換されていない 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有する 5 または 6 員のヘテロアリアル環；および

(v i) 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルを含むアリアルあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリアル；およびアルコキシ - OR 10 (ここで R 10 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである) からなる群より選択される 1 または複数の基で置換される、1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有する 5 または 6 員の置換ヘテロアリアル環； 50

からなる群より選択され；

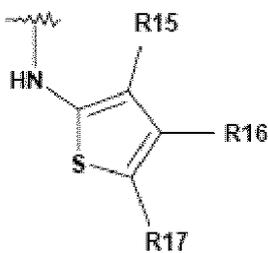
R 2 は、

(i) 置換されていないフェニル環、あるいはその 2 - 、 3 - 、 4 - 、 5 - または 6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルを含むアリールあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリール；アルコキシ - OR 1 0 (ここで R 1 0 は直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；2, 3 - メチレンジオキシ；3, 4 - メチレンジオキシ；式：- NR 1 3 R 1 4 (式中、R 1 3 および R 1 4 は、水素；不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；トリフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；ジフルオロメトキシ；3, 4 - メチレンジオキシ；2, 3 - メチレンジオキシ；ニトロ；およびハロゲンより独立して選択される)で示されるジアルキルアミノからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されているフェニル環；

10

(i i) 式 (8)：

【化 5】



20

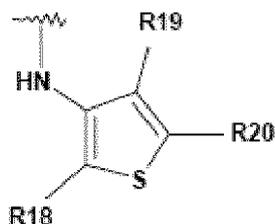
式 (8)

{ 式中、R 1 5、R 1 6 および R 1 7 は、水素；不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；アルコキシ - OR 1 0 (ここで R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；ジアルキルアミノ；トリフルオロメチル；ジフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；およびハロゲンからなる群より独立して選択される }
で示される、2 - チオフェン環；

30

(i i i) 式 (9)：

【化 6】



40

式 (9)

{ 式中、R 1 8、R 1 9 および R 2 0 は、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；アルコキシ - OR 1 0 (ここで R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；ジアルキルアミノ；トリフルオロメチル；ジフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；およびハロゲンからなる群より独立して選択される }

50

で示される 3 - チオフェン環；

(i v) 置換されていない 2 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 4 - または 6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 2 - ピリジル環；

(v) 置換されていない 3 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - 、 4 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 3 -

10

ピリジル環；および

(v i) 置換されていない 4 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 4 - ピリジル環；

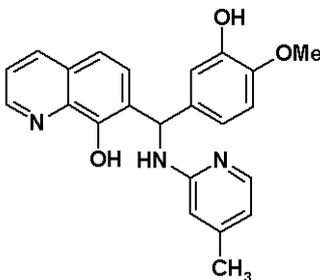
からなる群より選択される]

で示される化合物またはその立体異性体もしくは医薬上許容される塩：ただし、式 (I)

：

【化 7】

20



で示される化合物を除く。

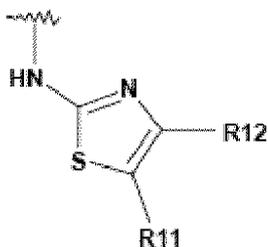
【請求項 2】

30

式 (2) の R 1 が：

(i) 式 (6) ；

【化 8】



40

式 (6)

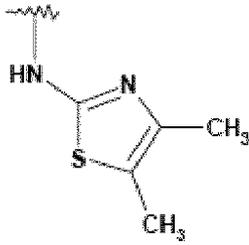
[式中、R 1 1 および R 1 2 は、水素；不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；アルコキシ - O R 1 0 (ここで R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは所望により不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；ジアルキルアミノ；トリフルオロメチル；ジフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；およびハロゲンからなる群より独立して選択される]

で示される 2 - (1, 3 - チアゾイル) ；および

(i i) 式 (7) ；

50

【化 9】



式 (7)

の 2 - (4 , 5 - ジメチル - 1 , 3 - チアゾイル)

10

からなる群より独立して選択される、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

R 1 が式 (3) の 2 - ピリジル環であって

R 2 4 がクロロであるか；または

R 2 3 がメチルである、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 4】

R 1 が式 (3) の 2 - ピリジル環であって；そして

R 4 が水素、R 2 4 がフルオロ、R 3 が水素、および R 2 3 がフルオロであるか；

R 4 がメチル、R 2 4 がクロロ、R 3 が水素、および R 2 3 がフルオロであるか；

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 がエチル、および R 2 3 がフルオロであるか；

20

R 4 が水素、R 2 4 がフルオロ、R 3 がメチル、および R 2 3 がフルオロであるか；

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 が水素、および R 2 3 がエチルであるか；

R 4 がメチル、R 2 4 がクロロ、R 3 が水素、および R 2 3 がクロロであるか；

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 がメチル、および R 2 3 がフルオロであるか；

R 4 が水素、R 2 4 がトリフルオロメチル、R 3 が水素、および R 2 3 が水素であるか

；

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 が水素、および R 2 3 がメチルであるか；

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 が水素、および R 2 3 がクロロであるか；

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 がメチル、および R 2 3 が水素であるか；または

R 4 が水素、R 2 4 がクロロ、R 3 がクロロ、および R 2 3 が水素である、請求項 1 記

30

載の化合物。

【請求項 5】

R 1 が式 (3) の 2 - ピリジル環であって；そして

R 2 4 がクロロであり、R 3 がクロロまたはメチルであるか、または R 2 3 がクロロまたはメチルであるか；

R 2 4 がクロロであり、R 3 が水素であり、R 2 3 がメチルであるか；

R 2 4 がクロロであり、R 3 がメチルであり、R 2 3 がフルオロであるか；

R 2 4 がクロロであり、R 3 がクロロであり、R 2 3 が水素であるか；

R 2 4 がクロロであり、R 3 が水素であり、R 2 3 がクロロである、

請求項 1 記載の化合物。

40

【請求項 6】

R 2 が

その 2 および 4 位にて置換されているフェニル環；

4 - トリフルオロメチルフェニル；

2 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルフェニル；および

2 , 4 - ジクロロフェニル

からなる群より選択される、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 7】

R 2 が 4 - クロロフェニル；2 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルフェニル；3 - フルオロ - 4 - クロロフェニル；2 - フルオロ - 4 - クロロフェニル；2 , 3 - ジクロロフ

50

エニル；2,3,5-トリクロロフェニル；2,4-ジクロロフェニル；3,4-ジクロロフェニル；および3,5-ジクロロフェニルからなる群より選択される、請求項1記載の化合物。

【請求項8】

R2が

その4位にてクロロで置換されており、2または3位でクロロまたはフルオロで置換されているフェニル環；

2,4-ジクロロフェニル；および

2-クロロ-4-フルオロフェニル

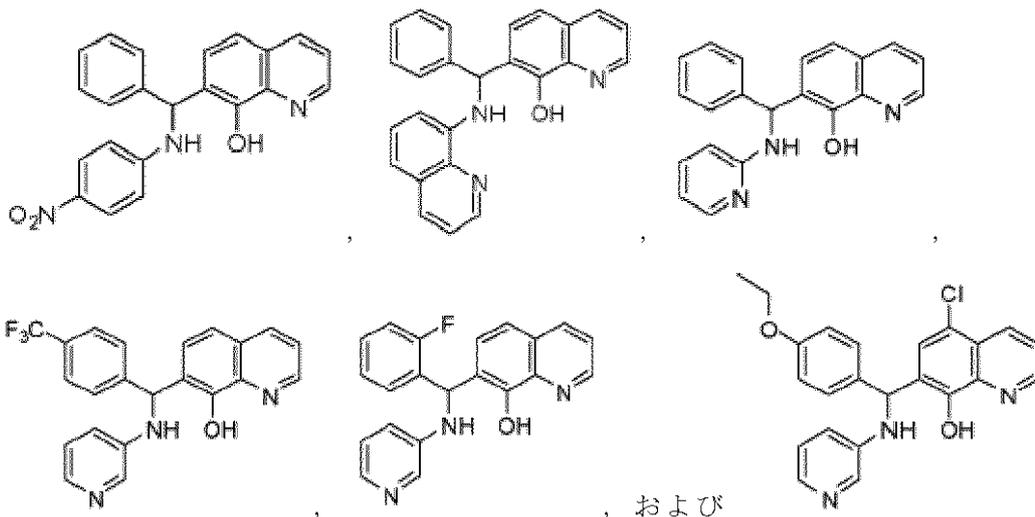
からなる群より選択される、請求項1記載の化合物。

10

【請求項9】

式(2)が1または複数の以下の：

【化10】



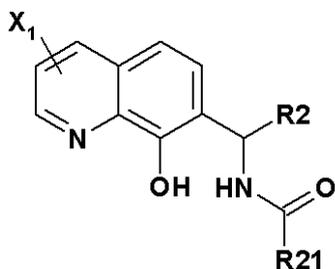
20

で示される化合物以外の化合物である、請求項1-8のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項10】

式：

【化11】



式(10)(1505類B型)

30

40

[式中

X1は、水素、2-メチル、5-クロロ、5-ニトロおよび6-ヒドロキシルからなる群より選択され；

R2は、

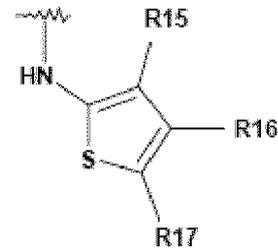
(i) 置換されていないフェニル環、あるいはその2-、3-、4-、5-または6-位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC-1ないしC-4低級アルキル；不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC-1ないしC-6シクロアルキル；フェニルを含むアリールあるいは1ないし4個のN、OまたはS原子を含む5または6員環のヘテアリール；アルコキシ -OR10 (ここでR10は直鎖または

50

分岐した不飽和結合を含有してもよいC - 1ないしC - 4低級アルキルあるいは不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC - 1ないしC - 6シクロアルキルである) ; 2,3 - メチレンジオキシ ; 3,4 - メチレンジオキシ ; 式 : - NR₁₃R₁₄ (式中、R₁₃およびR₁₄は、水素 ; 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC - 1ないしC - 4低級アルキル ; トリフルオロメチル ; トリフルオロメトキシ ; ジフルオロメトキシ ; 3,4 - メチレンジオキシ ; 2,3 - メチレンジオキシ ; ニトロ ; およびハロゲンより独立して選択される) で示されるジアルキルアミノからなる群より独立して選択される1または複数の基で置換されているフェニル環 ;

(ii) 式(8) :

【化12】

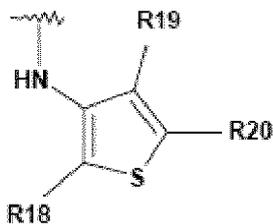


式(8)

{ 式中、R₁₅、R₁₆およびR₁₇は、水素 ; 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC - 1ないしC - 4低級アルキル ; 不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC - 1ないしC - 6シクロアルキル ; アルコキシ - OR₁₀ (ここでR₁₀は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC - 1ないしC - 4低級アルキルあるいは不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC - 1ないしC - 6シクロアルキルである) ; ジアルキルアミノ ; トリフルオロメチル ; ジフルオロメチル ; トリフルオロメトキシ ; およびハロゲンからなる群より独立して選択される }
で示される、2 - チオフェン環 ;

(iii) 式(9) :

【化13】



式(9)

{ 式中、R₁₈、R₁₉およびR₂₀は、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC - 1ないしC - 4低級アルキル ; 不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC - 1ないしC - 6シクロアルキル ; アルコキシ - OR₁₀ (ここでR₁₀は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC - 1ないしC - 4低級アルキルあるいは不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC - 1ないしC - 6シクロアルキルである) ; ジアルキルアミノ ; トリフルオロメチル ; ジフルオロメチル ; トリフルオロメトキシ ; およびハロゲンからなる群より独立して選択される }
で示される3 - チオフェン環 ;

(iv) 置換されていない2 - ピリジル環、あるいはピリジン環の4 - または6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC - 1ないしC - 4低級アルキルおよび不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC - 1ないしC - 6シクロアルキルからなる群より独立して選択される1または複数の基で置換されている2 - ピリジル環 ;

(v) 置換されていない3 - ピリジル環、あるいはピリジン環の2 - 、4 - または6 -

10

20

30

40

50

位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 3 - ピリジル環 ; および

(v i) 置換されていない 4 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 4 - ピリジル環 ;

からなる群より選択され ; および

R 2 1 が

(i) 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル ;

(i i) 不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル ;

(i i i) 置換されていないフェニル環、あるいはその 2 - 、 3 - 、 4 - 、 5 - または 6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル ; 不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル ; フェニルを含むアリールあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリール ; アルコキシ - OR 1 0 (ここで R 1 0 は直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである) ; 2, 3 - メチレンジオキシ ; 3, 4 - メチレンジオキシ ; 式 : - NR 1 3 R 1 4 (式中、R 1 3 および R 1 4 は、水素 ; 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル ; トリフルオロメチル ; トリフルオロメトキシ ; ジフルオロメトキシ ; 3, 4 - メチレンジオキシ ; 2, 3 - メチレンジオキシ ; ニトロ ; およびハロゲンより独立して選択される) で示されるジアルキルアミノからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されているフェニル環 ;

(i v) 置換されていない 2 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 4 - または 6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 2 - ピリジル環 ;

(v) 置換されていない 3 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - 、 4 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 3 - ピリジル環 ;

(v i) 置換されていない 4 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 4 - ピリジル環 ; および

(v i i) 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有する 5 または 6 員のヘテロアリール環

からなる群より選択される]

で示される化合物またはその立体異性体もしくは医薬上許容される塩。

【請求項 1 1】

式 :

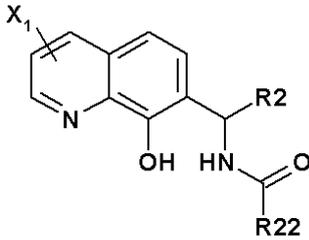
10

20

30

40

【化 1 4】



式 (1 1) (1 5 0 5 類 C 型)

[式 中]

10

X 1 は、水素、2 - メチル、5 - クロロ、5 - ニトロおよび 6 - ヒドロキシルからなる群より選択され；

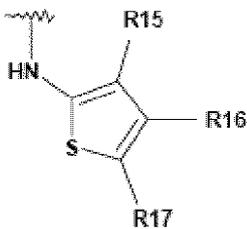
R 2 は、

(i) 置換されていないフェニル環、あるいはその 2 - 、 3 - 、 4 - 、 5 - または 6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；フェニルを含むアリアルあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリアル；アルコキシ - O R 1 0 (ここで R 1 0 は直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；2, 3 - メチレンジオキシ；3, 4 - メチレンジオキシ；式：- N R 1 3 R 1 4 (式中、R 1 3 および R 1 4 は、水素；不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；トリフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；ジフルオロメトキシ；3, 4 - メチレンジオキシ；2, 3 - メチレンジオキシ；ニトロ；およびハロゲンより独立して選択される)で示されるジアルキルアミノからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されているフェニル環；

20

(i i) 式 (8)：

【化 1 5】



30

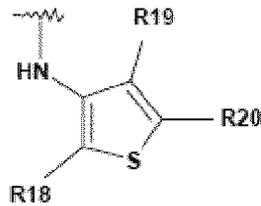
式 (8)

{ 式中、R 1 5、R 1 6 および R 1 7 は、水素；不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；アルコキシ - O R 1 0 (ここで R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；ジアルキルアミノ；トリフルオロメチル；ジフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；およびハロゲンからなる群より独立して選択される }
で示される、2 - チオフェン環；

40

(i i i) 式 (9)：

【化 16】



式 (9)

{ 式中、R 1 8、R 1 9 および R 2 0 は、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；アルコキシ - OR 1 0 (ここで R 1 0 は不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；ジアルキルアミノ；トリフルオロメチル；ジフルオロメチル；トリフルオロメトキシ；およびハロゲンからなる群より独立して選択される }
で示される 3 - チオフェン環；

(i v) 置換されていない 2 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 4 - または 6 - 位が、不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 2 - ピリジル環；

(v) 置換されていない 3 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - 、4 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 3 - ピリジル環；および

(v i) 置換されていない 4 - ピリジル環、あるいはピリジン環の 2 - または 6 - 位が不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルおよび不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されている 4 - ピリ

ジル環；
からなる群より選択され；および

R 2 2 は

(i) 置換されていないフェニル環、および

(i i) 2 - 、3 - 、4 - 、5 - または 6 - 位が、(a) 不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキル；(b) 不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキル；(c) フェニルを含むアリールあるいは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含む 5 または 6 員環のヘテロアリール；(d) アルコキシ - OR 1 0 (ここで R 1 0 は直鎖または分岐した不飽和結合を含有してもよい C - 1 ないし C - 4 低級アルキルあるいは不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 シクロアルキルである)；(e) 2, 3 - メチレンジオキシ；(f) 3, 4 - メチレンジオキシ；(g) 式：- NR 1 3 R 1 4 (式中、R 1 3 および R 1 4 は、水素および不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐した C - 1 ないし C - 4 低級アルキルより独立して選択される) で示されるジアルキルアミノ；(h) トリフルオロメチル；(i) トリフルオロメトキシ；(j) ジフルオロメトキシ；(k) 3, 4 - メチレンジオキシ；(l) 2, 3 - メチレンジオキシ；(m) ニトロ；および (n) ハロゲンからなる群より独立して選択される 1 または複数の基で置換されているフェニル環；

からなる群より選択される少なくとも 1 つの基で C - 1 または C - 2 が置換されていてよい C - 1 ないし C - 6 低級アルキルを意味する]

で示される化合物またはその立体異性体もしくは医薬上許容される塩。

【請求項 1 2】

スキーム I の 1 5 0 5 類ファーマコフォアの官能基 F (I) 1、F (I) 2、F (I) 3、F (I) 4、F (I) 5、F (I) 6、F (I) 7、F (I) 8 および F (I) 9 のうち 6 個以上を含む、E G F R 活性を阻害する、請求項 1 - 1 1 のいずれか一項に記載の化合物であって、

ここで

官能基 F (I) 1 は H - 結合を表すか、または配列番号 : 1 の受容体 A s p 5 5 3 のカルボキシレート側鎖に対する塩橋を形成し、 $r = 5 6 . 3 6 3$ 、 $(\text{シータ}) = 9 4 . 3 6 8$ 、および $(\text{ファイ}) = - 1 7 . 7 5 2$ の座標および約 1.2 の球体半径を有し；

10

官能基 F (I) 2 は配列番号 : 1 の受容体 T h r 5 7 0 の主鎖のカルボニルに対する H - 結合を表し、 $r = 5 3 . 2 9 0$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 1 . 4 9 4$ および $(\text{ファイ}) = - 2 3 . 2 4 4$ の座標および約 1.0 の球体半径を有し；

官能基 F (I) 3 は配列番号 : 1 の受容体 V a l 5 6 8 の側鎖と、受容体 H i s 5 6 6 のイミダゾール側鎖と、および受容体 P r o 5 5 2 のイミダゾリジン環と疎水的接触を形成し、 $r = 5 3 . 7 2 6$ 、 $(\text{シータ}) = 9 7 . 8 3 0$ および $(\text{ファイ}) = - 1 8 . 3 7 8$ の座標および約 1.7 の球体半径を有し；

官能基 F (I) 4 は H - 結合を表すか、配列番号 : 1 の受容体 A s p 5 6 3 のカルボキシレート側鎖と塩橋を形成し、 $r = 5 6 . 1 0 3$ 、 $(\text{シータ}) = 9 9 . 5 3 6$ 及び $(\text{ファイ}) = - 2 1 . 0 8 0$ の座標および約 1.2 の球体半径を有し；

20

官能基 F (I) 5 は配列番号 : 1 の受容体 P r o 5 7 2 のイミダゾリン環および M e t 2 5 3 の側鎖と疎水的接触を形成し、 $r = 5 3 . 6 4 7$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 3 . 8 4 4$ および $(\text{ファイ}) = - 2 0 . 9 9 0$ の座標および約 1.4 の球体半径を有し；

官能基 F (I) 6 は配列番号 : 1 の受容体 C y s 5 7 1 の主鎖のカルボニルとの H - 結合を表し、 $r = 5 1 . 0 8 8$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 4 . 2 4 1$ および $(\text{ファイ}) = - 2 5 . 5 5 2$ の座標および約 1.2 の球体半径を有し；

官能基 F (I) 7 は配列番号 : 1 の受容体 C y s 5 7 1 の主鎖のカルボニルとの H - 結合を表し、 $r = 5 2 . 3 4 0$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 3 . 9 8 0$ および $(\text{ファイ}) = - 2 7 . 4 6 1$ の座標および約 1.5 の球体半径を有し；

官能基 F (I) 8 は配列番号 : 1 の A l a 5 7 3 の受容体の主鎖の N H からの H - 結合を受け入れ、 $r = 5 1 . 3 8 3$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 6 . 4 5 5$ および $(\text{ファイ}) = - 2 4 . 3 1 9$ の座標および約 1.2 の球体半径を有し；

30

官能基 F (I) 9 は配列番号 : 1 の A l a 5 7 3 の受容体の主鎖の N H からの H - 結合を受け入れ、 $r = 5 2 . 8 6 1$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 7 . 6 9 2$ および $(\text{ファイ}) = - 2 5 . 4 4 7$ の座標および約 1.5 の球体半径を有し；

実質的に E G F R の非伸長テザー不活性配置を維持するか、実質的に E G F R の伸長テザー活性配置を防止する、化合物。

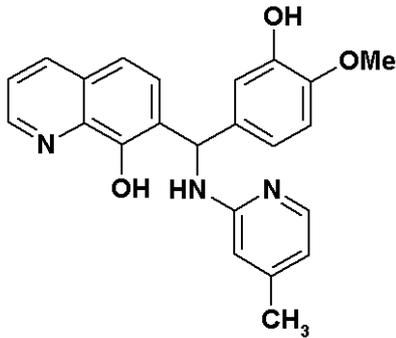
【請求項 1 3】

その必要とする対象に、治療的に効果的な量の：

- (i) 請求項 1 - 1 2 のいずれか一項に記載の化合物；
- (i i) 式 (1) ；

40

【化 17】



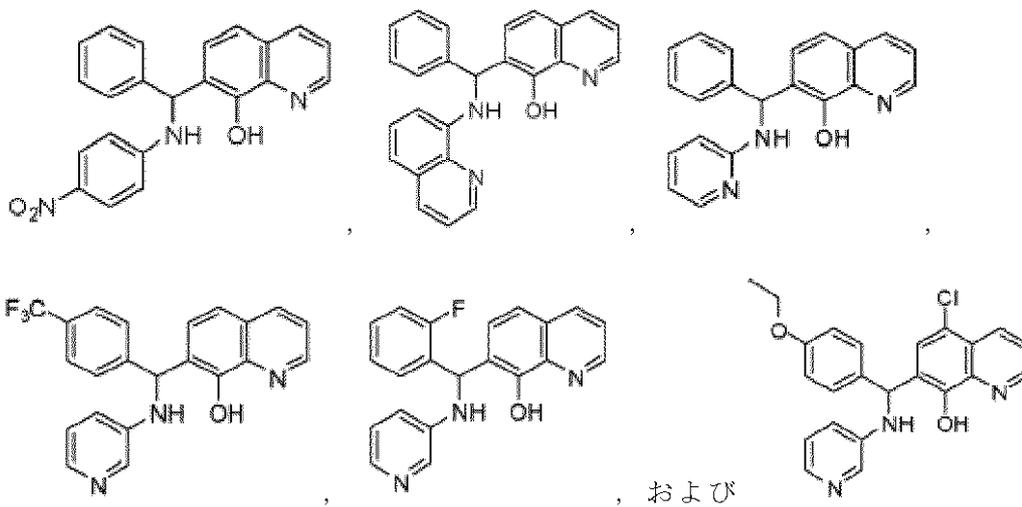
A D 4 - 1 5 0 5 式 (1)

10

の化合物；

(i i i)

【化 18】



20

からなる群より選択される化合物；あるいはその立体異性体または医薬上許容される塩；および医薬上許容される担体または賦形剤を含む組成物を投与することを含む、増殖性疾患、障害または症状を治療する方法。

30

【請求項 14】

増殖性疾患、障害または症状が、EGFRと関連するか、または癌；血管増殖性障害；繊維障害；メサングウム細胞増殖性障害；乾癬；光線角化症；脂漏性角化症；疣贅；ケロイド癬痕；湿疹；およびウイルス感染により惹起される過剰増殖性疾患からなる群より選択される、請求項 13 記載の方法。

【請求項 15】

表皮成長因子受容体 (EGFR) 阻害剤を同定する方法であって、

3次元データベースへの入力データとしてファーマコフォアを含むスキーム I を準備し

40

候補化合物の 3次元構造をファーマコフォアの 3次元構造と比較し；

スキーム I (ADS-1505 類) の 6 個以上の官能基と実質的に合致する 3次元構造を有する候補化合物を選択し；

ここで、

候補化合物の 3次元構造と、ファーマコフォアの 3次元構造の間の類似性は、EGFR のテザー化された不活性配置を実質的に維持することで、あるいは EGFR のテザー化されていない活性配置の安定化を実質的に防止することで、候補化合物の EGFR を阻害する能力の指標となり；

スキーム I (ADS-1505 類) は官能基 F (I) 1、F (I) 2、F (I) 3、F

50

(I) 4、F (I) 5、F (I) 6、F (I) 7、F (I) 8およびF (I) 9を含み；
ここで

官能基F (I) 1はH - 結合を表すか、または配列番号：1の受容体Asp553のカルボキシレート側鎖に対する塩橋を形成し、 $r = 56.363$ 、 $(\text{シート}) = 94.368$ 、および $(\text{ファイ}) = -17.752$ の座標および約1.2の球体半径を有し；

官能基F (I) 2は配列番号：1の受容体Thr570の主鎖のカルボニルに対するH - 結合を表し、 $r = 53.290$ 、 $(\text{シート}) = 101.494$ および $(\text{ファイ}) = -23.244$ の座標および約1.0の球体半径を有し；

官能基F (I) 3は配列番号：1の受容体Val568の側鎖と、受容体His566のイミダゾール側鎖と、および受容体Pro552のイミダゾリジン環と疎水的接触を形成し、 $r = 53.726$ 、 $(\text{シート}) = 97.830$ および $(\text{ファイ}) = -18.378$ の座標および約1.7の球体半径を有し；

官能基F (I) 4はH - 結合を表すか、配列番号：1の受容体Asp563のカルボキシレート側鎖と塩橋を形成し、 $r = 56.103$ 、 $(\text{シート}) = 99.536$ および $(\text{ファイ}) = -21.080$ の座標および約1.2の球体半径を有し；

官能基F (I) 5は配列番号：1の受容体Pro572のイミダゾリジン環およびMet253の側鎖と疎水的接触を形成し、 $r = 53.647$ 、 $(\text{シート}) = 103.844$ および $(\text{ファイ}) = -20.990$ の座標および約1.4の球体半径を有し；

官能基F (I) 6は配列番号：1の受容体Cys571の主鎖のカルボニルとのH - 結合を表し、 $r = 51.088$ 、 $(\text{シート}) = 104.241$ および $(\text{ファイ}) = -25.552$ の座標および約1.2の球体半径を有し；

官能基F (I) 7は配列番号：1の受容体Cys571の主鎖のカルボニルとのH - 結合を表し、 $r = 52.340$ 、 $(\text{シート}) = 103.980$ および $(\text{ファイ}) = -27.461$ の座標および約1.5の球体半径を有し；

官能基F (I) 8は配列番号：1のAla573の受容体の主鎖のNHからのH - 結合を受け入れ、 $r = 51.383$ 、 $(\text{シート}) = 106.455$ および $(\text{ファイ}) = -24.319$ の座標および約1.2の球体半径を有し；および

官能基F (I) 9は配列番号：1のAla573の受容体の主鎖のNHからのH - 結合を受け入れ、 $r = 52.861$ 、 $(\text{シート}) = 107.692$ および $(\text{ファイ}) = -25.447$ の座標および約1.5の球体半径を有する；

ところの、方法。

【請求項16】

アミノピリジン中間化合物、アルデヒド中間化合物およびヒドロキシキノリン中間化合物を、エタノール中、請求項1に記載の化合物を形成するのに十分な条件下で合わせことを含む、請求項1に記載の化合物を形成する方法であって；

ここで、

該アミノピリジン中間化合物がR₂ - CHOを含み、ここでR₂は請求項1の記載と同意義であり；

該アルデヒド中間化合物がR₁ - NH₂を含み、ここでR₁は請求項1の記載と同意義であり；および

該ヒドロキシキノリン中間化合物がXで置換されていてもよい8 - ヒドロキシキノリンを含み、ここでXは請求項1の記載と同意義である、方法。

【請求項17】

アミノピリジン 中間化合物が2 - アミノ - 3 - メトキシ - 5 - クロロピリジン；2 - アミノ - 4,5 - ジクロロピリジン；2 - アミノ - 5 - クロロ - 6 - メチルピリジン；2 - アミノ - 5 - クロロ - 3 - メチルピリジン；2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 4 - メチルピリジン；2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 4,6 - ジメチルピリジン；2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン；2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン；2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジン；および2 - アミノ - 4 - メチル - 3,5 - ジフルオロピリジン、または請求項18の記載に従って形成さ

10

20

30

40

50

れるアミノピリジン化合物からなる群より選択される、請求項 13 記載の方法。

【請求項 18】

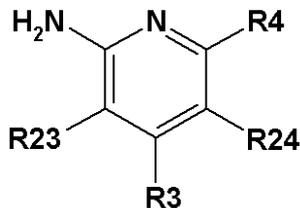
(i) 置換または置換されていない 2 - アミノピリジンおよび N - クロロスクシンイミドを、酢酸エチルまたはジメチルホルムアミドからなる溶媒中、2 - アミノ - 5 - クロロピリジン誘導体を形成するのに十分な条件下で合わせるか；または

(ii) 無水酢酸を氷酢酸中で 3 - 位および 5 - 位がフルオロ、クロロまたはブロモで置換されている 2 - アミノピリジンと合わせ、対応するアセトアミド誘導体を形成し；該アセトアミド誘導体と、ジイソプロピルアミンおよびブチルリチウムとをテトラヒドロフラン中、約 - 70 で合わせ、該アセトアミド誘導体を脱プロトン化し；該脱プロトン化アセトアミド誘導体および低級アルキルハライドを合わせ、該アセトアミド誘導体の 4 - 10
位をアルキル化し；該アルキル化アセトアミド誘導体と濃塩酸をメタノール溶媒中約 50
で合わせ、アセトアミド基を除去し、2 - アミノ - 3, 5 - ジハロ - 4 - アルキルアミノピリジンを形成することを含む、アミノピリジン化合物の形成方法。

【請求項 19】

(i) 反応 (i) の 2 - アミノピリジンが式 (12)：

【化 19】



式 (12)

の化合物を含み、ここで R₂₃、R₃ および R₄ は請求項 1 の記載と同意義であり、R₂₄ は水素であり；および 2 - アミノ - 5 - クロロピリジン誘導体が式 (12) を含み、ここで R₂₃、R₃ および R₄ は 2 - アミノピリジンについての記載と同意義であり、R₂₄ はクロロであるか；または

(ii) 置換された 2 - アミノピリジンが式 (12) の化合物を含み、ここで R₂₃ はフルオロ、クロロまたはブロモであり；R₃ は水素であり；R₄ は請求項 1 の記載と同意義であり；R₂₄ はフルオロ、クロロまたはブロモである、請求項 18 記載の方法。 30

【請求項 20】

2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン；
2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン；
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジン；および
2 - アミノ - 4 - メチル - 3, 5 - ジフルオロピリジン

からなる群より選択されるアミノピリジン化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本願は、その内容を出典明示により本願明細書の一部とする、2010年1月6日付け出願の米国仮出願番号第 61 / 292, 776 号からの優先権を主張する。

【0002】

(配列表の参照による組み込み)

本願の開示の一部である配列表は、本願発明のヌクレオチドおよび/またはアミノ酸配列を含む、コンピュータに読み込み可能な形式を包含する。配列表の内容は参照により本願明細書に組み込まれる。

【0003】

(発明の分野)

本願発明は、一般に、疾患の処置に用いるための新規な化合物に、かかる化合物および 50

その中間体を製造する方法に、および擬似合理的薬物設計に用いるためのリード分子を同定する方法に関する。

【背景技術】

【0004】

合理的な薬物開発は、所望の活性を示す分子を見つけるとの気まぐれな希望にて数千の分子を無作為にスクリーニングするのではなく、むしろ標的の活性部位を推測し、適当な方法で該部位と相互作用する化合物を創作することにより、リード化合物を開発する工程である。

【0005】

上皮成長因子受容体 (EGFR) は ErbB (HER) ファミリー、受容体チロシンキナーゼ (RTK) のメンバーであり、細胞増殖および分化を調節し、多くのヒト癌と関連付けられる。EGFRの活性化および二量体化は、例えば、Burgessら (2003) Molecular Cell 12, 541-552およびFergusonら (2003) Molecular Cell 11, 507-517にて論じられている。

10

【0006】

EGFはEGFRの細胞外領域の二量化を誘発することによりその受容体を活性化する。EGFRの活性化はジスルフィド結合の地図作成の結果ならびにX線結晶構造を介して説明される。リガンド結合したsEGFRの結晶構造は二量体化が二量体に存在する2つの個々のリガンド分子で受容体媒介されることを示した。活性化されたEGFRの二量体化界面は、分子内相互作用により完全に塞がれ、自己抑制された配置である。受容体を活性化するのに、この塞がれた界面を暴露する大きなドメイン配列はEGF結合を伴わなければならない、EGFはEGFR二量体界面に関与しない。EGFR機構は他の大部分の、結合リガンドが受容体二量体界面に直接寄与し、受容体チロシンキナーゼの細胞外領域の配置を劇的に改変しない受容体チロシンキナーゼ活性化機構と著しく異なる。

20

【0007】

EGFRは4種のサブドメインI、II、IIIおよびIVを包含する。EGFRの結晶構造にて観察されるほとんどすべての受容体/受容体の接触はドメインIIで媒介される。二量体の中心での界面は、各ドメインIIの第2のC1モジュール(モジュール5)から伸長し、その界面を横切って二量化パートナーのドメインIIと主として相互作用するまでに達する、隆起したループ(EGFRの残基242-259)である。ErbB受容体に特異的である、このドメインIIループは、「二量化アーム」である。ドメインIIの二量化アームはドメインIVとの分子内相互作用により完全に閉塞される(すなわち、自己抑制された配置である)。該二量体には、ドメインIIの第2および第6ジスルフィド結合モジュールからの側鎖を含む、2つの小さな相互作用部位がある。そして、二量体の界面はドメインIVの中にまで伸長するかもしれない。2つの受容体分子はドメインIVのC-末端に向かって相互に極めて密接に近づくが、明確に定義された、明瞭な界面は観察されない。

30

【0008】

EGFおよびTGF- β が二量体界面に架からないのは明らかであるが、リガンドは、各々、同時に同じEGFR分子における2つの別々の結合面と接触する。結合したEGFまたはTGF- β 分子はドメインIおよびIIIの間のくさびのようである。ドメインIとIIIの関係は、基本的には、IGF-1Rにて、および活性化されたsEGFR二量体にて見られる関係と同じであり、リガンドの結合はこれら2つのドメインの相対配向に全く影響を及ぼさないことを暗示する。しかし、ドメインIIとIIIの関係は、活性化構造と非活性化構造において、劇的に異なる。システインに富むドメインIIおよびIVの間の直接的分子内相互作用は、非活性化配置を特徴とする、ドメインII/IIIを抑制する。このドメイン内「テザー」は、不活性なsErbB3およびsEGFRにおける2つのシステインに富むドメイン(IIおよびIV)の間の同じ相互作用により安定化される。

40

【0009】

50

分子内ドメイン I I / I V テザーは、ドメイン I I のドメイン I V に対する二量化アームを正確に覆い、その結果、テザー化された s E r b B 3 および s E G F R の配置は二量化できず、かくして自己抑制されるようである。その上、ドメイン I および I I I 上の 2 つのリガンド結合面は、一のリガンドが同時に両方に結合するにはテザー化された配置にて離れすぎている。結果として、テザー化された配置はリガンドと低アフィニティの相互作用を形成しうるに過ぎず、一度にそのリガンド結合面の一つだけを用いるに過ぎない。

【 0 0 1 0 】

s E G F R の活性化されていない配置と活性化された配置の切り替えはドメイン I および I I I が一の平面にて剛性ドメイン I / I I 対の 1 3 0 ° 回転およびもう一つの平面での 2 0 ° の回転を介して相互に引き合うことを必要とする。この伸長した s E G F R の配置だけが高アフィニティリガンド結合および効果的な二量化の両方を可能とする。

10

【 0 0 1 1 】

エネルギー計算に基づいて、現在では、所定の時間で、約 9 5 % の s E G F R 分子がテザー化され、残りの 5 % がテザー化されないと考えられている。リガンドの存在およびその後のテザー化されていない形態のドメイン I および I I I への結合がテザー化されていない形態に対する平衡を押し進め、二量化しうる伸長した状態にて受容体分子を捕獲するのである。

【 0 0 1 2 】

二量化アームの暴露は E G F R 二量化を押し進めるのに単独では十分ではない。ドメイン I I I のモジュール 2 および 6 にある付加的な接触部位も必要とされる。これら 2 つの接触部位および二量化アームがその二量体界面で協力する。

20

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 1 3 】

E G F R 阻害の既知の方法は、ドメイン I I I に結合し、必要とされる配置変換の立体障害を提供する抗体（例えば、エルビタックス (Erbix)）を対象とする。他の慣用的方法は、二量化を防止するために、ドメイン I I、具体的には二量化アームに結合する抗体（例、pertuzumab）を対象とする。さらに別の慣用的方法は細胞内テザーに關与するドメイン I V 残基に結合する抗体（例、trastuzumab、Herceptin）を対象とする。しかしながら、活性化のテザリング機構を対象とする方法は未だ存在しない。

30

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 4 】

抗増殖作用を有する化合物および組成物が、かかる化合物を用いる治療的処置法と一緒に本願明細書に記載されている。また、かかる化合物を見出す方法も提供される。E G F R などの、二量化アームおよびドメイン内テザーを含む複数のドメイン蛋白の活性のモジュレータを同定する方法であって、ここでテザー化されていない伸長した構造は活性状態であり、テザー化されている構造は不活性状態であって、自己抑制された配置をもたらず、方法が本願明細書にて記載されている。

【 0 0 1 5 】

本願発明の一の態様は、式 2 の化合物を含む、小分子化合物を提供することである。ある実施態様に置いて、小分子化合物は実質的にスキーム 1 のファーマコフォアに一致する。

40

【 0 0 1 6 】

もう一つ別の態様は、増殖性疾患、障害または症状を本願明細書に記載の化合物および組成物で処置することを提供する。ある実施態様において、該方法はその必要とする対象に治療上有効量の式 I の化合物または化合物 A D 4 - 1 5 0 5、その立体異性体または医薬上許容される塩、および医薬上許容される担体または賦形剤からなる組成物を投与することを含む。ある実施態様において、増殖性疾患、障害または病態は E G F R と關連する。ある実施態様において、増殖性疾患、障害または病態は、癌；血管増殖性障害；纖維障害；メサングウム細胞増殖性障害；乾癬；光線角化症；脂漏性角化症；疣贅；ケロイド癬

50

痕；湿疹；およびウイルス感染により惹起される過剰増殖性疾患からなる群より選択される。

【0017】

もう一つ別の態様は、表皮増殖因子受容体（EGFR）阻害剤を同定する方法を提供する。ある実施態様において、該方法は、三次元データベースへの入力データとしてスキームIを含むファーマコフォアを準備し；候補化合物の三次元構造をファーマコフォアの三次元構造と比較し；スキームI（ADS-1505など）の6またはそれ以上の官能基と実質的に合致する三次元構造を有する候補化合物を選択することを含み、ここで候補化合物の三次元構造と、ファーマコフォアの三次元構造の間の類似性は、テザー化されている不活性なEGFRの配置を実質的に維持することで、あるいはテザー化されていない活性なEGFRの配置の安定化を実質的に防止することで、候補化合物のEGFRを阻害する能力の指標である。

10

【0018】

もう一つ別の態様は、式2の化合物などの、本願明細書に記載の化合物の形成方法を提供する。ある実施態様において、該方法は、アミノピリジン中間化合物、アルデヒド中間化合物、およびヒドロキシキノリン中間化合物を、エタノール中、上記の化合物を形成するのに十分な条件下で合わせることを含む。ある実施態様においては、アミノピリジン中間化合物はR₂CHOを含み、ここでR₂は式2について定義されるとおりであり；アルデヒド中間化合物はR₁-NH₂を含み、ここでR₁は式2について定義されるとおりであり；およびヒドロキシキノリン中間化合物は所望によりXで置換されていてもよい8-

20

【0019】

もう一つ別の態様はアミノピリジン化合物を形成する方法を提供する。ある実施態様において、該反応は、置換または置換されていない2-アミノピリジンおよびN-クロロスクシンイミドを、酢酸エチルまたはジメチルホルムアミドを含む溶媒中、2-アミノ-5-クロロピリジン誘導体を形成するのに十分な条件下で合わせることを含む。ある実施態様において、該反応は無水酢酸を氷酢酸中で3-位および5-位がフルオロ、クロロまたはプロモで置換されている2-アミノピリジンと合わせ、対応するアセトアミド誘導体を形成し；該アセトアミド誘導体と、ジイソプロピルアミンおよびブチルリチウムとをテトラヒドロフラン中、約-70で合わせ、該アセトアミド誘導体を脱プロトン化し；該脱プロトン化アセトアミド誘導体および低級アルキルハライドを合わせ、該アセトアミド誘導体の4-位をアルキル化し；該アルキル化アセトアミド誘導体と濃塩酸をメタノール溶媒中約50で合わせ、アセトアミド基を除去し、2-アミノ-3,5-ジハロ-4-アルキルアミノピリジンを形成することを含む。

30

【0020】

もう一つ別の態様は、2-アミノ-3-フルオロ-4-メチル-5-クロロピリジン；2-アミノ-3-エチル-5-クロロピリジン；2-アミノ-3-フルオロ-4-エチル-5-クロロピリジン；および2-アミノ-4-メチル-3,5-ジフルオロピリジンからなる群より選択されるアミノピリジン化合物を提供することである。

【0021】

他の目的および特徴は、一部明らかであり、一部以下に指摘されるであろう。

40

【図面の簡単な説明】

【0022】

当業者は以下に記載の図面が単に説明を目的とすることを理解するであろう。図面は何ら本願の教示の範囲を限定することを意図とするものではない。

【0023】

図1は、MOEの部位ファインダーで決定されるような、不活性な形態のEGFr（1NQL.pdb）のドメインIIおよびドメインIVの界面にある結合部位を示す。ドメインII残基の炭素原子が赤色で特定されており、ドメインIV残基の炭素原子が青色で特定されている。

50

【 0 0 2 4 】

図 2 はヒットした A D 4 - 1 5 0 5 に配置させた P h a r m - 1 n q l - g l u e - 5 を示す。

【 0 0 2 5 】

図 3 は不活性 E G F R でドッキングされた A d 4 - 1 5 0 5 および A D 4 - 1 5 0 5 類 (l i k e) 化合物の一連の二次元表示である。化合物 A D 4 - 1 5 0 5 の E G F R とのドッキングが、例えば、図 3 A で図示される。化合物 A D 4 - 1 0 9 6 3 (A D 4 - 1 5 0 5 類化合物) の E G F R とのドッキングが、例えば、図 3 B で図示される。化合物 A D 4 - 1 0 9 6 1 (A D 4 - 1 5 0 5 類化合物) の E G F R とのドッキングが、例えば、図 3 C で図示される。化合物 A D 4 - 1 0 9 4 5 (A D 4 - 1 5 0 5 類化合物) の E G F R とのドッキングが、例えば、図 3 D で図示される。化合物 A D 4 - 1 0 3 1 5 (A D 4 - 1 5 0 5 類化合物) の E G F R とのドッキングが、例えば、図 3 E で図示される。化合物 A D 4 - 1 0 9 6 5 (A D 4 - 1 5 0 5 類化合物) の E G F R とのドッキングが、例えば、図 3 F で図示される。

10

【 0 0 2 6 】

図 4 は、単独でまたは A D 4 - 1 0 6 2 8 と組み合わせて、タイケルブ (Tykerb) (図 4 A) またはイレッサ (Iressa) (図 4 B) の濃度の関数として E G F R の阻害 % を示す、一連の線散布図である。用量応答曲線の左側へのシフトはより強力な応答を示す。

【 0 0 2 7 】

図 5 は、D R I タイケルブおよび D R I A D 4 - 1 0 6 2 8 についての F a の関数としての用量減少指数 (D R I) を示す散布図である。

20

【 0 0 2 8 】

図 6 は、タイケルブと組み合わせた一連の A D 4 化合物について 9 0 % 阻害 (E D 9 0) の組み合わせ指数 (C I) を要約して示す棒グラフである。化合物 4 はイレッサである。化合物 5 はタイケルブである。残りの化合物は本願明細書に記載の A D 4 化合物である。中央の暗線より下の応答 (すなわち、C I < 0 . 9) は相乗効果を示す。

【 0 0 2 9 】

図 7 は E G F R の構造を図示するものである。図 7 A はテザー化されたモノマーとしての E G F R を示す。図 7 B はテザー化されていないモノマーとしての E G F R を示す。図 7 C はリガンド安定化伸長配座にある E G F R を示す。図 7 D はリガンド誘発の活性化二量体としての E G F R を示す。

30

【 0 0 3 0 】

図 8 はリガンド誘発の二量化および E G F R のキナーゼドメインの活性化を図示するものである。

【 0 0 3 1 】

図 9 は A 5 4 9 細胞の M T T 細胞増殖アッセイを示す一連の散布線図である。図 9 A は化合物 (A D 4 - 1 0 6 2 8 、 A D 4 - 1 3 2 1 8 、 A D 4 - 1 3 2 1 9 、 A D 4 - 1 3 2 2 0 、 A D 4 - 1 3 2 2 1) 濃度の関数としての O D 5 6 0 m A b を示す。図 9 B は化合物 (カンプトテシン、A D 4 - 1 0 9 5 2 、ヌトリン (Nutlin) (-)) 濃度の関数としての O D 5 6 0 m A b を示す。方法論に関するさらなる情報が実施例 7 で提供される。

40

【 0 0 3 2 】

図 1 0 は H 1 9 7 5 細胞の M T T 細胞増殖アッセイを示す一連の散布線図である。図 1 0 は化合物 A D 4 - 1 0 4 6 0 の l o g M (μ M) の関数としての吸光度 5 6 0 n m を示す。方法論に関するさらなる情報が実施例 7 で提供される。

【 0 0 3 3 】

図 1 1 は H T - 2 9 細胞についての M T T 細胞増殖を示す散布線図である。図 1 1 はタイケルブおよびタルセバ (Tarceva) の、その I C 5 0 値が、各々、2 . 7 μ M および 1 2 μ M として計算される、対数濃度 (M) の関数としての平均パーセント阻害 (アベレージ % 阻害) を示す。方法論に関するさらなる情報が実施例 7 で提供される。

【 0 0 3 4 】

50

図12はカスパーゼ3, 7アッセイについて細胞密度比較を示す散布線図である。RLUは細胞/ウェルの関数として知られている。方法論に関するさらなる情報が実施例8で提供される。

【0035】

図13はカスパーゼ3, 7アッセイにおけるAD4-13192のタルセバとの相加作用を示す棒グラフである。タルセバ(0.5、1、2、4、8または16 μM)、AD4-13192(1、2、4、8、16または32 μM)またはタルセバ+AD4-13192(タルセバ/AD4-13192)での処置が含まれる。アポトーシスの割合をタルセバまたはAD4-13192の関数として示す。方法論に関するさらなる情報が実施例8で提供される。

10

【0036】

図14は、DNA断片化における増加により測定される、細胞をウェルに対して5000、10000および15000細胞でプレート培養した場合に、6時間(図14A)、24時間(図14B)および48時間(図14C)で測定される、スタウロスポリン(5 μM)またはタルセバ(10 μMまたは1 μM)のアポトーシスを誘発しうる能力を示す棒グラフである。方法論に関するさらなる情報が実施例8で提供される。

【0037】

図15 DNA断片化アッセイに従ってA549細胞にてアポトーシスを誘発する化合物の能力を示す棒グラフである。400 nm - 492 nmでの吸光度が各化合物および濃度について示されている。方法論に関するさらなる情報が実施例8で提供される。

20

【0038】

図16はアネキシン(Annexin)Vアッセイを示すドットプロットおよび棒グラフである。図16AはFITC-Aの関数としての7-AAD-Aに対するフローサイトメトリーのドットプロットであり、クワドラント3 = 下左側 = 生細胞; クワドラント4 = 下右側 = 初期アポトーシス; クワドラント2 = 上右側 = 後期アポトーシス; クワドラント1 = 上左側 = 死滅細胞である。図16Bはアポトーシス合計のパーセント(%) (図16Aの初期(クワドラント4) + 後期(クワドラント2)) およびアポトーシスの割合のパーセント(%) (実験 - 非処理 / 正対照) * 100を示す棒グラフである。方法論に関するさらなる情報が実施例8で提供される。

【発明を実施するための形態】

30

【0039】

本願明細書には、抗増殖性作用を有する化合物を用いる治療的処置の方法と共に、かかる化合物および組成物、およびかかる化合物を見出す方法が記載される。ここに記載の種々の小分子化合物は、テザー化された不活性な状態にて、複数のドメインを一緒に有する蛋白を保持しうる。また、かかる阻害剤の構造的要件を同定する方法、効果的な阻害剤をスクリーンする方法、同定された候補の構造を最適化する方法、および治療的処置計画にて同定された小分子化合物を利用する方法も提供される。

【0040】

本願発明の一の態様は、増殖性疾患または症状を処置するにおいて効果的である小分子化合物を対象とする。ここに記載の化合物の種々の実施態様は抗増殖性作用を有し得る。ここに記載の化合物の種々の実施態様は、テザー化された不活性な状態にて、複数のドメイン蛋白を保持しうる。ここに記載の化合物の種々の実施態様は、EGFRに対して阻害作用を有し得る。ここに記載の化合物は、増殖性疾患および症状の処置にて経験的に効果的であることが明らかにされた。

40

【0041】

本願発明の一の態様は、ここに記載の化合物および組成物を用いる、増殖性疾患および障害の治療的処置を対象とする。

【0042】

本願発明の一の態様は、1または複数の標的療法のための1または複数の薬物の開発のための化合物、方法および装置を対象とする。より具体的には、ここに記載の方法は、二

50

量アームおよびドメイン内テザーを含むマルチドメイン蛋白の活性のモジュレータを同定し、ここでテザー化されていない伸長された配座は活性状態であり、テザー化された配座は不活性状態であり、自己抑制された配置がもたらされる。ここに記載のファーマコフォアの方法は、配座依存性蛋白受容体の活性化機構の機構的理解に基づくものであり、通常のコンビナトリアルケミストリーおよびハイスループットスクリーニング法を回避するものである。

生体分子の標的選択

【0043】

望ましい標的酵素は、リガンド結合、活性化および/または二量化機構を識別するのに十分な結晶学的データを含む、酵素を包含する。本願発明の種々の方法は、活性化状態に関連するドメイン内テザーを有する種々のマルチドメイン蛋白標的についてのファーマコフォアモデル(リガンドを含む/含まない結晶化)を生成するのに使用され得る。かくして、伸長配座の非テザー化および安定化を防止し得る化合物、およびかかる化合物の同定方法が提供される。

10

【0044】

本願発明の方法によって生成されるリード分子に対する生体分子標的の型は、1または複数のEGFR(すなわち、ErbB1)、HER2/c-neu(ErbB-2)、Her3(ErbB-3)およびHer4(ErbB-4)を包含しうる。

EGFR

【0045】

テザー化されていない伸長された配座の安定化を防止するように、EGFRのドメインの種々の部分を標的することがここに記載されている。言い換えれば、小分子阻害剤はドメインIIおよびIVの蛋白をテザー化された不活性な状態にて保持するのに使用され得る。この方法は、EGFRシグナル伝達の基底レベルを保持すること、EGF応答を保持すること、および/またはEGF-非依存性二量化を軽減することを提供しうる。かかる治療的効果は、癌細胞(EGFRの発現レベルの増加により感受的である)の迅速な増殖を遅くするが、正常な組織機能のために不可欠な基底EGFRの少なくとも一部を保持する。

20

【0046】

EGFR阻害の既知の方法は、ドメインIIIに結合し、必要とされる配座変化の立体障害を提供する抗体(例、エルピタックス)を対象とする。他の一般的方法は、ドメインII、具体的には二量化アームに結合し、二量化を防止する、抗体(例、ペルツズマブ(pertuzumab))を対象とする。さらに別の一般的方法は、分子内テザーに関与する、ドメインIV残基に結合する抗体(例、トラスツズマブ(trastuzumab)、ヘルセプチン(Herceptin))を対象とする。しかし、ここに記載の方法とは別に、上記した一般的方法は伸長配座の非テザー化または安定化を防止しない。

30

【0047】

上記したように、EGFRは、ドメインIVとの分子内相互作用により、ドメインIIの二量化アームが完全に塞がれる、自己抑制された配置を有する(例、図7を参照のこと)。EGFはEGFRの細胞外領域の二量化を誘発することによりその受容体を活性化する(例、図7Dを参照)。EGFRの結晶構造にて観察されたほとんどすべての受容体/受容体の接触は、ドメインII、具体的には、ドメインIIの第2のC1モジュール(モジュール5)(すなわち、二量化アーム)より伸長する、突出したループ(EGFRの残基242-259)により媒介される。その不活性化された配置は、ドメインII/IIの関係性を制限する、システインに富むドメインIIおよびIVの間の直接的分子内相互作用により特徴付けられる(例、図7Aを参照)。このドメイン間「テザー」は、不活性なsEGFRにおける2つのシステインに富むドメイン(IIおよびIV)の間の本質的に同一の相互作用により安定化される。sEGFRの不活性化および活性化配置の間のスイッチは、一の面の固定したドメインI/II対の130°回転、およびもう一つ別の面の20°の回転を介して、ドメインIおよびIIIが相互に引き寄せられることを必要

40

50

とする（例、図7Bを参照）。この伸長したsEGFRの配置だけが高アフィニティのリガンド結合（例、図7Cを参照）および効果的な二量化（例、図7Dを参照）の両方を可能とする。その活性化および二量化された配置において、ドメインIIの二量化アームは界面を通過して到達し、その二量化パートナーの対応するドメインIIアームと主に相互作用する（例、図7Dを参照）。EGFRの二量化はまた、ドメインIIIのモジュール2および6における定常部位の相互作用を必要とする。EGFRリガンドの存在およびテザー化されていない形態のドメインIおよびIIIへのその後の結合は、その平衡をテザー化されていない形態へと向かわせ、伸長された状態にある受容体分子をトラップし、それは二量化され得る。

【0048】

ここに記載の方法は、EGFRシグナル伝達の基底レベルを保持することを提供する。健康な個体においては、増殖に必要な基底のEGFRからのシグナルが存在し、例えば、損傷からの回復を必要とする場合には増殖を促すのにEGFRレベルが高められる。しかし、癌細胞はより多くのEGFRを示し、それはテザーされている配座の可能性を増大させ、その後でEGFRが閉鎖されていないドメインI/IIIリガンドの結合部位に結合し、それによりEGFRを活性化させることとなる。テザーされている不活性な状態にあるEGFRの複数のドメイン蛋白をホールドする阻害剤はEGFRのシグナル伝達を基底レベルにあることを可能とする。

【0049】

さらには、EGFRのテザー化されていない状態の安定化を防止する小分子阻害剤（例、図14Bはテザー化されていない状態を記載し、図14Cは安定化されているテザー化された状態を記載する、を参照）は、他の抗-EGFR治療剤と一緒に使用され得る。他の抗-EGFR治療剤と一緒に小分子阻害剤の使用は、用量の減少および/または最大阻害の増加を可能とする。例えば、かかる小分子阻害剤の使用はエルピタックス（ドメインIIIと結合し、EGFRを遮断する）と一緒に使用することができ、それでエルピタックスの用量を下げ、および/または最大阻害を増加させることができる。

【0050】

種々の実施態様において、EGFRのドメインIIは、テザー化されている状態にて存在するとして、オープニングを防止するために標的とされる（すなわち、テザー化された状態からオープンな状態への配置の変換、例、テザー化されている配座とテザー化されていない配座を記載する図7A-Bを参照）。種々の実施態様において、ドメインIIとドメインIVの間の裂け目は、オープニングを防止するために標的とされる（すなわち、テザー化された状態からオープンな状態への配置の変換）。単一の小分子を用いて2つのドメインをスパンすることができる。また、数種のコンパートメント中の一連の小分子（例、少なくとも2個の小分子）を一緒に用いて、2つのドメインをスパンすることもできる。種々の実施態様において、テザー化されていない状態として存在するとして、EGFRのドメインIIは、テザー化されていない状態の安定化を防止するために、標的とされる（例、テザー化されておらず、安定化されている配座を示す、図7B-Cを参照）。種々の実施態様において、EGFRのドメインIIIは、テザー化されていない状態の安定化を防止するために、標的とされる（例、ドメインIIIのモジュール2および6、これらはEGFRの二量化に必要とされる接触部位を相互作用させる）。

ファーマコフォアの方法

【0051】

一の態様は、活性化状態に伴うドメイン間テザーを有する複数のドメイン蛋白を標的とする薬物を開発するためのファーマコフォアの方法を対象とする。目的とする生体分子の活性化および二量化機構に基づいて、結合標的が同定かつ特徴付けられる。機構および/または結合標的は、例えば、結晶学データを介して特徴付けることができる。標的結合ドメインは、1または複数のファーマコフォア特性として発現され得、および/または1または複数のファーマコフォア特性を含むファーマコフォアモデルにおいてコンパイルされ得る。

10

20

30

40

50

【0052】

ファーマコフォアは、かかる作業用に設計されたソフトウェアに従って生成され得る。候補分子（例えば、1または複数の化学ライブラリーからの分子）は、該ファーマコフォアモデルに協調するそれら分子から選択され得る。好ましくは、候補分子を、コンピュータ内で標的結合ドメインと相互作用させるために、ドッキングかつスコアリングさせる。再び、ドッキングおよびスコアリングを一の作業用に設計されたソフトウェアに従って行うことができる。1または複数のファーマコフォアモデルと協調する分子を選択した後に、コンピュータ内で任意にドッキングおよびスクリーニングを行い、選択された分子を、例えば、化学合成により、または市販供給源より得ることができる。その選択された分子は結合アフィニティおよび/または標的分子の機能に対する作用について測定され得る。かかる評価は生物学的アッセイに従ってなされうる。試験分子はさらに所望の測定されたパラメータに従って選択され得る。選択された分子および/またはさらに選択された分子は、所望により、さらに最適化され得る。

10

構造的空間位置の決定

【0053】

標的生体分子の活性化および二量化モデルより、標的領域を同定することができ、3D結合ドメインが限定され得る。結合ドメインの限定は、一般に、活性化および二量化機構にて一の役割を果たす標的生体分子の部分の原子の特定の空間位置を決定することを含む。

20

【0054】

結合部分の空間位置の決定は、コンピュータ内の種々の技法により達成され得る。例えば、結合表面の構造を形作り、それを標的の活性表面のモデルとマッチングさせ、適合性のレベルを評価する、ソフトウェアパッケージを使用することができる。かかるソフトウェアはC AMALを包含する。

【0055】

結合部分の空間位置の決定はX線結晶学により達成され得る。X線結晶学は、その活性化および二量化機構にて一の役割を果たすことが分かっており、ついでこの構造情報を用いてこれらの1または複数の成分に結合し、配置の変更および/または安定化を干渉する、構造内にある原子の構造を決定するのに使用され得る。構造決定のためにX線結晶学を利用する方法は、当該分野にて公知である（例、Messerschmidt (2007) X-Ray Crystallography of Biomacromolecules: A Practical Guide, John Wiley & Sons, ISBN-10: 3527 313966; Woolfson (2003) An Introduction to X-ray Crystallography, 2d Ed., Cambridge University Press, ISBN-10: 0521423597を参照）。X線結晶構造の創作はまた当該分野にて公知である（例、米国特許第6931325号(Wall)および米国特許第6916455号(Segelke)を参照、その各々を出典明示により本願明細書の一部とする）。従って、ここ記載する場合を除き、本願発明の方法はかかる方法に従って実施され得る。

30

【0056】

X線結晶学にて観察される回折データより誘導されるパラメータは、限定されるものではないが、水素結合体、非極性疎水性接触、塩橋相互作用、ドメインの極性表面積、ドメインの非極性表面積、抗体-標的の複合体に対する形状相補的スコアおよび明確に配置される水分子を包含する。また、原子間の結合の特徴付けも有用である。単結合である2つの原子間の距離は約1.45から約1.55の範囲にある。一緒になって二重結合を形成する原子は、典型的には、約1.2から約1.25離れている。単結合と二重結合の間で共鳴する結合は、典型的には、約1.30ないし約1.35の距離がある。

40

ファーマコフォアの構築

【0057】

ファーマコフォアモデルは、原子位置を限定することを含め、活性化および二量化にて一定の役割を果たす生体分子成分の構造的情報から構築され得る。活性化および二量化にて一の役割を果たす成分などの、標的生体分子の成分に対して相補的特徴を有する小分子は、活性化および二量化に不可欠な配置変化および/または安定化に干渉し、かくして治

50

療的有用性を有する可能性がある。

【0058】

種々の実施態様にて、接触統計学、3D表面モデルおよび鑄型としてのドッキングされたリガンドを利用するフラグメントをベースとする方法でデノボにて構造を設計するのにコンピュータ内での方法を用いることができる。空間位置情報から、および/または上記した他のパラメータから、3Dリガンド-受容体モデル(例、相互作用パターン、ファーマコフォアスキーム)、表面地図(例、トポグラフィー/形状、静電気プロフィール、疎水性、蛋白適合性)およびドッキングモデル(例、リガンド結合についてのスコアリングシステム、最低エネルギー計算)を駆動しうる。

【0059】

ファーマコフォアモデルを構築するための方法は当該分野にて公知であり、本願明細書にて広く記載されている(例、実施例4を参照)。従って、本願明細書に特に記載される場合を除き、本願発明の方法はかかる方法に従って実施され得る。

【0060】

ファーマコフォアモデルまたはスキームは、一般に、受容体部位でのリガンド認識、およびその生物学的活性に関連付けられ、好ましくは直接関連付けられる、リガンドにおける構造的特性のセットである。ファーマコフォアの特徴は、対応するドナー、アクセプター、芳香族、疎水性および/または対応する標的生体分子の酸性または塩基性部分、特に二量化および活性化機構に関与するドメイン上のこれらの特徴より誘導され得る。ファーマコフォアスキームにて使用される標的生体分子における原子の特性に関する情報であって、原子の単なる空間的位置ではない、付加的な情報は、新しいリード化合物をモデル化する方法を助成しうる。これらの特徴付けは、限定されるものではないが、原子のpKa値、原子を適所に保持する結合の回転剛性、結合それ自体の特性(単、二重、三重結合など)、水素結合ドナーおよびアクセプターの予測される方向性等を包含する。

【0061】

ファーマコフォアスキームを作成するのに有用な成分の典型的な特性は、限定されるものではないが、原子位置;結合半径;水素結合特性;水素結合アクセプター特性;芳香族特性;ドナー特性;アクセプター特性;アニオン特性;カチオン特性;アクセプターおよびアニオン特性;ドナーおよびカチオン特性;ドナーおよびアクセプター特性;酸およびアニオン特性;疎水性特性、水素結合方向性、および金属リガンド(例、実施例4を参照)を包含する。かかる特性は、例えば、単一原子、原子の重心または空間的に予測される方向位置で決定され得る。

【0062】

多数のファーマコフォアクエリーが所定の標的生体分子について設計され得ると考えられる。さらには、これらのファーマコフォアクエリーは、二量化および活性化と関与する部位で標的生体分子と相互作用し、特にテザー化されている不活性な配座を維持することに対する、小分子リガンドを同定するのに有用であろうと考えられる。

【0063】

そのようなモデリングおよびクエリーに関与する典型的な供給源は、限定されるものではないが、MOE(CGG)(ファーマコフォアクエリーおよび可視化の提供)、Glide(Schrodinger)(ドッキングおよびスコアリングの提供)、エクセル用アコード(Accord for Excel)(Accelrys)(化学構造および化学式を含む、分子情報の組織化の提供)およびZINCデータベース(UCSF)(市販の化合物のライブラリーの提供)を包含する。免疫系蛋白-標的生体分子の構造的結合の特徴付けからファーマコフォアを作成するための一的设计装置がMOE(またはMolecular Operating Environment)(Chemical Computing Group)である。モデル作成は免疫系蛋白に対応する特性の3D位置を決定するのに幾何学的かつ電子的制限を用いる。これらの実施態様のモデルは3D空間での球状特性からなる。球形の半径は(例、約0.5から約3.0)に調整可能である。かかるモデルは該特性の適合および/または部分適合を可能とする。

【0064】

10

20

30

40

50

ファーマコフォアの構造的特性は間隔を介して標識された点で示されうる。各リガンドには、リガンドファーマコフォアに起因する構造的特性のセットとしての、注釈を付けることができる(例、実施例を参照)。種々の実施態様において、注釈を付されたりリガンドのデータベースは、ファーマコフォアを仮定とするクエリーでサーチされ得る(例、実施例5を参照)。かかるサーチの結果がクエリーのファーマコフォア特性をサーチされたデータベースのリガンドにあるファーマコフォア特性と調整して並べる一連の適合である(例、実施例5、表8を参照)。データベース内でのヒットの数は、少なくとも部分的には、データベースの大きさおよびファーマコフォアクエリーの制限(例、部分適合、特性の数等)に依存する。サーチデータベース内にある分子の特性およびパラメータを用いてクエリーの結果に焦点を当てる。例えば、所定の範囲の分子量(MW)または親油性(log P)を有する化合物は化合物のライブラリーデータベースのサーチされたセクションに存在しうる。

候補分子

【0065】

該方法は種々の異なる候補分子(例、潜在的に治療可能な候補分子)のスクリーニングにて有用であることをわかる。上記したように、候補分子はファーマコフォアクエリーを用いて調査され得る。候補分子は、典型的には有機分子であり、好ましくは小有機化合物であって、50ダルトンより大きく、約2500ダルトン未満の分子量を有するが、多数の化学クラスを包含する。候補分子は蛋白との構造的相互作用、特に水素結合に対する官能基を含むことができ、少なくともアミン、カルボニル、ヒドロキシルまたはカルボニル基、好ましくは少なくとも2つの官能基を含み得る。候補分子は1または複数の上記した官能基で置換される循環的炭素環式またはヘテロ環式構造および/または芳香族またはポリ芳香族構造を含み得る。

【0066】

好ましい実施態様において、候補分子は化合物のライブラリーデータベースの化合物である。当業者は、一般に、例えば、スクリーニングに対する市販の化合物についての多数のデータベースに熟知しているであろう(例、ZINC database、UCSF、12種のサブセットの分子に対して2.7百万の化合物; IrwinおよびShoichet(2005) J Chem Inf Model 45, 177-182)。当業者また、商業的供給源または望ましい化合物ならびにさらなる試験を行うための種々の化合物(例、ZINCデータベース; eMolecules.com; およびベンダーにより提供される市販の化合物の電子図書館、例えば: ChemBridge, Princeton BioMolecular, Ambinter SARL, Enamine, ASDI, Life Chemicals等)を同定するためのサーチエンジンに熟知してもいるであろう。

【0067】

ここで記載の方法によればスクリーニングの候補分子は、リード類化合物および薬物類化合物の両方を包含する。リード類化合物は、一般に、比較的少ない特性(例、約3よりも少ない水素ドナーおよび/または約6よりも少ない水素アクセプター; 疎水性 \times 約-2ないし約4の対数P)(例、Angewante(1999) Chemie Int. ed. Engl. 24, 3943-3948)と比較的小さな足場類構造(例、約150ないし約350Dの分子量)を有すると理解される。反対に、薬物類化合物は、一般に、比較的多くの特性(約10よりも少ない水素アクセプターおよび/または約8よりも少ない回転結合; 疎水性 \times 約5よりも小さい対数P)(例、Lipinski(2000) J. Pharm. Tox. Methods 44, 235-249)と比較的大きな足場類構造(例、約150ないし約500Dの分子量)を有すると理解される。好ましくは、最初のスクリーニングはリード類化合物で行われる。

【0068】

空間的定位置データからリード化合物を設計する場合、特定の分子構造は「薬物類」として特徴付けられることを理解するのが有用であり得る。かかる特徴付けは、薬局方にある既知の薬物の幅を越えて類似性を比較することで経験的に認識される誘導化される一連の特性に基づく。薬物では、これらすべての、あるいはいずれかの特徴付けを満たす必要はないが、それが薬物類である場合に、薬物の候補が臨床的に成功を収める可能性はその場

10

20

30

40

50

合には小さい。

【0069】

これらの「薬物類」の特徴付けのいくつかは、Lipinskiの4規則に要約されている（一般に、「5つの規則」として知られている。というのも、そのうちのナンバー5は有病率に関するからである）に要約されている。これらの規則は一般に経口吸収に関するものであり、リード分子を最適化する間に化合物の生体利用能を予測するのに用いられるが、合理的薬物を設計する間にリード分子を構成するための効果的なガイドラインとして供することができ、本願発明の方法を用いることにより達成され得る。

【0070】

4つの「5つの規則」は、候補の薬物類の化合物は以下の特徴付けの少なくとも3つを有する必要があると記載する：(i) 500ダルトンより小さな分子量；(ii) 5より小さなPの対数；(iii) わずか5の水素結合ドナー（OHおよびNHの合計として表される）；および(iv) わずか10の水素結合アクセプター（NおよびO原子の合計）。また、薬物類分子は、典型的には、約8 ~ 約15 のスパン（幅）を有する。候補分子あるいは選択される分子は、これらすべての、あるいはいずれかの特徴付けを満たす必要はないことを理解するであろう。にもかかわらず、上記したガイドラインは薬物のスクリーニングおよび設計を補助する。

10

【0071】

上記したように、ファーマコフォアへのヒットとして同定される分子の数は、少なくとも部分的に、データベースの大きさおよびファーマコフォアクエリーの制限に依存する。ファーマコフォアクエリーからのヒットとして同定される分子の数は、標的生体分子の結合部位への適合のさらなるモデリングにより減少させることができる。かかるモデリングは、上記したように、ドッキングおよびスコアリング法に従ってなされ得る。

20

ドッキングおよびスコアリング

【0072】

ファーマコフォアモデル（例、上記したファーマコフォアクエリーを介して）と比較して、標的生体分子の特定の特性に相補的であるとして同定された候補分子は、標的生体分子についてドッキングアフィニティに従ってさらに選択され得る（例、実施例5を参照のこと）。データベースクエリーのファーマコフォアモデルの生成に加えて、化合物を同定し、設計するための第2の連続的かつ相補的方法が利用され得る。ファーマコフォアクエリーは化合物を迅速に除去し、ドッキングおよびスコアリングはリガンド-標的生体分子の結合をより正確に判断できる。蛋白または酵素の標的生体分子の場合には、不活性配座にある異なるドメインのアミノ酸残基を利用してドッキング部位を定めることができる。

30

【0073】

種々の実施態様において、ファーマコフォアクエリーより選択された化合物はかかる分析用に設計されたソフトウェア（例、Glide Schrodinger, NY）を用いて標的結合部位にドッキングされる。ドッキングアフィニティは、例えば、分子と蛋白との相互作用で得られるエネルギー（例、「g_score」）および/または最も低いエネルギー配座と関連したドッキングされた配座を得るのに必要とされるエネルギー（例、「e_model」）（例、実施例5を参照）を基礎として数値（例、「Glide score」）として計算され得る。これらの例では、スコアが負になるほど、ドッキングは大きくなる。好ましくは、g_scoreは約-5よりも小さい。好ましくは、e_model scoreは約-30よりも小さい。望ましいドッキングの数値定量化は異なる標的生体分子間で変化しうると考えられる。

40

【0074】

種々の実施態様において、ドッキングスコアの閾値（例、g_scoreおよび/またはe_modelスコア）は、獲得のための、およびさらに試験するための、分子の数を管理するために選択され得る。例えば、ドッキングの実験にて、負の5.0のg-score（または負の方向により大きな値）は、望ましいドッキングスコアであると考えられ、したがってカットオフを調整する。もう一つ別の例として、ドッキング実験にて、負の7.5のg-score（または負の方向により大きな値）は、望ましいドッキングスコアであると考えられ、したが

50

ってカットオフを調整する。かくして、g_scoreの大きさを用いて、獲得でき、試験できる操作可能な数にヒットした数を調整することができる。一例として、ファーマコフォアクエリーより同定される化合物の総数は約1,000ないし約3,000であり、ドッキングスコアを用いてかかる化合物をランク付し、さらに試験するための約100ないし約200を選択することができる。さらに試験するために選択される化合物の数はこれらの目算よりも少ないか多いかである。好ましくは、g_scoreの大きさは選択基準として使用されるが、特にe_modelスコアが低い値である場合に、e_modelスコアも同様に使用されうると考えられる。さらには、選択基準はg_scoreおよびe_modelスコアの両方を基礎とすることができ、g_scoreに重みをつけることが好ましいと考えられる。

【0075】

ドッキングおよびスコアリングに付すことで、複数の配座異性体を有する一群の化合物を得ることができる。適当なモデリングソフトウェア（例、MOE）を用い、3D構造を2Dと複写物に変換され、それにより取り出すことが可能となる。例えば、かかる役割について設計されたサーチエンジン（例、eMolecules.com）を用いて市販のベンダーを調査するのに、得られた好ましい化学構造のリストを用いることができる。

標的生体分子に対する作用

【0076】

ファーマコフォアクエリーに従って選択される候補分子および/またはドッキング分析に従ってさらに選択される候補分子は、標的生体分子に対する作用について試験され得る。一の分子の生体分子機能（例、酵素活性の阻害）に対する作用の評価は当該分野にて公知の種々の方法（例、実施例1-3を参照）により評価され得る。例えば、一の候補分子の標的酵素の触媒活性に対する阻害作用は、標的酵素に特異的な既知の活性アッセイにより評価され得る（例、Reymond, ed. (2006) *Enzyme Assays: High-throughput Screening, Genetic Selection and Fingerprinting*, John Wiley & Sons, 386 p., ISBN-10: 3527310959; Eisenthal and Danson, Ed. (2002) *Enzyme Assays*, 2d edition, Oxford University Press, 384 p., ISBN-10: 0199638209を参照）。本願明細書に記載されるin-cell Western (ICW) スクリーニングプロトコルを用いて候補化合物を評価できる（例、実施例1; Chenら (2005) *Analytical Biochemistry* 338, 136-142を参照）。本願明細書にも記載されるように、MTT細胞増殖アッセイを用いて候補化合物を評価できる（例、実施例2を参照）。本願明細書にも記載されるように、EGF阻害剤アッセイを用いて候補化合物を評価できる（例、実施例3; Mukku (1984) *J. Biol. Chem.* 269, 6543-6546; Duhら (1990) *World J. Surgery* 14, 410-418; Lokeshwarら (1989) *J. Biol. Chem.* 264 (32), 19318-19326）。

さらなる精密化

【0077】

候補分子のさらなる精密化を行うことができる。例えば、生物学的アッセイからのデータは、リード類分子および/または薬物類分子をさらに精密化するように、そのドッキングモデルで修正され得る。種々のソフトウェアパッケージ（例、MOE）を利用して活性化化合物と標的生体分子との相互作用を可視化し、デノボ設計による修飾に適する鑄型上での部位を同定することができる。活性化化合物のアナログは類似性およびサブストラクチャーサーチを同定され得る（例、SciFinder; eModelを参照）。利用可能なアナログは上記したドッキングおよびスコアリング操作に従って分析され得る。望ましいドッキングスコアを有するアナログが獲得され、ここに記載の方法に従って標的生体分子に対する生物学的作用についてさらに試験され得る。当業者はこれらの、および他の、精密化方法を、およびここに記載の方法により同定される候補分子を開発する方法を理解するであろう。

ファルマコフォア

【0078】

EGFRの伸長されないテザー不活性な配置を実質的に維持しうるか、またはEGFRの伸長したテザー活性な配置を実質的に防止しうる小分子を同定するのに用いることができる、一連のファルマコフォアが本願発明にて提供される。ファルマコフォアは、限定さ

10

20

30

40

50

れるものではないが、スキーム I のファルマコフォア (A D 4 - 1 5 0 5 類) を包含する。

【 0 0 7 9 】

スキーム I のファルマコフォア (A D 4 - 1 5 0 5 類)

【 0 0 8 0 】

スキーム I のファルマコフォア (A D 4 - 1 5 0 5 類) は、官能基 F (I) 1、F (I) 2、F (I) 3、F (I) 4、F (I) 5、F (I) 6、F (I) 7、F (I) 8 および F (I) 9 を含み得る。

【 0 0 8 1 】

官能基 F (I) 1 は H - 結合を表すか、または配列番号 : 1 の受容体 A s p 5 5 3 のカルボキシレート側鎖に対する塩橋を形成し、 $r = 5 6 . 3 6 3$ 、 $(\text{シータ}) = 9 4 . 3 6 8$ 、および $(\text{ファイ}) = - 1 7 . 7 5 2$ の座標および約 1 . 2 の球体半径を有する。

10

【 0 0 8 2 】

官能基 F (I) 2 は配列番号 : 1 の受容体 T h r 5 7 0 の主鎖のカルボニルに対する H - 結合を表し、 $r = 5 3 . 2 9 0$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 1 . 4 9 4$ および $(\text{ファイ}) = - 2 3 . 2 4 4$ の座標および約 1 . 0 の球体半径を有する。

【 0 0 8 3 】

官能基 F (I) 3 は配列番号 : 1 の受容体 V a l 5 6 8 の側鎖と、受容体 H i s 5 6 6 のイミダゾール側鎖と、および受容体 P r o 5 5 2 のイミダゾリジン環と疎水的接触を形成し、 $r = 5 3 . 7 2 6$ 、 $(\text{シータ}) = 9 7 . 8 3 0$ および $(\text{ファイ}) = - 1 8 . 3 7 8$ の座標および約 1 . 7 の球体半径を有する。

20

【 0 0 8 4 】

官能基 F (I) 4 は H - 結合を表すか、配列番号 : 1 の受容体 A s p 5 6 3 のカルボキシレート側鎖と塩橋を形成し、 $r = 5 6 . 1 0 3$ 、 $(\text{シータ}) = 9 9 . 5 3 6$ および $(\text{ファイ}) = - 2 1 . 0 8 0$ の座標および約 1 . 2 の球体半径を有する。

【 0 0 8 5 】

官能基 F (I) 5 は配列番号 : 1 の受容体 P r o 5 7 2 のイミダゾリン環および M e t 2 5 3 の側鎖と疎水的接触を形成し、 $r = 5 3 . 6 4 7$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 3 . 8 4 4$ および $(\text{ファイ}) = - 2 0 . 9 9 0$ の座標および約 1 . 4 の球体半径を有する。

【 0 0 8 6 】

官能基 F (I) 6 は配列番号 : 1 の受容体 C y s 5 7 1 の主鎖のカルボニルとの H - 結合を表し、 $r = 5 1 . 0 8 8$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 4 . 2 4 1$ および $(\text{ファイ}) = - 2 5 . 5 5 2$ の座標および約 1 . 2 の球体半径を有する。

30

【 0 0 8 7 】

官能基 F (I) 7 は配列番号 : 1 の受容体 C y s 5 7 1 の主鎖のカルボニルとの H - 結合を表し、 $r = 5 2 . 3 4 0$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 3 . 9 8 0$ および $(\text{ファイ}) = - 2 7 . 4 6 1$ の座標および約 1 . 5 の球体半径を有する。

【 0 0 8 8 】

官能基 F (I) 8 は配列番号 : 1 の A l a 5 7 3 の受容体の主鎖の N H からの H - 結合を受け入れ、 $r = 5 1 . 3 8 3$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 6 . 4 5 5$ および $(\text{ファイ}) = - 2 4 . 3 1 9$ の座標および約 1 . 2 の球体半径を有する。

40

【 0 0 8 9 】

官能基 F (I) 9 は配列番号 : 1 の A l a 5 7 3 の受容体の主鎖の N H からの H - 結合を受け入れ、 $r = 5 2 . 8 6 1$ 、 $(\text{シータ}) = 1 0 7 . 6 9 2$ および $(\text{ファイ}) = - 2 5 . 4 4 7$ の座標および約 1 . 5 の球体半径を有する。

【 0 0 9 0 】

選択された候補化合物は、実質的に、少なくとも 1 つの官能基 F (I) 1、F (I) 2、F (I) 3、F (I) 4、F (I) 5、F (I) 6、F (I) 7、F (I) 8 および F (I) 9 と合致し得る。例えば、選択された候補化合物は、実質的に、少なくとも 2 つの、少なくとも 3 つの、少なくとも 4 つの、少なくとも 5 つの、少なくとも 6 つの、少なく

50

とも7つの、少なくとも8つの、または少なくとも9つの官能基 F (I) 1、F (I) 2、F (I) 3、F (I) 4、F (I) 5、F (I) 6、F (I) 7、F (I) 8 および F (I) 9 と合致し得る。好ましくは、選択された候補化合物は、実質的に、少なくとも6つの官能基 F (I) 1、F (I) 2、F (I) 3、F (I) 4、F (I) 5、F (I) 6、F (I) 7、F (I) 8 および F (I) 9 と合致し得る。

【0091】

一の態様は、表皮成長因子受容体 (E G F R) 阻害剤を同定する方法であって、3次元データベースへの入力データとしてファーマコフォアを含むスキーム I を準備し；候補化合物の3次元構造をファーマコフォアの3次元構造と比較し；スキーム I (A D S - 1 5 0 5 類) の6個以上の官能基と実質的に合致する3次元構造を有する候補化合物を選択する方法であって；ここで、候補化合物の3次元構造と、ファーマコフォアの3次元構造の間の類似性は、E G F R のテザー化された不活性配置を実質的に維持することで、あるいは E G F R のテザー化されていない活性配置の安定化を実質的に防止することで、候補化合物の E G F R を阻害する能力の指標となる、方法を提供する。

10

【0092】

ある実施態様において、該方法はさらには、不安定配座にある E G F R のドメイン I I および I V のテザー化されている配置を安定化することに伴う E G F R の原子の少なくとも一部の同一性および空間的定位置を測定し；ファーマコフォアを構築することを含む方法であって、ここで該ファーマコフォアは、ファーマコフォアの構造的特性が不活性な E G F R 配置に対して相補的であるような、不活性な配座の E G F R のドメイン I I およびドメイン I V のテザー化されている配置の安定化に伴う E G F R の原子の少なくとも一部の同一性および空間的定位置と近似する複数のファーマコフォアの特徴を含む。

20

【0093】

ある実施態様において、不活性配座にある E G F R のドメイン I I および I V のテザー化されている配置を安定化することに伴う E G F R の原子の少なくとも一部の同一性および空間的定位置の測定は、不活性なテザー化されている配座の E G F R の結晶形態より誘導される X - 線結晶学的データを分析することを含む。

【0094】

ある実施態様において、少なくとも一のファーマコフォアの特徴は、テザー化されている不活性な配座の E G F R のドメイン I I の原子の少なくとも一部の同一性および空間的定位置と近似する。ある実施態様において、少なくとも一のファーマコフォアの特徴は、テザー化されている不活性な配座の E G F R のドメイン I I およびドメイン I V の間の裂隙領域の少なくとも一部の原子の同一性および空間的定位置と近似する。

30

【0095】

ある実施態様において、該方法はさらには、不活性な配座の E G F R のドメイン I I およびドメイン I V のテザー化されている配置の安定化に伴う E G F R の原子の少なくとも一部について候補分子のドッキングアフィニティを特定することを含み方法であって、ここでドッキングアフィニティは、最も低いエネルギー配座またはその組み合わせに対してドックした配座を得るのに必要なエネルギーと、候補分子と標的生体分子との相互作用で得られるエネルギーとから定量される。

40

化合物

【0096】

本願発明のもう一つ別の態様は、ここに記載の方法によって同定される小分子化合物を包含する。ここに記載の化合物は、例えば、増殖性疾患、障害または症状を処置するのに有用な抗増殖性作用を有し得る。ここに記載の化合物は、本願発明に従って同定される標的生体分子と関連する、疾患、障害または症状の治療に有用であり得る。ここに記載の化合物の種々の実施態様は、複数のドメインの蛋白をテザー化された不活性な状態で保持しうる。例えば、成長因子蛋白が腫瘍学におけるある種の症状の治療に効果的であることは周知である。もう一つ別の例として、E G F R の阻害は、以下にさらに記載されるように、E G F R に関連するある種の症状の処置にて利益を有する。ここに記載の化合物は、例

50

えば、EGFRに關与する増殖性疾患または障害を処置するのに有用なEGFR阻害作用を有し得る。ここに記載の化合物は經驗的に増殖性疾患および症状の処置に効果的であることが明らかにされた。

【0097】

A D 4 - 1 5 0 5 を含め、種々の化合物が、ここに記載のファーマコフォアの方法を介してEGFR阻害剤として同定された（例、実施例4を参照のこと）。かかる化合物およびその誘導体は、増殖性疾患および症状の処置のための治療用剤としての有用性を有する。例えば、ここに記載の化合物は、EGFR - 關連疾患、障害または症状の処置のための治療剤として使用され得る。かかる化合物のアナログおよび誘導体は同じまたは同様の抗増殖性作用および有用性を有すると考えられる（例、実施例5を参照のこと）。同定された化合物およびそのアナログおよび誘導体がさらに以下に記載される。

10

【0098】

発症機序を提供する義務もなければ、そうすることで本願発明を限定するものではないが、ここに記載の化合物の活性の少なくとも一部がEGFRの阻害から生じると考えられる。さらには、本願発明の化合物は増殖性疾患、障害または症状を処置するにおいてその効能にて付加的な作用モードを有すると考えられる。作用機序と關係なく、ここに記載の化合物は、増殖性疾患および症状の処置にて經驗的に効果的であることが明らかにされた。

【0099】

以下の定義は本願発明の開示をより規定するように提供される。特記しない限り、用語は、關連する分野における当業者により通常の使用に従うと理解されるべきである。

20

【0100】

特記しない限り、「アルキル」なる語は、C 1 - 1 2 アルキル基、適当にはC 1 - 6 アルキル基、例えば、C 1 - 4 アルキル基をいう。アルキル基は直鎖であっても、分岐してもよい。適当なアルキル基は、例えば、メチル、エチル、プロピル（例、n - プロピルおよびイソプロピル）、ブチル（例、n - ブチル、イソブチル、sec - ブチルおよびtert - ブチル）、ペンチル（例、n - ペンチル）、ヘキシル（例、n - ヘキシル）、ヘプチル（例、n - ヘプチル）およびオクチル（例、n - オクチル）を包含する。例えば、「アルコキシ」、「ハロアルキル」および「チオアルキル」なる語の中の「アルク」なる語は、「アルキル」なる定義に従うと解釈されるべきである。典型的なアルコキシ基は、メトキシ、エトキシ、プロポキシ（例、n - プロポキシ）、ブトキシ（例、n - ブトキシ）、ペントキシ（例、n - ペントキシ）、ヘキソキシ（例、n - ヘキソキシ）、ヘプトキシ（例、n - ヘプトキシ）およびオクトキシ（例、n - オクトキシ）を包含する。

30

【0101】

「シクロアルキル」なる語は、特記しない限り、C 3 - 1 0 のシクロアルキル基（すなわち、3 ないし 1 0 個の環炭素原子）、より適当にはC 3 - 8 のシクロアルキル基、例えばC 3 - 6 シクロアルキル基をいう。典型的なシクロアルキル基はシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルを包含する。環炭素原子の好ましい数は3 ないし 6 である。

【0102】

「アリール」なる語は、特記しない限り、C 6 - 1 2 アリール基、適当にはC 6 - 1 0 アリール基、より適当にはC 6 - 8 アリール基をいう。アリール基は少なくとも1つの芳香族環（例、単環、二環または三環）を含有するであろう。1つの芳香族環を有する典型的なアリール基の一例がフェニルである。2つの芳香族環を有する典型的なアリール基の一例がナフチルである。

40

【0103】

「ヘテロアリール」なる語は、特記しない限り、アリール残基を意味し、ここで1または複数の（例、1、2、3または4、適当には1、2または3個の）環原子は、N、SおよびOより選択されるヘテロ原子により置換されるか、またはN、SおよびOより選択される1または複数の（例、1、2、3または4、適当には1、2または3個の）環原子を

50

含有する5-員の芳香族環である。1個のヘテロ原子を有する典型的な単環式ヘテロアリアル基は：5員環（例、ピロール、フラン、チオフェン）；および6員環（例、ピリジン-2-イル、ピリジン-3-イルおよびピリジン-4-イルなどのピリジン）を包含する。2個のヘテロ原子を有する典型的な単環式ヘテロアリアル基は：6員環（例、ピラゾール、オキサゾール、イソキサゾール、チアゾール、イソチアゾール、イミダゾール-1-イル、イミダゾール-2-イル、イミダゾール-4-イルなどのイミダゾール）；6員環（例、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン）を包含する。3個のヘテロ原子を有する典型的な単環式ヘテロアリアル基は：1,2,3-トリアゾールおよび1,2,4-トリアゾールを包含する。4個のヘテロ原子を有する典型的な単環式ヘテロアリアル基は、テトラゾールを包含する。典型的な二環式ヘテロアリアル基は：インドール（例、インドール-6-イル）、ベンゾフラン、ベンズチオフェン、キノリン、イソキノリン、インダゾール、ベンズイミダゾール、ベンズチアゾール、キナゾリンおよびプリンを包含する。

10

【0104】

飽和基は、一般に、二重または三重結合を有しないものとして理解される。例えば、飽和した鎖状炭化水素において、該鎖の両端にて、3個の水素原子を担持するものを除き、炭素原子は各々2個の水素原子に結合する。例えば、不飽和炭化水素は、一般に、1または複数の二重または三重結合を有する炭素構造物として理解される。

【0105】

「ハロゲン」または「ハロ」なる語は、フッ素（F）、塩素（Cl）、臭素（Br）またはヨウ素（I）を包含する。

20

【0106】

「アミノ」なる語は基 -NH₂をいう。

【0107】

本願発明の開示には特許請求の範囲に記載の化合物で可能性のあるすべての立体異性体が含まれる。ここに記載の化合物は少なくとも1つのキラル中心を有し、したがって、エナンチオマーとして存在してもよい。化合物が2またはそれ上のキラル中心を有する場合には、付加的に、ジアステレオマーとして存在してもよい。かかるすべての異性体およびその混合物は本願発明の開示の範囲内に含まれると理解されるべきである。

【0108】

遊離形態の化合物およびその塩の形態の化合物との間の密接な関係を考慮して、本願明細書にて化合物と称される場合には、対応する塩も、ある環境下で可能または適当であることを条件として、意図されるものである。医薬上許容される塩は、塩基性側鎖が無機または有機酸でプロトン化される形態をとり得る。代表的な有機または無機酸は塩化水素酸、臭化水素酸、過塩素酸、硫酸、硝酸、リン酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、シュウ酸、パーモ酸、2-ナフタレンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、シクロヘキサンスルファミン酸、サリチル酸、サッカリン酸またはトリフルオロ酢酸を包含する。また、酸性側鎖が金属イオン（例、ナトリウム、カリウムイオン等）またはアンモニウムなどの他の陽イオンとの塩を形成する形態を取ってもよい。ここに記載の化合物のすべての医薬上許容される酸付加塩の形態も本願発明の開示の範囲に含まれることを意図とするものである。

30

40

【0109】

化合物の結晶形態のいくつかは1種より多くの多形態にて存在してもよく、そのようなすべての形態は本願発明の開示に含まれることを意図とする。加えて、化合物のいくつかは水との溶媒和物（すなわち、水和物）または通常の有機溶媒との溶媒和物を形成してもよく、かかる溶媒和物も本願発明の開示の範囲内に含まれることを意図とするものである。その塩を含む化合物はまた、その水和物の形態にて得ることができ、またはその結晶化に使用される他の溶媒を含み得る。

50

【0110】

本願発明の開示はさらにはここに記載の化合物のプロドラッグをその範囲内に含む。一般に、かかるプロドラッグは望ましい治療的に活性な化合物にインビボにて容易に変換可能な化合物の機能的誘導体であろう。かくして、本願発明のこれらの治療法のケースにて、「投与」なる語は、対象に投与した後にインビボにて上記した化合物に変わる、1または複数の本願発明の化合物のプロドラッグで、記載される種々の障害を治療することを包含するであろう。

【0111】

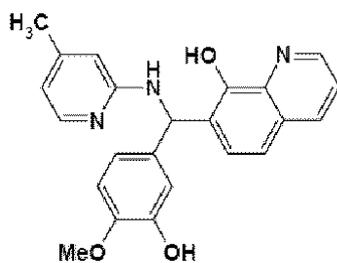
本願明細書で使用される「組成物」なる語は、請求項に係る化合物を治療上有効量にて含む生成物、ならびに請求項に係る化合物を組み合わせ、直接または間接的に、もたらされる生成物を包含することを意図とする。

10

【0112】

AD4-1505はその受容体に結合する表皮成長因子の阻害剤として同定される（例えば、実施例4を参照のこと）。

【化1】



20

AD4-1505、式(1)

【0113】

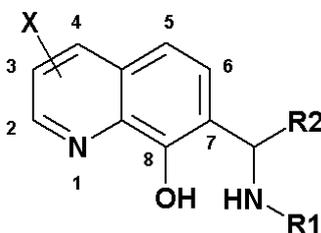
本願明細書に記載されるファーマコフォア実験はAD4-1505類である小分子を同定するのに利用された。

[A型 AD4-1505類]

【0114】

AD4-1505類ファーマコフォアより誘導される一の構造は次のとおりである：

【化2】



30

式(2)

【0115】

上記した構造にて、式(2)のXは、次の水素原子、2-メチル、5-クロロ、5-ニトロまたは6-ヒドロキシル基からの1または複数の官能基を示しうる。

40

【0116】

式(2)のR1は：

【0117】

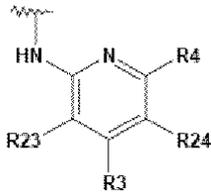
式(3)の2-ピリジル環であり、ここでR23は水素；フルオロ；クロロ；トリフルオロメチル；メチル；エチル；およびメトキシからなる群より選択され；R3は水素；フルオロ；クロロ；メチル；エチル；メトキシ；所望により不飽和結合を含んでもよい直鎖または分岐したC-1ないしC-4低級アルキル；所望により不飽和結合あるいは1個の酸素または窒素原子を含んでもよいC-1ないしC-6シクロアルキル；フェニルまたは1ないし4個のN、OまたはS原子を含むヘテロアリーの5または6員の環からなるア

50

リール；およびアルコキシ（-OR10（R10は所望により不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC-1ないしC-4低級アルキルあるいは所望により不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC-1ないしC-6シクロアルキルである）からなる群より選択され；R24は：水素；フルオロ；クロロ；およびトリフルオロメチルからなる群より選択され；およびR4は水素；メチル；所望により不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC-1ないしC-4低級アルキル；所望により不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC-1ないしC-6シクロアルキル；フェニルまたは1ないし4個のN、OまたはS原子を含むヘテロアリーの5または6員の環からなるアリール；およびアルコキシ（-OR10（R10は所望により不飽和結合を含有してもよい直鎖または分岐したC-1ないしC-4低級アルキルあるいは所望により不飽和結合または1個の酸素または窒素原子を含有してもよいC-1ないしC-6シクロアルキルである）からなる群より選択され；

10

【化3】



式(3)

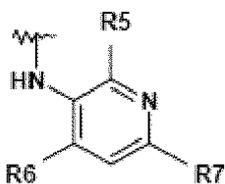
20

【0118】

式(4)の3-ピリジル環であり、ここでR5、R6およびR7は、独立して、C-1ないしC-4の直鎖、分岐した、または所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義されるシクロアルキル、フェニルまたは1ないし4個のN、OまたはS原子を含むヘテロアリールからなるアリール、アルコキシ（-OR10、ここでR10は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される）からなる群より選択され（例、AD4-12908、AD4-13051、AD4-13021、AD4-13021、AD4-13063、AD4-013064、AD4-13065、AD4-13066、AD4-13101）；

30

【化4】



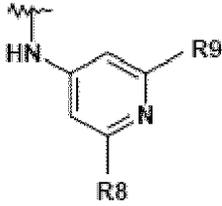
式(4)

【0119】

式(5)の4-ピリジル環であり、ここでR8およびR9は、独立して、C-1ないしC-4の直鎖または分岐した、あるいは所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義されるシクロアルキル、フェニルまたは1ないし4個のN、OまたはS原子を含むヘテロアリールからなるアリール、アルコキシ（-OR10、ここでR10は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される）からなる群より選択され；

40

【化 5】



式 (5)

【 0 1 2 0 】

置換されていないフェニル環、あるいは好ましくは 1 または複数の以下の基：C - 1 ないし C - 4 の直鎖または分岐した、あるいは所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義されるシクロアルキル、フェニルまたは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含むヘテロアリアルからなるアリアル、アルコキシ (- OR₁₀、ここで R₁₀ は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される)、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ジフルオロメトキシ、3, 4 - メチレンジオキシ、2, 3 - メチレンジオキシ、ニトロまたはハロゲン (F、Cl、Br、I) で置換されているフェニル環であるか；または

10

【 0 1 2 1 】

置換されていない 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有する 5 または 6 員のヘテロアリアル環、あるいは 1 または複数の以下の基：C - 1 ないし C - 4 の直鎖または分岐した、あるいは所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義されるシクロアルキル、フェニルまたは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有する 5 または 6 員のヘテロアリアル環を含むアリアル、アルコキシ (- OR₁₀、ここで R₁₀ は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される) として定義される置換基で 1 または複数回置換されている、1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有する 5 または 6 員のヘテロアリアル環

20

を示しうる。

【 0 1 2 2 】

R₁ が式 (3) の 2 - ピリジル環であり、R_{2 4} がクロロであり、R_{2 3} がメチルである場合に、得られる化合物が安定性の強化を示しうるが見出された (実施例 10 を参照のこと)。

30

【 0 1 2 3 】

R₁ がハロゲンおよびアルキル基の組み合わせで置換されている式 (3) の 2 - ピリジル環である場合に、得られる化合物が抗増殖活性の亢進を示しうるが見出された (実施例 10 を参照のこと)。例えば、R₁ が式 (3) の 2 - ピリジル環である場合、次の置換が亢進された抗増殖活性を提供しうる：R₄ = 水素、R_{2 4} = フルオロ、R₃ = 水素および R_{2 3} = フルオロ；R₄ = メチル、R_{2 4} = クロロ、R₃ = 水素および R_{2 3} = フルオロ；R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = エチルおよび R_{2 3} = フルオロ；R₄ = 水素、R_{2 4} = フルオロ、R₃ = メチルおよび R_{2 3} = フルオロ；R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = 水素および R_{2 3} = エチル；R₄ = メチル、R_{2 4} = クロロ、R₃ = 水素および R_{2 3} = クロロ；R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = メチルおよび R_{2 3} = フルオロ；R₄ = 水素、R_{2 4} = トリフルオロメチル、R₃ = 水素および R_{2 3} = 水素；R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = 水素および R_{2 3} = メチル；R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = 水素および R_{2 3} = クロロ；R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = メチルおよび R_{2 3} = 水素；あるいは R₄ = 水素、R_{2 4} = クロロ、R₃ = クロロおよび R_{2 3} = 水素 (例えば、実施例 10 を参照のこと)。

40

【 0 1 2 4 】

R₁ が式 (3) の 2 - ピリジル環であり、R_{2 4} がクロロであり、R₃ または R_{2 3} の

50

一方または両方に付加的にクロロまたはメチルがある場合に、得られる化合物がアポトーシスの亢進を示していることが見出された（実施例 10 を参照のこと）。例えば、R 1 が式 (3) の 2 - ピリジル環である場合、以下の置換がアポトーシスの亢進を提供しうる：R 2 4 = クロロ、R 3 = 水素および R 2 3 = メチル；R 2 4 = クロロ、R 3 = メチルおよび R 2 3 = フルオロ；R 2 4 = クロロ、R 3 = クロロおよび R 2 3 = 水素；ならびに R 2 4 = クロロ、R 3 = 水素および R 2 3 = クロロ。

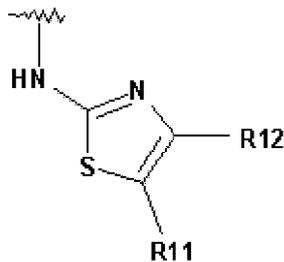
【0125】

式 (2) の R 1 が式 (3) の 2 - ピリジル環であり、アミノピリジンの R 2 4 にある基が肝細胞の培養にて代謝作用を遮断していることが見出された。

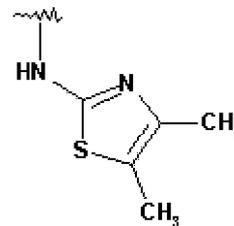
【0126】

好ましい一例として、式 (2) の R 1 は、置換されていない 2 - (1,3 - チアゾイル) 環 (式 (6) を参照のこと) または該チアゾール環の 4 - または 5 - 位に基を有する 2 - (1,3 - チアゾイル) 環、例えば、2 - (4,5 - ジメチル - 1,3 - チアゾイル) 環 (式 (7) を参照のこと)：

【化 6】



2 - (1,3 - チアゾイル) 環置換
式 (6)



2 - (4,5 - ジメチル - 1,3 - チアゾイル) 基
式 (7)

を

表しうる。

【0127】

式 (2) の R 2 は：

【0128】

置換されていないフェニル環あるいは 2 -、3 -、4 -、5 - または 6 - 位で 1 または複数の以下の基：C - 1 ないし C - 4 の直鎖または分岐した、あるいは所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義されるシクロアルキル、フェニルまたは 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含むヘテロアリアルからなるアリアル、アルコキシ (-OR 10、ここで R 10 は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される)、2,3 - メチレンジオキシまたは 3,4 - メチレンジオキシ基、ジアルキルアミノ (-NR 13 R 14、ここで R 13 および R 14 は、独立して、水素原子または上記した低級アルキル基より選択される)；トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ジフルオロメトキシ、3,4 - メチレンジオキシ、2,3 - メチレンジオキシ、ニトロまたはハロゲン (F、Cl、Br、I) で置換されているフェニル環；

【0129】

式 (8) の 2 - チオフェン環であって、R 15、R 16 および R 17 が、独立して、水素、低級アルキル、シクロアルキル、アルコキシ、ジアルキルアミノ、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメトキシまたは上記したようなハロゲンからなる群より選択され；

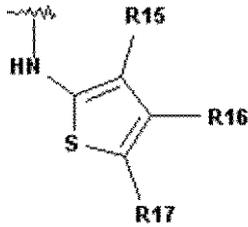
10

20

30

40

【化7】

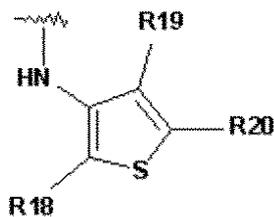
2-チオフェン環置換
式(8)

10

【0130】

式(9)の3-チオフェン環であって、ここでR18、R19およびR20が、独立して、低級アルキル、シクロアルキル、アルコキシ、ジアルキルアミノ、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメトキシまたは上記したようなハロゲンからなる群より選択され；

【化8】

3-チオフェン環置換
式(9)

20

【0131】

置換されていない2-ピリジル環、またはピリジン環の4-または6-位で1または複数の以下の基：上記されている低級アルキル基、上記されているシクロアルキル基で置換されている2-ピリジル環；

30

【0132】

置換されていない3-ピリジル環、またはピリジン環の2-、4-または6-位で1または複数の以下の基：上記されている低級アルキル基、上記されているシクロアルキル基で置換されている3-ピリジル環；または

【0133】

置換されていない4-ピリジル環、またはピリジン環の2-または6-位で1または複数の以下の基：上記されている低級アルキル基、上記されているシクロアルキル基で置換されている4-ピリジル環

を示しうる。

【0134】

R2がその2-および4-位で置換されているフェニル環である場合に、得られる化合物は安定性の強化を示しうることが見出された(実施例10を参照のこと)。例えば、R2が4-トリフルオロメチルフェニル；2-フルオロ、4-トリフルオロメチルフェニル；または2,4-ジクロロフェニルである場合、得られる化合物は安定性の強化を示しうる(実施例10を参照のこと)。

40

【0135】

R2がハロゲンおよびトリフルオロメチル基の組み合わせで置換されているフェニル環である場合、得られる化合物は抗増殖活性の亢進を示しうることが見出された(実施例10を参照のこと)。例えば、R2が4-クロロフェニル；2-フルオロ、4-トリフルオロメチルフェニル；3-フルオロ、4-クロロフェニル；2-フルオロ、4-クロロフェニル

50

ル；2,3 - ジクロロフェニル；2,3,5 - トリクロロフェニル；2,4 - ジクロロフェニル；3,4 - ジクロロフェニル；または3,5 - ジクロロフェニルである場合、得られる化合物は抗増殖活性の亢進を示しうる（実施例10を参照のこと）。

【0136】

R2がその4位でクロロにより置換されており、2 - または3 - 位でクロロまたはフルオロで付加的に置換されているフェニル環である場合、得られる化合物はアポトーシスの亢進を示すことが見出された（実施例10を参照のこと）。例えば、R2が2,4 - ジクロロフェニルまたは2 - クロロ,4 - フルオロフェニルである場合、得られる化合物はアポトーシスの亢進を示しうる（実施例10を参照のこと）。

【0137】

ある実施態様において、化合物は式(2)のエナンチオマー異性体である。

【0138】

ある実施態様において、式(2)の化合物は、R1およびR2に従って、以下の表1 - 4にて提供される：

表1：R1およびR2置換の組み合わせ（Pyr = ピリジン；Ani = アニリン）

【表 1】

R2 フェニ ル置換	R1=5ClPyr	R1=5FPyr	R1=4ClPyr	R1=4Me-5Cl Pyr	R1=4Me-5FP yr
2Cl	AD4-13087	AD4-13104		AD4-13141	AD4-13116
3Cl	AD4-13151				
4Cl	AD4-13152			AD4-13157	
2,3-diCl	AD4-13086	AD4-13103		AD4-13153	AD4-13126
3,4-diCl	AD4-13054	AD4-13113	AD4-13069	AD4-13166	AD4-13127
2,4-diCl	AD4-13097	AD4-13110		AD4-13123	AD4-13128
2,5-diCl	AD4-13095	AD4-13102		AD4-13158	AD4-13118
3,5-diCl	AD4-13094	AD4-13098		AD4-13122	AD4-13114
2,6-diCl	AD4-13109	AD4-13120		AD4-13148	AD4-13125
2,3,5-triCl	AD4-13111	AD4-13132		AD4-13156	
2Cl-4F	AD4-13088	AD4-13099		AD4-13149	AD4-13115
2Cl-6F	AD4-13091	AD4-13112		AD4-13140	AD4-13117
3F-4Cl					
3Cl-4F					
4CF ₃	AD4-13053		AD4-13044	AD4-13121	
3F-4CF ₃	AD4-13055	AD4-13061	AD4-13048	AD4-13106	
2Cl-5CF ₃	AD4-13052	AD4-13049	AD4-13060		
4Cl-5CF ₃	AD4-13067	AD4-13071	AD4-13047	AD4-13108	
2,4-diCF ₃				AD4-13124	
3CF ₃				AD4-13107	
2F-4CF ₃			AD4-13046	AD4-13129	
2,3,5,6-F4		AD4-13070		AD4-13136	
2,4-diF		AD4-13050	AD4-13045		
3-Me-4-OM e					
2-F					
2,3,5,6-F4- 4-OCH ₂ CF ₃					
2-Me					
3-F					
4-OCF ₃					
3-OH-4-OM e				AD4-13186	
2-OH-5-Me					
3,4-diOMe				AD4-13194	
2,3,4-triOM e				AD4-13196	

表 2 : R 1 および R 2 置換の組み合わせ (Pyr = ピリジン ; Ani = アニリン)

【表 2】

R2 フェニル置換	R1=3Me-5Cl	R1=5-CF ₃ Pyr	R1=Pyr	R1=4-MePyr	R1=6-MePyr	R1=3,5-diFPyr
2Cl	AD4-13134			AD4-12907	AD4-12904	AD4-13183
3Cl	AD4-13159					AD4-13173
4Cl	AD4-13154					AD4-13174
2,3-diCl	AD4-13147		AD4-10051	AD4-12906	AD4-12905	
3,4-diCl	AD4-13119	AD4-13030	AD4-13037	AD4-12917	AD4-12916	AD4-13182
2,4-diCl	AD4-13130	AD4-13033	AD4-13039	AD4-12912	AD4-12911	AD4-13175
2,5-diCl	AD4-13137		AD4-12910	AD4-12954	AD4-12955	AD4-13155
3,5-diCl	AD4-13131		AD4-12914	AD4-12915	AD4-12913	AD4-13176
2,6-diCl	AD4-13142		AD4-13019			AD4-13138
2,3,5-triCl	AD4-13167			AD4-13072	AD4-13023	AD4-13181
2Cl-4F	AD4-13139		AD4-13027	AD4-13026	AD4-13024	AD4-13146
2Cl-6F	AD4-13135			AD4-13020	AD4-12959	AD4-13133

10

20

30

【表 3】

3F-4Cl	AD4-1322 9					
3Cl-4F						
4CF ₃	AD4-1304 1	AD4-1302 8	AD4-1046 0	AD4-1048 6	AD4-1062 8	
3F-4CF ₃	AD4-1304 3	AD4-1303 4	AD4-1304 0			
2Cl-5CF ₃	AD4-1305 8	AD4-1305 6	AD4-1303 5			
4Cl-5CF ₃		AD4-1303 2	AD4-1305 7			
2,4-diCF ₃						
3CF ₃		AD4-1316 4			AD4-1290 3	
2F-4CF ₃	AD4-1304 2	AD4-1303 1	AD4-1303 8	AD4-1309 6		
2,3,5,6-F4	AD4-1305 9				AD4-1291 8	
2,4-diF	AD4-1306 8	AD4-1302 9	AD4-1303 6			
3-Me-4-O Me			AD4-1296 5			
2-F						
2,3,5,6-F4 -4-OCH ₂ CF ₃			AD4-1309 3	AD4-1309 2	AD4-1308 5	
2-Me				AD4-1293 5		
3-F				AD4-1295 3		
4-OCF ₃					AD4-1290 2	
3-OH-4- OMe	AD4-1319 0			AD4-1505	AD4-1290 9	
2-OH-5- Me					AD4-1293 6	
3,4-diOMe	AD4-1319 3					
2,3,4-triO Me	AD4-1320 8					
2,4-diCl (2MeQ)	AD4-1320 0					

表 3 : R 1 および R 2 置換の組み合わせ (Pyr = ピリジン ; Ani = アニリン)

【表 4】

R2 フェニ ル置換	R1=3F-5Cl Pyr	R1=5-Cl-6 -MePyr	R1=3-F-5- CF ₃ Pyr	R1=4,5-diC lPyr	R1=3-F-4- Me-5-ClPyr	R1=3,5-diC l-6-MePyr
2Cl						
3Cl				AD4-13188		
4Cl		AD4-13161		AD4-13187		
2,3-diCl				AD4-13172	AD4-13192	AD4-13211
3,4-diCl	AD4-13150			AD4-13177		AD4-13202
2,4-diCl	AD4-13143		AD4-13165	AD4-13178	AD4-13199	AD4-13206
2,5-diCl				AD4-13179		AD4-13220
3,5-diCl				AD4-13189		AD4-13223
2,6-diCl						
2,3,5-triCl		AD4-13209		AD4-13180		AD4-13213
2Cl-4F				AD4-13185		
2Cl-6F						
3F-4Cl				AD4-13224		AD4-13230
3Cl-4F						
4CF ₃	AD4-13162					
3F-4CF ₃	AD4-13144					
2Cl-5CF ₃						
3CF ₃ -4-Cl				AD4-13184		
2,4-diCF ₃						
3CF ₃	AD4-13145					
2F-4CF ₃						
2,3,5,6-F ₄	AD4-13163					
2,4-diF						
3-Me-4-O Me						
2-F						
2,3,5,6-F ₄ -4-OCH ₂ C F ₃						
2-Me						
3-F						
4-OCF ₃						
3-OH-4-O Me				AD4-13191	AD4-13203	
2-OH-5-M e						
3,4-diOMe				AD4-13195		
2,3,4-triO Me				AD4-13197		AD4-13210

10

20

30

40

表 4 : R 1 および R 2 置換の組み合わせ (Pyr = ピリジン ; Ani = アニリン)

【表 5】

R2 フェニ ル置換	R1=2-Me-4 -Cl-Ani	R1=3-Me-4 -Cl-Ani	R1=3-MeO- 5-ClPyr	R1=3-Et-5- ClPyr	R1=3-F-4- Et-5-ClPyr	R1=3,5-diCl Pyr
2Cl						
3Cl						
4Cl				AD4-13225		
2,3-diCl				AD4-13215	AD4-13222	
3,4-diCl	AD4-13204	AD4-13207				
2,4-diCl	AD4-13201			AD4-13217	AD4-13218	AD4-13231
2,5-diCl			AD4-13221	AD4-13227		
3,5-diCl			AD4-13216	AD4-13226		
2,6-diCl						
2,3,5-triCl			AD4-13228			
2Cl-4F	AD4-13198	AD4-13205				
2Cl-6F						
3F-4Cl						
3Cl-4F						
4CF ₃						
3F-4CF ₃						
2Cl-5CF ₃						
3CF ₃ -4-Cl						
2,4-diCF ₃						
3CF ₃						
2F-4CF ₃						
2,3,5,6-F4						
2,4-diF						
3-Me-4-O Me						
2-F						
2,3,5,6-F4- 4-OCH ₂ CF ₃						
2-Me						
3-F						
4-OCF ₃						
3-OH-4-O Me						
2-OH-5-Me						
3,4-diOMe						
2,3,4-triOMe			AD4-13214		AD4-13219	

10

20

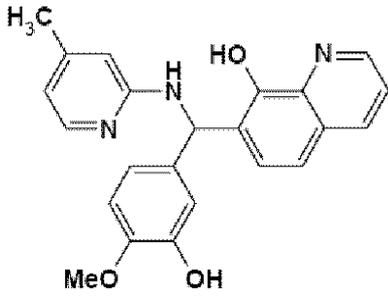
30

40

【 0 1 3 9 】

ある実施態様において、式(2)の化合物はAD4-1505である。

【化9】



AD4-1505、式(1)

10

【0140】

ある実施態様において、式(2)の化合物は表5の化合物より選択される。

表5：式(2)の化合物

【表6】

AD4-12902		AD4-12908		20
AD4-12903		AD4-12909		
AD4-12904		AD4-12910		30
AD4-12905		AD4-12911		
AD4-12906		AD4-12912		40
AD4-12907		AD4-12913		50

【表 7】

AD4-12914		AD4-12936		10
AD4-12915		AD4-12937		
AD4-12916		AD4-12953		20
AD4-12917		AD4-12954		
AD4-12918		AD4-12955		30
AD4-12935		AD4-12958		40

【表 8】

AD4-12959		AD4-13019	
AD4-12965		AD4-13020	
AD4-12966		AD4-13021A	
AD4-12990		AD4-13021B	
AD4-12991		AD4-13022	
AD4-13018		AD4-13023	

10

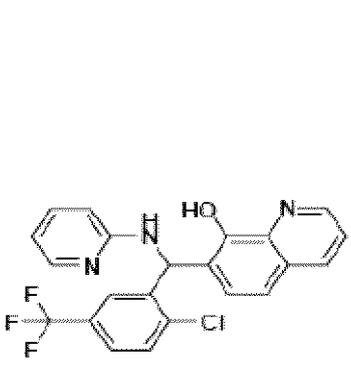
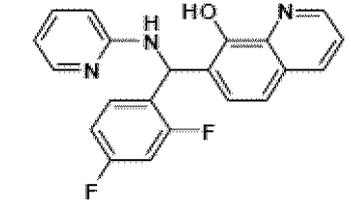
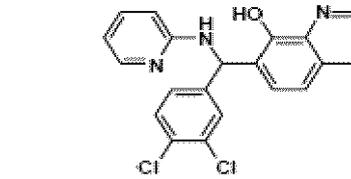
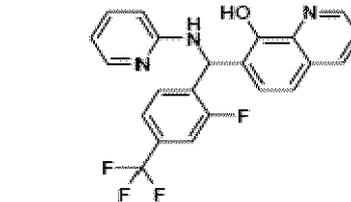
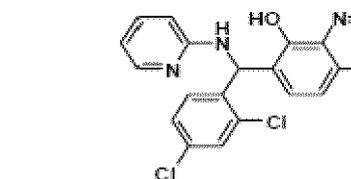
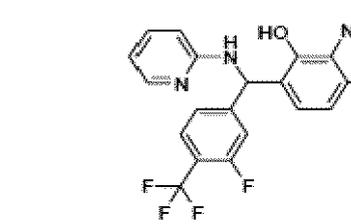
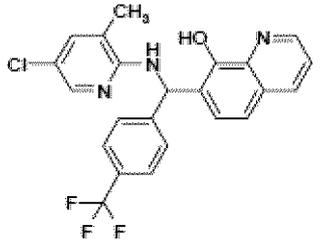
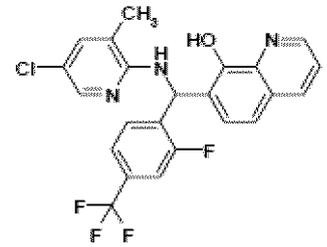
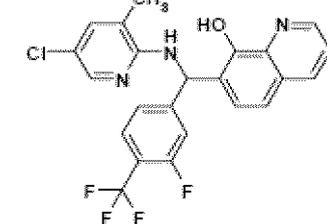
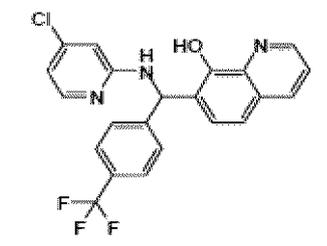
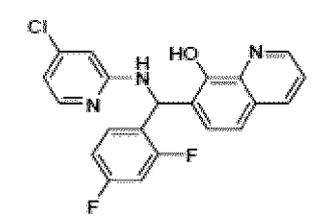
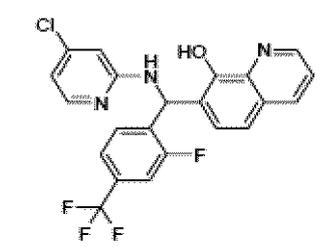
20

30

【表 9】

AD4-13024		AD4-13030		10
AD4-13025		AD4-13031		20
AD4-13026		AD4-13032		30
AD4-13027		AD4-13033-1		
AD4-13028		AD4-13033-2		
AD4-13029		AD4-13034		

【表 10】

		AD4-13041		AD4-13042		AD4-13043		AD4-13044		AD4-13045		AD4-13046												
--	---	-----------	---	-----------	--	-----------	---	-----------	---	-----------	---	-----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

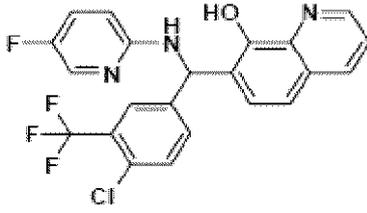
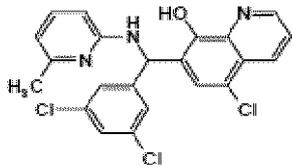
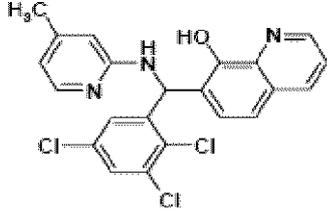
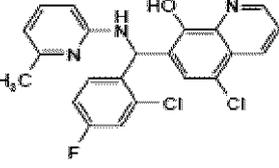
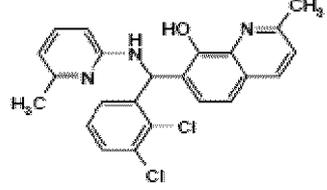
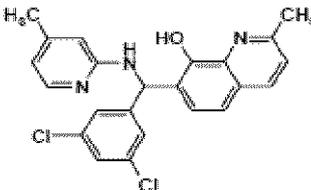
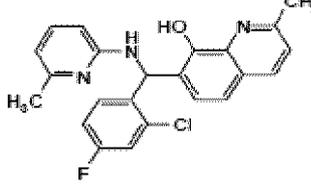
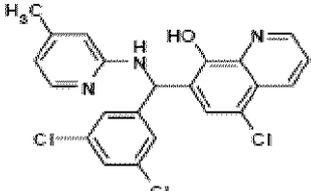
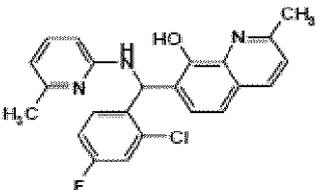
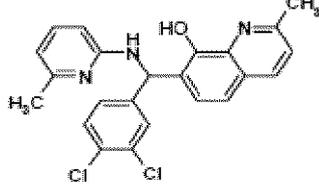
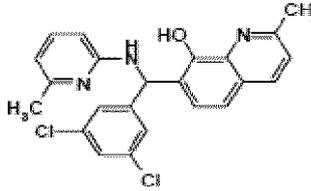
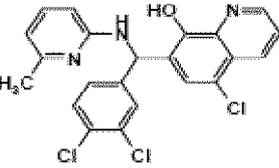
【表 1 1】

AD4-13047		AD4-13053		10
AD4-13048		AD4-13054		
AD4-13049		AD4-13055		20
AD4-13050		AD4-13056		
AD4-13051		AD4-13057		30
AD4-13052		AD4-13058		

【表 1 2】

AD4-13059		AD4-13065		10
AD4-13060		AD4-13066		
AD4-13061		AD4-13067		
AD4-13062		AD4-13068		20
AD4-13063		AD4-13069		30
AD4-13064		AD4-13070		

【表 1 3】

AD4-13071		AD4-13076		10
AD4-13072		AD4-13077		20
AD4-13073		AD4-13078		30
AD4-13074		AD4-13079		
AD4-13074-2		AD4-13080		
AD4-13075		AD4-13081		

【表 1 4】

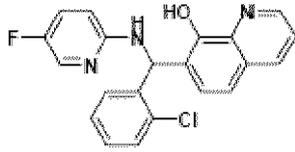
AD4-13080		AD4-13086		
AD4-13081			10	
AD4-13082		AD4-13087		20
AD4-13083		AD4-13089		
AD4-13084		AD4-13090		30
AD4-13085		AD4-13091		40

【表 15】

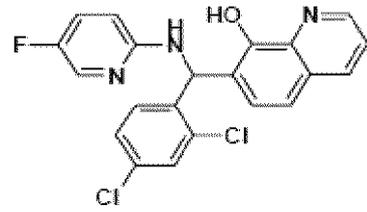
AD4-13092		AD4-13098		10
AD4-13093		AD4-13099		
AD4-13094		AD4-13100		20
AD4-13095		AD4-13101		30
AD4-13096		AD4-13102		
AD4-13097		AD4-13103		40

【表 16】

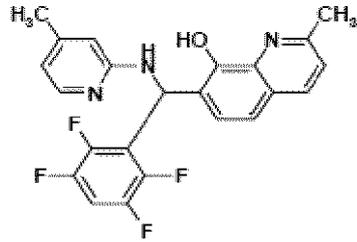
AD4-13104



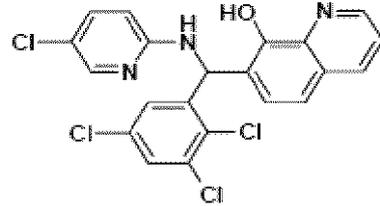
AD4-13110



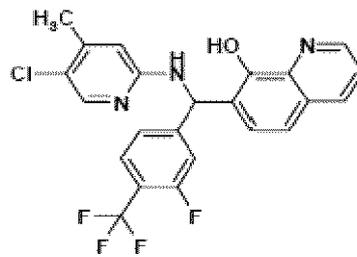
AD4-13105



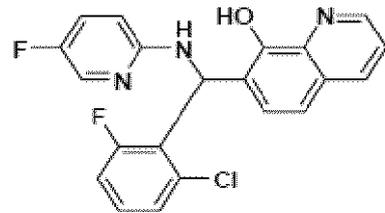
AD4-13111



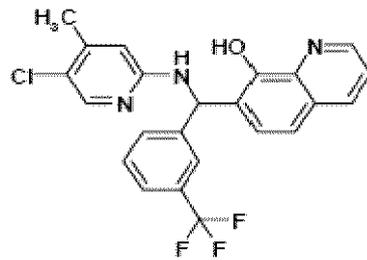
AD4-13106



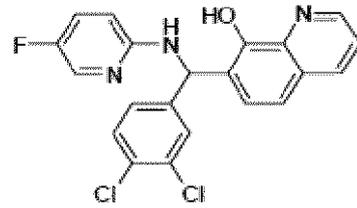
AD4-13112



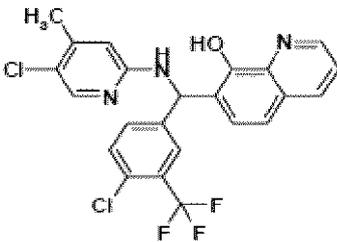
AD4-13107



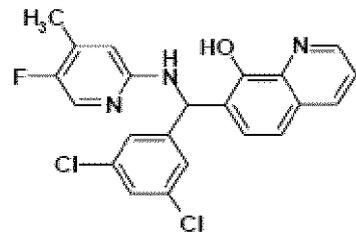
AD4-13113



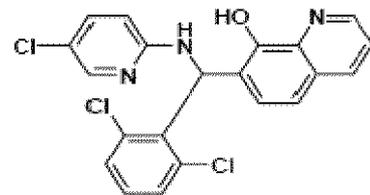
AD4-13108



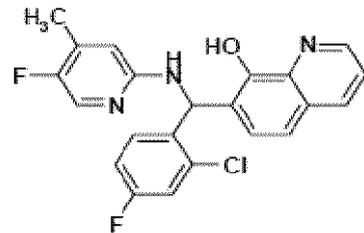
AD4-13114



AD4-13109



AD4-13115



10

20

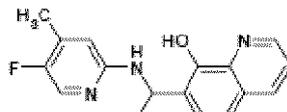
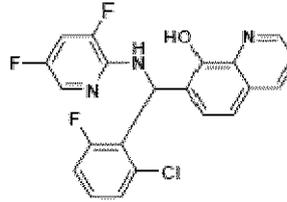
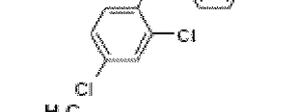
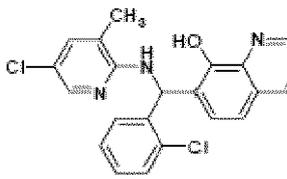
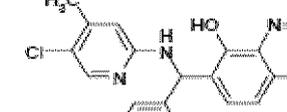
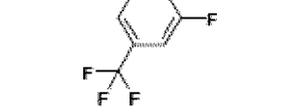
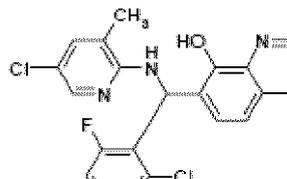
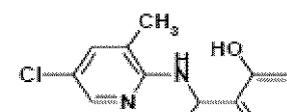
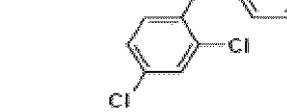
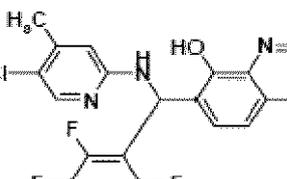
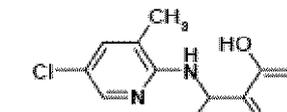
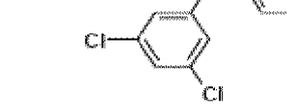
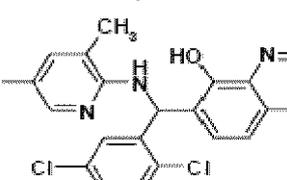
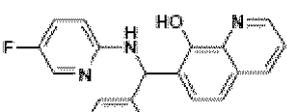
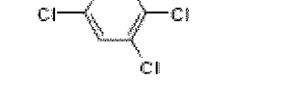
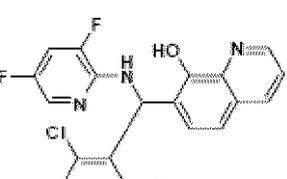
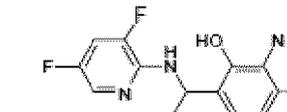
30

40

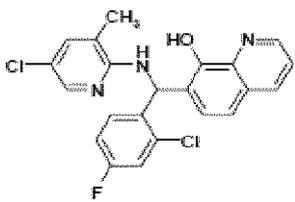
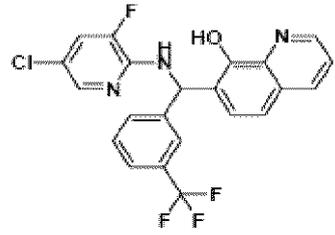
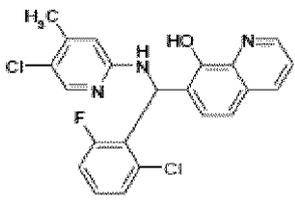
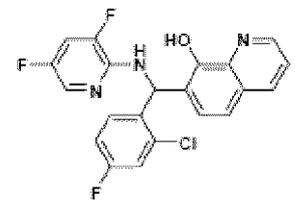
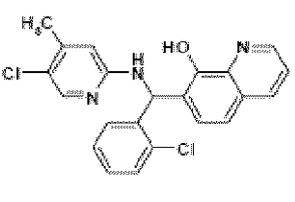
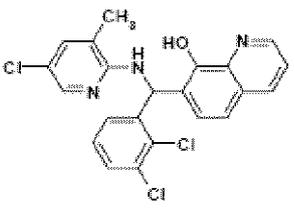
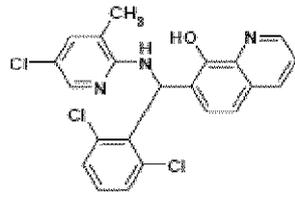
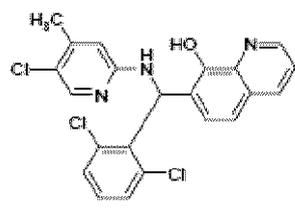
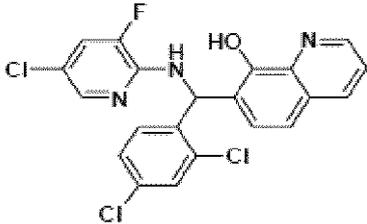
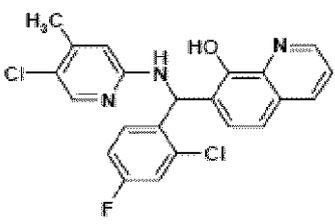
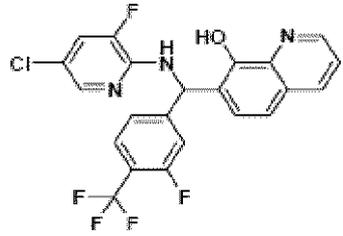
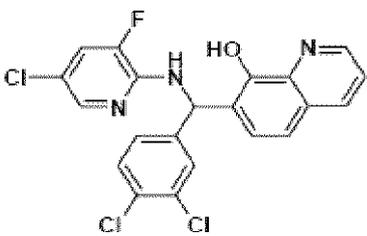
【表 17】

AD4-13116		AD4-13122		10
AD4-13117		AD4-13123		20
AD4-13118		AD4-13124		30
AD4-13119		AD4-13125		40
AD4-13120		AD4-13126		
AD4-13121		AD4-13127		

【表 18】

		AD4-13133		
AD4-13128				10
		AD4-13134		
AD4-13129				20
		AD4-13135		
AD4-13130				30
		AD4-13136		
AD4-13131				
		AD4-13137		
AD4-13132				
		AD4-13138		

【表 19】

AD4-13139		AD4-13145		
AD4-13140		AD4-13146		10
AD4-13141		AD4-13147		20
AD4-13142		AD4-13148		
AD4-13143		AD4-13149		30
AD4-13144		AD4-13150		40

【表 20】

AD4-13151		AD4-13157		10
AD4-13152		AD4-13158		20
AD4-13153		AD4-13159		30
AD4-13154		AD4-13160		40
AD4-13155		AD4-13161		
AD4-13156		AD4-13162		

【表 2 1】

AD4-13163		AD4-13173		
AD4-13164		AD4-13174		10
AD4-13165		AD4-13175		20
AD4-13166		AD4-13176		
AD4-13167		AD4-13177		30
AD4-13172		AD4-13178		40

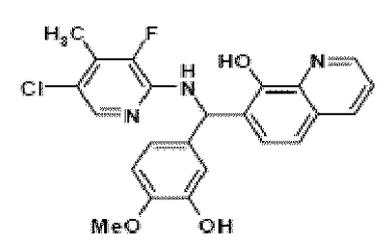
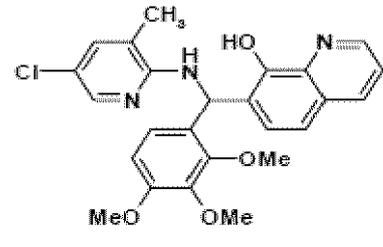
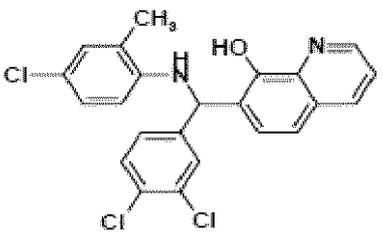
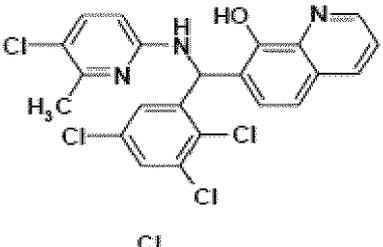
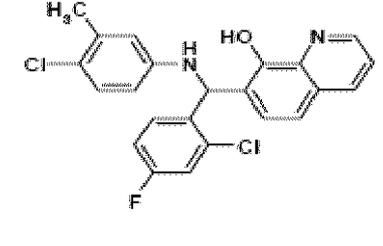
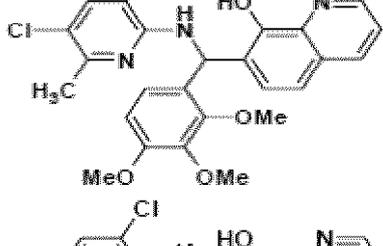
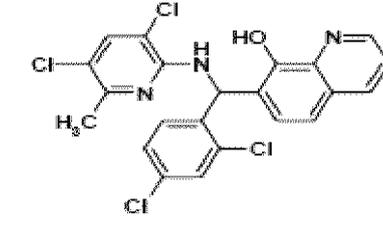
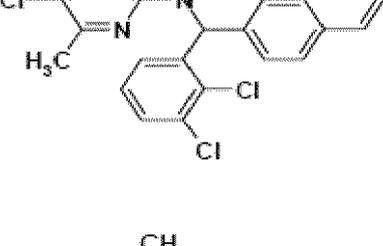
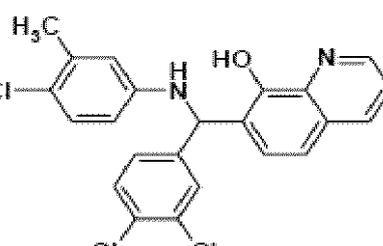
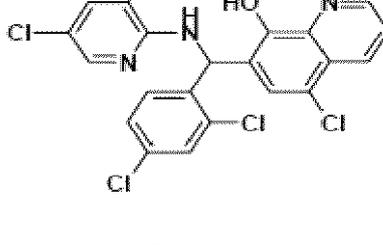
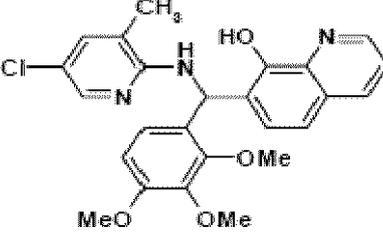
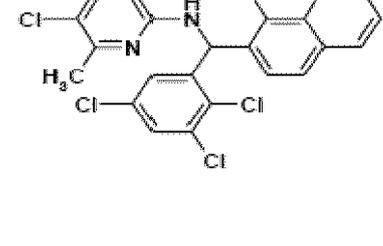
【表 2 2】

AD4-13179		10
AD4-13180		10
AD4-13181		20
AD4-13182		30
AD4-13183		30
AD4-13184		40
AD4-13185		10
AD4-13186		20
AD4-13187		20
AD4-13188		30
AD4-13189		30
AD4-13190		40

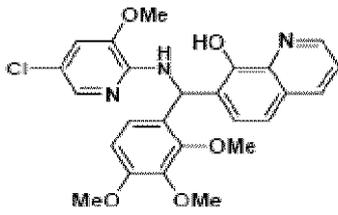
【表 2 3】

AD4-13191		AD4-13197		10
AD4-13192		AD4-13198		20
AD4-13193		AD4-13199		30
AD4-13194		AD4-13200		40
AD4-13195		AD4-13201		
AD4-13196		AD4-13202		

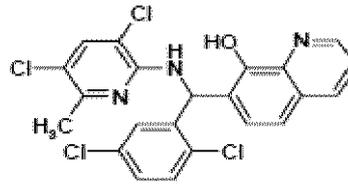
【表 2 4】

AD4-13203		AD4-13208		
AD4-13204		AD4-13209		10
AD4-13205		AD4-13210		20
AD4-13206		AD4-13211		
AD4-13207		AD4-13212		30
AD4-13208		AD4-13213		40

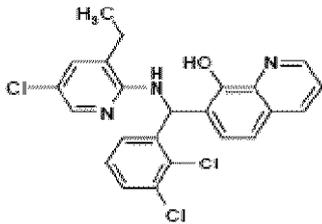
【表 2 5】



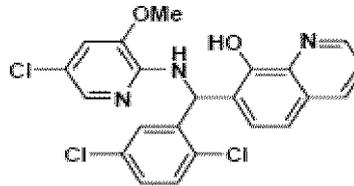
AD4-13214



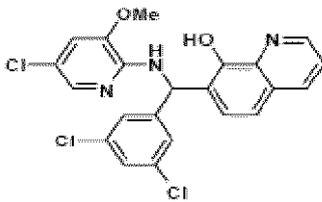
AD4-13220



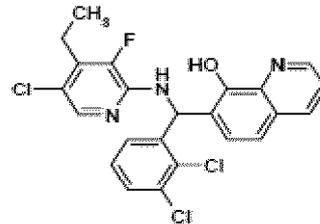
AD4-13215



AD4-13221

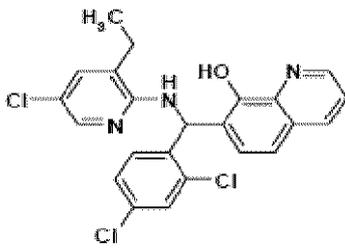


AD4-13216

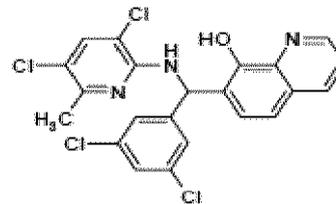


10

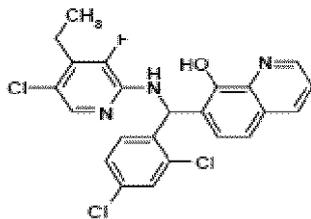
20



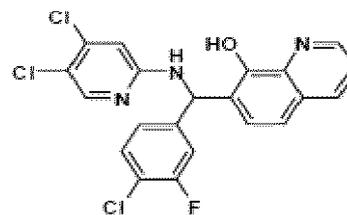
AD4-13217



AD4-13223

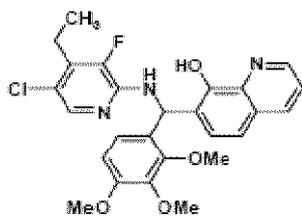


AD4-13218

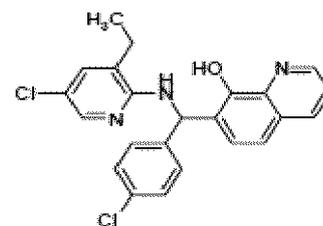


AD4-13224

30



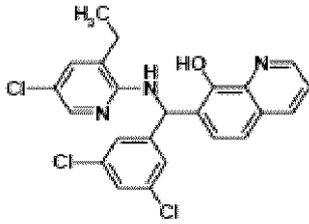
AD4-13219



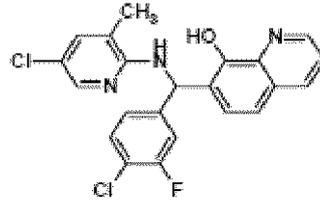
AD4-13225

40

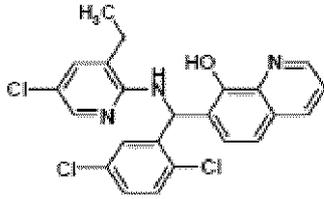
【表 2 6】



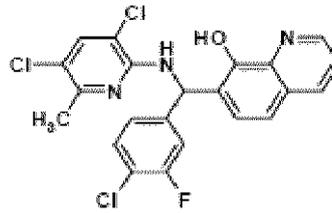
AD4-13226



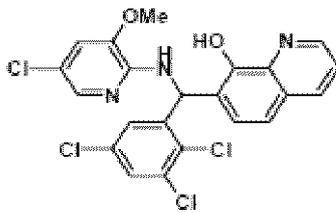
AD4-13229



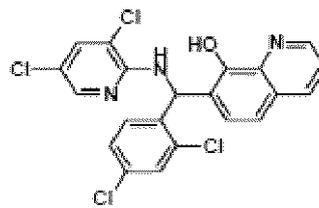
AD4-13227



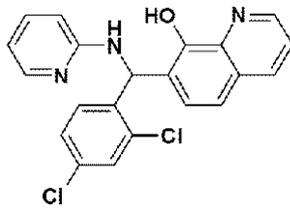
AD4-13230



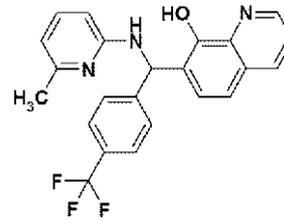
AD4-13228



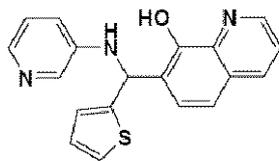
AD4-13231



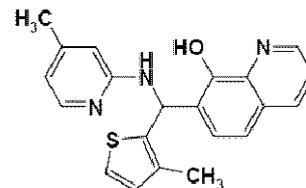
AD4-10484



AD4-10628



AD4-10315



AD4-10963

【 0 1 4 1 】

ある実施態様において、式(2)の化合物は、式(I)の化合物AD4-1505を除く。

【 0 1 4 2 】

ある実施態様において、式(2)の化合物は以下の：

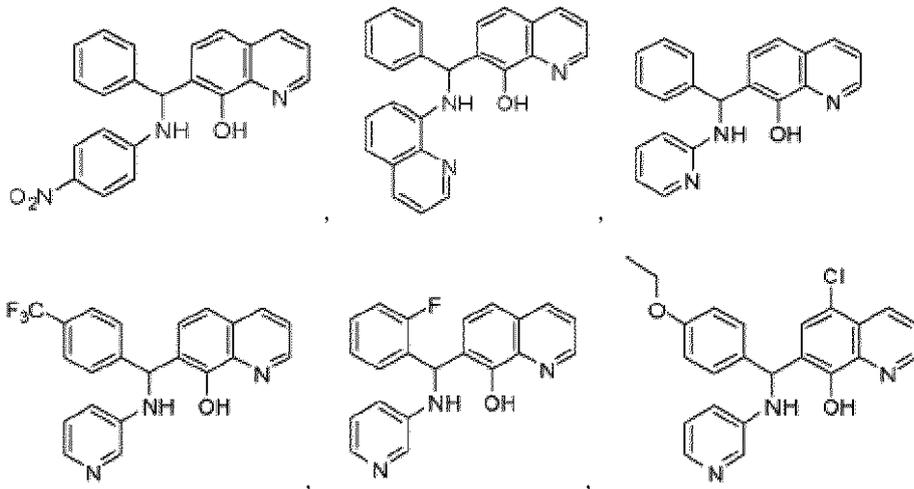
10

20

30

40

【化10】



10

で示される1または複数の化合物を除く。

【0143】

ある実施態様、例えば治療方法において、式(2)の化合物は上記した1または複数の化合物を包含しうる。

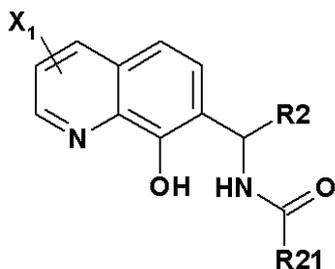
[B型 AD4-1505類]

20

【0144】

AD4-1505類ファーマコフォアより誘導されるもう一つ別の構造は次のとおりである：

【化11】



30

式(10)

【0145】

上記した構造中、式(10)のX1およびR2は、構造的に下位群のA型の式(2)について記載されているとおりである。

【0146】

式(10)のR21は：

【0147】

炭素数1ないし6(C-1ないしC-6)の、直鎖、分岐した、または所望により不飽和結合を含有してもよい低級アルキル基、あるいは不飽和結合を含んでもよい5または6員の脂肪族環(C-5またはC-6)として定義されるシクロアルキル；

40

【0148】

置換されていないフェニル環、あるいはその2-、3-、4-、5-または6-位が1または複数の以下の基：C-1ないしC-4の直鎖または分岐した、あるいは所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義されるシクロアルキル、フェニルまたは1ないし4個のN、OまたはS原子を含むヘテロアリアルからなるアリアル、アルコキシ(-OR10、ここでR10は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される)、2,3-メチレンジオキシまたは3,4-メチレンジオキシ基、ジアルキルアミノ(-NR1

50

3 R 1 4、ここで R 1 3 および R 1 4 は、独立して、水素原子または上記されている低級アルキル基より選択される)；トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ジフルオロメトキシ、3,4-メチレンジオキシ、2,3-メチレンジオキシ、ニトロまたはハロゲン(F、Cl、Br、I)で置換されているフェニル環；

【0149】

置換されていない2-ピリジル環、あるいはピリジン環のその4-または6-位が1または複数の以下の基：上記されている低級アルキル基、上記されているシクロアルキル基で置換されている2-ピリジル環；

【0150】

置換されていない3-ピリジル環、あるいはピリジン環のその2-、4-または6-位が1または複数の以下の基：上記されている低級アルキル基、上記されているシクロアルキル基で置換されている3-ピリジル環；

【0151】

置換されていない4-ピリジル環、あるいはピリジン環のその2-または6-位が1または複数の以下の基：上記されている低級アルキル基、上記されているシクロアルキル基で置換されている4-ピリジル環；あるいは

【0152】

1ないし4個のN、OまたはS原子を含有する5または6員のヘテロアリアル環を示しうる。

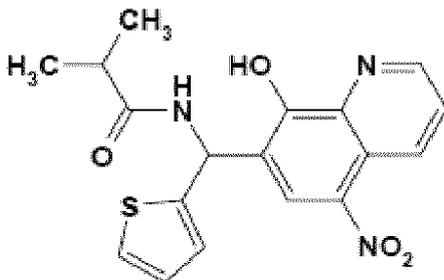
【0153】

ある実施態様において、式(10)の化合物はエナンチオマー異性体である。

【0154】

ある実施態様、式(10)の化合物はAD4-10950である。

【化12】

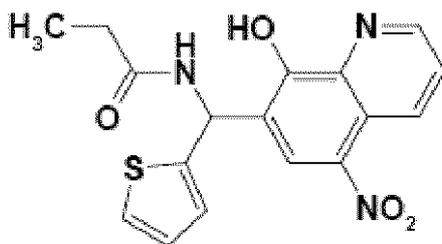


AD4-10950

【0155】

ある実施態様、式(10)の化合物はAD4-10960である。

【化13】



AD4-10960

【0156】

ある実施態様において、式(10)の化合物は式(1)のAD4-1505を除く。

[C型 AD4-1505類]

【0157】

AD4-1505類ファーマコフォアから誘導されるもう一つ別の構造は以下のとおりである：

10

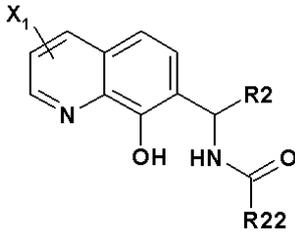
20

30

40

50

【化 1 4】



式 (1 1)

【 0 1 5 8 】

10

上記した構造式中、式 (1 1) の X 1 および R 2 は、構造的に下位群の A 型の式 (2) について記載されているとおりである。

【 0 1 5 9 】

式 (1 1) の R 2 2 は

炭素数 1 ないし 6 (C - 1 ないし C - 6) の低級アルキルであって、直鎖、分岐した、または所望により不飽和結合を含有してもよく、あるいは C - 1 または C - 2 炭素が 1 または複数の以下の置換基：置換されていないフェニル環またはその 2 - 、 3 - 、 4 - 、 5 - または 6 - 位が 1 または複数の以下の基： C - 1 ないし C - 4 の直鎖または分岐した、あるいは所望により不飽和結合を含有してもよいものとして定義される低級アルキル、所望により不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい C - 1 ないし C - 6 として定義されるシクロアルキル、 1 ないし 4 個の N、O または S 原子を含有するヘテロアリアル、ヒドロキシル (- OH)、アルコキシ (- OR 1 0、ここで R 1 0 は上記した低級アルキル基またはシクロアルキル基として定義される)、ジアルキルアミノ (- NR 1 3 R 1 4、ここで R 1 3 および R 1 4 は、独立して、水素原子または上記される低級アルキル基より選択される)；トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ジフルオロメトキシまたはハロゲン (F、Cl、Br、I) で置換されている、低級アルキルを示しうる。

20

【 0 1 6 0 】

シクロアルキルは所望により不飽和結合または 1 個の酸素または窒素原子を含有してもよい 5 または 6 員の脂肪族環 (C - 5 ないし C - 6) として定義される。

30

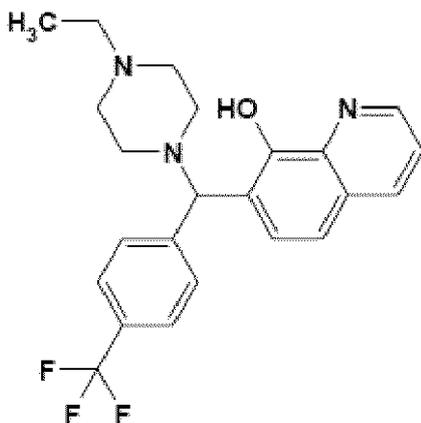
【 0 1 6 1 】

ある実施態様において、化合物は式 (1 1) のエナンチオマー異性体である。

【 0 1 6 2 】

ある実施態様において、式 (1 1) の化合物は AD 4 - 1 0 5 3 5 である。

【化 1 5】



40

A D 4 - 1 0 5 3 5

【 0 1 6 3 】

ある実施態様において、式 (1 1) の化合物は式 (1) の化合物 A D 4 - 1 5 0 5 を除

50

く。

構造および機能

【0164】

本願明細書に記載の組成物は、1または複数の望ましい機能、例えば安定性、抗増殖活性およびアポトーシス活性と関連する構造的特性を有しうる。

【0165】

本願明細書に記載の化合物のアミノピリジンの5 - 位にある基が、安定性の強化（例えば肝ミクロソームインキュベーションに対してより安定している）をもたらすアナログを提供することが見出された（実施例10を参照のこと）。ある実施態様において、アミノピリジンの5 - 位が置換された化合物は安定性の強化を示しうる。本願明細書に示されるように、AD4 - 13053およびAD4 - 13041（共に、アミノピリジンの5 - 位に塩素原子を有する）はAD4 - 10628よりも強化された安定性を示す（実施例10を参照のこと）。ある実施態様において、アミノピリジンの5 - 位が塩素原子で置換されている化合物は安定性の強化を示し、安定性を増加させうる。

10

【0166】

本願明細書に記載の化合物のアミノピリジン上でのハロゲンとアルキル基の組み合わせは、抗増殖活性が亢進された化合物を提供する（実施例10を参照のこと）。ある実施態様において、次のアミノピリジン環で置換された化合物は、抗増殖活性の増加を提供する：3,5 - ジF；3 - F、5 - Cl、6 - Me；3 - F、5 - Cl、6 - Me；3 - F、5 - Cl、4 - Et；および3,5 - ジF、4 - Me。ある実施態様において、次のアミノピリジン環で置換された化合物はさらなる抗増殖活性の増加を提供する：3 - Et、5 - Cl；3,5 - ジCl、6 - Me；3 - F、5 - Cl、4 - Me；および5 - CF₃。ある実施態様において、次のアミノピリジン環を置換させた化合物はの上さらなる抗増殖活性を亢進させる：3 - Me、5 - Cl；3,5 - ジCl；4 - Me、5 - Cl；および4,5 - ジCl。

20

【0167】

本願明細書に記載の化合物のアミノピリジン環の5 - 位にあるクロロ基、さらに該アミノピリジン環の3 - または4 - 位にあるクロロまたはメチル基は、アポトーシス活性が亢進された化合物を提供することが見出された（実施例10を参照のこと）。ある実施態様において、次のアミノピリジン環を置換させた化合物はアポトーシス活性の亢進を提供することが見出された：3 - Me、5 - Cl；3 - F、5 - Cl、4 - Me；4,5 - ジCl；および3,5 - ジCl。

30

【0168】

本願明細書に記載の化合物のベンゼン環の2 - および4 - 位にある基が安定性の強化したアナログ（例、肝ミクロソームインキュベーションに対してより安定したアナログ）を提供することが見出された（実施例10）。ある実施態様において、化合物のベンゼン環の2 - および4 - 位が置換された化合物は安定性の強化を示しうる。本願明細書に記載されるように、AD4 - 13041、AD4 - 13042、AD4 - 13165およびAD4 - 13206は安定性の強化を示す（実施例10を参照のこと）。ある実施態様において、アミノピリジンのベンゼン環の2 - または4 - 位がハロゲン原子で置換された化合物は安定性の強化を示し、安定性を増加させうる。例えば、アミノピリジンのベンゼン環の2 - および4 - 位が塩素原子で置換された化合物は安定性の強化を示し、安定性を増加させうる。もう一つ別の例として、アミノピリジンのベンゼン環の2 - および4 - 位がフッ素原子で置換された化合物は安定性の強化を示し、安定性を増加させうる。もう一つ別の例として、アミノピリジンのベンゼン環の4 - 位がトリフルオロメチルで、あるいは2 - 位がフッ素原子および4 - 位がトリフルオロメチルで置換された化合物は安定性の強化を示し、安定性を増加させうる。

40

【0169】

本願明細書に記載の化合物のベンゼン環でのハロゲンおよびトリフルオロメチル基の組み合わせは抗増殖活性の亢進した化合物を提供することが見出された（実施例10を参照

50

のこと)。ある実施態様において、次のベンゼン環の置換を有する化合物は抗増殖活性の亢進を提供する：4 - C 1 ; 2 - F、4 - C F 3 ; および 3 - F、4 - C 1。ある実施態様において、次のベンゼン環の置換を有する化合物は、さらなる抗増殖活性の亢進を提供する：2 - F、4 - C 1 ; 2, 3 - ジ C 1 ; および 2, 3, 5 - トリ C 1。ある実施態様において、次のベンゼン環の置換を有する化合物は、その上さらなる抗増殖活性の亢進を提供する：2, 4 - ジ C 1 ; 3, 4 - ジ C 1 ; および 3, 5 - ジ C 1。

【0170】

本願明細書に記載の化合物のベンゼン環の4 - 位にあるクロロ基および該ベンゼン環の2 - または3 - 位にある付加的なクロロまたはフルオロ基が、アポトーシス活性の亢進した化合物を提供することが見出された(実施例10を参照のこと)。ある実施態様、次のベンゼン環の置換を有する化合物はアポトーシス活性の亢進を提供する：2, 4 - ジ C 1 (例、AD4 - 13130、AD4 - 13178を参照) ; および 2 - C 1、4 - F (例、AD4 - 13185を参照)。

合成

【0171】

一の態様は本願明細書に記載の化合物の合成方法を提供する。

AD4 - 1505 類化合物

【0172】

本願明細書に示されるように、AD4 - 1505 類化合物は、アミノピリジン中間化合物、アルデヒド中間化合物およびヒドロキシキノリンを反応させることにより合成される(実施例12を参照のこと)。中間化合物の合成方法もまた本明細書に記載されている(実施例11を参照のこと)。

【0173】

ある実施態様において、該反応はアミノピリジン中間化合物、アルデヒド中間化合物およびヒドロキシキノリンをエタノール(例、無水エタノール)中で合わせることを含む。

【0174】

アミノピリジン中間化合物は、本願明細書に記載のAD4 - 1505 類化合物のアミノピリジン環に相当する官能基を有しうる。例えば、2 - アミノ - 6 - ピコリンのアミノピリジン中間化合物はAD4 - 12902の合成に使用され得、ここで式(2)のR1は式(3)の2 - ピリジル環であり、R4はメチルであり、およびR24、R3およびR23は水素である(実施例12参照)。実施例11および実施例12にガイダンスが設けられており、当業者は式(2)のAD4 - 1505 類化合物についてのアミノピリジン中間化合物の構造を決定できる。アミノピリジン中間化合物の合成は実施例11に従いうる。

【0175】

アルデヒド中間化合物は、本願明細書に記載のAD4 - 1505 類化合物のベンズアルデヒド誘導化環に相当する官能基を有しうる。例えば、アルデヒド中間化合物の4 - トリフルオロメトキシベンズアルデヒドはAD4 - 12902の合成に用いられ得、ここで式(2)のR2は1位が - CHO (例、ベンズアルデヒド)で、4位がトリフルオロメトキシで置換されたフェニル環である(実施例12を参照)。実施例11および実施例12にガイダンスが設けられており、当業者は式(2)のAD4 - 1505 類化合物の対するアルデヒド中間化合物の構造を決定し得る。アルデヒド中間化合物の合成は実施例11に従いうる。

【0176】

ヒドロキシキノリン中間化合物は本願明細書に記載のAD4 - 1505 類化合物のヒドロキシキノリン部分に対応する官能基を有しうる。例えば、ヒドロキシキノリン中間化合物の8 - ヒドロキシキノリンはAD4 - 12902の合成に用いることができ、ここで式(2)のXは水素である(実施例12を参照のこと)。例えば、ヒドロキシキノリン中間化合物の5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリンはAD4 - 12910の合成に用いることができ、ここで式(2)のXは5 - クロロである(実施例12を参照のこと)。実施例1

10

20

30

40

50

1 および実施例 1 2 にガイダンスが設けられており、当業者は式 (2) の A D 4 - 1 5 0 5 類化合物の対するヒドロキシキノリン中間化合物の構造を決定することができる。ヒドロキシキノリン中間化合物は市販されており、あるいは当該分野にて公知の方法に従って合成することもできる。

【 0 1 7 7 】

反応はアルコール溶媒などの溶媒中で起こり得る。例えば、該反応はエタノール、イソプロパノールまたはブタノール (例、*n*-ブタノール、*tert*-ブタノール、*sec*-ブタノール、イソブタノール) 中で起こり得る。溶媒は無水物と、あるいは少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 % などのある純度とすることができる。反応は溶媒がなくても、あるいは実質的になくても起こり得る。1 または複数の中間体は室温で、または室温よりいくらか高い温度で液体であり得る。反応が 1 または複数の中間体が液体である温度より高い温度で起こる場合、該反応は付加的な溶媒なしで行われうる。例えば、アミノピリジン中間化合物、アルデヒド中間化合物およびヒドロキシキノリン (そのうちの少なくとも 1 つは反応温度で液体である) は溶媒なしで、または実質的になしで混合され得、したがって反応は進行しうる。もう一つ別の例として、少なくとも 1 の中間体が 5 0 以上で液体である場合、該反応は、溶媒がなくても、または実質的になくても起こり得る。

10

【 0 1 7 8 】

反応は約室温で起こり得る。該反応は成分を一定期間 (例、約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 1 0、約 1 1、約 1 2、約 1 3、約 1 4、約 1 5、約 1 6、約 1 7、約 1 8、約 1 9 または約 2 0 日間またはそれ以上) 混合すること (例、攪拌すること) を含むうる。

20

【 0 1 7 9 】

反応生成物の単離および精製は当該分野にて公知の適当な方法によるものであり得る。例えば、反応生成物の単離および精製は、反応混合物からの結晶化、溶媒フラクション (例、ヘキサン / 酢酸エチル ; ヘキサン / アセトン) からの結晶化、蒸発濃縮、分留、濾過、カラムクロマトグラフィー (例、シリカゲル固定相)、高性能液体クロマトグラフィーまたはそれらの組み合わせによるものであり得る。反応生成物の単離および精製は実施例 1 2 に記載のプロトコルによるものであり得る。

【 0 1 8 0 】

上記した反応は実施例 1 2 - 1 3 に開示される条件または条件の組み合わせを包含しうる。

30

アミノピリジン中間化合物

【 0 1 8 1 】

もう一つ別の態様はアミノピリジン中間化合物およびその製造方法である。アミノピリジン中間化合物は本願明細書に記載の A D 4 - 1 5 0 5 類化合物のアミノピリジン環に相当する官能基を有しうる。

【 0 1 8 2 】

アミノピリジン化合物は、置換または置換されていない 2 - アミノピリジンと *N* - クロロスクシンイミドを、例えば酢酸エチルまたはジメチルホルムアミドを含む溶媒中、2 - アミノ - 5 - クロロピリジン誘導体を形成するのに十分な条件下、合わせることで形成され得る (例、実施例 1 1 を参照)。置換または置換されていない 2 - アミノピリジンは本願明細書に記載の A D 4 - 1 5 0 5 類化合物の一部のアミノピリジン部分に相当し得る。例えば、置換または置換されていない 2 - アミノピリジンは式 (2) の化合物のアミノピリジン部分に相当し得、ここで R 1 は式 (3) を含む。上記した反応の 2 - アミノピリジンは式 (1 2) の構造を有し得、ここで R 2 3、R 3 および R 4 は上記に定義されている通りであり得 (式 (3) を参照)、R 2 4 は水素であり得る。上記した反応の 2 - アミノ - 5 - クロロピリジン誘導体は、式 (1 2) の構造を有し得、ここで R 2 3、R 3 および R 4 は該反応の 2 - アミノピリジンについての記載されているとおりであり、R 2 4 はクロロであり得る。上記した反応は実施例 1 2 - 1 3 に開示される条件または条件の組み合

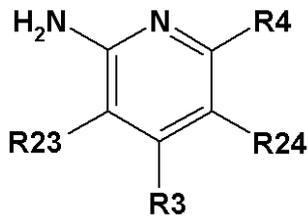
40

50

わせを包含しうる。

【0183】

【化16】



式(12)

【0184】

アミノピリジン化合物は、ハロゲン化2-アミノピリジンアセトアミド誘導体の4-位をアルキル化し、その後でアセトアミドを除去することで形成され得る(例、実施例11を参照)。フルオロ、クロロまたはプロモ基を3-位および5-位に有する2-アミノピリジンは、例えば、無水酢酸/氷酢酸で処理することにより対応するアセトアミド誘導体に変換され得る。該アセトアミド誘導体は、例えば、ジイソプロピルアミンおよびブチルリチウム/テトラヒドロフランを用い、約70などの適当な温度で脱プロトン化し、その後でヨードメタンまたはヨードエタンなどの低級アルキルハライドで処理することにより、ハロゲン間の位置でアルキル化され得る。アセトアミド基は、濃縮酸、例えば濃塩酸で、メタノールなどの適当な溶媒中、約50などの適当な温度で処理することにより除去され、2-アミノ-3,5-ジハロ-4-アルキルアミノピリジンを提供することができる。上記した反応の置換2-アミノピリジンは式(12)の構造を有し、ここでR23はフルオロ、クロロまたはプロモであり得；R3は水素であり得；R4は請求項1に記載されているとおりとすることができ；およびR24はフルオロ、クロロまたはプロモであり得る。上記した反応の置換2-アミノピリジンは式(12)の構造を有し得、ここでR23はフルオロ、クロロまたはプロモであり得；R3は水素であり得；R4は上記と同意義であり得(式(3)を参照)；およびR24はフルオロ、クロロまたはプロモであり得る。上記した反応は実施例12-13に開示される条件または条件の組み合わせを包含しうる。

【0185】

また、その生物学的活性について有用なアミノピリジン中間化合物、ならびに本願明細書に開示の他の化合物を形成するための出発物質も提供される。アミノピリジン中間化合物は、2-アミノ-3-メトキシ-5-クロロピリジン；2-アミノ-4,5-ジクロロピリジン；2-アミノ-5-クロロ-6-メチルピリジン；2-アミノ-5-クロロ-3-メチルピリジン；2-アミノ-3,5-ジクロロ-4-メチルピリジン；2-アミノ-3,5-ジクロロ-4,6-ジメチルピリジン；2-アミノ-3-フルオロ-4-メチル-5-クロロピリジン；2-アミノ-3-エチル-5-クロロピリジン；2-アミノ-3-フルオロ-4-エチル-5-クロロピリジン；および2-アミノ-4-メチル-3,5-ジフルオロピリジン、または上記した反応に従って形成されるアミノピリジン化合物であり得る。例えば、アミノピリジン化合物は2-アミノ-3-フルオロ-4-メチル-5-クロロピリジン；2-アミノ-3-エチル-5-クロロピリジン；2-アミノ-3-フルオロ-4-エチル-5-クロロピリジン；または2-アミノ-4-メチル-3,5-ジフルオロピリジンであり得る。

医薬処方

【0186】

本願発明の組成物の実施態様は本願明細書に記載の種々の化合物の医薬処方を包含する。本願明細書に記載の化合物は、純粋な形態にて、またはそのような形態が存在する場合、医薬上許容される塩の形態にて、医薬上許容される賦形剤と共にまたはなしで、利用され得る。本願明細書に記載の化合物は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences (A.R. Gennaro編)、第21版、ISBN: 0781746736(2005)に記載さ

10

20

30

40

50

れるように、1または複数の医薬上許容される担体および/または賦形剤を用いる一般的方法により処方され得る。かかる処方は、治療的に有効な量の薬剤を、好ましくは純粋な形態にて、患者に適切に投与するための形態を提供するように、適量の担体と共に含有するであろう。該処方は投与経路に適する必要がある。本願発明で使用される薬剤は、限定されるものではないが、非経口、肺、経口、局所、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻内、硬膜外、眼、頬および直腸を含む、数種の経路を用いて対象に投与するための既知の方法により処方され得る。個々の薬剤は本願発明の1または複数の付加的な薬剤と組み合わせて、および/または他の生物学的に活性なもしくは生物学的に不活性薬剤と一緒に投与されてもよい。かかる生物学的に活性または不活性な薬剤は、イオン、共有、ファン・デア・ワールス力、疎水性、親水性または他の物理的力により、薬剤と流体または機械連絡していてもよく、あるいは該薬剤に付着されていてもよい。

10

【0187】

制御放出（または徐放）製剤は、薬剤の活性を広げ、および投与頻度を減らすように処方されてもよい。放出制御製剤はまた、薬剤の作用開始時間または薬剤の血中濃度などの他の特性に影響を及ぼし、その結果として、副作用の出現に影響を及ぼすように使用され得る。

キナーゼ阻害剤との併用

【0188】

本願明細書に記載の化合物は、既知の治療用化合物と一緒に使用または処方され得る。併用療法は、例えば、本願明細書に記載の抗増殖性化合物と第2薬剤とを含む、治療法として理解される。抗増殖性化合物および第2薬剤は、別々の投与用に処方され得るし、同時投与用に処方されてもよい。

20

【0189】

本願明細書に記載の化合物は、EGFRキナーゼ阻害剤、タイケルブ、イレッサおよびタルセバなどのもう一つ別の抗増殖性化合物、またはエルビタックス、EGF受容体に対するヒト化モノクローナル抗体と合わせ、薬剤単独よりもより大きな治療効果を生成しうる。本願明細書に示されるように、AD4化合物をタイケルブ、イレッサ、タルセバまたはエルビタックスとの細胞増殖アッセイにて評価する場合、薬剤を併用して細胞増殖を阻害する効果は、いずれかの薬剤単独での効果よりも大きい（例、実施例6を参照）。具体的には、本願明細書に記載の化合物は、タイケルブ、イレッサ、タルセバまたはエルビタックスと一緒に、固定された濃度比で評価され、それを各薬剤単独での用量応答曲線を結果より確認した。

30

【0190】

EGFR阻害剤などの本願明細書に記載の化合物は、腫瘍の血管形成を阻害する第2薬剤と一緒に用いるか、または一緒に処方して用いられ得る。充実性腫瘍の血管形成は、一般に、充実性腫瘍における血管の形成をいう。腫瘍の血管形成を阻害する薬剤は、血管の新生開始、成長または維持を阻害し、例えば、腫瘍における血管の数または密度の減少をもたらす。

【0191】

本願明細書に記載の化合物は、充実性腫瘍の浸透性を修飾、例えば増大させる第2薬剤と一緒に用い、または一緒に処方して用いられ得る。充実性腫瘍の浸透性は、一般に、充実性腫瘍の治療薬への浸透性をいう。仮に治療剤が腫瘍の中心にある細胞に達し得るならば、充実性腫瘍は治療剤に対して浸透性であると言える。

40

【0192】

本願明細書に記載の化合物は、第2化学療法剤と一緒に使用され得るか、または該化学療法剤と一緒に処方され、使用され得る。化学療法剤は、悪性腫瘍を治療するのに使用される分子または組成物をいう。かかる剤は本願明細書に記載の化合物と組み合わせて、または本願明細書に記載の併用療法で使用され得る。化学療法剤は本願明細書に記載の化合物とコンジュゲートされ得る、またはコンジュゲートされない形態にて併用療法と組み合わせて使用され得る剤を包含する。

50

【0193】

本願明細書に記載の化合物は、生物剤である、第2薬剤と一緒に使用され得る、または該薬剤と一緒に処方され、使用され得る。生物製剤とも称される、生物剤は、一般に、生体系の物質、例えば、有機体、細胞または組換えシステムとして理解される。かかる生物剤の例が、限定されるものではないが、核酸分子（例、アンチセンス核酸分子）、インターフェロン、インターロイキン、コロニー刺激因子、抗体（例、モノクローナル抗体）およびサイトカインを包含する。

【0194】

本願明細書に記載の化合物は、EGFR-関連症状または障害の治療に承認されているEGFR阻害剤と一緒に使用または処方され得る。例えば、本願明細書に記載の化合物は1または複数のタイケルブ、イレッサ、タルセバまたはエルビタックスと一緒に使用または処方され得る。タイケルブ、イレッサおよびタルセバはEGFRチロシンキナーゼ活性を遮断するキナーゼ阻害剤である。エルビタックスはEGFR上の細胞外エピトープと結合するヒトモノクローナル抗体である。エルビタックスはリガンド結合および受容体の二量化の両方を防止することにより受容体の活性化を遮断する。種々の実施態様において、本願明細書に記載の化合物はEGFRを二量化インコンピテント構造に固定し得る。かくして、本願明細書に記載の化合物および既知のEGFR阻害剤、例えば上記したものは、相補的または相乗的形式にて作用し得る。

10

【0195】

AD4-1505類化合物などの本願明細書に記載の化合物は、タイケルブと一緒に使用または処方され得る。AD4-1505類化合物などの本願明細書に記載の化合物は、イレッサと一緒に使用または処方され得る。AD4-1505類化合物などの本願明細書に記載の化合物は、タンセバと一緒に使用または処方され得る。

20

治療的使用

【0196】

もう一つ別の態様は増殖性疾患、障害または症状を本願明細書に記載の化合物で治療する方法である。種々の実施態様において、増殖性疾患、障害または症状は、EGFRなどの活性化状態に伴うドメイン内テザーを有する標的生体分子と関連付けられる。治療法は治療的に効果的な量の本願発明の化合物をその必要とする対象に投与することを含み得る。ある実施態様において、該化合物は抗増殖性作用を有する本願明細書に記載の化合物である。ある実施態様において、該化合物はEGFR阻害活性を有する本願明細書に記載の化合物である。ある実施態様において、該化合物は、テザー拡張を防止し、不活性な配座を維持するように、EGFRの1または複数のドメインと結合して作用する、EGFR阻害剤である。

30

【0197】

種々の実施態様において、該治療法は本願明細書に記載の1または複数の化合物を投与することを包含する。

【0198】

例えば、該治療法は表5に記載の1または複数の化合物、あるいはその立体異性体または医薬上許容される塩を投与することを包含し得る。もう一つ別の例として、該治療法は式(2)、式(5)または式(11)の1または複数の化合物、あるいはその立体異性体または医薬上許容される塩を投与することを包含し得る。

40

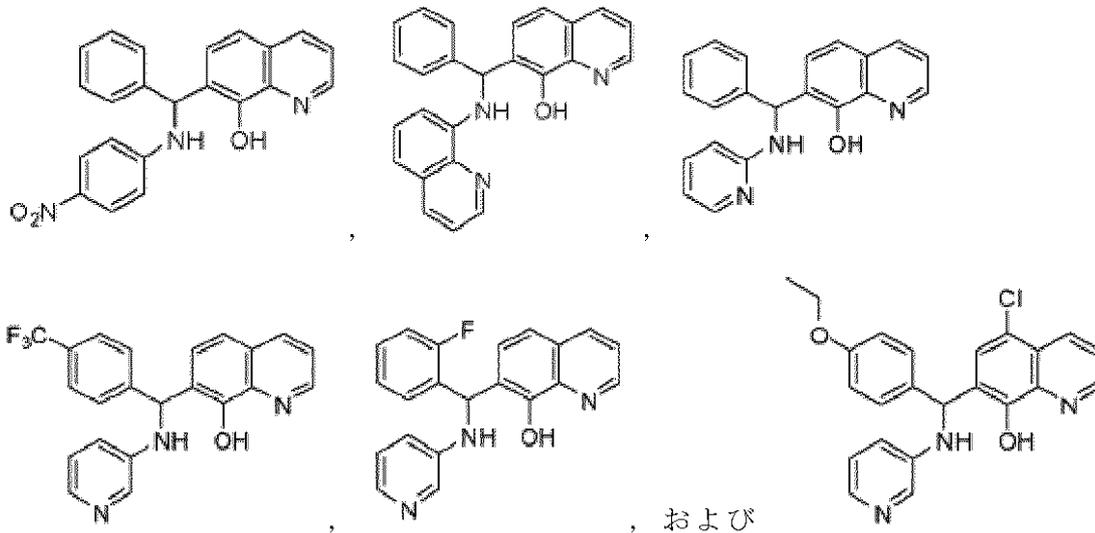
【0199】

もう一つ別の例として、治療法は以下のAD4-1505（式(1)）より選択される1または複数の化合物、あるいはその立体異性体または医薬上許容される塩を投与することを包含し得る。

【0200】

もう一つ別の例として、治療法は以下：

【化 17】



10

で示される化合物より選択される 1 または複数の化合物、あるいはその立体異性体または医薬上許容される塩を投与することを包含し得る。

【0201】

個々に記載の方法は、一般に、その必要とする対象に対してなされる。例えば、ここに記載の療法を必要とする対象は、増殖性疾患、障害または症状、あるいはその危険があると診断され得る。もう一つ別の例として、ここに記載の療法を必要とする対象は EGF R に付随する疾患、障害または症状、あるいはその危険があると診断され得る。治療の必要性の決定は、病歴および治療中の疾患、障害または症状に伴う身体検査により評価され得る。ここに記載の方法により治療され得る種々の症状の診断は当該分野の範囲内にある。対象は動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはウマ、ウシ、イヌ、ネコ、ヒツジ、ブタ、マウス、ラット、サル、モルモットおよびトリ、最も好ましくはヒトであり得る。

20

【0202】

ここに記載の組成物で治療できる増殖性疾患または症状の例は、限定されるものではないが、癌；血管増殖性障害；繊維障害；メサングウム細胞増殖性障害；乾癬；光線角化症；脂漏性角化症；疣贅；ケロイド癬痕；湿疹；およびパピローマウイルス感染などのウイルス感染により惹起される過剰増殖性疾患を包含する。

30

【0203】

発症機序を提供する義務はなく、そのことを行うことで本願発明を限定するものではないが、現在において、ここに記載の化合物の活性の少なくとも一部は EGF R の阻害から生じていると考えられる。さらには、本願発明の化合物は増殖性疾患、障害または症状を治療する際のその効能にて付加的な作用機序を有するかもしれない。発症機序と関係なく、ここに記載の化合物は増殖性疾患および症状を治療するにおいて経験的に効果的であることが明らかにされた。

【0204】

ここに記載の種々の化合物は EGF R を阻害するのに効果的であり、かくして、増殖性疾患などの、限定されるものではないが、包含する、EGF R に伴う疾患または障害に対して効果的であり得る。ある実施態様において、ここに記載の化合物により治療される増殖性疾患は、EGF R ファミリーの受容体のメンバーを発現する癌または非癌細胞の過剰増殖により惹起される症状である。増殖性疾患により産生される過剰細胞は、EGF R を正常なレベルで発現し得、あるいは EGF R を過剰発現し得る。EGF R に付随する特に適する疾患または症状は、EGF R のリガンドまたはかかるリガンドの変異により刺激される疾患または症状であり得る。EGF R を刺激するかかるリガンドの例は、限定されるものではないが、EGF、TGF- α 、ヘパリン-結合成長因子 (HBGF)、-セルリンおよびクリプト-1 を包含する。EGF R に伴う増殖性疾患の例は、限定され

40

50

るものではないが、癌；血管増殖性障害；繊維障害；メサングウム細胞増殖性障害；乾癬；光線角化症：脂漏性角化症；疣贅；ケロイド癬痕；湿疹；およびパピローマウイルス感染などのウイルス感染により惹起される過剰増殖性疾患を包含する。

【0205】

癌または新生物は、一般に、悪性新生物または細胞の自発的成長または増殖のいずれかをいう。「癌」を患う対象は、例えば、白血病、リンパ腫または血液細胞の他の悪性腫瘍を有するかもしれない。ある実施態様においては、当該方法が充実性腫瘍の治療に使用される。典型的な充実性腫瘍は、限定されるものではないが、非小細胞肺癌（NSCLC）、精巣癌、肺癌、卵巣癌、子宮癌、子宮頸癌、膵臓癌、結腸癌（CRC）、乳癌、ならびに前立腺、胃、皮膚、胃、食道および膀胱癌を包含する。

10

【0206】

癌の処置または癌を患っている対象の治療は、癌細胞の複製の阻害、癌の拡張の阻害、腫瘍の大きさの減少、対象の体内にある癌細胞の数を少なくするか、減らすこと、あるいは癌の徴候の緩和または抑制を包含し得る。死亡率または罹患率が減少するならば、処置は治療的であると考えられ、予防的または治療的に行われ得る。

【0207】

ここに記載の方法は確立された腫瘍を治療（例、腫瘍の大きさの減少、血管新生の減少および/または浸透性の増加）するのに使用され得る。確立された腫瘍は、一般に、栄養素、例、酸素がもはや浸透により対象の血管構造より腫瘍の中心に浸透できず、したがって腫瘍がそれ自体の血管供給源から栄養素を受けることを要求するような、十分な大きさの充実性腫瘍として理解される。ここに記載の方法は、休眠していなくて、活発に指数的に成長している充実性腫瘍を治療するのに使用され得る。

20

【0208】

治療的プロトコルは充実性腫瘍の透過性に従って修飾され得る。充実性腫瘍の透過性は、一般に、充実性腫瘍の治療薬への透過性をいう。治療薬が腫瘍中心にある細胞に達することができるならば、充実性腫瘍は治療薬に対して透過性であると言えるかもしれない。腫瘍の透過性を増大させる薬剤は、例えば、充実性腫瘍の血管構造を正常化、例えば維持するかもしれない。腫瘍の血管形成または腫瘍の浸透性は、例えば、生検標体の免疫組織学的化学分析によるなどの当該分野にて既知の種々の方法により、または腫瘍の超音波検査、コンピュータ断層撮影（CT）または磁気共鳴画像（MRI）スキャンなどの画像技術により測定され得る。

30

【0209】

異なる型の乾癬は、膿様水疱（膿疱性乾癬）、重度の皮膚の腐肉形成（乾癬性紅皮症）、滴状ドット（点滴薬乾癬）および滑らかな炎症性病変（逆乾癬）などの特徴を示す。すべての型の乾癬（例、尋常性乾癬、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症、乾癬性関節症、類乾癬、掌蹠膿疱症の治療が本願発明により意図される。

【0210】

血管増殖性障害は、一般に、血管の異常増殖をもたらす血管新生および血管性障害をいう。血管形成および拡張、または脈管新生および血管新生は、各々、胚発生、黄体形成、損傷治癒および臓器再生などの種々の生理プロセスにて重要な役割を果たす。それらはまた、癌発生にて重要な役割を果たす。血管増殖性障害の他の例は、限定されるものではないが、関節炎（新たな毛細血管が関節に侵入し、軟骨を破壊する）および糖尿病性網膜症などの眼病（網膜にある新たな毛細血管が硝子体に侵入し、出血および失明の原因となる）を包含する。血管の収縮、縮小または再狭窄などの閉塞に関連する障害も含まれる。

40

【0211】

繊維障害は細胞外マトリックスの異常形成をいう。繊維障害の例として、限定されるものではないが、肝硬変およびメサングウム細胞増殖性障害が挙げられる。肝硬変は肝癬痕の形成をもたらす細胞外マトリックス成分の増加により特徴付けられる。肝硬変は肝臓の癬痕などの疾患を惹起しうる。肝癬痕をもたらす細胞外マトリックスの増加はまた、肝炎などのウイルス感染により惹起され得る。脂肪細胞は肝硬変にて重要な役割を果たすよう

50

である。他の意図する繊維障害はアテローム性動脈硬化症を包含する。

【0212】

メサングウム細胞増殖性障害はメサングウム細胞の異常増殖によってもたらされる障害をいう。メサングウム細胞増殖性障害は、限定されるものではないが、糸球体腎炎、糖尿病性腎症、悪性腎硬化症、血栓性微小血管症症候群、移植片拒絶反応および糸球体症などの種々のヒト腎疾患を包含する。

【0213】

E G F R (Tuziら、1991, Br. J. Cancer 63:227-233 ; Torpら、1992, APMIS 100:713-719)、H E R 2 / n e u (Slamonら、1989, Science 244:707-712) および P D G F - R (Kumabeら、1992, Oncogene 7:627-633) は、多くの腫瘍にて過剰発現され、および / またはオートクリンループにて永続的に活性化されることが知られている。受容体およびオートクリンループの過剰発現は最も一般的で重度の癌にて実証された(例えば、Akbasak およびSuner-Akbasakら、1992, J. Neurol. Sci. 111 : 119-133 ; Dicksonら、1992, Cancer Treatment Res. 61 : 249-273 ; Korcら、1992, J. Clin. Invest. 90 : 1352-1360 ; Lee およびDonoghue、1992, J. Cell. Biol. 118 : 1057-1070を参照のこと)。E G F Rの過剰発現が、膀胱、脳、頭頸部、膵臓、肺、乳部、卵巣、結腸、前立腺および腎臓の癌に付随することが知られている(例えば、Atalayら、2003, Ann. Oncology 14 : 1346-1363 ; Herbst およびShin、2002, Cancer 94 : 1593-1611 ; Modjtahediら、1996, Br. J. Cancer 73 : 228-235を参照のこと)。E G F Rの過剰発現は患者の予後不良と関連されるか、または関連付けられる(例えば、Herbst およびShin、2002, Cancer 94 : 1593-1611 ; Modjtahediら、1996, Br. J. Cancer 73 : 228-235を参照のこと)。H E R 2 は乳癌、卵巣癌、胃癌、肺癌、膵臓癌および膀胱癌と関連付けられる。

10

20

【0214】

ここに記載の化合物である阻害剤は、外因性材料または内因性材料のいずれかとして治療的に使用され得る。外因性剤は体外で産生または製造され、体内に投与されるものである。内因性剤は、体内に、または体の他の臓器にデリバリーするためのある型の装置(生物または他の装置)によって体内で産生または製造されるものである。

【0215】

ここに記載の方法によれば、投与は非経口、肺、経口、局所、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻内、硬膜外、眼、頬または直腸投与であり得る。

30

【0216】

ここに記載の化合物の有効量は、一般に、処置された症状が改善されるような程度まで、抗増殖作用を発揮しうる量である。例えば、ここに記載の化合物の有効量は、処置された症状が改善されるような程度までE G F Rを阻害するかもしれない。ある実施態様において、有効量は、限定されるものではないが、例えば、腫瘍の大きさの減少、腫瘍体積の減少、充実性腫瘍の血管新生の減少あるいはインビトロまたはインビボのいずれかにおける充実性腫瘍の薬剤への浸透性の増加を含む、癌細胞または腫瘍に対する望ましい結果に影響を与えるのに十分である療法(または併用療法)における量である。ある実施態様において、療法(または併用療法)における量は、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%または約100%よりも大きな腫瘍阻害%をもたらす量である。ある実施態様において、療法(または併用療法)における有効量は、限定されるものではないが、例えば、疾患を改善し、対象を安定化し、対象における癌の発生または進行を防止または遅らせることを含む、望ましい臨床結果を得るのに十分である。療法(または併用療法)における有効量は、単回投与または反復投与に基づいて測定され得る。上記した指標の検出および測定方法は当業者に公知である。かかる方法は、限定されるものではないが、腫瘍組織量の減少、腫瘍の大きさの減少、腫瘍の体積の減少、第二腫瘍の増殖の減少、充実性腫瘍の血管新生の減少、腫瘍組織における遺伝子の発現、バイオマーカーの存在、リンパ節の関与、組織学的等級および核等級を測定することを包含する。

40

【0217】

50

ある実施態様において、腫瘍組織量が測定され得る。腫瘍負荷とも称される腫瘍組織量は、一般に、対象の体全体に分布している腫瘍物質の総量をいう。腫瘍組織量はまた、リンパ節および骨髄を含む体全体を通しての、癌細胞の総数または腫瘍の全体の大きさをいい得る。腫瘍組織量は、例えば、対象より取り出した後に、例えばキャリパーを用いて腫瘍の寸法を測定するか、あるいは体内にある間に、画像技術、例えば超音波、コンピュータ断層撮影（CT）または核磁気共鳴画像（MRI）スキャンを用いるなどの当該分野にて公知の種々の方法により測定され得る。腫瘍の大きさは、例えば、腫瘍の重量または腫瘍の体積を測定することで決定され得る。

【0218】

本願発明の方法を用いる場合、ここに記載の化合物の治療的に効果的な量は、純粋な形態にて、または存在するならば、医薬上許容される塩の形態にて、および医薬上許容される賦形剤と共にまたはなしで利用され得る。例えば、本願発明の薬剤は、適用可能な利益/危険の合理的な割合を考慮して、該化合物が標的生体分子に付随する疾患、障害または症状を治療または予防するのに特異的である標的生体分子を阻害するのに十分な量にて投与され得る。

10

【0219】

かかる化合物およびその試薬製剤の毒性および治療作用は、細胞培養における標準的薬理操作および/またはLD50（母集団の50%に致死の用量）およびED50（母集団の50%にて薬理的に効果的な用量）を決定するための動物実験により測定されうる。毒性および治療作用の間の用量割合は、LD50/ED50の割合として表されうる治療指標である。治療指標は大きいほど好ましい。

20

【0220】

単回剤形を製造するのに医薬上許容される担体と合わせることのできる、ここに記載の化合物の量は、処置される宿主および個々の投与経路に応じて変化するであろう。各剤形の個々の用量に含まれる薬剤の単位含量はそれ自体が薬理的に効果的な量を構成する必要はなく、複数の個々の用量を投与することで必要とされる薬理的に効果的な量が得られ得ることが当業者であれば認識するであろう。

【0221】

ここに記載の化合物の投与は単事象、定期事象として、あるいは治療期間にわたった存在しうる。例えば、モジュレータは毎日、毎週、隔週または毎月投与され得る。もう一つ別の例として、化合物は複数の治療期間、例えば2週間投与し、2週間投与せず、それを2回繰り返す；または3日毎に3週間にて投与され得る。当業者はこれらの計画が例示であり、他の適当な定期的方法を設計しうることを理解するであろう。急性の症状の場合、その治療期間は通常少なくとも数日であろう。特定条件で治療を数日から数週間に伸ばすことができる。例えば、治療を1週間、2週間または3週間に広げることができる。より慢性の症状の場合、数週間から数ヶ月に、あるいは1年またはそれ以上にさえ広げることができる。

30

【0222】

個々の対象についての具体的な治療的に効果的なレベルは、治療される障害および該障害の重篤性；使用される特定の化合物の活性；利用される特定の組成物；患者の年齢、体重、一般的健康、性別および食事；投与期間；投与経路；使用される組成物の排出割合；治療期間；使用される化合物と併用してまたは同時に使用される薬物；および医学分野にて周知の同様の因子（例えば、Koda-Kimbleら、(2004) Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs, Lippincott Williams & Wilkins, ISBN 0781748453；Winter、(2003) Basic Clinical Pharmacokinetics, 4th ed., Lippincott Williams & Wilkins, ISBN 0781741475；Sharqel、(2004) Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, McGraw-Hill/Appleton & Lange, ISBN 0071375503を参照のこと）を含む、種々の因子に依存するであろう。例えば、所望の治療的作用を得るのに必要とされるレベルよりも低いレベルで組成物の用量を開始し、その用量を所望の作用が得られるまで徐々に上げることは当業者の範囲内にある。要すれば、有効な日用量は投与のために複数の用量に分割されてもよい

40

50

。結果的に、単回用量の組成物はそのような量またはその約数となる量を含み、集計して日用量となってもよい。しかし、本願発明の化合物および組成物を用いる日用量は、正当な医学的判断の範囲内で、顧問医により決定されるであろう。

【0223】

標的生物分子を阻害する本願発明の化合物はまた、他の治療モダリティと組み合わせて使用され得る。かくして、ここに記載の療法に加えて、標的の生物分子に連結される特定の症状に効果的であることが分かっている他の治療剤を対象に提供してもよい。ここに記載の方法による治療は、該化合物が特異的である標的生体分子に伴う疾患、障害または症状に対する通常の治療モダリティの前に、同時に、または後で実施され得る。

キット

10

【0224】

キットも提供される。かかるキットは、本願発明の組成物を、特定の実施態様において、投与用指示書を含みうる。かかるキットは、ここに記載の方法、例えば、治療方法またはスクリーニング方法の実施を容易にしうる。キットとして供給される場合、組成物の異なる成分は別々の容器に入れられ、使用直前に混合され得る。成分は、限定されるものではないが、ここに記載の1または複数の化合物、ベクター、診断試薬、アッセイ試薬、および/またはその組合せを包含する。別々に包装されているかかる成分は、要すれば、組成物を含有する1または複数の剤形を含有してもよいパックまたはディスペンサー装置にて提供され得る。パックは、例えば、プリスターパックなどの金属またはプラスチックホイルを含んでもよい。成分をこのように別々に包装することで、ある場合には、該成分の活性を失うことなく、長期間の貯蔵を可能とすることができる。

20

【0225】

キットはまた、例えば、別々に包装された凍結乾燥された活性成分に添加される、滅菌水またはセイラインなどの物質を別々の容器に含んでもよい。例えば、密封されたガラスアンプルは凍結乾燥された成分を含有してもよく、別のアンプルには、滅菌水または滅菌セイラインが含まれ、その各々が窒素などの不活性気体の下で包装されていてもよい。アンプルは適当な材料、例えば、ガラス、有機ポリマー、例、ポリカーボネート、ポリスチレン、セラミック、金属または試薬を入れるのに一般的に使用される他の材料からなってもよい。適当な容器の別の例は、アンプルと同様の物質より組み立てられてもよいボトル、およびアルミニウムまたは合金などのホイルラインドインテリアから構成されるエンベロープを含む。他の容器は、試験管、バイアル、フラスコ、ボトル、シリンジ等を含む。容器は、皮下注射針により穿刺され得るストッパーを有するボトルなどの滅菌アクセス部分を有していてもよい。他の容器は取り外しが容易な膜で分離された2つのコンパートメントでできており、膜を取り外すことにより成分の混合を可能となる。取り外し可能な膜はガラス、プラスチック、ラバー等であってもよい。

30

【0226】

特定の実施態様において、キットは教材と一緒に提供されうる。教材は紙または他の材料上に印刷されていても、および/または電子可読媒体、例えばフロッピーディスク、ミニ-CD-ROM、CD-ROM、DVD-ROM、Zipディスク、ビデオテープ、オーディオテープ等として提供され得る。詳細な教材は該キットと物理的に一緒にされていなくてもよく、使用者はキットの製造業者または販売者により特定されるインターネットウェブサイトにも導かれてもよい。

40

【0227】

ここに記載の組成物および方法は、当該分野に既知の種々の標準的方法に従って分子生物学的プロトコルを利用するものである(例えば、SambrookおよびRussel (2006) *Condensed Protocols from Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN-10: 0879697717; Ausubelら(2002) *Short Protocols in Molecular Biology*, 5th ed., Current Protocols, ISBN-10: 0471250929; SambrookおよびRussel (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN-10: 0879695773; Elhai, J.およびWolk, C. P. 1988. *Methods in Enzy*

50

mology 167, 747-754 ; Studier (2005) Protein Expr Purif. 41(1), 207-234 ; Gellissen (2005) Production of Recombinant Proteins : Novel Microbial and Eukaryotic Expression Systems, Wiley-VCH, ISBN-10 : 3527310363 ; Baneyx (2004) Protein Expression Technologies, Taylor & Francis, ISBN-10 : 0954523253を参照のこと)。

【0228】

ここに記載の定義および方法は、本願発明をより詳細に定義し、当業者を本願発明の実施に導くように提供される。特記しない限り、用語は関連する分野の当業者による通常の使用に従って認識されるべきである。

【0229】

ある実施態様において、本願発明の特定の実施態様にて記載および特許請求するのに使用される、成分の数発現量、分子量などの特性、反応条件などは、ある場合には、「約」なる語により修飾されると理解されるべきである。ある実施態様において、「約」なる語は、一の値がその値を測定するのに利用される装置または方法に対して平均値の標準偏差を含むことを示すのに使用される。ある実施態様において、明細書の記載および添付されている特許請求の範囲に示される数値パラメータは、特定の実施態様により得られるように求められる所望の特性に依存して変化しうる近似値である。ある実施態様において、数値パラメータは、報告された有効数字の数を考慮して、四捨五入法を適用することで解釈されるべきである。本願発明の実施態様の広い範囲で示される数値範囲およびパラメータは近似値であるにもかかわらず、特定の実施例に記載される数値は実施可能な限りできるだけ正確に報告されている。本願発明の実施態様にて示される数値は、必然的に、その個々の試験測定にて認められる標準偏差から生じる、ある種の誤差を含んでいるかもしれない。ここでの数値範囲の記述はその範囲内にある個々の数値に言及する簡易な方法として示されているに過ぎない。

【0230】

ある実施態様において、「a」および「an」および「the」および特定の実施態様を記載するのに本願明細書にて使用される同様の単語（特に特許請求の範囲における）は、特記しない限り、単数または複数の両方を含むと解釈できる。ある実施態様において、特許請求の範囲の含む、本願明細書にて使用される「or」なる語は、特記しない限り、「and/or」を意味するのに使用される。

【0231】

「含む」、「有する」および「包含する」なる語は、オープンエンドの連結動詞である。これら動詞の1または複数の形態または時制、例えば、「含む」、「含んでいる」、「有する」、「有している」、「包含する」および「包含している」もまたオープンエンドである。例えば、1または複数の工程を「含む」、「有する」または「包含する」方法は、これら1または複数の工程を有するものだけに限定されず、他の限定されない工程を含みうる。同様に、1または複数の特性を「含む」、「有する」または「包含する」組成物または装置は、これら1または複数の特性を有するものだけに限定されず、他の限定されない特性をも含むうる。

【0232】

ここに記載の方法は、本願明細書にて特記されない限りまたは明らかに相反しない限り、適当な順序で実施され得る。本願明細書に記載の特定の実施態様について提供される、いずれか、またはすべての例示、または例示的用語（例「など」）の使用は、本願発明の開示の理解を容易にするために使用されるに過ぎず、特に請求する場合を除いて、本願発明の範囲を限定するものではない。本願明細書に定義がない場合、その語は本願発明を実施するにおいて必須でない、限定する必要のない構成要素を意味するものと解釈されるべきである。

【0233】

本願明細書に開示されている別の要素または実施態様の基は限定するものと解釈されるべきではない。各基は、個別に、または他の基と組み合わせたものに言及され得る。

【0234】

本願明細書に記載の引例は本願発明の先行文献として了解されるものと解釈されるべきではない。

【0235】

本願発明は細部に亘って記載されているが、特許請求の範囲に記載の開示の範囲を逸脱することなく、修飾、変形および均等な態様が可能である。さらには、本願明細書に記載の実施例も、本願発明を限定するものではないことを理解すべきである。

【実施例】

【0236】

次に実施例を用いて本願発明を説明する。本願発明者が見出した発明に付随する実施例に開示されている方法が本願発明を実施するにおいて十分に機能を発揮することは当業者であれば理解されるはずであり、その実施のための例示的方法を構成すると考えることができる。しかしながら、当業者は、本願明細書の開示を考慮して、開示されている具体的な実施態様にて多くの変更をなすことができ、本願発明の精神および範囲を逸脱することなく同様の結果をもたらすであろう。

【0237】

実施例1：EGFR阻害アッセイ

次の実施例は、一般的なEGFRのインセルウェスタン(in-cell Western)(ICW)スクリーニングプロトコルに記載する。特記する場合を除いて、Chenら(2005)Analytical Biochemistry 338, 136-142(出典明示により本願明細書の一部とする)の方法によるものである。

【0238】

細胞プレート：A431細胞(ATCC番号CRL-1555)を、10%ウシ胎仔血清、105単位/mlのpen/strep(Invitrogen番号15140155)および2.1mM L-グルタミン(ATCC番号30-2214)を補足したダルベッコ修飾イーグル培地(DMEM; ATCC番号30-2002)にて培養した。細胞を96ウェル組織培養プレート(BD Falcon番号353948)に30000細胞/ウェルの密度で播種し、37℃で5%CO₂で一夜インキュベートした。化合物のプレートの各々について2つの細胞プレートを調製した。

【0239】

血清飢餓：化合物を添加する前に、細胞を血清飢餓させた。培地を吸引により除去し、細胞をPBS(200μl/ウェル; Invitrogen番号20012-027)で洗浄した。PBSを吸引により取り除き、105単位/mlのpen/strep(Invitrogen番号15140155)および2.1mM L-グルタミン(ATCC番号30-2214)と置き換えた。細胞プレートを37℃/5%CO₂で2時間インキュベートした。

【0240】

化合物プレート調製：試験化合物を100%DMSO(Sigma番号472301-2L)に25mMの濃度で溶媒和させた。100%DMSOに全く可溶化でないことが判明した、25mMでの化合物を、100%DMSOおよびTFA(Fluka番号91699)で10mMに希釈し、0.2%の最終濃度にまで添加した。40μlの試験化合物を96ウェルプレート(Falcon番号351190)の適当なプレートに加えた。対照として、100%DMSO中6μM EGFRキナーゼ阻害剤PD168393(EMD/Calbiochem番号513033)およびDMSO単独を種々のウェルに添加した。調製した化合物のプレートを使用前には室温で、4℃で長期間にわたって貯蔵した。

【0241】

化合物の希釈プレート調製：250μlの1mg/mlのBSA(Sigma A3059-10G)を補足したDMEMを96ウェルプレートの適当なウェルに添加し、化合物の希釈プレートを調製した。マルチチャンネルピペッターを用い、化合物プレートからの1.25μlの化合物を化合物の希釈プレートに移した。この希釈率により、125μMのアッセイにおける化合物濃度が得られるであろう。

【0242】

10

20

30

40

50

化合物の添加：飢餓培地を吸引により細胞プレートより取り除いた。マルチチャンネルピペッターを用いて、化合物の希釈プレートを3回前後ピペット処理に付して混合した。50 μ lの混合、希釈した化合物を2つの細胞プレートの各々の各2列に加えた。細胞プレートを化合物と一緒に37 / 5% CO₂で4時間インキュベートした。

【0243】

E G Fの添加：20 ng/mlのE G F (Upstate番号01-107)を1 mg/mlのB S Aを補足したD M E M中で調製した。50 μ lの20または0 ng/mlのE G Fを、化合物を取り除くことなく、適当なウェルに添加した。化合物およびE G Fを3回前後ピペット処理に付すことで混合した。該プレートを37 / 5% CO₂で10分間インキュベートした。ある種のスクリーニングアッセイにて、シミュレーションに使用されるE G Fの最終濃度は6.6または10 ng/mlというよりも12.5 ng/mlであった。

10

【0244】

固定およびトリトン洗浄：E G F + 化合物を吸引により除去し、150 μ lの新たに調製された固定溶液(1 x P B S、Sigma P 3 8 1 3 - 1 0 P K、および4%ホルムアルデヒド、Pierce番号28908)を直ちに添加した。プレートを室温で20分間振盪することなくインキュベートした。固定溶液を吸引により除去し、該プレートを4回各々200 μ lのトリトン洗浄溶液(1 x P B S、Sigma P 3 8 1 3 - 1 0 P K、および0.1%トリトンX-100、T 8 7 8 7 - 5 0 M L)で5分間緩やかに振盪しながら洗浄した。

【0245】

遮断およびプローブ化：最終トリトン洗浄の後に、プレートを1.5時間室温で振盪しながら150 μ lのOdyssey Blocking Buffer (L I - C O R 番号927-40000)を用いて遮断した。遮断物を吸引により除去し、50 μ lの希釈された第一A bミックスを添加した。プレートを4で一夜緩やかに振盪しながらインキュベートした。プレートを200 μ lのP B S T (1 x P B S、Sigma P 3 8 1 3 - 1 0 P Kおよび0.1%Tween-20、Sigma P 9 4 1 6 - 5 0 M L)で各々5分間振盪しながら洗浄した。50 μ lの希釈された第二A bミックスを添加し、プレートを室温で1時間振盪しながらインキュベートした。プレートを5 x 200 μ lのP B S Tと各々5分間振盪しながら洗浄した。スキャンする前に、振盪しながら5分間200 μ lのP B S (Sigma P 3 8 1 3 - 1 0 P K)で1回の最終洗浄を行った。

20

30

【0246】

第一A bミックス：0.1%Tween-20 (Sigma P 9 4 1 6 - 5 0 M L) ; 1 / 5 0 0 希釈の抗 - 全体E G F R (Invitrogen番号A H R 5 0 6 2) ; 1 / 8 0 0 希釈の抗 - ホスホE G F R (T y r 1 1 7 3 ; Cell Signalling番号4 4 0 7) ; およびOdyssey Blocking Buffer (L I - C O R 番号9 2 7 - 4 0 0 0 0)を含有した。スクリーニングアッセイは1 / 1 0 0 希釈の、上記した抗 - ホスホE G F R A bよりもむしろ抗 - ホスホE G F R (T y r 1 0 4 5 ; Cell Signalling番号2 2 3 7)を用いた。

【0247】

第二A bミックス：0.2% 10%Tween-20 (Sigma P 9 4 1 6 - 5 0 M L) ; 1 / 1 2 0 0の抗 - マウスI R 6 8 0 コンジュゲート (L I - C O R 9 2 6 - 3 2 2 2 0) ; 1 / 1 2 0 0 希釈の抗 - ウサギI R 8 0 0 C W コンジュゲート (L I - C O R 9 2 6 - 3 2 2 1 1) ; およびOdyssey Blocking Buffer (L I - C O R 番号9 2 7 - 4 0 0 0 0)を含有した。あるスクリーニングアッセイにて、第二A b コンジュゲートの希釈は1 / 1 2 0 0 よりもむしろ1 / 8 0 0 であった。

40

【0248】

プレートスキャンニング：プレートをLI-COR BiosciencesからのOdyssey Infrared Imaging Systemでスキャンした。フォーカスオフセットを3.5 mmでセットし、スキャン強度を700チャンネルで3に、800チャンネルで7にセットした。

【0249】

データ分析：最大%および%阻害値を以下のように計算した。700チャンネル = 全体E

50

G F Rのシグナル(細胞数の変数の対照として使用); 800チャンネル=リン酸化E G F Rのシグナル; 800 - E G F = 基底レベルE G F Rリン酸化+非特異的シグナル(化合物なし); 800 + E G F = 800 - E G F + E G F依存性E G F R受容体リン酸化(化合物なし); 700 / 800 com = 700または800チャンネルシグナル(化合物を含む)。%最大 = $\{ [(800\text{ com} / 700\text{ com}) - (800 - E G F / 700 - E G F)] / [(800 + E G F / 700 + E G F) - (800 - E G F / 700 - E G F)] \} \times 100\%$ 。%阻害 = 100% - (%最大)。

【0250】

実施例2: MTTアッセイ

次の実施例はMTT細胞増殖アッセイを記載する。MTT細胞増殖アッセイは、上記したICWスクリーニングプロトコルをベースに、第一細胞から活性化化合物を評価するための第二スクリーンとして供された。MTTアッセイを用いて、生存性を介する毒性および増殖作用を評価し、上皮癌A431細胞株(American Type Culture Collections(ATCC)カタログ番号CRL-155)および化合物で処理し、インキュベートした3日後に健康なウシ腎臓より誘導されるMDBK株(ATCCカタログ番号CCL-22)の増殖を比較する。

【0251】

MTT細胞増殖アッセイは、生存細胞のミトコンドリアにより産生される、テトラゾリウム塩MTT(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド)の不溶性ホルマザン結晶への還元を測定する比色分析アッセイシステムである。細胞をMTTと一緒にインキュベーションした後、形成されたホルマザン結晶は界面活性剤またはDMSO(ACS試薬等級、Sigmaカタログ番号472301)を添加することで可溶化される。ついで、色相は分光光度手段により定量され得る。薬物過敏性、増殖因子に対する細胞傷害応答および細胞活性化にも、该方法が適用される。テトラゾリウム塩の還元は、今では、放射分析試験に対する安全かつ正確な代替法として理解されている。

【0252】

方法は、特に注記がなければ、MTT細胞増殖アッセイ、ATCC、カタログ番号30-1010Kの製造指示書に従う。

【0253】

MTTアッセイは、各々、11種の化合物および1の標体を、5つの濃度と、2.5倍希釈で、用量応答曲線にて試験した。各細胞プレートで2つのレプリケートおよび2つのデュプリケートプレートで、各細胞株にて各濃度で4つの個々のレプリケートを得た。濃度を100%DMSOにて25mMのストック溶液より希釈した。使用した最初の濃度および試験した最終濃度は次のとおりであった: 20mMから100μM; 8mMから40μM; 3.2mMから16μM; 1.3mMから6.4μM; および0.51mMから2.6μM。

【0254】

12個の96ウェルプレートにて各細胞株をプレート培養した。継代プロトコルのように、細胞を取り除き、血球計にて計数し、標準成長培地に再懸濁させ、マルチチャンネルピペッターを用いてプレートに入れることにより、プレート培養を行った。

【0255】

標体: AD4-10289を用量応答標体として用い、試験化合物よりも低い1の濃度; 40、16、6.4、2.6および1.0μMの最終濃度で行った。10289を1の試験化合物の代わりに同じ数の反復を行った。16μlの25mMストック+34μlのDMSO=8mM出発濃度、および同じプレートにて試験化合物と同様にして連続希釈した。これらの濃度を各プレートで用いて100%とし、A431にて100%より低い活性とし、その一方でまたMDBK細胞にて50%および0活性より低い活性とした。各濃度の2回の反復を各細胞プレートに対して行った。すべての化合物の添加および細胞の処理は、層流無菌フードの下で無菌技術を用いて行った。

10

20

30

40

50

【0256】

対照：処理媒体中0.5% DMSOを対照として用いた。該アッセイでは、顕著な増殖の差異はなく、1.0%までのDMSOを許容することが明らかにされた。

【0257】

MTT色素 (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide、Sigmaカタログ番号M5655) ストックを多量に調製し、4 で使用まで貯蔵した：5 mg / ml 滅菌PDS、光遮断。4 μ lのこのストック / 100 μ lの処理媒体 / ウェルを用いた。130 mlのMTT / 処理を新たに調製し、12のプレートを着色した；124.8 mlの処理媒体 + 522 mlのMTTストック。

【0258】

細胞 (95% 密集成長したフラスコより採取) を7500細胞 / ウェルの密度でプレート培養した。プレートを、処理の前に、処理日 = 0日目で、一夜インキュベートした。最終の吸引の後に細胞を室温で乾燥させる時間を最小にするために、細胞を洗浄する前に化合物の処理を調製した。化合物を100% DMSOにて96ウェルのポリプロピレンプレートにて希釈した：40 μ lの25 mMストック + 10 μ lのDMSO = 20 mM；20 μ lの20 mM + 30 μ lのDMSO = 8 mM；20 μ lの8 mM + 30 μ lのDMSO = 3.2 mM；20 μ lの3.2 mM + 30 μ lのDMSO = 1.3 mM；20 μ lの1.3 mM + 30 μ lのDMSO = 0.51 mM。

【0259】

5.0 μ l / mlを2.2 mlの滅菌した処理培地に加え、深いウェルプレート = 0.5% DMSO最終。10 μ lの各DMSO濃度を2.0 mlの処理媒体に加え、ついで1200 μ lのマルチチャンネルピペッターを用いて混合した。細胞プレートを深いウェルプレートより処理した。処理媒体は0.5% FBSおよび標準添加物を含む標準増殖培地であった。このFBS濃度の低下は細胞での遅い増殖速度を可能とした。各細胞株のプレート1にて、標体AD4 - 10289をレーン3にて試験した (速度について上記を参照のこと)。

【0260】

媒体を細胞プレートより吸引し、200 μ l / ウェルの滅菌PBSで洗浄した。PBS洗浄液を吸引し、細胞プレートをウェル当たり200 μ lの化合物 / 処理媒体で処理し、37、5% CO₂で3日間インキュベートした。

【0261】

採取する前に、肉眼観察を倒立顕微鏡の下で行った。増殖媒体を吸引し；逆MTT色素 / 100 μ l 処理媒体を添加し；およびプレートを37 で1時間インキュベートすることでプレートを採取した。100 μ l / ウェルのDMSOを加え、ついでBellco plate shaker上で5分間、4.5にセットして振盪させた。

【0262】

プレートをTecan Sunrize UV plate readerにて560 nmにて読み取った。セッティング：読み取りモード、Outside Normal 2秒；Shake settle time 3秒。データは個々のプレートより由来の対照値を用い、該プレートについて計算される障害%として報告される。

【0263】

実施例3：EGFR障害についてファーマコフォアモデルより同定された化合物の試験
種々のファーマコフォアモデルを表すと同定された化合物を25 μ MでEGFRを障害する能力について試験した。

【0264】

AD4 - 化合物がファーマコフォアモデルを用いて同定され (実施例3を参照)、ついでセツキシマブのCDRを限定することにより認識されるEGFR (配列番号：1) の結合部位と結合される。ついで、AD4 - 化合物による表皮増殖因子の結合の障害を測定した (NovaScreen BioSciences、Hanover、MD)。EGF結合の障害を25 μ M濃度で測定した。

10

20

30

40

50

【0265】

阻害剤アッセイの場合、KD (結合アフィニティ) は 1.04 nM であり、その一方で B_{max} (受容体の数) は 43.0 fmol (湿重量) であった。受容体源はラット肝膜であった。放射性リガンドは 0.36 nM の最終リガンド濃度の $[^{125}\text{I}]\text{EGF}$ ($150 - 200 \text{ Ci}/\mu\text{g}$) であった。非特異的決定因子を $\text{EGF} - [100 \text{ nM}]$ として用いた。標準化合物および正対照は EGF であった。反応は 0.1% BSA を含有する 10 mM HEPES ($\text{pH } 7.4$) にて 25°C で 60 分間実施された。ガラスファイバー濾過での急速真空濾過により反応を停止させた。フィルターに捕獲された放射能を測定し、対照値と比較し、試験化合物と EGF 結合部位との相互作用を確認した。 EGF 阻害剤アッセイは、例えば、Mukku (1984) *J. Biol. Chem.* 259, 6543-6546; Duhら (1990) *World J. Surgery* 14, 410-418; Lokeshwarら (1989) *J. Biol. Chem.* 264(32), 19318-19326より修飾された。

10

【0266】

実施例4：不活性な EGFR 結晶構造からの標的阻害についてファーマコフォアの生成

次の実施例は標的蛋白結晶構造の分析および EGFR 阻害についてのファーマコフォアの生成を記載する。この方法により認められるリガンドは EGFR の Dom I I および Dom I V からの残基と相互作用し、それにより不活性な形態の受容体を得られる。

【0267】

EGFR の不活性な構造の蛋白結晶構造が、Fergusonら (Ferguson, K.M., Berger, M.B., Mendrola, J.M., Cho, H., Leahy, D.J., Lemmon, M.A. (2003) *EGF activates its receptor by removing interactions that auto-inhibit ectodomain dimerization* *Mol. Cell* 11: 507-517) にて報告されている。MOEソフトウェアのサイト・ファインダー・モジュールを用いて結合部位を決定した。ドメイン I I からの残基のインターフェースからなる (23 残基、 $\text{Lys } 227$ 、 $\text{Phe } 228$ 、 $\text{Lys } 235$ 、 $\text{Asp } 236$ 、 $\text{Thr } 237$ 、 $\text{Cys } 238$ 、 $\text{Pro } 239$ 、 $\text{Pro } 240$ 、 $\text{Leu } 241$ 、 $\text{Met } 242$ 、 $\text{Tyr } 244$ 、 $\text{Tyr } 249$ 、 $\text{Gln } 250$ 、 $\text{Met } 251$ 、 $\text{Gly } 257$ 、 $\text{Lys } 258$ 、 $\text{Tyr } 259$ 、 $\text{Ser } 260$ 、 $\text{Cys } 265$ 、 $\text{Val } 275$ 、 $\text{His } 278$ 、 $\text{Gly } 279$ および $\text{Ser } 280$) およびドメイン I V (16 残基、 $\text{Arg } 548$ 、 $\text{Gly } 549$ 、 $\text{Pro } 550$ 、 $\text{Asp } 551$ 、 $\text{Asn } 552$ 、 $\text{Asp } 561$ 、 $\text{His } 564$ 、 $\text{Val } 566$ 、 $\text{Thr } 568$ 、 $\text{Cys } 569$ 、 $\text{Pro } 570$ 、 $\text{Ala } 571$ 、 $\text{Gly } 572$ 、 $\text{Val } 573$ 、 $\text{Met } 574$ および $\text{Leu } 580$) (例えば図1を参照)。

20

30

【0268】

Chemical Computing Group (CCG) (Montreal, Quebec, Canada) からの Molecular Operating Environment (MOE) ソフトウェアのファーマコフォア特性の作成およびファーマコフォアの仮想スクリーニングモジュールを下記のファーマコフォアの定義にて使用した。MOEのファーマコフォアのアプリケーションは、受容体部位でのリガンドの認識およびその生物学的活性に直接関連するリガンド中の一連の構造的特性であるファーマコフォアの一般的概念を使用する。

【0269】

MOEにおいて、ファーマコフォアの構造的特性は間隔を介して標識された点で示される。各リガンドには、リガンドファーマコフォアに起因する構造的特性のセットである、注釈を付す。注釈を付されたリガンドのデータベースは、ファーマコフォアを仮定とするクエリーでサーチされ得る。かかるサーチの結果がクエリーのファーマコフォア特性をサーチされたデータベースのリガンドにあるファーマコフォア特性と調整して並べる一連の適合である。一連のMOEソフトウェアは、相互作用的な修飾 (位置、半径ならびにファーマコフォアのクエリーの他の特徴は相互作用的に調整され得る); 全体適合 (リガンドとクエリーの可能性のあるすべての適合を体系的に試験する); 部分適合 (サーチアルゴリズムはクエリーの一部のみ適合するリガンドを見つけることができる); および容量濾過 (クエリーは制限を加えることで適合した一連の容量の形態のリガンドの形状に焦点を当てることができる) を提供する。

40

50

【0270】

この例のファーマコフォア特性はMOEにてPharmacophore Query Editorを用いて作成された。水素結合したドナー特性はすべて半径1.2の球体で、紫色に着色される。水素結合したアクセプター特性はすべて半径1.2の球体で、青緑色に着色される。芳香族特性はすべて半径1.2の球体で、緑色に着色される。アクセプター-アニオンを合わせたファーマコフォア特性はすべて半径1.2の球体で、灰色に着色される。ドナー-アクセプターを合わせた特性はすべて半径1.2の球体で、桃色に着色される。ドナー-カチオンを合わせた特性はすべて半径1.2の球体で、赤色に着色される。ドナー、アクセプター、芳香族、酸-アニオンの組み合わせ、およびドナー-アクセプターの組み合わせの方向性の特性はすべて半径1.5の球体で、ドナーで暗灰色に、アクセプターで暗青緑色に、芳香族で暗緑色に、酸-アニオンの組み合わせで暗青緑色に、およびドナー-アクセプターの組み合わせで暗灰色に着色される。ファーマコフォアクエリーで絶対に必要な特性は、そのリガンドがヒットするように、ファーマコフォアクエリーがリガンドにて含まれていなければならないことである。

10

【0271】

受容体の3D原子座標を用いて接触統計を計算し、好ましくは疎水性および親水性リガンド原子の位置を統計的方法を用いて計算した。この方法を用いると、疎水性-芳香族およびH-結合の特性が、個々のファーマコフォアの定義に示されるように、プレースされる。

MOEプログラムにて接触統計学およびMFSSより誘導される構造的情報を用い、同じような位置に同様の原子を有する小分子を同定するのに使用されるファーマコフォアモデルを構築した。

20

【0272】

MultiFragment Search (MFSS)は、本質的に、比較的多数のフラグメントのコピー(例、エタンの200コピー)を一の受容体の活性部位に入れる。フラグメントは無作為に活性部位の原子の周辺に置かれ、互いに相互作用しないと仮定し;フラグメントが重なることに関心は支払われない。次に、特別なエネルギー最小限化プロトコルを用いて初期の置換を精密化する:受容体の原子はフラグメントの平均的な応力を感じし、その一方で各フラグメントは、他のフラグメントではなく、受容体のすべての応力を感じする。この方法を用いて、疎水性、H-結合のドナー、アクセプターおよびアニオンおよびカチオンをMOEファーマコフォア特性として用いるための受容体内にある好ましい位置に置くことが可能であった。

30

【0273】

MOEソフトウェアにて提供される方法は、AD4-1505のヒットに相当するファーマコフォア特性を設置するのに使用される。これらは上記した接触的統計学およびMFSSである。接触的統計学およびMFSSのアルゴリズムは共に、EGFrの不活性化形態のドメインII-ドメインIV界面にある結合部位に適用された(1NQL.pdb、上記した図面を参照)。

【0274】

上記したドメインIIおよびドメインIV界面での結合部位の受容体残渣を選択し、MOEにてファーマコフォアクエリーエディターから「ユニオン」を選択することで排斥される体積をMOEにて生成した。排斥される体積は、リガンド原子が受容体との衝突を回避するために排除されなければならない場合の、空間的位置による。

40

【0275】

以下に記載の個々のファーマコフォアの定義において、略語は次のとおりであった:F=ファーマコフォア特性;Don=ドナー、Acc=アクセプター、Ani=アニオン、Cat=カチオン、Acc&Ani=アクセプターおよびアニオン、Don&Cat=ドナーおよびカチオン、Don&ACC=ドナーおよびアクセプター、Aro=芳香族、Hyd=疎水性物質。

【0276】

50

ファーマコフォアモデル・ファーム - 1 n q l - g l u e - 5 (表6および表7 ; 図2を参照) は A D 4 - 1 5 0 5 のヒットを与えた。これは部分適合モデルである。リガンドは少なくとも6のファーマコフォア特性と適合しなければならない。

【 0 2 7 7 】

以下に記載の個々のファーマコフォアの定義において、略語は次のとおりであった： F = ファーマコフォア特性； D o n = ドナー、 A c c = アクセプター、 A n i = アニオン、 C a t = カチオン、 A c c & A n i = アクセプターおよびアニオン、 D o n & C a t = ドナーおよびカチオン、 D o n & A C C = ドナーおよびアクセプター、 A r o = 芳香族、 H y d = 疎水性物質。

表 6

10

【表 2 7】

Pharm-1nql-glu e-5 Partial match, ligand must ma tch at least 6 pharmacophore features. FIG. 2	F(I)1 D on&Cat	Derived from MFSS (see above). Ligand donates an H-bond or forms a salt bridge to the carboxylate side chain of receptor Asp553
	F(I)2 D on	Derived from MFSS. Ligand donates an H-bond to backbone carbonyl of receptor Thr570
	F(I)3 H yd	Derived from hydrophobic contact statistics. Ligand forms hydrophobic contacts with side chain of receptor Val568, imidazole side chain of receptor His566 and with the imidazolidine ring of receptor Pro552. This feature is marked essential
	F(I)4 D on&Cat	Derived from MFSS. Ligand donates an H-bond or forms a salt bridge to the side chain carboxylate of receptor Asp563. This feature is marked essential
	F(I)5 H yd	Derived from hydrophobic contact statistics. Ligand forms hydrophobic contacts with the imidazoline ring of receptor Pro572 and the side chain of Met253
	F(I)6 D on	Derived from MFSS. Ligand donates an H-bond to backbone carbonyl of receptor Cys571. This feature is marked essential
	F(I)7 D on2	Directionality of F6 with respect to backbone carbonyl of receptor Cys571
	F(I)8 Ac c	Derived from MFSS. Ligand accepts an H-bond from receptor backbone NH of Ala573. This feature is marked essential
	F(I)9 Ac c2	Directionality of F8 with respect to backbone NH of Ala573
	V1	Excluded volume

20

30

40

表 7 : ファーマコフォア・ファーム - 1 n q l - G l u e - 5 の特性の直交および球面座標

【表 2 8】

Feature	X	Y	Z	r	Θ (theta)	Φ (phi)	sphere radius (A)	sphere volume (A ³)	Preferr ed features
F(I)1 Do n&Cat	53.52 3	-17.13 5	-4.293	56.363	94.368	-17.75 2	1.2	7.2	
F(I)2 Do n	47.98 3	-20.60 9	-10.61 9	53.290	101.49 4	-23.24 4	1	4.2	
F(I)3 Hy d	50.51 1	-16.78 1	-7.319	53.726	97.830	-18.37 8	1.7	20.6	preferr ed
F(I)4 Do n&Cat	51.62 5	-19.90 0	-9.294	56.103	99.536	-21.08 0	1.2	7.2	preferr ed
F(I)5 Hy d	48.63 2	-18.65 8	-12.83 7	53.647	103.84 4	-20.99 0	1.4	11.5	
F(I)6 Do n	44.67 5	-21.35 9	-12.56 8	51.088	104.24 1	-25.55 2	1.2	7.2	preferr ed
F(I)7 Do n2	45.06 7	-23.42 1	-12.64 4	52.340	103.98 0	-27.46 1	1.5	14.1	
F(I)8 Ac c	44.90 6	-20.29 4	-14.55 5	51.383	106.45 5	-24.31 9	1.2	7.2	preferr ed
F(I)9 Ac c2	45.47 5	-21.63 9	-16.06 4	52.861	107.69 2	-25.44 7	1.5	14.1	

10

20

【 0 2 7 8】

実施例 5 : リガンドの不活性 E G F R 蛋白とのドッキングおよびスコアリング

標的蛋白である E G F r (P D B 受入番号 1 N Q L) の不活性な折り畳まれた配座とのドッキングのために選択される化合物は、 M O E モデリングソフトウェアにて生成されるファーマコフォアモデルと協調することが判明した。これらの化合物は M O E データフォーマットにて得られた。これらの化合物の 3 次元原子座標を、水素を添加することなく、 M O E データベースウィンドにおいてエクスポートコマンドを用いて、構造データフォーマット (* s d f) ファイルに書いた。

30

【 0 2 7 9】

次に、MaestroモデリングソフトウェアのLigPrepソフトウェアモジュール (Schrodinger LLC、NY、NY) を利用し、ドッキングのための化合物を調製した。 * s d f ファイルをLipPrepを用いてMaestroフォーマットに変換した。ついで、水素を添加し、中和された基を充填した。7.0 + / - 1.0 pH 単位のリガンドについてのイオン化状態を生成した。この後で、必要ならば、互変異性体を生成し、別のキラリティを生成し、低エネルギーの環配座異性体を生成した。つづいて、問題の構造物を取り出し、MacroModelソフトウェアモジュールを用いて得られたリガンドでエネルギーが最小となるようにした。最後に、Maestroファイル (* m a e) はドッキングのために was written of the ligands which were now ready for docking. これらの工程はすべてSchrodinger, LLCにより供給されるパイソンスクリプトを介して自動的に操作された。

40

【 0 2 8 0】

次に蛋白調製を記載する。不活性な状態の E G F r の蛋白結晶構造 (1 N Q L . P B D) を P D B フォーマットのMaestroに取り込んだ。水素を加え、不完全な残基などの誤りを修正した。蛋白構造を金属イオンおよびコファクターについてチェックした。必要ならば帯電および原子の型をメタルイオンおよびコファクターについてセットした。要すれば

50

、リガンドの結合次数および形式電荷を調節した。MOEにより、Maestro (Glide) にてファーマコフォアでヒットすることが判明した、一つであるリガンド、ZINC3304802をピックアップすることで、結合部位が決定された。該プログラムにより、ピックアップされたリガンドの重心を決定し、20のボックスであって、該ボックスの中心にリガンドの重心をデフォルト設定したボックスを描く。該ボックスはドッキングされるリガンドについての結合部位であった。Glideにて自動化されている蛋白調製の容易性は、2つの構成要素、調製と精密化とからなる。調製の構成要素は水素を添加し、結合部位の近辺になく、塩橋に関係しない側鎖を中和することであった。精密化は、その要素として、側鎖のヒドロキシル基を再度方向付け、立体衝突の可能性を軽減し、共結晶化される複合体の抑制を最小とするために実施された。

10

【0281】

次に受容体の格子生成を記載する。Glideは1または複数のリガンド分子と受容体分子、通常は、蛋白の間の好ましい相互作用をサーチする。受容体の形状および特性は、水素結合、クーロン力(すなわち、電荷-電荷)相互作用、疎水性相互作用、およびリガンドと蛋白との静電的衝突を含む、数種の異なる場により格子上に現れる。第一の工程にて、受容体が決定されなければならない。このことはリガンドをピックアップすることでなされた。該構造物のピックアップされていない部分が受容体であった。リガンドは格子計算に含まれないが、上記したように結合部位を定めるのに使用された。受容体の非極性原子のスケーリングはこのドッキング操作に含まれなかった。格子それ自体は境界ボックスの空間の範囲内で計算された。これは上記のボックスであり、リガンド原子のすべてがこのボックス内に含まれなければならない。ファーマコフォア制限は使用されなかった。というのもGlideの超正確性スコアリング機能はこれらの制限なしでも優れた機能を発揮するからである。

20

【0282】

Glideを使用するために、各リガンドは単一分子でなければならない、その一方で受容体は1個より多くの分子、例えば、蛋白およびコファクターを含んでもよい。Glideは固定した、または柔軟なドッキングモードで行われうる：後者は自動的に各インプットリガンドのための配座を生成する。リガンドの受容体に対する位置と配向性の組み合わせは、その柔軟なドッキングの配座と一緒にあって、リガンドポーズと称される。すべてのドッキング操作は柔軟なドッキングモードを用いて行われる。Glideが生成する、リガンドポーズは、リガンドの受容体との相互作用を評価する一連の階層フィルターを通過する。最初のフィルターはリガンドの所定の活性部位との空間的適合を試験し、格子を基礎とする方法を用いてリガンド-受容体の相互作用の相補性を試験する。これらの初期のスクリーンを通過するポーズはアルゴリズムの最終段階に入り、それはOPLS-AAの非結合リガンド-受容体の相互作用のエネルギーに接近する格子の評価および最小限化を含む。ついで、最終スコアリングはエネルギー最小限化ポーズに実施される。デフォルトでは、Schrödinger プロプライタリーGlideScore複数のリガンドのスコアリング機能を用い、ポーズを評点化する。GlideScoreはスコアリング機能として選択されるならば、次に複合的E-モデルスコアを用いて各リガンドのポーズをランク付けし、該ポーズを使用者に報告されるように選択する。E-モデルはGlideScore、非結合相互作用エネルギー、および、柔軟なドッキングについて、生成されたリガンド配座の過剰内部エネルギーを合わせた。配座柔軟性は、広い配座のサーチによりGlideにて取り扱われており、不適当な立体配座、例えば長期内部水素結合を有する配座を迅速に排除する発見的スクリーンにより増補される。

30

40

【0283】

この例のドッキング操作にて用いられるセッティングは次のとおりである。Gridファイルを読み込んだ。超正確性(XP)スコアリング機能を用いた。配座柔軟性を用いてドッキングした。初期Glideスクリーンのための5000ポーズ/リガンドを保持した(デフォルト)。初期のポーズを維持するためのスコアリングウィンドウは100.0(デフォルト)であった。エネルギーを最小にするために最高の800ポーズ/リガンドを保持し

50

た(デフォルト)。エネルギーを最小とするため、2.0の距離依存性誘電定数を用い、最大数のコンジュゲート勾配工程は100(デフォルト)であった。ついで、リガンドファイルをロードした。120を超える原子を有し、および/または20を超える回転可能な結合を有する分子はドッキングされなかった(デフォルト)。0.15より小さな部分チャージを有するリガンド原子のファンデルワールス半径は0.80倍で縮小した。これは受容体柔軟性を真似て行われた。制限および類似性は使用されなかった。クーロン+ファンデルワールスのエネルギーが0.0より大きいポーズは除外された。各分子についてのポーズが配座的に異なることを保証するために、RMS偏差が0.5より小さく、および/または最大原子転位が1.3であるポーズは排除した。

【0284】

以下はGlideスコアリングを記載する。各リガンドについての最良のドッキング構造の選択は、エネルギー格子スコア、GlideScoreにより予測される結合アフィニティ、および(柔軟ドッキングでは)配座-サーチアルゴリズムを対象とするのに使用される可能性のあるモデルの内部歪みエネルギーを合わせる、モデルエネルギースコア(Emodel)を用いてなされた。Glideはまた、空間的に構築された、チャージ-ダイポールおよびダイポール-ダイポール相互作用を犠牲にして、過度に報酬のよいチャージ-チャージ相互作用を回避するのに処方された、クーロン-ファンデルワールス相互作用エネルギースコア(CvdW)をコンピュータ処理した。このスコアは「生の」クーロン-ファンデルワールス相互作用エネルギーである異なるリガンドの結合アフィニティと比較するのにより適する。最終データの後処理において、コンピュータ処理されたGlideScoreおよび「修飾された」クーロン-ファンデルワールススコア値を組み合わせ、データベーススクリーニングにて改善された濃縮係数を助成しうる複合的スコアを付与しうる。Glideスコアの数学的形態は：

【0285】

Gスコア = 0.065 * EvdW + 0.130 * Coul + Lipo + Hbond + Metal + BuryP + RotB + Site

【0286】

ここで、EvdWはファンデルワールスエネルギー(金属、カルボキシレートおよびグニジニウムなどの形式電荷を有する基で、ネットイオン電荷を減じることで計算される)であり；Coulはクーロンエネルギー(金属、カルボキシレートおよびグニジニウムなどの形式電荷を有する基で、ネットイオン電荷を減じることで計算される)であり；Lipoは親油性接触(好ましい疎水的相互作用のリワード)であり；HBondは水素結合(ドナーおよびアクセプターが中性であるか、一方が中性で他方が帯電しているか、または両方が帯電しているかどうか)に依存して、重量が異なる成分に分けられる)であり；Metalは金属結合(アニオン性アクセプター原子が含まれている場合のみの相互作用であり；アポ蛋白にある金属の電荷が正である場合、アニオンリガンドが含まれていることが好ましく；正味の電荷が0である場合、抑制されることが好ましい)であり；BuryPは埋設された極性基に対するペナルティーであり；RotBは回転可能な結合を固定することに対するペナルティーであり；およびSiteは活性部位にある極性相互作用(疎水性領域にて非水素結合であるが、極性原子が報酬される)である。

【0287】

次はスクリーンされた仮想化合物ライブラリーの生成を記載する。市販の化合物のフリーな仮想のデータベースからのリード類化合物をZINCデータベース(IrwinおよびShoichet (2005) J. Chem. Inf. Model. 45(1), 177-182)から構造データフォーマット(sdf, Molecular Design Limited)にダウンロードした。リード類データベースは約890000化合物からなり、33種のセグメントに分類される。これはMOEによりスクリーニングするための配座異性体のデータベースを生成するのに使用された。ついで、水素を添加した。ファーマコフォアサーチの場合、低エネルギー配座異性体のデータベースが生成されなければならない。配座取り込みコマンドを上記したsdfファイルに適用した。配座異性体が生成された後、配座異性体のデータベースを前処理に付す。特性の注釈と称

10

20

30

40

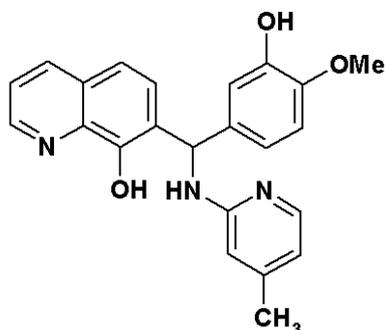
50

される、この工程は、各分子 / 配座およびその幾何学的関係におけるファーマコフォアの特徴の型を決定する。ついで、これをクエリーと比較し、所定の耐性の範囲内でクエリーと適合するそれらの分子 / 配座をヒットとして供した。

【0288】

上記した方法に従って蛋白EGFRの1NQL . PDB結晶構造から同定されるファーマコフォアに対するZINCデータベースからの化合物を分析し、化合物AD4 - 1505を同定した。

【化18】



10

AD4 - 1505、式(1)

【0289】

次の表中のAD4 - 1505類化合物は、構造の類似性をサーチして同定され、1NQL . PDB結晶部位にドッキングされてそのGlideおよびEmodelスコアを得た。

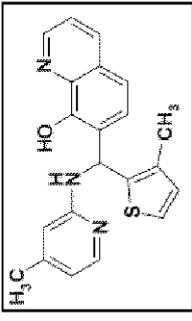
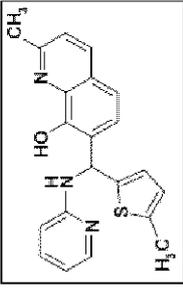
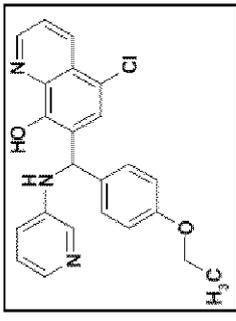
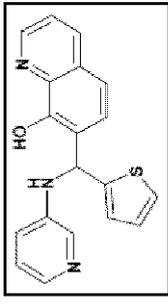
20

【0290】

表8の化合物はAD4 - 1505の構造の類似性をサーチして同定され、1NQL . PDB結晶部位にドッキングされてそのGlideおよびEmodelスコアを得た。また、表8にはICWアッセイおよびMTTアッセイの結果が記載される(実施例1、実施例2、実施例5を参照)。

表8 : AD4 - 1505類化合物について、Glideスコア、E - Modelスコア、ICWアッセイ、およびMTTアッセイの結果

【表 2 9】

Compound	AD4-Number	G-Score	E-Model Score	ICW Score	Rest	MTT - 72 h A431/MDBK (ratio)	MTT (10 Point follow-up)	Pharmacophore Model
	10963	-6.63	-46.58	100.4	99.05	13.87/27.4 5 (1.98) 40% Max		1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10961	-6.19	-46.38	94.69	71.58	32.41/43.4 8 (1.34) 50% Max		1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10945	-7.68	-57.26	82.22	81.41	2.79/1.87 (0.67)	2.45/1.8 7 (0.76)	1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10315	-6.07	-37.37	80.77	92.46	4.52/5.69 (1.26)	0.697/0.783 (1.12)	AD4-1505 LIKE Dockpharm

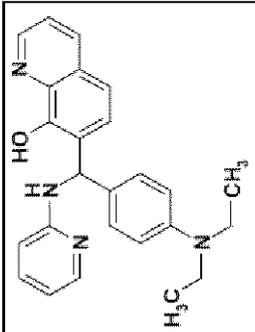
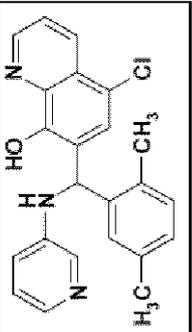
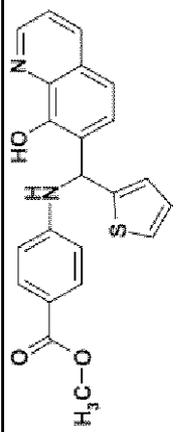
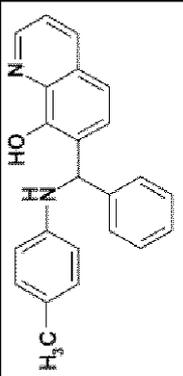
10

20

30

40

【表 3 0】

	10965	-6.34	-50.24	74.54	92.26	3.83/3.83 (1.00)		INQL - AD4-15 05 LIKE
	10944	-5.11	-44.6	68.22	67.75	2.03/2.96(1.46)	1.86/2.7 3(1.47)	INQL - AD4-15 05 LIKE
	11015	-6.99	-50.79	64.21	57.97	5.07/3.87 (0.76)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10664	-6.31	-42.67	64.09	69.21	1.92/2.14 (1.12)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE - WANG

10

20

30

40

【表 3 1】

	1978	-6.36	-59.67	63.53	41.95	7.30/10.7 (1.47)		1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10087	-7.14	-52.29	62.13	41.13	5.23/5.79(1.11)	4.70/5.5 5(1.18)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10013	-6.27	-49.84	61.2	62.77	3.56/6.42(1.80)	3.53/6.3 2(1.79)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10958	-5.69	-43.69	60.73	70.92	14.8/9.67(0.65)		1NQL - AD4-15 05 LIKE
	11152	-7.22	-52.49	60.41	48.96	9.0/8.24(.92)		1NQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG

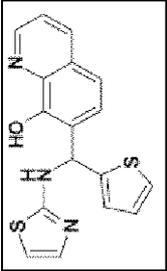
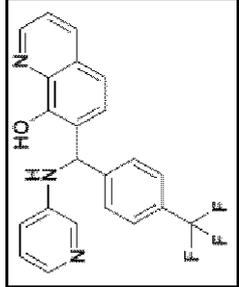
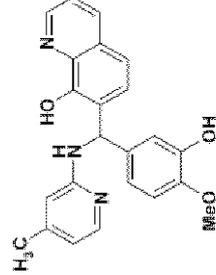
10

20

30

40

【表 3 2】

	10602	-6.13	-37.04	57.72	43.06	3.56/2.31 (0.65)	3.30/2.35 (0.71)	AD4-1505 LIKE Dockpharm
	10942	-8.04	-54.57	56.15	95.43	33.33/36.24 (1.09)		INQL - AD4-1505 LIKE
	1505	-7.06	-51.44	55.71	47.05	8.36/9.33 (1.12)		INQL-Glue

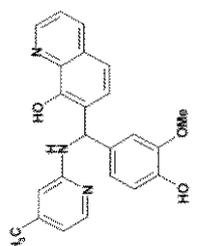
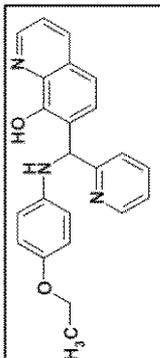
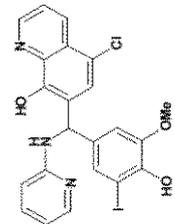
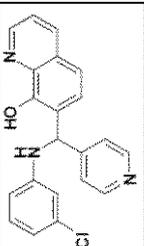
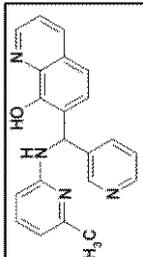
10

20

30

40

【表 3 3】

	1973	-7.29	-47.24	54.76	53.31	14.23/7.50 (0.53)	1NQL-G1ue - A D4-1505 LIKE
	11073	-7.49	-54.79	54.34	38.77	4.83/7.41(1.53)	1NQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10086	-7.19	-48.51	53.89	25.94	5.96/4.61(0.77)	1NQL-G1ue - A D4-1505 LIKE
	11042	-6.7	-46.5	53.72	71.32	3.93/3.72(1.06)	1NQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10975	-6.02	-44.09	53.5	34.86	52.17/35.5 8(0.68)	1NQL - AD4-15 05 LIKE

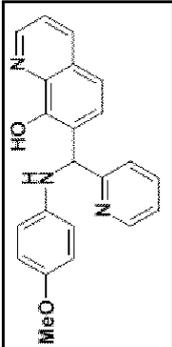
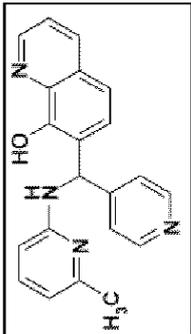
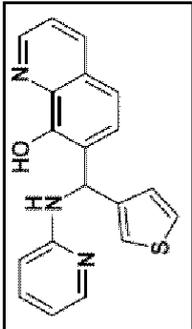
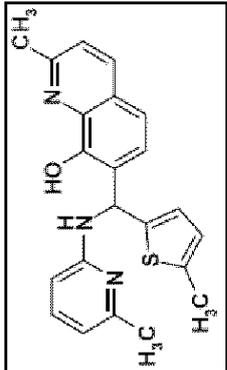
10

20

30

40

【表 3 4】

	11103	-6.76	-54.18	50.55	45.86	20.78/36.37 (1.75)	1NQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10974	-8.46	-54.71	50.44	44.13	4.19/4.77 (1.14)	1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10957	-5.45	-45.84	49.8	39.03	17.52/14.09 (0.80)	1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10952	-7.26	-48.81	49.39	43.94	10.50/7.77 (0.74)	1NQL - AD4-15 05 LIKE

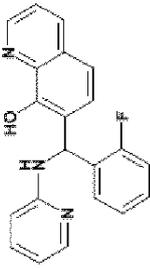
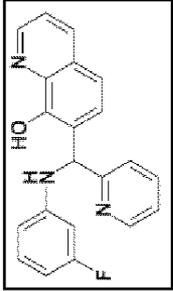
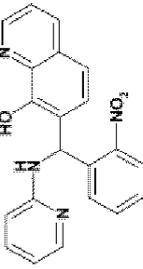
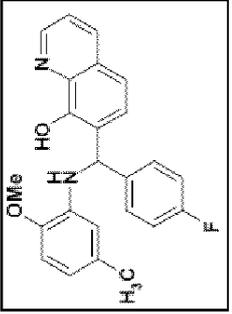
10

20

30

40

【表 3 5】

	10033	-5.85	-40.98	49.36	5.98	1.85/4.62(2.49)	1.81/4.4 3(2.44)	INQL-Glue - AD4-1505 LIKE
	11105	-6.8	-46.19	48.25	17.88	5.46/7.03(1.29)	4.72/6.5 0(1.38)	INQL - AD4-10664 LIKE - WANG
	10042	-5.1	-46.89	47.99	-8.06	1.49/1.49(1.00)	9.62/6.6 3(0.69)	INQL-Glue - AD4-1505 LIKE
	11014	-5.9	-42.04	47.81	32.53	4.68/4.32(0.92)		INQL - AD4-10664 LIKE - WANG

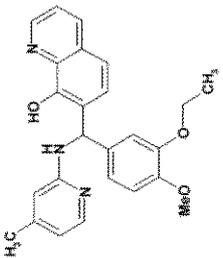
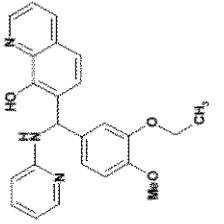
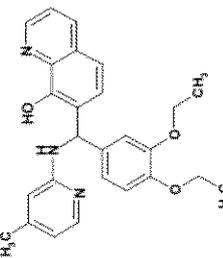
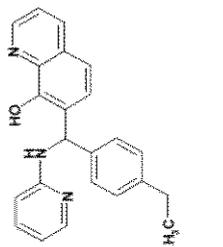
10

20

30

40

【表 3 6】

	1991	-5.54	-57.53	47.06	30.75	9.08/7.14(0.79)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	1968	-6.87	-45.76	46.48	20.95	7.14/6.15(0.86)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10143	-7.04	-53.91	45.61	27.18	4.74/4.33(0.92)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10041	-5.93	-50.66	45.08	3.45	2.95/2.94 (1.00)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

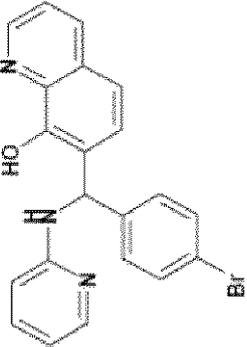
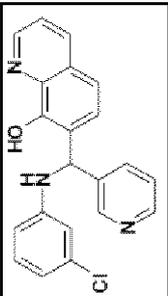
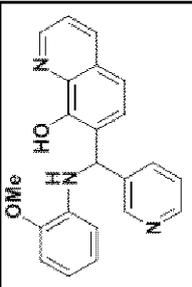
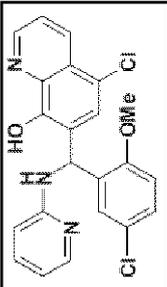
10

20

30

40

【表 3 7】

	10048	-4.85	-45.12	44.94	15.3	81% @ 2.6 • μM	5.46/5.23 (0.96)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	11057	-6.87	-46.98	44.4	73.29	7.99/7.86(0.98)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	11102	-8.69	-51.71	44.31	39.06	7.39/7.66(1.04)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10943	-7.66	-53.85	44.28	68.79	1.31/2.10 (1.60)	1.25/1.88 (1.50)	INQL - AD4-15 05 LIKE

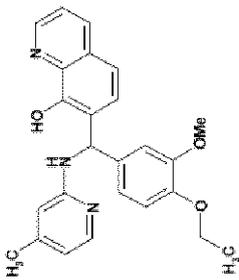
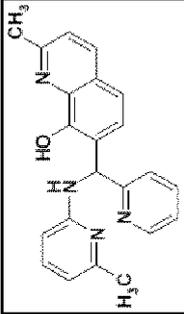
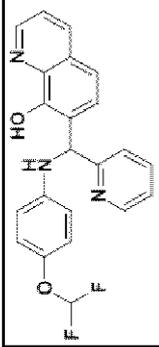
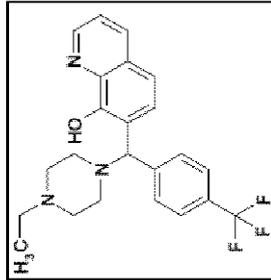
10

20

30

40

【表 3 8】

	10017	-6.59	-54.84	44.27	30.11	3.72/3.51(0.94)	3.52/2.9 8(0.85)	INQL-GIue - A/ D4-1505 LIKE
	10948	-5.76	-39.8	44.24	30.99	8.87/11.89 (1.34)		INQL - AD4-15 05 LIKE
	11072	-6.64	-45.28	44.06	36.82	43.17/21.0 5(0.49) 12% Max		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10535	-6.17	-40.69	44.02	52.63	2.72/3.95(1.45)	2.04/2.9 1(1.43)	AD4-1505 LIKE Dockpharm

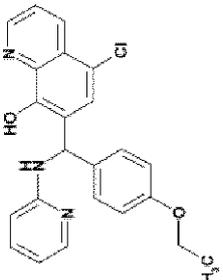
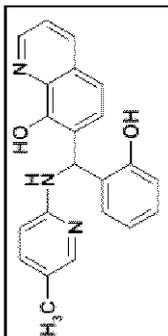
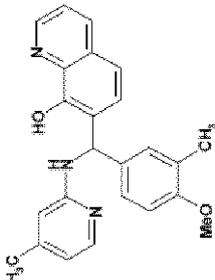
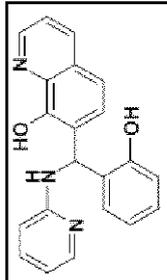
10

20

30

40

【表 3 9】

	10101	-7.83	-56.24	44.01	7.53	5.77/9.52(1.66)	2.88/2.5 9(0.90)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10430	-5.99	-48.35	43.81	48.57	6.47/5.58(0.86)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10005	-7.36	-45.54	43.76	33.76	3.44/3.69(1.07)	3.45/4.1 4(1.20)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10427	-5.79	-48.95	43.39	43.82	5.56/4.82(0.87)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

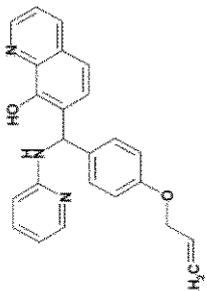
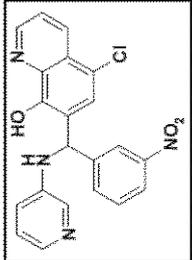
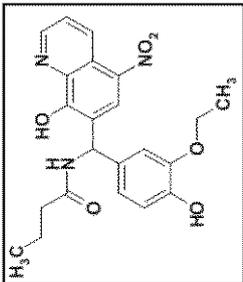
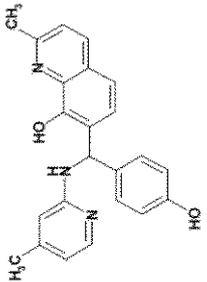
10

20

30

40

【表 4 0】

	10052	-7.8	-59.71	43.1	20.95	2.35/??	13.80/9.25 (0.67)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10947	-5.87	-58.29	42.78	42.98	5.15/2.66 (0.52)		INQL - AD4-15 05 LIKE
	10959	-6.14	-51.78	42.18	87.34	0.98/2.43 (2.47)	0.960/2.07 (2.16)	INQL - AD4-15 05 LIKE
	10016	-6.67	-44.5	41.45	29.99	25.80/25.78 (1.00)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

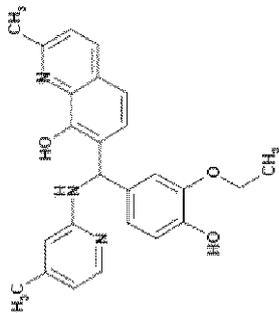
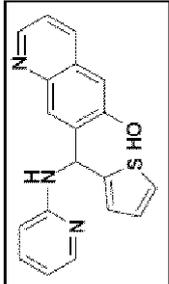
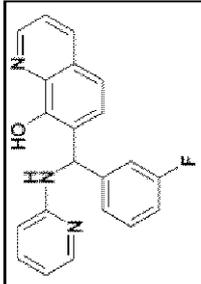
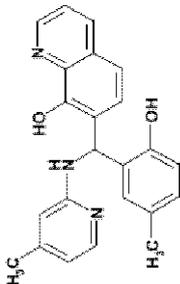
10

20

30

40

【表 4 1】

	10071	-7.67	-52.06	40.85	43.19	7.89/10.78 (1.37)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10938	-6.55	-48.23	40.36	24.99	25.26/22.1 1(0.88)	1NQL - AD4-15 05 LIKE
	11191	-6.54	-51.11	40.32	22.02	5.59/5.53(0.99)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10029	-5.67	-54.36	40.02	35.03	6.46/5.42(0.84)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE

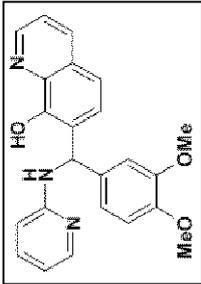
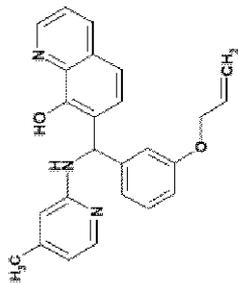
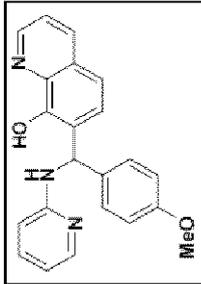
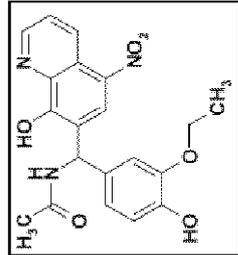
10

20

30

40

【表 4 2】

	10518	-6.07	-48.79	39.93	51.72	6.52/5.43(0.83)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10144	-7.75	-54.81	39.73	21.02	5.67/5.29(0.93)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10524	-5.87	-49.63	38.96	30.44	5.33/5.09(0.95)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10951	-6.02	-44.92	38.95	31.33	5.58/5.44(0.97)		INQL - AD4-15 05 LIKE

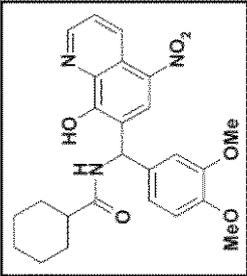
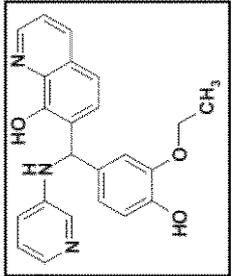
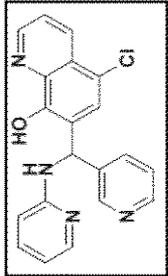
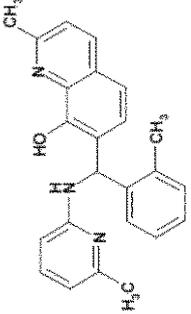
10

20

30

40

【表 4 3】

	10940	-7.1	-52.86	38.28	72.45	13.64/16.57 (1.21) 57% Max	0.336/0.594 (1.77)	INQL - AD4-15 05 LIKE
	10936	-6.55	-52.41	37.96	57	5.43/5.68 (1.05)		INQL - AD4-15 05 LIKE
	10955	-6.87	-49.16	37.33	53.58	5.50/5.36 (0.97)		INQL - AD4-15 05 LIKE
	10026	-5.65	-43.58	37.03	41.06	5.22/5.19 (0.97)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

10

20

30

40

【表 4 4】

	10051	-5.92	-44.03	36.47	NA	0.79/1.42 (1.80)	0.545/0.974 (1.79)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10054	-6.23	-47.03	35.84	NA	5.47/5.46 (1.00)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10049	-5.45	-46.29	35.57	NA	12.18/11.5 (0.94)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	11151	-6.76	-42.93	35.56	45.66	8.25/6.23 (0.76)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10006	-7.36	-53.23	35.13	45.57	11.01/15.1 (1.37)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

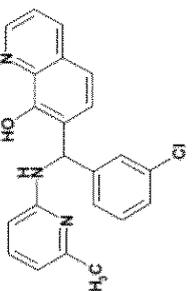
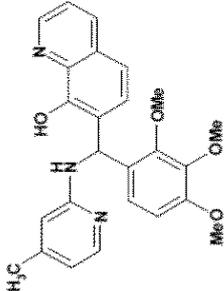
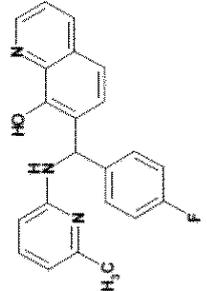
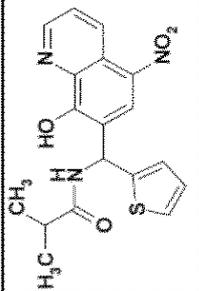
10

20

30

40

【表 4 5】

	10043	-6.25	-45.79	34.63	NA	77% @ 2.6 • μM	5.46/5.29 (0.97)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10031	-7.19	-50.93	34.62	NA	9.39/6.09 (0.65)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10056	-5.88	-49	34.16	44.46	5.38/5.18 (0.96)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10950	-5.09	-38.43	33.87	99.56	0.56/0.95 (1.70)	0.540/0.878 (1.63)	INQL - AD4-15 05 LIKE

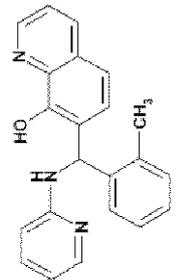
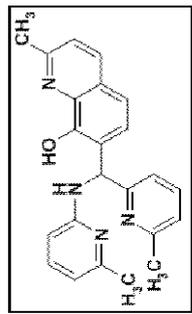
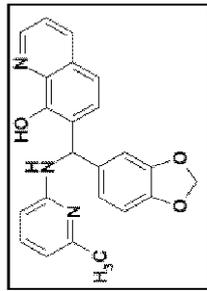
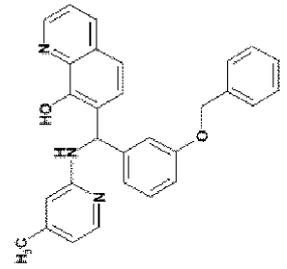
10

20

30

40

【表 4 6】

	10019	-6.92	-42.42	33.75	NA	5.35/5.25(0.98)	4.49/3.2 1(0.71)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10976	-6.08	-41.04	33.22	21.78	25.11/19.6 5(0.78)		1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10487	-7.84	-60.37	33.14	NA	5.51/5.28(0.96)	1.33/0.9 63 (0.72)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10053	-6.44	-56.83	32.85	NA	77% @ 2.6 • μM	3.98/0.4 40(0.11)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE

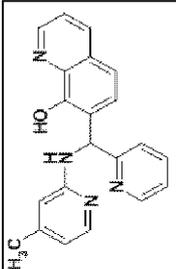
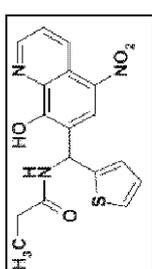
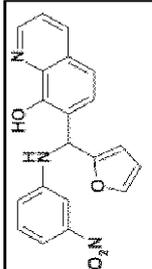
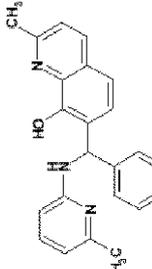
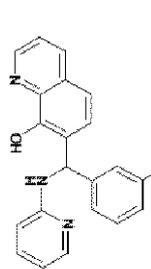
10

20

30

40

【表 4 7】

	10939	-6.15	-37.13	32.68	33.81	5.67/6.78 (1.20)		1NQL - AD4-15 05 LIKE
	10960	-4.84	-36.55	32.5	91.3	0.67/1.02 (1.52)	0.648/0.967 (1.49)	1NQL - AD4-15 05 LIKE
	11056	-5.45	-46.32	32.48	18.32	6.35/5.94 (0.94)		1NQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10037	-5.27	-53.05	32.12	NA	42.99/18.18 (0.42)		1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10050	-6.63	-51.02	32.11	NA	5.39/5.35 (0.97)		1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE

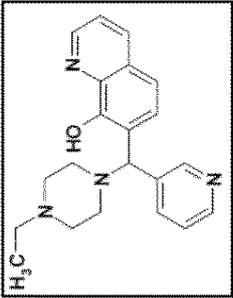
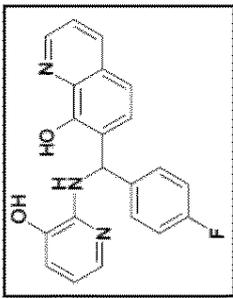
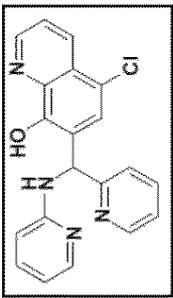
10

20

30

40

【表 4 8】

	10550	-6.49	-42.05	31.84	NA	9.59/7.60(0.79)		AD4-1505 LIKE Dockpharm
	10509	-5.48	-43.38	31.55	NA	1.28/2.05(1.60)	1.25/1.9 5(1.56)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10954	-7.12	-41.92	31.09	NA	1.72/2.29 (1.33)	1.62/2.1 7(1.26)	INQL - AD4-15 05 LIKE

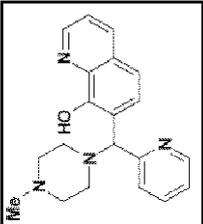
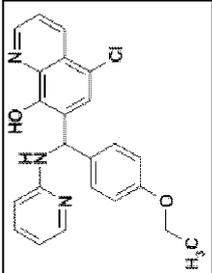
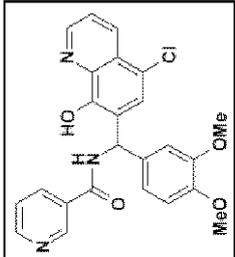
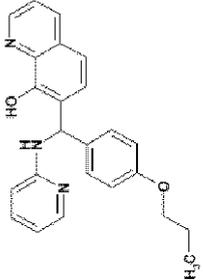
10

20

30

40

【表 4 9】

	10548	-6.74	-34.66	31.03	NA	9.05/8.07 (0.89)		AD4-1505 LIKE Dockpharm
	10953	-7.81	-56.88	30.86	41.04	5.42/5.56 (1.03)		INQL - AD4-1505 LIKE
	10969	-5.36	-54.59	30.17	73.15	77% @ 2.6 μM	0.510/0.520 (1.02)	INQL - AD4-1505 LIKE
	10028	-7.6	-55.04	30.12	NA	5.69/5.38 (0.95)		INQL-Glue - AD4-1505 LIKE

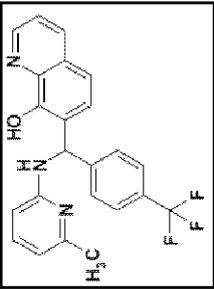
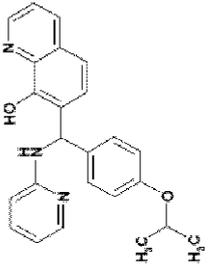
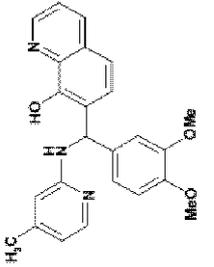
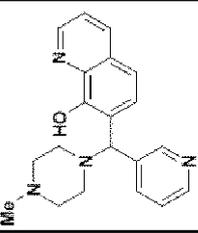
10

20

30

40

【表 5 0】

	10628	-5.3	-50.97	30.02	NA	0.32/0.76 (2.38)	0.311/0.689 (2.22)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10068	-6.52	-53.71	29.92	NA	5.72/5.19 (0.91)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	1969	-6.89	-46.44	29.61	39.58	15.04/13.5 8(0.90)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10551	-7.17	-40.53	29.14	NA	20.06/11.3 7(0.57)		AD4-1505 LIKE Dockpharm

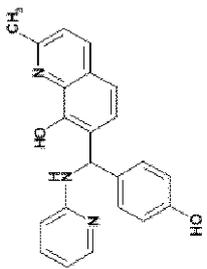
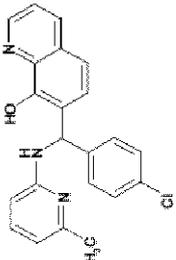
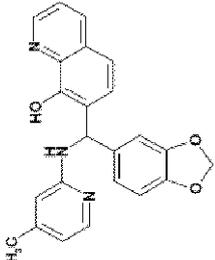
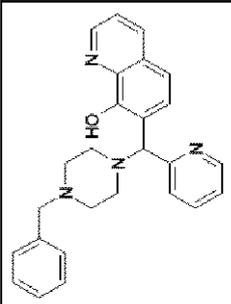
10

20

30

40

【表 5 1】

	1997	-6.28	-41.92	29	NA	46.75/24.3 2(0.52)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10058	-5.22	-46.37	28.52	NA	5.14/5.83(1.13)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10038	-7.89	-56.99	28.31	NA	5.75/5.42(0.94)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10534	-5.52	-39.11	28.31	NA	10.83/9.18 (0.85)	AD4-1505 LIKE Dockpharm

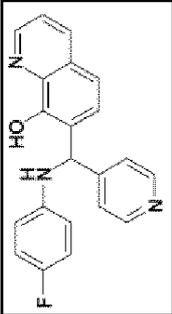
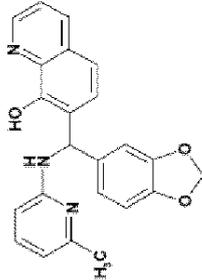
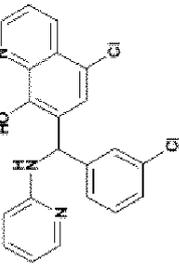
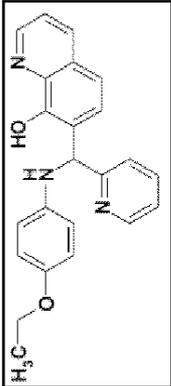
10

20

30

40

【表 5 2】

	11153	-6.23	-42.43	28.24	20.64	13.09/5.58 (0.43)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10055	-5.62	-50.09	28.09	NA	12.05/8.17 (0.68)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10097	-5.42	-44.92	28.02	NA	6.23/6.09(0.98)	1.25/2.0 7(1.66)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	11000	-7.1	-58.19	27.62	NA	11.39/11.2 4(0.99)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG

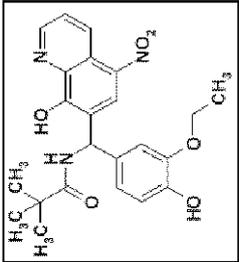
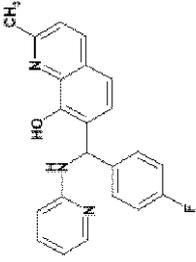
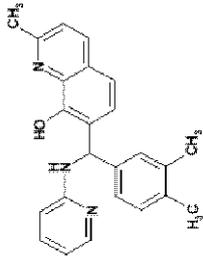
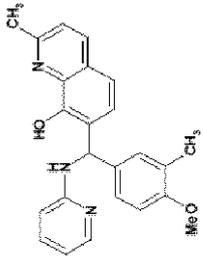
10

20

30

40

【表 5 3】

	10941	-3.24	-45.2	27.61	67.81	5.92/6.05(1.02)	1.12/1.7 5(1.56)	INQL ~ AD4-15 05 LIKE
	10045	-5.39	-38.19	27.22	NA	13.49/9.85 (0.73)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10034	-7.29	-44.28	27.1	NA	12.00/7.16 (0.60)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	1979	-5.27	-41.84	27.02	NA	5.69/5.38(0.95)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

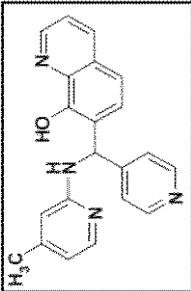
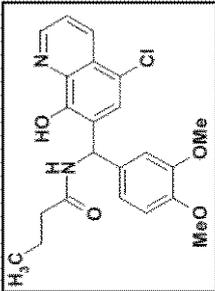
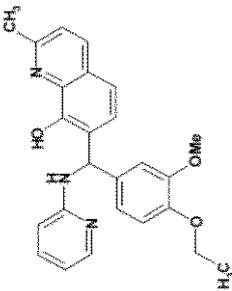
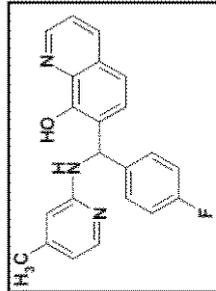
10

20

30

40

【表 5 4】

	10968	-6.1	-39.69	27	NA	11.10/7.84 (0.71)	INQL - AD4-15 05 LIKE
	10949	-6.6	-51.81	26.99	NA	5.63/5.79 (1.03)	INQL - AD4-15 05 LIKE
	1976	-6.61	-43.66	26.91	NA	26.15/13.0 0(0.50)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10522	-6.3	-47.33	26.6	NA	70% @ 2.6 - μM	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

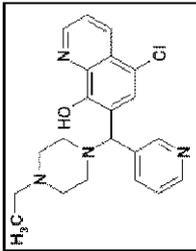
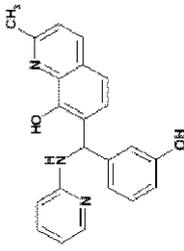
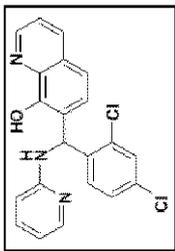
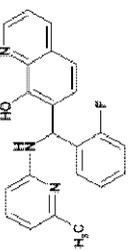
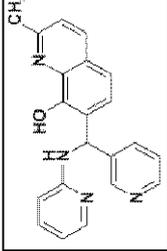
10

20

30

40

【表 5 5】

	10547	-5.84	-49.69	26.4	NA	11.45/5.96 (0.52)		AD4-1505 LIKE Dockpharm
	1970	-6.53	-46.83	26.33	NA	39.71/32.3 5(0.81)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10484	-6.33	-44.93	26.3	NA	0.32/0.85 (2.70)	0.305/0.679(2.12)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10015	-5.49	-41.91	25.99	NA	66% @ 2.6 µM	3.31/3.28(0.99)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10967	-6.84	-44.14	25.98	15.92	46.03/31.0 0(0.67)		INQL - AD4-15 05 LIKE

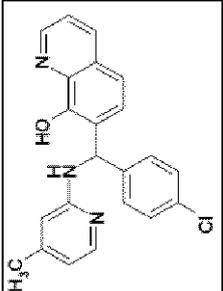
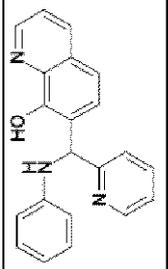
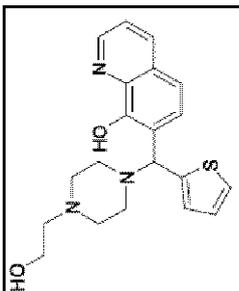
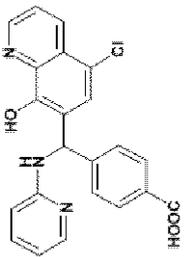
10

20

30

40

【表 5 6】

	10481	-5.95	-50.26	25.82	NA	86% @ 2.6 • μM	0.798/1. 23 (1.54)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	11018	-6.22	-41.05	25.31	21.62	9.11/8.10(0.89)		INQL - AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10546	-5.84	-37.65	25.23	NA	7.03/5.92(0.84)		AD4-1505 LIKE Dockpharm
	10093	-7.27	-48.84	25.13	NA	31.37/21.4 8 (0.68)		INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

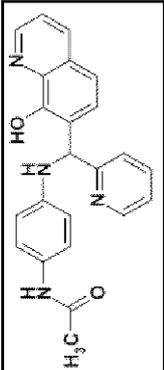
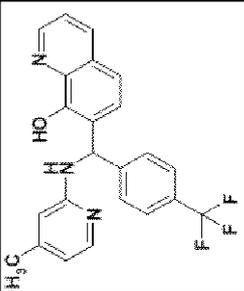
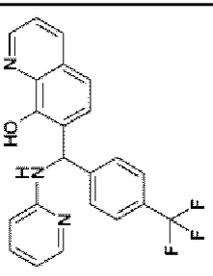
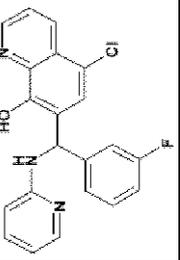
10

20

30

40

【表 5 7】

	11017	-4.62	-51.88	25.07	NA	11.62/9.66 (0.83)		INQL ~ AD4-10 664 LIKE - WA NG
	10486	-5.20	-46.24	25.02	NA	0.29/0.80 (2.76)	0.275/0. 844(3.07)	INQL-Glue ~ A D4-1505 LIKE
	10460	-5.35	-42.22	23.17	NA	0.29/0.53 (1.84)	0.279/0. 375(1.34)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10090	-5.77	-40.23	21.53	NA	5.28/5.62(1.06)	1.76/2.6 0(1.48)	INQL-Glue ~ A D4-1505 LIKE

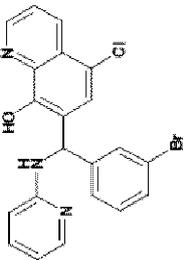
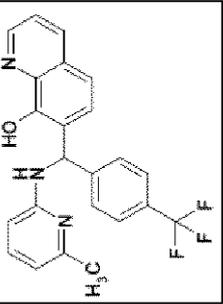
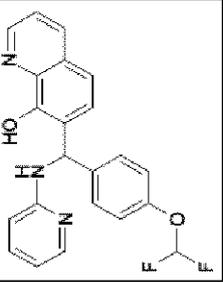
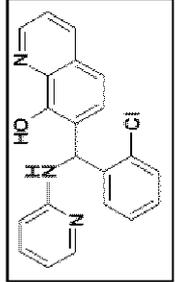
10

20

30

40

【表 5 8】

	10100	-6.90	-50.40	18.12	NA	97% @ 2.6 • μM	1.06/1.7 2(1.62)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10483	-4.93	-49.21	17.58	NA	0.26 / 0.4 9 (1.91)	0.253/0. 481 (1.9 0)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10466	-5.19	-46.73	17.15	NA	0.73/0.95 (1.31)	0.717/0. 775(1.08)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10482	-6.04	-45.24	16.45	NA	81% @ 2.6 • μM	0.356/0. 455 (1.2 8)	1NQL-Glue - A D4-1505 LIKE

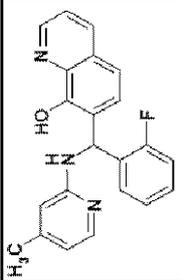
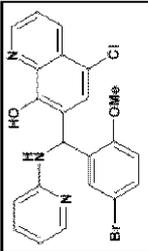
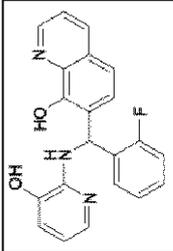
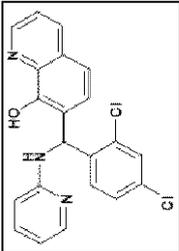
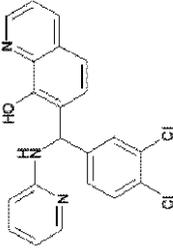
10

20

30

40

【表 5 9】

	10488	-6.05	-49.59	15.95	NA	69% @ 2.6 • μM	1.85/2.2 2(1.20)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10108	-7.89	-56.07	15.91	NA	93% @ 2.6 • μM	1.13/1.7 3(1.53)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10512	-6.70	-45.25	12.86	NA	75% @ 2.6 • μM	0.517/0. 991 (1.9 2)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10046	-5.93	-41.65	12.78	NA	93% @ 2.6 • μM	1.66/3.1 0(1.87)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10109	-6.37	-47.41	12.75	NA	91% @ 2.6 • μM	0.534/1. 38(2.58)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

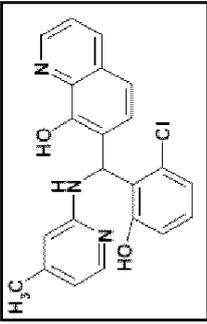
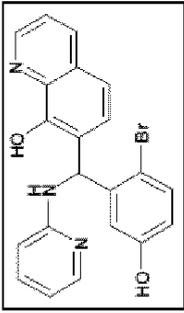
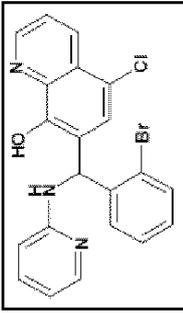
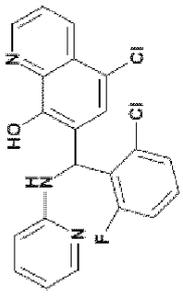
10

20

30

40

【表 6 0】

	10067	-6.31	-53.97	12.5	NA	2.15/3.45 (1.60)	1.38/2.9 5(2.14)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10064	-6.15	-43.64	9.336	NA	86% @ 2.6 • μM	1.56/2.0 1(1.29)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10074	-4.82	-43.45	6.951	NA	89% @ 2.6 • μM	1.38/1.6 0(1.16)	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE
	10105	-5.87	-35.09	3.88	NA	1.29/1.45 (1.12)	0.605/0, 850(1.40) 77% Ma x	INQL-Glue - A D4-1505 LIKE

10

20

30

40

AD4 - 1505 化合物の、AD4 - 1505 類化合物にドッキングされたポーズの二元表示を生成した。化合物AD4 - 1505のEGFRへのドッキングが、例えば、図3Aに記載される。化合物AD4 - 10963 (AD4 - 1505 類化合物)のEGFRへのドッキングが、例えば、図3Bに記載される。化合物AD4 - 10961 (AD4 - 1505 類化合物)のEGFRへのドッキングが、例えば、図3Cに記載される。化合物AD4 - 10945 (AD4 - 1505 類化合物)のEGFRへのドッキングが、例えば、図3Dに記載される。化合物AD4 - 10315 (AD4 - 1505 類化合物)のEGFRへのドッキングは、例えば、図3Eに記載される。化合物AD4 - 10965 (AD4 - 1505 類化合物)のEGFRへのドッキングは、例えば、図3Fに記載される。

【0292】

実施例6：コンビナトリアル実験

ここに開示される種々の化合物の、細胞増殖性アッセイ(MTTアッセイ)にてEGF受容体の機能を阻害することが分かっている数種の化合物との相乗的効果を評価する実験が開始された。これらの化合物はタルセバ、タイケルブ(EGFRおよびHER2チロシンキナーゼの非選択性阻害剤)、イレッサ(EGFRキナーゼの選択的阻害剤)およびエルピタックスに相補的なマウス抗体(クローン225; EGFのEGF受容体との結合を阻害する)を包含する。この仮定の根拠は、AD4化合物がEGFR抗体、エルピタックスとは異なる部位と相互作用し、EGFRキナーゼ阻害剤、タイケルブ、イレッサまたはタルセバとは異なる作用機序を有するとの考えに基づくものである。

【0293】

特記した場合を除き、方法は実施例に従う。

【0294】

既知のEGFR阻害剤、タイケルブ(AD4 - 0003)、イレッサ(AD4 - 0004)、タルセバ(AD4 - 0005)およびクローン225(エルピタックスを誘導)をAD4化合物の固定濃度の不在または存在下で滴定した。EGFRキナーゼ阻害剤およびAD4化合物を必要ならば100% DMSO(AD4 10381についてDMSO + 0.2% TFA)にて予め希釈し、DMEM + BSAへの1/200希釈で望ましい2x最終濃度とした。クローン225を、予備希釈をDMSOよりもDMEM + BSAにて行う以外、同様に希釈した。EGFR阻害剤およびAD4化合物の希釈体を96ウェルプレートにて1:1で混合した。ついで、50µlの混合物を細胞プレートに添加した。

【0295】

クローン225の組み合わせ実験の場合、クローン225(Lab Vision/Thermo Scientific; 番号MS - 269)を1、0.5、0.25、0.125、0.0625および0µg/mlの濃度で試験した。刺激のために使用されたEGFの濃度は10ng/mlであった。タルセバの組み合わせ実験の場合、タルセバを156、63、25、10、4および0nMの濃度で試験した。刺激のために用いられたEGF濃度は5ng/mlであった。タイケルブの組み合わせ実験では、タイケルブは78、31.25、12.5、5、2および0nMの濃度で試験された。刺激のために用いられるEGFの濃度は5ng/mlであった。イレッサの組み合わせ実験の場合、イレッサは156、63、25、10、4および0nMの濃度で試験された。刺激のために使用されたEGF濃度は5ng/ml

【0296】

各実験に使用されるAD4化合物の濃度はグラフおよびデータ表にて提供されている。インジゲータ曲線の左側へのシフトは、AD4 - 化合物の効能の増加を示す。

【0297】

これらの実験にて、単独または固定された一定割合での組み合わせでの、AD4化合物および既知の化合物(例、タイケルブ)を、MTTアッセイにて細胞増殖を阻害するその能力について評価した。これらの実験から、以下の値: AD4化合物単独について、タイケルブ(または他の試験化合物)単独について、および組み合わせされる各化合物についてのIC50値; 拮抗作用または相乗的作用の程度を反映する、組み合わせ指数(CI)(

10

20

30

40

50

以下の表 9 を参照) ; および相乗的組み合わせでの薬物の用量が各薬物を単独で取得した場合と比べて所定の効果レベルでどのくらい減少するかの指数である、用量減少指数 (D R I) が計算された。。

表 9 : 組み合わせ指数

【表 6 1】

KEY:				
Range of CI	Description		Graded Symbols	
< 0.1	Very strong synergism		+++++	
0.1-0.3	Strong synergism		++++	
0.3-0.7	Synergism		+++	
0.7-0.85	Moderate synergism		++	
0.85-0.9	Slight synergism		+	
0.9-1.10	Nearly additive		+/-	
1.10-1.20	Slight antagonism		-	
1.20-1.45	Moderate antagonism		--	
1.45-3.3	Antagonism		---	
3.3-10	Strong antagonism		----	
>10	Very strong antagonism		-----	

10

【 0 2 9 8】

20

結果は次のことを示した。一連の A D 4 - ファルマ (Pharma) 化合物はタイケルブ、イレッサおよびエルピタックスとの相乗的作用を惹起し、細胞増殖アッセイにてそれらの作用を強化する。これらの相乗的作用は用量減少指数、組み合わせ指数および用量応答曲線のシフトにおける有意な変化により明らかにされた。

【 0 2 9 9】

多くの化合物の作用は、その作用が化合物の濃度の増加と共に大きくなるため、正の協同性があるようである。最大の正の協同性を示した化合物は、一般に、高い D R I 値を示した。最大の正の協同性を示す化合物のいくつかはまた、低 C I 値により明らかにされるように、相乗的作用を示す。イレッサおよびタルセバ、E G F R キナーゼのもう一つ別の選択的阻害剤はタイケルブとの相乗的作用を惹起しなかった。同じ標的で作用する化合物 (すなわち、E G F R キナーゼ) は相乗的でなかった。

30

【 0 3 0 0】

用量応答曲線のシフトの一例が図 4 に図示されており、A D 4 - 1 0 6 2 8 はタイケルブおよびイレッサの両方についての用量応答曲線にて左側シフト (より高い効能) を生成した。該効果は化合物のより高い濃度でより明らかであり、正の協同作用が化合物の作用に参与している可能性のあることを示す。

【 0 3 0 1】

より強力ないくつかの化合物の結果を表 1 0 にて要約する。A D 4 - 1 0 6 2 8、A D 4 - 1 5 0 5 および A D 4 - 1 1 5 1 1 は、タイケルブの用量応答曲線にて左側シフト (すなわち、より高い効能) をもたらし、非常に高い D R I 値を示す。E G F R キナーゼ阻害剤についての用量応答曲線にて有意なシフトが得られているが、該 A D 4 化合物ではより高い濃度でより高い段階にある作用が観察されないため、これらの作用は I C 5 0 値 (5 0 % 阻害) での有意なシフトに変換されない。

40

表 1 0 : 5 0 % 作用分析実験の要約

【表 6 2】

Compound	IC ₅₀ Tykerb (nM)	IC ₅₀ Tykerb + Compound (nM)	DRI @ ED97	CI @ ED90
AD4-10628	178	59	126	0.55
AD4-1505	492	116	203	0.10
AD4-11511	189	118	84	0.87
Iressa	307	160	2	1.15
	IC ₅₀ Iressa (nM)	IC ₅₀ Iressa + Compound (nM)	DRI @ ED97	CI @ ED90
AD4-10628	207	93	105	0.91
AD4-1505	78	133	78	0.59
AD4-11511	326	245	96	0.93

10

【0302】

DRI 値を、試験化合物のタイケルブに対する作用について、ならびにタイケルブの試験化合物に対する作用について評価した。一般に、大部分の化合物は、高 DRI で示されるように、タイケルブの作用を強化し、それに対してタイケルブは、通常、試験化合物に対して最小作用を有した。結果として、報告されている DRI は試験化合物のタイケルブに対する作用についてのものである。このことは、最良には、DRI を Fa の関数として、または 5% から 97% の範囲にある % 作用として、プロットすることにより観察され得る（例、図 5 を参照）。AD4-10628 はタイケルブの活性に対して有意な作用を有し、それは活性レベル（または用量）が高くなればなるほど大きくなるのに対して、タイケルブは AD4-10628 に対してあまり効果を有しない（例、図 5 を参照）。表 10 に示されるように、AD4-10628、AD4-1505 および AD4-11511 はすべて、タイケルブおよびイレッサの両方に対して極めて高い DRI をもたらした。

20

【0303】

化合物を合わせた効果が 50%、90%、95% および 97%（すなわち、ED50、ED90、ED95 および ED97）の細胞増殖の阻害をもたらす CI 値を計算した。90% 阻害での CI 値を示すグラフを図 6 に示す。赤線より下の応答（すなわち、CI < 0.9）は相乗的であることを示す。図 6 に示されるように、多数の化合物は相乗的作用を示した。例えば、AD4-10628 および AD4-1505 についての CI 値（表 10 を参照）はタイケルブとの有意な相乗的作用を示した。反対に、AD4-1505 だけが CI 値に基づいてイレッサと相乗的作用を示す。イレッサおよびタイケルブは同様の作用機序を有するため、これら 2 つの化合物の間の相互作用は最低であることが期待される。表 10 に示されるように、イレッサについての DRI および CI 値に基づいて、相互作用はほとんど観察されない。

30

40

【0304】

これらの結果は、AD4 化合物が、EGF 受容体キナーゼまたは EGF 受容体のいずれかとは異なる部位を介して、EGF 受容体介在の細胞増殖に対して有意な作用をもたらすことを示す。さらには、その相乗的作用に基づいて、該化合物は、市販の化合物、タイケルブ、イレッサまたはエルピタックスを治療的により少ない用量で使用しながら、同等または強化された治療的作用を得るための独特な方法を提供する。

【0305】

実施例 7：細胞増殖性アッセイ

以下の実施例は、A549、H1975 および HT-29 細胞に基づく、細胞増殖性アッセイを記載する。A549、H1975 および HT-29 細胞増殖性アッセイは、各々

50

、生存細胞の数を測定するためのMTTアッセイを利用する。細胞増殖性アッセイは、化合物が癌細胞増殖に対しての作用を有するか、有しないを決定するのに利用され得る。最初に、MTTアッセイを記載し、つづいてA549、H1975およびHT-29細胞増殖性アッセイを記載する。この実施例では、細胞増殖性アッセイの各々の暫定的結果が、後記する化合物のさらなる試験結果と一緒に報告されている。

【0306】

MTTアッセイ.

【0307】

細胞増殖はMTTアッセイを用いて測定された。MTT細胞増殖性アッセイは、生存細胞のミトコンドリアによる、テトラゾリウム成分(MTT)の不溶性ホルマジン生成物への還元を測定する、比色分析アッセイシステムである。細胞をMTT試薬と一緒にインキュベートした後、DMSOを添加して、着色した結晶を溶かし、サンプルを560nmの波長で読み取った。生成した色相の量を生存細胞の数と比例関係にある。

10

【0308】

3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド(MTT)染料(Aesar、カタログ番号L11939)をPBS中で5mg/mlで調製した。各ウェルに、20μlのMTT溶液を従来の培地に加え、室温で穏やかに5分間振とうしながら十分に混合した。プレートを37℃、5%CO₂で約2時間混合した。2-3時間インキュベートした後、培地を吸引し、プレートを軽く押さえて水分を取った。200μl/ウェルの100%DMSO(Sigma、カタログ番号472301)を添加した。プレートを37℃、5%CO₂で10分間インキュベートし、室温で穏やかに5分間振とうしながら十分に混合したプレートをPolarStarプレートリーダーで560nmで読み取った。パーセント(%)阻害は、 $100\% - (OD_{560nm} \text{での実験値} - \text{ブランク値}) \times 100\% / OD_{560nm} \text{での対照値} - \text{ブランク値}$ として計算された。ブランク = ウェル + 血清不含培地 + 0.5%DMSO; 実験 = ウェル + 細胞 + 処理 + 0.5%DMSO; 対照 = ウェル + 細胞 + 0.5%DMSO。IC₅₀値は非線形回帰曲線適合法を用いてGraphPad Prismにて計算した。すべての統計的分析はGraphPad PrismまたはMicrosoft Excelのいずれかで行った。

20

【0309】

A549細胞増殖アッセイ.

30

【0310】

A549細胞増殖アッセイは、化合物の、A549非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株での細胞増殖を阻害する能力を測定する(例、Tangら2008 Br J Cancer 99, 911-922; de La Motte Rouge 2007 Cancer Res 67, 6253-6262; Mageshら2009 Phytother Res 23, 1385-1391を参照)。簡単には、化合物を96-ウェルプレートに配置した細胞に添加する。細胞をMTT処理の前に72時間増殖させる。化合物の細胞増殖に対する効果をGraphPad Prismを用いて分析する。

【0311】

A549細胞は、野生型EGFRおよびp53を有する非小細胞肺癌細胞株であるが、KRAS遺伝子にて点突然変異を有し、それを癌遺伝子に形質転換する。A549細胞の増殖を阻害する化合物は肺癌患者のための可能性のある治療的処置として供される。これらの新規な化合物は単独でまたは従来の分子との組み合わせにて使用され、相乗的効果の組み合わせを生成し得る。

40

【0312】

A549細胞増殖アッセイの場合、1日目に、A549細胞(ATCC、カタログ番号CRL-185、ロット番号7502546)を、8,000細胞/ウェルで、0%ウシ胎仔血清(FBS)(Hyclone、カタログ番号SH30071.03、ロット番号ATB31500)、1%Pen Strep(Gibco、カタログ番号15140)および1%L-グルタミン(Gibco、カタログ番号25030)を含有する200μlの培地の、96ウェルの組織培養処理のプレート(BD、カタログ番号353916)に播種した。プレートを組織培

50

養インキュベーター中37℃、5%CO₂、85%湿度で一夜インキュベートした。2日目に、化合物の溶液を200xで調製した。200μlの培地に、1μlの200xの化合物を100%DMSOで希釈し、0.5%の最終DMSO濃度とした。プレートを72時間インキュベートし、それをMTT(上記したとおり)で分析した。各処理より生成されるIC50値は細胞の生存能を半分だけ(すなわち、最大生存能力の50%)減少させるのに必要な薬物の濃度をいう。

【0313】

A549細胞増殖アッセイにおける暫定的結果は、化合物がMTTアッセイを用いてA549NSCLC細胞株にて細胞増殖を阻害したことを示した(例、図9を参照)。A549細胞増殖アッセイは化合物の細胞増殖を阻害する能力を容易に区別する。この実験において、最も強力な化合物と最も弱い化合物の間の違いは100倍以上あった。

10

【0314】

H1975細胞増殖アッセイ。

【0315】

A549細胞増殖アッセイは、化合物の、H1975細胞にて細胞増殖を阻害する能力を測定する(例、Naumovら2009 Clin Cancer Res 15, 3484-3494)。簡単には、化合物を96-ウェルプレートに置かれた細胞に加える。細胞をMTT処理の前に72時間増殖させる。化合物の細胞増殖に対する効果をGraphPad Prismを用いて分析する。

【0316】

H1975細胞は、タルセバなどのEGF受容体阻害剤に耐性とする変異を進展させる、非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株である。H1975細胞の増殖を阻害する化合物は、タルセバまたは他のEGF受容体阻害剤に対する耐性を進展させた肺癌患者の治療的処置の可能性として供される得る。

20

【0317】

H1975細胞増殖アッセイの場合、1日目に、H1975細胞を2000細胞/ウェルで5%ウシ胎仔血清(FBS)(Hyclone、カタログ番号SH30071.03、ロット番号ATB31500)、1%Pen Strep(Gibco、カタログ番号15140)および1%L-グルタミン(Gibco、カタログ番号25030)を含有する200mlの培地での96ウェル組織培養処理のプレート(BD、カタログ番号353916)に播種する。プレートを37℃、5%CO₂で一夜インキュベートした。2日目に、化合物の溶液を200xで調製した。200μl培地に、1μlの200x混合物を100%DMSOで希釈し、0.5%の最終DMSO濃度とした。プレートを37℃、5%CO₂で72時間インキュベートし、それをMTT(上記したとおり)で5日目に分析した。各処理より生成されるIC50値は細胞の生存能を半分だけ(すなわち、最大生存能力の50%)減少させるのに必要な薬物の濃度をいう。

30

【0318】

H1975細胞増殖アッセイでの暫定結果は、化合物で処理した後に72時間培養した細胞の生存能における化合物のAD4-10460の作用を示した(例、図10を参照)。H1975細胞増殖性アッセイによれば、AD4-10460についてのIC50値は0.3μM(図10からの最大適合値:最低値0.3898、最大値3.692、対数IC50-6.517、HillSlope-1.931、IC50 3.039e-007、Span 3.302)であった。

40

【0319】

HT-29細胞増殖アッセイ

【0320】

HT-29細胞増殖アッセイは、化合物の、HT-29細胞における細胞増殖を阻害する能力を測定する(例、Zhangら2006 Worl J Gastroenterol 12, 3581-3584; Tangら2007 Postgrad Med J 83, 338-343)。簡単には、化合物を96-ウェルプレートに置いた細胞に添加する。細胞を72時間増殖させ、MTT処理に付す。化合物の細胞増殖に対する効果をGraphPad Prismを用いて分析する。

50

【0321】

HT-29細胞は、化合物の、結腸の腫瘍における細胞の増殖を阻害する能力を評価するのに利用される結腸癌細胞株である。

【0322】

HT-29細胞増殖性アッセイの場合、1日目に、HT-29細胞を3000細胞/ウェルで10% FBS、1xPen Strepおよび1xL-グルタミンを含有する100μlの培地での96ウェル組織培養処理のプレートに播種する。プレートを37℃、5%CO₂、85%湿度で、組織培養インキュベータ中、一夜インキュベートした。2日目に、完全培地を2.5% FBS (180μl/ウェル) 含有の培地と置き換えた。化合物の溶液を調製した(400x、100% DMSO)。200μl培地に、20μlの5x化合物(ブレイン培地で希釈)を添加し、0.5%の最終DMSO濃度とした。プレートを37℃、5%CO₂で、85%湿度にて72時間インキュベートした。5日目に、プレートをMTTアッセイを用いて細胞増殖について分析した。各処理より生成されるIC50値は細胞の生存能を半分だけ(すなわち、最大生存能力の50%)減少させるのに必要な薬物の濃度をいう。

10

【0323】

HT-29細胞増殖アッセイにおける暫定的結果は、HT-29細胞株における細胞密度およびウシ胎仔血清の効果を示した(例、表11、表12を参照)。結果は5%濃度のFBSを用いる5000細胞/ウェルが、常に、3種のEGF受容体キナーゼ阻害剤-タイケルブ、イレッサおよびタルセバでの優れた結果が得られることを示した(例、表11を参照)。

20

表11: HT-29細胞増殖アッセイの結果

【表63】

	5% Serum		10% Serum	
	2,500 cells/well	5,000 cells/well	2,500 cells/well	5,000 cells/well
Tykerb	5.0 μM	5.1 μM	8.5 μM	9.2 μM
Tarceva	37 μM	12 μM	No Effect	No Effect
Iressa	17 μM	18 μM	20 μM	21 μM

30

【0324】

さらには、表12に示されるように、HT-29細胞を48または72時間インキュベートすると、タイケルブまたはタルセバについてのIC50値には違いはなかった。

表12: HT-29細胞増殖アッセイにおけるインキュベーション時間の比較

【表64】

	48 hours		72 hours	
	2.5% serum	5.0% serum	2.5% serum	5.0% serum
Tykerb	2.7 μM	4.4 μM	2.3 μM	4.2 μM
Tarceva	12.0 μM	28 μM	15 μM	24 μM

40

【0325】

EGF受容体キナーゼ阻害剤、タイケルブおよびタルセバについて、HT-29細胞増殖アッセイを用いる用量応答曲線が図11に示されている。タイケルブおよびタルセバについてのIC50は、各々、2.7μMおよび12μMとして計算された。

【0326】

AD4-1505類シリーズの化合物は、肺および結腸癌細胞を含む、数種の異なる臓器からの癌細胞の増殖を阻害する。実験により、この化学シリーズの化合物がA549非

50

小細胞肺癌（NSCLC）細胞、H1975 NSCLC細胞（EGF受容体キナーゼ阻害剤、タルセバに耐性である細胞）、およびHT-29結腸癌細胞にて細胞増殖を阻害すること明らかになる。表13は、A549細胞増殖アッセイにて200 nMよりも小さいIC₅₀を有するこれらの化合物の要約を提供する。

表13：細胞増殖データ

【表65】

Compound	IC ₅₀ Value (μM)		
	A549 Cells	H1975 Cells	HT-29 Cells
AD4-12955	0.17	0.5	
AD4-13023	0.17	0.61	
AD4-13028	0.14	0.26	
AD4-13030	0.17	0.22	
AD4-13031	0.12	0.24	
AD4-13032	0.17	0.21	
AD4-13033	0.13	0.23	
AD4-13024	0.18	0.63	
AD4-13041	0.11	0.17	1.1
AD4-13042	0.11	0.13	1.3
AD4-13046	0.16	0.12	
AD4-13048	0.18	0.17	
AD4-13052	0.13	0.24	
AD4-13053	0.18	0.18	
AD4-13060	0.19	0.58	
AD4-13072	0.15	0.29	
AD4-13081	0.17	0.33	6.2
AD4-13085	0.14	0.15	11
AD4-13086	0.16	0.15	1.2

10

20

30

【表 6 6】

AD4-13090	0.16	1.3	3.7
AD4-13092	0.16	0.21	3.9
AD4-13095	0.11	0.44	5.4
AD4-13108	0.14	0.3	3.3
AD4-13111	0.14	0.37	8.9
AD4-13119	0.18	0.12	1.5
AD4-13121	0.18	0.33	1.8
AD4-13123	0.12	0.36	1.3
AD4-13124	0.10	0.97	1.5
AD4-13130	0.12	0.088	0.64
AD4-13131	0.10	0.10	0.92
AD4-13132	0.17	0.31	1.6
AD4-13134	0.19	0.12	1.2
AD4-13135	0.18	0.21	0.79
AD4-13137	0.16	0.12	0.78
AD4-13138	0.17	0.30	1.1
AD4-13141	0.19	0.26	2.6
AD4-13142	0.14	0.95	3.1
AD4-13143	0.13	0.13	1.1
AD4-13145	0.16	1.7	2.1
AD4-13146	0.14	0.24	2.0
AD4-13147	0.11	0.29	0.77
AD4-13148	0.13	0.31	1.1
AD4-13150	0.14	0.45	1.9
AD4-13153	0.19	0.19	0.79
AD4-13154	0.17	0.15	0.76
AD4-13159	0.11	0.13	1.2
AD4-13165	0.16	0.14	5.0
AD4-13167	0.10	0.31	1.5
AD4-13172	0.14	0.15	1.3
AD4-13175	0.17	3.8	2.0
AD4-13177	0.14	0.27	1.5
AD4-13178	0.084	0.19	0.79
AD4-13179	0.14	0.14	4.1
AD4-13180	0.10	0.86	1.7
AD4-13181	0.12	0.58	2.2

10

20

30

40

【表 6 7】

AD4-13182	0.19	1.8	8.3
AD4-13184	0.11	0.24	2.2
AD4-13185	0.18	0.23	1.2
AD4-13187	0.15	0.26	1.3
AD4-13188	0.14	0.28	0.86
AD4-13192	0.15	0.19	2.2
AD4-13199	0.12	0.16	0.75
AD4-13202	0.090	0.72	2.3
AD4-13204	0.19	1.4	4.5
AD4-13206	0.074	0.36	2.1
AD4-13209	0.17	0.14	2.3
AD4-13211	0.082	0.16	2.0
AD4-13212	0.13	0.16	3.5
AD4-13213	0.16		5.4
AD4-13215	0.16		0.97
AD4-13216	0.12		1.6
AD4-13217	0.12		0.96
AD4-13218	0.086		0.92
AD4-13220	0.12		3.3
AD4-13223	0.11		2.5

10

20

【0327】

表 1 3 に示されるように、このシリーズからの最も強力な化合物は A 5 4 9 または H 1 9 7 5 細胞にて、I C 5 0 が 1 0 0 n M 以下の、細胞増殖を阻害する。これらの化合物は A D 4 - 1 3 1 2 4、A D 4 - 1 3 1 3 0、A D 4 - 1 3 1 3 1、A D 4 - 1 3 1 7 8、A D 4 - 1 3 2 0 2、A D 4 - 1 3 2 0 6、A D 4 - 1 3 2 1 1 および A D 4 - 1 3 2 1 8 を包含する。

30

【0328】

A 5 4 9 および H 1 9 7 5 細胞における細胞増殖性アッセイの結果に基づいて、この化学シリーズの化合物は非小細胞肺癌の処理について治療的利益を有すると期待される。これらの化合物はまた、タルセバなどの E G F 受容体キナーゼ阻害剤に対して耐性である、H 1 9 7 5 細胞にて細胞増殖を阻害するのに効果的でもあるため、これらの化合物はタルセバに対してもはや反応性でない N S C L C の処理にて治療的利益を有する期待される。さらには、このシリーズからの化合物は、H T - 2 9 細胞における細胞増殖を阻害する能力に基づいて、結腸癌にて治療的利益を有し得る。

【0329】

実施例 8 : アポトーシスアッセイ

40

以下の実施例は、カスパーゼ 3, 7 アッセイ、D N A 断片化アッセイ、およびアネキシン V アッセイを含む、細胞アポトーシスアッセイを示す。癌細胞の増殖または成長を阻害することに加えて、もう一つ別の望ましい活性はアポトーシス、または細胞死を誘発する化合物の能力である。A D 4 - 1 5 0 5 類シリーズの化合物のアポトーシスを誘発する能力は 3 種の異なるアッセイ : A 4 3 1 細胞でのカスパーゼ 3, 7 活性の誘発 ; A 5 4 9 細胞での D N A 断片化の誘発 ; および A 5 4 9 細胞におけるアネキシン V 発現の誘発、にて同定された。各細胞アポトーシスアッセイの暫定的結果をこの実施例にて後記される化合物のさらなる試験と共に報告する。

【0330】

カスパーゼ 3, 7 アッセイ

50

【 0 3 3 1 】

カスパーゼ 3, 7 アッセイは、化合物の、細胞アポトーシスの初期のインジケーターである、カスパーゼ 3, 7 活性誘発能を測定する (例、Garcio-Calvoら1999 Cell Death Differ. 6, 362-369 ; NicholsonおよびThornberry 1997 Trends Biochem. Sci. 22, 299-306 ; Thornberryら1997 J. Biol. Chem. 272, 17907-17911 ; ThornberryおよびLazebnik 1998 Science 281, 1312-1316 ; Bayascasら2002 Cell Death Differ. 9, 1078-1089 ; Leら2002 Proc. Natl. Acad. Sci USA 99, 15188-15193 ; Mooneyら2002 Br. J. Cancer 87, 909-917 ; Karvinenら2002 J. Biomol. Screening 7, 223-231 ; Gopalakrishnanら2002 , J. Biomol. Screening 7, 317-323 ; Preaudatら2002 J. Biomol. Screening 7, 267-274 ; Zhangら1999 J. Biomol. Screening 4, 67-73 ; Farfanら2004 Cell Notes 10 15-17 ; LarsonらおよびWorzella 2005 Cell Notes 12, 13-16 ; Weisら1995 Exp. Cell Res. 219, 699-708 ; Schlegelら1996 J. Biol. Chem. 271,1841-1844を参照)。次に記載されるように、カスパーゼ 3, 7 アッセイはPromega Caspase-Glo 3 / 7 アッセイキット (カタログ番号 G 8 0 9 2) を用いる。

10

【 0 3 3 2 】

Caspase-Glo (登録商標) 3 / 7 アッセイは、精製された酵素調製物あるいは接着細胞または懸濁細胞の培養基にて、カスパーゼ - 3 および - 7 の活性を測定する発光アッセイである。該アッセイは、テトラペプチド配列、DEVDを含有する、プロルミネセンスカスパーゼ - 3 / 7 基質を用意する。この基質は切断されて、光の生成に用いられるルシフェラーゼの基質、アミノルシフェリンを放出する。Caspase-Glo (登録商標) 3 / 7 試薬はカスパーゼ活性、ルシフェラーゼ活性および細胞溶解のために最適化された。単一のCaspase-Glo (登録商標) 3 / 7 試薬の「add-mix-measure」フォーマットへの添加は細胞溶解を、つづいて基質のカスパーゼ切断および「glow-type」発光シグナルの生成をもたらす。Caspase-Glo (登録商標) 3 / 7 アッセイは、カスパーゼ活性またはアポトーシスのハイスループットスクリーニングを自動的に理想的なものとするのに、複数のウェルのプレートフォーマットで使用するよう設計されている。

20

【 0 3 3 3 】

簡単に言えば、カスパーゼ 3, 7 アポトーシスアッセイは、細胞滴定実験 (384 - ウェルコスター (Costar) プレートにて 1,000、3,000、5,000 および 10,000 細胞 / ウェルで播種された細胞) を行い、化合物の暴露時間を変え (2、4、6 および 24 時間)、および検出試薬を添加した後の読み取り時間を変える (30、60、90、120 および 180 分) ことで有効であった。スタウロスポリンを正対照として用いた。これら実験からの結果は、最適結果が、2000 細胞 / ウェルの密度で播種された細胞を、化合物の存在下で、2 時間インキュベートし、プレートを検出試薬と共に 60 分間インキュベートした後に読み取った場合に得られることを示した。

30

【 0 3 3 4 】

カスパーゼ 3, 7 アッセイの組織培養の部分では、1 日目に、A431 細胞 (ATCC、カタログ番号 CRL - 1555、ロット番号 4323817) を 2,000 細胞 / ウェルで 25 μ l / ウェルで、1%ピリビン酸ナトリウム (Sigma、カタログ番号 S8636)、1%Pen-Strep (Gibco、カタログ番号 15140)、1%L-グルタミン (Gibco、カタログ番号 25030) および 10% FBS (Hyclone、カタログ番号 SH30071.03、ロット番号 ATB31500) を含む DMEM (Cellgro、カタログ番号 10-017-CV) 中、コスター 384 ウェルの組織培養処理されたプレートに播種した。プレートを 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ で一夜インキュベートした。2 日目に、培地をプレートから除去し、25 μ l の FBS を除いた DMEM を添加した。プレートを 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ で一夜インキュベートした。3 日目に、培地を取り除き、FBS 不含で、1 mg / ml の BSA (Sigma、カタログ番号 A3059) を含む DMEM に希釈した 25 μ l の化合物と置き換えた。すべてのウェルにて DMSO (Sigma、カタログ番号 D2650) の最終濃度は 0.5% であった。細胞培養はカスパーゼ 3, 7 アッセイに従った。

40

【 0 3 3 5 】

50

カスパーゼ3,7アッセイの場合、細胞を5.5時間37℃、5%CO₂でインキュベートした。プレートをインキュベータより取り出し、室温で平衡にした。30分後、25 μlのカスパーゼ3/7検出試薬(Promega Caspase-Glo3/7アッセイキット、カタログ番号G8092)を各ウェルに添加した。プレートをスズ箔で覆い、プレート振盪器でスピード4にて3分間振盪した。ついで、該プレートをさらに60分間室温でインキュベートした。PolarStarプレートリーダーを用いて発光を検出した。

【0336】

10 μMタルセバに対するアポトーシス刺激のパーセント(%)は $100 \times ((\text{実験のRLU値} - \text{細胞のみのRLU値}) / (10 \mu\text{MタルセバのRLU値} - \text{細胞のみのRLU値}))$ として計算された。10 μMスタウロスポリンが100%アポトーシスを示す、10 μMスタウロスポリンに対するアポトーシス刺激のパーセント(%)は $100 \times ((\text{実験のRLU値} - \text{細胞のみのRLU値}) / (10 \mu\text{MスタウロスポリンのRLU値} - \text{細胞のみのRLU値}))$ として計算された。統計分析はすべてGraphPad Prismを用いて行った。

10

【0337】

上記されるように、カスパーゼ3,7活性は未処理のA431細胞および3 μMスタウロスポリンで6時間処理した細胞にて、種々の細胞密度で評価した。これらの結果(例、図12を参照)に基づき、2,000細胞/ウェルの細胞密度を選択した。経時変化の実験は、スタウロスポリンによるカスパーゼ3,7誘発についてのシグナルが4または2時間(図示せず)よりも6時間でより大きいことを示した。

20

【0338】

カスパーゼ3,7アッセイを用いるタルセバとの相加作用

【0339】

カスパーゼ3,7アッセイにて、化合物のタルセバとの相加作用と産生する能力を試験した。2000細胞/ウェルでプレートに播いたA431細胞をタルセバ単独(0.5、1、2、4、8または16 μM)、AD4-13192化合物単独(1、2、4、8、16または32 μM)またはタルセバ+AD4化合物(タルセバ/AD4-13192)の存在下でインキュベートした。該アッセイを6時間後に停止し、カスパーゼの存在をPromega Caspase-Glo(登録商標)3/7アッセイを用いて測定した。結果はAD4-13192がタルセバについて相乗的(相加的よりも大きい)効果を生じ、カスパーゼ3,7活性を強化することを示した(例、図13を参照)。

30

【0340】

かくして、カスパーゼ3,7アッセイは、所定の薬物の、カスパーゼ3/7活性、初期のマーカの細胞アポトーシス活性に対する効果を示す。加えて、化合物の相乗性を生成する能力(例、タルセバとAD4-13192)はカスパーゼ3,7アッセイにて容易に検出できる。

【0341】

AD4-1505類シリーズの化合物のいくつかは、A431細胞にて、カスパーゼ3,7活性を誘発し、EGF受容体を過剰発現することが明らかにされた。該化合物の作用を表14にて要約する。

表14: 化合物の、A431細胞での、カスパーゼ3,7活性を誘発する効果

40

【表 6 8】

Compound	% Total Apoptosis		Ability to Synergize with Tarceva
	16 μ M	8 μ M	
Tarceva	43%	26%	
AD4-13072	49%	38%	+++
AD4-13181	47%	43%	++
AD4-13192	32%	29%	+++
AD4-13215	27%	20%	++
AD4-13220	40%	32%	+

10

【 0 3 4 2 】

16および8 μ M濃度の両方で、カスパーゼ3,7活性における増加%が、このアッセイにて使用される対照化合物である、0.5 μ Mのスタウロスポリンのよって産生される最大応答の%として示される(表14を参照)。さらには、化合物は、各々、EGF受容体キナーゼ阻害剤である、タルセバの、カスパーゼ3,7活性の強化により測定されるように、アポトーシスを誘発する能力を、相加作用よりも大きく、強化する(表14を参照)。これらの結果はAD4-1505類シリーズの化合物がタルセバのある型の癌におけるアポトーシスの誘発能を強化しうることを示す。

20

【 0 3 4 3 】

DNA断片化アッセイ。

【 0 3 4 4 】

DNA断片化アッセイは、化合物の、細胞アポトーシスのインジゲータである、DNA断片化を誘発する能力を測定する。2種の異なる形態の真核細胞死は形態学および生化学的基準により：壊死とアポトーシスに分類され得る(Wyllieら1980 Int. Rev. of Cytol. 68, 251-306; DuvallおよびWyllie 1986 Immunol. Today 7, 115-119)。壊死は細胞膜のイオン透過性の増加と関連付けられ；細胞が膨潤し、細胞膜が数分以内に破裂する(浸透圧溶解)。アポトーシスは膜ブレブ形成(zeiosis)、細胞質の凝縮、および内在的エンドヌクレアーゼの活性化により特徴付けられる。このCa²⁺およびMg²⁺依存性ヌクレアーゼは、最もアクセスしやすいヌクレオソーム内のリンカー領域にある二本鎖DNAを切断し、モノ-およびオリゴ-ヌクレオソームを生成する。反対に、該ヌクレオソームのDNAは核となるヒストンH2A、H2B、H3およびH4と密に複合化し、それでエンドヌクレアーゼによる切断から保護される(Burgoyneら1974 Biochem. J. 14, 67-72; Stachら1979 J Neurochem 33, 257-261)。生成されたDNAフラグメントは180bpのサブユニットの別個の集合体であり、フラグメント化されたDNAを抽出および分離した後で、アガロースゲル上で「DNAラダー」として検出される。アポトーシス細胞の細胞質でのモノ-およびオリゴヌクレオソームの富化は、DNA分解が細胞膜崩壊の数時間前に起こることによるものである(DukeおよびCohen 1986 Lymphokine Res. 5, 289-299)。アポトーシスは真核細胞死の最も一般的な形態である。それは(例えば、胚形成の間に)胸腺が変異する間で、好中球多形体の老化にて、および特定の成長因子、IL-2などが除去された後の自己反応性T細胞の欠失と、あるいは生理学的刺激様壊死因子およびグルココルチコイドの添加と、並行して起こる(Scanlonら1989 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 182-186; Arendsら1990 Am. J. Pathol. 136, 593-608)。アポトーシスはまた細胞傷害性Tリンパ球およびナチュラルキラー(NK)細胞(Sanderson 1981 Biol. Rev. 56, 53-196; Wyllie 1987 Int. Rev. Cytol. 17(Suppl.), 755)により、およびイオン化放射(YamadaおよびOhyama 1988 Int. J. Radiat. Biol. 53, 65)およびモノクローナル抗体様抗-Fas(Yoneharaら1989 J. Exp. Med. 169, 1747-1756)および抗-APC-1(Trauthら1989 Science 245, 301-305; Oehmら1992 J. Biol. Chem. 267, 10709-10715)により誘発される。

30

40

50

【0345】

以下に記載のDNA断片化アッセイは、Roche Cell Death Detection ELISAキット（カタログ番号11920685001）を用いる。DNA断片化アッセイは、各々、DNAおよびヒストンに対するマウスモノクローナル抗体を用いる定量的サンドイッチ-酵素-免疫アッセイの原理に基づく。DNA断片化アッセイは、以下の工程を含む：抗ヒストン抗体の吸着によるマイクロプレートモジュールの壁上への固定；インキュベーションバッファー（＝ブロッキング溶液）で処理することによる壁上での非特異的結合部位の飽和化；サンプル中に含まれるヌクレオソームのそのヒストン成分を介する固定化された抗ヒストン抗体との結合；ヌクレオソームのDNA部分と結合する抗-DNA-ペルオキシダーゼ（POD）の添加；洗浄工程による非結合ペルオキシダーゼコンジュゲートの除去；基質としてのABTS（2,2'-アジノ-ジ-[3-エチルベンズチアゾリンスルホナート（6）]）*との免疫複合体中に保持されるペルオキシダーゼの量の測定。

10

【0346】

DNA断片化アッセイの組織培養の部分では、1日目に、A549細胞（ATCC、カタログ番号CCL-185、ロット番号7502546）を10,000細胞/ウェルで、200 μ l/ウェルで、1%ピリピン酸ナトリウム、1%Pen-Strep（Gibco、カタログ番号25030、ロット番号568177）、1%L-グルタミン（Gibco、カタログ番号11920685001）および10%FBS（Hyclone、カタログ番号SH3007103、ロット番号ATB31500）を含むRPMI-1640（Gibco、カタログ番号11875、ロット番号ATB31500）中、96-ウェルの組織培養処理されたプレートに播種した。プレートを37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で一夜インキュベートした。2日目に、培地をプレートから除去し、5%FBS含有の160 μ lの培地を加えた。5xの投与濃度で調製された100%DMSOに試験化合物を含有する40 μ lの培地を、次に、DMSOが0.5%の最終濃度で存在する培地に加えた。ついで、細胞を化合物と一緒に37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で24時間インキュベートした。

20

【0347】

DNA断片化アッセイでは、24時間後に、プレートを200xgで10分間遠心分離に付した。ゆっくりと反転させ、ペーパータオルでドロップを受けることで培地を除去した。プレートをゆっくりとタップし、過剰な培地を除去した。200 μ lの溶解緩衝液を各ウェルに加え、300rpmで振盪させ、つづいて室温で30分間インキュベートさせた。プレートを200xgで10分間遠心分離に付し、20 μ lの溶菌上澄をELISA分析用にゆっくりと取り出した。20 μ lの溶菌上澄をストレプトアビジンを被覆したプレートに20 μ lの正対照および20 μ lのインキュベーション緩衝の負対照と一緒に置いた。80 μ lの免疫試薬DNAフラグメント検出液（Roche、カタログ番号11920685001）を各ウェルに添加した。ウェルを吸着剤の箔で覆い、300rpmで2時間室温にて振盪させた。溶液を除去し、各ウェルを300 μ lのインキュベーション緩衝液で3回洗浄した。100 μ lのABTS検出基質（Roche、カタログ番号11920685001）を各ウェルに添加した。該プレートをプレート振盪器を用いて250rpmで約10-20分間インキュベートした。100 μ lのABTB停止緩衝液を添加した。プレートを400および492nmにてPolarStarプレートリーダーで読み取った。細胞基線に対するアポトーシス刺激割合（%）を、 $100 \times \left(\frac{\text{実験の400-492nmでの吸光度} - \text{細胞のみの400-492nmでの吸光度}}{\text{細胞のみの400-492nmでの吸光度}} \right)$ として計算した。1 μ Mスタウロスポリンが100%アポトーシスを示す、1 μ Mスタウロスポリンに対するアポトーシス刺激のパーセント（%）は $100 \times \left(\frac{\text{実験の400-492nmでの吸光度} - \text{細胞のみの400-492nmでの吸光度}}{1\mu\text{Mスタウロスポリンの400-492nmでの吸光度} - \text{細胞のみの400-492nmでの吸光度}} \right)$ として計算された。統計分析はすべてGraphPad Prismを用いて行った。

30

40

【0348】

DNA断片化アッセイを用い、細胞を5,000、10,000および15,000細胞

50

胞/ウェルでプレートした場合に、化合物のアポトーシスを誘発する能力を測定した。加えて、該化合物の効果を6、24および48時間で評価した。対照となる化合物、スタウロスポリンにより得られる結果に基づいて(例、図14A-Cを参照)、10,000細胞/ウェルおよび24時間の処理時間(図14Bを参照)を選択した。

【0349】

DNA断片化アッセイの一連の試験化合物から活性を検出する能力を評価した。AD4-13165、AD4-13176およびAD4-13179を含む数種の化合物は、10 μMの濃度でA549細胞(例、図15を参照)にてアポトーシスを誘発することが明らかにされた。

【0350】

AD4-1505類シリーズのいくつかの化合物は、A549細胞の、非小細胞肺癌細胞株にてDNA断片化を誘発することが分かった。該化合物のデータを表15にて要約する。

【表69】

Compound	Conc.	% Increase over Background	% Increase Relative to Staurosporin
AD4-13123	10 μM	476%	51%
	1 μM	366%	40%
AD4-13130	10 μM	684%	69%
	1 μM	630%	62%
AD4-13134	10 μM	469%	46%
	1 μM	573%	56%
AD4-13137	10 μM	628%	55%
	1 μM	182%	18%
AD4-13147	10 μM	462%	52%
	1 μM	406%	49%
AD4-13161	10 μM	678%	68%
	1 μM	254%	25%
AD4-13164	10 μM	788%	58%
	1 μM	525%	39%
AD4-13165	10 μM	582%	74%
	1 μM	172%	24%
AD4-13172	10 μM	782%	70%
	1 μM	355%	32%
AD4-13178	10 μM	581%	68%
	1 μM	395%	48%
AD4-13185	10 μM	576%	62%
	1 μM	285%	32%
AD4-13187	10 μM	543%	62%
	1 μM	388%	47%
AD4-13192	10 μM	561%	55%
	1 μM	131%	11%
AD4-13199	10 μM	492%	55%
	1 μM	130%	15%
AD4-13224	10 μM	662%	59%
	1 μM	296%	25%
AD4-13225	10 μM	697%	52%
	1 μM	702%	52%

【0351】

結果は、背景技術と比べて、および該アッセイにて使用される対照化合物である、0.5 μMのスタウロスポリンにより産生される最大応答と比較して、該化合物のDNA断片化を増加させる効果を示す(表15を参照)。化合物が、10または1 μMの濃度で、スタウロスポリンに対して、各々、50%または20%のDNA断片化を改善する場合には、該化合物は活性であると考えられた(表15を参照)。これらの結果に基づき、この化学シリーズの化合物は非小細胞肺癌の処置にて治療的利点を有すると期待される。

【0352】

アネキシンVアッセイ

【0353】

10

20

30

40

50

アネキシンVアッセイは、化合物の、細胞のアポトーシスの尺度である、アネキシンV活性を増加させる能力を示す(例、Hotzら 1994 Cytometry 15, 237-244 ; Telfordら 1992 Cytometry 13, 137-143 ; Vermesら 1995 J. Immun. Meth. 184, 39-51を参照)。アポトーシスを測定するアッセイは、化合物が癌細胞にてプログラムされた細胞死を誘発しうかどうかを決定するのに利用される。アネキシンVは、死亡または生存細胞の膜上で発現されるホスファチジルセリンに結合することでアポトーシスを検出するのに使用される蛋白である。F I T Cで蛍光タグ化されると、それは7 - アミノアクチノマイシンDと共同して使用され、フローサイトメトリーを介してアポトーシスを経験している細胞の割合を決定することができる。初期のアポトーシスにある細胞はF I F Cシグナルを発するであろうし、それは最終的には、近赤外7 - A D Dシグナルにより置き換えられ、そのシグナルは壊死による細胞膜浸透性と関連付けられる。

10

【0354】

簡単には、アネキシンVアッセイの場合、化合物は6 - ウェルプレートに置かれた細胞に加えられた。処理された細胞をアネキシンVの存在を検出する蛍光細胞マーカープローブを添加する前の30時間までインキュベートした。アポトーシスおよび壊死を受けている細胞の割合をフローサイトメトリーで決定した。試験化合物は、正対照のカンプトテシンまたはスタウロスポリンに等しい、またはわずかに優れたアポトーシスを誘発した。

【0355】

アネキシンVアッセイの組織培養の部分では、1日目に、A549細胞(ATCC、カタログ番号CRL - 185、ロット番号7502546)を10,000細胞/ウェルで、5% FBS (Hyclone、カタログ番号SH30071.03、ロット番号ATB31500)、1% Pen-Strep (Gibco、カタログ番号15140、ロット番号841383)および1% L - グルタミン (Gibco、カタログ番号25030、ロット番号568177)を含有する2.0 mlの培地の、6ウェルに播種し、組織培養基でプレートを処理した。プレートを37、5% CO₂および85%相対湿度で一夜インキュベートした。2日目に、化合物の溶液(1000x)を調製した。2.0 mlの培地/ウェルに、2 μlの1000xの化合物を加え、100% DMSOにて0.1%の最終濃度のDMSOに希釈した。3日目に、プレートを30時間インキュベートした。30時間後、細胞をPBSで洗浄し、ついで細胞を37で8分間トリプシン処理に付した(CellGro、カタログ番号25 - 0530C1、ロット番号25053253)。細胞を300xgで5分間遠心分離に付すことで集めた。

20

30

【0356】

アネキシンVアッセイでは、細胞ペレットを、0.15 μg / ウェルのアネキシンV F I T C (BioVision、カタログ番号1001 - 200、ロット番号50601)および0.25 μgの7 - A A D (eBioscience、カタログ番号00 - 6993 - 50、ロット番号50601)を補足した500 μlのPBS / 2.5 mM塩化カルシウムに再度懸濁させた。細胞を20分間室温で暗所にてインキュベートし、ついでPBS / CaCl₂で1回洗浄し、500 μlのPBS / CaCl₂、2% v / vホルムアルデヒド (ThermoScientific、カタログ番号28908、ロット番号JG1141272)、0.1% v / v プルロニックF - 68 (MP、カタログ番号2750049、ロット番号821 - 4K)および10 μg / mlのアクチノマイシンD (Acros、カタログ番号294940050、ロット番号A0257010)に再び懸濁させた。再懸濁細胞をフローサイトメトリー分析に付すまで4の暗所にて貯蔵した。

40

【0357】

アネキシンVアッセイのフローサイトメトリー分析の場合、サンプルの獲得はBD Biosciences、San Jose、CAで製造されたBD LSR IIに関するものであった。アネキシンを50 mWのCoherent Sapphire固相CW青色レーザー (Coherent Inc.、Santa Clara、CA)を用いて488 nmの波長で励起させ、530 / 30バンドパスフィルターを用いて集めた。7 - A A Dを50 mWのCoherent Sapphire固相CW黄色レーザーを用いて561 nmで励起させ、放出シグナルを630 / 30バンドパスフィルターを用いて集めた。10,00

50

0 events were collected based on a stopping gate of forward scatter vs side scatter light. 獲得はBD FACS DiVaソフトウェアのバージョン6.1.1で高流速(60 μL/分)でなされた。計算は次のとおりであった: クワドラント3 = 下左側 = 生細胞; クワドラント4 = 下右側 = 初期アポトーシス; クワドラント2 = 上右側 = 後期アポトーシス; クワドラント1 = 上左側 = 死滅細胞である。アポトーシス合計のパーセント(%)は初期(クワドラント4) + 後期(クワドラント2)として計算される。アポトーシスの割合のパーセント(%)は(実験 - 非処理 / 正対照) * 100として計算された。すべての統計学的分析はGraphPad PrismまたはMicrosoft Excelを用いてなされる。

【0358】

アネキシンVアッセイの結果は、アネキシンVの利用、本願発明の化合物のリード分子に対するアポトーシスの可能性を決定するためのフローサイトメトリー方法を示す。AD4化合物は、処理の29時間後に、A549細胞にて対照化合物、カンプトテシンと同等またはより大きな程度でアポトーシスを誘発することが明らかにされた(例、図16Bを参照)。1 μMの濃度で、AD4-13130およびAD4-13185は共に細胞集団の50%より多くの割合にてアポトーシスを誘発する(例、図16Bを参照)。10 μMの濃度で、これらの化合物はまた、細胞集団の20%までの割合にて後期アポトーシスを刺激する(例、図16Bを参照)。AD4-13192は同様であるが、わずかに減少した応答を惹起した(例、図16Bを参照)。

10

【0359】

AD4-1505類シリーズのうちいくつかの化合物は、アネキシンVの、A549細胞、非小細胞肺癌細胞株での発現を誘発することが明らかにされた。該化合物についてのデータを表16にて要約する。

20

表16: 化合物の、A431細胞における、カスパーゼ3,7活性を誘発する効果

【表70】

Compound	Conc.	% Total Apoptosis	% Relative to Reference Cpd.
AD4-13130	10 μM	38%	166%
	1 μM	32%	178%
AD4-13147	10 μM	28%	92%
	1 μM	29%	95%
AD4-13185	10 μM	30%	202%
	1 μM	42%	161%
AD4-13192	10 μM	30%	146%
	1 μM	29%	152%

30

【0360】

結果を、アネキシンVの発現により指示される、初期および後期アポトーシス(すなわち、アポトーシス全体)にある細胞の割合として示し、該化合物の効果を、該アッセイにて使用される対照化合物である、4.0 μMのカンプトテシンまたは1.0 μMのスタウロsporinのいずれかで生成される最大応答と比較した割合として示す(表16を参照)。アポトーシスが全体として20%より多く誘発される場合には、化合物は活性であると考えられた(表16を参照)。これらの結果に基づいて、この化学シリーズにある化合物は非小細胞肺癌の処置にて治療的利点があると考えられる。

40

【0361】

実施例9: 薬物動態

この実施例において、1および5 mg/kgの静脈内および経口用量の、雄のCD-1マウスにて、AD4-13130およびAD4-13192の経口的生体利用能を、各々、調査した。試験化合物の血漿中濃度を、LC-MS/MSにより測定した。データをWinNonlinを用いることで非コンパートメント薬物動態モデルにより分析した。結果を表17にて要約する。

50

表 17 : AD4 - 13130 および AD4 - 13192 についての薬物動態パラメータ
【表 7 1】

Parameter	AD4-13130		AD4-13192	
	i.v.	p.o.	i.v.	p.o.
Cmax (ng/mL)	669	131	3550	59
AUC (hr.ng/mL)	609	278	1387	115
Tmax (hr)	0.083	1.0	0.083	0.5
Clearance (L/hr/kg)	1.64		0.72	
Vd (L/kg)	3.24		0.56	
Half-life (t1/2; h)	1.86		1.47	
BA (%)		10.1		1.7

10

【0362】

1 mg / kg の用量の AD4 - 13130 および AD4 - 13192 を静脈内投与すると、各々、平均 Cmax が 669 ± 45 および 3550 ± 571 ng / mL に達した (表 17)。平均クリアランスおよび分配容量は、AD4 - 13130 について、各々、1.64 L / 時間 / kg および 3.24 L / kg、および AD4 - 13192 について、各々、0.72 L / 時間 / kg および 0.56 L / kg であった (表 17 を参照)。半減期の平均は、AD4 - 13192 および AD4 - 13130 について、各々、1.47 ないし 1.86 時間の範囲と同じようであるらしかった (表 17 を参照)。5 mg / kg で経口投与すると、AD4 - 13130 および AD4 - 13192 は、各々、1 および 0.5 時間で、 131 ± 51 および 59 ± 21 ng / mL の平均 Cmax に達した (表 17 を参照)。試験化合物は共に経口生体利用率 (%) を示した : AD4 - 13130 (10.1) および AD4 - 13192 (1.7) (表 17 を参照)。

20

実施例 10 : 1505 類化合物の構造および機能

【0363】

以下の実施例は、アミノピリジン環およびベンズアルデヒド誘導化環について、安定性、抗増殖活性およびアポトーシスと関連する 1505 類化合物の構造を示す。

30

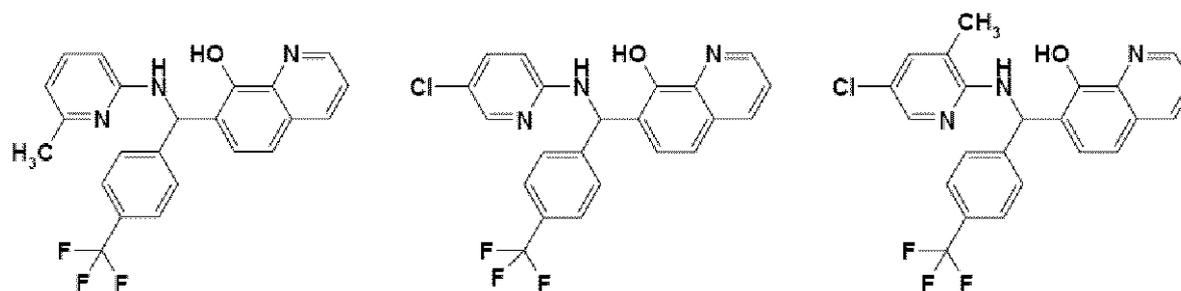
【0364】

アミノピリジン環の安定性

【0365】

ヒドロキシキノリンアナログの安定性を測定した (例、表 18 を参照)。MLM はマウス肝ミクロソームと一緒に 30 分間インキュベートした後に残っている割合を示す。HLM はヒト肝ミクロソームと一緒に 30 分間インキュベートした後に残っている割合を示す。

【化 19】



40

AD4-10628
MLM : 3
HLM : 45

AD4-13053
MLM : 46
HLM : 97

AD4-13041
MLM : 81
HLM : 100

【0366】

50

結果はアミノピリジンの5 - 位での塩素原子による置換により安定性の強化が得られることを示した。アミノピリジンの3 - 位でのメチル基による付加的な置換により、安定性がさらに強化されることを示した。

【0367】

アミノピリジン環の抗増殖活性。

【0368】

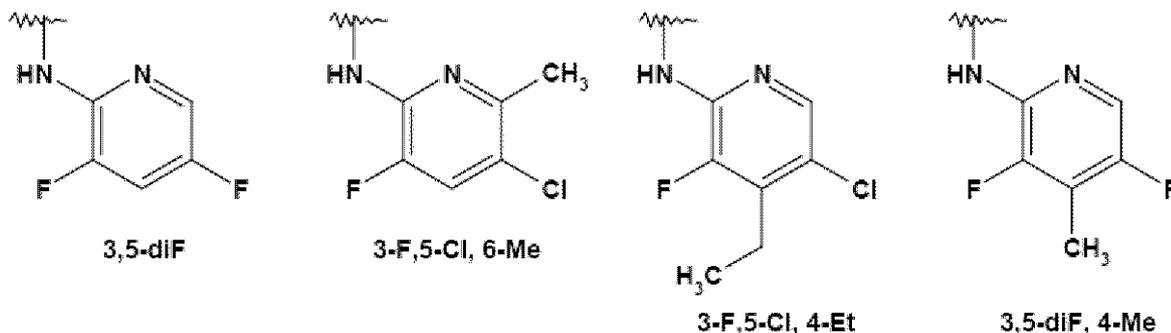
アミノピリジン環上でハロゲンとアルキル基の種々の組み合わせを有する化合物についての抗増殖活性（すなわち、癌細胞のインビトロでの増殖の抑制）を測定した。

【0369】

結果は以下の置換パターンが良好な抗増殖活性を有することを示した：

10

【化20】

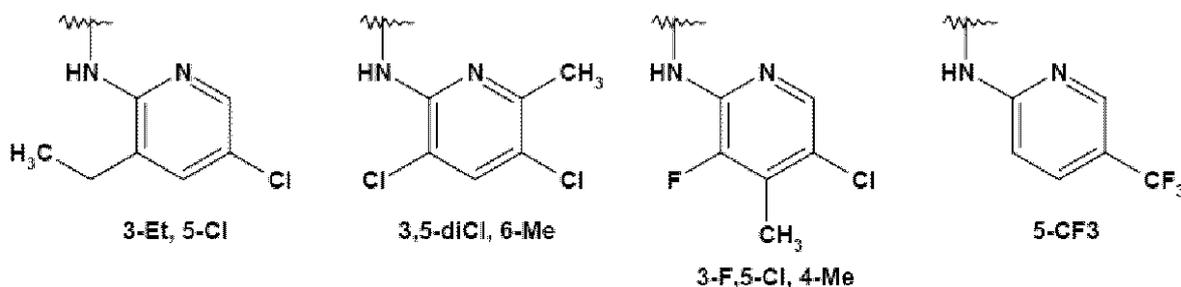


20

【0370】

結果は以下の置換パターンが極めて良好な抗増殖活性を有することを示した：

【化21】

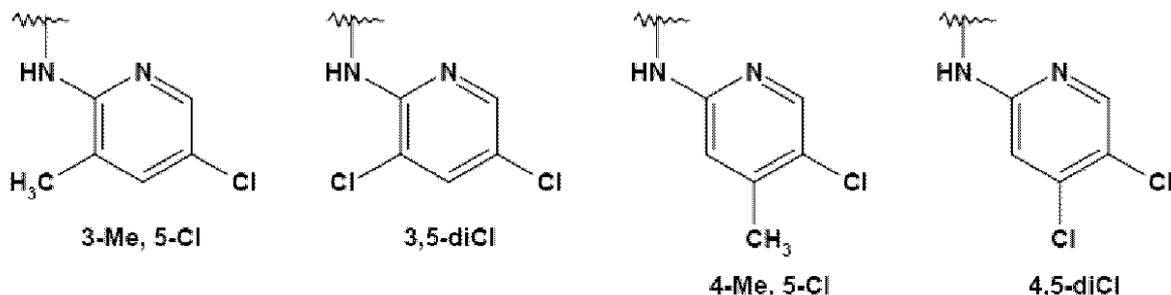


30

【0371】

次の置換パターンが試験した化合物の最高の抗増殖活性を示した：

【化22】



40

【0372】

アミノピリジン環のアポトーシス活性。

【0373】

アミノピリジン環上で置換されている化合物についてのアポトーシス活性（すなわち、カスパーゼ、DNA断片化、アネキシン-V）を測定した。

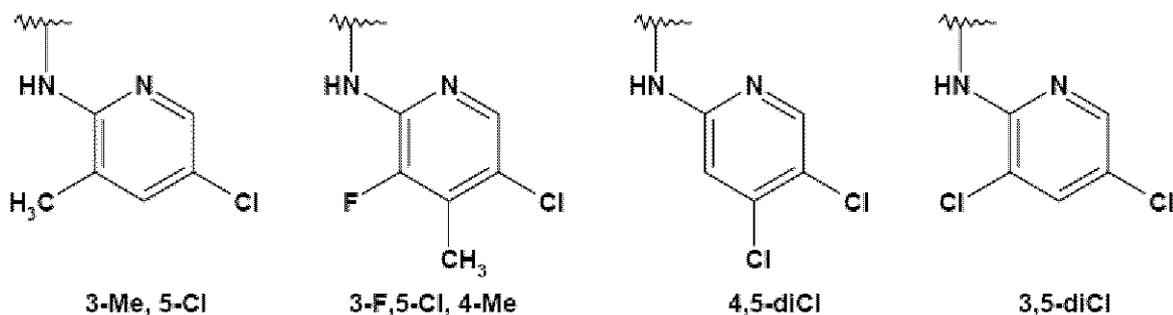
【0374】

結果は、アミノピリジン環の5 - 位にクロロ基を有するアナログおよび3 - または4 - 位に付加的にクロロまたはメチル基を有するアナログがアポトーシスの亢進を示すことを

50

明らかにした。アミノピリジン環の 5 - 位にクロロ基を有し、3 - または 4 - 位に付加的にクロロまたはメチル基を有するアナログの例は：

【化 2 3】



10

を包含する。

【0375】

ベンズアルデヒド誘導化環の安定性

【0376】

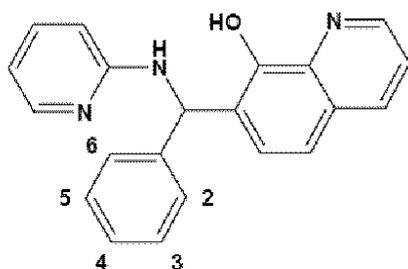
ベンズアルデヒド誘導化環を有するアナログの安定性を測定した（例、表 18 を参照）。MLM はマウス肝マイクロソームと一緒に 30 分間インキュベートした後に残っている割合を示す。HLM はヒト肝マイクロソームと一緒に 30 分間インキュベートした後に残っている割合を示す。

20

【0377】

結果はベンゼン環の 2 - および 4 - 位にある基が肝マイクロソームインキュベーションに対して安定しているアナログを提供することを示した。

【化 2 4】

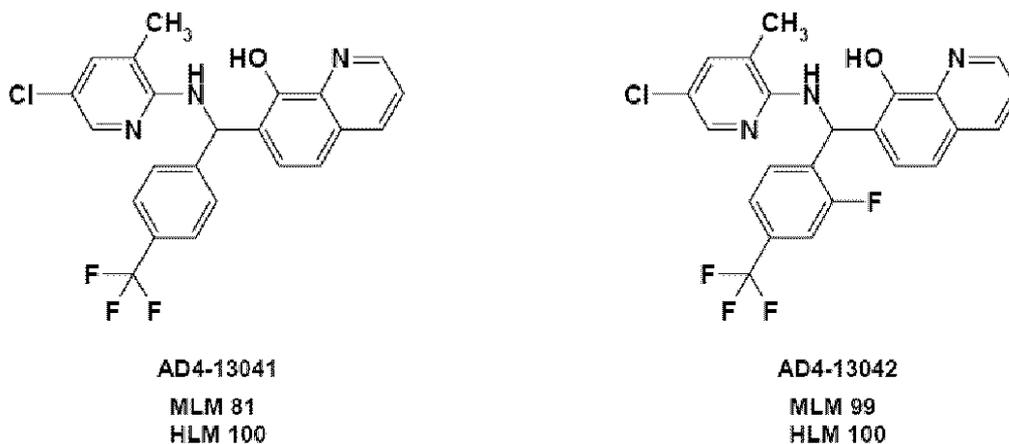


30

【0378】

典型的な結果は次のとおりである：

【化 2 5】



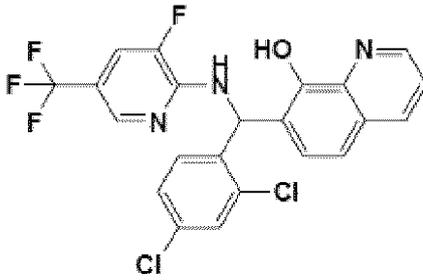
40

【0379】

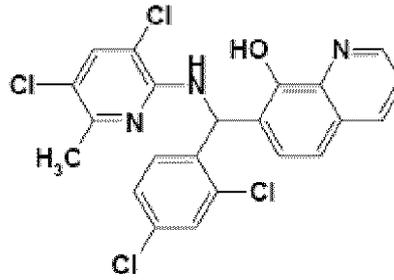
結果はまた、2, 4 - ジクロロ置換パターンが次の AD4 - 13165 および AD4 - 13206 の例により示されるような良好な安定性を提供することを示した：

50

【化26】



AD4-13165
MLM 100
HLM 100



AD4-13206
MLM 93
HLM 99

10

【0380】

ベンズアルデヒド誘導化環の抗増殖活性

【0381】

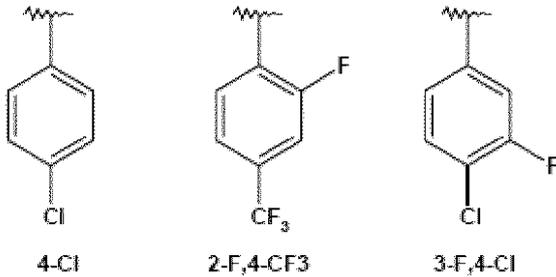
ベンゼン環上でハロゲンとトリフルオロメチル基の種々の組み合わせを有する化合物についての抗増殖活性（すなわち、癌細胞のインビトロにおける増殖の抑制）を測定した。ベンゼン環上の望ましい置換パターンの例が以下に提供される。

【0382】

結果は次の置換パターンが良好な抗増殖活性を有することを示した：

20

【化27】

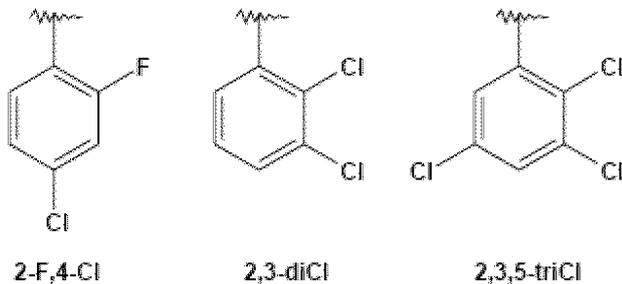


30

【0383】

結果は次の置換パターンが極めて良好な抗増殖活性を有することを示した：

【化28】

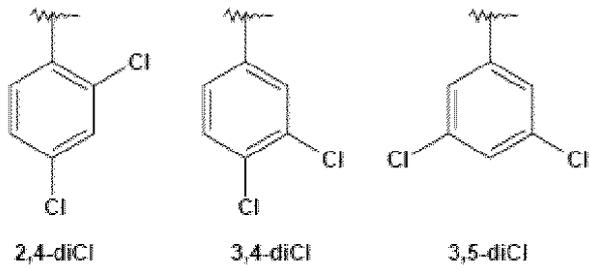


40

【0384】

次の置換パターンが試験した化合物の最高の抗増殖活性を示した：

【化 2 9】



【 0 3 8 5】

10

ベンズアルデヒド誘導化環のアポトーシス活性

【 0 3 8 6】

ベンズアルデヒド環上で置換されている化合物についてのアポトーシス活性（すなわち、カスパーゼ、DNA断片化、アネキシン-V）を測定した。

【 0 3 8 7】

結果は、ベンゼン環の4-位にクロロ基を有するアナログおよび2-または3-位に付加的にクロロまたはフルオロ基を有するアナログがアポトーシスの亢進を示すことを明らかにした。アポトーシス活性の亢進を示すアナログの例はAD4-1313、AD4-13185およびAD4-13178を包含する。

【化 3 0】

20

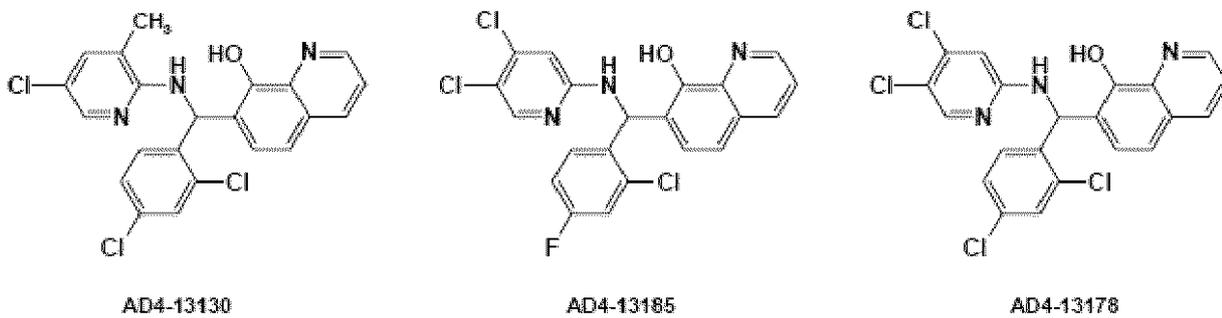


表 1 8 : 化合物の安定性

30

【表 7 2】

Compound	MLM % Remaining@ 30 Min	HLM % Remaining@ 30 Min
AD4-10628	3	45
AD4-11511	6	6
AD4-11601	31	9
AD4-12902	17	72
AD4-12905	23	63
AD4-12907	5	14
AD4-12908	6	48
AD4-12911	17	57
AD4-12912	10	38
AD4-12915	25	71
AD4-12917	11	53
AD4-12918	15	51
AD4-12921	5	9
AD4-12923	10	14
AD4-12924	66	79
AD4-12926	4	4
AD4-12925	5	12
AD4-12903	18	46
AD4-12909	13	50
AD4-12913	41	61
AD4-12916	26	80
AD4-12922	17	9
AD4-13042	99	101

10

20

30

【表 7 3】

AD4-12955	41	61
AD4-12959	15	42
AD4-13022	5	36
AD4-13024	20	47
AD4-13023	60	95
AD4-13041	81	100
AD4-13045	26	77
AD4-13058	60	75
AD4-13043	77	98
AD4-13059	64	92
AD4-13068	46	96
AD4-13053	46	97
AD4-13054	46	80
AD4-13033	84	100
AD4-13031	87	93
AD4-13056	85	88
AD4-13067	46	89
AD4-13076	28	70
AD4-13075	13	64
AD4-13065	47	83
AD4-13063	42	80
AD4-13055	57	100
AD4-13061	58	93

10

20

【表 7 4】

AD4-13106	42	86
AD4-13111	87	92
AD4-13132	66	98
AD4-13131	83	100
AD4-13029	77	76
AD4-13108	25	93
AD4-13130	69	89
AD4-13086	37	72
AD4-13107	28	83
AD4-13095	60	88
AD4-13123	30	84
AD4-13051	40	72
AD4-13122	60	94
AD4-13114	40	99
AD4-13094	52	85
AD4-13143	76	96
AD4-13147	44	98
AD4-13150	85	100
AD4-13153	62	96
AD4-13165	100	100
AD4-13166	71	100
AD4-13172	80	100
AD4-13177	86	86
AD4-13178	83	100
AD4-13185	57	98
AD4-13192	63	100
AD4-13199	63	100
AD4-13200	67	94
AD4-13202	97	100
AD4-13206	93	99

10

20

30

【0388】

実施例 11：中間化合物の合成

以下の実施例は本願明細書に記載の AD4-1505 類化合物の合成に用いられる中間化合物の合成を記載する。

40

【0389】

BBM-001-065

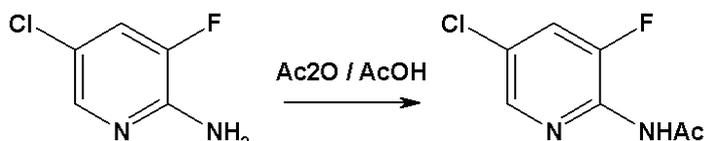
【0390】

2-アミノ-3-フルオロ-4-メチル-5-クロロピリジン(CASで同定されていない)の調製：

【0391】

工程 1：

【化31】



【0392】

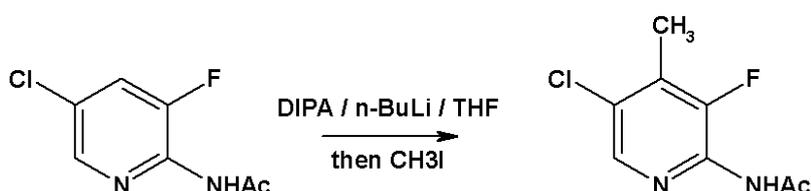
2-アミノ-3-フルオロ-5-クロロピリジン (Wonda Science、カタログ番号 01060、CAS [246847-98-3] ; 14.6 g、0.1 モル) を、少量の FeCl₃ (50 mg) を含む、AcOH (10 g) 中の Ac₂O (15 g) で処理する。該混合物を室温で 3 時間攪拌し、その間に白色固体を形成する。水 (300 ml) を加え、該混合物を室温で 1 時間攪拌する。該混合物を濾過し、固体を水 (3 × 500 ml) で洗浄する。該固体を風乾させ、EtOAc / ヘキサンから再結晶化させ、N-(3-フルオロ-5-クロロ)-2-アセトアミドピリジンを白色固体として得る (融点 165 - 166)。

10

【0393】

工程 2 :

【化32】



20

【0394】

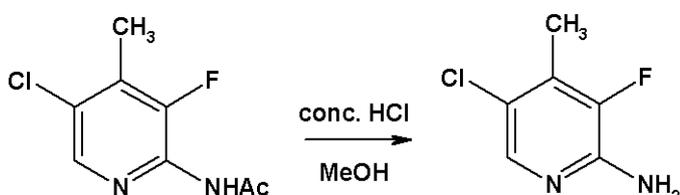
N-(3-フルオロ-5-クロロ)-2-アセトアミドピリジン (14.6 g、0.10 モル) およびジイソプロピルアミン (25.3 g、0.25 モル) を無水 THF (200 ml) に溶かし、攪拌し、ドライアイス-アセトン浴にて -70 に冷却する。n-BuLi (ヘキサン中 2.5 M、100 ml、0.25 モル) を滴下し、内部温度を -60 より下に維持し、その一方で攪拌を 2 時間続ける。ついでヨードメタン (28.4 g、0.20 モル) を滴下する。反応混合物を -60 と -70 の間で付加的に 2 時間攪拌する。NH₄Cl 飽和水溶液をゆっくりと -70 で反応物に添加する。混合物を攪拌し、室温に加温する。該混合物を EtOAc (3 × 100 ml) で抽出し、合わせた有機抽出液を水およびブラインで洗浄し、次に MgSO₄ 上で乾燥させて濾過する。溶媒をロトバップ (rotovap) を用いて蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィーにより精製する。適当なフラクションをロトバップ上で蒸発させ、残渣をヘキサンでトリチュレートして白色固体を形成させる。該固体を濾過し、N-(3-フルオロ-4-メチル-5-クロロ)-2-アセトアミドピリジンを白色固体として得る (融点 124 - 125)。

30

【0395】

工程 3 :

【化33】



40

【0396】

N-(3-フルオロ-4-メチル-5-クロロ)-2-アセトアミドピリジン (13.6 g、0.085 ミリモル) を MeOH (30 ml) に溶かし、濃 HCl (20 ml) で処理する。混合物を攪拌し、還流温度で 4 時間加温する。該混合物を室温に冷却し、溶媒

50

をロトバップを用いて除去する。該残渣に氷および 3 N NaOH を加えて pH を 9 - 10 に調整する。混合物を Et₂O で抽出し、MgSO₄ 上で乾燥させる。溶液を濾過し、溶媒をロトバップ上で除去する。残渣をヘキサン中 10% EtOAc で溶出するフラッシュシリカゲルカラムを用いて精製し、2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン白色固体として得る (融点 136 - 138)。

【0397】

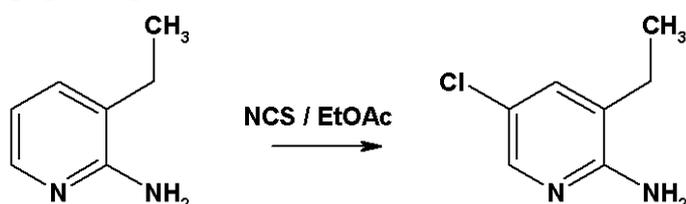
B B M - 0 0 1 - 0 7 2

【0398】

2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン (C A S で同定されていない) の調製 :

【化34】

10



【0399】

2 - アミノ - 3 - エチルピリジン (Wonda Science、C A S [4 2 7 5 3 - 6 7 - 3] ; 12.2 g、0.1 モル) を、10 ml の DMF を含む、500 ml の酢酸エチル中で攪拌することで溶解させる。温度計を該溶液に入れ、温度をモニターする。N - クロロスクシンイミド (13.3 g、0.1 モル) を数回に分けて添加し、該溶液を室温に維持する。該溶液の色相が暗くなり、それを室温で一夜攪拌する。上澄を形成された暗色固体よりデカントし、分離漏斗に移す。有機溶液を 500 ml の重亜硫酸ナトリウム飽和水溶液で、ついで 500 ml のブラインで洗浄する。有機層を MgSO₄ で乾燥させ、ロトバップで濃縮させる。暗褐色粗生成物を 35% EtOAc / ヘキサンで溶出するフラッシュシリカゲル (500 g) 上のクロマトグラフィーに付す。適当なフラクションをロトバップ上で濃縮し、明黄褐色油を得る。該油をヘキサンに溶かし、活性炭を用いて脱色する。該溶媒を - 20 に冷却し、形成する固体を濾過で単離し、生成物をフレーク状の灰白色固体として得る (融点 67 - 68)。

20

【0400】

30

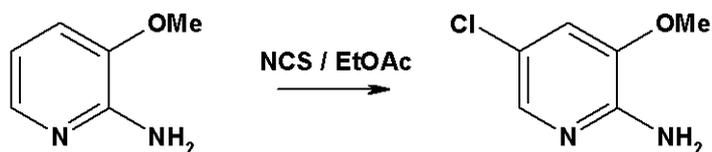
B B M - 0 0 1 - 0 1 1

【0401】

2 - アミノ - 3 - メトキシ - 5 - クロロピリジン (C A S 1 2 4 2 3 3 6 - 5 3 - 3) の調製 :

【化35】

40



【0402】

3 - メトキシ - 2 - アミノピリジン (Wonda Science、カタログ番号 0 1 6 8 3 ; 12.4 g、0.01 モル) を 500 ml の酢酸エチル中に攪拌することで溶解させる。温度計を該溶液中に置き、温度をモニターする。N - クロロスクシンイミド (13.3 g、0.01 モル) を数回に分けて添加し、該溶液を室温で維持する。該溶液の色相が暗くなり、室温で一夜攪拌する。上澄を形成された暗色固体よりデカントし、分離漏斗に移す。有機溶液を 500 ml の重亜硫酸ナトリウム飽和水溶液で、ついで 500 ml のブラインで洗浄する。有機層を MgSO₄ で乾燥させ、ロトバップ上で濃縮させる。暗褐色粗生成物を 30% EtOAc / ヘキサンで溶出するフラッシュシリカゲル (500 g) 上のクロマトグラフィーに付す。適当なフラクションをロトバップ上で濃縮し、明色固体を得る。該固体

50

をヘキサンに懸濁させ、攪拌して濾過し、該生成物を山吹色固体として得る（融点 93 - 94）。

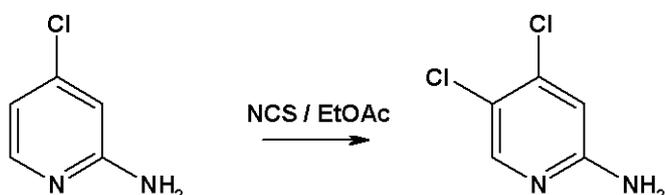
【0403】

BBM - 001 - 049

【0404】

2 - アミノ - 4,5 - ジクロロピリジン (CAS 188577 - 68 - 6) の調製:

【化36】



10

【0405】

4 - クロロ - 2 - アミノピリジン (Matrix Scientific)、カタログ番号 23809 ; 1.29 g、0.01 モル) を攪拌することで 500 ml の酢酸エチルに溶かす。温度計を該溶液に入れ、温度をモニターする。N - クロロスクシンイミド (13.3 g、0.01 モル) を数回に分けて添加し、該溶液を室温に維持する。該溶液の色相が暗くなり、室温で一晩攪拌する。上澄を形成された暗色固体よりデカントし、分離漏斗に移す。有機溶液を 500 ml の重亜硫酸ナトリウム飽和水溶液で、ついで 500 ml のブラインで洗

20

【0406】

BBM - 001 - 074

【0407】

2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジン (CAS で同定されていない) の調製:

30

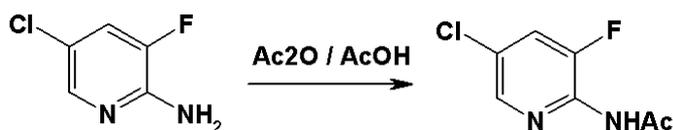
【0408】

工程 1:

【0409】

実施例 BBM - 001 - 065 にて上記されるように

【化37】



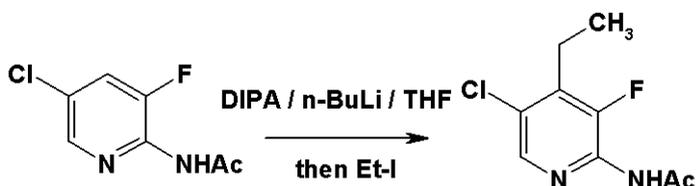
40

を行う。

【0410】

工程 2:

【化38】



50

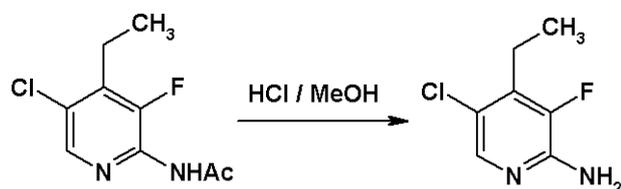
【0411】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 において上記されている方法にて、N - (3 - フルオロ - 5 - クロロ) - 2 - アセトアミドピリジン (1 4 . 6 g 、 0 . 1 0 モル) およびジイソプロピルアミン (2 5 . 3 g 、 0 . 2 5 モル) を合わせ、n - B u L i (ヘキサン中 2 . 5 M 、 1 0 0 m l 、 0 . 2 5 モル) で処理し、ついでヨードエタン (3 1 . 2 g 、 0 . 2 モル) で処理し、N - (3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロ) - 2 - アセトアミドピリジンを白色固体として得た (融点 1 1 2 - 1 1 3) 。

【0412】

工程 3 :

【化 3 9】



10

【0413】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 において上記されている方法にて、N - (3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロ) - 2 - アセトアミドピリジン (1 6 . 0 g 、 0 . 0 9 2 ミリモル) を M e O H (3 0 m l) および濃 H C l (2 0 m l) で処理し、2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジンを白色固体として得た (融点 7 1 - 7 2) 。

20

【0414】

B B M - 0 0 1 - 0 6 4

【0415】

2 - アミノ - 4 - メチル - 3 , 5 - ジフルオロピリジン (C A S で 同 定 さ れ て い な い) の調製 :

【0416】

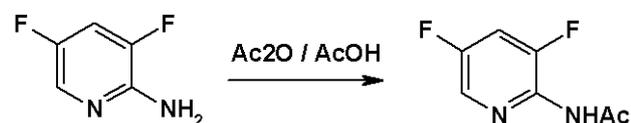
工程 1 :

【0417】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 にて上記されるように

30

【化 4 0】



を行う。

【0418】

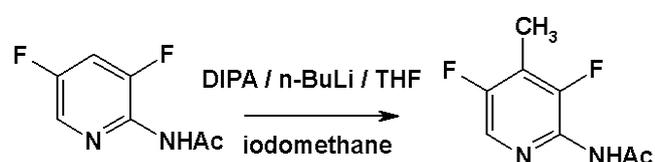
N - (3 , 5 - ジフルオロ) - 2 - アセトアミドピリジンを E t O A c / ヘキサンより結晶化させ、白色固体を単離する (融点 1 4 2 - 1 4 4) 。

40

【0419】

工程 2 :

【化 4 1】



【0420】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 において上記されている方法にて、N - (3 , 5 - ジフ

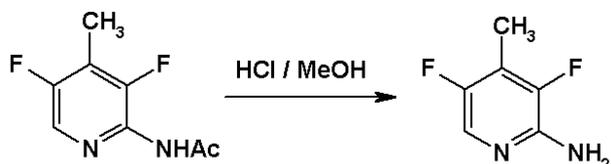
50

ルオロ) - 2 - アセトアミドピリジン (13.0 g、0.10 モル) およびジイソプロピルアミン (25.3 g、0.25 モル) を合わせ、n - BuLi (ヘキサン中 2.5 M、100 ml、0.25 モル) で、ついでヨードメタン (28.4 g、0.20 モル) で処理し、N - (3,5 - ジフルオロ - 4 - メチル) - 2 - アセトアミドピリジンを白色固体として得る (融点 92 - 93) 。

【 0 4 2 1 】

工程 3 :

【 化 4 2 】



10

【 0 4 2 2 】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 において上記されている方法にて、N - (3,5 - ジフルオロ - 4 - メチル) - 2 - アセトアミドピリジン (13.0 g、0.09 モル) を MeOH (30 ml) および濃 HCl (20 ml) で処理し、2 - アミノ - 4 - メチル - 3,5 - ジフルオロピリジンを白色固体として得る (融点 92 - 93) 。

【 0 4 2 3 】

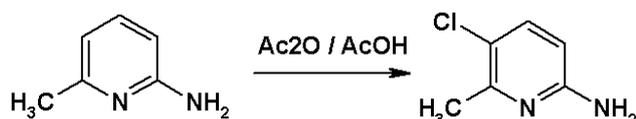
I J T - 0 0 1 - 0 9 0

20

【 0 4 2 4 】

2 - アミノ - 5 - クロロ - 6 - メチルピリジン (C A S 3 6 9 3 6 - 2 3 - 9) の調製 :

【 化 4 3 】



【 0 4 2 5 】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 において上記されている方法にて、2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) を N - クロロスクシンイミドで処理し、2 - アミノ - 5 - クロロ - 6 - メチルピリジンを明黄色固体として得る (融点 73 - 74) 。

30

【 0 4 2 6 】

B B M - 0 0 1 - 0 7 1

【 0 4 2 7 】

2 - アミノ - 5 - クロロ - 3 - メチルピリジン (C A S 1 1 7 3 0 1 9 - 4 5 - 8) の調製 :

【 0 4 2 8 】

実施例 B B M - 0 0 1 - 0 6 5 において上記されている方法にて、2 - アミノ - 3 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.08 g、0.01 モル) を N - クロロスクシンイミドで処理し、2 - アミノ - 5 - クロロ - 3 - メチルピリジンを白色固体として得る (融点 63 - 64) 。

40

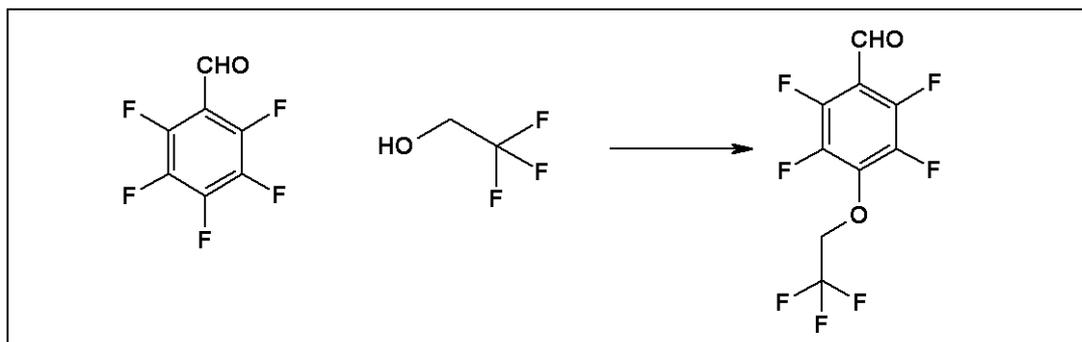
【 0 4 2 9 】

B B M - 0 0 1 - 0 0 9

【 0 4 3 0 】

2,3,5,6 - テトラフルオロ - 4 - (2 ' 2 ' 2 ' - トリフルオロエトキシ) ベンズアルデヒドの調製 :

【化 4 4】



10

【0 4 3 1】

ペンタフルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products、カタログ番号 0 0 2 8 3 5、19.6 g、0.1 モル) および硫酸水素テトラブチルアンモニウム、 $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{SO}_4$ (50 mg、0.0015 モル) を 500 ml の CH_2Cl_2 に溶かす。2,2,2-トリフルオロエタノール (10.0 g、0.01 モル) を添加し、該混合物を攪拌し、氷浴にて冷却する。水酸化ナトリウムペレット (4.0 g、0.01 モル) を 100 ml の水に溶かし、滴下漏斗を用いて該混合物にゆっくりと添加する。該混合物の温度をモニターする。5 未満に維持するように添加速度を調整する。添加終了後、該混合物を 5 でさらに 2 時間攪拌し、ついで分離漏斗に移す。有機層を分離し、 Na_2SO_4 で乾燥させる。溶媒をロトバップを用いて蒸発させ、残りの油を短経路器具を用いて部分的に蒸留させる。沸点が 105 - 108 の範囲にあるフラクションは所望の化合物を含有する。

20

【0 4 3 2】

I J T - 0 0 2 - 0 5 9

【0 4 3 3】

2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 4 - メチルピリジン (CAS 3 1 4 3 0 - 4 7 - 4) の調製：

【化 4 5】



30

【0 4 3 4】

2 - アミノ - 4 - ピコリン (Wonda Science、カタログ番号 1 1 2 4、7.13 g、0.05 モル) を攪拌することで 25 ml の DMF に溶かす。温度計を該溶液に入れて温度をモニターする。N - クロロスクシンイミド (6.68 g、0.05 モル) を直ちにすべて添加する。該混合物を 50 で 3 時間加熱する。暗色溶液を氷水に注ぎ、固体を分離し、濾過で集め、500 ml の水で洗浄した。固体を一夜風乾させた。固体生成物をエーテル / ヘキサン (2 : 1) に溶かし、活性炭で処理した。該溶液を濾過し、溶媒をロトバップで除去した。得られた明黄褐色固体を 50 ml のヘキサン中にて攪拌し、濾過し、減圧下で乾燥させた (融点 126 - 127)。

40

【0 4 3 5】

2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 4,6 - ジメチルピリジン (CAS 3 1 4 3 0 - 4 7 - 4) の調製：

【0 4 3 6】

2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 4,6 - ジメチルピリジンは、出発物質として、2 - アミノ - 4,6 - ジメチルピリジンを用いるが、2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 4,6 - メチルピリジンについて記載されるように調製され得る。

50

【0437】

実施例12：AD4-1505類化合物の合成

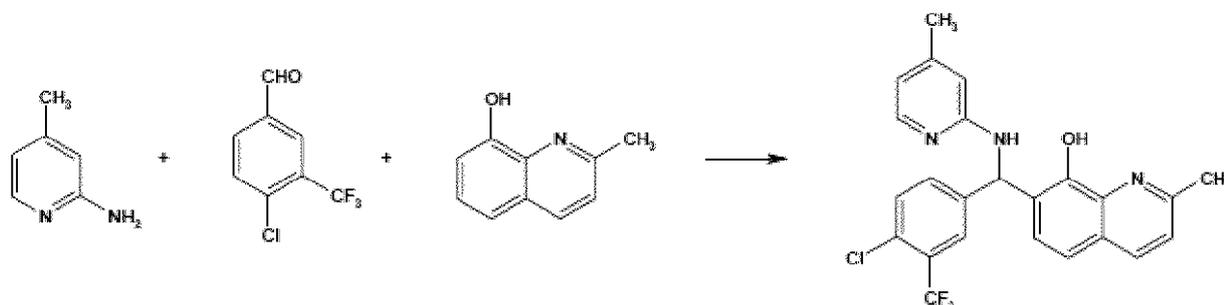
【0438】

以下の実施例は、本願明細書に記載のAD4-1505類化合物の合成を記載する。特記しない限り、実施例11の中間化合物である。

【0439】

AD4-13021の調製：

【化46】



10

【0440】

2-アミノ-4-ピコリン(1.08g、0.01モル)および4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド(2.08g、0.01モル)を100mlの丸底フラスコ中で評量し、50mlの無水EtOHと一緒に攪拌して溶かす。8-ヒドロキシキナルジン(1.59g、0.01モル)を加え、透明な黄色がかった溶液が得られるまで、該混合物を室温で2、3分攪拌する。ついで、該反応混合物をプラスチック製栓で蓋をし、室温で14日間攪拌する。TLC(シリカゲル、2：1ヘキサン/アセトン)は、8-ヒドロキシキナルジンスポットのわずかに下にある大きな新たなスポットに加えて、出発物質がいくらか残っていることを示す。該粗物質を2-25%アセトン/ヘキサンで溶出する500mlのシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーに付す。溶出溶媒は次のとおりである：1リットルの2%アセトン/ヘキサン；1リットルの3%アセトン/ヘキサン；1リットルの5%アセトン/ヘキサン；1リットルの7.5%アセトン/ヘキサン；1リットルの10%アセトン/ヘキサン；1リットルの15%アセトン/ヘキサン；1リットルの20%アセトン/ヘキサンおよび1リットルの25%アセトン/ヘキサン。150mlのフラクションを集める。フラクション1-3は未反応の8-ヒドロキシキナルジンを含む。生成物を含むフラクション11-13をロトバップで濃縮し、明緑色油を得る。該油を2、3mlのアセトンを含む200mlのヘキサンに溶かす。得られた溶液を室温で一夜放置する。2.9gの生成物が灰白色結晶固体として形成し、濾過により単離する。

20

30

【0441】

TLC：

【0442】

2,3-ジフルオロ-4-メチルベンズアルデヒド Rf = 0.8

40

【0443】

8-ヒドロキシキナルジン Rf = 0.7

【0444】

生成物 Rf = 0.55

【0445】

2-アミノ-4-ピコリン Rf = 0.2

【0446】

8-ヒドロキシキナルジンおよび生成物は共に長波長(366nm)UV光の下で明黄色の蛍光を發し、生成物は短波長(254nm)UV光の下でも明黄色の蛍光を發する。空气中で数時間放置した後、8-ヒドロキシキナルジンおよび生成物の両方からのTLC

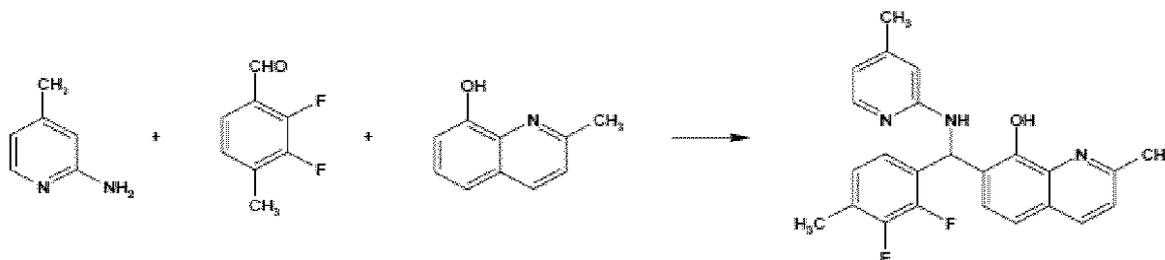
50

スポットは、染色することなく、黄色に、ついで褐色に変化する。

【0447】

AD4-13022の調製：

【化47】



10

【0448】

2-アミノ-4-ピコリン(1.08g、0.01モル)および2,3-ジフルオロ-4-メチルベンズアルデヒド(1.56g、0.01モル)を100mlの丸底フラスコ中で評量し、ついで50mlの無水EtOHと一緒に攪拌して溶かした。8-ヒドロキシキノナルジン(1.59g、0.01モル)を加え、該混合物を、透明な黄色がかった溶液が得られるまで、室温で2、3分の間攪拌した。ついで、該反応混合物をプラスチック製栓で蓋をし、室温で14日間攪拌した。攪拌を停止し、フラスコを室温で一晩保持して、白色固体を観察した。TLC(シリカゲル、2:1ヘキサン/アセトン)は、8-ヒドロキシキノナルジンスポットのわずかに下にある大きな新たなスポットに加えて、出発物質がいくらか残っていることを示した。上澄をデカントし、該白色固体を100mlのEt₂Oと一緒に攪拌し、ついで濾過した。白色固体を500mlのエrlenmeyerフラスコに移し、200mlのアセトンと一緒に攪拌した。緩やかに約50℃で加温し、明黄色透明溶液を生成し、それを1gのDarco-G-60脱色チャコールで処理した。該チャコールをセライトを介する濾過により除去し、その後で該セライトを付加的な50mlのアセトンで洗浄した。ついで、該アセトン溶液を等容量(250ml)のヘキサンと合わせ、室温で4時間放置した。1.5gの生成物は白色結晶固体を形成し、濾過により実質的に純粋な形態(99%)にて単離した。

20

【0449】

30

TLC:

【0450】

2,3-ジフルオロ-4-メチルベンズアルデヒド Rf = 0.8

【0451】

8-ヒドロキシキノナルジン Rf = 0.7

【0452】

生成物 Rf = 0.45

【0453】

2-アミノ-4-ピコリン Rf = 0.2

【0454】

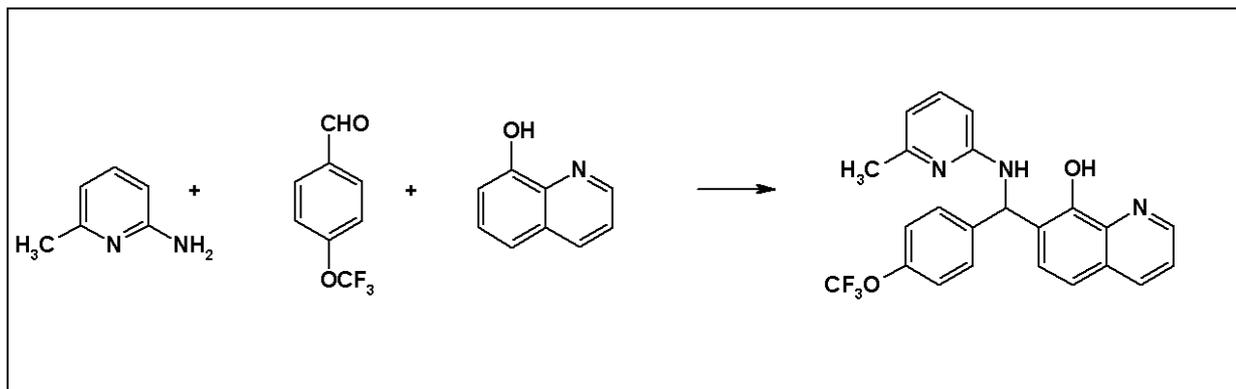
40

8-ヒドロキシキノナルジンおよび生成物は共に長波長(366nm)UV光の下で明黄色の蛍光を発し、生成物は短波長(254nm)UV光の下でも明黄色の蛍光を発する。空气中で数時間放置した後、8-ヒドロキシキノナルジンおよび生成物の両方からのTLCスポットは、染色することなく、黄色に、ついで褐色に変化する。

【0455】

AD4-12902の調製：

【化 4 8】



10

【0456】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0457】

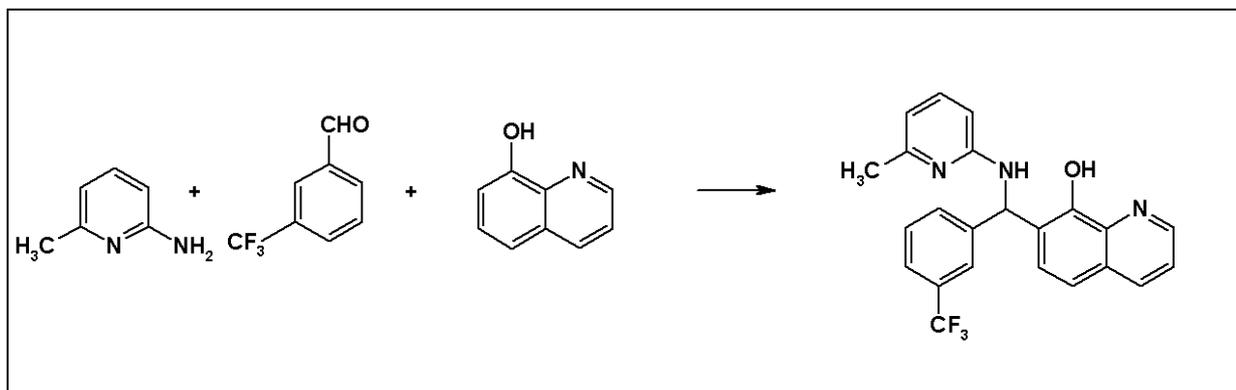
2 - アミノ - 6 - ピコリン (1.08 g、0.01 モル) および 4 - トリフルオロメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.90 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応 (Betti condensation) 生成物を灰白色固体として得る (融点 130 - 131)。生成物を濾過により単離する。

20

【0458】

AD4 - 12903 の調製：

【化 4 9】



30

【0459】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0460】

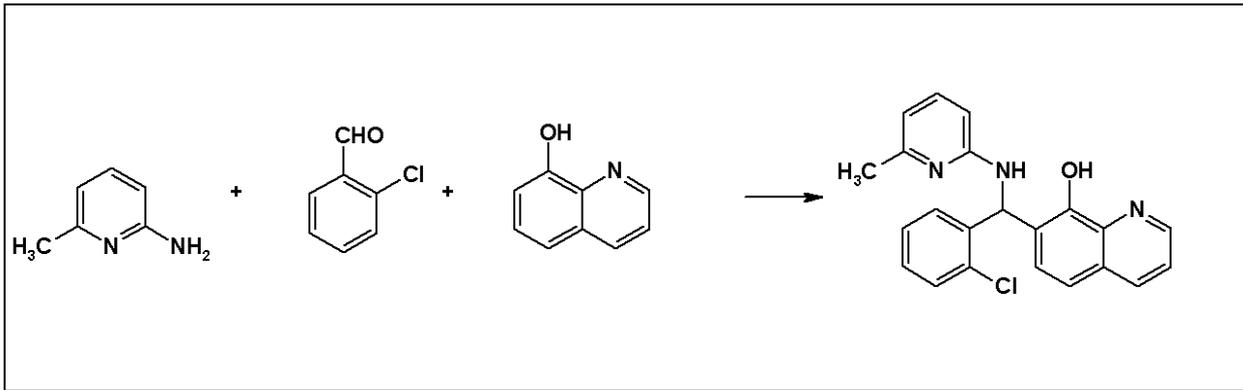
2 - アミノ - 6 - ピコリン (1.08 g、0.01 モル) および 3 - (トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (1.74 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 159 - 160)。生成物を濾過により単離する。

40

【0461】

AD4 - 12904 の調製：

【化50】



10

【0462】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0463】

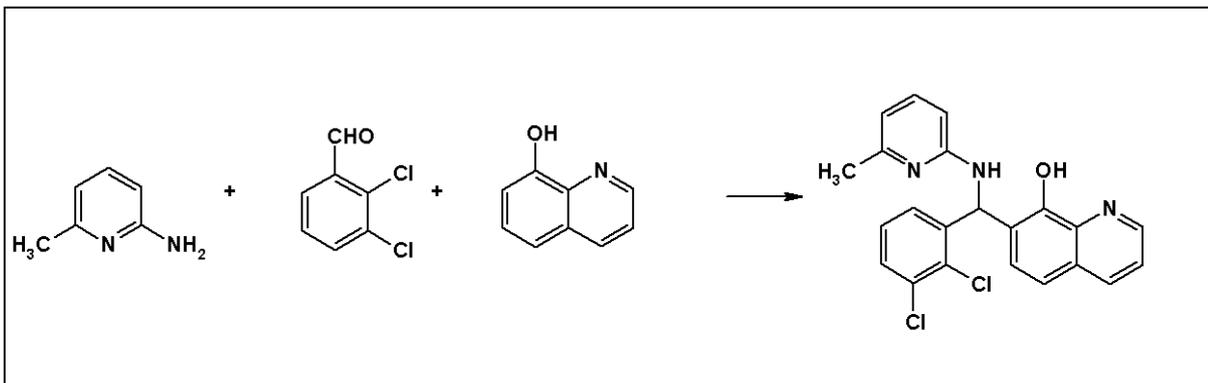
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 211 - 212) 。

20

【0464】

AD4-12905の調製：

【化51】



30

【0465】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0466】

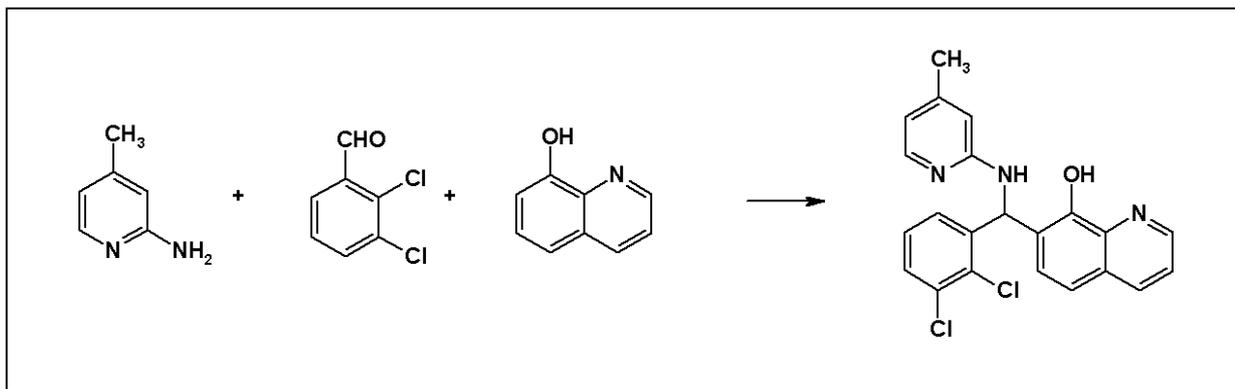
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 195 - 196) 。

40

【0467】

AD4-12906の調製：

【化52】



10

【0468】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0469】

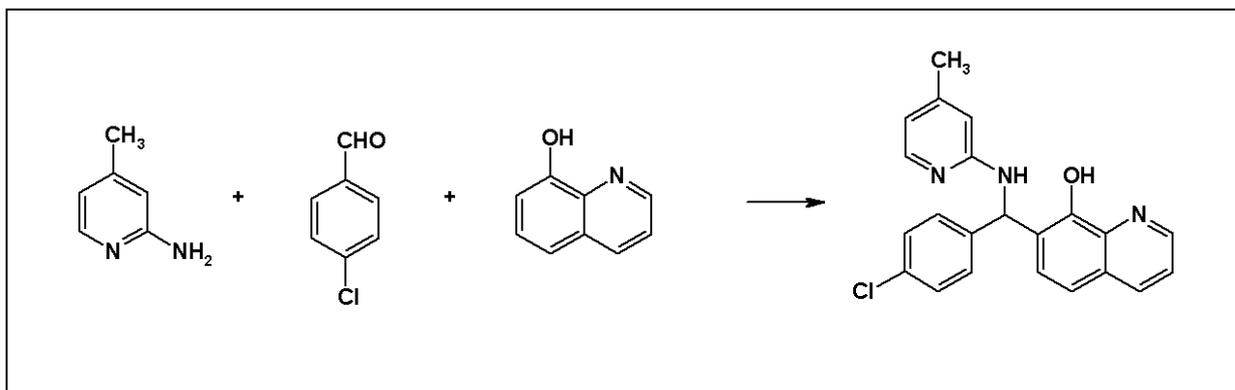
2-アミノ-4-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点176 - 177)。

20

【0470】

AD4-12907の調製：

【化53】



30

【0471】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0472】

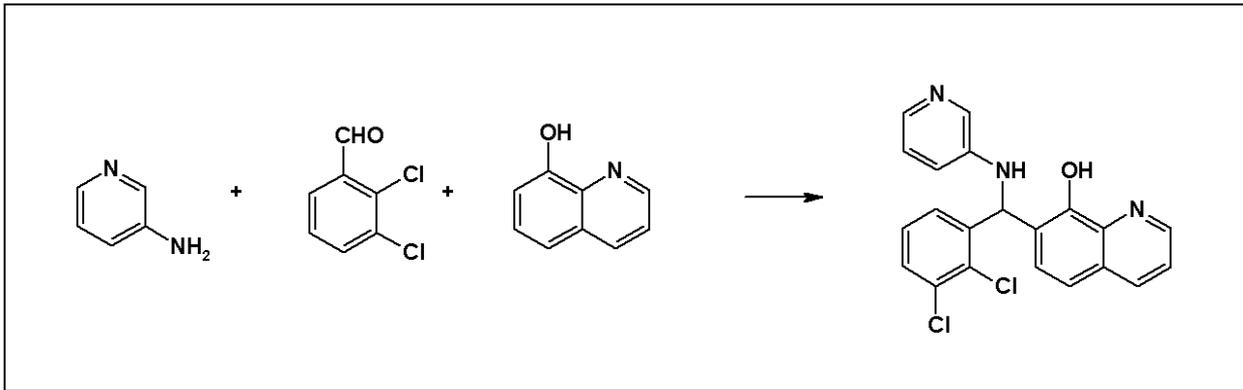
2-アミノ-4-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点176 - 179)。

40

【0473】

AD4-12908の調製：

【化54】



10

【0474】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0475】

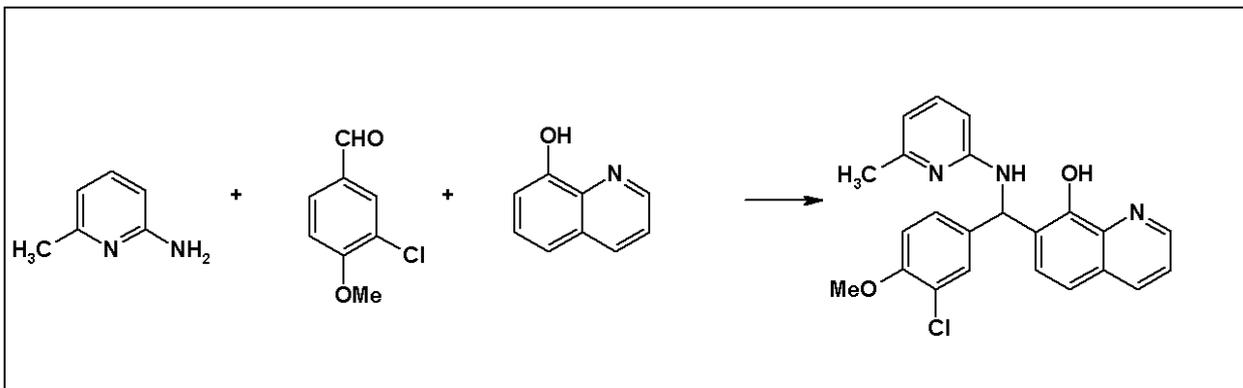
3-アミノピリジン (Acros Organics) (0.94 g、0.01モル) および 2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点 119 - 121)。

20

【0476】

AD4-12909の調製：

【化55】



30

【0477】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0478】

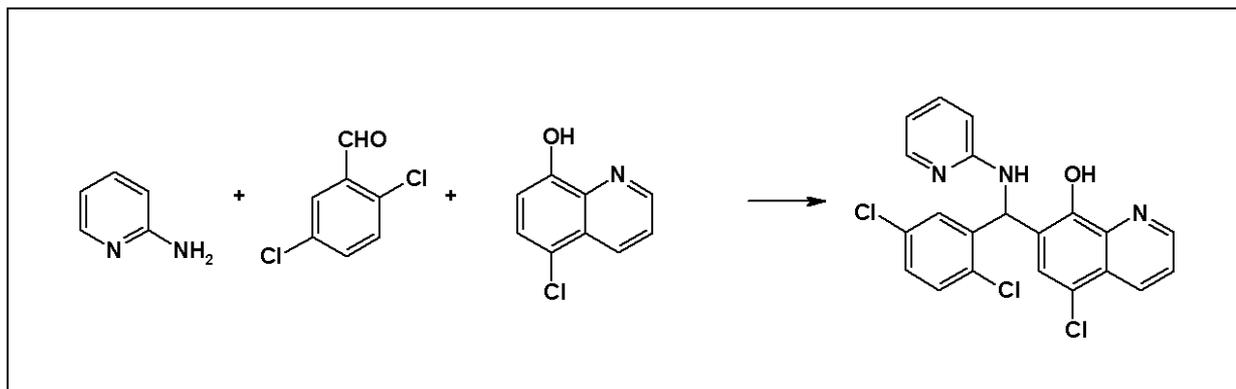
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 3-ヒドロキシ-4-メトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.52 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 179 - 181)。

40

【0479】

AD4-12910の調製：

【化56】



10

【0480】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0481】

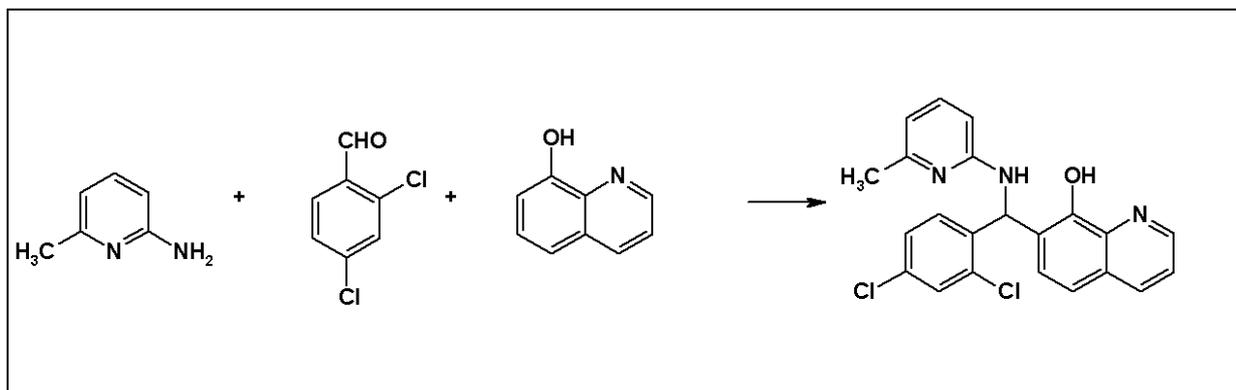
2-アミノピリジン (Acros Organics) (0.94 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 5-クロロ-8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.80 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 189 - 191)。

20

【0482】

AD4-12911の調製：

【化57】



30

【0483】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0484】

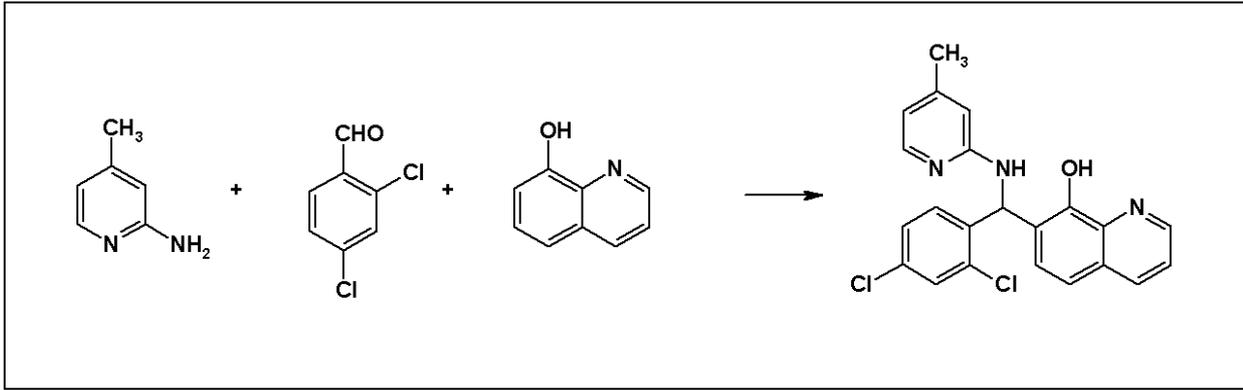
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,4-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 194 - 196)。

40

【0485】

AD4-12912の調製：

【化58】



10

【0486】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0487】

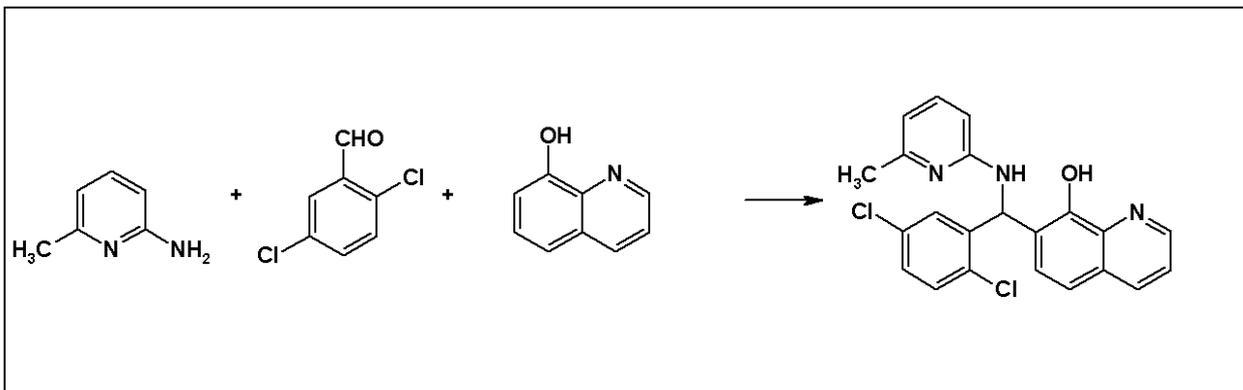
2-アミノ-4-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,4-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点185 - 187)。

20

【0488】

AD4-12913の調製：

【化59】



30

【0489】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0490】

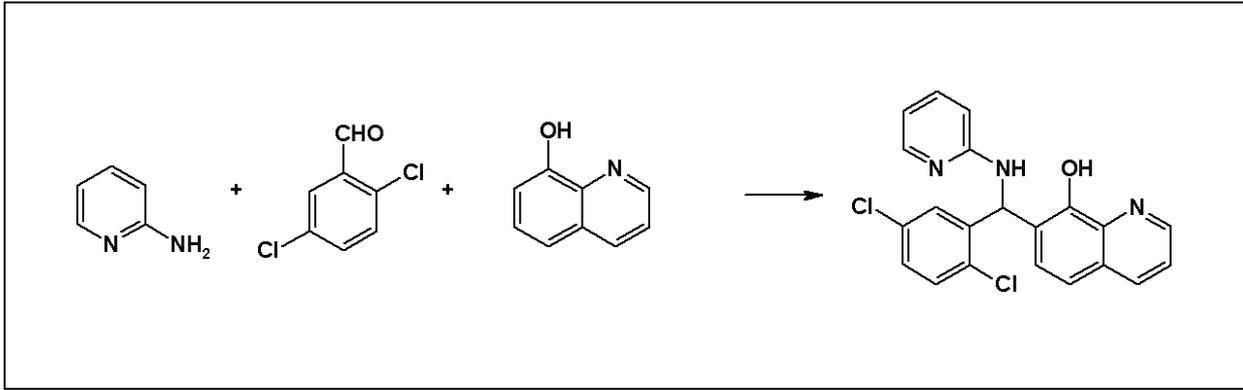
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点180 - 182)。

40

【0491】

AD4-12914の調製：

【化60】



10

【0492】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0493】

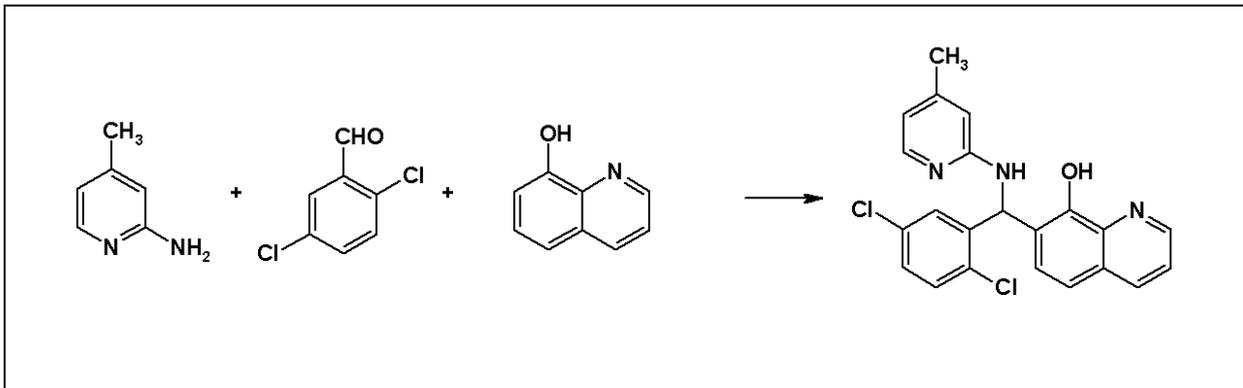
2-アミノピリジン (Acros Organics) (0.94 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点141 - 142)。

20

【0494】

AD4-12915の調製：

【化61】



30

【0495】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0496】

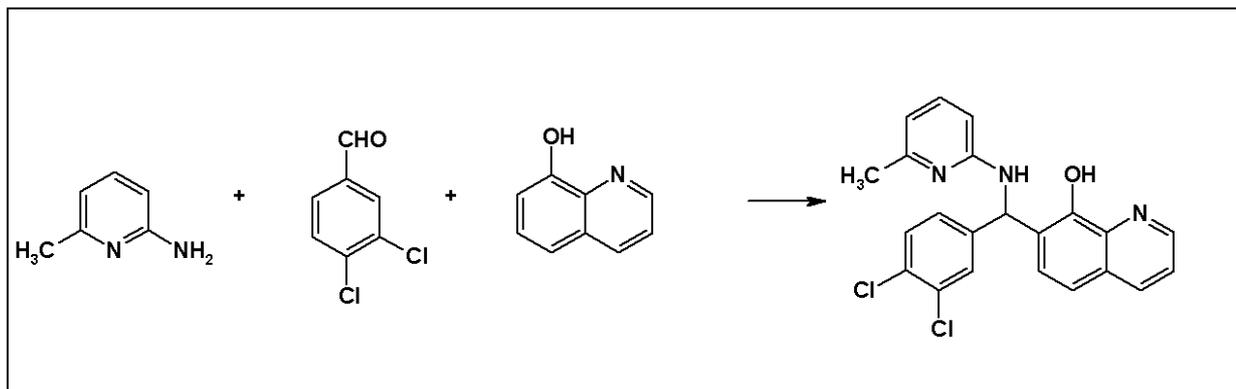
2-アミノ-4-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点169 - 170)。

40

【0497】

AD4-12916の調製：

【化 6 2】



10

【 0 4 9 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 4 9 9 】

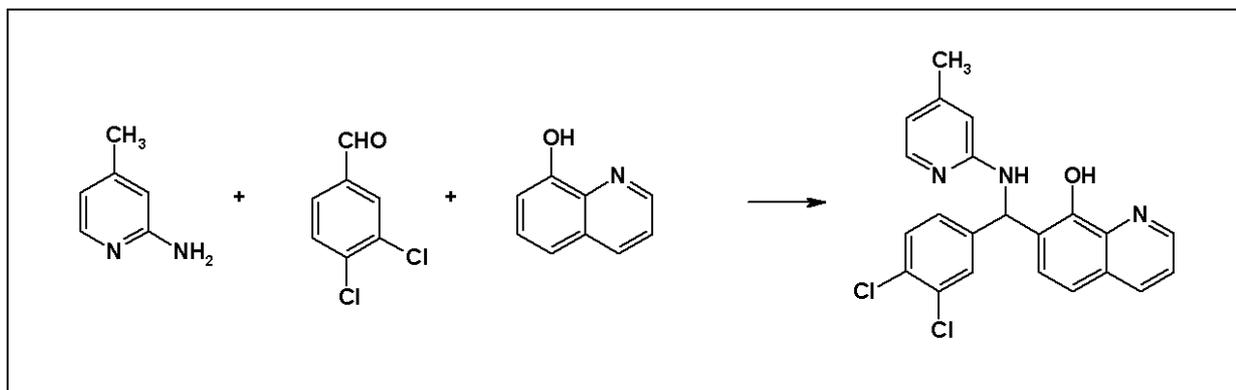
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 7 5 - 1 7 6) 。

20

【 0 5 0 0 】

A D 4 - 1 2 9 1 7 の調製：

【化 6 3】



30

【 0 5 0 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 5 0 2 】

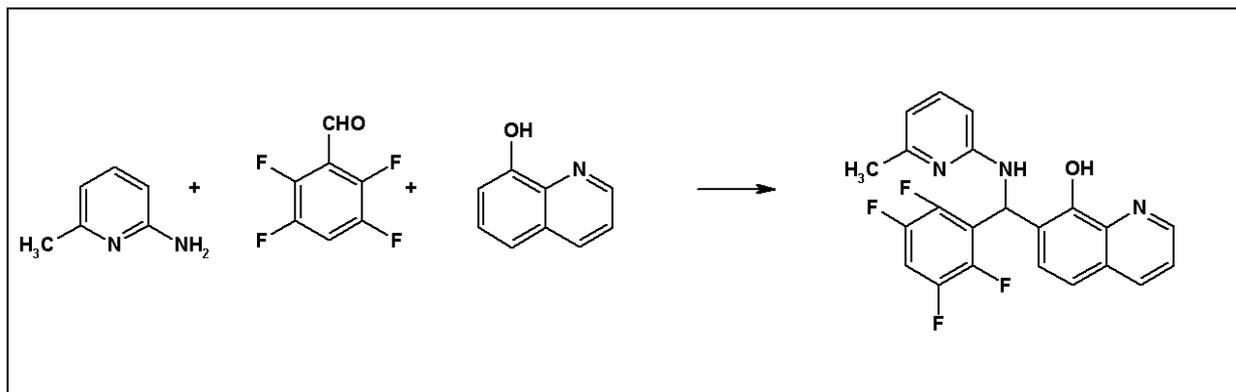
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 6 1 - 1 6 4) 。

40

【 0 5 0 3 】

A D 4 - 1 2 9 1 8 の調製：

【化 6 4】



10

【 0 5 0 4】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 5 0 5】

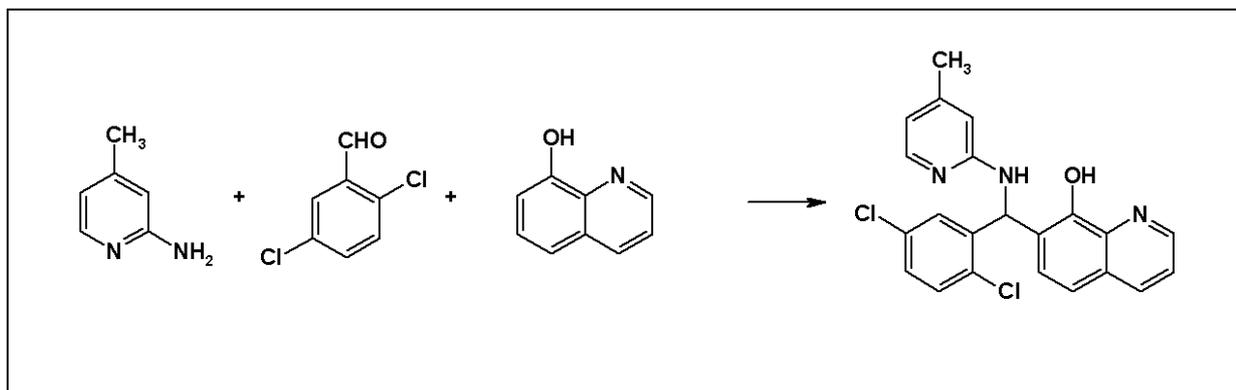
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 8 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 7 1 - 1 7 3) 。生成物を濾過により単離する。

20

【 0 5 0 6】

A D 4 - 1 2 9 5 4 の調製：

【化 6 5】



30

【 0 5 0 7】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 5 0 8】

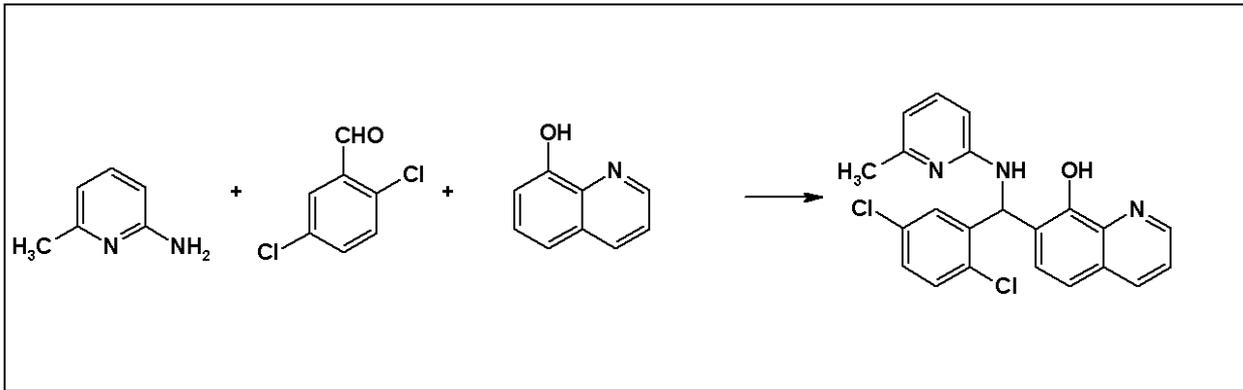
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 8 9 - 1 9 1) 。

40

【 0 5 0 9】

A D 4 - 1 2 9 5 5 の調製：

【化 6 6】



10

【0510】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0511】

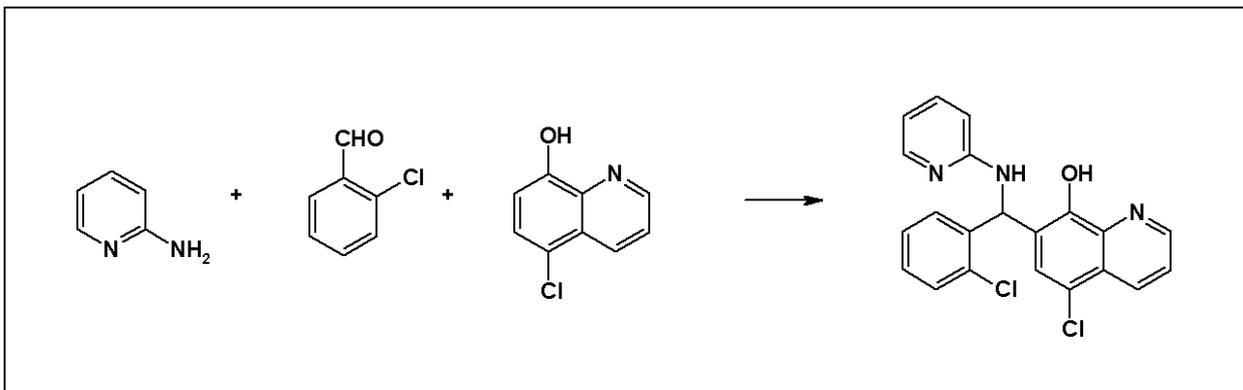
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 2, 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 173 - 174)。

20

【0512】

AD4 - 12958 の調製：

【化 6 7】



30

【0513】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0514】

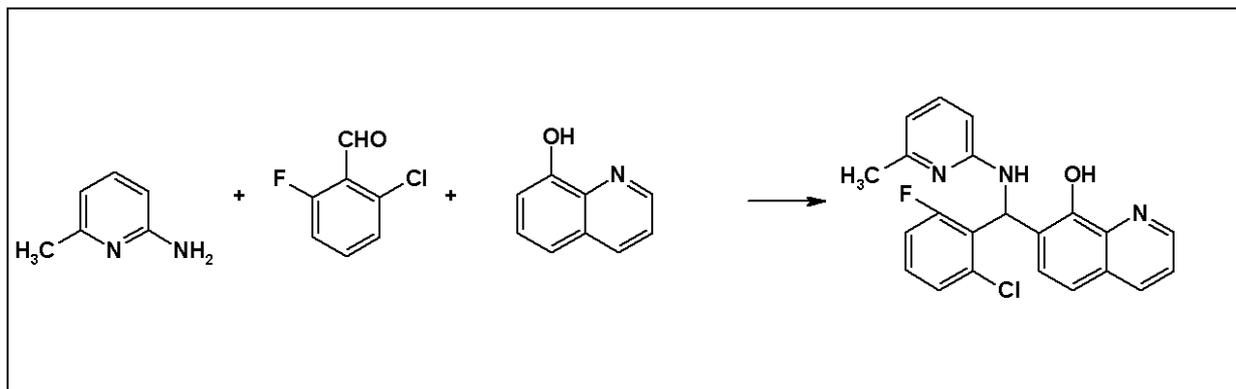
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (0.94 g、0.01 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.80 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 193 - 195)。

40

【0515】

AD4 - 12959 の調製：

【化 6 8】



10

【0516】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0517】

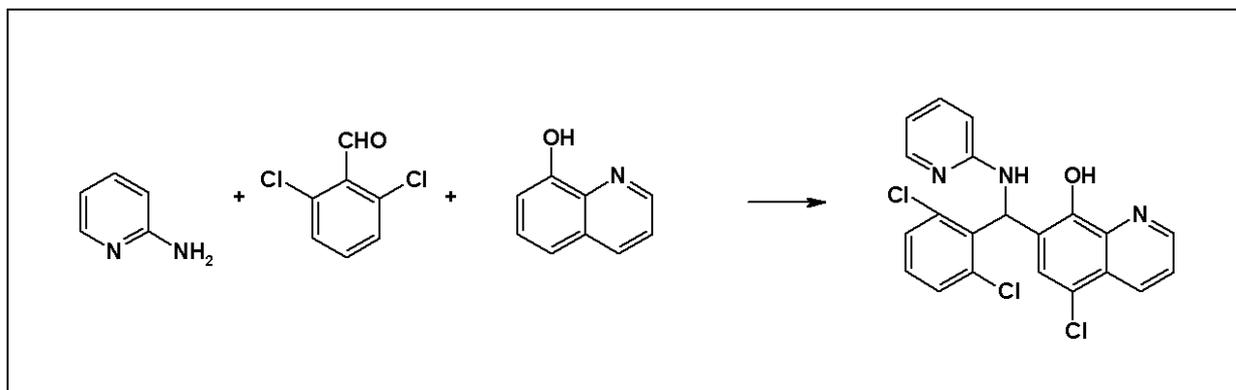
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.59 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 183 - 184)。

20

【0518】

AD4 - 13019 の調製：

【化 6 9】



30

【0519】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0520】

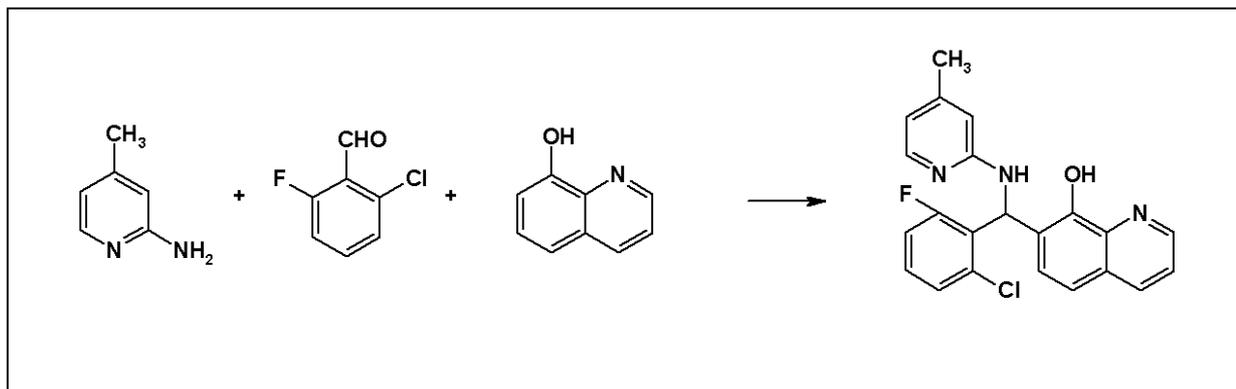
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (0.94 g、0.01 モル) および 2,6 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 172 - 175)。

40

【0521】

AD4 - 13020 の調製：

【化70】



10

【0522】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0523】

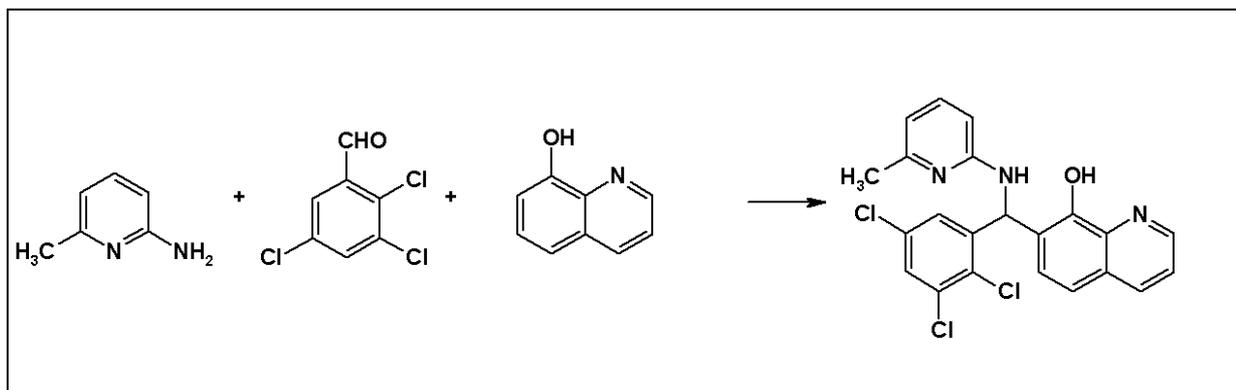
2-アミノ-4-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2-クロロ-6-フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.59 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点164-166)。

20

【0524】

AD4-13023の調製：

【化71】



30

【0525】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0526】

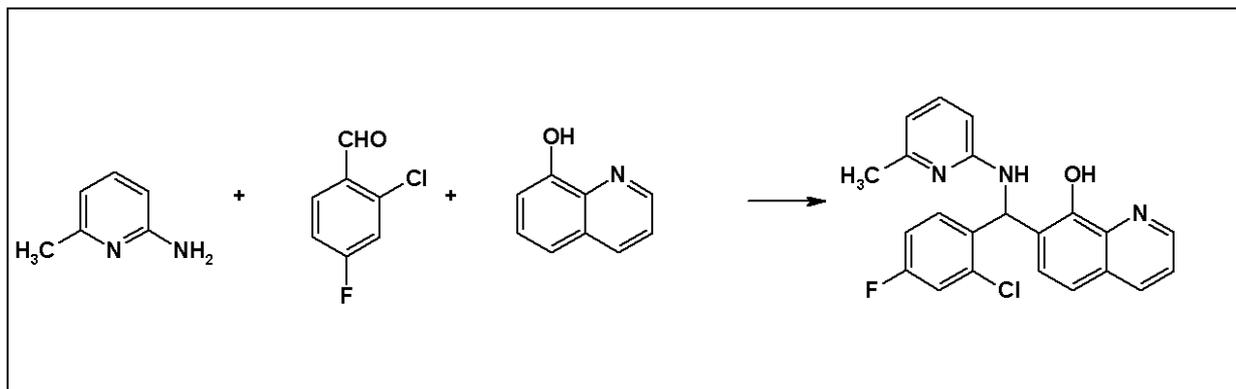
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2,3,5-トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2.09 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点184-186)。

40

【0527】

AD4-13024の調製：

【化72】



10

【0528】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0529】

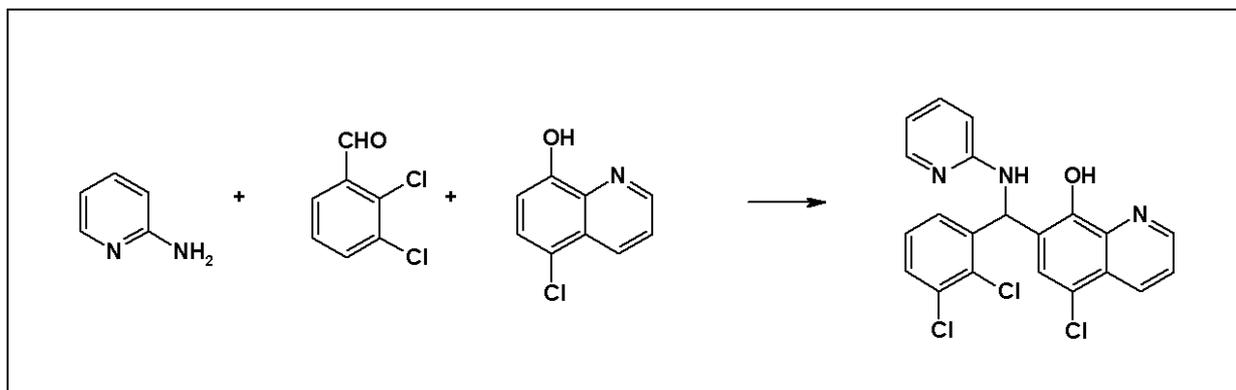
2-アミノ-6-ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01モル) および 2-クロロ-4-フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.59 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 182 - 185)。

20

【0530】

AD4-13025の調製：

【化73】



30

【0531】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0532】

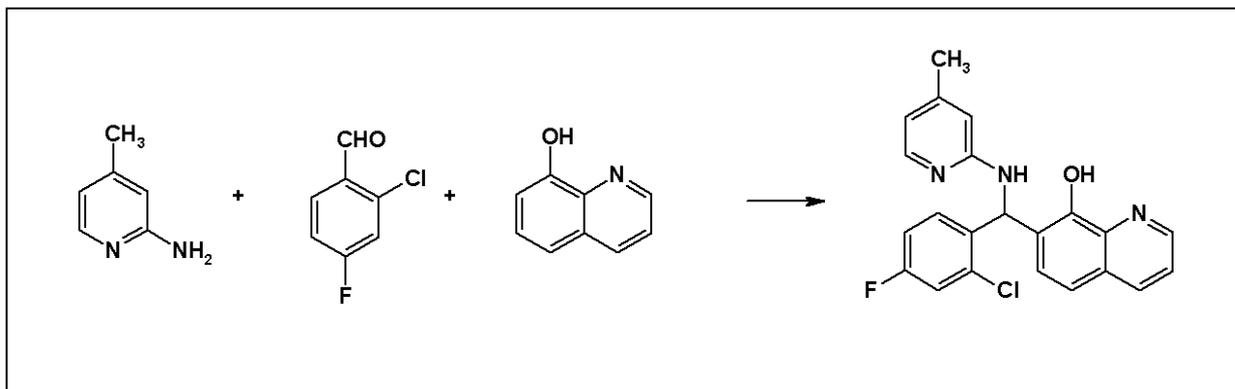
2-アミノピリジン (Acros Organics) (0.94 g、0.01モル) および 2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 5-クロロ-8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.80 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 177 - 180)。

40

【0533】

AD4-13026の調製：

【化 7 4】



10

【0534】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0535】

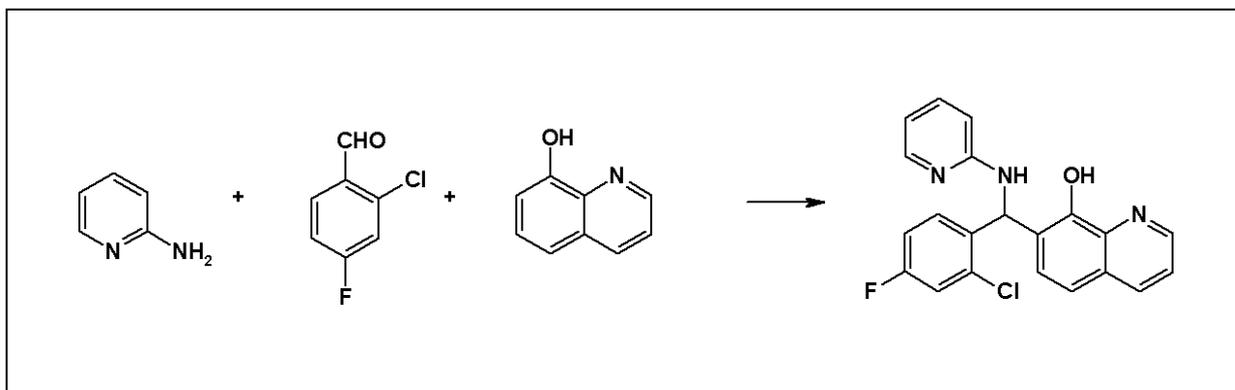
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 3 - 1 6 5) 。

20

【0536】

AD 4 - 1 3 0 2 7 の調製：

【化 7 5】



30

【0537】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0538】

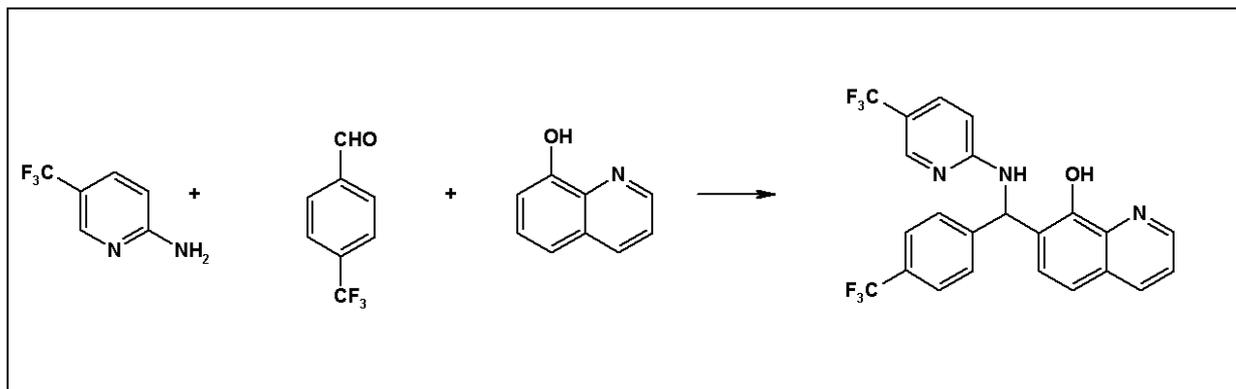
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (0 . 9 4 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 2 - 1 6 6) 。

40

【0539】

AD 4 - 1 3 0 2 8 の調製：

【化 7 6】



10

【0540】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0541】

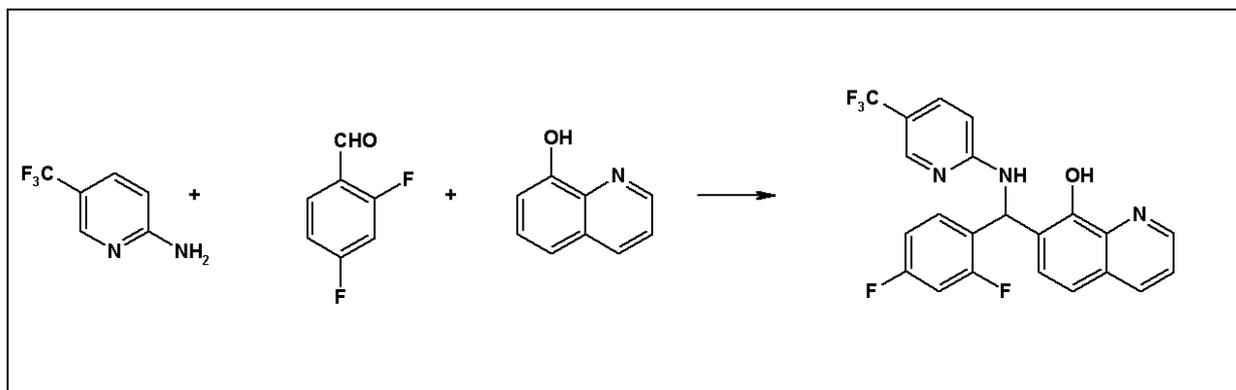
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル) ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 4 - (トリフルオロメチル) ベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 4 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 8 2 - 9 4) 。

20

【0542】

AD 4 - 1 3 0 2 9 の調製：

【化 7 7】



30

【0543】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0544】

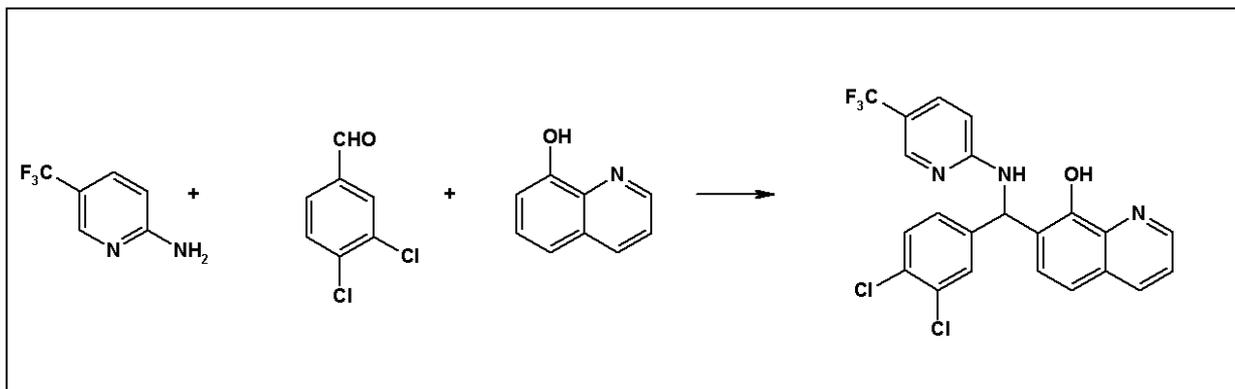
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル) ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジフルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 2 4 - 1 3 4) 。

40

【0545】

AD 4 - 1 3 0 3 0 の調製：

【化 7 8】



10

【0546】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0547】

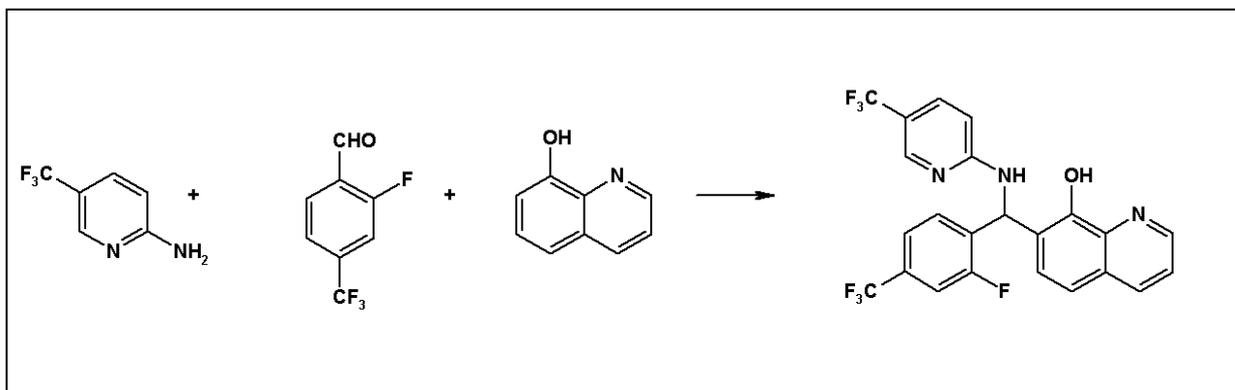
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 8 6 - 8 7) 。

20

【0548】

AD 4 - 1 3 0 3 1 の調製：

【化 7 9】



30

【0549】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0550】

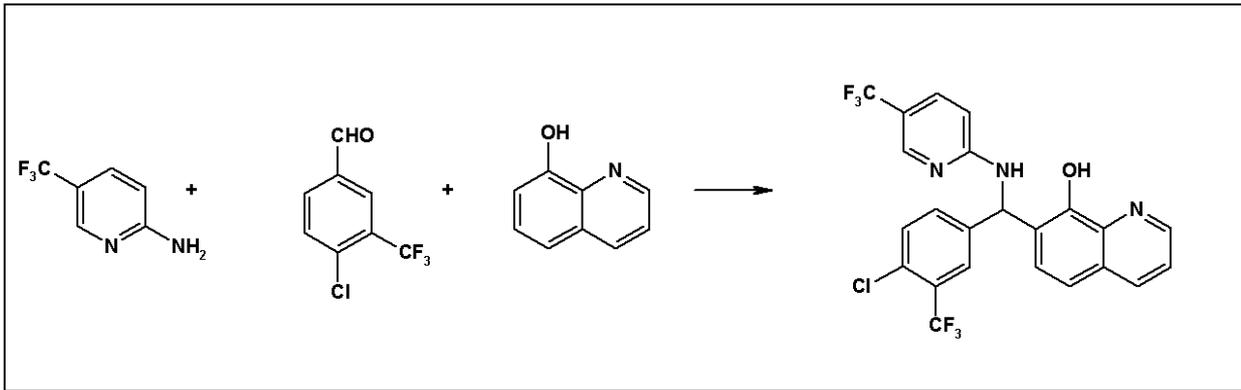
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 9 2 g 、 0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 2 6 - 1 3 2) 。

40

【0551】

AD 4 - 1 3 0 3 2 の調製：

【化 8 0】



10

【 0 5 5 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 5 5 3】

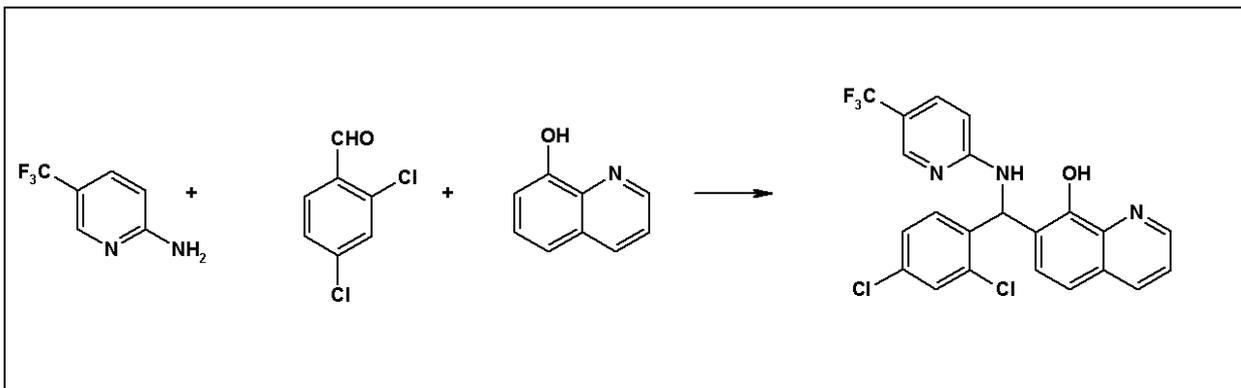
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - (トリフルオロメチル) - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 8 1 - 9 6) 。

20

【 0 5 5 4】

A D 4 - 1 3 0 3 3 の調製：

【化 8 1】



30

【 0 5 5 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 5 5 6】

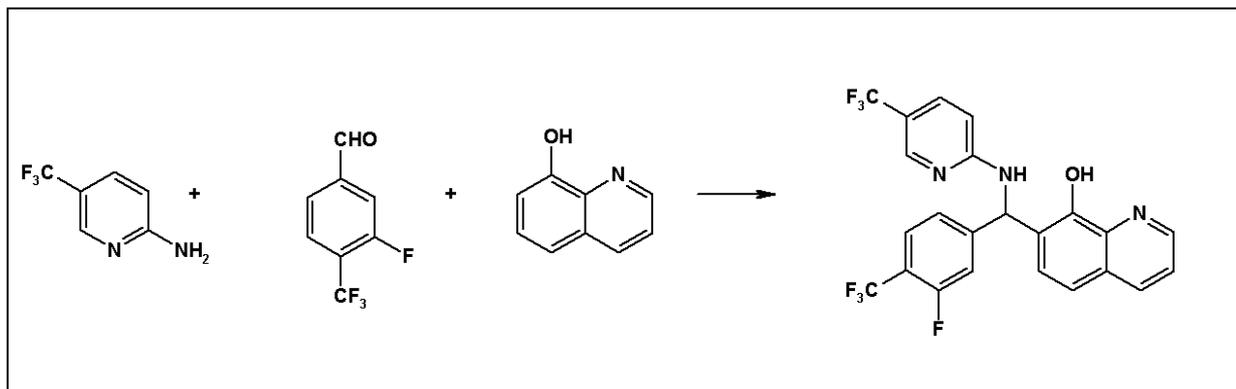
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 3 1 - 1 4 3) 。

40

【 0 5 5 7】

A D 4 - 1 3 0 3 4 の調製：

【化 8 2】



10

【0558】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0559】

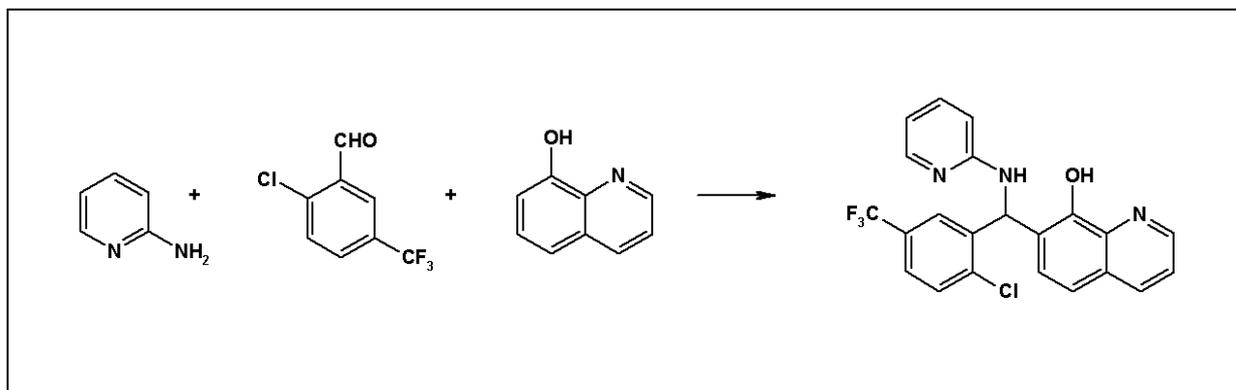
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル) ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 9 2 g 、 0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 1 0 - 1 1 7) 。

20

【0560】

AD 4 - 1 3 0 3 5 の調製：

【化 8 3】



30

【0561】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0562】

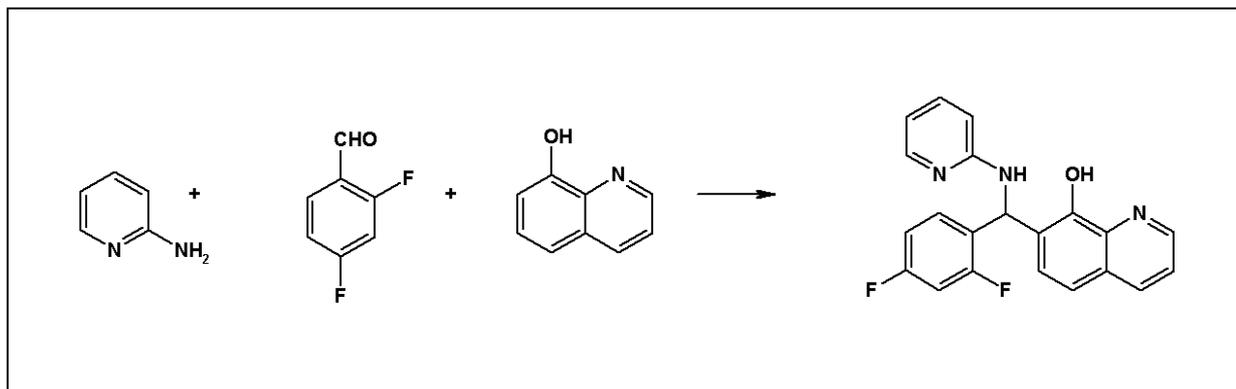
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 5 - (トリフルオロメチル) ベンズアルデヒド (Matrix) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 3 7 - 1 5 5) 。

40

【0563】

AD 4 - 1 3 0 3 6 の調製：

【化 8 4】



10

【0564】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0565】

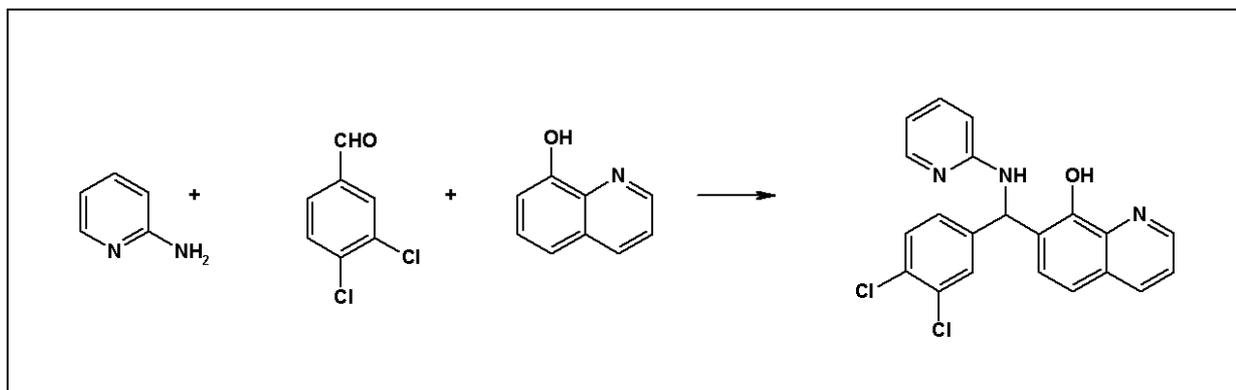
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジフルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 1 3 6 - 1 3 8) 。

20

【0566】

AD 4 - 1 3 0 3 7 の調製：

【化 8 5】



30

【0567】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0568】

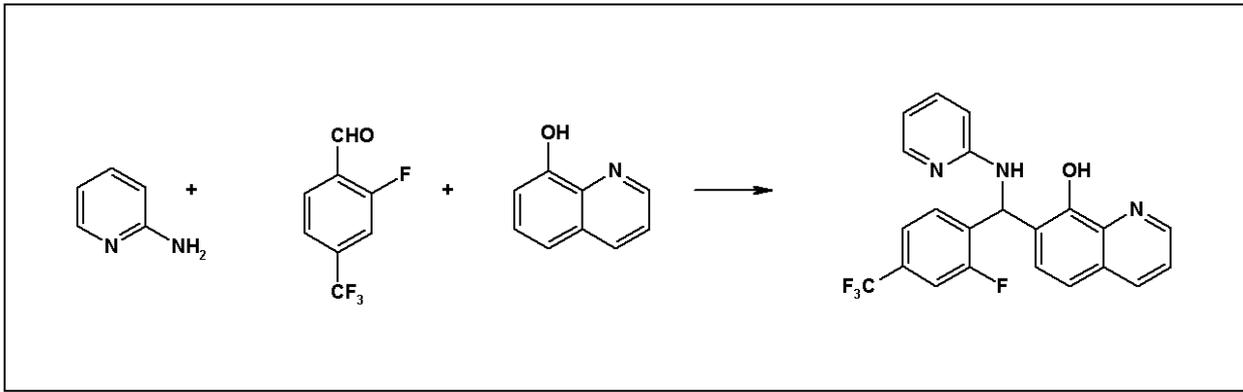
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 1 7 - 1 2 0) 。

40

【0569】

AD 4 - 1 3 0 3 8 の調製：

【化 8 6】



10

【0570】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0571】

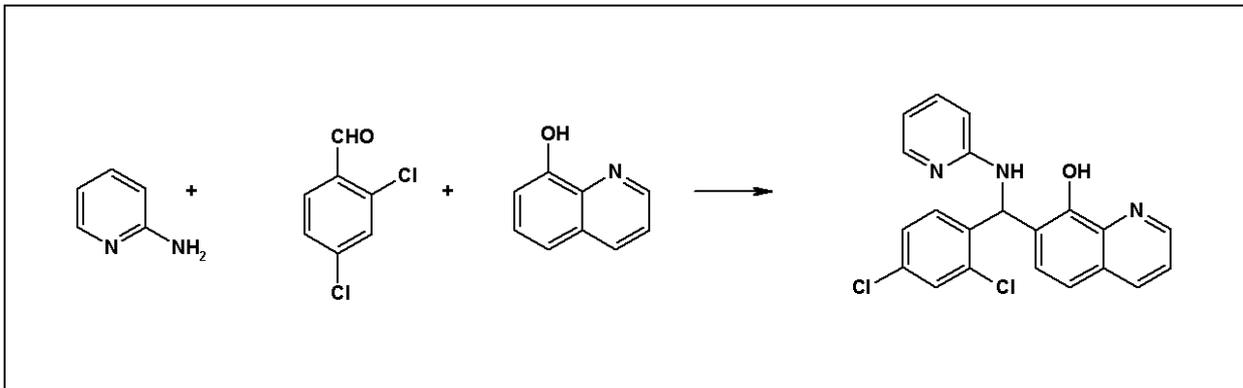
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (1.62 g、0.01 モル) および 2 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Matrix) (1.92 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 126 - 127)。

20

【0572】

AD4 - 13039 の調製：

【化 8 7】



30

【0573】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0574】

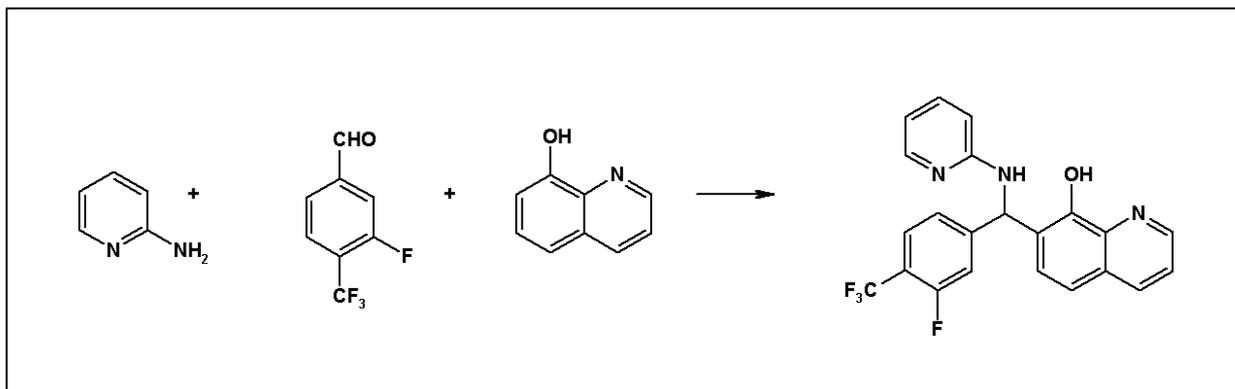
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (1.62 g、0.01 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 99 - 102)。

40

【0575】

AD4 - 13040 の調製：

【化 8 8】



10

【0576】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0577】

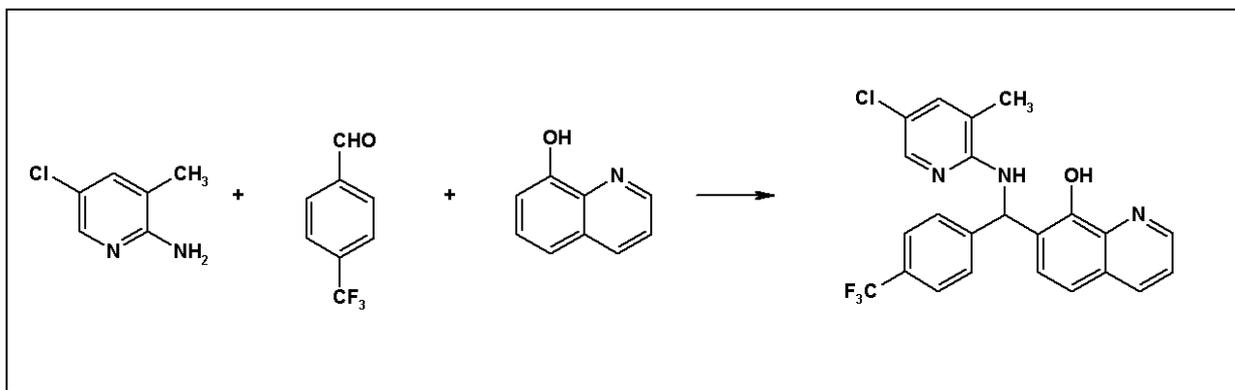
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (1.62 g、0.01 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.92 g、0.01) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 82 - 85)。

20

【0578】

AD4 - 13041 の調製：

【化 8 9】



30

【0579】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0580】

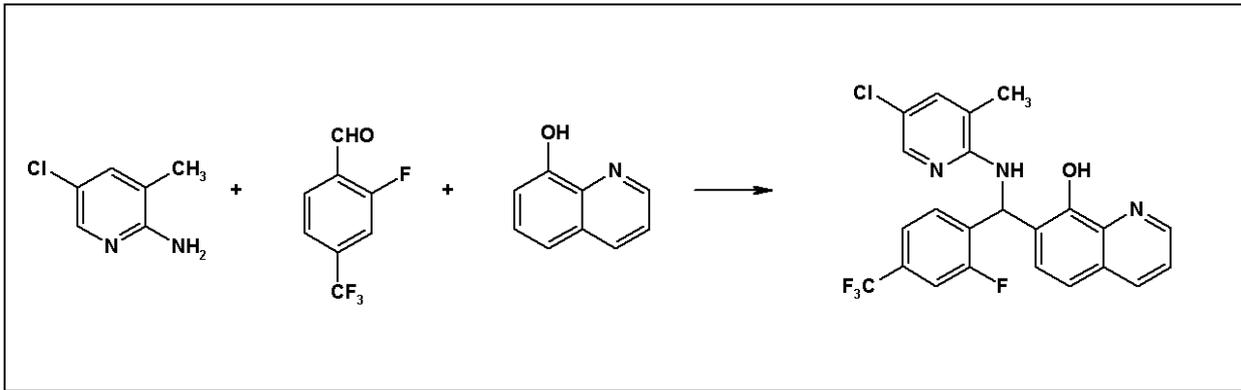
2 - アミノ - 5 - クロロ - 3 - メチルピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01 モル) および 4 - (トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.74 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 108 - 110)。

40

【0581】

AD4 - 13042 の調製：

【化90】



10

【0582】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0583】

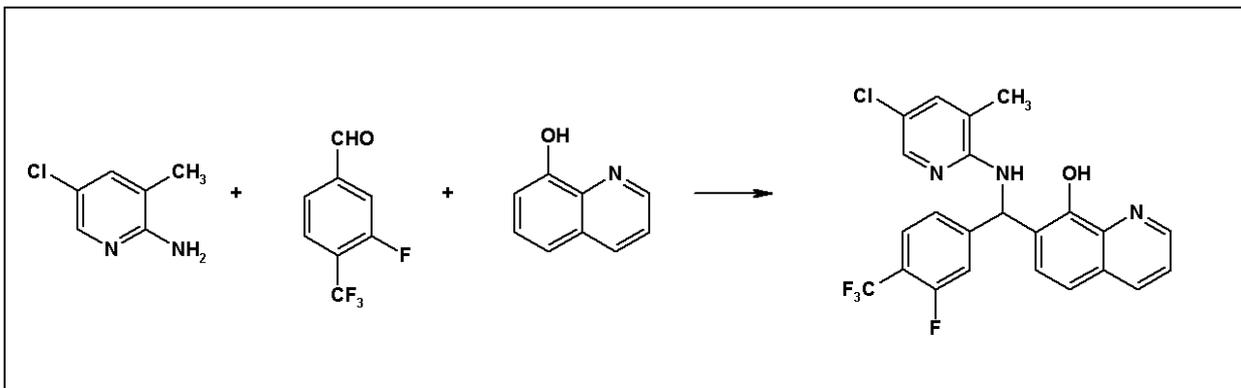
2-アミノ-5-クロロ-3-メチルピリジン(Matrix)(1.42g、0.01モル)および2-フルオロ-4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド(Matrix)(1.92g、0.01)を8-ヒドロキシキノリン(Acros Organics)(1.45g、0.01モル)と50mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る(融点106-109)。

20

【0584】

AD4-13043の調製：

【化91】



30

【0585】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0586】

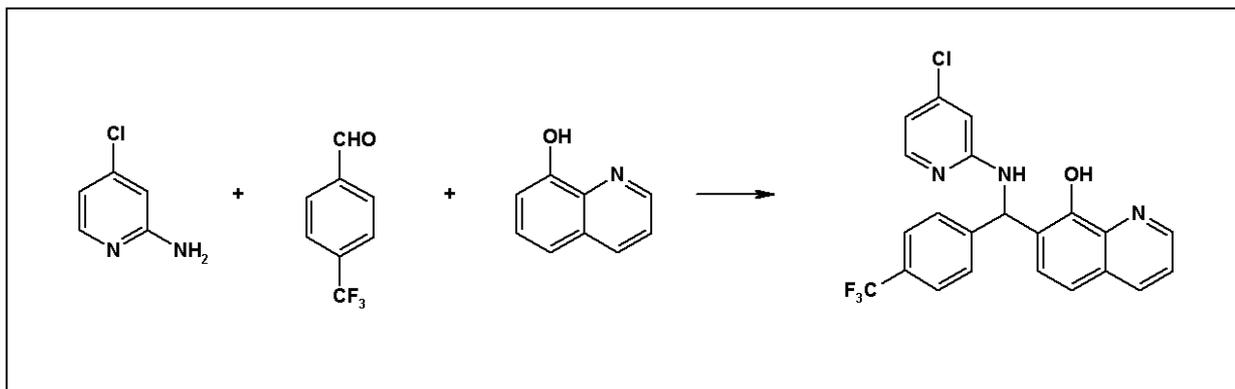
2-アミノ-5-クロロ-3-メチルピリジン(Matrix)(1.42g、0.01モル)および3-フルオロ-4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド(Oakwood Products)(1.92g、0.01)を8-ヒドロキシキノリン(Acros Organics)(1.45g、0.01モル)と50mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る(融点128-131)。

40

【0587】

AD4-13044の調製：

【化 9 2】



10

【0588】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0589】

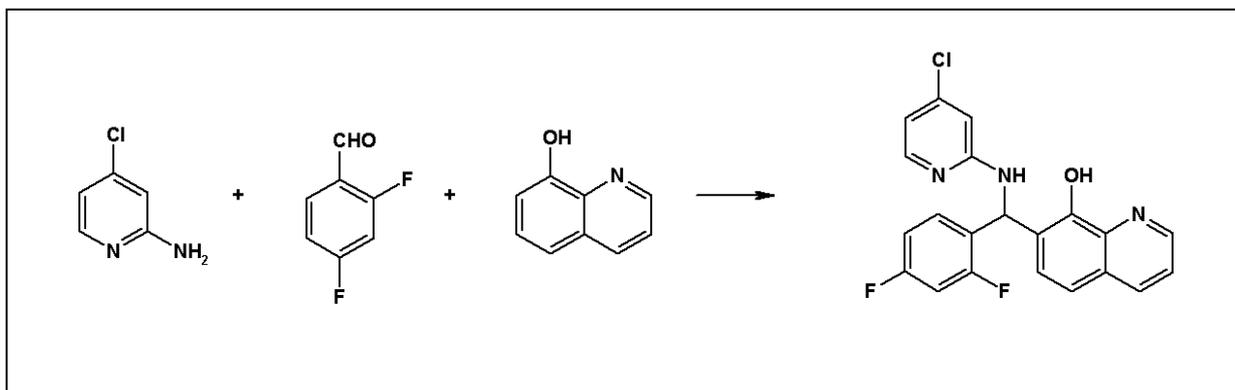
2 - アミノ - 4 - クロロピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 4 - (トリフルオロメチル) ベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 4 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 1 5 4 - 1 5 5) 。

20

【0590】

AD 4 - 1 3 0 4 5 の調製：

【化 9 3】



30

【0591】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0592】

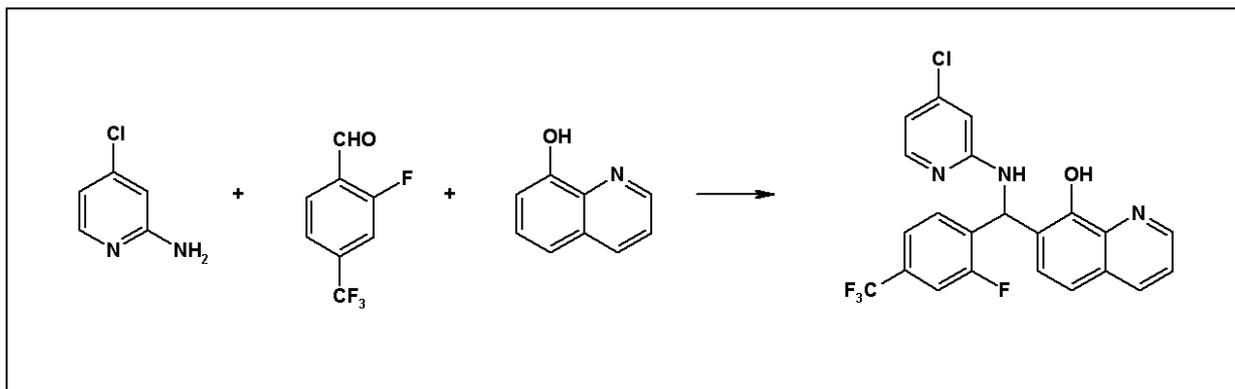
2 - アミノ - 4 - クロロピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジフルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 1 7 1 - 1 7 3) 。

40

【0593】

AD 4 - 1 3 0 4 6 の調製：

【化94】



10

【0594】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0595】

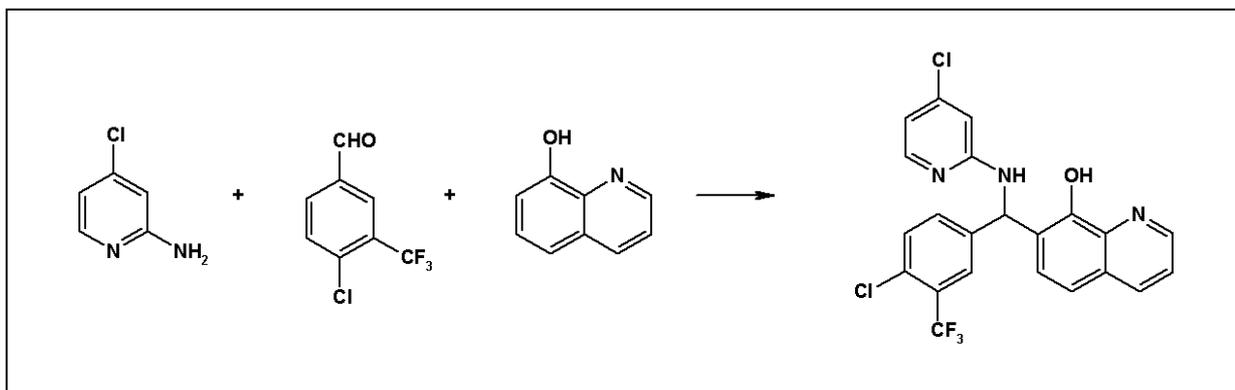
2-アミノ-4-クロロピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および 2-フルオロ-4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Matrix) (1.92 g、0.01) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点164-165)。

20

【0596】

AD4-13047の調製：

【化95】



30

【0597】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0598】

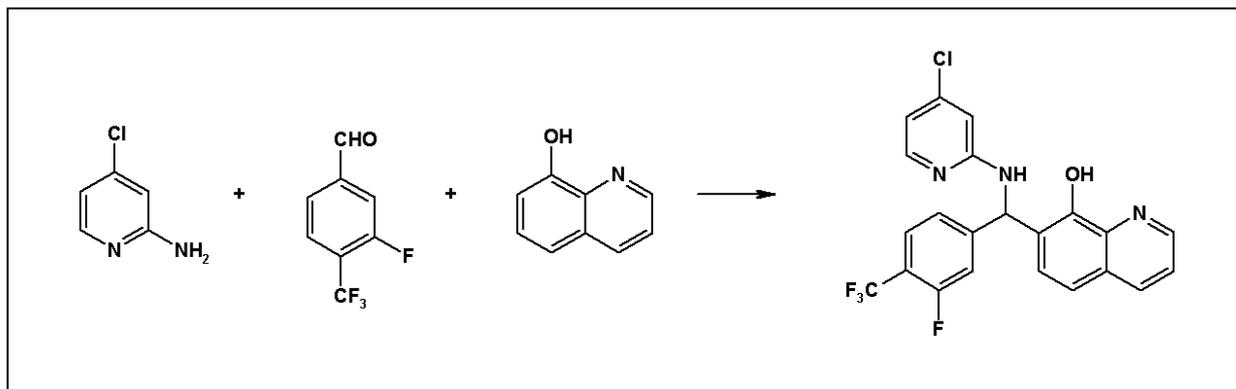
2-アミノ-4-クロロピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および 3-(トリフルオロメチル)-4-クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (2.09 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点136-140)。

40

【0599】

AD4-13048の調製：

【化 9 6】



10

【0600】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0601】

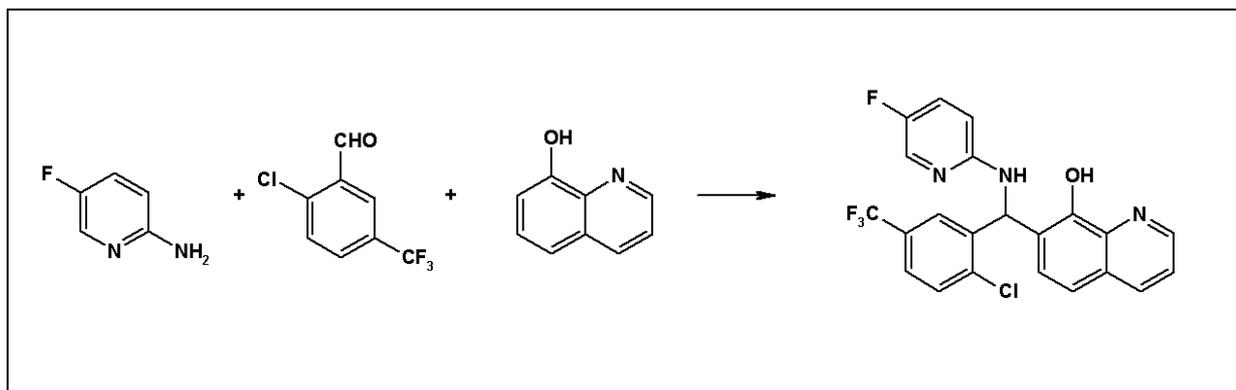
2 - アミノ - 4 - クロロピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.92 g、0.01) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 110 - 134)。

20

【0602】

AD4 - 13049 の調製：

【化 9 7】



30

【0603】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0604】

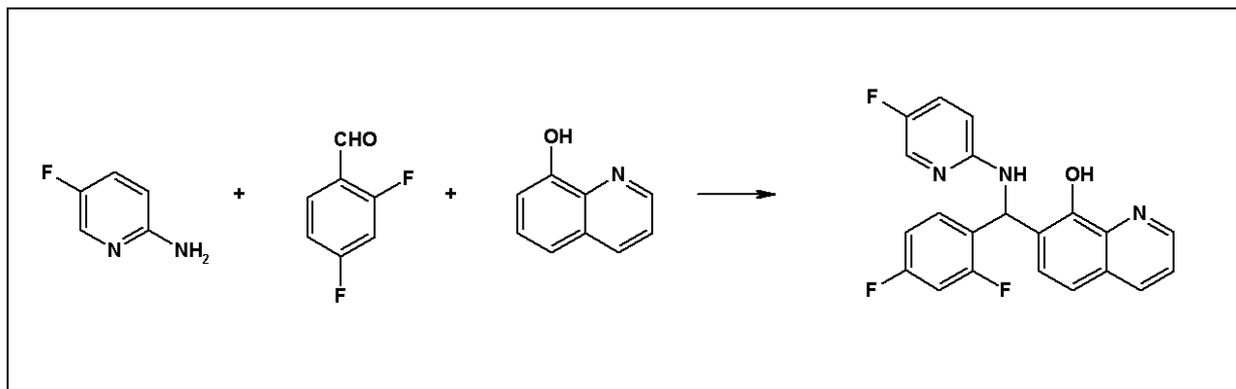
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix) (1.12 g、0.01 モル) および 2 - クロロ - 5 - (トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Matrix) (2.09 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 145 - 159)。

40

【0605】

AD4 - 13050 の調製：

【化 9 8】



10

【 0 6 0 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 0 7 】

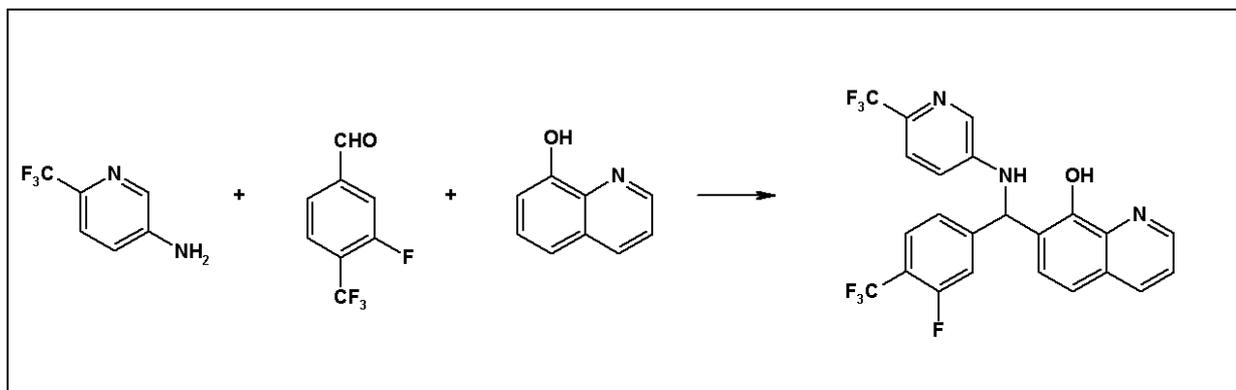
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix) (1 . 1 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジフルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 8 8 - 9 3) 。

20

【 0 6 0 8 】

A D 4 - 1 3 0 5 1 の調製：

【化 9 9】



30

【 0 6 0 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 1 0 】

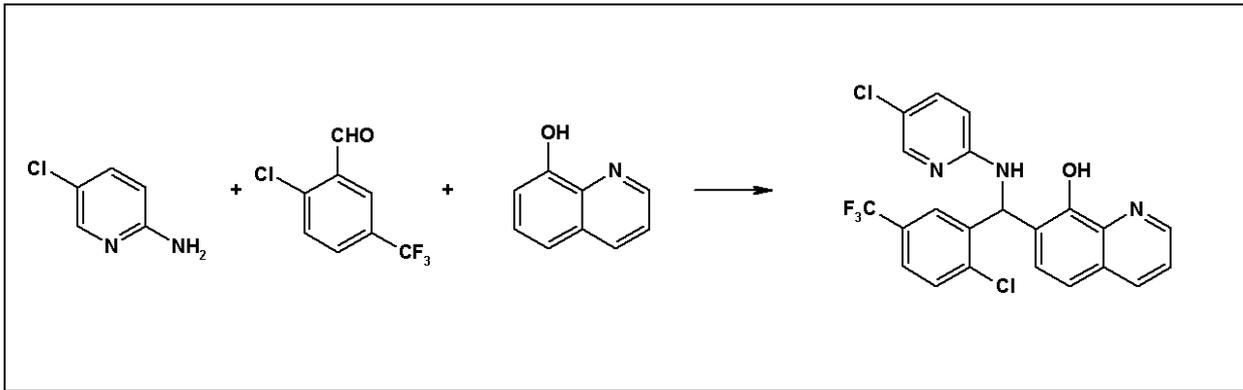
3 - アミノ - 6 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Matrix) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 9 2 g 、 0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を褐色固体として得る (融点 9 9 - 1 1 1) 。

40

【 0 6 1 1 】

A D 4 - 1 3 0 5 2 の調製：

【化100】



10

【0612】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0613】

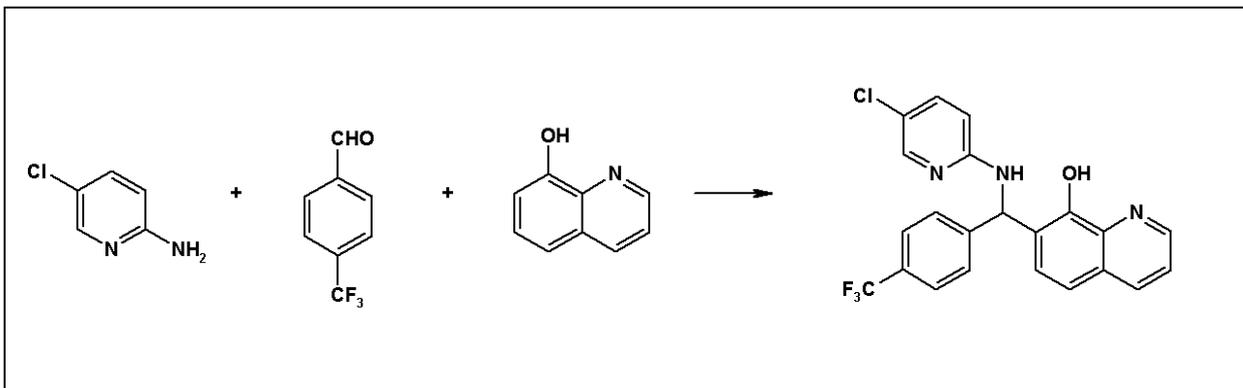
2-アミノ-5-クロロピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および 2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Matrix) (2.09 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点163-165)。

20

【0614】

AD4-13053の調製：

【化101】



30

【0615】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0616】

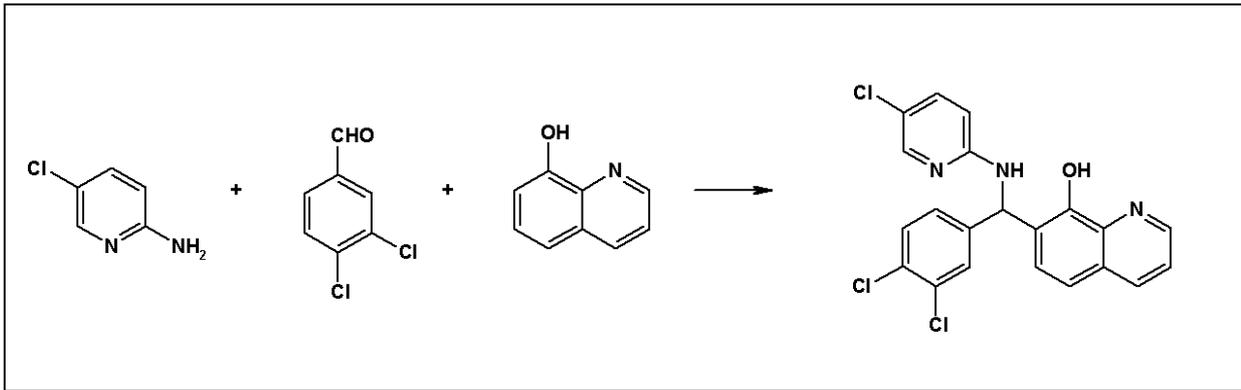
2-アミノ-5-クロロピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および 4-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.74 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点115-130)。

40

【0617】

AD4-13054の調製：

【化 1 0 2】



10

【 0 6 1 8】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 1 9】

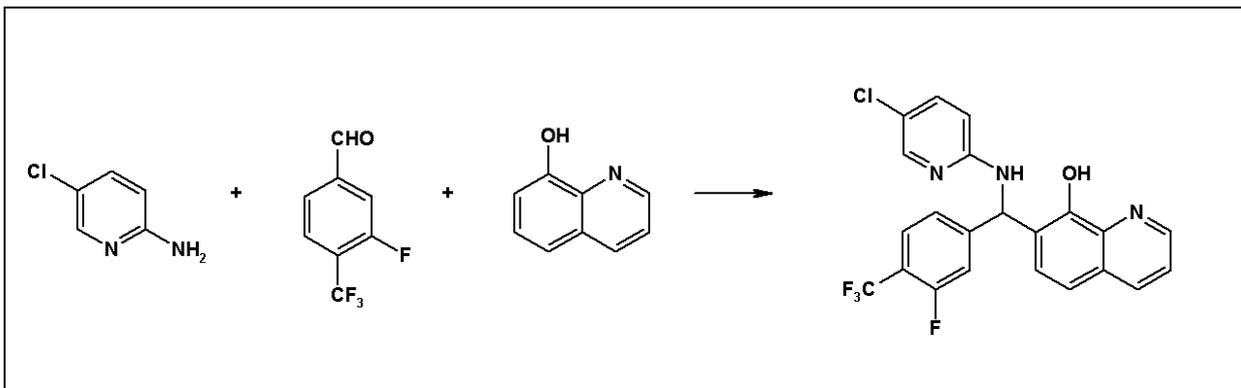
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 9 6 - 1 2 5) 。

20

【 0 6 2 0】

A D 4 - 1 3 0 5 5 の調製：

【化 1 0 3】



30

【 0 6 2 1】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 2 2】

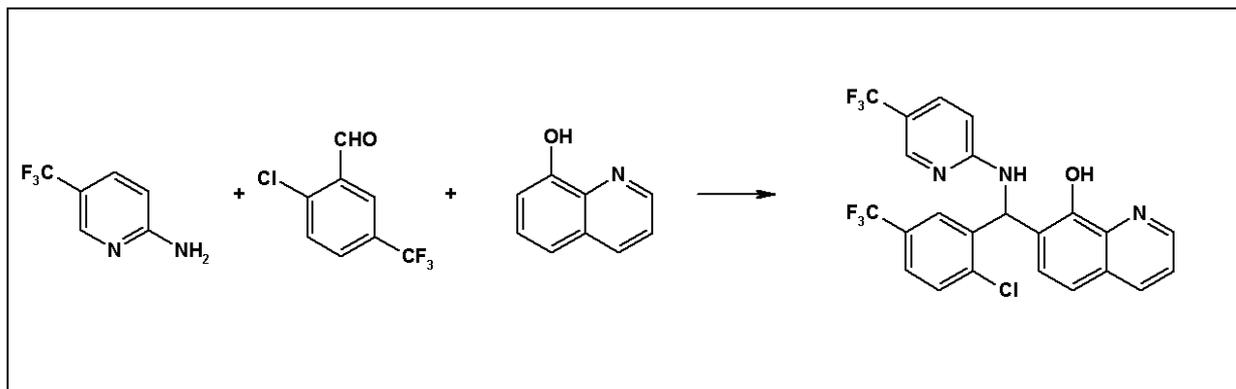
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 9 2 g、0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 3 3 - 1 3 4) 。

40

【 0 6 2 3】

A D 4 - 1 3 0 5 6 の調製：

【化 1 0 4】



10

【 0 6 2 4】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 2 5】

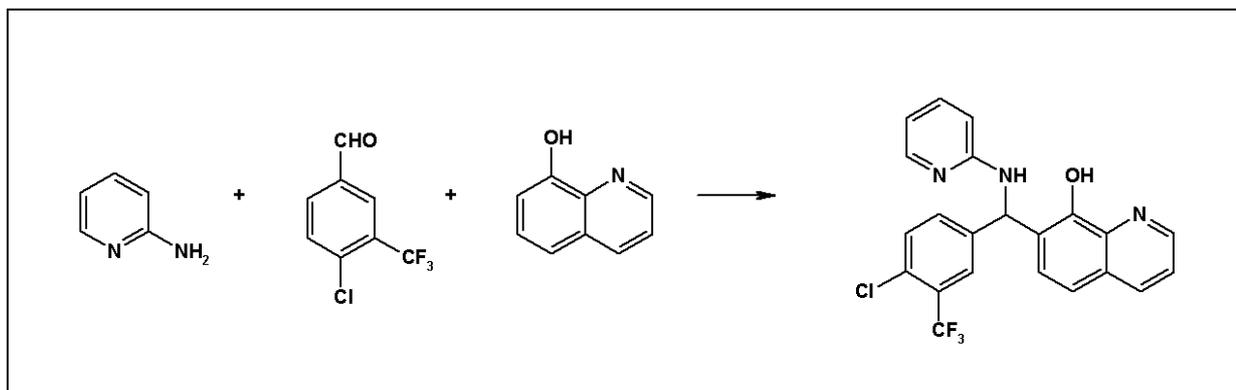
2 - アミノ - 5 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Acros Organics) (1 . 6 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 5 - (トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Matrix) (2 . 0 9 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

20

【 0 6 2 6】

AD 4 - 1 3 0 5 7 の調製：

【化 1 0 5】



30

【 0 6 2 7】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 2 8】

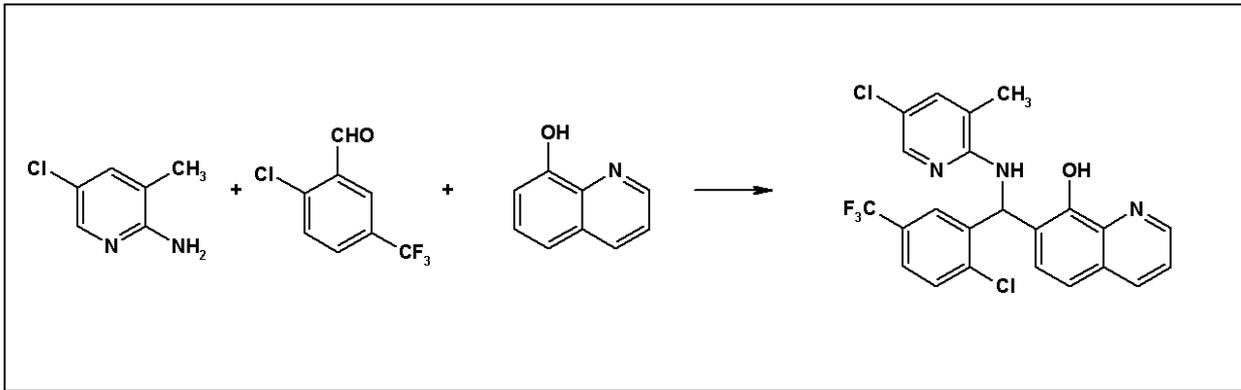
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (0 . 9 4 g、0 . 0 1 モル) および 3 - (トリフルオロメチル) - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (2 . 0 9 g、0 . 0 1 モル) 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 7 3 - 8 8) 。

40

【 0 6 2 9】

AD 4 - 1 3 0 5 8 の調製：

【化106】



10

【0630】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0631】

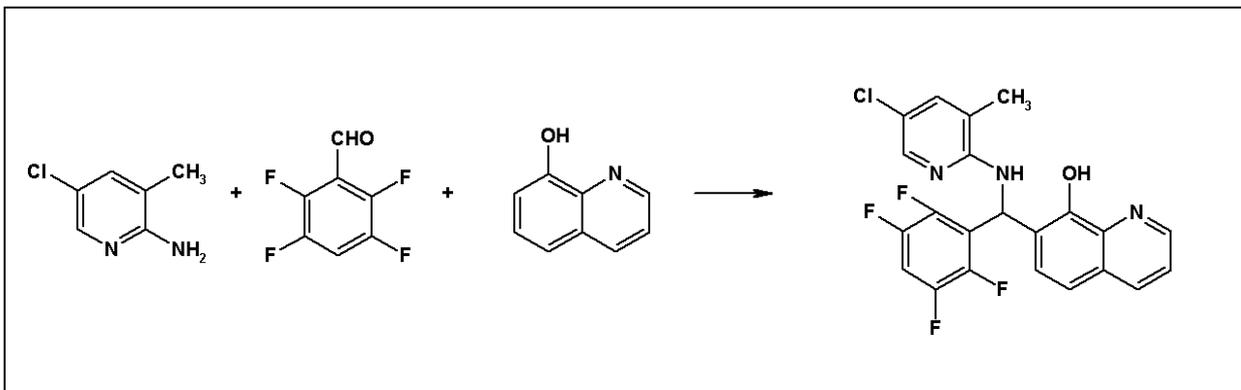
2-アミノ-5-クロロ-3-メチルピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Matrix) (2.09 g、0.01モル)を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル)と50mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

20

【0632】

AD4-13059の調製：

【化107】



30

【0633】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0634】

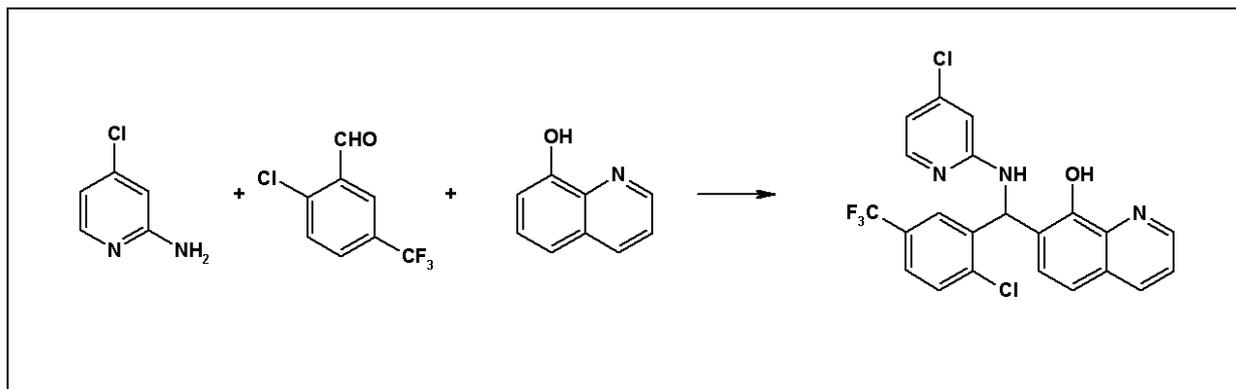
2-アミノ-5-クロロ-3-メチルピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および2,3,5,6-テトラフルオロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.78 g、0.01モル)を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル)と50mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物をワックス状緑色固体として得る。

40

【0635】

AD4-13060の調製：

【化108】



10

【0636】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0637】

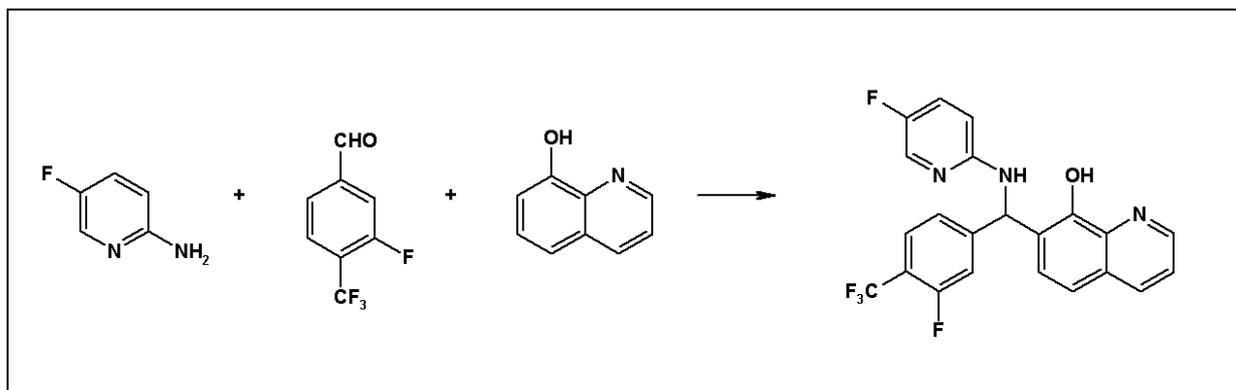
2-アミノ-4-クロロピリジン (Matrix) (1.42 g、0.01モル) および 2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Matrix) (2.09 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物をワックス状緑色固体として得る。

20

【0638】

AD4-13061の調製：

【化109】



30

【0639】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0640】

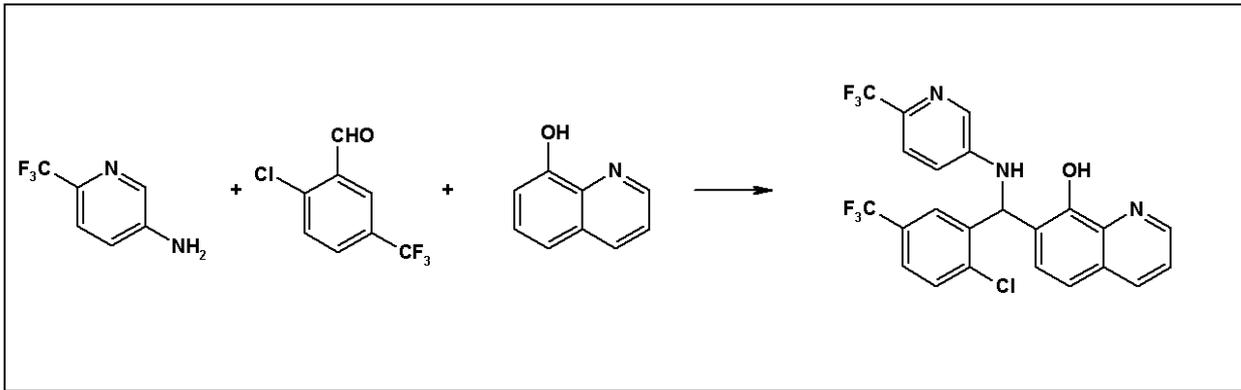
2-アミノ-5-フルオロピリジン (Matrix) (1.12 g、0.01モル) および 3-フルオロ-4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.92 g、0.01) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

40

【0641】

AD4-13062の調製：

【化 1 1 0】



10

【 0 6 4 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 4 3】

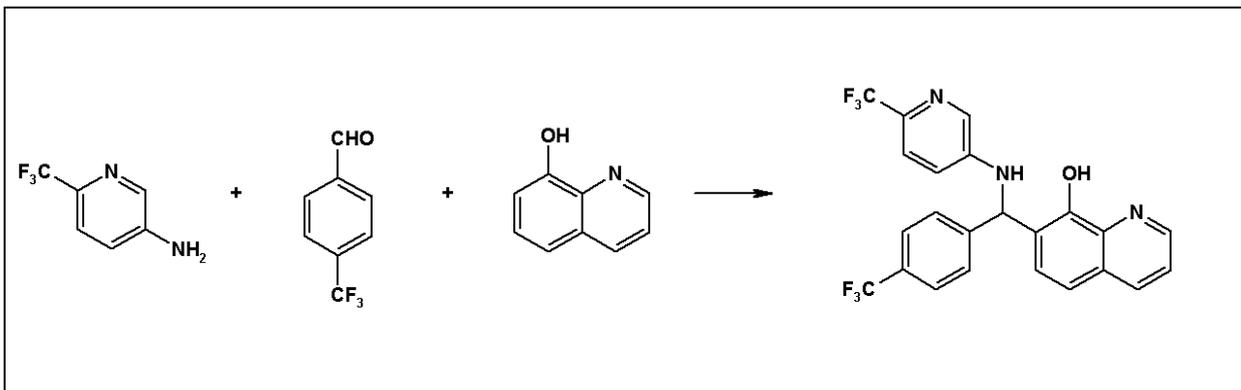
3 - アミノ - 6 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Matrix) (1.62 g、0.01モル) および 2 - クロロ - 5 - (トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Matrix) (2.09 g、0.01モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

20

【 0 6 4 4】

A D 4 - 1 3 0 6 3 の調製：

【化 1 1 1】



30

【 0 6 4 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 4 6】

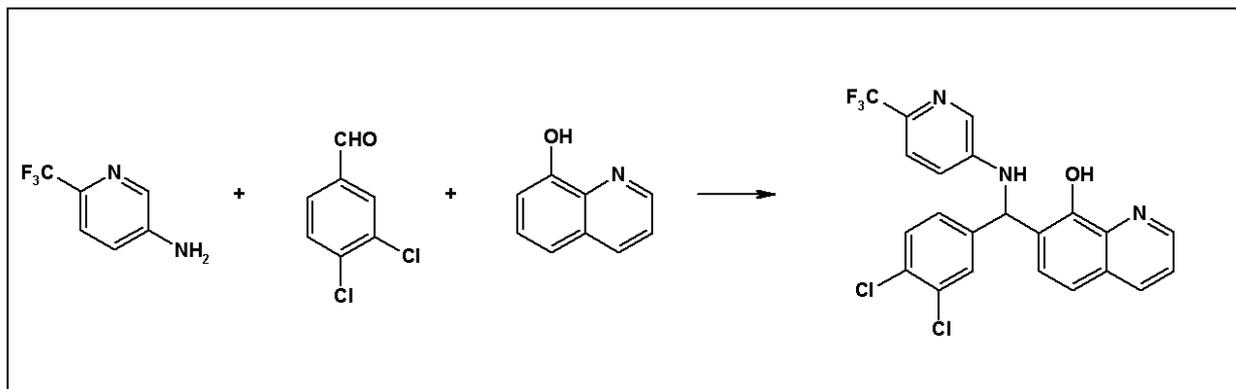
3 - アミノ - 6 - (トリフルオロメチル)ピリジン (Matrix) (1.62 g、0.01モル) および 4 - (トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.74 g、0.01モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

40

【 0 6 4 7】

A D 4 - 1 3 0 6 4 の調製：

【化 1 1 2】



10

【 0 6 4 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 4 9 】

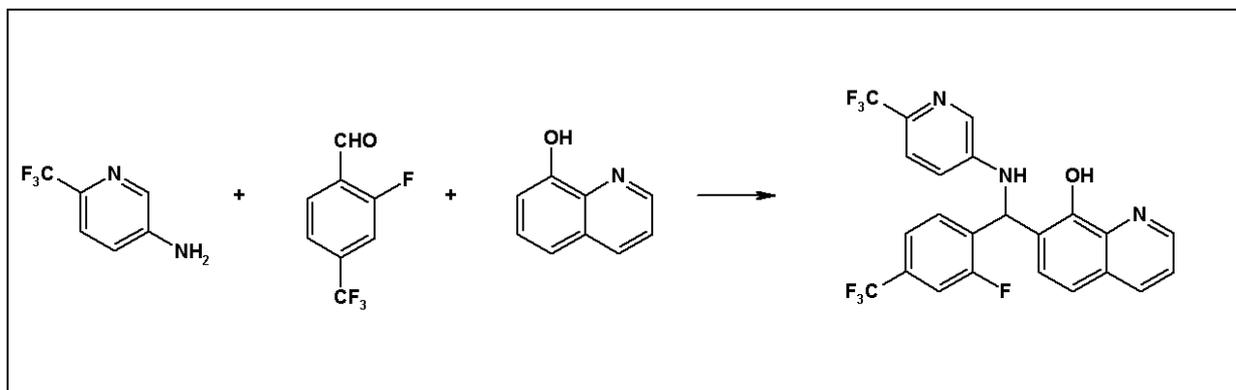
3 - アミノ - 6 - (トリフルオロメチル) ピリジン (Matrix) (1 . 6 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

【 0 6 5 0 】

A D 4 - 1 3 0 6 5 の調製：

20

【化 1 1 3】



30

【 0 6 5 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 5 2 】

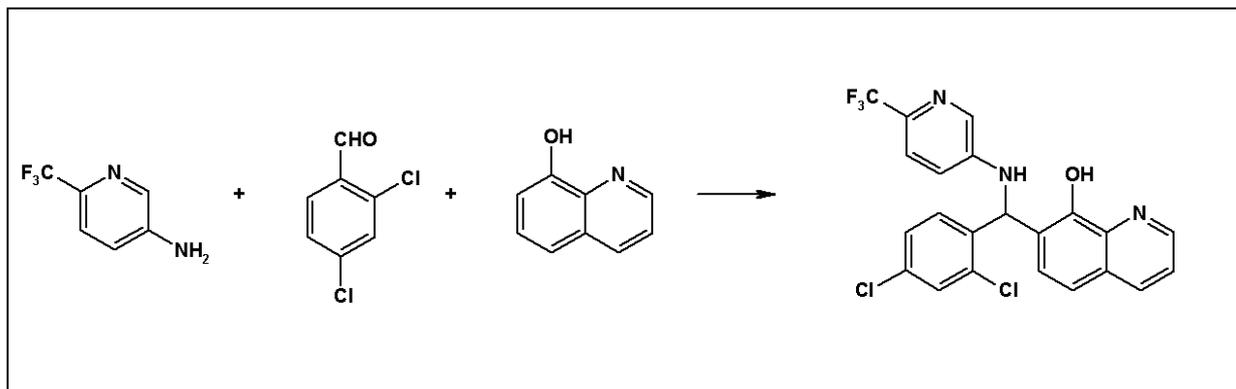
3 - アミノ - 6 - (トリフルオロメチル) ピリジン (Matrix) (1 . 6 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Matrix) (1 . 9 2 g、0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

40

【 0 6 5 3 】

A D 4 - 1 3 0 6 6 の調製：

【化 1 1 4】



10

【 0 6 5 4】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 5 5】

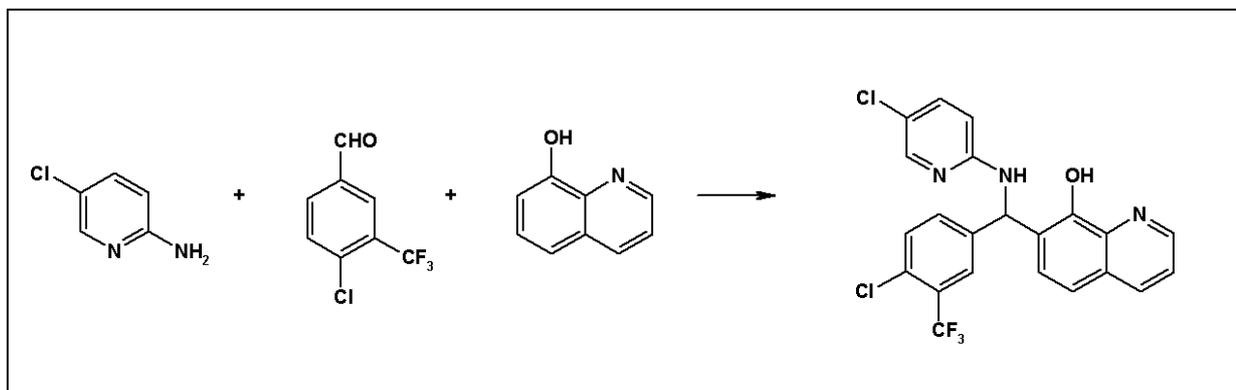
3 - アミノ - 6 - (トリフルオロメチル) ピリジン (Matrix) (1 . 6 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

【 0 6 5 6】

AD 4 - 1 3 0 6 7 の調製：

20

【化 1 1 5】



30

【 0 6 5 7】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 5 8】

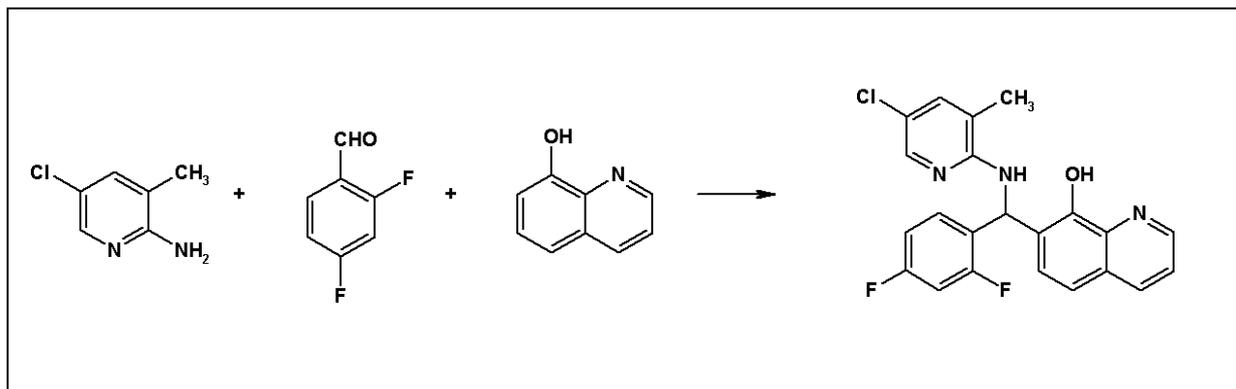
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 - (トリフルオロメチル) - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (2 . 0 9 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

40

【 0 6 5 9】

AD 4 - 1 3 0 6 8 の調製：

【化 1 1 6】



10

【 0 6 6 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 6 1】

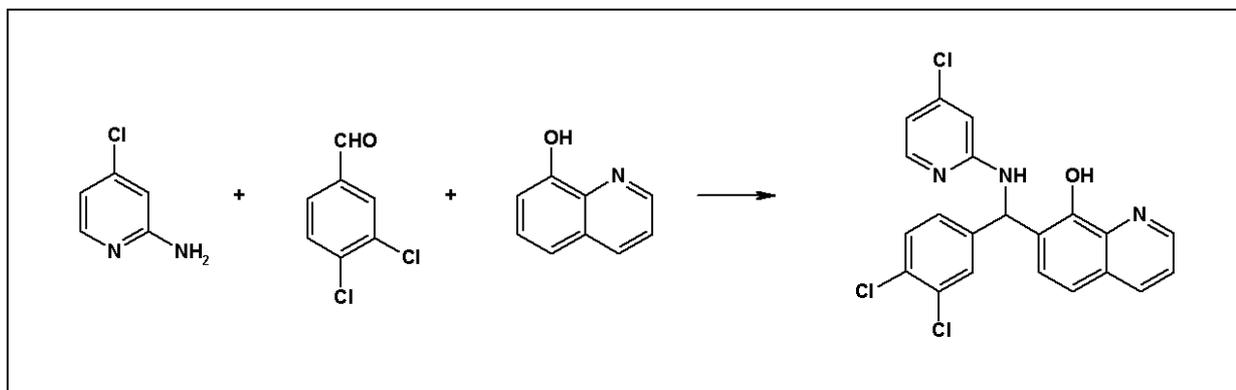
2 - アミノ - 5 - クロロ - 3 - メチルピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジフルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 2 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

【 0 6 6 2】

A D 4 - 1 3 0 6 9 の調製：

20

【化 1 1 7】



30

【 0 6 6 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 6 4】

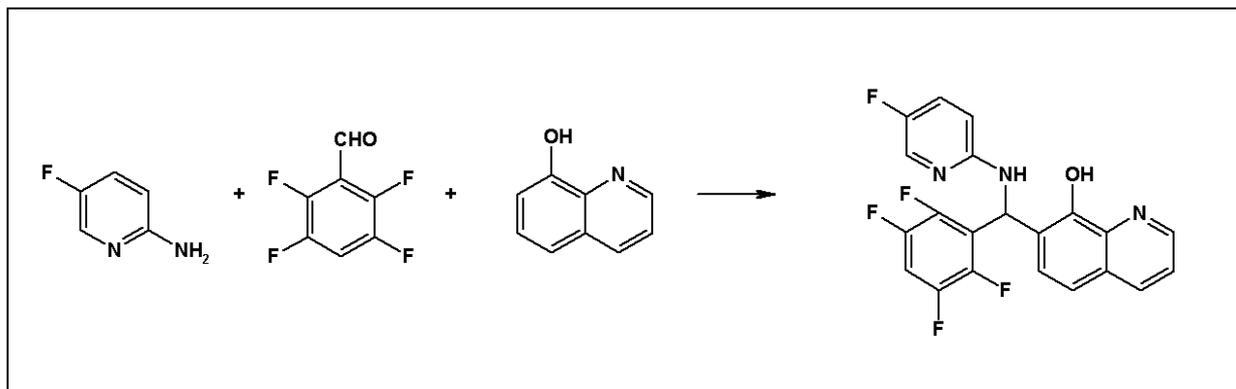
2 - アミノ - 4 - クロロピリジン (Matrix) (1 . 4 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を緑色固体として得る (融点 1 1 8 - 1 2 1) 。

40

【 0 6 6 5】

A D 4 - 1 3 0 7 0 の調製：

【化 1 1 8】



10

【0666】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0667】

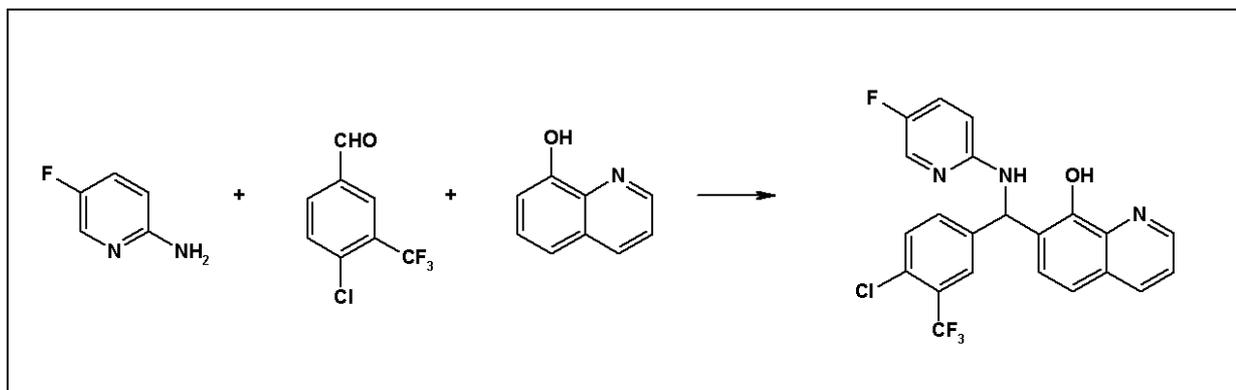
2-アミノ-5-フルオロピリジン (Matrix) (1.12 g、0.01モル) および 2,3,5,6-テトラフルオロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.78 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 87 - 90)。

20

【0668】

AD4-13071の調製：

【化 1 1 9】



30

【0669】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0670】

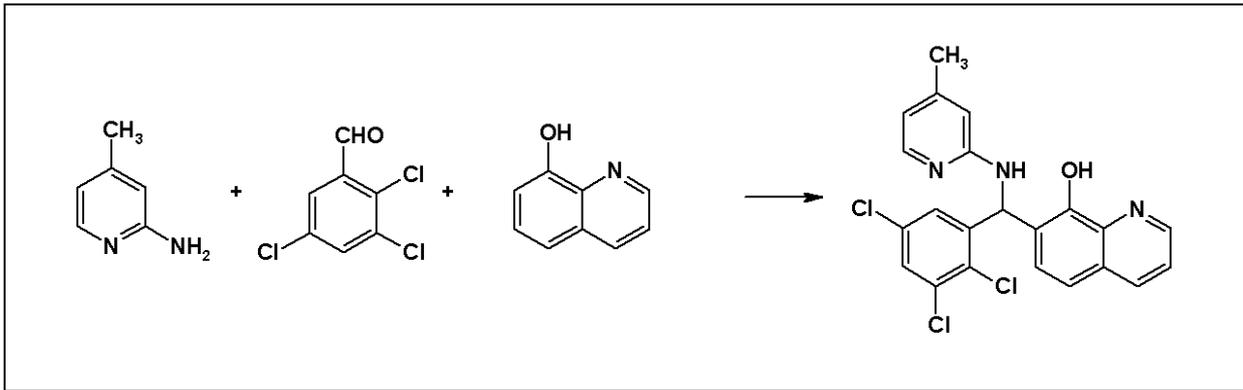
2-アミノ-5-フルオロピリジン (Matrix) (1.12 g、0.01モル) および 3-(トリフルオロメチル)-4-クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (2.09 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 76 - 86)。

40

【0671】

AD4-13072の調製：

【化 1 2 0】



10

【 0 6 7 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 7 3】

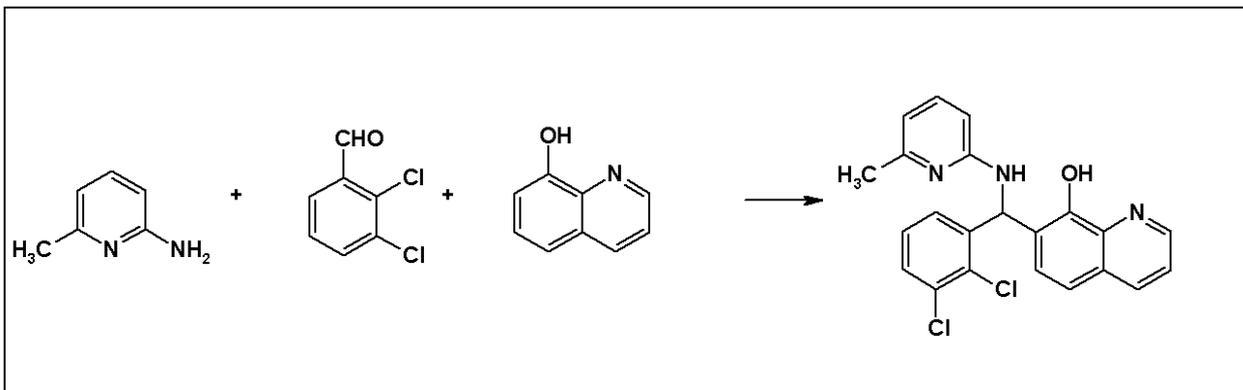
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 7 0 - 1 7 3) 。

20

【 0 6 7 4】

A D 4 - 1 3 0 7 3 の調製：

【化 1 2 1】



30

【 0 6 7 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 7 6】

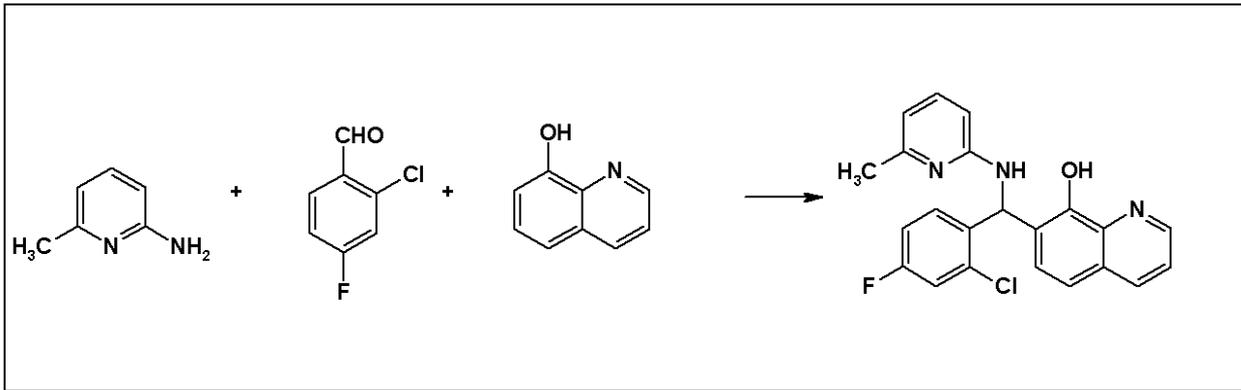
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 5 - 1 6 7) 。

40

【 0 6 7 7】

A D 4 - 1 3 0 7 4 の調製：

【化 1 2 2】



10

【0678】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0679】

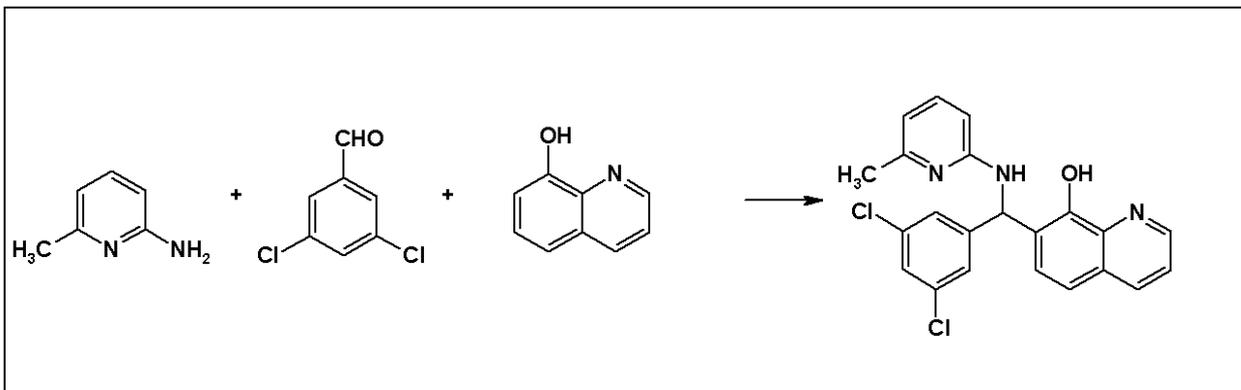
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.59 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 247 - 250)。

20

【0680】

AD4 - 13075 の調製：

【化 1 2 3】



30

【0681】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0682】

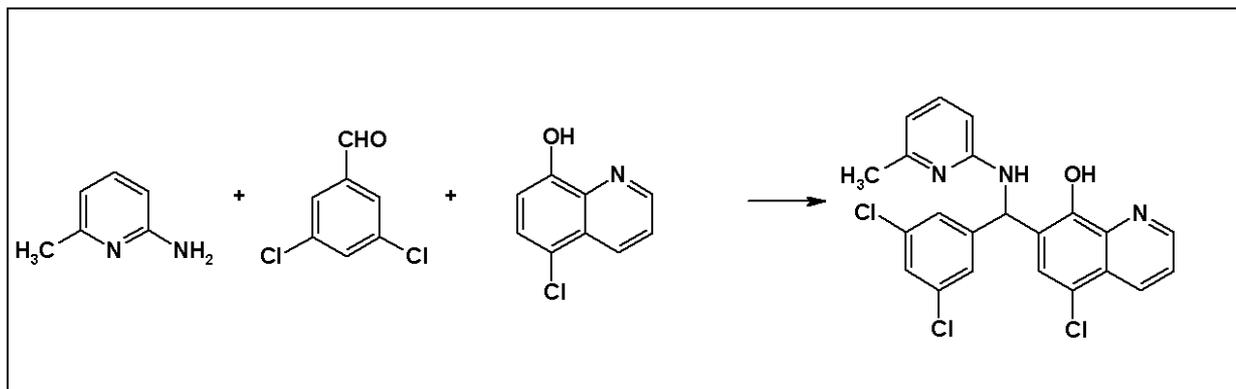
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 3,5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 126 - 129)。

40

【0683】

AD4 - 13076 の調製：

【化 1 2 4】



10

【0684】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0685】

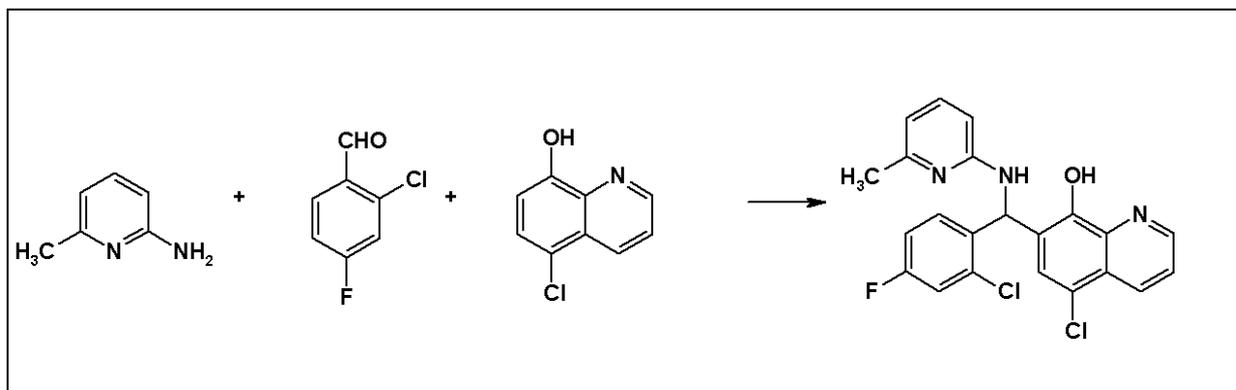
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 8 0 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 3 0 - 2 3 2) 。

20

【0686】

A D 4 - 1 3 0 7 7 の調製：

【化 1 2 5】



30

【0687】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0688】

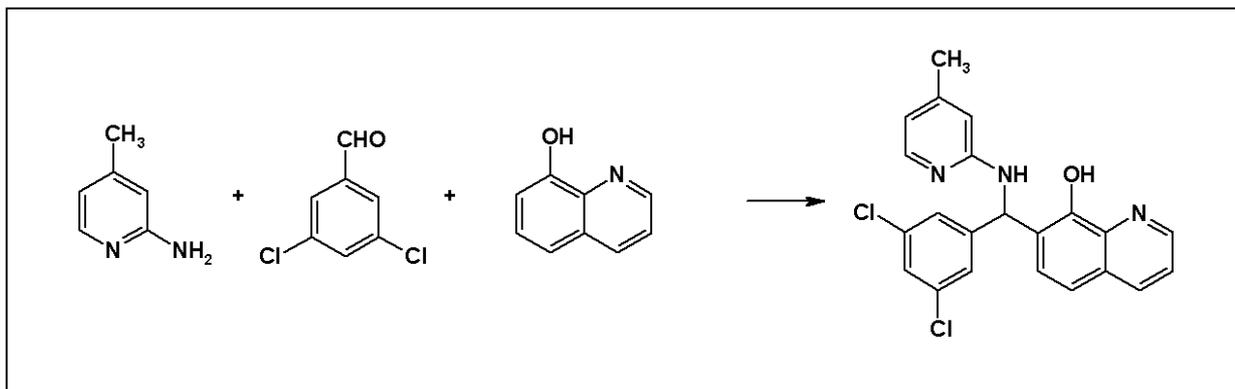
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 8 0 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 2 1 - 2 2 3) 。

40

【0689】

A D 4 - 1 3 0 7 8 の調製：

【化 1 2 6】



10

【 0 6 9 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 9 1】

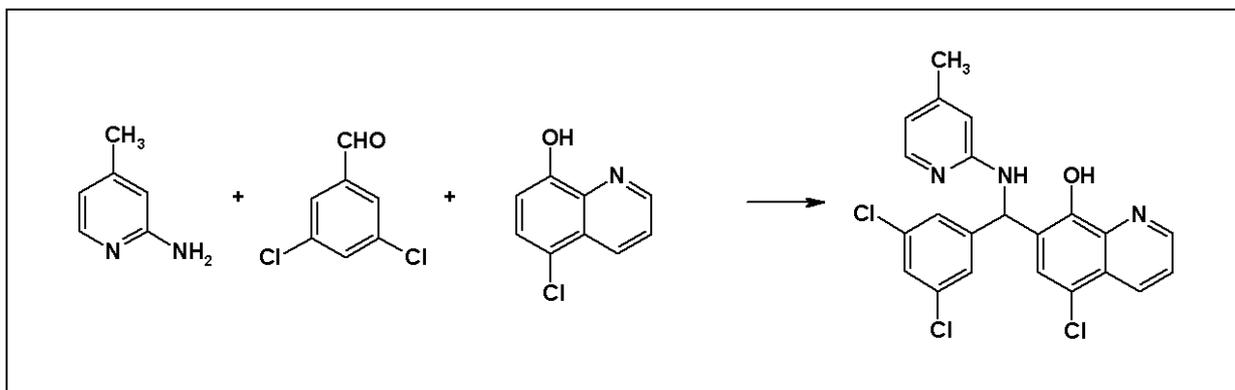
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 5 9 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 5 7 - 1 5 9) 。

20

【 0 6 9 2】

A D 4 - 1 3 0 7 9 の調製：

【化 1 2 7】



30

【 0 6 9 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 6 9 4】

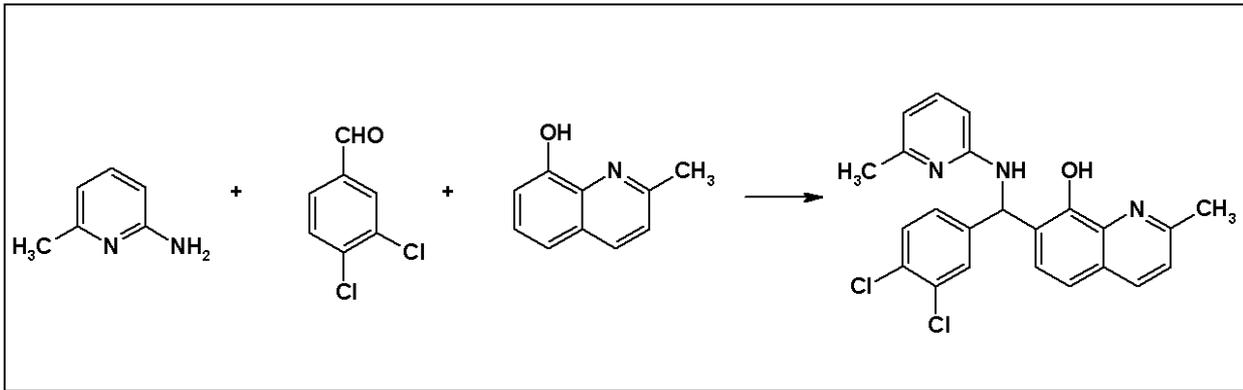
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 8 0 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 1 7 - 2 1 8) 。

40

【 0 6 9 5】

A D 4 - 1 3 0 8 0 の調製：

【化 1 2 8】



10

【0696】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0697】

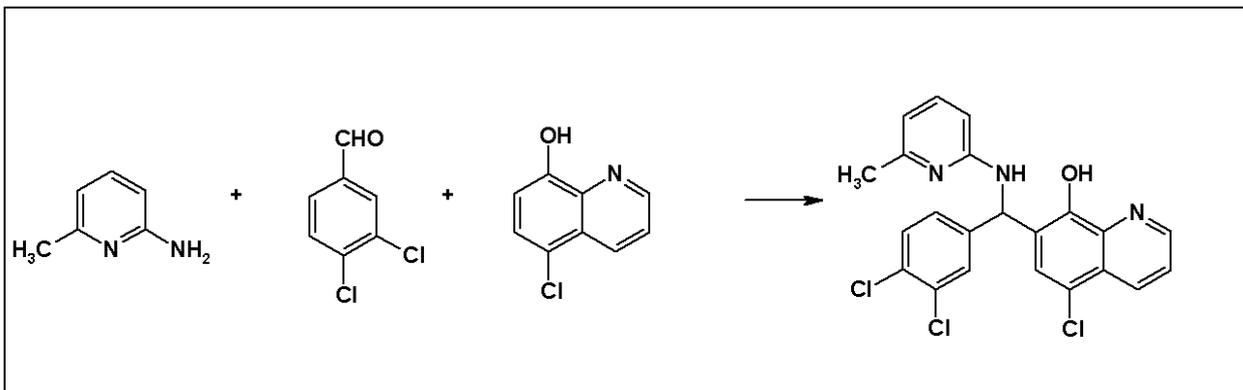
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 4 9 - 1 5 0) 。

20

【0698】

A D 4 - 1 3 0 8 1 の調製：

【化 1 2 9】



30

【0699】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0700】

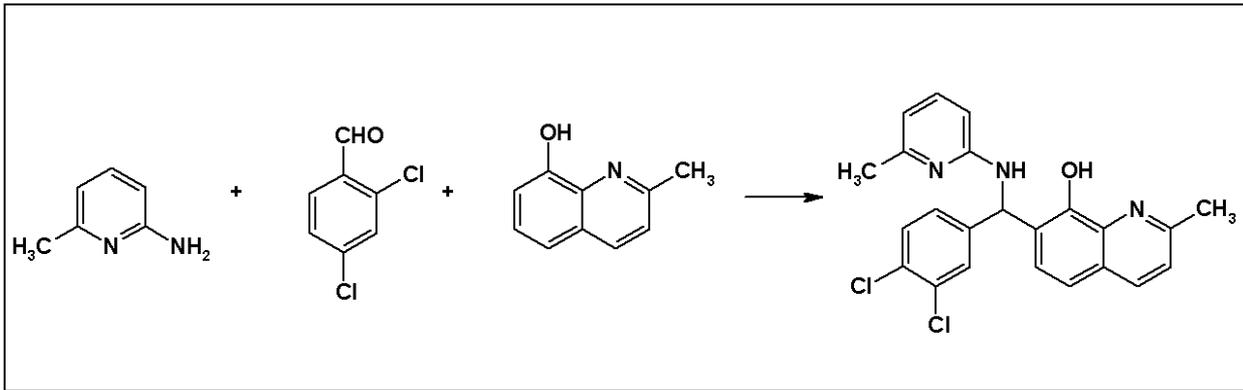
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 8 0 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 2 1 4 - 2 1 6) 。

40

【0701】

A D 4 - 1 3 0 8 2 の調製：

【化 1 3 0】



10

【0702】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0703】

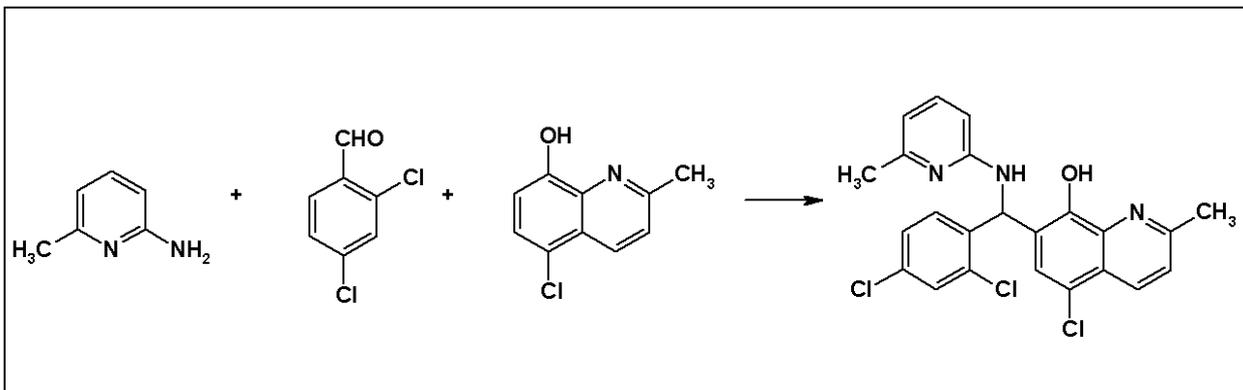
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 5 5 - 1 5 9) 。

20

【0704】

A D 4 - 1 3 0 8 3 の調製：

【化 1 3 1】



30

【0705】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0706】

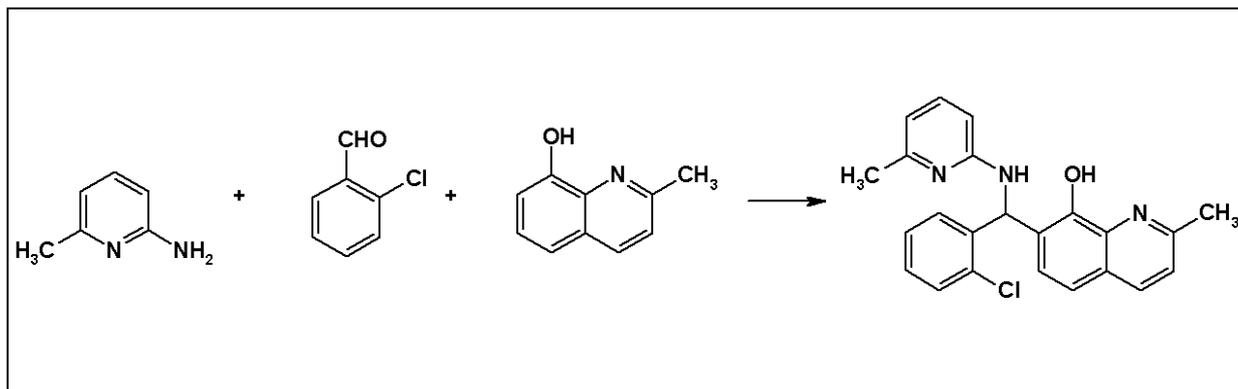
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 8 0 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 2 0 1 - 2 0 2) 。

40

【0707】

A D 4 - 1 3 0 8 4 の調製：

【化 1 3 2】



10

【0708】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0709】

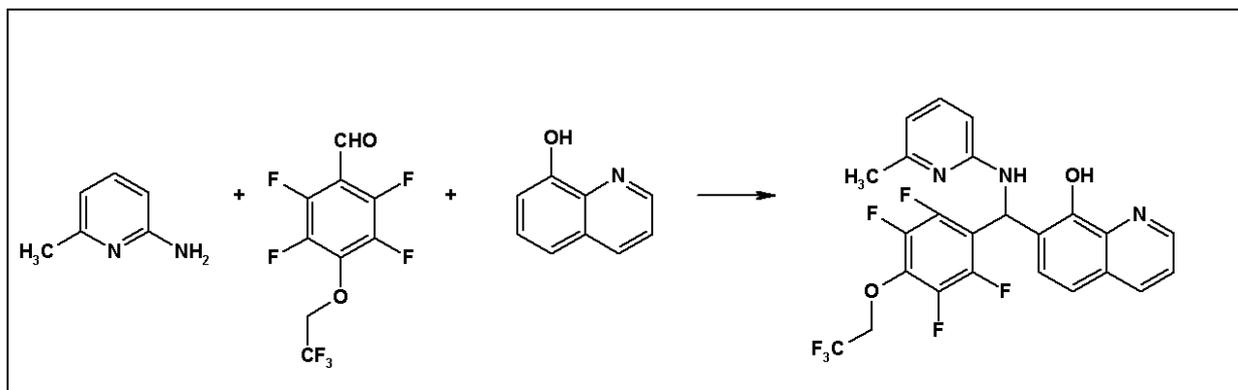
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキナルジン (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 9 1 - 1 9 7) 。

20

【0710】

A D 4 - 1 3 0 8 5 の調製：

【化 1 3 3】



30

【0711】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0712】

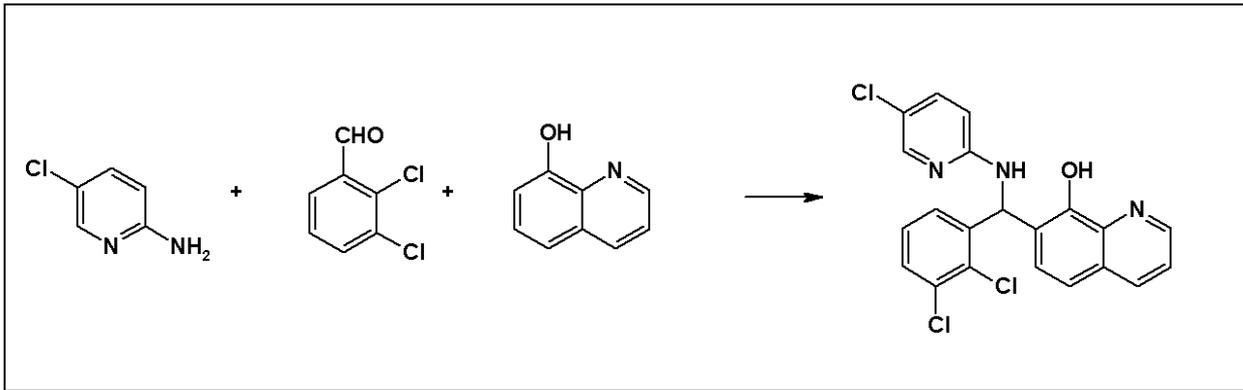
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロ - 4 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエトキシ) ベンズアルデヒド (B B M - 0 0 1 - 0 0 9 ; 2 . 7 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 3 1 - 1 3 3) 。

40

【0713】

A D 4 - 1 3 0 8 6 の調製：

【化 1 3 4】



10

【0714】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0715】

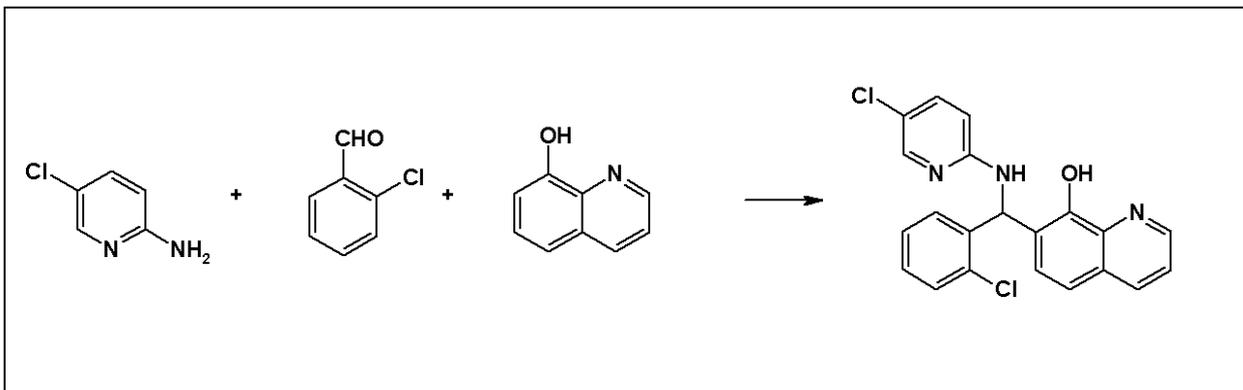
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 5 5 - 1 5 6) 。

20

【0716】

A D 4 - 1 3 0 8 7 の調製：

【化 1 3 5】



30

【0717】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0718】

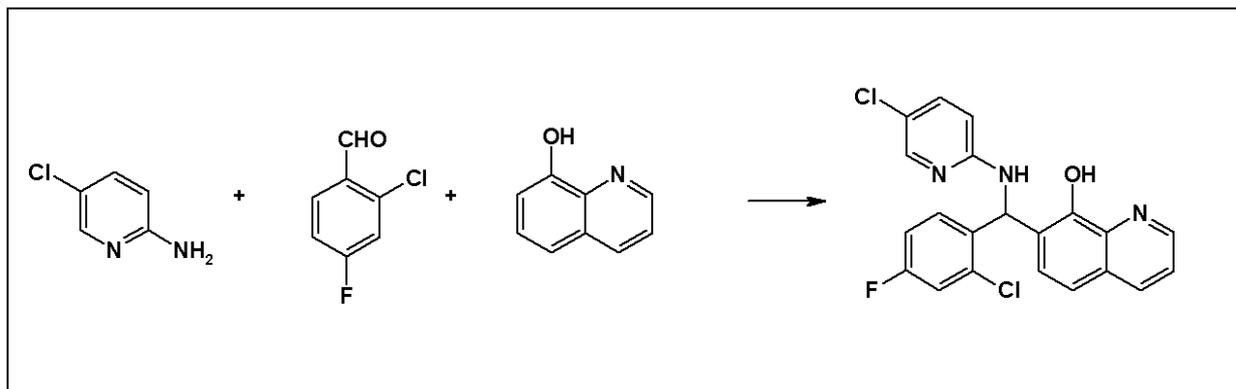
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 9 4 - 1 9 7) 。

40

【0719】

A D 4 - 1 3 0 8 8 の調製：

【化 1 3 6】



10

【0720】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0721】

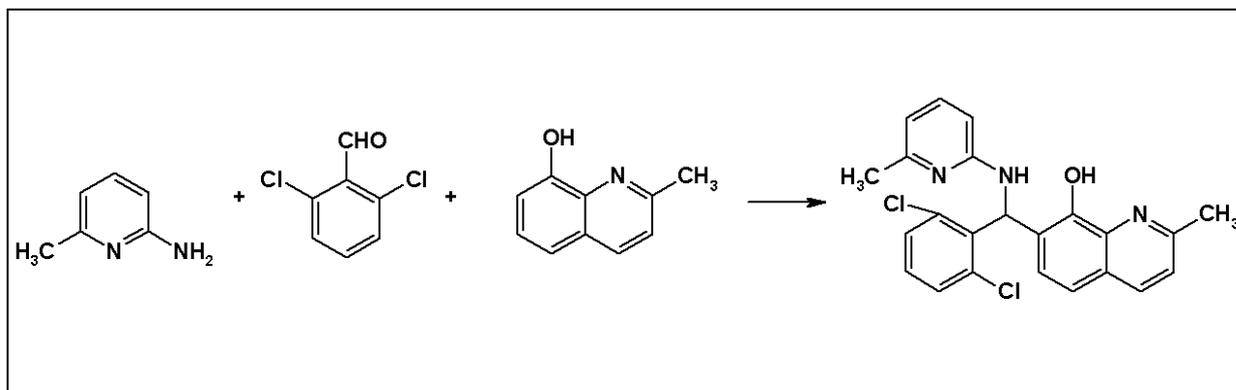
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.29 g、0.01 モル) および 2,4 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.59 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 166 - 169)。

20

【0722】

AD4 - 13089 の調製：

【化 1 3 7】



30

【0723】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0724】

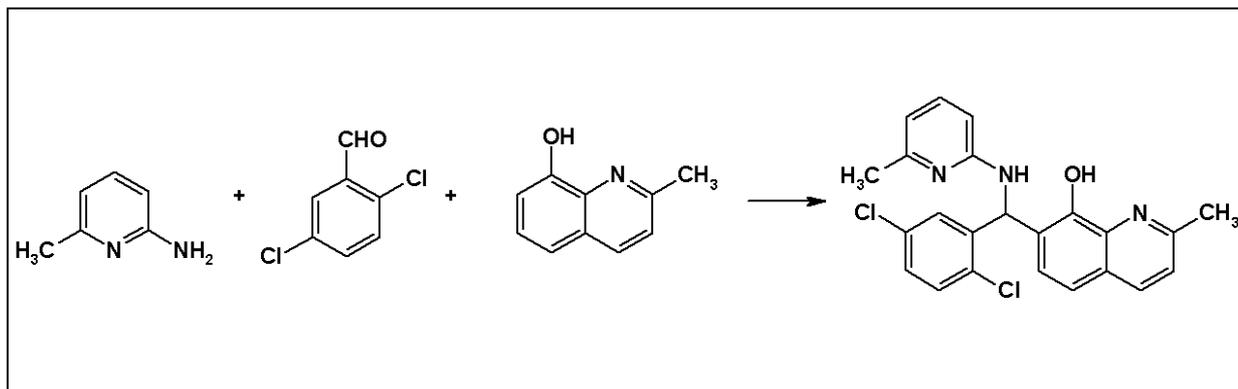
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.59 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 181 - 183)。

40

【0725】

AD4 - 13090 の調製：

【化 1 3 8】



10

【0726】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0727】

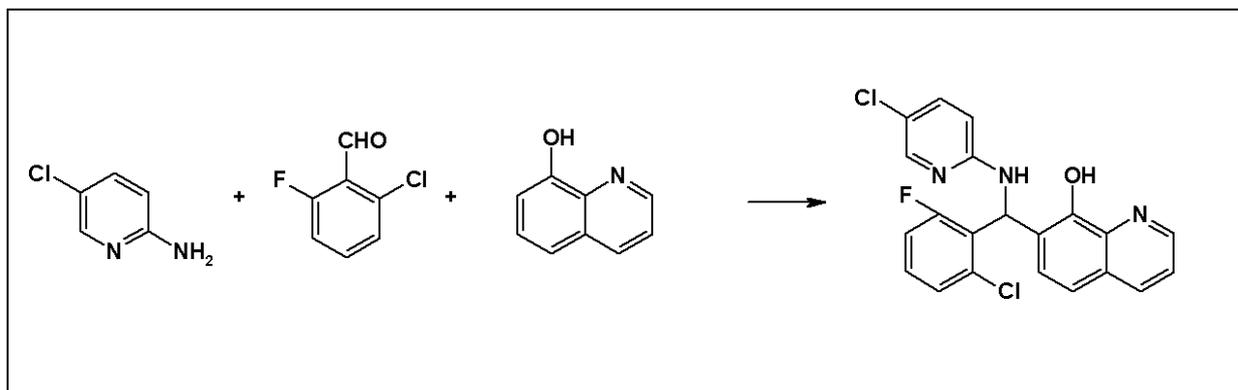
2 - アミノ - 6 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 2,5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.59 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 159 - 161)。

20

【0728】

AD4 - 13091 の調製：

【化 1 3 9】



30

【0729】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0730】

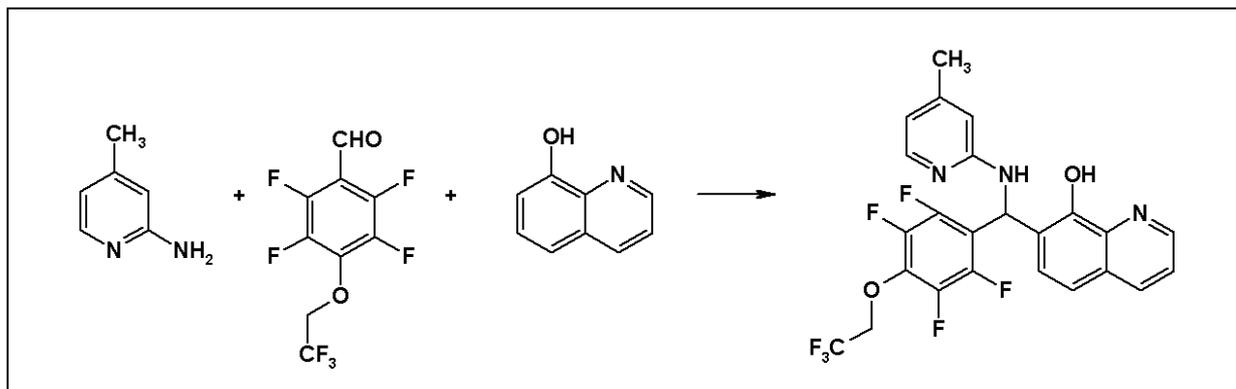
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.29 g、0.01 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.59 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 104 - 108)。

40

【0731】

AD4 - 13092 の調製：

【化 1 4 0】



10

【 0 7 3 2 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 3 3 】

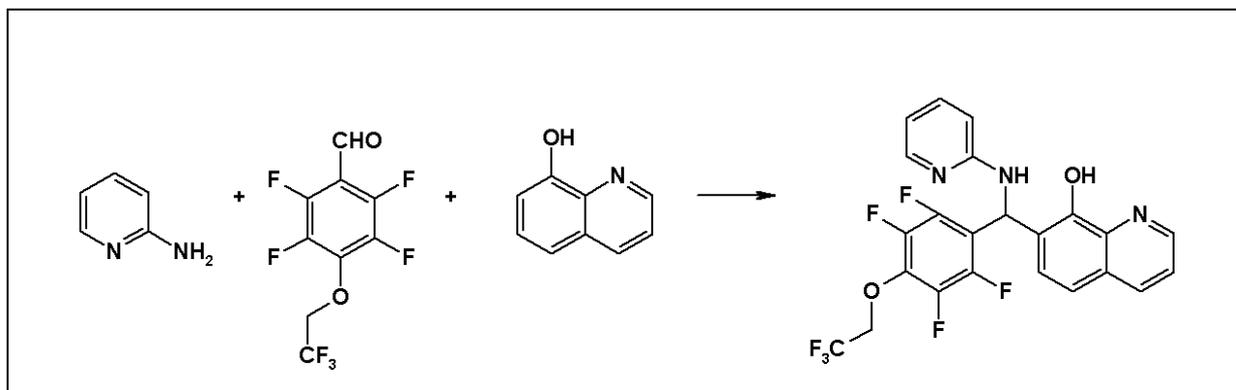
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロ - 4 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエトキシ) ベンズアルデヒド (B B M - 0 0 1 - 0 0 9 ; 2 . 7 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 4 5 - 1 4 6) 。

20

【 0 7 3 4 】

A D 4 - 1 3 0 9 3 の調製：

【化 1 4 1】



30

【 0 7 3 5 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 3 6 】

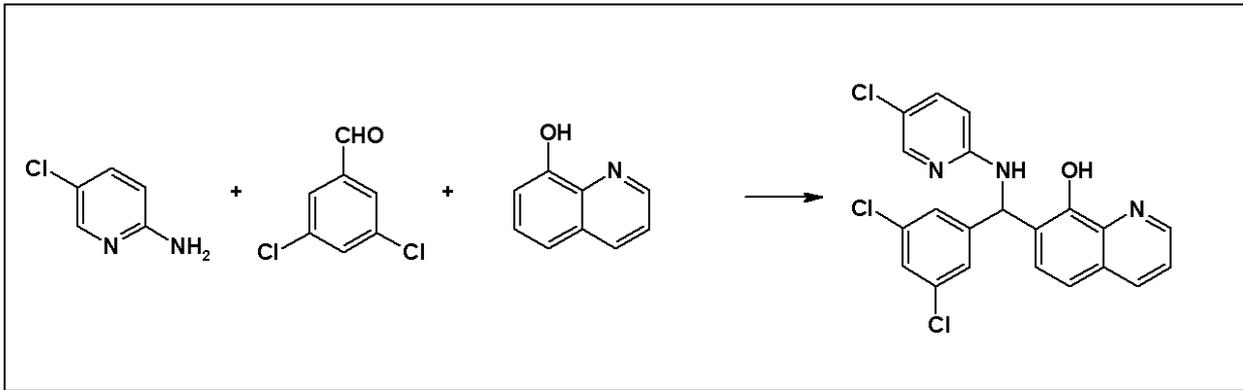
2 - アミノピリジン (Acros Organics) (0 . 9 4 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロ - 4 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエトキシ) ベンズアルデヒド (B B M - 0 0 1 - 0 0 9 ; 2 . 7 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 0 6 - 1 0 9) 。

40

【 0 7 3 7 】

A D 4 - 1 3 0 9 4 の調製：

【化 1 4 2】



10

【 0 7 3 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 3 9 】

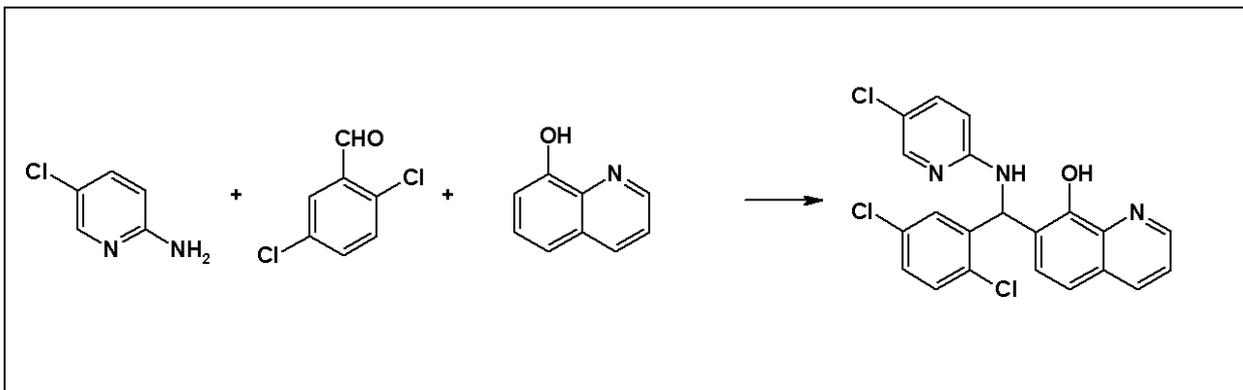
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 2 3 - 1 2 6) 。

20

【 0 7 4 0 】

A D 4 - 1 3 0 9 5 の調製：

【化 1 4 3】



30

【 0 7 4 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 4 2 】

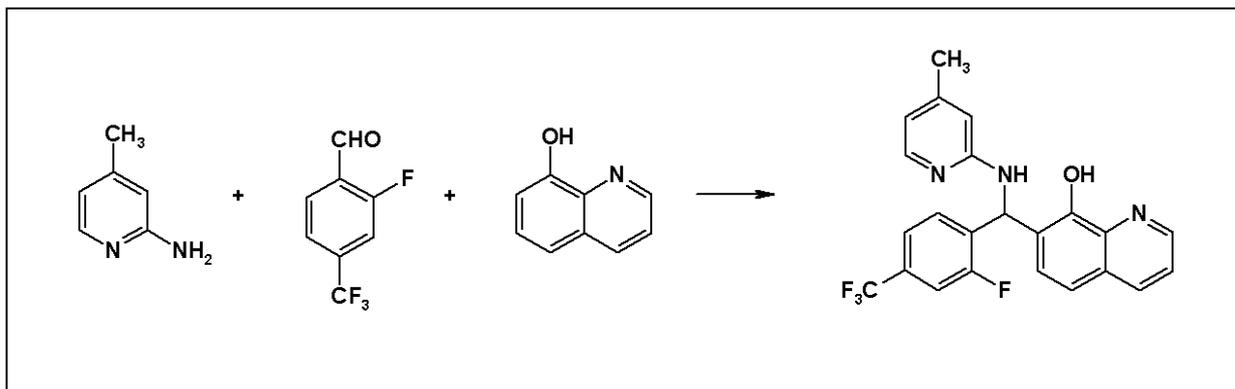
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 9 7 - 2 0 4) 。

40

【 0 7 4 3 】

A D 4 - 1 3 0 9 6 の調製：

【化 1 4 4】



10

【0744】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0745】

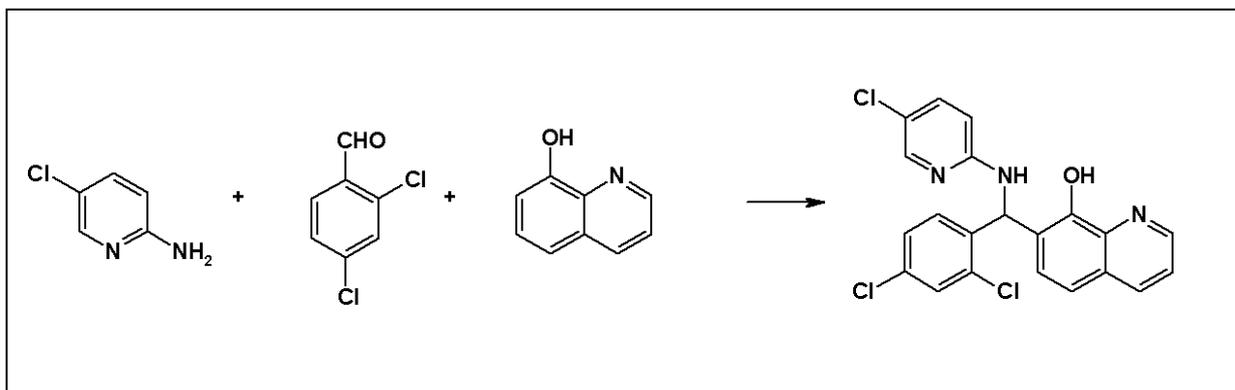
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1.08 g、0.01 モル) および 2 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.92 g、0.01) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 160 - 161)。

20

【0746】

AD4 - 13097 の調製：

【化 1 4 5】



30

【0747】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0748】

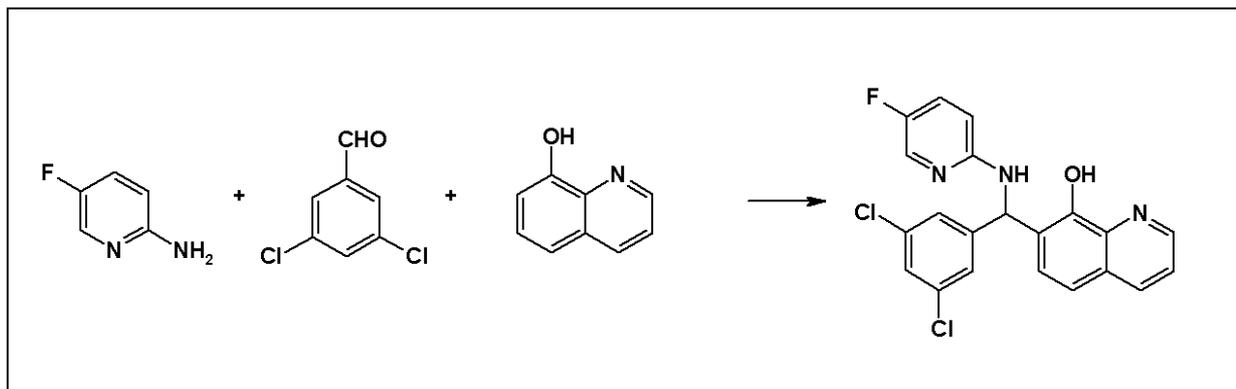
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.29 g、0.01 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 155 - 156)。

40

【0749】

AD4 - 13098 の調製：

【化 1 4 6】



10

【 0 7 5 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 5 1】

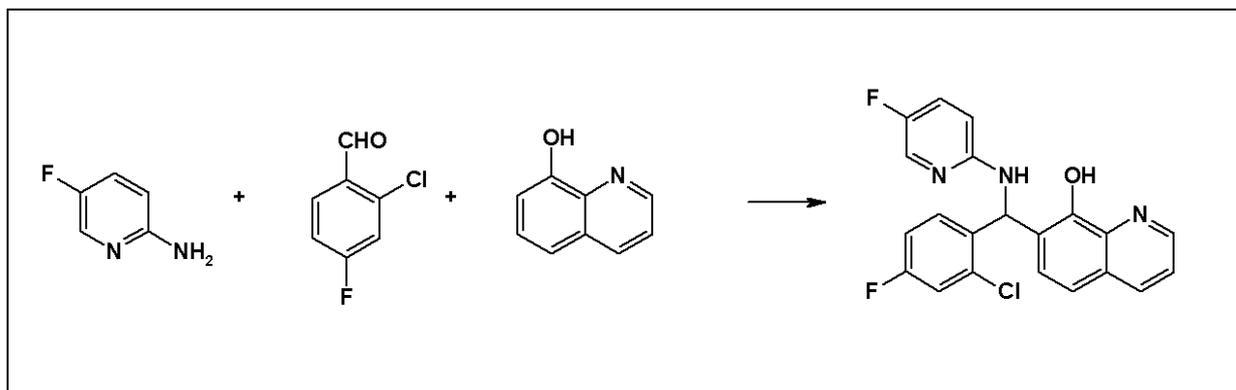
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 4 0 - 1 4 1) 。

20

【 0 7 5 2】

A D 4 - 1 3 0 9 9 の調製：

【化 1 4 7】



30

【 0 7 5 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 5 4】

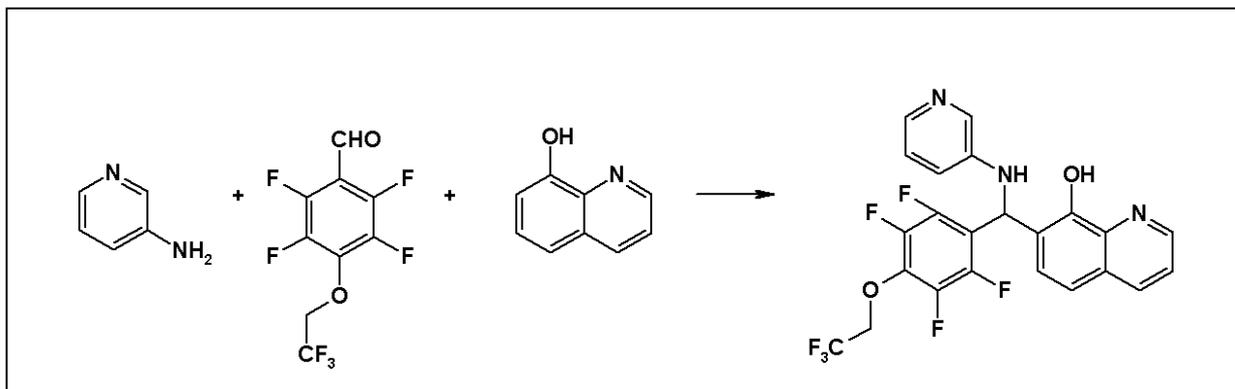
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 8 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 2 6 - 1 2 8) 。

40

【 0 7 5 5】

A D 4 - 1 3 1 0 1 の調製：

【化 1 4 8】



10

【 0 7 5 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 5 7 】

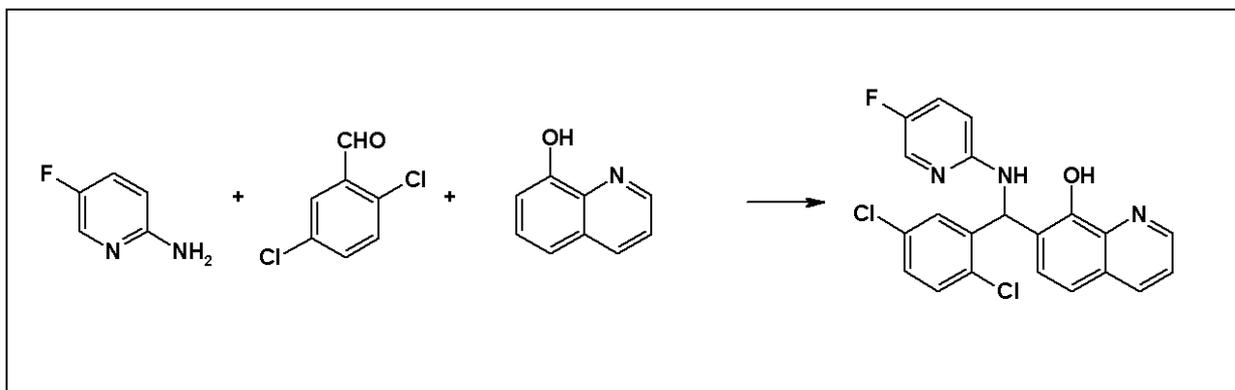
3 - アミノピリジン (Acros Organics) (0 . 9 4 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロ - 4 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエトキシ) ベンズアルデヒド (B B M - 0 0 1 - 0 0 9 ; 2 . 7 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を褐色固体として得る (融点 7 2 - 7 6) 。

20

【 0 7 5 8 】

A D 4 - 1 3 1 0 2 の調製：

【化 1 4 9】



30

【 0 7 5 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 6 0 】

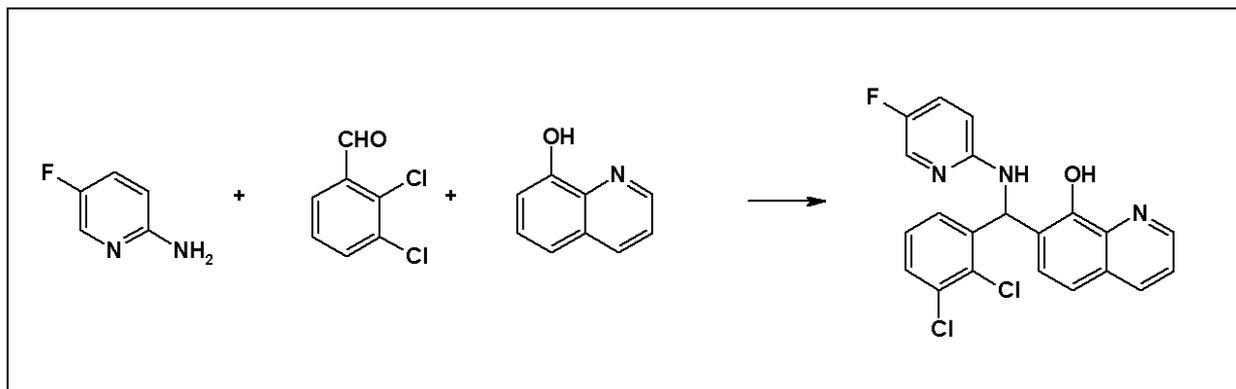
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 9 3 - 1 9 5) 。

40

【 0 7 6 1 】

A D 4 - 1 3 1 0 3 の調製：

【化 1 5 0】



10

【 0 7 6 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 6 3】

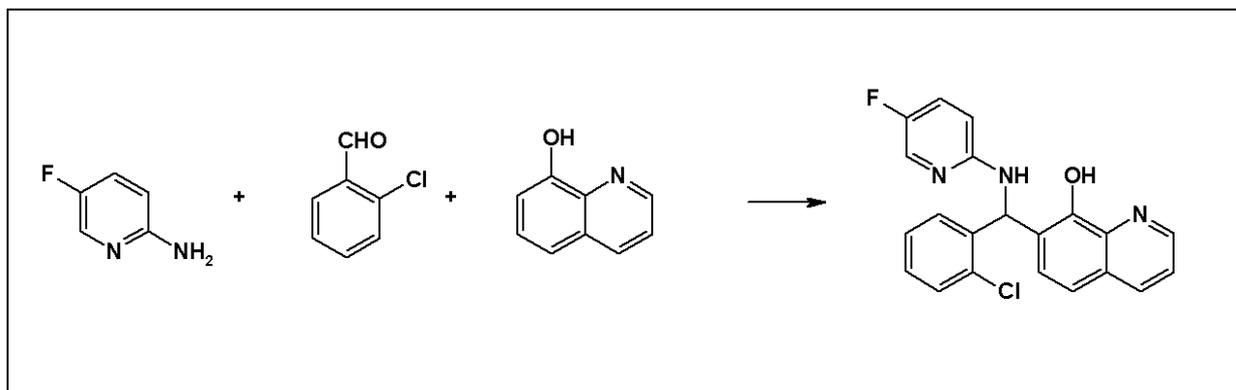
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 4 8 - 1 5 0) 。

20

【 0 7 6 4】

A D 4 - 1 3 1 0 4 の調製：

【化 1 5 1】



30

【 0 7 6 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 6 6】

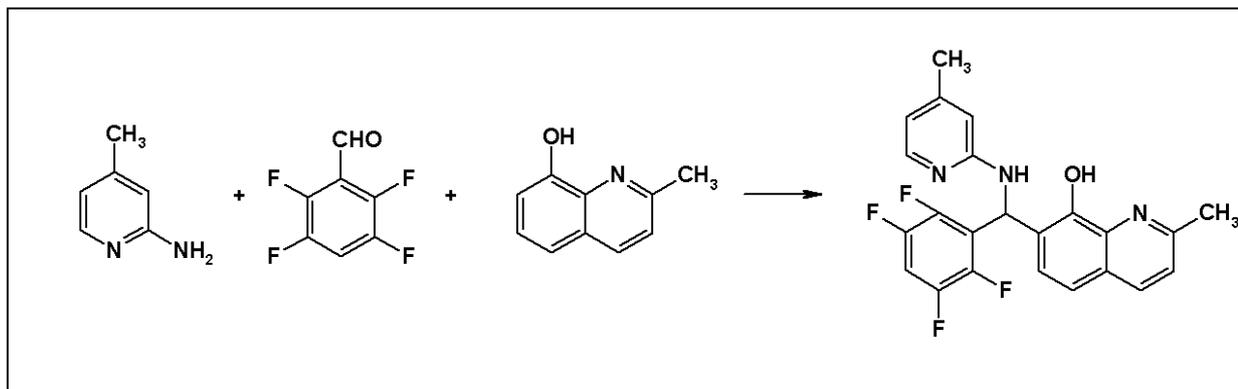
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 0 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄色固体として得る (融点 1 4 4 - 1 4 5) 。

40

【 0 7 6 7】

A D 4 - 1 3 1 0 5 の調製：

【化 1 5 2】



10

【 0 7 6 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 6 9 】

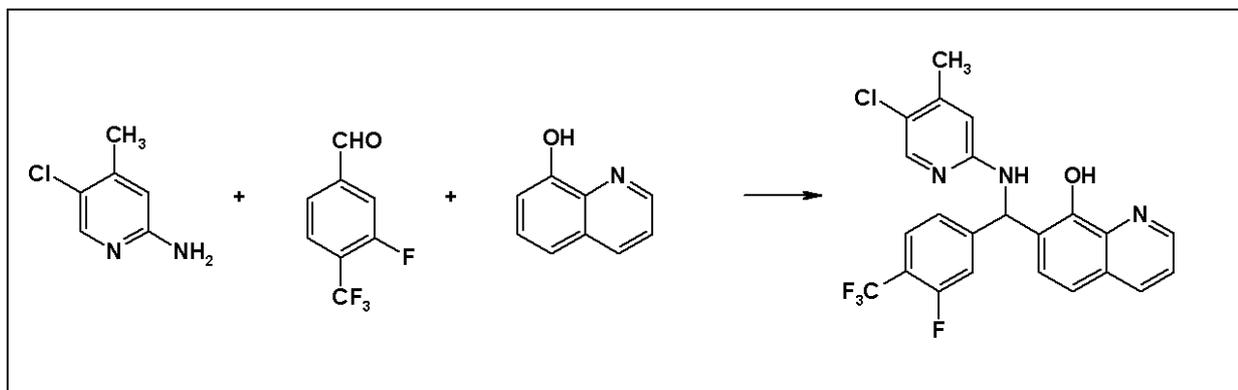
2 - アミノ - 4 - ピコリン (Acros Organics) (1 . 0 8 g、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 8 g、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキナルジン (Acros Organics) (1 . 5 9 g、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明橙色固体として得る (融点 7 4 - 7 6) 。

20

【 0 7 7 0 】

A D 4 - 1 3 1 0 6 の調製：

【化 1 5 3】



30

【 0 7 7 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 7 2 】

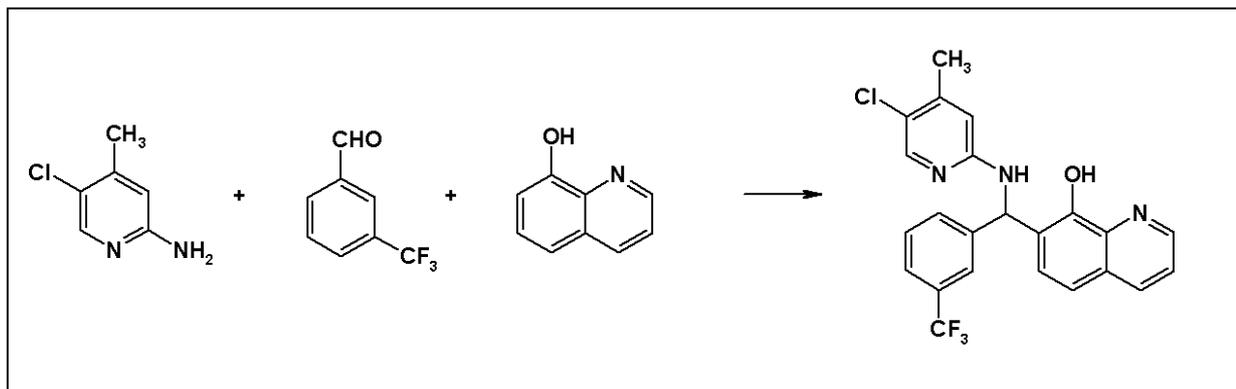
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g、 0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 9 2 g、 0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 6 7 - 1 6 8) 。

40

【 0 7 7 3 】

A D 4 - 1 3 1 0 7 の調製：

【化 1 5 4】



10

【0774】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0775】

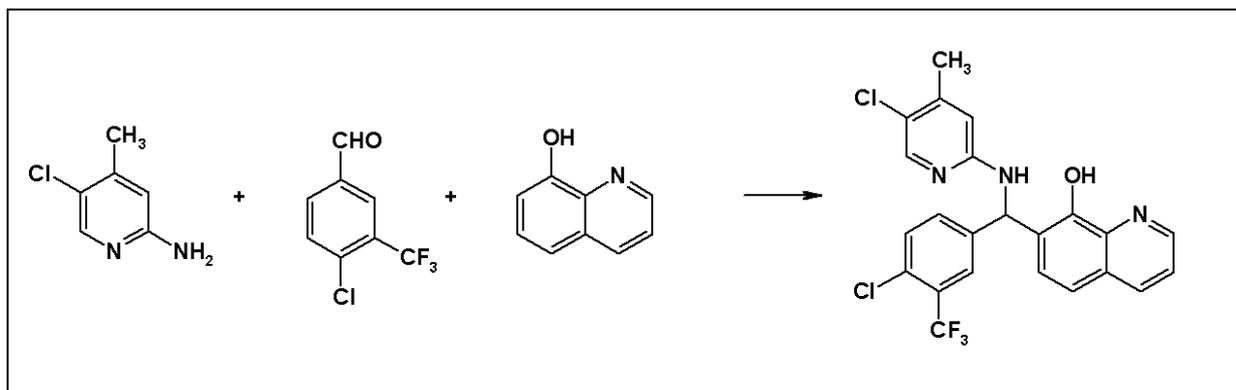
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 4 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 1 0 - 1 1 2) 。

20

【0776】

A D 4 - 1 3 1 0 8 の調製：

【化 1 5 5】



30

【0777】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0778】

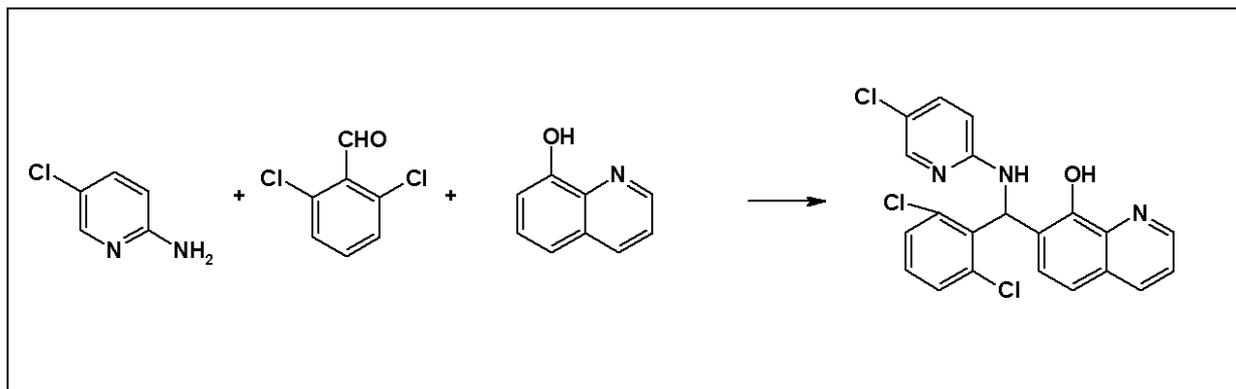
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - トリフルオロメチル - 4 - クロロ benzaldehyde (Oakwood Products) (2 . 0 8 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 7 6 - 1 7 7) 。

40

【0779】

A D 4 - 1 3 1 0 9 の調製：

【化 1 5 6】



10

【 0 7 8 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 8 1】

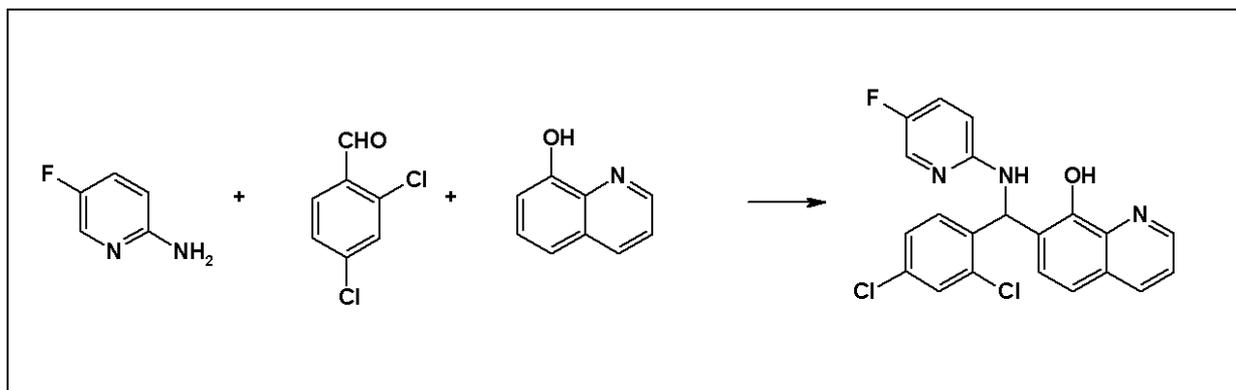
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 6 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 0 2 - 2 0 4) 。

20

【 0 7 8 2】

A D 4 - 1 3 1 1 0 の調製：

【化 1 5 7】



30

【 0 7 8 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 8 4】

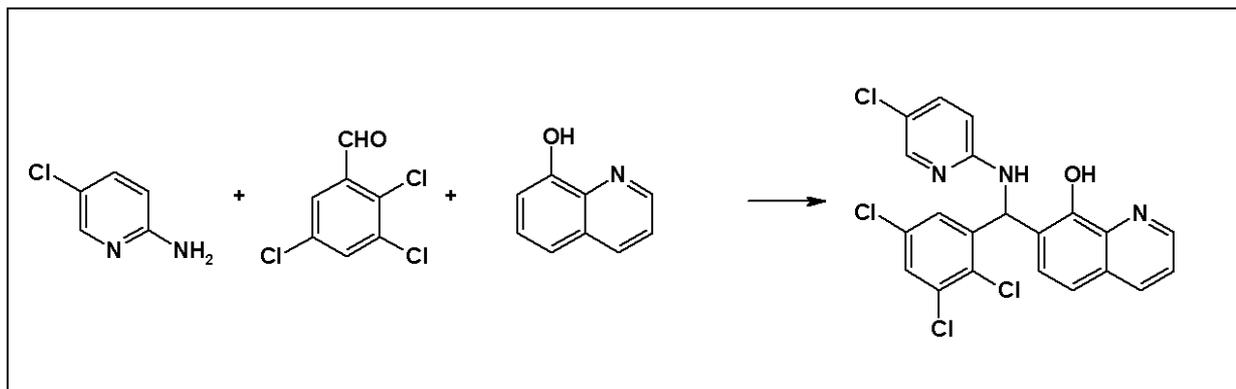
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g、0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 1 3 - 1 1 4) 。

40

【 0 7 8 5】

A D 4 - 1 3 1 1 1 の調製：

【化 1 5 8】



10

【0786】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0787】

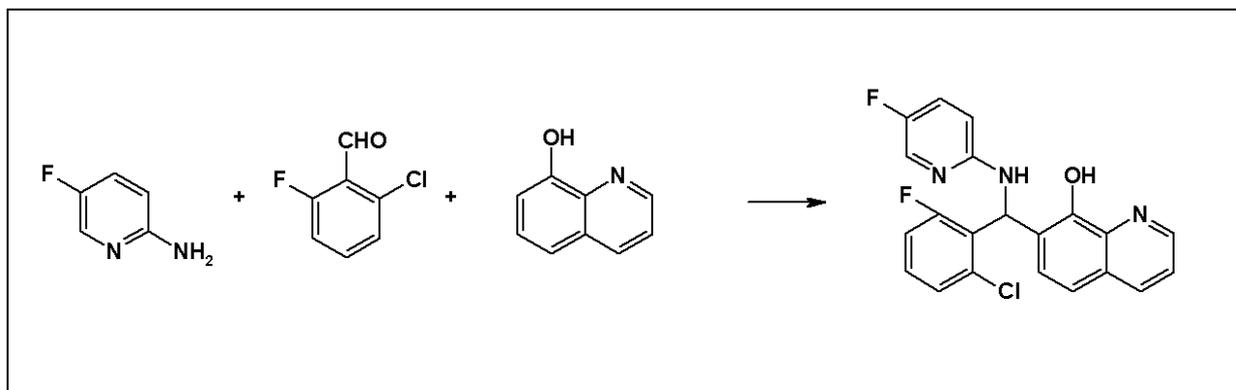
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.29 g、0.01 モル) および 2,3,5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2.09 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 163 - 165)。

20

【0788】

AD4 - 13112 の調製：

【化 1 5 9】



30

【0789】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0790】

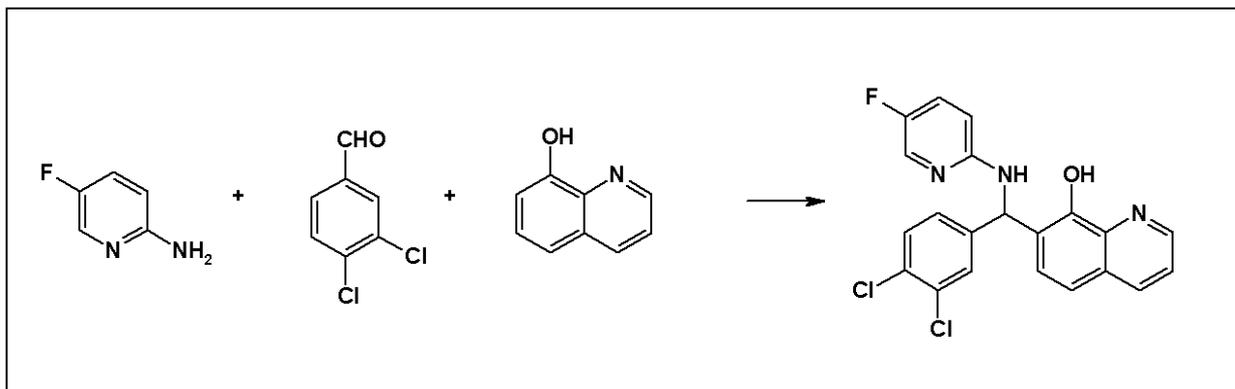
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1.12 g、0.01 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.58 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 135 - 136)。

40

【0791】

AD4 - 13113 の調製：

【化 1 6 0】



10

【 0 7 9 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 9 3】

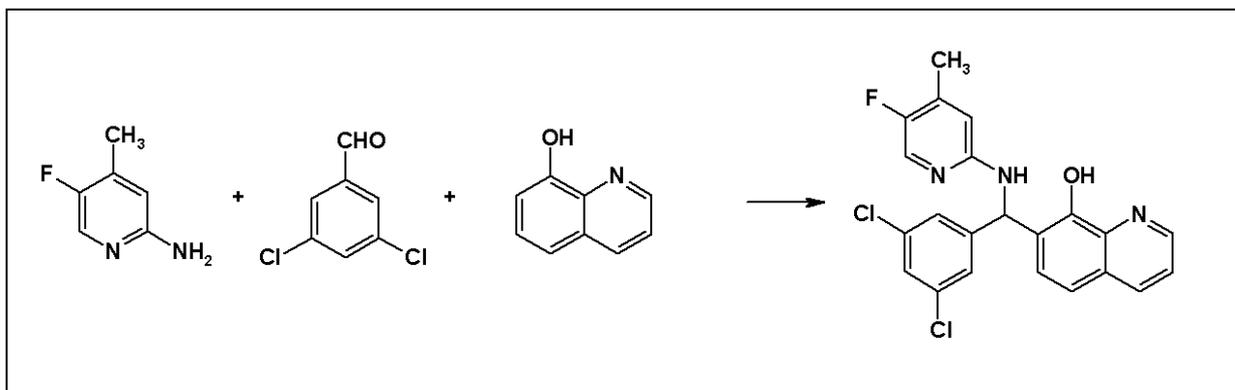
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 1 4 - 1 1 6) 。

20

【 0 7 9 4】

A D 4 - 1 3 1 1 4 の調製：

【化 1 6 1】



30

【 0 7 9 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 9 6】

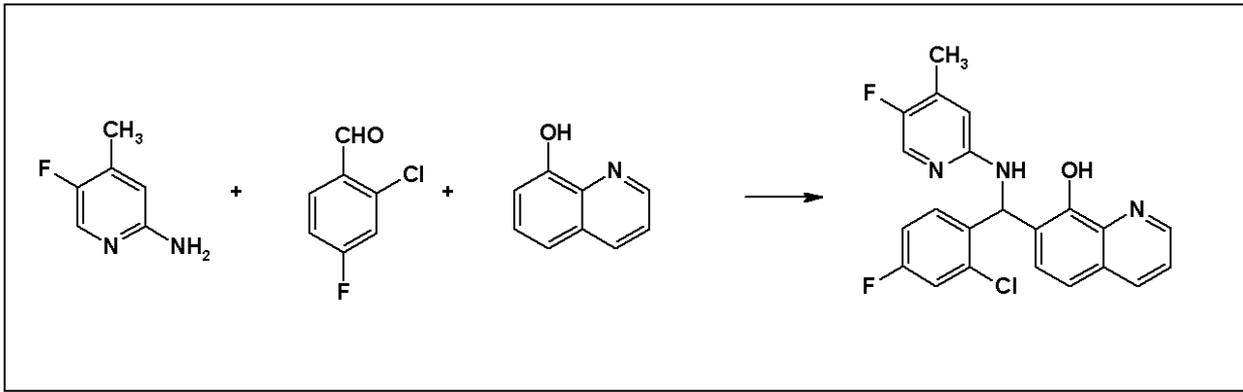
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g、0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 3 2 - 1 3 3) 。

40

【 0 7 9 7】

A D 4 - 1 3 1 1 5 の調製：

【化 1 6 2】



10

【 0 7 9 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 7 9 9 】

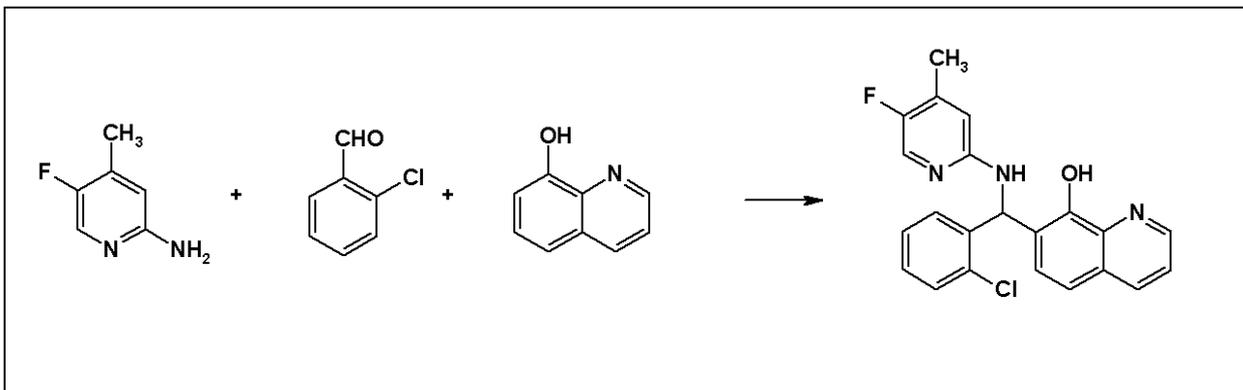
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 3 - 1 6 5) 。

20

【 0 8 0 0 】

A D 4 - 1 3 1 1 6 の調製：

【化 1 6 3】



30

【 0 8 0 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 0 2 】

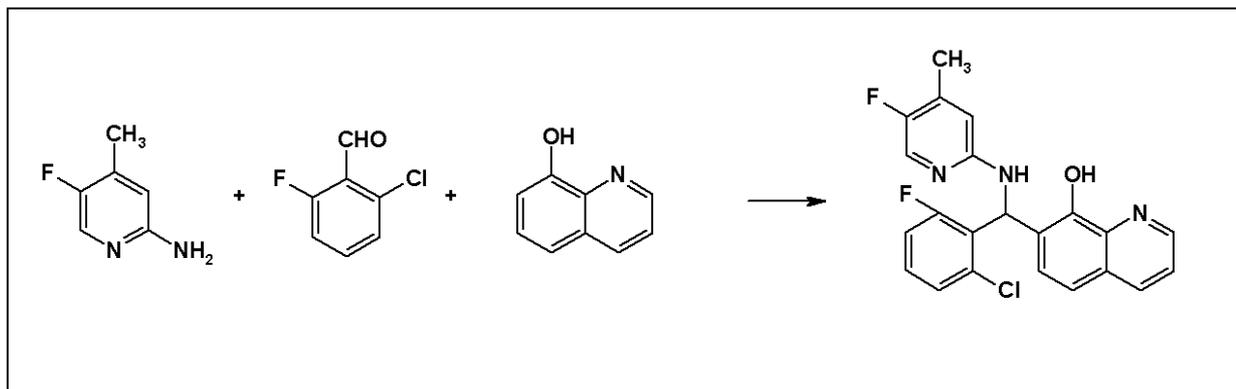
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 6 - 1 6 8) 。

40

【 0 8 0 3 】

A D 4 - 1 3 1 1 7 の調製：

【化 1 6 4】



10

【 0 8 0 4】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 0 5】

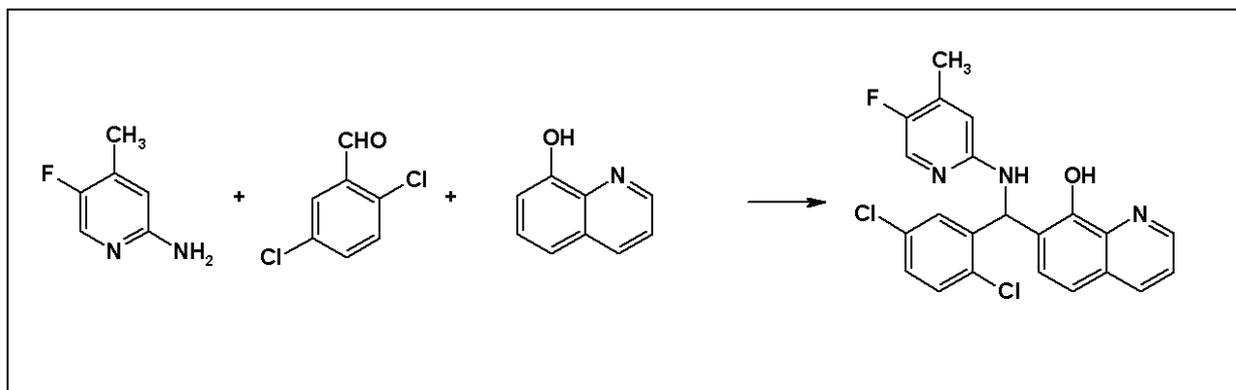
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 6 6 - 1 6 8) 。

20

【 0 8 0 6】

A D 4 - 1 3 1 1 8 の調製：

【化 1 6 5】



30

【 0 8 0 7】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 0 8】

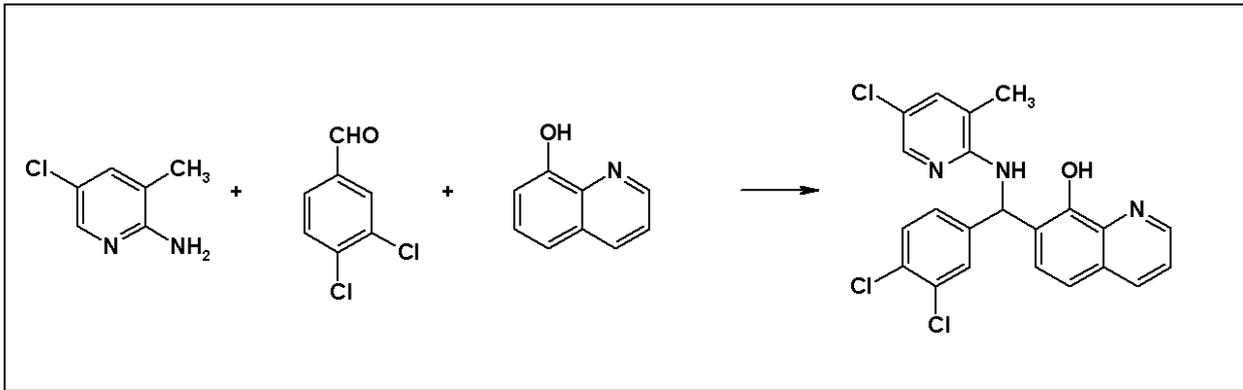
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 2 0 9 - 2 1 6) 。

40

【 0 8 0 9】

A D 4 - 1 3 1 1 9 の調製：

【化 1 6 6】



10

【 0 8 1 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 1 1】

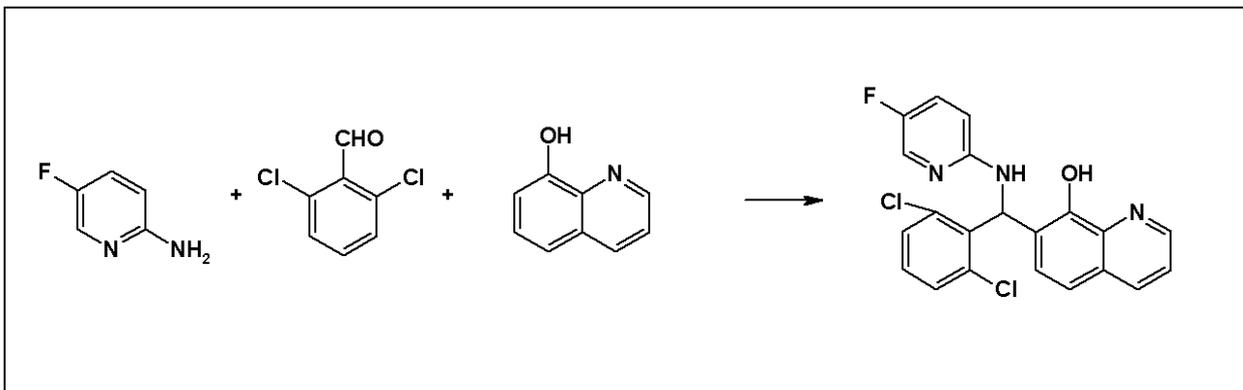
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と して 得 る (融 点 1 4 0 - 1 4 1) 。

20

【 0 8 1 2】

A D 4 - 1 3 1 2 0 の 調 製 :

【化 1 6 7】



30

【 0 8 1 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 1 4】

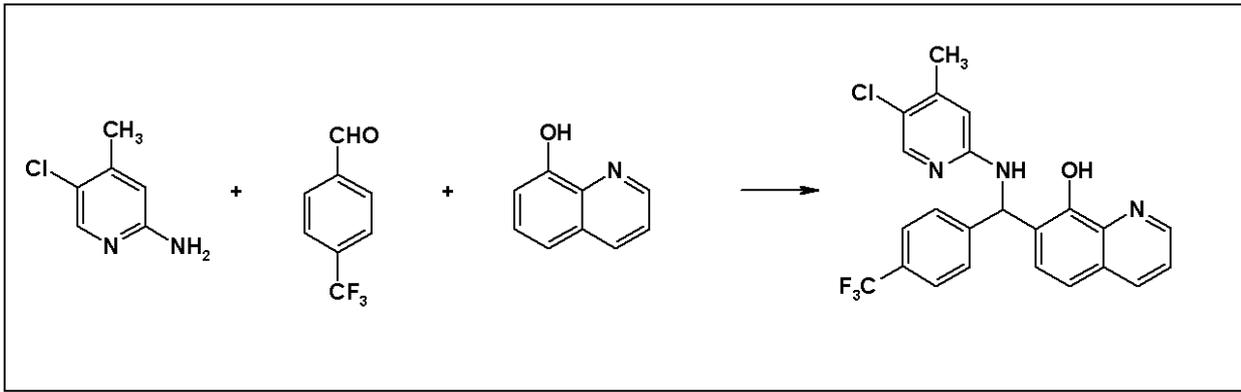
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 6 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と して 得 る (融 点 1 6 0 - 1 6 1) 。

40

【 0 8 1 5】

A D 4 - 1 3 1 2 1 の 調 製 :

【化 1 6 8】



10

【 0 8 1 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 1 7 】

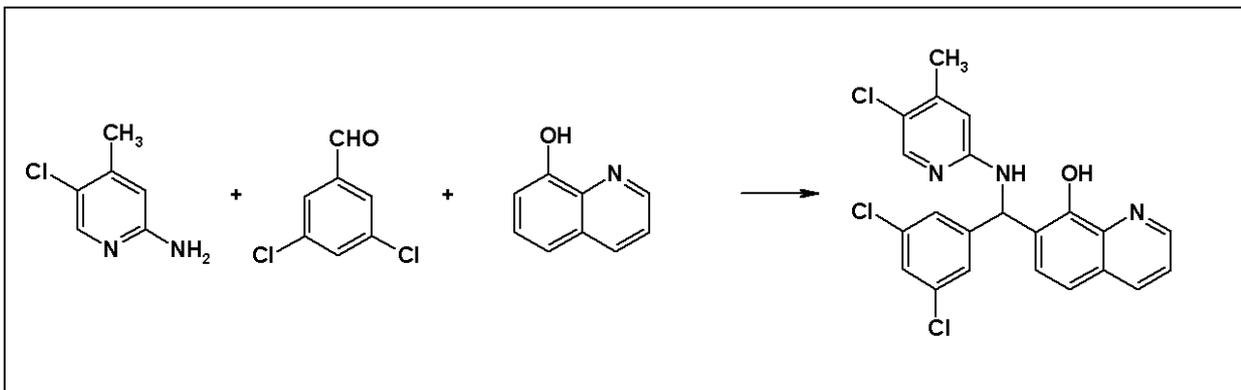
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 4 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 5 5 - 1 5 8) 。

20

【 0 8 1 8 】

A D 4 - 1 3 1 2 2 の調製：

【化 1 6 9】



30

【 0 8 1 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 2 0 】

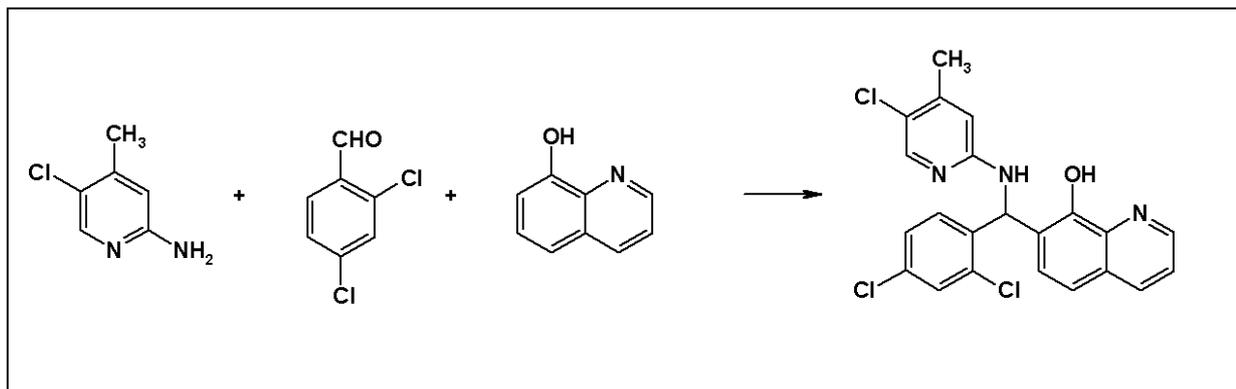
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 9 2 - 1 9 4) 。

40

【 0 8 2 1 】

A D 4 - 1 3 1 2 3 の調製：

【化 170】



10

【0822】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0823】

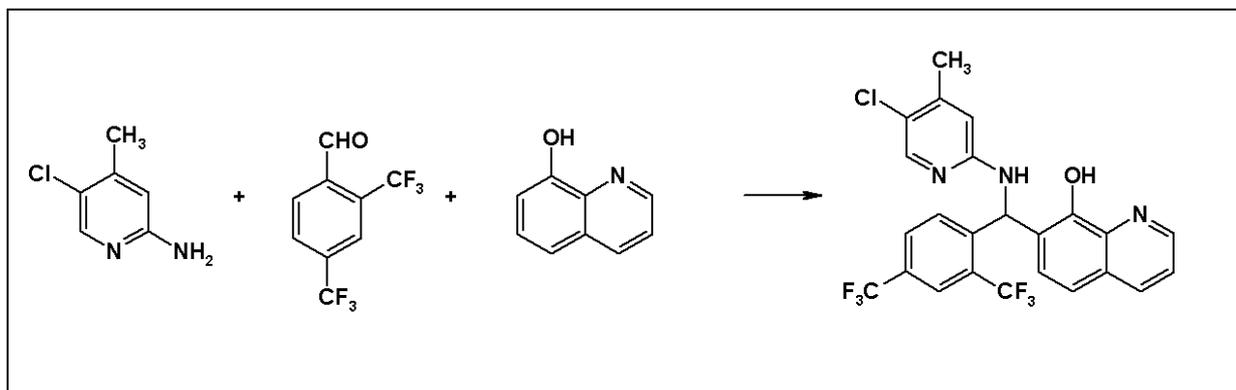
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2,4-ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 147 - 150)。

20

【0824】

AD4-13124の調製：

【化 171】



30

【0825】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0826】

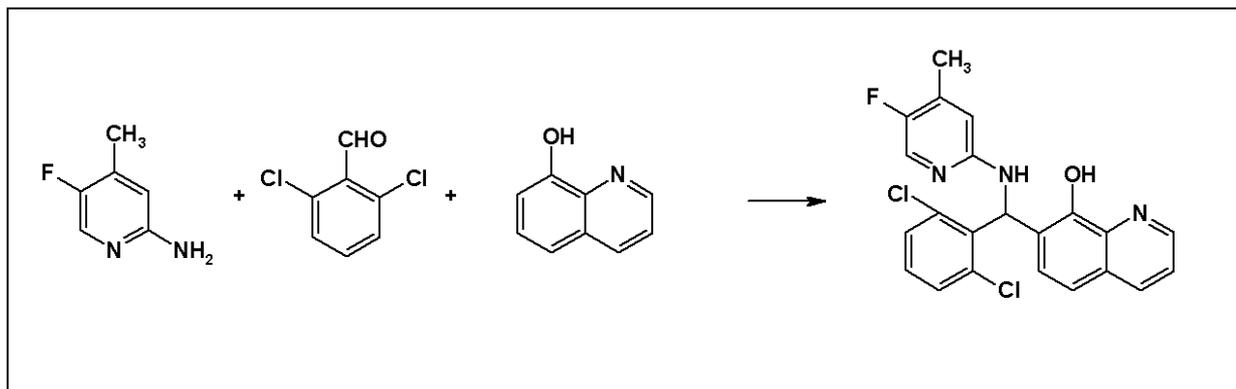
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2,4-ビス(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (Oakwood Products) (2.42 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 122 - 127)。

40

【0827】

AD4-13125の調製：

【化 1 7 2】



10

【 0 8 2 8】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 2 9】

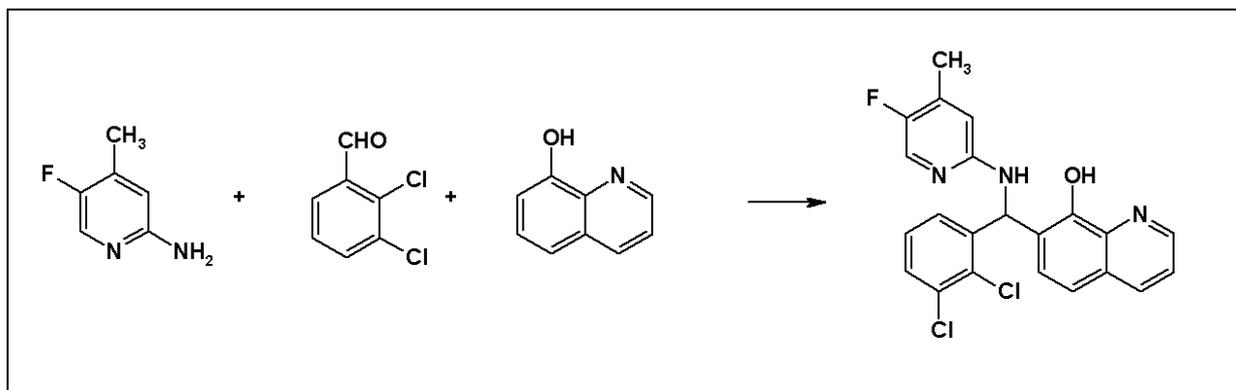
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 6 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 7 4 - 1 7 5) 。

20

【 0 8 3 0】

A D 4 - 1 3 1 2 6 の調製：

【化 1 7 3】



30

【 0 8 3 1】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 3 2】

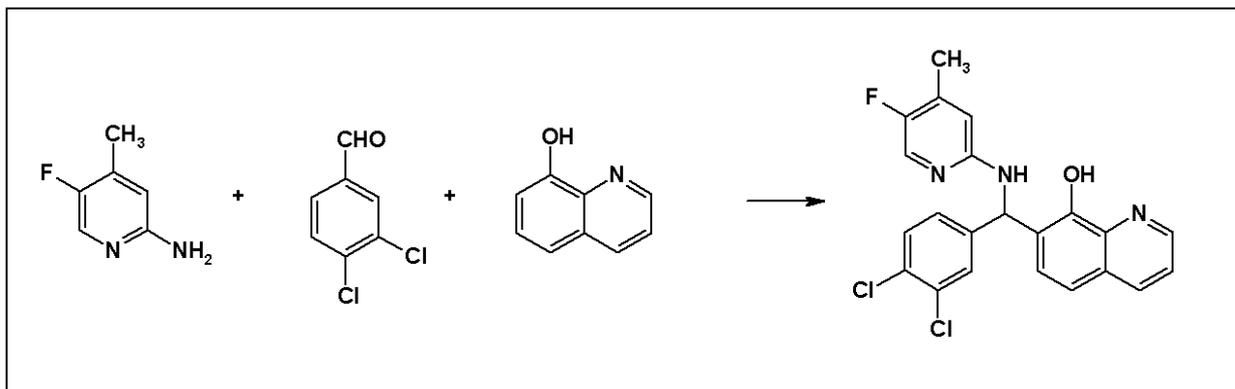
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 6 4 - 1 6 5) 。

40

【 0 8 3 3】

A D 4 - 1 3 1 2 7 の調製：

【化 1 7 4】



10

【 0 8 3 4】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 3 5】

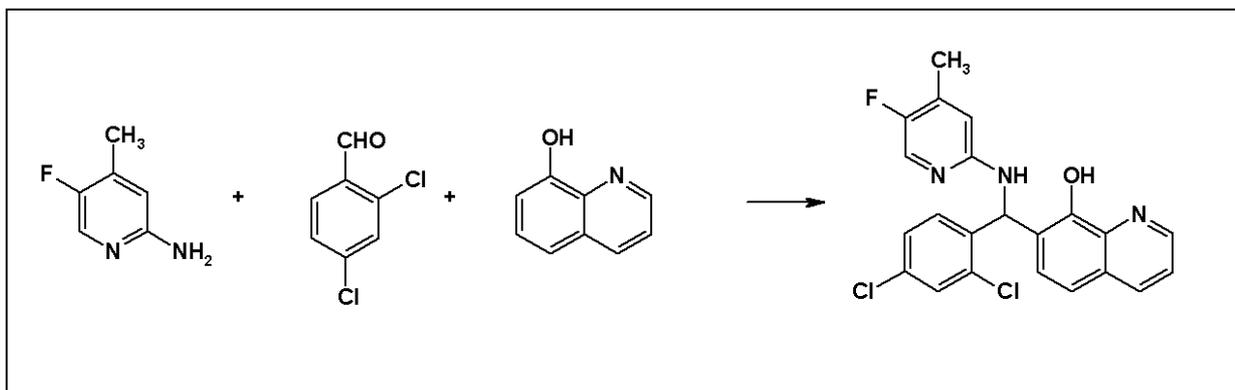
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 4 1 - 1 4 2) 。

20

【 0 8 3 6】

A D 4 - 1 3 1 2 8 の調製：

【化 1 7 5】



30

【 0 8 3 7】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 3 8】

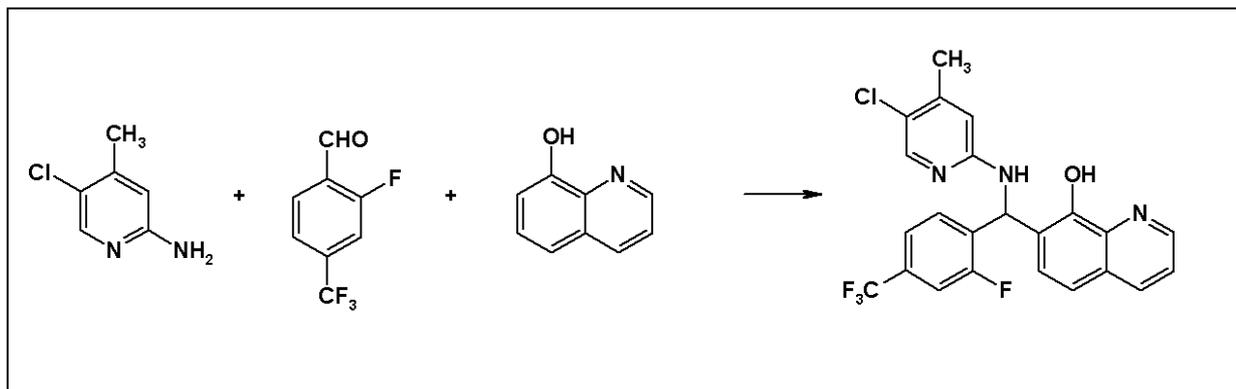
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 6 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 8 7 - 9 4) 。

40

【 0 8 3 9】

A D 4 - 1 3 1 2 9 の調製：

【化176】



10

【0840】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0841】

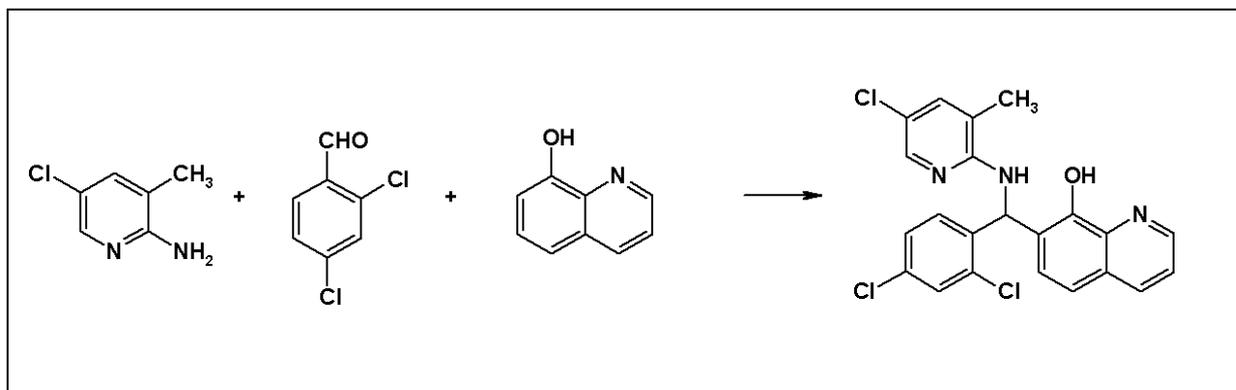
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2-フルオロ-4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.92 g、0.01) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 161 - 162)。

20

【0842】

AD4-13130の調製：

【化177】



30

【0843】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0844】

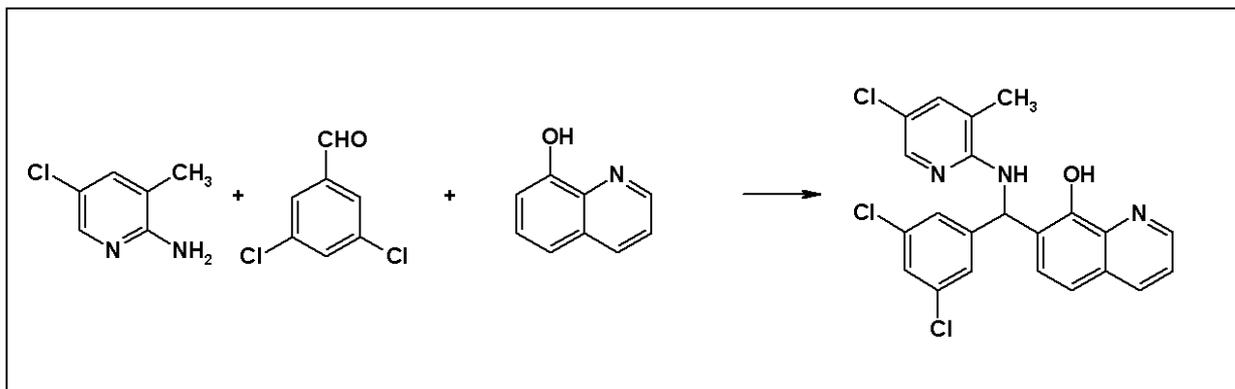
2-アミノ-3-メチル-5-クロロピリジン (BBM-001-071; 1.43 g、0.01モル) および 2,4-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 158 - 160)。

40

【0845】

AD4-13131の調製：

【化 1 7 8】



10

【 0 8 4 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 4 7 】

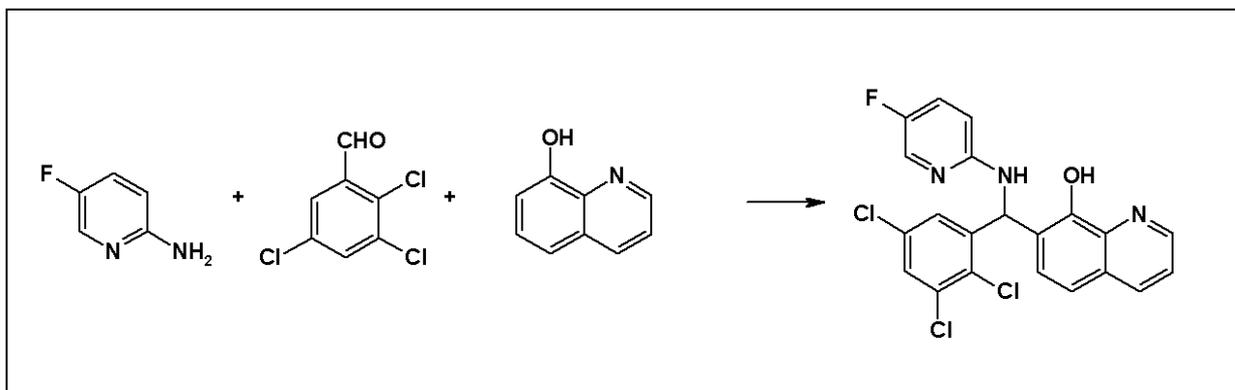
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 緑 色 固 体 と して 得 る (融 点 1 4 6 - 1 4 8) 。

20

【 0 8 4 8 】

A D 4 - 1 3 1 3 2 の 調 製 :

【化 1 7 9】



30

【 0 8 4 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 5 0 】

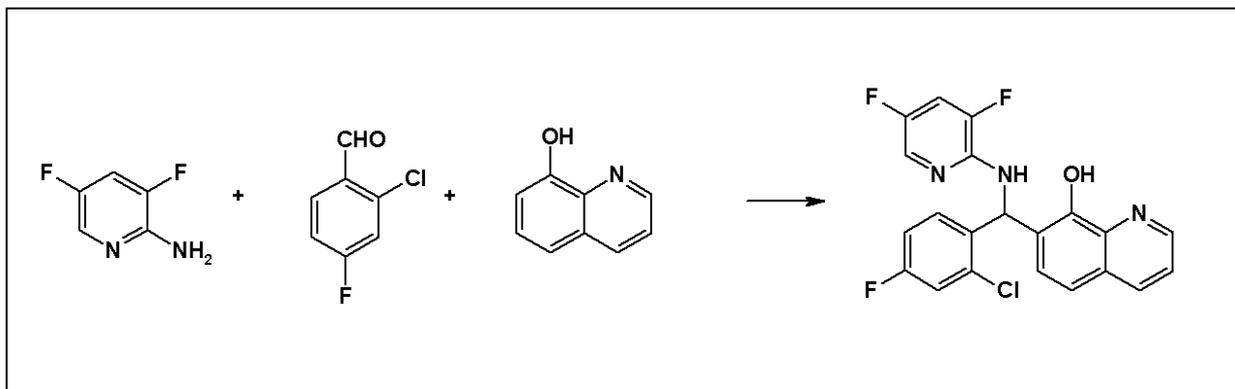
2 - アミノ - 5 - フルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 1 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 1 0 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と して 得 る (融 点 9 6 - 1 0 4) 。

40

【 0 8 5 1 】

A D 4 - 1 3 1 3 3 の 調 製 :

【化 1 8 0】



10

【 0 8 5 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 5 3】

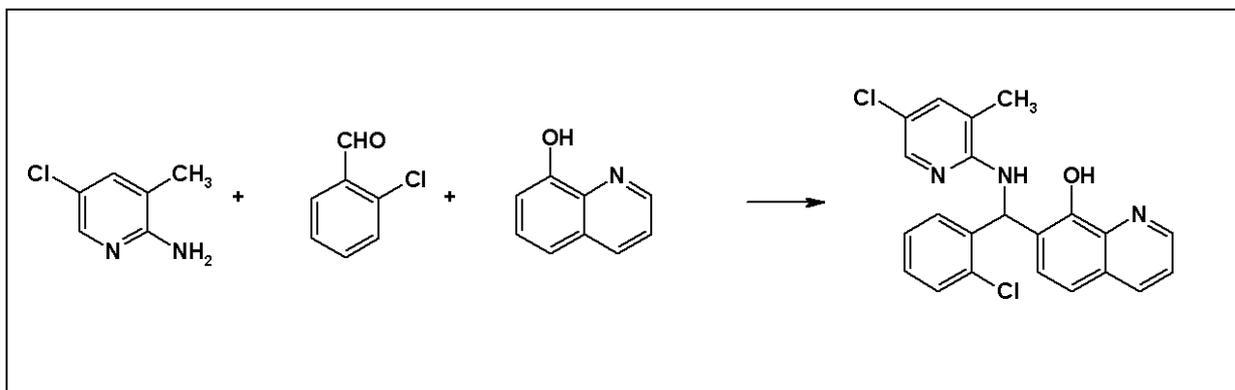
2 - アミノ - 3 , 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 3 0 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 5 9 - 1 6 1) 。

20

【 0 8 5 4】

A D 4 - 1 3 1 3 4 の調製：

【化 1 8 1】



30

【 0 8 5 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 5 6】

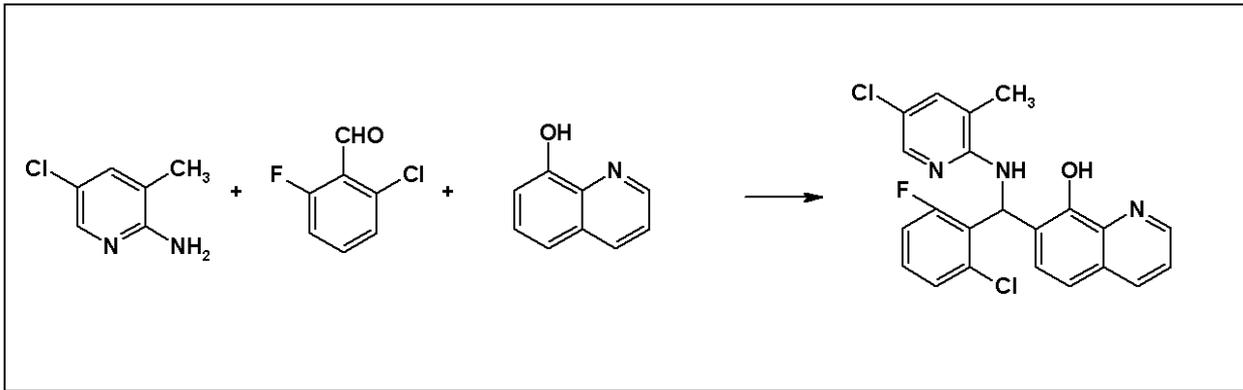
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 3 8 - 1 3 9) 。

40

【 0 8 5 7】

A D 4 - 1 3 1 3 5 の調製：

【化 1 8 2】



10

【 0 8 5 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 5 9 】

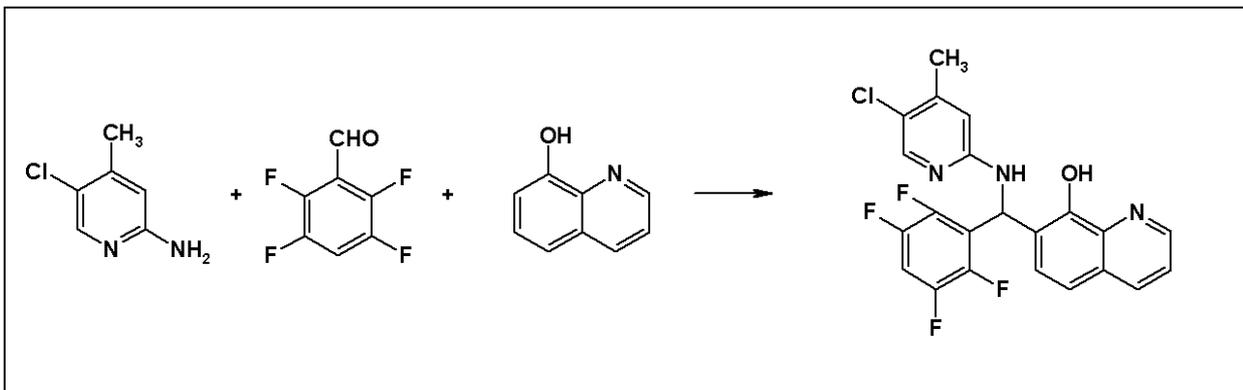
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 1 8 1 - 1 8 2) 。

20

【 0 8 6 0 】

A D 4 - 1 3 1 3 6 の調製：

【化 1 8 3】



30

【 0 8 6 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 6 2 】

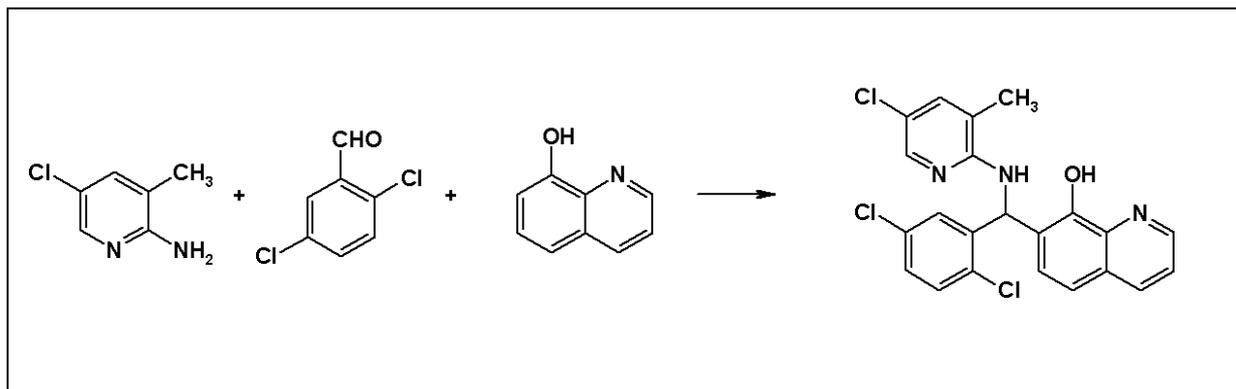
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 8 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 8 0 - 1 8 2) 。

40

【 0 8 6 3 】

A D 4 - 1 3 1 3 7 の調製：

【化 1 8 4】



10

【 0 8 6 4】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 6 5】

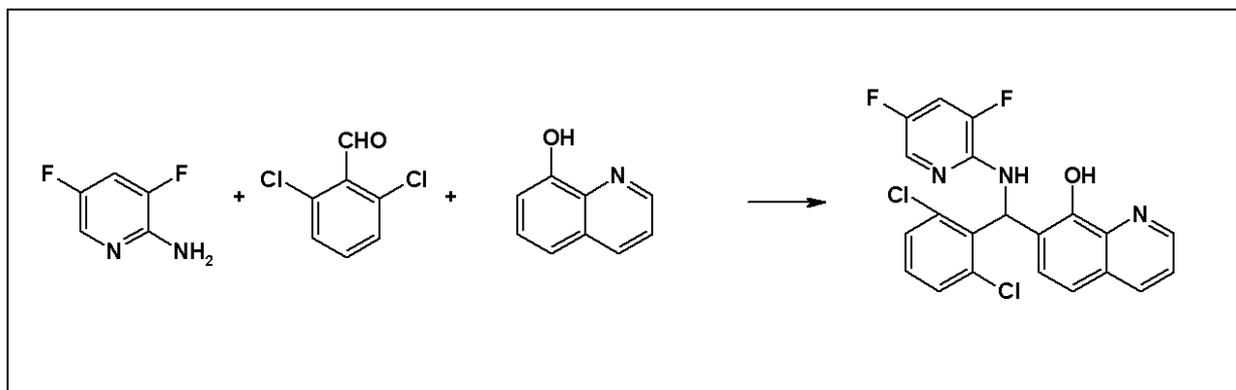
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (0 . 5 8 g 、 0 . 0 0 3 3 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 4 8 - 1 5 0) 。

20

【 0 8 6 6】

A D 4 - 1 3 1 3 8 の 調 製 :

【化 1 8 5】



30

【 0 8 6 7】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 6 8】

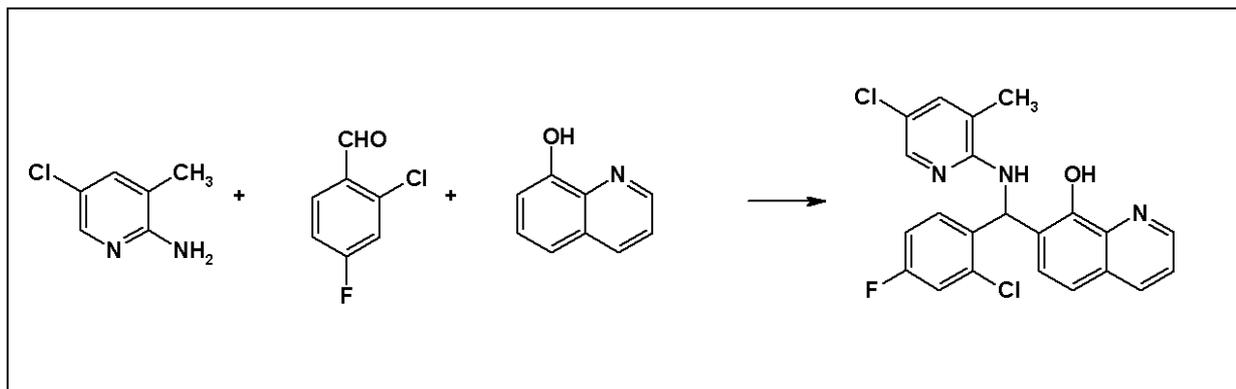
2 - アミノ - 3 , 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 3 0 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 6 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 7 4 - 1 7 6) 。

40

【 0 8 6 9】

A D 4 - 1 3 1 3 9 の 調 製 :

【化 1 8 6】



10

【 0 8 7 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 7 1】

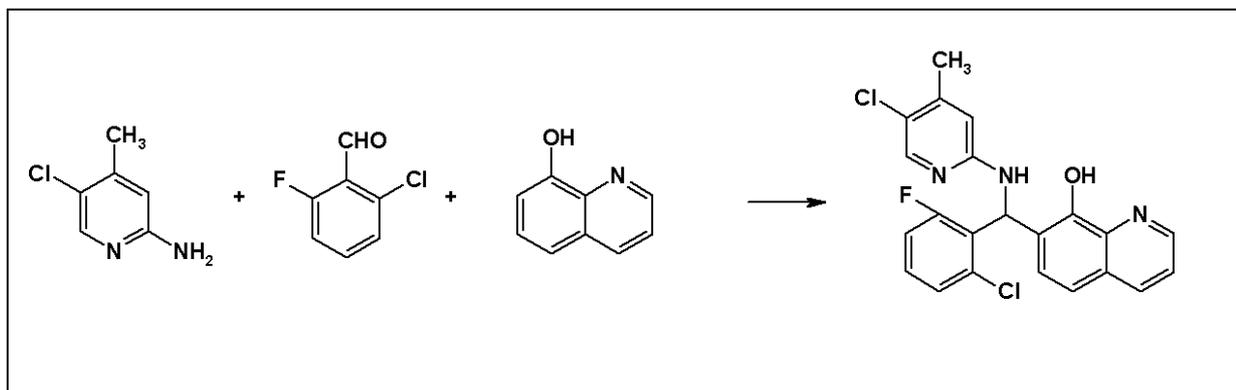
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 黄 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 6 2 - 1 6 3) 。

20

【 0 8 7 2】

A D 4 - 1 3 1 4 0 の 調 製 :

【化 1 8 7】



30

【 0 8 7 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 7 4】

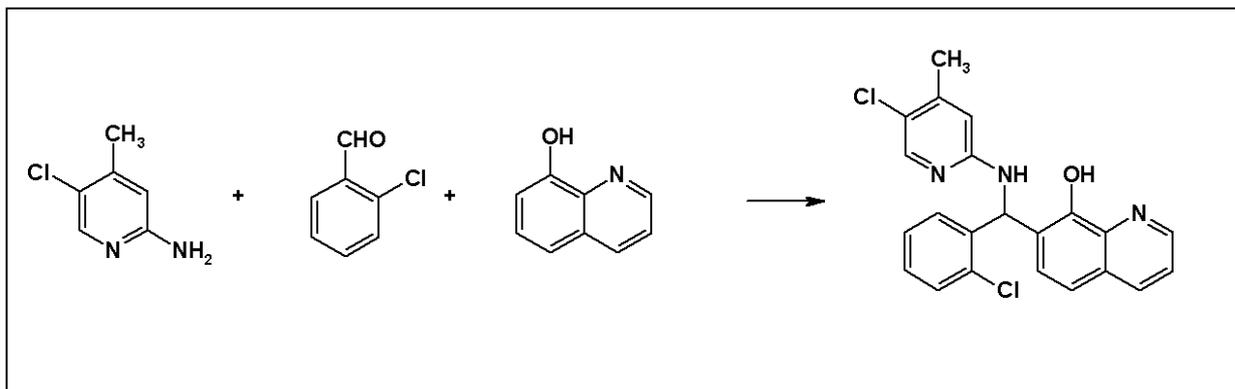
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 6 - フルオロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 黄 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 8 3 - 1 8 6) 。

40

【 0 8 7 5】

A D 4 - 1 3 1 4 1 の 調 製 :

【化 1 8 8】



10

【 0 8 7 6】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 7 7】

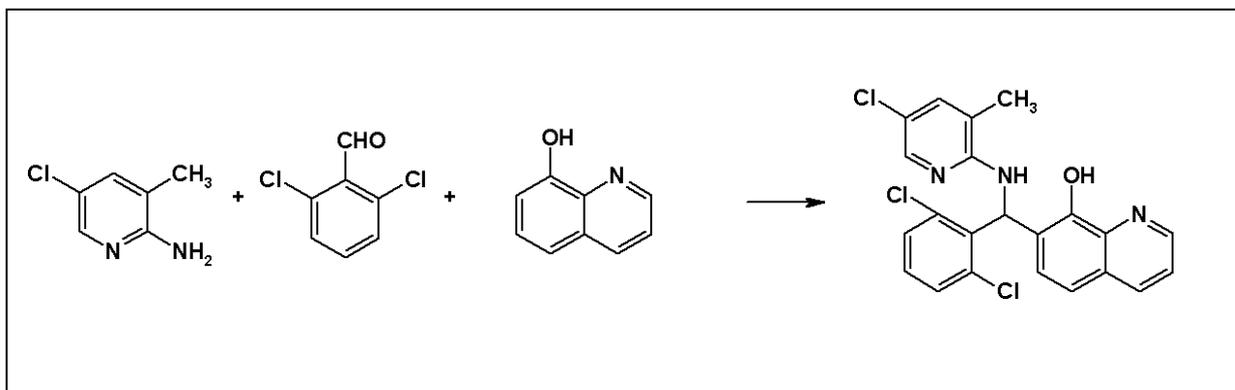
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g、0 . 0 1 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 9 - 1 7 3) 。

20

【 0 8 7 8】

A D 4 - 1 3 1 4 2 の調製：

【化 1 8 9】



30

【 0 8 7 9】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 8 0】

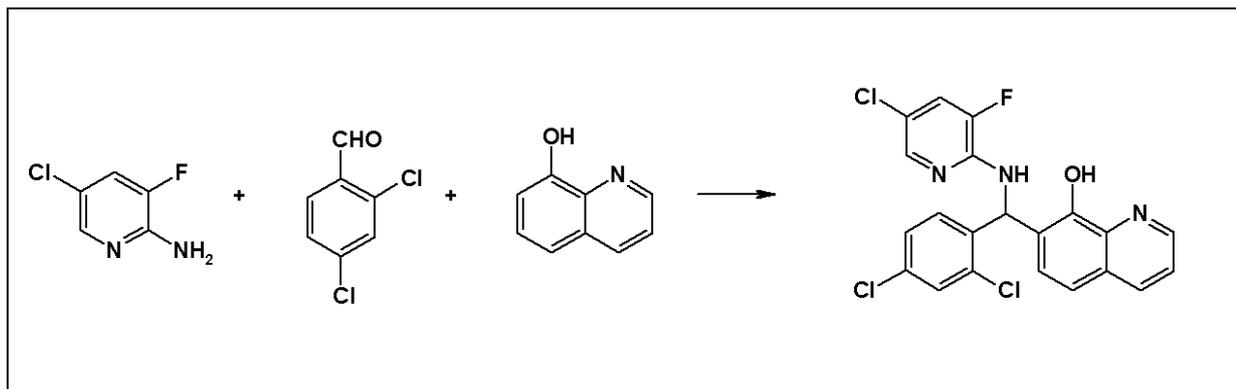
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン, B B M - 0 0 1 - 0 7 1 (1 . 4 3 g、0 . 0 1 モル) および 2, 6 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 2 1 - 2 2 3) 。

40

【 0 8 8 1】

A D 4 - 1 3 1 4 3 の調製：

【化 1 9 0】



10

【 0 8 8 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 8 3】

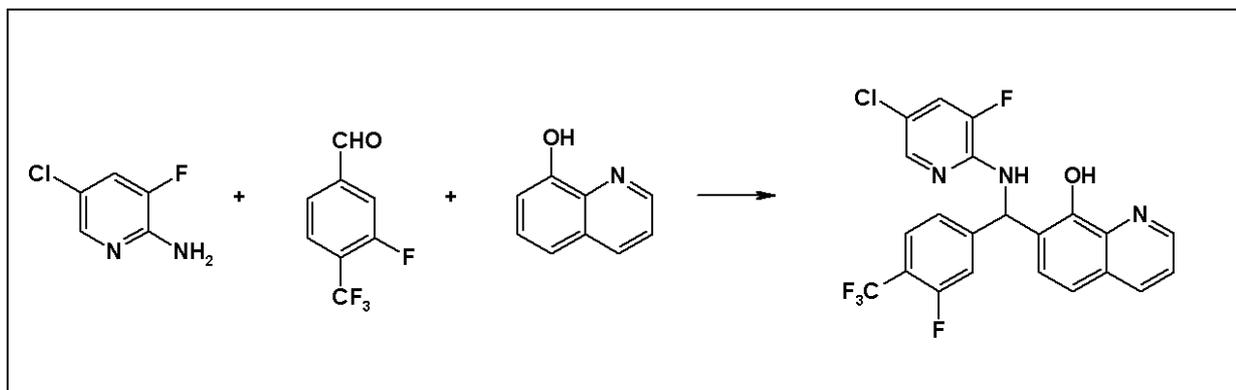
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 2 7 - 1 2 8) 。

20

【 0 8 8 4】

A D 4 - 1 3 1 4 4 の調製：

【化 1 9 1】



30

【 0 8 8 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 8 6】

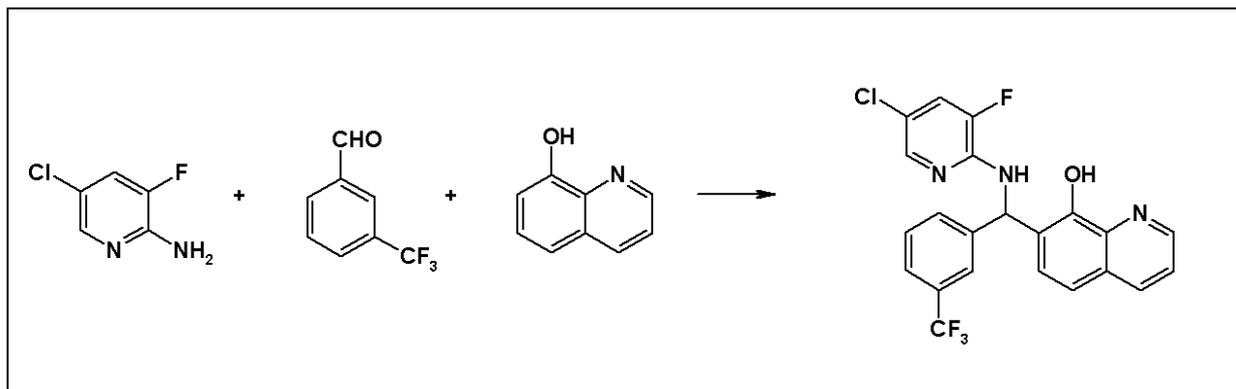
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 9 2 g 、 0 . 0 1) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 0 1 - 1 0 8) 。

40

【 0 8 8 7】

A D 4 - 1 3 1 4 5 の調製：

【化 1 9 2】



10

【0888】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0889】

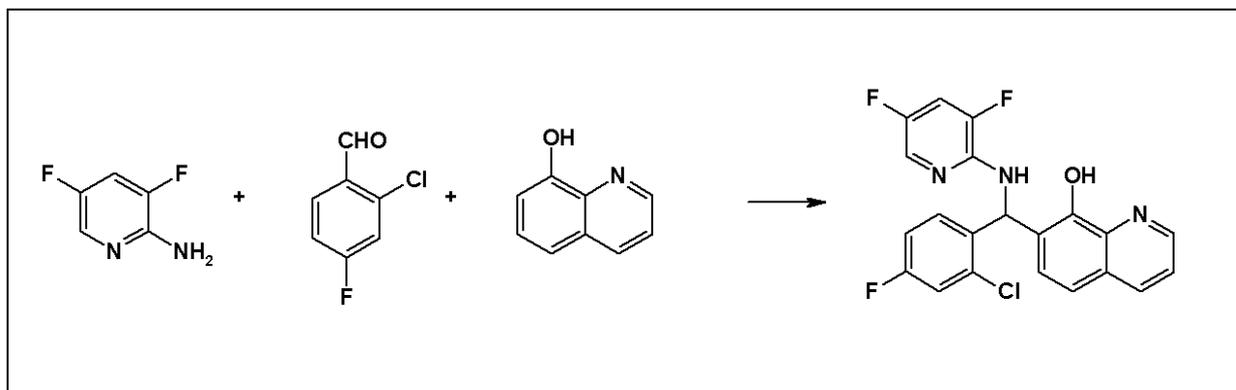
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 4 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 9 3 - 9 6) 。

20

【0890】

A D 4 - 1 3 1 4 6 の調製：

【化 1 9 3】



30

【0891】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0892】

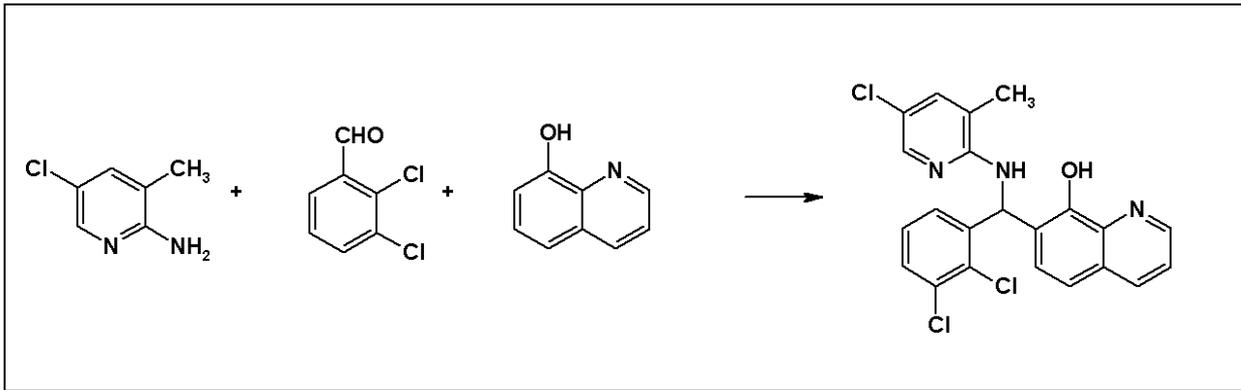
2 - アミノ - 3 , 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 3 0 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 1 2 0 - 1 2 4) 。

40

【0893】

A D 4 - 1 3 1 4 7 の調製：

【化 1 9 4】



10

【 0 8 9 4】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 9 5】

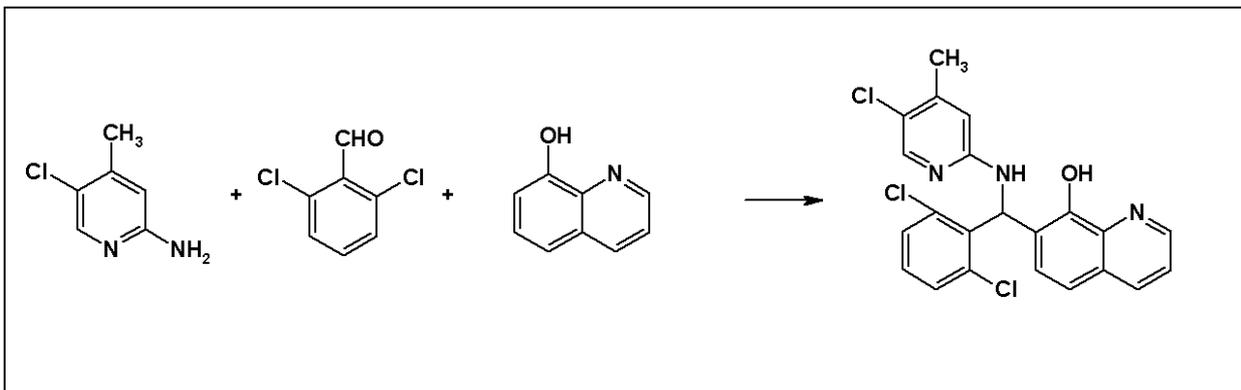
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 緑 色 固 体 と し て 得 る (融 点 8 8 - 9 3) 。

20

【 0 8 9 6】

A D 4 - 1 3 1 4 8 の 調 製 :

【化 1 9 5】



30

【 0 8 9 7】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 8 9 8】

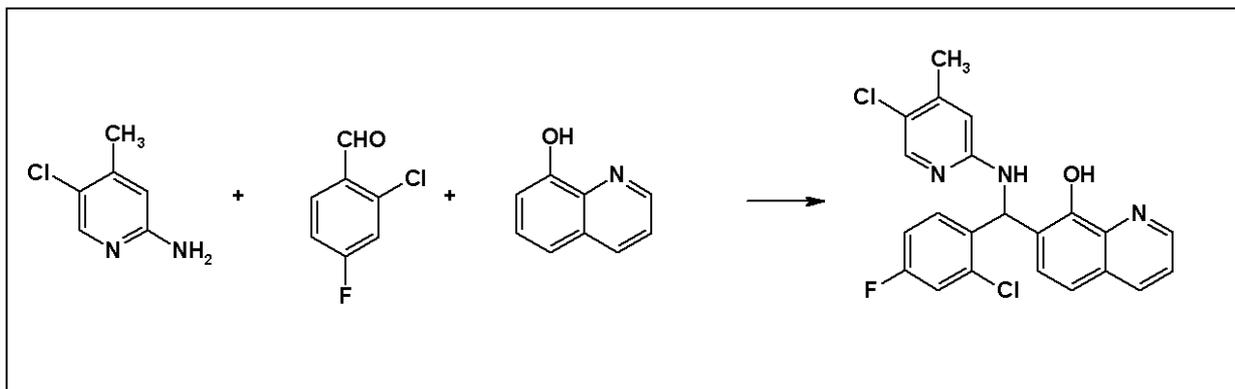
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 6 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 黄 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 9 1 - 1 9 3) 。

40

【 0 8 9 9】

A D 4 - 1 3 1 4 9 の 調 製 :

【化 1 9 6】



10

【0900】

実施例 AD4 - 13022 に記載の方法と同様の方法にて：

【0901】

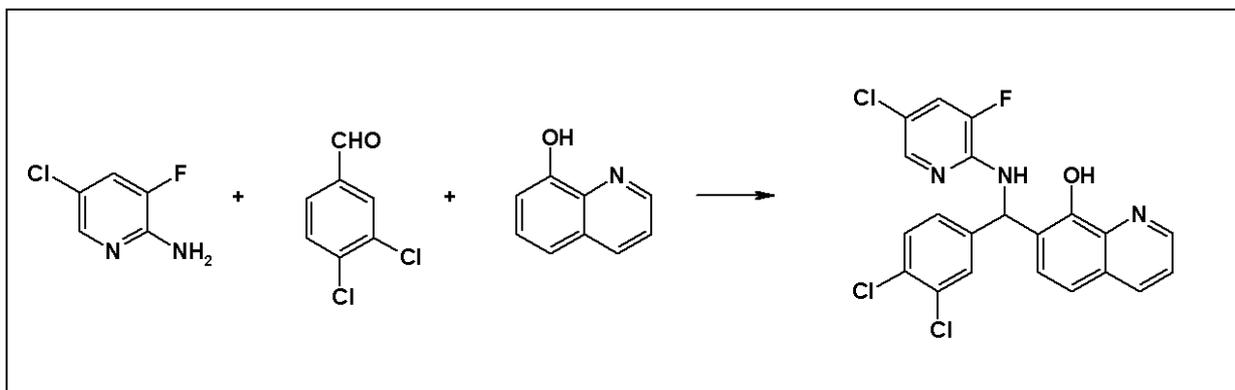
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1.59 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 225 - 227)。

20

【0902】

AD4 - 13150 の調製：

【化 1 9 7】



30

【0903】

実施例 AD4 - 13021 に記載の方法と同様の方法にて：

【0904】

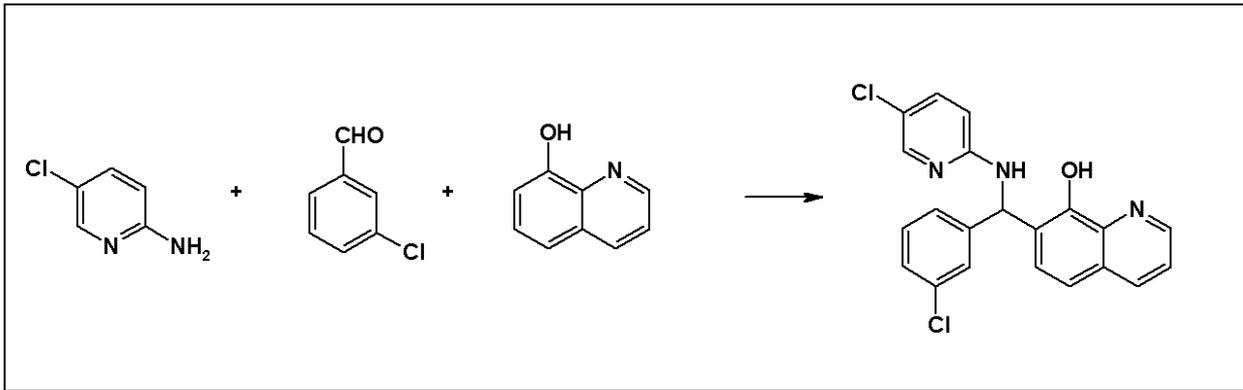
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.47 g、0.01 モル) および 3,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (0.88 g、0.005 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 90 - 95)。

40

【0905】

AD4 - 13151 の調製：

【化 1 9 8】



10

【0906】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0907】

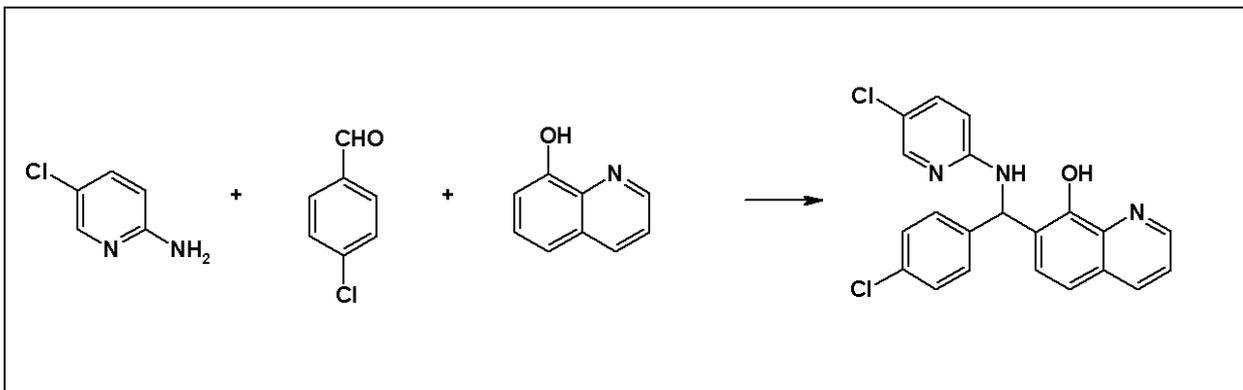
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 4 8 - 1 4 9) 。

20

【0908】

A D 4 - 1 3 1 5 2 の調製：

【化 1 9 9】



30

【0909】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0910】

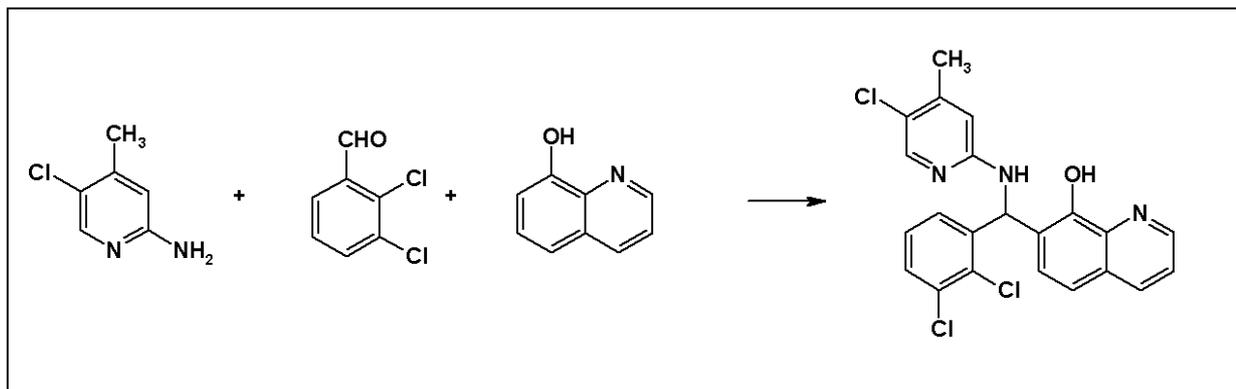
2 - アミノ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 2 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 4 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 4 4 - 1 4 8) 。

40

【0911】

A D 4 - 1 3 1 5 3 の調製：

【化200】



10

【0912】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0913】

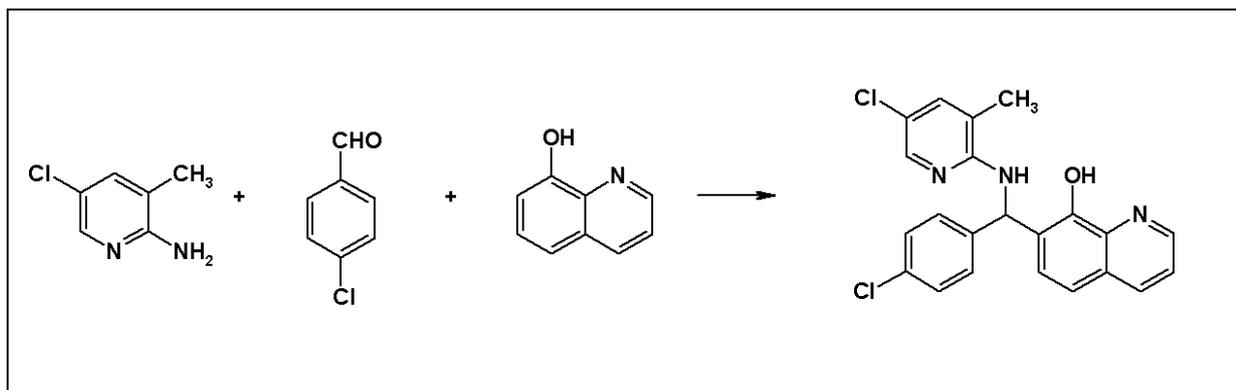
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 154 - 156)。

20

【0914】

AD4-13154の調製：

【化201】



30

【0915】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0916】

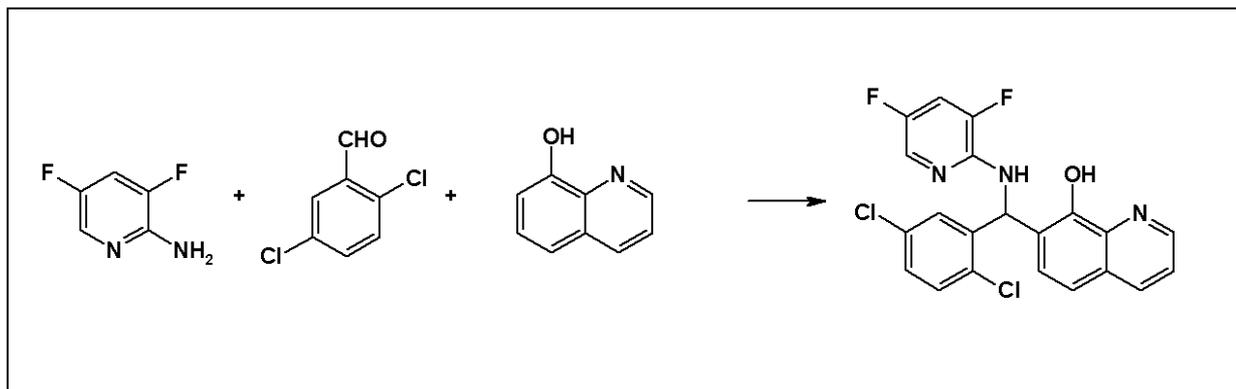
2-アミノ-3-メチル-5-クロロピリジン (BBM-001-071、1.43 g、0.01モル) および 4-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 136 - 144)。

40

【0917】

AD4-13155の調製：

【化202】



10

【0918】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0919】

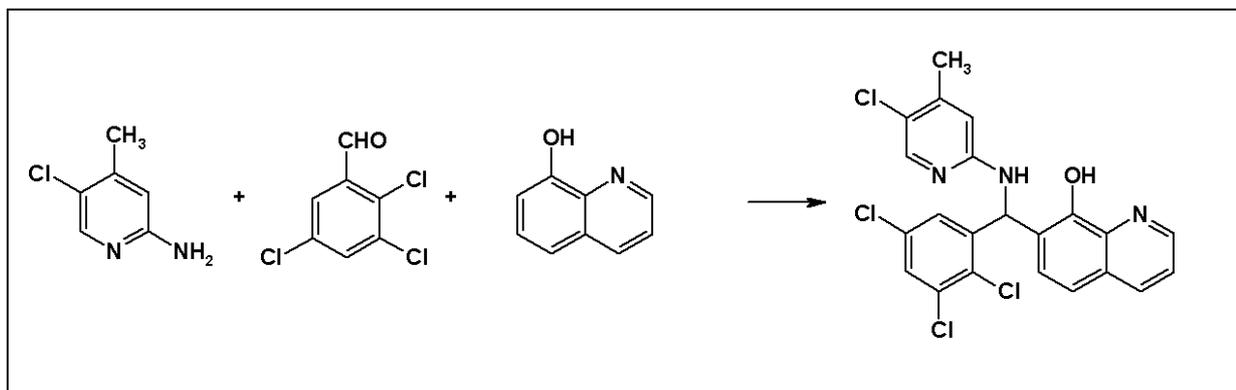
2-アミノ-3,5-ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (0.44 g、0.0033モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 130 - 131)。

20

【0920】

AD4-13156の調製：

【化203】



30

【0921】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0922】

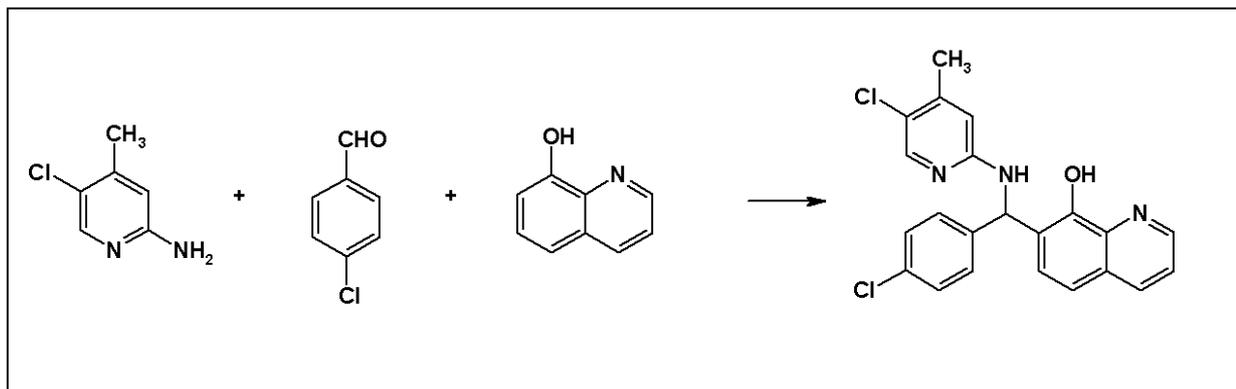
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2,3,5-トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2.09 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 175 - 181)。

40

【0923】

AD4-13157の調製：

【化204】



10

【0924】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0925】

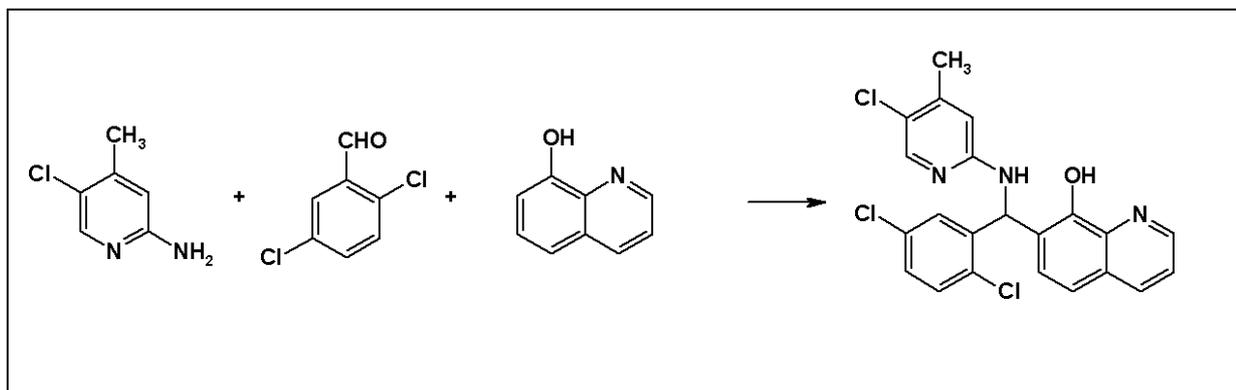
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 4-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 159 - 163)。

20

【0926】

AD4-13158の調製：

【化205】



30

【0927】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0928】

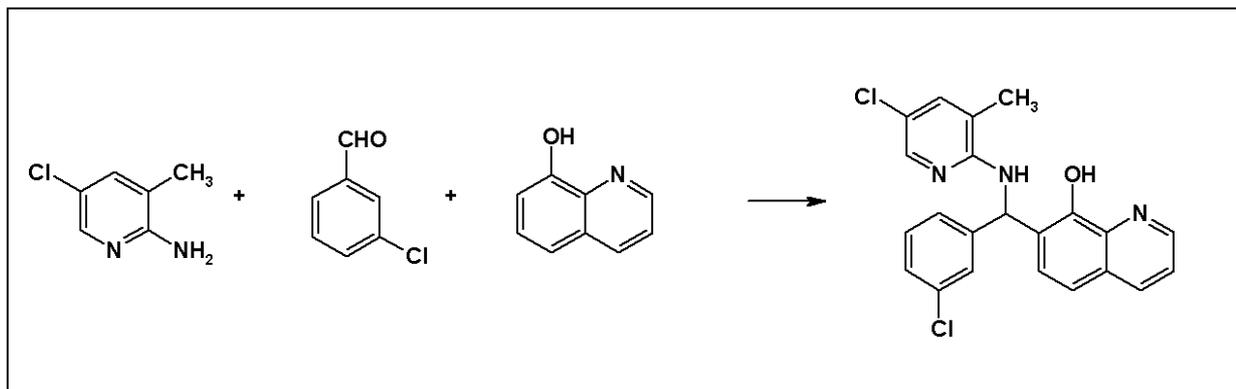
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 195 - 199)。

40

【0929】

AD4-13159の調製：

【化206】



10

【0930】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0931】

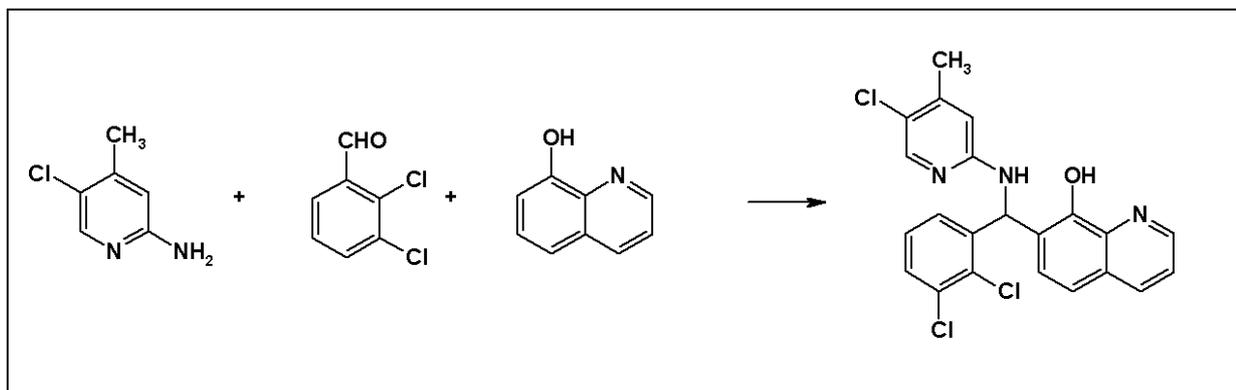
2-アミノ-3-メチル-5-クロロピリジン (BBM-001-071; 1.43 g、0.01モル) および 3-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 138 - 141)。

20

【0932】

AD4-13160の調製：

【化207】



30

【0933】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0934】

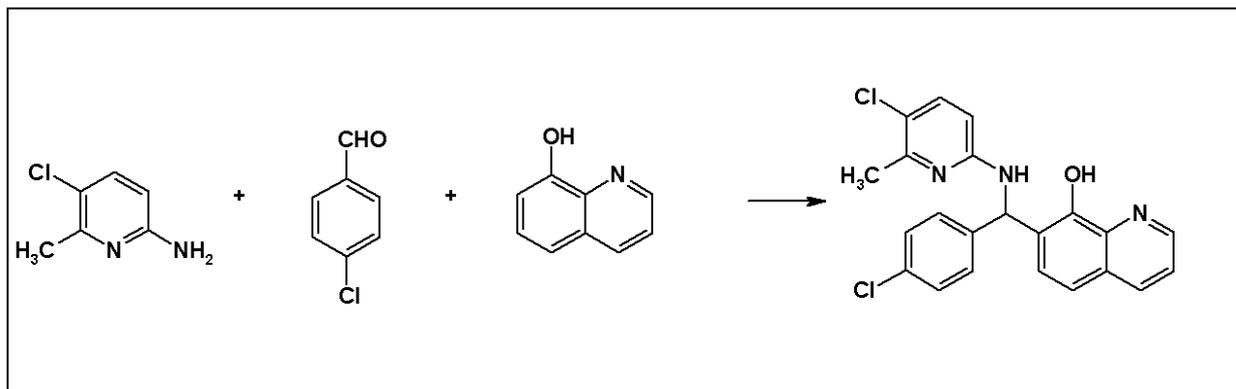
2-アミノ-4-メチル-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.43 g、0.01モル) および 2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 157 - 164)。

40

【0935】

AD4-13161の調製：

【化208】



10

【0936】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【0937】

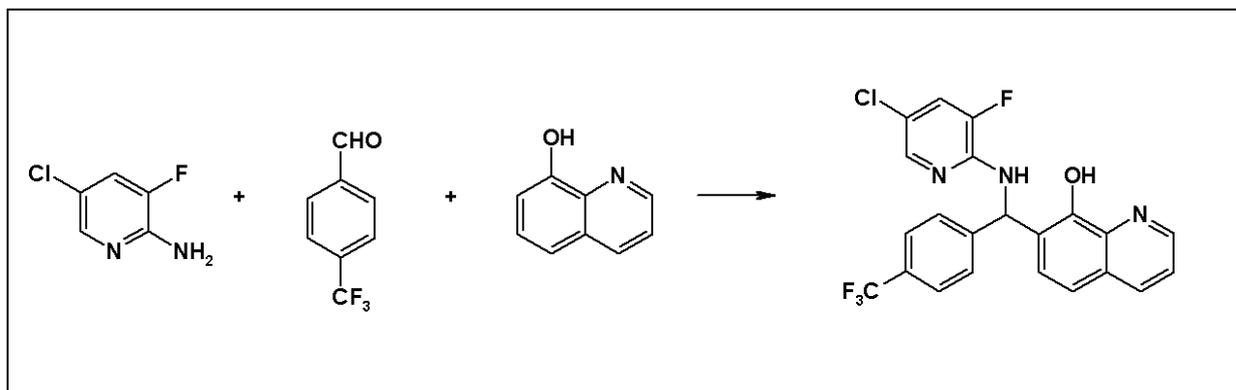
2-アミノ-5-クロロ-6-メチルピリジン (IJT-001-090; 1.43 g、0.01モル) および4-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点143 - 146)。

20

【0938】

AD4-13162の調製：

【化209】



30

【0939】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【0940】

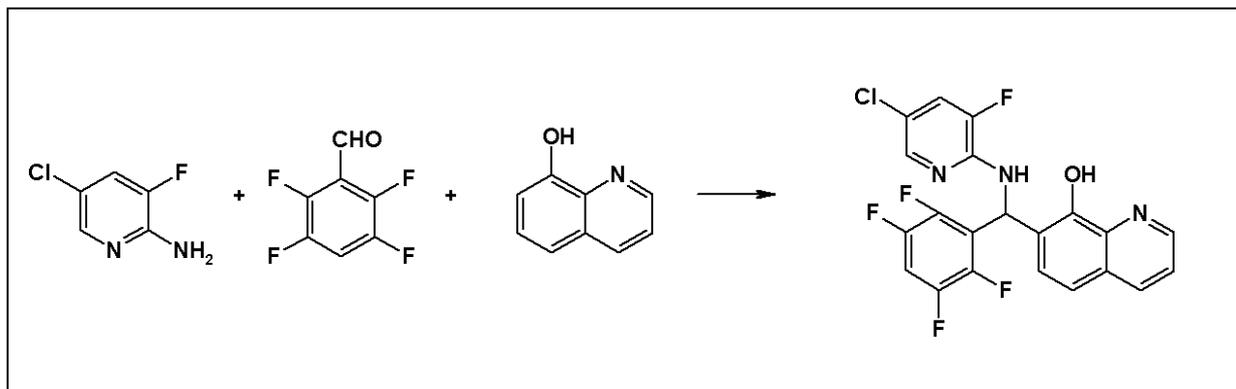
2-アミノ-3-フルオロ-5-クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.47 g、0.01モル) および4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.74 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点106 - 109)。

40

【0941】

AD4-13163の調製：

【化 2 1 0】



10

【 0 9 4 2 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 9 4 3 】

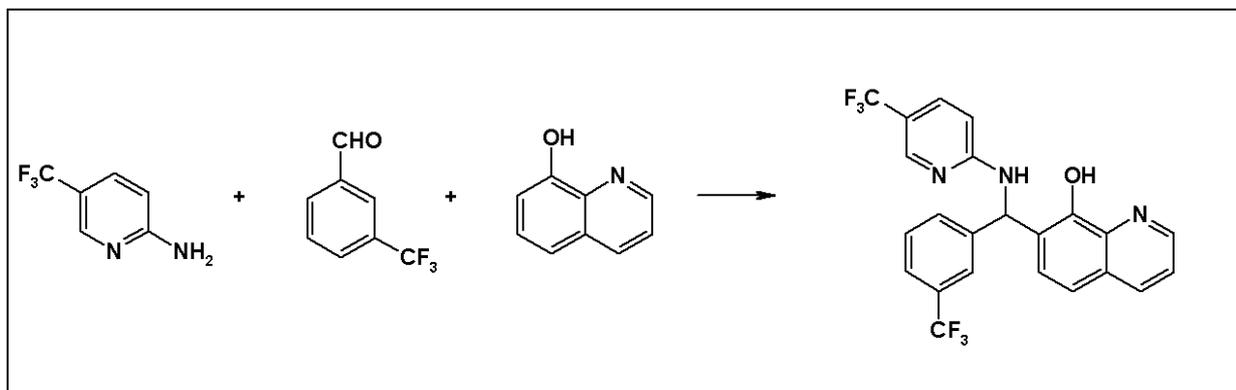
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 , 6 - テトラフルオロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 8 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 6 1 - 1 6 3) 。

20

【 0 9 4 4 】

A D 4 - 1 3 1 6 4 の調製：

【化 2 1 1】



30

【 0 9 4 5 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 9 4 6 】

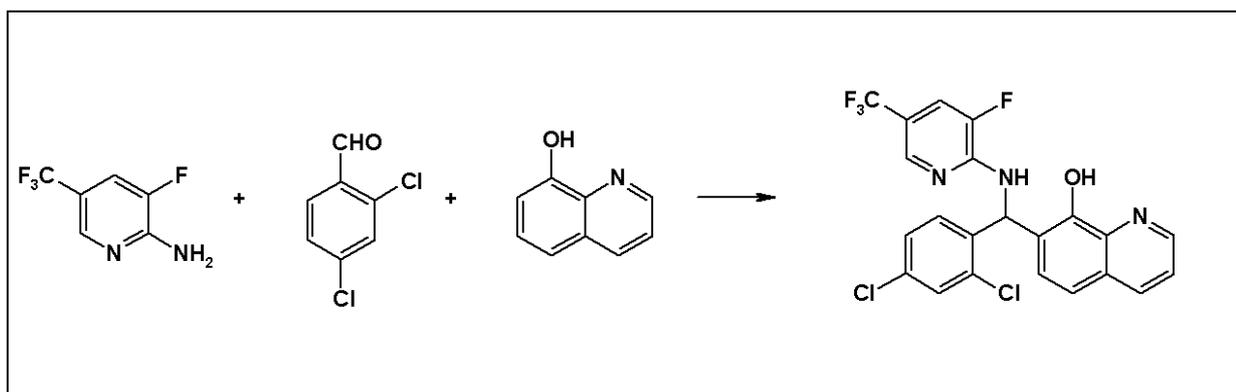
2 - アミノ - 5 - トリフルオロメチルピリジン (Matrix Scientific) (1 . 6 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - トリフルオロメチルベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 4 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 1 2 7 - 1 2 8) 。

40

【 0 9 4 7 】

A D 4 - 1 3 1 6 5 の調製：

【化 2 1 2】



10

【0948】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0949】

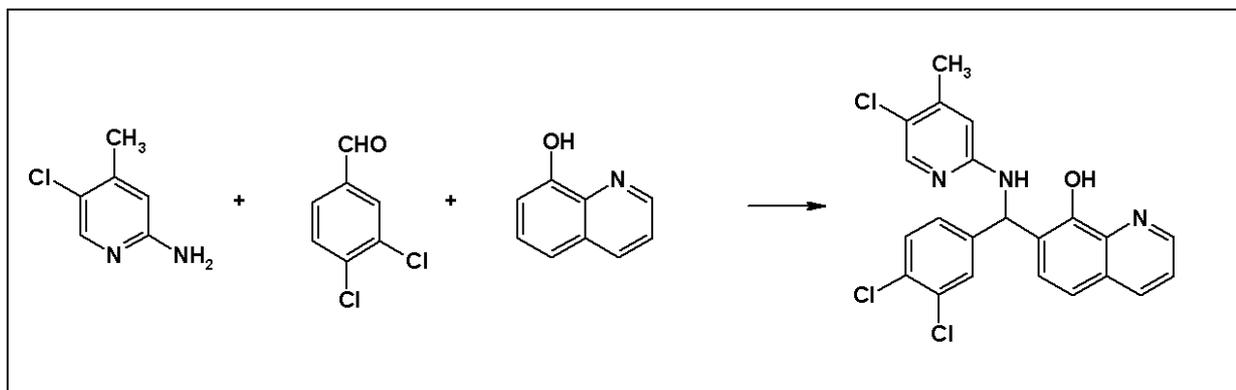
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 5 - トリフルオロメチルピリジン (Matrix Scientific) (1.80 g、0.01 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明灰色固体として得る (融点 137 - 139)。

20

【0950】

A D 4 - 1 3 1 6 6 の調製：

【化 2 1 3】



30

【0951】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0952】

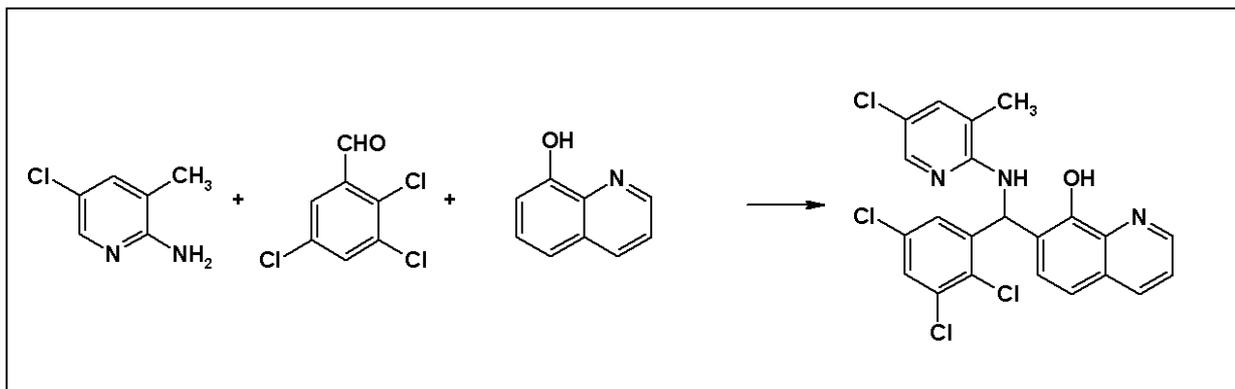
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1.42 g、0.01 モル) および 3,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 158 - 160)。

40

【0953】

A D 4 - 1 3 1 6 7 の調製：

【化 2 1 4】



10

【0954】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0955】

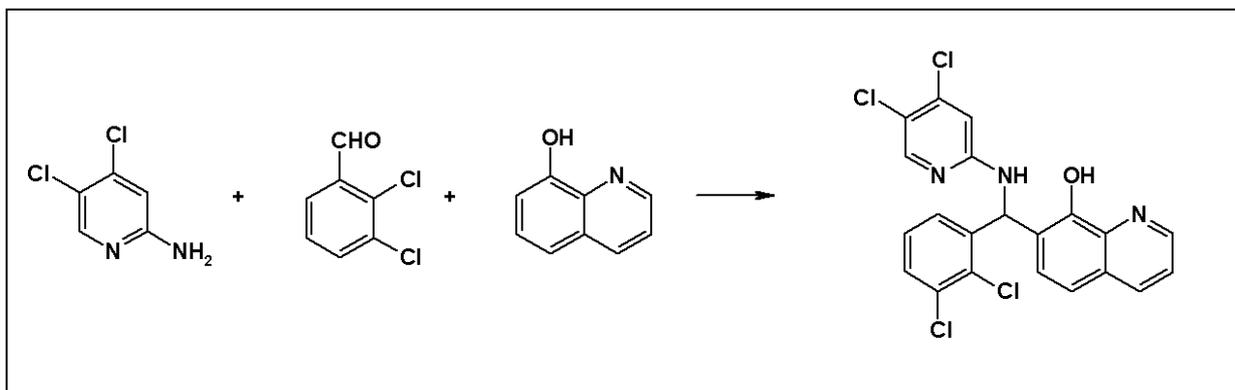
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン, B B M - 0 0 1 - 0 7 1 (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 9 5 - 1 0 4) 。

20

【0956】

A D 4 - 1 3 1 7 2 の 調 製 :

【化 2 1 5】



30

【0957】

実施例 1 0 に記載の方法と同様の方法にて；

【0958】

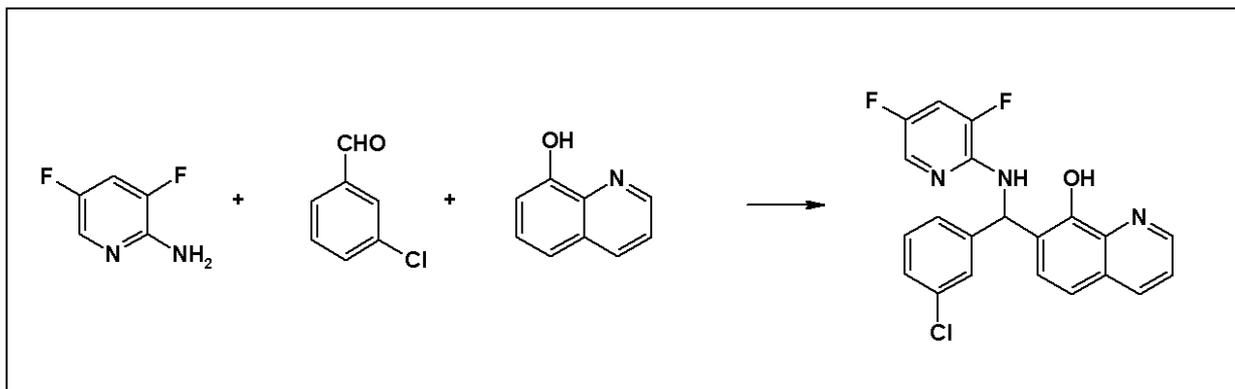
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 3 0 g 、 0 . 0 0 8 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 8 0 - 1 8 2) 。

40

【0959】

A D 4 - 1 3 1 7 3 の 調 製 :

【化 2 1 6】



10

【0960】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0961】

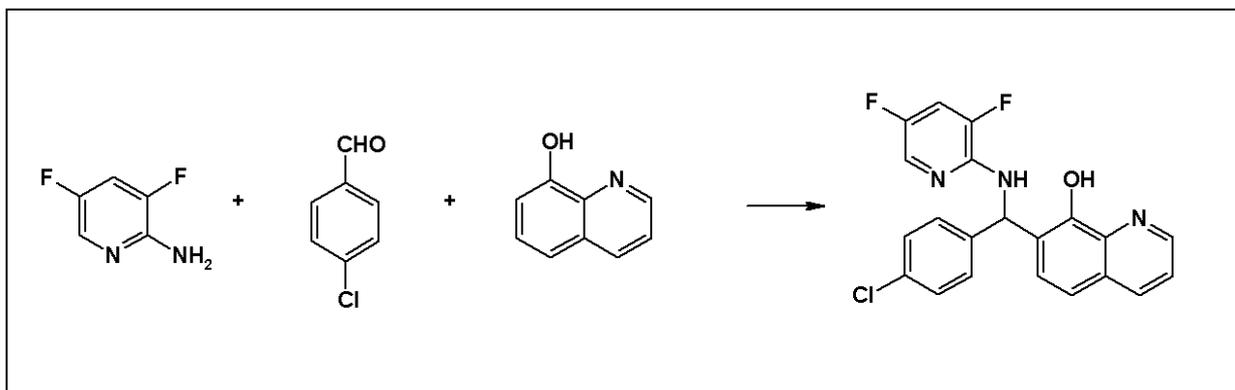
2 - アミノ - 3,5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1.3 0 g、0.0 1 モル) および 3 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.4 1 g、0.0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.4 5 g、0.0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点 5 6 - 6 0)。

20

【0962】

A D 4 - 1 3 1 7 4 の調製：

【化 2 1 7】



30

【0963】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【0964】

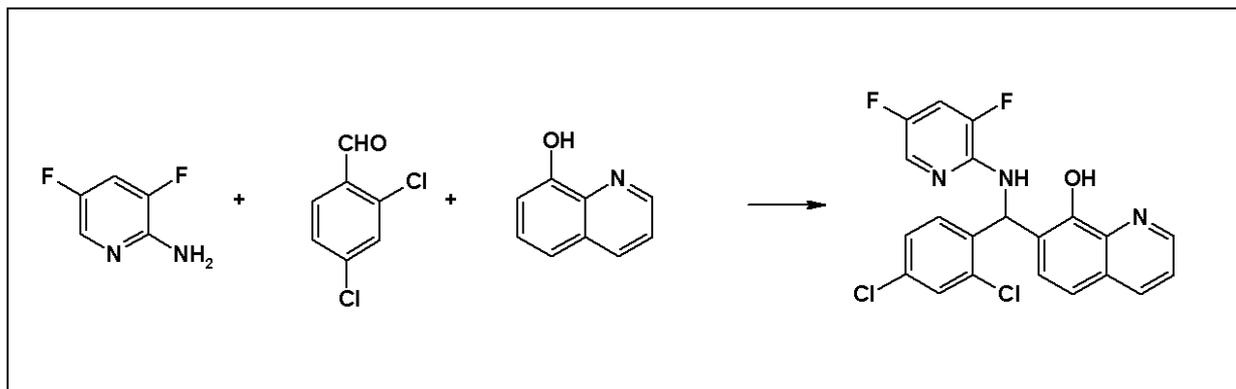
2 - アミノ - 3,5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1.3 0 g、0.0 1 モル) および 4 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.4 1 g、0.0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.4 5 g、0.0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点 1 3 2 - 1 3 8)。

40

【0965】

A D 4 - 1 3 1 7 5 の調製：

【化 2 1 8】



10

【 0 9 6 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 9 6 7 】

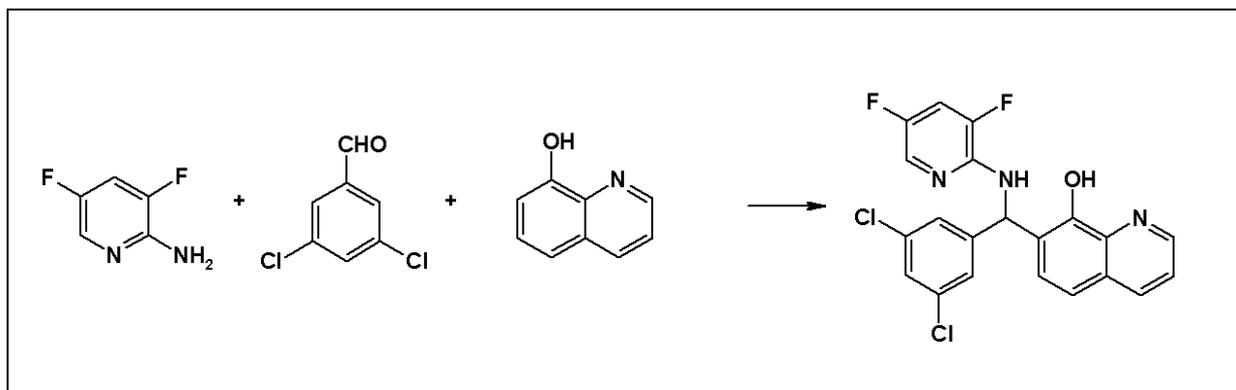
2 - アミノ - 3 , 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 3 0 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 8 8 - 9 2) 。

20

【 0 9 6 8 】

A D 4 - 1 3 1 7 6 の調製：

【化 2 1 9】



30

【 0 9 6 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 2 に記載の方法と同様の方法にて：

【 0 9 7 0 】

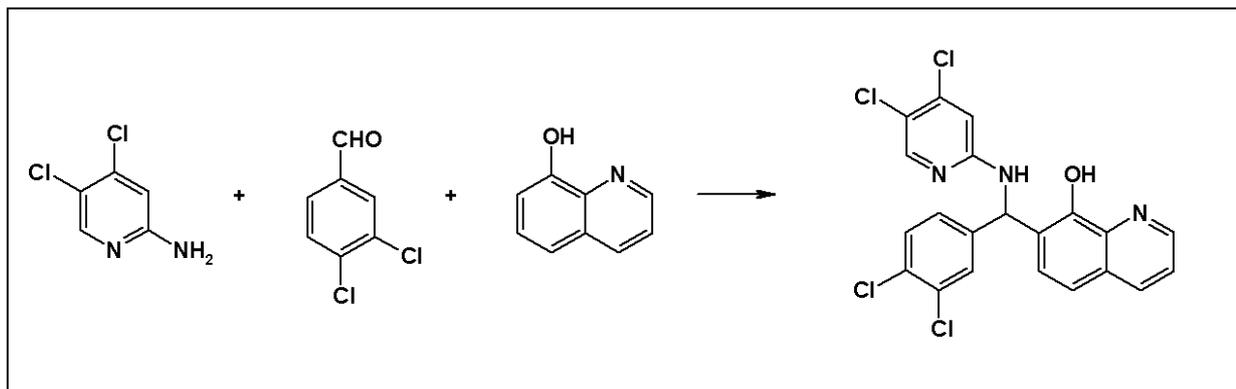
2 - アミノ - 3 , 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 3 0 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 6 8 - 7 0) 。

40

【 0 9 7 1 】

A D 4 - 1 3 1 7 7 の調製：

【化 2 2 0】



10

【0972】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0973】

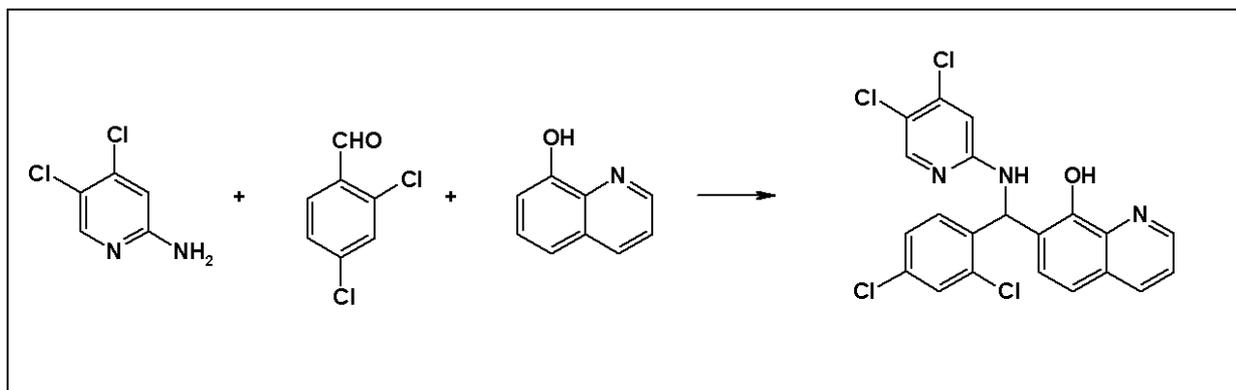
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 3 0 g 、 0 . 0 0 8 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 4 5 - 1 4 7) 。

20

【0974】

A D 4 - 1 3 1 7 8 の 調 製 :

【化 2 2 1】



30

【0975】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0976】

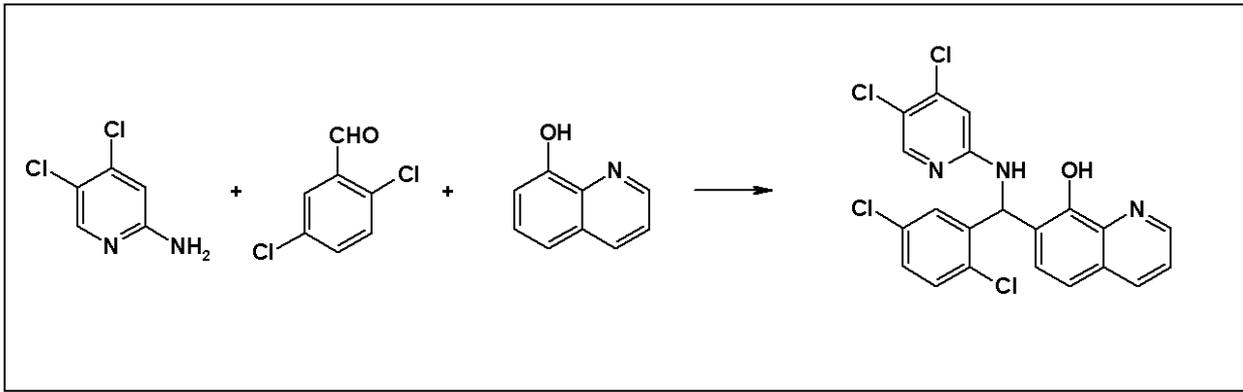
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 3 0 g 、 0 . 0 0 8 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 5 3 - 1 5 5) 。

40

【0977】

A D 4 - 1 3 1 7 9 の 調 製 :

【化 2 2 2】



10

【0978】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0979】

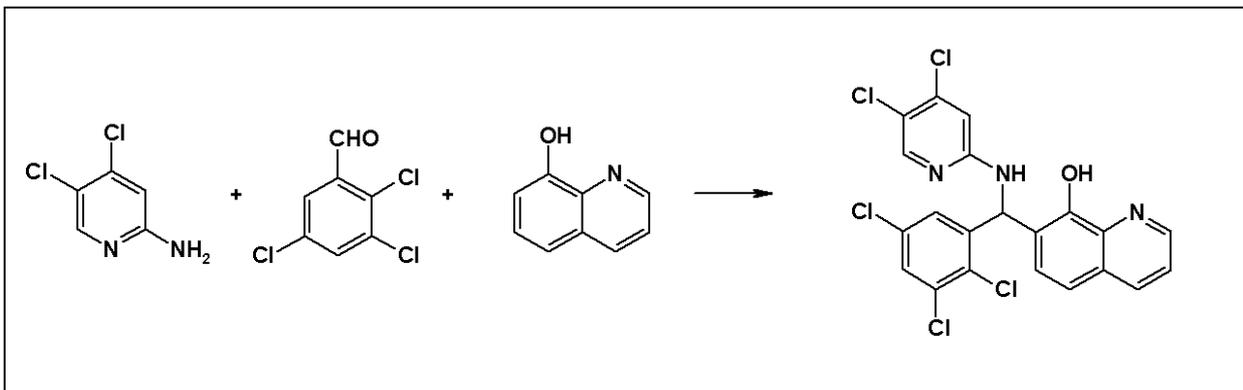
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 3 0 g 、 0 . 0 0 8 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 9 5 - 1 9 7) 。

20

【0980】

A D 4 - 1 3 1 8 0 の 調 製 :

【化 2 2 3】



30

【0981】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0982】

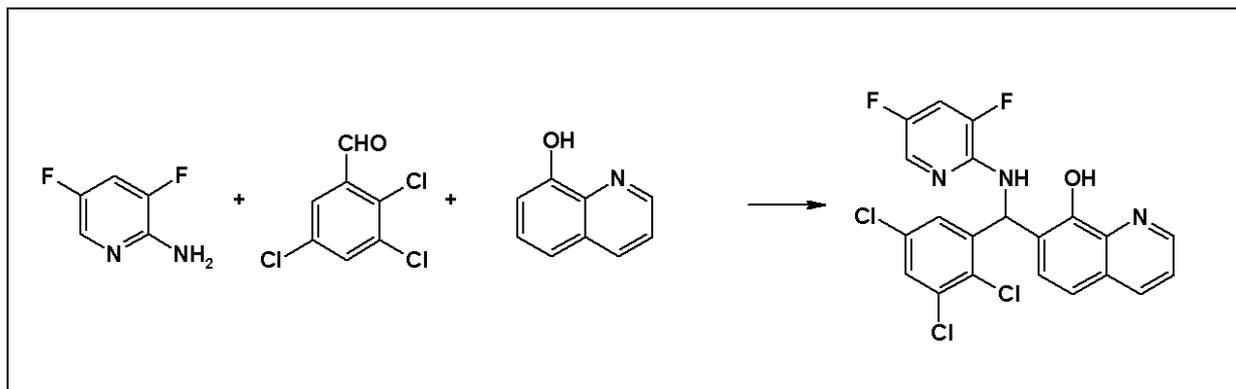
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 3 0 g 、 0 . 0 0 8 モル) および 2 , 3 , 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 9 2 - 1 9 5) 。

40

【0983】

A D 4 - 1 3 1 8 1 の 調 製 :

【化 2 2 4】



10

【0984】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0985】

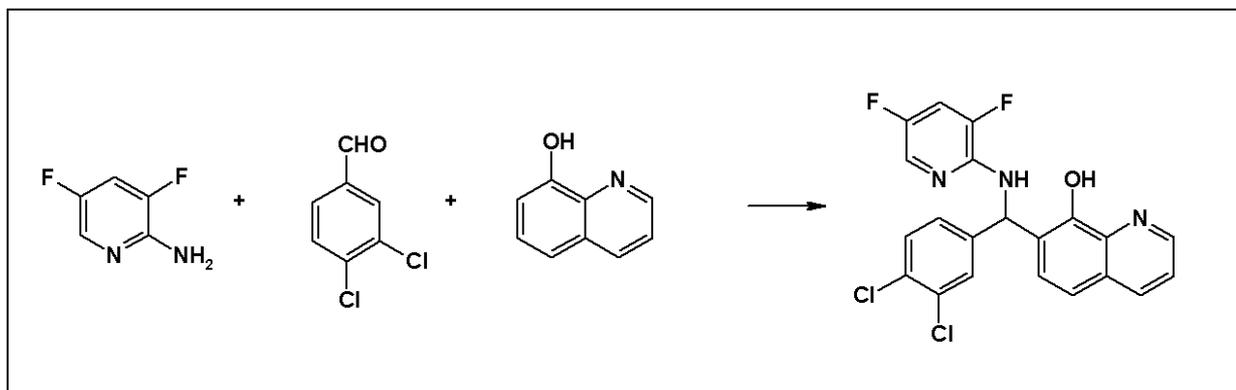
2 - アミノ - 3, 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1. 3 0 g、0. 0 1 モル) および 2, 3, 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2. 0 9 g、0. 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1. 4 5 g、0. 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 7 9 - 8 6)。

20

【0986】

AD 4 - 1 3 1 8 2 の調製：

【化 2 2 5】



30

【0987】

実施例 AD 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0988】

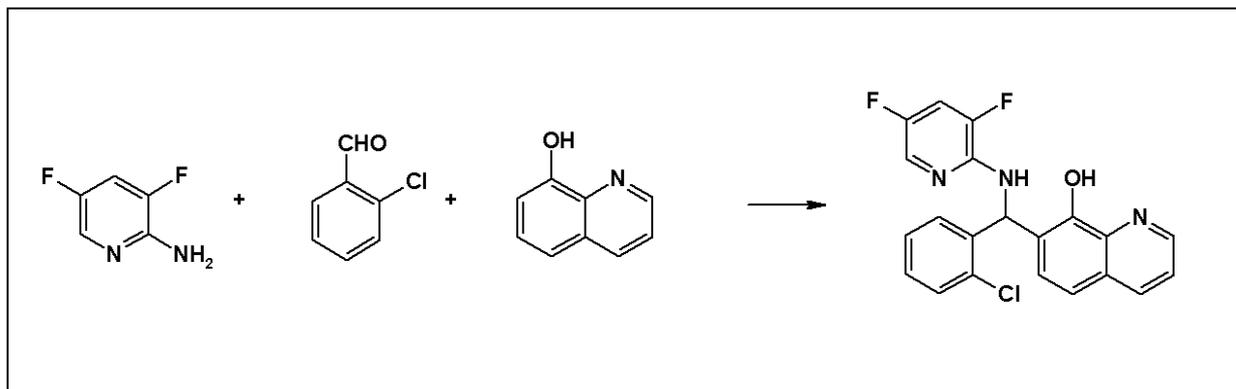
2 - アミノ - 3, 5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1. 3 0 g、0. 0 1 モル) および 3, 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1. 7 5 g、0. 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1. 4 5 g、0. 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 6 0 - 6 8)。

40

【0989】

AD 4 - 1 3 1 8 3 の調製：

【化 2 2 6】



10

【0990】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0991】

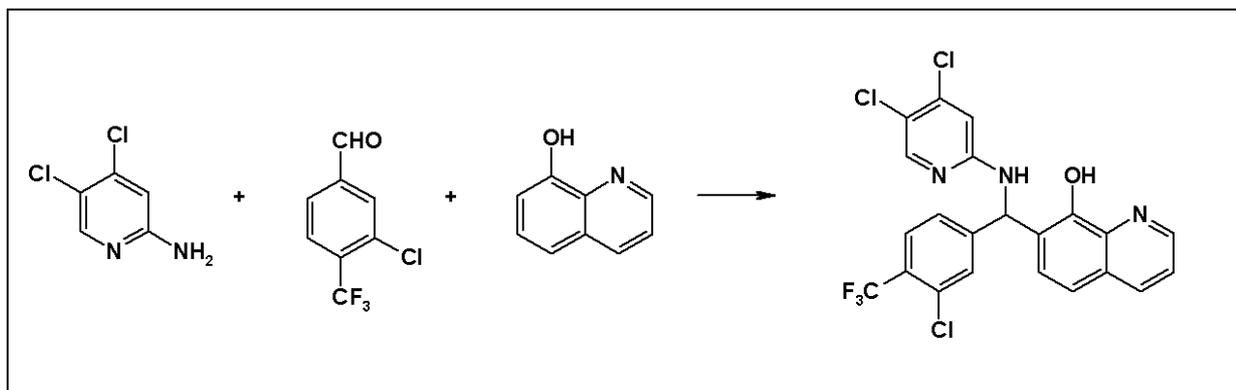
2 - アミノ - 3,5 - ジフルオロピリジン (Matrix Scientific) (1.30 g、0.01 モル) および 2 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 140 - 141)。

20

【0992】

A D 4 - 1 3 1 8 4 の調製：

【化 2 2 7】



30

【0993】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0994】

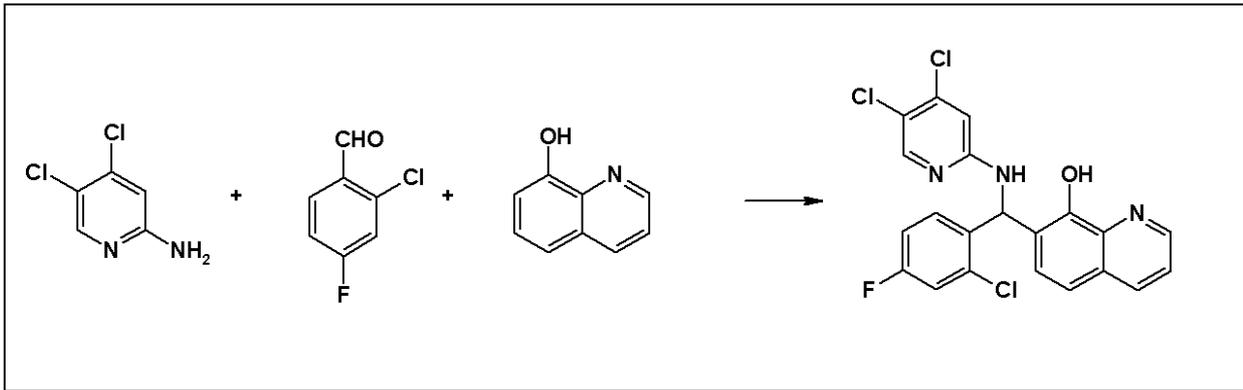
2 - アミノ - 4,5 - ジクロロピリジン (BBM - 001 - 049 ; 1.30 g、0.008 モル) および 3 - トリフルオロメチル - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products)、(2.09 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 165 - 166)。

40

【0995】

A D 4 - 1 3 1 8 5 の調製：

【化 2 2 8】



10

【0996】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【0997】

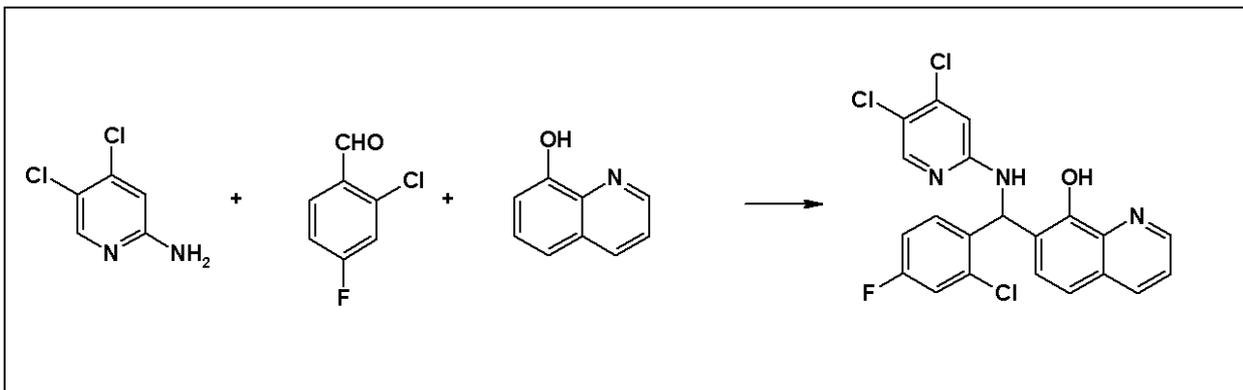
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 6 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 - クロロ - 4 - フルオロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 5 7 - 1 5 8) 。

20

【0998】

A D 4 - 1 3 1 8 6 の 調 製 :

【化 2 2 9】



30

【0999】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【1000】

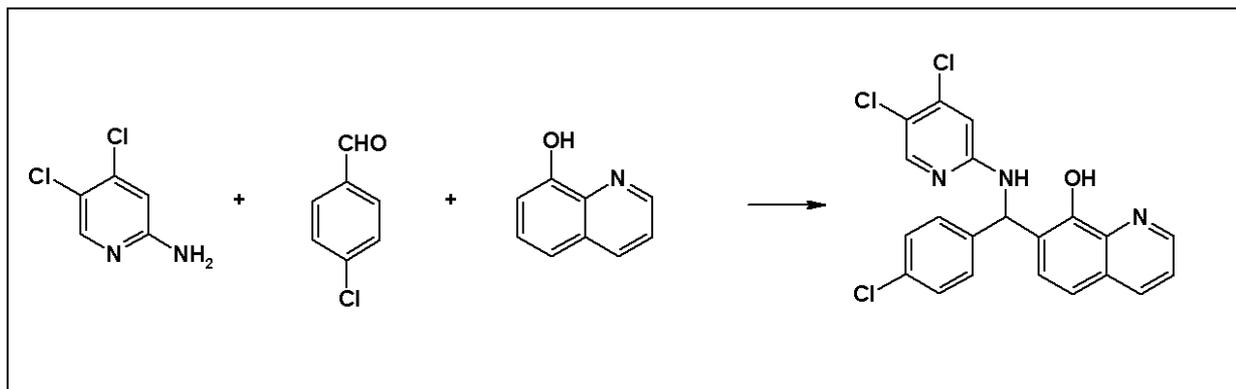
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (0 1 . 4 2 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - ヒドロキシ - 4 - メトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 5 2 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 0 3 - 1 0 5) 。

40

【1001】

A D 4 - 1 3 1 8 7 の 調 製 :

【化230】



10

【1002】

実施例AD4-13022に記載の方法と同様の方法にて：

【1003】

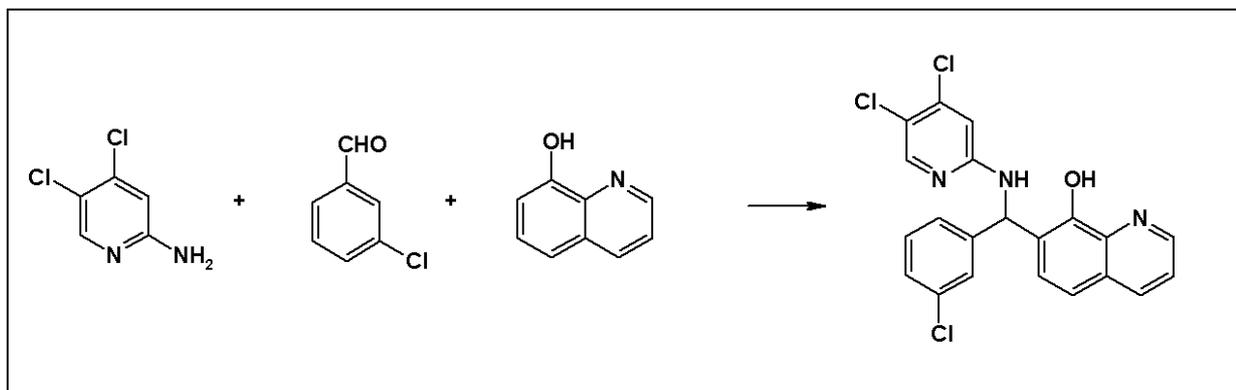
2-アミノ-4,5-ジクロロピリジン (BBM-001-049; 1.63 g、0.01モル) および4-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点140-141)。

20

【1004】

AD4-13188の調製：

【化231】



30

【1005】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1006】

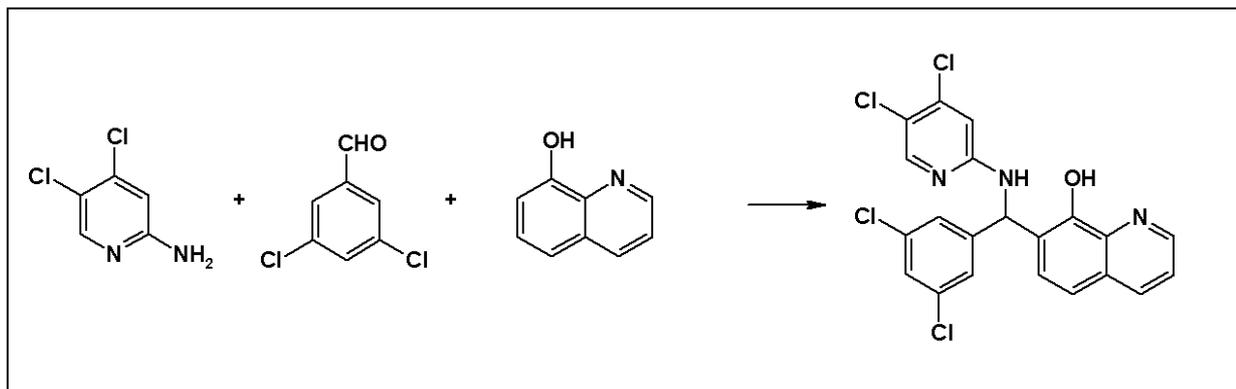
2-アミノ-4,5-ジクロロピリジン (BBM-001-049; 1.63 g、0.01モル) および3-クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.41 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点116-121)。

40

【1007】

AD4-13189の調製：

【化 2 3 2】



10

【1008】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【1009】

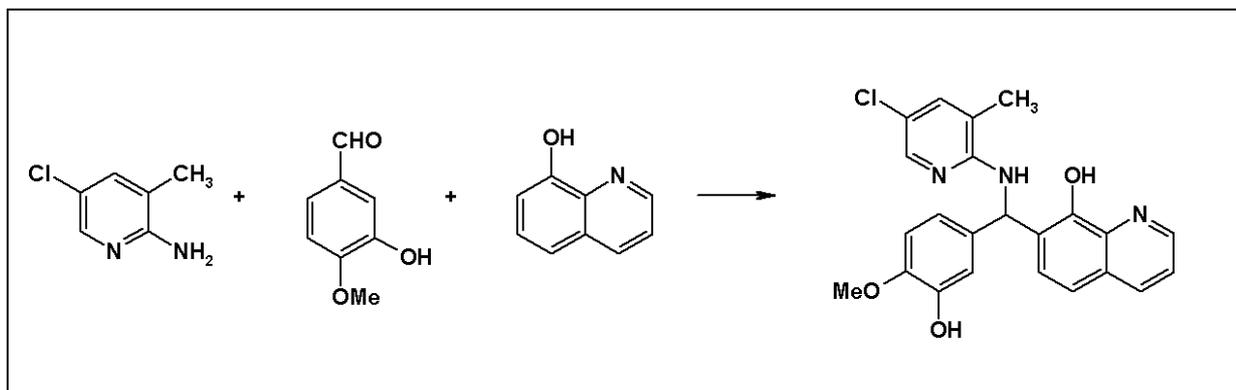
2 - アミノ - 4,5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1.63 g、0.01 モル) および 3,5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 155 - 159) 。

20

【1010】

A D 4 - 1 3 1 9 0 の調製：

【化 2 3 3】



30

【1011】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【1012】

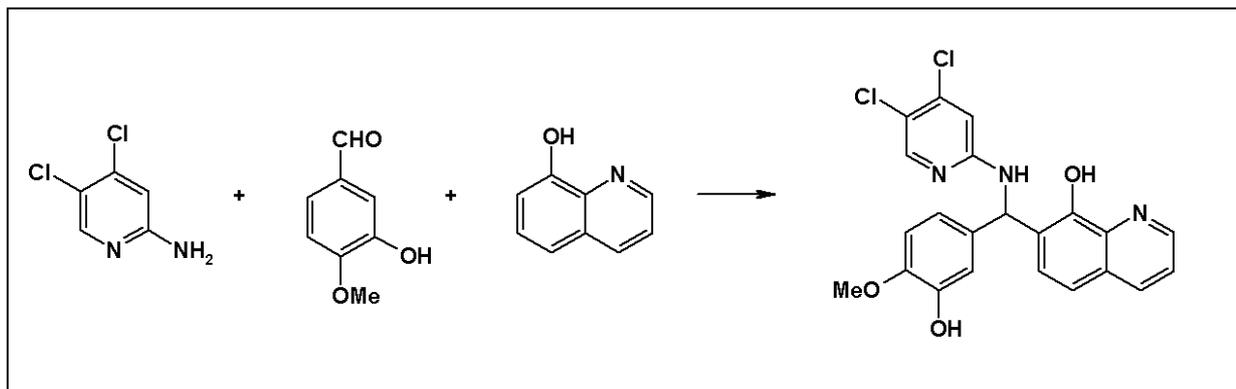
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1.43 g、0.01 モル) および 3 - ヒドロキシ - 4 - メトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.52 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点 88 - 92) 。

40

【1013】

A D 4 - 1 3 1 9 1 の調製：

【化234】



10

【1014】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1015】

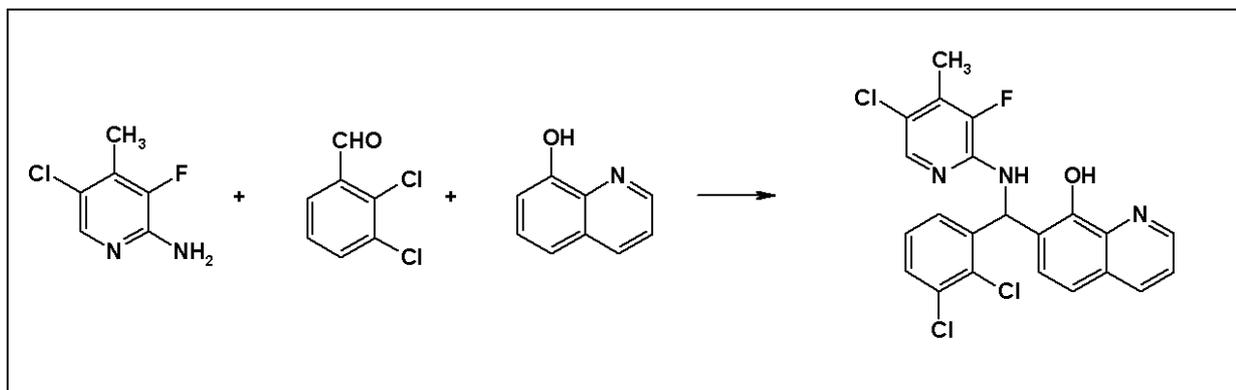
2-アミノ-4,5-ジクロロピリジン (BBM-001-049; 1.75 g、0.01モル) および3-ヒドロキシ-4-メトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.52 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点104-105)。

20

【1016】

AD4-13192の調製：

【化235】



30

【1017】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1018】

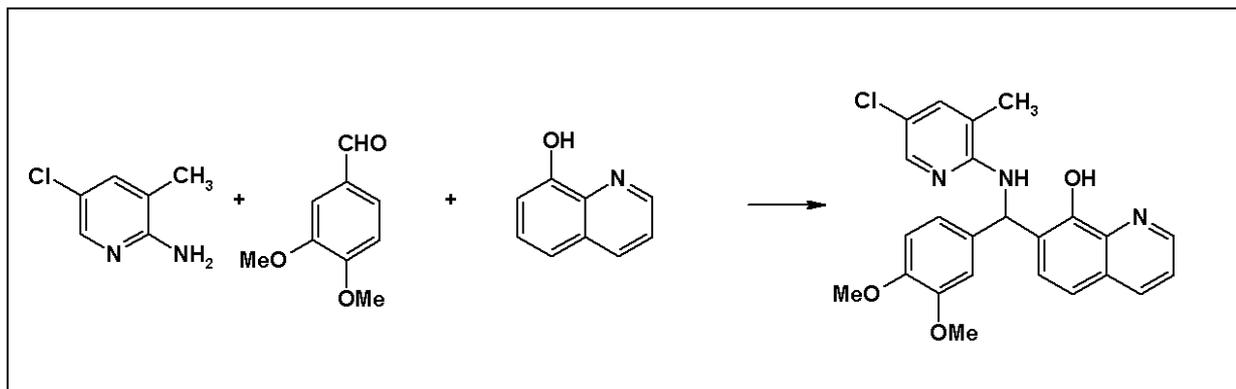
2-アミノ-3-フルオロ-4-メチル-5-クロロピリジン (BBM-001-065; 1.61 g 0.01モル) および2,3-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点179-180)。

40

【1019】

AD4-13193の調製：

【化 2 3 6】



10

【1020】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【1021】

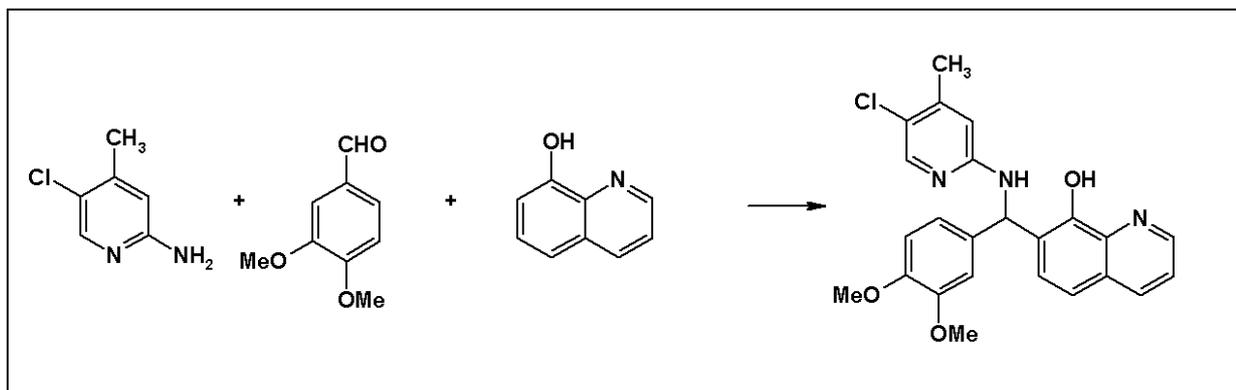
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 6 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 4 8 - 5 3) 。

20

【1022】

A D 4 - 1 3 1 9 4 の 調 製 :

【化 2 3 7】



30

【1023】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【1024】

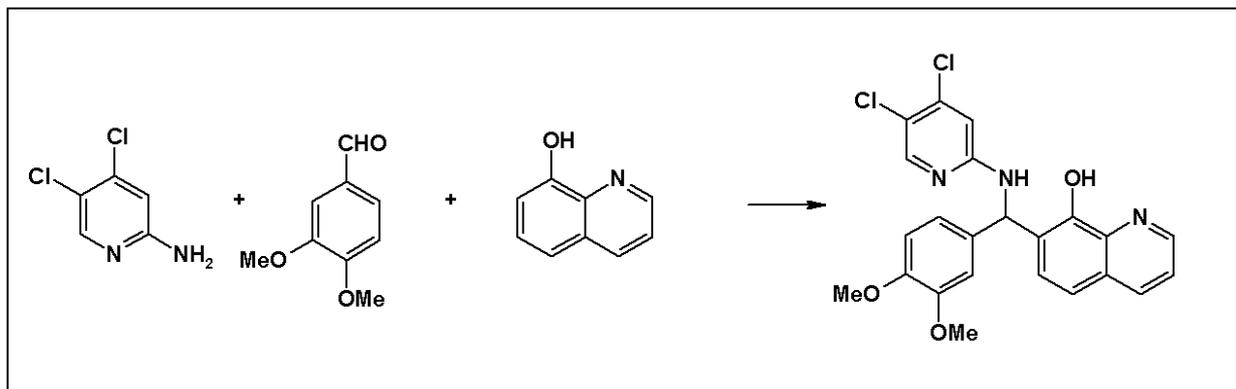
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 6 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 黄 褐 色 油 と し て 得 る 。

40

【1025】

A D 4 - 1 3 1 9 5 の 調 製 :

【化 2 3 8】



10

【 1 0 2 6】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 2 7】

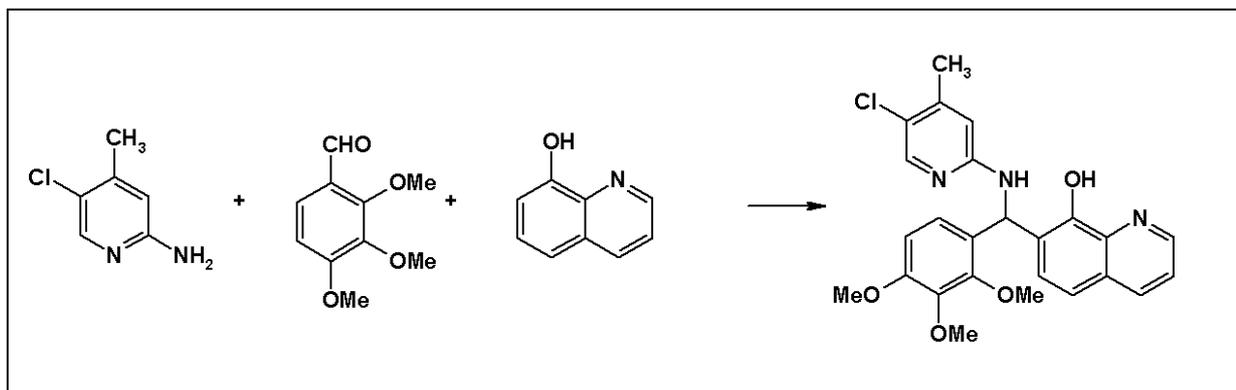
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 6 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 6 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色油として得る。

20

【 1 0 2 8】

A D 4 - 1 3 1 9 6 の調製：

【化 2 3 9】



30

【 1 0 2 9】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 3 0】

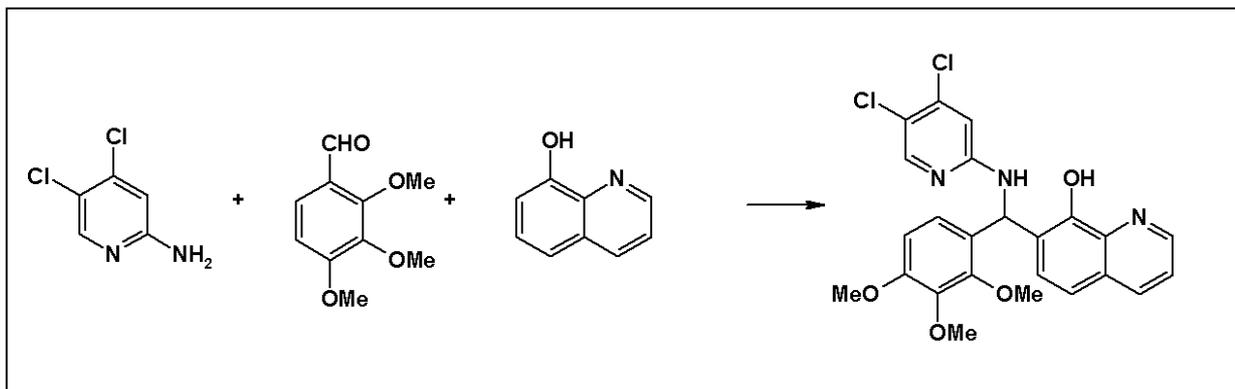
2 - アミノ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (Matrix Scientific) (1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 4 - トリメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 9 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 1 6 5 - 1 6 6) 。

40

【 1 0 3 1】

A D 4 - 1 3 1 9 7 の調製：

【化 2 4 0】



10

【 1 0 3 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 3 3】

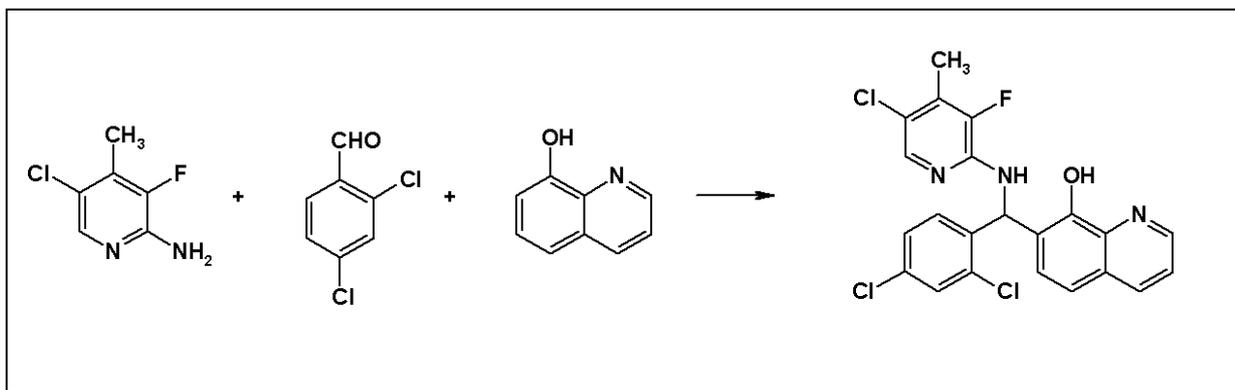
2 - アミノ - 4,5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1.63 g、0.01 モル) および 2,3,4 - トリメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.96 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 187 - 190) 。

20

【 1 0 3 4】

A D 4 - 1 3 1 9 9 の調製：

【化 2 4 1】



30

【 1 0 3 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 3 6】

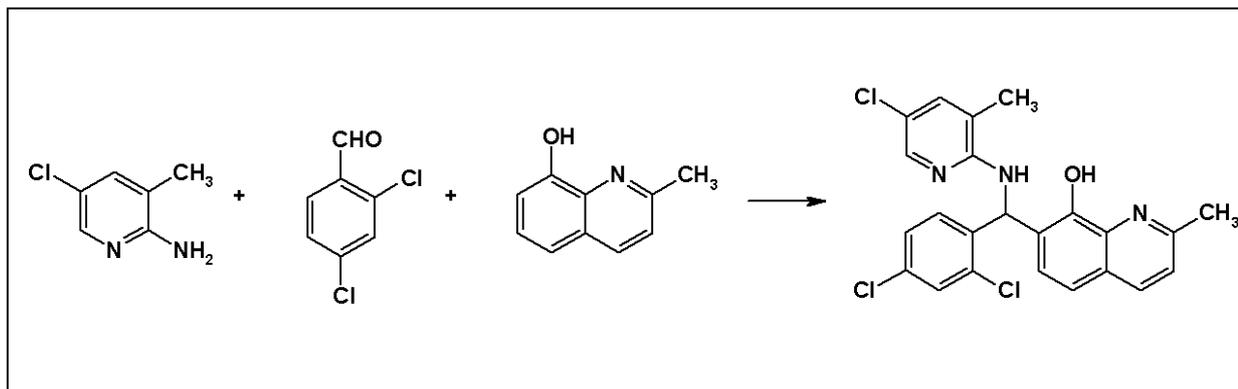
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 6 5 ; 1.61 g 0.01 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 164 - 165) 。

40

【 1 0 3 7】

A D 4 - 1 3 2 0 0 の調製：

【化 2 4 2】



10

【 1 0 3 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 3 9 】

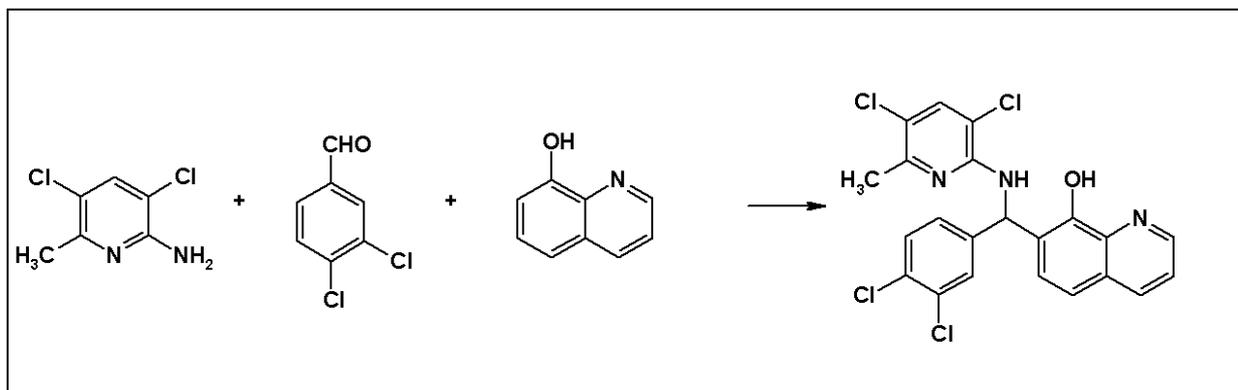
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 緑 色 固 体 と し て 得 る (融 点 2 1 5 - 2 1 7) 。

20

【 1 0 4 0 】

A D 4 - 1 3 2 0 2 の 調 製 :

【化 2 4 3】



30

【 1 0 4 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 4 2 】

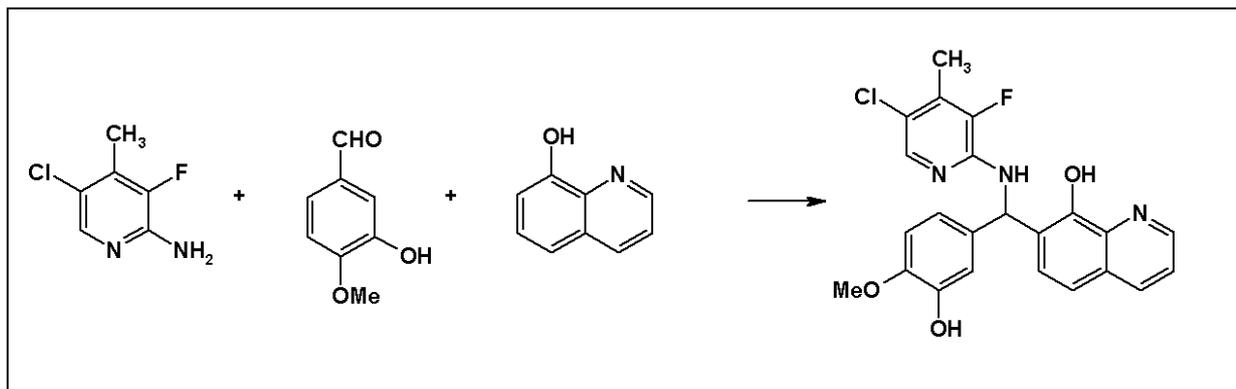
2 - アミノ - 3 , 5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1 . 7 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 5 9 - 1 6 0) 。

40

【 1 0 4 3 】

A D 4 - 1 3 2 0 3 の 調 製 :

【化 2 4 4】



10

【1044】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【1045】

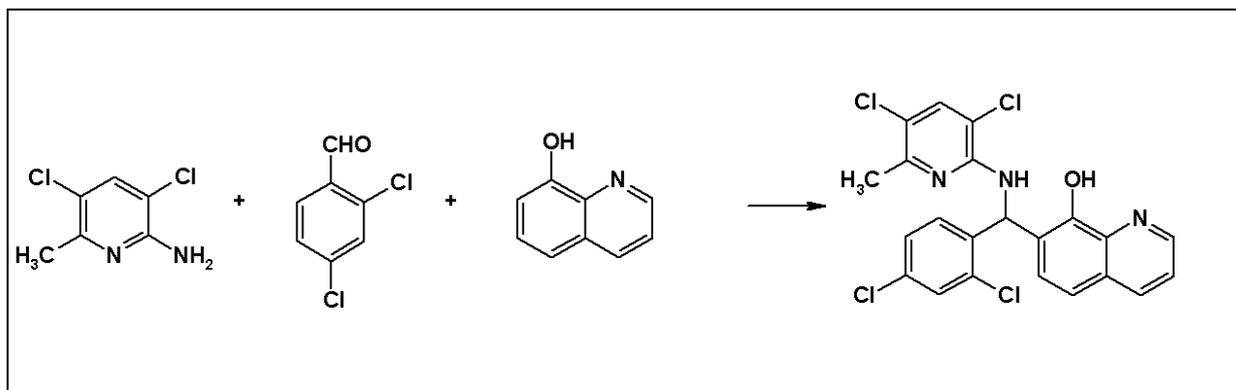
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 6 5 ; 1 . 6 1 g 0 . 0 1 モル) および 3 - ヒドロキシ - 4 - メトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 5 2 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 8 7 - 9 0) 。

20

【1046】

A D 4 - 1 3 2 0 6 の 調 製 :

【化 2 4 5】



30

【1047】

実施例に記載の方法と同様の方法にて；

【1048】

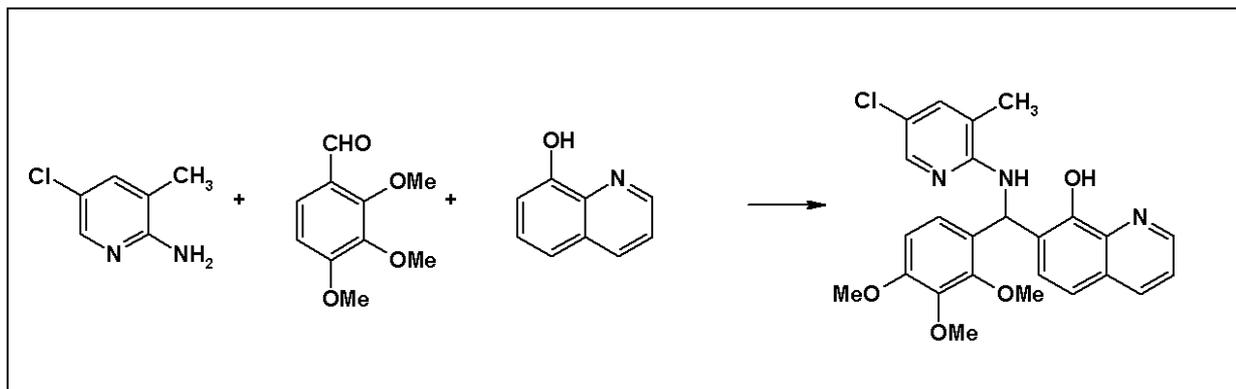
2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1 . 7 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 7 1 - 1 7 5) 。

40

【1049】

A D 4 - 1 3 2 0 8 の 調 製 :

【化 2 4 6】



10

【 1 0 5 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 5 1】

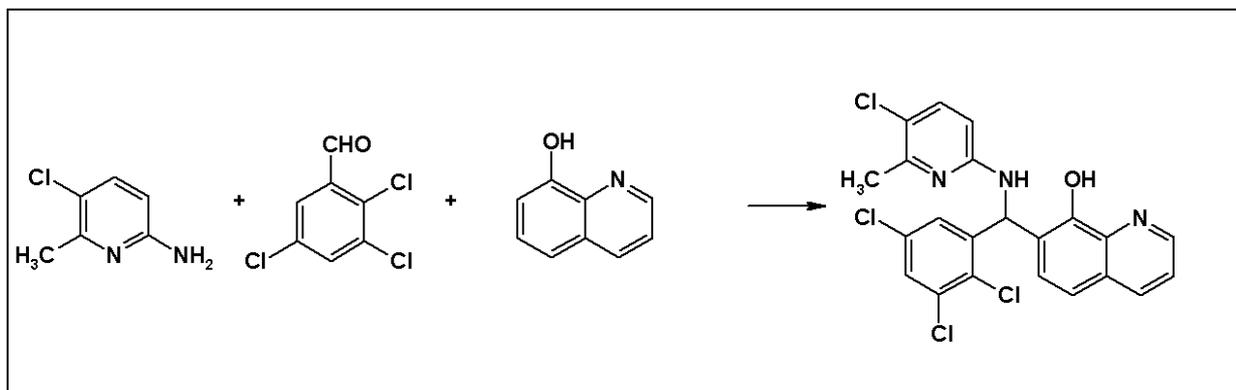
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 4 - トリメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 9 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 7 8 - 1 7 9) 。

20

【 1 0 5 2】

A D 4 - 1 3 2 0 9 の 調 製 :

【化 2 4 7】



30

【 1 0 5 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 5 4】

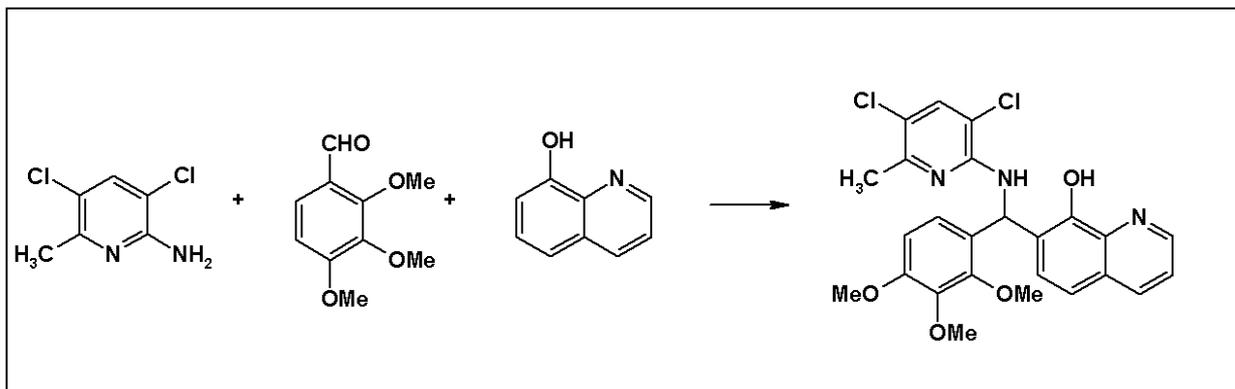
2 - アミノ - 5 - クロロ - 6 - メチルピリジン (I J T - 0 0 1 - 0 9 0 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 9 9 - 1 0 1) 。

40

【 1 0 5 5】

A D 4 - 1 3 2 1 0 の 調 製 :

【化 2 4 8】



10

【 1 0 5 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 5 7 】

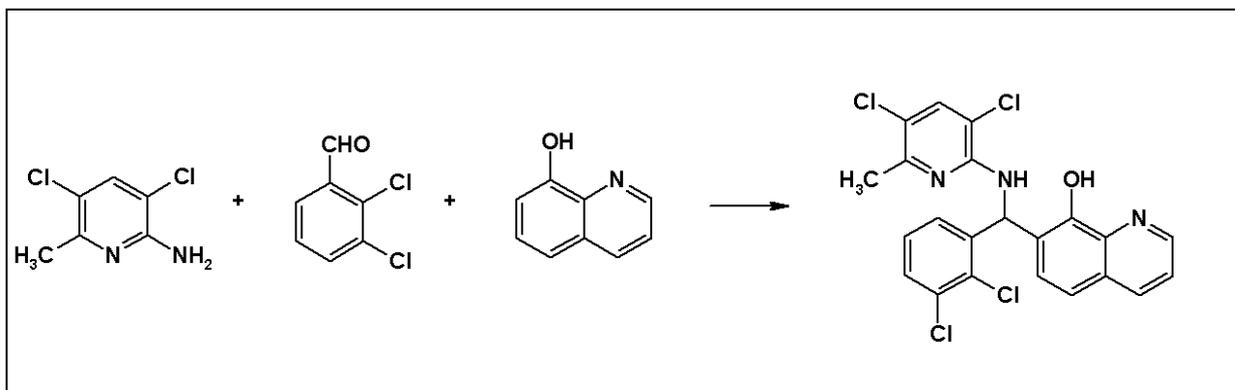
2 - アミノ - 3, 5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1. 7 7 g、0. 0 1 モル) および 2, 3, 4 - トリメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1. 9 6 g、0. 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1. 4 5 g、0. 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点 1 3 5 - 1 4 2)。

20

【 1 0 5 8 】

A D 4 - 1 3 2 1 1 の調製：

【化 2 4 9】



30

【 1 0 5 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 6 0 】

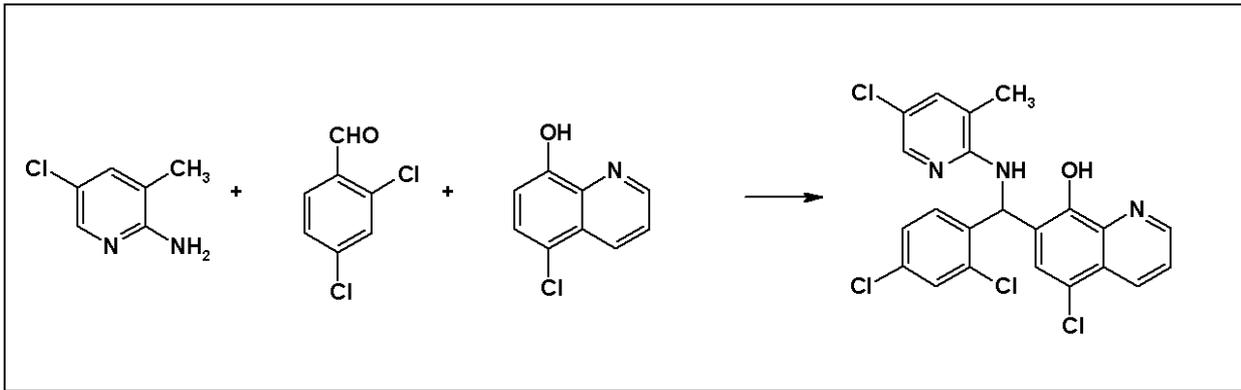
2 - アミノ - 3, 5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1. 7 7 g、0. 0 1 モル) および 2, 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1. 7 5 g、0. 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1. 4 5 g、0. 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 1 1 - 2 1 6)。

40

【 1 0 6 1 】

A D 4 - 1 3 2 1 2 の調製：

【化 2 5 0】



10

【 1 0 6 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 6 3】

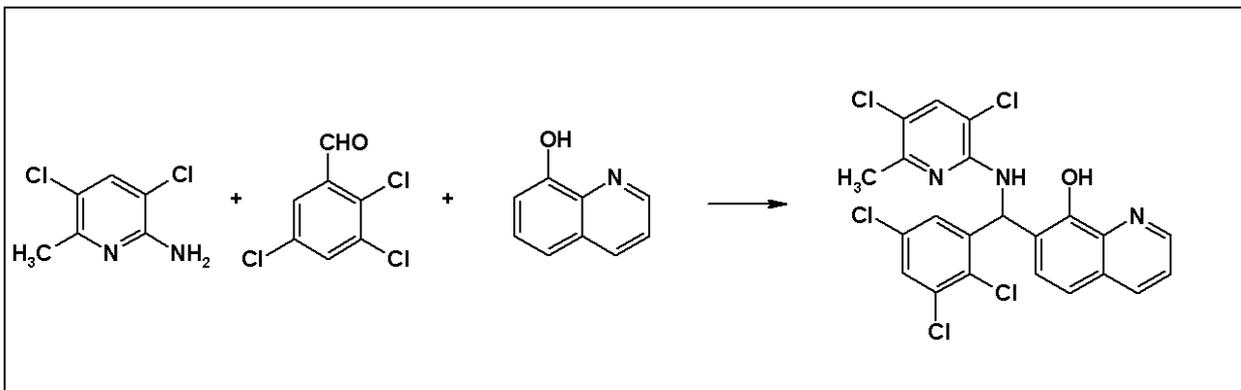
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 5 - クロロ - 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 8 0 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明黄褐色固体として得る (融点 1 5 6 - 1 5 8) 。

20

【 1 0 6 4】

A D 4 - 1 3 2 1 3 の調製：

【化 2 5 1】



30

【 1 0 6 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 6 6】

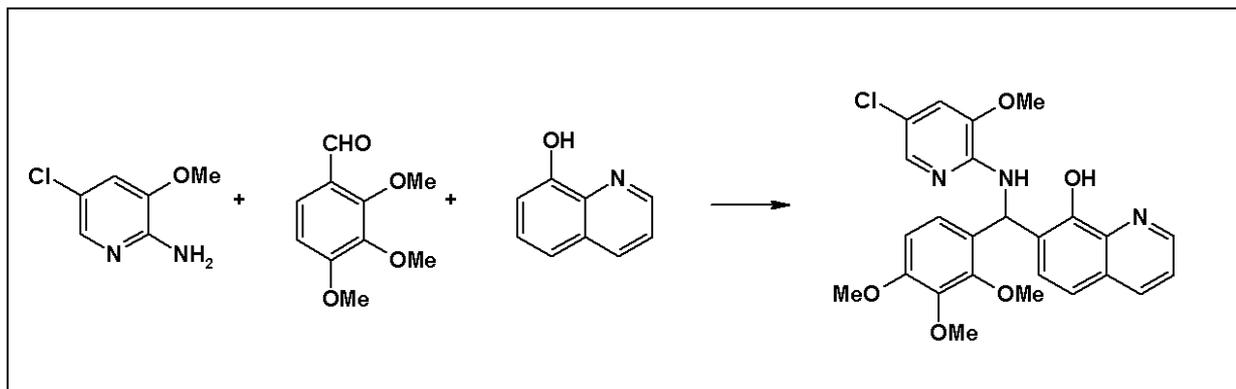
2 - アミノ - 3 , 5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1 . 7 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 0 9 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 2 0 0 - 2 0 2) 。

40

【 1 0 6 7】

A D 4 - 1 3 2 1 4 の調製：

【化 2 5 2】



10

【 1 0 6 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 6 9 】

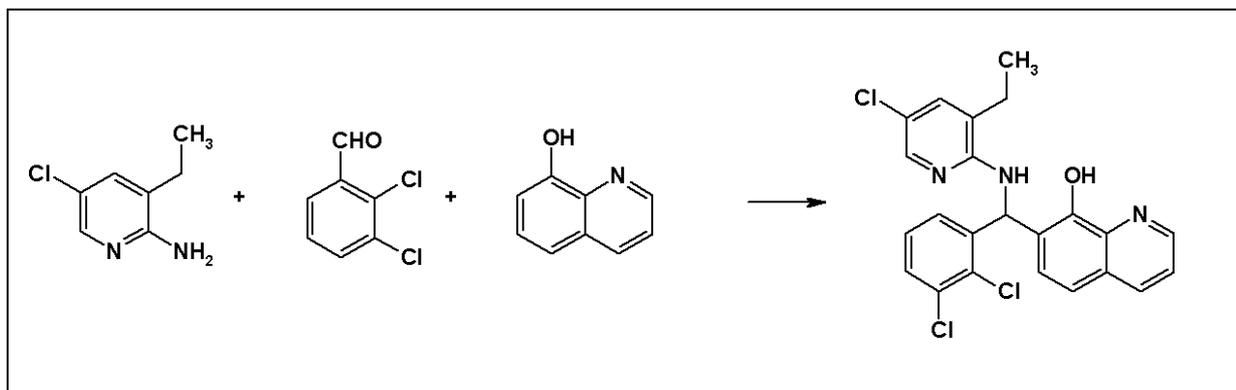
2 - アミノ - 3 - メトキシ - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 1 1 ; 1 . 5 9 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 4 - トリメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 9 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 黄 色 固 体 と し て 得 る (融 点 8 2 - 8 6) 。

20

【 1 0 7 0 】

A D 4 - 1 3 2 1 5 の 調 製 :

【化 2 5 3】



30

【 1 0 7 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 7 2 】

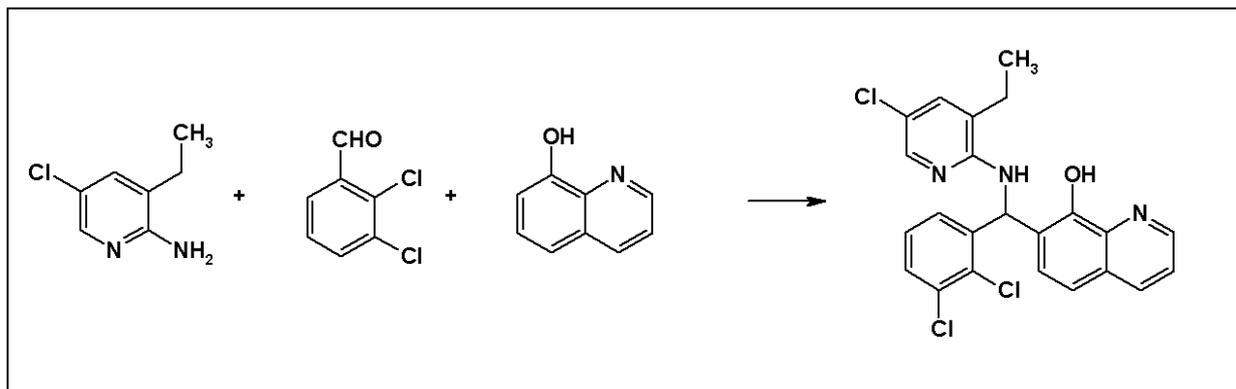
2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 2 ; 1 . 5 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 6 0 - 1 6 3) 。

40

【 1 0 7 3 】

A D 4 - 1 3 2 1 6 の 調 製 :

【化254】



10

【1074】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1075】

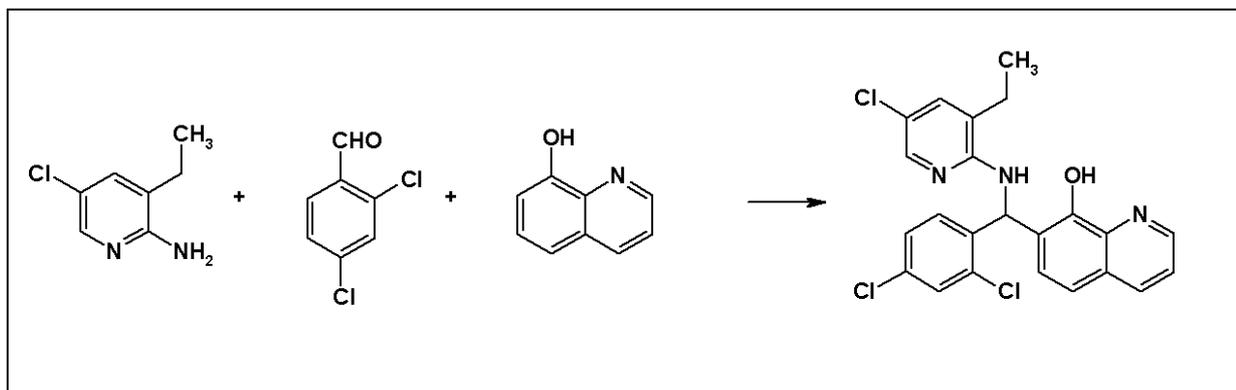
2-アミノ-3-メトキシ-5-クロロピリジン (BBM-001-011; 1.59 g、0.01モル) および3,5-ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.75 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点180-183)。

20

【1076】

AD4-13217の調製：

【化255】



30

【1077】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1078】

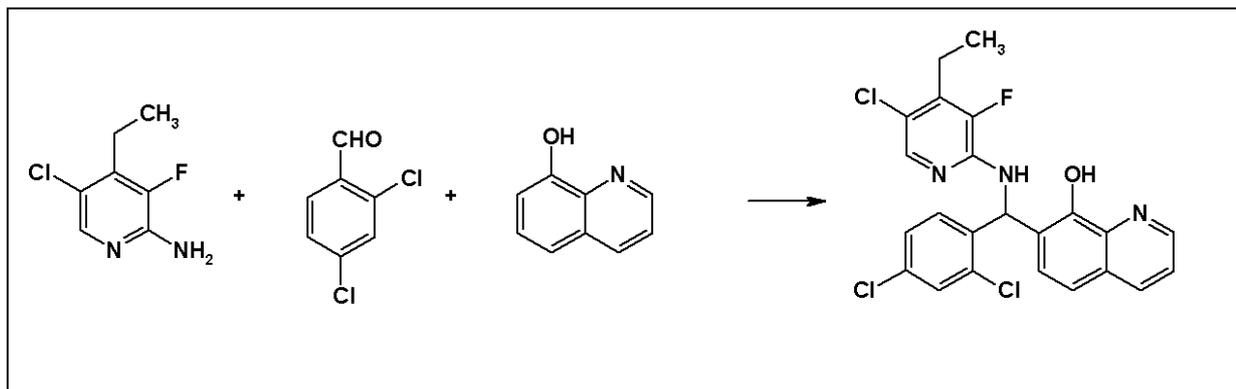
2-アミノ-3-エチル-5-クロロピリジン (BBM-001-072; 1.57 g、0.01モル) および2,4-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と50 mlの無水EtOH中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明緑色固体として得る (融点170-171)。

40

【1079】

AD4-13218の調製：

【化 2 5 6】



10

【 1 0 8 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 8 1】

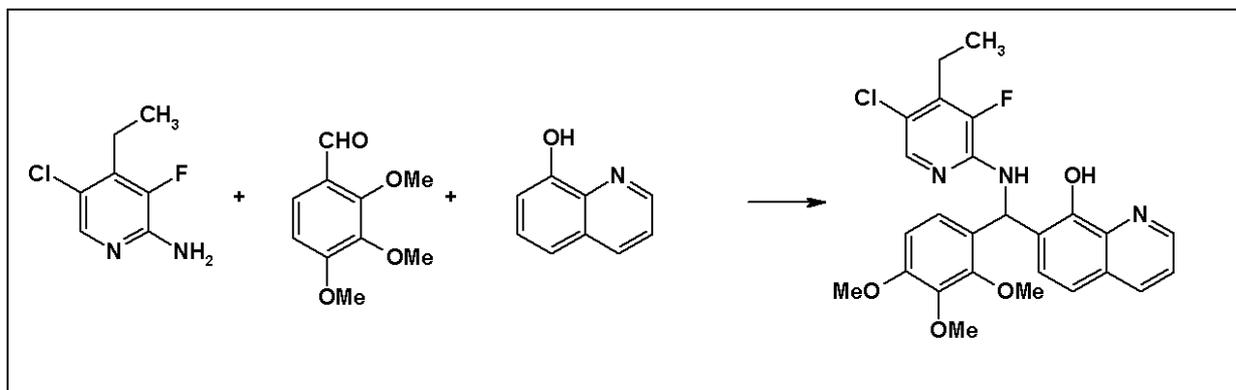
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 4 ; 1 . 7 5 g 0 . 0 1 モル) および 2 , 4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を明黄色固体として得る (融点 6 2 - 7 0) 。

20

【 1 0 8 2】

A D 4 - 1 3 2 1 9 の調製：

【化 2 5 7】



30

【 1 0 8 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 8 4】

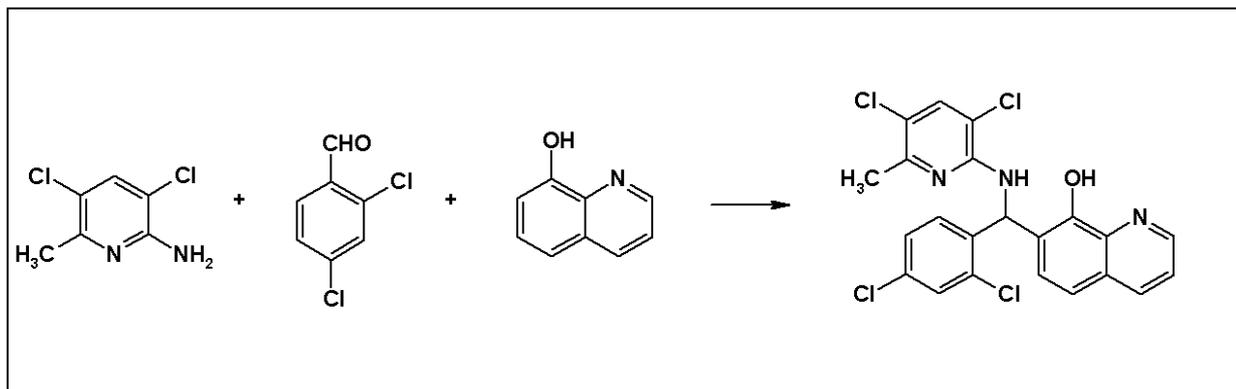
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 4 ; 1 . 7 5 g 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 , 4 - トリメトキシベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 9 6 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を緑色油として得る。

40

【 1 0 8 5】

A D 4 - 1 3 2 2 0 の調製：

【化258】



10

【1086】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1087】

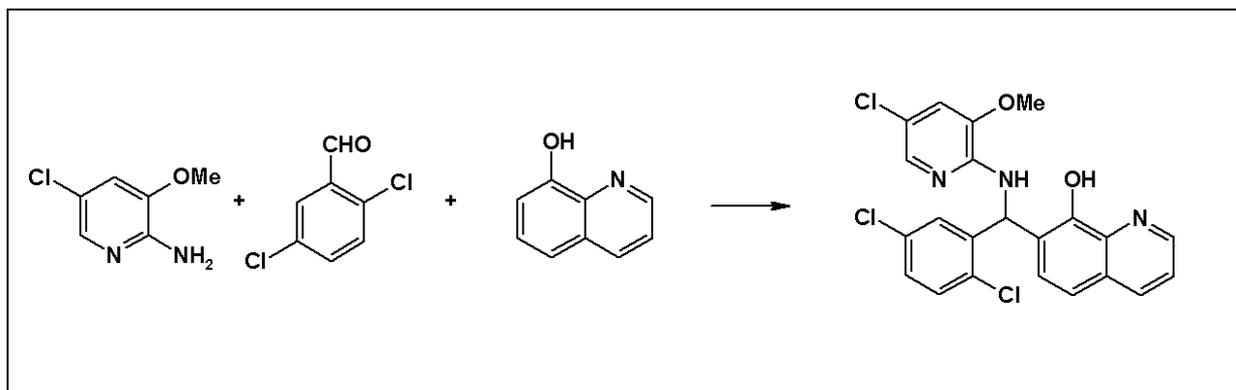
2-アミノ-3,5-ジクロロ-6-メチルピリジン (Matrix Scientific) (1.77 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を灰白色固体として得る (融点 58 - 62)。

20

【1088】

AD4-13221の調製：

【化259】



30

【1089】

実施例AD4-13021に記載の方法と同様の方法にて：

【1090】

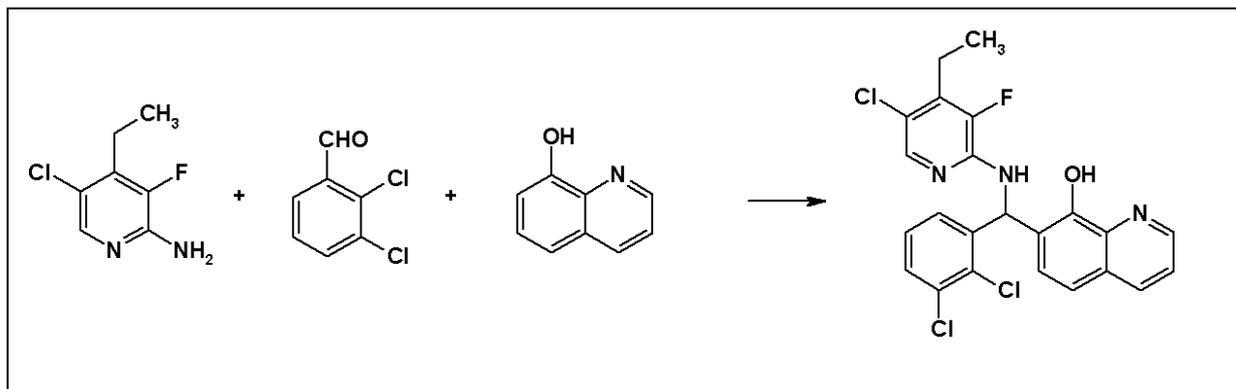
2-アミノ-3-メトキシ-5-クロロピリジン (BBM-001-011; 1.59 g、0.01モル) および 2,5-ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1.75 g、0.01モル) を 8-ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01モル) と 50 ml の無水 EtOH 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を明黄褐色固体として得る (融点 250 - 267)。

40

【1091】

AD4-13222の調製：

【化 2 6 0】



10

【 1 0 9 2】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 9 3】

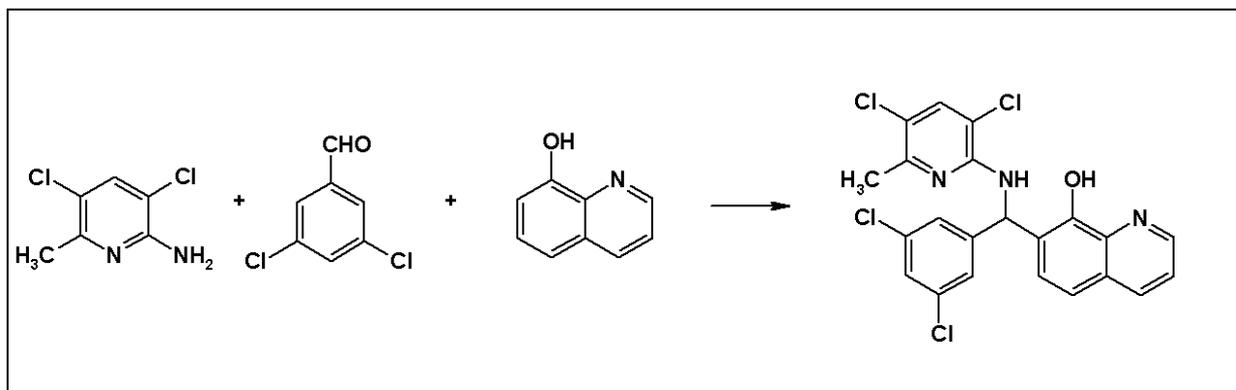
2 - アミノ - 3 - フルオロ - 4 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 4 ; 1 . 7 5 g 0 . 0 1 モル) および 2 , 3 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 黄 褐 色 固 体 と し て 得 る (融 点 7 3 - 7 9) 。

20

【 1 0 9 4】

A D 4 - 1 3 2 2 3 の 調 製 :

【化 2 6 1】



30

【 1 0 9 5】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 9 6】

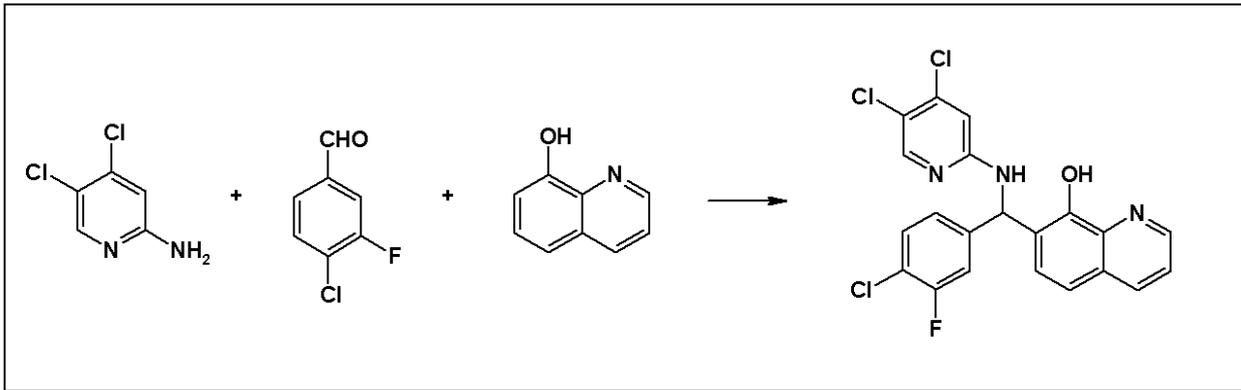
2 - アミノ - 3 , 5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1 . 7 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 わ せ 、 所 望 の ペ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 2 8 - 1 3 0) 。

40

【 1 0 9 7】

A D 4 - 1 3 2 2 4 の 調 製 :

【化 2 6 2】



10

【 1 0 9 8 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 0 9 9 】

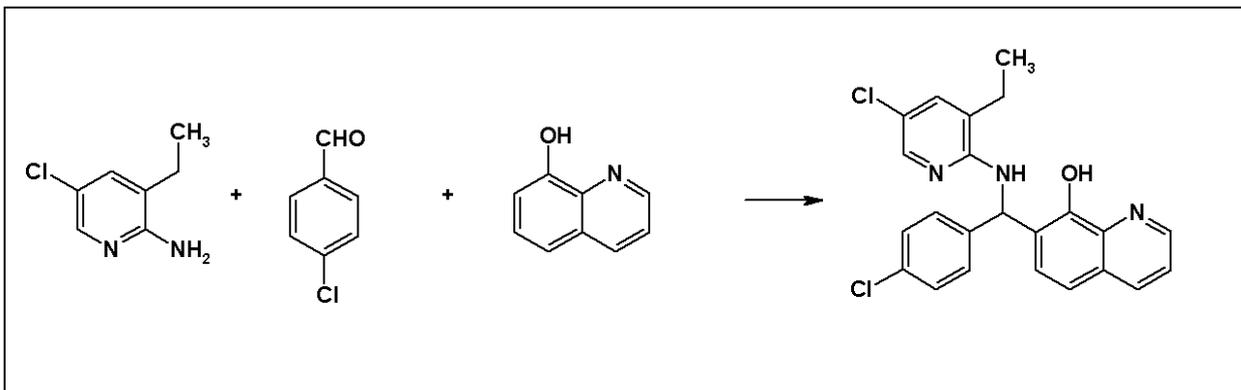
2 - アミノ - 4 , 5 - ジクロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 4 9 ; 1 . 6 3 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) 、 (1 . 5 9 g 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 灰 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 0 6 - 1 1 0) 。

20

【 1 1 0 0 】

A D 4 - 1 3 2 2 5 の 調 製 :

【化 2 6 3】



30

【 1 1 0 1 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 0 2 】

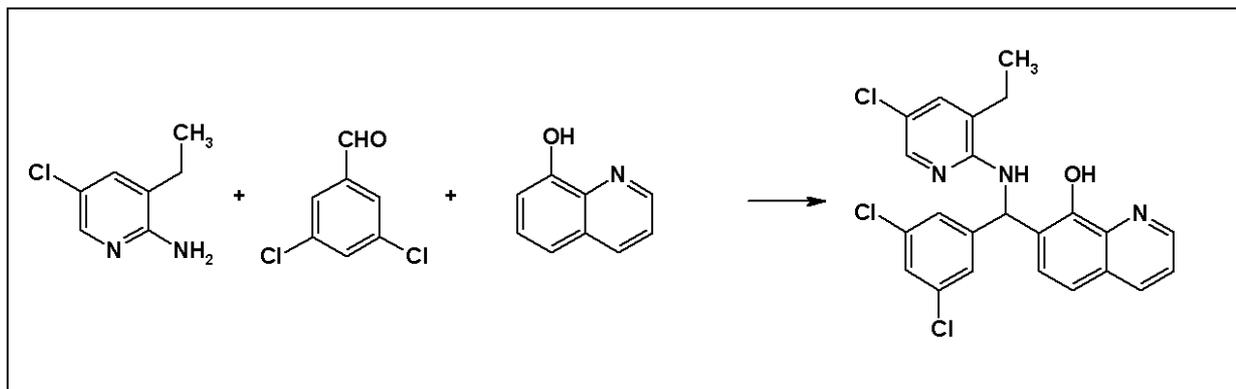
2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 2 ; 1 . 5 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 4 - クロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1 . 4 1 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 灰 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 0 8 - 1 1 1) 。

40

【 1 1 0 3 】

A D 4 - 1 3 2 2 6 の 調 製 :

【化 2 6 4】



10

【 1 1 0 4】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 0 5】

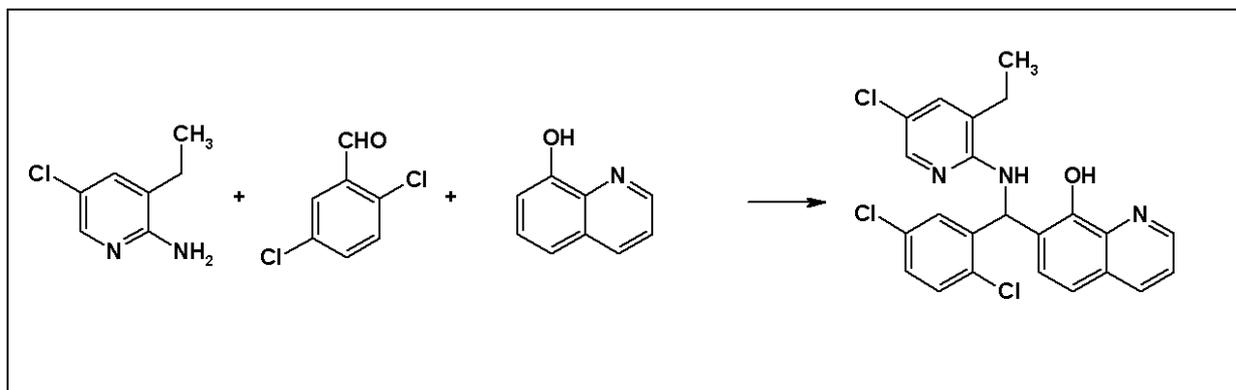
2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 2 ; 1 . 5 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 3 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 灰 白 色 固 体 と し て 得 る (融 点 1 4 5 - 1 4 7) 。

20

【 1 1 0 6】

A D 4 - 1 3 2 2 7 の 調 製 :

【化 2 6 5】



30

【 1 1 0 7】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 0 8】

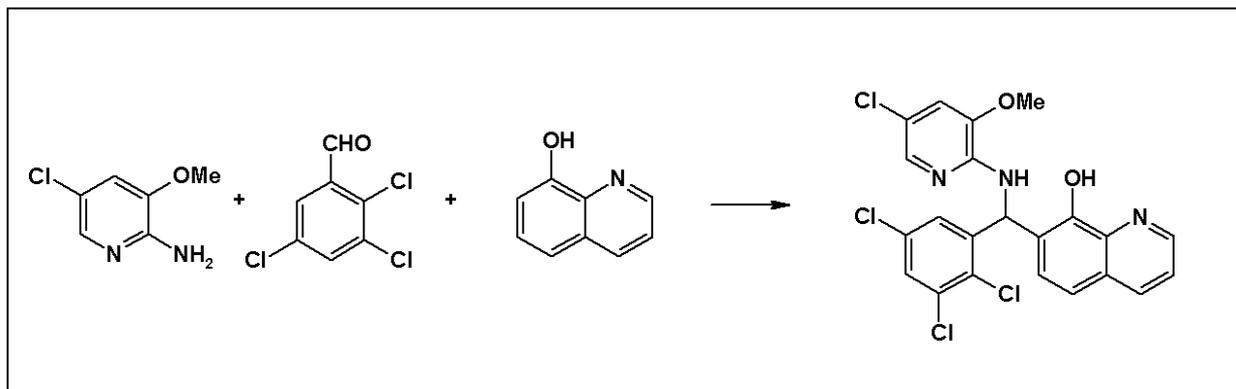
2 - アミノ - 3 - エチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 2 ; 1 . 5 7 g 、 0 . 0 1 モル) および 2 , 5 - ジクロロベンズアルデヒド (Matrix Scientific) (1 . 7 5 g 、 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g 、 0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の 無 水 E t O H 中 で 合 せ 、 所 望 の ベ テ ィ 縮 合 反 応 生 成 物 を 明 灰 色 固 体 と し て 得 る (融 点 6 5 - 6 9) 。

40

【 1 1 0 9】

A D 4 - 1 3 2 2 8 の 調 製 :

【化 2 6 6】



10

【 1 1 1 0】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 1 1】

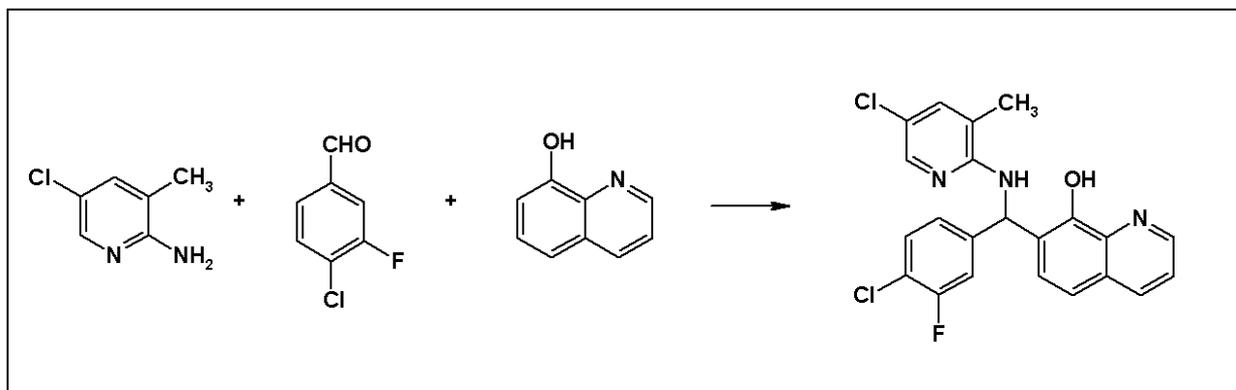
2 - アミノ - 3 - メトキシ - 5 - クロロピリジン、(B B M - 0 0 1 - 0 1 1 ; 1 . 5 9 g、0 . 0 1 モル) および 2, 3, 5 - トリクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (2 . 0 9 g、0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点 1 8 7 - 1 9 0) 。

20

【 1 1 1 2】

A D 4 - 1 3 2 2 9 の調製：

【化 2 6 7】



30

【 1 1 1 3】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 1 4】

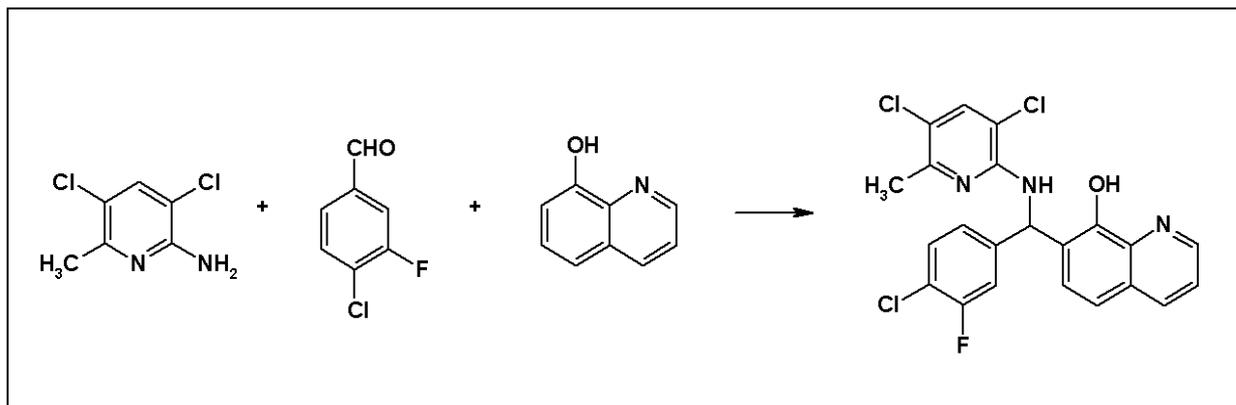
2 - アミノ - 3 - メチル - 5 - クロロピリジン (B B M - 0 0 1 - 0 7 1 ; 1 . 4 3 g、0 . 0 1 モル) および 3 - フルオロ - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products) (1 . 5 9 g 0 . 0 1 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1 . 4 5 g、0 . 0 1 モル) と 5 0 m l の無水 E t O H 中で合わせ、所望のベティ縮合反応生成物を黄褐色固体として得る (融点 7 9 - 8 5) 。

40

【 1 1 1 5】

A D 4 - 1 3 2 3 0 の調製：

【化 2 6 8】



10

【 1 1 1 6 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 1 7 】

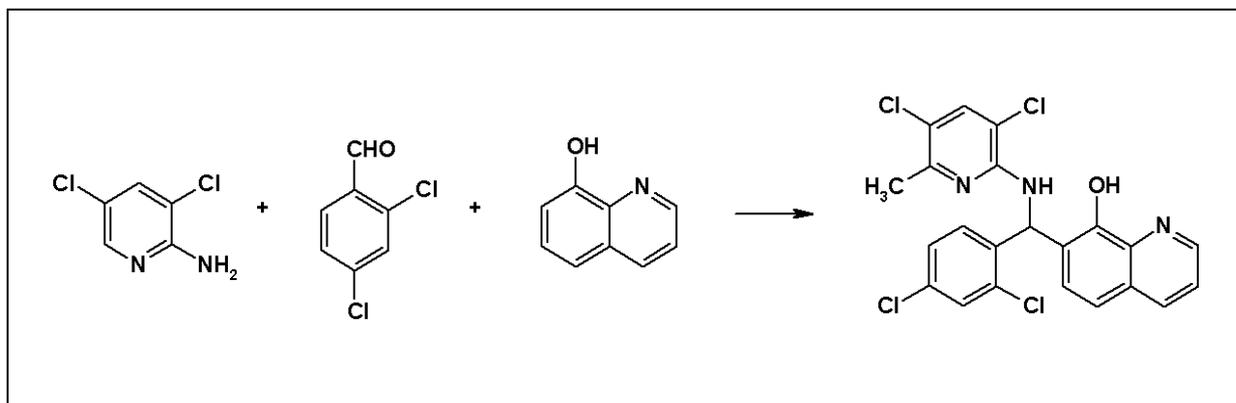
2 - アミノ - 3,5 - ジクロロ - 6 - メチルピリジン (Matrix Scientific) (1.77 g、0.01 モル) および 3 - フルオロ - 4 - クロロベンズアルデヒド (Oakwood Products)、(1.59 g 0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 101 - 108)。

20

【 1 1 1 8 】

A D 4 - 1 3 2 3 1 の調製：

【化 2 6 9】



30

【 1 1 1 9 】

実施例 A D 4 - 1 3 0 2 1 に記載の方法と同様の方法にて：

【 1 1 2 0 】

2 - アミノ - 3,5 - ジクロロピリジン (Wonda Science) (1.63 g、0.01 モル) および 2,4 - ジクロロベンズアルデヒド (Acros Organics) (1.75 g、0.01 モル) を 8 - ヒドロキシキノリン (Acros Organics) (1.45 g、0.01 モル) と 50 ml の無水 E t O H 中で合わせ、所望のペティ縮合反応生成物を白色固体として得る (融点 126 - 127)。

40

【 1 1 2 1 】

【 3 A 】

AD4-1505

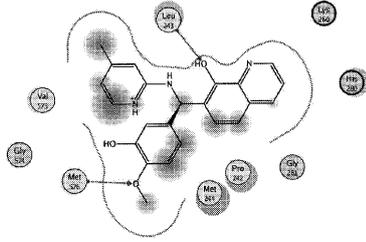


FIG. 3A

【 3 B 】

AD4-10963 (AD4-1505-like)

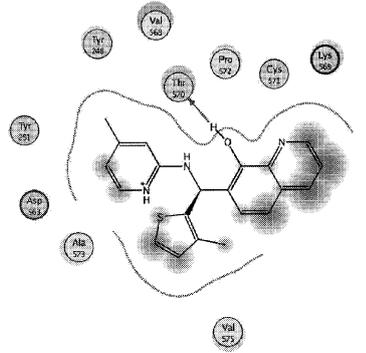


FIG. 3B

【 3 C 】

AD4-10961 (AD4-1505-like)

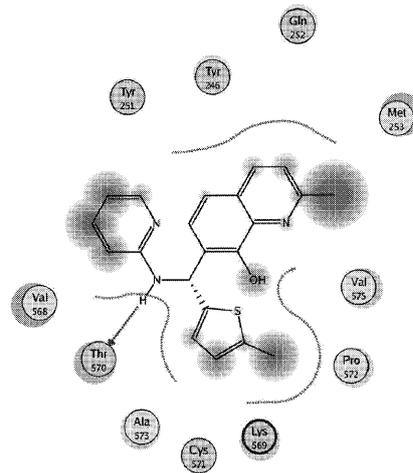


FIG. 3C

【 3 D 】

AD4-10945 (AD4-1505-like)

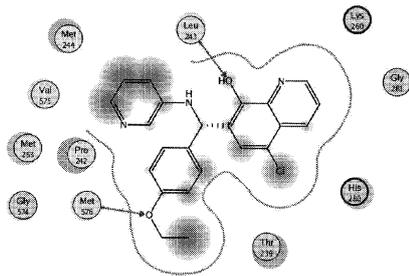


FIG. 3D

【 3 F 】

AD4-10965 (AD4-1505-like)

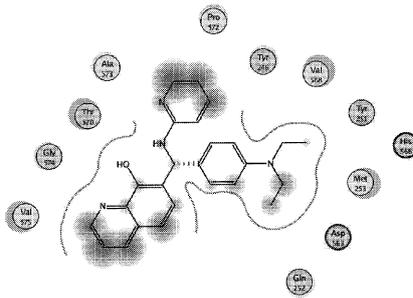


FIG. 3F

【 3 E 】

AD4-10315 (AD4-1505-like)

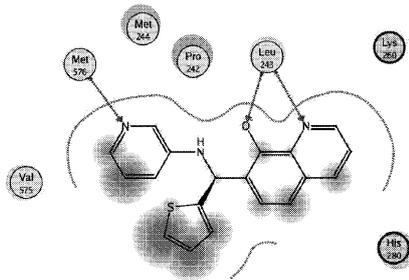


FIG. 3E

【 9 A 】

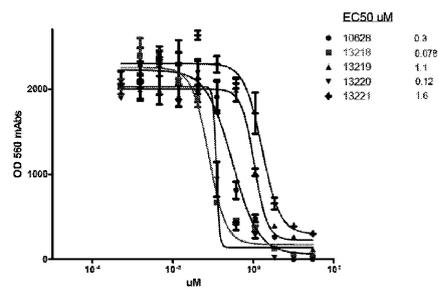


FIG. 9A

【 図 16 A 】

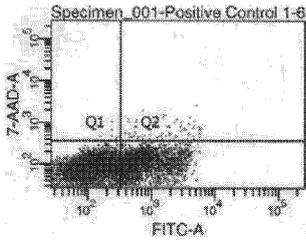
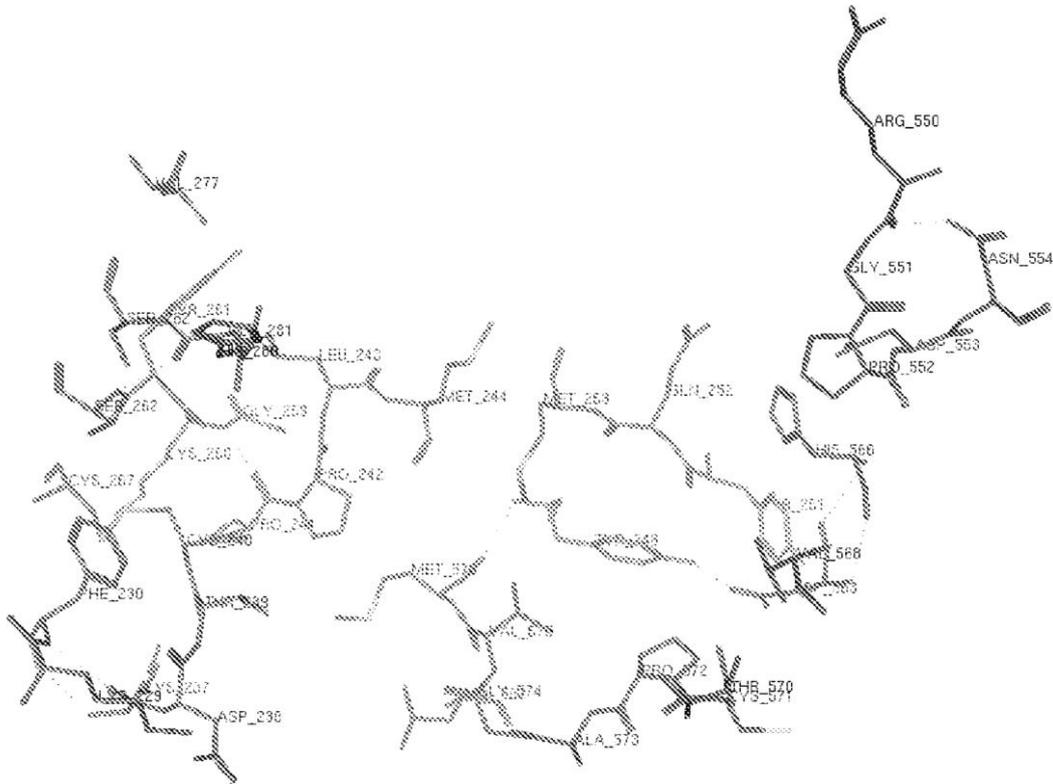


FIG. 16A

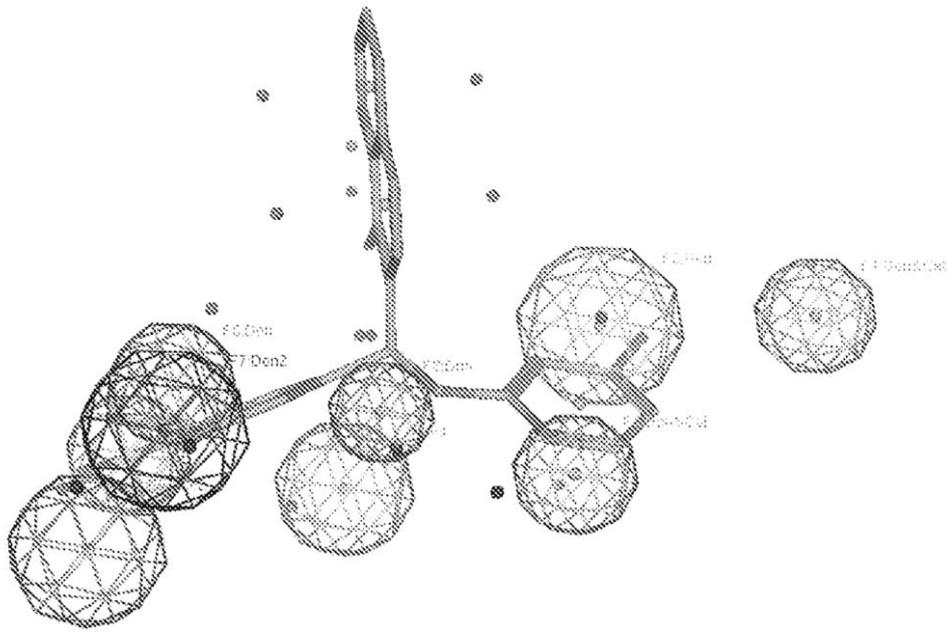
【 図 1 】



不活性な形態の EGFv1(1NQL.pdb) のドメイン II およびドメイン IV の界面にある結合部位

FIG. 1

【 図 2 】



ファーマコフォアモデル : ヒットしたAD4-1505に配置させた Pharm-1nql-glue-5

FIG. 2

【 図 4 A 】

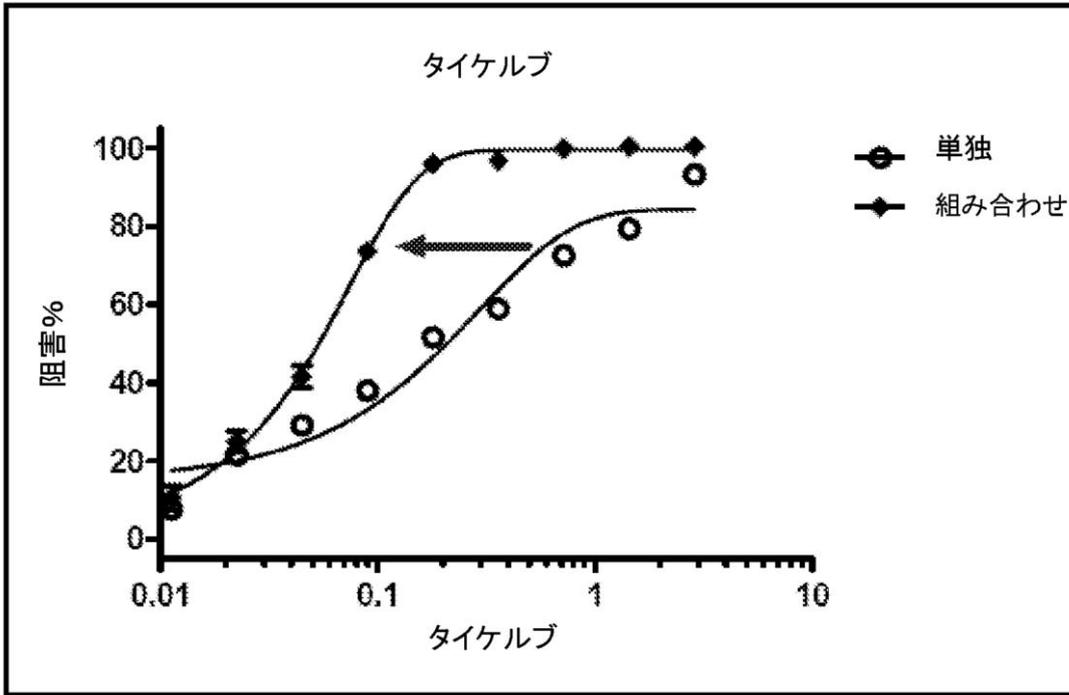


FIG. 4A

【 図 4 B 】

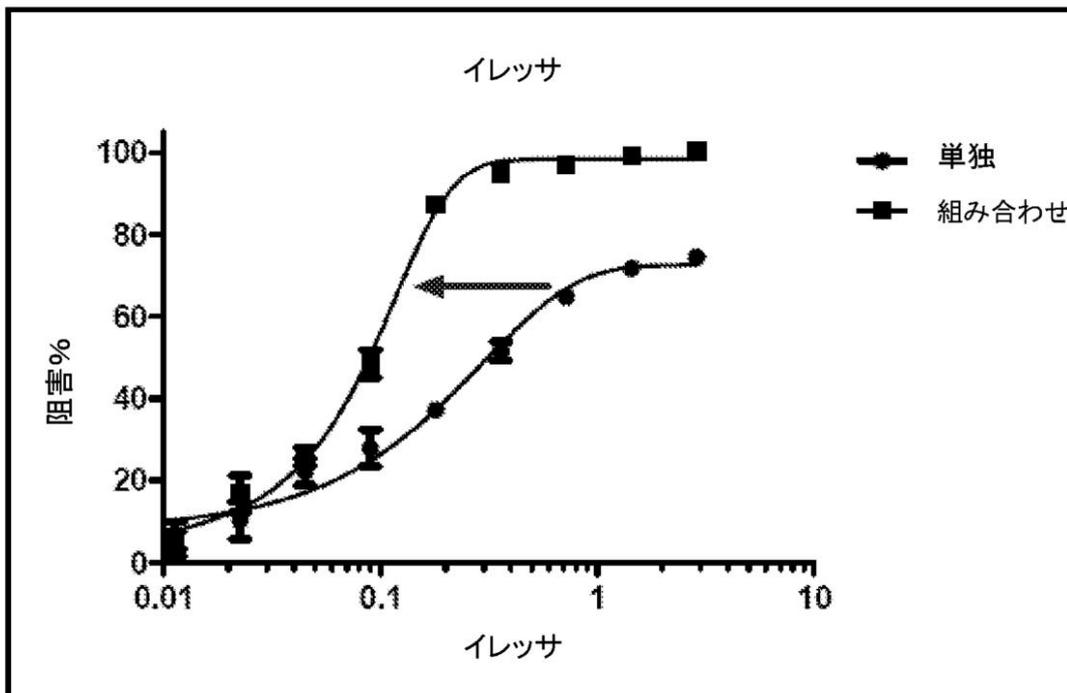


FIG. 4B

【 図 5 】

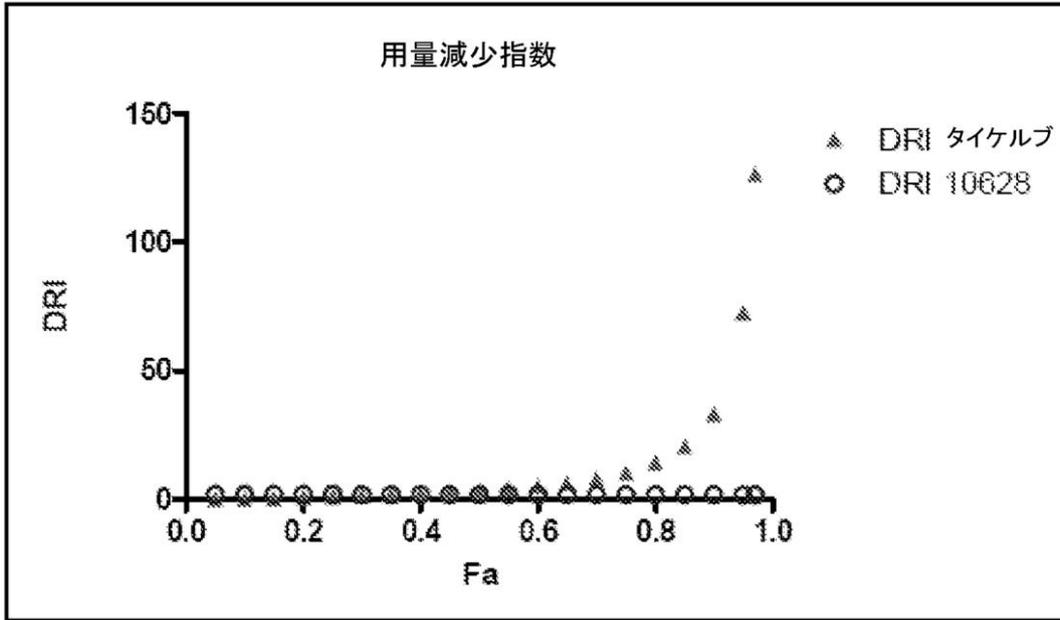
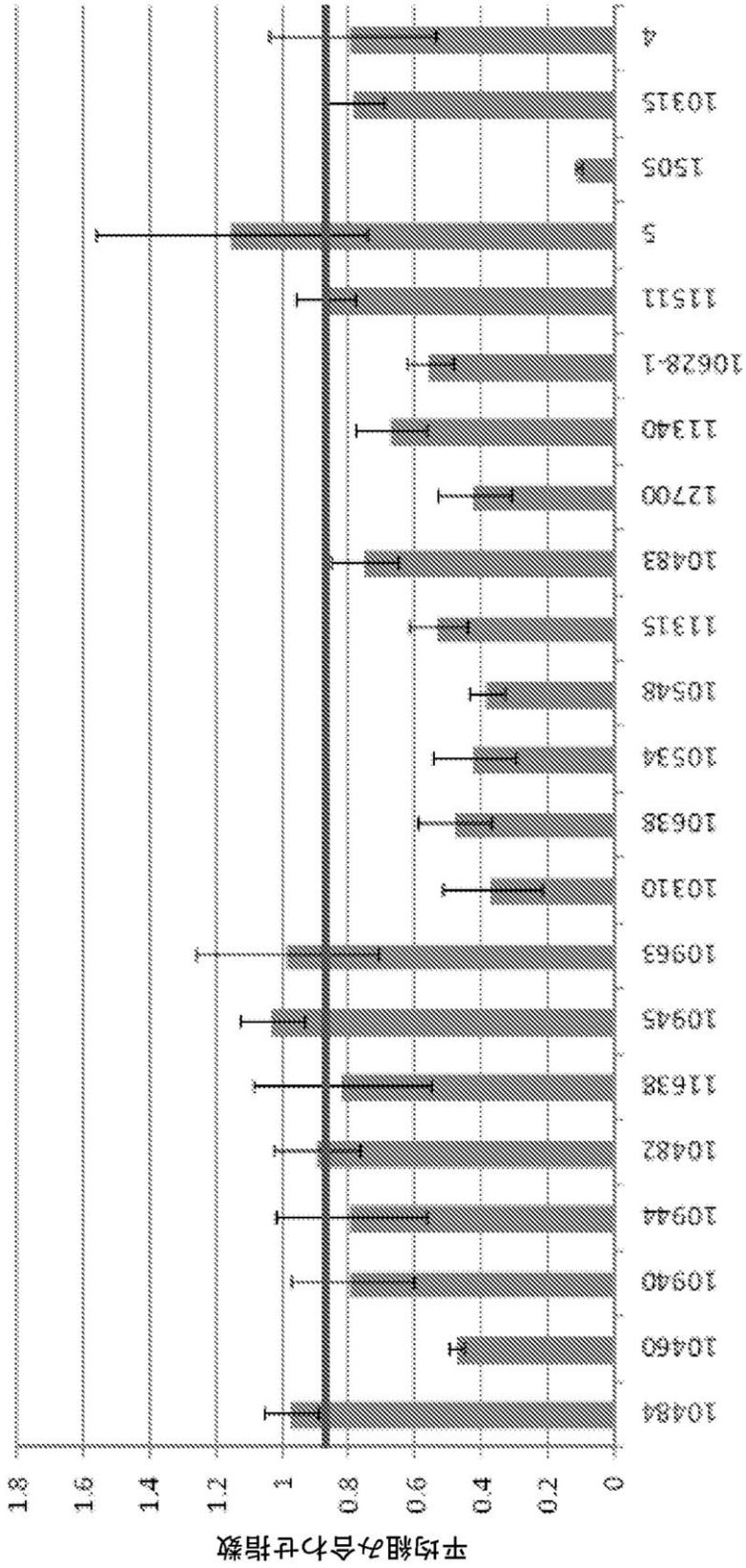


FIG. 5

【図 6】



ED90での化合物

FIG. 6

【 図 7 】

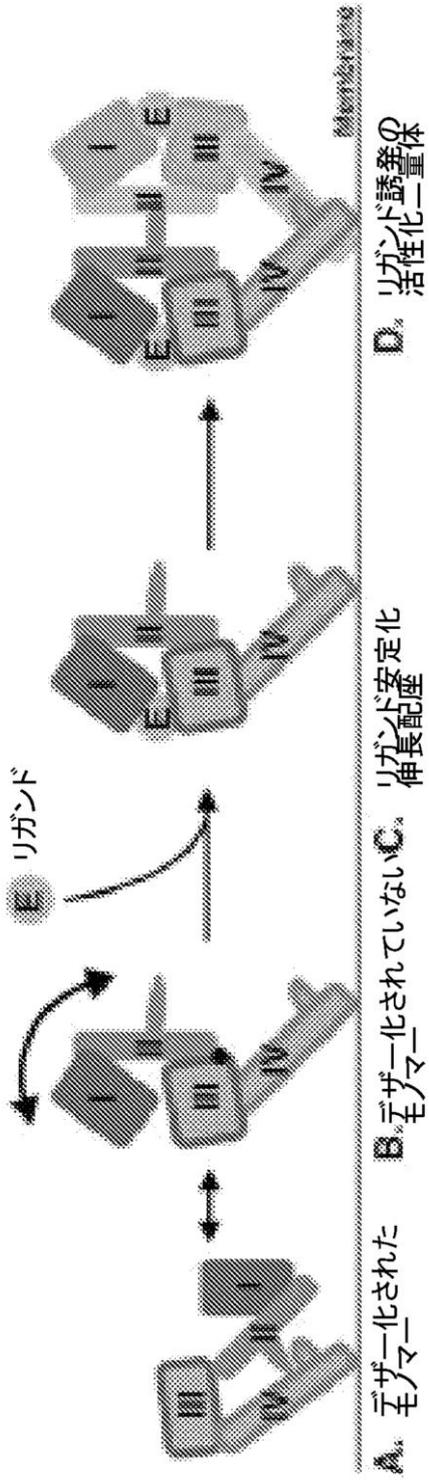


FIG. 7

【 図 8 】

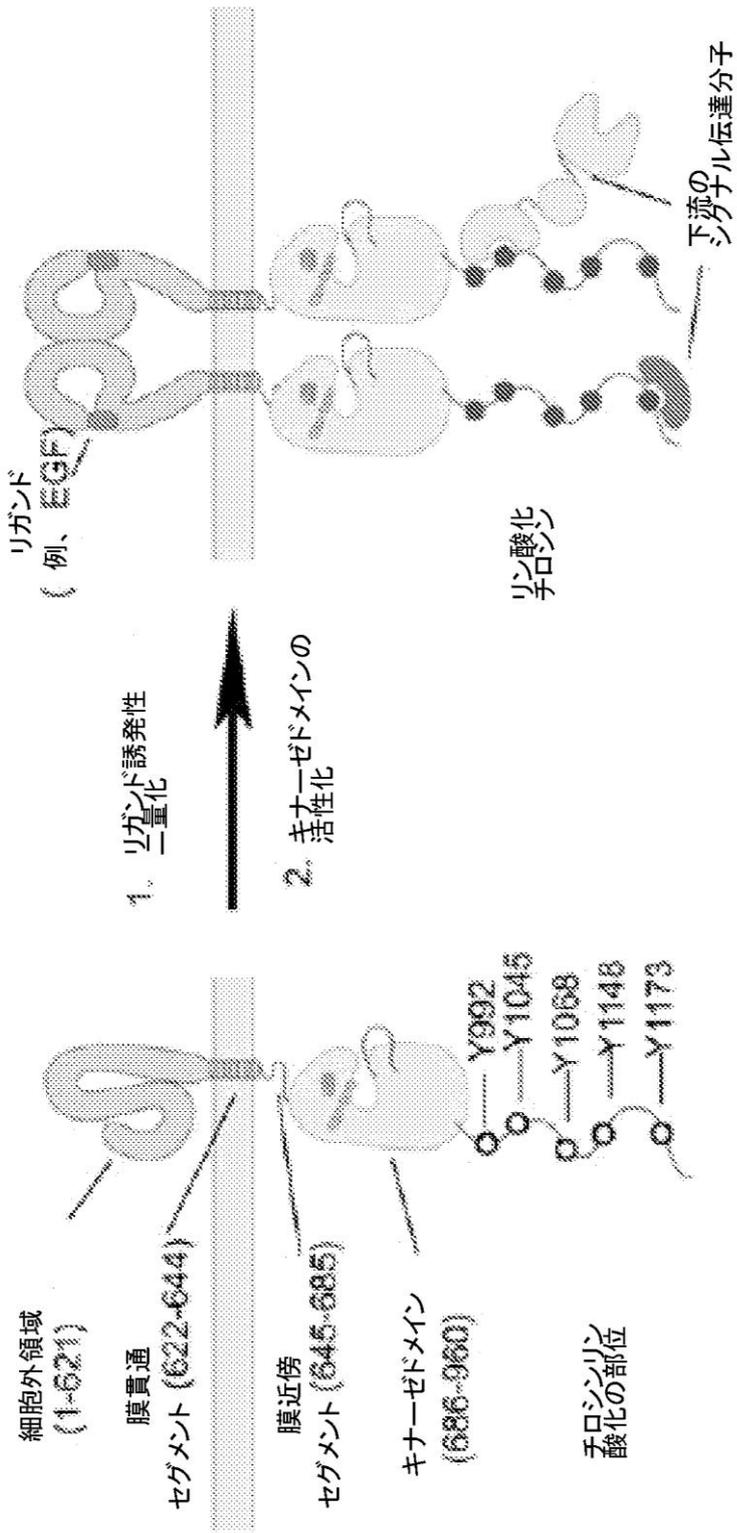


FIG. 8

【 図 9 B 】

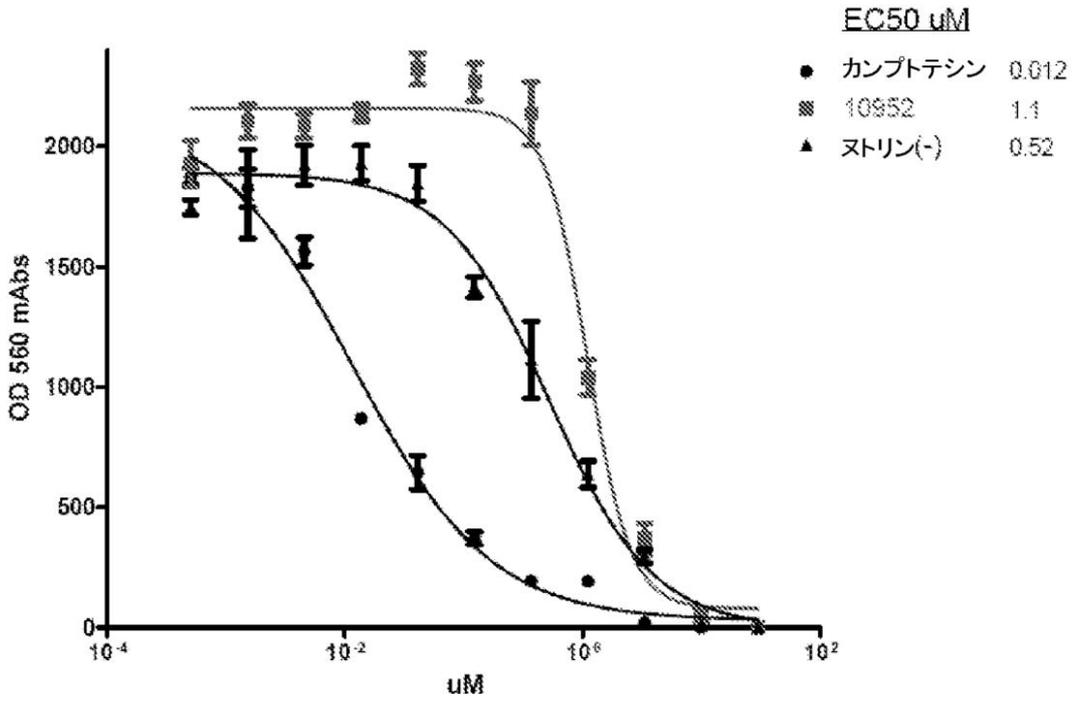


FIG. 9B

【 図 1 0 】

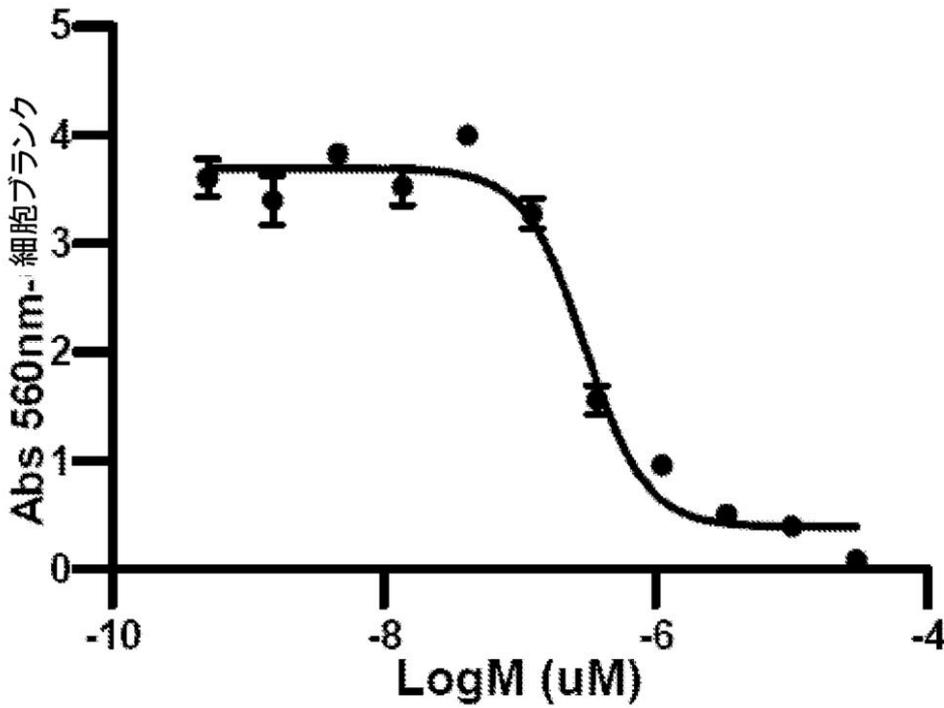


FIG. 10

【 図 1 1 】

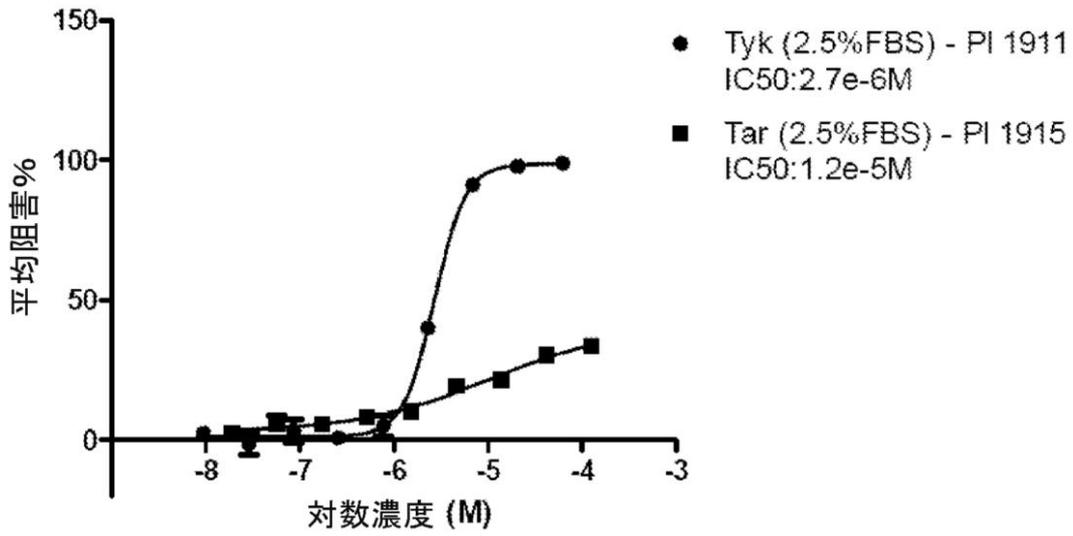


FIG. 11

【 図 1 2 】

細胞密度比較
CoStar 384-ウェル

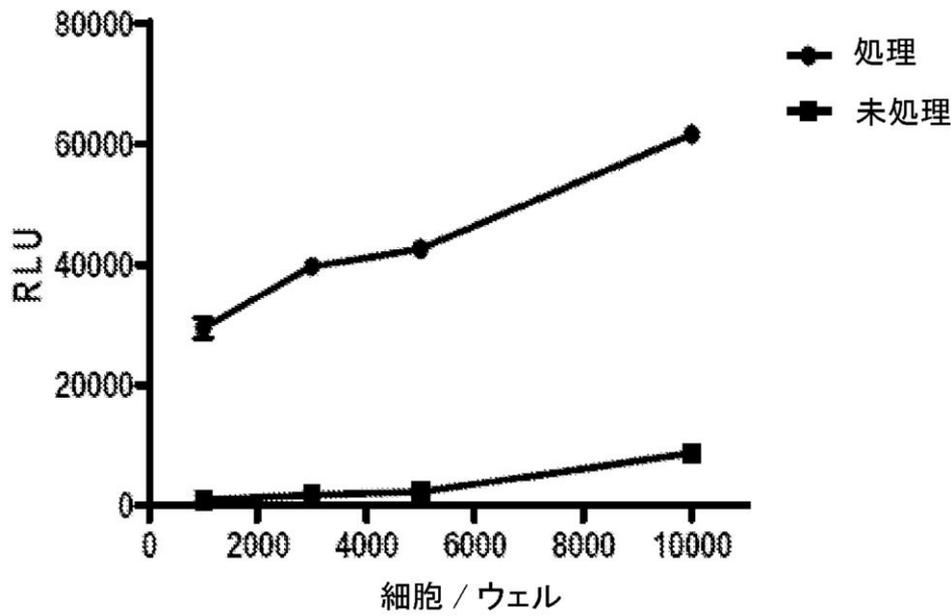


FIG. 12

【 図 1 3 】

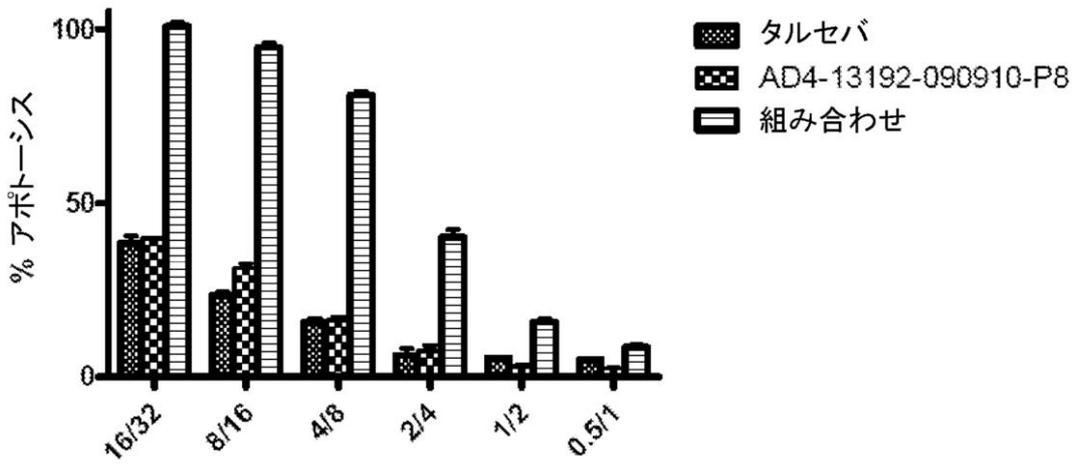


FIG. 13

【 図 1 4 A 】

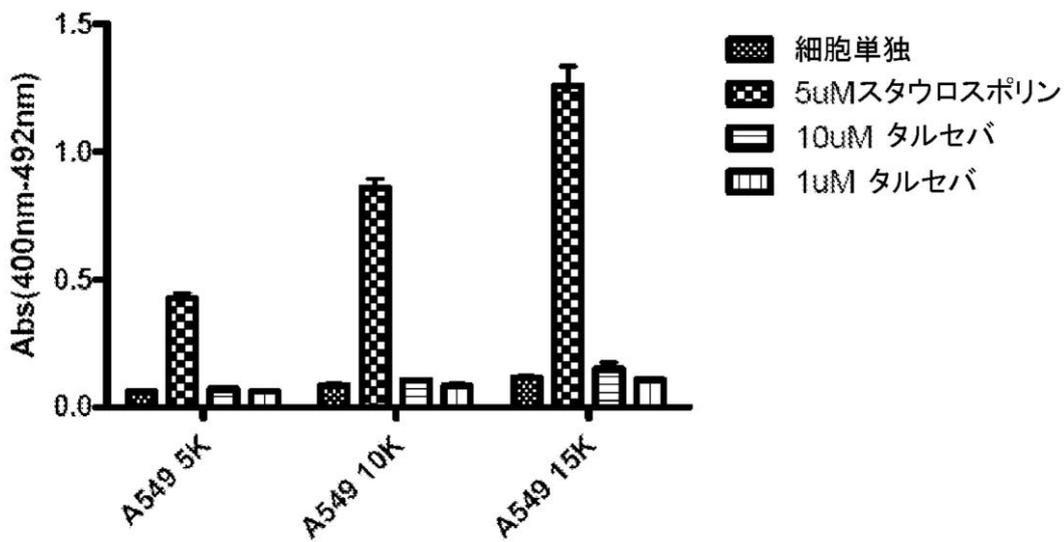


FIG. 14A

【 図 1 4 B 】

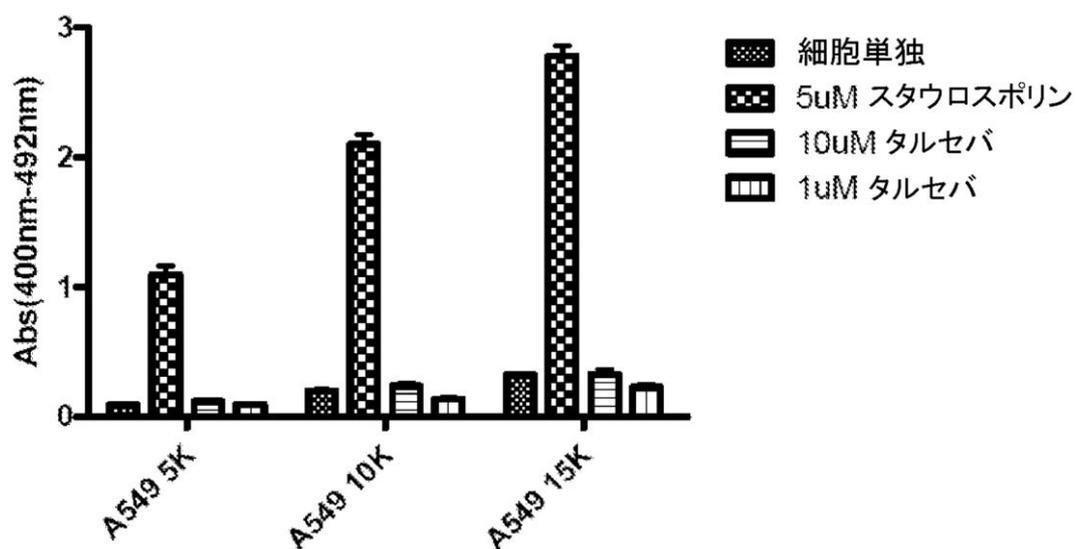


FIG. 14B

【 図 1 4 C 】

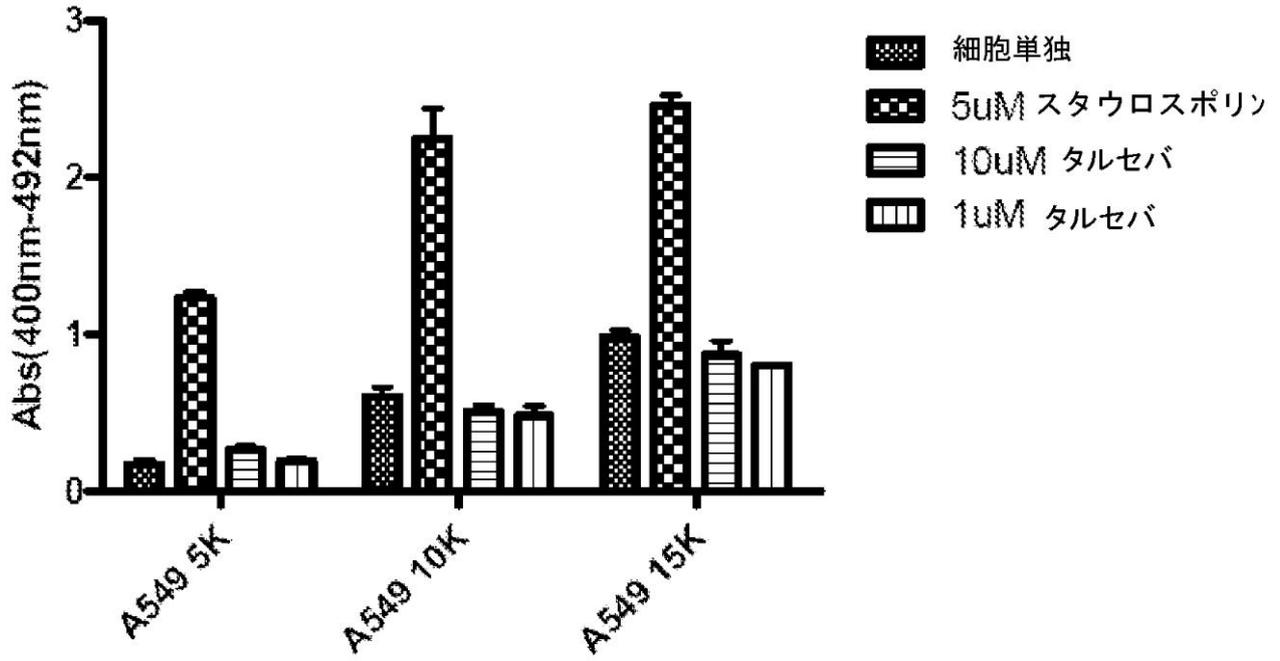


FIG. 14C

【図15】

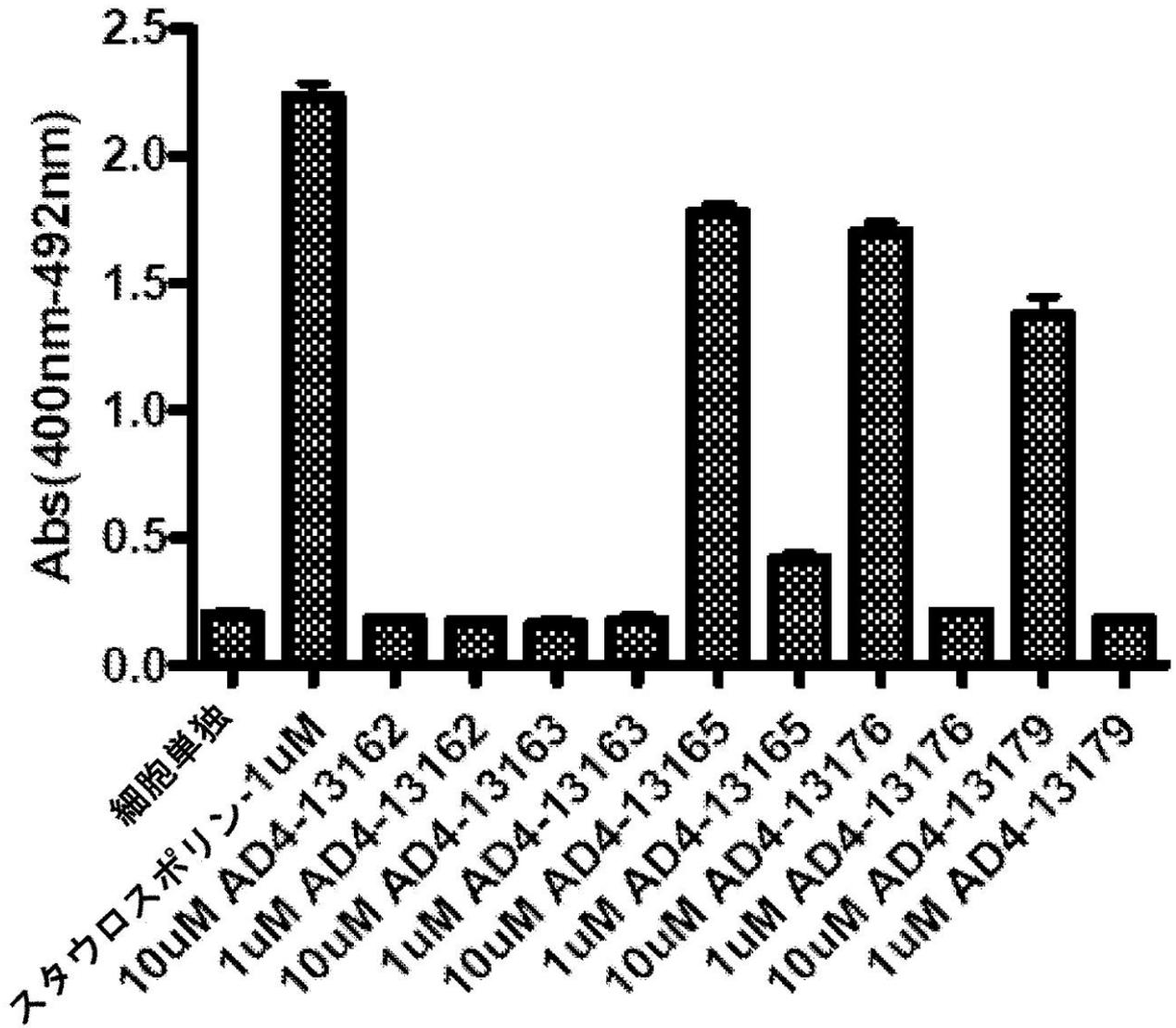


FIG. 15

【 図 16 B 】

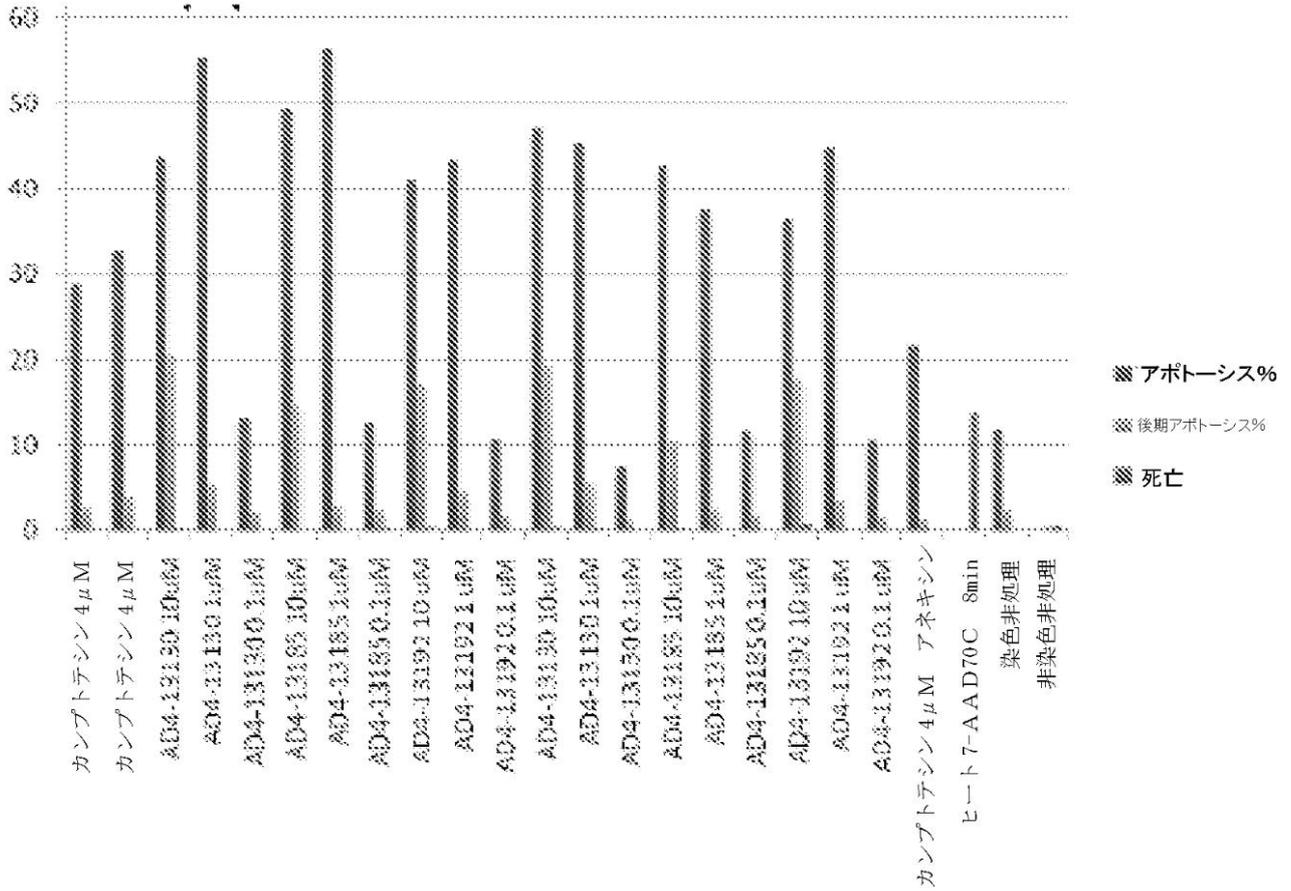


FIG. 16B

【 配列表 】

201351647900001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 11/20414
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 31/555 (2011.01) USPC - 514/188 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC: 514/188 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (USPT, PGPB, EPAB, JPAB), Google Patents/Scholar: hydroxyquinoline, 2-pyridyl, EGFR, kinase inhibitor, metalloproteinase		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X - Y	Tomlinson et al. A chemical genomic approach identifies matrix metalloproteinases as playing an essential and specific role in Xenopus melanophore migration. Chemistry & Biology 30 January 2009, 16:93-104; pg 97, Fig 4	1 ----- 3-5, 9/(1, 3-5)
Y	US 2008/0269213 A1 (Bursavich et al.) 30 October 2008 (30.10.2008) para [0008]-[0010]	3-5, 9/(1, 3-5)
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 May 2011 (17.05.2011)		Date of mailing of the international search report 26 MAY 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Atrn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 11/20414

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

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

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.: 12-14, 17
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. 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:

Group I+: claims 1-9, drawn to a compound of Formula (2). The first invention is restricted to the first claimed compound of claim 9. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional compound(s) to be searched. The exact claims searched will depend on the specifically elected compound(s).

[NOTE 1: Correction: the first invention is restricted to that R1 is selected from (i) a 2-pyridyl ring of formula (3) and R2 is selected from (i) an unsubstituted phenyl ring, because compounds listed in claim 9 are compounds that are NOT included in Formula (2).]
[NOTE 2: Claims 2, 6-8 are excluded from Group I, because they are drawn to a non-elected subject matter.]

Group II, claims 10-11, drawn to a compound of Formulas (10)-(11).

Group III, claim 15, drawn to a method for identifying an epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor.

- Please see extra sheet for continuation -

Group VI+, claim 20, drawn to an amino pyridine compound. The first invention of Group VI+ is restricted to the first claimed compound.

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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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.: 1, 3-5, 9/(1,3-5), restricted to that R1 is formula (3), R2 is unsubstituted phenyl

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 11/20414

Continuation of:

Box NO III. Observations where unity of invention is lacking

Group IV, claim 16, drawn to a method for forming a compound of claim 1.

Group V, claim 18-19, drawn to a method for forming an aminopyridine compound.

Group VI+, claim 20, drawn to an amino pyridine compound. The first invention of Group VI+ is restricted to the first claimed compound, i.e. 2-Amino-3-fluoro-4-methyl-5-chloropyridine. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional compound(s) to be searched.

The inventions listed as Groups I+ through VI+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Groups I+, II, and IV-VI+ do not include the inventive concept of a method for identifying an EGFR inhibitor, as required by Group III.

The inventions of Groups III and V-VI+ do not include the inventive concept of a compound of claim 1 or its derivative, as required by Groups I+, II, and IV.

The inventions of Group I+ do not include the inventive concept of a compound of Formulas (10)-(11), as required by Group II.

The inventions of Group I+ and IV share the technical feature of a compound of Formula (2). However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by the article titled "A chemical genomic approach identifies matrix metalloproteinases as playing an essential and specific role in *Xenopus* melanophore migration" by Tomlinson et al. (hereinafter "Tomlinson") (Chem Biol. 2009 Jan 30; 16(1):93-104) that discloses a compound having a formula of Formula (2) (1505-like Type A) (pg 94, Fig. 1, NSC 84093 (7-((S)-[(4-methylphenyl)amino]phenyl)methyl)quinolin-8-ol) wherein,

XI is hydrogen;

R1 is (iv) a phenyl ring substituted with one or more groups selected from a straight chain C-1 to C-4 lower alkyl; and

R2 is (i) an unsubstituted phenyl ring; and

Formula (2) excludes the compound of Formula (1). As said compound was known at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The special technical feature of the inventions listed as Group I+ is the specific compound of Formula (2) recited therein. The inventions do not share a special technical feature, because Tomlinson discloses the common structural core shared by the claimed compounds, i.e. the [phenyl-amino][phenyl)methyl]quinolin-8-ol) of the NSC 84093 compound (pg 94, Fig. 1). Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

The inventions of Group VI+ do not include the inventive concept of a method for forming an aminopyridine compound, as required by Group V.

The inventions of Group VI+ and V share the technical feature of an aminopyridine compound. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by PubChem entry CID 66174 titled "2-amino-5-chloropyridine" (26 March 2005) [Retrieved from the Internet 05 March 2011:

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=66174&loc=ac_rcs>] (hereinafter "CID 66174") that discloses said aminopyridine compound. As said compound was known at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the group.

Finally, the special technical feature of the inventions listed as Group VI+ is the specific aminopyridine compound recited therein. The inventions do not share a special technical feature, because CID 66174 discloses the common structural core shared by the claimed compounds, i.e. 2-amino-5-chloropyridine. Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I+ through VI+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

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 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	
C 0 7 D 401/12 (2006.01)	C 0 7 D 401/12	
A 6 1 K 31/4709 (2006.01)	A 6 1 K 31/4709	
C 0 7 D 409/14 (2006.01)	C 0 7 D 409/14	
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	
C 0 7 D 417/14 (2006.01)	C 0 7 D 417/14	
C 0 7 D 401/14 (2006.01)	C 0 7 D 401/14	
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496	
C 0 7 D 409/06 (2006.01)	C 0 7 D 409/06	
C 0 7 D 403/06 (2006.01)	C 0 7 D 403/06	
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	

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

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1. フロッピー

(74) 代理人 100156100

弁理士 西野 満

(72) 発明者 ジョゼフ・ピー・エリコ

アメリカ合衆国 0 8 8 1 2 ニュージャージー州グリーン・ブルック、ディア・パス・サークル 2 9 番

(72) 発明者 ベンジャミン・マグレージ

アメリカ合衆国 0 8 5 1 2 ニュージャージー州クランベリー、サウス・メイン・ストリート 1 8 番

(72) 発明者 イグナティウス・ターチ

アメリカ合衆国 1 9 0 6 7 ペンシルベニア州ヤードリー、ロピンス・コート 4 7 5 番

(72) 発明者 マシュー・シルス

アメリカ合衆国 0 7 9 2 2 ニュージャージー州パークレー・ハイツ、ローレンス・ドライブ 9 5 番

(72) 発明者 ジェーン・オング

アメリカ合衆国 0 8 8 2 3 ニュージャージー州フランクリン・パーク、テイラー・ドライブ 8 番

(72) 発明者 ジョン・アロッコ

アメリカ合衆国 1 0 3 0 6 ニューヨーク州、スタテン・アイランド、クロイスター・プレイス 7 8 番

(72) 発明者 パム・ワインズ

アメリカ合衆国 0 7 7 2 6 ニュージャージー州マナラパン、ラファイエット・ミルズ・ロード 1 4 番

F ターム(参考) 4C031 FA01

4C063 AA01 AA03 BB03 BB09 CC14 CC75 CC81 CC92 DD12 DD14
EE01

4C086 AA01 AA02 AA03 BC28 BC50 GA02 GA04 GA07 GA08 GA12

MA01 MA04 NA14 ZA36 ZA89 ZB26 ZC41
4H045 BA10 CA40 DA51 EA20