

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6064079号
(P6064079)

(45) 発行日 平成29年1月18日(2017.1.18)

(24) 登録日 平成28年12月22日(2016.12.22)

(51) Int. Cl.		F I
C07D 403/14	(2006.01)	C O 7 D 403/14
A61K 31/506	(2006.01)	A 6 1 K 31/506
A61P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A61P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02

請求項の数 9 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願2016-500764 (P2016-500764)	(73) 特許権者	594197872
(86) (22) 出願日	平成26年3月7日(2014.3.7)		イーライ リリー アンド カンパニー
(65) 公表番号	特表2016-512498 (P2016-512498A)		アメリカ合衆国 インディアナ州 462
(43) 公表日	平成28年4月28日(2016.4.28)		85 インディアナポリス リリー コー
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/021466		ポレイト センター (番地なし)
(87) 国際公開番号	W02014/143601	(74) 代理人	100100158
(87) 国際公開日	平成26年9月18日(2014.9.18)		弁理士 鮫島 睦
審査請求日	平成27年9月9日(2015.9.9)	(74) 代理人	100150500
(31) 優先権主張番号	61/782,798		弁理士 森本 靖
(32) 優先日	平成25年3月14日(2013.3.14)	(74) 代理人	100176474
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 秋山 信彦
(31) 優先権主張番号	61/789,108		
(32) 優先日	平成25年3月15日(2013.3.15)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CDC7阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンである化合物、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは水和物。

【請求項2】

3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンである、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

(3R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンである、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項4】

(3R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンである、請求項3に記載の化合物。

【請求項5】

(3R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンである、請求項1に記載の化合物、またはその水和物。

【請求項6】

10

20

2 ± 0.2において、22.27ならびに13.46、16.54、16.66、18.10および23.13の1つまたは複数で生じる特性ピークを有する粉末X線回折パターンによって特徴付けられる結晶形態の水和物である、請求項5に記載の化合物。

【請求項7】

請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは水和物、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項8】

がんの治療における使用のための、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは水和物を含む医薬組成物。

【請求項9】

前記がんが、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、卵巣がん、肺がん、大腸がん、血液がん、および白血病からなる群から選択される、請求項8に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、CDC7を阻害しかつがん治療に有用であり得る、イソインドリノン化合物、または薬学的に許容可能なその塩に関する。

【背景技術】

【0002】

CDC7は、DNA複製の開始およびS期細胞周期チェックポイントの制御において重要な役割を果たすセリン/トレオニンキナーゼである。CDC7の上方制御は、非常に多くの腫瘍細胞株において観察されている。また、こうした細胞株におけるCDC7の阻害は、細胞周期停止をもたらしている。したがって、CDC7阻害は、がん療法に有用であり得る。

【0003】

CDC7阻害剤は、当技術分野において既知である。イソインドリノン化合物も、当技術分野において既知である。特許文献1は、ニコチン性アセチルコリン受容体反応性化合物としてある種のイソインドリノン化合物を開示している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2005/100351号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

がんの治療のための代替的なCDC7阻害剤を提供する必要性は依然として存在する。したがって、本発明は、がん治療に有用であり得るCDC7の阻害剤を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩である化合物を提供する。

【0007】

本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩である化合物を提供する。

【0008】

本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩である化合物を提供する。

10

20

30

40

50

【0009】

特定の一実施形態として、本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンである化合物を提供する。別の特定の実施形態として、本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2である化合物を提供する。さらなる特定の実施形態として、本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1である化合物を提供する。

【0010】

本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物も提供する。本発明はさらに、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物も提供する。本発明はさらに、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【0011】

本発明は、それを必要とする患者に有効量の3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩を投与することを含むがん治療のための方法を提供する。本発明は、それを必要とする患者に有効量の3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンを投与することを含むがん治療のための方法を提供する。本発明は、それを必要とする患者に有効量の3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩を投与することを含むがん治療のための方法も提供する。本発明はさらに、それを必要とする患者に有効量の3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2を投与することを含むがん治療のための方法を提供する。本発明は、それを必要とする患者に有効量の3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩を投与することを含むがん治療のための方法も提供する。本発明はさらに、それを必要とする患者に有効量の3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1を投与することを含むがん治療のための方法を提供する。

【0012】

本発明は、療法において使用するための3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための3-

10

20

30

40

50

(5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、医薬組成物が3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を含む、がん治療において使用するための医薬組成物を提供する。

【0013】

本発明は、療法において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを提供する。本発明は、がんの治療において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを提供する。本発明は、医薬組成物が3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを含む、がん治療において使用するための医薬組成物を提供する。

10

【0014】

本発明は、療法において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、医薬組成物が3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - 20

20

【0015】

本発明は、療法において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体2を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体2を提供する。本発明は、医薬組成物が3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - 30

30

【0016】

本発明は、療法において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、医薬組成物が3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - 40

40

【0017】

本発明は、療法において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体1を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体1を提供する。本発明は、医薬組成物が3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - 50

【0018】

50

本発明は、がんの治療のための薬物の製造における、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩の使用を提供する。本発明は、がんの治療のための薬物の製造における3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンの使用も提供する。

【0019】

本発明は、がんの治療のための薬物の製造における、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩の使用を提供する。本発明は、がんの治療のための薬物の製造における3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2の使用も提供する。

10

【0020】

本発明は、がんの治療のための薬物の製造における、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩の使用を提供する。本発明は、がんの治療のための薬物の製造における3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1の使用も提供する。

【0021】

本発明は、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、結晶形態の水和物を提供する。本発明は、 2 ± 0.2 において 22.27 ならびに 13.46 、 16.54 、 16.66 、 18.10 および 23.13 の1つまたは複数で生じる特性ピークを有する粉末X線回折パターンによって特徴付けられる3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、結晶形態の水和物も提供する。

20

【0022】

本発明は、あるいは(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩として特定される、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、または薬学的に許容可能なその塩である化合物を提供する。

30

【0023】

本発明は、あるいは(3S)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩として特定される、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体1、または薬学的に許容可能なその塩である化合物を提供する。

【0024】

特定の一実施形態として、本発明は、(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンである化合物を提供する。さらなる特定の一実施形態として、本発明は、(3S)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンである化合物を提供する。

40

【0025】

本発明は、(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物も提供する。本発明はさらに、(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メ

50

チル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本発明は、(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物も提供する。本発明はさらに、(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【 0 0 2 6 】

本発明は、療法において使用するための(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、医薬組成物が(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を含む、がん治療において使用するための医薬組成物を提供する。

10

【 0 0 2 7 】

本発明は、療法において使用するための(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを提供する。本発明は、がんの治療において使用するための(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを提供する。本発明は、医薬組成物が(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを含む、がん治療において使用するための医薬組成物を提供する。

20

【 0 0 2 8 】

本発明は、療法において使用するための(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、がんの治療において使用するための(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を提供する。本発明は、医薬組成物が(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩を含む、がん治療において使用するための医薬組成物を提供する。

30

【 0 0 2 9 】

本発明は、療法において使用するための(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを提供する。本発明は、がんの治療において使用するための(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを提供する。本発明は、医薬組成物が(3 S) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンを含む、がん治療において使用するための医薬組成物を提供する。

40

【 0 0 3 0 】

本発明は、がんの治療のための薬物の製造における、(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、または薬学的に許容可能なその塩の使用を提供する。本発明は、がんの治療のための薬物の製造における(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンの使用も提

50

供する。

【0031】

本発明は、がんの治療のための薬物の製造における、(3S)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、または薬学的に許容可能なその塩の使用を提供する。本発明は、がんの治療のための薬物の製造における(3S)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンの使用も提供する。

【0032】

本発明は、(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、結晶形態の水和物を提供する。本発明は、 2 ± 0.2 において、 22.27 ならびに 13.46 、 16.54 、 16.66 、 18.10 および 23.13 の1つまたは複数で生じる特性ピークを有する粉末X線回折パターンによって特徴付けられる(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、結晶形態の水和物も提供する。

10

【0033】

さらには、本発明は、がんが、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、卵巣がん、肺がん、大腸がん、血液がん、および白血病からなる群から選択される、本明細書に述べるような方法および使用の好ましい実施形態を提供する。

20

【発明を実施するための形態】

【0034】

上記で用いたように、および本発明の記述全体にわたって、以下の語は、別段の指示がない限り、以下の意味を有すると理解されるものとする。

【0035】

「薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤」は、哺乳動物、例えば、ヒトへの生物学的活性薬剤の送達のために当技術分野において一般に認められた媒体である。

【0036】

「薬学的に許容可能な塩」は、比較的非毒性の、本発明の化合物の無機および有機の塩を指す。

30

【0037】

「有効量」は、研究者、獣医師、医師または他の臨床医によって求められている組織、器官、動物、哺乳動物またはヒトへの生物学的もしくは医学的反応または所望の治療効果を誘発するであろう、本発明の化合物、または薬学的に許容可能なその塩、あるいは本発明の化合物、または薬学的に許容可能なその塩を含有する医薬組成物の量を意味する。

【0038】

「治療」、「治療する」、「治療すること」および同類の語は、障害の進行を遅らせるまたは逆転させることを含むことが意図される。これらの語は、たとえ障害または状態が実際に解消されないおよび障害または状態の進行自体が遅くならないもしくは逆転しないとしても、障害の1種または複数の症状あるいは状態を軽減する、改善する、弱める、解消する、または減少することも含む。

40

【0039】

本発明の化合物は、例えば、いくつかの無機酸および有機酸と、反応して薬学的に許容可能な塩を形成する能力がある。こうした薬学的に許容可能な塩およびそれらを調製するための一般的な方法論は、当技術分野においてよく知られている。例えば、P. Stahlら、HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE、(VCH/Wiley-VCH、2002)、S.M. Bergerら、「Pharmaceutical Salts」、Journal of Pharmaceutical Sciences、66巻、No. 1、1977年1月を参照されたい。

50

【0040】

本発明の化合物は、好ましくは薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を用いて医薬組成物として配合されて種々の経路によって投与される。好ましくは、こうした組成物は、経口投与用である。こうした医薬組成物およびそれらを調製するためのプロセスは、当技術分野においてよく知られている。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (A. Gennaro ら、編、第21版、Mack Publishing Co.、2005)を参照されたい。

【0041】

実際に投与される本発明の化合物の量は、治療される状態、選択された投与の経路、投与された実際の化合物または本発明の化合物、個々の患者の年齢、体重および反応、ならびに患者の症状の重症度を含めた、関連する状況の下で内科医によって決定されるであろう。1日当たりの用量は、通常は約1から約1000mgの範囲に入る。場合によっては、前述の範囲の下限を下回る用量レベルが、適量よりも多い可能性があるが、それでも他の場合においてはより多い投与量を用いてよい。用量レベルは、当業者によって決定され得る。

10

【0042】

本発明の化合物、または薬学的に許容可能なその塩は、当技術分野において既知の種々の手順ならびに下記の調製および実施例に記載されている手順によって調製され得る。記載された経路のそれぞれのための具体的な合成ステップは、本発明の化合物、または薬学的に許容可能なその塩を調製するために異なる方法において組み合わせてよい。

20

【0043】

試薬および出発原料は、一般には当業者にとって容易に入手可能である。他は、有機化学および複素環化学の標準技術、当業者に既知の技術、ならびに任意の新規の手順を含めた下記の実施例に記載されている手順によって作成され得る。以下の調製および実施例は、本発明をさらに例示する。本明細書に例示される化合物は、Symyx Draw Version 3.2、Symyx Draw Version 4.0、またはIUPAC NAME ACDLABSを用いて命名および番号付けされる。

【0044】

個々の異性体、鏡像異性体、またはジアステレオ異性体は、化合物の合成における任意の都合のよい時点で選択的結晶化技術またはキラルクロマトグラフィーなどの方法によって当業者によって分離または分析され得る(例えば、Enantiomers, Racemates, and Resolutions (J. Jacques ら、John Wiley and Sons, Inc.、1981年)を参照されたい)。名称「異性体1」は、キラルクロマトグラフィーから最初に溶離する化合物を指す。名称「異性体2」は、キラルクロマトグラフィーから2番目に溶離する化合物を指す。

30

【0045】

本明細書で使用する場合、以下の語は示される意味を有する: 「ADP」は、アデノシン二リン酸を指し、「ATP」は、アデノシン三リン酸を指し、「Balb/c」は、アルビノを指し、「BCA」は、ピシンコニン酸を指し、「DMSO」は、ジメチルスルホキシドを指し、「DTT」は、ジチオスレイトールを指し、「EDTA」は、エチレンジアミン四酢酸を指し、「ee」は、鏡像体過剰率を指し、「Ex」は、実施例を指し、「FBS」は、ウシ胎児血清を指し、「FP」は、蛍光偏光を指し、「GAPDH」は、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼを指し、「HEC」は、ヒドロキシエチルセルロースを指し、「HEPES」は、4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸を指し、「hr」は、時間(単数または複数)を指し、「IC₅₀」は、その薬剤について可能な最大阻害反応の50%を生じる薬剤の濃度を指し、「IVTI」は、in vivoでの標的阻害を指し、「MCM2」は、ミニ染色体維持タンパク質(minichromosome maintenance protein)を指し、「min」は、分(単数または複数)を指し、「PBS」は、リン酸緩衝食塩水を指し

40

50

、「P.O.」は、経口投与を指し、「Prep」は、調製を指し、「PVDF」は、二フッ化ポリビニリジン (polyvinylidene difluoride) を指し、「RPMI」は、ロズウェルパーク記念研究所を指し、「RNase」は、リボヌクレアーゼを指し、「RuPhos」は、2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',6'-ジイソプロポキシビフェニルを指し、「R_t」は、保持時間を指し、「SDS-Page」は、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動を指し、「SCX」は、強陽イオン交換を指し、「SFC」は、超臨界流体クロマトグラフィーを指し、および「THF」は、テトラヒドロフランを指す。

【実施例】

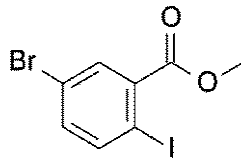
【0046】

10

調製 1

5-プロモ-2-ヨード安息香酸メチル

【化1】



【0047】

20

5-プロモ-2-ヨード安息香酸 (1998 g、6.11 mol) を、メタノール (13 L) 中硫酸 (100 mL) の 20 溶液に一部ずつ加える。懸濁液を加熱して 24 時間還流させ、次いで 20 に冷却して減圧下で溶媒を除去する。残留物をメチル-tert-ブチルエーテルと氷水との 1:1 混合物 (20 L) に注いで相を分離する。水相をメチル-tert-ブチルエーテル (1.5 L) で抽出し、有機相を組み合わせ 0.2 M NaOH 水溶液 (5 L) で洗い、塩化ナトリウム飽和水溶液で洗い、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、ろ過して、減圧下で蒸発させる。粗製生成物を 40~45 の石油エーテル (10 L) に溶解し、珪藻土のパッドを通してろ過して減圧下で蒸発させる。残留物を石油エーテル (5 L) に溶解して -50 に冷却し、第 1 の収穫物固体をろ過し、固体を氷冷石油エーテルで洗う。母液を蒸発させ、固体を石油エーテル (1 L) に再溶解し、-50

30

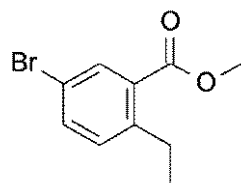
に冷却して、第 2 の収穫物をろ過する。第 1 および第 2 の収穫物を組み合わせ開放空气中で乾燥させて標記化合物を黄色固体として与える (1880 g、90%)。

【0048】

調製 2

5-プロモ-2-エチル安息香酸メチル

【化2】



40

【0049】

ジエチル亜鉛 (3050 mL、3.05 mol、1 M ヘキサン) を、3 時間掛けて 5-プロモ-2-ヨード安息香酸メチル (1876 g、5.50 mol) および (1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウム (II) 塩化物 (40 g、0.05 mol) の 5 溶液に加える。混合物を 2 時間掛けて 60~65 に加熱してさらに 2 時間攪拌し、次いで 10~15 に冷却して氷冷 1 M HCl 水溶液 (10 L) に注ぎ入れる。相を分離し、水層をメチル-tert-ブチルエーテル (2 x 10 L) で抽出して、有機相を組み合わせ、塩化ナトリウム飽和水溶液で洗い、硫酸ナトリウム上で乾燥させ

50

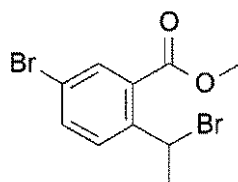
ろ過して、減圧下で蒸発させる。酢酸エチル（400 mL）に溶解して石油エーテル（8 L）を加え、次いで15～20℃で16時間静置してシリカゲルのパッドを通してろ過し、酢酸エチル/石油エーテル（1：20、8 L）で洗い減圧下でろ液を蒸発させて標記化合物を淡黄色油として与える（1306 g、96%）。ES/MS m/e：(79 Br / 81 Br) 243 / 245 (M+H)。

【0050】

調製3

5 - ブロモ - 2 - (1 - ブロモエチル) 安息香酸メチル

【化3】



10

【0051】

N - ブロモスクシンイミド（1090 g、6.12 mol）および2,2'-アゾ - ビス - イソブチロニトリル（11.4 g、0.069 mol）を、四塩化炭素（7 L）中5 - ブロモ - 2 - エチル安息香酸メチル（1296 g、5.33 mol）の20倍溶液に加える。加熱して4時間還流させ、20～30℃に冷却して水（10 L）で洗い、水相をジクロロメタン（5 L）で抽出し、有機層を組み合わせ、水（10 L）、Na₂SO₃（5 L）および塩化ナトリウム飽和水溶液で洗う。硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、減圧下で蒸発させて標記化合物を淡黄色固体として与える（1791 g、104%粗製）。ES/MS m/z：241 (M - HBr)。

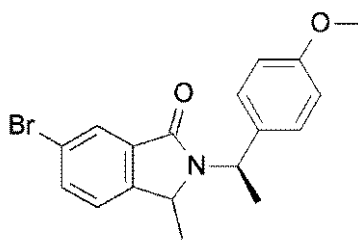
20

【0052】

調製4

6 - ブロモ - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - イソインドリン - 1 - オン

【化4】



30

【0053】

固体5 - ブロモ - 2 - (1 - ブロモエチル) 安息香酸メチル（1724 g、5.35 mol）を、市販の(R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エタンアミン（BePharm、WZG111219-071、974 g、6.44 mol）およびトリエチルアミン（1710 mL、12.26 mol）のメタノール溶液（12 L）に加える。混合物を67℃で10時間加熱し次いで減圧下で蒸発乾固する。残留物を酢酸エチル（5 L）および1N HCl水溶液（10 L）で分配させ、相を分離し、有機相を再び1N HCl水溶液（5 L）、飽和炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム飽和水溶液で洗い、次いで硫酸ナトリウム上で乾燥させ、ろ過して、減圧下で蒸発させる。暗赤色油をメチル - tert - ブチルエーテル（750 mL）に溶解して勢いよく攪拌しながら石油エーテル（3 L）を加える。固体をろ過し、メチル - tert - ブチルエーテル/石油エーテル（1：8）、石油エーテルで洗い、開放空気中で乾燥して標記化合物を灰白色固体として与える（1014 g、52%）。ES/MS m/z：360 (M+H)。

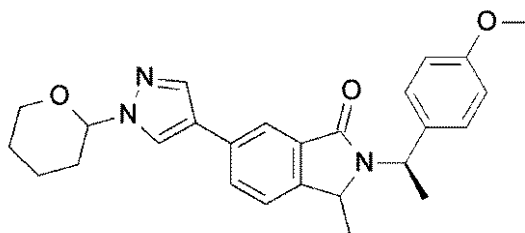
40

【0054】

50

調製 5

2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン
【化 5】



10

【 0 0 5 5 】

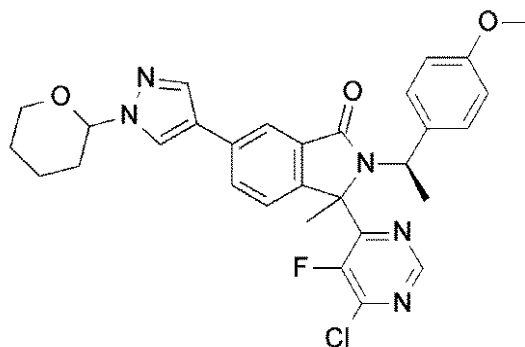
6 - ブロモ - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - イソインドリン - 1 - オン (6 4 g 、 1 7 7 m m o l) 、 1 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) - 4 - (4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - 1 , 3 , 2 - ジオキサボロラン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール (6 7 g 、 2 9 5 m m o l) 、 炭酸カリウム (7 0 g 、 5 0 6 m m o l) 、 (1 , 1 ' - ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン) パラジウム (I I) 塩化物 (9 g 、 1 1 m m o l) 、 ジオキサソ (8 0 0 m L) 、 および水 (2 1 2 m L) を窒素下で組み合わせて 7 0 ~ 7 5 に 1 6 時間加熱する。1 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) - 4 - (4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - 1 , 3 , 2 - ジオキサボロラン - 2 - イル) - 1 H - ピラゾール (1 5 g 、 5 4 m m o l) を加えて 8 0 ~ 8 5 に 2 時間加熱する。減圧下で 2 0 0 m L に濃縮し、酢酸エチル (5 0 0 m L) および水 (5 0 0 m L) を加え、3 0 分間攪拌して、固体をろ過する。固体と有機層を組み合わせ減圧下で蒸発させる。残留物をジクロロメタンに溶解してシリカゲルのパッドを通してろ過する。シリカゲルパッドをジクロロメタン / 酢酸エチル (1 : 0) および次いで (2 : 1) で洗って減圧下で蒸発乾固する。固体を石油エーテル / 酢酸エチルの 2 : 1 混合物 (6 0 0 m L) に 2 5 ~ 3 0 で 3 0 分間懸濁させる過して固体を回収し標記化合物を灰白色固体として与える (6 8 g 、 8 9 %) 。 E S / M S m / z : 4 3 2 (M + H) 。

20

【 0 0 5 6 】

調製 6

3 - (6 - クロロ - 5 - フルオロ - ピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン
【化 6】



40

【 0 0 5 7 】

ナトリウムビス(トリメチルシリル)アミド (2 1 0 m L 、 2 1 0 m m o l 、 1 M T H F) を、テトラヒドロフラン (6 2 0 m L) 中 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン (6 2 g 、 1 4 4 m m o l) および 4 , 6 - ジクロ

50

ロ - 5 - フルオロピリミジン (3 1 g 、 1 8 6 m m o l) の氷冷懸濁液に 6 0 分掛けて滴下して加える。溶液を 0 で 6 0 分攪拌し次いで混合物を酢酸エチル (1 L) および水 (1 L) で希釈する。有機相を塩化ナトリウム飽和水溶液で洗って減圧下で蒸発させる。残留物を 1 : 1 の石油エーテル / 酢酸エチルに溶解し、シリカゲルのパッドを通してろ過し、蒸発させて標記化合物を黄色泡沫として与える (8 3 g 、 1 0 3 %)。E S / M S m / z : 5 6 2 (M + H)。

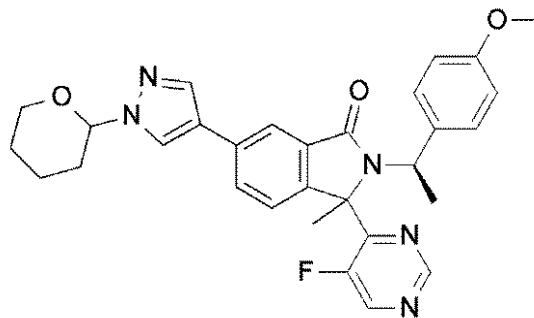
【 0 0 5 8 】

調製 7

3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン

10

【 化 7 】



20

【 0 0 5 9 】

トリエチルアミン (4 0 m L 、 2 8 7 m m o l) および 2 0 % 水酸化パラジウム炭素 (1 4 g) を、 3 - (6 - クロロ - 5 - フルオロ - ピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン (8 0 g 、 1 4 2 m m o l) の酢酸エチル (2 . 1 L) 溶液に加えて水素気体 (3 0 p s i) で 2 0 ~ 2 5 で 1 6 時間水素化する。5 グラムの 3 - (6 - クロロ - 5 - フルオロ - ピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンで反応条件を繰り返す。両方の反応を組み合わせる珪藻土を通してろ過し蒸発させて標記化合物を黄色泡沫として与える (7 7 g 、 1 0 2 %)。E S / M S m / z : 5 2 8 (M + H)。

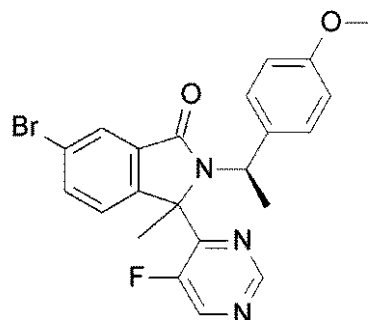
30

【 0 0 6 0 】

調製 8

6 - ブロモ - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - イソインドリン - 1 - オン

【 化 8 】



40

【 0 0 6 1 】

6 - ブロモ - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル -

50

イソインドリン - 1 - オン (2 . 8 1 4 m m o l 、 1 . 0 1 4 g) を、テトラヒドロフラン (2 8 m L) に溶解する。4 - クロロ - 5 - フルオロ - ピリミジン (5 . 6 2 8 m m o l 、 5 1 8 μ L) を加えて 0 に冷却する。カリウムヘキサメチルジシラジド (トルエン中 4 . 5 0 2 m m o l 、 9 m L 、 0 . 5 M) を 7 分掛けて加えて 1 時間攪拌し、次いで周囲温度に温めて 9 0 分間攪拌する。メチル - tert - ブチルエーテルおよび 1 M H C l 水溶液中に注ぎ、水を加えて層を分離する。1 N H C l 水溶液で洗い、ろ過し、塩化ナトリウム飽和水溶液で洗い、硫酸マグネシウム上で乾燥させ、2 c m のシリカゲルのパッドを通してろ過して、減圧下で蒸発させて油を与える。シリカゲル上で 2 0 ~ 4 0 % の酢酸エチル / ヘキサンを用いて精製して標記化合物を泡沫として与える (5 4 7 m g 、 4 3 %) 。 E S / M S m / z : 4 5 6 (M + H) 。

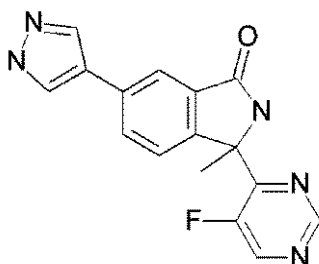
10

【 0 0 6 2 】

実施例 1

3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン

【 化 9 】



20

【 0 0 6 3 】

3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン (6 5 g 、 1 2 3 m m o l) をトリフルオロ酢酸 (6 0 0 m L) に溶解して 7 5 ~ 8 0 に 1 6 時間加熱する。減圧下で蒸発させて酢酸エチル (5 0 0 m L) および水 (5 0 0 m L) で希釈する。水層の pH を 6 N N a O H 水溶液で 8 ~ 9 に調整し、水層を酢酸エチル (3 x 5 0 0 m L) で抽出し、有機層を組み合わせ、塩化ナトリウム飽和水溶液で洗い、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過して、減圧下で蒸発させる。粗製生成物をシリカゲル上で 5 0 ~ 1 0 0 % の酢酸エチル / 石油エーテルを用いてクロマトグラフィーで分離する。生成物画分を組み合わせ減圧下で蒸発させて黄色泡沫を与える (3 3 g 、 8 7 % 粗製) 。 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 2 - [(1 R) - 1 - (4 - メトキシフェニル) エチル] - 3 - メチル - 6 - (1 - テトラヒドロピラン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オンで反応条件を繰り返して生成物を組み合わせる (1 0 g 、 1 8 . 9 m m o l) 。 組み合わせた生成物をメタノールに溶解して S i l i a B o n d (登録商標) T h i o l (S i l i a M e t S (登録商標) T h i o l) を用いて 1 5 ~ 2 0 で 2 0 時間攪拌し、ろ過し、減圧下で蒸発させて標記化合物を 7 7 % e e で与える (3 8 g 、 8 7 %) 。

30

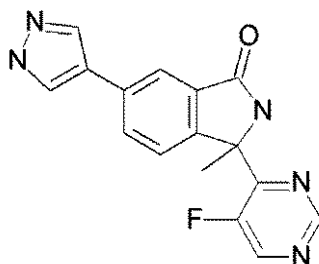
40

【 0 0 6 4 】

実施例 2

3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、異性体 2

【化10】



【0065】

10

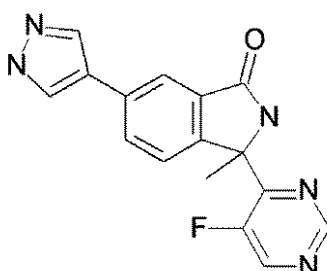
分取キラルHPLC超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)(カラム:Chiralpak OJ-H(5 μ), 30 \times 250cm、溶離剤:CO₂中15%イソプロパノール、流速120g/分、UV214nm)によって3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンの主鏡像異性体(異性体2)(38g、123mmol)を、3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンの副鏡像異性体(異性体1)から分離する。2番目に溶離する異性体(異性体2)は標記化合物である(17g、45%、>98%ee)。キラル分析(カラム:Chiralpak OJ-H(5 μ) 4.6 \times 250mm、溶離剤:CO₂中20%イソプロパノール、流速:3mL/分 UV214nm、R_t=5.78分。ES/MS m/z:310 (M+H))。 20

【0066】

実施例3

3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン

【化11】



30

【0067】

RuPhosフェネチルアミンパラジウム(II)塩化物(60 μ mol、43mg)、ジオキサン(0.5mL)およびカリウムtert-ブトキシド(1Mテトラヒドロフラン、60 μ mol、60 μ L)を窒素下で組み合わせ、混合物を0.5分間超音波処理する。RuPhos触媒混合物を、窒素下で6-プロモ-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-2-[(1R)-1-(4-メトキシフェニル)エチル]-3-メチル-イソインドリン-1-オン(544mg、1.192mmol)、4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ピラゾール-1-カルボン酸tert-ブチル(1.79mmol、526mg)、1,4-ジオキサン(6mL)、炭酸ナトリウム(3.6mmol、2.4mL 1.5M水溶液)を含有する反応容器に加えてマイクロ波内で150 $^{\circ}$ Cで30分間加熱する。混合物を酢酸エチルで希釈し、1.5M炭酸ナトリウム水溶液で洗い、塩化ナトリウム飽和水溶液で洗い、硫酸マグネシウム上で乾燥させ、珪藻土を通してろ過し、蒸発させて淡黄色の残留物にする。残留物をアニソール(1mL)およびトリフルオロ酢酸(7mL)に溶解して80 $^{\circ}$ Cに4時間加熱し、次いで70 $^{\circ}$ Cに18時間加熱する。混合物を減圧下で蒸発させ、メタノールに溶解し、10gのSCXカラムに充填し、メタノール(100mL)で洗い、メタノール中2Mア 40 50

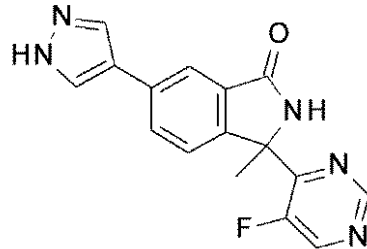
ンモニアで溶離して、蒸発させる。40 gのシリカゲル上で1～8%メタノール/ジクロロメタンのグラジエントを用いて精製して標記化合物を白色泡沫として与える(279 mg、76%)。ES/MS m/z: 310 (M+H)。

【0068】

実施例4

3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2、水和物

【化12】



10

【0069】

3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オン、異性体2(9.6 g、0.03 mol)を水(50 mL)中2%アセトンに懸濁させ、混合物を50 で1.5時間攪拌する。アセトン(1 mL)を加えて混合物を65 に1時間加熱後12時間掛けて室温にゆっくり冷却する。固体をろ過して4体積の水ですすぐ。固体を真空下で50 で6時間乾燥させて標記化合物を与える(8.6 g、90%)。

20

【0070】

粉末X線回折

結晶性固体のXRDパターンは、CuKa源($\lambda = 1.54060$)およびVantec検出器を備えたBruker D4 Endeavor粉末X線回折計で、35 kVおよび50 mAで運転して得られる。2 θ において0.0087°のステップサイズおよび0.5秒/ステップの走査速度、ならびに0.6 mm発散、5.28 mm固定散乱防止、および9.5 mm検出器スリットを用いて2 θ において4から40°の間で試料を走査する。乾燥粉末を石英試料ホルダーに詰めてスライドガラスを用いて滑らかな表面を得る。任意の所与の結晶形に関して、回折ピークの相対強度は、結晶モフォロジーおよび晶癖などの因子から生じる好ましい配向性に起因して多様であり得ることが、結晶学技術において良く知られている。好ましい配向性の影響がある場合、ピーク強度は変わるが、同質異像の特性ピーク位置は不変である。さらには、任意の所与の結晶形に関して角度のピーク位置はわずかに変化し得ることも結晶学技術において良く知られている。例えば、ピーク位置は、試料が解析される温度または湿度の変動、試料の変位、または内部標準の有無に起因して移動し得る。この場合、2 θ における ± 0.2 のピーク位置変動は、示された結晶形の明確な識別を妨げることなくこれらの可能性がある変動を許容するであろう。結晶形の確認は、(°2 θ を単位として)ピークを区別する任意の固有の組み合わせ、典型的にはより突出したピークに基づいて行ってよい。周囲温度および相対湿度において収集された結晶形回折パターンは、NIST 675標準ピークに基づいて8.85および26.77度2シータにおいて調整される。

30

40

【0071】

実施例4の調製した試料は、下表1に記載のような回折ピーク(2シータ値)を有するものとしてCuKa線を使用してXRDパターンによって特徴付けられる。具体的にはパターンは、0.2度の回折角に関する許容差を有して13.46、16.54、16.66、18.10および23.13からなる群から選択されるピークの1つまたは複数と組み合わせた22.27におけるピークを含む。

50

【 0 0 7 2 】

【 表 1 】

表 1 実施例 4 の粉末 X 線回折ピーク

ピーク	角度 (2 シータ°)	強度 (%)
1	7.16	14
2	13.46	51
3	14.82	19
4	16.54	32
5	16.66	32
6	16.96	14
7	18.10	27
8	18.84	15
9	19.33	15
10	21.78	15
11	22.27	100
12	23.13	30
13	23.51	15
14	23.86	13
15	25.99	18
16	27.21	14

10

20

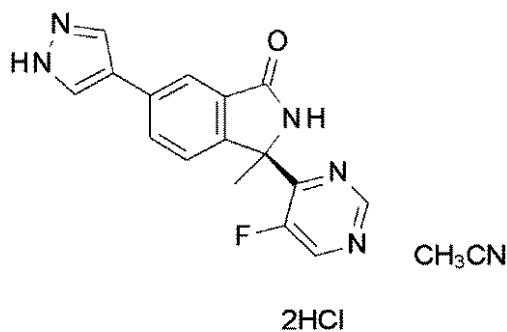
【 0 0 7 3 】

実施例 5

(3 R) - 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン、二塩酸塩、アセトニトリル溶媒和物

【 化 1 3 】

30



40

【 0 0 7 4 】

0.25 M HCl (1 mL) を 3 - (5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 - メチル - 6 - (1 H - ピラゾール - 4 - イル) イソインドリン - 1 - オン (実施例 3、0.084 mg、0.27 mmol) に加えて試料を超音波処理する。全ての材料は、可溶性である。混合物を蒸発乾固し、油状の残留物を生じる。アセトニトリル (2 mL) を加えて溶液が黄色くなり結晶が形成し始める。単結晶 X 線回折のために単結晶を単離する。試料は、二塩酸塩のアセトニトリル溶媒和物であると測定される。塩素原子は、単結晶 X 線回折によって測定される分子の絶対立体化学を可能にさせる十分な異常散乱を与える。

【 0 0 7 5 】

C₁₈H₁₇Cl₂FN₆O の透明無色のプリズム状試験片、寸法約 0.180 mm ×

50

0.200 mm × 0.220 mmを、X線結晶解析に用いる。合計3318フレームを収集する。合計暴露時間は、1.84時間である。フレームを、Bruker SAINTソフトウェアパッケージでナローフレームアルゴリズム(narrow-frame algorithm)を用いて積分する。斜方晶単位格子を用いたデータの積分は、66.30°の最大角に合計13411反射を生じ(分解能0.84)、その内3304は独立であり(平均冗長度4.059、完全性=97.8%、 $R_{int} = 7.25\%$ 、 $R_{sig} = 6.30\%$)、かつ2885(87.32%)は2 (F^2)より大きかった。最終格子定数の $a = 8.0583(2)$ 、 $b = 36.3803(9)$ 、 $c = 6.96840(10)$ 、体積 = 2042.88(8) \AA^3 は、 $11.24^\circ < 2\theta < 132.0^\circ$ で20 (I)を超える6295反射のXYZ質量中心の精密化に基づく。データを、マルチスキャン法(SADABS)を用いて吸収効果について訂正する。最小見かけ透過率の最大見かけ透過率に対する比は、0.761である。計算された最小および最大透過係数(結晶サイズに基づく)は、0.5466および0.6033である。

10

【0076】

構造を、Bruker SHELXTL(商標)ソフトウェアパッケージを用いて、空間群P 21 21 2を用いて、式単位、 $C_{18}H_{17}Cl_2FN_6O$ について $Z = 4$ で解明および精密化する。255変数を用いた F^2 での最終異方性完全行列最小二乗法精密化は、観察されたデータについて $R_1 = 4.27\%$ および全てのデータについて $wR_2 = 10.80\%$ で収束した。適合度は、1.066である。 $0.056 e^- / \text{\AA}^3$ のRMS偏差を用いて最終差電子密度合成における最大ピークは $0.295 e^- / \text{\AA}^3$ および最大正孔は $-0.204 e^- / \text{\AA}^3$ である。最終モデルに基づいて、計算された密度は、 $1.376 g / cm^3$ および $F(000)$ 、 $872 e^-$ である。絶対構造パラメータは、分子の絶対構造が標記化合物と一致することを示す、 $0.0(0)$ に精密化される。アセトニトリル溶媒分子は、幾分不規則であるため等方的に精密化されるのに対して、(3R)-3-(5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-メチル-6-(1H-ピラゾール-4-イル)イソインドリン-1-オンおよび塩化物イオンは、異方的に精密化される。実施例5に関してのこの結果は、分子の絶対立体化学をR鏡像異性体であるとして確定し、それによって実施例3の立体化学も確定し、そこから実施例5が導かれる。

20

【0077】

さらには、実施例2および3を、それぞれの実施例について存在する鏡像異性体を決定するために同条件を用いてキラルHPLC超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)による分析にかける。(カラム: Chiralcel OJ-H 4.6 mm × 150 mm、 CO_2 中20%イソプロパノール、5 mL/分、UV 225 nm)。実施例2および実施例3について、異性体1は1.53'で溶離し異性体2は1.81~1.84'で溶離する。本分析において、実施例2は100% eeを有し実施例3は96.4% eeを有する。これらの結果は、実施例2および実施例3の両方に存在する鏡像異性体が異性体2であることを実証する。上記で規定したように、実施例3の絶対立体化学はR鏡像異性体であり、ならびに実施例2および3は共にキラルHPLC SFCによって異性体2と特定されるので、実施例2の絶対立体化学も、したがって、R鏡像異性体である。さらには、実施例4を行うために実施例2を用いるので、実施例4の絶対立体化学は、R鏡像異性体である。

30

40

【0078】

H1299細胞におけるリン酸化MCM2の検出のためのAcumen(登録商標)イメージングアッセイ

Acumen(登録商標) eX3を用いてセリン53(pMCM2-S53)における内因性リン酸化MCM2の形成への化合物の影響を測定する。MCM2のCDC7によるリン酸化は、Acumen(登録商標) eX3によって特異的な抗pMCM2-S53抗体を用いて測定し蛍光タグ二次抗体で定量化して細胞におけるCDC7活性を観測する。セリン53におけるMCM2のリン酸化は、CDC7阻害と相互に関連していると知られている。

50

【0079】

H1299細胞(ATCC #CRL-5803)は、10% FBSを添加したRPMI-1640(Hyclone SH30809.01)成長培地中に保持する。細胞を、標準細胞培養手順を用いて採取し次いでVi-Cell XR Cell Viability Analyzer(Beckman Counter)を用いて計数する。100 μ Lの成長培地中の3000~6000個のH1299細胞を、平底のBioCoat(商標) Multiwell(Becton Dickinson)細胞培養プレート356640を備えたBiocoat Poly-D-Lysine 96ウェル黒色/透明プレートのそれぞれのウェル内に平板化して37、5%CO₂で一晩インキュベートする。

10

【0080】

細胞を、0.6%DMSOを含有する培地内に希釈した試験化合物(50 μ L/ウェル)で処置して37で4時間インキュベートする。それぞれのウェルに、37%ホルムアルデヒドストックからPBSで希釈した7.4%ホルムアルデヒド(150 μ L)を加えてプレートを室温で30分間インキュベートする。ホルムアルデヒドを除去して冷メタノール(100 μ L)を加える。プレートを4で20分間インキュベートして細胞を透過処理する。プレートを、100 μ L/ウェルのPBSで3回洗う。プレートを1:1000に希釈した50 μ L/ウェルの抗pMCM2-S53抗体でインキュベートし(NP_004517.2を用いて生成(PubMed Sequence Databaseを参照)、ウサギポリクローナル抗体産生のための標準90日ウサギ免疫プロトコールによって(Thermo Scientific Pierce Antibodies、Thermo Fisher Scientific))、マレイミド活性化を用いて、2%BSAを添加したPBS中で4で一晩キーホールリンペットヘモシアニンに接合する。プレートを、PBS(4 \times 100 μ L/ウェル)で洗ってPBS中1:1000に希釈した100 μ L/ウェルの抗ウサギIgGヤギAlexa Fluor 488二次抗体(Invitrogen CA11304s)中で室温で1時間インキュベートする。プレートを、PBS(4 \times 100 μ L/ウェル)で洗う。RNase(50 μ g/ml)およびヨウ化プロピジウム(15 μ M)を含有するPBS(50 μ L/ウェル)を加えてプレートを室温で30分間インキュベートする。プレートを黒色シールで密封してそれぞれAlexa Fluor 488およびヨウ化プロピジウム用に500~530ナノメートルおよび575~640ナノメートルの光学フィルターを用いてAcumen(登録商標) eX3(TTP LABTECH)上で読み取る。それぞれのウェルについてpMCM2-S53陽性細胞の数を総細胞数に正規化してプレート上の対照と比較した阻害率として計算する。十点化合物濃度データから4パラメータロジスティック方程式へ阻害率を生成してIC₅₀値を導く。

20

30

【0081】

本発明の範囲内の化合物は、実質的に上述の通りに本アッセイにおいて試験する。実施例2の化合物は、0.261 μ M+0.004(n=2)のIC₅₀を有すると判定される。実施例3の化合物は、0.29 μ MのIC₅₀を有すると判定される。実施例4の化合物は、0.29 μ M+0.0813(n=2)のIC₅₀を有すると判定される。これらの結果は、実施例2、3および4が、H1299細胞アッセイにおいてpMCM2-S53を阻害することおよびしたがってCDC7阻害剤であることを示す。

40

【0082】

CDC7/DBF4 in vitro 酵素アッセイ

Transcreener(商標)キナーゼADP-FPアッセイを用いてCDC7/DBF4キナーゼに対する化合物IC₅₀値を測定する。キナーゼADP-FPアッセイは、キナーゼ反応において形成されるADPの濃度を測定することにより化合物阻害剤の存在下でのCDC7/DBF4の活性を評価する。キナーゼ反応は、96ウェルアッセイプレートにおいて25マイクロリットルの反応体積を用いて実行する。ADP-FPアッセイのために、試薬を加えてHEPES(25mM) pH7.5、0.03% Trit

50

on (登録商標) X-100、塩化マグネシウム (10 mM)、DTT (1 mM)、MCM2 (400 nM) (アミノ酸 1-209、CDC7/DBF4 の生理学的基質)、スペルミン (4 mM)、CDC7/DBF4 (2,640 ng/mL) (昆虫細胞中で発現した組み換えヒト CDC7/DBF4)、4%ジメチルスルホキシドおよび化合物の段階希釈 (20,000 nM から 1 nM まで 1:3 希釈) の最終反応条件を得る。酵素および基質を化合物に加えその後 ATP を 5 μM まで加えて反応を開始させる。プレートを、室温で 60 分間インキュベートする。

【0083】

ADP-FP フォーマットのために HEPES (52 mM) pH 7.5、EDTA (20 mM)、塩化ナトリウム (0.4 M)、ポリオキシエチレングリコールドデシルエーテル (0.02%) (BRJ-35 (商標))、抗 ADP 抗体 (10 μg/mL)、および ADP (4 nM) Transcreener (登録商標) ADP Alexa fluor (登録商標) 633 トレーサーを含有する 25 マイクロリットルのクエンチ検出試薬を加えて反応をクエンチする。プレートを 1 時間インキュベートし、次いで Wallac EnVision (商標) 2104 Multilabel Reader (PerkinElmer) において蛍光偏光モードで波長 $\lambda_{exc} = 620 \text{ nm}$ および $\lambda_{em} = 688 \text{ nm}$ の偏光フィルターを用いて読み取る。ミリ偏光 (Millipolarization) (mP) 生データを、反応緩衝液中 5 μM ADP 1:1 段階希釈で始まり 0.0025 μM ADP までの準備した ADP/ATP 標準曲線を用いてマイクロモル ADP に変換する。それぞれの化合物についての IC_{50} 値を、プレート上の対照 (DMSO 対 100 mM EDTA 阻害した酵素対照) と比較して μM ADP 反応データから計算した阻害率データを用いて導く。次いで阻害率および十点化合物濃度データを、4 パラメータロジスティック方程式に適合する。

【0084】

本発明の範囲内の化合物は、実質的に上述の通りに本アッセイにおいて試験する。実施例 2 の化合物は、3.7 nM の IC_{50} を有すると判定される。実施例 3 の化合物は、4.5 nM の IC_{50} を有すると判定される。実施例 4 の化合物は、 $3.3 \text{ nM} \pm 0.634$ ($n = 2$) の IC_{50} を有すると判定される。結果は、実施例 2、3 および 4 が、*in vitro* 酵素アッセイにおいて ADP 産生を阻害することおよびしたがって CDC7 阻害剤であることを示す。

【0085】

in vitro 抗増殖性アッセイ

実施例 2 の *in vitro* 抗増殖性活性を、ATCC、HSRRB、RIKEN または ECACC から得られる大腸、乳房、肺、および血液 (白血病) 由来の 114 がん細胞株のパネルに対する細胞数計数アッセイによって測定する。細胞を、製造業者の指示に従って培養し培地内に保持する。それぞれの細胞株の細胞倍加時間を測定し全ての細胞株はマイコプラズマ汚染が無い。細胞を、96 ウェルプレート内で一晚培養した後抗増殖性アッセイのための化合物を加える。最適細胞播種密度を、100 μL の培地中に 4 つの異なる細胞密度で細胞培養を播種することならびにそれらの倍加時間および細胞サイズを考慮に入れることによりそれぞれの細胞株について慎重に評価する。次いで 2 つの倍加時間の最後で約 90% の合流点を与える播種密度を化合物試験のために選択する。スタウロスポリンを、参照として 1:3 希釈で用いる。実施例 2 を、4 mM DMSO ストックとして調製して培養培地中 1:2 比率で希釈する。化合物を含有する 50 μL の培地を、96 ウェル一晚培養のそれぞれのウェルに加えて所望の最終濃度 20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156、0.078 μM および DMSO 対照を生成する。それぞれの処置濃度は、複製ウェルを有する。細胞を、化合物の存在下で 2 倍加時間さらに培養する。処置時間の終わりに、最初に細胞を細胞死または見かけ上の細胞サイズ増加などの形態学的変化について顕微鏡下で検査する。それぞれの複製ウェルにおける細胞を別々に回収する。接着細胞を、最初にトリプシン処理 (trypsinization) によって採取する。採取した細胞を、成長培地中に再懸濁させて細胞計数器を

用いて計数する。

【0086】

本発明の範囲内の化合物は、実質的に上述の通りに本アッセイにおいて試験する。下表2に示すように、実施例2の化合物は、薬理的に適切な濃度 (< 8 μ M) において試験した114がん細胞株の大部分に対する有意な抗増殖性活性を実証する。さらには、約10%のがん細胞株は、2倍加時間の処置期間内にこれらのがん細胞について発生する大量の細胞死によって実証されるように、化合物への特定の感受性を示す。これらの特に感受性のがん細胞株の多くは、大腸がんおよび白血病性がん由来である。感受性を、Colo-205およびSW620などの異種移植腫瘍モデルにおいて *in vivo* でさらに確認する(下記詳細を参照)。このデータは、実施例2が、試験した細胞株における *in vitro* での広範な抗増殖性活性を有することを実証する。

【0087】

【表2】

表2：実施例2の化合物の広範な *in vivo* での抗がん活性

がん細胞株	細胞株数	細胞株数		急速に死滅した細胞株数
		(IC ₅₀ < 8 μ M)	(IC ₅₀ > 8 μ M)	
大腸	29	18	11	4
肺	39	29	10	2
乳房	17	10	7	0
白血病	23	18	5	5
その他	6	4	2	1
合計	114	79	35	12

【0088】

Colo-205異種移植腫瘍モデルを用いたMCM2-S40/41リン酸化(pMCM2-S40/41)でのCDC7 *in vivo* 標的阻害(IVTI)

ヒトcolo-205大腸がん細胞(ATCC#CCL-222)を、10%FBSを含有するRPMI 1640培地中に保持する。対数期成長細胞を採取し、洗い、無血清培地とMatrigel(商標)(Becton Dickinson)との1:1混合物中に再懸濁させる。それらを、皮下腫瘍異種移植モデルとして 5×10^6 細胞/動物/部位でbalb/c(nu/nu)雌マウス(6~8週間で体重20から25グラム/マウス)のひ腹において皮下に注射する。動物を、平均腫瘍体積150から250mm³のマウスにおいて無作為化する($v = l \times w \times 0.536$ (式中、 l = 測定されたより大きい直径および w = 垂直方向のより小さい直径である)。化合物を、標準1%HEC w/v、P80 0.25% v/v、Antifoam 1510-US 0.05% v/v配合物においてP.O.により投与する。腫瘍を、投与4時間後に採取してプロテアーゼ阻害剤(Roche)およびホスファターゼ阻害剤(RocheまたはSigma)を含有する溶解緩衝液(Invitrogen)中で均質化によって破壊する。腫瘍溶解産物からのタンパク質濃度をBCAアッセイ(Thermo Scientific)によって測定して5から10 μ gのタンパク質を標準SDS-PAGE(BioRad Criterion(商標)ゲル)または(Invitrogen ePage(商標)ゲル)によって分離する。次いでタンパク質をPVDFまたはニトロセルロース膜に移して製造業者および標準ウエスタンブロットプロトコールに従ってpMCM2-S40/41(Bethyl Laboratories#A300-788A)またはGAPDH(Fitzgerald 10R-G109AまたはAbcam ab9485)に対する抗体で調査する。pMCM2-S40/41のレベルを、LicorまたはFUJIFILMのいずれかによって測定および定量して総GAPDHレベルに正規化する。

pMCM2 - S40 / 41 帯強度の阻害変化率を、最大シグナルとしてGAPDHに正規化したピヒクル処置した対照腫瘍の平均強度を用いて計算する。処置した腫瘍グループにおけるシグナルの阻害率を計算するために下記の式を使用する：阻害率 = (正規化データ - 正規化最大) / (ゼロ - 正規化最大) * 100。TED₇₀値は、経口投与後4時間でのin vivoの異種移植実験におけるGAPDH(標的阻害%)に正規化されたpMCM2の平均CDC7 / DBF4介在リン酸化を70%阻害するのに必要な化合物の正確な用量に関する。TEC₇₀は、経口投与後4時間でのin vivoの異種移植実験におけるGAPDH(標的阻害%)に正規化されたpMCM2の平均CDC7 / DBF4介在リン酸化を70%阻害するのに必要な化合物の正確な血漿濃度に関する。

【0089】

本発明の範囲内の化合物は、実質的に上述の通りに本アッセイにおいて試験する。TED₇₀は、用量のプロットおよびpMCM2の阻害%から生成され実施例3については2.6 mg / kgである。TEC₇₀は、70%阻害における用量、pMCM2の阻害%および血漿濃度を用いて生成される。実施例3のTEC₇₀は、1.8 μMである。本データは、本発明の範囲内の化合物が、マウスの経口投与後4時間でのin vivo異種移植実験におけるマウスのpMCM2のCDC7 / DBF4介在リン酸化を阻害することを実証する。

【0090】

ヒト大腸がんSW620マウス異種移植モデルにおける抗腫瘍効果

実施例4のin vivoでの抗がん活性を、上記のin vitroでの細胞計数増殖性アッセイデータに基づいて感受性であると予測されるヒト大腸腺がん細胞株SW620マウス異種移植腫瘍モデルにおいて調査する。SW620細胞株を、American Type Culture Collection(ATCC)から取得してATCCの指示に従って10%ウシ胎児血清を含むLeibovitz's L-15 Medium中で培養する。SW620細胞懸濁液(5.0 × 10⁶ / 0.2 mL)を、それぞれの雌胸腺欠損Balb / cヌードマウスの右脇腹に皮下注射する。マウス(到着時5~6週齢)を、Shanghai Sippr-bk Laboratory Animals Ltd.から取得する。受け取り後および調査を通して、動物は、接した寝床を備えた適切なサイズの堅牢な底のケージ内に1ケージ当たり5動物を収容する。動物は、SW620細胞の移植に先立って7日間順応させる。動物は、適宜23%タンパク質と共にShanghai Laboratory Animal Center認定のRodent Dietを与えかつ適宜高圧滅菌した水道水を与える。動物室は、12時間の明暗周期に維持する。腫瘍体積が平均154.9 mm³(腫瘍移植後9日)に達した時に、担腫瘍動物を無作為に類似の平均腫瘍体積および体重を有する9つのグループにグループ分けする(8動物/グループ)。担腫瘍マウスの平均体重は、17.3 gである。化合物は、脱イオン水中HEC 1% w / v、P80 0.25% v / v、およびantifoam 1520-US 0.025% v / v中でプローブ音波処理(probe sonication)によって氷上で15分間配合して、化合物配合物を動物投薬用に毎日調製する。配合した化合物を、10.4、20.8および31.2 mg / kgの用量で(それぞれ、10、20および30 mg / kgの活性医薬品成分APIを含有)2週間強制経口投与(0.1 mL / 20 g)により1日2回(BID)投与する。BID投薬は、8時間空けて行う(各日おおよそ午前9時および午後5時)。ピヒクルも、調査のコントロールアームとしてBIDで与える。腫瘍体積および体重を、盲検法で週3回測定する。腫瘍体積を、キャリパ測定(mm)によっておよび楕円球体の式：腫瘍体積(mm³) = 長さ × 幅² / 2(式中、長さおよび幅は、それぞれの測定において収集された垂直方向のより大きいおよびより小さい寸法を指す)を用いて測定する。動物挙動および動物健康状態を、投薬期間中1日2回観測する。処置開始後28日目に調査を終了する。

【0091】

腫瘍体積データの統計的分析は、はじめに時間および処置時間にわたる分散を平均化するためにデータを対数尺度に変換する。対数ボリュームデータを、時間による二元配置反

10

20

30

40

50

復測定分散分析で分析してSASソフトウェア(Version 9.3)においてMIXED手順を用いて処理する。反復測定のための相関モデルは、Spatial Powerである。処置したグループを、各時点において対照グループと比較する。MIXED手順をそれぞれの処置グループにも別々に用いて各時点における調整平均および標準誤差を計算する。どちらの分析も、各動物内の自己相関および大きい腫瘍を有する動物を調査から早期に除去した場合に発生するデータの損失を説明している。調整平均および標準誤差を、各処置グループ対時間についてプロットする。処置したグループを対照グループと各時点において比較する分析は、 \log_{10} 腫瘍体積を用いてp値を生成する。示したp値の統計的有意性に関して、「***」= $P < 0.001$ である。

【0092】

T > T0の場合は、Delta T / C、%計算を用いる。T < T0の場合は、Regression T / C、%計算を用いる。

方程式：

T = 処置したグループにおける最終腫瘍体積

T0 = 処置したグループにおけるベースライン腫瘍体積 (C0と同等と仮定される)

C = 対照グループにおける最終腫瘍体積

C0 = 対照グループにおけるベースライン腫瘍体積 (T0と同等と仮定される)

Delta T / C、% = $100 * (T - T0) / (C - C0)$

Regression、% = $100 * (T - T0) / T0$

【表3】

表3：SW620マウス異種移植腫瘍モデルにおける用量依存的抗腫瘍活性

グループ	化合物	処置 (BID×14、経口)	16日のT/C%
1	ビヒクル		
2	実施例4	31.2 mg/kg	-66.1***
3	実施例4	20.8 mg/kg	5.7***
4	実施例4	10.4 mg/kg	26.1***

【0093】

本発明の範囲内の化合物は、実質的に上述の通りに本アッセイにおいて試験する。上表3に示すように、実施例4の化合物は、2週間連続的にBIDで与えられた場合の用量依存的な方法におけるSW620異種移植腫瘍へのin vivoでの抗がん活性を実証する。全ての試験した用量の結果は、ビヒクルの結果よりも有意に小さい。この活性は、SW620がん細胞株で観察されたin vitroでの活性と一致する。最大耐量の31.2 mg/kgにおいて、化合物は、負の値によって示されるような、有意な腫瘍退縮を生じる。また、投薬中止後の2週間で有意な腫瘍成長は観察されない。本データは、実施例4が、SW620マウス異種移植腫瘍モデルにおいて用量依存的抗腫瘍活性を提供することを実証する。

フロントページの続き

- (72)発明者 ロバート・ディーン・ダリー
アメリカ合衆国46206-6288インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6288、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内
- (72)発明者 ティモシー・アンドリュウ・ウッズ
アメリカ合衆国46206-6288インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6288、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

審査官 山本 昌広

- (56)参考文献 特表2007-532637(JP,A)
特表2008-543917(JP,A)
特表2010-506854(JP,A)
特表2010-529137(JP,A)
特表2008-530011(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D 403/14
A61K 31/506
A61P 35/00
A61P 35/02
CAplus/REGISTRY(STN)