

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5998223号
(P5998223)

(45) 発行日 平成28年9月28日(2016.9.28)

(24) 登録日 平成28年9月2日(2016.9.2)

(51) Int.Cl.	F I
C07D 487/04 (2006.01)	C07D 487/04 140
A61P 43/00 (2006.01)	C07D 487/04 CSP
A61K 45/00 (2006.01)	A61P 43/00 111
A61P 35/00 (2006.01)	A61K 45/00
A61P 35/02 (2006.01)	A61P 35/00

請求項の数 13 (全 68 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-533881 (P2014-533881)
 (86) (22) 出願日 平成24年10月4日 (2012.10.4)
 (65) 公表番号 特表2014-528433 (P2014-528433A)
 (43) 公表日 平成26年10月27日 (2014.10.27)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2012/069586
 (87) 国際公開番号 W02013/050446
 (87) 国際公開日 平成25年4月11日 (2013.4.11)
 審査請求日 平成27年9月28日 (2015.9.28)
 (31) 優先権主張番号 11184337.1
 (32) 優先日 平成23年10月7日 (2011.10.7)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 307012403
 ネルビアーノ・メデイカル・サイエンシー
 ズ・エッセ・エルレ・エルレ
 イタリア国、20014・ネルビアーノ (ミラノ)、
 ビアーレ・パストゥール・10
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所
 (72) 発明者 カスシュェリ, フランチェスコ
 イタリア国、イ-20020・ダイラーゴ
 (ミラノ)、ピア・エッセ・ミケーレ・デル・カルソ、1
 (72) 発明者 カザーレ, エレナ
 イタリア国、イ-21019・ソンマ・ロンバルド (バレーゼ)、
 ピア・エ・デ・アミーチス、14/チ

最終頁に続く

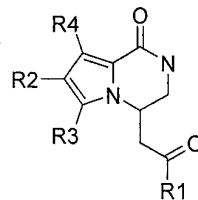
(54) 【発明の名称】 キナーゼ阻害剤としての置換3, 4-ジヒドロピロロ [1, 2-a] ピラジニン-1 (2H) -オン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I):

【化1】



(I)

[式中、

R1はNR5R6であり、ここでR5及びR6は各々独立して水素、直鎖または分岐状C1-C6アルキル、C2-C6アルケニル、C2-C6アルキニル、C3-C7シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いはR5及びR6はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合によりN、O及びSから選択される1個の追加ヘテロ原子を含有している5~7員ヘテロシクリル基を形成し得；

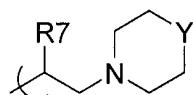
R2はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルで

あり；

R 3 及び R 4 は各々独立して水素、ハロゲン、シアノ、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；

但し、R 3 及び R 4 が水素のとき、R 5 は式

【化 2】



10

(式中、R 7 は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル及びシクロアルキル - アルキルから選択される場合により置換されている基であり；及び Y は N - R' または CH - NR' R'' であり、ここで R' 及び R'' は各々独立して水素、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である)

の基である]

の化合物及びその医薬的に許容され得る塩。

【請求項 2】

20

R 1 は NR 5 R 6 であり、ここで R 5 及び R 6 は各々独立して水素、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いは R 5 及び R 6 はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合により N、O 及び S から選択される 1 個の追加ヘテロ原子を含有している 5 ~ 7 員ヘテロシクリル基を形成し得る、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 3】

R 1 は NR 5 R 6 であり、ここで R 5 及び R 6 は各々独立して水素、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いは R 5 及び R 6 はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合により N、O 及び S から選択される 1 個の追加ヘテロ原子を含有している 5 ~ 7 員ヘテロシクリル基を形成し得る、請求項 1 または 2 に記載の式 (I) の化合物。

30

【請求項 4】

R 3 及び R 4 は各々独立して水素、ハロゲン、シアノ、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 5】

2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、

40

2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 -

50

- (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 R) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 R) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、及び
 2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(3 R) - ピペリジン - 3 - イル] アセトアミド

10

20

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはその医薬的に許容され得る塩。

【請求項 6】

30

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはその医薬的に許容され得る塩の製造方法であって、

ステップ 10) 式 (VII) :



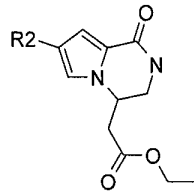
(式中、R⁵ 及び R⁶ は水素、直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いは R⁵ 及び R⁶ はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合により N、O 及び S から選択される 1 個の追加ヘテロ原子を含有している 5 ~ 7 員ヘテロシクリル基を形成する)

40

の化合物を

- 式 (IV) :

【化3】



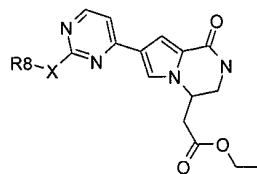
(IV)

(式中、R₂はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルである) 10

の化合物；または

- 式(XIV)：

【化4】



(XIV)

20

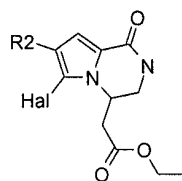
(式中、Xは単結合、または -NR' -、-O- 及び -S- から選択される二価の基であり、ここでR'は水素、または直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R₈は水素、またはアミノ、直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である)

の化合物；または

- 式(XV)：

30

【化5】



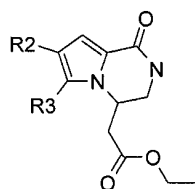
(XV)

(式中、R₂はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；Halはハロゲンである) 40

の化合物；または

- 式(XVII)：

【化6】



(XVII)

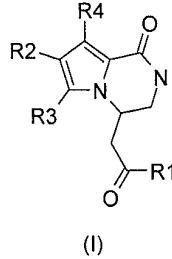
50

(式中、R₂ はアリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり； R₃ は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である)

の化合物；

と反応させて、式 (I)：

【化 7】



10

(式中、R₁、R₂、R₃ 及び R₄ は請求項 1 に記載されている通りである)

の化合物を得；

場合により式 (I) の化合物を式 (I) の別の異なる化合物に変換し、及び必要に応じて式 (I) の化合物をその医薬的に許容され得る塩に変換し、または塩を遊離化合物 (I) に変換させること

20

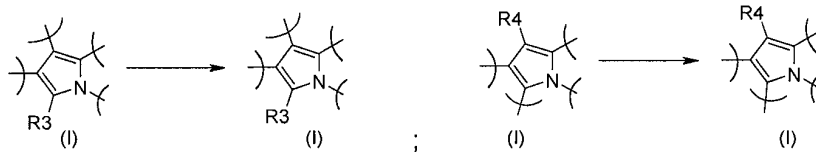
を含むことを特徴とする、方法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の方法であって、

変換 a) ハロゲン化剤との反応により、式 (I) (式中、R₃ または R₄ は水素である) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ はハロゲンである) の化合物に変換させること；

【化 8】



30

変換 b) パラジウム媒介炭素結合形成の条件下で、それぞれ

式 (XVII) : R₃' - G (XVII)、または

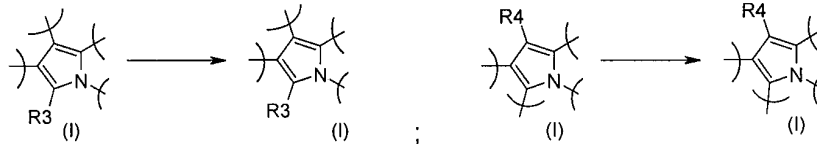
式 (XX) : R₄' - G (XX)

(式中、R₃' または R₄' は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり； G は適当な基、例えば - B(OH)₂、- B(Alk)₂、- Sn(Alk)₄、ZnHal または MgHal である)

40

の化合物と反応させることにより、式 (I) (式中、R₃ または R₄ はハロゲンである) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である) の化合物に変換させること；

【化 9】



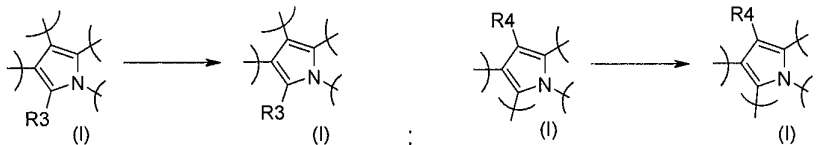
変換 c) パラジウム媒介炭素結合形成の条件下で、式 (XIX) :



(式中、 R^a は水素、または直鎖または分岐状 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、 $C_2 - C_6$ アルキニル、 $C_3 - C_7$ シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である)

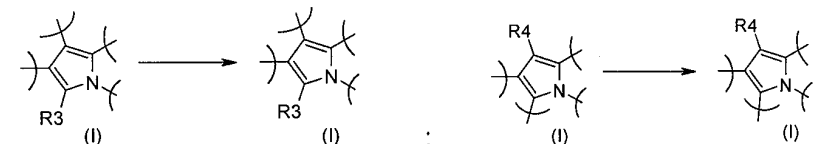
の末端アルキンと反応させることにより、式 (I) (式中、 R_3 または R_4 はハロゲンである) の化合物を対応する式 (I) (式中、 R_3 または R_4 はアルキンである) の化合物に変換させること ;

【化 10】



変換 d) アリールハライドのパラジウム接触シアノ化に関する当分野で公知の条件に従って式 (I) (式中、 R_3 または R_4 はハロゲンである) の化合物を対応する式 (I) (式中、 R_3 または R_4 はシアノである) の化合物に変換させること ;

【化 11】



変換 e) 1つ以上の保護基を除去すること ;
のいずれか 1つの方法を用いて、式 (I) の化合物を式 (I) の別の異なる化合物へ変換することを特徴とする、方法。

【請求項 8】

PIM-1、PIM-2、PIM-3 キナーゼプロテインを、有効量の請求項 1 に記載の式 (I) の化合物と接触させることを含む、PIM-1、PIM-2、PIM-3 キナーゼプロテイン活性を阻害するための、インビトロの方法。

【請求項 9】

治療有効量の請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはその医薬的に許容され得る塩、及び少なくとも 1つの医薬的に許容され得る賦形剤、担体及び/または希釈剤を含む、医薬組成物。

【請求項 10】

更に 1つ以上の化学療法剤を含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

抗癌治療において同時に、別々にまたは逐次に使用するための配合剤としての製品またはキットであって、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物もしくはその医薬的に許容され得る塩または請求項 9 に記載のその医薬組成物、及び 1つ以上の化学療法剤を含む、製品またはキット。

【請求項 12】

医薬として使用するための、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはその医薬的に許

10

20

30

40

50

容され得る塩。

【請求項 13】

抗癌活性を有する医薬の製造における、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはその医薬的に許容され得る塩の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、置換 3, 4 - ジヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 1 (2H) - オン誘導体、その製造方法、前記化合物を含む医薬組成物、及び治療薬として、特に調節不全の

10

プロテインキナーゼ活性に起因する疾患、例えば癌、細胞増殖性障害、ウイルス感染、免疫障害、神経変性障害及び心血管疾患の治療におけるその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

プロテインキナーゼ (PK) の機能不全は多数の疾患の特徴である。ヒト癌に關与するがん遺伝子及び原がん遺伝子の大部分が PK をコードする。PK の高い活性は多くの非悪性疾患、例えば前立腺肥大症、家族性腺癌、ポリポーシス、神経線維腫症、乾癬、アテローム性動脈硬化症に関連する血管平滑筋細胞増殖、肺線維症、関節炎、糸球体腎炎、及び術後狭窄及び再狭窄にも関係している。

【0003】

PK 類は炎症性状態、及びウイルス及び寄生虫の増加にも関係している。PK 類は神経

20

変性障害の発病及び発生において重要な役割を發揮し得る。

【0004】

PK 類機能不全または調節解除に対する一般参照のために、例えば *Current Opinion in Chemical Biology*, 1999, 3, 459 - 465; *Nature Rev. Drug Discov.*, 2002; 及び *Carcinogenesis*, 2008, 29, 1087 - 1091 を参照されたい。

【0005】

元々リンパ腫マウスモデルにおいてプロウイルス突然変異生成により活性化遺伝子として同定された PIM 類 (本明細書を通して PIM1、PIM2 及び / または PIM3) は

30

プロテイン - セリン / スレオニンキナーゼである。PIM キナーゼは正常組織では余り発現せず、リンパ腫、白血病、前立腺癌、膵臓癌及び胃癌を含めた多数のヒト癌では過剰発現し、突然変異さえする [Shahra, *Eur. J. Cancer*, 44, 2144 - 51 (2008)]。

【0006】

PIM キナーゼは構成的に活性であり、その活性は幾つかの細胞周期レギュレーター及びアポトーシスメディエーターを含めた増えつつある共通基質及びイソフォーム特異的基質を修飾することによりインビトロ及びインビボ腫瘍細胞増殖及び生存を支持する。PIM2 ではなく PIM1 は、ケモカイン受容体表面発現を調節することにより正常及び悪性の造血細胞のホーミング及び移動も媒介するようである [Braultra, *Haematologica*, 95, 1004 - 1015 (2010)]。

40

【0007】

PIM1 及び PIM2 キナーゼが幾つかの急性骨髄性白血病 (AML) 関連がん遺伝子の発癌効果、特に FLT3 突然変異の発癌役割 (ITD 及び KD mut., AML の 30% で見られる) 及び / または MLL 遺伝子を伴う転座 (AML の 20% で生ずる) の媒介に關与し得る [Kumarra, *J. Mol. Biol.*, 348, 183 - 193, (2005)]。PIM1 は WT 骨髄細胞よりも FLT3 - ITD - 形質転換した AML 細胞においてより多く発現する。データから、PIM1 及び PIM2 阻害が AML 細胞の FLT3 - ITD - 依存性死を媒介し得ることが示唆される。興味深いことに、低分子チロシンキナーゼ阻害剤に対する耐性を付与する FLT3 突然変異により形質転換された細胞は PIM2、または PIM1 と PIM2 の RNAi によるノックダウンに対して依然

50

として感受性であった [Kimura, Blood, 105, 1759-67 (2005)]。

【0008】

更に、PIM2は過剰発現され、B細胞系から派生する幾つかの悪性疾患、例えば慢性リンパ球性白血病(CLL)、びまん性大B細胞リンパ腫(DLBCL)、マンツル細胞リンパ腫(MCL)またはミエローマの進行に関係していると報告されている [Cohenら, Leuk. Lymphoma, 94, 51, 2004; Huttmanら, Leukemia, 20, 1774 (2006)]。

【0009】

最近の研究で、NF- κ B及びPimキナーゼの両方が腫瘍形成に関与しており、特にSer276でのRelA/p65のPIM1リン酸化はユビキチン介在性分解を防御し、よってNF- κ Bシグナル伝達を活性化することが立証された [Nihira K.ら, Cell Death & Differentiation, 2010, 17, 689-698]。

10

【0010】

前立腺癌の場合、発癌性PIM1キナーゼが発癌現象においてc-Mycと関与しており、c-MYC/Pim1共同作用がPIM1キナーゼ活性に決定的に依存している。インビボでのc-MYCとのPIM1共同性はS62リン酸化によるc-MYC活性に対してだけでなく、神経内分泌(NE)分化の証拠に対しても説明される [Wang J.ら, Oncogene (2010) 29, 2477-2487]。

20

【0011】

興味深いことに、九分通りBAD、p21WAF1/CIP1、p27KIP1またはCot/Tpl-2のような重複している基質のために、PIM及びAKT/PKBは造血細胞の増殖及び生存の媒介において部分的に余分な役割を發揮するようである [Choudharyら, Mol. Cell., 36, 326-39 (2009)]。

【0012】

PIMキナーゼはmTOR阻害(ラパマイシン)耐性抵抗、増殖及び生存をコントロールすることが判明している。従って、幾つかの生存キナーゼを標的とする低分子阻害剤の組合せは強力な癌治療プラットフォームのために必須であろう [Amaravadi R.ら, J. Clin. Invest., 2005, 115 (10), 2618-24]。eIF4E結合タンパク質1(4E-BP1)を介する発癌性タンパク質合成はmTOR非依存性であり、PIM2によりコントロールされるようである。この所見から、発癌性eIF4F翻訳開始複合体は低分子PIM2阻害剤でブロックされ得ると示唆される [Tamburini J.ら, Blood, 2009, 114 (8), 1718-27及び; Brault L.ら, Haematologica, 2010, 95 (6), 1004-1015及びBeharry Z., PNAS, 2011, 108, 528-533]。

30

【0013】

最近、2つの別々の研究グループがPIMとPI3K阻害剤の好結果を得た組合せを報告した。Blanco-Aparicio, C.ら [Cancer Lett., 2011, 300 (2): 145-53]はPI3K阻害剤GDC-0941をPIM1阻害剤と組み合わせ、AML細胞において強力な相乗効果を知見した。第52回ASH年次総会でEbensらはpan-PIM阻害剤は単剤としても、GDC-0941と組み合わせると相乗的に作用してもミエローマ細胞株、異種移植片及びプライマリー患者サンプルにおいて増殖を抑制したと報告した。

40

【0014】

キナーゼ阻害活性を有する3,4-ジヒドロ-2h-ピロロ[1,2-a]ピラジン-1-オン誘導体は出願人本人の名義のWO 2010/031816に開示されている。

【0015】

これらの開発にもかかわらず、上記疾患に対して有効な物質がなお要望されている。

50

【先行技術文献】

【特許文献】

【0016】

【特許文献1】国際公開第2010/031816号

【非特許文献】

【0017】

【非特許文献1】Current Opinion in Chemical Biology, 1999, 3, 459 - 465

【非特許文献2】Nature Rev. Drug Discov., 2002

【非特許文献3】Carcinogenesis, 2008, 29, 1087 - 1091

【非特許文献4】Shahら, Eur. J. Cancer, 44, 2144 - 51 (2008)

【非特許文献5】Brautら, Haematologica, 95, 1004 - 1015 (2010)

【非特許文献6】Kumarら, J. Mol. Biol., 348, 183 - 193, (2005)

【非特許文献7】Kimら, Blood, 105, 1759 - 67 (2005)

【非特許文献8】Cohenら, Leuk. Lymphoma, 94, 51, 2004

【非特許文献9】Huttmannら. Leukemia, 20, 1774 (2006)

【非特許文献10】Nihira K.ら, Cell Death & Differentiation, 2010, 17, 689 - 698

【非特許文献11】Wang J.ら, Oncogene (2010) 29, 2477 - 2487

【非特許文献12】Choudharyら, Mol. Cell., 36, 326 - 39 (2009)

【非特許文献13】Amaravadi R.ら, J. Clin. Invest., 2005, 115 (10), 2618 - 24

【非特許文献14】Tamburini J.ら, Blood, 2009, 114 (8), 1718 - 27

【非特許文献15】Braut L.ら, Haematologica, 2010, 95 (6), 1004 - 1015

【非特許文献16】Beharry Z., PNAS, 2011, 108, 528 - 533

【非特許文献17】Blanco - Aparicio, C.ら, Cancer Lett., 2011, 300 (2): 145 - 53

【非特許文献18】Ebensら, 第52回ASH年次総会

【発明の概要】

【0018】

今回、PIM1及びPIM2の両方に対して従来技術で以前達成されたよりも高い活性が与えられる新規クラスの置換3,4-ジヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-1(2H)-オン化合物が同定された。これらの化合物は比較的低濃度でヒト腫瘍細胞の増殖を防止し得、これにより抗腫瘍効果を最大限としながら、同時に高量の薬物の投与に関連する副作用のリスクを減らすことを知見した。

【0019】

前記した新規化合物は式(I)に示す構造を有している：

【0020】

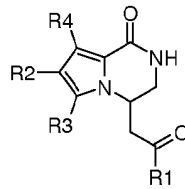
10

20

30

40

【化1】



(I)

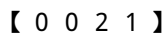
上記式中、

R1はNR5R6であり、ここでR5及びR6は各々独立して水素、直鎖または分岐状C1-C6アルキル、C2-C6アルケニル、C2-C6アルキニル、C3-C7シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いはR5及びR6はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合によりN、O及びSから選択される1個の追加ヘテロ原子を含有している5~7員ヘテロシクリル基を形成し；

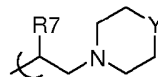
R2はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；

R3及びR4は各々独立して水素、ハロゲン、シアノ、または直鎖または分岐状C1-C6アルキル、C2-C6アルケニル、C2-C6アルキニル、C3-C7シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；

ただしR3及びR4が水素のとき、R5は式

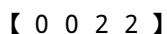


【化2】

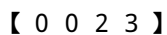


(式中、R7は直鎖または分岐状C1-C6アルキル、C3-C7シクロアルキル及びシクロアルキル-アルキルから選択される場合により置換されている基であり；YはN-R'またはCH-NR''であり、ここでR'及びR''は各々独立して水素、または直鎖または分岐状C1-C6アルキル、C3-C7シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である)

の基であり、及びその医薬的に許容され得る塩。



本発明は、標準合成変換を含む方法により製造される式(I)で表される置換誘導体の合成方法、並びに異性体、互変異性体、水和物、溶媒和物、複合体、代謝物、プロドラッグ、担体、N-オキシド及び医薬的に許容され得る塩も提供する。



本発明は、その必要がある哺乳動物に対して有効量の上に記載される式(I)の化合物を投与することを含む調節不全のプロテインキナーゼ活性、特にABL、ACK1、AKT1、ALK、AUR1、AUR2、BRK、BUB1、CDC7/DBF4、CDK2/CYCA、CHK1、CK2、EEF2K、EGFR1、EphA2、EphB4、ERK2、FAK、FGFR1、FLT3、GSK3、Haspin、IGFR1、IKK2、IR、JAK1、JAK2、JAK3、KIT、LCK、LYN、MAPKAPK2、MELK、MET、MNK2、MPS1、MST4、NEK6、NIM1、P38、PAK4、PDGFR、PDK1、PERK、PIM1、PIM2、PIM3、PKA、PKC、PLK1、RET、ROS1、SULU1、Syk、TLK2、TRKA、TRKb、TYK、VEGFR2、VEGFR3、ZAP70、より特にPIM1、P

10

20

30

40

50

I M 2、P I M 3 に起因する及び／または関連する疾患の治療方法をも提供する。

【 0 0 2 4 】

本発明の好ましい方法は、癌、細胞増殖性障害、ウイルス感染、免疫細胞関連疾患及び障害、神経変性障害及び心血管疾患からなる群から選択される調節不全のプロテインキナーゼ活性に起因する及び／または関連する疾患を治療することである。

【 0 0 2 5 】

本発明の別の好ましい方法は、特定タイプの癌を治療することであり、前記癌には癌腫、例えば膀胱癌、乳癌、結腸癌、腎臓癌、肝臓癌、小細胞肺癌を含めた肺癌、食道癌、胆嚢癌、卵巣癌、膵臓癌、胃癌、子宮頸癌、甲状腺癌、前立腺癌、及び扁平上皮癌を含めた皮膚癌；白血病、急性リンパ球性白血病、急性リンパ芽球性白血病、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、有毛細胞リンパ腫及びパーキットリンパ腫を含めたリンパ系の造血器腫瘍；急性及び慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群及び前骨髄球性白血病を含めた骨髄系の造血器腫瘍；線維肉腫及び横紋筋肉腫を含めた間葉起源の腫瘍；星状細胞腫、神経芽腫、グリオーマ及び神経鞘腫を含めた中枢及び末梢神経系の腫瘍；メラノーマ、セミノーマ、奇形癌、骨肉腫、色素性乾皮症、角化棘細胞腫、甲状腺濾胞癌及びカポジ肉腫、中皮腫、高異数性腫瘍及び有糸分裂チェックポイントを過剰発現する腫瘍を含めた他の腫瘍が含まれるが、これらに限定されない。

10

【 0 0 2 6 】

本発明の別の好ましい方法は、特定の細胞増殖性障害、例えば前立腺肥大症、家族性腺腫性ポリポーシス、神経線維腫症、乾癬、アテローム性動脈硬化症に関連する血管平滑筋細胞増殖、肺線維症、関節炎、糸球体腎炎、及び術後狭窄及び再狭窄を治療することである。

20

【 0 0 2 7 】

本発明の別の好ましい方法は、免疫細胞関連疾患及び障害、例えば多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、過敏性腸症候群、膵炎、潰瘍性大腸炎、憩室症、重症筋無力症、脈管炎、乾癬、強皮症、喘息、アレルギー、全身性硬化症、白斑、関節炎、例えば骨関節炎、若年性慢性関節リウマチ、強直性脊椎炎のような炎症性及び自己免疫疾患を治療することである。

【 0 0 2 8 】

本発明の別の好ましい方法は、ウイルス感染を治療すること、特にHIV感染している個人におけるAIDS発症を予防することである。

30

【 0 0 2 9 】

上に記載されている方法は、必要がある哺乳動物に対して更に少なくとも1つの細胞増殖抑制性または細胞傷害性物質と組み合わせて放射線療法または化学療法レジメンを施してもよい。

【 0 0 3 0 】

加えて、本発明の方法は、腫瘍血管形成及び転移抑制、並びに臓器移植片拒絶及び宿主対移植片疾患の治療をも提供する。

【 0 0 3 1 】

本発明は、更にP I M - 1、P I M - 2、P I M - 3プロテインを有効量の上に記載された式（I）の化合物と接触させることを含むP I M - 1、P I M - 2、P I M - 3プロテインキナーゼ活性を阻害するためのインビトロ方法を提供する。

40

【 0 0 3 2 】

本発明は、治療有効量の上に記載された式（I）の化合物またはその医薬的に許容され得る塩及び少なくとも1つの医薬的に許容され得る賦形剤、担体及び／または希釈剤を含む医薬組成物をも提供する。

【 0 0 3 3 】

本発明の医薬組成物は、式（I）の化合物に加えて、更に1つ以上の化学療法剤、例えば細胞増殖抑制性または細胞傷害性物質、抗生物質、アルキル化剤、代謝拮抗物質、ホルモン剤、免疫剤、インターフェロンタイプ物質、シクロオキシゲナーゼ阻害剤（例えば、

50

COX-2阻害剤)、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、テロメラーゼ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、抗増殖因子受容体剤、抗HER剤、抗EGFR剤、抗血管新生剤(例えば、血管新生阻害剤)、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、ras-rafシグナル伝達経路阻害剤、細胞周期阻害剤、他のCdk阻害剤、チューブリン結合剤、トポイソメラーゼI阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤等を含む。

【0034】

加えて、本発明は、抗癌治療において同時に、別々にまたは逐次使用するための配合剤としての上に記載された式(I)の化合物またはその医薬的に許容され得る塩またはその医薬組成物、及び1つ以上の化学療法剤を含む製品またはキットを提供する。

【0035】

別の態様で、本発明は、薬剤として使用するための上に記載された式(I)の化合物またはその医薬的に許容され得る塩を提供する。

【0036】

更に、本発明は癌の治療方法において使用するための上に記載された式(I)の化合物またはその医薬的に許容され得る塩を提供する。

【0037】

最後に、本発明は、抗癌活性を有する薬剤の製造における上に記載された式(I)の化合物またはその医薬的に許容され得る塩の使用を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0038】

別段の定めがない限り、式(I)の化合物そのもの、並びにその医薬組成物または前記組成物を含む治療的処置を言及するとき、本発明は本発明の化合物の水和物、溶媒和物、複合体、代謝物、プロドラッグ、担体、N-オキシド及び医薬的に許容され得る塩のすべてを包含する。

【0039】

換言すれば、上に記載された式(I)の化合物から容易に得られ得るならば、その異性体、互変異性体、水和物、溶媒和物、複合体、代謝物、プロドラッグ、担体及びN-オキシドも本発明の主題である。

【0040】

式(I)の化合物の代謝物は、インビボで、例えばその必要がある哺乳動物に投与すると式(I)の同一化合物が変換される化合物である。典型的には、限定例に相当しないが、式(I)の化合物を投与すると、この同一誘導体は例えば容易に排泄されるヒドロキシル化誘導体のようなより可溶性の誘導体を含めた各種化合物に変換され得る。よって、こうして存在する代謝経路に応じて、これらのヒドロキシル化誘導体は式(I)の化合物の代謝物と見なされ得る。

【0041】

プロドラッグは、インビボで式(I)に従う活性な親薬物を放出する共有結合されている化合物である。

【0042】

N-オキシドは、窒素及び酸素が配位結合を介して連結されている式(I)の化合物である。

【0043】

立体中心または別の形の異性体中心が本発明の化合物中に存在している場合、エナンチオマーやジアステレオマーを含めたすべての形態の異性体が本発明に包含されると意図される。立体中心を含有している化合物はラセミ混合物、エナンチオマー富化された混合物として使用され得、またはラセミ混合物は公知の技術を用いて分離され、個々のエナンチオマーは単独で使用され得る。化合物が不飽和炭素-炭素二重結合を有している場合、シス(Z)及びトランス(E)異性体の両方が本発明の範囲内である。

【0044】

化合物が互変異性体、例えばケト-エノール互変異性体の形態で存在し得る場合、平衡

10

20

30

40

50

で存在していても主に1つの形態で存在していても各互変異性体が本発明の範囲に含まれると考えられる。

【0045】

用語「アリール」には、単結合により相互に縮合または連結されている1~2環部分を有し、環の少なくとも1つが芳香族である炭素環式またはヘテロ環式炭化水素が含まれる。存在するならば、ヘテロアリール基とも称される芳香族ヘテロ環式炭化水素はN、O及びSから選択される1~3個のヘテロ原子を有している5~6員環を含む。

【0046】

本発明に従うアリール基の例は、例えばフェニル、ピフェニル、 - または - ナフチル、ジヒドロナフチル、チエニル、ベンゾチエニル、フリル、ベンゾフラニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、インドリル、イソインドリル、プリニル、キノリル、イソキノリル、ジヒドロキノリニル、キノキサリニル、ベンゾジオキサリル、インダニル、インデニル、トリアゾリル等である。

【0047】

用語「ヘテロシクリル(「ヘテロシクロアルキル」としても公知)」は、1個以上の炭素原子がヘテロ原子(例えば、窒素、酸素及び硫黄)で置換されている3~7員の飽和もしくは部分不飽和の炭素環式環を意図している。ヘテロシクリル基の非限定例は、例えばピラン、ピロリジン、ピロリン、イミダゾリン、イミダゾリジン、ピラゾリジン、ピラゾリン、チアゾリン、チアゾリジン、ジヒドロフラン、テトラヒドロフラン、1,3-ジオキサラン、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン等である。

【0048】

用語「 C_3 - C_7 シクロアルキル」は、別段の記載がない限り1つ以上の二重結合を含み得るが、完全共役の π -電子系を持たない3~7員のすべて炭素の単環式環を意図している。シクロアルキル基の例は、非限定的にシクロプロパン、シクロブタン、シクロペンタン、シクロペンテン、シクロヘキサン、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン、シクロヘプテン、シクロヘプテン、シクロヘプタジエンである。

【0049】

C_1 - C_4 アルキルを含めた用語「直鎖または分岐状 C_1 - C_6 アルキル」は、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*tert*-ブチル、*sec*-ブチル、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル等のような基を意図している。

【0050】

用語「直鎖または分岐状 C_2 - C_6 アルケニル」は、例えばビニル、アリル、1-プロペニル、イソプロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-ペンテニル、1-ヘキセニル等のような基を意図している。

【0051】

用語「直鎖または分岐状 C_2 - C_6 アルキニル」は、エチニル、2-プロピニル、4-ペンチニル等のような基を意図している。

【0052】

本発明によれば、別段の記載がない限り、上のR₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R'及びR''基が場合によりその自由位置でハロゲン原子、ニトロ、オキシ基(=O)、シアノ、 C_1 - C_6 アルキル、ポリフッ素化アルキル、ポリフッ素化アルコキシ、アルケニル、アルキニル、ヒドロキシアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル、 C_3 - C_7 シクロアルキル、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロシクリルオキシ、メチレンジオキシ、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、シクロアルケニルオキシ、ヘテロシクリルカルボニルオキシ、アルキリデンアミノオキシ、カルボキシ、アルコキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、シクロアルキルオキシカルボニル、ヘテロシクリルオキシカルボニル、アミノ、ウレイド、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアアリールアミノ、ヘテロシクリルアミノ、ホルミルアミノ、アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、ヘテロ

シクリルカルボニルアミノ、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アリールアミノカルボニル、ヘテロシクリルアミノカルボニル、アルコキシカルボニルアミノ、ヒドロキシアミノカルボニル、アルコキシイミノ、アルキルスルホニルアミノ、アリールスルホニルアミノ、ヘテロシクリルスルホニルアミノ、ホルミル、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、シクロアルキルカルボニル、ヘテロシクリルカルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アミノスルホニル、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アリールアミノスルホニル、ヘテロシクリルアミノスルホニル、アリールチオ、アルキルチオ、ホスホネート及びアルキルホスホネートから独立して選択される1個以上の基、例えば1～6個の基で置換されているもよい。

10

【0053】

また、適切ならば上記した置換基の各々が更に1個以上の上記基で置換されているもよい。

【0054】

この点で、用語「ハロゲン原子」は、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素原子を意図している。

【0055】

用語「シアノ」は、 $-CN$ 残基を意図している。

【0056】

用語「ニトロ」は、 NO_2 基を意図している。

20

【0057】

用語「アルケニルまたはアルキニル」は、更に二重または三重結合を有する上記した直鎖または分岐状 $C_2 - C_6$ アルキル基を意図している。本発明のアルケニルまたはアルキニル基の非限定例は、例えばビニル、アリル、1-プロペニル、イソプロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-ペンテニル、1-ヘキセニル、エチニル、2-プロピニル、4-ペンチニル等である。

【0058】

用語「ポリフッ素化アルキルまたはアルコキシ」は、2個以上のフッ素原子で置換されている上の直鎖または分岐状 $C_1 - C_6$ アルキルまたはアルコキシ基、例えばトリフルオロメチル、トリフルオロエチル、1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロプロピル、トリフルオロメトキシ等を意図している。

30

【0059】

用語「アルコキシ、アリーロキシ、ヘテロシクリルオキシ及びその誘導体」は、酸素原子($-O-$)を介して分子の残りに結合している上の $C_1 - C_6$ アルキル、アリールまたはヘテロシクリル基を意図している。

【0060】

上のすべてから、名前がアリールアミノのような複合名である基はその由来部分、例えば上に記載されている通りであるアリールにより更に置換されているアミノ基により慣用的に解釈されると意図されなければならないことは当業者に明白である。

【0061】

同様に、アルキルチオ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルコキシカルボニル、アルコキシカルボニルアミノ、ヘテロシクリルカルボニル、ヘテロシクリルカルボニルアミノ、シクロアルキルオキシカルボニル等のような用語には、アルキル、アルコキシ、アリール、 $C_3 - C_7$ シクロアルキル及びヘテロシクリル部分が上に記載されている通りである基が含まれる。

40

【0062】

式(I)の化合物の医薬的に許容され得る塩には、無機または有機酸、例えば硝酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸、過塩素酸、リン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、フマル酸、乳酸、シュウ酸、マロン酸、リンゴ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、イセチオン酸及びサリチ

50

ル酸との酸付加塩が含まれる。好ましくは、本発明の化合物の酸付加塩は塩酸塩またはメシル酸塩から選択される。

【0063】

式(I)の化合物の医薬的に許容され得る塩には、無機または有機塩基、例えばアルカリまたはアルカリ土類金属、特に水酸化、炭酸または炭酸水素ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウムまたはマグネシウム、非環状または環状アミン、好ましくはメチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、ピペリジン等との塩も含まれる。

【0064】

式(I)の好ましい化合物は、R₁がNR₅R₆であり、ここでR₅及びR₆は各々独立して水素、または直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いはR₅及びR₆はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合によりN、O及びSから選択される1個の追加ヘテロ原子を含有している5~7員ヘテロシクリル基を形成し得；R₂、R₃及びR₄が上に記載されている通りである化合物である。

10

【0065】

式(I)の化合物の別の好ましいクラスは、R₁がNR₅R₆であり、ここでR₅及びR₆は各々独立して水素、または直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いはR₅及びR₆はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合によりN、O及びSから選択される1個の追加ヘテロ原子を含有している5~7員ヘテロシクリル基を形成し得；R₂、R₃及びR₄が上に記載されている通りである化合物である。

20

【0066】

式(I)の化合物の別の好ましいクラスは、R₃及びR₄が各々独立して水素、ハロゲン、シアノ、または直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₇シクロアルキル、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R₁及びR₂が上に記載されている通りである化合物である。

30

【0067】

式(I)の好ましい具体的化合物またはその塩は以下にリストされている化合物である：

1. 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)エチル]アセトアミド、
2. 2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)エチル]アセトアミド、
3. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル]アセトアミド、
4. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル]アセトアミド、
5. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ)ピペリジン - 1 - イル]エチル} - 2 - [(4R) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル]アセトアミド、
6. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ)ピペリジン

40

50

- 1 - イル] エチル} - 2 - [(4S) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
7. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
8. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
9. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} - 2 - [(4R) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
10. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} - 2 - [(4S) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
11. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
12. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
13. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
14. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} - 2 - [7 - (3 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、
15. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} - 2 - {(4R) - 1 - オキソ - 7 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル} アセトアミド、
16. N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} - 2 - {(4S) - 1 - オキソ - 7 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル} アセトアミド、
17. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - {(4R) - 1 - オキソ - 7 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル} アセトアミド、
18. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - {(4S) - 1 - オキソ - 7 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル} アセトアミド、
19. N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 1 - オキソ - 7 - (1H - ピラゾル - 4 - イル) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド、

20. 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 3, 3 - ジメチル - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) ブタン - 2 - イル] アセトアミド、
21. 2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 3, 3 - ジメチル - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) ブタン - 2 - イル] アセトアミド、
22. 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} アセトアミド、
23. 2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} アセトアミド、
24. 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
25. 2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
26. 2 - [(4S) - 7 - (5 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
27. 2 - [(4R) - 7 - (5 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
28. 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
29. 2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
30. 2 - [(4S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
31. 2 - [(4R) - 7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
32. 2 - [(4S) - 7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド、
33. 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S)

10

20

30

40

50

- 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 34 . 2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 ,
 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
 - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 35 . 2 - [(4 R) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 36 . 2 - [(4 S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 37 . 2 - [(4 R) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 38 . 2 - [(4 S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 39 . 2 - [(4 R) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - ヒドロキシプロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 40 . 2 - [(4 S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4
 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 R) - 1 - ヒド
 ロキシプロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 41 . 2 - [6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 ,
 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - イル] アセトアミド、
 42 . 2 - [(4 R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、
 43 . 2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S)
) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド、及び
 44 . 2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1
 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(3 R)
) - ピペリジン - 3 - イル] アセトアミド。

【 0 0 6 8 】

場合により医薬的に許容され得る塩の形態の本発明の式 (I) の具体的化合物を言及する
 ために、実験の欄及び特許請求の範囲を参照されたい。

【 0 0 6 9 】

本発明は、下記する反応ルート及び合成スキームを用いて、当分野で利用し得る技術及
 び容易に入手し得る出発物質を使用することにより上に記載された式 (I) の化合物を製
 造するための方法をも提供する。本発明の特定実施形態の製造方法を以下の実施例に記載
 するが、当業者は記載されている製造方法が本発明の他の実施形態を製造するために容易
 に改変し得ることを認識している。例えば、本発明に従う例示されていない化合物の合成
 は当業者に自明の修飾により、例えば妨害基を適切に保護することにより、当分野で公知
 の他の適当な試薬に変更することにより、または反応条件をルーチンに修飾することによ
 り実施され得る。或いは、本明細書に言及されているかまたは当分野で公知の他の反応が
 本発明の他の化合物を製造するために適応し得ると認識されている。

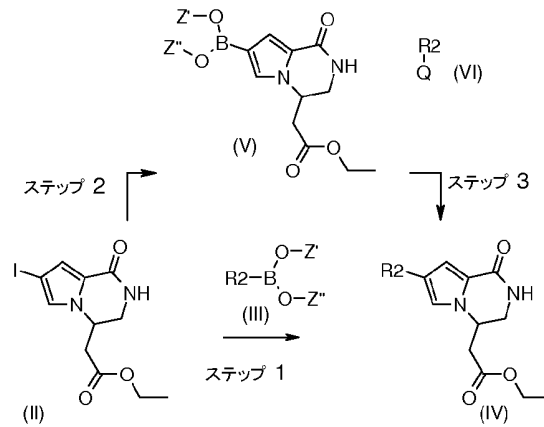
【 0 0 7 0 】

報告されているスキーム 1 は式 (I V) の中間体化合物の製造を示す。

【 0 0 7 1 】

【化3】

スキーム1



10

【0072】

上のスキーム1中、R₂はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；Z'及びZ''は水素またはアルキルであり、或いはこれらが結合している酸素原子と一緒に場合により置換されている5～6員ヘテロ環を形成し得；Qはハロゲン、トリフレート、アルキルスルホニルオキシまたはアリールスルホニルオキシ基、例えばメシレートまたはトシレートである。

20

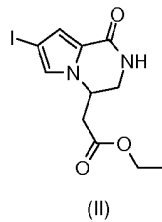
【0073】

従って、本発明の方法は以下のステップを含む：

ステップ1)式(III)：

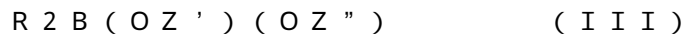
【0074】

【化4】



30

の化合物を式(III)：

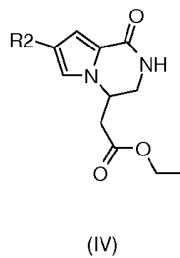


(式中、R₂はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；Z'及びZ''は水素またはアルキルであり、或いはこれらが結合している酸素原子と一緒に場合により置換されている5～6員ヘテロ環を形成し得る)

の有機ホウ素化合物と混合して、式(IV)：

【0075】

【化5】



40

(式中、R₂は上に記載されている通りである)

の化合物を得る；或いは

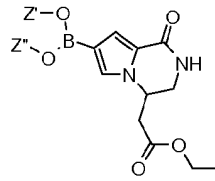
50

ステップ2) 式(I I)の化合物をボロニル試薬と反応させる；

ステップ3) 生じた式(V)：

【0076】

【化6】



(V)

10

(式中、Z'及びZ''は上に記載されている通りである)
の化合物を式



(式中、R²は上に記載されている通りであり；Qはハロゲン、トリフレート、アルキル
スルホニルオキシまたはアリールスルホニルオキシ基、例えばメシレートまたはトシレ
ートである)

の化合物と混合して、上に記載されている通りである式(IV)の化合物を得る。

【0077】

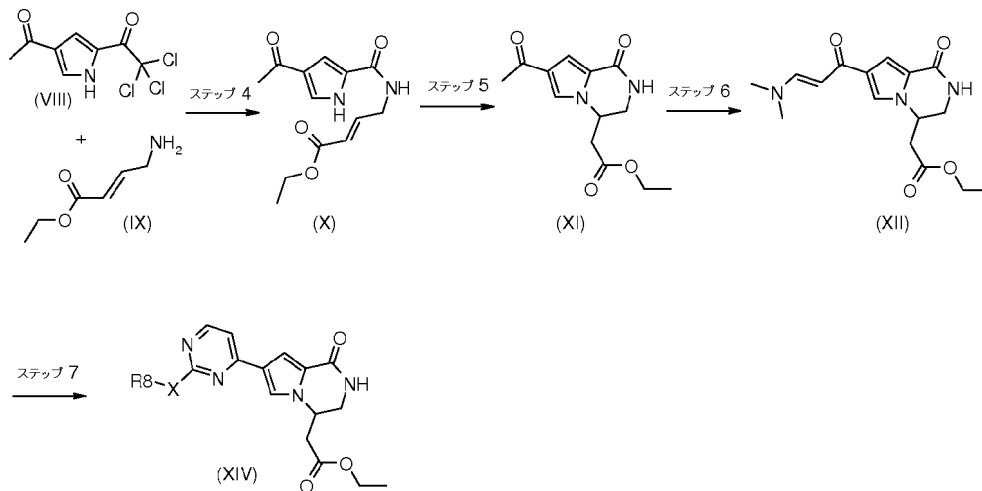
報告されているスキーム2は式(XIV)の中間体化合物の製造を示す：

20

【0078】

【化7】

スキーム2



30

【0079】

上のスキーム2中、Xは単結合、または-NR'、-O-及び-Sから選択される二価ラジカルであり、ここでR'は水素、または直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R₈は水素、またはアミノ、直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である。

40

【0080】

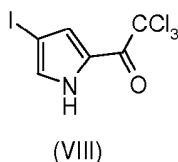
従って、本発明の方法は以下のステップを含む：

ステップ4) 式(VII I)：

【0081】

50

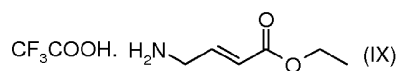
【化 8】



の化合物を式 (IX) :

【0082】

【化 9】



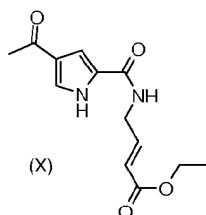
10

のアンモニウム塩と反応させる ;

ステップ 5) 生じた式 (X) :

【0083】

【化 10】



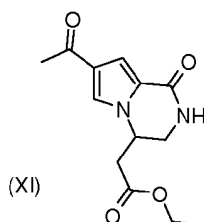
20

の化合物を塩基性条件下で環化する ;

ステップ 6) 生じた式 (XI) :

【0084】

【化 11】



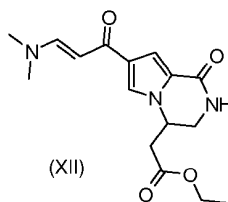
30

の化合物をジメチルホルムアミド - ジアルキルアセタールと混合する ;

ステップ 7) 生じた式 (XII) :

【0085】

【化 12】

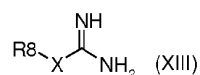


40

の化合物を式 (XIII) :

【0086】

【化 13】



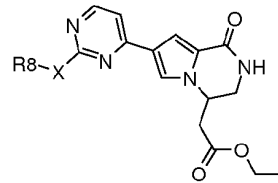
50

(式中、Xは単結合、または-NR'、-O-及び-Sから選択される二価ラジカルであり、ここでR'は水素、または直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R₈は水素、またはアミノ、直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、アリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である)

の化合物と反応させて、式(XIV)：

【0087】

【化14】



(XIV)

(式中、X及びR₈は上に記載されている通りである)

の化合物を得る。

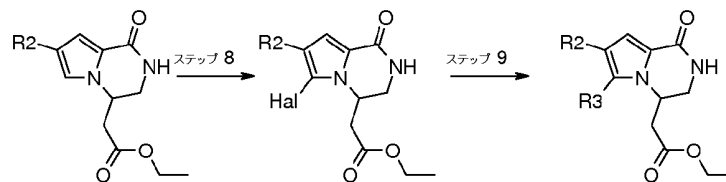
【0088】

報告されているスキーム3は式(XVII)の中間体化合物の製造を示す：

【0089】

【化15】

スキーム3



(IV)

(XV)

(XVII)

【0090】

上のスキーム3中、R₂はアリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；Halはハロゲンであり；R₃は直鎖または分岐状C₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、アリーール、アリーールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である。

【0091】

従って、本発明の方法は以下のステップを含む：

ステップ8)上に記載されている通りである式(IV)の化合物をハロゲン化剤と反応させる；

ステップ9)生じた式(XV)：

【0092】

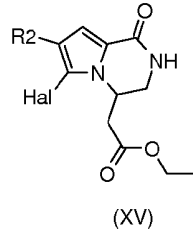
10

20

30

40

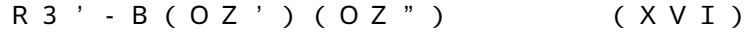
【化16】



(式中、R₂ はアール、アールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；Hal はハロゲンである)

10

の化合物を式

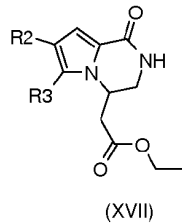


(式中、R₃' は直鎖または分岐状C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アール、アールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；Z' 及びZ'' は上に記載されている通りである)

の有機ホウ素化合物と混合して、式(XVII)：

【0093】

【化17】



20

(式中、R₂ 及びR₃ は上に記載されている通りである)

の化合物を得る。

【0094】

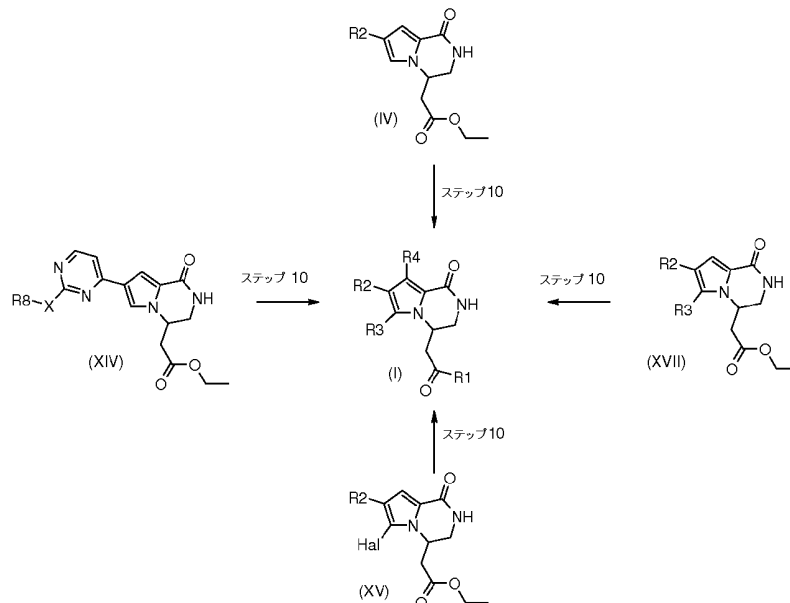
報告されているスキーム4は式(I)の化合物の製造を示す：

30

【0095】

【化18】

スキーム4



40

50

【 0 0 9 6 】

上のスキーム 4 中、X は単結合、または - N R '、- O - 及び - S から選択される二価ラジカルであり、ここで R ' は水素、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R 8 は水素、またはアミノ、直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R 1 は N R 5 R 6 であり、ここで R 5 及び R 6 は水素、直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いは R 5 及び R 6 はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合により N、O 及び S から選択される 1 個の追加ヘテロ原子を含有している 5 ~ 7 員ヘテロシクリル基を形成し；R 2 はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリルまたはヘテロシクリルアルキルであり；R 3 は水素、ハロゲン、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；R 4 は水素である。

【 0 0 9 7 】

従って、本発明の方法は以下のステップを含む：

ステップ 1 0) 上に記載されている通りである式 (I V)、(X I V)、(X V) または (X V I I) の化合物を式 (V I I) :

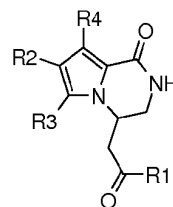


(式中、R 5 及び R 6 は水素、直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いは R 5 及び R 6 はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合により N、O 及び S から選択される 1 個の追加ヘテロ原子を含有している 5 ~ 7 員ヘテロシクリル基を形成する)

の化合物と反応させて、式 (I) :

【 0 0 9 8 】

【 化 1 9 】



(I)

(式中、R 1 は N R 5 R 6 であり、ここで R 5 及び R 6 は水素、直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり、或いは R 5 及び R 6 はこれらが結合している窒素原子と一緒に場合により N、O 及び S から選択される 1 個の追加ヘテロ原子を含有している 5 ~ 7 員ヘテロシクリル基を形成し；R 2 はアリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルであり；R 3 は水素、ハロゲン、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により

置換されている基であり；R 4 は水素である）
の化合物を得；

場合により式（ I ）の化合物を式（ I ）の別の異なる化合物に変換し、所望ならば式（ I ）の化合物をその医薬的に許容され得る塩に変換し、または塩を遊離化合物（ I ）に変換する。

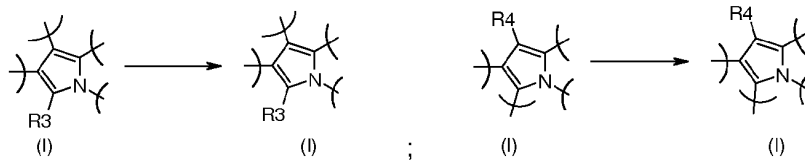
【 0 0 9 9 】

上述したように、本発明の方法に従って製造した式（ I ）の化合物は、公知の合成条件に従って操作することにより式（ I ）の他の化合物にうまく変換され得、以下が考えられる変換の例である：

変換 a) ハロゲン化剤との反応により、式（ I ）（式中、R 3 または R 4 は水素である）の化合物を対応する式（ I ）（式中、R 3 または R 4 はハロゲンである）の化合物に変換させる；

【 0 1 0 0 】

【 化 2 0 】



変換 b) パラジウム媒介炭素結合形成の条件下でそれぞれ式（ X V I I I ）または（ X X ）：

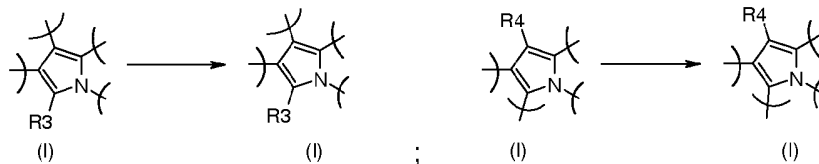


（式中、R 3'' または R 4' は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基であり；G は適当な基、例えば - B (O H)₂、- B (O A l k)₂、- S n (A l k)₄、Z n H a l または M g H a l である）

の化合物と反応させることにより、式（ I ）（式中、R 3 または R 4 はハロゲンである）の化合物を対応する式（ I ）（式中、R 3 または R 4 は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である）の化合物に変換させる；

【 0 1 0 1 】

【 化 2 1 】



変換 c) パラジウム媒介炭素結合形成の条件下で式（ X I X ）：



（式中、R^a は水素、または直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₂ - C₆ アルケニル、C₂ - C₆ アルキニル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である）

の末端アルキンと反応させることにより、式（ I ）（式中、R 3 または R 4 はハロゲンである）の化合物を対応する式（ I ）（式中、R 3 または R 4 はアルキンである）の化合物に変換させる；

【 0 1 0 2 】

10

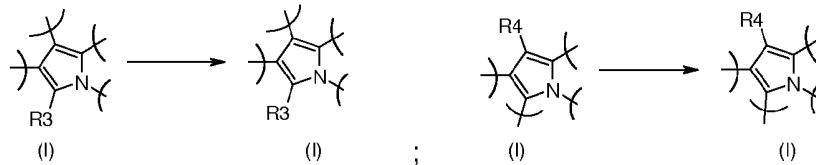
20

30

40

50

【化22】

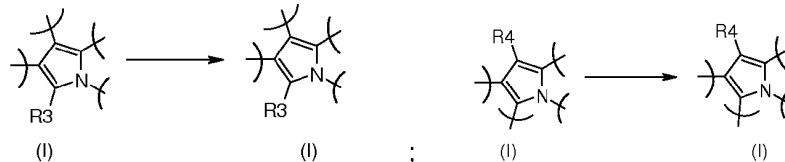


変換 d) アリールハライドのパラジウム接触シアノ化に関する当分野で公知の条件に従って、式 (I) (式中、R₃ または R₄ はハロゲンである) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ はシアノである) の化合物に変換させる；

【0103】

10

【化23】



変換 e) 1つ以上の保護基を除去し、所望ならば塩を形成する。

【0104】

方法のステップ1に従って、炭素-炭素結合の形成に適したクロスカップリング反応を利用して式 (II) の化合物を式 (III) の誘導体とカップリングする。当分野で公知の前記反応は適当な有機金属試薬、例えば有機ホウ素 (スズキ反応)、有機スズ (ステイル反応)、有機マグネシウム (クマダ反応) または有機亜鉛 (ネグシ反応) 等とのカップリングを含む。好ましい反応は、適切なアリールまたはヘテロアリールボロン酸誘導体をパラジウム系触媒 (例えば、PdCl₂(dppf)₂CH₂Cl₂、Pd₂(dba)₃ または Pd(PPh₃)₄) の存在下、場合により塩基 (例えば、炭酸ナトリウムまたはセシウム、フッ化セシウム) の存在下、室温 ~ 100 の温度で使用するスズキ反応である。便利な溶媒には、非プロトン性溶媒 (例えば、DMF、DCM、MeOH、CH₃CN) または溶媒の混合物 (例えば、ジメトキシエタンと水) が含まれる。

20

【0105】

方法のステップ2に従って、式 (II) の化合物を有機ホウ素等のような式 (V) の有機金属誘導体に変換させる。好ましい有機金属は、例えば式 (II) の化合物を溶媒 (例えば、DMF、1,4-ジオキサン、ジメトキシエタン、THF等) 中、適当なパラジウム触媒 (例えば、酢酸パラジウム、PdCl₂(dppf)₂) 及び適当な塩基 (例えば、KOAc、トリエチルアミン等) の存在下で適当なホウ素化合物 (例えば、ビス(ピナコラト)ジボロン、ピナコールボラン等) と 20 ~ 還流の範囲の温度で 30分 ~ 約 24時間の範囲の時間反応させることにより得られ得る有機ホウ素化合物である。

30

【0106】

方法のステップ3に従って、式 (V) の化合物をパラジウムまたはニッケル系触媒 (例えば、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムまたは PdCl₂(dppf)₂CH₂Cl₂) 及び適当な塩基 (例えば、Cs₂CO₃、K₂CO₃、CsF等) の存在下で式 R₂-Q (VI) (式中、Q はハライドまたはトリフルオロメタンスルホネート (トリフレート)、メタンスルホネート (メシレート) または p-トルエンシルホネート (トシレート) である) の適切な求電子試薬と 20 ~ 還流の範囲の温度で 1時間 ~ 約 24時間の範囲の時間反応させて、式 (IV) の化合物を得る。便利な溶媒には、非プロトン性溶媒 (例えば、1,4-ジオキサン、ジメトキシエタン、THF等) が含まれる。

40

【0107】

方法のステップ4に従って、式 (IX) の化合物を対応する、-トリクロロケトンからアミド誘導体を得るための慣用の方法に従って各種方法で対応する式 (X) のアミド誘導体に変換させ得る。好ましくは、前記反応は式 (IX) のアミンを溶媒としてジクロロメタンを用い、N,N-ジイソプロピルエチルアミンの存在下で式 (VII) の

50

トリクロロケトン誘導体と約2時間～48時間反応させることにより実施する。

【0108】

方法のステップ5に従って、式(X)の化合物の対応する式(XI)の誘導体への環化は慣用の方法に従って各種方法で実施され得る。好ましくは、前記反応は塩基(例えば、ジアザ(1,3)ピシクロ[5.4.0]ウンデカン)、溶媒としてアセトニトリルを用いて実施する。

【0109】

方法のステップ6に従って、式(XII)のエナミン誘導体の合成は、適当な溶媒(例えば、DMF、DMA、トルエン等)中、 $\text{H}_2\text{N}-\text{ジメチルホルムアミド}$ ジアルキルアセタール(例えば、ジメチルホルムアミド-ジ-tert-ブチルアセタール、ジメチルホルムアミド-ジエチルアセタール等)を用いて室温～150℃の範囲の温度で30分～約24時間の範囲の時間行われる。

10

【0110】

方法のステップ7に従って、式(XII)の化合物を適当な溶媒(例えば、DMF、EtOHまたはトルエン)中、塩基(例えば、AcOK、 K_2CO_3 または Na_2CO_3)の存在下でピリミジン環形成により式(XIII)の誘導体と室温～還流の範囲の温度で約1～約48時間の範囲の時間反応させて式(XIV)の化合物を得る。好ましくは、前記反応はDMF中120℃で18時間実施する。

【0111】

方法のステップ8に従って、式(IV)の化合物をハロゲン化剤と反応させることにより対応する式(XV)の化合物に変換させ得る。前記反応は適当な溶媒(例えば、DCMまたはDMF)中、ハロゲン化剤(例えば、NBSまたはNIS)を用いて-10℃～室温の範囲の温度で2時間～約18時間の時間実施する。好ましくは、前記反応は中性条件下、DCM中ヨウ素及びトリフルオロ酢酸銀の存在下で0℃～室温の範囲の温度で2時間～一晩の範囲の時間実施する。

20

【0112】

方法のステップ9に従って、式(XV)の化合物を適当な溶媒(例えば、DMF、1,4-ジオキサン、DMEまたは CH_3CN)中、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ 、 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ または $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ の存在下、場合によりフッ化セシウムまたは炭酸セシウムの存在下で式 $\text{R}^3-\text{B}(\text{OZ}^{\prime}\text{Z}^{\prime\prime})_2$ (XVI)の有機ホウ素と室温～100℃の範囲の温度で2時間～6時間の範囲の時間反応させる。

30

【0113】

方法のステップ10に従って、式(IV)、(XIV)、(XV)または(XVII)の化合物をまず当分野で広く公知の塩基また酸加水分解条件により対応するカルボン酸誘導体またはその対応する塩に加水分解する。好ましくは、前記反応は適当な溶媒(例えば、低級アルコール、THF、DMまたはその混合物)の存在下で水性アルカリ溶液(例えば、水性水酸化リチウム、ナトリウムまたはカリウム)を用いて実施する。好ましくは、前記反応はエタノール中、ほぼ室温～約80℃の範囲の温度で水酸化カリウムを用いて実施する。使用する操作条件によれば、カルボン酸誘導体が酸形態または塩として得られ得る。その後、式(I)の化合物を得るためのカルボン酸誘導体のアミド化は、塩化アンモニウムまたは式 $\text{R}^5\text{R}^6\text{NH}$ (VII)の適当な第1級または第2級アミンの存在下、塩基性条件下で、好ましくはDIEAまたはTEAを用いて適当な溶媒(例えば、DCM、DMF、THF、1,4-ジオキサンまたはDMA)中、適当な縮合剤(例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、1-エチル-3-(3'-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、3,4-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-4-オキソ-1,2,3-ベンゾトリアジン(DHBT)、O-ベンゾトリアゾリルテトラメチルイソウロニウムテトラフルオロボレート(TBTU)、ベンゾトリアゾル-1-イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyBOP)または2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HBTU))の存在下で実施する。前記反応は場合により適当な触媒

40

50

(例えば、4 - ジメチルアミノピリジン) の存在下で、または追加のカップリング剤 (例えば、N - ヒドロキシベンゾトリアゾール) の存在下で実施する。

【0114】

或いは、式 (IV)、(XIV)、(XV) または (XVII) の化合物の式 (I) の化合物への直接変換はカルボキシエステル基 (-COOEt) をカルボキサミド (-CONH₂)、N - 置換カルボキサミド (-CONHR₅)、 β - ジ置換カルボキサミド (-CONR₅R₆) に変換させるための当分野で公知の方法に従って実施され得る。好ましくは、前記反応はメタノール中アンモニアを用いて約 50 ~ 約 100 の範囲の温度で実施する。アンモニアまたは水酸化アンモニウムの代わりに適当な第 1 級または第 2 級を用いる N - 置換カルボキサミドまたは N, N - ジ置換カルボキサミドの製造において同様の操作条件が適用される。

10

【0115】

方法の変換 (変換 a) に従って、式 (I) (式中、R₃ または R₄ は水素である) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ はハロゲンである) の化合物に変換させる。前記反応は、適当な溶媒 (例えば、DCM、THF、MeOH、DMF またはその混合物) 中、ハロゲン化剤 (例えば、NCS、NBS、NIS) を用いて 0 ~ 室温の温度で 2 ~ 約 18 時間実施する。好ましくは、前記反応は中性条件で、DCM 中ヨウ素及びトリフルオロ酢酸銀の存在下で 0 ~ 室温の範囲の温度で 2 時間 ~ 一晚の時間実施する。

【0116】

方法の変換 (変換 b) に従って、炭素 - 炭素結合の形成に適したクロスカップリング反応を利用することにより、式 (I) (式中、R₃ または R₄ はハロゲンである) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ は直鎖または分岐状 C₁ - C₆ アルキル、C₃ - C₇ シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクリル及びヘテロシクリルアルキルから選択される場合により置換されている基である) の化合物に変換させる。当分野で公知の前記反応は、適当な有機金属試薬、例えば有機ホウ素 (スズキ反応)、有機スズ (スティーラー反応)、有機マグネシウム (クマダ反応)、有機亜鉛、有機アルミニウムまたは有機ジルコニウム (ネギシ反応) 等を用いるカップリングを含む。好ましい反応は、適切な有機ホウ素誘導体を溶媒の混合物 (例えば、ジメトキシエタンまたは 1, 4 - ジオキサソランと水) 中、パラジウム系触媒 (例えば、PdCl₂(dppf)₂CH₂Cl₂) 及び塩基 (例えば、炭酸ナトリウム、カリウムまたはセシウム) の存在下で室温 ~ 80 の温度で 2 時間 ~ 一晚の時間用いるスズキ反応である。

20

30

【0117】

方法の変換 (変換 c) に従って、式 (XIX) の化合物との反応により、式 (I) (式中、R₃ または R₄ はハロゲンである) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ はアルキンである) の化合物に変換させる。前記反応は、対応する式 (I) の化合物を得るためのソノガシラカップリングにより、溶媒として、 β - ジメチルホルムアミドを用いて適当な Pd - 触媒 (例えば、Pd(PPh₃)₄、Pd(PPh₃)₂Cl₂)、適当なリガンド (例えば、トリフェニルホスフィン) 及び添加剤 (例えば、ヨウ化銅 (I)) の存在下で室温 ~ 還流の温度で 4 時間 ~ 一晚の範囲の時間実施する。

40

【0118】

方法の変換 (変換 d) に従って、アリールハライドのパラジウム接触シアノ化について報告されている条件に従って式 (I) (式中、R₃ または R₄ は Br またはヨウ素である) の化合物を対応する式 (I) (式中、R₃ または R₄ は CN である) の化合物に変換させ得る。前記反応は、適当な溶媒 (例えば、DMF、N - メチルピロリドンまたは DMA) 中、触媒としての酢酸パラジウム (II)、塩基としての炭酸ナトリウム、炭酸カリウムまたは炭酸セシウムの存在下でシアノ化源として ZnCN またはカリウムヘキサシアノ鉄酸塩 (II) を用いて 80 ~ 還流の温度で 4 ~ 約 24 時間の範囲の時間実施される (J. Org. Chem., 2005, 70, 1508 - 1510; Org. Lett., 2011, 13(4), p. 648 - 651)。

50

【0119】

方法の変換（変換 e）に従って、tert-ブトキシカルボニル、ベンジル、4-メトキシベンジル、2,4-ジメトキシベンジル及びトリフェニルメチル保護基を選択的に加水分解し得る慣用方法に従って窒素原子を脱保護することにより、式（I）（式中、R' は保護基である）の化合物を対応する式（I）（式中、R' は水素である）の化合物に変換させ得る。好ましくは、前記反応は適当な溶媒（例えば、DCM、1,4-ジオキサン、メタノールまたはエタノールのような低級アルコール）中酸性条件下で、例えば無機または有機酸（例えば、塩酸、トリフルオロ酢酸またはメタンスルホン酸）の存在下で室温～還流の範囲の温度で約1時間～約48時間の範囲の時間行う。

【0120】

上のすべてから、式（I）の他の化合物を得るべく当分野で公知の方法に従って操作することにより別の官能基に更に誘導体化され得る官能基を有している式（I）の化合物が本発明の範囲に含まれると意図されることは当業者に明白である。

【0121】

化学官能基の別の官能基への変換はこの官能基を含有している化合物中の1つ以上の反応中心を望ましくない副反応を避けるために保護しなければならないことがあることは当業者には公知である。前記反応性中心の保護及びその後の合成変換の終了時の脱保護は、例えば Green, Theodora W. and Wuts, Peter G.M. - Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition, John Wiley & Sons Inc., New York (NY), 1999 に記載されている標準手順に従って行われ得る。

【0122】

式（I）の化合物の製造方法の変形によれば、出発物質及び他の反応物質は公知であるかまたは公知方法に従って容易に製造される。

【0123】

式（II）、（VII）及び（IX）の化合物は WO 2010/031816 に記載されているように製造され得る。

【0124】

式（III）、（VI）、（VII）、（VIII）、（XI）、（XVI）、（XVII）、（XIX）及び（XX）の化合物は市販されているかまたは公知方法に従って製造され得る。

【0125】

上のすべてから、上記した方法変形の1つに従って式（I）の化合物を製造するとき望ましくない副反応を生ずるおそれがある出発物質またはその中間体内の任意の官能基を慣用技術に従って適切に保護しなければならないことは当業者に自明である。また、後者の遊離の脱保護化合物への変換は公知手順に従って実施され得る。

【0126】

容易に認識されるように、上記した方法に従って製造した式（I）の化合物が異性体の混合物として得られるならば、該混合物を慣用技術を用いて式（I）の単一異性体に分離することは本発明の範囲内である。

【0127】

ラセミ体分割のための慣用技術には、例えばジアステレオマー塩誘導体の分別結晶または分取キラル HPLC が含まれる。

【0128】

本発明の化合物は、単剤として、または細胞増殖抑制性または細胞傷害性物質、抗生物質、アルキル化剤、代謝拮抗物質、ホルモン剤、免疫剤、インターフェロントイプ物質、シクロオキシゲナーゼ阻害剤（例えば、COX-2 阻害剤）、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、テロメラゼ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、抗増殖因子受容体剤、抗HER剤、抗EGFR剤、抗血管新生剤（例えば、血管新生阻害剤）、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、ras-raf シグナル伝達経路阻害剤、細胞周期阻害剤、他の

10

20

30

40

50

c d k 阻害剤、チューブリン結合剤、トポイソメラーゼⅠ阻害剤、トポイソメラーゼⅡ阻害剤等と一緒に放射線療法または化学療法レジメンのような公知の抗癌治療と組み合わせ投与され得る。

【0129】

固定用量として製剤化するならば、前記配合製品は下記する用量範囲内の本発明の化合物及び認可されている用量範囲内の他の医薬活性物質を使用する。

【0130】

配合製剤が不適切の場合には、式(Ⅰ)の化合物を公知の抗癌剤と逐次使用してもよい。

【0131】

哺乳動物(例えば、ヒト)に対して投与するのに適した本発明の式(Ⅰ)の化合物は一般的ルートにより投与され得、用量レベルは患者の年齢、体重及び状態、並びに投与ルートに依存する。

【0132】

例えば、式(Ⅰ)の化合物を経口投与するのに適した用量は約10mg~約2g/1回投与、1日1~5回の範囲であり得る。本発明の化合物は各種剤形で、例えば錠剤、カプセル剤、糖衣錠またはフィルムコーティング錠、溶液剤または懸濁液剤の形態で経口的に；座剤の形態で経腸的に；非経口的に、例えば筋肉内に、或いは静脈内及び/または鞘内及び/または髄腔内注射または注入により投与され得る。

【0133】

本発明は、式(Ⅰ)の化合物またはその医薬的に許容され得る塩を担体または希釈剤であり得る医薬的に許容され得る賦形剤と一緒に含む医薬組成物をも包含する。

【0134】

本発明の化合物を含有している医薬組成物は、通常慣用の方法に従って製造され、適当な医薬形態で投与される。例えば、固体経口形態は、活性化合物と一緒に希釈剤、例えばラクトース、デキストロース、サッカロース、スクロース、セルロース、トウモロコシ澱粉またはジャガイモ澱粉；滑沢剤、例えばシリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウムまたはカルシウム及び/またはポリエチレングリコール；結合剤、例えば澱粉、アラビアガム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースまたはポリビニルピロリドン；崩壊剤、例えば澱粉、アルギン酸、アルギネートまたはグリコール酸澱粉ナトリウム；発泡剤；染料；甘味料；湿潤剤、例えばレシチン、ポリソルベート、ラウリルスルフェート；並びに通常医薬製剤中に使用されている非毒性の医薬不活性物質を含有し得る。これらの医薬製剤は公知の方法で、例えば混合、顆粒化、錠剤化、糖衣コーティングまたはフィルムコーティング方法により製造され得る。

【0135】

経口投与用分散液剤は、例えばシロップ剤、エマルジョン剤及び懸濁液剤であり得る。例えば、シロップ剤は、担体としてサッカロース、サッカロースとグリセリン及び/またはマンニトール及びソルビトールを含有し得る。

【0136】

懸濁液剤及びエマルジョン剤は、担体の例として天然ガム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースまたはポリビニルアルコールを含有し得る。筋肉内注射用懸濁液剤または溶液剤は、活性化合物と一緒に医薬的に許容され得る担体、例えば滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール(例えば、プロピレングリコール)、及び所望ならば適当な量の塩酸リドカインを含有し得る。

【0137】

静脈内注射または注入用溶液剤は、担体として滅菌水を含有し得、好ましくは滅菌水性の等張性食塩液の形態であり、または担体としてプロピレングリコールを含有し得る。

【0138】

座剤は、活性化合物と一緒に医薬的に許容され得る担体、例えばカカオ脂、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル界面活性剤、またはレシチ

10

20

30

40

50

ンを含有得る。

【0139】

本発明に限定を加えることなくより本発明を十分に説明する目的で、以下の実施例を提示する。

【実施例】

【0140】

本発明の式(I)の幾つかの化合物の合成を以下の実施例に記載する。

【0141】

以下の実施例に従って製造した本発明の化合物を¹H NMRまたはHPLC/MS分析データによっても特性評価した。HPLC/MSデータは方法1、2、3及び4の1つ

10

に従って集めた。

【0142】

HPLC/MS分析方法1

HPLC装置は、Waters 2996 PDA検出器を備えたWaters Acquity (商標) UPLCシステム、Waters Acquity ELSD (商標) 検出器及びエレクトロスプレー (ESI) イオン源を備えたWaters mod. SQDシングル四重極型質量分析計から構成した。計器コントロール、データ獲得及びデータプロセッシングはEmpower 2及びMassLynx 4.1ソフトウェアにより提供した。

【0143】

20

HPLCは、Waters Acquity (商標) BEH C18, 1.7 μm, 50 × 2.1 mmカラムを用いて45、0.7 mL/分の流速で実施した。移動相Aは水/アセトニトリル (95:5) 中0.1% トリフルオロ酢酸であり、移動相BはH₂O/アセトニトリル (5:95) であった。勾配は2分間で5から95% B、次いで95% Bを0.1分間保持した。注入容量は0.8 μLであった。質量分析計は正及び負イオンモードで操作し、キャピラリー電圧は3 kV (ES⁺ 及びES⁻) で設定した。コーンは30 V (ES⁺ 及びES⁻) であった。ソース電圧は120 であった。100~800 amuのフルスキャン質量範囲を設定した。

【0144】

HPLC/MS分析方法2

30

HPLC/MS分析は、ESI (エレクトロスプレー) イオン源を備えたFinnigan MAT mod. LCQイオントラップ質量分析計で実施した。質量分析計はオートサンプラーLc Pal (CTC Analytics) 及びUV6000LP PDA検出器を備えたHPLC SSP4000 (Thermo Separation) に直接接続した。

【0145】

HPLCは、Phenomenex Gemini C18, 3 μm, 50 × 4.6 mmカラムを用いて40、1.0 mL/分の流速で実施した。移動相Aは酢酸塩バッファ-5 mM pH 4.5:アセトニトリル 95:5 (v:v) であり、移動相Bは酢酸塩バッファ-5 mM pH 4.5:アセトニトリル 5:95 (v:v) であった。勾配は7分間で0から100% B、次いで再平衡まで100% Bを2分間保持した。全LC時間は10分間であった。注入容量は10 μLであった。

40

【0146】

MS条件: LCQ質量分析計は正及び負イオンモードでエレクトロスプレーイオン化 (ESI) インターフェースを用いて操作する。ESIスプレー電圧4.0 kV、加熱キャピラリー温度255、5.0 Barの圧力のシースガス窒素。フルスキャン検出モード (50~1000 amu) を使用した。

【0147】

MS/MS実験は各々Excaliburソフトウェアにより自動的にスキャンする最も強烈なイオンで実施した。前駆体イオンを断片化するために45% 衝突エネルギーを

50

使用した。

【0148】

HPLC/MS分析方法3

HPLC装置は、Waters 2996 PDA検出器を備えたWaters Alliance (商標) HT 2795システム及びエレクトロスプレー (ESI) イオン源を備えたWaters mod. ZQ 2000シングル四極型質量分析計から構成した。計器コントロール、データ獲得及びデータプロセッシングはEmpower 2及びMassLynx 4.1ソフトウェアにより提供した。HPLCは、Phenomenex Gemini C18, 3 μm, 50 × 4.6 mmカラムを用いて25、1.0 mL/分の流速で実施した。移動相Aは酢酸アンモニウム5 mM pH = 5.2バッファー：アセトニトリル (95 : 5) であり、移動相BはH₂O / アセトニトリル (5 : 95) であった。勾配は8分間で10から90% Bであり、その後0.1分間で100% Bまで高めた。注入容量は10 μLであった。質量分析計は正及び負イオンモードで操作し、キャピラリー電圧は3.5 kV (ES⁺) 及び2.8 kV (ES⁻) に設定した。コーン電圧は14 V (ES⁺) 及び28 V (ES⁻) であった。ソース温度は120 であった。100 ~ 800 amuのフルスキャン質量範囲を設定した。

10

【0149】

HPLC/MS分析方法4

HPLC装置は、Waters 2996 PDA検出器を備えたWaters Alliance (商標) HT 2795システム及びエレクトロスプレー (ESI) イオン源を備えたWaters mod. ZQ 2000シングル四重極型質量分析計から構成した。計器コントロール、データ獲得及びデータプロセッシングは、Empower 2及びMassLynx 4.1ソフトウェアにより提供した。HPLCはWaters X-Terra RP18, 3.5 μm, 20 × 3.0 mmカラムを用いて25、1.2 mL/分の流速で実施した。移動相Aは水酸化アンモニウム0.05% pH = 10バッファー：アセトニトリル (95 : 5) であり、移動相BはH₂O / アセトニトリル (5 : 95) であった。勾配は4分間で10から90% Bであり、その後0.1分間で100% Bまで高めた。注入容量は10 μLであった。質量分析計は正及び負イオンモードで操作し、キャピラリー電圧は3.5 kV (ES⁺) 及び2.8 kV (ES⁻) に設定した。コーン電圧は14 V (ES⁺) 及び28 V (ES⁻) であった。ソース温度は120 であった。100 ~ 800 amuのフルスキャン質量範囲を設定した。

20

30

【0150】

以下の実施例に従って製造した式 (I) の本発明の幾つかの化合物を分取HPLCにより精製した。操作条件を以下のように記載する：

HPLC/MS分取方法1

HPLC装置は、Waters 2996 PDA検出器を備えたWaters FractionLynx (商標) システム及びエレクトロスプレー (ESI) イオン源を備えたWaters mod. ZQ 2000シングル四重極型質量分析計から構成した。計器コントロール、データ獲得及びデータプロセッシングはMassLynx 4.1ソフトウェアにより提供した。

40

【0151】

HPLCは、Waters X-Terra Prep RP18, 10 μm, 250 × 19 mmカラムを用いて25、20 mL/分の流速で実施した。移動相Aは水 / アセトニトリル (95 : 5) 中0.1% トリフルオロ酢酸であり、移動相Bはアセトニトリルであった。勾配は15分間で10から90% Bであった。注入容量は500 μLであった。

【0152】

質量分析計は正及び負イオンモードで操作し、キャピラリー電圧は3.25 kV (ES⁺) 及び2.75 kV (ES⁻) で設定した。コーン電圧は18 V (ES⁺) 及び25 V (ES⁻) であった。ソース温度は120 であった。100 ~ 800 amuのフルスキ

50

ヤン質量範囲を設定した。

【0153】

HPLC分取方法2

HPLC装置は、SCL-8Aシステムコントローラー、2つのLC-8Aポンプ、SPD-6A UV分光光度検出器及び手動Rheodyne注入システムを備えたShimadzu HPLCシステムから構成した。データ獲得(アナログシグナル)及びデータプロセッシングはEmpower 2ソフトウェアにより提供した。

【0154】

HPLCは、Waters X-Terra MS RP18, 10m, 150×30mmカラムを用いて25、40mL/分の流速で実施した。移動相Aは水/アセトニトリル(95:5)中0.1% トリフルオロ酢酸であり、移動相BはH₂O/アセトニトリル(5:95)であった。勾配は15分間で10から90% Bであり、その後0.1分間でランプから100% Bであった。注入容量は500µLであった。

10

【0155】

精密質量

精密質量データESI(+)は、既に記載されているように(M. Colombo, F. Riccardi-Sirtori, V. Rizzo, Rapid Commun. Mass Spectrom., 2004, 18, 511-517)マイクロHPLC 1100 Agilentに直接接続したWaters Q-ToF Ultimaを用いて得た。

20

【0156】

¹H-NMR分光測定は、QNPプローブ(交換可能な4核プローブ-¹H, ¹³C, ¹⁹F及び³¹P)を備えた勾配を有するBruker AVANCE 400MHz単スパン計器(NMR方法1)、または5mm二重共鳴プローブ5mm ¹H{¹⁵N-³¹P}z軸PFG間接検出プローブを備えた400.45MHzで操作するMercury VX 400を用いて実施した。

【0157】

¹H-NMR分光測定は、¹H, ¹⁹F z軸-PFGプローブを備えたVarian INOVA 599.88MHzを用いて実施した。

【0158】

製造A

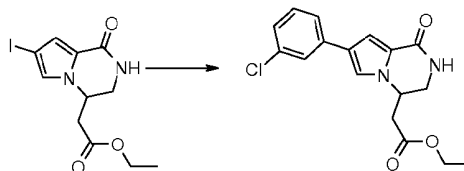
エチル[7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]アセテート[(IV)R₂=3-クロロフェニル]

30

【0159】

【化24】

ステップ1



40

【0160】

エチル(7-ヨード-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル)アセテート(1.00g, 2.87mmol)を(Ar流で)脱気した1,4-ジオキサン/H₂O(25/5mL)の混合物中に含む溶液に3-クロロフェニルボロン酸(898mg, 5.74mmol)、炭酸セシウム(2.807g, 8.61mmol)、最後にジクロロメタンとの1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンパラジウム(II)ジクロリド複合体(1:1)(234mg, 0.287

50

mmol)を添加した。アルゴン雰囲気下で反応混合物に蓋を被せ、80℃で2時間撹拌した。溶媒を真空下で蒸発させ、残渣を酢酸エチルと水に分配した。有機相をNa₂SO₄で乾燥し、濃縮乾固した。粗生成物をシリカゲルカラムを用いるクロマトグラフィー(溶離液:DCM/EtOAc/EtOH:60/35/5)により精製して、0.573g(収率60%)を明褐色固体として得た。

【0161】

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 7.71(d, J=1.22Hz, 1H), 7.64(t, J=1.83Hz, 1H), 7.58(d, J=1.83Hz, 1H), 7.51-7.56(m, 1H), 7.35(t, J=7.93Hz, 1H), 7.20(ddd, J=0.98, 2.08, 7.93Hz, 1H), 7.10(d, J=1.83Hz, 1H), 4.60-4.69(m, 1H), 4.11(dq, J=1.16, 7.10Hz, 2H), 3.71(ddd, J=1.89, 4.18, 13.09Hz, 1H), 3.35-3.42(m, 1H), 2.89(dd, J=5.13, 6.84Hz, 2H), 1.18(t, J=7.08Hz, 3H)。

10

【0162】

HRMS(ESI) 計算値(C₁₇H₁₈ClN₂O₃) [M+H]⁺ 333.1001; 実測値 333.1005。

【0163】

製造B

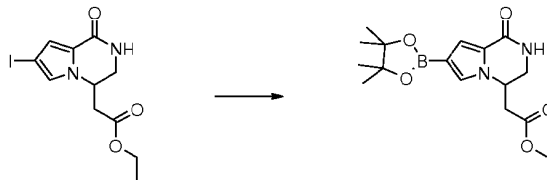
エチル[1-オキソ-7-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]アセテート[(V)Z', Z'' = -C(Me)₂-C(Me)₂-]

20

【0164】

【化25】

ステップ2



30

【0165】

エチル(7-ヨード-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル)アセテート(200mg, 0.57mmol)を乾燥DMF(18ml)中、酢酸カリウム(170mg, 1.7mmol)及びジクロロメタンとの[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)複合体(28mg, 0.034mmol)の存在下でビス(ピナコラト)ジボロン(729mg, 2.8mmol)と70℃で3時間反応させた。粗生成物を水及びAcOEtで後処理し、濾過し、蒸発させ、最後にシリカゲル(溶離液:AcOEt/Hex 9/1)で精製して、所望の化合物を40%の収率で透明油状物として得た。

40

【0166】

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 7.67(d, J=2.32Hz, 1H), 7.24(d, J=1.46Hz, 1H), 6.76(d, J=1.59Hz, 1H), 4.59-4.70(m, 1H), 4.04-4.14(m, 2H), 3.63(ddd, J=1.65, 4.18, 12.97Hz, 1H), 3.34-3.39(m, 1H), 2.83(d, J=7.20Hz, 2H), 1.24(s, 12H), 1.13-1.19(m, 3H)。

【0167】

LCMS(HPLC方法2): m/z 348 [M+H]⁺ 室温 = 5.31分。

【0168】

50

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₇H₂₆BN₂O₅) [M+H]⁺ 348.1966; 実測値 348.1953。

【0169】

[実施例1]

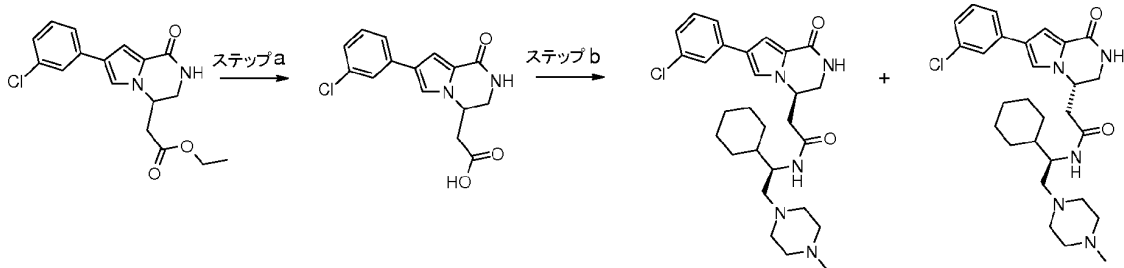
2-[(4R)-7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]-N-[(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル]アセトアミド[(I)R₂=3-クロロフェニル, R₃=R₄=H, R₁=-NH-R₅, R₅=-(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル](化合物1)、及び

2-[(4S)-7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]-N-[(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル]アセトアミド[(I)R₂=3-クロロフェニル, R₃=R₄=H, R₁=-NH-R₅, R₅=-(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル](化合物2)

【0170】

【化26】

ステップ10



ステップ a. [7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]酢酸の製造

エチル[7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]アセテート(0.573g, 1.72mmol)をテトラヒドロフラン-水の混合物(5:1, 10mL)中に含む溶液に水酸化リチウム(144mg, 3.44mmol)を添加し、反応混合物を室温で18時間撹拌した。THFを蒸発させ、水性残渣をH₂Oで希釈した。水性相をpH<1まで塩酸(1M)で酸性化すると、沈殿が生じた。固体を濾過し、水で洗浄し、真空下で乾燥して、標記化合物をオフホワイト色固体(450mg, 収率85%)として得た。

【0171】

LCMS (HPLC方法2): m/z 305 [M+H]⁺ 室温 = 4.11分。

【0172】

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₅H₁₄ClN₂O₃) [M+H]⁺ 305.0688; 実測値 305.0691。

【0173】

ステップ b.

7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]酢酸(63mg, 0.207mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(0.361mL, 2.067mmol)及びHBTU(94mg, 0.248mmol)を乾燥ジオキサン(25mL)中に含む溶液を15分間撹拌した後、(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エタナミン三塩酸塩(83mg, 0.248mmol)に添加し、最終懸濁液を70℃で2時間撹拌した。溶媒を真空中で除去した。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を真空中で除去した。シリカゲルカラムを用いるフラッシュクロマトグラフィー(DCM/MeOH/NH₄OH 90/10

/ 0.5 及び 80 / 20 / 0.5) により精製して、第1溶離ピークとして45 mg (収率42%)の化合物2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミドを明黄色泡状物として得た。

【0174】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.74 (d, J = 2.56 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 9.15 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 1.89 Hz, 1H), 7.52 (td, J = 1.22, 8.06 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 1.83 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.87 Hz, 1H), 7.19 (ddd, J = 0.85, 2.07, 7.93 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 1.83 Hz, 1H), 4.58 - 4.71 (m, 1H), 3.82 (td, J = 7.28, 14.37 Hz, 1H), 3.62 - 3.69 (m, 1H), 2.77 (dd, J = 7.26, 14.95 Hz, 1H), 2.63 (dd, J = 6.35, 14.89 Hz, 1H), 2.33 - 2.10 (m, 10H), 2.02 (s, 3H), 1.58 (m, 4H), 1.36 (m, 1H), 1.15 - 0.90 (m, 5H)。

10

【0175】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 512 [M+H]⁺ 室温 = 5.17分。

【0176】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₉ClN₅O₂) [M+H]⁺ 512.2787; 実測値 512.2778。

20

【0177】

第2溶離ピークとして、45 mg (収率42%)の化合物2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミドを明黄色泡状物として得た。

【0178】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.72 (d, J = 2.93 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 9.40 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 1.83 Hz, 1H), 7.49 - 7.53 (m, 1H), 7.39 (d, J = 1.83 Hz, 1H), 7.33 (t, J = 7.87 Hz, 1H), 7.18 (ddd, J = 0.98, 2.08, 7.93 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 1.83 Hz, 1H), 4.59 - 4.74 (m, J = 5.86 Hz, 1H), 3.75 - 3.89 (m, J = 5.49 Hz, 1H), 3.70 (ddd, J = 1.53, 4.27, 13.00 Hz, 1H), 3.39 (m, 2H), 2.77 (dd, J = 8.12, 14.59 Hz, 1H), 2.56 (dd, J = 5.68, 14.59 Hz, 1H), 2.40 - 2.17 (m, 10H), 2.11 (s, 3H), 1.68 (m, 1H), 1.51 - 1.35 (m, 4H), 1.28 - 1.20 (m, 1H), 1.10 - 0.75 (m, 5H)。

30

【0179】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 512 [M+H]⁺ 室温 = 5.34分。

40

【0180】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₉ClN₅O₂) [M+H]⁺ 512.2787; 実測値 512.2776。

【0181】

この同一方法に従って、ただし適当な置換誘導体を用いて以下の化合物を製造した：

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 3 - フルオロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物3)

50

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 7.65 - 7.77 (m, 3H), 7.46 (d, $J = 1.83$ Hz, 1H), 7.29 - 7.43 (m, 4H), 7.09 (d, $J = 1.71$ Hz, 1H), 6.90 - 7.04 (m, $J = 2.44$ Hz, 1H), 4.58 - 4.69 (m, 1H), 3.75 - 3.91 (m, 4H), 3.66 (dd, $J = 4.21, 14.22$ Hz, 2H), 2.72 - 2.85 (m, $J = 8.06, 8.06$ Hz, 1H), 2.58 - 2.68 (m, $J = 1.83$ Hz, 2H), 2.39 - 2.17 (m, 10H), 2.10 (s, 3H), 1.68 (m, 1H), 1.49 - 1.35 (m, 4H), 1.28 - 1.20 (m, 1H), 1.09 - 0.75 (m, 5H)。

【0182】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 496 [M+H] $^+$ 室温 = 4.85分。

【0183】

HRMS (ESI) 計算値 ($\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{FN}_5\text{O}_2$) [M+H] $^+$ 496.3083; 実測値 496.3092。

【0184】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミドトリフルオロ酢酸塩 [(I) R2 = 3 - フルオロフェニル, R3 = R4 = H, R1 = -NH - R5, R5 = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物4)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 7.59 - 7.85 (m, 2H), 7.24 - 7.43 (m, 4H), 7.11 (d, $J = 1.83$ Hz, 1H), 6.88 - 7.02 (m, 1H), 4.60 - 4.76 (m, $J = 1.10$ Hz, 1H), 3.80 - 3.90 (m, 2H), 3.69 - 3.77 (m, $J = 17.21$ Hz, 1H), 3.32 - 3.41 (m, $J = 3.84, 12.76$ Hz, 1H), 2.78 - 2.84 (m, 1H), 2.76 (s, 3H), 2.59 (dd, $J = 5.80, 14.71$ Hz, 2H), 1.35 - 1.55 (m, $J = 12.57, 12.57$ Hz, 5H), 1.24 (br. s., 1H), 0.89 - 1.04 (m, $J = 11.35$ Hz, 2H), 0.71 - 0.89 (m, 3H)。

【0185】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 496 [M+H] $^+$ 室温 = 4.95分。

【0186】

HRMS (ESI) 計算値 ($\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{FN}_5\text{O}_2$) [M+H] $^+$ 496.3083; 実測値 496.3085。

【0187】

N - {(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル} - 2 - [(4R) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R2 = 3, 4 - ジフルオロフェニル, R3 = R4 = H, R1 = -NH - R5, R5 = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] (化合物5)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 7.73 (d, $J = 2.20$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 9.15$ Hz, 1H), 7.55 - 7.66 (m, 1H), 7.42 (d, $J = 1.83$ Hz, 1H), 7.33 - 7.41 (m, 2H), 7.08 (d, $J = 1.83$ Hz, 1H), 4.58 - 4.73 (m, 1H), 3.73 - 3.91 (m, $J = 5.86$ Hz, 1H), 3.59 - 3.73 (m, $J = 1.59$ Hz, 1H), 2.76 (dd, $J = 7.38, 14.59$ Hz, 2H), 2.60 (dd, $J = 6.41, 14.46$ Hz, 1H), 2.24 (br. s., 8H), 2.02 - 2.12 (m, 3H), 1.48 - 1.70 (m, $J = 6.71$ Hz, 8H), 1.30 - 1.

10

20

30

40

50

4.3 (m, 1H), 0.80 - 1.30 (m, 8H)。

【0188】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 542 [M+H]⁺ 室温 = 5.07分。

【0189】

HRMS (ESI) 計算値 (C₃₀H₄₂F₂N₅O₂) [M+H]⁺ 542.3301; 実測値 542.3307。

【0190】

N - { (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } - 2 - [(4S) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 3, 4 - ジフルオロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] (化合物6)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.71 (d, J = 3.17 Hz, 1H), 7.54 - 7.66 (m, J = 9.89 Hz, 2H), 7.29 - 7.43 (m, 3H), 7.09 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 4.60 - 4.72 (m, 1H), 3.75 - 3.84 (m, 1H), 3.70 (dd, J = 4.39, 13.06 Hz, 1H), 3.35 - 3.43 (m, J = 3.78 Hz, 1H), 2.86 - 2.95 (m, J = 11.35 Hz, 0H), 2.70 - 2.84 (m, 2H), 2.57 (dd, J = 6.23, 14.89 Hz, 1H), 2.09 - 2.42 (m, 9H), 1.85 - 1.98 (m, J = 3.78 Hz, 1H), 1.81 (t, J = 10.74 Hz, 1H), 1.66 - 1.76 (m, J = 6.47 Hz, 2H), 1.16 - 1.54 (m, 8H), 0.89 - 1.06 (m, J = 4.27 Hz, 2H), 0.69 - 0.88 (m, J = 12.57 Hz, 3H)。

【0191】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 542 [M+H]⁺ 室温 = 5.22分。

【0192】

HRMS (ESI) 計算値 (C₃₀H₄₂F₂N₅O₂) [M+H]⁺ 542.3301; 実測値 542.3309。

【0193】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 3, 4 - ジフルオロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) (化合物7)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.70 (br. s., 1H), 7.57 - 7.67 (m, 2H), 7.30 - 7.40 (m, 3H), 7.05 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 4.61 (td, J = 3.67, 6.83 Hz, 1H), 3.77 - 3.83 (m, 1H), 3.60 - 3.66 (m, 1H), 3.36 (m, 2H), 2.70 - 2.76 (m, 1H), 2.56 - 2.63 (m, 1H), 2.05 - 2.28 (m, 9H), 1.50 - 1.66 (m, 7H), 1.32 (m, 1H), 0.89 - 1.25 (m, 6H)。

【0194】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 514 [M+H]⁺ 室温 = 5.0分。

【0195】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₈F₂N₅O₂) [M+H]⁺ 514.2988; 実測値 514.2985。

【0196】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (3, 4 - ジフルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3

10

20

30

40

50

, 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 , 4 - ジフルオロフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル] (化合物 8)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 7 3 (br . s . , 1 H) , 7 . 5 7 - 7 . 6 7 (m , 2 H) , 7 . 3 1 - 7 . 4 1 (m , 3 H) , 7 . 0 9 (d , J = 1 . 7 1 Hz , 1 H) , 4 . 6 5 (td , J = 3 . 6 6 , 6 . 8 4 Hz , 1 H) , 3 . 7 6 - 3 . 8 6 (m , 1 H) , 3 . 6 5 - 3 . 7 4 (m , 1 H) , 3 . 4 0 (m , 2 H) , 2 . 7 7 (m , 1 H) , 2 . 5 8 (m , 1 H) , 2 . 4 5 - 2 . 2 8 (m , 1 1 H) , 1 . 4 2 (m , 4 H) , 1 . 2 4 (m , 1 H) , 0 . 9 7 (m , 1 H) , 0 . 8 1 (m , 4 H) .

【 0 1 9 7 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 1 4 [M + H] ⁺ 室温 = 5 . 0 9 分。

【 0 1 9 8 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₈F₂N₅O₂) [M + H] ⁺ 5 1 4 . 2 9 8 8 ; 実測値 5 1 4 . 2 9 8 9 .

【 0 1 9 9 】

N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } - 2 - [(4 R) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 2 - フルオロピリジン - 4 - イル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル)] (化合物 9)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 8 . 1 3 (d , J = 5 . 3 7 Hz , 1 H) , 7 . 8 4 (br . s . , 1 H) , 7 . 6 7 - 7 . 8 0 (m , 2 H) , 7 . 5 4 (d , J = 5 . 2 5 Hz , 1 H) , 7 . 3 7 (s , 1 H) , 7 . 3 0 (d , J = 1 . 7 1 Hz , 1 H) , 4 . 6 2 - 4 . 7 5 (m , 1 H) , 4 . 0 0 - 4 . 1 5 (m , J = 5 . 0 0 Hz , 1 H) , 3 . 8 0 (br . s . , 1 H) , 3 . 6 1 - 3 . 7 4 (m , J = 5 . 1 3 Hz , 1 H) , 3 . 4 1 (m , 2 H) , 2 . 8 5 - 2 . 6 0 (m , 7 H) , 2 . 6 2 (s , 6 H) , 2 . 2 6 (m , 4 H) , 1 . 8 4 - 0 . 9 3 (m , 1 1 H) .

【 0 2 0 0 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 2 5 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 3 7 分。

【 0 2 0 1 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₉H₄₂FN₆O₂) [M + H] ⁺ 5 2 5 . 3 3 4 8 ; 実測値 5 2 5 . 3 3 3 3 .

【 0 2 0 2 】

N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } - 2 - [(4 S) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 2 - フルオロピリジン - 4 - イル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル)] (化合物 1 0)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 8 . 0 7 (d , J = 5 . 3 7 Hz , 1 H) , 7 . 7 8 (d , J = 3 . 4 2 Hz , 1 H) , 7 . 5 9 (d , J = 1 . 8 3 Hz , 1 H) , 7 . 5 7 (d , J = 9 . 1 5 Hz , 1 H) , 7 . 4 9 (dd , J = 1 . 7 7 , 5 . 3 1 Hz , 1 H) , 7 . 3 0 (s , 1 H) , 7 . 2 6 (d , J = 1 . 8 3 Hz , 1 H) , 4 . 5 9 - 4 . 7 2 (m , 1 H) , 3 . 7 2 - 3 . 8 3 (m , 1 H) , 3 . 6 9 (dd , J = 4 . 3 9 , 1 2 . 3 3 Hz , 1 H) , 3 . 3 3 - 3 . 4 2 (m , 1 H) , 2 . 8 3 (d , J = 1 0 . 1 3 Hz , 1 H) , 2 . 6 7 - 2 . 7 9 (m , 2 H) , 2 . 5 5 (dd , J = 5 . 6 1 , 1 4 . 6 5 Hz , 1 H) , 2 . 1 2 - 2 . 2 3 (m , 2 H) , 2 . 1 0 (s , 6 H) , 1 . 8 9 - 1 . 9 7 (m , 1 H) , 1 . 8 1 - 1 . 8 9 (m , 1 H) ,

10

20

30

40

50

1.69 - 1.79 (m, 1H), 1.61 (d, J = 10.62 Hz, 2H), 1.11 - 1.48 (m, 7H), 0.62 - 1.00 (m, 1H)。

【0203】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 525 [M+H]⁺ 室温 = 4.37分。

【0204】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₉H₄₂FN₆O₂) [M+H]⁺ 525.3348; 実測値 525.3340。

【0205】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 2 - フルオロピリジン - 4 - イル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)] (化合物 11)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 8.11 (d, J = 5.25 Hz, 1H), 7.83 (br. s., 1H), 7.71 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 9.15 Hz, 1H), 7.53 (td, J = 1.65, 3.54 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.28 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 4.64 - 4.73 (m, 1H), 3.76 - 3.88 (m, 1H), 3.68 (dd, J = 3.54, 12.45 Hz, 1H), 2.78 (dd, J = 7.63, 15.07 Hz, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.18 (m, 1.3H), 1.64 (m, 4H), 1.35 (m, 1H), 1.12 (m, 4H), 0.95 (m, 2H)。

【0206】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 497 [M+H]⁺ 室温 = 4.29分。

【0207】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₇H₃₈FN₆O₂) [M+H]⁺ 497.3035; 実測値 497.3029。

【0208】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 7 - (2 - フルオロピリジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 2 - フルオロピリジン - 4 - イル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)] (化合物 12)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 9.53 (br. s., 1H), 8.10 (d, J = 5.37 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 3.42 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 9.03 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.52 (d, J = 5.25 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.30 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 4.67 - 4.75 (m, 1H), 3.64 - 3.84 (m, 2H), 3.39 (m, 2H), 2.82 - 2.66 (m, 7H), 2.36 - 2.25 (m, 8H), 1.49 - 1.35 (m, 4H), 1.24 (m, 1H), 0.99 - 0.87 (m, 2H), 0.85 - 0.70 (m, 5H)。

【0209】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 497 [M+H]⁺ 室温 = 4.24分。

【0210】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₇H₃₈FN₆O₂) [M+H]⁺ 497.3035; 実測値 497.302。

【0211】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4R) - 7 - (3 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4

- テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - ヒドロキシフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) (化合物 1 3)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 9 . 2 7 (br . s . , 1 H) , 7 . 6 8 (d , J = 2 . 6 9 Hz , 1 H) , 7 . 6 2 (d , J = 9 . 2 8 Hz , 1 H) , 7 . 2 3 (d , J = 1 . 7 1 Hz , 1 H) , 7 . 0 3 - 7 . 1 5 (m , 1 H) , 6 . 8 2 - 7 . 0 1 (m , 3 H) , 6 . 5 6 (dd , J = 2 . 2 6 , 7 . 7 5 Hz , 1 H) , 4 . 5 7 - 4 . 7 1 (m , 1 H) , 3 . 7 4 - 3 . 8 8 (m , 1 H) , 3 . 6 8 (dd , J = 4 . 2 7 , 1 2 . 4 5 Hz , 1 H) , 2 . 7 4 (dd , J = 8 . 1 8 , 1 4 . 4 0 Hz , 1 H) , 2 . 5 6 (dd , J = 8 . 1 8 , 1 4 . 4 0 Hz , 1 H) , 2 . 3 7 - 2 . 1 8 (m , 1 0 H) , 2 . 1 1 (s , 3 H) , 1 . 4 7 (m , 4 H) , 1 . 2 6 (m , 1 H) , 1 . 0 1 - 0 . 8 0 (m , 5 H) 。

【 0 2 1 2 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 4 9 4 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 2 3 分。

【 0 2 1 3 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₄₀N₅O₃) [M + H] ⁺ 4 9 4 . 3 1 2 6 ; 実測値 4 9 4 . 3 1 0 8 。

【 0 2 1 4 】

N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } - 2 - [7 - (3 - ヒドロキシフェニル) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - ヒドロキシフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) (化合物 1 4)

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 2 2 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 2 7 分。

【 0 2 1 5 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₃₀H₄₄N₅O₃) [M + H] ⁺ 5 2 2 . 3 4 3 9 6 ; 実測値 5 2 2 . 3 4 2 8 。

【 0 2 1 6 】

N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } - 2 - { (4 R) - 1 - オキソ - 7 - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル } アセトアミド [(I) R 2 = 3 - (トリフルオロメチル) フェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] } (化合物 1 5)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 8 4 - 7 . 9 1 (m , 2 H) , 7 . 7 6 (br . s . , 1 H) , 7 . 6 9 (d , J = 9 . 1 5 Hz , 1 H) , 7 . 5 3 - 7 . 6 0 (m , 2 H) , 7 . 4 8 - 7 . 5 1 (m , 1 H) , 7 . 1 6 (d , J = 1 . 8 3 Hz , 1 H) , 4 . 6 4 (t , J = 4 . 3 3 Hz , 1 H) , 3 . 7 9 (br . s . , 1 H) , 3 . 6 3 - 3 . 7 1 (m , 1 H) , 3 . 3 7 - 3 . 4 3 (m , 2 H) , 2 . 7 3 - 2 . 8 5 (m , 4 H) , 2 . 5 8 - 2 . 6 6 (m , 1 H) , 2 . 3 3 (dd , J = 1 . 7 7 , 3 . 6 0 Hz , 6 H) , 2 . 2 2 (d , J = 1 0 . 0 1 Hz , 1 H) , 2 . 0 4 - 2 . 1 3 (m , 1 H) , 1 . 6 5 - 1 . 7 3 (m , 8 H) , 1 . 3 5 - 0 . 9 3 (m , 8 H) 。

【 0 2 1 7 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 7 4 [M + H] ⁺ 室温 = 5 . 4 1 分。

【 0 2 1 8 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₃₁H₄₃F₃N₅O₂) [M + H] ⁺ 5 7 4 . 3 3 6 4 ; 実測値 5 7 4 . 3 3 4 4 。

【 0 2 1 9 】

N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1

10

20

30

40

50

-イル]エチル}-2-{(4S)-1-オキソ-7-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル}アセトアミド[(I)R2=3-(トリフルオロメチル)フェニル,R3=R4=H,R1=-NH-R5,R5=(1S)-1-シクロヘキシル-2-[4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル]](化合物16)

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 7.82-7.88(m,2H), 7.74(d,J=3.05Hz,1H), 7.60(d,J=9.40Hz,1H), 7.51-7.57(m,1H), 7.45-7.50(m,2H), 7.16(d,J=1.83Hz,1H), 4.68(dd,J=4.70,8.61Hz,1H), 3.75-3.83(m,1H), 3.71(dd,J=4.33,12.02Hz,1H), 3.35-3.45(m,2H), 2.86(d,J=9.76Hz,1H), 2.71-2.81(m,2H), 2.57(dd,J=5.55,14.59Hz,1H), 2.16-2.27(m,2H), 2.10-2.16(m,6H), 1.96(br.s.,1H), 1.72-1.90(m,2H), 1.65(m,2H), 1.20-1.47(m,8H), 0.75-0.93(m,4H)。

【0220】

LCMS(HPLC方法2):m/z 574[M+H]⁺ 室温=5.55分。

【0221】

HRMS(ESI) 計算値(C₃₁H₄₃F₃N₅O₂)[M+H]⁺ 574.3364;実測値 574.3343。

【0222】

N-[(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル]-2-{(4R)-1-オキソ-7-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル}アセトアミド[(I)R2=3-(トリフルオロメチル)フェニル,R3=R4=H,R1=-NH-R5,R5=(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル](化合物17)

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 7.87(br.s.,2H), 7.76(br.s.,1H), 7.70(d,J=9.15Hz,1H), 7.53-7.59(m,2H), 7.46-7.51(m,1H), 7.16(d,J=1.71Hz,1H), 4.60-4.70(m,1H), 3.75-3.86(m,1H), 3.64-3.72(m,1H), 3.39(bm,2H), 2.79(dd,J=7.08,14.77Hz,1H), 2.62-2.68(m,1H), 2.07-2.34(m,11H), 1.56-1.65(m,8H), 0.92-1.24(m,6H)。

【0223】

LCMS(HPLC方法2):m/z 546[M+H]⁺ 室温=5.32分。

【0224】

HRMS(ESI) 計算値(C₂₉H₃₉F₃N₅O₂)[M+H]⁺ 546.3051;実測値 546.3034。

【0225】

N-[(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル]-2-{(4S)-1-オキソ-7-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル}アセトアミド塩酸塩[(I)R2=3-(トリフルオロメチル)フェニル,R3=R4=H,R1=-NH-R5,R5=(1S)-1-シクロヘキシル-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル](化合物18)

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 9.27(br.s.,1H), 7.83-7.88(m,2H), 7.76(d,J=3.78Hz,1H), 7.66(d,J=9.15Hz,1H), 7.51-7.58(m,1H), 7.44-7.51(m,2H), 7.18(d,J=1.71Hz,1H), 4.65-4.75(m,

10

20

30

40

50

1 H), 3.80 (d, J = 9.28 Hz, 1H), 3.74 (dd, J = 4.09, 12.76 Hz, 1H), 3.39 (bm, 2H), 2.73 - 2.80 (m, 3H), 2.18 - 2.34 (m, 8H), 1.24 - 1.48 (m, 6H), 0.75 - 0.97 (m, 4H)。

【0226】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 546 [M+H]⁺ 室温 = 5.41分。

【0227】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₉H₃₉F₃N₅O₂) [M+H]⁺ 546.3051; 実測値 546.3051。

【0228】

N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] - 2 - [(4S) - 1 - オキソ - 7 - (1H - ピラゾル - 4 - イル) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 1H - ピラゾル - 4 - イル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物 19)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 8.01 (d, J = 1.59 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.79 Hz, 2H), 7.12 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 1.83 Hz, 1H), 4.58 (m, 1H), 3.77 - 3.90 (m, 2H), 3.62 - 3.67 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 2.66 - 2.74 (m, 1H), 2.21 - 2.44 (m, 8H), 1.58 - 1.68 (m, 6H), 1.33 - 1.40 (m, 2H), 1.07 - 1.24 (m, 4H), 0.95 - 1.01 (m, 2H)。

【0229】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 468 [M+H]⁺ 室温 = 3.78分。

【0230】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₅H₃₈N₇O₂) [M+H]⁺ 468.3082; 実測値 468.3068。

【0231】

2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 3, 3 - ジメチル - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) ブタン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 3 - クロロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (2S) - 3, 3 - ジメチル - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) ブタン - 2 - イル] (化合物 20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.75 (br. s., 1H), 7.69 (d, J = 9.64 Hz, 1H), 7.62 (t, J = 1.65 Hz, 1H), 7.50 - 7.57 (m, 2H), 7.31 - 7.37 (m, 1H), 7.19 (dd, J = 1.34, 7.81 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 4.57 - 4.70 (m, 1H), 3.77 (dt, J = 2.81, 9.83 Hz, 1H), 3.58 - 3.69 (m, J = 3.72, 12.02 Hz, 1H), 3.38 (bm, 2H), 2.81 (dd, J = 6.84, 15.14 Hz, 1H), 2.61 - 2.70 (m, 1H), 2.13 - 2.33 (m, 10H), 1.99 (br. s., 3H), 0.84 (s, 9H)。

【0232】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 486 [M+H]⁺ 室温 = 4.6分。

【0233】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₆H₃₇ClN₅O₂) [M+H]⁺ 486.2631; 実測値 486.2617。

【0234】

10

20

30

40

50

2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 3 , 3 - ジメチル - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) ブタン - 2 - イル] アセトアミド塩酸塩 [(I) R 2 = 3 - クロロフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (2 S) - 3 , 3 - ジメチル - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) ブタン - 2 - イル] (化合物 2 1)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 9 . 3 6 (br . s . , 1 H) , 7 . 7 9 (br . s . , 1 H) , 7 . 7 0 (d , J = 9 . 7 6 Hz , 1 H) , 7 . 5 9 (t , J = 1 . 7 7 Hz , 1 H) , 7 . 4 7 - 7 . 5 3 (m , 2 H) , 7 . 3 4 (t , J = 7 . 9 3 Hz , 1 H) , 7 . 1 6 - 7 . 2 3 (m , 1 H) , 7 . 0 5 - 7 . 1 3 (m , 1 H) , 4 . 5 6 - 4 . 7 7 (m , 1 H) , 3 . 6 5 - 3 . 8 5 (m , 2 H) , 3 . 3 9 (bm , 2 H) , 3 . 0 4 (m , 1 H) , 2 . 8 1 (m , 1 H) , 2 . 7 7 (s , 3 H) , 2 . 6 7 (m , 1 H) , 2 . 4 6 (m , 1 H) , 2 . 1 5 - 2 . 3 6 (m , 8 H) , 0 . 7 9 (s , 9 H) .

【 0 2 3 5 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 4 8 6 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 8 9 分。

【 0 2 3 6 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₆H₃₇ClN₅O₂) [M + H] ⁺ 4 8 6 . 2 6 3 1 ; 実測値 4 8 6 . 2 6 2 4 .

【 0 2 3 7 】

2 - [(4 R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } アセトアミド [(I) R 2 = 3 - クロロフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] (化合物 2 2)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 7 3 (d , J = 2 . 2 0 Hz , 1 H) , 7 . 6 6 (d , J = 9 . 0 3 Hz , 1 H) , 7 . 5 9 (t , J = 1 . 8 3 Hz , 1 H) , 7 . 5 2 (d , J = 7 . 9 3 Hz , 1 H) , 7 . 4 4 (d , J = 1 . 7 1 Hz , 1 H) , 7 . 3 4 (t , J = 7 . 9 3 Hz , 1 H) , 7 . 1 9 (dd , J = 1 . 6 5 , 7 . 6 3 Hz , 1 H) , 7 . 0 8 (d , J = 1 . 8 3 Hz , 1 H) , 4 . 5 6 - 4 . 7 5 (m , 1 H) , 3 . 7 9 (td , J = 6 . 9 1 , 1 3 . 8 8 Hz , 1 H) , 3 . 6 2 - 3 . 7 3 (m , 1 H) , 2 . 7 4 - 2 . 8 5 (m , 1 H) , 2 . 6 8 - 2 . 7 4 (m , 1 H) , 2 . 5 9 (dd , J = 6 . 1 6 , 1 4 . 5 9 Hz , 1 H) , 2 . 1 7 (dd , J = 6 . 4 1 , 1 2 . 5 1 Hz , 1 H) , 1 . 9 5 - 2 . 0 9 (m , 7 H) , 1 . 8 1 (tt , J = 3 . 6 5 , 1 1 . 1 2 Hz , 1 H) , 1 . 4 4 - 1 . 7 2 (m , 1 0 H) , 1 . 2 9 - 1 . 4 4 (m , 1 H) , 0 . 7 1 - 1 . 2 7 (m , 8 H) .

【 0 2 3 8 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 4 0 [M + H] ⁺ 室温 = 5 . 3 8 分。

【 0 2 3 9 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₃₀H₄₃ClN₅O₂) [M + H] ⁺ 5 4 0 . 3 1 ; 実測値 5 4 0 . 3 1 0 2 .

【 0 2 4 0 】

2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - { (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] エチル } アセトアミド [(I) R 2 = 3 - クロロフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = - (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - [4 - (ジメチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] (化合物 2 3)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 7 2 (d , J = 2 . 8 1 Hz

10

20

30

40

50

, 1 H), 7.61 (d, J = 9.40 Hz, 1 H), 7.58 (t, J = 1.89 Hz, 1 H), 7.47 - 7.54 (m, 1 H), 7.39 (d, J = 1.83 Hz, 1 H), 7.33 (t, J = 7.87 Hz, 1 H), 7.18 (ddd, J = 0.92, 1.98, 7.96 Hz, 1 H), 7.09 (d, J = 1.83 Hz, 1 H), 4.56 - 4.77 (m, J = 7.20 Hz, 1 H), 3.74 - 3.89 (m, 1 H), 3.62 - 3.73 (m, J = 1.59, 4.03 Hz, 1 H), 2.80 - 2.92 (m, J = 9.76 Hz, 1 H), 2.70 - 2.80 (m, 2 H), 2.54 - 2.60 (m, 1 H), 2.16 - 2.27 (m, 2 H), 2.12 (s, 6 H), 1.83 - 1.98 (m, 2 H), 1.72 - 1.81 (m, 1 H), 1.56 - 1.68 (m, J = 11.47 Hz, 2 H), 1.35 - 1.53 (m, 4 H), 1.15 - 1.34 (m, 4 H), 0.88 - 1.08 (m, 2 H), 0.67 - 0.90 (m, J = 9.89 Hz, 3 H)。

【0241】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 540 [M+H]⁺ 室温 = 6.02分。

【0242】

HRMS (ESI) 計算値 (C₃₀H₄₃ClN₅O₂) [M+H]⁺ 540.31; 実測値 540.3111。

【0243】

2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R₂ = 3 - クロロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物24)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.82 (d, J = 7.69 Hz, 1 H), 7.70 (d, J = 3.05 Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.52 (d, J = 8.30 Hz, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 7.34 (t, J = 7.87 Hz, 1 H), 7.20 (d, J = 8.18 Hz, 1 H), 7.09 (d, J = 1.34 Hz, 1 H), 4.57 - 4.75 (m, 1 H), 3.84 - 3.97 (m, 1 H), 3.68 (dd, J = 3.60, 12.88 Hz, 1 H), 3.39 (m, 2 H), 2.65 - 2.74 (m, 1 H), 2.52 - 2.59 (m, 2 H), 2.02 - 2.33 (m, 11 H), 1.00 (d, J = 6.47 Hz, 3 H)。

【0244】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 444 [M+H]⁺ 室温 = 4.11分。

【0245】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₃H₃₁ClN₅O₂) [M+H]⁺ 444.2161; 実測値 444.2151。

【0246】

2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド塩酸塩 [(I) R₂ = 3 - クロロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = - (2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 9.53 (br. s., 1 H), 7.88 (d, J = 8.54 Hz, 1 H), 7.74 (d, J = 2.69 Hz, 1 H), 7.61 (t, J = 1.71 Hz, 1 H), 7.52 (d, J = 7.69 Hz, 1 H), 7.47 - 7.50 (m, 1 H), 7.35 (t, J = 7.87 Hz, 1 H), 7.20 (dd, J = 1.10, 7.93 Hz, 1 H), 4.57 - 4.68 (m, 1 H), 3.87 - 4.00 (m, 1 H), 3.70 (dd, J = 3.60, 12.39 Hz, 1 H), 2.80 - 3.07 (m, 5 H), 2.75 (br. s., 3 H), 2.62 - 2.70 (m, 1 H), 2.53 - 2.61 (m, 1 H), 2.13 - 2.35 (m, 5 H), 0.95 (d, J = 6.59 Hz, 3 H)。

10

20

30

40

50

【0247】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 444 [M+H]⁺ 室温 = 4.38分。

【0248】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₃H₃₁ClN₅O₂) [M+H]⁺ 444.2161; 実測値 444.2152。

【0249】

2 - [(4S) - 7 - (5 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド [(I) R₂ = 5 - クロロ - 2 - フルオロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物26)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.79 (d, J = 4.03 Hz, 1H), 7.72 - 7.77 (m, 1H), 7.57 - 7.68 (m, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.22 - 7.29 (m, 2H), 7.16 (s, 1H), 4.65 - 4.79 (m, J = 3.42 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 4.09, 12.88 Hz, 2H), 3.38 (m, 1H), 2.75 - 2.83 (m, J = 8.91 Hz, 1H), 2.74 (br. s., 4H), 2.53 - 2.59 (m, J = 4.76 Hz, 1H), 2.15 - 2.40 (m, 4H), 1.10 - 1.56 (m, 8H), 0.64 - 1.01 (m, 6H)。

【0250】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 530 [M+H]⁺ 室温 = 5.17分。

【0251】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₈ClFN₅O₂) [M+H]⁺ 530.2693; 実測値 530.2704。

【0252】

2 - [(4R) - 7 - (5 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド [(I) R₂ = 5 - クロロ - 2 - フルオロフェニル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NH - R₅, R₅ = (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物27)

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.77 (dt, J = 2.62, 6.62 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 9.28 Hz, 1H), 7.41 - 7.47 (m, 1H), 7.18 - 7.30 (m, 2H), 7.14 (s, 1H), 4.62 - 4.78 (m, 1H), 3.81 (td, J = 7.08, 13.91 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 3.60, 12.76 Hz, 1H), 3.35 - 3.42 (m, 2H), 2.77 (dd, J = 8.06, 15.01 Hz, 1H), 2.62 (dd, J = 5.74, 15.01 Hz, 1H), 2.01 - 2.31 (m, 10H), 1.98 (s, 3H), 1.50 - 1.73 (m, 6H), 1.28 - 1.42 (m, 1H), 0.80 - 1.20 (m, 6H)。

【0253】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 530 [M+H]⁺ 室温 = 5.02分。

【0254】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₈ClFN₅O₂) [M+H]⁺ 530.2693; 実測値 530.2709。

【0255】

2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミドニ

10

20

30

40

50

臭化水素酸塩 [(I) R 2 = 3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物 2 8)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 9 . 9 6 (br . s . , 1 H) , 7 . 6 0 - 7 . 7 8 (m , 2 H) , 7 . 4 9 (d , J = 2 . 2 0 Hz , 1 H) , 7 . 2 6 - 7 . 3 5 (m , 2 H) , 6 . 8 6 - 6 . 9 9 (m , 2 H) , 4 . 5 5 - 4 . 6 7 (m , 1 H) , 3 . 7 6 - 3 . 8 9 (m , 1 H) , 3 . 6 4 (dd , J = 3 . 4 2 , 1 1 . 9 6 Hz , 1 H) , 2 . 7 0 - 2 . 7 9 (m , 1 H) , 2 . 5 7 - 2 . 6 5 (m , 1 H) , 2 . 1 2 - 2 . 3 3 (m , 1 3 H) , 1 . 5 0 - 1 . 7 1 (m , 5 H) , 1 . 2 9 - 1 . 4 3 (m , 1 H) , 0 . 8 3 - 1 . 2 6 (m , 5 H) .

10

【 0 2 5 6 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 2 8 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 3 4 分。

【 0 2 5 7 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₉ClN₅O₃) [M + H] ⁺ 5 2 8 . 2 7 3 6 ; 実測値 5 2 8 . 2 7 1 9 .

【 0 2 5 8 】

2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド二臭化水素酸塩 [(I) R 2 = 3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル , R 3 = R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物 2 9)

20

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 5 2 8 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 2 6 分。

【 0 2 5 9 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₉ClN₅O₃) [M + H] ⁺ 5 2 8 . 2 7 3 6 ; 実測値 5 2 8 . 2 7 1 5 9 .

【 0 2 6 0 】

2 - [(4 S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド二臭化水素酸塩 [(I) R 2 = 3 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル , R 3 = Br , R 4 = H , R 1 = - NH - R 5 , R 5 = (1 S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物 3 0)

30

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 6 3 - 7 . 7 1 (m , 2 H) , 7 . 2 8 (d , J = 1 . 7 1 Hz , 1 H) , 7 . 1 5 - 7 . 4 7 (m , 2 H) , 7 . 0 3 (d , J = 8 . 4 2 Hz , 1 H) , 6 . 7 4 (s , 1 H) , 6 . 4 6 (d , J = 5 . 3 7 Hz , 1 H) , 4 . 6 1 - 4 . 7 0 (m , 1 H) , 3 . 7 8 - 3 . 8 8 (m , 1 H) , 3 . 7 3 (dd , J = 3 . 4 8 , 1 2 . 3 9 Hz , 1 H) , 3 . 4 2 - 3 . 5 0 (m , 1 H) , 2 . 7 0 - 2 . 7 9 (m , 1 H) , 2 . 5 7 - 2 . 6 5 (m , 1 H) , 2 . 1 2 - 2 . 3 3 (m , 1 3 H) , 1 . 5 0 - 1 . 7 1 (m , 5 H) , 1 . 2 9 - 1 . 4 3 (m , 1 H) , 0 . 8 3 - 1 . 2 6 (m , 5 H) .

40

【 0 2 6 1 】

LCMS (HPLC 方法 2) : m / z 6 0 6 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 8 4 分。

【 0 2 6 2 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₈H₃₈BrClN₅O₃) [M + H] ⁺ 6 0 6 . 1 8 4 1 ; 実測値 6 0 6 . 1 8 3 9 .

【 0 2 6 3 】

製造 C

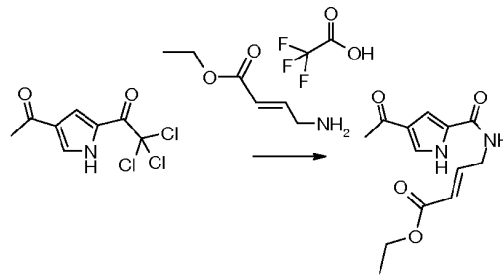
エチル (2 E) - 4 - { [(4 - アセチル - 1 H - ピロル - 2 - イル) カルボニル] アミノ } ブタ - 2 - エノエート [(X)]

50

【0264】

【化27】

ステップ4



10

【0265】

1 - (4 - アセチル - 1H - ピロル - 2 - イル) - 2, 2, 2 - トリクロロエタノン (1.8 g, 7.07 mmol) 及び N, N - ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (5.4 mL, 32 mmol) をジクロロメタン (20 mL) 中に含む溶液にエチル (2E) - 4 - アミノブタ - 2 - エノエートトリフルオロ酢酸塩 (2.665 g, 10.963 mmol) を添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を真空下で蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (SiO₂, ヘキサン - EtOAc 1:1) により精製して、標記化合物をオフホワイト色固体 (1.2 g, 収率 65%) として得た。

【0266】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 1.20 (br. s., 1H), 8.55 (t, J = 5.61 Hz, 1H), 7.63 (dd, J = 1.59, 3.17 Hz, 1H), 7.24 (t, J = 1.95 Hz, 1H), 6.90 (td, J = 4.71, 15.72 Hz, 1H), 5.88 (td, J = 1.83, 15.75 Hz, 1H), 4.11 (q, J = 7.08 Hz, 2H), 4.01 - 4.05 (m, 2H), 2.32 - 2.35 (m, 3H), 1.20 (t, J = 7.08 Hz, 3H)。

20

【0267】

LCMS (HPLC 方法 2) : m/z 265 [M + H]⁺ 室温 = 4.7 分。

【0268】

製造 D

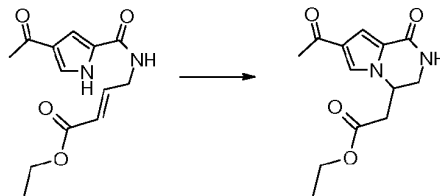
エチル (7 - アセチル - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル) アセテート [(XI)]

30

【0269】

【化28】

ステップ5



40

【0270】

エチル (2E) - 4 - { [(4 - アセチル - 1H - ピロル - 2 - イル) カルボニル] アミノ } ブタ - 2 - エノエート (0.343 g, 1.3 mmol) をアセトニトリル (8 mL) 中に含む溶液にジアザ (1, 3) ピシクロ [5.4.0] ウンデカン (DBU) (0.04 mL, 0.3 mmol) を添加し、反応混合物を室温で 30 分間攪拌した。溶媒を真空下で蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (SiO₂, ヘキサン - EtOAc 1:1) により精製して、標記化合物をオフホワイト色固体 (0.24 g, 収率 70%) として得た。

【0271】

50

LCMS (HPLC方法2) : m/z 265 [M+H]⁺ 室温 = 4.15分。

【0272】

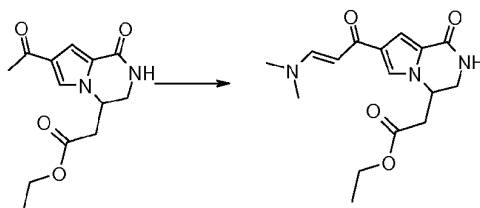
製造E

エチル{7-[(2E)-3-(ジメチルアミノ)プロパ-2-エノイル]-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル}アセテート[(XII)]

【0273】

【化29】

ステップ6



10

【0274】

中間体エチル(7-アセチル-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル)アセテート(1g, 3.78mmol)を、ジメチルホルムアミドジ-tert-ブチルアセテール(5ml)中に溶解し、110℃で6時間撹拌した。反応混合物を濃縮した後、H₂OとDCMに分配した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、濾過し、減圧下で濃縮して、標記化合物を定量的収率で得た。

20

【0275】

LC/MS (254nm, HPLC方法4) : m/z 320 [M+H]⁺ 室温 = 3.85分。

【0276】

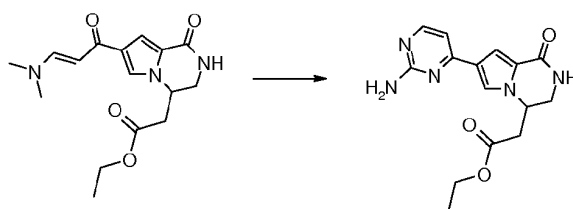
製造F

エチル[7-(2-アミノピリミジン-4-イル)-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]アセテート[(XIV)]

【0277】

【化30】

ステップ7



30

【0278】

エチル{7-[(2E)-3-(ジメチルアミノ)プロパ-2-エノイル]-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル}アセテート(1.21g, 3.78mmol)をエタノール(5mL)中に含む懸濁液に炭酸グアニジン(915mg, 7.56mmol)を添加した。混合物をマイクロ波照射しながら120℃で1時間加熱した。生じた混合物を室温で冷却し、乾燥した。粗生成物固体をシリカゲルを用いるフラッシュクロマトグラフィー(溶離液: DCM/EtOAc/EtOH 7/2.5/0.5)により精製して、357mg(収率30%)の標記化合物をオフホワイト色固体として得た。

40

【0279】

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 8.13 (d, J = 5.13 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 2.20 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 1.71 Hz

50

, 1 H), 7.19 (d, J = 1.59 Hz, 1 H), 6.84 (d, J = 5.25 Hz, 1 H), 6.38 (s, 2 H), 4.61 - 4.79 (m, 1 H), 4.09 (q, J = 7.16 Hz, 2 H), 3.71 (dd, J = 3.48, 12.51 Hz, 1 H), 3.38 (td, J = 3.94, 13.37 Hz, 1 H), 2.79 - 2.95 (m, 2 H), 1.17 (t, J = 7.14 Hz, 3 H)。

【0280】

LC/MS (254 nm, HPLC方法2) : m/z 316 [M+H]⁺ 室温 = 3.62分。

【0281】

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₅H₁₈N₅O₃) [M+H]⁺ 316.1404; 実測値 316.1400。 10

【0282】

[実施例2]

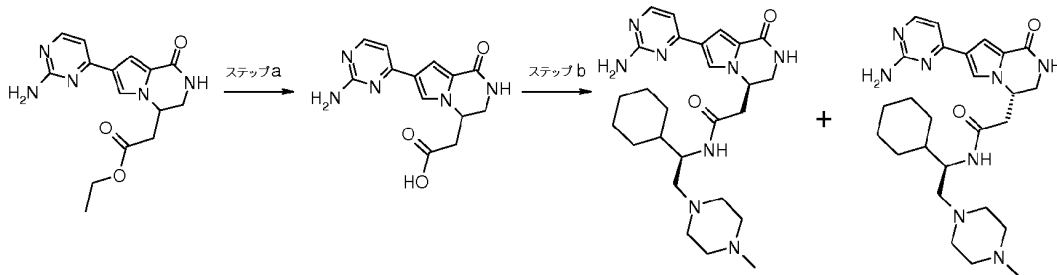
2 - [(4R) - 7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド [(I) R₂ = 2 - アミノピリミジン - 4 - イル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NHR₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物31)、及び

2 - [(4S) - 7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミド [(I) R₂ = 2 - アミノピリミジン - 4 - イル, R₃ = R₄ = H, R₁ = -NHR₅, R₅ = - (1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] (化合物32) 20

【0283】

【化31】

ステップ10



ステップ a . [7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] 酢酸の製造

エチル[7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] アセテート (350 mg, 1.10 mmol) をテトラヒドロフラン - 水の混合物 (5 : 1, 5 mL) 中に含む溶液に水酸化リチウム (92 mg, 2.2 mmol) を添加し、反応混合物を室温で18時間撈拌した。THFを蒸発させ、水性残渣をH₂Oで希釈した。水性相をpH < 1まで塩酸 (1 M) で酸性化すると、沈殿が生じた。固体を濾過し、水で洗浄し、真空下で乾燥して、標記化合物をオフホワイト色固体 (268 mg, 収率85%) として得た。 40

【0284】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 12.62 (br. s., 1 H), 8.13 (d, J = 5.13 Hz, 1 H), 7.76 (d, J = 2.32 Hz, 1 H), 7.64 (d, J = 1.59 Hz, 1 H), 7.19 (s, 1 H), 6.84 (d, J = 5.13 Hz, 1 H), 6.39 (s, 2 H), 4.57 - 4.83 (m, 1 H), 3 50

. 61 - 3.77 (m, 1H), 3.35 - 3.45 (m, 2H), 2.73 - 2.91 (m, 2H)。

【0285】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 288 [M+H]⁺ 室温 = 2.10分。

【0286】

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₃H₁₄N₅O₃) [M+H]⁺ 288.1091; 実測値 288.109。

【0287】

ステップ b.

7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] 酢酸 (60 mg, 0.197 mmol)、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (0.250 ml, 1.96 mmol) 及び HBTU (89 mg, 0.236 mmol) を乾燥ジオキサン (10 ml) 中に含む溶液を15分間攪拌した後、(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エタナミン三塩酸塩 (75.8 mg, 0.226 mmol) を添加し、最終懸濁液を70 で2時間攪拌した。溶媒を真空中で除去した。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を真空中で除去した。シリカゲルカラムを用いるフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH / NH₄OH 90 / 10 / 0.5) により精製して、第1溶離ピークとして化合物 2 - [(4R) - 7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミドを明黄色泡状物 (5 mg, 収率5%) として得た。

【0288】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 495 [M+H]⁺ 室温 = 3.50分。

【0289】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₆H₃₉N₈O₂) [M+H]⁺ 495.3191; 実測値 495.3190。

【0290】

第2溶離ピークとして、化合物 2 - [(4S) - 7 - (2 - アミノピリミジン - 4 - イル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(1S) - 1 - シクロヘキシル - 2 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エチル] アセトアミドを明黄色泡状物 (15 mg, 収率15%) として得た。

【0291】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 8.10 (d, J = 5.13 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 3.42 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 9.15 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 7.21 - 7.31 (m, 1H), 7.17 (d, J = 1.71 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 5.13 Hz, 1H), 6.33 (s, 2H), 4.62 - 4.75 (m, 1H), 3.76 - 3.83 (m, 1H), 3.72 (dd, J = 4.03, 12.69 Hz, 1H), 2.76 (dd, J = 8.97, 14.46 Hz, 2H), 2.55 (m, 2H), 2.45 - 2.18 (m, 15H), 1.69 (m, 1H), 1.48 - 1.37 (m, 4H), 0.96 - 0.73 (m, 5H)。

【0292】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 495 [M+H]⁺ 室温 = 3.55分。

【0293】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₆H₃₉N₈O₂) [M+H]⁺ 495.3191; 実測値 495.3173。

【0294】

製造 G

10

20

30

40

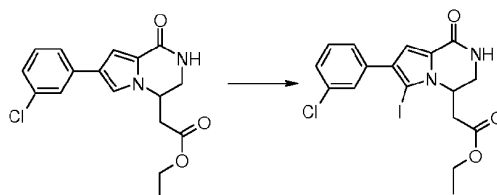
50

エチル [7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート [(X V) R 2 = 3 - クロロフェニル , H a 1 = ヨード]

【 0 2 9 5 】

【 化 3 2 】

ステップ 8



10

【 0 2 9 6 】

エチル [7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート (2 8 0 m g , 0 . 8 4 m m o l) を D C M 中 に 溶 解 し、氷浴で冷却し、 $C F_3 C O O A g$ (1 8 6 m g , 0 . 8 4 m m o l) 及びヨウ素 (2 1 4 m g , 0 . 8 4 m m o l) を添加した。次いで、反応物を室温で加温し、1時間後反応は完了した。濾紙を介して濾過し、蒸発させ、粗生成物をシリカクロマトグラフィー (溶離液 : ヘキサン / A c O E t 3 / 2) により精製して、228 mg (収率 59 %) の所望生成物を得た。

20

【 0 2 9 7 】

$^1 H$ NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆) 7 . 8 0 (d , J = 4 . 8 8 H z , 1 H) , 7 . 5 9 (t , J = 1 . 7 7 H z , 1 H) , 7 . 4 8 - 7 . 5 4 (m , 1 H) , 7 . 4 5 (t , J = 7 . 8 1 H z , 1 H) , 7 . 3 0 - 7 . 4 1 (m , 1 H) , 7 . 0 0 (s , 1 H) , 4 . 6 5 - 4 . 8 1 (m , 1 H) , 4 . 1 2 (q , J = 7 . 0 8 H z , 2 H) , 3 . 8 4 (d d , J = 4 . 2 1 , 1 3 . 4 9 H z , 1 H) , 3 . 3 6 - 3 . 4 7 (m , 1 H) , 2 . 8 1 (d d , J = 1 0 . 0 1 , 1 5 . 5 0 H z , 1 H) , 2 . 5 8 (d d , J = 3 . 6 0 , 1 5 . 6 8 H z , 1 H) , 1 . 2 1 (t , J = 7 . 0 8 H z , 3 H) 。

【 0 2 9 8 】

L C M S (H P L C 方 法 3) : m / z 4 5 8 [M + H] ⁺ 室 温 = 3 . 5 9 分。

【 0 2 9 9 】

H R M S (E S I) 計 算 値 (C ₁₇ H ₁₇ C l I N ₂ O ₃) [M + H] ⁺ 4 5 8 . 9 9 6 7 ; 実 測 値 4 5 8 . 9 9 6 3 。

【 0 3 0 0 】

この同一方法に従って、ただし適当な置換誘導体を用いて以下の化合物を製造した：
エチル [7 - (3 - フルオロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート

$^1 H$ NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆) 7 . 8 0 (d , J = 4 . 8 8 H z , 1 H) , 7 . 4 2 - 7 . 5 0 (m , 1 H) , 7 . 3 8 - 7 . 4 2 (m , 1 H) , 7 . 3 2 - 7 . 3 8 (m , 1 H) , 7 . 1 3 (d d d d , J = 1 . 1 6 , 2 . 6 9 , 7 . 9 5 , 9 . 0 8 H z , 1 H) , 7 . 0 0 (s , 1 H) , 4 . 6 9 - 4 . 7 7 (m , 1 H) , 4 . 1 2 (q , J = 7 . 1 2 H z , 2 H) , 3 . 8 4 (d d , J = 3 . 7 8 , 1 3 . 3 0 H z , 1 H) , 3 . 3 7 - 3 . 4 4 (m , 1 H) , 2 . 8 1 (d d , J = 1 0 . 1 3 , 1 5 . 5 0 H z , 1 H) , 2 . 5 8 (d d , J = 3 . 2 3 , 1 5 . 9 3 H z , 1 H) , 1 . 1 6 - 1 . 2 5 (m , 3 H) 。

40

【 0 3 0 1 】

L C M S (H P L C 方 法 2) : m / z 4 4 3 [M + H] ⁺ 室 温 = 5 . 6 4 分。

【 0 3 0 2 】

H R M S (E S I) 計 算 値 (C ₁₇ H ₁₇ F I N ₂ O ₃) [M + H] ⁺ 4 4 3 . 0

50

263 ; 実測値 443.0255。

【0303】

[実施例3]

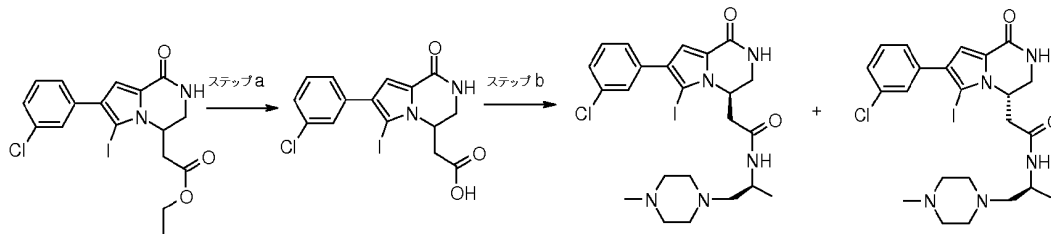
2 - [(4 R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - クロロフェニル , R 3 = ヨード , R 4 = H , R 1 = NHR 5 , R 5 = - (2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物 33)、及び
2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - クロロフェニル , R 3 = ヨード , R 4 = H , R 1 = NHR 5 , R 5 = - (2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物 34)

10

【0304】

【化33】

ステップ10



20

ステップ a . [7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] 酢酸の製造
エチル [7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート (0 . 108 g , 0 . 23 mmol) をエタノール - 水の混合物 (5 : 1 , 5 mL) 中に含む溶液に水酸化リチウム (17 mg , 0 . 71 mmol) を添加し、反応混合物を室温で2時間撹拌した。EtOHを蒸発させ、水性残渣をH₂Oで希釈した。水性相をpH < 1まで塩酸 (1 M) で酸性化し、酢酸エチルで抽出した。有機相をNa₂SO₄で乾燥し、濾過し、蒸発させると、標記化合物が透明油状物 (収率 85%) として残った。これを特性評価することなく次ステップにかけた。

30

【0305】

ステップ b .

[7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] 酢酸 (90 mg , 0 . 21 mmol)、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (0 . 324 mL , 1 . 88 mmol) 及び HBTU (95 mg , 0 . 25 mmol) を乾燥ジオキサン (10 mL) 中に含む溶液を15分間撹拌した。次いで、(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - アミン三塩酸塩 (66 mg , 0 . 25 mmol) を添加し、最終懸濁液を80 で3時間撹拌した。

40

【0306】

溶媒を真空中で除去した。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を真空中で除去した。シリカゲルカラムを用いるフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH / NH₄OH 90 / 10 / 0 . 5 及び 80 / 20 / 0 . 5) により精製して、第1溶離ピークとして23 mg (収率 20%) の化合物 2 - [(4 R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミドを白色泡状物として得

50

た。

【0307】

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 7.83 (d, $J = 8.06$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 5.13$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 1.71$ Hz, 1H), 7.48 - 7.55 (m, 1H), 7.44 (t, $J = 7.81$ Hz, 1H), 7.32 - 7.40 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.72 (td, $J = 3.77, 10.89$ Hz, 1H), 3.87 - 4.03 (m, 1H), 3.79 (dd, $J = 3.84, 13.00$ Hz, 1H), 3.37 - 3.43 (m, 1H), 2.57 - 2.69 (m, 1H), 2.19 - 2.43 (m, 10H), 2.08 - 2.18 (m, 4H), 1.05 (d, $J = 6.59$ Hz, 3H)。

10

【0308】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 570 [M+H] $^+$ 室温 = 2.35分。

【0309】

HRMS (ESI) 計算値 ($\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClIN}_5\text{O}_2$) [M+H] $^+$ 570.1128; 実測値 570.1107。

【0310】

第2溶離ピークとして、10mg (収率8%)の化合物2-[(4S)-7-(3-クロロフェニル)-6-ヨード-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]-N-[(2S)-1-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパン-2-イル]アセトアミドを白色泡状物として得た。

20

【0311】

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 7.86 (d, $J = 8.18$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 4.88$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 1.71$ Hz, 1H), 7.49 - 7.55 (m, 1H), 7.44 (t, $J = 7.81$ Hz, 1H), 7.32 - 7.40 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.63 - 4.79 (m, 1H), 3.99 (td, $J = 7.09, 14.49$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J = 3.84, 13.00$ Hz, 1H), 3.48 (dd, $J = 5.00, 13.06$ Hz, 1H), 2.61 (dd, $J = 11.11, 14.65$ Hz, 1H), 2.23 - 2.46 (m, 10H), 2.09 - 2.19 (m, 4H), 0.93 - 1.12 (m, 3H)。

30

【0312】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 570 [M+H] $^+$ 室温 = 2.48分。

【0313】

HRMS (ESI) 計算値 ($\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClIN}_5\text{O}_2$) [M+H] $^+$ 570.1128; 実測値 570.1121。

【0314】

この同一方法に従って、ただし適当な置換誘導体を用いて以下の化合物を製造した：

2-[(4R)-7-(3-フルオロフェニル)-6-ヨード-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]-N-[(2S)-1-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパン-2-イル]アセトアミドアセトアミド [(I) R2 = 3-フルオロフェニル, R3 = ヨード, R4 = H, R1 = NHR5, R5 = -(2S)-1-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパン-2-イル] (化合物35)

40

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 7.83 (d, $J = 8.06$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 4.88$ Hz, 1H), 7.32 - 7.49 (m, 3H), 7.09 - 7.17 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.68 - 4.73 (m, 1H), 3.89 - 4.00 (m, 1H), 3.79 (dd, $J = 4.09, 13.37$ Hz, 1H), 3.36 - 3.43 (m, 1H), 2.62 (dd, $J = 10.92, 14.95$ Hz, 1H), 2.21 - 2.43 (m, 9H), 2.13 - 2.18 (m, 1H), 2.11 - 2.13 (s, 3H), 1.05 (d, $J = 6.59$ Hz, 3H)。

50

【0315】

LCMS (HPLC方法4) : m/z 554 [M+H]⁺ 室温 = 2.33分。

【0316】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₃H₃₀FIN₅O₂) [M+H]⁺ 554.1423 ; 実測値 554.1412。

【0317】

2 - [(4S) - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 6 - ヨード - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R2 = 3 - フルオロフェニル, R3 = ヨード, R4 = H, R1 = NHR5, R5 = - (2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物36)

¹H NMR (400MHz, DMSO - d₆) 7.86 (d, J = 8.42 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 4.76 Hz, 1H), 7.28 - 7.49 (m, 3H), 7.07 - 7.19 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.61 - 4.80 (m, 1H), 3.99 (td, J = 7.05, 14.46 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 4.09, 13.24 Hz, 1H), 3.48 (dd, J = 5.07, 13.12 Hz, 1H), 2.61 (dd, J = 11.05, 14.59 Hz, 1H), 2.22 - 2.46 (m, 9H), 2.10 - 2.18 (m, 4H), 1.03 (d, J = 6.47 Hz, 3H)。

【0318】

LCMS (HPLC方法4) : m/z 554 [M+H]⁺ 室温 = 2.44分。

【0319】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₃H₃₀FIN₅O₂) [M+H]⁺ 554.1423 ; 実測値 554.1397。

【0320】

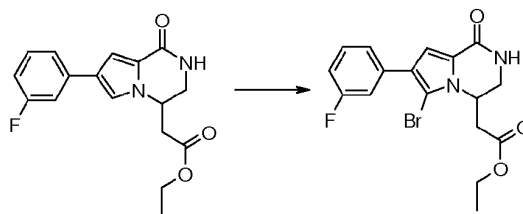
製造H

エチル [6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート [(XV) R2 = 3 - クロロフェニル, Hal = ブロモ]

【0321】

【化34】

ステップ8



【0322】

エチル [7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート (116mg, 0.36mmol) を乾燥ジオキサン (15ml) 中に溶解し、N - ブロモスクシンイミド (72mg, 0.40mmol) と室温で一晩反応させた。粗生成物を真空下で乾燥し、シリカゲルで酢酸エチル / ヘキサン 3 / 2 を用いて精製して、所望の化合物を定量的収率で得た。

【0323】

¹H NMR (400MHz, DMSO - d₆) 7.83 (d, J = 4.88 Hz, 1H), 7.45 - 7.49 (m, 2H), 7.39 - 7.44 (m, 1H), 7.14 (ddd, J = 3.23, 5.80, 8.91 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.72 - 4.83 (m, 1H), 4.10 (q, J = 7.20 Hz, 2H), 3.85

(dd , J = 4 . 0 3 , 1 3 . 4 3 H z , 1 H) , 3 . 4 2 (dd , J = 5 . 0 0 , 1 3 . 0 6 H z , 1 H) , 2 . 8 3 (dd , J = 9 . 5 8 , 1 5 . 4 4 H z , 1 H) , 2 . 6 1 (dd , J = 4 . 1 5 , 1 5 . 2 6 H z , 1 H) , 1 . 1 7 - 1 . 2 1 (m , 3 H) .

【 0 3 2 4 】

L C M S (H P L C 方法 2) : m / z 3 9 5 [M + H] ⁺ 室温 = 6 . 0 2 分 .

【 0 3 2 5 】

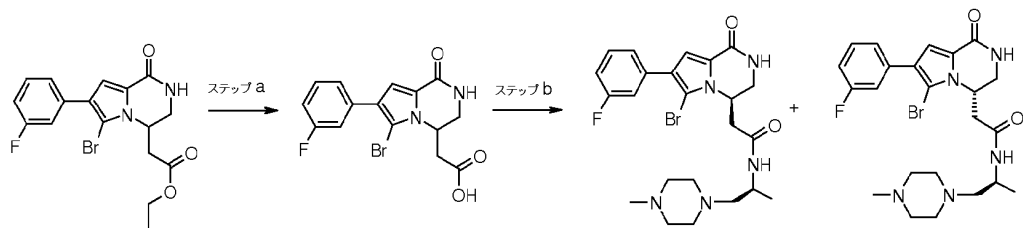
[実施例 4]

2 - [(4 R) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - フルオロフェニル , R 3 = ブロモ , R 4 = H , R 1 = N H R 5 , R 5 = - (2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物 3 7) 、 及び 2 - [(4 S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - フルオロフェニル , R 3 = ブロモ , R 4 = H , R 1 = N H R 5 , R 5 = - (2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] (化合物 3 8)

【 0 3 2 6 】

【 化 3 5 】

ステップ 10



ステップ a . [6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] 酢酸の製造

エチル [6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート (0 . 0 9 5 g , 0 . 2 4 m m o l) をイソプロパノール - 水の混合物 (1 : 4 , 5 m L) 中に含む溶液に水酸化リチウム (1 7 m g , 0 . 7 2 m m o l) を添加し、反応混合物を室温で 2 時間撹拌した。溶媒を蒸発させ、水性残渣を pH < 1 まで塩酸 (1 M) で酸性化した後、酢酸エチルで抽出した。有機相を N a ₂ S O ₄ で乾燥し、濾過し、蒸発させると、標記化合物が透明油状物として残った (収率 8 5 %) 。これを特性評価することなく次ステップにかけた。

【 0 3 2 7 】

ステップ b .

[7 - (3 - フルオロフェニル) - 6 - ブロモ - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] 酢酸 (5 0 m g , 0 . 1 4 m m o l) 、 - ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (0 . 2 1 1 m l , 1 . 2 3 m m o l) 及び H B T U (6 2 m g , 0 . 1 6 m m o l) を乾燥ジオキサン (5 m l) 中に含む溶液を 1 5 分間撹拌した。次いで、(2 S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - アミン三塩酸塩 (4 3 m g , 0 . 1 6 m m o l) を添加し、最終懸濁液を 8 0 °C で 3 時間撹拌した。

【 0 3 2 8 】

溶媒を真空中で除去した。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を真空中で除去した。シリカゲルカラムを用いるフラッシュクロマトグラフィー (D C M / M e O H / N H ₄ O H 9 0 / 1 0 / 0 . 5 及び 8 0 / 2 0

10

20

30

40

50

/ 0.5) により精製して、第1溶離ピークとして13mgの化合物2 - [(4R) - 6 - プロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)プロパン - 2 - イル]アセトアミドを白色泡状物として得た。

【0329】

¹H NMR (400MHz, DMSO - d₆) 7.79 - 7.88 (m, 2H), 7.38 - 7.49 (m, 3H), 7.09 - 7.19 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.72 - 4.80 (m, 1H), 3.89 - 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 4.03, 13.67 Hz, 1H), 3.40 (dd, J = 5.19, 13.00 Hz, 1H), 2.60 - 2.69 (m, 1H), 2.20 - 2.42 (m, 10H), 2.06 - 2.16 (m, 4H), 1.04 (d, J = 6.59 Hz, 3H)。

10

【0330】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 506 [M + H]⁺ 室温 = 4.32分。

【0331】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₃H₃₀BrFN₅O₂) [M + H]⁺ 506.1562; 実測値 506.1574。

【0332】

第2溶離ピークとして、10mgの化合物2 - [(4S) - 6 - プロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)プロパン - 2 - イル]アセトアミドを白色泡状物として得た。

20

【0333】

¹H NMR (400MHz, DMSO - d₆) 7.87 (d, J = 8.30 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 5.00 Hz, 1H), 7.36 - 7.50 (m, 3H), 7.09 - 7.17 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.72 - 4.82 (m, 1H), 3.91 - 4.02 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 3.78, 13.30 Hz, 1H), 3.48 (dd, J = 5.00, 13.18 Hz, 1H), 2.64 (dd, J = 10.68, 14.59 Hz, 1H), 2.20 - 2.45 (m, 10H), 2.09 - 2.18 (m, 4H), 1.02 (d, J = 6.59 Hz, 3H)。

30

【0334】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 506 [M + H]⁺ 室温 = 4.52分。

【0335】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₃H₃₀BrFN₅O₂) [M + H]⁺ 506.1562; 実測値 506.1542。

【0336】

この同一方法に従って、ただし適当な置換誘導体を用いて以下の化合物を製造した：

2 - [(4R) - 6 - プロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ[1, 2 - a]ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - ヒドロキシプロパン - 2 - イル]アセトアミド [(I) R₂ = 3 - フルオロフェニル, R₃ = プロモ, R₄ = H, R₁ = NHR₅, R₅ = - (2S) - 1 - ヒドロキシプロパン - 2 - イル] (化合物39)

40

¹H NMR (400MHz, DMSO - d₆) 7.87 (d, J = 7.81 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 5.00 Hz, 1H), 7.39 - 7.48 (m, 3H), 7.09 - 7.17 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.74 - 4.81 (m, 1H), 4.67 (t, J = 5.61 Hz, 1H), 3.74 - 3.84 (m, 2H), 3.30 - 3.38 (m, 1H), 3.17 - 3.24 (m, 2H), 2.61 - 2.73 (m, 1H), 2.28 - 2.40 (m, 1H), 1.04 (d, J = 6.71 Hz, 3H)。

【0337】

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₈H₂₀BrFN₃O₃) [M + H]⁺ 424.

50

0 6 6 7 ; 実測値 4 2 4 . 0 6 5 6 。

【 0 3 3 8 】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 4 2 4 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 8 6 分。

【 0 3 3 9 】

2 - [(4 S) - 6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2 S) - 1 - ヒドロキシプロパン - 2 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - フルオロフェニル , R 3 = ブロモ , R 4 = H , R 1 = NHR 5 , R 5 = - (2 S) - 1 - ヒドロキシプロパン - 2 - イル] (化合物 4 0)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 8 6 (d , J = 7 . 9 3 Hz , 1 H) , 7 . 7 8 (d , J = 5 . 0 0 Hz , 1 H) , 7 . 3 8 - 7 . 4 8 (m , 3 H) , 7 . 0 9 - 7 . 1 7 (m , 1 H) , 7 . 0 6 (s , 1 H) , 4 . 7 3 - 4 . 8 2 (m , 1 H) , 4 . 6 8 (t , J = 5 . 6 8 Hz , 1 H) , 3 . 7 5 - 3 . 8 4 (m , 2 H) , 3 . 3 8 - 3 . 4 3 (m , 1 H) , 3 . 1 9 - 3 . 2 8 (m , 2 H) , 2 . 6 7 (dd , J = 1 0 . 4 4 , 1 4 . 9 5 Hz , 1 H) , 2 . 3 2 - 2 . 3 9 (m , 1 H) , 1 . 0 1 (d , J = 6 . 7 1 Hz , 3 H) 。

10

【 0 3 4 0 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₈ H₂₀ Br F N₃ O₃) [M + H] ⁺ 4 2 4 . 0 6 6 7 ; 実測値 4 2 4 . 0 6 5 1 。

【 0 3 4 1 】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 4 2 4 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 9 9 分。

20

【 0 3 4 2 】

2 - [6 - ブロモ - 7 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセトアミド [(I) R 2 = 3 - フルオロフェニル , R 3 = ブロモ , R 4 = H , R 1 = NH₂] (化合物 4 1)

¹H NMR (4 0 0 MHz , DMSO - d₆) 7 . 8 1 (d , J = 5 . 2 5 Hz , 1 H) , 7 . 5 2 (br . s . , 1 H) , 7 . 4 4 - 7 . 4 9 (m , 2 H) , 7 . 3 9 - 7 . 4 4 (m , 1 H) , 7 . 0 8 - 7 . 1 8 (m , 2 H) , 7 . 0 6 (s , 1 H) , 4 . 7 5 (td , J = 3 . 4 3 , 1 1 . 2 0 Hz , 1 H) , 3 . 8 1 (dd , J = 3 . 4 2 , 1 3 . 3 0 Hz , 1 H) , 3 . 4 1 (dd , J = 5 . 0 7 , 1 3 . 3 7 Hz , 1 H) , 2 . 6 3 - 2 . 7 4 (m , 1 H) , 2 . 2 4 - 2 . 3 8 (m , 1 H) 。

30

【 0 3 4 3 】

LCMS (HPLC方法2) : m/z 3 6 6 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 7 5 分。

【 0 3 4 4 】

HRMS (ESI) 計算値 (C₁₅ H₁₄ Br F N₃ O₂) [M + H] ⁺ 3 6 6 . 0 2 4 8 ; 実測値 3 6 6 . 0 2 3 5 。

【 0 3 4 5 】

製造 I

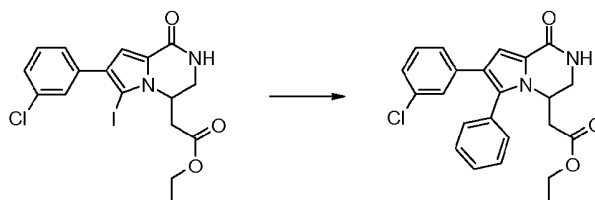
エチル [7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] アセテート [(XVI) R 2 = 3 - クロロフェニル , R 3 = フェニル]

40

【 0 3 4 6 】

【 化 3 6 】

ステップ 9



50

【0347】

エチル[7-(3-クロロフェニル)-6-ヨード-1-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]アセテート(123mg, 0.269mmol)を1,4-ジオキサン(9ml)及び水(1ml)中に含む溶液にアルゴン雰囲気下でフェニルボロン酸(130mg, 1.07mmol)、ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)ジクロリド(9.4mg, 0.013mmol)、炭酸ナトリウム(85.0mg, 0.80mmol)及び塩化リチウム(34mg, 0.81mmol)を順次添加した。混合物を密封バイアル中で100℃で4時間加熱した。反応物をセライトパッドを介して濾過し、溶媒を蒸発乾固させた。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を真空中で除去した。シリカゲルカラムを用いるフラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/Hex 3/2)により精製して、所望化合物を90%の収率で得た。

10

【0348】

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 7.75(d, J=4.76Hz, 1H), 7.46-7.53(m, 3H), 7.37-7.42(m, 2H), 7.18-7.24(m, 1H), 7.13-7.17(m, 1H), 7.08-7.11(m, 2H), 7.07(s, 1H), 4.49-4.56(m, 1H), 3.82-3.96(m, 2H), 3.26-3.34(m, 2H), 2.69-2.78(m, 1H), 2.25-2.36(m, 1H), 1.05(t, J=7.14Hz, 3H)。

20

【0349】

LCMS(HPLC方法2): m/z 409[M+H]⁺ 室温=6.80分。

【0350】

HRMS(ESI) 計算値(C₂₃H₂₂ClN₂O₃)[M+H]⁺ 409.1314; 実測値 409.1301。

【0351】

[実施例5]

2-[(4R)-7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-6-フェニル-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]-N-[(2S)-1-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパン-2-イル]アセトアミド[(I)R₂=3-クロロフェニル, R₃=フェニル, R₄=H, R₁=NHR₅, R₅=-(2S)-1-ヒドロキシプロパン-2-イル](化合物42)、及び

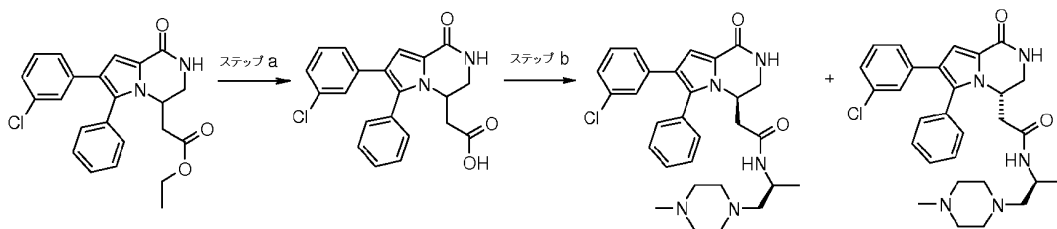
30

2-[(4S)-7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-6-フェニル-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]-N-[(2S)-1-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパン-2-イル]アセトアミド[(I)R₂=3-クロロフェニル, R₃=フェニル, R₄=H, R₁=NHR₅, R₅=-(2S)-1-ヒドロキシプロパン-2-イル](化合物43)

【0352】

【化37】

ステップ10



40

ステップ a . [7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-6-フェニル-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]酢酸の製造

エチル[7-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-6-フェニル-1,2,3,4-テトラヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-4-イル]アセテート(0.17g, 0.

50

42 mmol) をイソプロパノール - 水の混合物 (1 : 4, 5 mL) 中に含む溶液に水酸化リチウム (30 mg, 1.25 mmol) を添加し、反応混合物を室温で2時間撹拌した。溶媒を蒸発させ、水性残渣を pH < 1 まで塩酸 (1 M) で酸性化した後、酢酸エチルで抽出した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥し、濾過し、蒸発させて、標記化合物を透明油状物として得た (収率 85%)。これを特性評価することなく次ステップにかけた。

【0353】

ステップ b.

[7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] 酢酸 (90 mg, 0.24 mmol)、
、
、
 - ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (0.367 mL, 2.13 mmol) 及び HBTU (107 mg, 0.28 mmol) を乾燥ジオキサン (5 mL) 中に含む溶液を15分間撹拌した。次いで、(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - アミン三塩酸塩 (75 mg, 0.28 mmol) を添加し、最終懸濁液を 80 °C で4時間撹拌した。

10

【0354】

溶媒を真空中で除去した。次いで、粗生成物を酢酸エチルと水に分配し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を真空中で除去した。シリカゲルカラムを用いるフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH / NH₄OH 90 / 10 / 0.5 及び 80 / 20 / 0.5) により精製して、第1溶離ピークとして化合物 2 - [(4R) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミドを白色固体として得た。

20

【0355】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.71 (d, J = 4.88 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.06 Hz, 1H), 7.44 - 7.51 (m, 3H), 7.33 - 7.41 (m, 2H), 7.16 - 7.23 (m, 1H), 7.12 - 7.16 (m, 1H), 7.06 - 7.10 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 4.45 - 4.59 (m, 1H), 3.68 - 3.91 (m, 2H), 2.60 (dd, J = 10.74, 15.14 Hz, 1H), 2.55 - 2.65 (m, 1H), 2.15 - 2.33 (m, 10H), 2.11 - 2.12 (m, 3H), 1.97 - 2.10 (m, 3H), 0.96 (d, J = 6.59 Hz, 3H)。

30

【0356】

LCMS (HPLC 方法 2) : m/z 520 [M + H]⁺ 室温 = 5.03 分。

【0357】

HRMS (ESI) 計算値 (C₂₉H₃₄ClN₅O₂) [M + H]⁺ 520.2474; 実測値 520.2481。

【0358】

第2溶離ピークとして、化合物 2 - [(4S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピロロ [1, 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(2S) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル] アセトアミドを白色泡状物として得た。

40

【0359】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.74 (d, J = 4.76 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.30 Hz, 1H), 7.45 - 7.54 (m, 3H), 7.37 - 7.42 (m, 2H), 7.17 - 7.24 (m, 1H), 7.12 - 7.17 (m, 1H), 7.07 - 7.11 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 4.41 - 4.60 (m, 1H), 3.74 - 3.90 (m, 2H), 3.35 - 3.40 (m, 1H), 2.61 (dd, J = 10.86, 14.65 Hz, 1H), 2.23 - 2.37 (m, 8H), 2.19 (dd, J = 7.38, 12.14 Hz, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.03 - 2.10 (m, 1H), 1.99 (dd, J = 2.62, 14.)

50

7 1 H z , 1 H) , 0 . 9 2 (d , J = 6 . 7 1 H z , 3 H) 。

【 0 3 6 0 】

L C M S (H P L C 方法 2) : m / z 5 2 0 [M + H] ⁺ 室温 = 5 . 2 2 分。

【 0 3 6 1 】

H R M S (E S I) 計算値 (C ₂₉ H ₃₅ C l N ₅ O ₂) [M + H] ⁺ 5 2 0 . 2 4 7 4 ; 実測値 5 2 0 . 2 4 9 3 。

【 0 3 6 2 】

この同一方法に従って、ただし適当な置換誘導体を用いて以下の化合物を製造した：

2 - [(4 S) - 7 - (3 - クロロフェニル) - 1 - オキソ - 6 - フェニル - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピロロ [1 , 2 - a] ピラジン - 4 - イル] - N - [(3 R) - ピペリジン - 3 - イル] アセトアミド塩酸塩 [(I) R ₂ = 3 - クロロフェニル , R ₃ = フェニル , R ₄ = H , R ₁ = N H R ₅ , R ₅ = (3 R) - ピペリジン - 3 - イル] (化合物 4 4)

¹ H N M R (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆) 8 . 0 3 (d , J = 7 . 2 H z , 1 H) , 7 . 7 3 (d , J = 5 . 1 H z , 1 H) , 7 . 3 4 - 7 . 5 4 (m , 5 H) , 7 . 1 8 - 7 . 2 3 (m , 1 H) , 7 . 1 2 - 7 . 1 6 (m , 1 H) , 7 . 0 0 - 7 . 1 0 (m , 3 H) , 4 . 5 0 - 4 . 5 4 (m , 1 H) , 3 . 8 5 (d d , J = 1 2 . 8 , 4 . 0 H z , 1 H) , 3 . 6 8 (m , 1 H) , 3 . 5 0 (m , 2 H) , 3 . 1 8 (m , 1 H) , 2 . 6 0 - 2 . 7 6 (m , 3 H) , 2 . 4 6 (m , 1 H) , 1 . 7 3 (m , 2 H) , 1 . 2 7 - 1 . 6 3 (m , 2 H) 。

【 0 3 6 3 】

L C M S (H P L C 方法 2) : m / z 4 6 3 [M + H] ⁺ 室温 = 4 . 8 9 分。

【 0 3 6 4 】

H R M S (E S I) 計算値 (C ₂₆ H ₂₈ C l N ₄ O ₂) [M + H] ⁺ 4 6 3 . 1 8 9 5 ; 実測値 4 6 3 . 1 8 9 6 。

【 0 3 6 5 】

薬理

式 (I) の化合物はプロテインキナーゼ阻害剤として活性であり、従って例えば腫瘍細胞の無秩序な増殖を制限するために有用である。

【 0 3 6 6 】

治療上、これらの化合物は、前に定義されているような各種腫瘍の治療において、並びに前立腺肥大症、家族性腺腫性ポリポーシス、神経線維腫症、乾癬、アテローム性動脈硬化症に関連する血管平滑筋細胞増殖、肺線維症、関節炎、糸球体腎炎、及び術後狭窄及び再狭窄のような他の細胞増殖性障害の治療において使用され得る。

【 0 3 6 7 】

本明細書中で使用されている短縮形及び略語は以下の意味を有している：

C i	キュリー
D M S O	ジメチルスルホキシド
K D a	キロダルトン
m i c r o C i	マイクロキュリー
m g	ミリグラム
m i c r o g	マイクログラム
n g	ナノグラム
L	リットル
m L	ミリリットル
μ L	マイクロリットル
M	モル
m M	ミリモル
μ	マイクロモル
n M	ナノモル

10

20

30

40

50

【0368】

PIM1キナーゼ活性の阻害剤に対する生化学的アッセイ

想定されるキナーゼ阻害剤の阻害活性及び選択した化合物の効力をトランスリン酸化アッセイを用いて調べた。

【0369】

具体的ペプチドまたはタンパク質基質を³³S-でトレースされるATPの存在下で、その自身の最適バッファー及びコファクターの存在下でその特定のser-thrまたはtyrキナーゼによりトランスリン酸化する。

【0370】

リン酸化反応の終わりに、98%以上の非標識ATP及び放射性ATPを過剰のイオン交換ダウエックス樹脂により捕捉する。その後、樹脂は重力により反応プレートの底に沈降する。

10

【0371】

次いで、上清を取り出し、計数プレートに移し、 β -カウンティングにより評価する。

【0372】

試薬/アッセイ条件

i. ダウエックス樹脂作成

500gの湿潤樹脂(SIGMA, 外注作成した樹脂ダウエックス1x8 200~400メッシュ, 2.5Kg)を秤量し、150mMギ酸ナトリウム(pH3.00)で2Lまで希釈する。

20

【0373】

樹脂を沈降させた(数時間)後、上清を捨てる。

【0374】

2, 3日かけて上記洗浄を3回実施した後、樹脂を沈降させ、2容量(樹脂容量に対して)の150mMギ酸ナトリウムバッファーを添加する。

【0375】

次いで、pHを調べ、約3.00でなければならない。

【0376】

洗浄した樹脂は1週間以上安定である。ストック樹脂は使用まで4ヶ月で保持する。

【0377】

ii. キナーゼバッファー(KB)

PIM1アッセイ用バッファーはpH7.5のHEPES 50mMと10mM MgCl₂、1mM DTT、3μM NaVO₃及び0.2mg/mL BSAから構成した。

30

【0378】

完全長ヒトPIM1をBullOCK ANら, J. Biol. Chem., 2005, 280, 41675-82に記載されているように発現させ、精製した。

【0379】

酵素は、以下の条件での自己リン酸化によるプレ活性化のステップ後線形カイネティックを示した。

40

【0380】

1.7μM PIM1を125μM ATPの存在下、28℃で1時間インキュベートした。

【0381】

iii. アッセイ条件

ATP濃度: 200μM

³³S-ATP濃度: 6nM

酵素濃度: 1nM

基質濃度 Aktide (Chemical Abstract サービス登録番号 324029-01-8): 25μM

50

【0382】

i v . ロボット化ダウエックスアッセイ

試験ミックスは、

- 1) 3 × 酵素ミックス (キナーゼバッファー 3 × 中で実施) , 5 μ L / ウェル
 - 2) 3 × 基質及び ATP ミックス (d d H ₂ O 中で実施) と ³ ³ - - , 5 μ L / ウェル
 - 3) 3 × 試験化合物 (d d H ₂ O - 3 % D M S O に希釈した) , 5 μ L / ウェル
- から構成した。

【0383】

化合物希釈及びアッセイスキームについては以下を参照されたい。

10

【0384】

v . 化合物の希釈

IC₅₀ 測定のために、試験化合物を 100 % D M S O 中 1 m M 溶液として受け取り、96 ウェルプレートに分配した。次いで、化合物を新しい 96 ウェルプレートの第 1 カラム (A 1 ~ G 1) に 100 μ l / ウェルで入れた。

【0385】

自動化ステーション (B i o m e k F X , B e c k m a n) を連続希釈のために使用し、カラム中のすべての化合物についてライン A 1 ~ A 10 からの 100 % D M S O 中 1 : 3 希釈物を作成した。更に、5 μ L のこの第 1 組の 100 % D M S O 希釈プレートを 384 ディープウェルプレートに再形成することにより 4 ~ 5 コピーのドータープレートを作成する。試験化合物を含むこれらの連続希釈プレートの 1 コピーを研究当日に解凍し、162 μ L / ウェルの水を用いて作業濃度 (最終濃度の 3 倍) で再構成し、IC₅₀ 測定アッセイのために使用した。標準実験では、化合物の最高濃度 (3 ×) は典型的には 30 μ であり、最低濃度は典型的には 1 . 5 n M である。

20

【0386】

Z ' 及びシグナル - バックグラウンド (S / B) 比を評価するために、各 384 ウェルプレートは標準阻害剤スタウロスポリン及び基準ウェルの少なくとも 1 つの曲線 (全酵素活性対酵素なし活性) を生成する。

【0387】

v i . アッセイスキーム

384 ウェルプレート, V 底 (試験プレート) を 5 μ l の前に記載されているように希釈した (3 ×) 化合物を用いて作成した後、酵素ミックス (3 ×) のための 1 つのレーザー及び ATP ミックス (3 ×) のための 1 つのレーザーと一緒に P l a t e T r a k 1 2 ロボット化ステーション (P e r k i n E l m e r ; ロボットはアッセイ開始のための 1 つの 384 チップピペッティングヘッド及び樹脂分配のための 1 つの 96 チップヘッドを有している) に配置する。

30

【0388】

データを “ A s s a y E x p l o r e r ” S W パッケージの社内で特注したバージョンにより分析して、二次アッセイ / ヒット確認ルーチンで IC₅₀ 測定するために 10 希釈物曲線のシグモイドフィッティングを与える。

40

【0389】

P I M 2 キナーゼ阻害アッセイの方法 : ダウエックス技術

i . キナーゼバッファー (K B)

P I M 2 アッセイ用バッファーは p H 7 . 5 の H E P E S 50 m M と 1 m M M g C l ₂、1 m M D T T、3 μ N a ₃ V O ₄ 及び 0 . 2 m g / m L B S A から構成した。

【0390】

完全長ヒト P I M 2 を F e d o r o v O ら , P N A S , 2007 , 104 , 51 , 20523 - 28 に記載されているように発現し、精製した。

【0391】

50

i i . アッセイ条件 (最終濃度)

酵素濃度 = 1 . 5 n M

A k t i d e 基質 (C h e m i c a l A b s t r a c t サービス登録番号 3 2 4 0 2 9 - 0 1 - 8) = 5 μ

A T P = 4 μ

$3 \times 3 \times \dots = 1 n M$

【 0 3 9 2 】

i i i . ロボット化ダウエックスアッセイ

上を参照されたい : P I M 1 について記載したのと同じの手順。

【 0 3 9 3 】

インビトロ細胞増殖アッセイ

M V - 4 - 1 1 (二重表現型 B 骨髄単球性白血病) 細胞 (1 2 5 0 細胞 / ウェル) を白色 3 8 4 ウェルプレートにおいて完全培地 (R P M 1 1 6 4 0 または E M E M + 1 0 % ウシ胎児血清) 中に接種し、接種から 2 4 時間後に 0 . 1 % D M S O 中に溶解した化合物で処理した。細胞を 3 7 及び 5 % C O ₂ でインキュベートし、7 2 時間後プレートを製造業者の指示に従って C e l l T i t e r - G l o アッセイ (P r o m e g a) を用いて処理した。

【 0 3 9 4 】

C e l l T i t e r - G l o は代謝的に活性な細胞の指標である存在する A T P の定量に基づく均質的方法である。光を発生するルシフェラーゼ及び D - ルシフェリンに基づくシステムを用いて A T P を定量する。発光シグナルは培養物中に存在している細胞の数に比例している。

【 0 3 9 5 】

簡単に説明すると、各ウェルに 2 5 μ l / ウェルの試薬溶液を添加し、5 分間振とう後マイクロプレートを E n v i s i o n (P e r k i n E l m e r) ルミノメーターにより読む。発光シグナルは培養物中に存在している細胞の数に比例している。

【 0 3 9 6 】

阻害活性は A s s a y E x p l o r e r (M D L) プログラムを用いて処理対照を比較することにより評価した。I C ₅₀ はシグモイド補間曲線を用いて計算した。

【 0 3 9 7 】

上の阻害アッセイを考慮すると、本発明の式 (I) の化合物は、典型的には I C ₅₀ が 0 . 0 5 m i c r o M をはるかに下回る良好な P I M - 1 阻害活性、及び典型的には I C ₅₀ が 0 . 2 m i c r o M をはるかに下回る良好な P I M - 2 阻害活性を有していた。

【 0 3 9 8 】

更に、本発明の式 (I) の化合物は、M V - 4 - 1 1 細胞において典型的には 1 ~ 7 m i c r o M の範囲の I C ₅₀ で良好な細胞増殖阻害活性を示す。

【 0 3 9 9 】

下表 A は、P I M - 1 及び P I M - 2 酵素について上記した特定のインビトロキナーゼアッセイで試験した式 (I) の本発明の幾つかの代表的化合物の実験データを従来技術の幾つかの参照化合物と比較して報告している。

【 0 4 0 0 】

下表 A はまた、M V - 4 - 1 1 細胞に対して試験した式 (I) の本発明の幾つかの代表的化合物の抗増殖活性を従来技術の幾つかの参照化合物と比較して報告している。

【 0 4 0 1 】

参照化合物は上で引用した W O 2 0 1 0 / 0 3 1 8 1 6 に開示されている。

【 0 4 0 2 】

10

20

30

40

【表 1】

表 A

化合物	PIM-1 IC ₅₀ μM	PIM-2 IC ₅₀ μM	MV4-11 IC ₅₀ μM
参照化合物1 (A157-M-B65 異性体 S)	0.01	0.10	>10
参照化合物2 (A127-M-B65 異性体 S)	0.01	0.18	>10
参照化合物3 (A127-M-B61 異性体 S)	0.02	0.25	>10
2	0.001	0.037	1.53
6	0.008	0.171	3.15
10	0.006	0.057	6.75
23	0.001	0.036	1.13
26	0.002	0.132	1.16

10

【0403】

今までのところ、本発明の新規化合物は予期せぬことに強力な P I M - 1 及び P I M - 2 阻害活性を与え、構造的に最も近い従来技術化合物よりも有意に高い抗増殖活性を生じる。従って、本発明の化合物は特に癌に対する治療において有利である。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 K	31/4985	(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 2 1
A 6 1 K	31/506	(2006.01)	A 6 1 P	35/02
C 0 7 B	61/00	(2006.01)	A 6 1 K	31/4985
			A 6 1 K	31/506
			C 0 7 B	61/00 3 0 0

(72)発明者 モンテマルティニーニ, マリーザ
 イタリア国、イ - 2 0 0 1 4 ・ネルビアーノ (ミラノ)、ピアレ・パスツール・1 0

(72)発明者 ピウッティ, クラウディア
 イタリア国、イ - 2 0 0 1 4 ・ネルビアーノ (ミラノ)、ピア・パーパ・ジョバンニ・ベンティト
 レジモ、2 1

審査官 三上 晶子

(56)参考文献 国際公開第2010/031816 (WO, A1)
 特表2009-511555 (JP, A)
 国際公開第2011/092120 (WO, A1)
 特表2011-515452 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 C 0 7 D 4 8 7 / 0 0 - 4 9 1 / 2 2
 A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4
 A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0
 A 6 1 K 4 5 / 0 0
 C 0 7 B 6 1 / 0 0
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)