

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-512153

(P2021-512153A)

(43) 公表日 令和3年5月13日(2021.5.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07D 401/14</b> (2006.01)	C O 7 D 401/14	4 C O 6 3
<b>C07D 495/14</b> (2006.01)	C O 7 D 495/14 C S P E	4 C O 7 1
<b>A61P 35/00</b> (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C O 7 6
<b>A61P 35/02</b> (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 C O 8 6
<b>A61P 43/00</b> (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 233 頁) 最終頁に続く		

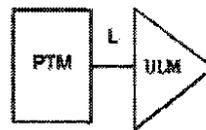
(21) 出願番号 特願2020-561616 (P2020-561616)	(71) 出願人 503469393 イエール ユニバーシティ アメリカ合衆国 コネチカット州 ニュー ヘブン トウ ホイットニー アベニュー
(86) (22) 出願日 平成31年1月26日 (2019.1.26)	
(85) 翻訳文提出日 令和2年9月17日 (2020.9.17)	
(86) 国際出願番号 PCT/US2019/015313	
(87) 国際公開番号 W02019/148055	
(87) 国際公開日 令和1年8月1日 (2019.8.1)	(74) 代理人 100102978 弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号 62/622,596	(74) 代理人 100102118 弁理士 春名 雅夫
(32) 優先日 平成30年1月26日 (2018.1.26)	(74) 代理人 100160923 弁理士 山口 裕孝
(33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)	(74) 代理人 100119507 弁理士 刑部 俊
	(74) 代理人 100142929 弁理士 井上 隆一
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タンパク質分解のイミド系モジュレーターおよび使用方法

(57) 【要約】

本記載は、イミド系化合物を含む二官能性化合物を包含する、イミド系化合物に関連しており、これは標的とされたユビキチン化のモジュレーターとして、特に本発明に係る二官能性化合物によって分解されかつ/またはそうでなければ阻害される様々なポリペプチドおよび他のタンパク質の阻害剤として利用される。特に、本記載は、標的タンパク質がユビキチンリガーゼに近接して配置されてそのタンパク質の分解(および阻害)がもたらされるように、一端にセレブロンE3ユビキチンリガーゼに結合するリガンドを含み、他端に標的タンパク質に結合する部分を含む、化合物を提供する。ほぼすべてのタイプの標的ポリペプチドの分解/阻害と合致する広範な薬理活性を示す化合物が合成できる。

FIG. 1A



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

以下の化学構造を含む化合物、ならびにまたはその塩、溶媒和物、多形および/もしくは重水素化形態：

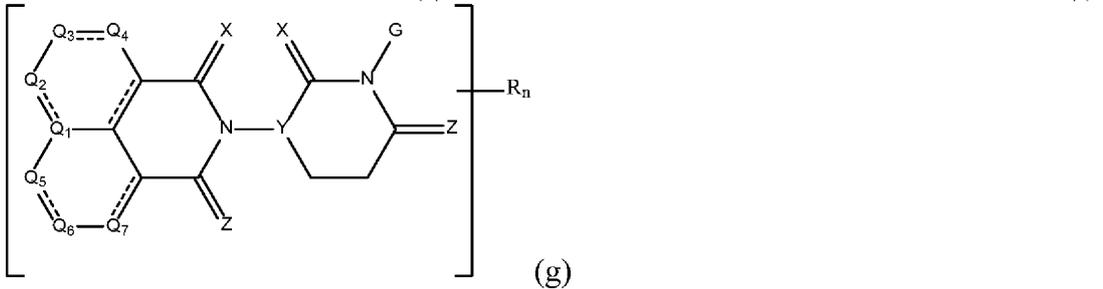
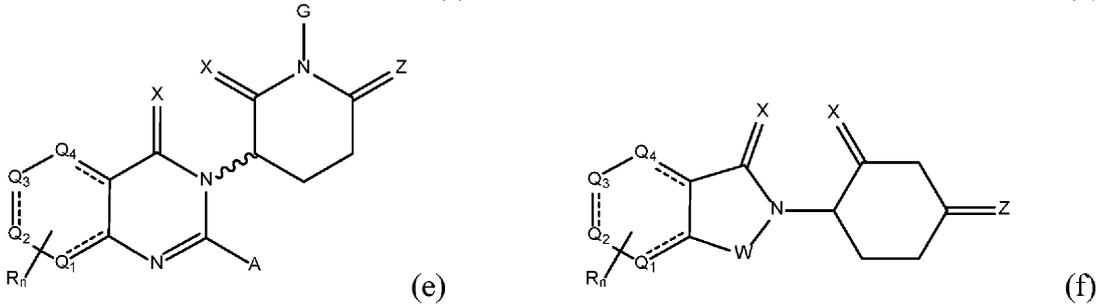
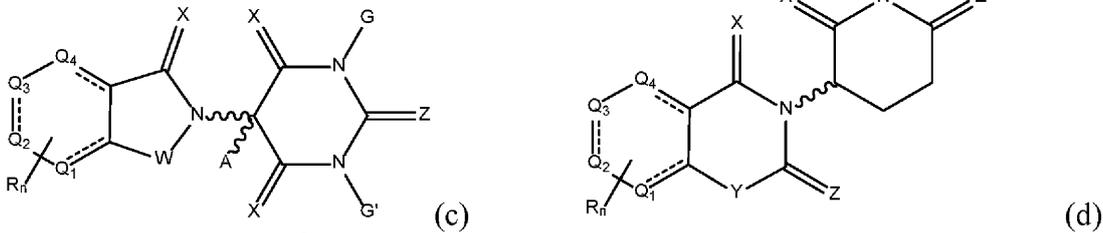
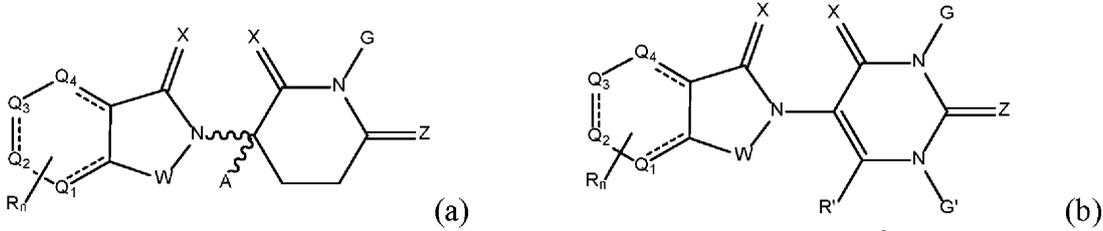
PTM-L-CLM

式中

Lは、結合であるかまたはPTMをCLMにカップリングさせる化学リンカーであり；

PTMは、標的タンパク質またはポリペプチドに結合するタンパク質標的指向部分であり；

CLMは、以下からなる群より選択される構造を含むセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分であり：



式中

Wは各出現時に、 $\text{CH}_2$ 、CHR、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{S}(=\text{O})_2$ 、NH、およびN-アルキルからなる群より独立して選択され；

Xは各出現時に、O、S、および $\text{H}_2$ からなる群より独立して選択され；

Yは各出現時に、NH、N-アルキル、N-アリアル、N-ヘテロアリアル、N-シクロアルキル、N-ヘテロシクリル、O、およびSからなる群より独立して選択され；

Zは各出現時に、O、S、および $\text{H}_2$ からなる群より独立して選択されるが、但しXおよびZは両方が同時に $\text{H}_2$ であることはできず；

GまたはG'は各出現時に、H、アルキル、OH、R'で置換されていてもよい $\text{CH}_2$ -ヘテロシクリル、およびR'で置換されていてもよいベンジルからなる群より独立して選択され；

10

20

30

40

50

Q<sub>1</sub> ~ Q<sub>7</sub>のそれぞれは、N、N-オキシド、ならびに、R'、NH<sub>2</sub>、OH、ハロ、C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>アルキル、同じ環内の別のQ<sub>1</sub> ~ Q<sub>7</sub>基に結合したC<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>アルキル、アセチル、およびカルボキシルからなる群より独立して選択される少なくとも1つで置換された炭素からなる群より独立して選択されるが、但し(a)各環は、NおよびN-オキシドに対応する群より選択される0 ~ 2個のQ<sub>1</sub> ~ Q<sub>7</sub>を有し；(b)1個のQ<sub>1</sub> ~ Q<sub>7</sub>基が、同じ所与の環内の不連続なQ<sub>1</sub> ~ Q<sub>7</sub>基に結合したC<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>アルキルで置換された炭素である場合、所与の環は0 ~ 2個の不飽和結合を有し；

Aは各出現時に、H、アルキル、シクロアルキル、Cl、およびFからなる群より独立して選択され；

Rは各出現時に、-C(=O)NR'R''、-OR'、-NR'R''、-SR'、-S(=O)<sub>2</sub>R'、-S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-CR'R''、-CR'NR'R''、アリール、ヘテロアリール、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、-P(=O)(OR')R''、-P(=O)R'R''、-OP(=O)(OR')R''、-OP(=O)R'R''、-Cl、-F、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-CN、-NR'S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-NR'C(=O)NR'R''、-C(=O)NR'C(=O)R''、-NR'C(=N-CN)NR'R''、-C(=N-CN)NR'R''、-NR'C(=N-CN)R''、-NR'C(=C-NO<sub>2</sub>)NR'R''、-S(=O)<sub>2</sub>NR'C(=O)R''、-NO<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R'、-C(C=N-OR')R''、-CR'=CR'R''、-CCR'、-S(C=O)(C=N-R')R''、-SF<sub>5</sub>、および-OCF<sub>3</sub>からなる群より独立して選択され；

R'およびR''は各出現時に、結合、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群より独立して選択され；

nは各出現時に、1、2、3、および4からなる群より独立して選択され；

~~~~~

は、立体特異的((R)または(S))または非立体特異的であってもよい結合を表す。

【請求項2】

1つのRが、PTM、L、ULM、別の独立して選択されるCLM(またはCLM')、またはそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される少なくとも1つに共有結合するように修飾された、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

Wが各出現時にC=Oである、請求項1記載の化合物。

【請求項4】

XおよびZが各出現時にOである、請求項1記載の化合物。

【請求項5】

Aが各出現時にHである、請求項1記載の化合物。

【請求項6】

Gが各出現時にHである、請求項1記載の化合物。

【請求項7】

Q<sub>1</sub> ~ Q<sub>4</sub>のそれぞれが独立して、R'、NH<sub>2</sub>、OH、ハロ、C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>アルキル、アセチル、およびカルボキシルからなる群より独立して選択される基で置換された炭素である、請求項1記載の化合物。

【請求項8】

Q<sub>1</sub> ~ Q<sub>4</sub>を含む環およびQ<sub>1</sub>、Q<sub>5</sub> ~ Q<sub>7</sub>を含む環が独立して、モノ、ジ、またはトリ不飽和である、請求項1記載の化合物。

【請求項9】

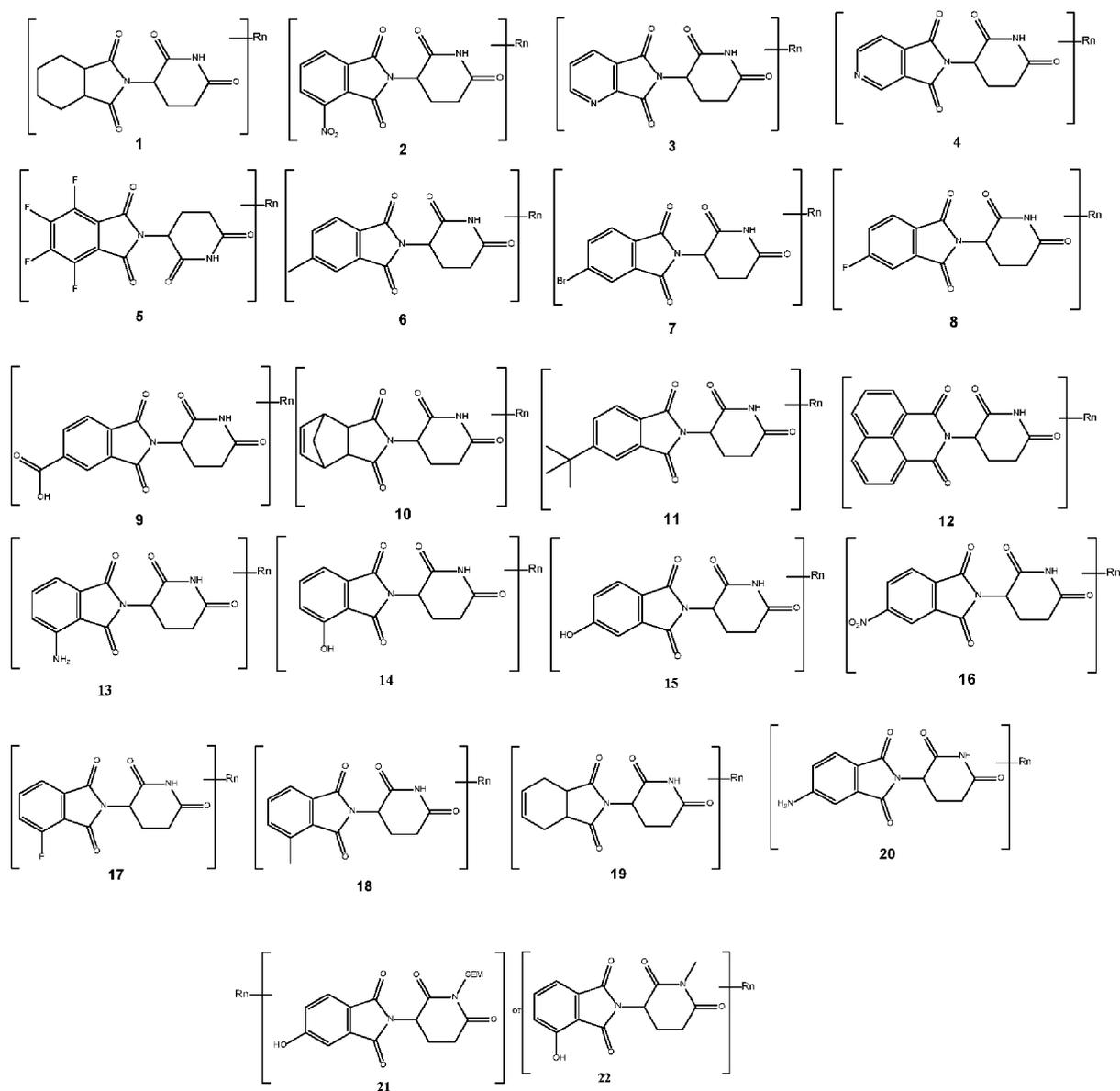
CLMが、

10

20

30

40



10

20

30

40

50

からなる群より選択される、請求項1記載の化合物。

【請求項10】

PTMが小分子である、請求項1記載の化合物。

【請求項11】

小分子PTMが、細胞内タンパク質またはポリペプチドを標的とする、請求項10記載の化合物。

【請求項12】

Lが $-(A^L)_q-$ であり、

式中

qは1以上の整数であり；

各 $A^L_q$ は、結合、 $CR^{L1}R^{L2}$ 、O、S、 $S(=O)$ 、 $S(=O)_2$ 、 $NR^{L3}$ 、 $S(=O)_2NR^{L3}$ 、 $S(=O)NR^{L3}$ 、 $C(=O)NR^{L3}$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}$ 、 $NR^{L3}S(=O)_2NR^{L4}$ 、 $C(=O)$ 、 $CR^{L1}=CR^{L2}$ 、C、C、 $SiR^{L1}R^{L2}$ 、 $P(=O)R^{L1}$ 、 $P(=O)OR^{L1}$ 、 $NR^{L3}C(=NCN)NR^{L4}$ 、 $NR^{L3}C(=NCN)$ 、 $NR^{L3}C(=CNO_2)NR^{L4}$ 、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_3 \sim_{11}$ シクロアルキル、0~9個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_5 \sim_{13}$ スピロシクロアルキル、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_3 \sim_{11}$ ヘテロシクリル、0~8個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_5 \sim_{13}$ スピロヘテロシクロアルキル、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよいアリール、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよいヘテロアリールからなる群より独立して選択され、ここで $R^{L1}$ または $R^{L2}$ はそれぞれ

独立して、他の基に結合して、0~4個のR<sup>L5</sup>基で置換されていてもよいシクロアルキルおよび/またはヘテロシクリル部分を形成してもよく；かつ

R<sup>L1</sup>、R<sup>L2</sup>、R<sup>L3</sup>、R<sup>L4</sup>およびR<sup>L5</sup>はそれぞれ独立して、H、ハロ、C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、OC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、SC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、NHC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>~<sub>11</sub>シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、C<sub>3</sub>~<sub>11</sub>ヘテロシクリル、OC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル、SC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル、NHC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル)<sub>2</sub>、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル)(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、OH、NH<sub>2</sub>、SH、S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、P(=O)(OC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、P(=O)(OC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C=C-C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、C=CH、CH=CH(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、C(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)=CH(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、C(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)=C(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、Si(OH)<sub>3</sub>、Si(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>3</sub>、Si(OH)(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C(=O)C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、CO<sub>2</sub>H、ハロゲン、CN、CF<sub>3</sub>、CHF<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>F、NO<sub>2</sub>、SF<sub>5</sub>、SO<sub>2</sub>NHC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、S(=O)<sub>2</sub>N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、S(=O)NHC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、S(=O)N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C(=O)NHC<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル、C(=O)N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)C(=O)NH(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)C(=O)N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)NH(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、NHC(=O)N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)NH<sub>2</sub>、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)S(=O)<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)S(=O)<sub>2</sub>N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHS(=O)<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)、NHS(=O)<sub>2</sub>N(C<sub>1</sub>~<sub>8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、およびNHS(=O)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>からなる群より選択される、

請求項1記載の化合物。

【請求項13】

Lが、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルコキシル)-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルコキシル)-OCH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルコキシル)-(低級アルキル)-OCH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-(低級アルキル)-OCH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(ヘテロシクロアルキル)-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(ヘテロシクロアルキル)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-アリール-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(ヘテロアリール)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-O-(ヘテロアリール)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-O-アリール-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-NH-アリール-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-O-アリール-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-シクロアルキル-O-アリール-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-シクロアルキル-O-(ヘテロアリール)-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-O-(ヘテロサイクル)-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(ヘテロサイクル)-(ヘテロサイクル)-CH<sub>2</sub>-、-N(R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>)-(ヘテロサイクル)-CH<sub>2</sub>からなる群より選択される基を含み、

式中

各リンカーの各nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり；

各Rは独立して、Hまたは低級アルキルであり；かつ

各リンカーの各R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は独立して、接続するNと環を形成することができる、

請求項1記載の化合物。

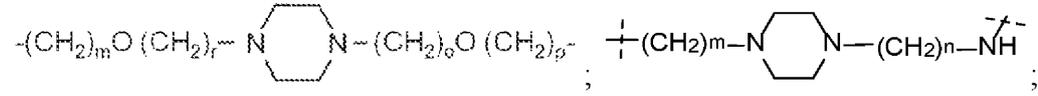
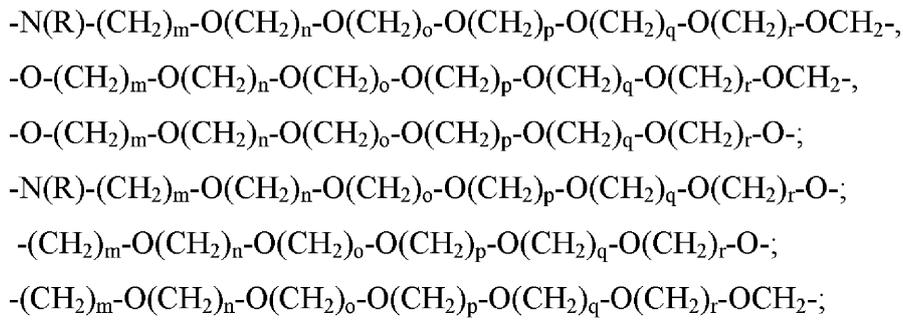
【請求項14】

Lが、

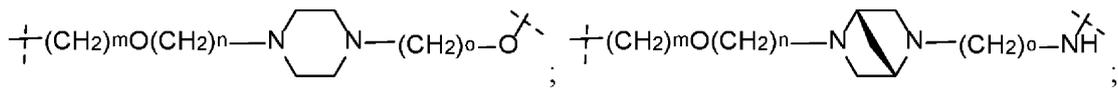
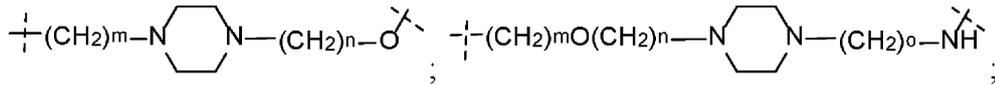
10

20

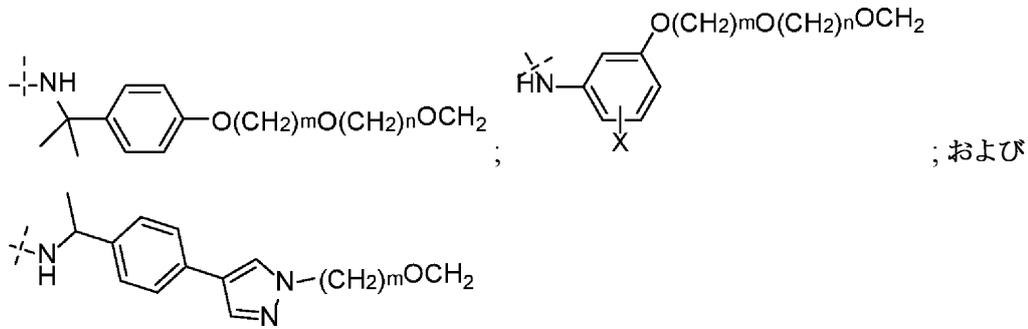
30



10







からなる群より選択され、  
式中

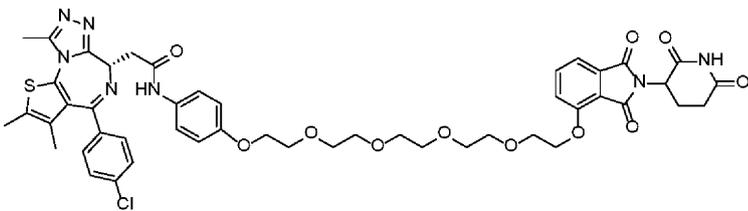
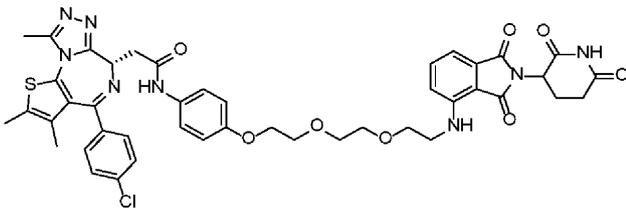
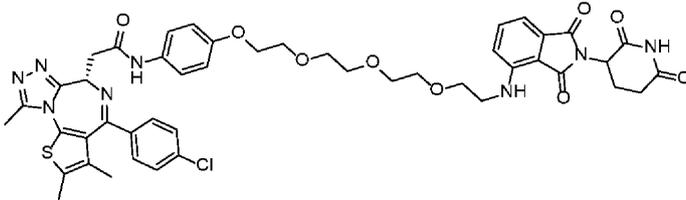
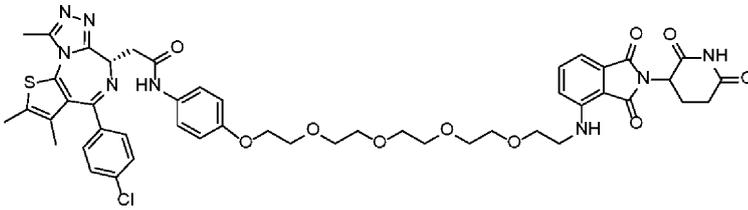
各リンカーの各m、n、o、p、q、およびrは独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20であるが、但しn=0の場合、N-OまたはO-O結合は存在せず；

各リンカーの各Rは独立してH、メチル、またはエチルであり；かつ

各リンカーの各Xは独立してHまたはFである、

請求項1記載の化合物。

【請求項15】

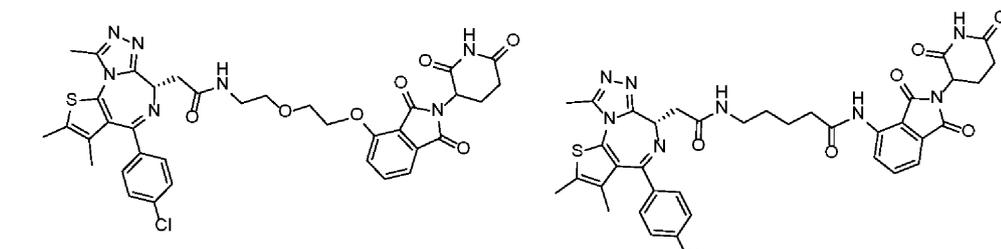
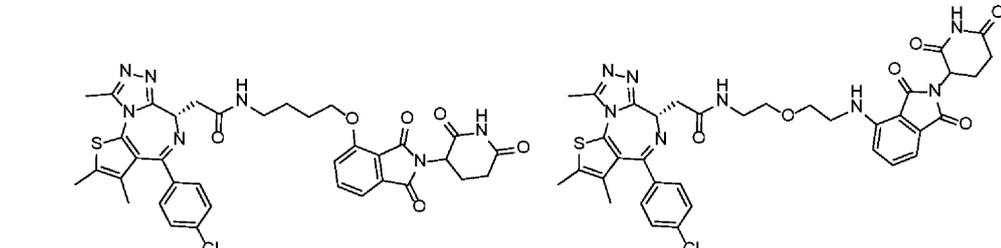
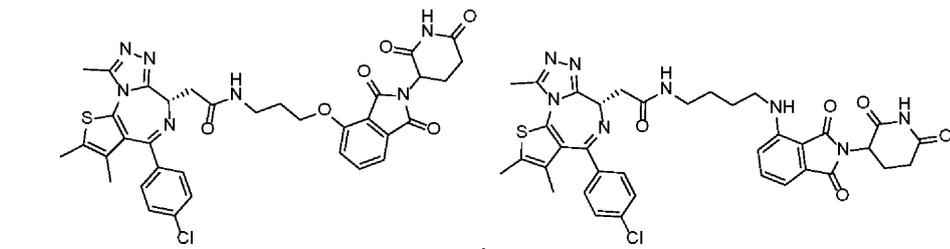
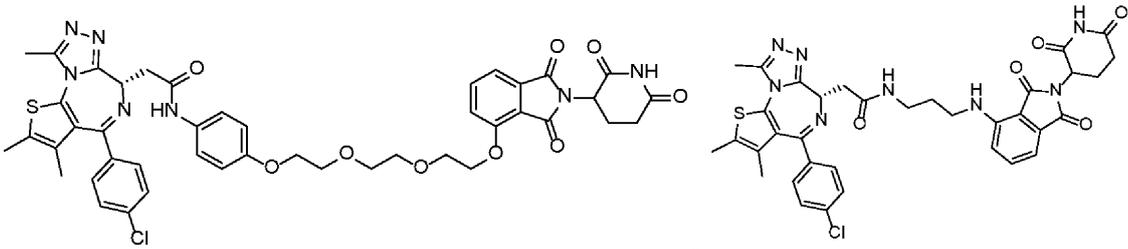
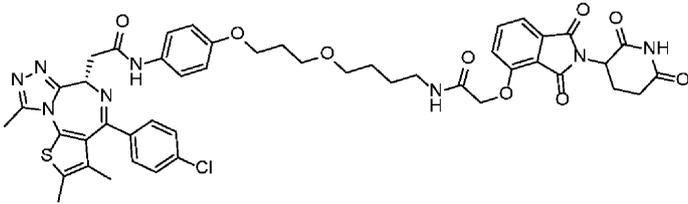
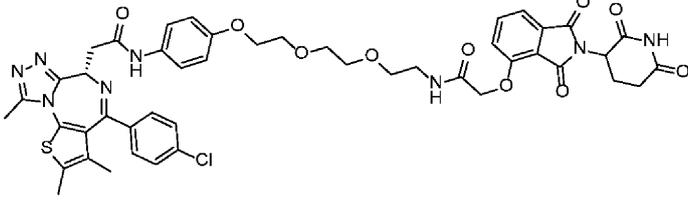
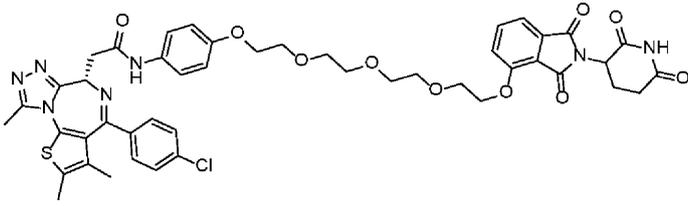


10

20

30

40

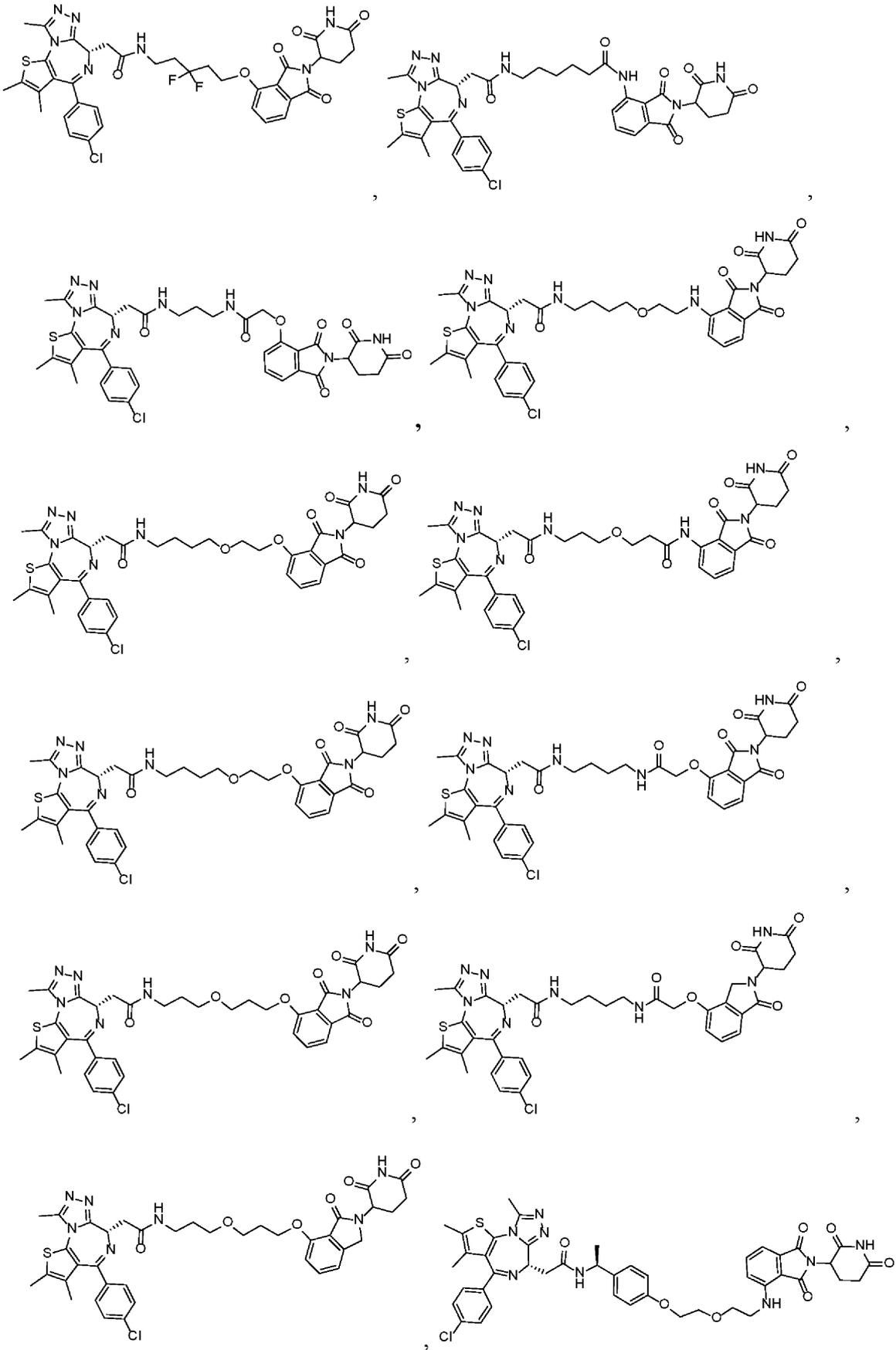


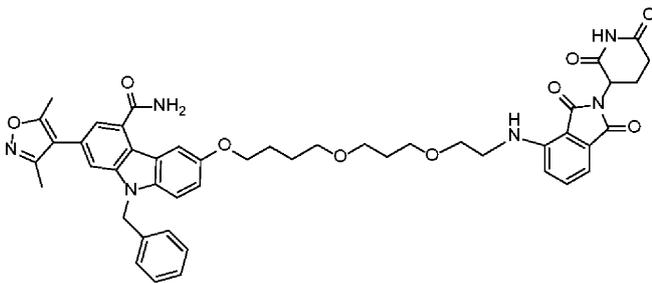
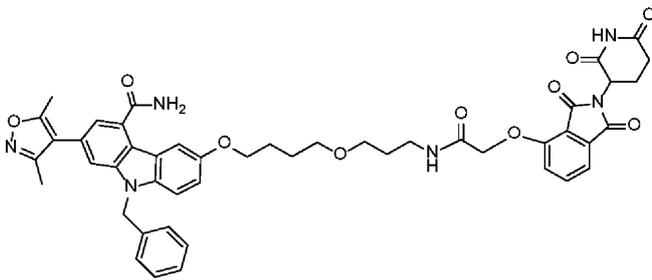
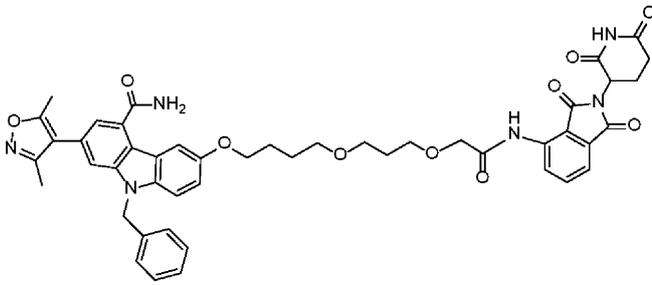
10

20

30

40





, および

10

20

からなる群より選択される、請求項1記載の化合物。

【請求項 1 6】

請求項1記載の化合物を含む、組成物。

【請求項 1 7】

請求項1記載の化合物と、薬学的に許容される担体、添加剤、および/または賦形剤とを含む、薬学的組成物。

【請求項 1 8】

細胞内の標的タンパク質の分解を誘導するための方法であって、以下の工程を含む、方法：

細胞を有効量の請求項1記載の化合物または請求項17記載の組成物と接触させる工程であって、該化合物または組成物が、細胞内の標的タンパク質を分解するのに有効である、工程。

【請求項 1 9】

調節不全のタンパク質活性が病態または状態の原因である、対象における病態または状態を治療するための方法であって、以下の工程を含む、方法：

治療的有效量の請求項1記載の化合物または請求項17記載の組成物を対象に投与する工程であって、これにより該化合物または組成物がタンパク質の分解または阻害を促進する、工程。

【請求項 2 0】

病態または状態ががんである、請求項19記載の方法。

【請求項 2 1】

がんが、扁平上皮がん、基底細胞がん、腺がん、肝細胞がん、および腎細胞がん、膀胱、腸、乳房、子宮頸部、結腸、食道、頭部、腎臓、肝臓、肺、首、卵巣、膵臓、前立腺、および胃のがん；白血病；良性および悪性リンパ腫、特にパーキットリンパ腫および非ホジキンリンパ腫；良性および悪性黒色腫；骨髄増殖性疾患；多発性骨髄腫、ユーイング肉腫、血管肉腫、カポジ肉腫、脂肪肉腫、筋肉腫、末梢神経上皮腫、滑膜肉腫、神経膠腫、星細胞腫、乏突起神経膠腫、上衣腫、膠芽腫、神経芽細胞腫、神経節神経腫、神経節神経

30

40

50

膠腫、髄芽腫、松果体細胞腫瘍、髄膜腫、髄膜肉腫、神経線維腫、およびシュワン腫を含む肉腫；腸がん、乳がん、前立腺がん、子宮頸がん、子宮がん、肺がん、卵巣がん、精巣腫瘍、甲状腺がん、星細胞腫、食道がん、膵臓がん、胃がん、肝がん、結腸がん、黒色腫；がん肉腫、ホジキン病、ウィルムス腫瘍、および奇形がん腫からなる群より選択される少なくとも1つである、請求項20記載の方法。

【請求項22】

がんが、T系列急性リンパ芽球性白血病(T-ALL)、T系列リンパ芽球性リンパ腫(T-LL)、末梢性T細胞リンパ腫、成人T細胞白血病、前駆B細胞ALL、前駆B細胞リンパ腫、大細胞型B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、B細胞ALL、フィラデルフィア染色体陽性ALL、およびフィラデルフィア染色体陽性CMLからなる群より選択される少なくとも1つである、請求項20記載の方法。

10

【請求項23】

対象が、病態または状態のために治療される必要がある、請求項19記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2018年1月26日に出願の米国仮特許出願第62/622,596号に対する米国特許法第19条(e)項に基づく優先権を主張し、該出願はその全体において参照により本明細書に組み入れられる。

20

【背景技術】

【0002】

背景

ほとんどの小分子薬は、厳格かつ正確に規定されたポケットにおいて酵素または受容体と結合する。一方で、タンパク質-タンパク質相互作用は、それらの大きな接触面積と浅い溝または平坦な界面とを伴うために、小分子を用いて標的とすることが非常に困難である。E3ユビキチンリガーゼ(そのうちの数百がヒトで公知である)はユビキチン化に対する基質特異性を付与するため、特定のタンパク質基質に対するそれらの特異性により、一般的なプロテアソーム阻害剤よりも魅力的な治療標的である。E3リガーゼのリガンドの開発は、タンパク質-タンパク質相互作用を破壊しなければならないという事実により部分的に起因して困難であることが証明されてきた。しかしながら、最近の進展は、これらのリガーゼに結合する特異的なリガンドを提供している。例えば、最初の小分子E3リガーゼ阻害剤であるヌトリン(nutlin)の発見以来、E3リガーゼを標的とするさらなる化合物が報告されてきた。しかしこの分野は依然として十分発展していない。

30

【0003】

治療において将来性がある1つのE3リガーゼはフォン・ヒッペル・リンドウ(VHL)腫瘍抑制因子である。VHLは基質認識サブユニット/E3リガーゼ複合体VCBを含み、これはエロニンギンBおよびCと、Cullin-2およびRbx1を含む複合体とを含む。VHLの主要な基質は、低酸素レベルに反応して血管新生促進成長因子VEGFおよび赤血球誘導サイトカインエリスロポエチンなどの遺伝子を上方制御する転写因子である低酸素誘導因子1 (HIF-1)である。E3リガーゼの基質認識サブユニットに対するフォン・ヒッペル・リンドウ(VHL)の最初の小分子リガンドであり、がん、慢性貧血および虚血における重要な標的であるVCBが同定されており、その結晶構造は該化合物がVHLの主要な基質である転写因子HIF-1の結合様式を模倣していることを裏付けている。

40

【0004】

セレブロンはヒトではCRBN遺伝子によってコードされるタンパク質である。CRBNオルソログは植物からヒトまで高度に保存されており、これはその生理学的重要性を強調している。セレブロンは損傷DNA結合タンパク質1(DDB1)、Cullin-4A(CUL4A)、およびcullin 1の調節物質(ROC1)とE3ユビキチンリガーゼ複合体を形成する。この複合体は多くの他のタンパク質をユビキチン化する。完全には解明されていないメカニズムを通じて、標的タンパ

50

ク質のセレブロンユビキチン化が線維芽細胞成長因子8(FGF8)および線維芽細胞成長因子10(FGF10)レベルの上昇をもたらす。翻ってFGF8は四肢および聴覚小胞の形成など多くの発達過程を調節する。最終的な結果は、このユビキチンリガーゼ複合体が胚における四肢伸長に重要となることである。セレブロンが存在しない場合、DDB1はDNA損傷結合タンパク質として機能するDDB2と複合体を形成する。

#### 【0005】

多くの免疫学的適応症の治療に承認されているサリドマイドは多発性骨髄腫を含む特定の腫瘍性疾患の治療にも承認されている。サリドマイドおよびその類縁体のいくつかは、多発性骨髄腫に加えて、様々な他のタイプのがんも治療するために現在調査されている。サリドマイドの抗腫瘍活性の正確なメカニズムは依然として明らかにされている最中であるが、血管形成を阻害することが公知である。イミドのバイオロジーを検討した最近の文献はLu, et al., *Science* 343, 305 (2014)およびKronke, et al., *Science* 343, 301 (2014)が挙げられる。

10

#### 【0006】

意義深いことに、サリドマイドおよびその類縁体、例えば、ボマリドミドおよびレナリドミドはセレブロンに結合することが公知である。これらの薬剤はセレブロンに結合し複合体の特異性を改変して、多発性骨髄腫の増殖に不可欠な転写因子であるIkaros(IKZF1)およびAiolos(IKZF3)のユビキチン化および分解を誘導する。実際に、多発性骨髄腫の治療においてセレブロンのより高度な発現はイミド薬の有効性の向上と関連している。

20

#### 【0007】

BRD4は複数の疾患状況における、特にがんにおける、新規な標的としてのその大きな可能性により学界および製薬業界から多大な注目を集めている。BRD4は、N末端の2つのプロモドメイン(BDドメイン)とC末端のエクストラターミナルドメイン(ETドメイン)とを特徴とする、プロモドメイン・エクストラターミナルドメイン(BET)ファミリーに属している(J. Shi, et al., *Molecular cell*, 54 (2014) 728-736 およびA.C. Belkina, et al., *Nat. Rev. Cancer*, 12 (2012) 465-477)。2つのBDドメインは、ヒストンタンパク質のN末端テールのアセチル化リジン残基を認識し相互作用するが、ETドメインは未だ完全には特性決定されておらず、多様な転写調節因子を動員する際にスキャフォールド機能を果たすと主に考えられている。よって、BRD4は特異的なゲノム遺伝子座に関連する転写モジュレーターを動員することによって遺伝子発現を調節する際に重要な役割を果たす。いくつかの研究は、BRD4が、c-MYC、Bcl-xL、BCL-6などの重要ながん遺伝子の上流に往々にして存在するスーパーエンハンサー領域に優先的に配置され、それらの発現を調節する際に重要な役割を果たすことを確認している(J. Loven, et al., *Cell*, 153 (2013) 320-334およびB. Chapuy, et al., *Cancer Cell*, 24 (2013) 777-790)。必須のがん遺伝子の発現を調節する際のその重要な役割のため、BRD4は正中線がん、AML、MM、BL、および前立腺がんを含む複数のがんタイプの有望な治療標的として浮上している(J. Loven, et al., *Cell*, 153 (2013) 320-334; J. Zuber, et al., *Nature*, 478 (2011) 524-528; J.E. Delmore, et al., *Cell*, 146 (2011) 904-917; J.A. Mertz, et al., *PNAS*, 108 (2011) 16669-16674; A. Wyce, et al., *Oncotarget*, 4 (2013) 2419-2429; I.A. Asangani, et al., *Nature*, 510 (2014) 278-282; およびC.A. French, et al., *Oncogene*, 27 (2008) 2237-2242)。

30

40

#### 【0008】

特定のがん遺伝子の近傍のゲノム遺伝子座でのBRD4の明らかに高い占有率は、正常組織を温存しながら腫瘍細胞を特異的に標的とすることを可能にする潜在的な治療ウィンドウを提供する。特に、BRD4は、大部分のヒトがんの発生および維持に寄与しているが依然として介入可能ではないc-MYCを標的とすることの代替戦略として役立つ可能性がある(J.E. Delmore, et al., *Cell*, 146 (2011) 904-917; J.A. Mertz, et al., *PNAS*, 108 (2011) 16669-16674; M.G. Baratta, et al., *PNAS*, 112 (2015) 232-237; およびM. Gabay, et al., *Cold Spring Harb Perspect Med.* (2014) 4:a014241)。

#### 【0009】

50

JQ1、iBETおよびOTX15などの小分子BRD4阻害剤の開発が、BLを含む様々ながんの前臨床モデルで有望な治療の可能性を実証している(J. Loven, et al., Cell, 153 (2013) 320-334; B. Chapuy, et al., Cancer Cell, 24 (2013) 777-790; J.E. Delmore, et al., Cell, 146 (2011) 904-917; J.A. Mertz, et al., PNAS, 108 (2011) 16669-16674; I.A. Asangani, et al., Nature, 510 (2014) 278-282; M.G. Baratta, et al., PNAS, 112 (2015) 232-237; M. Boi, et al., Clin. Cancer Res., (2015) 21(7):1628-38; およびA. Puissant, et al., Cancer discovery, 3 (2013) 308-323)。実際に、BRD4阻害剤は種々のマウス腫瘍モデルにおいて忍容性の優れた様々な抗腫瘍活性を示し、驚くべきことではないが、JQ1などのBRD4阻害剤に対する感受性の高さは、c-MYC駆動BLを含む種々の腫瘍タイプにおける高レベルのc-MYCおよびN-MYCのいずれかに関連している。BLのほとんどすべてのケースは、c-myc遺伝子転座を含み、これは、c-myc遺伝子がIgHの上流に位置するスーパーエンハンサーの制御下に置かれることによりc-MYCの異常に高レベルの発現、腫瘍の発生および維持を駆動する(K. Klapproth, et al., British journal of haematology, 149 (2010) 484-497)。

10

#### 【0010】

現在、4つのBETプロモドメイン阻害剤が、主に正中線がんおよび血液悪性疾患に焦点を当てた第I相臨床試験にある(CPI-0610、NCT01949883; GSK525762、NCT01587703; OTX015、NCT01713582; TEN-010、NCT01987362)。BRD4阻害剤を用いた前臨床試験は、IC<sub>50</sub>値が往々にして100nM~1μMの範囲であるにもかかわらず、c-MYCとBL細胞株の増殖との抑制におけるそれらの価値を実証している(J.A. Mertz, et al., PNAS, 108 (2011) 16669-16674 およびM. Ceribelli, et al., PNAS, 111 (2014) 11365-11370)。よって、BRD4阻害剤の急速な進展にもかかわらず、BRD4阻害の効果は有望ではあるものの、効果の大部分が細胞増殖抑制的であり、比較的高濃度の阻害剤を必要とするため理想的なものではない。

20

#### 【0011】

当技術分野では、疾患、特に多発性骨髄腫などの過形成およびがんの効果的な治療が必要である。しかしながら、非特異的な効果と、転写因子などの特定のクラスのタンパク質全体を標的としかつ調節することができないことが、依然として効果的な抗がん剤の開発に対する障害となる。このように、セレプロンの基質特異性を利用するかまたは増強する小分子治療薬であって、同時に、広範囲のタンパク質クラスを特異的に標的としかつ調節できるように「調整可能」な小分子治療薬が治療薬として非常に有用となるであろう。

30

#### 【発明の概要】

#### 【0012】

##### 概要

本開示は、分解のためにE3ユビキチンリガーゼに内因性タンパク質を動員するように機能する二官能性化合物、およびこれを使用する方法を記載している。特に、本開示は二官能性またはタンパク質分解標的指向キメラ(PROTAC)化合物を提供し、これは様々なポリペプチドおよび他のタンパク質の標的ユビキチン化のモジュレーターとして有用であり、そうしたポリペプチドおよびタンパク質は、次いで本明細書に記載の二官能性化合物によって分解されかつ/またはそうでなければ阻害される。本明細書において提供される化合物の非限定的な利点は、実質的にあらゆるタンパク質のクラスまたはファミリーからの標的ポリペプチドの分解/阻害に伴って、広範な薬理的活性が可能なことである。加えて、本記載は、がん、例えば、多発性骨髄腫などの疾患状態の治療または改善のために、有効量の本明細書に記載の化合物を使用する方法を提供する。

40

#### 【0013】

したがって、1つの局面では、本開示は本明細書に記載の新規なイミド系化合物を提供する。さらなる局面では、本開示は二官能性またはPROTAC化合物を提供し、該化合物はE3ユビキチンリガーゼ結合部分(すなわち、E3ユビキチンリガーゼのためのリガンドまたは「ULM」基)と標的タンパク質に結合する部分(すなわち、タンパク質/ポリペプチド標的リガンドまたは「PTM」基)とを、標的タンパク質/ポリペプチドがユビキチンリガーゼに近接して配置されてそのタンパク質の分解(および阻害)がもたらされるように、含む。特定

50

の態様では標的タンパク質/ポリペプチドは細胞内にある。

【0014】

非限定的な態様では、ULMはセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分(すなわち、「CLM」)である。例えば、二官能性化合物の構造はPTM-CLMとして表すことができる。本明細書において示されるPTMおよびCLM部分のそれぞれの位置およびそれらの数は例としてのみ提供され、化合物を限定することを何ら意図していない。当業者には理解されるように、本明細書に記載の二官能性化合物はそれぞれの官能性部分の数および位置が所望のように変更できるようにすることができる。

【0015】

特定の態様では、二官能性化合物は化学リンカー(「L」)をさらに含む。この例では、二官能性化合物の構造はPTM-L-CLMと表すことができ、式中、PTMはタンパク質/ポリペプチド標的指向部分であり、Lはリンカーであり、CLMはセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分である。

10

【0016】

特定の非限定的な態様では、E3ユビキチンリガーゼはセレブロンである。したがって、特定のさらなる態様では、二官能性化合物のCLMはイミド、アミド、チオアミド、チオイミド由来部分などの化学部分を含む。さらなる態様では、CLMはフタルイミド基またはその類縁体もしくは誘導体を含む。またさらなる態様では、CLMはフタルイミド-グルタルイミド基またはその類縁体もしくは誘導体を含む。また別の態様では、CLMはサリドマイド、レナリドミド、ポマリドミド、およびそれらの類縁体または誘導体からなる群のメンバーを含む。

20

【0017】

特定の態様では、本明細書に記載の化合物は複数のCLM、複数のPTM、複数の化学リンカーまたはそれらの組み合わせを含む。

【0018】

さらなる局面では、本記載は、有効量の本明細書に記載の化合物またはその塩形態と、薬学的に許容される担体とを含む、治療用組成物を提供する。治療用組成物は患者または対象、例えば、ヒトなどの動物におけるタンパク質分解を調節し、分解されたタンパク質を通じて調節される病態または状態を治療するかまたは改善するために用いることができる。特定の態様では、疾患、例えば、がんの治療または改善のための目的タンパク質の分解を達成するために、本明細書に記載の治療用組成物を用い得る。さらに別の局面では、本発明は細胞内の標的タンパク質をユビキチン化する/分解する方法を提供する。特定の態様では、方法は、本明細書において別途記載されるリンカー部分を通じて好ましく結合されたCLMおよびPTMを含む本明細書に記載の二官能性化合物を投与する工程を含み、CLMはPTMにカップリングされ、CLMはユビキチン経路タンパク質(例えば、ユビキチンリガーゼ、好ましくは、例えば、セレブロンなどのE3ユビキチンリガーゼ)を認識し、PTMは、標的タンパク質がユビキチンリガーゼの近傍に配置されると標的タンパク質の分解が起こり、よって標的タンパク質の影響の分解/阻害およびタンパク質レベルの制御をもたらすように標的タンパク質を認識する。本発明によって与えられるタンパク質レベルの制御は、患者の細胞におけるそのタンパク質のレベルを低下させることによって標的タンパク質を通じて調節される病態または状態の治療を提供する。

30

40

【0019】

さらなる局面では、本記載はCLMの結合親和性を評価する(すなわち、決定しかつ/または測定する)ための方法を提供する。特定の態様では、方法は、目的の試験物質または化合物、例えば、イミド部分、一例としては、フタルイミド基、フタルイミド-グルタルイミド基を有する物質または化合物、誘導体化サリドマイド、誘導体化レナリドミドまたは誘導体化ポマリドミドを準備する工程と、試験物質または化合物のセレブロン結合親和性および/または阻害活性を、セレブロンに結合しかつ/またはその活性を阻害することが公知の物質または化合物と比較する工程とを含む。

【0020】

50

さらに別の局面では、本記載は、対象または患者、例えば、ヒトなどの動物における疾患、障害またはその症状を治療するかまたは改善するための方法を提供し、方法は、その必要がある対象に、有効量、例えば、治療有効量の本明細書に記載の化合物またはその塩形態と薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与する工程を含み、組成物は、対象における疾患または障害またはその症状を治療するかまたは改善するために有効である。

【0021】

別の局面では、本記載は、本発明に係る化合物を用いて、生体システムにおける目的のタンパク質の分解の効果を特定するための方法を提供する。

【0022】

本発明は以下の非限定的な態様を含む。

10

【0023】

態様1：以下の化学構造を含む化合物、ならびにまたはその塩、溶媒和物、多形および/もしくは重水素化形態：

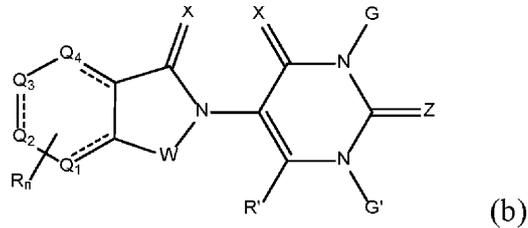
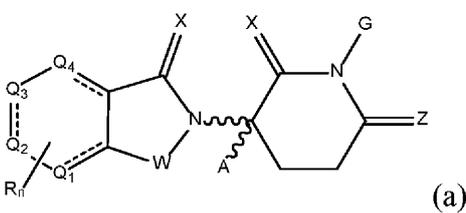
PTM-L-CLM

式中

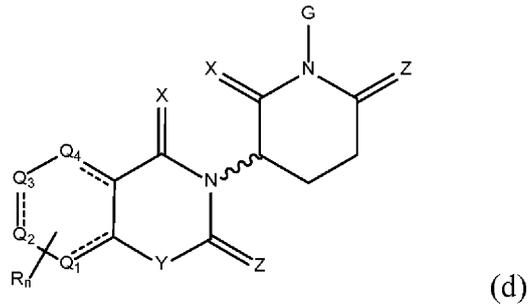
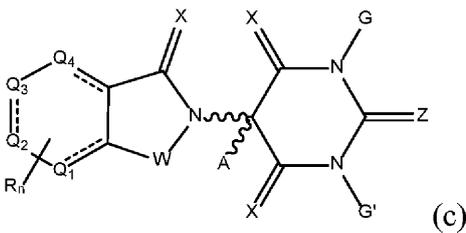
Lは結合であるかまたはPTMをCLMにカップリングさせる化学リンカーであり；

PTMは標的タンパク質またはポリペプチドに結合するタンパク質標的指向部分であり；

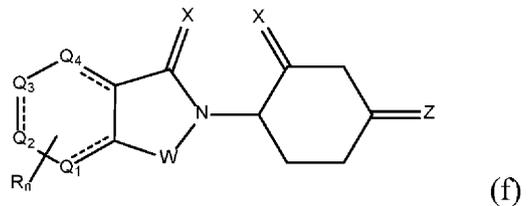
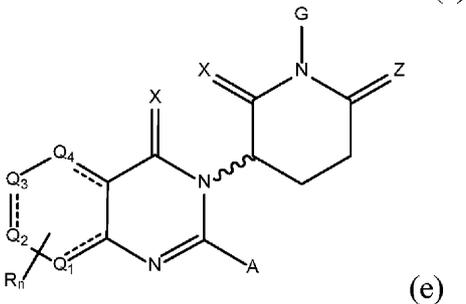
CLMは以下からなる群より選択される構造を含むセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分であり：



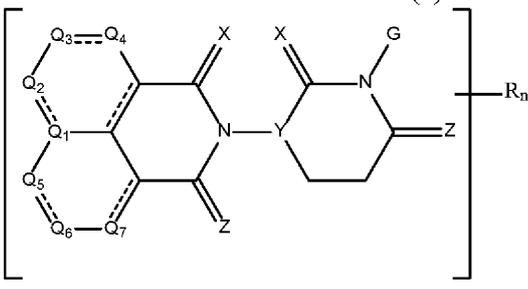
20



30



40



式中

Wは各出現時に、CH<sub>2</sub>、CHR、C=O、S(=O)<sub>2</sub>、NH、およびN-アルキルからなる群より独立し

50

て選択され；

Xは各出現時に、O、S、およびH<sub>2</sub>からなる群より独立して選択され；

Yは各出現時に、NH、N-アルキル、N-アリアル、N-ヘテロアリアル、N-シクロアルキル、N-ヘテロシクリル、O、およびSからなる群より独立して選択され；

Zは各出現時に、O、S、およびH<sub>2</sub>からなる群より独立して選択されるが、但しXおよびZは両方が同時にH<sub>2</sub>であることはできず；

GまたはG'は各出現時に、H、アルキル、OH、R'で置換されていてもよいCH<sub>2</sub>-ヘテロシクリル、およびR'で置換されていてもよいベンジルからなる群より独立して選択され；

Q<sub>1</sub>~Q<sub>7</sub>のそれぞれは、N、N-オキシド、ならびに、R'、NH<sub>2</sub>、OH、ハロ、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル、同じ環内の別のQ<sub>1</sub>~Q<sub>7</sub>基に結合したC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル、アセチル、およびカルボキシルからなる群より独立して選択される少なくとも1つで置換された炭素からなる群より独立して選択されるが、但し(a)各環は、NおよびN-オキシドに対応する群より選択される0~2個のQ<sub>1</sub>~Q<sub>7</sub>を有し；(b)1個のQ<sub>1</sub>~Q<sub>7</sub>基が、同じ所与の環内の不連続なQ<sub>1</sub>~Q<sub>7</sub>基に結合したC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルで置換された炭素である場合、所与の環は0~2個の不飽和結合を有し；

10

Aは各出現時に、H、アルキル、シクロアルキル、Cl、およびFからなる群より独立して選択され；

Rは各出現時に、-C(=O)NR'R''、-OR'、-NR'R''、-SR'、-S(=O)<sub>2</sub>R'、-S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-CR'R''、-CR'NR'R''、アリアル、ヘテロアリアル、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、-P(=O)(OR')R''、-P(=O)R'R''、-OP(=O)(OR')R''、-OP(=O)R'R''、-Cl、-F、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-CN、-NR'S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-NR'C(=O)NR'R''、-C(=O)NR'C(=O)R''、-NR'C(=N-CN)NR'R''、-C(=N-CN)NR'R''、-NR'C(=N-CN)R''、-NR'C(=C-NO<sub>2</sub>)NR'R''、-S(=O)<sub>2</sub>NR'C(=O)R''、-NO<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R'、-C(C=N-OR')R''、-CR'=CR'R''、-CCR'、-S(C=O)(C=N-R')R''、-SF<sub>5</sub>、および-OCF<sub>3</sub>からなる群より独立して選択され；

20

R'およびR''は各出現時に、結合、H、アルキル、シクロアルキル、アリアル、ヘテロアリアル、およびヘテロシクリルからなる群より独立して選択され；

nは各出現時に、1、2、3、および4からなる群より独立して選択され；



は、立体特異的((R)または(S))または非立体特異的であってもよい結合を表す。

【0024】

態様2：1つのRが、PTM、L、ULM、別の独立して選択されるCLM(またはCLM')、またはそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される少なくとも1つに共有結合するように修飾された、態様1記載の化合物。

30

【0025】

態様3：Wが各出現時にC=Oである、態様1~2のいずれか記載の化合物。

【0026】

態様4：XおよびZが各出現時にOである、態様1~3のいずれか記載の化合物。

【0027】

態様5：Aが各出現時にHである、態様1~4のいずれか記載の化合物。

【0028】

態様6：Gが各出現時にHである、態様1~5のいずれか記載の化合物。

40

【0029】

態様7：Q<sub>1</sub>~Q<sub>4</sub>のそれぞれが独立して、R'、NH<sub>2</sub>、OH、ハロ、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル、アセチル、およびカルボキシルからなる群より独立して選択される基で置換された炭素である、態様1~5のいずれか記載の化合物。

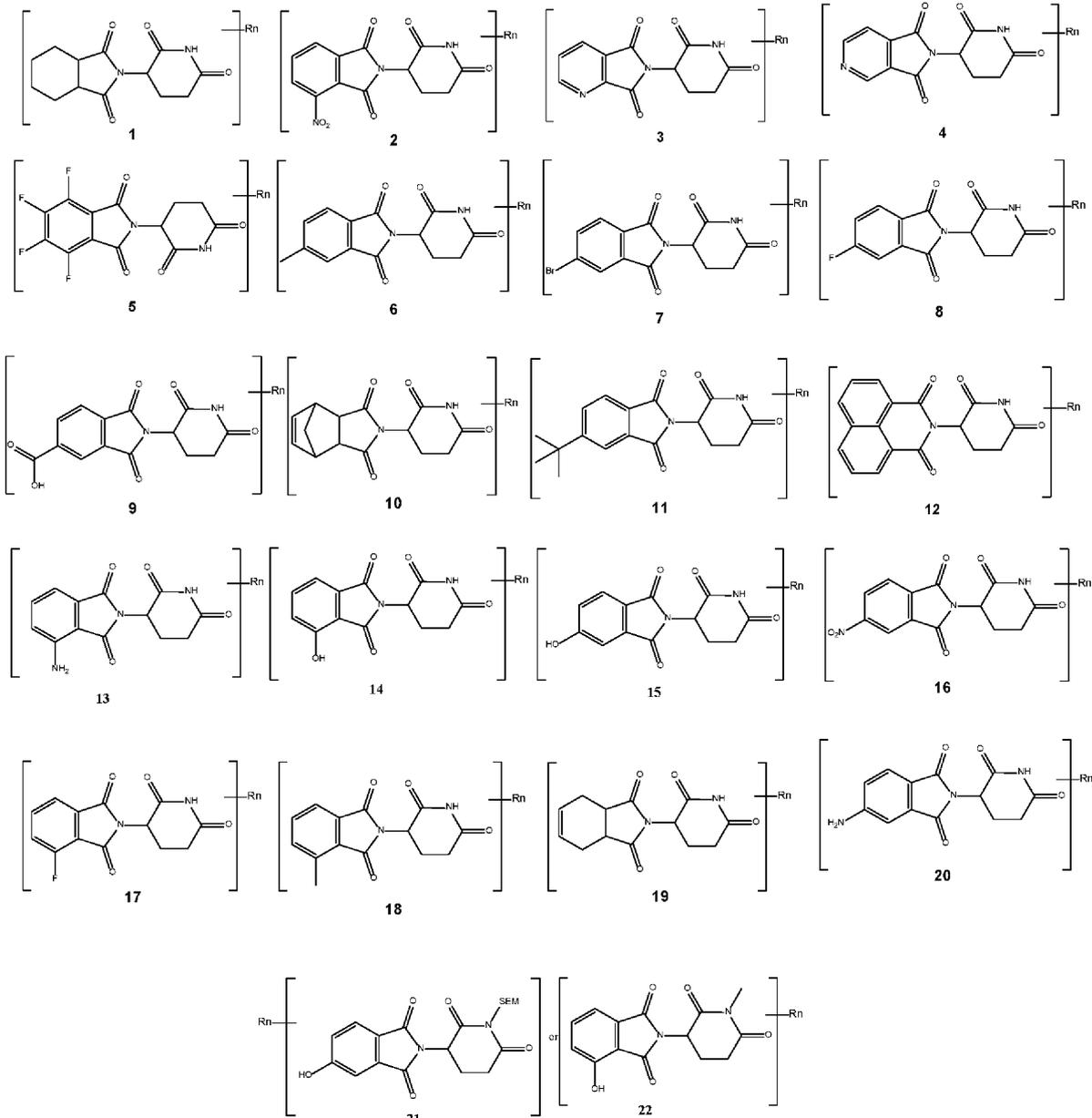
【0030】

態様8：Q<sub>1</sub>~Q<sub>4</sub>を含む環およびQ<sub>1</sub>、Q<sub>5</sub>~Q<sub>7</sub>を含む環が独立して、モノ、ジ、またはトリ不飽和(例えば、フェニルまたはピリジニルなど)である、態様1~7のいずれか記載の化合物。

【0031】

態様9：CLMが、

50



10

20

30

からなる群より選択される、態様1~8のいずれか記載の化合物。

【0032】

態様10：PTMが小分子である、態様1~9のいずれか記載の化合物。

【0033】

態様11：小分子PTMが、細胞内タンパク質またはポリペプチドを標的とする、態様1~10のいずれか記載の化合物。

【0034】

態様12：Lが $-(A^L)_q-$ であり、  
式中

40

qは1以上の整数であり；

各 $A^L_q$ は、結合、 $CR^{L1}R^{L2}$ 、O、S、 $S(=O)$ 、 $S(=O)_2$ 、 $NR^{L3}$ 、 $S(=O)_2NR^{L3}$ 、 $S(=O)NR^{L3}$ 、 $C(=O)NR^{L3}$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}$ 、 $NR^{L3}S(=O)_2NR^{L4}$ 、 $C(=O)$ 、 $CR^{L1}=CR^{L2}$ 、C、C、 $SiR^{L1}R^{L2}$ 、 $P(=O)R^{L1}$ 、 $P(=O)OR^{L1}$ 、 $NR^{L3}C(=NCN)NR^{L4}$ 、 $NR^{L3}C(=NCN)$ 、 $NR^{L3}C(=CNO_2)NR^{L4}$ 、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_3 \sim 11$ シクロアルキル、0~9個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_5 \sim 13$ スピロシクロアルキル、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_3 \sim 11$ ヘテロシクリル、0~8個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_5 \sim 13$ スピロヘテロシクロアルキル、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよいアリール、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていて

50

もよいヘテロアリアルからなる群より独立して選択され、ここで $R^{L1}$ または $R^{L2}$ はそれぞれ独立して、他の基に結合して、0~4個の $R^{L5}$ 基で置換されていてもよいシクロアルキルおよび/またはヘテロシクリル部分を形成してもよく；かつ

$R^{L1}$ 、 $R^{L2}$ 、 $R^{L3}$ 、 $R^{L4}$ および $R^{L5}$ はそれぞれ独立して、H、ハロ、 $C_{1-8}$ アルキル、 $OC_{1-8}$ アルキル、 $SC_{1-8}$ アルキル、 $NHC_{1-8}$ アルキル、 $N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $C_{3-11}$ シクロアルキル、アリアル、ヘテロアリアル、 $C_{3-11}$ ヘテロシクリル、 $OC_{1-8}$ シクロアルキル、 $SC_{1-8}$ シクロアルキル、 $NHC_{1-8}$ シクロアルキル、 $N(C_{1-8}$ シクロアルキル) $_2$ 、 $N(C_{1-8}$ シクロアルキル)( $C_{1-8}$ アルキル)、OH、 $NH_2$ 、SH、 $S(=O)_2C_{1-8}$ アルキル、 $P(=O)(OC_{1-8}$ アルキル)( $C_{1-8}$ アルキル)、 $P(=O)(OC_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $C-C-C_{1-8}$ アルキル、 $C-CH$ 、 $CH=CH(C_{1-8}$ アルキル)、 $C(C_{1-8}$ アルキル)= $CH(C_{1-8}$ アルキル)、 $C(C_{1-8}$ アルキル)= $C(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $Si(OH)_3$ 、 $Si(C_{1-8}$ アルキル) $_3$ 、 $Si(OH)(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $C(=O)C_{1-8}$ アルキル、 $CO_2H$ 、ハロゲン、CN、 $CF_3$ 、 $CHF_2$ 、 $CH_2F$ 、 $NO_2$ 、 $SF_5$ 、 $SO_2NHC_{1-8}$ アルキル、 $S(=O)_2N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $S(=O)NHC_{1-8}$ アルキル、 $S(=O)N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $C(=O)NHC_{1-8}$ アルキル、 $C(=O)N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $N(C_{1-8}$ アルキル) $C(=O)NH(C_{1-8}$ アルキル)、 $N(C_{1-8}$ アルキル) $C(=O)N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $NHC(=O)NH(C_{1-8}$ アルキル)、 $NHC(=O)N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $NHC(=O)NH_2$ 、 $N(C_{1-8}$ アルキル) $S(=O)_2NH(C_{1-8}$ アルキル)、 $N(C_{1-8}$ アルキル) $S(=O)_2N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、 $NHS(=O)_2NH(C_{1-8}$ アルキル)、 $NHS(=O)_2N(C_{1-8}$ アルキル) $_2$ 、および $NHS(=O)_2NH_2$ からなる群より選択される、

10

態様1~11のいずれか記載の化合物。

20

【0035】

態様13：Lが、 $-NR(CH_2)_n-$ (低級アルキル)-、 $-NR(CH_2)_n-$ (低級アルコキシル)-、 $-NR(CH_2)_n-$ (低級アルコキシル)- $OCH_2-$ 、 $-NR(CH_2)_n-$ (低級アルコキシル)- $(低級アルキル)-OCH_2-$ 、 $-NR(CH_2)_n-$ (シクロアルキル)- $(低級アルキル)-OCH_2-$ 、 $-NR(CH_2)_n-$ (ヘテロシクロアルキル)-、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (低級アルキル)- $O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (ヘテロシクロアルキル)- $O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ アリアル- $O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (ヘテロアリアル)- $O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (シクロアルキル)- $O-(ヘテロアリアル)-O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (シクロアルキル)- $O-$ アリアル- $O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (低級アルキル)-NH-アリアル- $O-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ (低級アルキル)- $O-$ アリアル- $CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ シクロアルキル- $O-$ アリアル-、 $-NR(CH_2CH_2O)_n-$ シクロアルキル- $O-(ヘテロアリアル)-$ 、 $-NR(CH_2CH_2)_n-$ (シクロアルキル)- $O-(ヘテロサイクル)-CH_2-$ 、 $-NR(CH_2CH_2)_n-$ (ヘテロサイクル)- $(ヘテロサイクル)-CH_2-$ 、 $-N(R_1R_2)-$ (ヘテロサイクル)- $CH_2$ からなる群より選択される基を含み、

30

式中

各リンカーの各nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり；

各Rは独立して、Hまたは低級アルキルであり；かつ

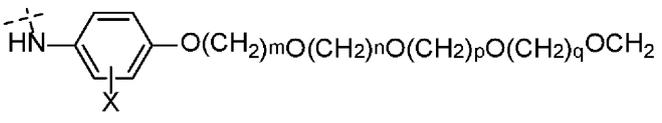
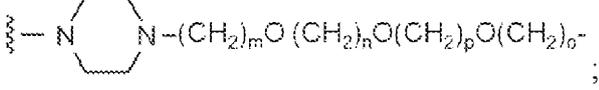
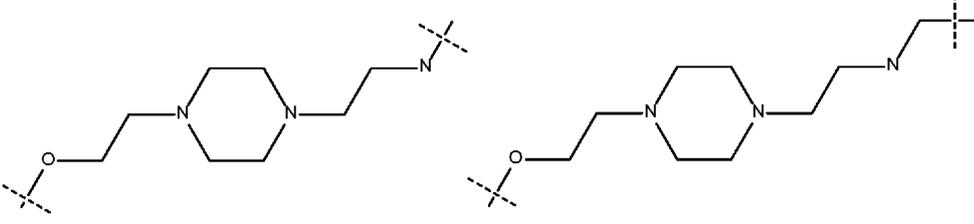
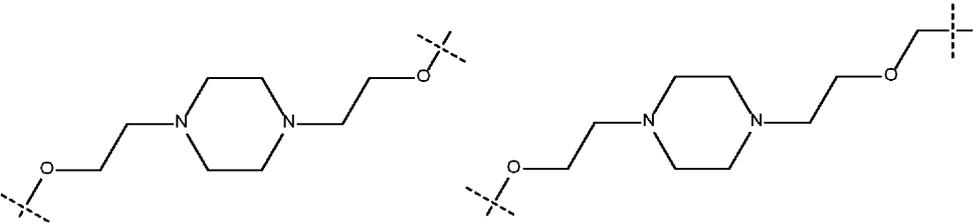
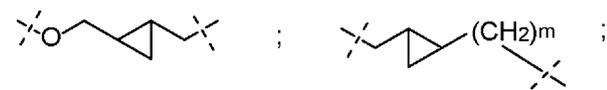
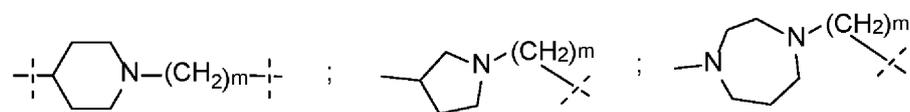
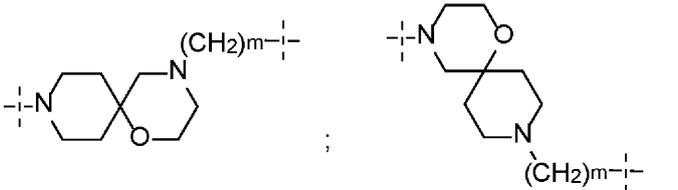
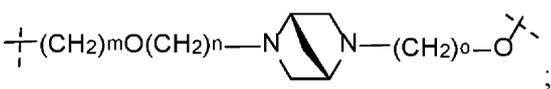
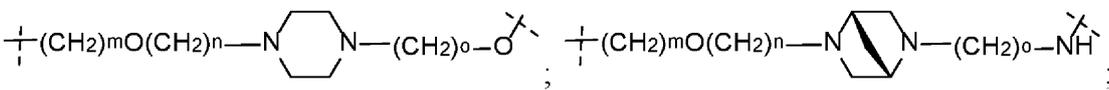
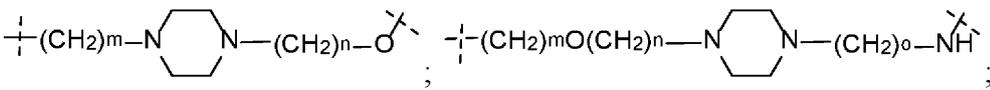
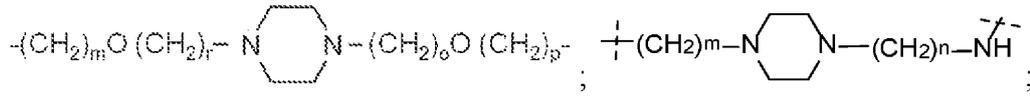
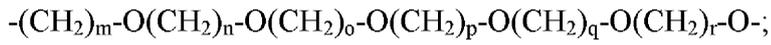
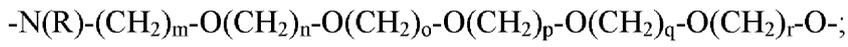
各リンカーの各 $R_1$ および $R_2$ は独立して、接続するNと環を形成することができる、

態様1~11のいずれか記載の化合物。

【0036】

態様14：Lが、  
 $-N(R)-(CH_2)_m-O(CH_2)_n-O(CH_2)_o-O(CH_2)_p-O(CH_2)_q-O(CH_2)_r-OCH_2-$ 、  
 $-O-(CH_2)_m-O(CH_2)_n-O(CH_2)_o-O(CH_2)_p-O(CH_2)_q-O(CH_2)_r-OCH_2-$ 、  
 $-O-(CH_2)_m-O(CH_2)_n-O(CH_2)_o-O(CH_2)_p-O(CH_2)_q-O(CH_2)_r-O-$ ；

40



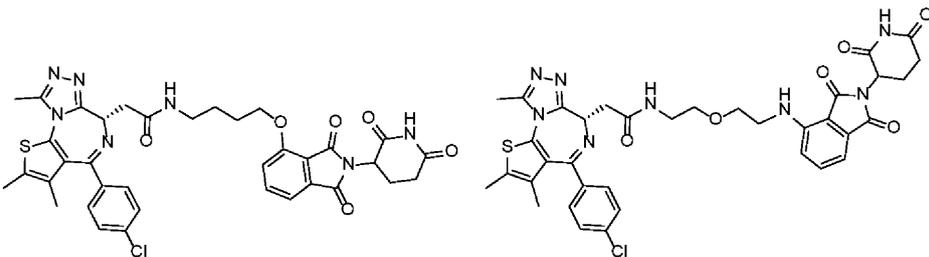
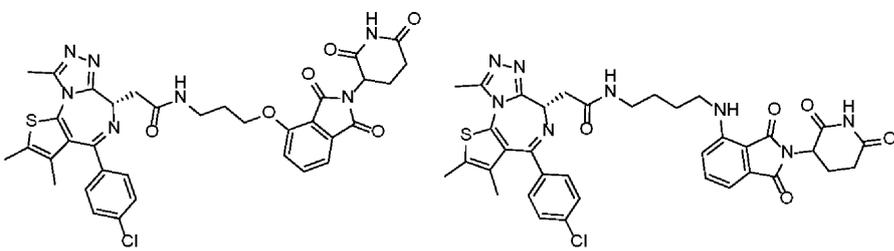
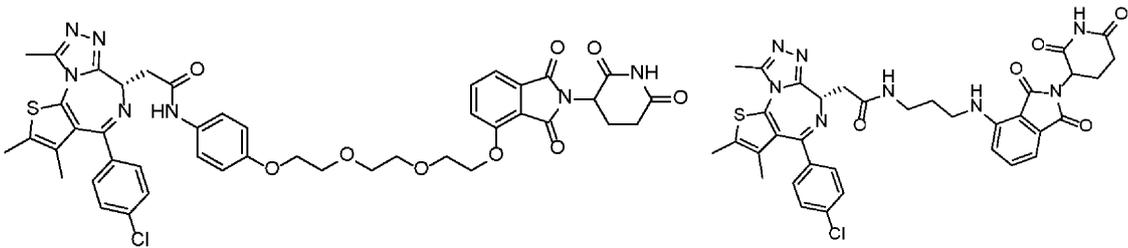
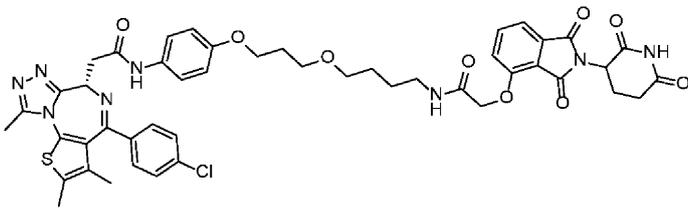
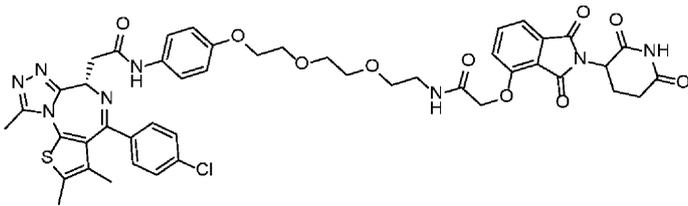
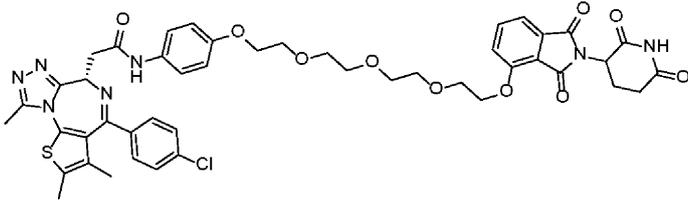
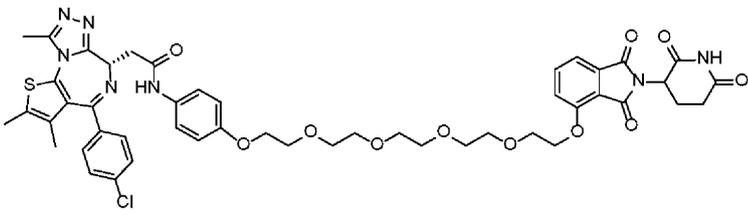
10

20

30

40



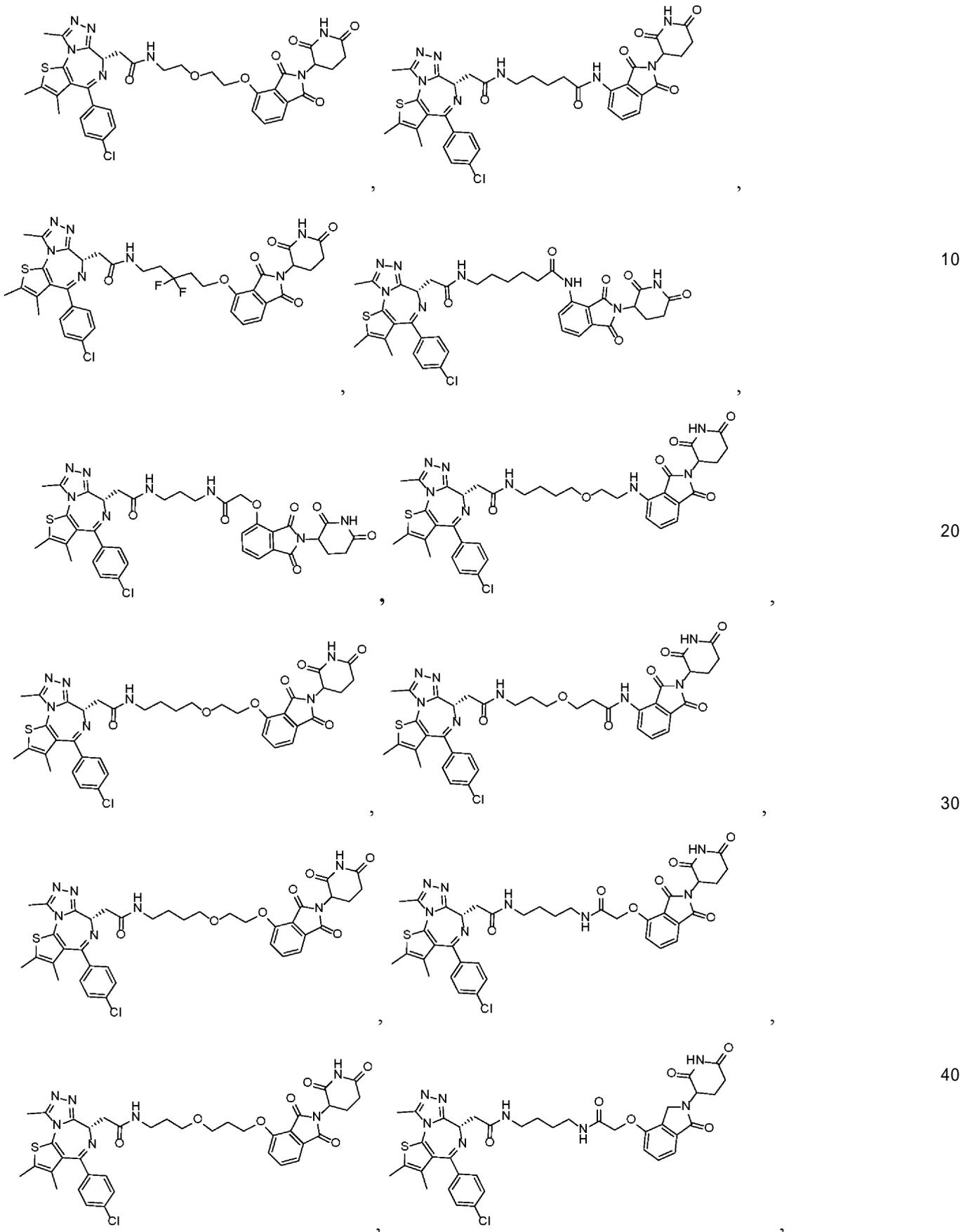


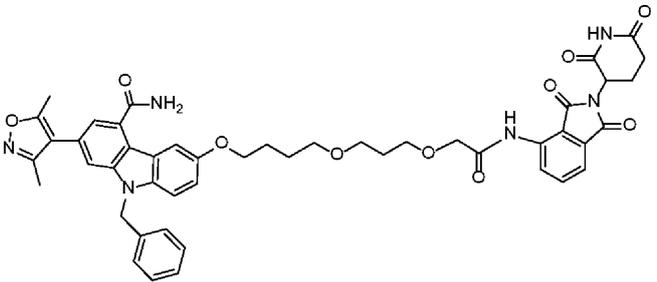
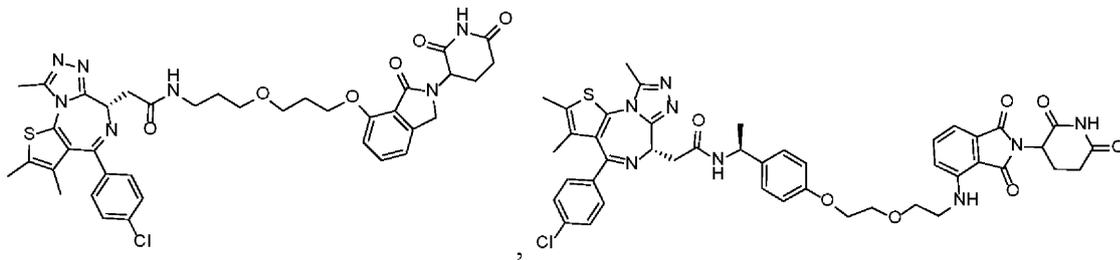
10

20

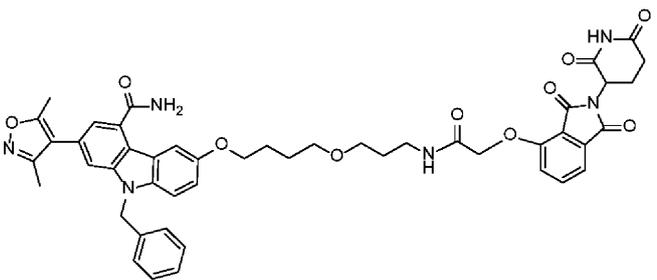
30

40

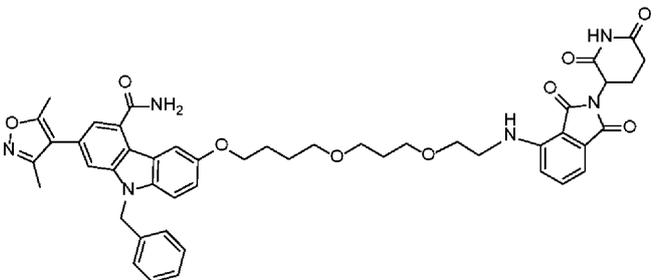




10



20



30

からなる群より選択される、態様1~14のいずれか記載の化合物。

【0038】

態様16：態様1~154のいずれか記載の化合物を含む、組成物。

【0039】

態様17：態様1~15のいずれか記載の化合物と、薬学的に許容される担体、添加剤、および/または賦形剤とを含む、薬学的組成物。

【0040】

態様18：細胞内の標的タンパク質の分解を誘導するための方法であって、以下の工程を含む、方法：

細胞を有効量の態様1~15のいずれか記載の化合物または態様16~17のいずれか記載の組成物と接触させる工程であって、該化合物または組成物が、細胞内の標的タンパク質を分解するのに有効である、工程。

40

【0041】

態様19：調節不全のタンパク質活性が病態または状態の原因である、対象における病態または状態を治療するための方法であって、以下の工程を含む、方法：

有効量の態様1~15のいずれか記載の化合物または態様16~17のいずれか記載の組成物を対象に投与する工程であって、これにより化合物または組成物がタンパク質の分解または阻害を促進する、工程。

【0042】

態様20：病態または状態ががんである、態様19記載の方法。

50

## 【 0 0 4 3 】

態様21：がんが、扁平上皮がん、基底細胞がん、腺がん、肝細胞がん、および腎細胞がん、膀胱、腸、乳房、子宮頸部、結腸、食道、頭部、腎臓、肝臓、肺、首、卵巣、膵臓、前立腺、および胃のがん；白血病；良性および悪性リンパ腫、特にパーキットリンパ腫および非ホジキンリンパ腫；良性および悪性黒色腫；骨髄増殖性疾患；多発性骨髄腫、ユーイング肉腫、血管肉腫、カポジ肉腫、脂肪肉腫、筋肉腫、末梢神経上皮腫、滑膜肉腫、神経膠腫、星細胞腫、乏突起神経膠腫、上衣腫、膠芽腫、神経芽細胞腫、神経節神経腫、神経節神経膠腫、髓芽腫、松果体細胞腫瘍、髄膜腫、髄膜肉腫、神経線維腫、およびシュワン腫を含む肉腫；腸がん、乳がん、前立腺がん、子宮頸がん、子宮がん、肺がん、卵巣がん、精巣腫瘍、甲状腺がん、星細胞腫、食道がん、膵臓がん、胃がん、肝がん、結腸がん、黒色腫；がん肉腫、ホジキン病、ウィルムス腫瘍、および奇形がん腫からなる群より選択される少なくとも1つである、態様19～20のいずれか記載の方法。

10

## 【 0 0 4 4 】

態様22：がんが、T系列急性リンパ芽球性白血病(T-ALL)、T系列リンパ芽球性リンパ腫(T-LL)、末梢性T細胞リンパ腫、成人T細胞白血病、前駆B細胞ALL、前駆B細胞リンパ腫、大細胞型B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、B細胞ALL、フィラデルフィア染色体陽性ALL、およびフィラデルフィア染色体陽性CMLからなる群より選択される少なくとも1つである、態様19～21のいずれか記載の方法。

## 【 0 0 4 5 】

態様23：対象が、病態または状態のために治療される必要がある、態様19～22のいずれか記載の方法。

20

## 【 0 0 4 6 】

本願は、いずれも「IMIDE-BASED MODULATORS OF PROTEOLYSIS AND ASSOCIATED METHODS OF USE(タンパク質分解のイミド系モジュレーターおよび関連する使用方法)」と題した2014年4月14日に出願の米国仮特許出願第61/979,351号および2015年6月4日に出願の米国仮特許出願第62/171,090号の優先権を主張する2015年4月14日に出願の米国非仮特許出願第14/686,640号に対応した、米国非仮特許出願公開第US20160058872A1号の開示を参照により組み入れる。

## 【 0 0 4 7 】

前記の概略的な利用領域は例示としてのみ与えられており、本開示および添付のクレームの範囲を限定することを意図していない。本発明の組成物、方法、およびプロセスに関連するさらなる目的および利点が本クレーム、記載、および実施例に照らして当業者には理解されるであろう。例えば、発明の様々な局面および態様は多くの組み合わせで利用されてもよく、それらはすべて本記載によって明示的に企図されている。これらのさらなる利点、目的および態様は本発明の範囲内に明示的に含まれる。発明の背景を明らかにするために、および特定の場合では実施に関するさらなる詳細を提供するために本明細書において用いられる刊行物および他の資料は参照により組み入れられる。

30

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 4 8 】

明細書に組み込まれかつ明細書の一部を形成する添付の図面は本発明のいくつかの態様を示しており、明細書の記載と併せて発明の原理を説明する役割を果たしている。図面は発明の態様を図示することのみを目的としており、発明を限定すると考えられるものではない。発明のさらなる目的、特徴および利点は発明の例示的な態様を示す添付の図面と合わせて以下の詳細な説明から明らかになるであろう。

40

## 【 0 0 4 9 】

【 図 1 】 図1A～1B：PROTAC機能の基本原理の図。(図1A)例示的なPROTACはタンパク質標的指向部分(PTM；色の濃い長方形)と、ユビキチンリガーゼ結合部分(ULM；色の薄い三角形)と、任意で、PTMをULMにカップリングさせるかまたはテザリングさせるリンカー部分(L；黒線)とを含む。(図1B)本明細書に記載のPROTACの機能的使用を示す。簡単に説明すると、ULMは特定のE3ユビキチンリガーゼを認識して結合し、PTMは標的タンパク質に結合して

50

これを動員してE3ユビキチンリガーゼに近接させる。典型的には、E3ユビキチンリガーゼはE2ユビキチン結合タンパク質と複合体を形成し、単独でまたはE2タンパク質を介して、イソペプチド結合を介した標的タンパク質上のリジンへのユビキチン(黒丸)の結合を触媒する。ポリユビキチン化タンパク質(右端)は次いで細胞のプロテオソーム機構による分解の標的となる。

【図2】図2: PROTACテクノロジーを利用して設計されたキメラ化合物A825。A825は、テトラオキサテトラデカンリンカーを通じてE3ユビキチンリガーゼセレブロン動員部分(ボマリドミドの誘導体)に接続したBRD4結合部分(OTX-15の誘導体)を含む。

【図3-1】図3A~3I: BL細胞株に対する小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)の細胞効果を示すウエスタンブロット画像である。JQ1およびOTX-15は用量依存的なNAMALWA細胞(図3A)およびRamos細胞(図3B)におけるBRD4の有意な蓄積につながる(NamalwaおよびRamos細胞をJQ1およびOTX15の用量を増加させて一晩処理し、溶解物を集め、BRD4およびアクチンに対する抗体を用いたイムノブロット分析に供した)。

10

【図3-2】図3A~3I: BL細胞株に対する小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)の細胞効果を示すウエスタンブロット画像である。OTX-15は用量依存的なCA-46細胞(図3C)およびDAUDI細胞(図3D)におけるBRD4の蓄積につながる(CA-46およびDAUDI細胞を0.1uMおよび0.3uMのOTX15で一晩処理し、溶解物を集め、BRD4およびアクチンに特異的な抗体を用いたイムノブロットで分析した)。

【図3-3】図3A~3I: BL細胞株に対する小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)の細胞効果を示すウエスタンブロット画像である。JQ1およびOTX-15はNAMALWA細胞(図3E)およびRamos細胞(図3F)におけるBRD4の有意な蓄積につながる(NamalwaおよびRamos細胞は示されたように0.3uMのJQ1またはOTX15で様々な時間処理し、溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノブロットによって分析した)。

20

【図3-4】図3A~3I: BL細胞株に対する小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)の細胞効果を示すウエスタンブロット画像である。(図3G)JQ1によるc-Myc抑制効果は可逆的であり; JQ-1およびOTXは両方ともMYC抑制につながり小分子BRD4阻害剤が下流のMYC抑制につながるが、効率的ではない; しかしながらより高い用量はさらなるMYCの下方制御を誘導しない(Namalwa細胞をJQ1およびOTX15の用量を増加させて一晩処理し、溶解物を集め、c-MYCおよびアクチンに対する抗体を用いたイムノブロットにより分析した)。

【図3-5】図3A~3I: BL細胞株に対する小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)の細胞効果を示すウエスタンブロット画像である。NAMALWA細胞(図3H)およびRamos細胞(図3I)におけるJQ1およびOTX-15によるc-Myc抑制効果は可逆的である。c-MYC抑制の喪失がBRD4阻害剤の中止後すぐに観察された(図3H: Namalwa細胞をJQ1(1.0uM)で24時間処理した後、3回洗浄して化合物を除去した。様々な時点での溶解物の収集のために細胞を再び播種し、負荷対照としての役割を果たすアクチンを用いたイムノブロットによりc-MYCレベルを決定した。図3I: Ramos細胞をJQ1(1.0uM)またはOTX15(1.0uM)で24時間処理した後、化合物を除去し、新たな培地に4時間再び播種した。溶解物をc-MYCおよびアクチン抗体によるイムノブロットに供した)。

30

【図4-1】図4A~4G: BL細胞株に対するA825の細胞効果を示すウエスタンブロット画像。A825によるBRD4分解はNAMALWA細胞(図4A)およびCA-46細胞(図4B)において用量依存的な釣鐘状の様式で起こる(NamalwaおよびCA-46細胞をA825の用量を増加させて一晩処理し、負荷対照としての役割を果たすアクチンを用いたイムノブロットにより溶解物のBRD4レベルを分析した)。

40

【図4-2】図4A~4G: BL細胞株に対するA825の細胞効果を示すウエスタンブロット画像。(図4C)および(図4D)A825によるBRD4分解は急速に起きる(NamalwaおよびRamos細胞を示した時点でA825(0.1uM)で処理し、溶解物を集め、BRD4およびアクチンに対する抗体を用いたイムノブロット分析に供した)。

【図4-3】図4A~4G: BL細胞株に対するA825の細胞効果を示すウエスタンブロット画像。(図4E)および(図4F)A825処理によって誘導されるBRD4分解はセレブロンに依存する(NamalwaおよびRamos細胞を様々な濃度のA825もしくはボマリドミド(10uM)、またはA825とボ

50

マリドミドとの組み合わせで一晩処理し；溶解物をBRD4およびアクチンについてイムノブロットにより分析した)。

【図4-4】図4A~4G：BL細胞株に対するA825の細胞効果を示すウエスタンブロット画像。(図4G)A825によるBRD4分解はプロテアソームによって媒介される(Namalwa細胞をA825(10nMおよび100nM)のみ、MG132(5μM)もしくはカルフィルゾミブ(5μM)のみ、またはA825とMG132またはカルフィルゾミブとの組み合わせで一晩処理し；溶解物をBRD4およびアクチンについてイムノブロットにより分析した)。

【図5-1】図5A~5F：A825、JQ1、およびOTX-15処理による細胞効果の比較。(図5A)および(図5B)A825によるc-Myc抑制はJQ1およびOTX-15よりも有意である(NamalwaおよびRamos細胞をA825(最大で1.0μMまで)またはJQ1(最大で10.0μMまで)またはOTX15(最大で10.0μMまで)で用量を増加させて一晩処理し；溶解物BRD4、c-MYCおよびアクチンについてイムノブロットにより分析した)。

【図5-2】図5A~5F：A825、JQ1、およびOTX-15処理による細胞効果の比較。(図5A)および(図5B)A825によるc-Myc抑制はJQ1およびOTX-15よりも有意である(NamalwaおよびRamos細胞をA825(最大で1.0μMまで)またはJQ1(最大で10.0μMまで)またはOTX15(最大で10.0μMまで)で用量を増加させて一晩処理し；溶解物BRD4、c-MYCおよびアクチンについてイムノブロットにより分析した)。

【図5-3】図5A~5F：A825、JQ1、およびOTX-15処理による細胞効果の比較。(図5C)c-Mycタンパク質レベルはJQ1およびOTX-15と比べてA825による処置後により長く抑制される(Namalwa細胞をA825(0.1μM)、JQ1(1.0μM)およびOTX15(1.0μM)で24時間処理した後、3回洗浄して化合物を除去し、様々な時点で新たな培地に再播種した。溶解物を集め、BRD4、c-MYC、およびアクチンについてイムノブロットにより分析し；タンパク質試料はBRD4、MYCのイムノブロット分析に供され；RNA試料はMYC下流遺伝子のRT-QPCR分析に供された)。

【図5-4】図5A~5F：A825、JQ1、およびOTX-15処理による細胞効果の比較。(図5D)、(図5E)および(図5F)c-Mycタンパク質機能(SLC19A1遺伝子発現により評価)は、JQ1およびOTX-15と比べて、A825による処理後により長く抑制される(Namalwa細胞を図5Bのように処理し、RNAを化合物除去の0、6および24時間後に抽出し、cDNAに逆転写し、GAPDHを内部標準としたSLC19A1特異的プライマーによるQPCRによって定量した)。

【図6-1】図6A~6H：A825、JQ1、およびOTX-15によるBL細胞株に対する抗増殖効果の比較。(図6A~6D)A825はJQ1およびOTX-15と比べてBL株に対して優れた抗増殖効果を有する(異なるBL細胞株を細胞50000個/100μlで96ウェルプレートに播種し、A825、JQ1およびOTX15の用量を増加させて処理し；相対的な増殖を72時間後にCTGアッセイによって決定した)。

【図6-2】図6A~6H：A825、JQ1、およびOTX-15によるBL細胞株に対する抗増殖効果の比較。(図6E)A825はJQ1およびOTX-15と比べてより長期の増殖抑制につながる(Namalwa細胞をA825(0.1μM)、JQ1(1.0μM)およびOTX15(1.0μM)で24時間処理した後、3回洗浄して化合物を除去し、96ウェルプレート中の新たな培地に再播種し、相対増殖を再播種後24時間および48時間でCTGアッセイによって決定した)。

【図6-3】図6A~6H：A825、JQ1、およびOTX-15によるBL細胞株に対する抗増殖効果の比較。(図6F)ポマリドミドにより細胞は低用量A825処理の抗増殖効果を免れる。(図6G)ポマリドミドにより細胞は高用量A825処理の抗増殖効果を部分的に免れる。異なるBL細胞株をA825(10nMまたは100nM)のみ、またはポマリドミド(1.0μMまたは10.0μM)と合わせて72時間処理し、相対細胞増殖をCTGアッセイで決定した)。

【図6-4】図6A~6H：A825、JQ1、およびOTX-15によるBL細胞株に対する抗増殖効果の比較。(図6H)ポマリドミドのみではBL細胞増殖に対して有意な効果を有さない(異なるBL細胞株を、ポマリドミドの用量を増加させて(最大で10.0μMまで)72時間処理し、相対増殖をCTGアッセイによって決定した)。

【図7A】図7A~7B：A825、JQ1、およびOTX-15処理によるBL細胞に対するアポトーシス効果の比較。(図7A)A825はJQ1およびOTX-15(カスパーゼアッセイ；24時間処理)と比べて、BL細胞において、より有意なアポトーシス誘導(カスパーゼ活性によってモニタリング

10

20

30

40

50

される)につながる。

【図7B】図7A～7B：A825、JQ1、およびOTX-15処理によるBL細胞に対するアポトーシス効果の比較。(図7B)A825はJQ1およびOTX-15(24時間処理)と比べて、BL細胞において、より有意なアポトーシス誘導(PARP切断によってモニタリングされる)につながる。

【図8A】図8A～8B：A825処理によるBRD4分解の作用機序モデルを示す模式図。(図8A)低濃度のA825で処理された細胞はBRD4およびセレブロンに効果的に結合して「BRD4-A825-セレブロン」三量体複合体を形成し、これは細胞内での効率的なBRD4分解を促進する。

【図8B】図8A～8B：A825処理によるBRD4分解の作用機序モデルを示す模式図。(図8B)高濃度のA825で処理された細胞は「BRD4-A825」および「A825-セレブロン」二量体を形成し、これらは最適な三量体形成およびBRD4分解を妨げる。A825はBRD4-A825-セレブロン三量体の形成を通じてBRD4の効率的な分解につながる。

【図9】図9A～9B：選択した化合物の細胞評価。(図9A) - ウエスタンブロッティングによって評価され、チューブリンに対して正規化された、示された用量での24時間の処理後のMM1S細胞における正規化されたAiolosレベル。(図9B) - MTSアッセイによって測定された、72時間後の選択された化合物の細胞増殖の阻害。

【発明を実施するための形態】

【0050】

詳細な説明

以下は、当業者が本発明を実施するのを支援するために提供される詳細な説明である。当業者であれば、本開示の精神または範囲から逸脱することなく、本明細書に記載の態様に修正および変更を加え得る。本明細書において言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、図面および他の参考文献は明示的にそれらの全体において参照により組み入れられる。

【0051】

本記載は、イミド系化合物を含む二官能性化合物を包含するイミド系化合物、および関連する使用方法を提供する。二官能性化合物は、特に、本発明に係る二官能性化合物によって分解されかつ/またはそうでなければ阻害される様々なポリペプチドおよびその他のタンパク質に関して、標的とされたユビキチン化のモジュレーターとして有用である。

【0052】

E3ユビキチンリガーゼタンパク質、例えば、セレブロンと、標的タンパク質とが、E3ユビキチンリガーゼタンパク質と標的タンパク質とを結合する二官能性またはキメラ構築物によって近接して配置されると、E3ユビキチンリガーゼタンパク質が標的タンパク質をユビキチン化する、という驚くべきかつ予想外の発見に関連する組成物および方法を今回記載する。したがって、本発明は、タンパク質標的結合部分(「PTM」)にカップリングしたE3ユビキチンリガーゼ結合部分(「ULM」)を含むそのような化合物および組成物を提供し、これらは選択された標的タンパク質のユビキチン化をもたらし、これはプロテアソームによる標的タンパク質の分解につながる(図1A～1Bを参照されたい)。本発明は組成物のライブラリーおよびそれを使用する方法も提供する。

【0053】

特に定義した場合を除いて、本明細書において用いられるすべての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって通常は解釈されるのと同じ意味を有する。本記載において用いられる用語は特定の態様を説明するためのみのものであり発明を限定することを意図していない。

【0054】

値の範囲が提供されている場合には、文脈から明らかにそうでないことが規定されていない限り、その範囲の上限と下限の間に存在する、下限の単位の10分の1までの各値(例えば、複数の炭素原子を含む基の場合であり、この場合ではその範囲内にある各炭素原子数が提供される)、およびその記載の範囲内の他の記載の値または間に存在する値が、発明の範囲内に包含されると理解される。これらのより小さな範囲の上限および下限が独立して本発明に包含されてもよく、記載された範囲内の任意の具体的に除外される境界値とな

10

20

30

40

50

る。記載の範囲が境界値の一方または両方を含む場合、それら含まれる境界値のいずれかまたは両方を除外する範囲も本発明に含まれる。

【0055】

本発明を説明するために以下の用語を用いる。本明細書において用語が具体的に定義されていない場合、その用語には、本発明を説明する際に文脈において該用語の使用に関連して該用語を適用する当業者によって当技術分野において認識されている意味が与えられる。

【0056】

本明細書においてかつ添付のクレームにおいて用いる冠詞「1つの(a)」および「1つの(an)」は、文脈が明らかにそうでないことを示していない限り、その冠詞の文法上の目的語の1つまたは複数(すなわち、少なくとも1つ)を指す。例を挙げると、「要素(an element)」は1つの要素または1つより多い要素を意味する。

10

【0057】

明細書およびクレームにおいてここで用いるように、「および/または」という表現は、そのように繋がった要素の「いずれかまたは両方」、すなわち、いくつかの場合では繋がって存在し、別の場合では離れて存在する要素を意味すると理解すべきである。「および/または」を用いて列挙された複数の要素は同様に、すなわち、そのように繋がった要素の「1つまたは複数」と解釈すべきである。「および/または」節によって具体的に特定される要素以外の他の要素が、具体的に特定された要素に関連しているかどうかに関わらず、任意で存在してもよい。よって、非限定的な例として、「含む」などのオープンエンドの表現と組み合わせて用いられた場合、「Aおよび/またはB」への言及は1つの態様ではAのみを指し(任意でB以外の要素を含む);別の態様ではBのみを指し(任意でA以外の要素を含む);さらに別の態様ではAおよびBの両方を指し(任意で他の要素を含む)得る。

20

【0058】

明細書およびクレームにおいてここで用いるように、「または」は、上に規定する「および/または」と同じ意味を有すると理解すべきである。例えば、リスト中の項目を分ける場合、「または」または「および/または」は包括的である、すなわち複数のまたはリストの要素の少なくとも1つを含むがまた1つより多くのもも含み、場合によっては、付加的なリストされていない要素も含むと解釈されるものとする。そうでないことが明確に示されている用語、例えば、「~の1つのみ」または「~の厳密に1つ」または請求項において使用された場合は「~からなる」のみが、多数のまたはリストの要素のうちの厳密に1つを含むことを意味する。概して、本明細書において用いる「または」という用語は、「どちらか」、「~の1つ」、「~の1つのみ」または「~の厳密に1つ」などの排他的な用語が先行する場合にのみ排他的な選択肢(すなわち、「いずれか1つ、だが両方ではない」)を示すと解釈されるものとする。

30

【0059】

上の明細書中と同様に、クレームでは、「含む(comprising)」、「含む(including)」、「担持する(carrying)」、「有する(having)」、「含有する(containing)」、「伴う(involve)」、「保持する(holding)」、「~から構成される(composed of)」などの移行句はいずれもオープンエンドである、すなわち、~を非限定的に含む、ということの意味すると理解されたい。「~からなる(consisting of)」および「~から実質的になる(consisting essentially of)」という移行句のみが、それぞれ、米国特許商標庁特許審査便覧第2111.03章に記載のクローズドエンドおよびセミクローズドエンドの移行句であるものとする。

40

【0060】

明細書およびクレームにおいてここで用いるように、1つまたは複数の要素のリストに関連する「少なくとも1つ」という表現は、要素のリストにおけるいずれか1つまたは複数の要素から選択される少なくとも1つの要素を意味すると理解すべきであるが、必ずしも要素のリストのうちの特にリストしたすべての要素のうちの少なくとも1つを含むものではなく、要素のリストにおける要素の任意の組み合わせを除外するものではない。この規

50

定はまた、「少なくとも1つ」という表現が指す要素のリスト内で具体的に特定される要素以外の要素が、具体的に特定された要素に関連しているかどうかに関わらず、任意で存在してもよいことを許容する。よって、非限定的な例としては、「AおよびBの少なくとも1つ」(または同様に「AまたはBの少なくとも1つ」または同様に「Aおよび/またはBの少なくとも1つ」)は、1つの態様では、任意で1つより多いAを含む少なくとも1つのAが存在し、Bが存在しない(かつ、任意でB以外の要素を含む)こと；別の態様では、任意で1つより多いBを含む少なくとも1つのBが存在し、Aが存在しない(かつ、任意でA以外の要素を含む)こと；さらに別の態様では、任意で1つより多いAを含む少なくとも1つのAが存在し、任意で1つより多いBを含む少なくとも1つのBが存在する(かつ、任意で他の要素を含む)こと；などを指し得る。

10

**【0061】**

1つを超える工程または行為を含む本明細書に記載の特定の方法では、文脈がそうでないことが示している場合を除いて、方法の工程または行為の順序は必ずしも方法の工程または行為が記載された順序に限定されないということも理解すべきである。

**【0062】**

「共投与」および「共投与すること」または「併用療法」という用語は、治療剤が患者中にある程度、好ましくは有効量で同時に存在する限り、同時投与(2つ以上の治療剤の同時の投与)および時間差投与(1つまたは複数の治療剤の、さらなる治療剤の投与とは異なる時間での投与)の両方を指す。特定の非限定的な局面では、本明細書に記載の本発明の化合物のうちの1つまたは複数が、特に抗がん剤を含む少なくとも1つのさらなる生理活性剤と組み合わせて共投与される。特に非限定的な局面では、化合物の共投与は抗がん活性を含む相乗的な活性および/または治療をもたらす。

20

**【0063】**

「化合物」という用語は、本明細書において用いられるように、特に示した場合を除いて、本明細書において開示される任意の特定の化合物を指し、互変異性体、位置異性体、幾何異性体、および適用可能な場合にはそれらの光学異性体(エナンチオマー)および他の立体異性体(ジアステレオマー)を含む立体異性体や、文脈上適用可能な場合は薬学的に許容される塩および誘導体(プロドラッグ形態を含む)を含む。文脈におけるその使用の範囲内では、「化合物」という用語は概して単一の化合物を指すが、立体異性体、位置異性体および/または光学異性体(ラセミ混合物を含む)や開示の化合物の特定のエナンチオマーまたはエナンチオマー的に濃縮された混合物などの他の化合物を含んでもよい。この用語は、文脈によっては、活性部位への化合物の投与および送達を容易にするように修飾された化合物のプロドラッグ形態も指す。本化合物を記載する際には、とりわけ、それに関連する多数の置換基および変数が記載されていることに留意されたい。本明細書に記載の分子は下に概略的に記載されているような安定な化合物であることが当業者には理解される。結合が示されている場合、示されている化合物の文脈内では二重結合および単結合の両方が示されている。

30

**【0064】**

「ユビキチンリガーゼ」という用語は、特定の基質タンパク質へのユビキチンの移動を容易にして、分解のために基質タンパク質を標的とするタンパク質のファミリーを指す。例えば、セレプロンは、単独でまたはE2ユビキチン結合酵素と組み合わせて、標的タンパク質上のリジンへのユビキチンの結合を引き起こし、その後プロテアソームによる分解のために特定のタンパク質基質を標的とするE3ユビキチンリガーゼタンパク質である。よって、E3ユビキチンリガーゼ単独またはE2ユビキチン結合酵素との複合体は、標的タンパク質へのユビキチンの移行を担っている。概して、ユビキチンリガーゼは、第2ユビキチンが第1ユビキチンに結合し、第3ユビキチンが第2ユビキチンに結合するというようなポリユビキチン化に関与している。ポリユビキチン化はプロテアソームによる分解のためにタンパク質をマーキングする。しかしながら、単一のユビキチンのみがユビキチンリガーゼによって基質分子に付加されるモノユビキチン化に限定されたユビキチン化事象も存在する。モノユビキチン化タンパク質は分解のためにプロテアソーム向けに標的とされるので

40

50

はなく、その代わりに、例えば、ユビキチンを結合することができるドメインを有する他のタンパク質と結合することを介して、それらの細胞内位置または機能が改変され得る。さらに問題を複雑にしているのは、ユビキチン上の異なるリジンがE3の標的となって鎖を形成できることである。最も一般的なリジンはユビキチン鎖上のLys48である。これはプロテアソームによって認識されるポリユビキチンを形成するために用いられるリジンである。

【0065】

「患者」または「対象」という用語は、本発明に係る組成物による、予防的治療を含む治療が提供される動物、好ましくはヒトまたは家畜化動物を説明するために明細書全体を通して用いられる。ヒト患者などの特定の動物に特異的な感染症、状態または病態の治療については、「患者」という用語は犬もしくは猫などの家畜化動物または馬、雌牛、羊などの農場動物を含むその特定の動物を指す。概して、本発明において、患者という用語は、用語の使用の文脈から特に記載または暗示がない限りヒト患者を指す。

10

【0066】

「有効な」という用語は、その意図された使用の文脈で用いられた場合に、意図された結果をもたらす化合物、組成物または成分の量を説明するために用いられる。有効という用語は、本願において記載されるかまたは用いられるすべての他の有効量または有効濃度の用語を包含する。

【0067】

化合物および組成物

20

1つの局面では、本記載は、セレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分(「CLM」)であるE3ユビキチンリガーゼ結合部分(「ULM」)を含む化合物を提供する。1つの態様では、CLMは次の構造に従って、化学リンカー(L)にカップリングされ：

(I) L-CLM

式中、Lは化学リンカー基であり、CLMはセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分である。本明細書において示されている化合物中の部分の数および/または相対位置は例示としてのみ提供される。当業者には理解されるように、本明細書に記載の化合物は、任意の所望の数および/または相対位置のそれぞれの機能的部分を用いて合成することができる。

【0068】

ULMおよびCLMという用語は、文脈がそうでないことが示している場合を除いて、それらの包括的意味で用いられる。例えば、ULMという用語は、セレブロンに結合するもの(すなわち、CLM)を含むすべてのULMを包含する。さらに、CLMという用語はすべての可能なセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分を包含する。

30

【0069】

別の局面では、本発明は、標的タンパク質の分解を誘導することによってタンパク質活性を調節するのに有用な二官能性または多官能性PROTAC化合物を提供する。特定の態様では、化合物は、標的タンパク質に結合する部分(すなわち、タンパク質標的指向部分または「PTM」)に直接的または間接的にカップリングした、例えば、共有結合したCLMを含む。特定の態様では、CLMおよびPTMは化学リンカー(L)を介して連結されるかまたはカップリングされる。CLMはセレブロンE3ユビキチンリガーゼを認識し、PTMは標的タンパク質を認識し、各々の部分とその標的との相互作用が、標的タンパク質をユビキチンリガーゼタンパク質の近傍に配置することによって標的タンパク質の分解を容易にする。例示的な二官能性化合物は次のように表すことができる：

40

(II) PTM-CLM。

【0070】

特定の態様では、二官能性化合物は化学リンカー(「L」)をさらに含む。例えば、二官能性化合物は次のように表すことができる：

(III) PTM-L-CLM

式中、PTMはタンパク質/ポリペプチド標的指向部分であり、Lはリンカーであり、CLMはセレブロンE3リガーゼ結合部分である。

50

## 【0071】

特定の態様では、本明細書に記載の化合物は、複数のPTM(同じまたは異なるタンパク質標的を標的とする)、複数のCLM、1つまたは複数のULM(すなわち、別のE3ユビキチンリガーゼに特異的に結合する部分、例えば、VHL)またはそれらの組み合わせを含む。本明細書に記載の態様の局面のいずれかにおいて、PTM、CLM、およびULMは直接的に、または1つもしくは複数の化学リンカーまたはそれらの組み合わせを介して、カップリングできる。さらなる態様では、化合物が複数のULMを有する場合、ULMは同じE3ユビキチンリガーゼのためのものであり得るか、または各それぞれのULMは異なるE3ユビキチンリガーゼに特異的に結合し得る。さらに別の態様では、化合物が複数のPTMを有する場合、PTMは同じ標的タンパク質に結合し得るか、または各それぞれのPTMは異なる標的タンパク質に特異的に結合し得る。

10

## 【0072】

別の態様では、本記載は、直接的にまたは化学リンカー部分(L)を介してカップリングした複数のCLMを含む化合物を提供する。例えば、CLMを2つ有する化合物は次のように表すことができる：

(IV) CLM-CLM、または

(V) CLM-L-CLM。

## 【0073】

化合物が複数のCLMを含む特定の態様では、CLMは同一である。さらなる態様では、複数のCLMを含む化合物は、直接的にまたは化学リンカー(L)を介してまたはその両方でCLMにカップリングした少なくとも1つのPTMをさらに含む。特定のさらなる態様では、複数のCLMを含む化合物は複数のPTMをさらに含む。またさらなる態様では、PTMは同じであるか、または異なってもよい。また別の態様では、PTMが異なる場合、それぞれのPTMは同じタンパク質標的に結合するかまたは異なるタンパク質標的に特異的に結合してもよい。

20

## 【0074】

さらなる態様では、本記載は、直接的にまたは化学リンカー(L)を介してまたはその両方でカップリングした少なくとも2つの異なるCLMを含む化合物を提供する。例えば、2つの異なるCLMを有するそのような化合物は次のように表すことができ：

(VI) CLM-CLM'、または

(VII) CLM-L-CLM'

30

式中、CLM'はCLMと構造的に異なるセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分を表す。特定の態様では、化合物は複数のCLMおよび/または複数のCLM'を含んでもよい。さらなる態様では、少なくとも2つの異なるCLM、複数のCLM、および/または複数のCLM'を含む化合物は、直接的にまたは化学リンカーを介してまたはその両方でCLMまたはCLM'にカップリングした少なくとも1つのPTMをさらに含む。本明細書に記載の態様のいずれかにおいて、少なくとも2つの異なるCLMを含む化合物は複数のPTMをさらに含むことができる。またさらなる態様では、PTMは同じであるか、または異なってもよい。また別の態様では、PTMが異なる場合、それぞれのPTMは同じタンパク質標的に結合するかまたは異なるタンパク質標的に特異的に結合してもよい。また別の態様では、PTM自体がULMもしくはCLM(またはULM'もしくはCLM')である。

40

## 【0075】

非限定的な態様では、CLMはセレブロンE3ユビキチンリガーゼ(CRBN)のリガンドである部分を含む。特定の態様では、CLMは「イミド」クラスの分子からの化学型を含む。特定のさらなる態様では、CLMはフタルイミド基またはその類縁体もしくは誘導体を含む。またさらなる態様では、CLMはフタルイミド-グルタルイミド基またはその類縁体もしくは誘導体を含む。また別の態様では、CLMはサリドマイド、レナリドミド、ポマリドミド、およびそれらの類縁体または誘導体からなる群のメンバーを含む。

## 【0076】

さらなる態様では、本記載は、本明細書に記載の化合物であって、それらのエナンチオマー、ジアステレオマー、溶媒和物および多形を含む化合物を提供し、それらの薬学的に

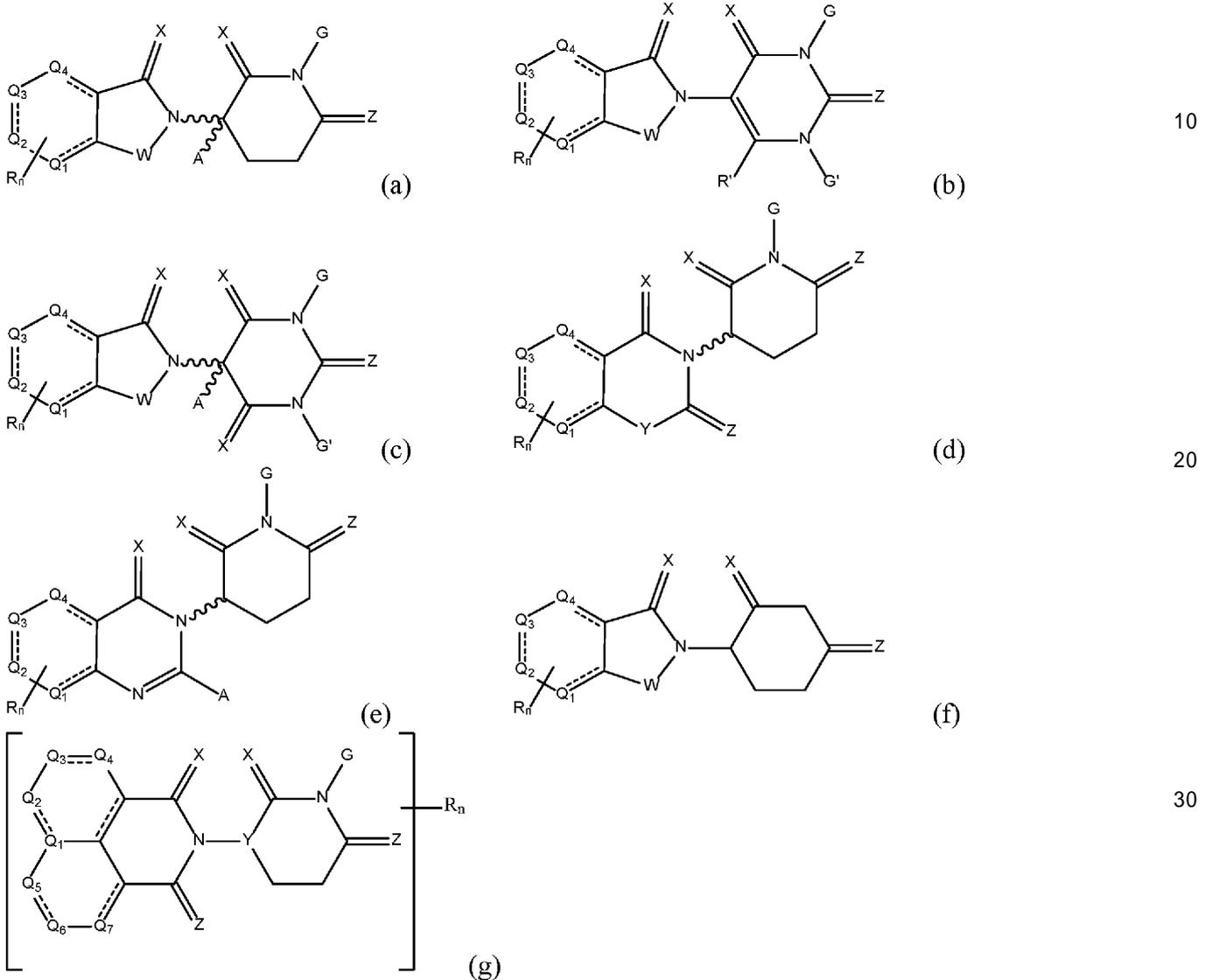
50

許容される塩形態、例えば、酸および塩基塩形態が含まれる。

【0077】

新規イミド化合物

1つの局面では、本記載はセレブロンに結合しかつ/またはこれを阻害するために有用な化合物を提供する。特定の態様では、化合物ならびにまたはその塩、溶媒和物、多形および/もしくは重水素化形態は次の構造に係る：



式中

Wは各出現時に、 $\text{CH}_2$ 、CHR、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{S}(=\text{O})_2$ 、NH、およびN-アルキルからなる群より独立して選択され；

Xは各出現時に、O、S、および $\text{H}_2$ からなる群より独立して選択され；

Yは各出現時に、NH、N-アルキル、N-アリール、N-ヘテロアリール、N-シクロアルキル、N-ヘテロシクリル、O、およびSからなる群より独立して選択され； 40

Zは各出現時に、O、S、および $\text{H}_2$ からなる群より独立して選択されるが、但しXおよびZは両方が同時に $\text{H}_2$ であることはできず；

GまたはG'は各出現時に、H、アルキル、OH、R'で置換されていてもよい $\text{CH}_2$ -ヘテロシクリル、およびR'で置換されていてもよいベンジルからなる群より独立して選択され；

$\text{Q}_1 \sim \text{Q}_7$ のそれぞれは、N、N-オキシド、ならびに、R'、 $\text{NH}_2$ 、OH、ハロ、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、同じ環内の別の $\text{Q}_1 \sim \text{Q}_7$ 基に結合した $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、アセチル、およびカルボキシルからなる群より独立して選択される少なくとも1つで置換された炭素からなる群より独立して選択されるが、但し(a)各環は、NおよびN-オキシドに対応する群より選択される0~2個の $\text{Q}_1 \sim \text{Q}_7$ を有し；(b)1個の $\text{Q}_1 \sim \text{Q}_7$ 基が、同じ所与の環内の不連続な $\text{Q}_1 \sim \text{Q}_7$ 基に結合した $\text{C}_1$  50

~C<sub>6</sub>アルキルで置換された炭素である場合、所与の環は0~2個の不飽和結合を有し；

Aは各出現時に、H、アルキル、シクロアルキル、Cl、およびFからなる群より独立して選択され；

Rは各出現時に、-C(=O)NR'R''、-OR'、-NR'R''、-SR'、-S(=O)<sub>2</sub>R'、-S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-C R'R''-、-CR'NR'R''-、アリール、ヘテロアリール、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、-P(=O)(OR')R''、-P(=O)R'R''、-OP(=O)(OR')R''、-OP(=O)R'R''、-Cl、-F、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-CN、-NR'S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-NR'C(=O)NR'R''、-C(=O)NR'C(=O)R''、-NR'C(=N-CN)NR'R''、-C(=N-CN)NR'R''、-NR'C(=N-CN)R''、-NR'C(=C-NO<sub>2</sub>)NR'R''、-S(=O)<sub>2</sub>NR'C(=O)R''、-NO<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R'、-C(C=N-OR')R''、-CR'=CR'R''、-CCR'、-S(C=O)(C=N-R')R''、-S F<sub>5</sub>、および-OCF<sub>3</sub>からなる群より独立して選択され；

10

R'およびR''は各出現時に、結合、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群より独立して選択され；

nは各出現時に、1、2、3、および4からなる群より独立して選択され；

R<sub>n</sub>は、n個(n=1~4)の独立して選択されたR基を含み、

~~~~~

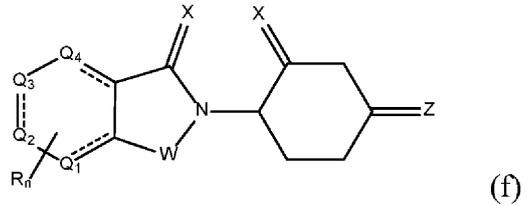
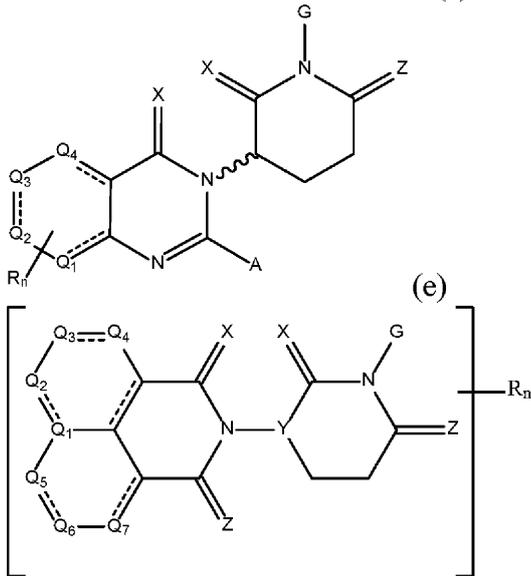
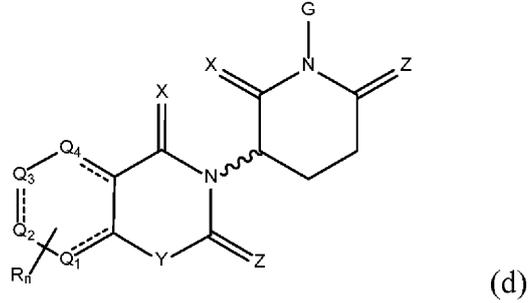
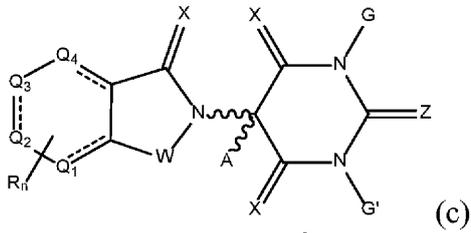
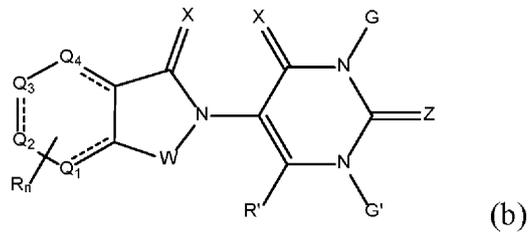
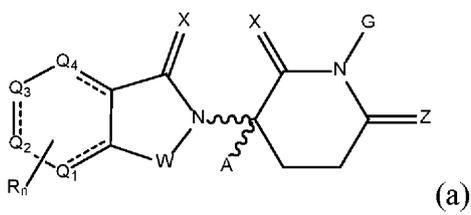
は、立体特異的((R)または(S))または非立体特異的であってもよい結合を表す。

【 0 0 7 8 】

例示的CLM

本明細書に記載の化合物ならびにまたはその塩、溶媒和物、多形および/もしくは重水素化形態のうちいずれにおいても、CLMは次の化学構造を含むかまたは次の化学構造である：

20



式中

Wは各出現時に、 $\text{CH}_2$ 、CHR、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{S}(=\text{O})_2$ 、NH、およびN-アルキルからなる群より独立して選択され；

Xは各出現時に、O、S、および $\text{H}_2$ からなる群より独立して選択され；

Yは各出現時に、NH、N-アルキル、N-アリール、N-ヘテロアリール、N-シクロアルキル、N-ヘテロシクリル、O、およびSからなる群より独立して選択され；

Zは各出現時に、O、S、および $\text{H}_2$ からなる群より独立して選択されるが、但しXおよびZは両方が同時に $\text{H}_2$ であることはできず；

GまたはG'は各出現時に、H、アルキル、OH、R'で置換されていてもよい $\text{CH}_2$ -ヘテロシクリル、およびR'で置換されていてもよいベンジルからなる群より独立して選択され；

$Q_1 \sim Q_7$ のそれぞれは、N、N-オキシド、ならびに、R'、 $\text{NH}_2$ 、OH、ハロ、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、同じ環内の別の $Q_1 \sim Q_7$ 基に結合した $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、アセチル、およびカルボキシルからなる群より独立して選択される少なくとも1つで置換された炭素からなる群より独立して選択されるが、但し(a)各環は、NおよびN-オキシドに対応する群より選択される0~2個の $Q_1 \sim Q_7$ を有し；(b)1個の $Q_1 \sim Q_7$ 基が、同じ所与の環内の不連続な $Q_1 \sim Q_7$ 基に結合した $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルで置換された炭素である場合、所与の環は0~2個の不飽和結合を有し；

Aは各出現時に、H、アルキル、シクロアルキル、Cl、およびFからなる群より独立して選択され；

Rは各出現時に、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'\text{NR}'\text{R}''$ 、アリール、ヘテロアリール、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}')\text{R}''$ 、 $-\text{P}(=\text{O})\text{R}'\text{R}''$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}')\text{R}''$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})\text{R}'\text{R}''$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{F}$ 、-

10

20

30

40

50

Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-CN、-NR'S(=O)<sub>2</sub>NR'R''、-NR'C(=O)NR'R''、-C(=O)NR'C(=O)R''、-NR'C(=N-CN)NR'R''、-C(=N-CN)NR'R''、-NR'C(=N-CN)R''、-NR'C(=C-NO<sub>2</sub>)NR'R''、-S(=O)<sub>2</sub>NR'C(=O)R''、-NO<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R'、-C(C=N-OR')R''、-CR'=CR'R''、-CCR'、-S(C=O)(C=N-R')R''、-SF<sub>5</sub>、および-OCF<sub>3</sub>からなる群より独立して選択され；

R'およびR''は各出現時に、結合、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群より独立して選択され；

nは各出現時に、1、2、3、および4からなる群より独立して選択され；

R<sub>n</sub>は、1~4個の独立して選択されたR基を含み、任意で、そのうちの1つはPTM、化学リンカー基(L)、ULM、CLM(またはCLM')、またはそれらの組み合わせに共有結合するように修飾され、



は、立体特異的((R)または(S))または非立体特異的であってもよい結合を表す。

【0079】

本明細書においては「独立して」という用語は、独立して適用される変数が、適用毎に独立して異なることを示すために用いられる。

【0080】

「アルキル」という用語は、その文脈において、置換されていてもよい直鎖、分岐鎖、または環状の完全に飽和した炭化水素ラジカルまたはアルキル基、好ましくはC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>、より好ましくはC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>、あるいはC<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>アルキル基を意味する。アルキル基の例は、とりわけ、メチル、エチル、n-ブチル、sec-ブチル、n-ヘキシル、n-ヘプチル、n-オクチル、n-ノニル、n-デシル、イソプロピル、2-メチルプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンチルエチル、シクロヘキシルエチルおよびシクロヘキシルである。特定の態様では、アルキル基はハロゲン基(At、Br、Cl、F、またはI)でエンドキャップされている。特定の非限定的な態様では、本発明に係る化合物デハロゲナーゼ酵素に共有結合するように用いられてもよい。これらの化合物は、概して、遠位端にハロゲン置換基(往々にして塩素または臭素である)を有するアルキル基で終結する側鎖を含み(往々にしてポリエチレングリコール基を介して結合する)、これはそのような部分を含む化合物のタンパク質への共有結合をもたらす。

【0081】

「アルケニル」という用語は、少なくとも1つのC=C結合を含む直鎖、分岐鎖または環状のC<sub>2</sub>~C<sub>10</sub>(好ましくはC<sub>2</sub>~C<sub>6</sub>)炭化水素ラジカルを指す。

【0082】

「アルキニル」という用語は、少なくとも1つのC≡C結合を含有する直鎖、分岐鎖、または環状のC<sub>2</sub>~C<sub>10</sub>(好ましくはC<sub>2</sub>~C<sub>6</sub>)炭化水素ラジカルを指す。

【0083】

「アルキレン」という用語は、用いられた場合には、置換されていてもよい-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-基(nは概して0~6の整数である)を指す。置換されている場合、アルキレン基は、好ましくは、1つまたは複数のメチレン基上でC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル基(シクロプロピル基またはt-ブチル基を含む)で置換されているが、本明細書に別途開示されている1つまたは複数のハロ基、好ましくは1~3個のハロ基または1または2個のヒドロキシル基、O-(C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル)基またはアミノ酸側鎖でも置換されていてもよい。特定の態様では、アルキレン基はウレタンまたはアルコキシ基(または他の基)で置換されていてもよく、これはポリエチレングリコール鎖(1~10個、好ましくは1~6個、多くの場合1~4個のエチレングリコール単位を有する)でさらに置換され、これに単一のハロゲン基、好ましくは塩素基で置換されたアルキル鎖が置換される(好ましいが、非限定的には、ポリエチレングリコール鎖の遠位端上に)。さらに別の態様では、アルキレン(往々にしてメチレンである)基は、天然または非天然アミノ酸、例えば、アラニン、-アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、シスチン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、イソロイシン、リジン、ロイシン、メチオニン、プロリン、セリン、スレオニン、バリン、トリプトファンまたはチロシンの側鎖基などのアミノ酸側鎖基で置換され

10

20

30

40

50

ていてもよい。

【0084】

「非置換」という用語は水素原子のみで置換されていることを意味する。 $C_0$ を含む炭素原子の範囲は、炭素が存在せずHと置き換わっていることを意味する。よって、 $C_0 \sim C_6$ である炭素原子の範囲は、1、2、3、4、5、および6個の炭素原子を含み、 $C_0$ については炭素の代わりにHがある。

【0085】

「置換された」または「置換されていてもよい」という用語は、独立して(すなわち、1を超える置換基が存在する場合は、各置換基が他の置換基から独立している)1つまたは複数の置換基(本発明に係る化合物中の部位上で、独立して最大で5個の置換基、好ましくは最大で3個の置換基、多くの場合1または2個の置換基、かつそれら自体がさらに置換されていてもよい置換基を含んでもよい)文脈内の分子上の任意の位置にある炭素(または窒素)を意味し、置換基としてヒドロキシル、チオール、カルボキシル、シアノ(C-N)、ニトロ( $NO_2$ )、ハロゲン(好ましくは、アルキル、特にトリフルオロメチルなどのメチル基上の1、2または3個のハロゲン)、アルキル基(好ましくは、 $C_1 \sim C_{10}$ 、より好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ )、アリール(特にフェニルおよび置換フェニル、例えば、ベンジルまたはベンゾイル)、アルコキシ基(好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは、フェニルおよび置換フェニルを含むアリール)、チオエーテル( $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはアリール)、アシル(好ましくは $C_1 \sim C_6$ アシル)、アルキレンエステルを含むエステルまたはチオエステル(好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはアリール)(好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはアリール基で置換されたエステル官能基ではなくアルキレン基上に結合するように)、好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはアリール、ハロゲン(好ましくは、FまたはCl)、アミン(5員または6員環状アルキレンアミンを含み、アルキル基が1または2個の水酸基で置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキルアミンまたは $C_1 \sim C_6$ ジアルキルアミンをさらに含む)または置換されていてもよい-N( $C_0 \sim C_6$ アルキル)C(O)(O- $C_1 \sim C_6$ アルキル)基(これはポリエチレングリコール鎖で置換されてもよく、これには単一のハロゲン、好ましくは塩素置換基を含有するアルキル基がさらに結合している)、ヒドラジン、アミド、これは好ましくは1または2個の $C_1 \sim C_6$ アルキル基で置換されている(1または2個の $C_1 \sim C_6$ アルキル基で置換されていてもよいカルボキサミドを含む)、アルカノール(好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはアリール)またはアルカン酸(好ましくは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたはアリール)を含む。本発明に係る置換基は、例えば、 $-SiR_1R_2R_3$ 基を含んでもよく、式中、 $R_1$ および $R_2$ のそれぞれは本明細書において別途記載されているものであり、 $R_3$ はHまたは $C_1 \sim C_6$ アルキル基であり、好ましくはこの文脈における $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ は $C_1 \sim C_3$ アルキル基(イソプロピル基またはt-ブチル基を含む)である。上記の基のそれぞれは置換された部分に直接的に結合してもよいし、あるいは置換基は、置換されていてもよい $-(CH_2)_m$ -あるいは置換されていてもよい $-(OCH_2)_m-$ 、 $-(OCH_2CH_2)_m-$ または $-(CH_2CH_2O)_m-$ 基を通じて置換部位(好ましくはアリールまたはヘテロアリール部位の場合)に結合してもよく、これらは上記の置換基のうちの任意の1つまたは複数で置換されていてもよい。アルキレン基 $-(CH_2)_m-$ または $-(CH_2)_n-$ 基、または上で特定したエチレングリコール鎖などの他の鎖は鎖上の任意の場所で置換されていてもよい。アルキレン基上の非限定的な置換基はハロゲンまたは $C_1 \sim C_6$ (好ましくは $C_1 \sim C_3$ )アルキル基を含み、これは1または2個のヒドロキシル基、1または2個のエーテル基(O- $C_1 \sim C_6$ 基)、最大で3個のハロ基(好ましくはF)、または本明細書において別途記載されるアミノ酸の側鎖および置換されていてもよいアミド(好ましくは、上記のように置換されたカルボキサミド)またはウレタン基(1または2個の $C_0 \sim C_6$ アルキル置換基によることが多く、これはさらに置換されていてもよい)で置換されていてもよい。特定の態様では、アルキレン基(往々にして単一のメチレン基である)は、1または2個の置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル基、好ましくは $C_1 \sim C_4$ アルキル基、最も多くはメチルまたはO-メチル基または本明細書において別途記載されるアミノ酸の側鎖で置換される。本発明において、分子中の部分は最大で5個の置換基、好ましくは最大で3個の置換基で置換されていてもよい。ほとんどの場合、本発明では置換される部分は1または2個の置換基で置換される。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 8 6 】

「置換された」という用語(各置換基は任意の他の置換基から独立している)は、その使用の文脈内で、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ハロゲン、アミド、カルボキサミド、スルホンアミドを含むスルホン、ケト、カルボキシ、 $C_1 \sim C_6$ エステル(オキシエステルまたはカルボニルエステル)、 $C_1 \sim C_6$ ケト、ウレタン-O-C(=O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>または-N(R<sub>1</sub>)-C(=O)-O-R<sub>1</sub>、ニトロ、シアノおよびアミン(特に、 $C_1 \sim C_6$ アルキレン-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>、1または2個のヒドロキシル基で置換されていてもよいモノまたはジ $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミンを含む)も意味する。これらの基の各々は、文脈内で、別途示されていない限り、1~6個の炭素原子を含む。特定の態様では、非限定的な置換基は、置換基の使用の文脈に応じて、例えば、-NH-、-NHC(=O)-、-O-、=O、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- (式中、mおよびnは文脈において1、2、3、4、5または6である)、-S-、-S(=O)-、S(=O)<sub>2</sub>-または-NH-C(=O)-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>SH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOH、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OC(=O)-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)O-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NHC(=O)-R<sub>1</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>、-(OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH、-(CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>COOH、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、-(OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)、-(CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>C(=O)-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)、-(OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NHC(=O)-R<sub>1</sub>、-(CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>C(=O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>、-S(=O)<sub>2</sub>-R<sub>S</sub>、-S(=O)-R<sub>S</sub> (R<sub>S</sub>は $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>基である)、NO<sub>2</sub>、CNまたはハロゲン(F、Cl、Br、I、好ましくはFまたはCl)を含むであろう。R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>はそれぞれ、文脈内で、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキル基(1または2個のヒドロキシル基または最大で3個のハロゲン基、好ましくはフッ素で置換されていてもよい)である。「置換された」という用語は、規定される化合物および使用される置換基の化学的文脈内で、置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリール基または本明細書において別途記載の置換されていてもよいヘテロ環基も意味する。アルキレン基はまた、本明細書において別途開示のように、好ましくは、置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル基(メチル、エチルまたはヒドロキシメチルまたはヒドロキシエチルが好ましく、よってキラル中心が提供される)、本明細書において別途記載のアミノ酸基の側鎖、上記のアミド基、またはR<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が本明細書において別途記載されたウレタン基O-C(=O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>基で置換されていてもよいが、多くの他の基も置換基として用いてもよい。様々な置換されていてもよい部分が、3個以上の置換基、好ましくは3個以下の置換基、好ましくは1または2個の置換基で置換されていてもよい。分子の特定の位置で化合物において置換が必要とされる(主に、原子価のため)が、置換が示されていない場合には、置換の文脈が別段の示唆をしていない限り、その置換基はHであると解釈されるかまたは理解されることに留意されたい。

## 【 0 0 8 7 】

「アリール」または「芳香族」という用語は、文脈において、単環(例えば、ベンゼン、フェニル、ベンジル)または縮合環(例えば、ナフチル、アントラセニル、フェナントレニルなど)を有する置換(本明細書に別途記載)または非置換の一価の芳香族ラジカルを指し、環上の任意の利用可能な安定した位置で、または別途図示された化学構造中に示されるように、本発明に係る化合物に結合することができる。アリール基の他の例は、文脈において、とりわけヘテロ環式芳香環系、イミダゾール、フリル、ピロール、フラニル、チエン、チアゾール、ピリジン、ピリミジン、ピラジン、トリアゾール、オキサゾールなどの環(単環)に1つまたは複数の窒素、酸素または硫黄原子を有する「ヘテロアリール」基、またはインドール、キノリン、インドリジン、アザインドリジン、ベンゾフラザンなどの縮合環系を含んでもよく、これらは上に記載のように置換されていてもよい。言及し得るヘテロアリール基としては、とりわけピロール、ピリジン、ピリドン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、トリアジン、テトラゾール、インドール、イソインドール、インドリジン、アザインドリジン、プリン、インダゾール、キノリン、ジヒドロキノリン、テトラヒドロキノリン、イソキノリン、ジヒドロイソキノリン、テトラヒドロイソキノリン、キノリジン、フタラジン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、シノリン、プテリジン、イミダゾピリジン、イミダゾトリアジン、ピラジノピリダジン、アクリジン、フェナントリジン、カルバゾール、カルバゾリン、ピリミジン、フェナントロリン、フェナセン、オキサジアゾール、ベンズイミダゾール

、ピロロピリジン、ピロロピリミジンおよびピリドピリミジンなどの含窒素ヘテロアリアル基；チオフェンおよびベンゾチオフェンなどの硫黄含有芳香族ヘテロ環；フラン、ピラン、シクロペンタピラン、ベンゾフランおよびイソベンゾフランなどの酸素含有芳香族ヘテロ環；ならびにチアゾール、チアジゾール、イソチアゾール、ベンゾキサゾール、ベンゾチアゾール、ベンゾチアジアゾール、フェノチアジン、イソキサゾール、フラザン、フェノキサジン、ピラゾロキサゾール、イミダゾチアゾール、チエノフラン、フロピロール、ピリドキサジン、フロピリジン、フロピリミジン、チエノピリミジンおよびオキサゾールなどの窒素、硫黄および酸素より選択される2個以上のヘテロ原子を含む芳香族ヘテロ環を含み、これらは置換されていてもよい。

【0088】

「置換アリアル」という用語は、少なくとも1つの芳香環からまたは少なくとも1つが芳香族である複数の縮合環からなる芳香族炭素環基を指し、ここで環は1つまたは複数の置換基で置換されている。例えば、アリアル基は次より選択される置換基を含むことができる： $-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-(C}_1\sim\text{C}_6)$ アルキル、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-(CH}_2)_n\text{-(C}_1\sim\text{C}_6)$ アルキル、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(=O)(C}_0\sim\text{C}_6)$ アルキル、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-C(=O)O(C}_0\sim\text{C}_6)$ アルキル、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-OC(=O)(C}_0\sim\text{C}_6)$ アルキル、アミン、モノまたはジ( $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル)アミン、ここでアミンのアルキル基は1または2個のヒドロキシル基または最大で3個のハロ(好ましくはF、Cl)基で置換されていてもよい、OH、COOH、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、好ましくは $\text{CH}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、OMe、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{NO}_2$ 、またはCN基(これらのそれぞれはフェニル環のオルト、メタ、および/またはパラ位、好ましくはパラ位で置換されていてもよい)、置換されていてもよいフェニル基(フェニル基自体は、好ましくは、ULM基を含むPTM基に結合したリンカー基で置換されている)、および/またはF、Cl、OH、COOH、 $\text{CH}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、OMe、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{NO}_2$ 、もしくはCN基の少なくとも1つ(フェニル環のオルト、メタおよび/またはパラ位、好ましくはパラ位で)、置換されていてもよいナフチル基、置換されていてもよいヘテロアリアル、好ましくはメチル置換イソキサゾールを含む置換されていてもよいイソキサゾール、メチル置換オキサゾールを含む置換されていてもよいオキサゾール、メチル置換チアゾールを含む置換されていてもよいチアゾール、メチル置換イソチアゾールを含む置換されていてもよいイソチアゾール、メチル置換ピロールを含む置換されていてもよいピロール、メチルイミダゾールを含む置換されていてもよいイミダゾール、置換されていてもよいベンズイミダゾールまたはメトキシベンズイミダゾール、置換されていてもよいオキシイミダゾールまたはメチルオキシイミダゾール、メチルジアゾール基を含む置換されていてもよいジアゾール基、メチル置換トリアゾール基を含む置換されていてもよいトリアゾール基、ハロ(好ましくは、F)もしくはメチル置換ピリジン基またはオキサピリジン基(ピリジン基が酸素によってフェニル基に結合された)を含む置換されていてもよいピリジン基、置換されていてもよいフラン、置換されていてもよいベンゾフラン、置換されていてもよいジヒドロベンゾフラン、置換されていてもよいインドール、インドリジンまたはアザインドリジン(2、3、または4-アザインドリジン)、置換されていてもよいキノリン、ならびにそれらの組み合わせ。

【0089】

「カルボキシル」は基 $-\text{C(=O)OR}$ を意味し、式中、Rは水素、アルキル、置換アルキル、アリアル、置換アリアル、ヘテロアリアルまたは置換ヘテロアリアルであるが、これらの総称的な置換基は本明細書において規定した対応する基の定義と同一の意味を有する。

【0090】

「ヘテロアリアル」または「ヘタリアル」という用語は、非限定的には、置換されていてもよいキノリン(ファーマコフォアに結合するか、またはキノリン環内の任意の炭素原子上で置換してもよい)、置換されていてもよいインドール(ジヒドロインドールを含む)、置換されていてもよいインドリジン、置換されていてもよいアザインドリジン(2、3、または4-アザインドリジン)、置換されていてもよいベンズイミダゾール、ベンゾジアゾール、ベンゾキサゾール、置換されていてもよいイミダゾール、置換されていてもよいイソキサゾール、置換されていてもよいオキサゾール(好ましくはメチル置換されている)、置換されていてもよいジアゾール、置換されていてもよいトリアゾール、テトラゾール、

10

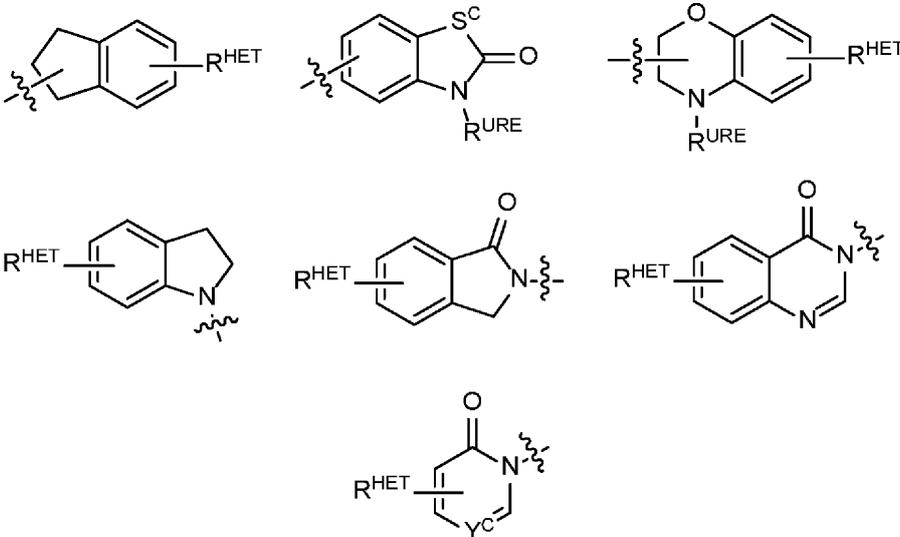
20

30

40

50

置換されていてもよいベンゾフラン、置換されていてもよいチオフェン、置換されていてもよいチアゾール(好ましくはメチルおよび/またはチオール置換される)、置換されていてもよいイソチアゾール、置換されていてもよいトリアゾール(好ましくはメチル基、トリイソプロピルシリル基、置換されていてもよい $-(CH_2)_m-O-C_1 \sim C_6$ アルキル基または置換されていてもよい $-(CH_2)_m-C(=O)-O-C_1 \sim C_6$ アルキル基で置換された1,2,3-トリアゾール)、置換されていてもよいピリジン(2-、3-、または4-ピリジン)または次の化学式に係る基を意味し得る。：



10

20

式中

$S^C$ は $CHR^{SS}$ 、 $NR^{URE}$ 、またはOであり；

$R^{HET}$ はH、CN、 $NO_2$ 、ハロ(好ましくはClまたはF)、置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル(好ましくは、1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される(例えば、 $CF_3$ )、置換されていてもよいO( $C_1 \sim C_6$ アルキル)(好ましくは、1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される)、または置換されていてもよいアセチレン基-C C- $R_a$ 、式中、 $R_a$ はHまたは $C_1 \sim C_6$ アルキル基(好ましくは $C_1 \sim C_3$ アルキル)であるアセチレン基であり；

30

$R^{SS}$ はH、CN、 $NO_2$ 、ハロ(好ましくは、FまたはCl)、置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル(好ましくは、1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される)、置換されていてもよいO-( $C_1 \sim C_6$ アルキル)(好ましくは1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される)、または置換されていてもよい-C(O)( $C_1 \sim C_6$ アルキル)(好ましくは、1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される)であり；

$R^{URE}$ はH、 $C_1 \sim C_6$ アルキル(好ましくはHまたは $C_1 \sim C_3$ アルキル)または-C(=O)( $C_1 \sim C_6$ アルキル)であって、各基は1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基、好ましくはフッ素基で置換されていてもよい、または置換されていてもよいヘテロ環、例えば、ピペリジン、モルホリン、ピロリジン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロチオフェン、ピペリジン、ピペラジンであり、それらの各々が置換されてもよく、かつ

40

$Y^C$ はNまたはC- $R^{YC}$ であり、式中、 $R^{YC}$ はH、OH、CN、 $NO_2$ 、ハロ(好ましくはClまたはF)、置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル(好ましくは1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される(例えば、 $CF_3$ ))、置換されていてもよいO( $C_1 \sim C_6$ アルキル)(好ましくは1または2個のヒドロキシル基または最大で3個までのハロ基で置換される)、または置換されていてもよいアセチレン基-C C- $R_a$ であって、式中、 $R_a$ はHまたは $C_1 \sim C_6$ アルキル基(好ましくは $C_1 \sim C_3$ アルキル)であるアセチレン基である。

【0091】

「アルキル」および「ヘテロアリールアルキル」という用語は、上の定義に係るアリールまたはそれぞれヘテロアリールと、アルキルおよび/またはヘテロアルキル、および/または炭素環および/またはヘテロシクロアルキル環系との両方を含む基を指す。

50

【0092】

本明細書において用いる「アリアルアルキル」という用語は、上に定義したアルキル基に付加された、上に定義したアリアル基を指す。アリアルアルキル基はアルキル基を通じて親部分に結合しており、アルキル基は1~6個の炭素原子である。アリアルアルキル基中のアリアル基は上に定義したように置換されていてもよい。

【0093】

「ヘテロ環」という用語は、少なくとも1つのヘテロ原子、例えば、N、OまたはSを含み、芳香族(ヘテロアリアル)または非芳香族であってもよい環状基を指す。よって、ヘテロアリアル部分はその使用の文脈に応じてヘテロ環の定義に包含される。例示的なヘテロアリアル基は上に記載されている。

10

【0094】

例示的なヘテロ環は、アゼチジニル、ベンズイミダゾリル、1,4-ベンゾジオキサニル、1,3-ベンゾジオキサソリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチエニル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロピラニル、ジヒドロフラニル、ジオキサニル、ジオキサソラニル、エチレンウレア、1,3-ジオキサラン、1,3-ジオキサソラン、1,4-ジオキサソラン、フリル、ホモピペリジニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、インドリニル、インドリル、イソキノリニル、イソチアゾリジニル、イソチアゾリル、イソキサゾリジニル、イソキサゾリル、モルホリニル、ナフチリジニル、オキサゾリジニル、オキサゾリル、ピリドン、2-ピロリドン、ピリジン、ピペラジニル、N-メチルピペラジニル、ピペリジニル、フタルイミド、スクシンイミド、ピラジニル、ピラゾリニル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリジニル、ピロリニル、ピロリル、キノリニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリン、チアゾリジニル、チアゾリル、チエニル、テトラヒドロチオフエン、オキサソラン、オキサセタニル、オキサチオラニル、チアンをとりわけ含む。

20

【0095】

ヘテロ環式基は、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、ケト、チオケト、カルボキシ、カルボキシアルキル、チオアリアルオキシ、チオヘテロアリアルオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリアル、アリアルオキシ、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルオキシ、ヘテロ環、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、-S(=O)-アルキル、-S(=O)-置換アルキル、-S(=O)アリアル、-S(=O)-ヘテロアリアル、-S(=O)<sub>2</sub>-アルキル、-S(=O)<sub>2</sub>-置換アルキル、-S(=O)<sub>2</sub>-アリアル、オキソ(=O)、および-S(=O)<sub>2</sub>-ヘテロアリアルからなる群より選択されるメンバーで置換され得る。そのようなヘテロ環式基は単一の環または複数の縮合環を有し得る。窒素ヘテロ環およびヘテロアリアルの例はピロール、イミダゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチルピリジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、フェナントロリン、イソチアゾール、フェナジン、イソキサゾール、フェノキサジン、フェノチアジン、イミダゾリジン、イミダゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドリン、モルホリノ、ピペリジニル、テトラヒドロフラニルなどや、N-アルコキシ-窒素含有ヘテロ環を非限定的に含む。「ヘテロ環式」という用語は、ヘテロ環のいずれかがベンゼン環もしくはシクロヘキサン環に縮合した二環式基または他のヘテロ環(例えば、インドリル、キノリル、イソキノリル、テトラヒドロキノリルなど)も含む。

30

40

【0096】

「シクロアルキル」という用語は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルなどを非限定的に含む、例えば、環内に3~20個の炭素原子を有する飽和単環式炭化水素基などの、本明細書において定義される、単環式もしくは

50

は多環式アルキル基またはシクロアルカンから誘導される一価の基を非限定的に意味する。「置換シクロアルキル」という用語は、1つまたは複数の置換基、例えば、アミノ、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、カルビルオキシ、カルビルメルカプト、アリール、ニトロ、メルカプトまたはスルホで置換された単環式または多環式アルキル基を非限定的に意味し得るが、これらの総称的な置換基の意味はこの凡例で定義されている対応する基の定義と同じである。

【0097】

「ヘテロシクロアルキル」はその環状構造のうちの少なくとも1つの環炭素原子がN、O、SまたはPからなる群より選択されるヘテロ原子で置き換えられた単環式または多環式アルキル基を指す。「置換ヘテロシクロアルキル」はその環状構造のうちの少なくとも1つの環炭素原子がN、O、SまたはPからなる群より選択されるヘテロ原子で置換された単環式または多環式アルキル基を指し、該基はハロゲン、アルキル、置換アルキル、カルビルオキシ、カルビルメルカプト、アリール、ニトロ、メルカプトまたはスルホからなる群より選択される1つまたは複数の置換基を含むが、これらの総称的な置換基の意味はこの凡例で定義されている対応する基の定義と同じである。

10

【0098】

「ヒドロカルビル」という用語は、炭素および水素を含み、完全に飽和、部分的に不飽和または芳香族であってもよく、アリール基、アルキル基、アルケニル基およびアルキニル基を含む化合物を意味する。

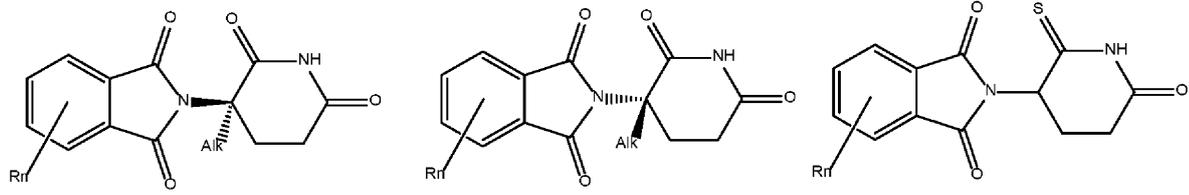
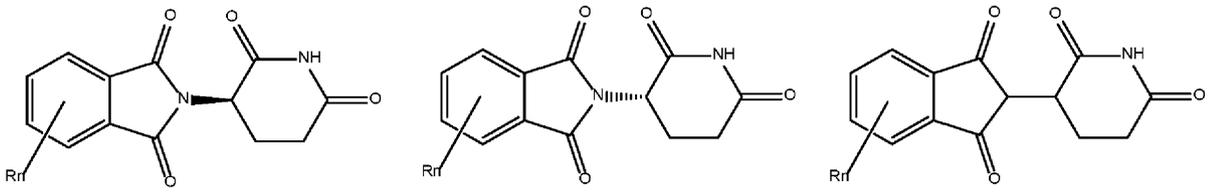
【0099】

本明細書に記載の態様のいずれかでは、W、X、Y、Z、G、G'、R、R'、R''、Q1~Q4、A、およびRnは、独立して、リンカーおよび/または1つもしくは複数のPTM、ULM、CLM、またはCLM'基が結合したリンカーに共有結合することができる。

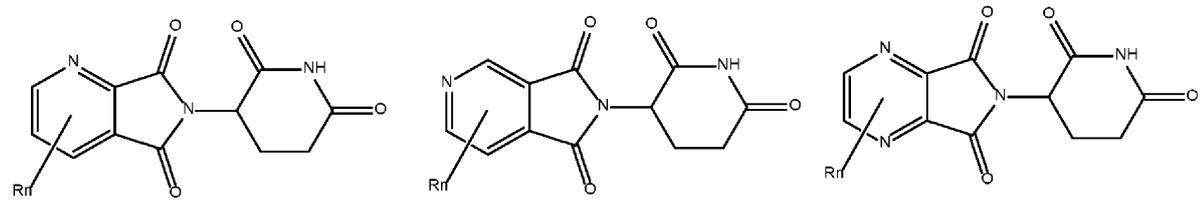
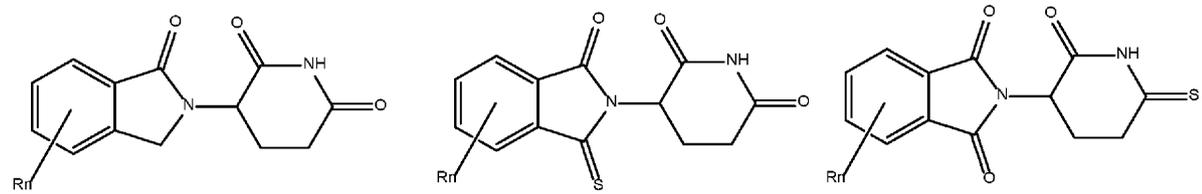
20

【0100】

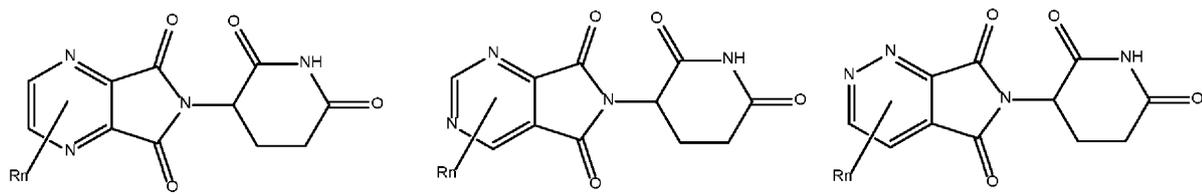
より具体的には、CLMの非限定的な例は以下に示されるもの、ならびに以下の分子に示される異なる特徴のうちの1つまたは複数の組み合わせから生じる「ハイブリッド」分子を含む。



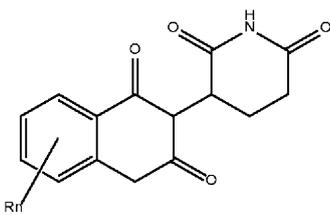
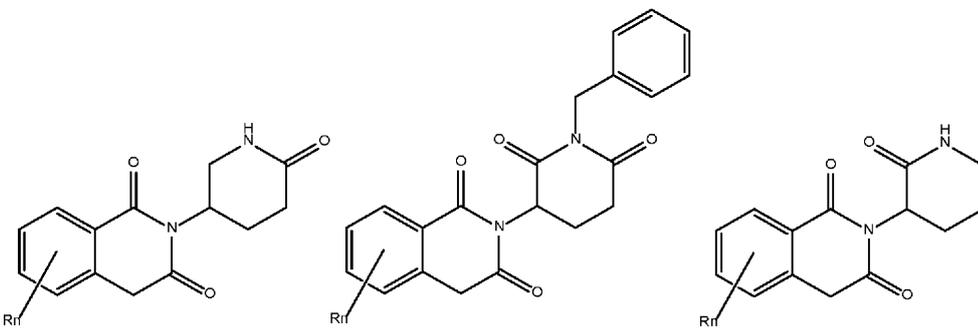
10



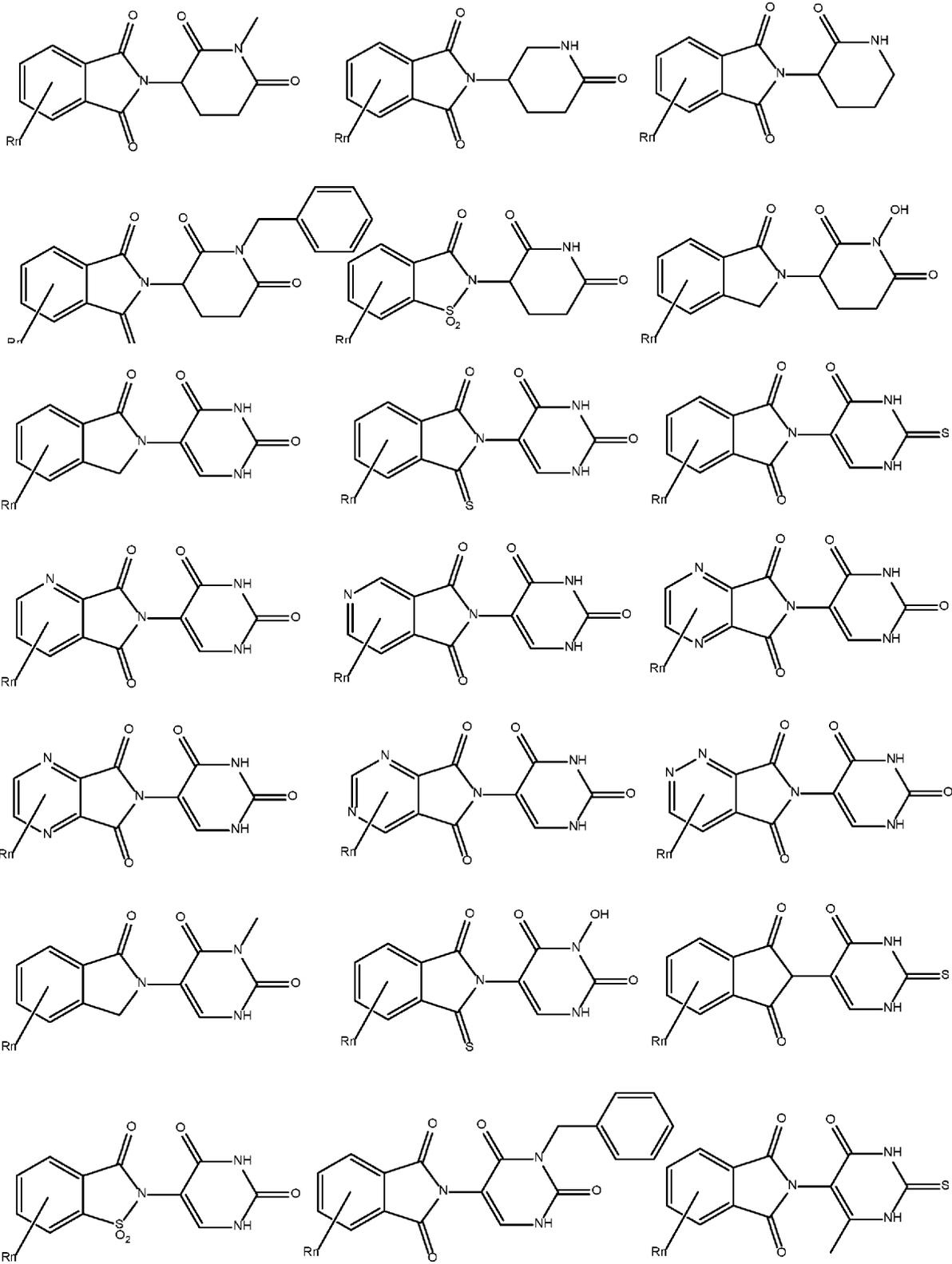
20



30



40

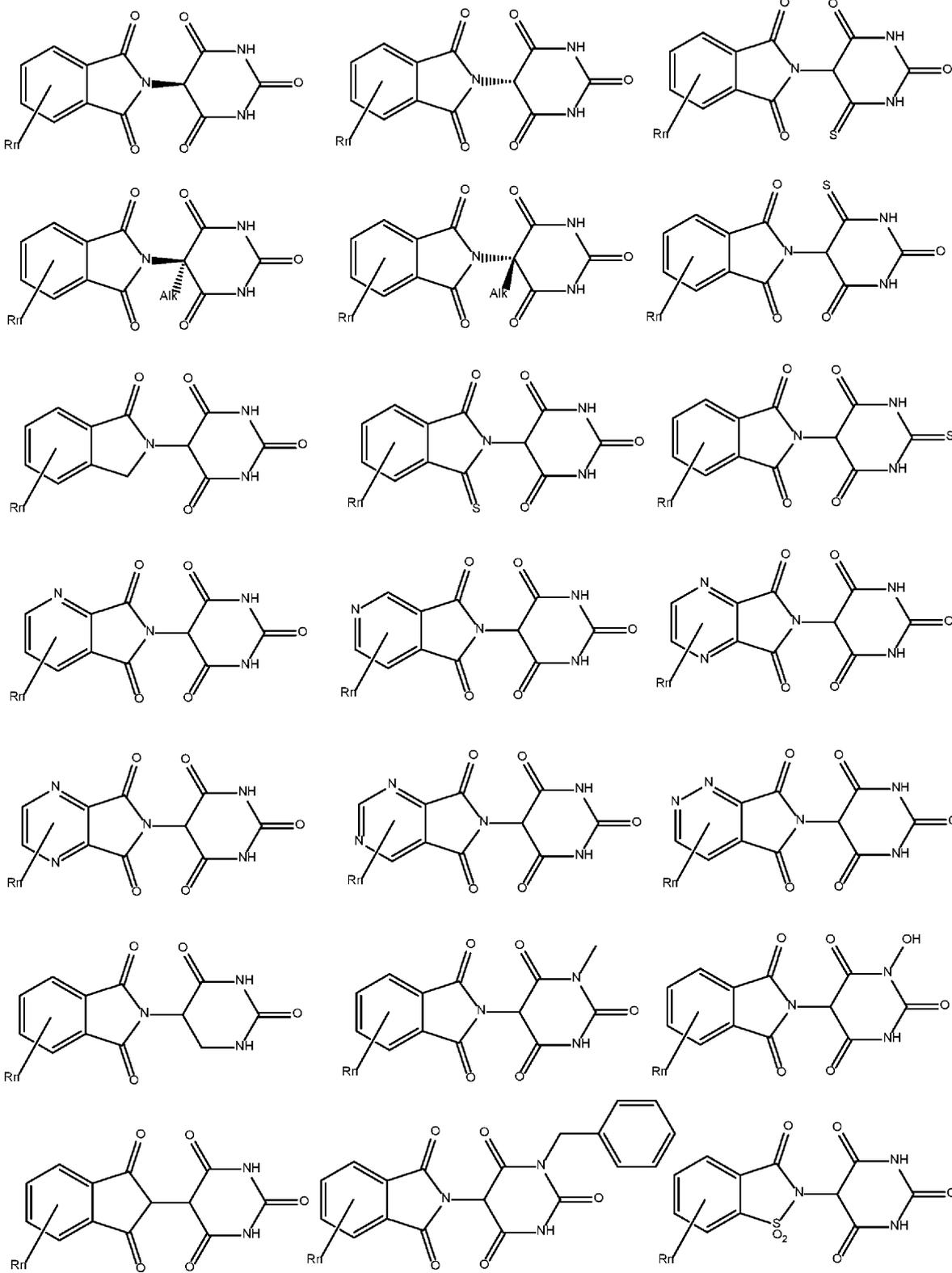


10

20

30

40

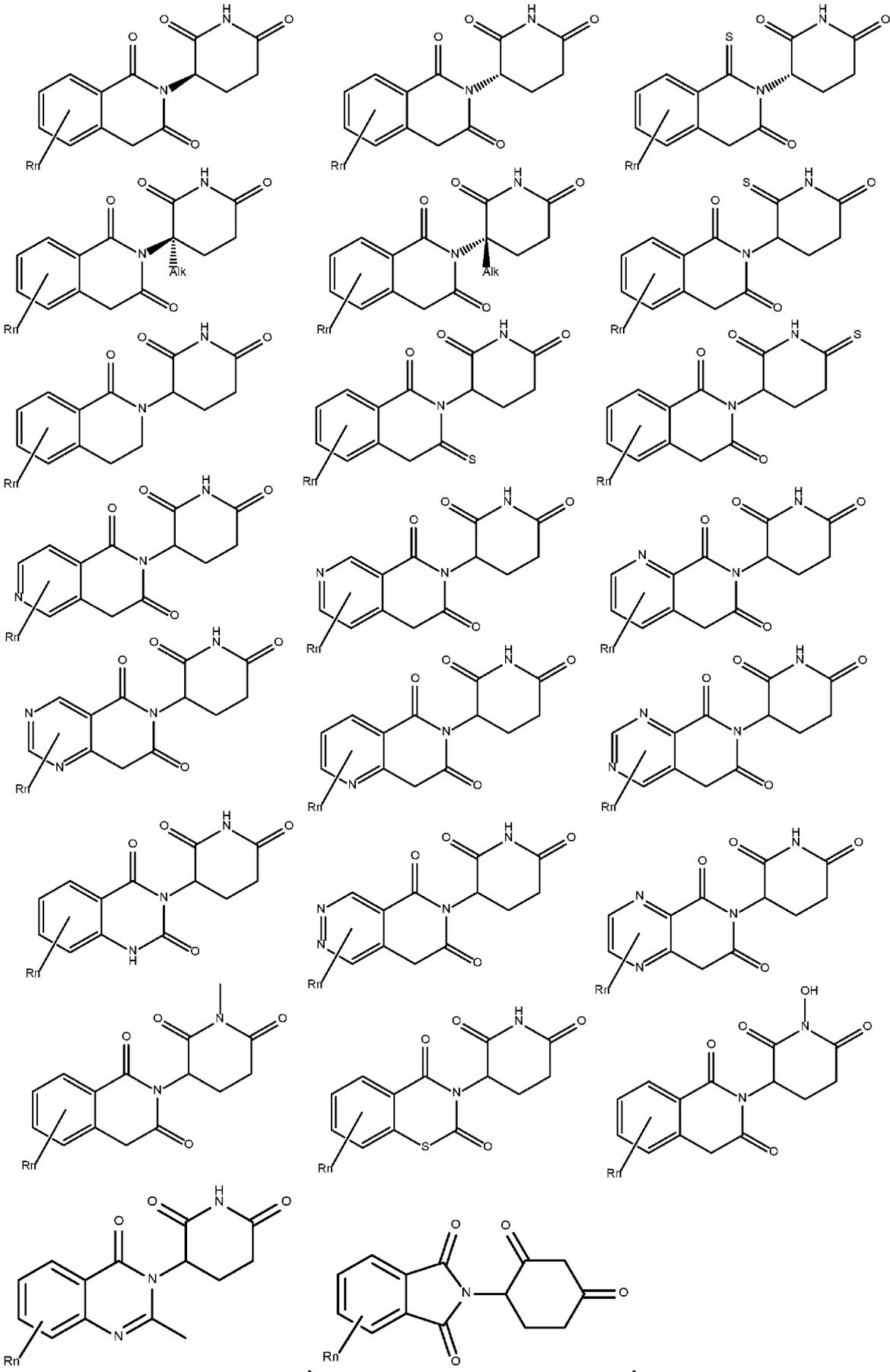


10

20

30

40

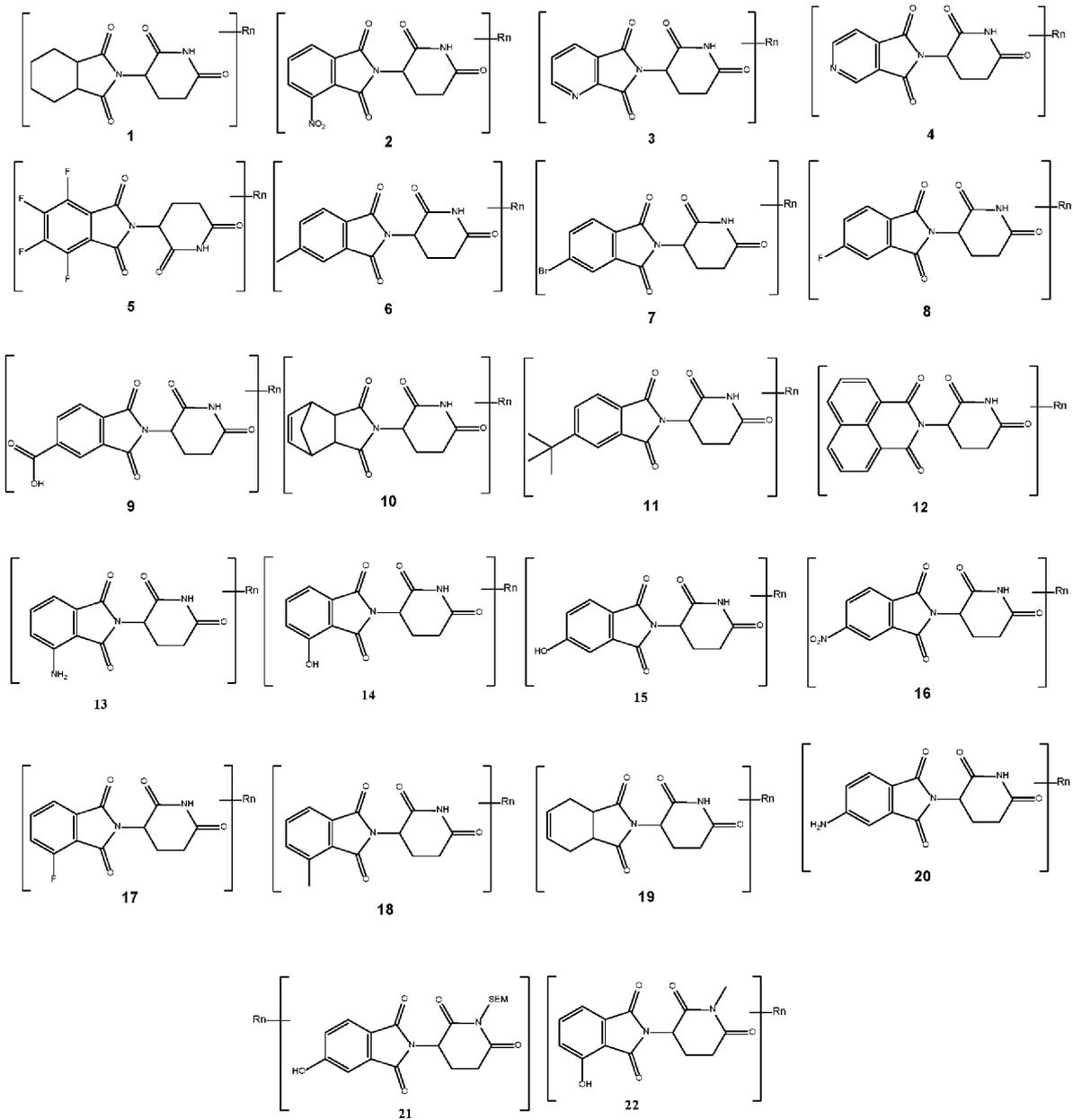


10

20

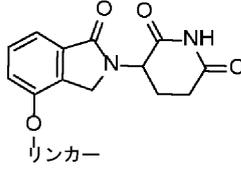
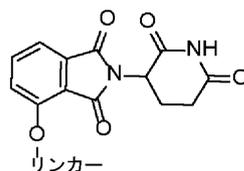
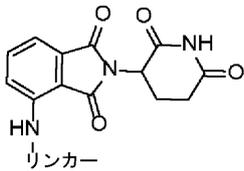
30

40

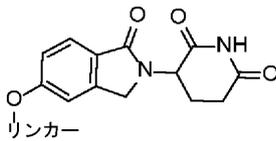


【 0 1 0 1 】

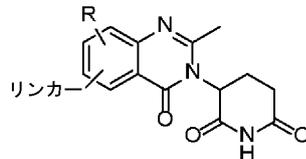
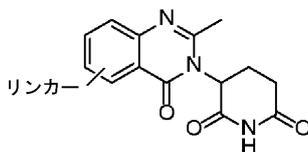
特定の場合では、「CLM」はセレブロンE3リガーゼに結合するイミドであってもよい。  
これらのイミドおよびリンカー結合点は非限定的には以下の構造であり得る：



10



20



。

## 【 0 1 0 2 】

## 例示的なリンカー

特定の態様では、本明細書に記載の化合物は、化学リンカー(L)を介して1つまたは複数のULM(例えば、CLM、VLM、MLM、ILM、またはそれらの組み合わせのうち少なくとも1つ)に化学的に結合したかまたはカップリングした1つまたは複数のPTMを含む。特定の態様では、リンカー基Lは、1つまたは複数の共有結合された構造単位(例えば、 $-(A^L)_1 \dots (A^L)_q-$ または $-(A^L)_q-$ )を含む基であり、式中 $A_1$ はPTMにカップリングした基であり、 $(A^L)_q$ はULMにカップリングした基である。

30

## 【 0 1 0 3 】

特定の態様では、リンカー基Lは $-(A^L)_q-$ より選択され： $(A^L)_q$ はULM、PTM部分、またはそれらの組み合わせのうち少なくとも1つに結合した基である。リンカーのqは1以上の整数である。各 $A^L$ は以下からなる群より独立して選択される：結合、 $CR^{L1}R^{L2}$ 、O、S、 $S(=O)$ 、 $S(=O)_2$ 、 $NR^{L3}$ 、 $S(=O)_2NR^{L3}$ 、 $S(=O)NR^{L3}$ 、 $C(=O)NR^{L3}$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}$ 、 $NR^{L3}S(=O)_2NR^{L4}$ 、 $C(=O)$ 、 $CR^{L1}=CR^{L2}$ 、C、C、 $SiR^{L1}R^{L2}$ 、 $P(=O)R^{L1}$ 、 $P(=O)OR^{L1}$ 、 $NR^{L3}C(=NCN)NR^{L4}$ 、 $NR^{L3}C(=NCN)$ 、 $NR^{L3}C(=CNO_2)NR^{L4}$ 、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_3 \sim_{11}$ シクロアルキル、0~9個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_5 \sim_{13}$ スピロシクロアルキル、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_3 \sim_{11}$ ヘテロシクリル、0~8個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよい $C_5 \sim_{13}$ スピロヘテロシクロアルキル、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよいアリール、0~6個の $R^{L1}$ および/または $R^{L2}$ 基で置換されていてもよいヘテロアリール、式中 $R^{L1}$ または $R^{L2}$ はそれぞれ独立して、任意で他の基に結合して0~4個の $R^{L5}$ 基で置換されていてもよいシクロアルキルおよび/またはヘテロシクリル部分を形成してもよく；かつ $R^{L1}$ 、 $R^{L2}$ 、 $R^{L3}$ 、 $R^{L4}$ および $R^{L5}$ は、それぞれ独立して、H、ハロ、 $C_1 \sim_8$ アルキル、 $OC_1 \sim_8$ アルキル、 $SC_1 \sim_8$ アルキル、 $NHC_1 \sim_8$ アルキル、 $N(C_1 \sim_8$ アルキル) $_2$ 、 $C_3 \sim_{11}$ シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim_{11}$ ヘテロシクリル、 $OC_1 \sim_8$ シクロアルキル、 $SC_1 \sim_8$ シクロアルキル、 $NHC_1 \sim_8$ シクロアルキル、 $N(C_1 \sim_8$ シクロアルキル) $_2$ 、 $N(C_1 \sim_8$ シクロアルキル)( $C_1 \sim_8$

40

50

アルキル)、OH、NH<sub>2</sub>、SH、SO<sub>2</sub>C<sub>1-8</sub>アルキル、P(=O)(OC<sub>1-8</sub>アルキル)(C<sub>1-8</sub>アルキル)、P(=O)(OC<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C-C<sub>1-8</sub>アルキル、C-CH、CH=CH(C<sub>1-8</sub>アルキル)、C(C<sub>1-8</sub>アルキル)=CH(C<sub>1-8</sub>アルキル)、C(C<sub>1-8</sub>アルキル)=C(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、Si(OH)<sub>3</sub>、Si(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>3</sub>、Si(OH)(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C(=O)C<sub>1-8</sub>アルキル、CO<sub>2</sub>H、ハロゲン、CN、CF<sub>3</sub>、CHF<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>F、NO<sub>2</sub>、SF<sub>5</sub>、SO<sub>2</sub>NHC<sub>1-8</sub>アルキル、S(=O)<sub>2</sub>N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、S(=O)NHC<sub>1-8</sub>アルキル、S(=O)N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C(=O)NHC<sub>1-8</sub>アルキル、C(=O)N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、N(C<sub>1-8</sub>アルキル)C(=O)NH(C<sub>1-8</sub>アルキル)、N(C<sub>1-8</sub>アルキル)C(=O)N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)NH(C<sub>1-8</sub>アルキル)、NHC(=O)N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)NH<sub>2</sub>、N(C<sub>1-8</sub>アルキル)S(=O)<sub>2</sub>NH(C<sub>1-8</sub>アルキル)、N(C<sub>1-8</sub>アルキル)S(=O)<sub>2</sub>N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHS(=O)<sub>2</sub>NH(C<sub>1-8</sub>アルキル)、NHS(=O)<sub>2</sub>N(C<sub>1-8</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NH-S(=O)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>である。

10

## 【0104】

特定の態様では、リンカーのqは0以上の整数である。特定の態様では、qは1以上の整数である。

## 【0105】

特定の態様では、例えば、リンカーのqが2より大きい場合、(A<sup>L</sup>)<sub>q</sub>はULMに結合する基であり、A<sup>L</sup><sub>1</sub>および(A<sup>L</sup>)<sub>q</sub>はリンカー(L)の構造単位を介して結合する。

## 【0106】

特定の態様では、例えば、リンカーのqが2である場合、(A<sup>L</sup>)<sub>q</sub>はA<sup>L</sup><sub>1</sub>におよびULMに結合した基である。

## 【0107】

特定の態様では、例えば、リンカーのqが1である場合、リンカー基Lの構造は-A<sup>L</sup><sub>1</sub>-であり、A<sup>L</sup><sub>1</sub>はULM部分およびPTM部分に結合した基である。

20

## 【0108】

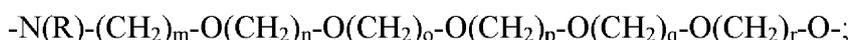
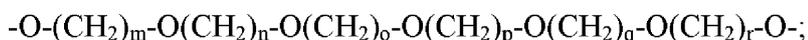
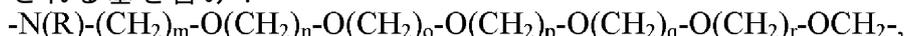
特定の態様では、リンカー(L)は、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルコキシル)-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルコキシル)-OCH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(低級アルコキシル)-(低級アルキル)-OCH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-(低級アルキル)-OCH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(ヘテロシクロアルキル)-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(ヘテロシクロアルキル)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-アリアル-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(ヘテロアリアル)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-O-(ヘテロアリアル)-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-O-アリアル-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-NH-アリアル-O-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(低級アルキル)-O-アリアル-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-シクロアルキル-O-アリアル-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-シクロアルキル-O-(ヘテロアリアル)-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(シクロアルキル)-O-(ヘテロ環)-CH<sub>2</sub>-、-NR(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(ヘテロ環)-(ヘテロ環)-CH<sub>2</sub>-、-N(R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>)-(ヘテロ環)-CH<sub>2</sub>からなる群より選択される一般構造によって表される基を含み、式中、各リンカーの各nは独立して、0~10であり得；リンカーの各Rは独立して、Hまたは低級アルキルであり得；各リンカーの各R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は独立して、結合するNと共に環を形成し得る。

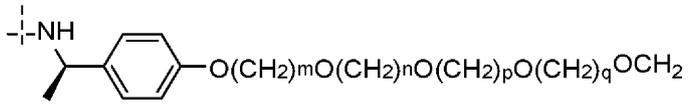
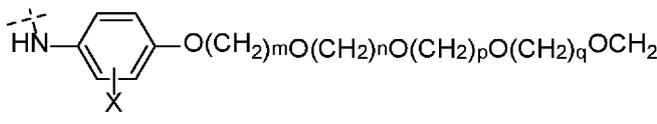
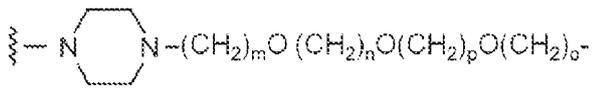
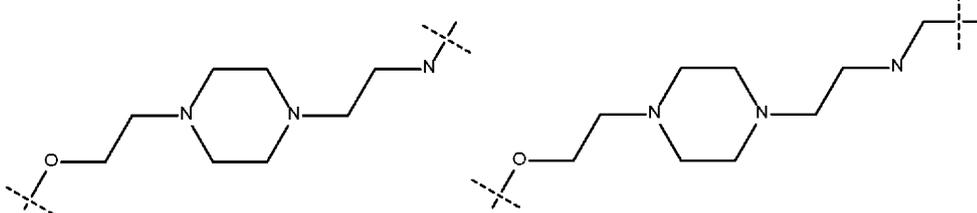
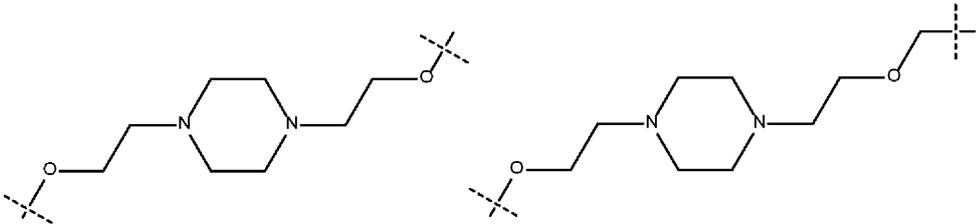
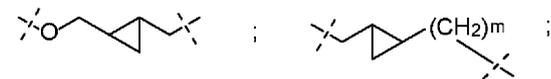
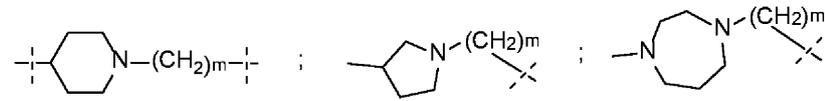
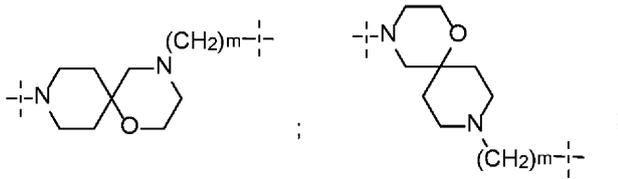
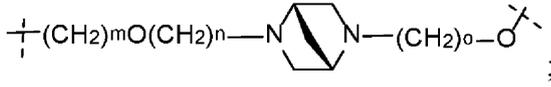
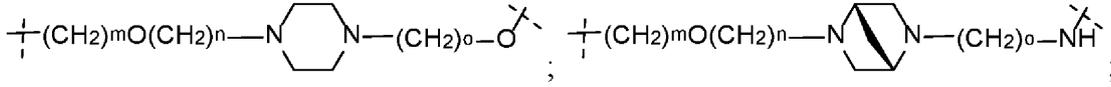
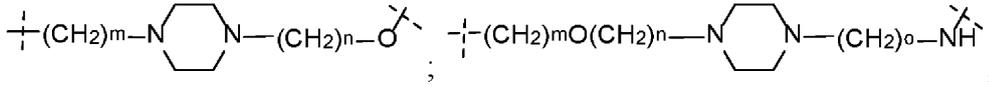
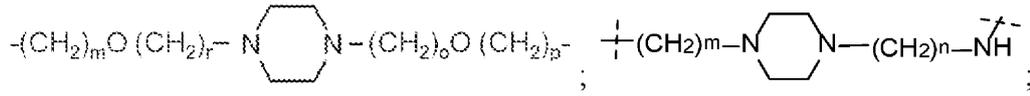
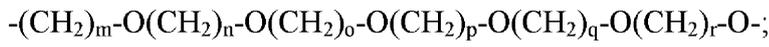
30

## 【0109】

特定の態様では、リンカー(L)は、以下からなる群より選択される一般構造によって表される基を含み：

40



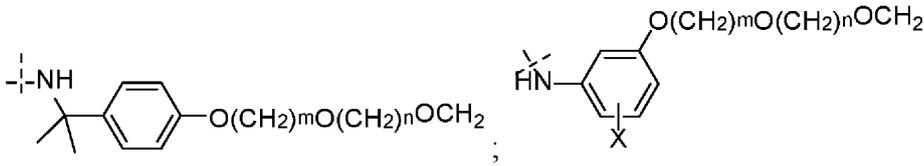
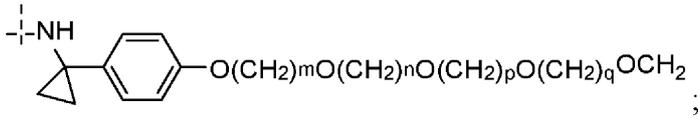
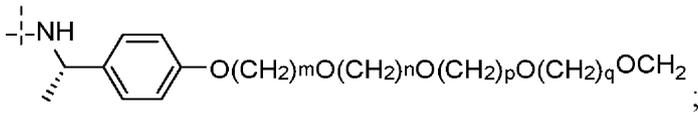


10

20

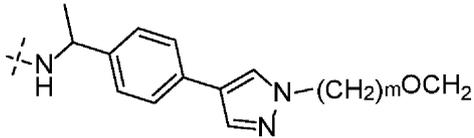
30

40



10

; および



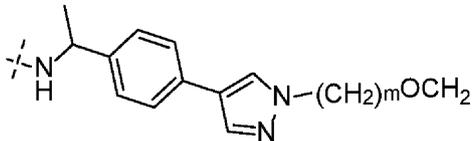
式中

各リンカーの各m、n、o、p、q、およびrは独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20であり、ここで、n=0の場合、N-OまたはO-O結合は存在せず；

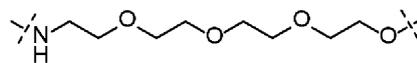
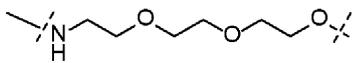
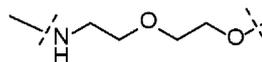
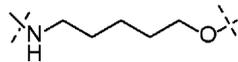
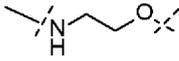
各リンカーの各Rは独立して、H、メチル、またはエチルであり；

各リンカーの各Xは独立して、HまたはFであり；

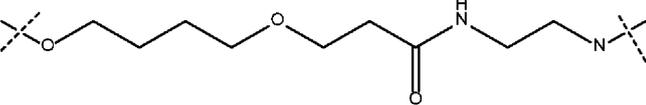
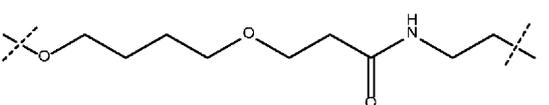
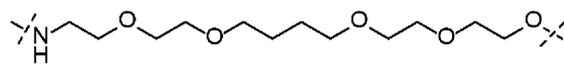
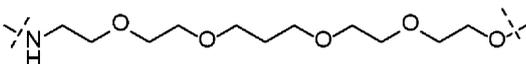
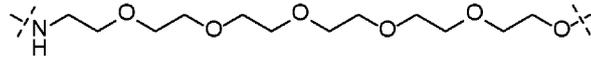
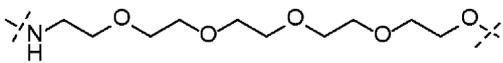
20



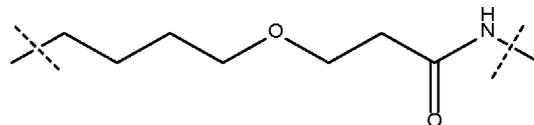
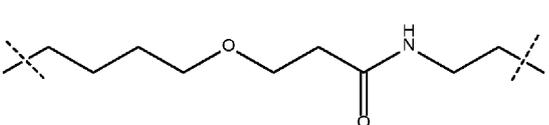
式中、mは2、3、4、または5であり；

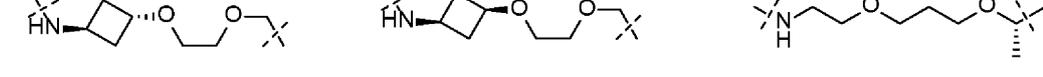
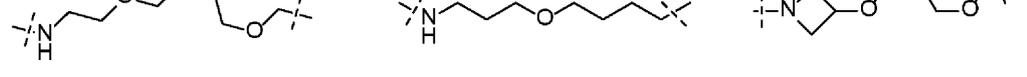
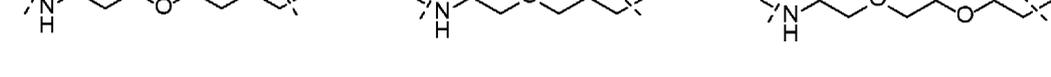
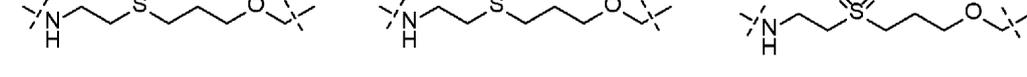
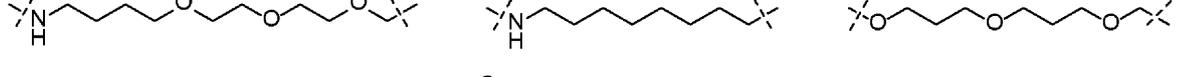
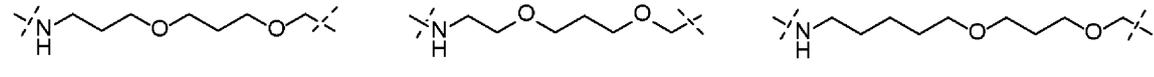
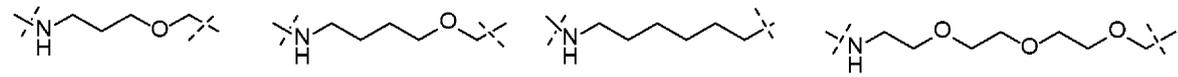
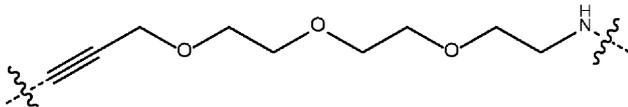
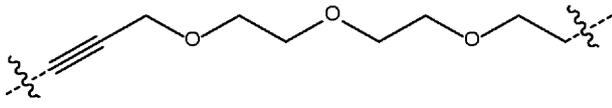
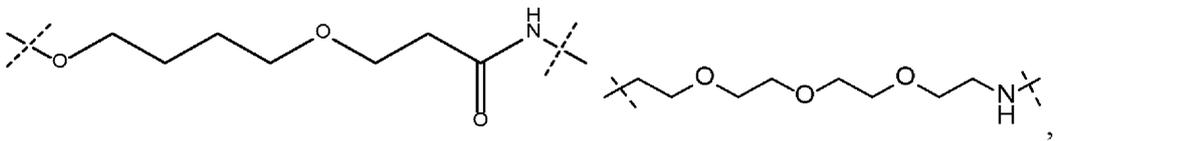


30



40

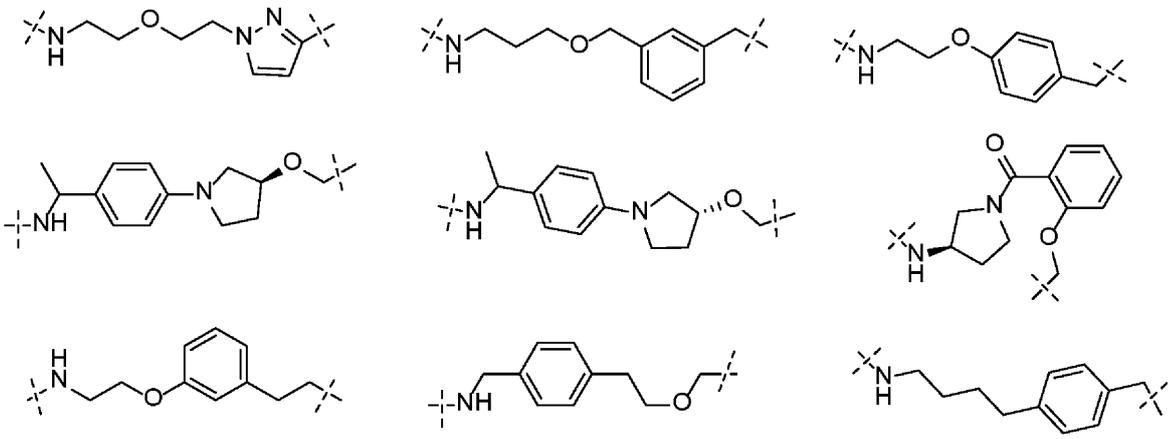




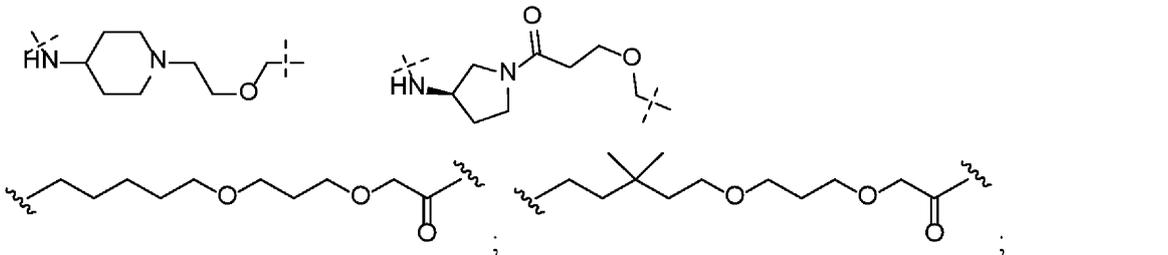
10

20

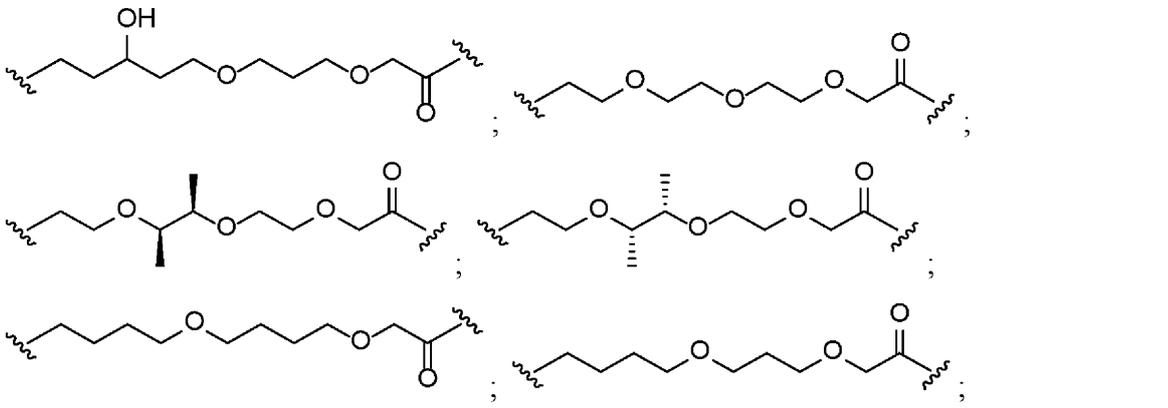
30



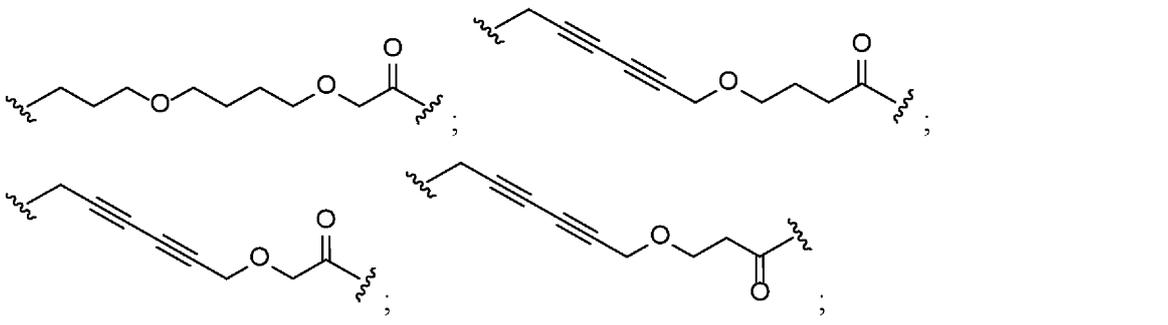
10



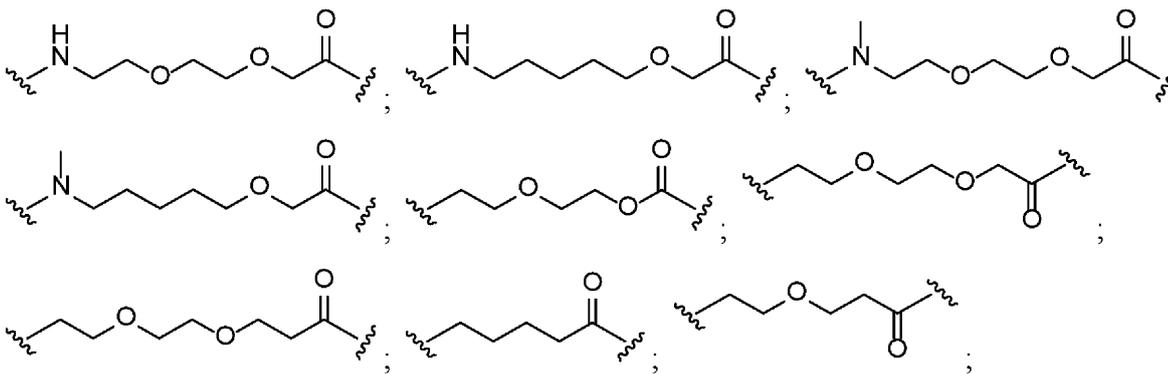
20

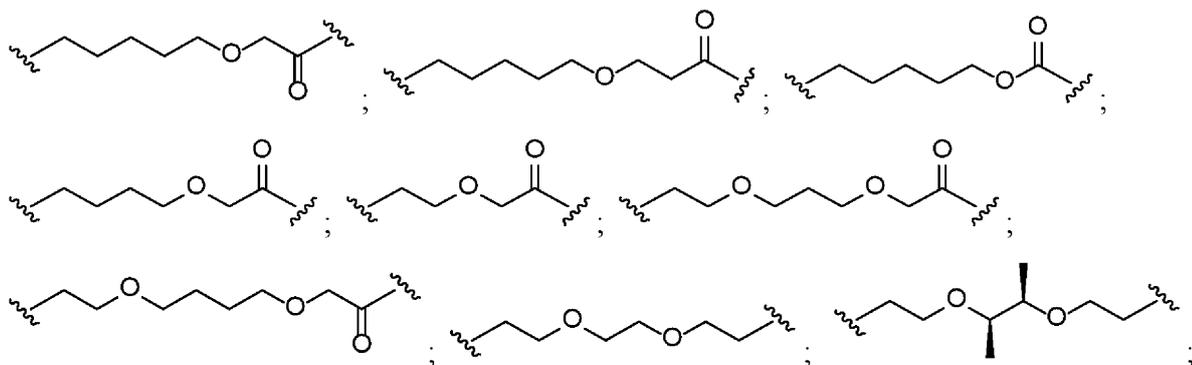


30

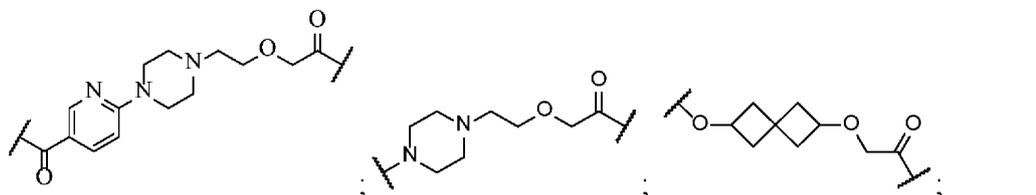


40

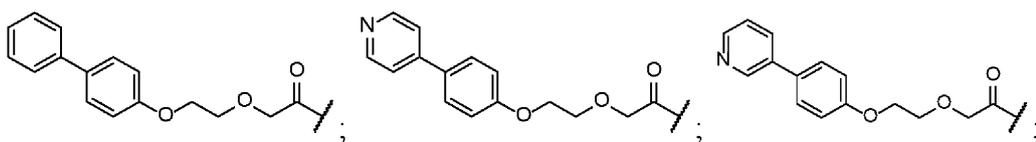




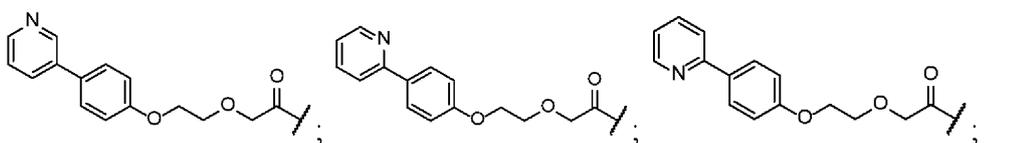
10



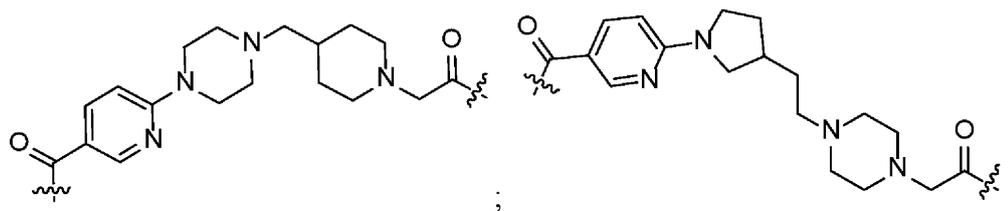
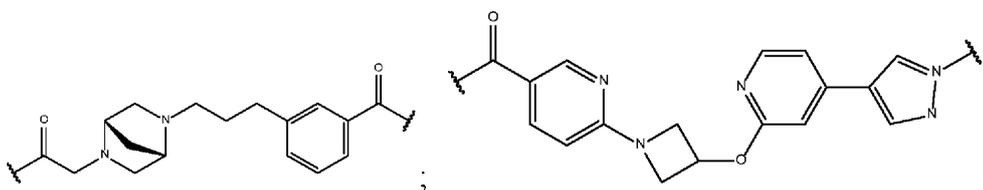
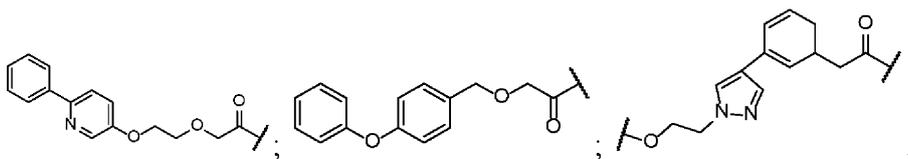
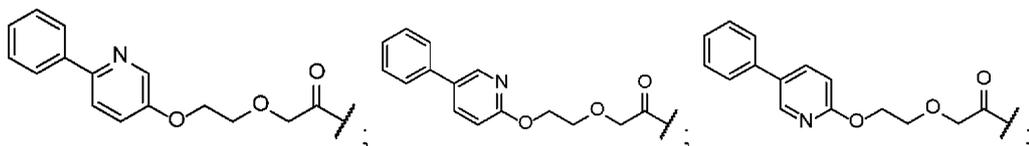
20

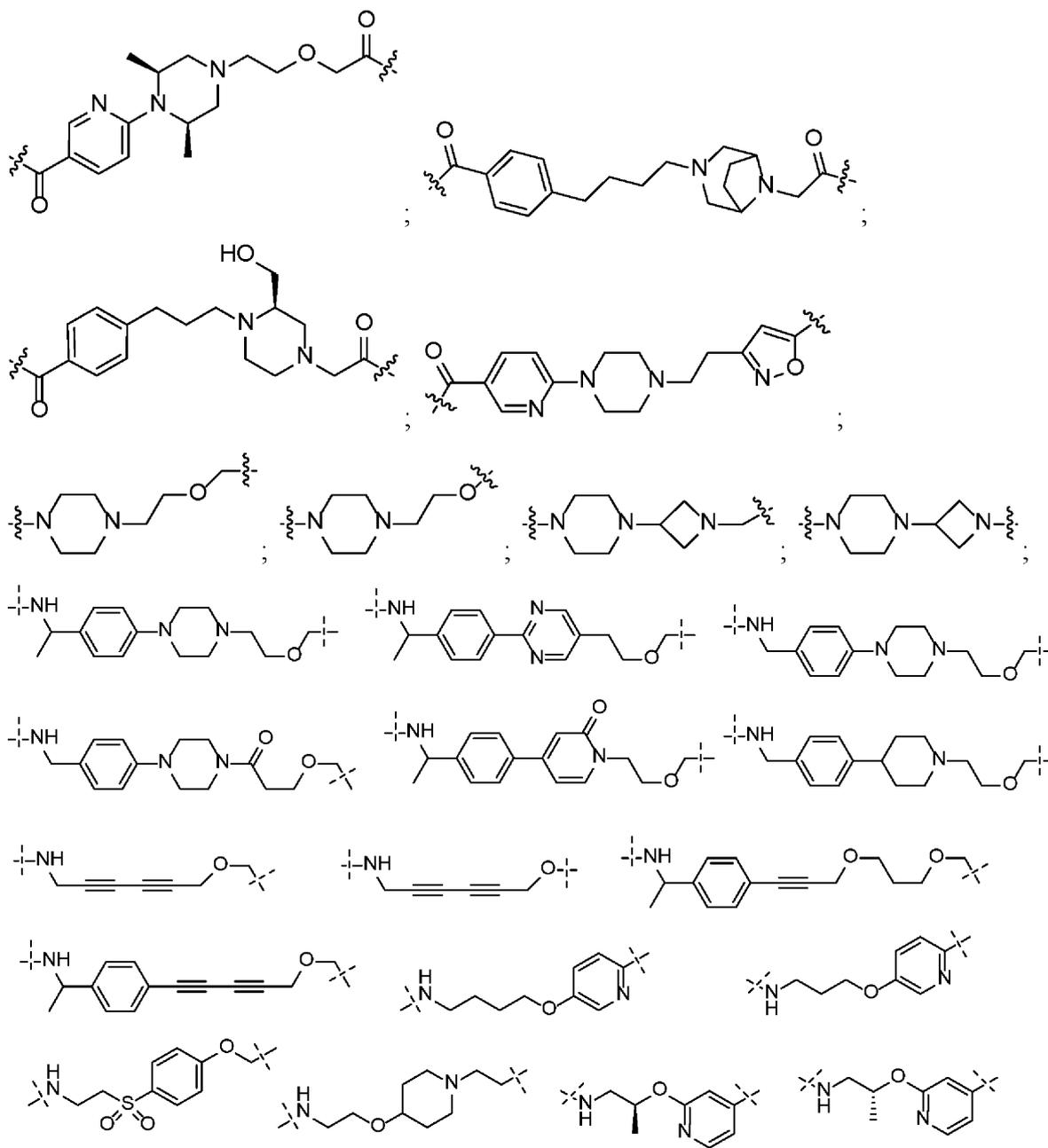


30



40

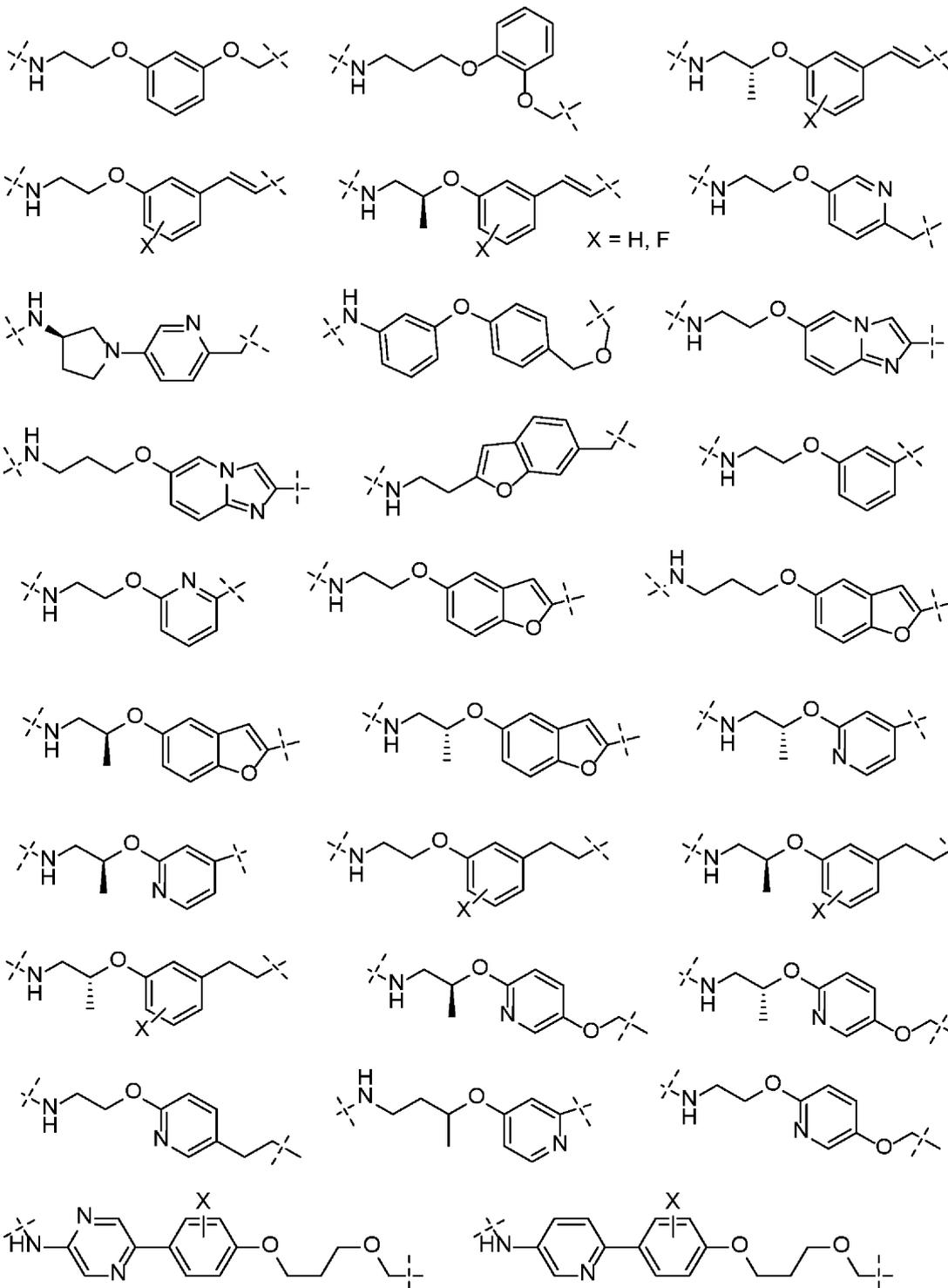




10

20

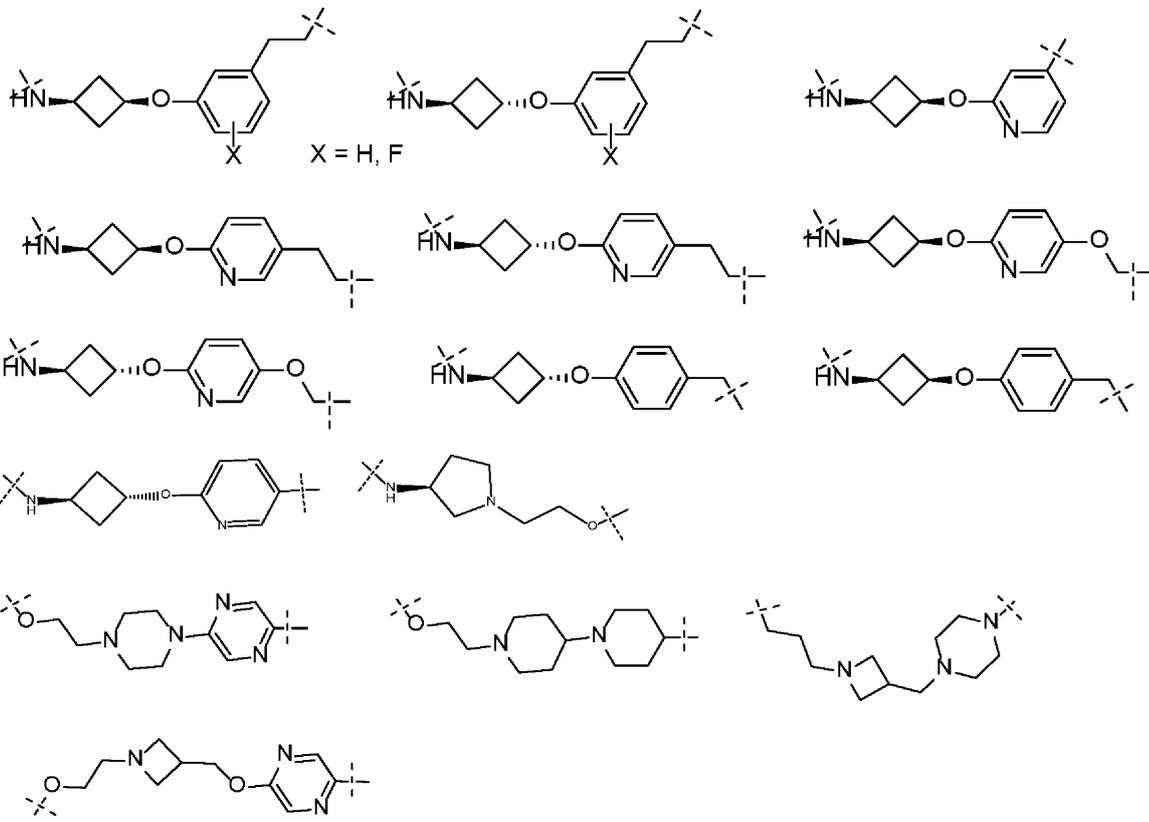
30

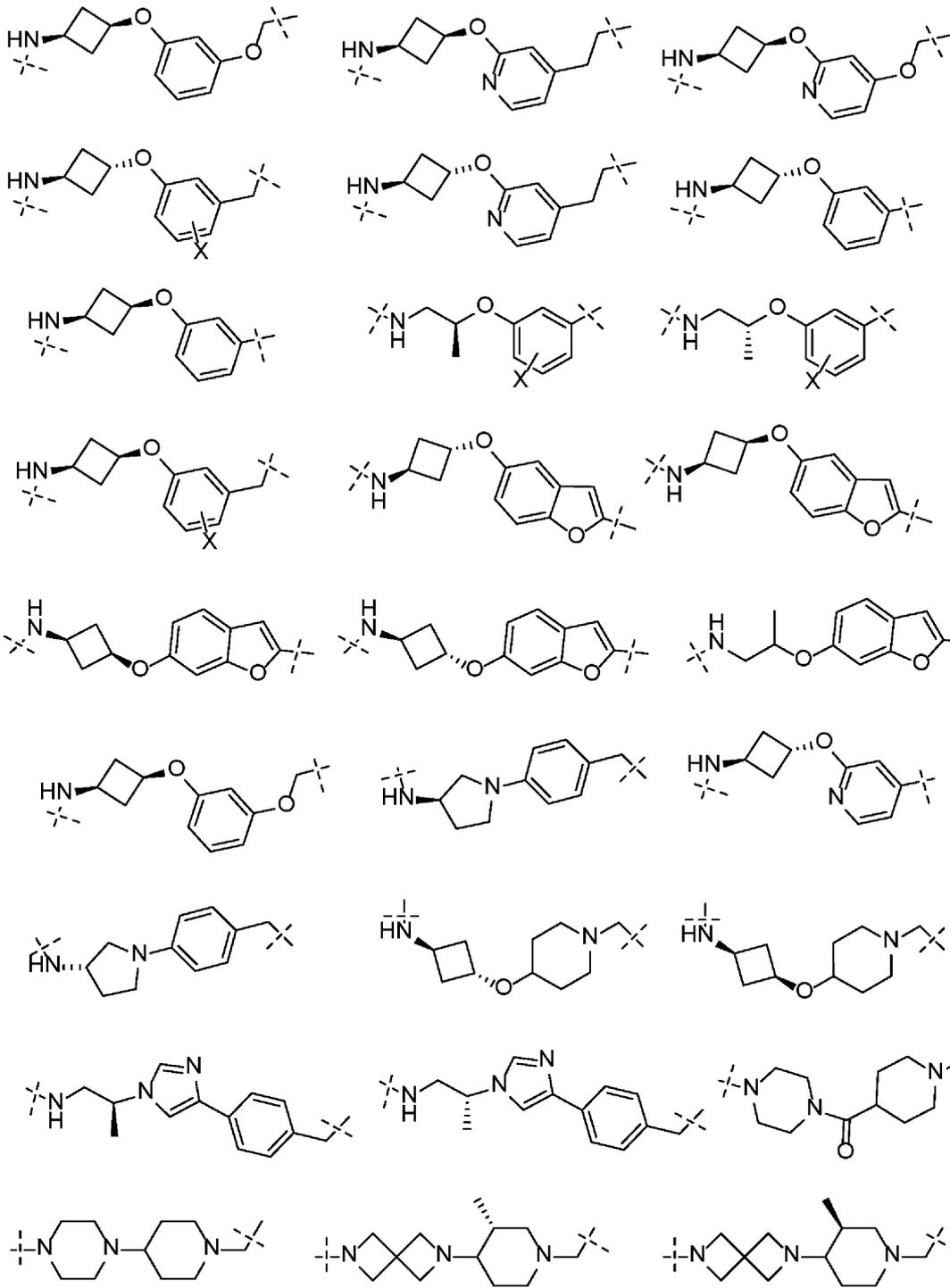


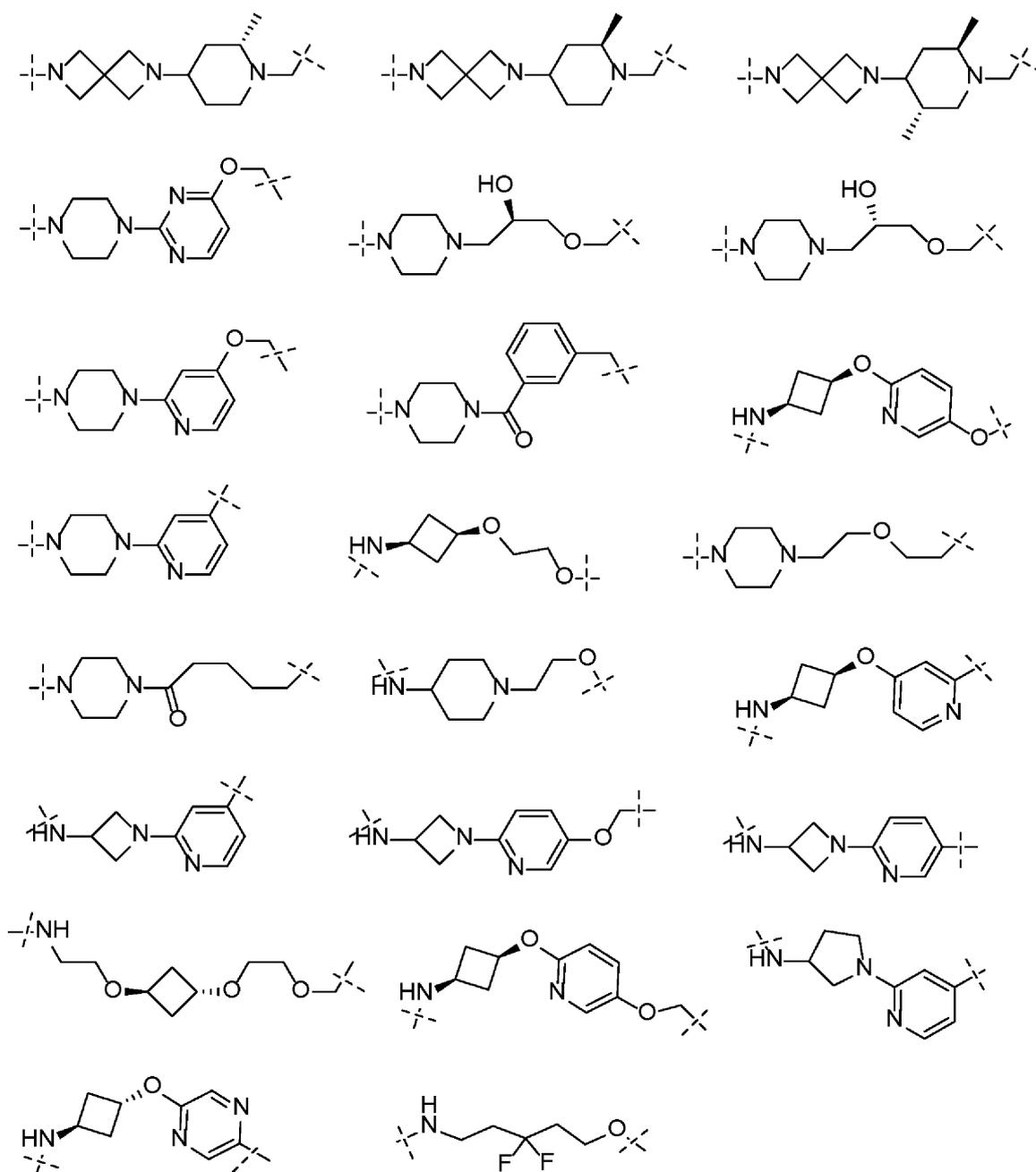
10

20

30







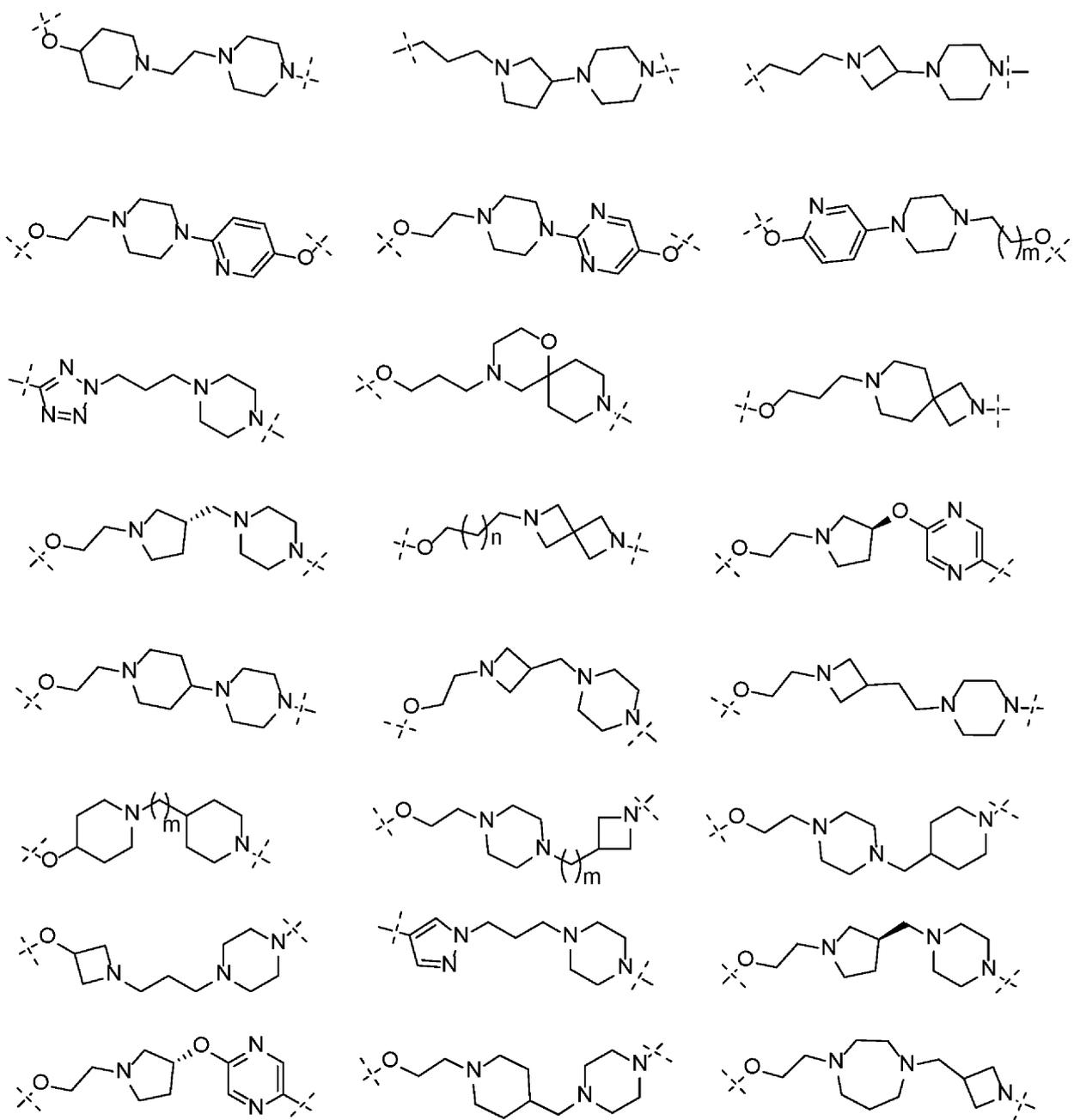
10

20

30

。【0110】

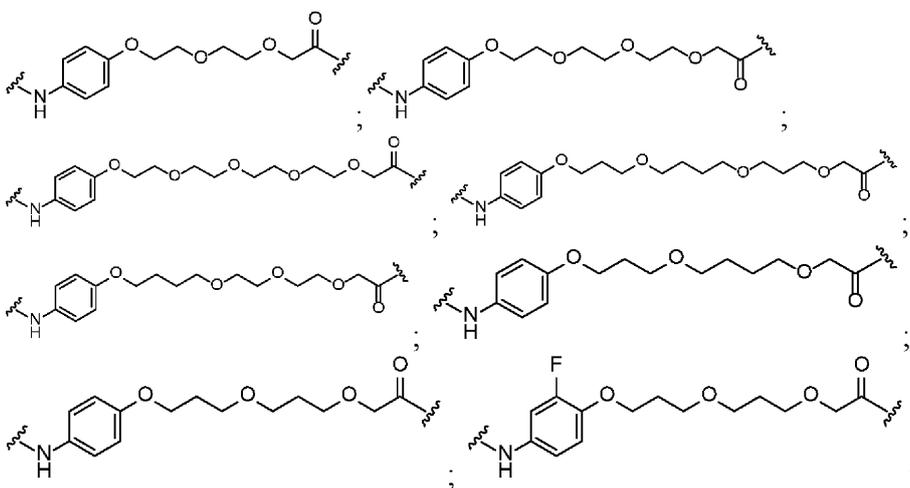
本明細書に記載の任意の局面または態様では、リンカー(L)は以下からなる群より選択され：



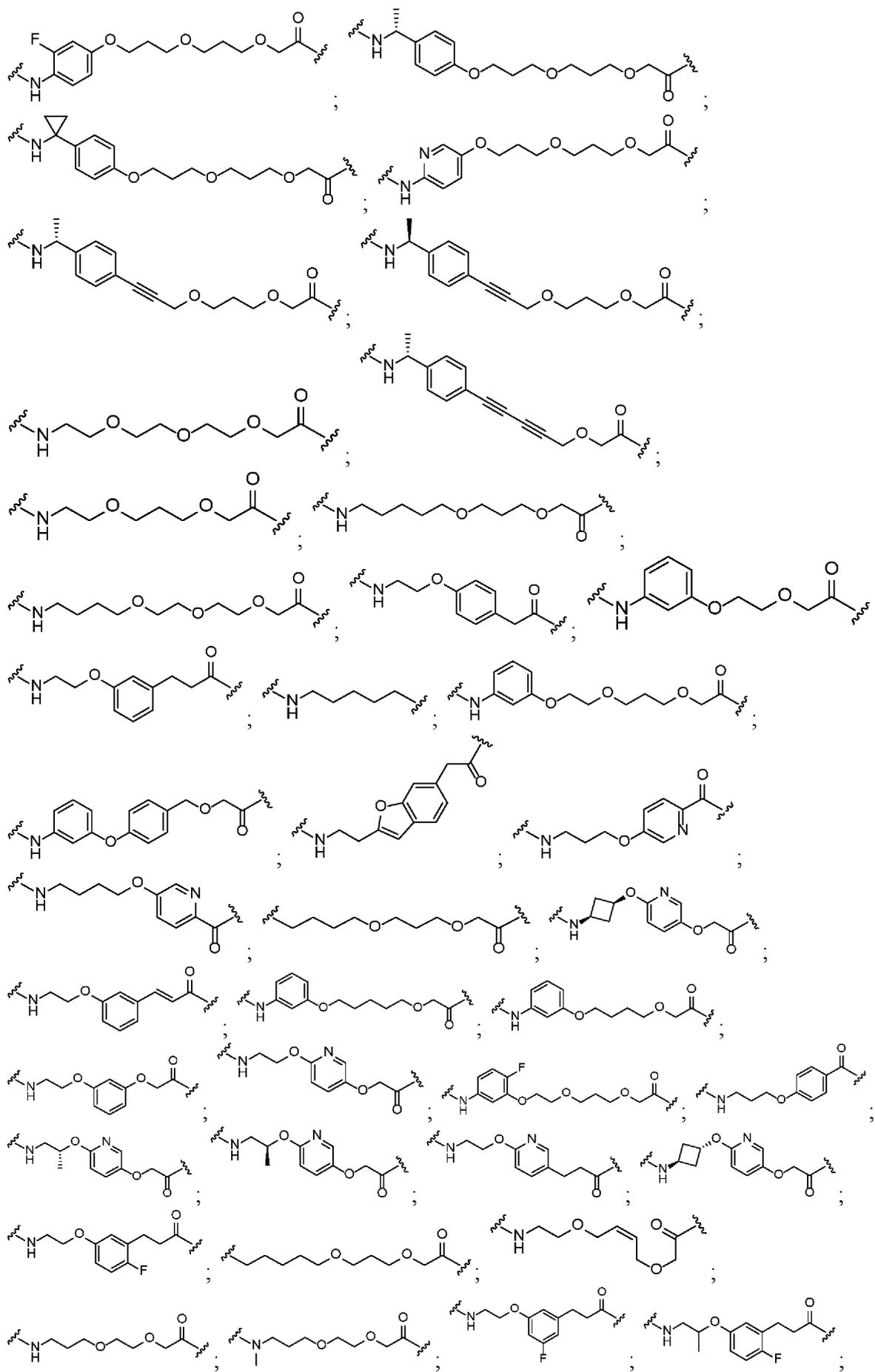
10

20

30



40

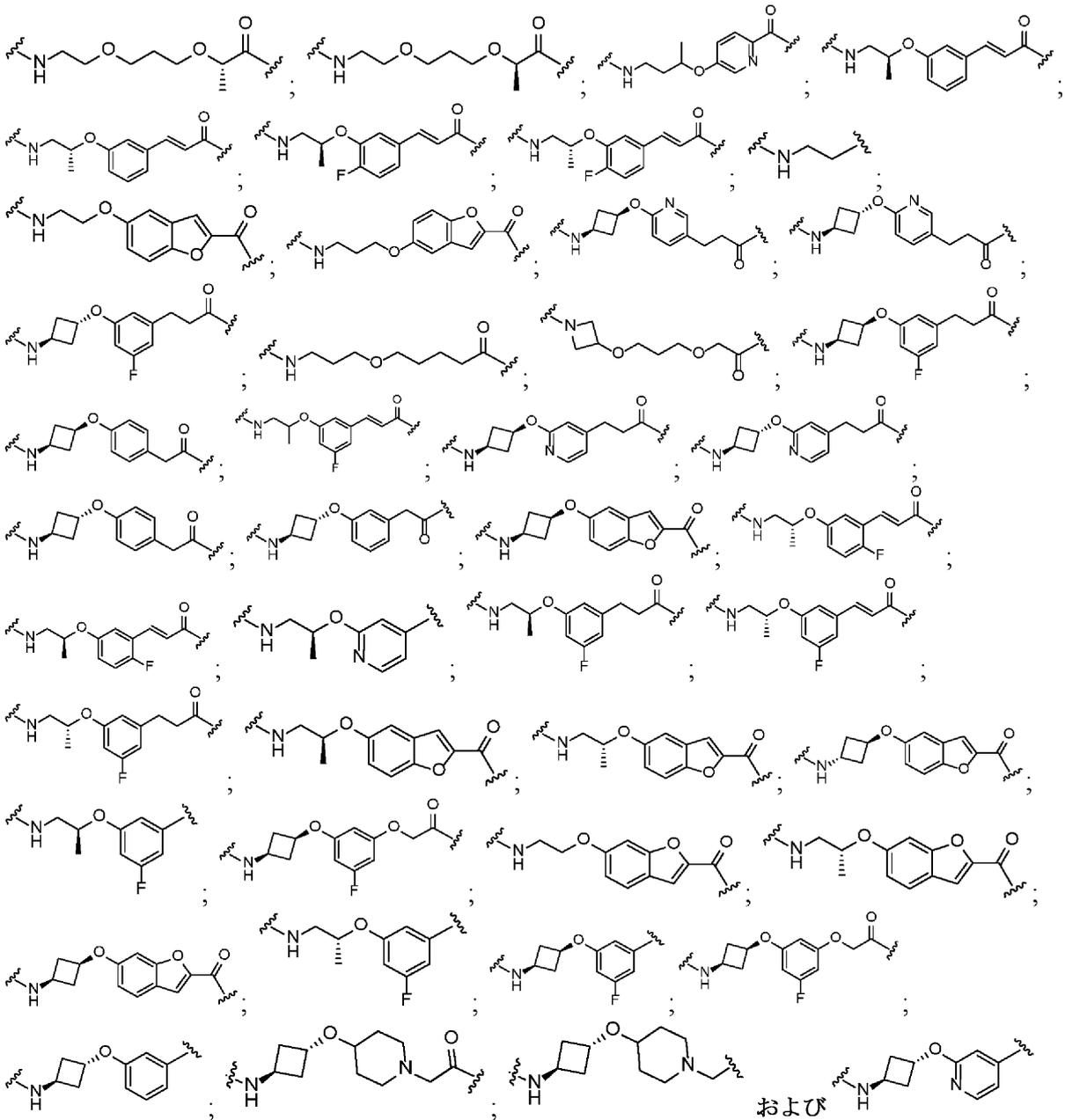


10

20

30

40



10

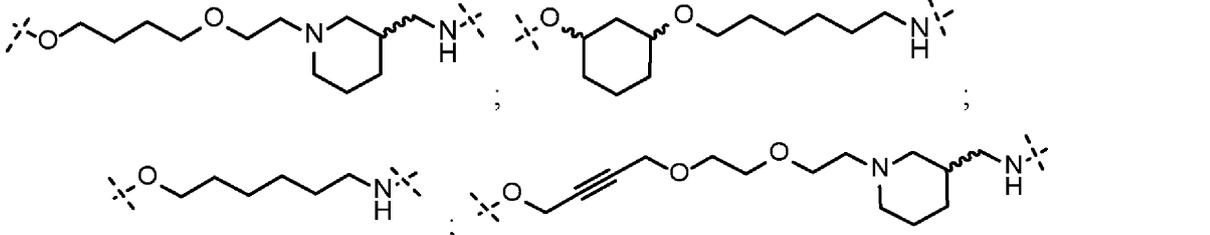
20

30

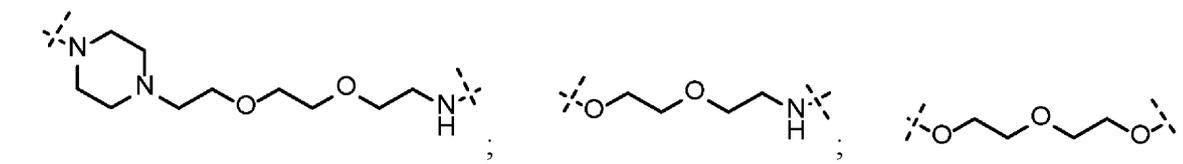
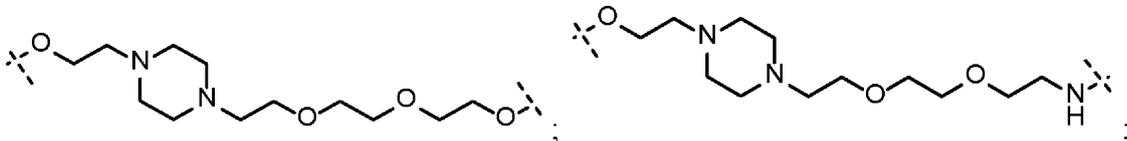
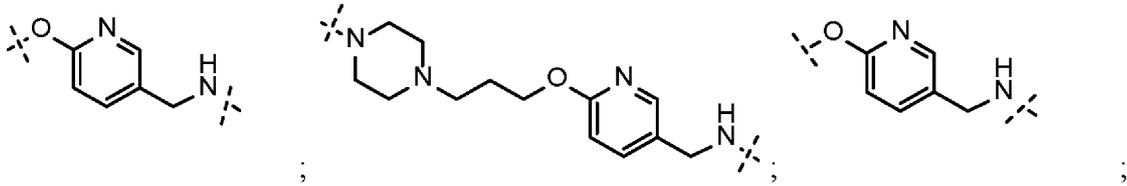
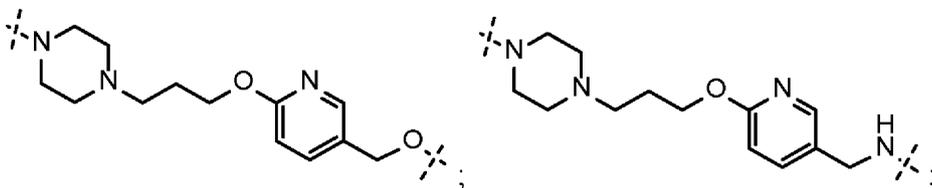
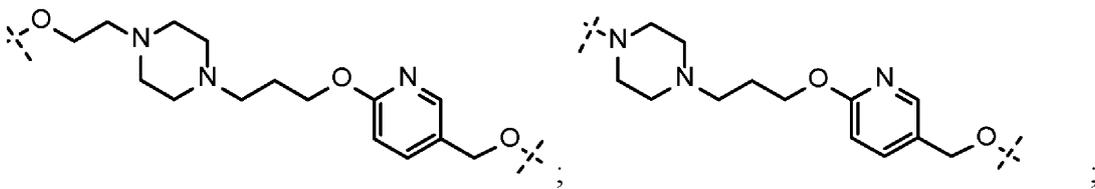
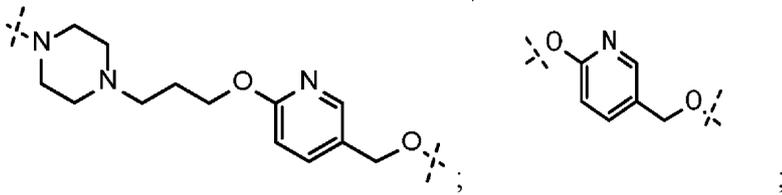
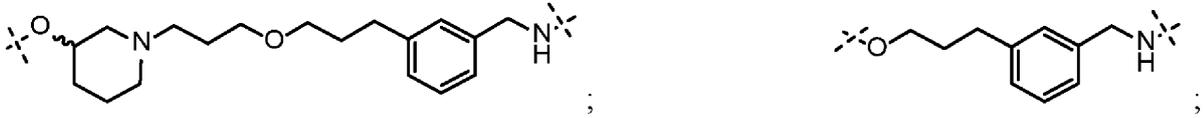
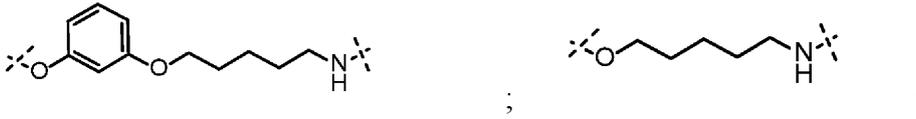
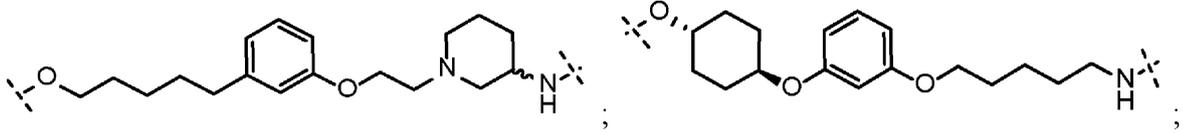
式中、mおよびnは各出現時に独立して、0、1、2、3、4、5、および6からなる群より選択される。

【0111】

本明細書に記載の任意の局面または態様では、リンカー(L)は以下からなる群より選択され：



40

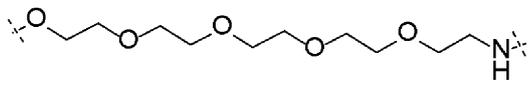
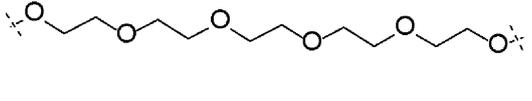
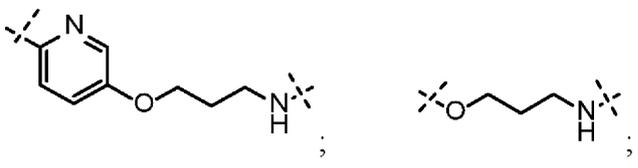
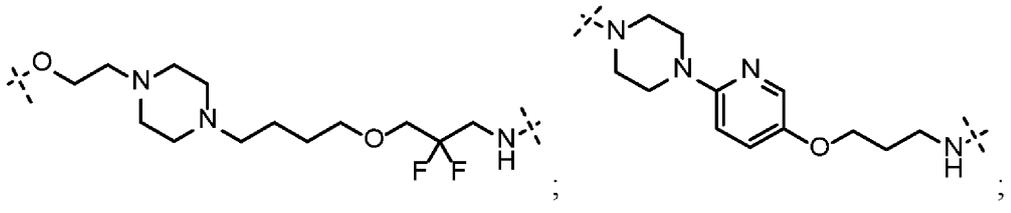
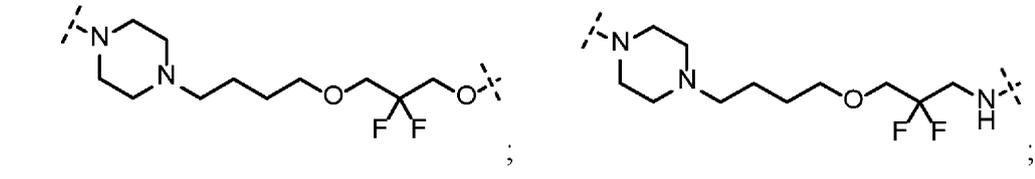
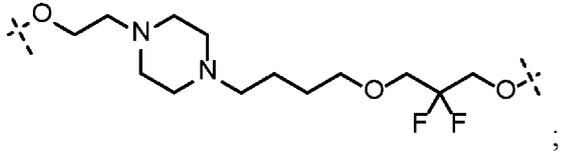
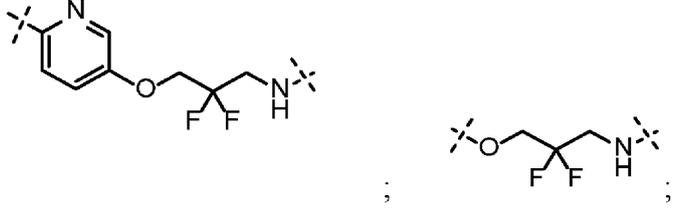
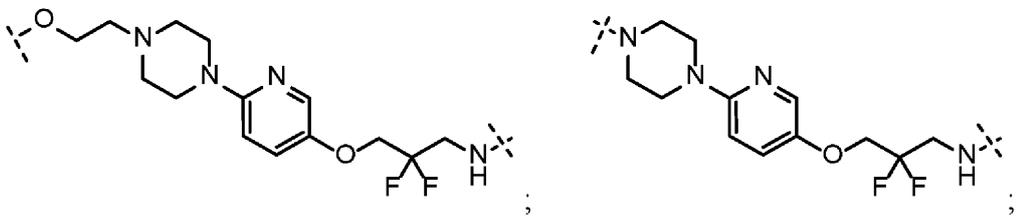
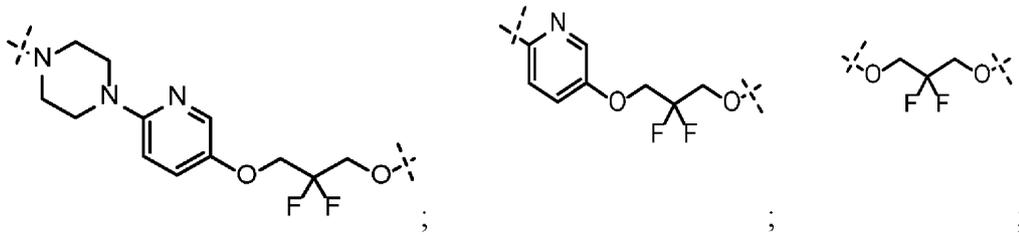


10

20

30

40

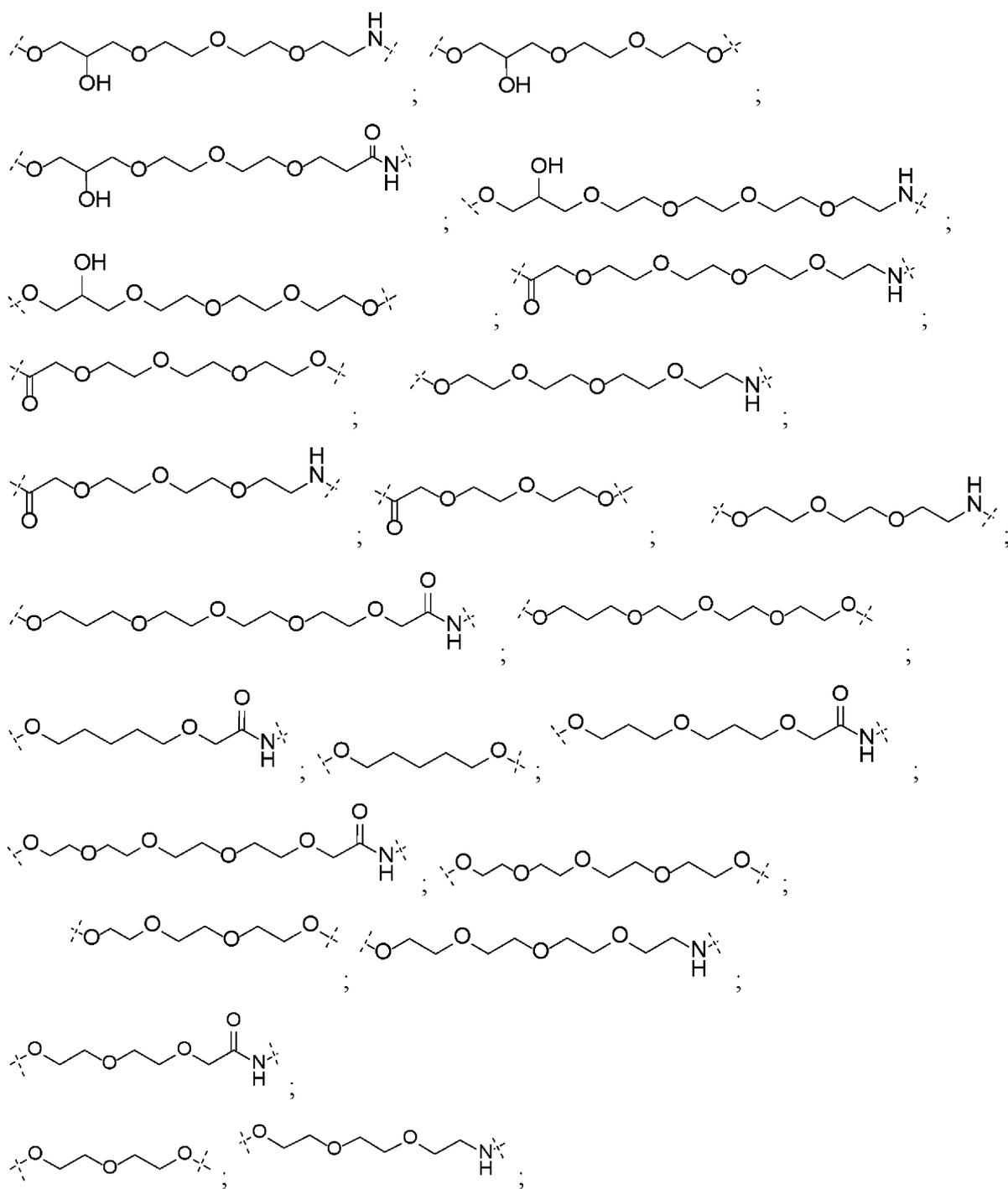


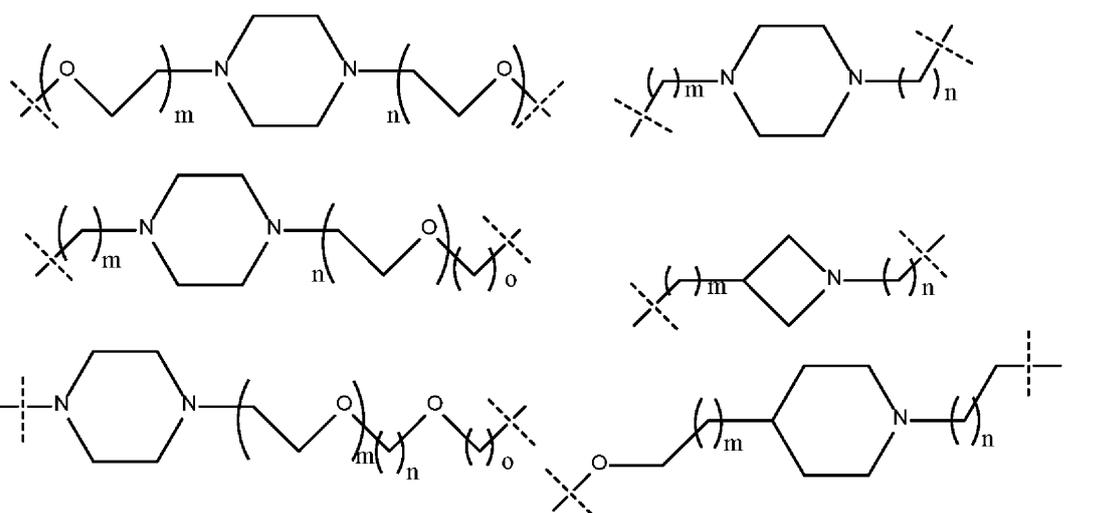
10

20

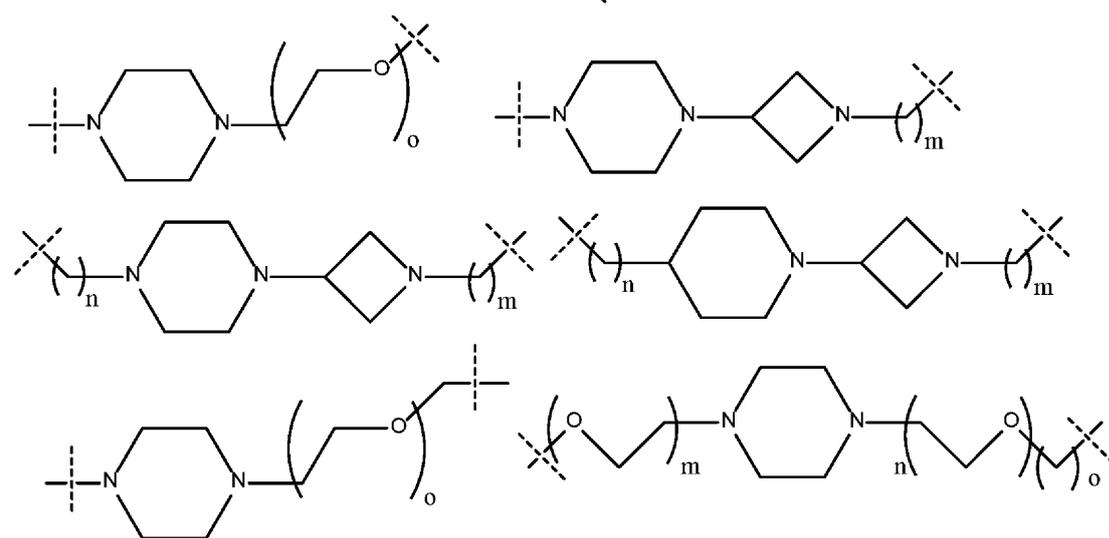
30

40

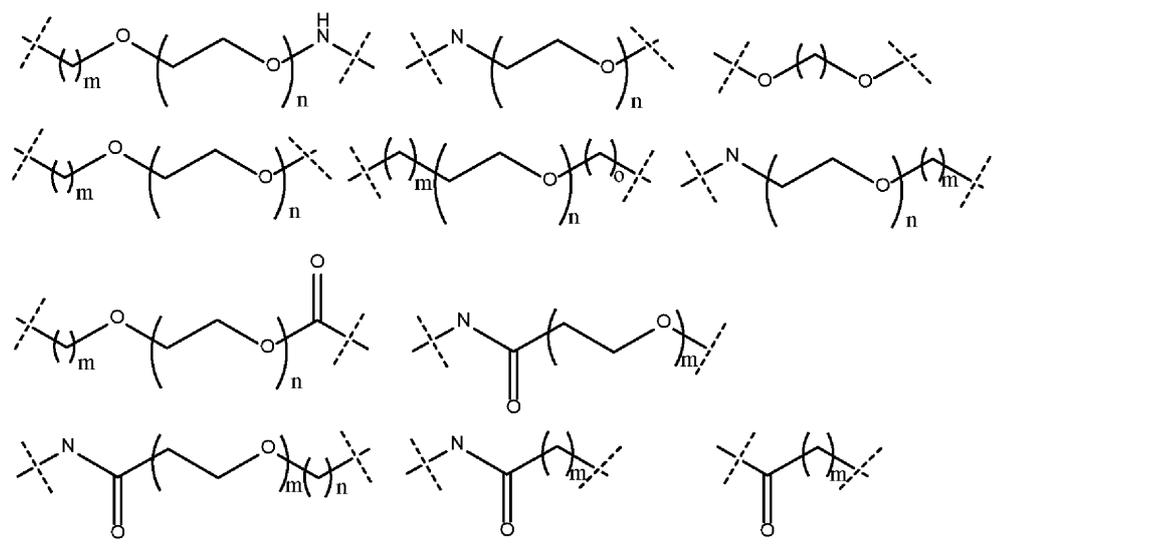




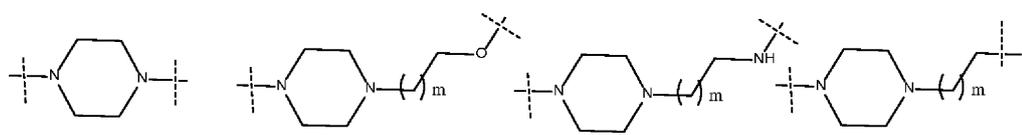
10



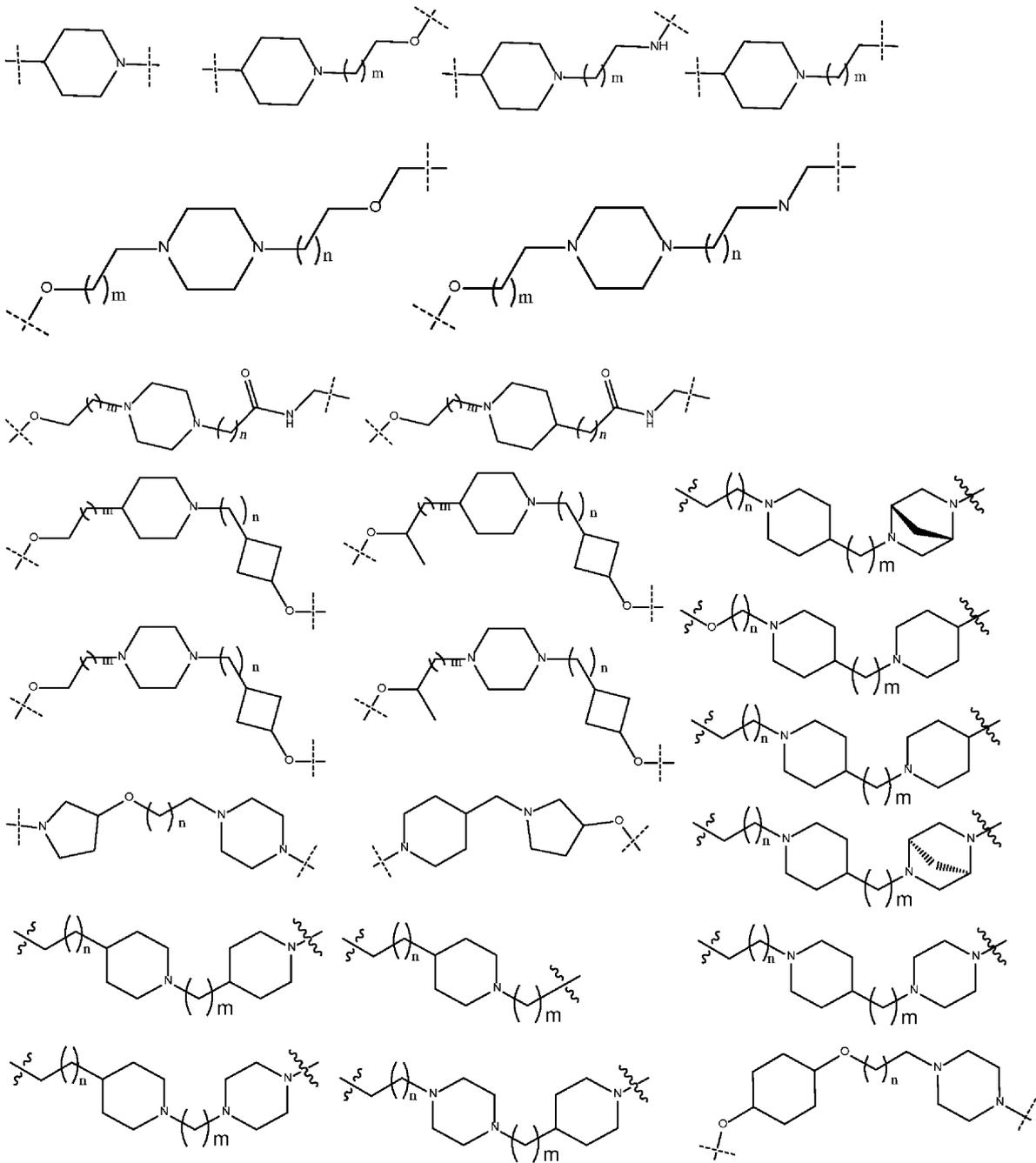
20

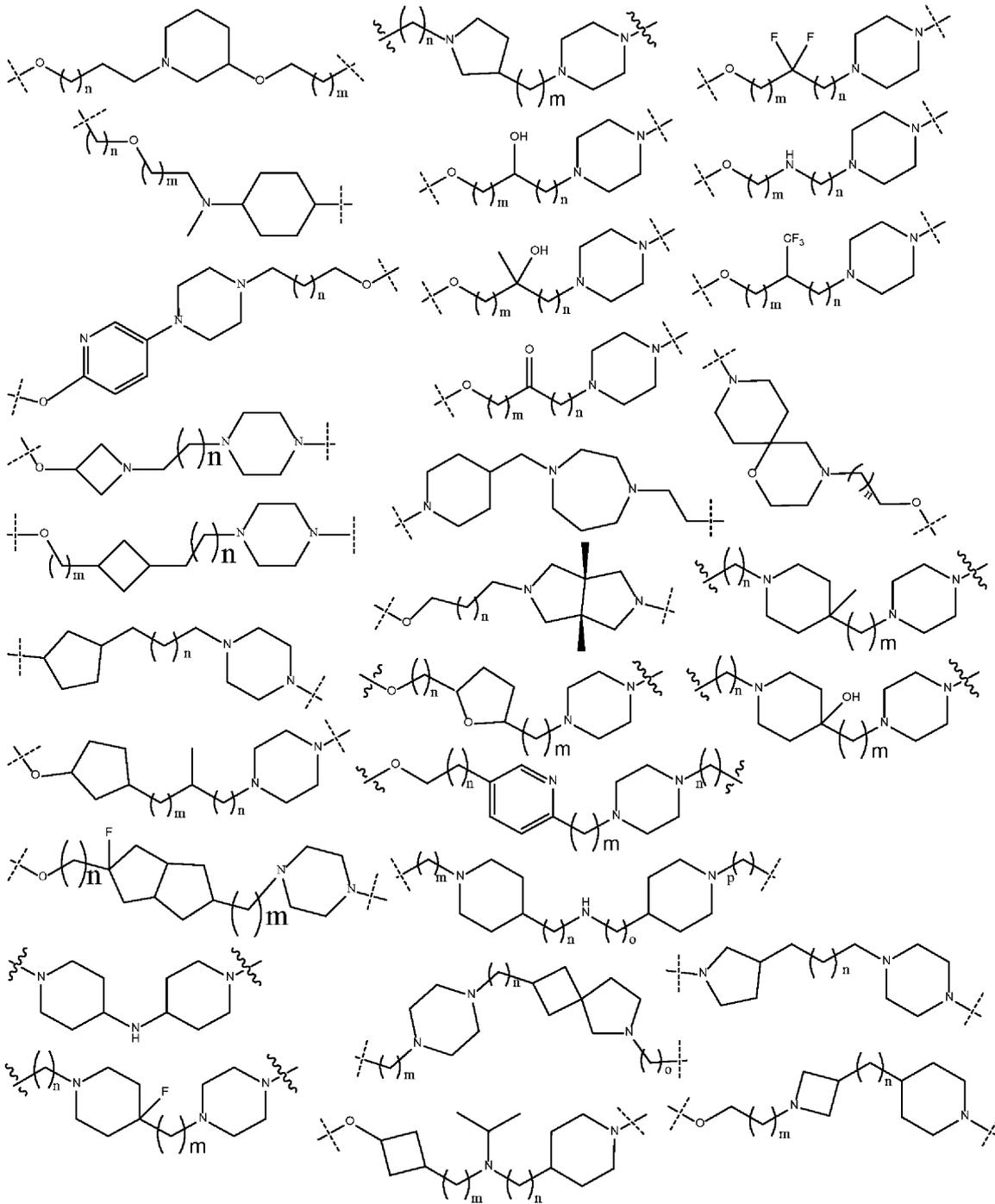


30



40

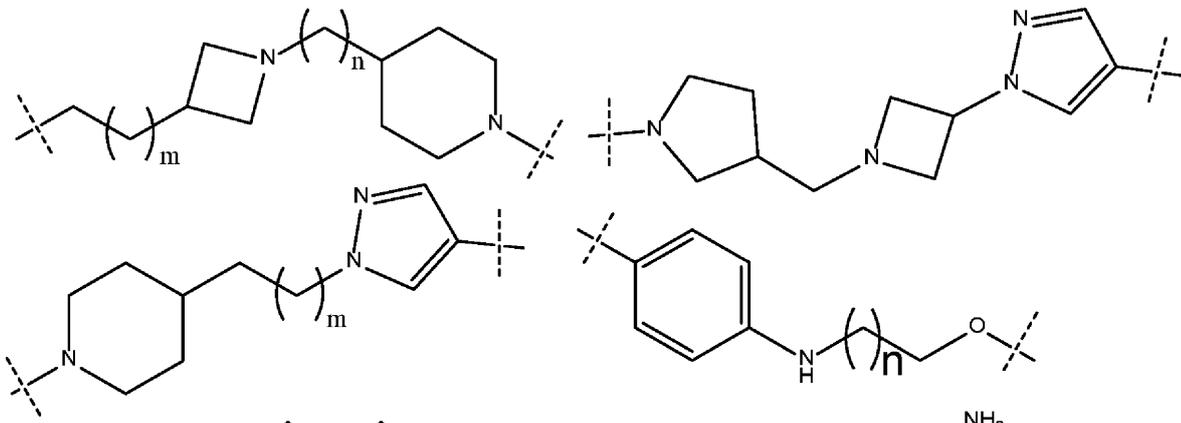




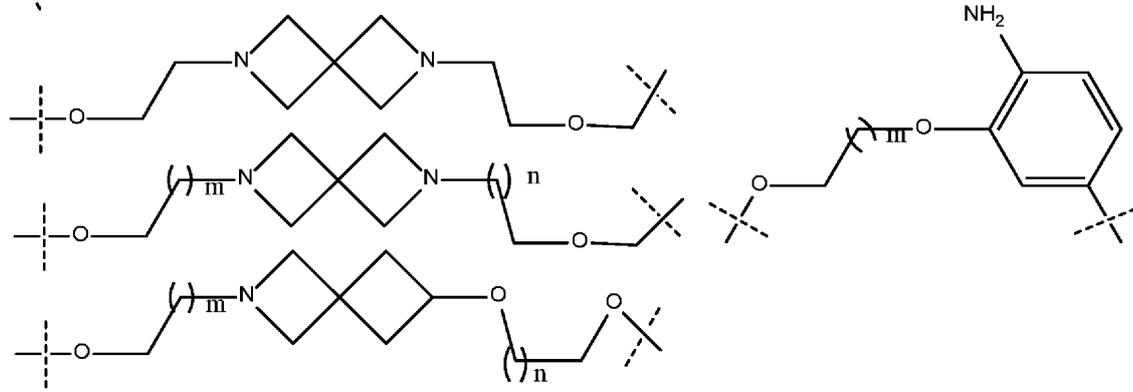
10

20

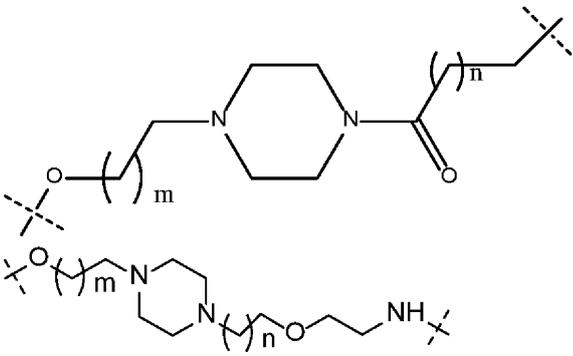
30



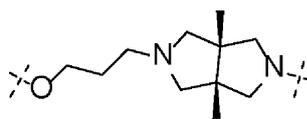
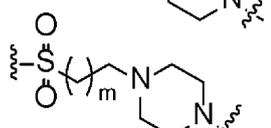
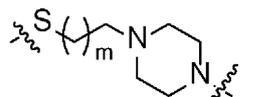
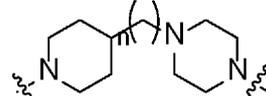
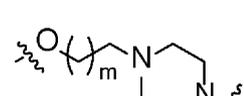
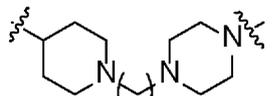
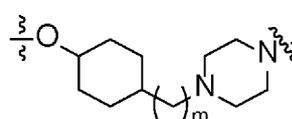
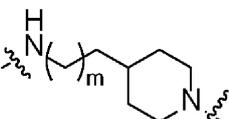
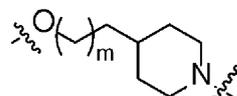
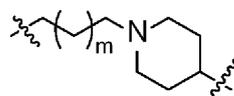
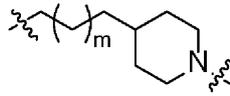
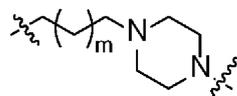
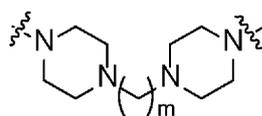
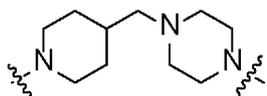
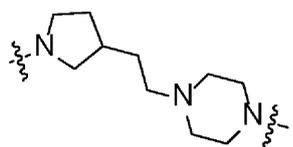
10



20

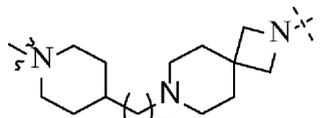
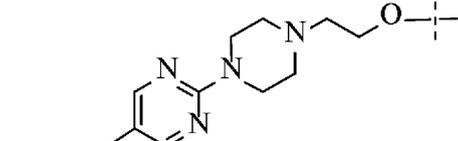
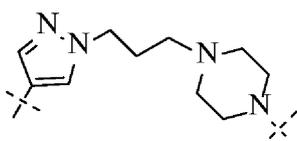
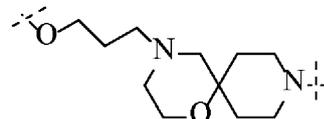
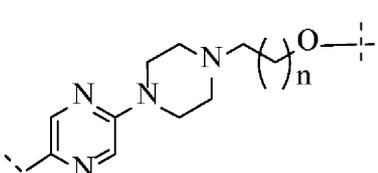
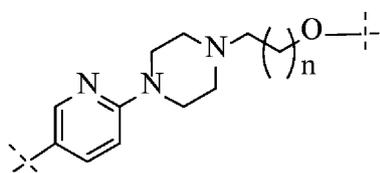


30

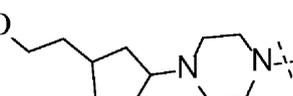
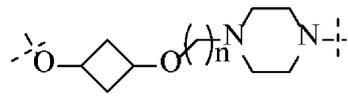
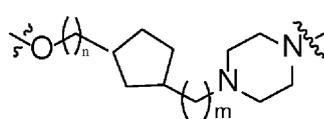
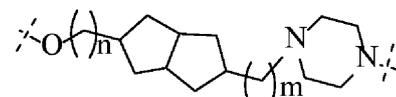
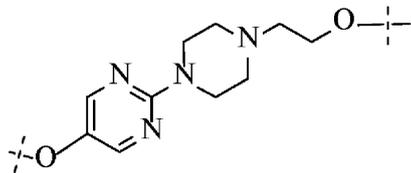
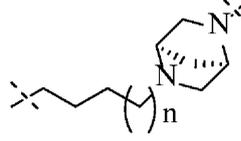
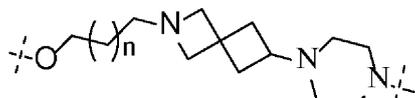
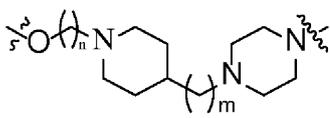
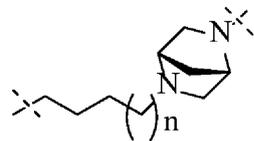


10

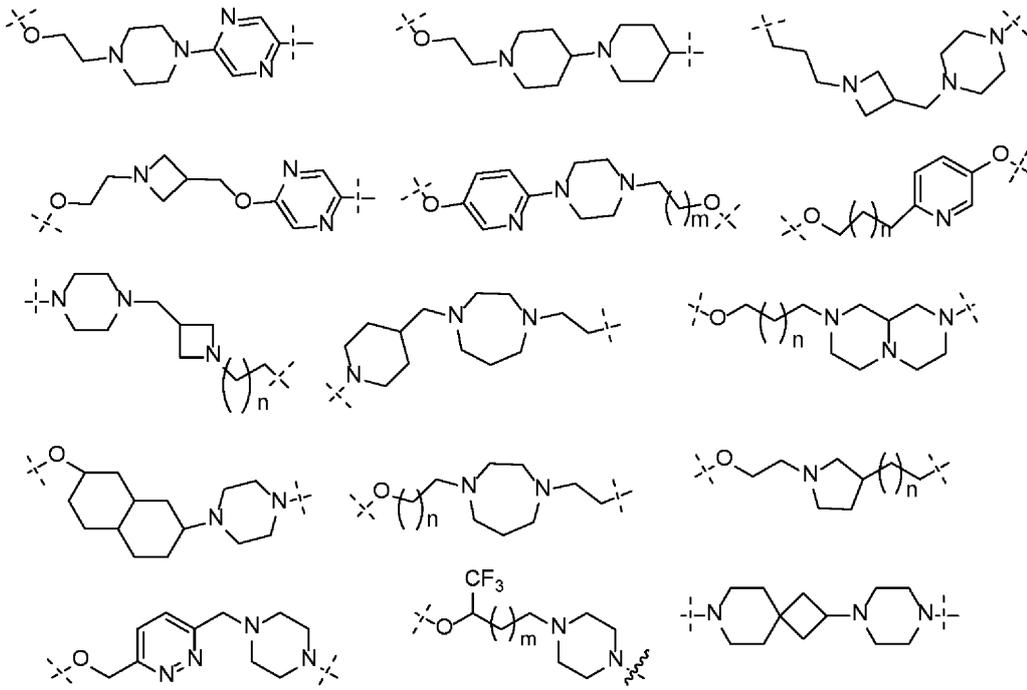
20



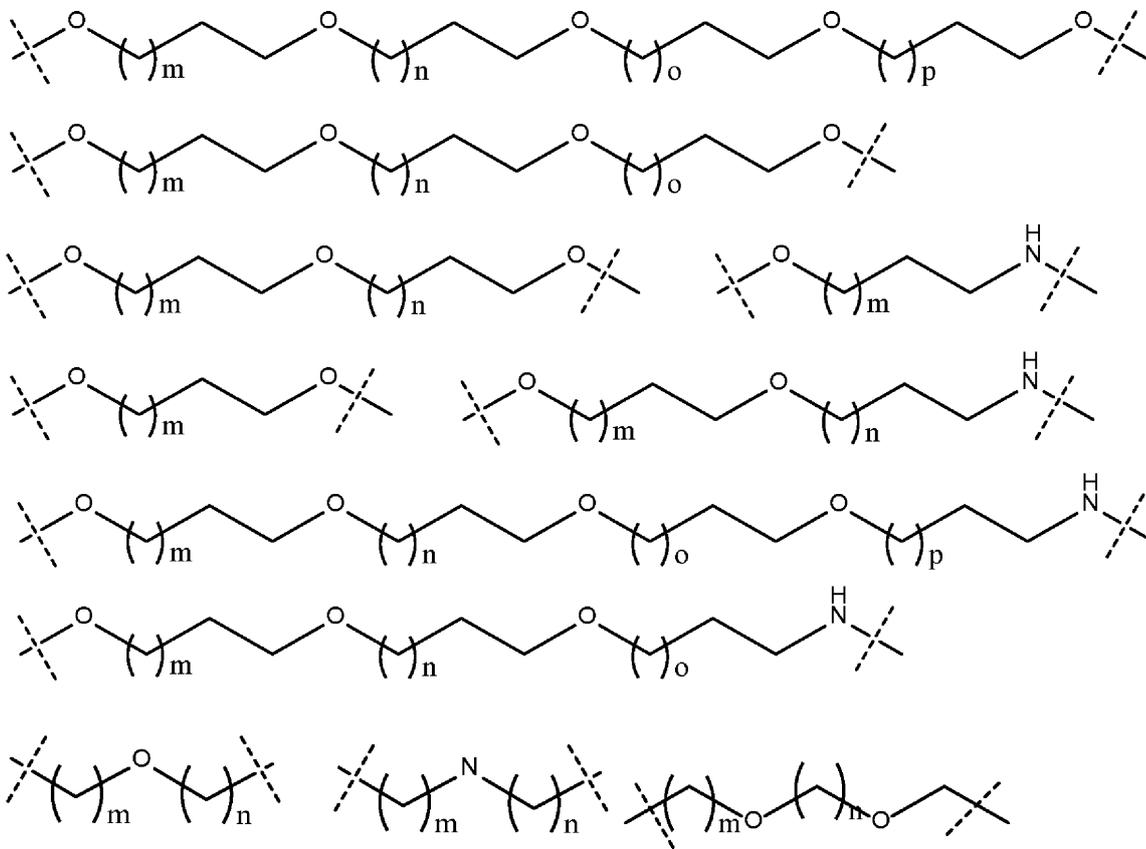
30



40



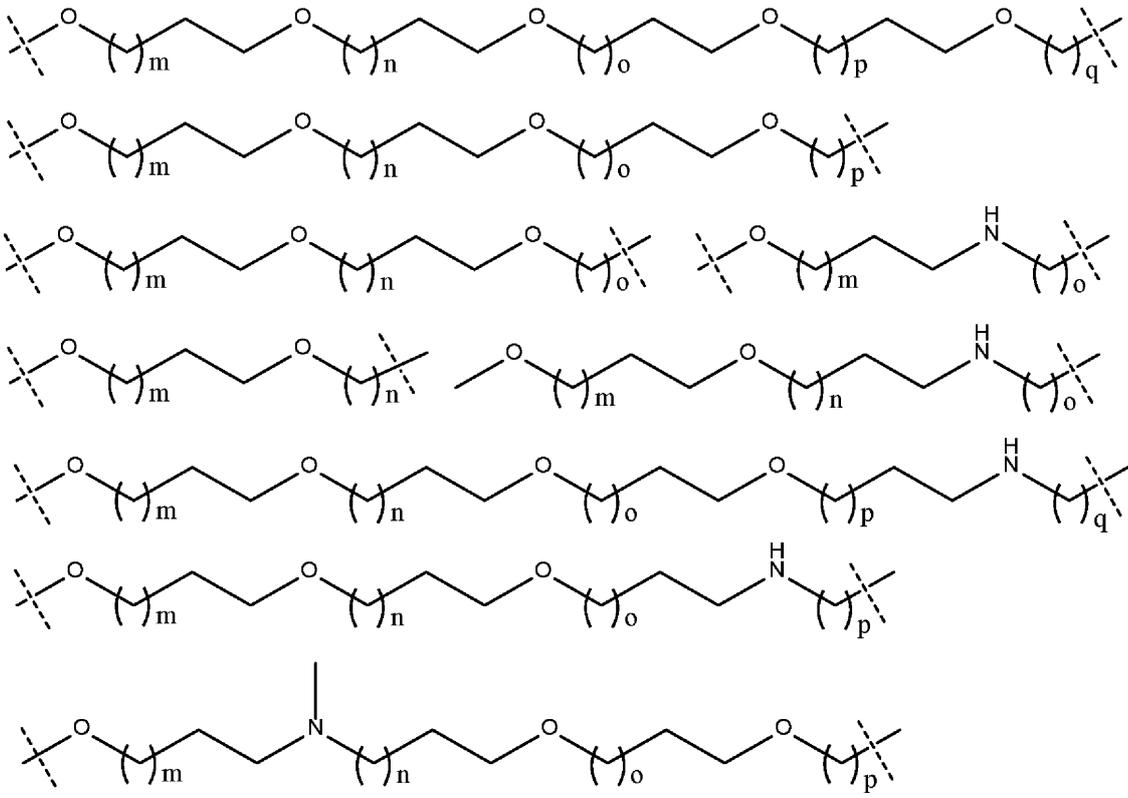
10



20

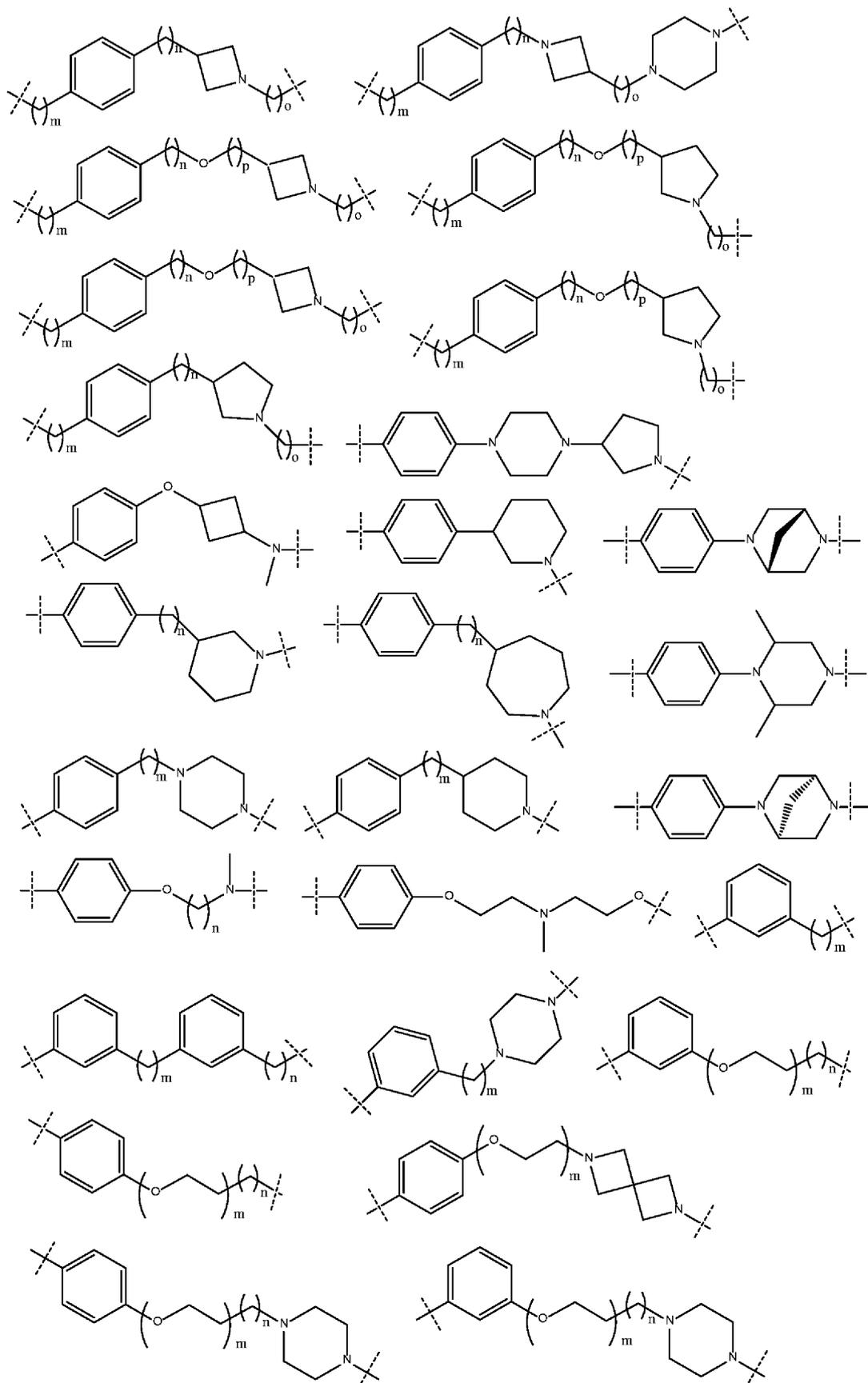
30

40



10

20

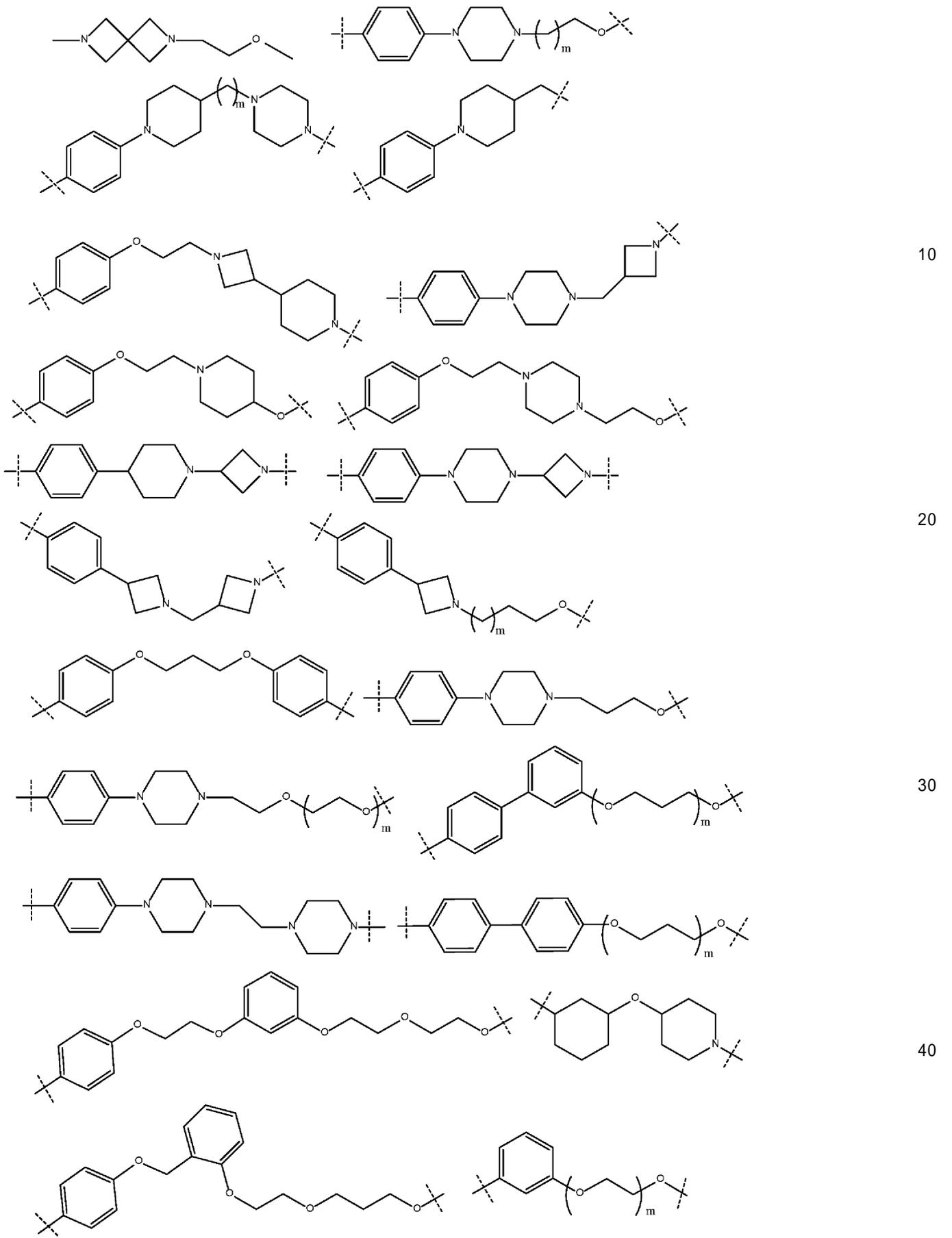


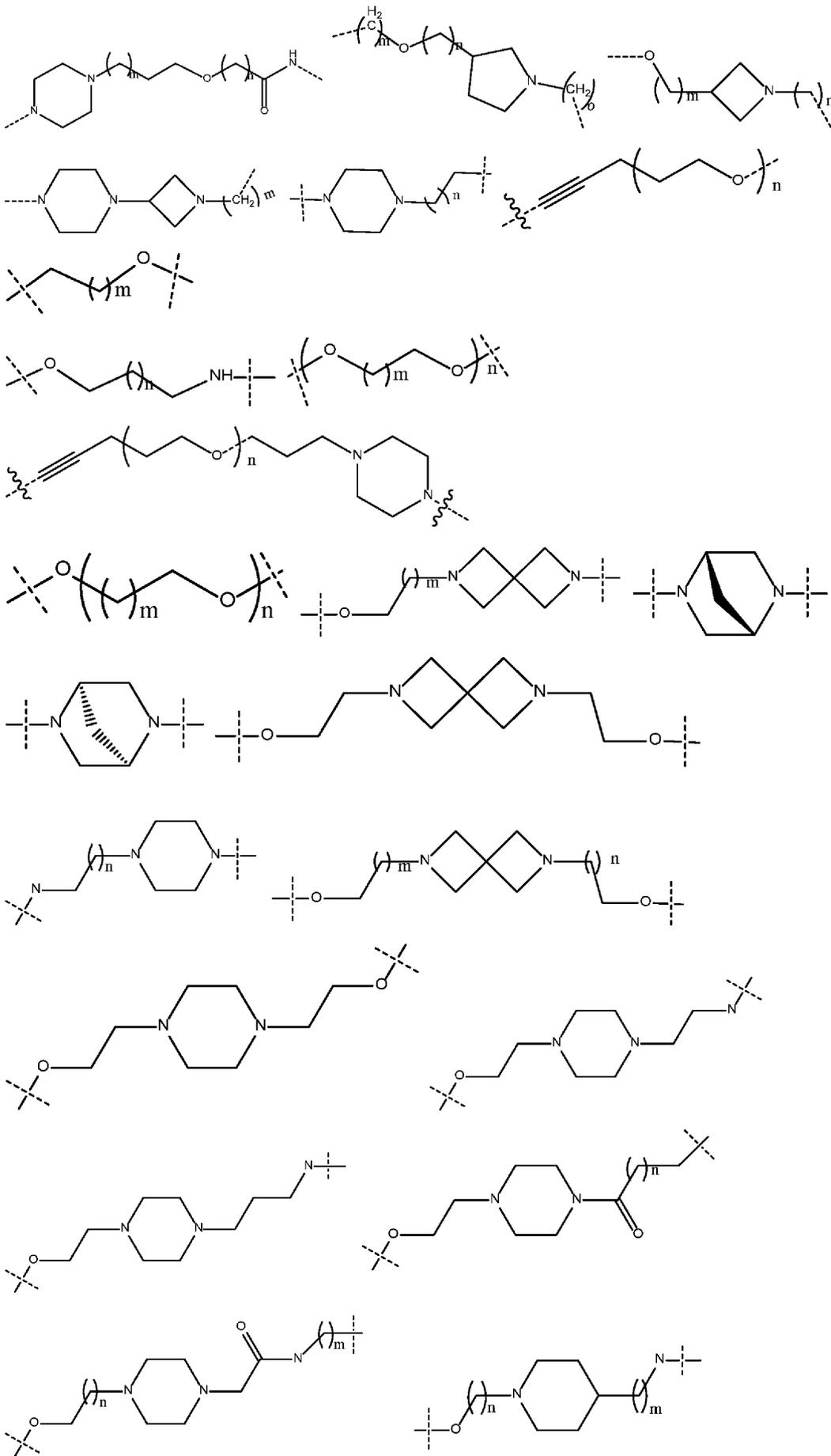
10

20

30

40



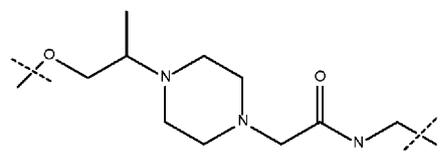
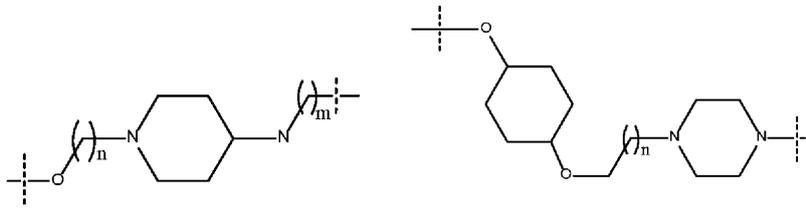


10

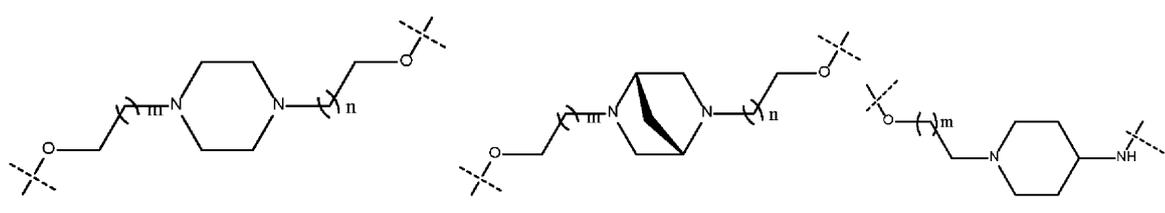
20

30

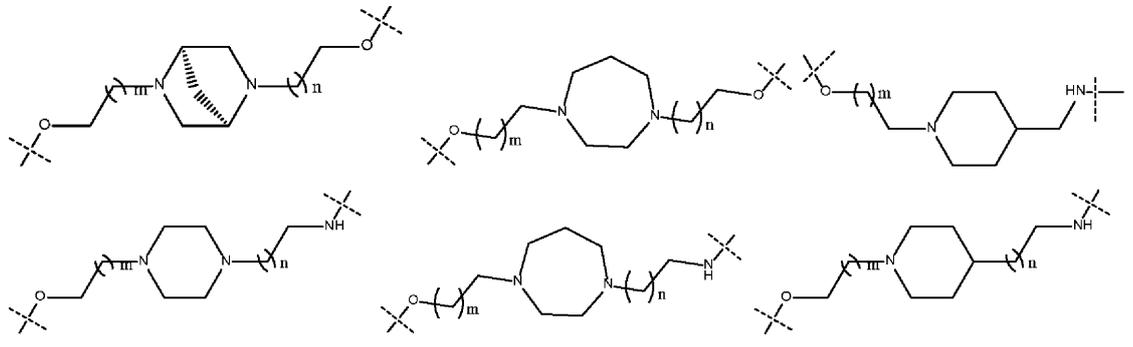
40

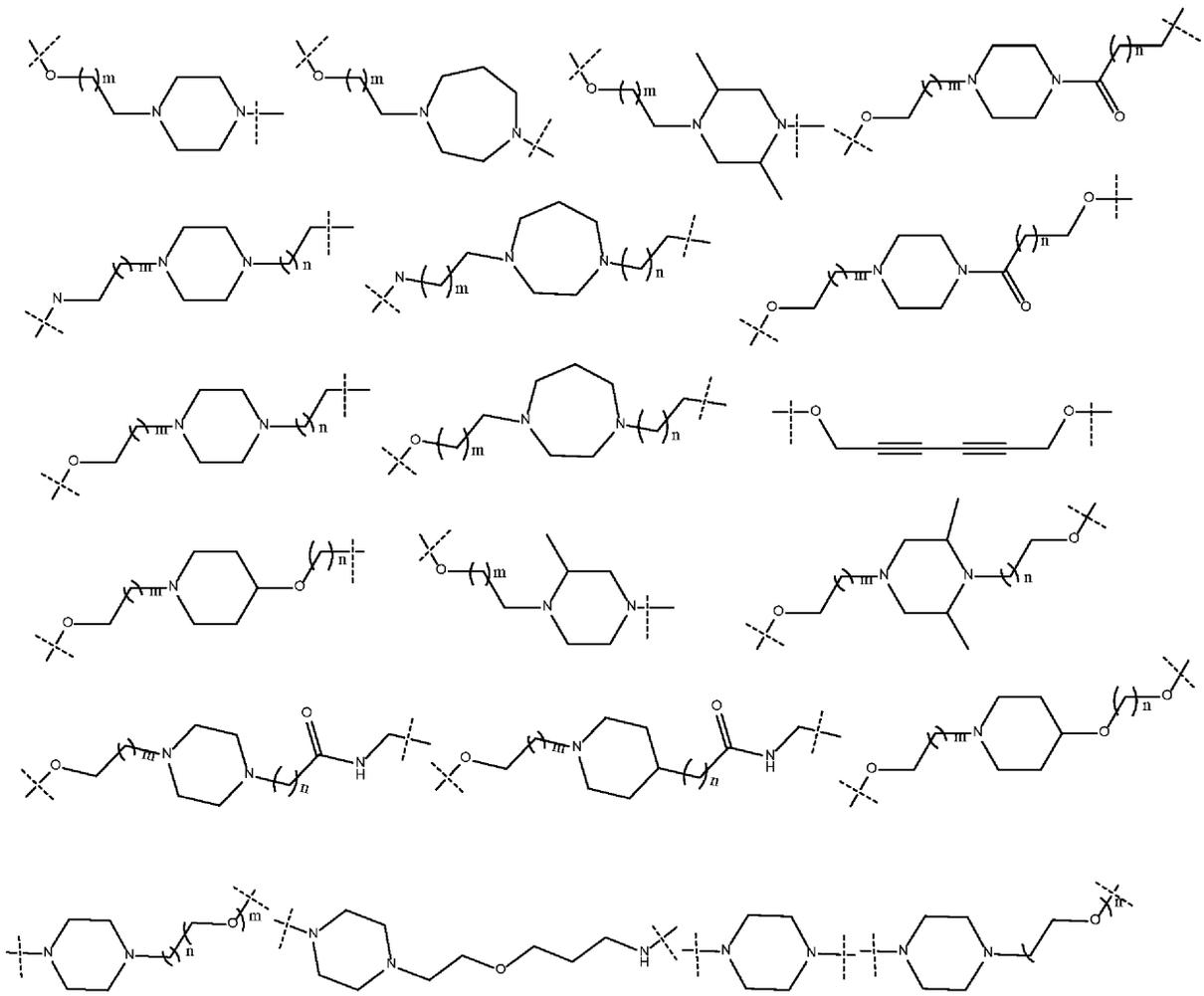


10



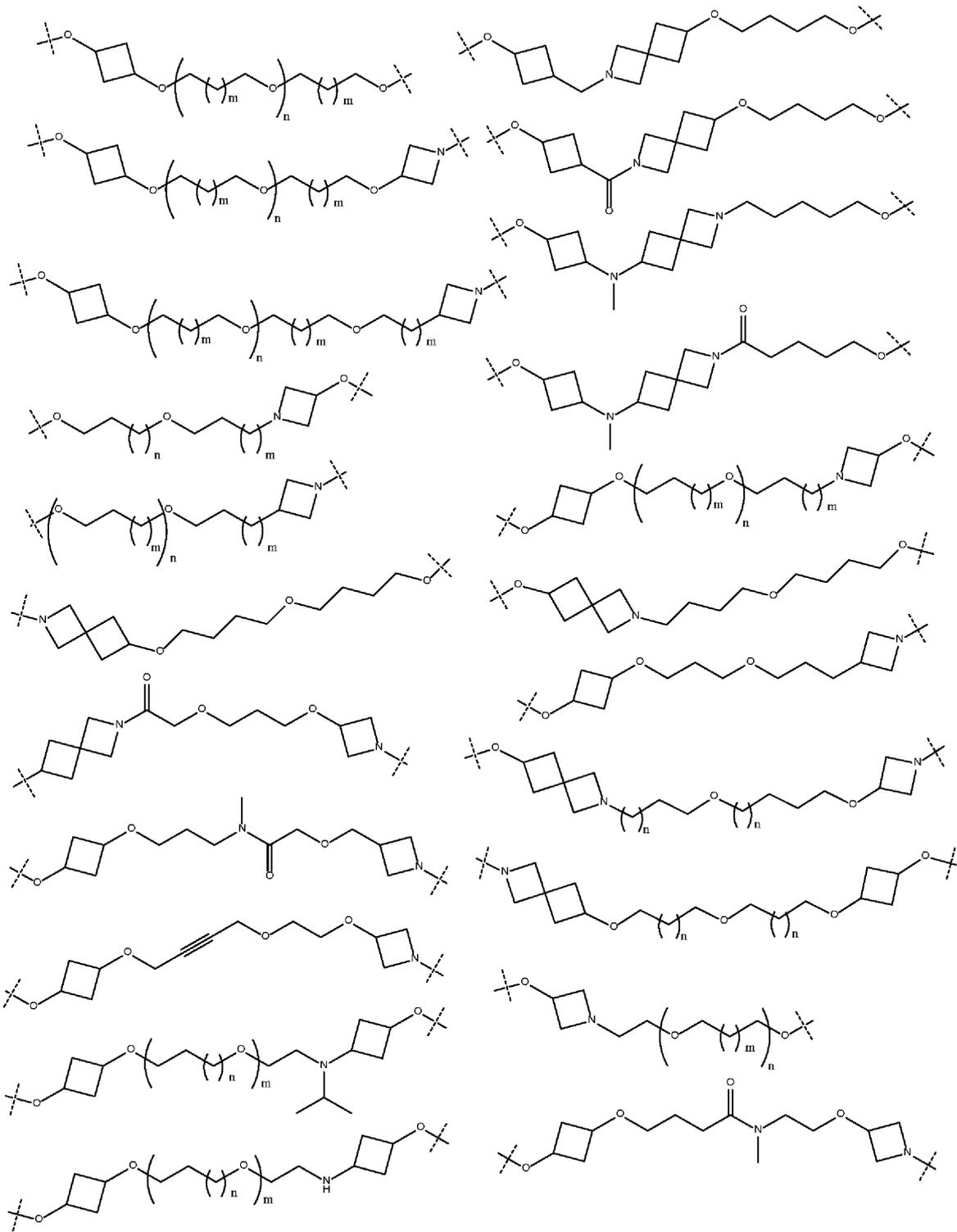
20





10

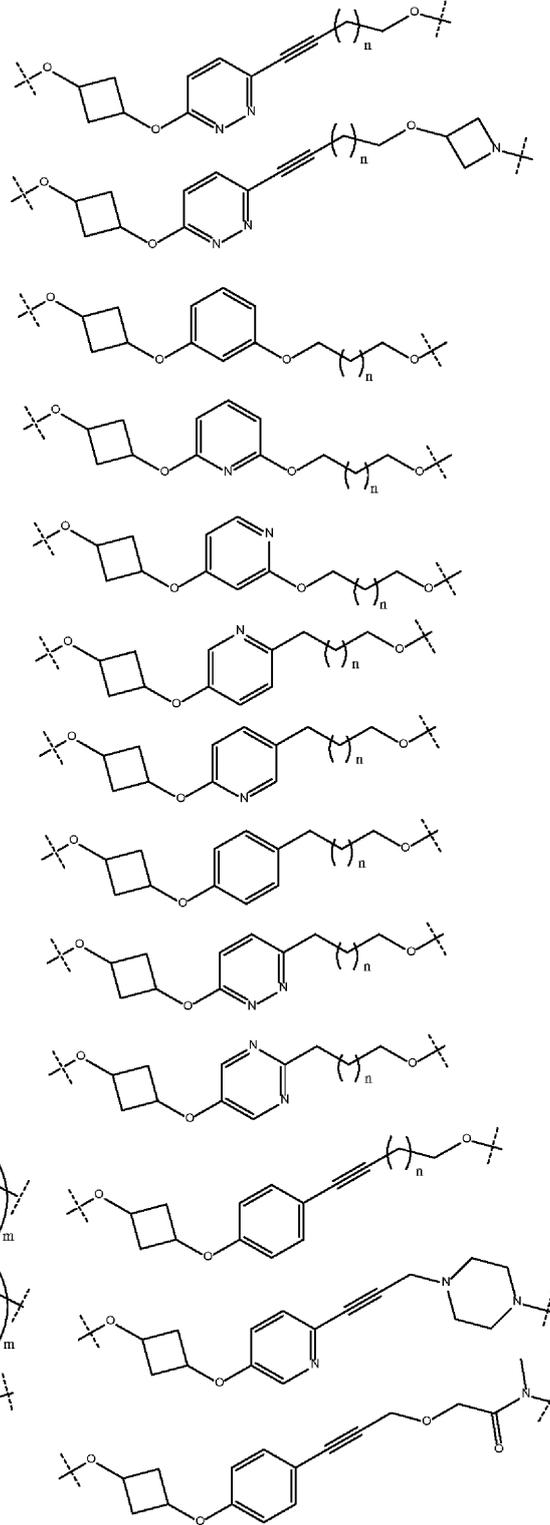
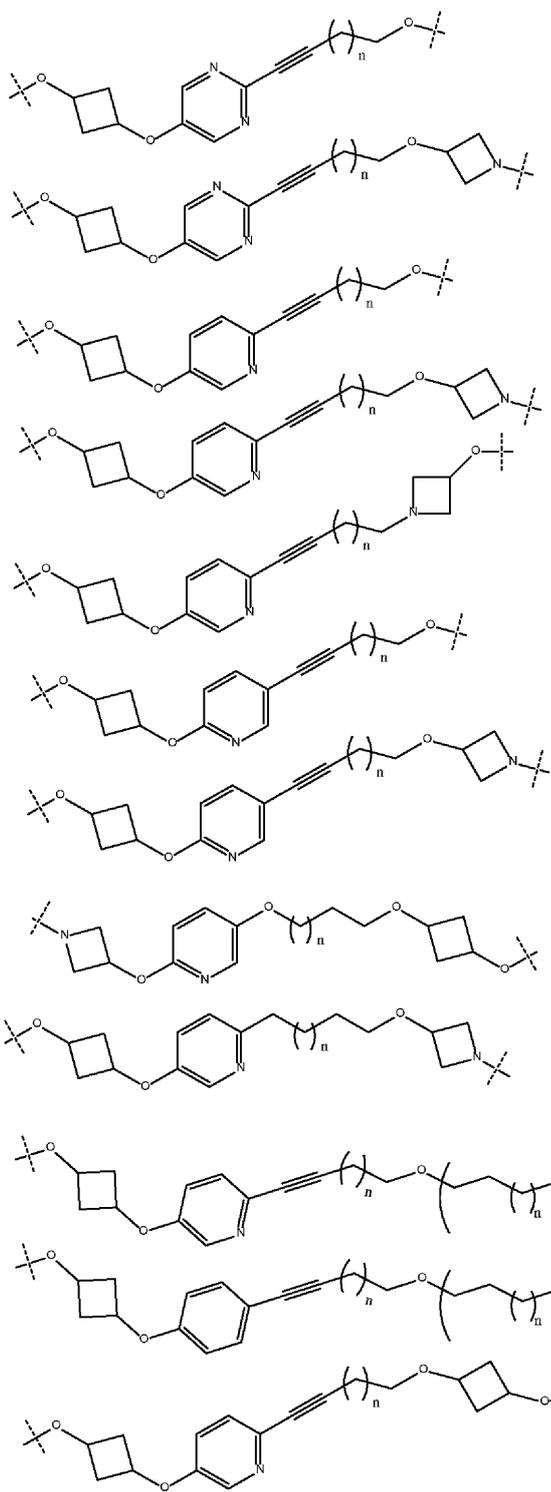
20



10

20

30

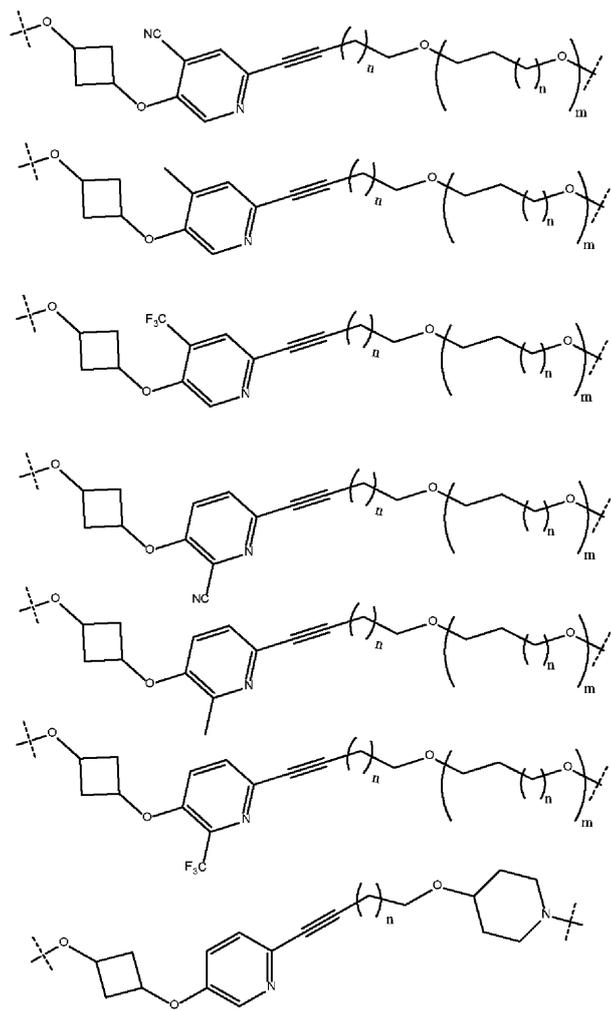
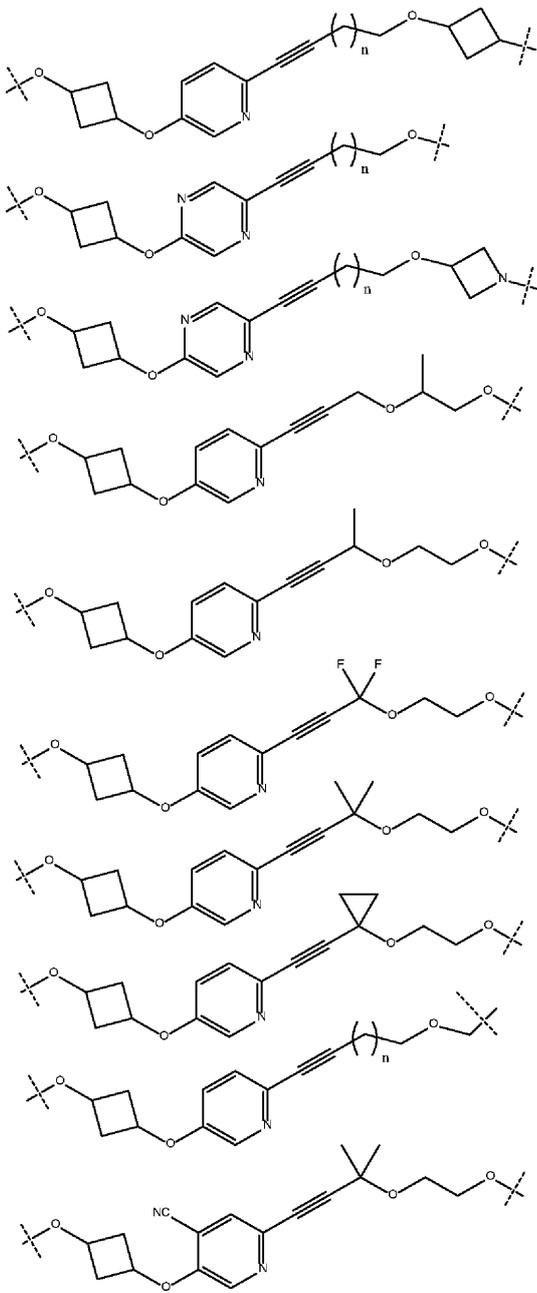


10

20

30

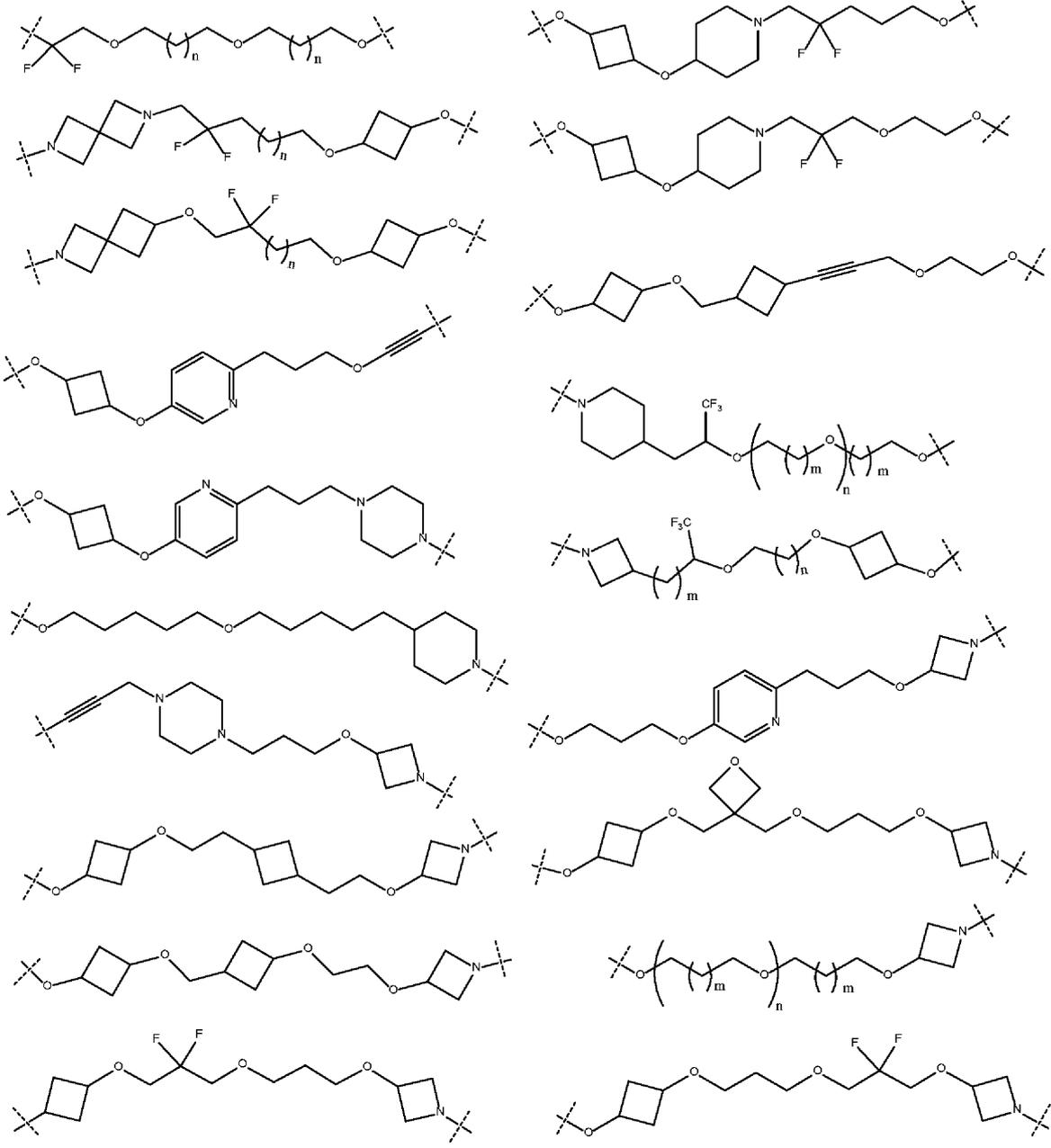
40



10

20

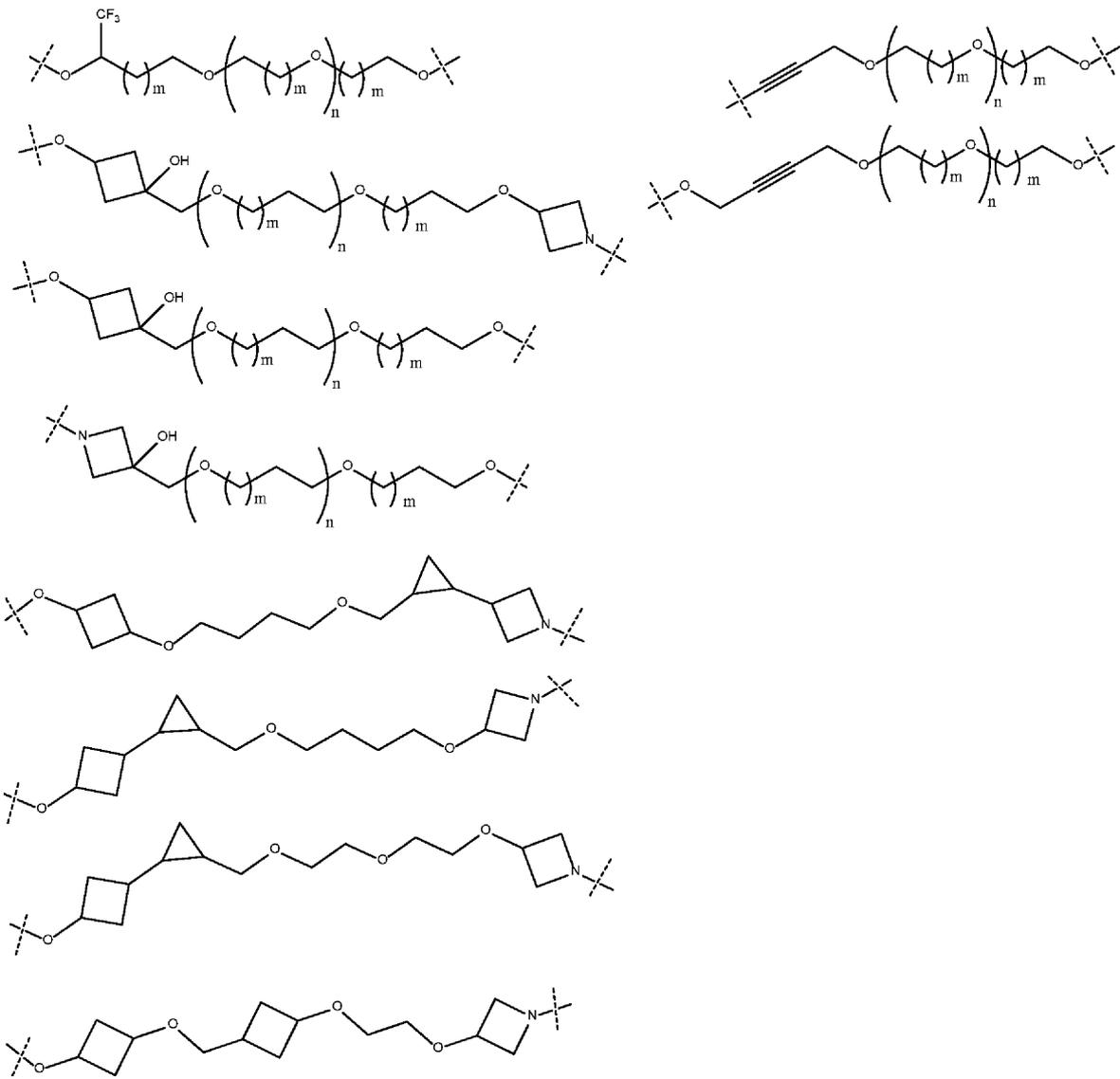
30



10

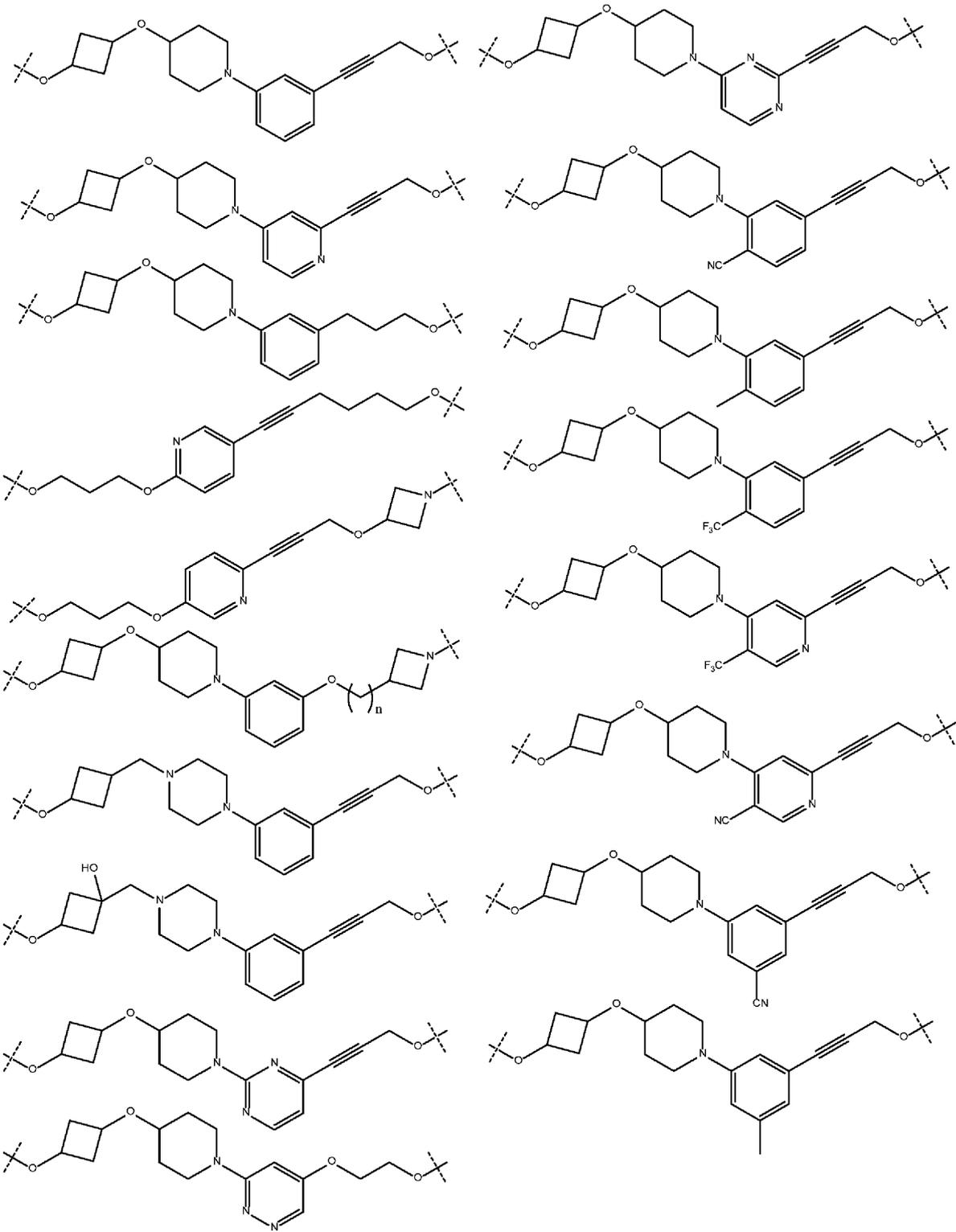
20

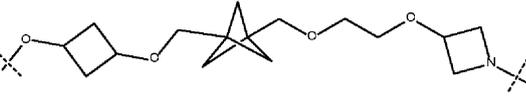
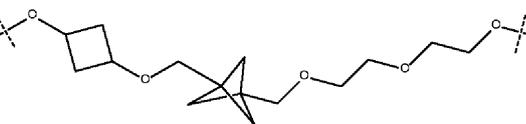
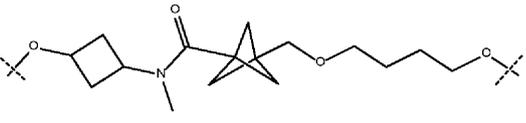
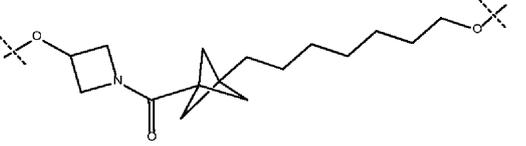
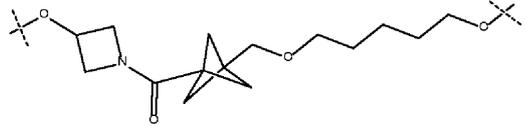
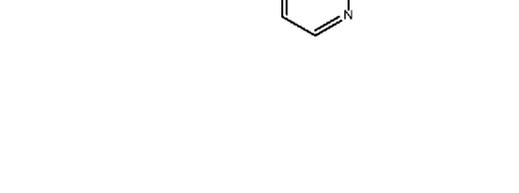
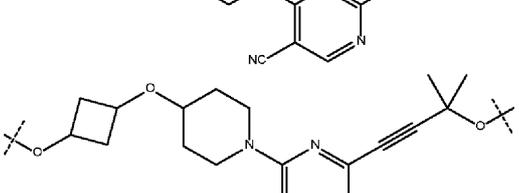
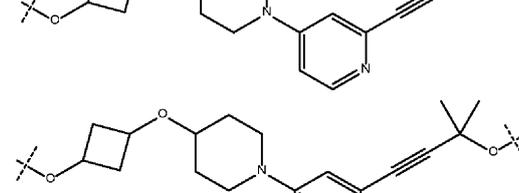
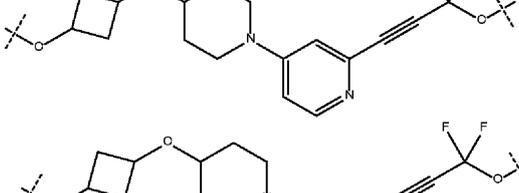
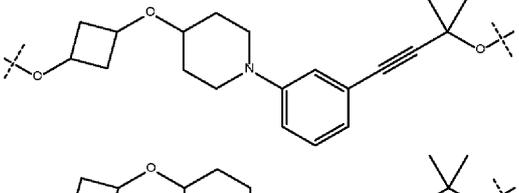
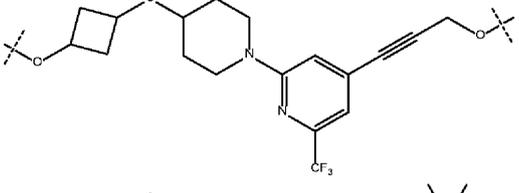
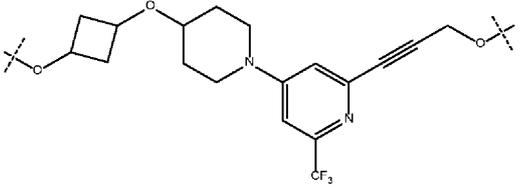
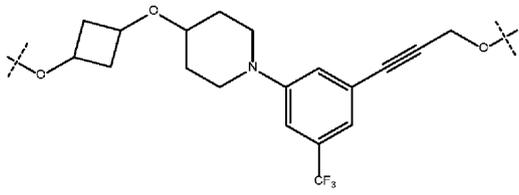
30



10

20

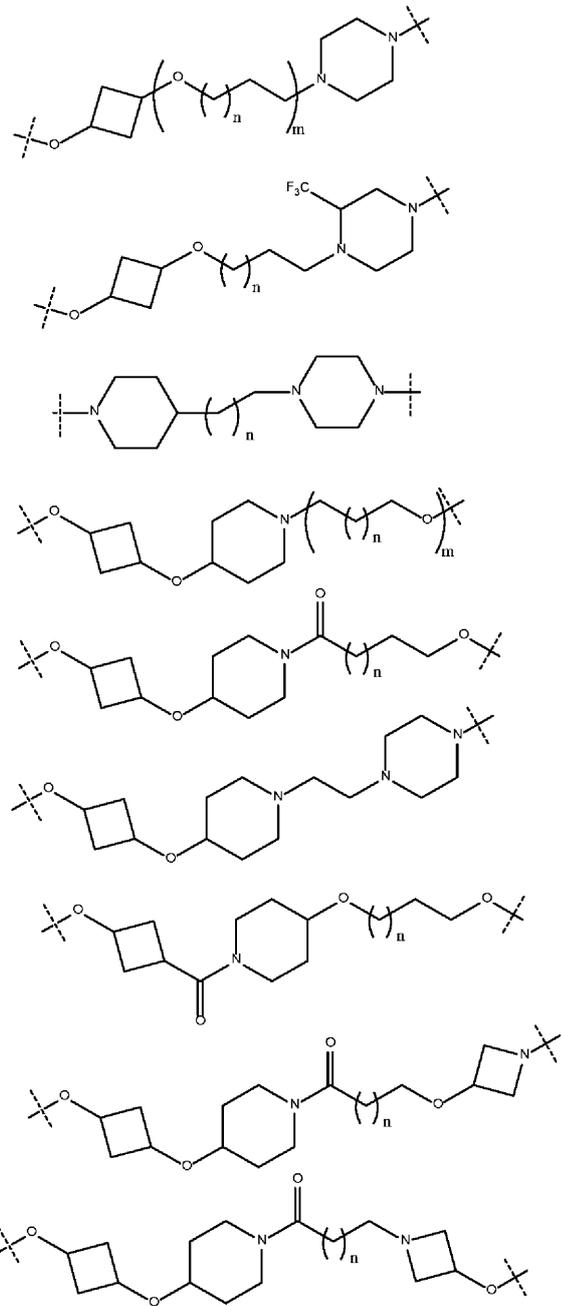
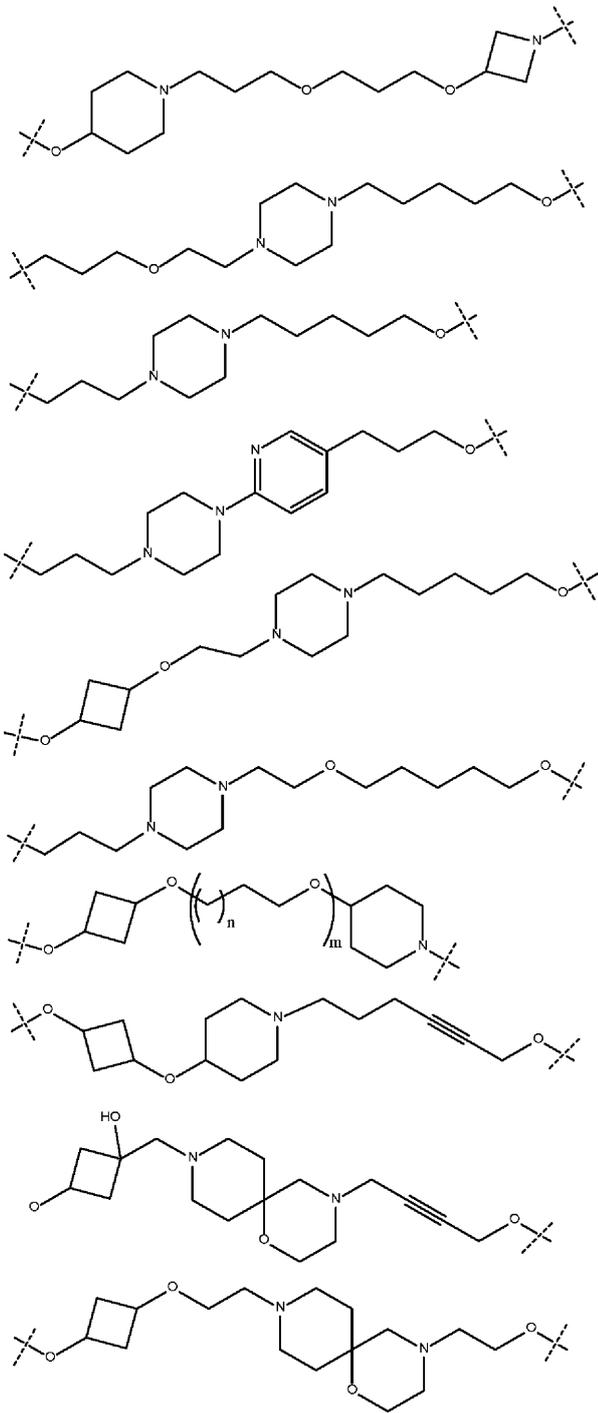




10

20

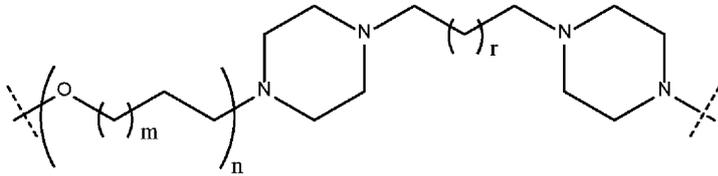
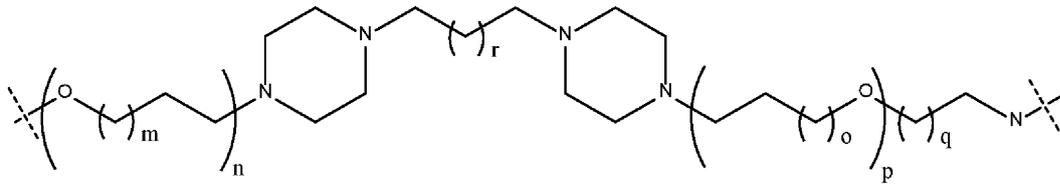
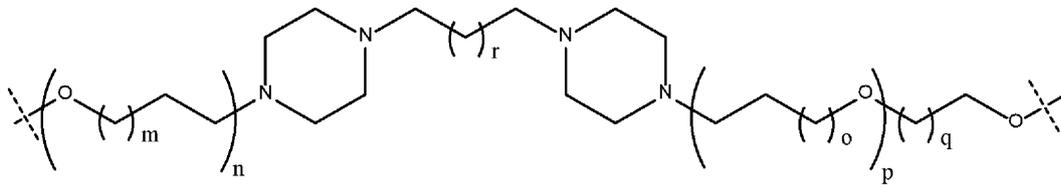
30



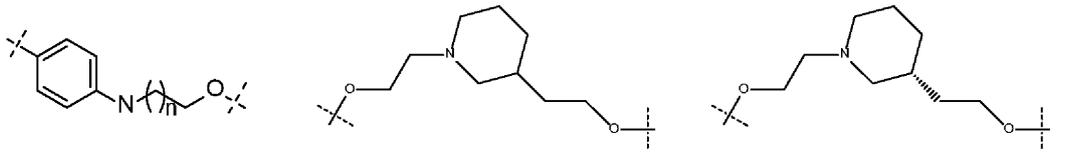
10

20

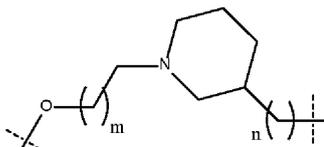
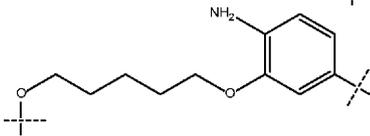
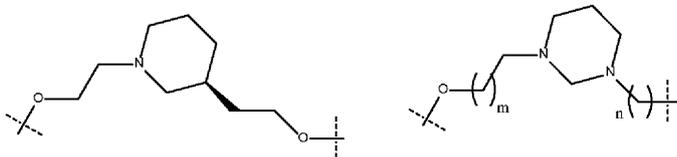
30



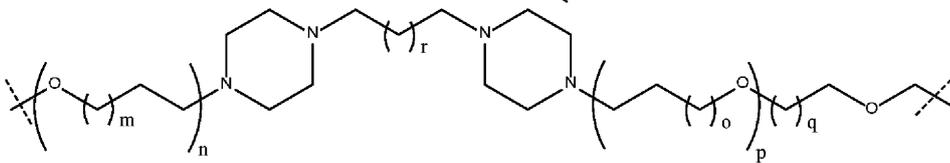
10

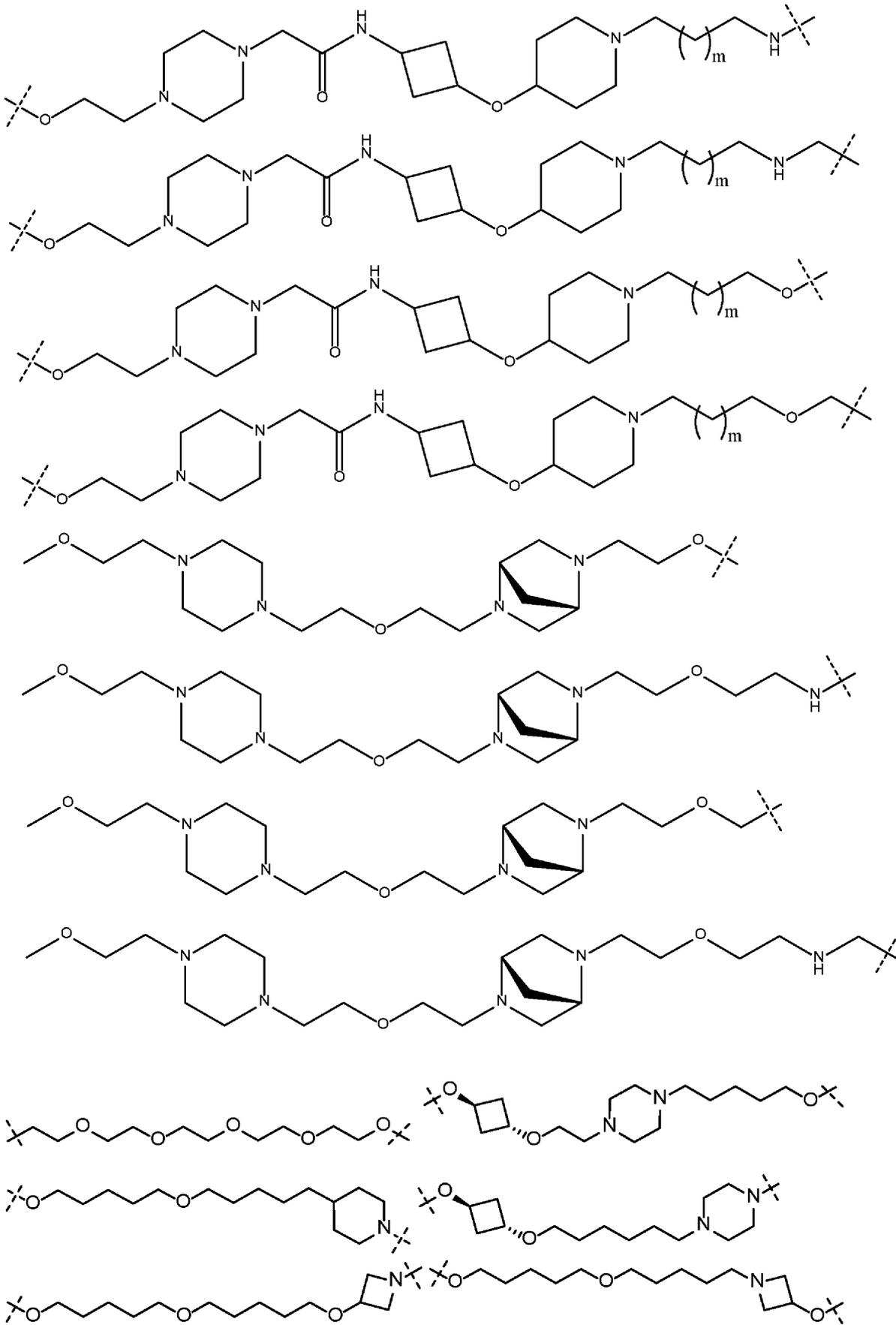


20



30



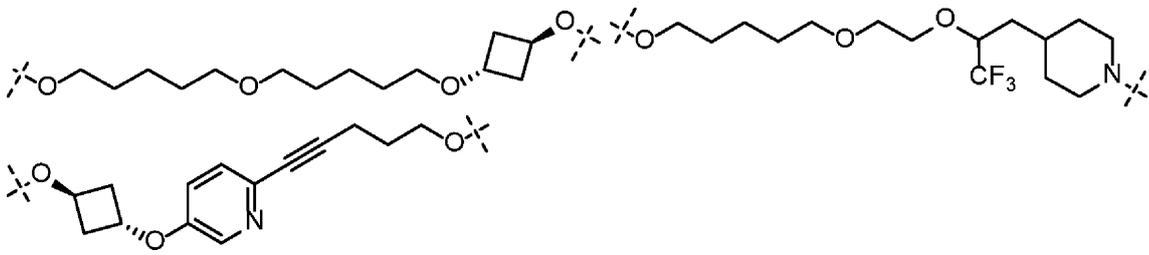


10

20

30

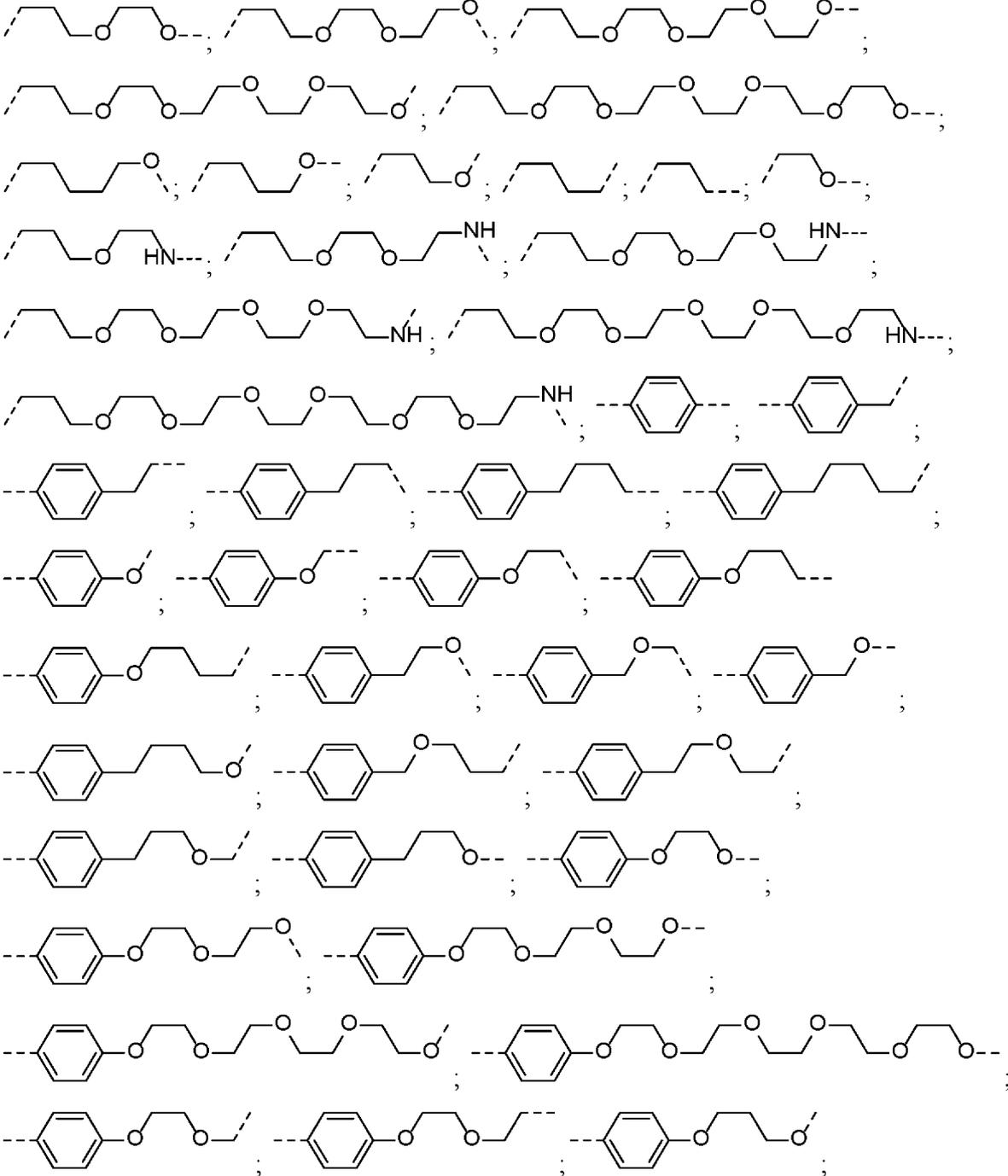
40



式中、各m、n、o、p、q、およびrは独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20である。

【 0 1 1 2 】

本明細書に記載の任意の局面または態様では、Lは以下からなる群より選択される：

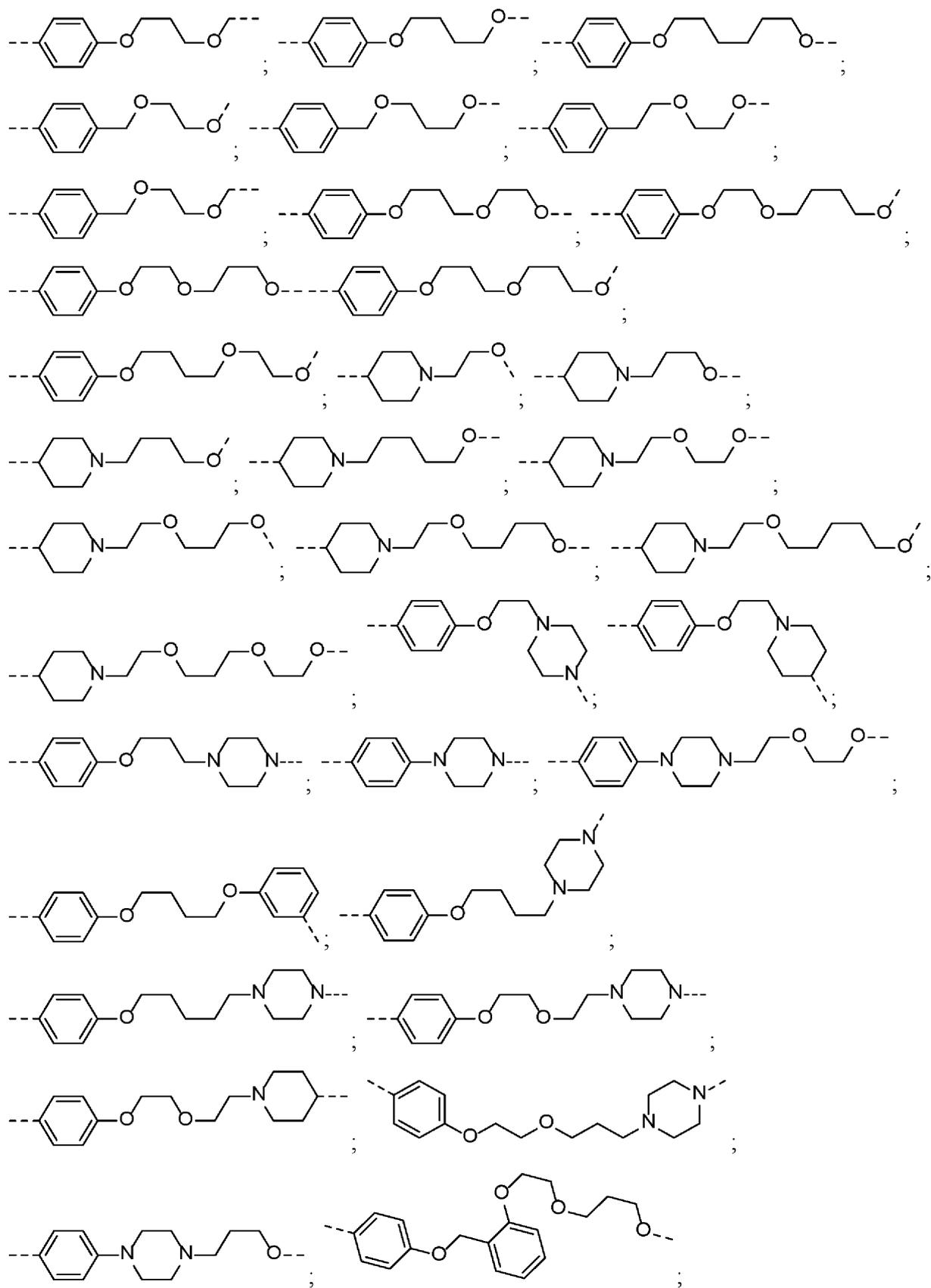


10

20

30

40

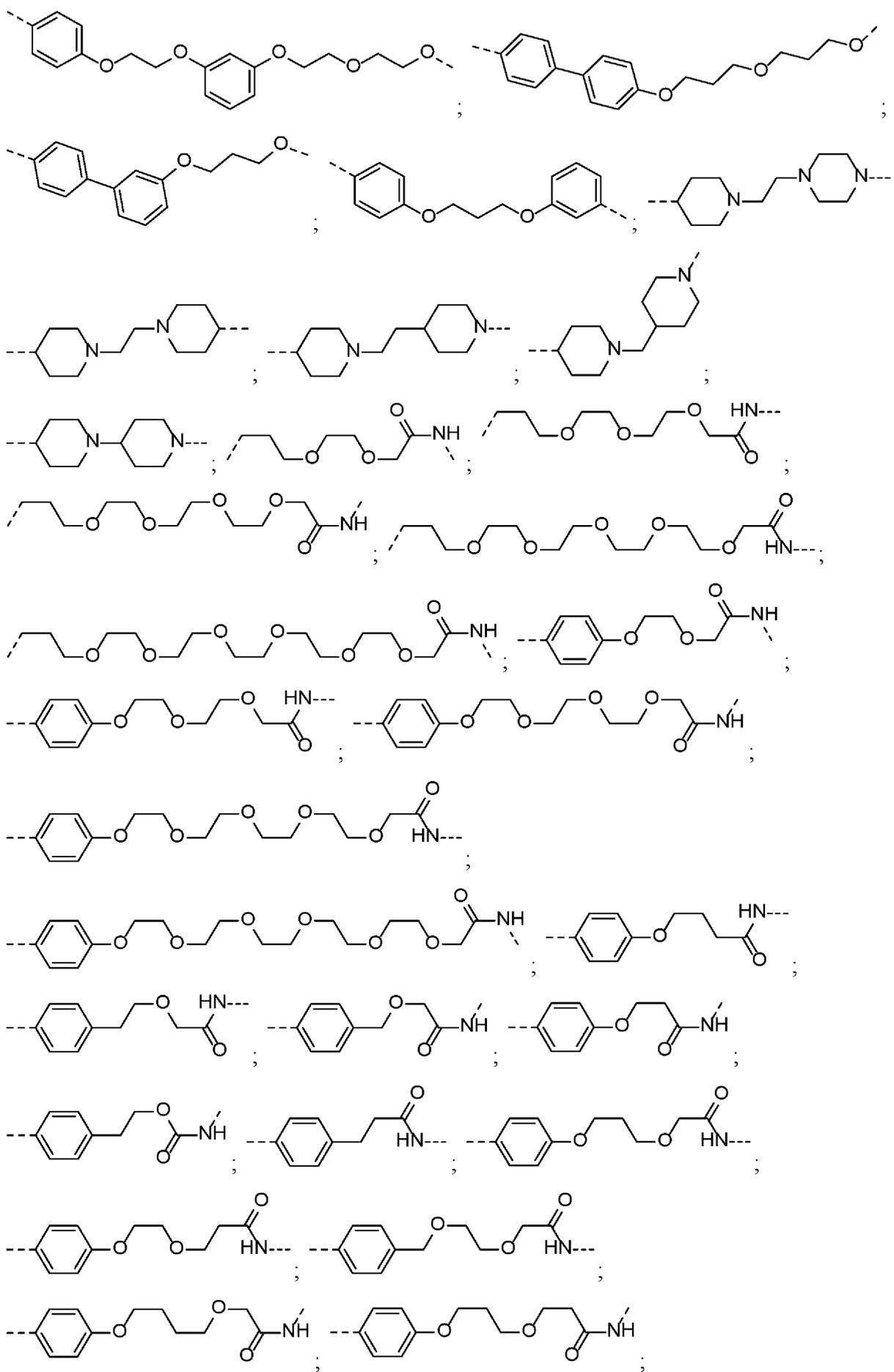


10

20

30

40

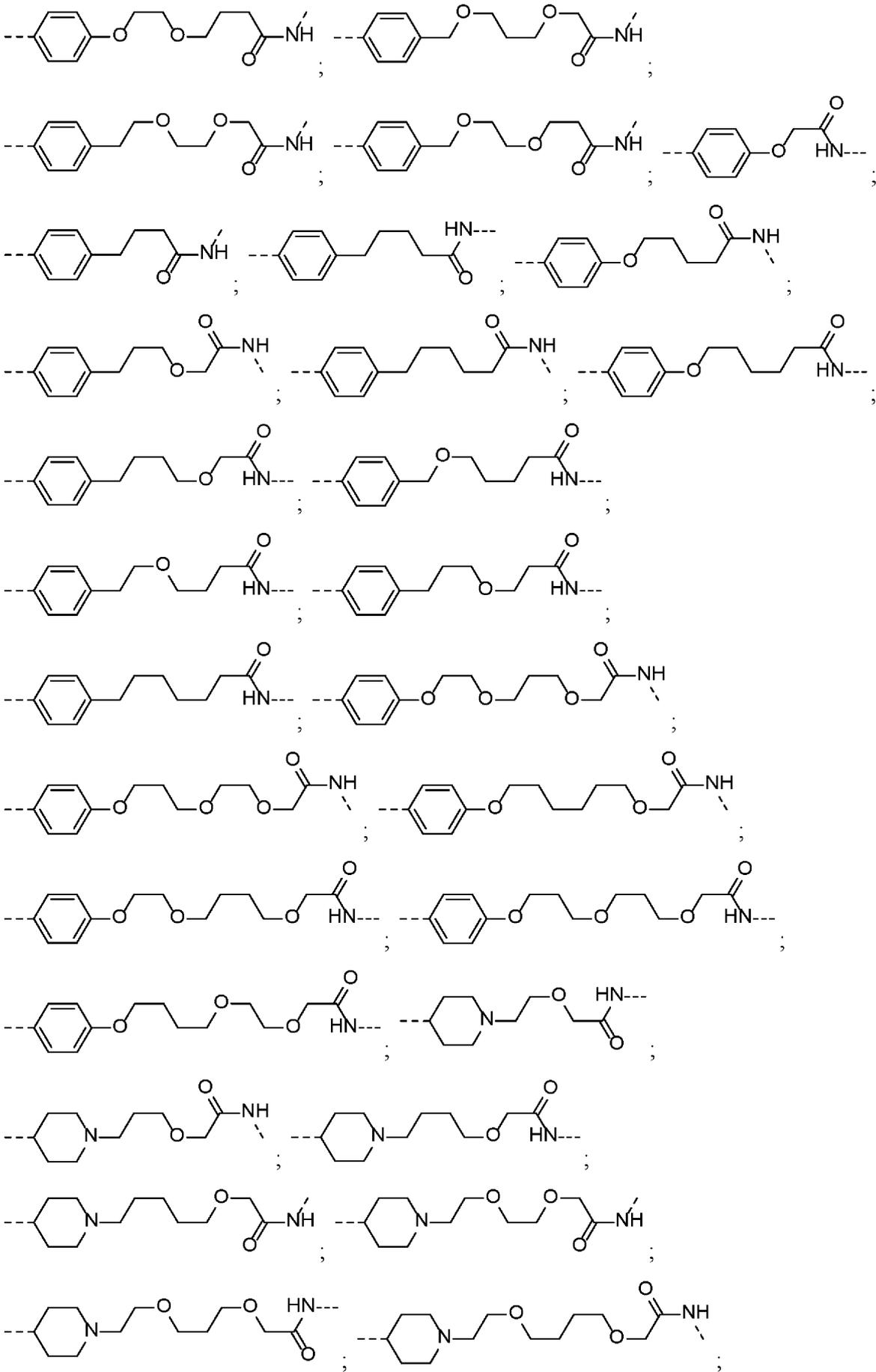


10

20

30

40



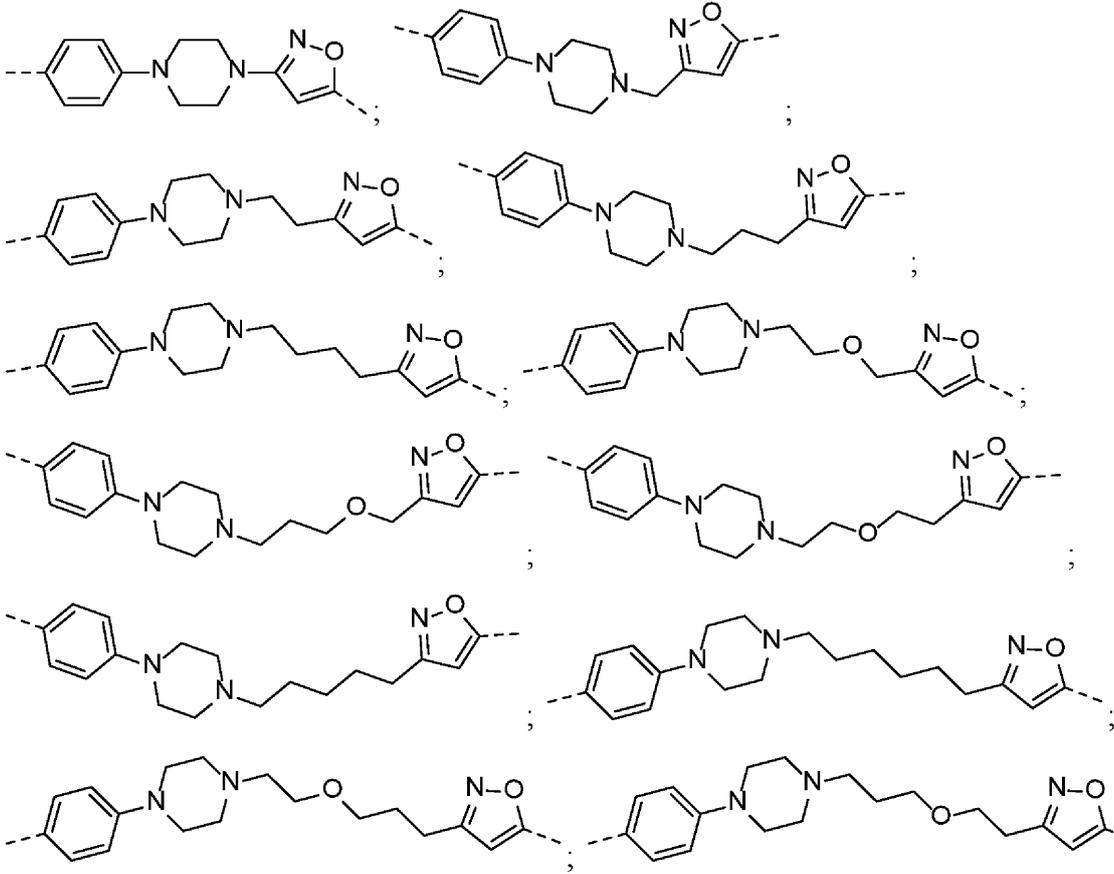
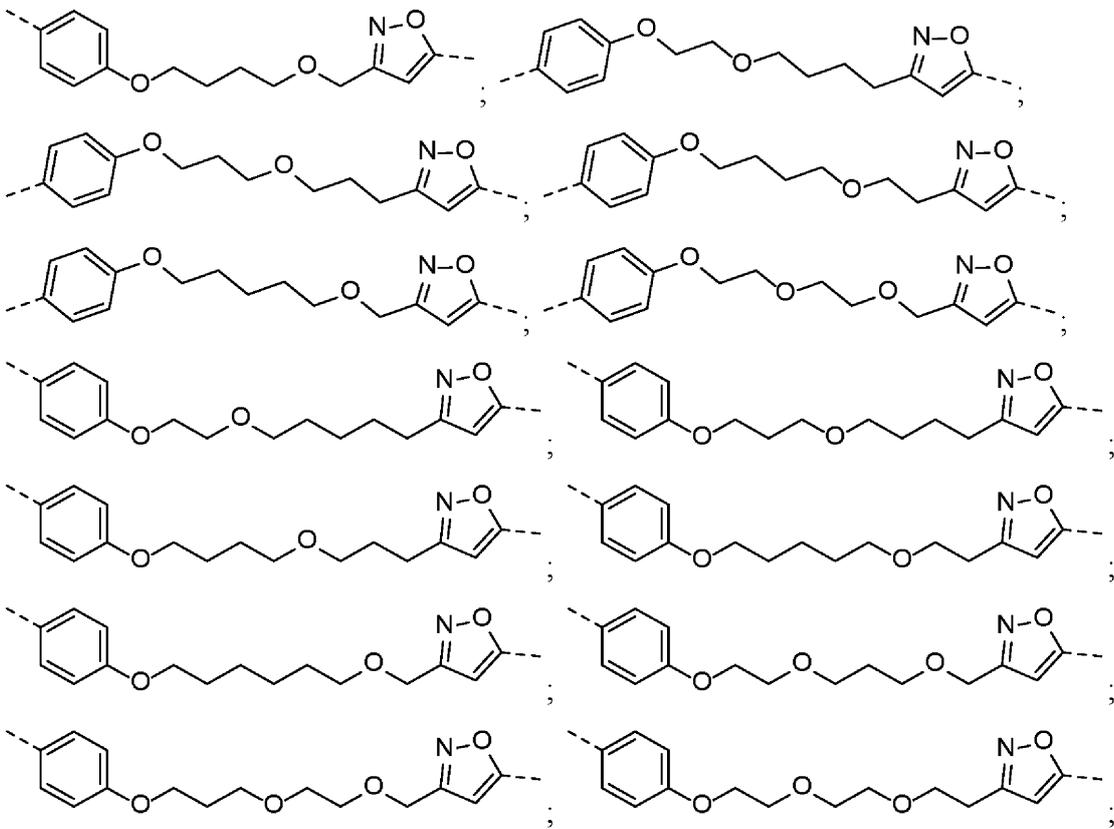
10

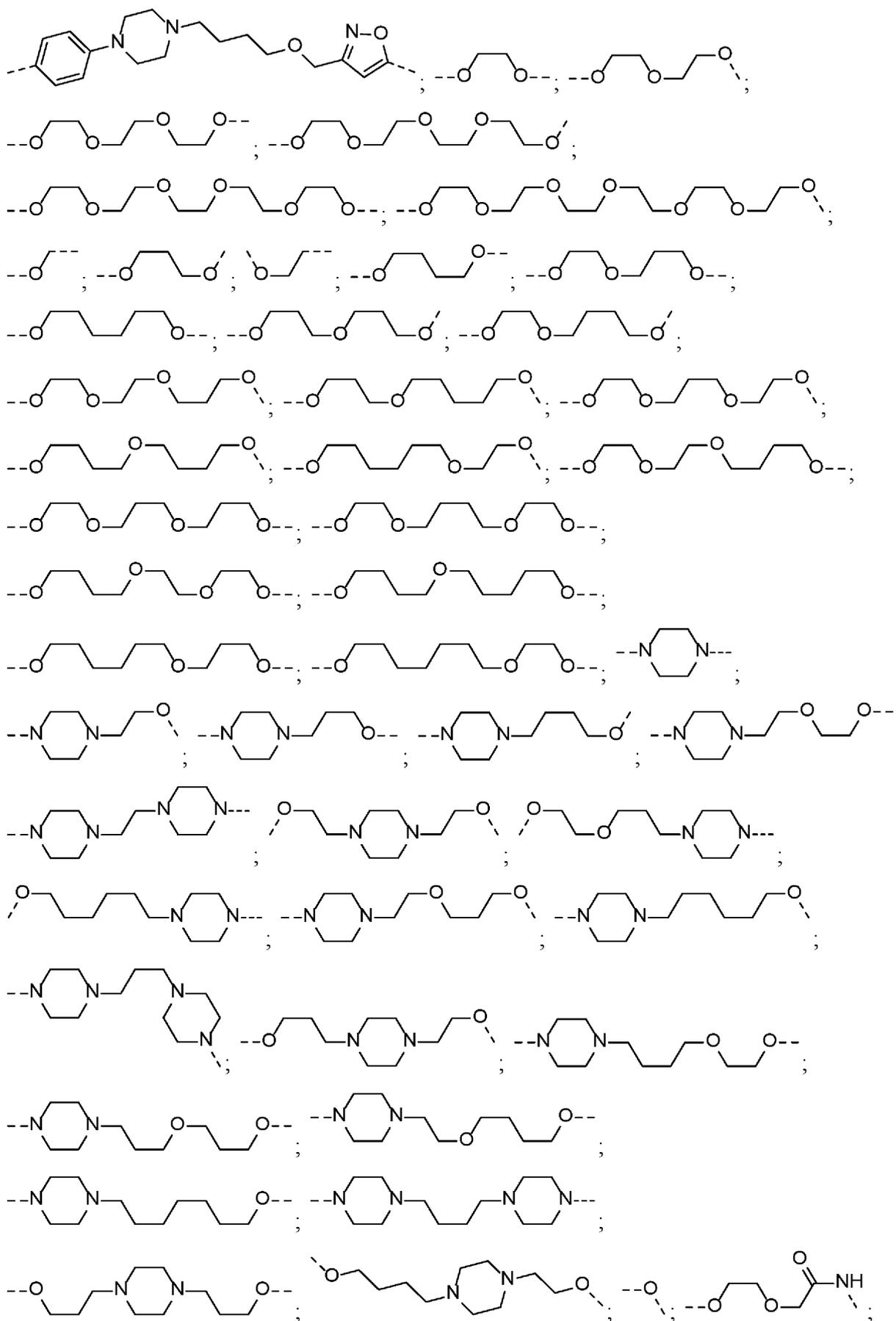
20

30

40





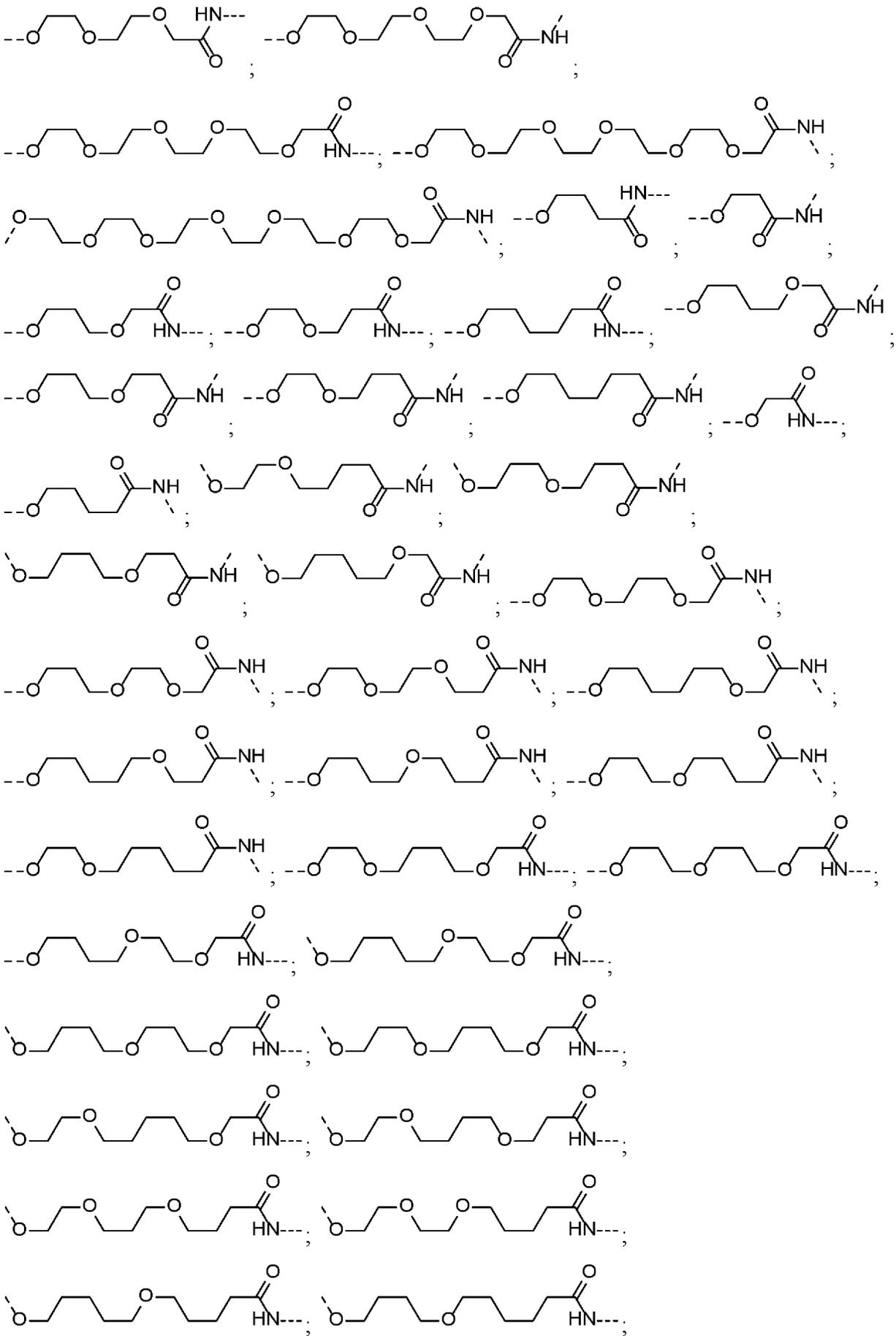


10

20

30

40

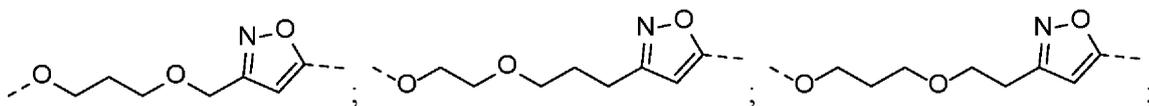
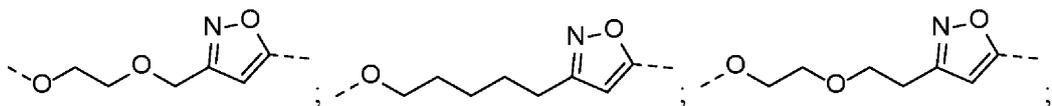
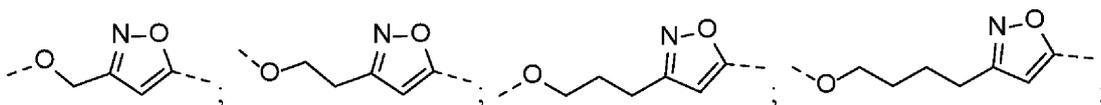
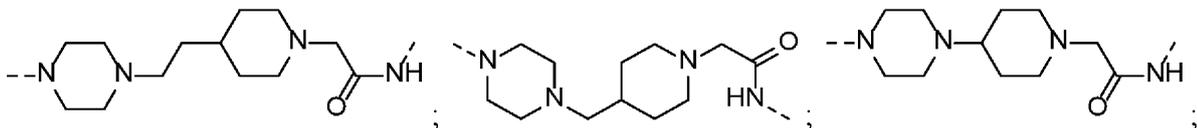
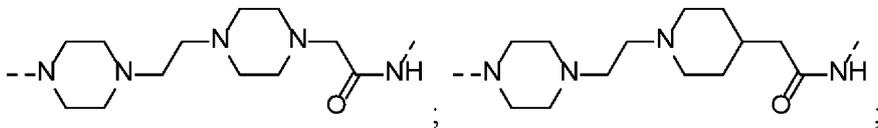
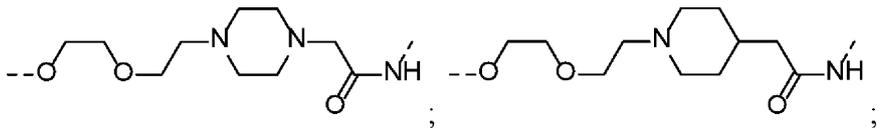
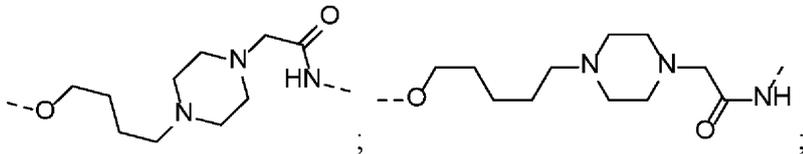
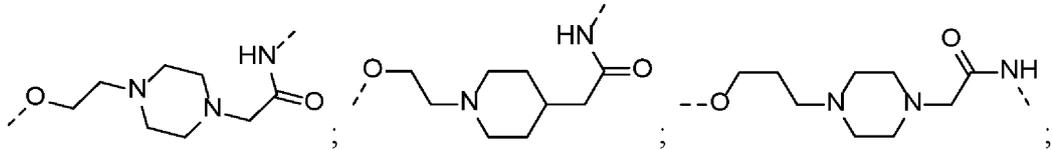
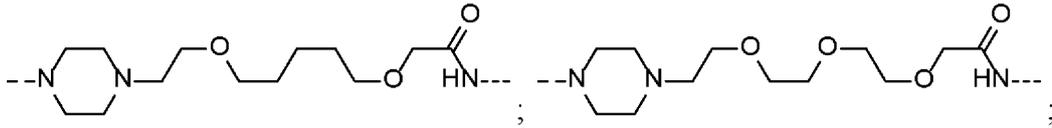
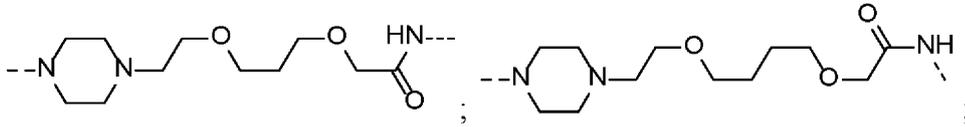
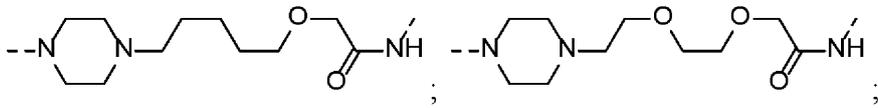
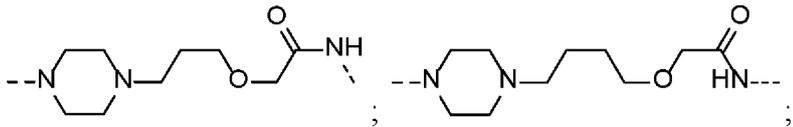
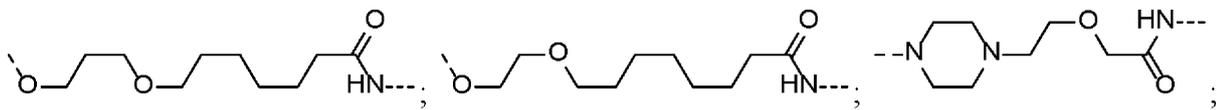


10

20

30

40

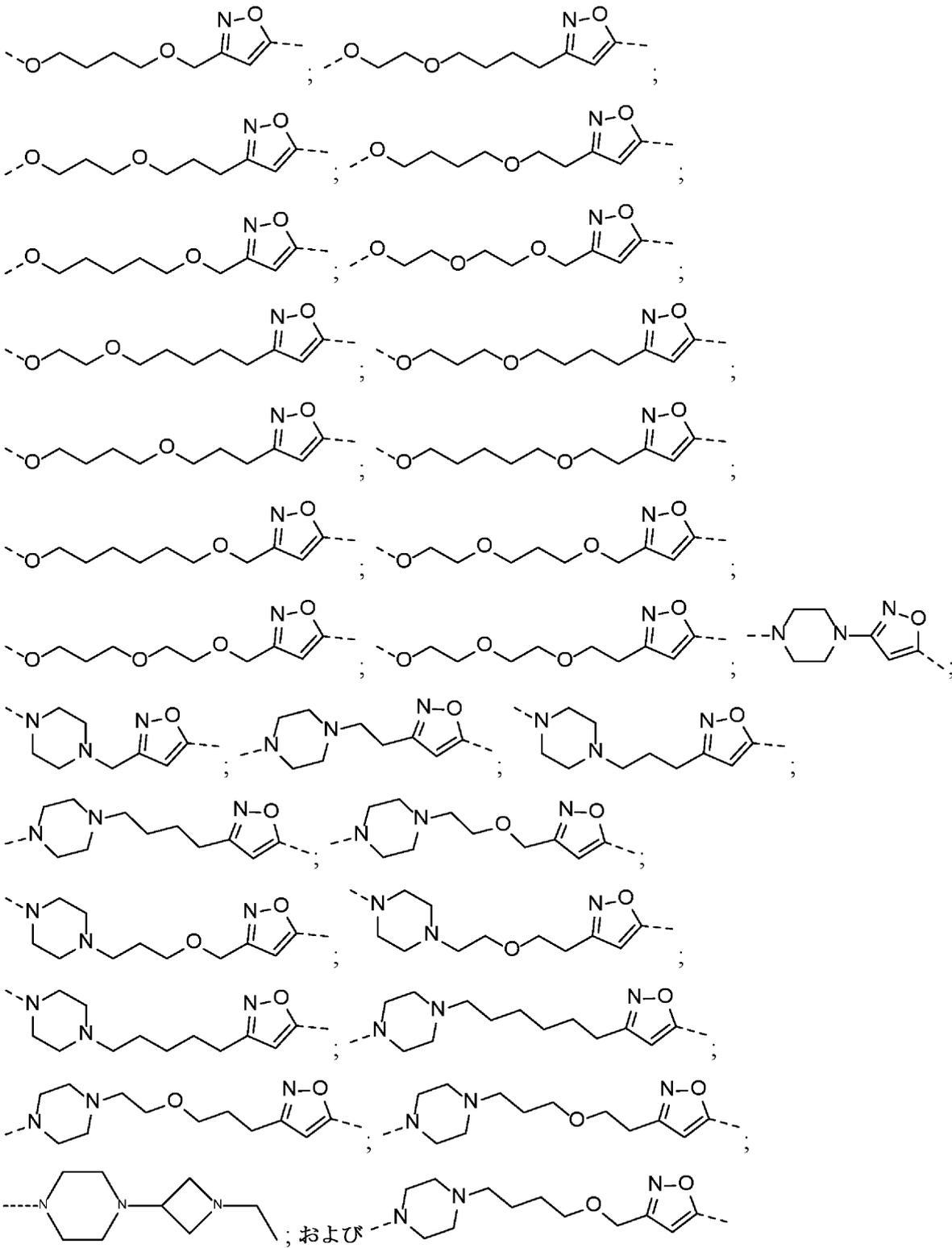


10

20

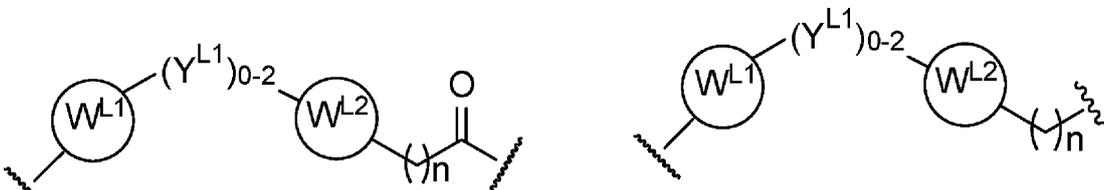
30

40



【 0 1 1 3 】

さらなる態様では、リンカー(L)は下に示す構造から非限定的に選択される構造を含み、破線はPTMまたはULM部分への結合点を表す：



または

式中

$W^{L1}$ および $W^{L2}$ はそれぞれ独立して、 $R^Q$ で置換されていてもよい0~4個のヘテロ原子を有する4~8員環であり、各 $R^Q$ は独立して、H、ハロ、OH、CN、 $CF_3$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル(直鎖、分岐、置換されていてもよい)、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ(直鎖、分岐、置換されていてもよい)、または2個の $R^Q$ 基はそれらが結合している原子と一緒にあって0~4個のヘテロ原子を含む4~8員環系を形成し；

$Y^{L1}$ はそれぞれ独立して、結合、 $C_1 \sim C_6$ アルキル(直鎖、分岐、置換されていてもよい)であり、1つまたは複数のC原子がOで置き換えられてもよく；または $C_1 \sim C_6$ アルコキシ(直鎖、分岐、置換されていてもよい)であり；

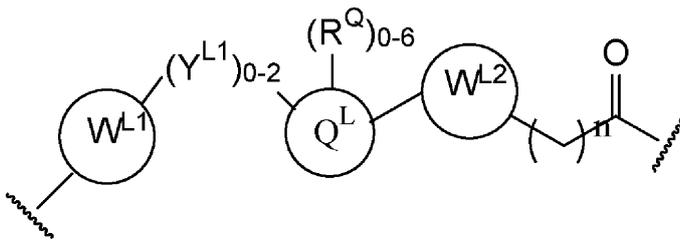
$n$ は各出現時に独立して、0~10であり；かつ

破線はPTMまたはULM部分への結合点を表す。

10

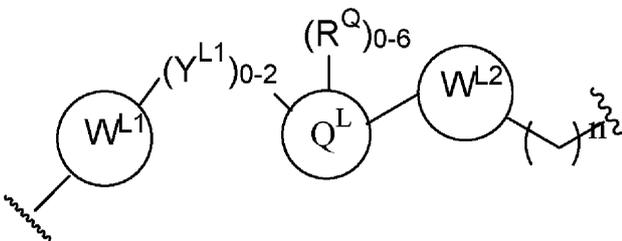
【0114】

さらなる態様では、リンカー(L)は下に示す構造から非限定的に選択される構造を含み、破線はPTMまたはULM部分への結合点を表す；



20

または



式中

$W^{L1}$ および $W^{L2}$ はそれぞれ独立して、それぞれ $R^Q$ で置換されていてもよいアリーール、ヘテロアリーール、環、ヘテロ環、 $C_1 \sim 6$ アルキル、二環、ピアリーール、ピヘテロアリーール、またはピヘテロ環であり、各 $R^Q$ は独立して、H、ハロ、OH、CN、 $CF_3$ 、ヒドロキシル、ニトロ、 $C \sim CH$ 、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル(直鎖、分岐、置換されていてもよい)、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ(直鎖、分岐、置換されていてもよい)、 $OC_1 \sim 3$ アルキル(1つまたは複数の-Fで置換されていてもよい)、OH、 $NH_2$ 、 $NR^{Y1}R^{Y2}$ 、CNであるか、または2個の $R^Q$ 基はそれらが結合している原子と一緒にあって0~4個のヘテロ原子を含む4~8員環系を形成し；

30

$Y^{L1}$ はそれぞれ独立して、結合、 $NR^{Y1}$ 、O、S、 $NR^{Y2}$ 、 $CR^{Y1}R^{Y2}$ 、C=O、C=S、SO、 $SO_2$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル(直鎖、分岐、置換されていてもよい)であり、1つまたは複数のC原子はOで置き換えられてもよく；または $C_1 \sim C_6$ アルコキシ(直鎖、分岐、置換されていてもよい)であり；

40

$Q^L$ は、架橋されてもよい、0~6個の $R^Q$ で置換されていてもよい、0~4個のヘテロ原子を有する3~6員の脂環式または芳香環であり、各 $R^Q$ は独立してH、 $C_1 \sim 6$ アルキル(直鎖、分岐、1つまたは複数のハロ、 $C_1 \sim 6$ アルコキシルで置換されていてもよい)であるか、または2個の $R^Q$ 基はそれらが結合している原子と一緒にあって0~2個のヘテロ原子を含む3~8員環系を形成し；

$R^{Y1}$ 、 $R^{Y2}$ はそれぞれ独立して、H、OH、 $C_1 \sim 6$ アルキル(直鎖、分岐、1つまたは複数のハロ、 $C_1 \sim 6$ アルコキシルで置換されていてもよい)であるか、または $R^1$ 、 $R^2$ はそれらが結合している原子と一緒にあって0~2個のヘテロ原子を含む3~8員環系を形成し；

50

nは各出現時に独立して、0~10であり；かつ  
破線はPTMまたはULM部分への結合点を表す。

## 【0115】

さらなる態様では、リンカー基は、1~約100個のエチレングリコール単位、約1~約50個のエチレングリコール単位、1~約25個のエチレングリコール単位、約1~10個のエチレングリコール単位、1~約8個エチレングリコール単位、および1~6個のエチレングリコール単位、2~4個のエチレングリコール単位を有する置換されていてもよい(ポリ)エチレングリコールであるか、または置換されていてもよいO、N、S、PまたはSi原子が介在した置換されていてもよいアルキル基である。特定の態様では、リンカーはアリール、フェニル、ベンジル、アルキル、アルキレン、またはヘテロ環基で置換される。特定の態様では、リンカーは非対称であっても対称であってもよい。

10

## 【0116】

本明細書に記載の化合物の態様のいずれにおいても、リンカー基は本明細書に記載の任意の好適な部分であってもよい。1つの態様では、リンカーは、大きさが約1~約12個のエチレングリコール単位、1~約10個のエチレングリコール単位、約2~約6個のエチレングリコール単位、約2~5個のエチレングリコール単位、約2~4個のエチレングリコール単位の範囲の置換または非置換ポリエチレングリコール基である。

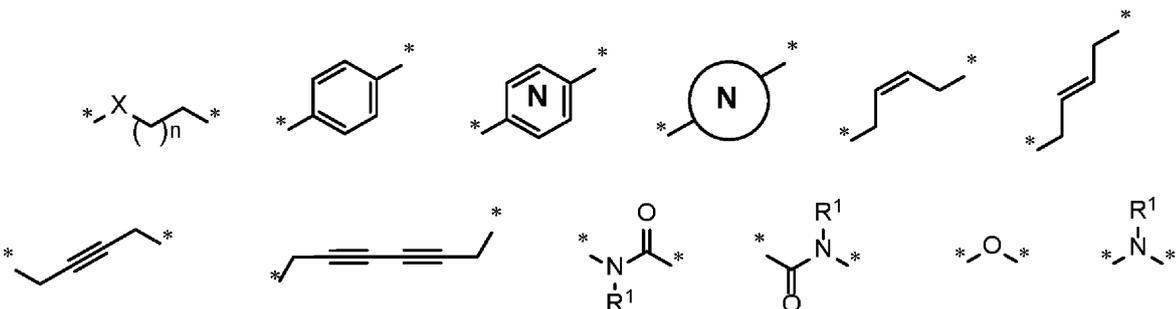
## 【0117】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載のPTM基を含み、標的タンパク質、例えば、EGFRまたはそれに由来するポリペプチドに結合し、ユビキチンリガーゼによってユビキチン化され、ULM基に直接またはリンカー部分Lを通じて化学的に結合する化合物またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、立体異性体、溶媒和物もしくは多形を指向し、またはPTMは代替的にはユビキチンリガーゼ結合部分でもあるULM'基であり、これは上に記載のULM基と同一または異なってもよく、直接またはリンカー部分を通じてULM基に結合し、Lは、存在しても存在しなくてもよく、ULMをPTMに化学的(共有結合的)に結合する上記のリンカー部分である。

20

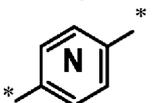
## 【0118】

特定の態様では、リンカー基Lは、以下からなる群より独立して選択される1つまたは複数の共有結合した構造単位を含む基である：



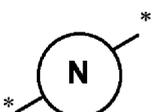
30

Xは、O、N、S、S(O)およびSO<sub>2</sub>からなる群より選択され；nは、1~5、5の整数であり；R<sup>L1</sup>は水素またはアルキルであり、



40

は、アルキル、ハロゲン、ハロアルキル、ヒドロキシ、アルコキシまたはシアノより選択される1~3個の置換基で置換されていてもよい単環式または二環式のアリールまたはヘテロアリールであり、



は、アルキル、ハロゲン、ハロアルキル、ヒドロキシ、アルコキシまたはシアノより選択される1~3個の置換基で置換されていてもよい単環式または二環式のシクロアルキルまた

50

はヘテロシクロアルキルであり；かつフェニル環フラグメントは、アルキル、ハロゲン、ハロアルキル、ヒドロキシ、アルコキシおよびシアノからなる群より選択される1、2または3個の置換基で置換されていてもよい。1つの態様では、リンカー基Lは上に記載の共有結合した構造単位を最大で10個まで含む。

#### 【0119】

特定の理論によって限定されるものではないが、発明者らは、リンカーの組成および構造は、原理上は限定されないが、おそらくはULMとPTMとの相互作用の調節により、本明細書に記載の二官能性化合物の効果および効能に有意な影響を及ぼし得ると考えている。しかしながら、リンカーは、過度の実験を行うことなく本教示に従って最適化し得る。

#### 【0120】

ULM基およびPTM基はリンカーの化学的性質に対して適切かつ安定な任意の基を通じてリンカー基に共有結合してもよく、本開示の非限定的な局面では、リンカーは、好ましくはアミド、エステル、チオエステル、ケト基、カルバメート(ウレタン)、炭素、またはエーテルを通じてULM基およびPTM基に独立して共有結合し、これらの基のそれぞれはULM基およびPTM基に対してどこに挿入されてもよく、ユビキチンリガーゼに対するULM基および分解すべき標的タンパク質上に対するPTM基の最大限の結合を提供する(PTM基がULM基である特定の局面では、分解のための標的タンパク質はそれ自体がユビキチンリガーゼであってもよいことに留意されたい)。特定の非限定的な局面では、リンカーは、ULMおよび/またはPTM基上の置換されていてもよいアルキル、アルキレン、アルケン、もしくはアルキン基、アリール基、またはヘテロ環式基に結合してもよい。

#### 【0121】

##### 例示的なPTM

本発明の非限定的な局面では、PTM基は標的タンパク質に結合する基である。PTM基の標的は種類が多く、少なくとも配列の一部が細胞内で見出されかつPTM基に結合し得るように、細胞内で発現されるタンパク質から選択される。「タンパク質」という用語は、本発明に係るPTM基に結合することができる十分な長さのオリゴペプチドおよびポリペプチド配列を含む。本明細書において別途記載されるウイルス、細菌、または真菌を含む真核生物系または微生物系における任意のタンパク質が、本発明に係る化合物によって媒介されるユビキチン化のための標的である。好ましくは、標的タンパク質は真核生物タンパク質である。特定の局面では、タンパク質結合部分はハロアルカン(好ましくは、少なくとも1つのハロ基、好ましくはアルキル基の遠位端(すなわち、リンカーまたはCLM基から離れている)のハロ基で置換されている $C_1 \sim C_{10}$ アルキル基)であり、これは患者もしくは対象においてまたは診断アッセイにおいて脱ハロゲン酵素に共有結合し得る。

#### 【0122】

本発明に係るPTM基は、例えば、タンパク質に特異的に結合し(標的タンパク質に結合し)、小分子標的タンパク質部分の以下の非限定的な例を含む任意の部分を含む：Hsp90阻害剤、キナーゼ阻害剤、HDM2 & MDM2阻害剤、ヒトBETプロモドメイン含有タンパク質を標的とする化合物、HDAC阻害剤、ヒトリジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤、血管新生阻害剤、核ホルモン受容体化合物、免疫抑制化合物、およびアリール炭化水素受容体(AHR)を標的とする化合物など。下に記載の組成物はこれらの9つのタイプの小分子標的タンパク質結合部分のメンバーのいくつかを例示している。そのような小分子標的タンパク質結合部分は、これらの組成物の薬学的に許容される塩、エナンチオマー、溶媒和物および多形や、目的のタンパク質を標的とし得る他の小分子も含む。これらの結合部分は、標的タンパク質(これにはタンパク質標的指向部分が結合している)を、ユビキチン化および分解のためにユビキチンリガーゼに近接して提供するために、好ましくはリンカーを通じてユビキチンリガーゼ結合部分に結合している。

#### 【0123】

タンパク質標的指向部分またはPTM基に結合することができ、ユビキチンリガーゼが作用するかまたはそれによって分解される任意のタンパク質が、本発明に係る標的タンパク質である。概して、標的タンパク質は、例えば、構造タンパク質、受容体、酵素、細胞表

10

20

30

40

50

面タンパク質、触媒活性、アロマトラーゼ活性、運動活性、ヘリカーゼ活性、代謝プロセス(同化作用および異化作用)、抗酸化活性、タンパク質分解、生合成、キナーゼ活性を有するタンパク質、酸化還元酵素活性、トランスフェラーゼ活性、ヒドロラーゼ活性、リアーゼ活性、イソメラーゼ活性、リガーゼ活性、酵素調節活性、シグナルトランスデューサー活性、構造分子活性、結合活性(タンパク質、脂質炭水化物)、受容体活性、細胞運動、膜融合、細胞コミュニケーション、生物学的プロセスの調節、発生、細胞分化、刺激に対する応答に関連するタンパク質、行動タンパク質、細胞接着タンパク質、細胞死に関連するタンパク質、輸送に関連するタンパク質(タンパク質輸送体活性、核輸送、イオン輸送体活性、チャンネル輸送活性、キャリア活性、パーミアーゼ活性、分泌活性、電子トランスポーター活性、病因、シャペロンレギュレーター活性、核酸結合活性、転写調節活性、細胞外組織および生合成活性、翻訳レギュレーター活性)を含む、細胞の統合機能に関連するタンパク質を含み得る。目的のタンパク質は、とりわけ、薬物療法の標的としてのヒト、家畜を含む他の動物、抗生物質および他の抗菌剤の標的を決定するための微生物、および植物を含む真核生物および原核生物さらにはウイルスからのタンパク質を含み得る。

10

20

30

40

50

#### 【0124】

さらに別の態様では、PTM基はハロアルキル基であり、該アルキル基は概して長さが炭素約1または2個から炭素約12個までの大きさの範囲であり、往々にして長さが炭素約2~10個であり、往々にして長さが炭素約3個から炭素約8個であり、より頻繁には長さが炭素約4個から炭素約6個である。ハロアルキル基は概して直鎖アルキル基であり(分岐鎖アルキル基も用い得るが)、少なくとも1つのハロゲン基、好ましくは単一のハロゲン基、多くは単一の塩化物基でエンドキャップされている。本発明における使用のためのハロアルキルPT基は、好ましくは化学構造 $-(CH_2)_v-$ ハロによって表され、式中 $v$ は2~約12の任意の整数であり、往々にして約3~約8であり、より頻繁には約4~約6である。ハロは任意のハロゲンであってよいが、ClまたはBrが好ましく、より頻繁にはClである。

#### 【0125】

別の態様では、本発明は化合物のライブラリーを提供する。ライブラリーは1を超える化合物を含み、ここで各組成はA-Bの式を有し、式中Aはユビキチン経路タンパク質結合部分(好ましくは、本明細書において別途開示されるE3ユビキチンリガーゼ部分)であり、Bは分子ライブラリーのタンパク質結合メンバーであり、ここでAは(好ましくはリンカー部分を通じて)Bに結合され、ユビキチン経路タンパク質結合部分はユビキチン経路タンパク質、特に、セレブロンなどのE3ユビキチンリガーゼを認識する。特定の態様では、ライブラリーはランダム標的タンパク質結合要素(例えば、化学物質ライブラリー)に結合した特定のセレブロンE3ユビキチンリガーゼ結合部分を含む。したがって、標的タンパク質は事前に決定されておらず、推定タンパク質結合要素の活性およびユビキチンリガーゼによる分解時の標的としてのその薬理的価値を決定するために本方法を用いることができる。

#### 【0126】

本発明は、タンパク質が調節不全であり、患者がタンパク質の分解から利益を受けるであろう任意の病態および/または状態を含む、多くの病状および/または状態を治療するために用い得る。

#### 【0127】

さらなる局面では、本記載は、有効量の本明細書に記載の化合物またはその塩形態と、薬学的に許容される担体、添加剤または賦形剤と、任意でさらなる生物活性剤とを含む治療用組成物を提供する。治療用組成物は、患者または対象、例えばヒトなどの動物におけるタンパク質分解を調節し、分解されたタンパク質を通じて調節される病態または状態を治療するかまたは改善するために用いることができる。特定の態様では、本明細書に記載の治療用組成物は、疾患、例えば、がんの治療または改善のために目的のタンパク質の分解を達成すべく用い得る。特定のさらなる態様では、疾患は多発性骨髄腫である。

#### 【0128】

代替的な局面では、本発明は、病態または状態が調節されるタンパク質またはポリペプチドの分解によって、病態を治療するかまたは疾患もしくは状態の症状を改善することを

必要とする対象において、病態を治療するかまたは疾患もしくは状態の症状を改善する方法に関し、該方法は、患者または対象に、有効量、例えば、治療有効量の、本明細書において上に記載の少なくとも1つの化合物を、任意で薬学的に許容される担体、添加剤または賦形剤、および任意でさらなる生物活性剤と組み合わせて投与する工程を含み、組成物は対象における疾患または障害またはその症状を治療するかまたは改善するために有効である。本発明に係る方法は、有効量の明細書に記載の少なくとも1つの化合物の投与によって、がんを含む多くの病態または状態を治療するために用い得る。病態または状態は、ウイルス、細菌、真菌、原生動物または他の微生物などの微生物因子または他の外因性因子によって引き起こされる疾患であってもよいし、または、病態および/または状態につながるタンパク質の過剰発現によって引き起こされる病態であってもよい。

10

**【0129】**

別の局面では、本記載は、本発明に係る化合物を用いた、生体システムにおける目的のタンパク質の分解の効果を特定するための方法を提供する。

**【0130】**

「標的タンパク質」という用語は、本発明に係る化合物への結合および以下のユビキチンリガーゼによる分解の標的であるタンパク質またはポリペプチドを記載するために用いられる。そのような小分子標的タンパク質結合部分は、これらの組成物の薬学的に許容される塩、エナンチオマー、溶媒和物および多形、ならびに目的のタンパク質を標的とし得る他の小分子も含む。これらの結合部分はリンカー基Lを通じてCLMまたはULM基に結合される。

20

**【0131】**

タンパク質標的指向部分に結合し、ユビキチンリガーゼ結合部分が結合したリガーゼによって分解され得る標的タンパク質は、任意のタンパク質またはペプチドを含み、これはその断片、その類縁体、および/またはその相同体を含む。標的タンパク質は、構造的、調節的、ホルモンの、酵素的、遺伝的、免疫学的、収縮的、貯蔵、輸送、およびシグナル伝達などの任意の生物学的機能または活性を有するタンパク質およびペプチドを含む。特定の態様では、標的タンパク質は、構造タンパク質、受容体、酵素、細胞表面タンパク質、触媒活性、アロマトラーゼ活性、運動活性、ヘリカーゼ活性、代謝プロセス(同化作用および異化作用)、抗酸化活性、タンパク質分解、生合成、キナーゼ活性を有するタンパク質、酸化還元酵素活性、トランスフェラーゼ活性、ヒドロラーゼ活性、リアーゼ活性、イソメラーゼ活性、リガーゼ活性、酵素調節活性、シグナルトランスデューサー活性、構造分子活性、結合活性(タンパク質、脂質炭水化物)、受容体活性、細胞運動、膜融合、細胞コミュニケーション、生物学的プロセスの調節、発生、細胞分化、刺激に対する応答に関連するタンパク質、行動タンパク質、細胞接着タンパク質、細胞死に関連するタンパク質、輸送に関連するタンパク質(タンパク質輸送体活性、核輸送、イオン輸送体活性、チャネル輸送活性、キャリア活性、パーミアーゼ活性、分泌活性、電子トランスポーター活性、病因、シャペロンレギュレーター活性、核酸結合活性、転写調節活性、細胞外組織および生合成活性、翻訳レギュレーター活性)を含む、細胞の統合機能に関連するタンパク質を含む。目的のタンパク質は、とりわけ、薬物療法の標的としてのヒト、微生物、ウイルス、真菌および寄生虫を含む、微生物、ウイルス、真菌および寄生虫、家畜を含む他の動物、抗生物質および他の抗菌剤の標的を決定するための微生物、および植物を含む真核生物および原核生物さらにはウイルスからのタンパク質を含み得る。

30

40

**【0132】**

より具体的には、ヒト治療薬のための多くの薬物標的が、タンパク質標的指向部分が結合しかつ本発明に係る化合物に組み込まれ得るタンパク質標的を代表している。これらは、例えば、B7.1およびB7、TINFR1m、TNFR2、NADPHオキシダーゼ、Bcl2Baxおよびアポトーシス経路における他のパートナー、C5a受容体、HMG-CoAレダクターゼ、PDE Vホスホジエステラーゼタイプ、PDE IVホスホジエステラーゼタイプ4 PDE I、PDE II、PDE III、スクアレンシクラーゼ阻害剤、CXCR1、CXCR2、一酸化窒素(NO)シンターゼ、シクロオキシゲナーゼ1、シクロオキシゲナーゼ2、5HT受容体、ドーパミン受容体、Gタンパク質、すなわちGq

50

、ヒスタミン受容体、5-リボキシゲナーゼ、トリプターゼセリンプロテアーゼ、チミジル酸シンターゼ、プリンクレオシドホスホリラーゼ、GAPDHトリパノソーマ、グリコーゲンホスホリラーゼ、炭酸脱水酵素、ケモカイン受容体、JAW STAT、RXRおよび類似のもの、HIV 1プロテアーゼ、HIV 1インテグラーゼ、インフルエンザ、ノイラミダーゼ、B型肝炎逆転写酵素、ナトリウムチャンネル、多剤耐性(MDR)、タンパク質P糖タンパク質(およびMRP)、チロシンキナーゼ、CD23、CD124、チロシンキナーゼp56 lck、CD4、CD5、IL-2受容体、IL-1受容体、TNF-alphaR、ICAM1 Cat+チャンネル、VCAM、VLA-4インテグリン、セレクチン、CD40/CD40L、ニューロキニンおよび受容体、イノシンーリン酸デヒドロゲナーゼ、p38 MAPキナーゼ、Ras/Raf/MEWEEK経路、インターロイキン-1変換酵素、カスパーゼ、HCV、NS3プロテアーゼ、HCV NS3 RNAヘリカーゼ、グリシンアミドリボヌクレオチドホルミルトランスフェラーゼ、ライノウイルス3Cプロテアーゼ、単純ヘルペスウイルス-1(HSV-1)プロテアーゼ、サイトメガロウイルス(CMV)プロテアーゼ、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ、サイクリン依存性キナーゼ、血管内皮増殖因子、オキシトシン受容体、ミクロソーム輸送タンパク質阻害剤、胆汁酸輸送阻害剤、5アルファレダクターゼ阻害剤、アンジオテンシン11、グリシン受容体、ノルアドレナリン再取り込み受容体、エンドセリン受容体、ニューロペプチドYおよび受容体、エストロゲン受容体、アンドロゲン受容体、アデノシン受容体、アデノシンキナーゼおよびAMPデアミナーゼ、プリン作動性受容体(P2Y1、P2Y2、P2Y4、P2Y6、P2X1-7)、ファルネシルトランスフェラーゼ、ゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ、NGFのTrkA受容体、ベータアミロイド、チロシンキナーゼFik-1/KDR、ピトロネクチン受容体、インテグリン受容体、Her-2/1 neu、テロメラーゼ阻害、サイトゾルホスホリパーゼA2およびEGF受容体チロシンキナーゼを含む、多くの多遺伝子性疾患において機能を回復するために用い得るタンパク質を含む。さらなるタンパク質標的は、例えば、エクジソン20-モノオキシゲナーゼ、GABAゲート塩素イオンチャンネルのイオンチャンネル、アセチルコリンエステラーゼ、電位感受性ナトリウムチャンネルタンパク質、カルシウム放出チャンネル、および塩素イオンチャンネルを含む。さらに別の標的タンパク質はアセチル-CoAカルボキシラーゼ、アデニルコハク酸シンターゼ、プロトボルフィリノーゲンオキシダーゼ、およびエノールピルビルシキミ酸-リン酸シンターゼを含む。

10

20

#### 【0133】

ハロアルカンデハロゲナーゼ酵素は本発明に係る特定の化合物の別の標的である。クロロアルカンペプチド結合部分(C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>、往々にして約C<sub>2</sub>~C<sub>10</sub>であるアルキルハロ基)を含む本発明に係る化合物は、その内容が参照により本明細書に組み入れられる2011年12月6日に出願されたPCT/US2012/063401であって、2012年6月14日に公開されたWO 2012/078559に記載の融合タンパク質または関連する診断タンパク質で用いられるハロアルカンデハロゲナーゼ酵素を阻害しかつ/または分解するために用い得る。

30

#### 【0134】

これらの様々なタンパク質標的は、該タンパク質に結合する化合物部分を同定するスクリーニングにおいて用いることができ、本発明に係る化合物への該部分の組み込みによってタンパク質の活性のレベルを治療の最終結果のために改変し得る。

#### 【0135】

「タンパク質標的指向部分」またはPTMという用語は、目的の標的タンパク質または別のタンパク質もしくはポリペプチドに結合して、ユビキチンリガーゼによるタンパク質またはポリペプチドの分解が起き得るようにそのタンパク質もしくはポリペプチドをユビキチンリガーゼに近接して配置する/提供する小分子を記載するために用いられる。小分子標的タンパク質結合部分の非限定的な例は、とりわけ、Hsp90阻害剤、キナーゼ阻害剤、MDM2阻害剤、ヒトBETプロモドメイン含有タンパク質を標的とする化合物、HDAC阻害剤、ヒトリジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤、血管新生阻害剤、免疫抑制化合物、アリアル炭化水素受容体(AHR)を標的とする化合物を含む。下に記載の組成物はこれらの9つのタイプの小分子標的タンパク質のメンバーのいくつかを例示している。

40

#### 【0136】

本開示に係る例示的なタンパク質標的指向部分は、ハロアルカンハロゲナーゼ阻害剤、

50

Hsp90阻害剤、キナーゼ阻害剤、MDM2阻害剤、ヒトBETプロモドメイン含有タンパク質を標的とする化合物、HDAC阻害剤、ヒトリジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤、血管新生阻害剤、免疫抑制化合物、およびアリアル炭化水素受容体(AHR)を標的とする化合物を含む。

【0137】

下に記載の組成物は、これらのタイプの小分子標的タンパク質結合部分のメンバーのいくつかを例示している。そのような小分子標的タンパク質結合部分は、これらの組成物の薬学的に許容される塩、エナンチオマー、溶媒和物および多形、ならびに目的のタンパク質を標的とし得る他の小分子も含む。以下に引用される文献はそれらの全体において参照により本明細書に組み入れられる。

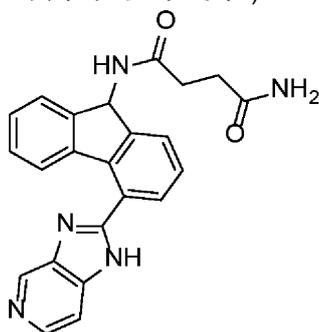
【0138】

1. 熱ショックタンパク質90(HSP90)阻害剤

本明細書において用いられるHSP90阻害剤は以下のものを非限定的に含む。

【0139】

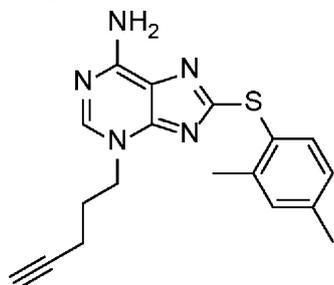
1. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、末端アミド基を介して結合される、誘導体化を行った、YKB(N-[4-(3H-イミダゾ[4,5-C]ピリジン-2-イル)-9H-フルオレン-9-イル]-スクシンイミド)：



を含む、Vallee, et al., "Tricyclic Series of Heat Shock Protein 90 (HSP90) Inhibitors Part I: Discovery of Tricyclic Imidazo[4,5-C]Pyridines as Potent Inhibitors of the HSP90 Molecular Chaperone (2011) J.Med.Chem. 54: 7206において同定されたHSP90阻害剤。

【0140】

2. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、末端アセチレン基を介して結合される、誘導体化を行った、HSP90阻害剤p54(修飾)(8-[(2,4-ジメチルフェニル)スルファニル]-3-ペンタ-4-イン-1-イル-3H-プリン-6-アミン)：



【0141】

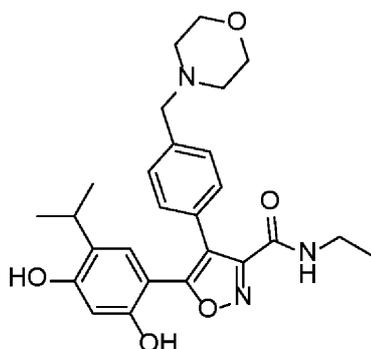
3. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、アミド基(アミンにおけるかまたはアミン上のアルキル基における)を介して結合される、誘導体化を行った、構造：

10

20

30

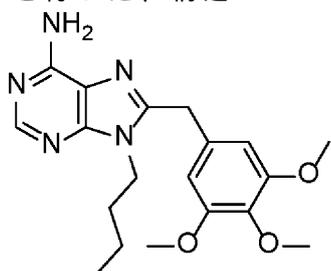
40



を有する化合物2GJ(5-[2,4-ジヒドロキシ-5-(1-メチルエチル)フェニル]-n-エチル-4-[4-(モルホリン-4-イルメチル)フェニル]イソキサゾール-3-カルボキサミド)を含む、Brough, et al., "4,5-Diarylisoxazole HSP90 Chaperone Inhibitors: Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer", J. Med. Chem. vol: 51, pag:196 (2008)において特定されたHSP90阻害剤(修飾)。

【0142】

4. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、ブチル基を介して結合される、誘導体化を行った、構造：



を有する化合物HSP90阻害剤PU3を含む、Wright, et al., Structure-Activity Relationships in Purine-Based Inhibitor Binding to HSP90 Isoforms, Chem Biol. 2004 Jun;11(6):775-85において同定されたHSP90阻害剤(修飾)。

【0143】

5. HSP90阻害剤ゲルダナマイシン((4E,6Z,8S,9S,10E,12S,13R,14S,16R)-13-ヒドロキシ-8,14,19-トリメトキシ-4,10,12,16-テトラメチル-3,20,22-トリオキソ-2-アザピシクロ[16.3.1])(誘導体化)またはその誘導体のうちのいずれか(例えば、17-アルキルアミノ-17-デスメトキシゲルダナマイシン(「17-AAG」)または17-(2-ジメチルアミノエチル)アミノ-17-デスメトキシゲルダナマイシン(「17-DMAG」))(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、アミド基を介して結合される、誘導体化を行った)。

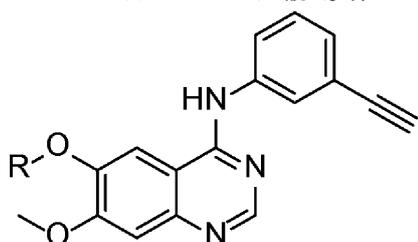
【0144】

### II. キナーゼおよびホスファターゼ阻害剤

本明細書において用いられるキナーゼ阻害剤は以下のものを非限定的に含む。

【0145】

1. エルロチニブ誘導体チロシンキナーゼ阻害剤：



式中Rは、例えば、エーテル基を介して結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である。

【0146】

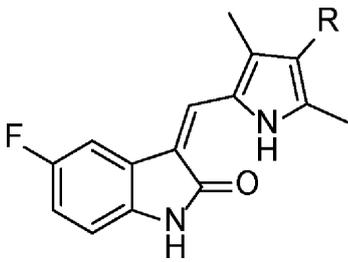
2. キナーゼ阻害剤スニチニブ(誘導体化)：

10

20

30

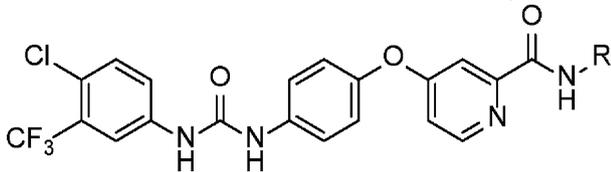
40



Rが、例えば、ピロール部分に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った。

【0147】

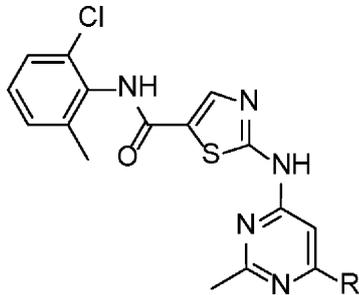
3. キナーゼ阻害剤ソラフェニブ(誘導体化) :



Rが、例えば、アミド部分に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った。

【0148】

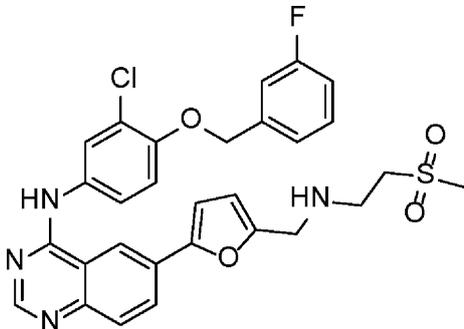
4. キナーゼ阻害剤ダサチニブ(誘導体化) :



Rが、例えば、ピリミジンに結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った。

【0149】

5. キナーゼ阻害剤ラパチニブ(誘導体化) :



リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、スルホニルメチル基の末端メチルを介して結合する、誘導体化を行った。

【0150】

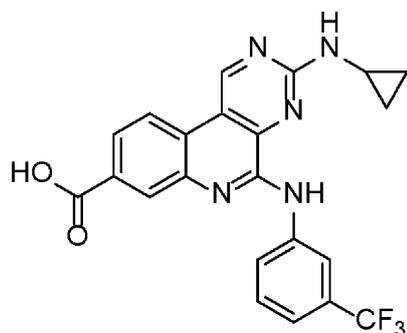
6. キナーゼ阻害剤U09-CX-5279(誘導体化) :

10

20

30

40



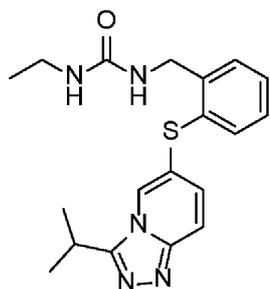
リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、アミン(アニリン)、カルボン酸またはアミンアルファを介してシクロプロピル基に結合するかまたはシクロプロピル基である、誘導体化を行った。

10

【0151】

7. 以下の構造を有するキナーゼ阻害剤YIWおよびYIX(誘導体化) :

リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、<sup>i</sup>プロピル基を介して結合する、誘導体化を行った

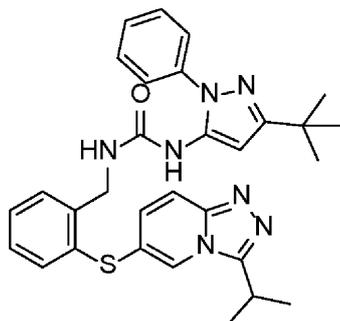


20

YIXまたは1-エチル-3-(2-([3-(1-メチルエチル)[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a]ピリジン-6-イル]スルファニル)ベンジル)尿素 ;

リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、好ましくは<sup>i</sup>-プロピル基または<sup>t</sup>-ブチル基のいずれかを介して結合する、誘導体化を行った

30



YIWまたは1-(3-tert-ブチル-1-フェニル-1H-ピラゾール-5-イル)-3-(2-([3-(1-メチルエチル)[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a]ピリジン-6-イル]スルファニル)ベンジル)尿素

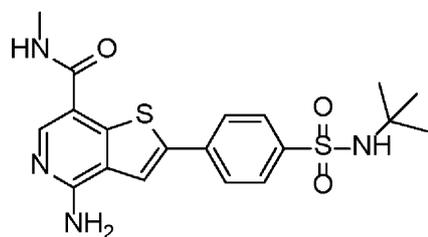
を含む、Millan, et al., Design and Synthesis of Inhaled P38 Inhibitors for the Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, J. Med.Chem. vol:54, pag:7797 (2011)において同定されたキナーゼ阻害剤。

40

【0152】

8. 以下の構造を有する化合物6TPおよび0TP(誘導体化) :

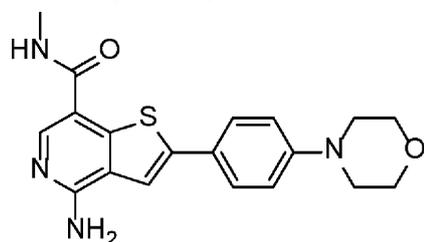
リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、末端メチル基を介してアミド部分に結合する、誘導体化を行った、6TPまたは4-アミノ-2-[4-(tert-ブチルスルファモイル)フェニル]-N-メチルチエノ[3,2-c]ピリジン-7-カルボキサミド



;

リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、末端メチル基を介してアミド部分に結合する、誘導体化を行った、OTPまたは4-アミノ-N-メチル-2-[4-(モルホリン-4-イル)フェニル]チエノ[3,2-c]ピリジン-7-カルボキサミド

10



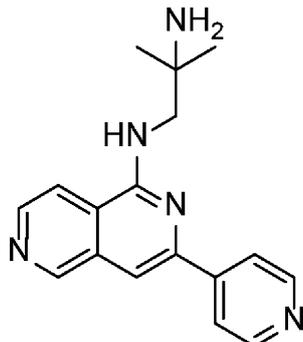
を含む、Schenkel, et al., Discovery of Potent and Highly Selective Thienopyridine Janus Kinase 2 Inhibitors J. Med. Chem., 2011, 54 (24), pp 8440 ~ 8450において同定されたキナーゼ阻害剤。

20

【0153】

9. 以下の構造を有するキナーゼ阻害剤07U:

リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、第二級アミンまたは末端アミノ基を介して結合する、誘導体化を行った、07Uまたは2-メチル-N-1-[3-(ピリジン-4-イル)-2,6-ナフチリジン-1-イル]プロパン-1,2,-ジアミン



30

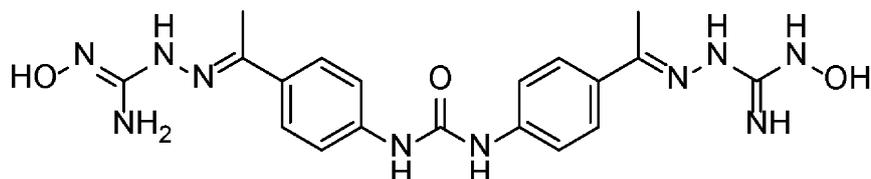
を含む、Van Eis, et al., "2,6-Naphthyridines as potent and selective inhibitors of the novel protein kinase C isozymes", Biorg. Med. Chem. Lett. 2011 Dec 15; 21(24):7367-72において同定されたキナーゼ阻害剤。

【0154】

10. 以下の構造を有するキナーゼ阻害剤YCF:

リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、末端ヒドロキシル基のいずれかを介して結合する、誘導体化を行った

40

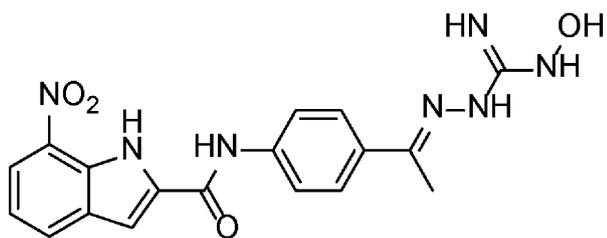


を含む、Lountos, et al., "Structural Characterization of Inhibitor Complexes with Checkpoint Kinase 2 (Chk2), a Drug Target for Cancer Therapy", J.STRUCT.BIOL. vol:176, pag:292 (2011)において同定されたキナーゼ阻害剤。

【0155】

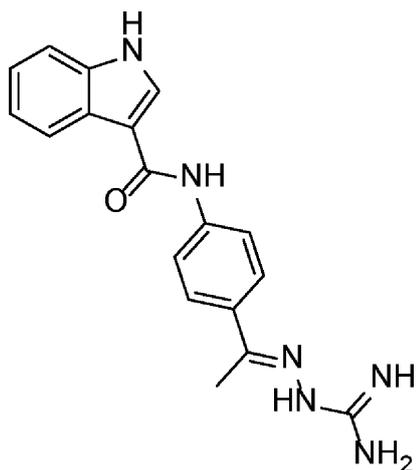
50

11. 以下の構造を有するキナーゼ阻害剤XK9およびNXP(誘導体化) :  
リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、末端ヒドロキシル基(XK9)またはヒドラジン基(NXP)を介して結合する、誘導体化を行った、XK9またはN-{4-[(1E)-N-(N-ヒドロキシカルバミミドイル)エタンヒドラゾノイル]フェニル}-7-ニトロ-1H-インドール-2-カルボキサミド



10

; NXPまたはN-{4-[(1E)-N-カルバミミドイルエタンヒドラゾノイル]フェニル}-1H-インドール-3-カルボキサミド



20

を含む、Lountos, et al., "Structural Characterization of Inhibitor Complexes with Checkpoint Kinase 2 (Chk2), a Drug Target for Cancer Therapy", J.STRUCT.BIOL. vol:176, pag:292 (2011)において同定されたキナーゼ阻害剤。

【0156】

30

12. キナーゼ阻害剤アファチニブ(誘導体化)(N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[[3S)-テトラヒドロ-3-フラニル]オキシ]-6-キナゾリニル]-4(ジメチルアミノ)-2-プテンアミド)(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、脂肪族アミン基を介して結合する、誘導体化を行った)。

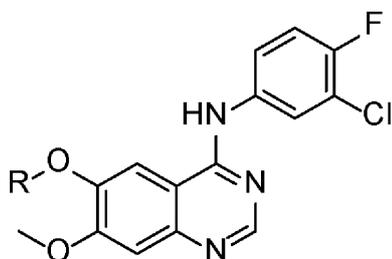
【0157】

13. キナーゼ阻害剤フォスタマチニブ(誘導体化)([6-({5-フルオロ-2-[(3,4,5-トリメトキシフェニル)アミノ]ピリミジン-4-イル}アミノ)-2,2-ジメチル-3-オキソ-2,3-ジヒドロ-4H-ピリド[3,2-b]-1,4-オキサジン-4-イル]メチルリン酸二ナトリウム六水和物)(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、メトキシ基を介して結合する、誘導体化を行った)。

40

【0158】

14. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、メトキシまたはエーテル基を介して結合する、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤ゲフィチニブ(誘導体化)(N-(3-クロロ-4-フルオロ-フェニル)-7-メトキシ-6-(3-ホルホリン-4-イルプロポキシ)キナゾリン-4-アミン) :



【 0 1 5 9 】

15. キナーゼ阻害剤レンパチニブ(誘導体化)(4-[3-クロロ-4-(シクロプロピルカルバモイルアミノ)フェノキシ]-7-メトキシ-キノリン-6-カルボキサミド)(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、シクロプロピル基を介して結合する、誘導体化を行った)。

10

【 0 1 6 0 】

16. キナーゼ阻害剤バンデタニブ(誘導体化)(N-(4-ブromo-2-フルオロフェニル)-6-メトキシ-7-[(1-メチルピペリジン-4-イル)メトキシ]キナゾリン-4-アミン)(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、メトキシまたはヒドロキシル基を介して結合する、誘導体化を行った)。

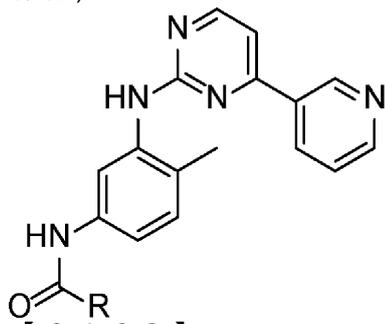
【 0 1 6 1 】

17. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、スルホニルプロピル基を介して結合する、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤ベムラフェニブ(誘導体化)(プロパン-1-スルホン酸{3-[5-(4-クロロフェニル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-カルボニル]-2,4-ジフルオロフェニル}-アミド)。

20

【 0 1 6 2 】

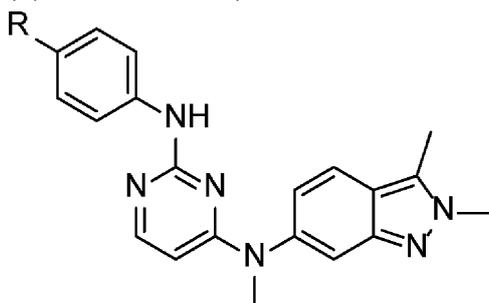
18. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基としてのRが、例えば、アミド基を介してかまたはアニリンアミン基を介して結合する、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤グリベック(誘導体化)：



30

【 0 1 6 3 】

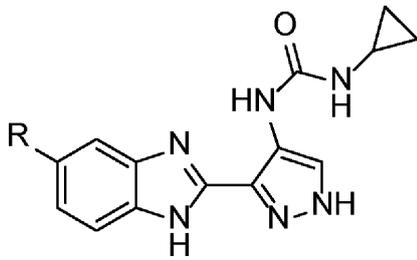
19. Rが、例えば、フェニル部分にまたはアニリンアミン基を介して結合されたリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤パゾパニブ(誘導体化)(VEGFR3阻害剤)：



40

【 0 1 6 4 】

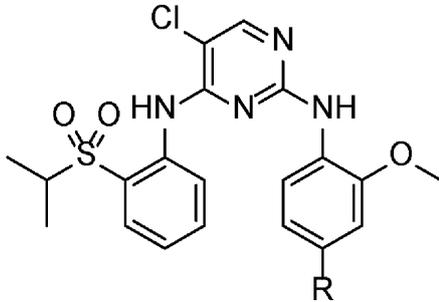
20. Rが、例えば、フェニル部分に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、キナーゼ阻害剤AT-9283(誘導体化)オーロラキナーゼ阻害剤：



## 【 0 1 6 5 】

21. Rが、例えば、フェニル部分に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、キナーゼ阻害剤TAE684(誘導体化)ALK阻害剤：

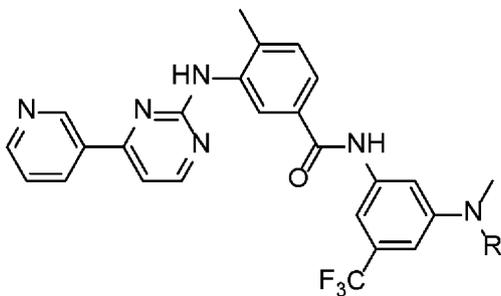
10



## 【 0 1 6 6 】

22. Rが、例えば、フェニル部分またはアニリンアミン基に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤ニロタニブ(誘導体化)AbI阻害剤：

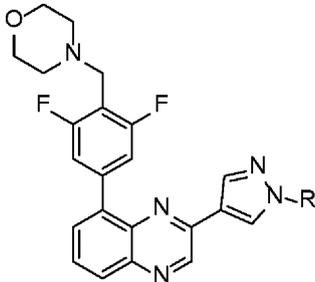
20



30

## 【 0 1 6 7 】

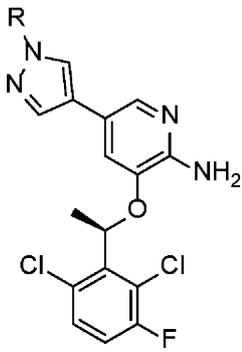
23. Rが、例えば、フェニル部分またはジアゾール基に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤NVP-BSK805(誘導体化)JAK2阻害剤：



40

## 【 0 1 6 8 】

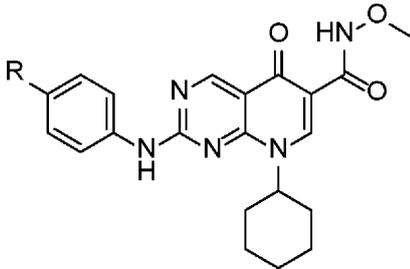
24. Rが、例えば、フェニル部分またはジアゾール基に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤クリゾチニブ誘導体化Alk阻害剤：



【 0 1 6 9 】

10

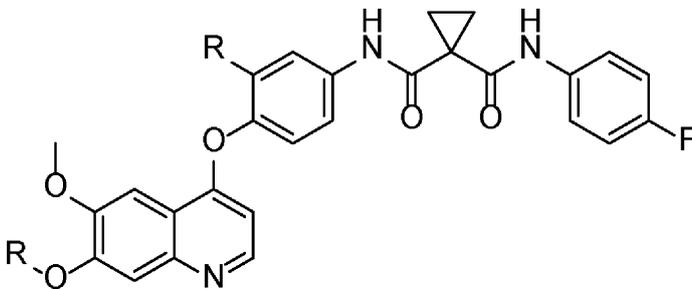
25. Rが、例えば、フェニル部分に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤JNJ FMS(誘導体化)阻害剤：



【 0 1 7 0 】

20

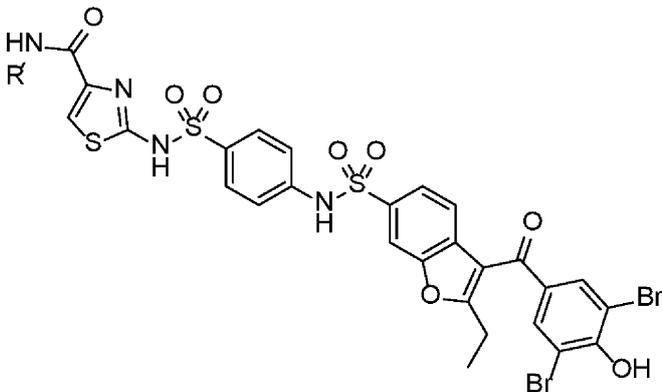
26. Rが、例えば、フェニル部分またはキノリン部分上のヒドロキシルもしくはエーテル基に結合したリンカー基Lまたは-(L-CLM)基である、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤フォレチニブ(誘導体化)Met阻害剤：



30

【 0 1 7 1 】

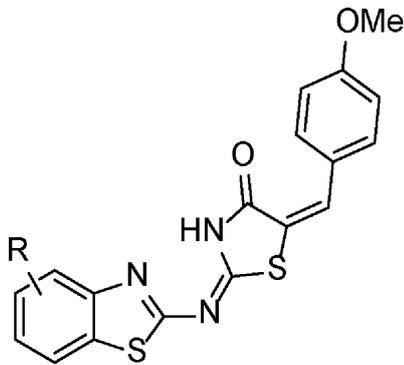
27. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、示されるようにRにて結合する、誘導体化を行った、アロステリックタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤PTP1B(誘導体化)：



40

【 0 1 7 2 】

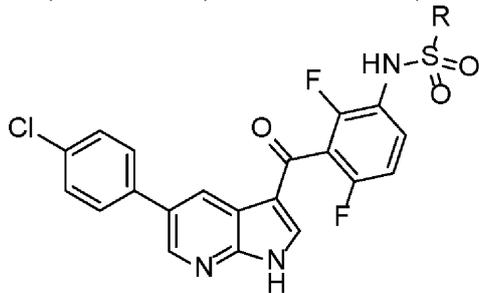
28. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、Rにて結合する、誘導体化を行った、チロシンホスファターゼのSHP-2ドメインの阻害剤(誘導体化)：



10

## 【 0 1 7 3 】

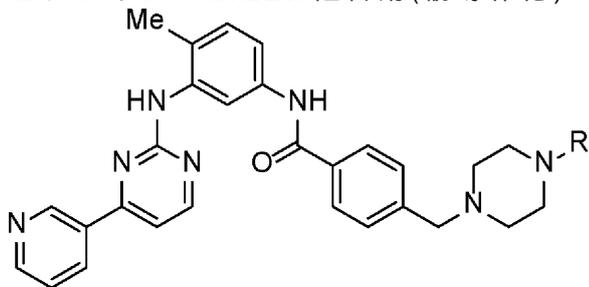
29. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、Rにて結合する、誘導体化を行った、BR AF(BRAF<sup>V600E</sup>)/MEKの阻害剤(誘導体化) :



20

## 【 0 1 7 4 】

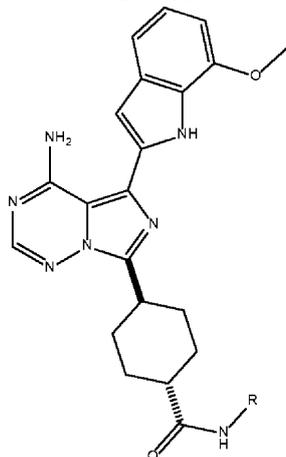
30. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、Rにて結合する、誘導体化を行った、チロシンキナーゼABLの阻害剤(誘導体化) :



30

## 【 0 1 7 5 】

31. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、Rにて結合する、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤OSI-027(誘導体化)mTORC1/2阻害剤 :

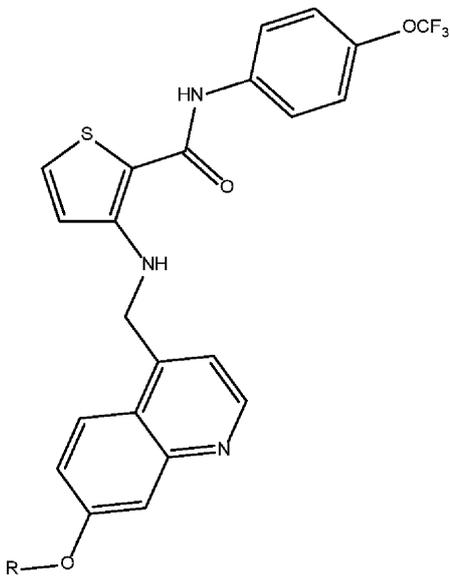


40

## 【 0 1 7 6 】

32. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、Rにて結合する、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤OSI-930(誘導体化)c-Kit/KDR阻害剤 :

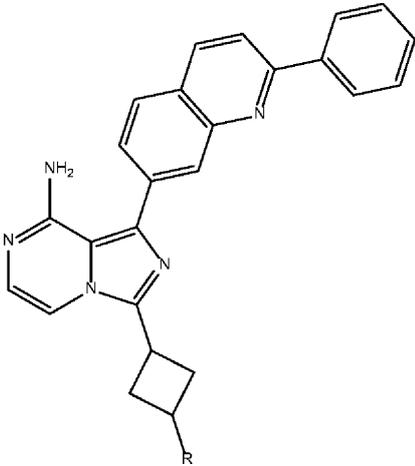
50



10

## 【 0 1 7 7 】

33. リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、Rにて結合する、誘導体化を行った、キナーゼ阻害剤OSI-906(誘導体化) IGF1R/IR阻害剤：



20

## 【 0 1 7 8 】

ここで、セクションI~XVIIに記載の態様のいずれにおいても、「R」はピペラジン部分上のリンカー基Lまたは-(L-CLM)基の結合のための部位を示す。

## 【 0 1 7 9 】

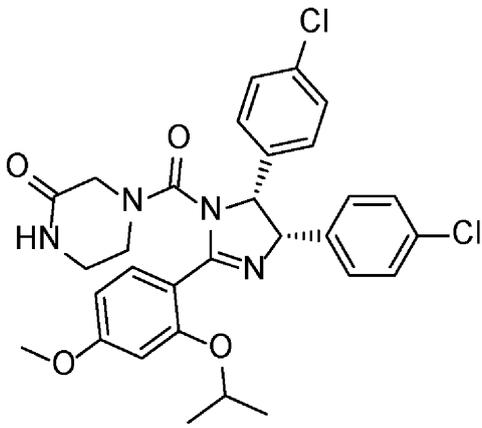
III. HDM2/MDM2阻害剤

本明細書において用いられるHDM2/MDM2阻害剤は以下を非限定的に含む。

## 【 0 1 8 0 】

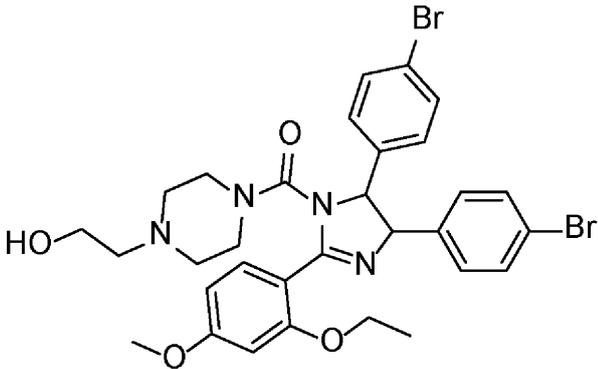
1. 下に記載の化合物ヌトリン-3、ヌトリン-2、およびヌトリン-1(誘導体化)ならびにそれらのすべての誘導体および類縁体を含む(またはそれらに加えて)、Vassilev, et al., *In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2*, SCIENCE vol: 303, pag:844-848 (2004)およびSchneekloth, et al., *Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 5904-5908において同定されたHDM2/MDM2阻害剤：

40



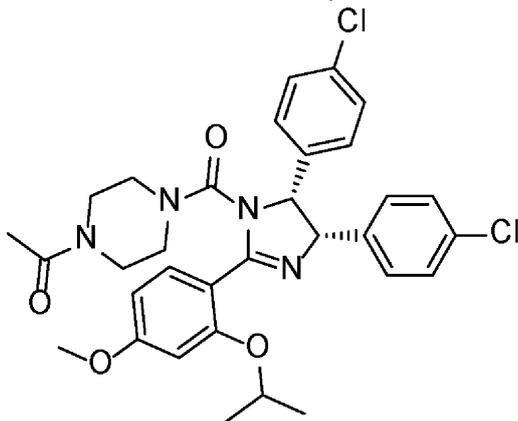
10

(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、メトキシ基にてまたはヒドロキシル基として結合する、誘導体化を行った)；



20

(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、メトキシ基またはヒドロキシル基にて結合する、誘導体化を行った)；



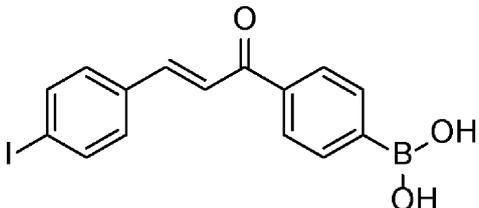
30

(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、メトキシ基を介してまたはヒドロキシル基として結合する、誘導体化を行った)。

【0181】

2. トランス-4-ヨード-4'-ボラニル-カルボン

40



(リンカー基Lまたはリンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、ヒドロキシ基を介して結合する、誘導体化を行った)。

【0182】

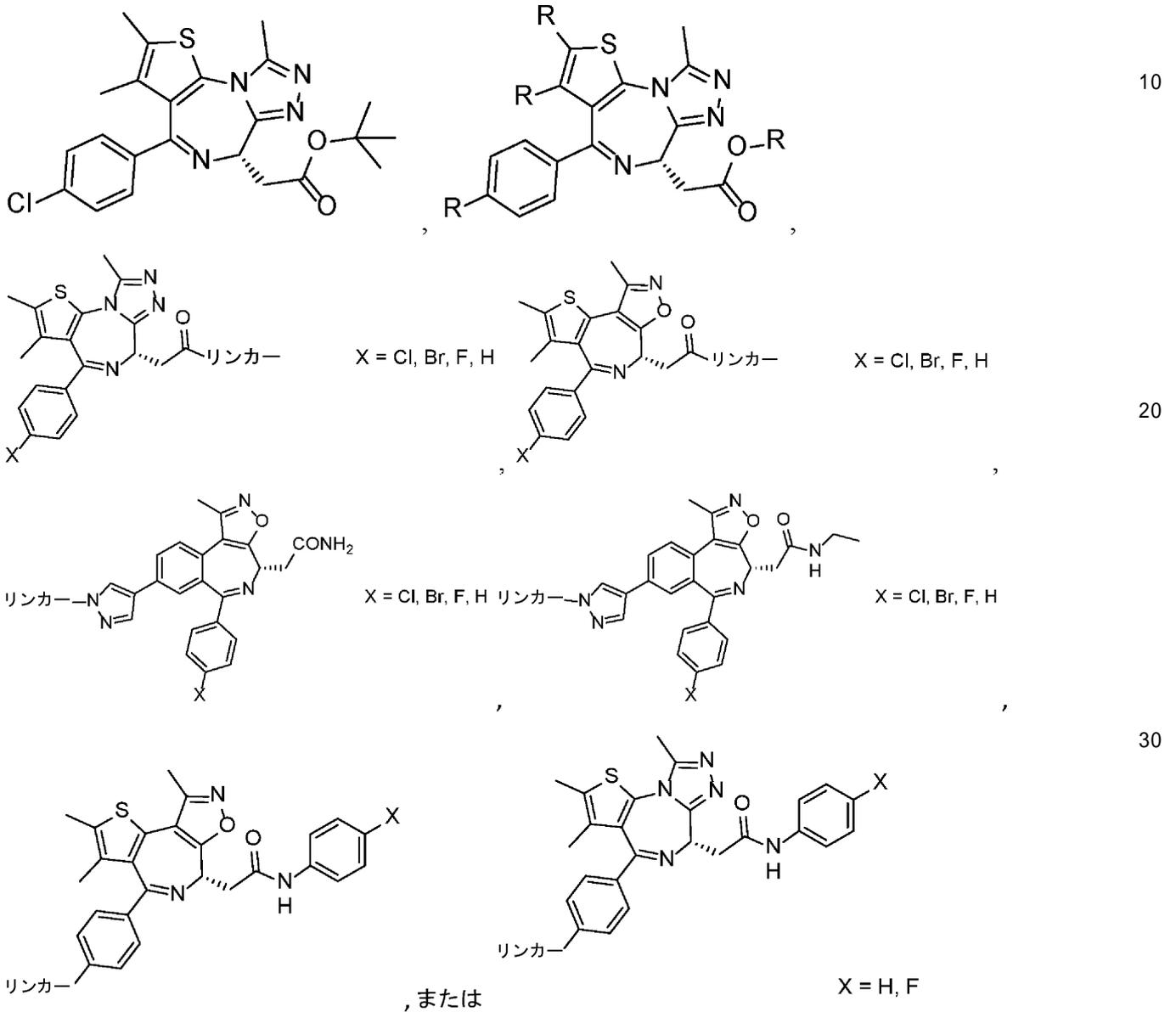
IV. ヒトBETプロモドメイン含有タンパク質を標的とする化合物

50

特定の態様では、「PTM」は、プロモ・エクストラターミナル(BET)タンパク質BRD2、BRD3、およびBRD4に結合するリガンドである。ヒトBETプロモドメイン含有タンパク質を標的とする化合物は、「R」または「リンカー」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す下に記載の標的と関連する化合物を非限定的に含み、例えば以下である。

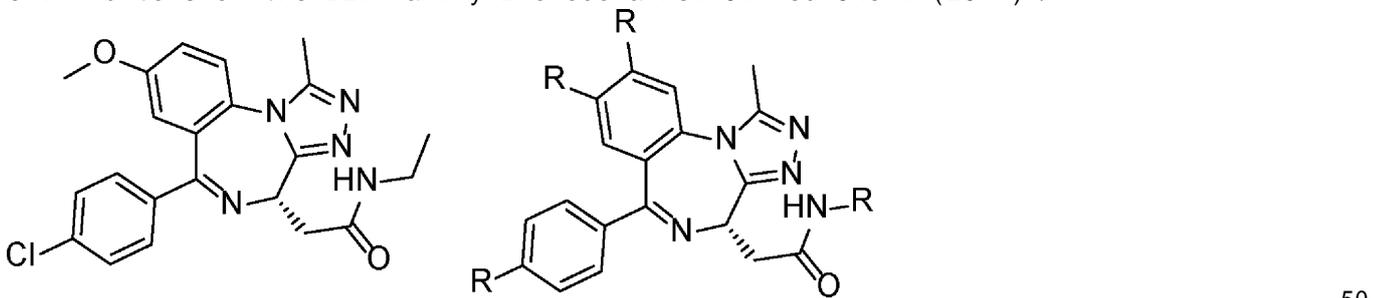
【0183】

1. JQ1、Filippakopoulos et al. Selective inhibition of BET bromodomains. Nature (2010)



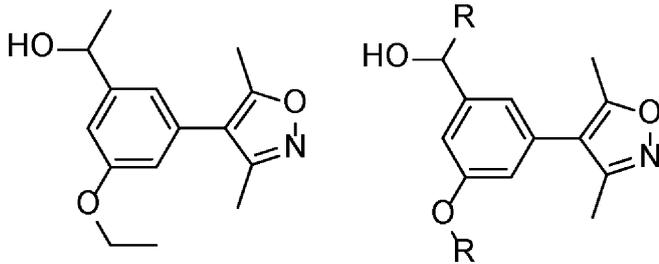
【0184】

2. I-BET、Nicodeme et al. Suppression of Inflammation by a Synthetic Histone Mimer. Nature (2010). Chung et al. Discovery and Characterization of Small Molecule Inhibitors of the BET Family Bromodomains. J. Med Chem. (2011) :



## 【 0 1 8 5 】

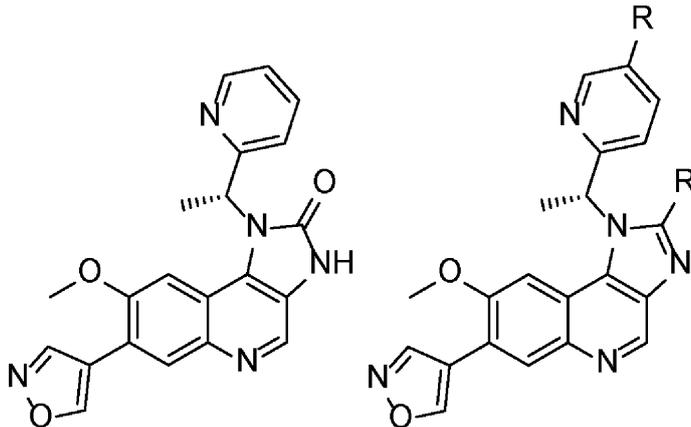
3. Hewings et al. 3,5-Dimethylisoxazoles Act as Acetyl-lysine Bromodomain Ligands. J. Med. Chem. (2011) 54 6761-6770に記載の化合物 :



10

## 【 0 1 8 6 】

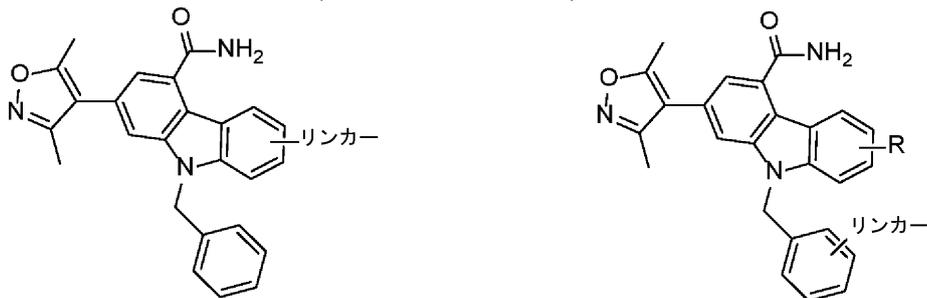
4. I-BET151, Dawson et al. Inhibition of BET Recruitment to Chromatin as an Effective Treatment for MLL-fusion Leukemia. Nature (2011) :



20

## 【 0 1 8 7 】

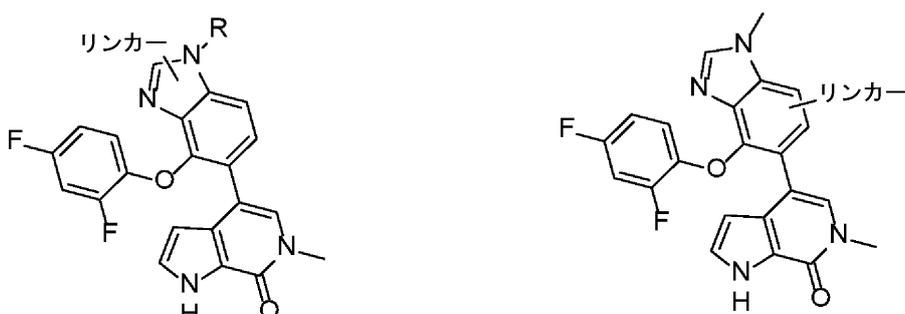
5. カルバゾール型 (US 2015/0256700)



30

## 【 0 1 8 8 】

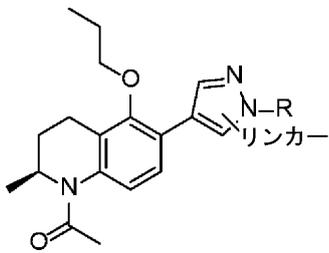
6. ピロロピリドン型 (US 2015/0148342)



40

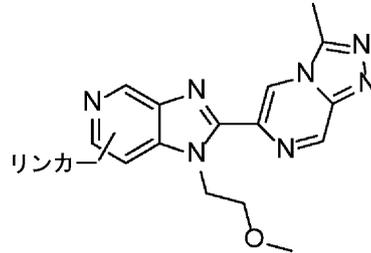
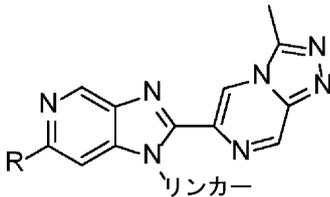
## 【 0 1 8 9 】

7. テトラヒドロキノリン型 (WO 2015/074064)



【0190】

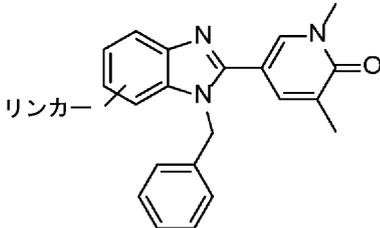
8. トリアゾロピラジン型 (WO 2015/067770)



10

【0191】

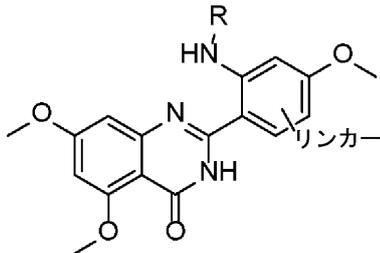
9. ピリドン型 (WO 2015/022332)



20

【0192】

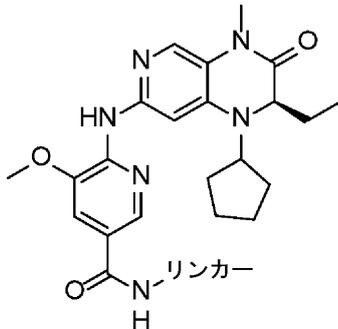
10. キナゾリノン型 (WO 2015/015318)



30

【0193】

11. ジヒドロピリドピラジノン型 (WO 2015/011084)

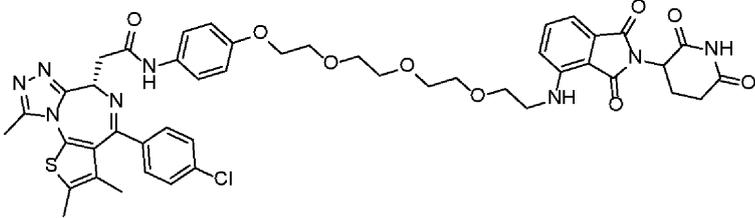
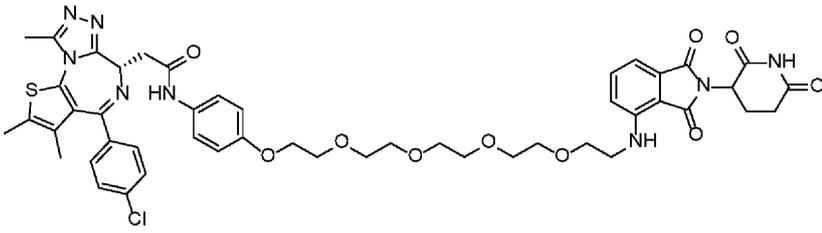


40

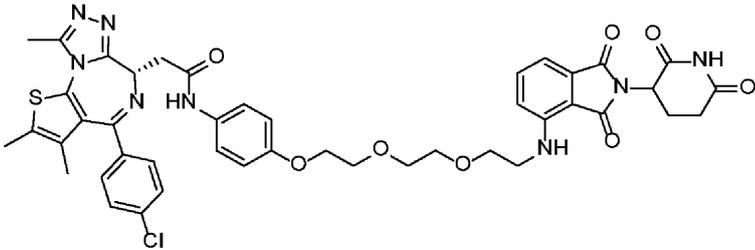
(式中、RまたはLまたはリンカーは、それぞれの場合において、例えばリンカー基Lまたは-(L-CLM)基の結合のための部位を示す)。

【0194】

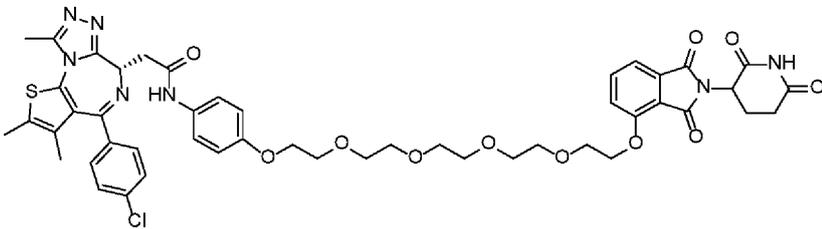
セレブロンリガンドを用いた以下のキメラ分子はBET PROTACの代表的なものである。本発明において記載の方法論はこれらの例に限定されない。



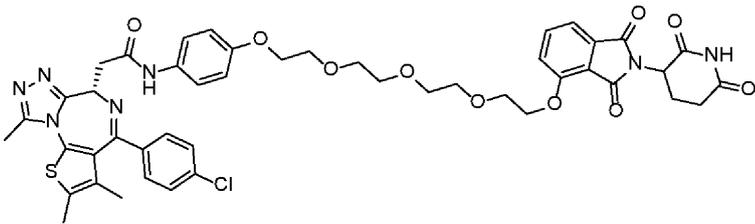
10

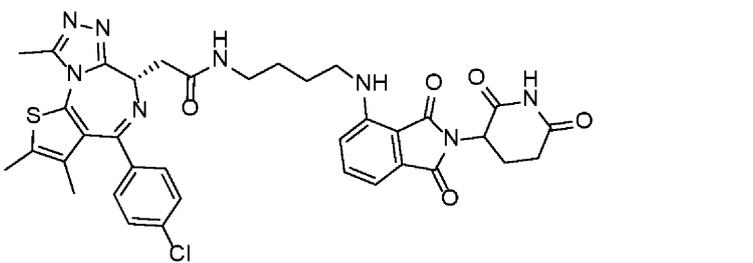
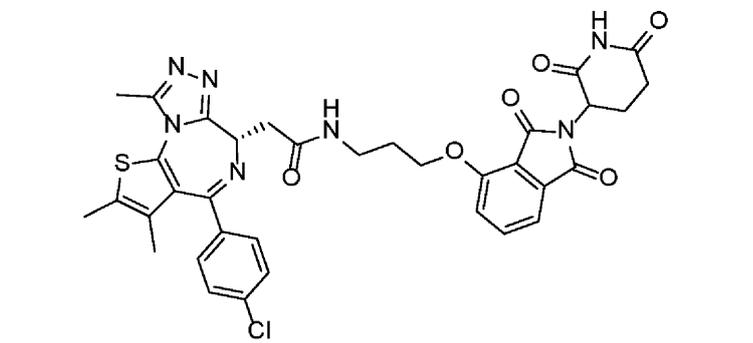
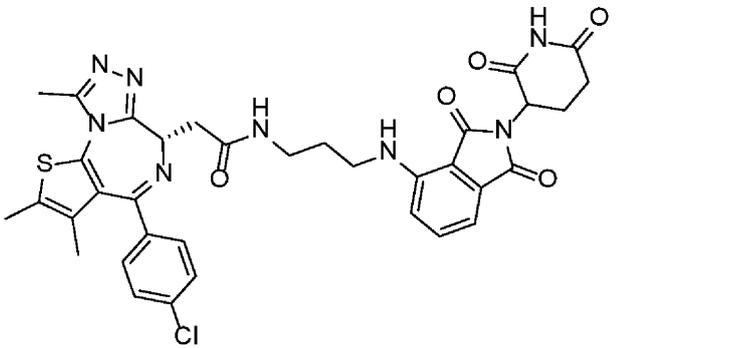
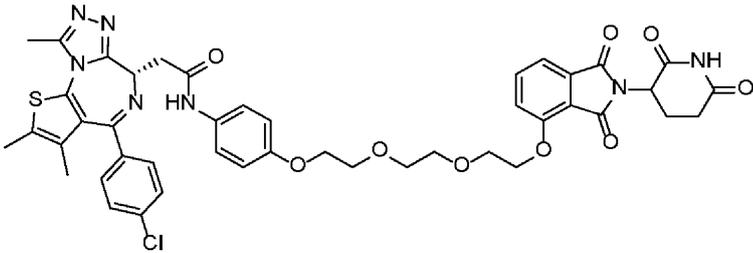
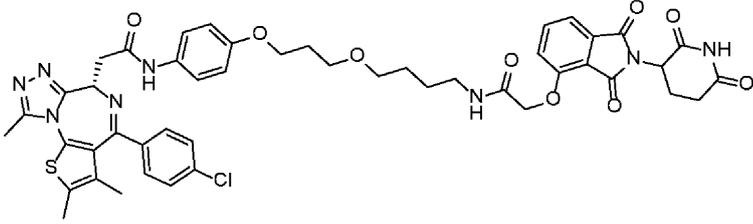
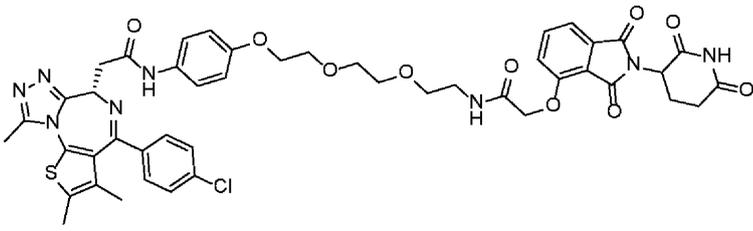


20



30



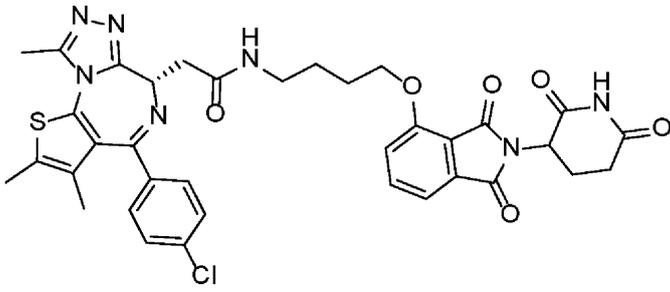


10

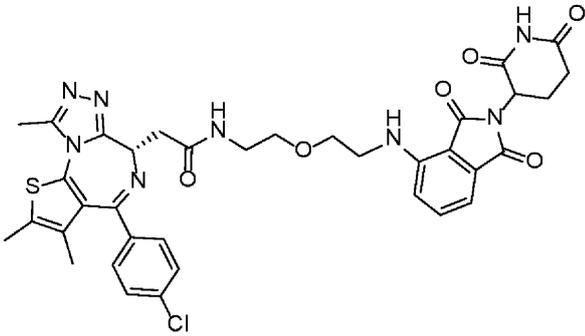
20

30

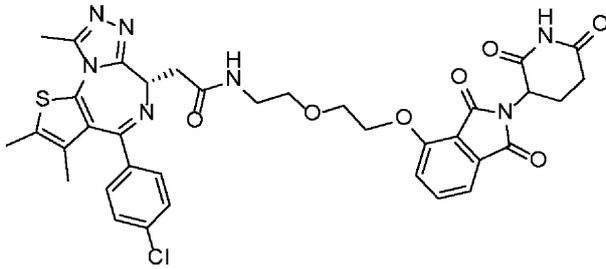
40



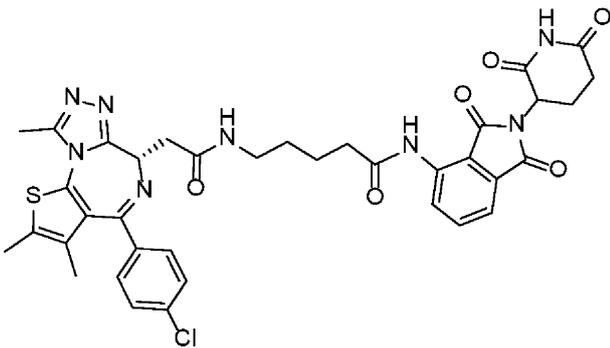
10



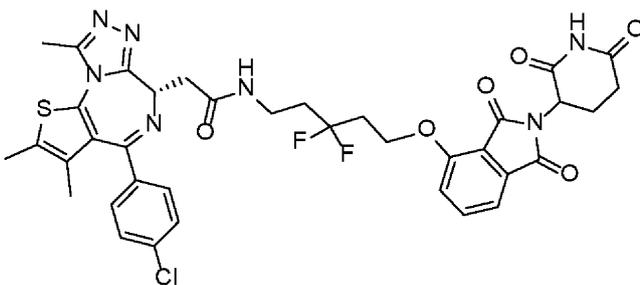
20

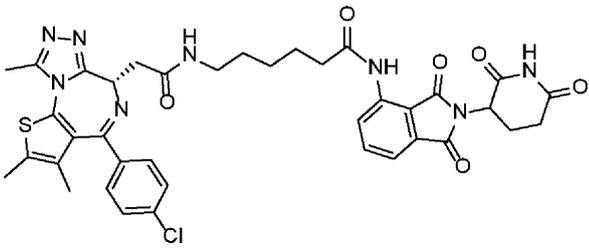


30

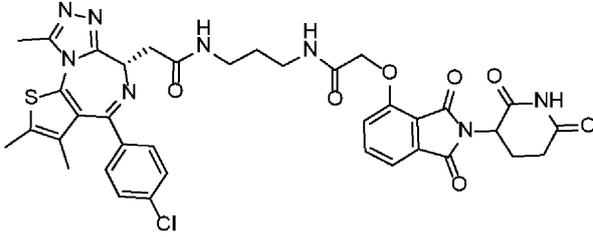


40



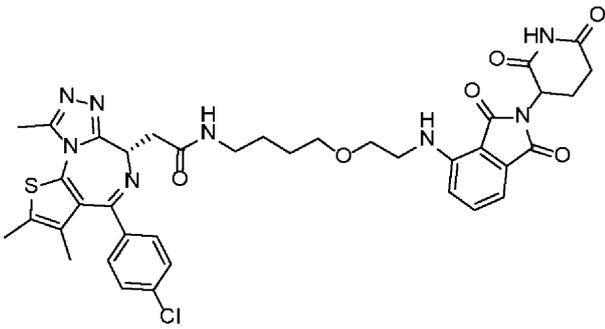


,



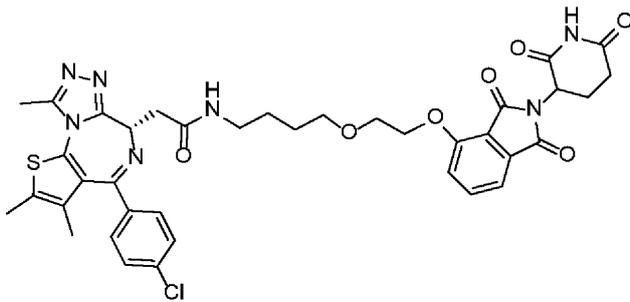
10

,



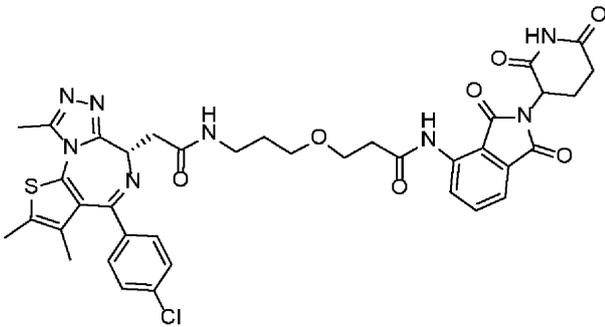
20

,



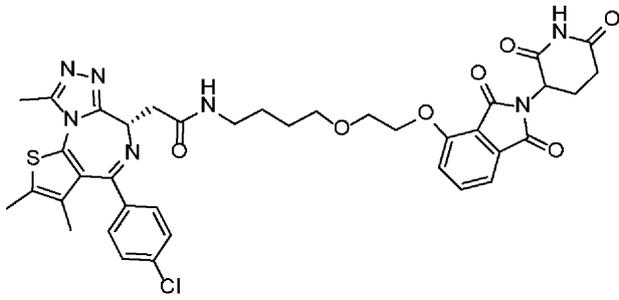
30

,

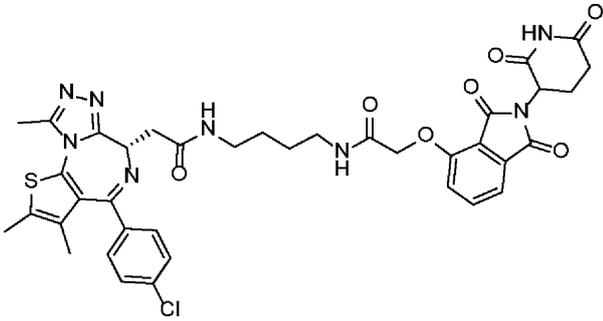


40

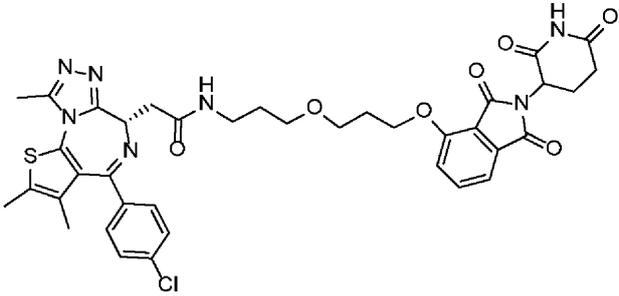
,



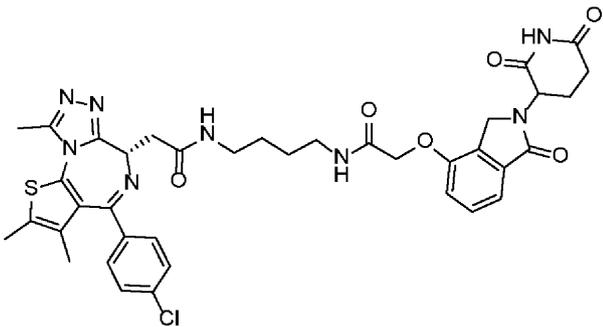
10



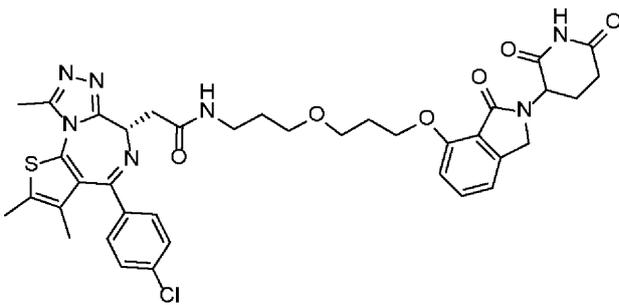
20

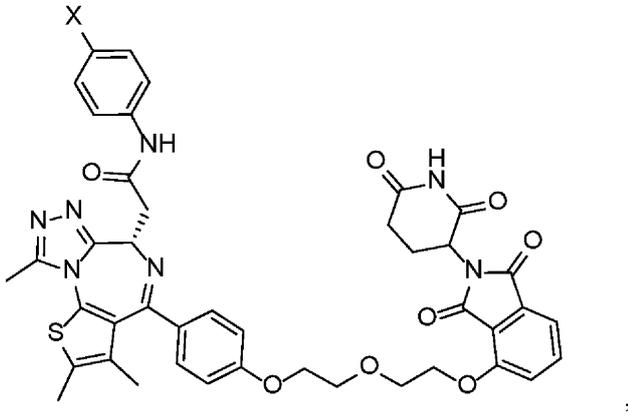
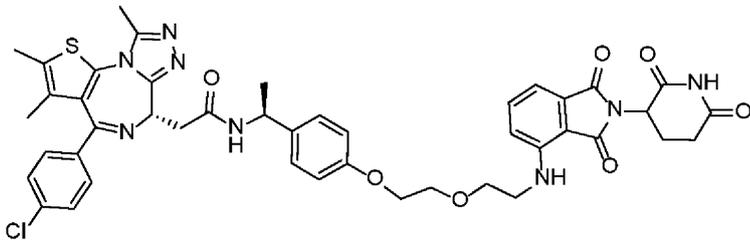


30

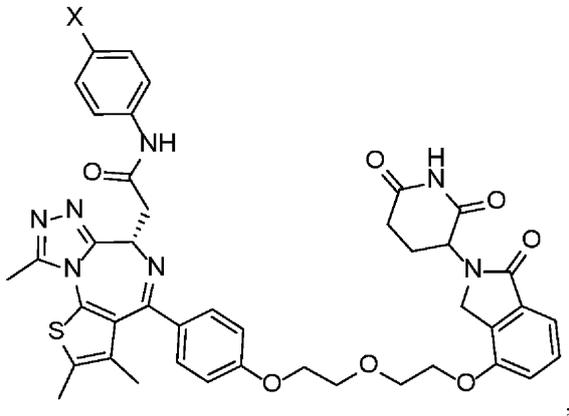


40

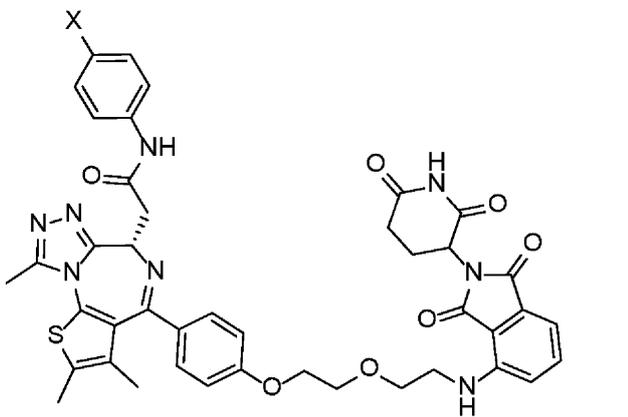




10

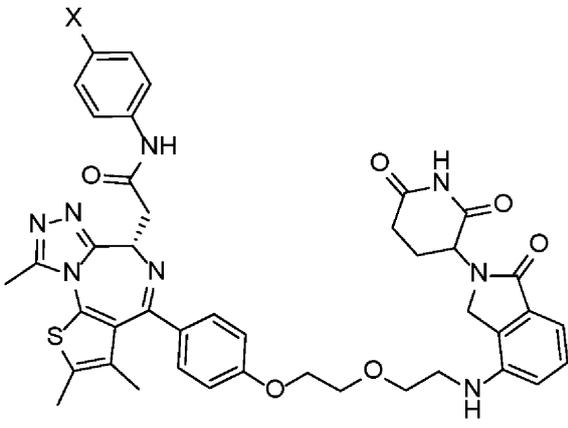


20

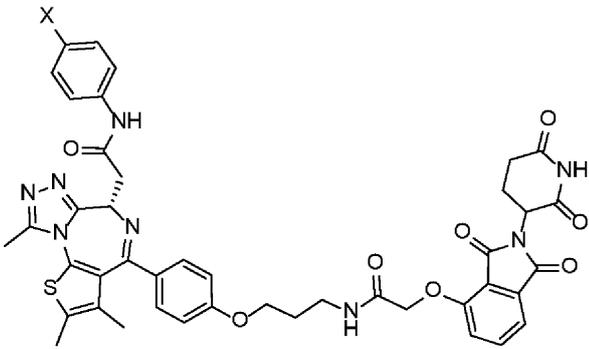


30

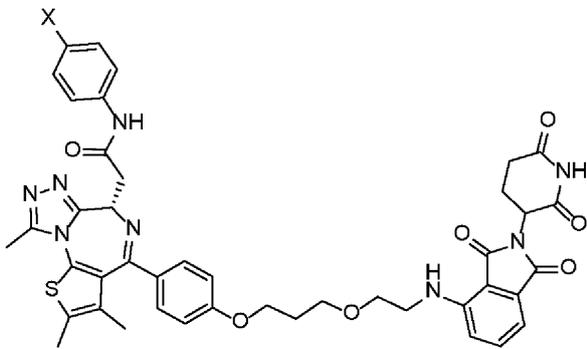
40



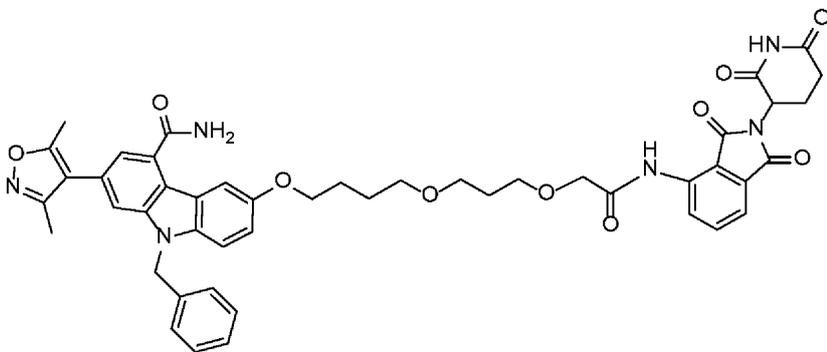
10



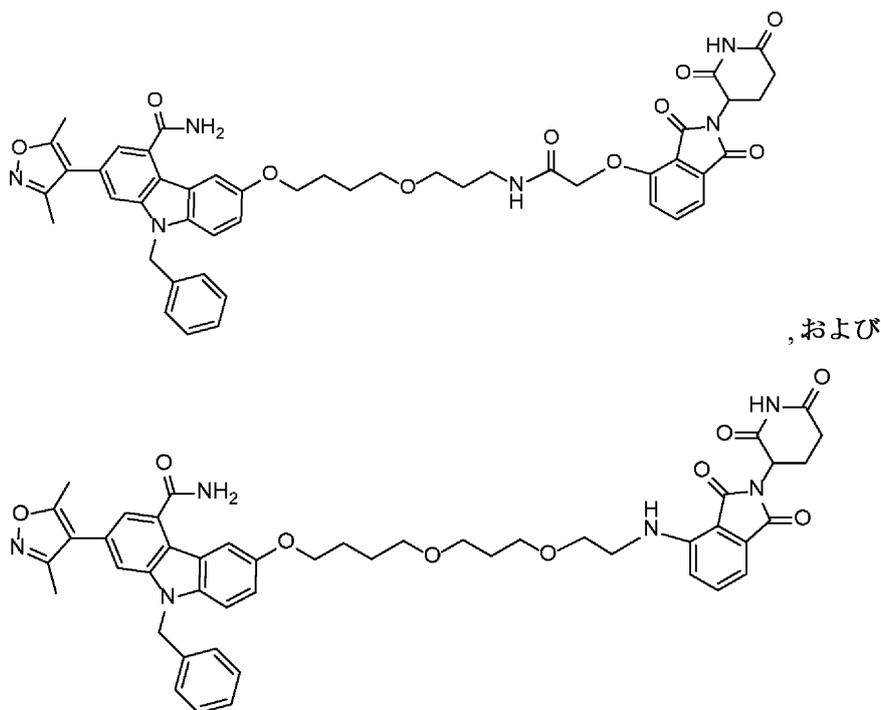
20



30



40



10

20

30

## 【0195】

特定の態様では、Xは各出現時に独立して、H、 $-C(=O)NR'R''$ 、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-S(=O)_2R'$ 、 $-S(=O)_2NR'R''$ 、 $-CR'R''$ 、 $-CR'NR'R''$ 、アリール、ヘテロアリール、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、 $-P(=O)(OR')R''$ 、 $-P(=O)R'R''$ 、 $-OP(=O)(OR')R''$ 、 $-OP(=O)R'R''$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NR'S(=O)_2NR'R''$ 、 $-NR'C(=O)NR'R''$ 、 $-C(=O)NR'C(=O)R'$ 、 $-NR'C(=N-CN)NR'R''$ 、 $-C(=N-CN)NR'R''$ 、 $-NR'C(=N-CN)R'$ 、 $-NR'C(=C-NO_2)NR'R''$ 、 $-S(=O)_2NR'C(=O)R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-C(C=N-OR')R'$ 、 $-CR'=CR'R''$ 、 $-CCR'$ 、 $-S(C=O)(C=N-R')R'$ 、 $-SF_5$ 、 $-OCF_3$ 、リンカー基Lのための部位、別の $-(L-CLM)$ 基結合のための部位からなる群より選択される。別の態様では、R'およびR''は各出現時に独立して、結合、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群より選択される。

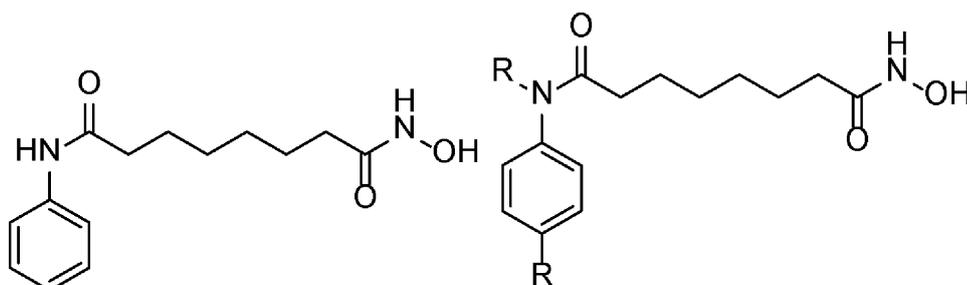
## 【0196】

## V. HDAC阻害剤

HDAC阻害剤(誘導體化)は以下のものを非限定的に含む。

## 【0197】

1. Finnin, M. S. et al. Structures of Histone Deacetylase Homologue Bound to the TSA and SAHA Inhibitors. Nature 40, 188-193 (1999)



40

(「R」が、例えば、リンカー基Lまたは $-(L-CLM)$ 基の結合のための部位を示す、誘導體化を行った)。

## 【0198】

2. PCT WO0222577(「DEACETYLASE INHIBITORS」)の式(1)によって規定される化合物(リンカー基Lまたは $-(L-CLM)$ 基が、例えば、ヒドロキシル基を介して結合する、誘導體化を行った)。

50

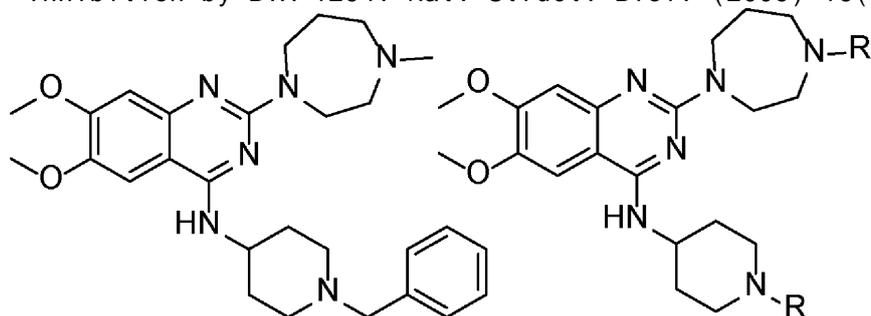
【 0 1 9 9 】

## VI. ヒトリジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤

ヒトリジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤は以下のものを非限定的に含む。

【 0 2 0 0 】

1. Chang et al. Structural Basis for G9a-Like protein Lysine Methyltransferase Inhibition by BIX-1294. Nat. Struct. Biol. (2009) 16(3) 312.

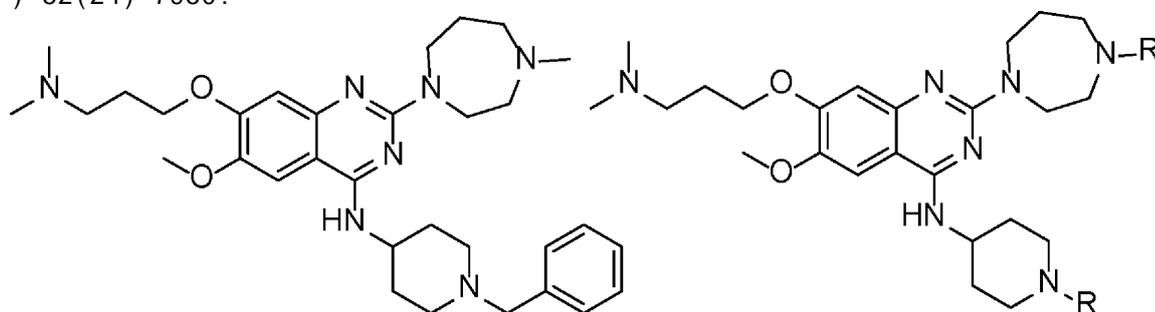


10

(「R」が、例えば、リンカー基Lまたは-(L-CLM)基の結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。

【 0 2 0 1 】

2. Liu, F. et al Discovery of a 2,4-Diamino-7-aminoalkoxyquinazoline as a Potent and Selective Inhibitor of Histone Methyltransferase G9a. J. Med. Chem. (2009) 52(24) 7950.



20

(「R」は、例えば、リンカー基Lまたは-(L-CLM)基の結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。

30

【 0 2 0 2 】

3. アザシチジン(誘導体化)(4-アミノ-1-β-D-リボフラノシル-1,3,5-トリアジン-2(1H)-オン)(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、ヒドロキシまたはアミノ基を介して結合する、誘導体化を行った)。

【 0 2 0 3 】

4. デシタピン(誘導体化)(4-アミノ-1-(2-デオキシ-β-D-エリスロ-ペントフラノシル)-1,3,5-トリアジン-2(1H)-オン)(リンカー基Lまたは-(L-CLM)基が、例えば、ヒドロキシ基のいずれかを介してまたはアミノ基にて結合する、誘導体化を行った)。

【 0 2 0 4 】

## VII. 血管形成阻害剤

血管形成阻害剤は以下のものを非限定的に含む。

40

1. GA-1 (derivatized) and derivatives and analogs thereof, having the structure(s) and binding to linkers as described in Sakamoto, *et al.*, Development of Protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation, *Mol Cell Proteomics* 2003 Dec;2(12):1350-8;

2. Estradiol (derivatized), which may be bound to a linker group L or a -(L-CLM) group as is generally described in Rodriguez-Gonzalez, *et al.*, Targeting steroid hormone receptors for ubiquitination and degradation in breast and prostate cancer, *Oncogene* (2008) 27, 7201-7211;

3. Estradiol, testosterone (derivatized) and related derivatives, including but not limited to DHT and derivatives and analogs thereof, having the structure(s) and binding to a linker group L or a -(L-CLM) group as generally described in Sakamoto, *et al.*, Development of Protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation, *Mol Cell Proteomics* 2003 Dec; 2(12):1350-8; および

4. Ovalicin, fumagillin (derivatized), and derivatives and analogs thereof, having the structure(s) and binding to a linker group L or a -(L-CLM) group as is generally described in Sakamoto, *et al.*, Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001 Jul 17;98(15):8554-9 and United States Patent No. 7,208,157.

【 0 2 0 5 】

#### VIII. 免疫抑制化合物

免疫抑制化合物は以下のものを非限定的に含む。

1. Schneekloth, *et al.*, Chemical Genetic Control of Protein Levels: Selective in Vivo Targeted Degradation, *J. AM. CHEM. SOC.* 2004, 126, 3748-3754に概略的に記載の構造およびリンカー基または-(L-CLM)基への結合を有する、AP21998(誘導体化)。

2. グルココルチコイド(例えば、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、プレドニゾロン、およびメチルプレドニゾロン)(リンカー基または-(L-CLM)基が、例えば、ヒドロキシル基のいずれかに結合する、誘導体化を行った)ならびにジプロピオン酸ベクロメタゾン(リンカー基または-(L-CLM)が、例えば、プロピオネートに結合する、誘導体化を行った)。

3. メトトレキサート(リンカー基または-(L-CLM)基が、例えば、末端ヒドロキシルのいずれかに結合し得る、誘導体化を行った)。

4. シクロスポリン(リンカー基または-(L-CLM)基が、例えば、ブチル基のうちのいずれかにて結合し得る、誘導体化を行った)。

5. タクロリムス(FK-506)およびラパマイシン(リンカー基または-(L-CLM)基が、例えば、メトキシ基の1つにて結合し得る、誘導体化を行った)。

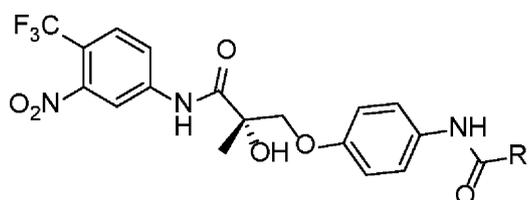
6. アクチノマイシン(リンカー基または-(L-CLM)基が、例えば、イソプロピル基の1つにて結合し得る、誘導体化を行った)。

【 0 2 0 6 】

#### IX. アリール炭化水素受容体(AHR)を標的とする化合物

アリール炭化水素受容体(AHR)を標的とする化合物は非限定的には以下のものを含む。

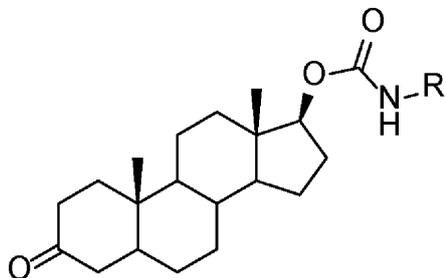




(例えば、「R」がリンカー基または-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。

【0211】

3. アンドロゲン受容体リガンドDHT(誘導体化)

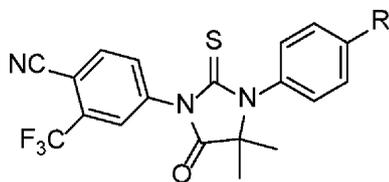


10

(例えば、「R」がリンカー基または-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。

【0212】

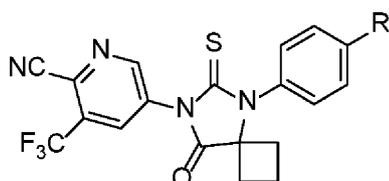
4. MDV3100リガンド(誘導体化)



20

【0213】

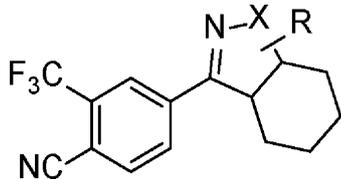
5. ARN-509リガンド(誘導体化)



30

【0214】

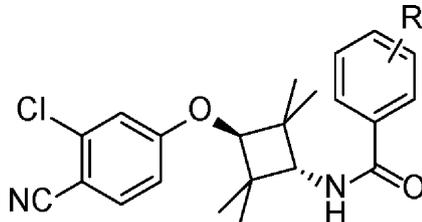
6. ヘキサヒドロベンズイソキサゾール



40

【0215】

7. テトラメチルシクロブタン

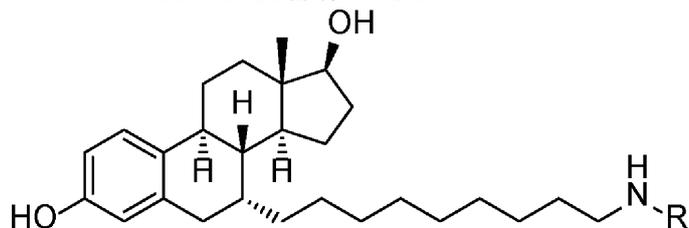


【0216】

XIII. エストロゲン受容体(ER)を標的とする化合物ICI-182780

50

## 1. エストロゲン受容体リガンド



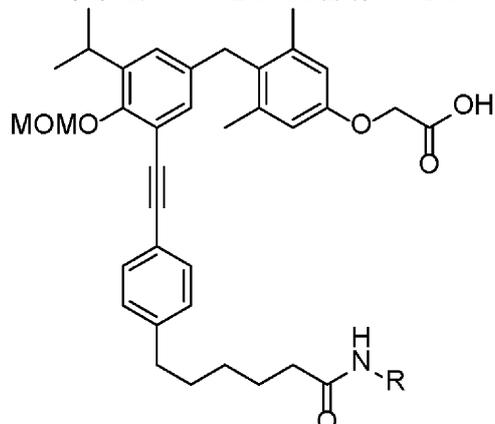
(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。

【0217】

## XIV. 甲状腺ホルモン受容体(TR)を標的とする化合物

10

## 1. 甲状腺ホルモン受容体リガンド(誘導体化)



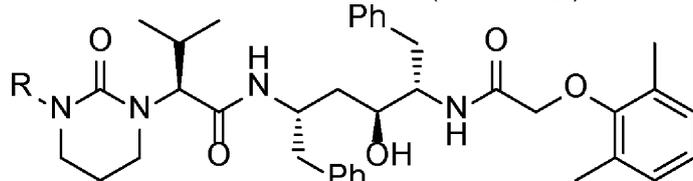
20

(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示し、かつMOMOがメトキシメトキシ基を示す、誘導体化を行った)。

【0218】

## XV. HIVプロテアーゼを標的とする化合物

## 1. HIVプロテアーゼの阻害剤(誘導体化)

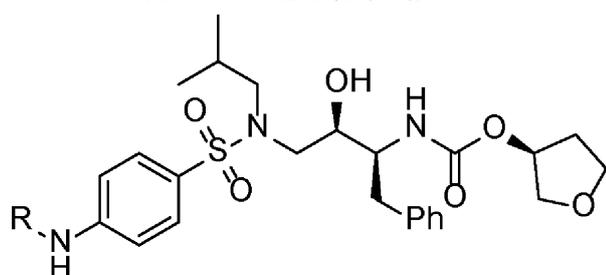


30

(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。J. Med. Chem. 2010, 53, 521-538を参照されたい。

【0219】

## 2. HIVプロテアーゼの阻害剤



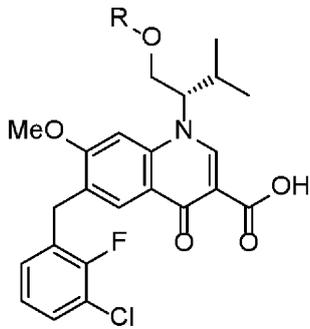
40

(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合の可能性のある部位を示す、誘導体化を行った)。J. Med. Chem. 2010, 53, 521-538を参照されたい。

【0220】

## XVI. HIVインテグラーゼを標的とする化合物

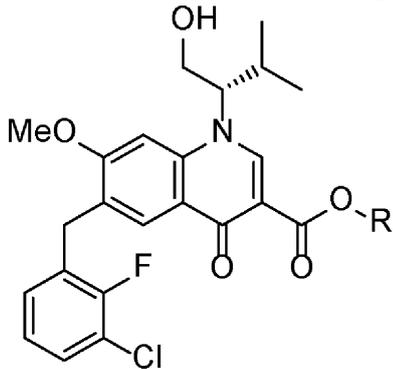
## 1. HIVインテグラーゼの阻害剤(誘導体化)



(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。J. Med. Chem. 2010, 53, 6466を参照されたい。 10

【0221】

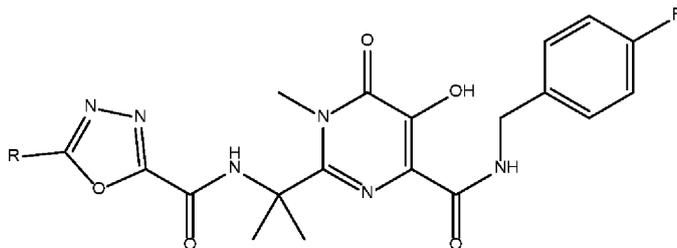
2. HIVインテグラーゼの阻害剤(誘導体化)



20

【0222】

3. HIVインテグラーゼアイセントレスの阻害剤(誘導体化)



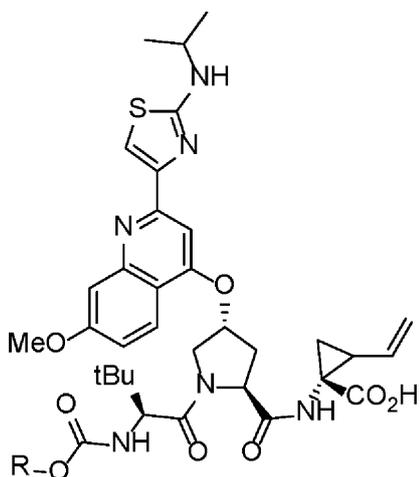
30

(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。J. Med. Chem. 2010, 53, 6466を参照されたい。

【0223】

XVII. HCVプロテアーゼを標的とする化合物

1. HCVプロテアーゼの阻害剤(誘導体化)



40

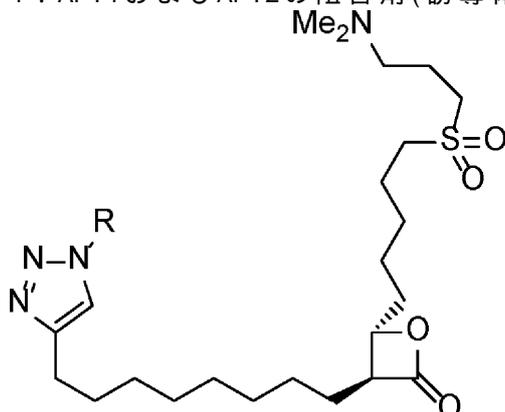
50

(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。

【0224】

XVIII. アシルタンパク質チオエステラーゼ-1および-2(APT1およびAPT2)を標的とする化合物

1. APT1およびAPT2の阻害剤(誘導体化)



(「R」がリンカー基Lまたは-(L-CLM)基結合のための部位を示す、誘導体化を行った)。Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 9838-9842を参照されたく、ここでLは本明細書において別途記載するリンカー基であり、CLM基は本明細書において別途記載するとおりであり、したがって-(L-CLM)はCLM基を本明細書において別途記載するPTM基に結合させる。

【0225】

治療用組成物

有効量の少なくとも1つの本発明において記載の二官能性化合物と、すべて有効量である本明細書において別途記載の化合物の1つまたは複数との組み合わせを、薬学的に有効な量の担体、添加物または賦形剤と組み合わせて含む薬学的組成物は、本発明のさらなる局面である。

【0226】

本開示は、適用可能な場合には、本明細書に記載の化合物の薬学的に許容される塩、特に酸または塩基付加塩を含む組成物を含む。本局面に係る有用な塩基化合物の薬学的に許容される酸付加塩を調製するために用いられる酸は、非毒性の酸付加塩、すなわち、特に塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、酒石酸水素塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、糖酸塩、安息香酸塩、メタンサルホン酸塩、エタンサルホン酸塩、ベンゼンサルホン酸塩、p-トルエンサルホン酸塩およびパモ酸塩[すなわち、1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3ナフトエ酸塩)]などの、薬理的に許容されるアニオンを含む塩を形成するものである。

【0227】

薬学的に許容される塩基付加塩も本開示に係る化合物または誘導体の薬学的に許容される塩形態を生成するために用い得る。本来酸性である本化合物の薬学的に許容される塩基性塩を調製するための試薬として用い得る化学塩基はそのような化合物と非毒性塩基性塩を形成するものである。そのような非毒性塩基性塩は、特に、アルカリ金属カチオン(例えば、カリウムおよびナトリウム)およびアルカリ土類金属カチオン(例えば、カルシウム、亜鉛およびマグネシウム)などの薬理的に許容されるカチオン由来のもの、N-メチルグルカミン-(メグルミン)、および低級アルカノールアンモニウムなどのアンモニウムまたは水溶性アミン付加塩、ならびに薬学的に許容される有機アミンの他の塩基性塩を非限定的に含む。

【0228】

本明細書に記載の化合物は、開示に従って、単回または分割用量で経口、非経口または局所経路により投与してもよい。活性化合物の投与は、持続的(静脈内点滴)から1日に数回の経口投与(例えば、1日4回)までの範囲であってもよく、数ある投与経路のうちでも、

10

20

30

40

50

経口、局所、非経口、筋肉内、静脈内、皮下、経皮(浸透増強剤を含んでいてもよい)、口腔、舌下および坐剤投与を含み得る。腸溶コーティング経口錠剤も経口投与経路からの化合物のバイオアベイラビリティを向上するために用い得る。最も有効な剤形は選択した特定の薬剤の薬物動態ならびに患者における疾患の重症度に応じて異なる。本開示に係る化合物の、鼻内、気管内または肺投与のための噴霧剤、ミスト、またはエアロゾルとしての投与も用い得る。したがって、本開示は、有効量の本明細書に記載の化合物を、任意で薬学的に許容される担体、添加物または賦形剤との組み合わせで含む薬学的組成物も指向する。本開示に係る化合物を即時放出、中間型放出または持続もしくは制御放出形態で投与してもよい。持続または制御放出剤形は好ましくは経口投与されるが、坐剤および経皮または他の局所剤形でも投与される。リポソーム型での筋肉内注射も注射部位での化合物の放出を制御するかまたは持続するために用い得る。

10

**【0229】**

本明細書に記載の組成物は1つまたは複数の薬学的に許容される担体を用いて通常の様式で製剤化されてもよく、制御放出製剤で投与されてもよい。これらの薬学的組成物において用い得る薬学的に許容される担体は、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質、リン酸塩などの緩衝物質、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、硫酸プロタミンなどの塩または電解質、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロース系物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロックコポリマー、ポリエチレングリコールおよび羊毛脂を非限定的に含む。

20

**【0230】**

本明細書に記載の組成物は経口的に、非経口的に、吸入噴霧剤によって、局所的に、直腸的に、経鼻的に、口腔的に、経腔的にかまたは埋め込みリザーバーを介して投与されてもよい。本明細書において用いられる「非経口」という用語は、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑液包内、胸骨内、くも膜下腔内、肝臓内、病巣内および頭蓋内注射または注入技術を含む。好ましくは、組成物は経口、腹腔内または静脈内投与される。

**【0231】**

本明細書に記載の組成物の滅菌注射形態は水性または油性懸濁剤であってもよい。これらの懸濁剤は、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を用い当該技術分野において公知の技術に従って製剤し得る。滅菌注射用製剤はまた、例えば、1,3-ブタンジオール中の溶液として、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒中の滅菌注射用液剤または懸濁剤であってもよい。用い得る許容されるビヒクルおよび溶媒のうちでは、水、リンゲル液および等張塩化ナトリウム溶液がある。加えて、滅菌固定油は溶媒または懸濁媒として従来から採用されている。この目的のために、合成モノ-またはジ-グリセリドを含む任意の無刺激性固定油を用いてもよい。オレイン酸およびそのグリセリド誘導体などの脂肪酸は、オリーブ油またはヒマシ油、特にそれらのポリオキシエチル化形態などの、天然の薬学的に許容される油と同様、注射剤の調製において有用である。これらの油液剤または懸濁剤はまた、Ph. Helvまたは類似のアルコールなどの、長鎖アルコール希釈剤または分散剤を含んでもよい。

30

40

**【0232】**

本明細書に記載の薬学的組成物を、カプセル剤、錠剤、水性懸濁剤または液剤を非限定的に含む、任意の経口的に許容される剤形で経口投与してもよい。経口用途向けの錠剤の場合、一般的に用いられる担体はラクトースおよびコーンスターチを含む。ステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤も典型的に加えられる。カプセル形態での経口投与向けに、有用な希釈剤はラクトースおよび乾燥コーンスターチを含む。経口用途向けに水性懸濁剤が必要とされる場合、活性成分を乳化剤および懸濁化剤と混合する。望ましい場合には、特定の甘味剤、着香剤または着色剤を加えてもよい。

**【0233】**

50

あるいは、本明細書に記載の薬学的組成物を直腸投与向けの坐剤の形態で投与してもよい。これらは薬剤を、室温では固体であるが、直腸温度では液体であり、したがって直腸で融解して薬物を放出する、好適な非刺激性賦形剤と混合することによって調製することができる。そのような材料はカカオ脂、蜜蝋およびポリエチレングリコールを含む。

【0234】

本明細書に記載の薬学的組成物を局所投与してもよい。好適な局所製剤はこれらの領域および器官のそれぞれ毎に容易に調製される。下部腸管向けの局所適用は直腸坐剤製剤(上を参照されたい)または好適な浣腸製剤で行うことができる。局所的に許容される経皮パッチを用いてもよい。

【0235】

局所適用向けに、薬学的組成物を、1つまたは複数の担体中に懸濁または溶解した活性成分を含む好適な軟膏に製剤化してもよい。本発明の化合物の局所投与のための担体は鉱油、流動パラフィン、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化ワックスおよび水を非限定的に含む。発明の特定の非限定的な局面において、患者体内のステントで起きる閉塞の可能性を無くすかまたは低減するために、化合物を患者に外科的に埋め込むステント上にコーティングしてもよい。

【0236】

あるいは、薬学的組成物を、1つまたは複数の薬学的に許容される担体中に懸濁または溶解した活性成分を含む好適なローションまたはクリームに製剤化してもよい。好適な担体は、鉱油、モノステアリン酸ソルビタン、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水を非限定的に含む。

【0237】

眼科使用向けには、薬学的組成物を、等張の、pH調整した滅菌食塩水中の微小懸濁液として、または好ましくは等張の、pH調整した滅菌食塩水中の溶液として、塩化ベンザルコニウムなどの保存剤と共に、または保存剤なしのいずれかで製剤化してもよい。あるいは、眼科使用向けには、薬学的組成物をワセリンなどの軟膏に製剤化してもよい。

【0238】

本明細書に記載の薬学的組成物はまた、鼻エアロゾルまたは吸入により投与してもよい。そのような組成物は薬学的製剤の分野において周知の技術に従って調製し、ベンジルアルコールまたは他の好適な保存剤、バイオアベイラビリティを向上させるための吸収促進剤、フルオロカーボン、および/または他の通常の可溶化剤もしくは分散剤を用いて、食塩水中の溶液として調製してもよい。

【0239】

1つの剤形を生成するために担体材料と組み合わせ得る本明細書に記載の薬学的組成物中の化合物の量は、処置されるホストおよび疾患、特定の投与様式に応じて異なるであろう。好ましくは、組成物は、約0.05ミリグラム~約750ミリグラム以上、より好ましくは約1ミリグラム~約600ミリグラム、さらにより好ましくは約10ミリグラム~約500ミリグラムの活性成分を、単独または少なくとも1つの本発明に係る他の化合物と組み合わせる含むように製剤化するのがよい。

【0240】

任意の特定の患者のための具体的用量および処置法は、用いる具体的化合物の活性、年齢、体重、全身の健康状態、性別、食事、投与の時間、排出速度、薬物の組み合わせ、ならびに処置している医師の判断および処置中の特定の疾患または状態の重症度を含む、様々な要因に応じて異なるであろう。

【0241】

本明細書に記載の方法に係る化合物を用いての治療を必要としている患者または対象を、任意で薬学的に許容される担体または希釈剤中で、本発明に係る化合物の薬学的に許容される塩、溶媒和物または多形を含むその有効量を、単独でまたは本明細書において別途特定する他の公知の赤血球生成刺激剤との組み合わせでのいずれかで、患者(対象)に投与

10

20

30

40

50

することにより処置することができる。

【0242】

これらの化合物を、任意の適切な経路、例えば、経口、非経口、静脈内、皮内、皮下、または経皮を含む局所により、液体、クリーム、ゲル、もしくは固体剤形で、またはエアロゾル剤形で投与することができる。

【0243】

活性化合物は、薬学的に許容される担体または希釈剤中に、処置する患者において重篤な毒性効果を引き起こすことなく、所望の適応に対する治療有効量を患者に送達するのに十分な量で含まれる。本明細書において言及する状態すべてに対する活性化合物の非限定的な用量は、1日に約10ng/kg～300mg/kg、好ましくは0.1～100mg/kg、より一般的には1日にレシピエント/患者の体重1キログラムあたり0.5～約25mgの範囲である。典型的な局所用量は好適な担体においては0.01～5重量%の範囲であろう。

10

【0244】

化合物は、単位剤形毎に1mg未満、1mg～3000mg、好ましくは5～500mgの活性成分を含有するものを非限定的に含む、任意の好適な単位剤形において都合よく投与される。往々にして、約25～250mgの経口用量が好都合である。

【0245】

活性成分は、好ましくは、約0.00001～30mM、好ましくは約0.1～30μMの活性化合物のピーク血漿濃度を達成するように投与される。これは、例えば、任意で食塩水、もしくは水性媒質中の活性成分の溶液または製剤の静脈内注射により、または活性成分のポーラスとしての投与により達成し得る。経口投与も活性薬剤の有効な血漿濃度を生成するのに適切である。

20

【0246】

薬物組成物中の活性化合物の濃度は、薬物の吸収、分布、不活化、および排出速度、ならびに当業者には公知の他の要因に応じて異なるであろう。用量の値は、軽減すべき状態の重症度によっても変動することに留意されたい。任意の特定の対象に対し、特定の投与方法を、個々の必要性および組成物を投与している、または組成物の投与を監督している者の専門的判断に従って経時的に調節すべきであること、ならびに本明細書において示す濃度範囲は例示にすぎず、クレームの組成物の範囲または実施を制限する意図はないことをさらに理解されたい。活性成分は一度に投与してもよく、または様々な時間間隔で投与される多数のより小さい用量に分割してもよい。

30

【0247】

経口組成物は概して不活性希釈剤または食用担体を含むであろう。それらはゼラチンカプセルに封入してもよく、または錠剤へと圧縮してもよい。経口治療投与の目的のために、活性化合物またはそのプロドラッグ誘導体を賦形剤と共に組み込み、錠剤、トローチ、またはカプセル剤の形態で用いることができる。薬学的に適合可能な結合剤、および/またはアジュバント材料を組成物の一部として含むことができる。

【0248】

錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチなどは以下の成分、または同様の性質の化合物のいずれも含むことができる：微結晶セルロース、トラガカントゴムもしくはゼラチンなどの結合剤；デンプンもしくは乳糖などの賦形剤、アルギン酸、プリモゲル(Primogel)、もしくはコーンスターチなどの分散剤；ステアリン酸マグネシウムもしくはステロテス(Sterotes)などの滑沢剤；コロイド状二酸化ケイ素などの滑剤；スクロースもしくはサッカリンなどの甘味剤；またはペパーミント、サリチル酸メチル、もしくはオレンジ香料などの着香剤。用量単位形態がカプセル剤である場合、前述の種類の材料に加えて、脂肪油などの液体担体を含むこともできる。さらに、用量単位形態は、用量単位の物理的形態を改変する様々な他の材料、例えば、糖、シエラック、または腸溶剤のコーティングを含むこともできる。

40

【0249】

活性化合物またはその薬学的に許容される塩を、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ、ウ

50

エ八、チューインガムなどの成分として投与することができる。シロップは、活性化化合物に加えて、甘味剤としてのスクロースおよび特定の保存剤、色素ならびに着色剤および香料を含んでもよい。

#### 【0250】

活性化化合物またはその薬学的に許容される塩を、とりわけ、EPOおよびダルベポエチンアルファを含む、エリスロポエチン刺激剤などの、所望の作用を損なわない他の活性材料と、または所望の作用を補う材料と混合することもできる。発明の特定の非限定的な局面では、本発明に係る1つまたは複数の化合物は、本明細書において別途記載する、抗生物質を含む、エリスロポエチン刺激剤または創傷治癒剤などの別の生物活性剤と共投与される。

10

#### 【0251】

非経口、皮内、皮下、または局所適用のために用いる液剤または懸濁剤は以下の成分を含み得る：注射用水、食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒などの滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸などのキレート化剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝剤および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの張性の調節のための作用物質。非経口製剤はガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジまたは多用量バイアルに封入することができる。

#### 【0252】

静脈内投与する場合、非限定的な担体は生理食塩水またはリン酸緩衝食塩水(PBS)である。

20

#### 【0253】

1つの態様において、活性化化合物は、インプラントおよびマイクロカプセル化送達システムを含む、制御放出製剤などの、体からの急速な排出に対して化合物を保護する担体と共に調製される。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの、生分解性の生体適合性ポリマーを用いることができる。そのような製剤の調製法は当業者には明白であろう。

#### 【0254】

リポソーム懸濁液も薬学的に許容される担体であり得る。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号(その全体が参照により本明細書に組み入れられる)に記載のように、当業者には公知の方法に従って調製してもよい。例えば、リポソーム製剤は、適切な脂質(ステアロイルホスファチジルエタノールアミン、ステアロイルホスファチジルコリン、アラキドイル(arachadoyl)ホスファチジルコリン、およびコレステロールなど)を無機溶媒に溶解し、これを次いで蒸発させ、容器の表面に乾燥した脂質の薄膜を残すことによって調製してもよい。次いで、活性化化合物の水溶液を容器に導入する。次いで、容器を手で揺り動かして、脂質材料を容器側壁から遊離させ、脂質凝集物を分散させて、これによりリポソーム懸濁液を形成する。

30

#### 【0255】

#### 治療方法

さらなる態様では、本記載は、有効量の本明細書に記載の化合物またはその塩形態と、薬学的に許容される担体とを含む治療用組成物を提供する。治療用組成物は、患者または対象、例えば、ヒトなどの動物におけるタンパク質分解を調節し、分解されたタンパク質を通じて調節される病態または状態を治療するかまたは改善するために用いることができる。

40

#### 【0256】

本明細書において用いられる「処置する」、「処置すること」、および「処置」などの用語は、本化合物が結合するタンパク質を通じて調節される任意の病態または状態の処置を含む、本化合物が投与され得る患者に利益を提供する任意の行為を指す。本発明に係る化合物を用いて処置し得る、がんを含む病態または状態は本明細書において上に記載して

50

いる。

【0257】

本記載は、疾患、例えば、がんの治療または改善のために目的のタンパク質の分解をもたらすための本明細書に記載の治療用組成物を提供する。特定のさらなる態様では、疾患は多発性骨髄腫である。そのため、別の局面では、本記載は細胞中の標的タンパク質をユビキチン化する/分解する方法を提供する。特定の態様では、方法は、本明細書において別途記載するように、好ましくはリンカー部分を通じて結合した、例えば、CLMおよびPTMを含む本明細書に記載の二官能性化合物を投与する工程を含み、ここで、CLMはPTMにカップリングしており、かつここでCLMはユビキチン経路タンパク質(例えば、ユビキチンリガーゼ、好ましくはセレブロンなどのE3ユビキチンリガーゼ)を認識し、PTMは標的タンパク質を認識し、したがって標的タンパク質がユビキチンリガーゼに近接して配置されると標的タンパク質の分解が起こり、よって標的タンパク質の分解/その効果の阻害およびタンパク質レベルの制御がもたらされる。本発明によるタンパク質レベルの制御は、細胞、例えば、患者の細胞における標的タンパク質のレベルを下げることによりそのタンパク質を通じて調節される病態または状態の処置を提供する。特定の態様では、方法は、任意で薬学的に許容される賦形剤、担体、アジュバント、別の生物活性剤またはそれらの組み合わせを含む、有効量の本明細書に記載の化合物を投与する工程を含む。

10

【0258】

さらなる態様では、本記載は、対象または患者、例えば、ヒトなどの動物における疾患、障害またはその症状を治療するかまたは改善するための方法であって、それを必要とする対象に有効量、例えば、治療有効量の本明細書に記載の化合物またはその塩形態と薬学的に許容される賦形剤、担体、アジュバント、別の生物活性剤またはそれらの組み合わせを含む組成物を投与する工程を含み、組成物が対象における疾患または障害またはその症状を治療するかまたは改善するのに有効である方法を提供する。

20

【0259】

別の局面では、本記載は、本発明に係る化合物を用いて生体システムにおける目的のタンパク質の分解の効果を特定するための方法を提供する。

【0260】

別の態様では、本発明はタンパク質を通じて調節される病態または状態を必要とするヒト患者を治療する方法であって、そのタンパク質の分解がその患者において治療効果をもたらす方法を指向し、方法は、必要とする患者に、有効量の本発明に係る化合物を任意で別の生物活性剤と組み合わせて投与する工程を含む。病態または状態は微生物因子または他の外因性因子、例えば、ウイルス、細菌、真菌、原生動物もしくは他の微生物によって引き起こされ得るか、または病態および/もしくは状態につながるタンパク質の過剰発現によって引き起こされる病態であり得る。

30

【0261】

「病態または状態」という用語は、タンパク質調節不全(すなわち、患者において発現されるタンパク質の量が上昇する)が起こり、患者における1つまたは複数のタンパク質の分解が有益である治療法または症状の軽減をそれを必要としている患者に提供し得る、任意の病態または状態を記載するために用いられる。特定の場では、病態または状態は治療されることがある。

40

【0262】

本発明に係る化合物を用いて処置し得る状態の病態は、例えば、喘息、多発性硬化症などの自己免疫疾患、様々ながん、繊毛関連疾患、口蓋裂、糖尿病、心疾患、高血圧、炎症性腸疾患、精神遅滞、気分障害、肥満、屈折異常、不妊症、アンジェルマン症候群、カナパン病、小児脂肪便症、シャルコー・マリー・トゥース病、嚢胞性線維症、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、血色素症、血友病、クラインフェルター症候群、神経線維腫症、フェニルケトン尿症、多発性嚢胞腎、(PKD1)または4(PKD2)ブラダーウィリー症候群、鎌状赤血球病、テイ・サックス病、ターナー症候群を含む。

【0263】

50

本発明に係る化合物によって処置し得るさらなる病態または状態は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症(ルー・ゲーリック病)、神経性食欲不振症、不安障害、アテローム性動脈硬化症、注意欠陥活動過剰障害、自閉症、双極性障害、慢性疲労症候群、慢性閉塞性肺疾患、クローン病、冠性心疾患、痴呆、うつ、1型糖尿病、2型糖尿病、てんかん、ギラン・バレー症候群、過敏性腸症候群、狼蒼、代謝症候群、多発性硬化症、心筋梗塞、肥満、強迫性障害、パニック障害、パーキンソン病、乾癬、関節リウマチ、サルコイドーシス、分裂病、卒中、閉塞性血栓性血管炎、トゥーレット症候群、血管炎を含む。

#### 【0264】

本発明に係る化合物によって処置し得るまたさらなる病態または状態は、とりわけ、セルロプラスミン欠乏症、II型軟骨無発生症、軟骨無形成症、尖頭症、2型ゴーシェ病、急性間欠性ポルフィリン症、カナパン病、腺腫様多発結腸ポリープ、ALA脱水酵素欠乏症、アデニロコハク酸リアーゼ欠乏症、副腎性器症候群、副腎白質ジストロフィー、ALA-Dポルフィリン症、ALA脱水酵素欠乏症、アルカプトン尿症、アレキサンダー病、アルカプトン尿性オクロノーシス、アルファ1-アンチトリプシン欠損症、アルファ-1プロテイナーゼ阻害剤、肺気腫、筋萎縮性側索硬化症、アルストレーム症候群、アレキサンダー病、エナメル質形成不全、ALA脱水酵素欠乏症、アンダーソン・ファブリ病、アンドロゲン不応症、貧血、びまん性体部被角血管腫、網膜血管腫症(フォンヒッペル・リンダウ病)、アペール症候群、くも指(マルファン症候群)、スティックラー症候群、先天性多発性関節弛緩症(エーラス・ダンロス症候群#関節弛緩型)、毛細血管拡張性運動失調症、レット症候群、原発性肺高血圧症、サンドホフ病、II型神経線維腫症、ベーレ・スティーブソン脳回状頭皮症候群、地中海熱、家族性、ベンジャミン症候群、ベータ-サラセミア、両側性聴神経線維腫症(II型神経線維腫症)、第V因子ライデン血栓形成傾向、プロッホ・ザルツバーガー症候群(色素失調症)、ブルーム症候群、X連鎖鉄芽球性貧血、ボンネヴィー・ウルリッヒ症候群(ターナー症候群)、ブルヌヴィーユ病(結節性硬化症)、プリオン病、バート・ホッグ・デュベ症候群、骨粗鬆症(骨形成不全症)、広母指-母趾症候群(ルピンシュタイン・テイビ症候群)、青銅色糖尿病/青銅色硬変(ヘモクロマトーシス)、延髄脊髄筋萎縮(ケネディ病)、ピュルガー・グリッツ症候群(リポタンパク質リパーゼ欠乏)、CGD慢性肉芽腫症、屈曲肢異形成症、ピオチニダーゼ欠損症、心筋症(ヌーナン症候群)、ネコなき症候群、CAVD(先天性輪精管欠如)、カイラー心臓面症候群(CBAVD)、CEP(先天性赤血球生成性ポルフィリン症)、嚢胞性線維症、先天性甲状腺機能低下症、軟骨形成異常症候群(軟骨無形成症)、耳脊椎巨大骨端異形成症、レッシュ・ナイハン症候群、ガラクトース血症、エーラス・ダンロス症候群、致死性骨異形成症、コフィン・ローリー症候群、コケイン症候群、(家族性大腸腺腫症)、先天性赤血球生成性ポルフィリン症、先天性心疾患、メトヘモグロビン血症/先天性メトヘモグロビン血症、軟骨無形成症、X連鎖鉄芽球性貧血、結合組織病、円錐動脈幹異常顔貌症候群、クーリー貧血(ベータ-サラセミア)、銅蓄積病(ウイルソン病)、銅輸送病(メンケス病)、遺伝性コプロポルフィリン症、カウデン症候群、頭蓋顔面関節異常(クルゾン症候群)、クロイツフェルト・ヤコブ病(プリオン病)、コケイン症候群、カウデン症候群、クルシュマン・バッテン・シュタイナート症候群(筋緊張性ジストロフィー)、ベーレ・スティーブソン脳回状頭皮症候群、原発性高シュウ酸尿症、脊椎骨端骨幹端異形成(ストラドウィック型)、筋ジストロフィー、デュシェンヌおよびベッカー型(DBMD)、アッシャー症候群、ド・グルーシー症候群およびデジェリン・ソッタス症候群を含む変性神経病、発達障害、遠位型脊髄性筋萎縮症、V型、アンドロゲン不応症、びまん性グロイド体硬化症(クラッペ病)、ディジョージ症候群、ジヒドロテストステロン受容体欠乏、アンドロゲン不応症、ダウン症候群、低身長症、赤血球増殖性プロトポルフィリン症、赤血球5-アミノレブリン酸シンターゼ欠乏、赤血球増殖性ポルフィリン症、赤血球増殖性プロトポルフィリン症、赤血球増殖性ウロポルフィリン症、フリードライヒ運動失調症、家族性発作性多漿膜炎、晩発性皮膚ポルフィリン症、家族性圧力感受性神経障害、原発性肺高血圧症(PPH)、膵臓の線維嚢胞性疾患、脆弱X染色体症候群、ガラクトース血症、遺伝性脳障害、巨細胞性肝炎(新生児ヘモクロマトーシス)、グレンブラッド・ストランドベリー症候群(弾力線維性仮性黄色腫)、ギンター病(先天性赤血球増殖性ポルフ

10

20

30

40

50

イリン症)、ヘモクロマトーシス、ハルグレン症候群、鎌状赤血球貧血、血友病、骨髄肝性ポルフィリン症(HEP)、ヒッペル・リングウ病(フォンヒッペル・リングウ病)、ハンチントン病、ハッチンソン・ギルフォード早老症症候群(早老症)、アンドロゲン過剰症、軟骨低形成症、低色素性貧血、X連鎖重症複合免疫不全症を含む免疫系障害、インスレー・アストリー症候群、ジャクソン・ワイズ症候群、ジュベール症候群、レッシュ・ナイハン症候群、ジャクソン・ワイズ症候群、高シュウ酸尿症を含む腎疾患、クラインフェルター症候群、クニースト異形成、まだら痴呆、ランガー・サルディーノ軟骨無発生症、毛細血管拡張性運動失調症、リンチ症候群、リジルヒドロキシラーゼ欠損症、マシャド・ジョセフ病、クニースト異形成を含む代謝障害、マルファン症候群、運動障害、モワット・ウィルソン症候群、嚢胞性線維症、ミュエンク症候群、多発性神経線維腫症、ナンス・インスレー症候群、ナンス・スウィーニー軟骨無形成症、ニーマン・ピック病、ノアク症候群(パイフェル症候群)、オスラー-ウェーバー-ランデュ病、ポイツ・ジェガース症候群、多発性嚢胞腎、多骨性線維性骨異形成症(マッキューン・オールブライト症候群)、ポイツ・ジェガース症候群、プラダー・ラブハート・ウィリ症候群、ヘモクロマトーシス、原発性高尿酸血症候群(レッシュ・ナイハン症候群)、原発性肺高血圧症、一次性老年性変性痴呆、プリオン病、早老症(ハッチンソン・ギルフォード早老症候群)、進行性舞蹈病、慢性遺伝性(ハンチントン)(ハンチントン病)、進行性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症、プロピオン酸血症、プロトポルフィリン症、近位筋緊張性ジストロフィー、肺動脈高血圧症、PXE(弾力線維性仮性黄色腫)、Rb(網膜芽細胞腫)、レックリングハウゼン病(1型神経線維腫症)、反復性多漿膜炎、網膜障害、網膜芽細胞腫、レット症候群、3型RFALS、リッカー症候群、ライリー・デイ症候群、ルシー・レビー症候群、発育遅延および黒色表皮腫を伴う重症軟骨無形成症(SADDAN)、リー・フラウメニ症候群、肉腫、乳房、白血病、および副腎(SBLA)症候群、結節性硬化症(結節性硬化症)、SDAT、先天性SED(先天性脊椎骨端異形成症)、ストラドウィック型SED(脊椎骨端骨幹端異形成、ストラドウィック型)、SEDC(先天性脊椎骨端異形成症)SEMD、ストラドウィック型(脊椎骨端骨幹端異形成、ストラドウィック型)、シュプリンツェン症候群、皮膚色素沈着障害、スミス・レムリ・オピッツ症候群、南アフリカ遺伝性ポルフィリン症(異型ポルフィリン症)、乳児発症上行性遺伝性痙性麻痺、言語およびコミュニケーション障害、スフィンゴリピドーシス、テイ・サックス病、脊髄小脳失調症、スティックラー症候群、卒中、アンドロゲン不応症、テトラヒドロピオプテリン欠乏、ベータ-サラセミア、甲状腺疾患、ソーセージ様ニューロパチー(圧迫性麻痺の傾向を伴う遺伝性ニューロパチー)、トリーチャー・コリンズ症候群、トリプロX症候群(トリプルX症候群)、21番染色体トリソミー(ダウン症候群)、トリソミー-X、VHL症候群(フォンヒッペル・リングウ病)、視覚障害および盲目(アルストレーム症候群)、フロリク病、ワールデンブルグ症候群、マイクロ症候群(Warburg Sjo Fledelius syndrome)、ワイゼンバーチャー・ツバイミユラー症候群、ウォルフ・ヒルシュホーン症候群、ウォルフ周期性疾患、ワイゼンバーチャー・ツバイミユラー症候群および色素性乾皮症を含む。

#### 【0265】

「新生物」または「がん」という用語は、本明細書の全体を通して、がん性または悪性新生物、すなわち、細胞増殖により、正常よりも急速に成長することが多く、新しい成長を開始した刺激が止まった後も成長し続ける異常組織の形成および成長をもたらす、病理学的過程を意味するために用いる。悪性新生物は構造的秩序および正常組織との機能的協調を部分的または完全に欠き、ほとんどが周囲の組織に侵襲し、いくつかの部位に転移し、除去を試みた後に再発し、十分に処置しなければ患者の死を引き起こす可能性がある。本明細書において用いるように、新生物という用語はすべてのがん性病態を記載するために用いられ、悪性血行性、腹水および固形腫瘍に関連する病理学的過程を含むかまたは包含する。本化合物単独または少なくとも1つのさらなる抗がん剤との組み合わせのいずれかによって処置し得る例示的ながんは、扁平上皮がん、基底細胞がん、腺がん、肝細胞がん、および腎細胞がん、膀胱、腸、乳房、子宮頸、結腸、食道、頭部、腎臓、肝臓、肺、首、卵巣、膵臓、前立腺、および胃のがん；白血病；良性および悪性リンパ腫、特にパーキットリンパ腫および非ホジキンリンパ腫；良性および悪性黒色腫；骨髄増殖性疾患；ユ

10

20

30

40

50

ーイング肉腫、血管肉腫、カポジ肉腫、脂肪肉腫、筋肉腫、末梢性神経上皮腫、滑膜肉腫、神経膠腫、星細胞腫、乏突起細胞腫、上衣腫、神経膠芽腫、神経芽細胞腫、神経節細胞腫、神経節膠腫、髓芽腫、松果体細胞腫瘍、髄膜腫、髄膜肉腫、神経線維腫、およびシュワン腫を含む肉腫；腸がん、乳がん、前立腺がん、子宮頸がん、子宮がん、肺がん、卵巣がん、精巣がん、甲状腺がん、星細胞腫、食道がん、膵がん、胃がん、肝がん、結腸がん、黒色腫；がん肉腫、ホジキン病、ウィルムス腫瘍および奇形がん腫瘍が含まれる。本発明に係る化合物を用いて処置し得るさらなるがんは、例えば、T細胞性急性リンパ芽球性白血病(T-ALL)、T細胞性リンパ芽球性リンパ腫(T-LL)、末梢性T細胞リンパ腫、成人T細胞白血病、前駆B細胞ALL、前駆B細胞リンパ腫、大細胞型B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、B細胞ALL、フィラデルフィア染色体陽性ALLおよびフィラデルフィア染色体陽性CMLを含む。

#### 【0266】

「生物活性剤」という用語は、そのために本化合物が用いられる所期の療法、阻害および/または防止/予防を行う助けとなる生物学的活性を有する薬剤として、本化合物と組み合わせ用いられる、本発明に係る化合物以外の薬剤を記載するために用いられる。本明細書における使用のための非限定的な生物活性剤は、そのために本化合物が使用されるかまたは投与されるものに類似の薬理活性を有する薬剤を含み、例えば、抗がん剤、特に抗HIV剤および抗HCV剤を含む抗ウイルス剤、抗菌剤、抗真菌剤などを含む。

#### 【0267】

これらの薬剤は、例えば、エベロリムス、トラベクテジン、アブラキサン、TLK 286、A V-299、DN-101、パゾパニブ、GSK690693、RTA 744、ON 0910.Na、AZD 6244(ARRY-142886)、AMN-107、TKI-258、GSK461364、AZD1152、エンザスタウリン、バンデタニブ、ARQ-197、MK-0457、MLN8054、PHA-739358、R-763、AT-9263、FLT-3阻害剤、VEGFR阻害剤、EGFR TK阻害剤、オーロラキナーゼ阻害剤、PIK-1調節因子、Bcl-2阻害剤、HDAC阻害剤、c-MET阻害剤、PARP阻害剤、Cdk阻害剤、EGFR TK阻害剤、IGFR-TK阻害剤、抗HGF抗体、PI3キナーゼ阻害剤、AKT阻害剤、mTORC1/2阻害剤、JAK/STAT阻害剤、チェックポイント-1または2阻害剤、接着斑キナーゼ阻害剤、Mapキナーゼキナーゼ(mek)阻害剤、VEGFトラップ抗体、ペメトレキセド、エルロチニブ、ダサチニブ、ニロチニブ、デカタニブ(decatanib)、パニツムマブ、アムルピシン、オレゴボマブ、Lep-etu、ノラトレキシド、azd2171、バタブリン、オフアツムマブ、ザノリムマブ、エドテカリン、テトランドリン、ルビテカン、テスミリフェン、オブリメルセン、チシリムマブ、イピリムマブ、ゴシポール、Bio 111、131-I-TM-601、ALT-110、BIO 140、CC 8490、シレンギチド、ギマテカン、IL13-PE38QQR、INO 1001、IPdR<sub>1</sub>、KRX-0402、ルカントン、LY317615、ノイラジアブ(neuradiab)、ピテスパン(vitespan)、Rta 744、Sdx 102、タランパネル、アトラセンタン、Xr 311、ロミデプシン、ADS-100380、スニチニブ、5-フルオロウラシル、ポリノスタット、エトボシド、ゲムシタピン、ドキシソルピシン、リボソーマルドキシソルピシン、5'-デオキシ-5-フルオロウリジン、ピンクリスチン、テモゾロミド、ZK-304709、セリシクリブ(seliciclib)；PD0325901、AZD-6244、カベシタピン、L-グルタミン酸、N-[4-[2-(2-アミノ-4,7-ジヒドロ-4-オキソ-1H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]-ニナトリウム塩七水和物、カンプトテシン、PEG標識イリノテカン、タモキシフェン、クエン酸トレミフェン、アナストラゾール、エキセメスタン、レトロゾール、DES(ジエチルスチルベストロール)、エストラジオール、エストロゲン、結合型エストロゲン、ペバシズマブ、IMC-1C11、CHIR-258)；3-[5-(メチルスルホニルピペラジンメチル)-インドリル-キノロン、バタラニブ、AG-013736、AVE-0005、酢酸ゴセレリン、酢酸ロイプロリド、パモ酸トリプトレリン、酢酸メドロキシプロゲステロン、カブロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸メゲストロール、ラロキシフェン、ピカルタミド、フルタミド、ニルタミド、酢酸メゲストロール、CP-724714；TAK-165、HKI-272、エルロチニブ、ラパチニブ(lapatanib)、カネルチニブ、ABX-EGF抗体、エルピタックス、EKB-569、PKI-166、GW-572016、ロナファルニブ(lonafarnib)、BMS-214662、チピファルニブ；アミホスチン、NVP-LAQ824、スベロイルアナリドヒドロキサム酸(suberoyl analide hydroxamic acid)、バルプロ酸、トリコスタチンA、FK-22

10

20

30

40

50

8、SU11248、ソラフェニブ、KRN951、アミノグルテチミド、アムサクリン(arnsacrine)、アナグレリド、L-アスパラギナーゼ、カルメット-ゲラン桿菌(BCG)ワクチン、アドリアマイシン、ブレオマイシン、プセレリン、ブスルファン、カルボプラチン、カルムチン、クロラムブシル、シスプラチン、クラドリピン、クロドロネート、シプロテロン、シタラピン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、ジエチルスチルベストロール、エピルピシン、フルダラビン、フルドロコルチゾン、フルオキシメステロン、フルタミド、グリベック、ゲムシタピン、ヒドロキシ尿素、イダルピシン、イホスファミド、イマチニブ、ロイプロリド、レバミゾール、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、6-メルカプトプリン、メスナ、メトトレキサート、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、ニルタミド、オクトレオチド、オキサリプラチン、パミドロネート、ペントスタチン、プリカマイシン、ポルフィマー、プロカルバジン、ラルチトレキセド、リツキシマブ、ストレプトゾシン、テニボシド、テストステロン、サリドマイド、チオグアニン、チオテパ、トレチノイン、ビンデシン、13-シス-レチノイン酸、フェニルアラニンマスタード、ウラシルマスタード、エストラムスチン、アルトレタミン、フロクスウリジン、5-デオキシウリジン(5-deoxyuridine)、シトシンアラビノシド、6-メカプトプリン(6-mecaptopurine)、デオキシコホルマイシン、カルシトリオール、バルルピシン、ミトラマイシン、ピンブラスチン、ピノレルピン、トポテカン、ラゾキシシン、マリマスタット、COL-3、ネオバスタット、BMS-275291、スクアラミン、エンドスタチン、SU5416、SU6668、EMD121974、インターロイキン-12、IM862、アンギオスタチン、ピタキシシン、ドロロキシフェン、イドキシフェン、スピロノラクトン、フィナスチリド、シミチジン、トラスツズマブ、デニロイキンジフチトクス、ゲフィチニブ、ボルテジミブ、パクリタキセル、クレモホルを含まないパクリタキセル、ドセタキセル、エボチロンB(epithilone B)、BMS-247550、BMS-310705、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、ピペンドキシフェン、ERA-923、アルゾキシフェン、フルベストラント、アコルピフェン、ラソフォキシフェン、イドキシフェン、TSE-424、HMR-3339、ZK186619、トポテカン、PTK787/ZK222584、VX-745、PD184352、ラパマイシン、40-O-(2-ヒドロキシエチル)-ラパマイシン、テムシロリムス、AP-23573、RAD001、ABT-578、BC-210、LY294002、LY292223、LY292696、LY293684、LY293646、ウォルトマニン、ZM336372、L-779,450、PEG-フィルグラスチム、ダルベポエチン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子、ゾレドロネート(zolendronate)、ブレドニゾン、セツキシマブ、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、ヒストレリン、ペグ化インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2a、ペグ化インターフェロンアルファ-2b、インターフェロンアルファ-2b、アザシチジン、PEG-L-アスパラギナーゼ、レナリドミド、ゲムツズマブ、ヒドロコルチゾン、インターロイキン-11、デクスラゾキサシン、アレムツズマブ、オールトランスレチノイン酸、ケトコナゾール、インターロイキン-2、メゲストロール、免疫グロブリン、ナイトロジェンマスタード、メチルプレドニゾン、イブリツモマブチウキセタン(ibritumomab tiuxetan)、アンドロゲン、デシタピン、ヘキサメチルメラミン、ベキサロテン、トシツモマブ、三酸化砒素、コルチゾン、エチドロネート(editronate)、ミトタン、シクロスボリン、リボソームダウノルピシン、エドウィナ-アスパラギナーゼ(Edwina-asparaginase)、ストロンチウム89、カソピタント、ネツピタント(netupitant)、NK-1受容体拮抗薬、パロノセトロン、アプレピタント、ジフェンヒドラミン、ヒドロキシジン、メトクロプラミド、ロラゼパム、アルブラゾラム、ハロペリドール、ドロペリドール、ドロナビノール、デキサメタゾン、メチルプレドニゾン、プロクロルペラジン、グラニセトロン、オンダンセトロン、ドラセトロン、トロピセトロン、ペグフィルグラスチム、エリスロポエチン、エボエチンアルファ、ダルベポエチンアルファおよびそれらの混合物を含む。

【0268】

「抗HIV剤」または「さらなる抗HIV剤」という用語は、例えば、とりわけ、ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤(NRTI)、他の非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤(すなわち、本発明の典型ではないもの)、プロテアーゼ阻害剤、融合阻害剤を含み、その例示的化合物は、例えば、3TC(ラミブジン)、AZT(ジドブジン)、(-)-FTC、ddI(ジダノシン)、ddC(ザルシタビ

10

20

30

40

50

ン)、アバカビル(ABC)、テノホビル(PMPA)、D-D4FC(リバーセット(Reverset))、D4T(スタブジン)、ラシビル、L-FddC、L-FD4C、NVP(ネビラピン)、DLV(デラビルジン)、EFV(エファビレンツ)、SQVM(メシル酸サキナビル)、RTV(リトナビル)、IDV(インジナビル)、SQV(サキナビル)、NFV(ネルフィナビル)、APV(アンブレナビル)、LPV(ロピナビル)、とりわけT20などの融合阻害剤、フゼオン(fuseon)およびそれらの混合物を含み、現在臨床試験中または開発中の抗HIV化合物が含まれる。

【0269】

本発明に係る化合物との共投与において用い得る他の抗HIV剤は、例えば、他のNNRTI(すなわち、本発明に係るNNRTI以外)が含まれ、とりわけ、ネビラピン(BI-R6-587)、デラビルジン(U-90152S/T)、エファビレンツ(DMP-266)、UC-781(N-[4-クロロ-3-(3-メチル-2-ブテニルオキシ)フェニル]-2メチル3-フランカルボチアミド)、エトラピリン(TMC125)、トロビルジン(Ly300046.HCl)、MKC-442(エミピリン、コアクチノン)、HI-236、HI-240、HI-280、HI-281、リルピピリン(TMC-278)、MSC-127、HBY 097、DMP266、バイカリン(TJN-151)ADAM-11(3',3'-ジクロロ-4',4''-ジメトキシ-5',5''-ビス(メトキシカルボニル)-6,6-ジフェニルヘキサノ酸メチル)、3-プロモ-5-(1-5-プロモ-4-メトキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル)ヘプタ-1-エニル)-2-メトキシ安息香酸メチル(アルケニルジアリールメタン類縁体、アダム類縁体)、(5-クロロ-3-(フェニルスルフィニル)-2'-インドールカルボキサミド)、AAP-BHAP(U-104489またはPNU-104489)、カブラピリン(AG-1549、S-1153)、アテビルジン(U-87201E)、オーリントリカルボン酸(SD-095345)、1-[(6-シアノ-2-インドリル)カルボニル]-4-[3-(イソプロピルアミノ)-2-ピリジニル]ピペラジン、1-[5-[[N-(メチル)メチルスルホニルアミノ]-2-インドリルカルボニル]-4-[3-(イソプロピルアミノ)-2-ピリジニル]ピペラジン、1-[3-(エチルアミノ)-2-[ピリジニル]-4-[(5-ヒドロキシ-2-インドリル)カルボニル]ピペラジン、1-[(6-ホルミル-2-インドリル)カルボニル]-4-[3-(イソプロピルアミノ)-2-ピリジニル]ピペラジン、1-[[5-(メチルスルホニルオキシ)-2-インドリル)カルボニル]-4-[3-(イソプロピルアミノ)-2-ピリジニル]ピペラジン、U88204E、ビス(2-ニトロフェニル)スルホン(NSC 633001)、カラノリドA(NSC675451)、カラノリドB、6-ベンジル-5-メチル-2-(シクロヘキシルオキシ)ピリミジン-4-オン(DABO-546)、DPC 961、E-EBU、E-EBU-dm、E-EPSeU、E-EPU、ホスカルネット(ホスカビル)、HEPT(1-[(2-ヒドロキシエトキシ)メチル]-6-(フェニルチオ)チミン)、HEPT-M(1-[(2-ヒドロキシエトキシ)メチル]-6-(3-メチルフェニル)チオ)チミン)、HEPT-S(1-[(2-ヒドロキシエトキシ)メチル]-6-(フェニルチオ)-2-チオチミン)、イノフィルムP、L-737,126、ミケラミンA(NSC650898)、ミケラミンB(NSC649324)、ミケラミンF、6-(3,5-ジメチルベンジル)-1-[(2-ヒドロキシエトキシ)メチル]-5-イソプロピルウラシル、6-(3,5-ジメチルベンジル)-1-(エチオキシメチル)-5-イソプロピルウラシル、NPPS、E-BPTU(NSC 648400)、オルチプラズ(4-メチル-5-(ピラジニル)-3H-1,2-ジチオール-3-チオン)、N-{2-(2-クロロ-6-フルオロフェネチル)-N'-(2-チアゾリル)チオ尿素(PETT C1、F誘導体)、N-{2-(2,6-ジフルオロフェネチル)-N'-[2-(5-プロモピリジル)]チオ尿素(PETT誘導体)、N-{2-(2,6-ジフルオロフェネチル)-N'-[2-(5-メチルピリジル)]チオ尿素(PETTピリジル誘導体)、N-[2-(3-フルオロフラニル)エチル]-N'-[2-(5-クロロピリジル)]チオ尿素、N-[2-(2-フルオロ-6-エトキシフェネチル)]-N'-[2-(5-プロモピリジル)]チオ尿素、N-(2-フェネチル)-N'-(2-チアゾリル)チオ尿素(LY-73497)、L-697,639、L-697,593、L-697,661、3-[2-(4,7-ジフルオロベンゾキサゾール-2-イル)エチル]-5-エチル-6-メチル(ピリジン-2(1H)-チオン(2-ピリジノン誘導体)、3-[[2-(メトキシ-5,6-ジメチル-3-ピリジル)メチル]アミン]-5-エチル-6-メチル(ピリジン-2(1H)-チオン、R82150、R82913、R87232、R88703、R89439(ロピリド)、R90385、S-2720、スラミンナトリウム、TBZ(チアゾロベンズイミダゾール、NSC 625487)、チアゾロイソインドール-5-オン、(+)(R)-9b-(3,5-ジメチルフェニル-2,3-ジヒドロチアゾロ[2,3-a]イソインドール-5(9bH)-オン、チピラピン(R86183)、UC-38およびUC-84からなる群より選択され得る。

【0270】

「薬学的に許容される塩」という用語は、本明細書の全体を通して、該当する場合には

10

20

30

40

50

、化合物の溶解およびバイオアベイラビリティを促進するために、患者の胃腸管の胃液中の化合物の溶解性を高めるために提示される、1つまたは複数の本明細書に記載の化合物の塩形態を記載するために用いられる。薬学的に許容される塩は、該当する場合には、薬学的に許容される無機または有機塩基および酸に由来のものを含む。好適な塩は、薬学の技術分野において周知の多くの他の酸および塩基の中でも、カリウムおよびナトリウムなどのアルカリ金属、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ土類金属に由来のものならびにアンモニウム塩を含む。本発明に係るリン酸塩の中和塩としては、特に非限定的にはナトリウムおよびカリウム塩である。

#### 【0271】

「薬学的に許容される誘導体」という用語は、本明細書の全体を通して、患者への投与後に、本化合物または本化合物の活性代謝物を直接的にまたは間接的に提供する、任意の薬学的に許容されるプロドラッグ形態(エステル、アミド他のプロドラッグ基など)を記載するために用いられる。

10

#### 【0272】

##### 基本的合成法

本明細書に記載の二官能性分子の合成の実現および最適化は、段階的またはモジュール方式で行い得る。例えば、標的分子に結合する化合物の特定は、好適なリガンドが直ちに利用可能ではない場合、ハイまたはミディアムスループットスクリーニング法を伴い得る。適切なインビトロならびに薬理学的および/またはADMETアッセイからのデータによって特定される次善の部分を改善するために初期のリガンドが反復的な設計および最適化サイクルを必要とすることは珍しいことではない。最適化/SAR法は部分的には、置換を許容しかつ、本明細書において先に言及したリンカーの化学的部分を結合させるのに好適な位置であり得るリガンドの位置を調査することである。結晶学的データまたはNMR構造データが利用可能である場合、これらを用いてそのような合成作業に取り組むことができる。

20

#### 【0273】

非常に類似した様式で、E3リガーゼのためのリガンド、すなわちULM/CLMを、特定しかつ最適化できる。

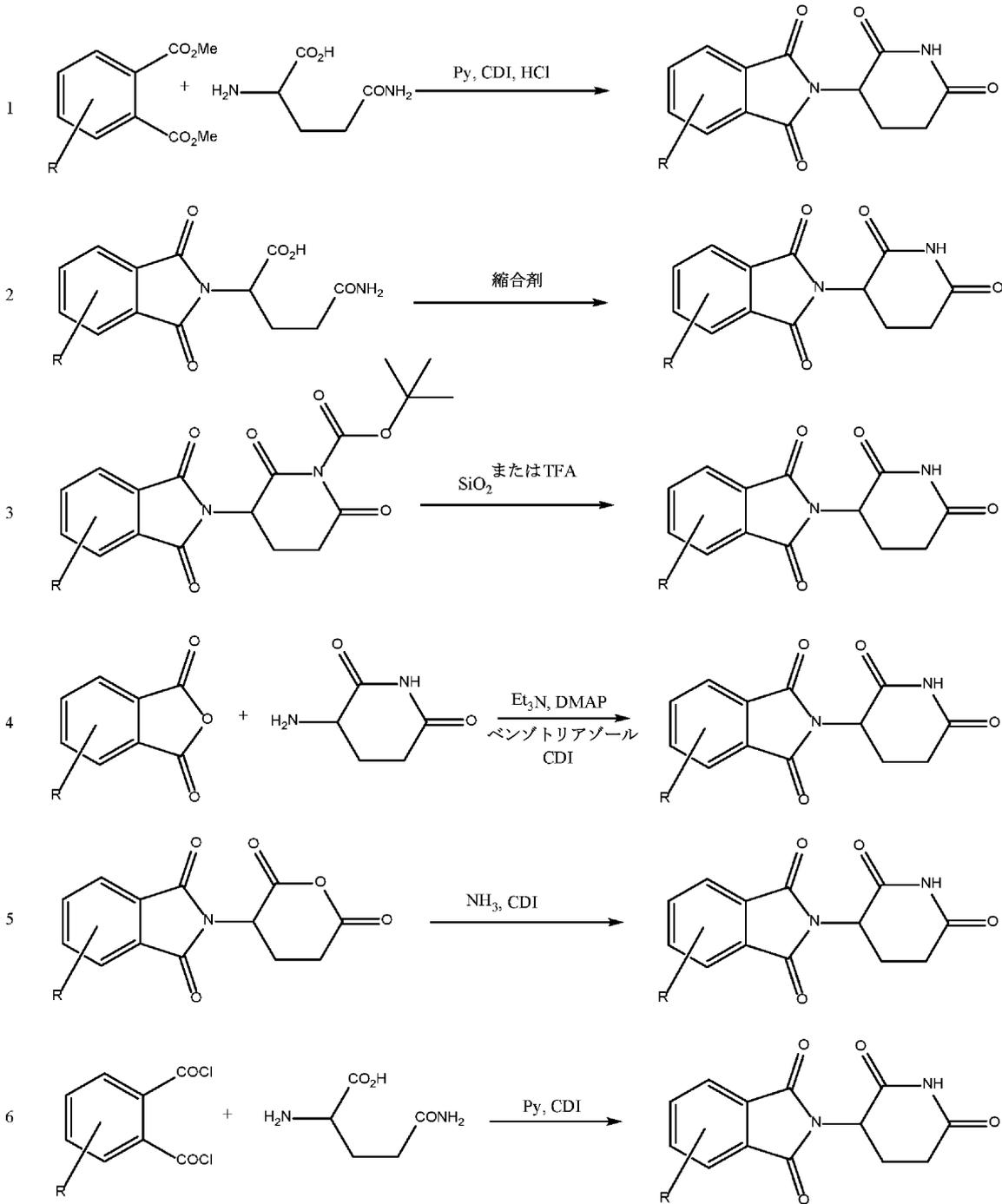
#### 【0274】

PTMおよびULM(例えば、CLM)が手許にあれば、当業者であればリンカー部分を用いるかまたは用いずにそれらの組み合わせのための公知の合成方法を用いることができる。リンカー部分は、様々な組成、長さ、柔軟性で合成でき、PTM基およびULM基がリンカーの遠位端に順次結合できるように官能化できる。よって、二官能性分子のライブラリーをインピボおよびインビトロの薬理学的およびADMET/PK研究において実現しかつプロファイリングすることができる。PTM基およびULM基と同様に、最終的な二官能性分子は、所望の特性を有する分子を特定するために反復的な設計および最適化サイクルの対象となり得る。

30

#### 【0275】

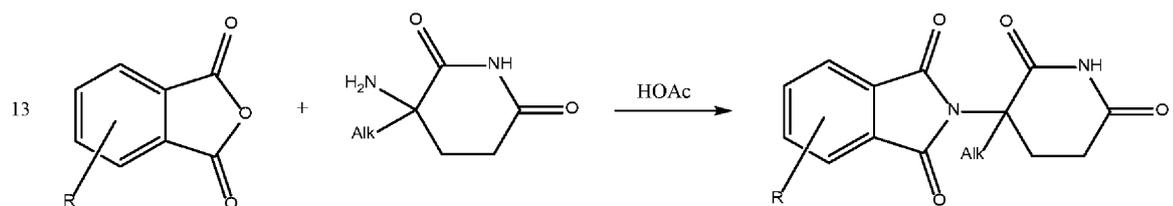
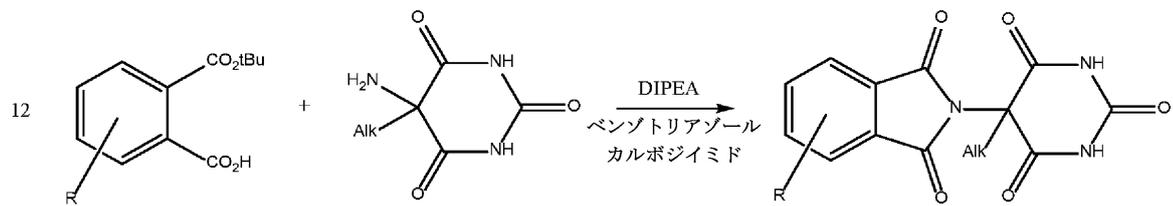
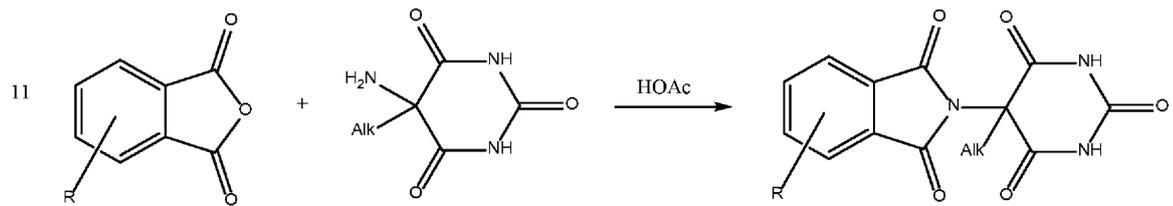
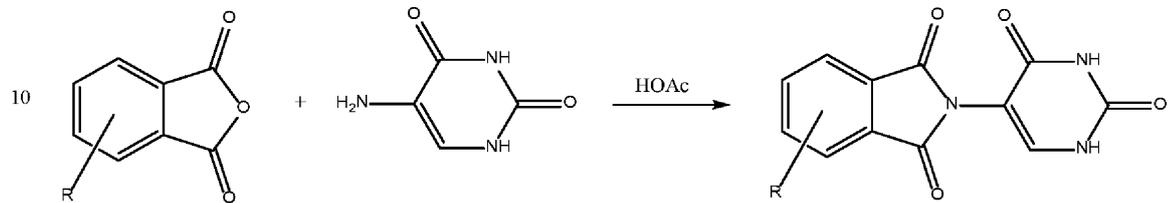
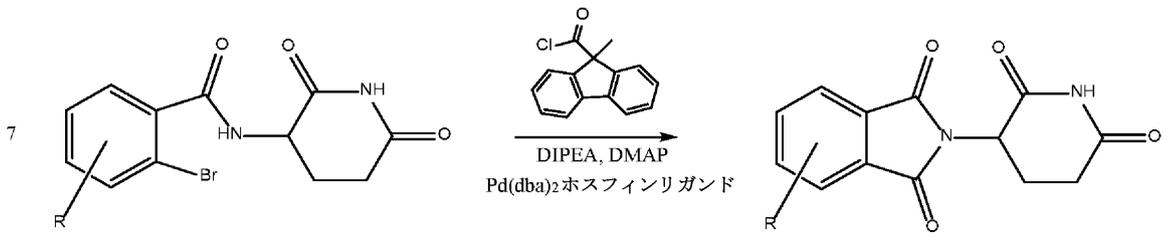
本明細書に記載のCLMを生成するためのいくつかの非限定的で例示的な方法を以下に示すようにまとめる。



10

20

30

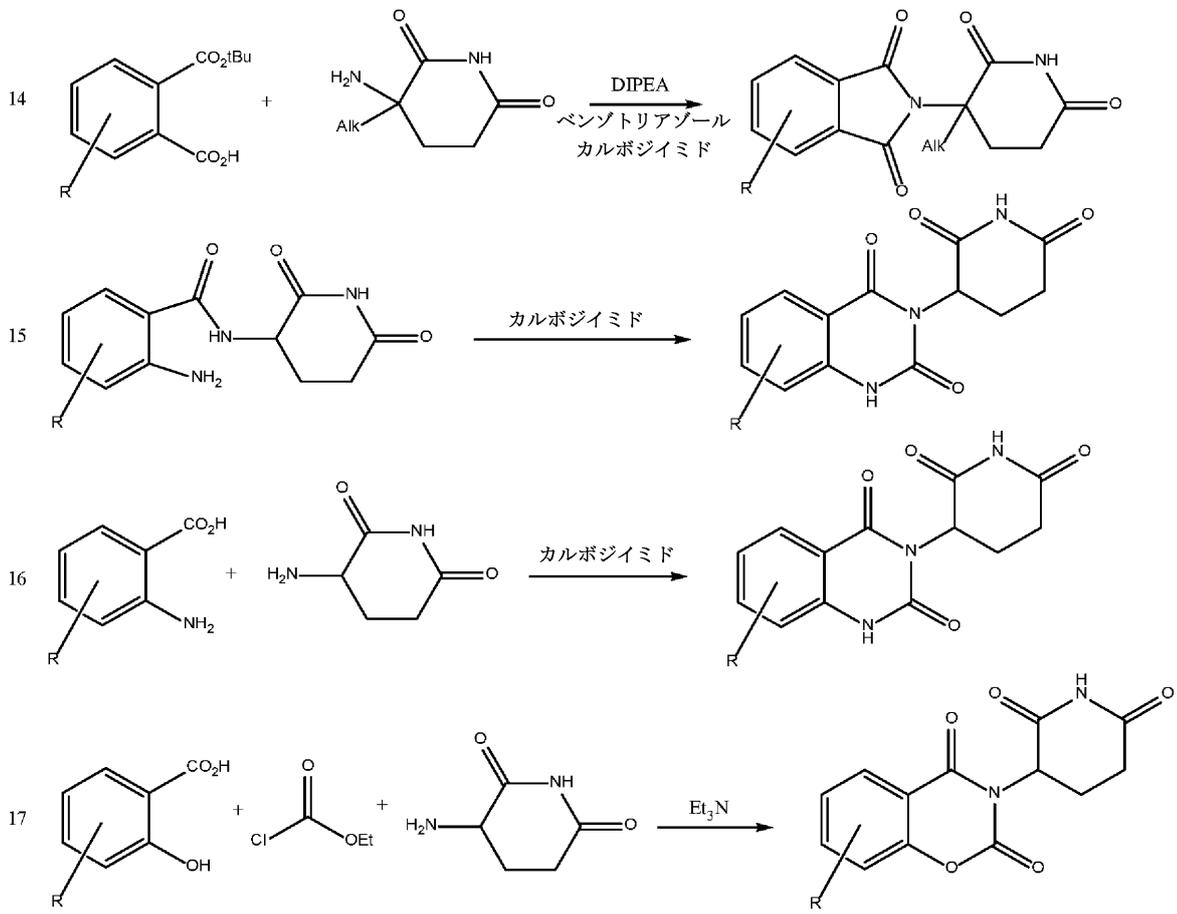


10

20

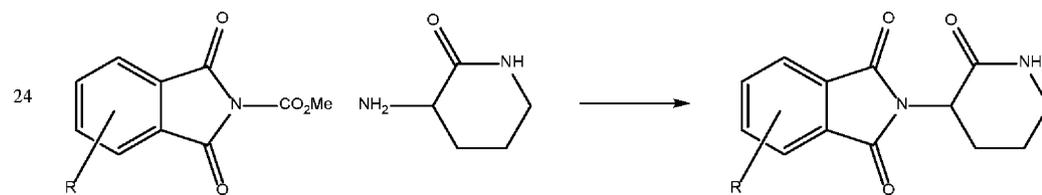
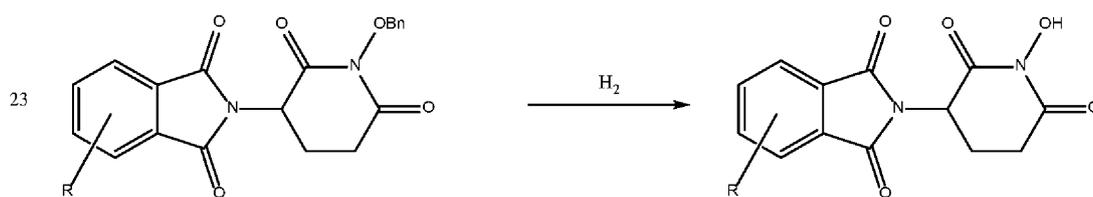
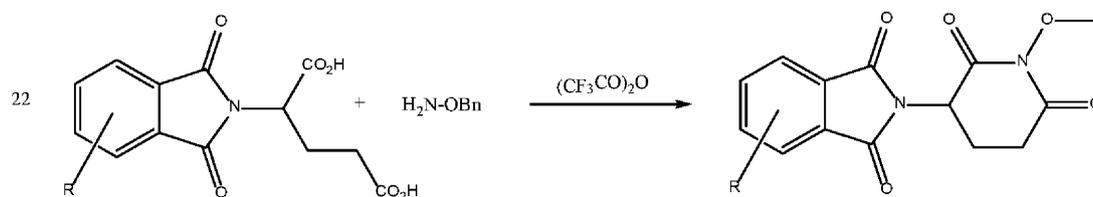
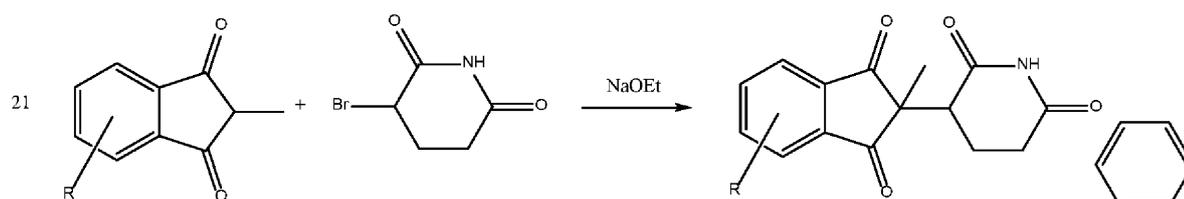
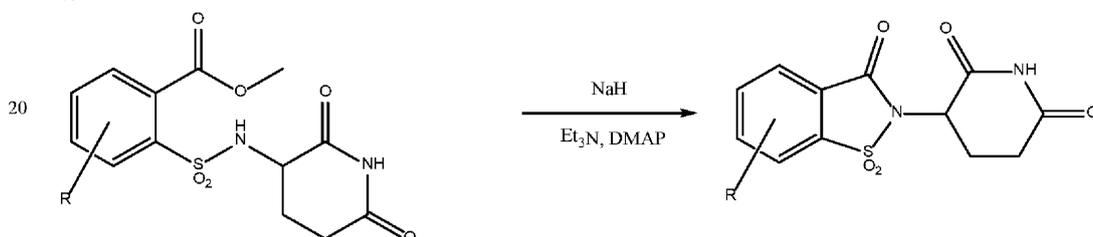
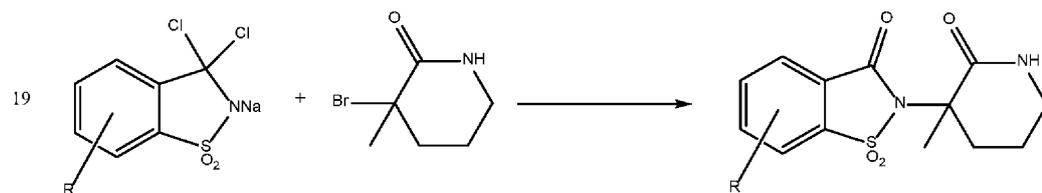
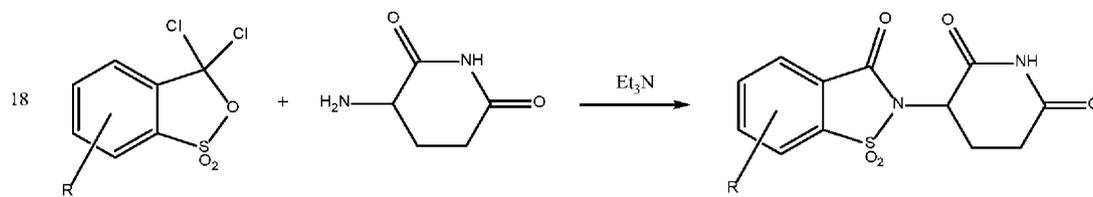
30

40



10

20

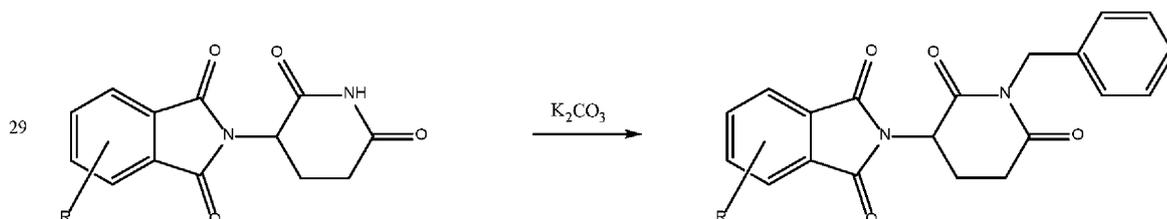
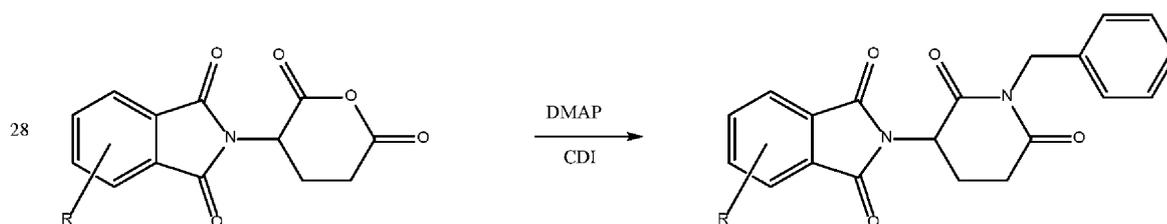
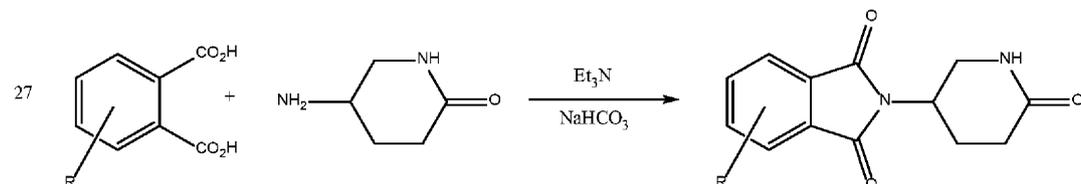
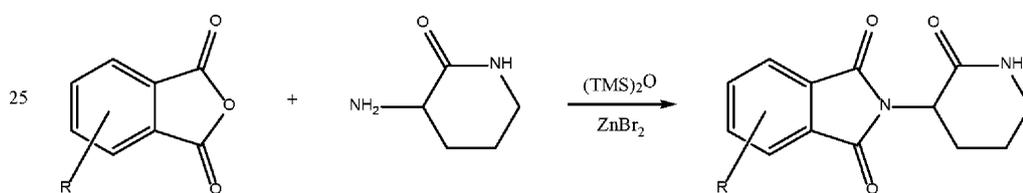


10

20

30

40



## 【0276】

代表的な反応1に示されるように、フタル酸ジメチル誘導体をグルタミン(ラセミ体またはエナンチオマー)またはグルタミン類縁体と縮合させ、次いでカルボニルジイミダゾールなどの剤とさらに反応させて、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体を形成することができる。

## 【0277】

あるいは、代表的な反応2に示すように、上に記載の最初の縮合で生成された中間体フタルイミドを別々に調製しかつ/または単離し、次いでトリフルオロアセトアミド、POCl<sub>3</sub>、無水酢酸などの脱水剤と反応させて、所望の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体を形成してもよい。同じタイプの間mediate フタルイミドを脱水工程の前にローソン試薬と反応させて、代表的な反応8および9に示すようなチオ類縁体を提供することもできる。

## 【0278】

代表例3に示すN<sup>1</sup>-BOC種などの2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体の保護例は、この場合は、TFAまたはシリカなどの試薬を用いることによって、標的とする2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体が現れるよう脱保護できる。

## 【0279】

代表例4に示されているものなどの無水フタル酸は3-アミノピペリジン-2,6-ジオンなどのアミンとの反応により開環されて中間体カルボキシレート種を形成することができ、これはカルボニルジイミダゾールおよびベンゾトリアゾールで処理すると、標的とする2-(2

10

20

30

40

50

,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体を形成する。あるいは、代表的な反応13に示すように、酢酸の存在下で2つの成分を組み合わせることで所望の生成物を提供し得る。

【0280】

類似の反応で、代表的な反応5に示されているものなどの無水物誘導体をアミン(示されている例ではアンモニア)、次いでカルボニルジイミダゾールと反応させて、所望の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体を形成してもよい。

【0281】

塩化フタロイルが利用可能な場合、グルタミン(ラセミ体またはエナンチオマー)またはグルタミン類縁体との直接的な縮合が可能であり、次いでカルボニルジイミダゾールなどの剤とのさらなる反応によって、代表的な反応6に示すような2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体が形成される。

10

【0282】

o-プロモベンズアミドを、パラジウム触媒および関連するホスフィンリガンドの存在下で、代表的な反応7に示されている酸塩化物などのCO源と反応させて、所望の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体を生成することができる。あるいは、COガス自体をロジウム(II)触媒および炭酸銀と組み合わせることで所望の生成物を提供してもよい。

20

【0283】

2-(2,4-ジオキソ-1,2,3,4-テトラヒドロピリミジン-5-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン、および5-(1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-2-イル)-1,3-ジアジナン-2,4,6-トリオン誘導体は、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体について上に記載した方法のいくつかと類似の手段によって調製できる。代表的な反応20および21では、無水フタル酸を酢酸の存在下で5-アミノ-1,2,3,4-テトラヒドロピリミジン-2,4-ジオンまたは5-アミノ-1,3-ジアジナン-2,4,6-トリオン誘導体とそれぞれ反応させて所望の生成物を形成することができる。

【0284】

あるいは、5-(1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-2-イル)-1,3-ジアジナン-2,4,6-トリオン誘導体は、代表的な反応12に示すように、ヒューニッヒ塩基、カルボジイミドおよびベンゾトリアゾールの存在下でのフタル酸モノtert-ブチルエステルとの5-アミノ-1,3-ジアジナン-2,4,6-トリオン誘導体の反応によって調製することができる。同様の条件を、代表的な反応14に示されるように、フタル酸モノtert-ブチルエステルからの2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体の調製に採用できる。

30

【0285】

3-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,2,3,4-テトラヒドロキナゾリン-2,4-ジオンなどの化合物は、代表的な反応16と同様に、カルボジイミドとの3-アミノピペリジン-2,6-ジオンの反応によってアントラニル酸誘導体から調製できる。代表的な反応15に示すように、中間体ベンズアミド生成物を単離(または個別に生成)し、さらにカルボジイミドと反応させて、3-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,2,3,4-テトラヒドロキナゾリン-2,4-ジオン誘導体を生成してもよい。

40

【0286】

代表的な反応17に示すように、3-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-3,4-ジヒドロ-2H-1,3-ベンゾオキサジン-2,4-ジオン類縁体は、クロロホルメートによるサリチル酸の活性化、次いで3-アミノピペリジン-2,6-ジオンとの縮合によって調製することができる。

【0287】

代表的な反応18に示す3,3-ジクロロ-2,1<sup>6</sup>-ベンゾオキサチオール-1,1-ジオンはPOCl<sub>3</sub>およびPCl<sub>5</sub>との2-スルホ安息香酸の反応によって調製することができる。これらの化合物

50

をアミノ誘導体と反応させて、例えば、所望の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1<sup>6</sup>,2-ベンゾチアゾール-1,1,3-トリオン誘導体を生成することができる。

【0288】

代表的な反応19に示すように、サッカリン誘導体のアニオンを3-プロモ-3-メチルピペリジン-2-オンなどの求電子剤でアルキル化して、標的とする2-(3-メチル-2-オキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1<sup>6</sup>,2-ベンゾチアゾール-1,1,3-トリオン誘導体を生成することができる。

【0289】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1<sup>6</sup>,2-ベンゾチアゾール-1,1,3-トリオンの類縁体はまた、水素化ナトリウムなどの強塩基との2-[(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)スルファモイル]安息香酸メチルの反応によって調製してもよい(代表的な反応20を参照されたい)。

10

【0290】

代表的な反応21に示すように、ナトリウムエトキシドとの2-メチル-2,3-ジヒドロ-1H-インデン-1,3,ジオン誘導体の脱プロトン化、続く3-プロモピペリジン-2,6-ジオンなどの求電子剤との反応が3-(2-メチル-1,3-ジオキソ-1H-インデン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオンを与える。

【0291】

2-[1-(ベンジルオキシ)-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル]-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,4-ジオン(代表的な反応22)などのN<sup>1</sup>-置換化合物の調製は、N-ベンジルヒドロキシルアミンとのおよび無水トリフルオロ酢酸との2-(1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-2-イル)ペンタン二酸の反応によって達成できる。

20

【0292】

翻って、2-[1-(ベンジルオキシ)-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル]-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,4-ジオン(代表的な反応23)などの分子を水素化条件下でのベンジルの除去に供して、2-(1-ヒドロキシ-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオンなどのN<sup>1</sup>-ヒドロキシ類縁体を得てもよい。

【0293】

代表的な反応24では、1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-2-カルボン酸メチル(および類縁体)を3-アミノピペリジン-2-オンと反応させて2-(2-オキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオンを提供する。

30

【0294】

同じアミンを臭化亜鉛およびトリメチルシリルエーテルなどのルイス酸の存在下で無水フタル酸誘導体と反応させて、代表的な反応25に示すのと同じタイプの生成物を生成することもできる。この反応からの中間生成物は、単離されるかまたは別途調製された場合には(代表的な反応26)、脱水剤の使用を通じて完全に環化させることができる。

【0295】

代表的な反応27に示す2-(6-オキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオンなどの異性体誘導体は、5-アミノピペリジン-2-オンとのフタル酸の反応を通じて取得可能である。

40

【0296】

2-(1-ベンジル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,4-ジオンなどのN<sup>1</sup>-置換化合物の調製(代表的な反応28および29)は複数の経路を通じて達成することができる。例えば、無水物(2-(2,6-ジオキソキサン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン)をDMAPおよびカルボニルジイミダゾールの存在下で3-アミノピペリジン-2,6-ジオンと縮合でき(代表的な反応28)、または代表的な反応29に示すように2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン誘導体を塩基の存在下で臭化ベンジルなどの求電子剤でアルキル化できる。

【0297】

いくつかの場合では、保護基戦略および/または官能基相互変換(FGI)が所望の材料の調

50

製を容易にするために必要なことがある。そのような化学プロセスは合成有機化学者には周知であり、これらの多くは"Greene's Protective Groups in Organic Synthesis" Peter G. M. Wuts and Theodora W. Greene (Wiley), and "Organic Synthesis: The Disconnection Approach" Stuart Warren and Paul Wyatt (Wiley)などの文書に見出し得る。

【0298】

#### タンパク質レベルの制御

本記載は、細胞によるタンパク質レベルの制御のための方法も提供する。これは、インビボでの標的タンパク質の分解が、好ましくは特定の治療的利益にまで、生体システムにおけるタンパク質の量の制御をもたらすように、特定の標的タンパク質と相互作用することが公知の本発明に記載の化合物の使用に基づいている。

【0299】

以下の実施例は、本発明の記載を補助するために用いるが、いかなる様式でも本発明を限定すると理解されるべきではない。

【実施例】

【0300】

#### 実施例1

##### A. クローニングおよび分析

1. ヒトCRBNおよびDDB1のクローニング、発現および精製。手順はLopez-Girona et alの記載に代表されるように当業者には標準的なものである(Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide, A Lopez-Girona, D Mendy, T Ito, K Miller, A K Gandhi, J Kang, S Karasawa, G Carmel, P Jackson, M Abbasian, A Mahmoudi, B Cathers, E Rychak, S Gaidarova, R Chen, P H Schafer, H Handa, T O Daniel, J F Evans and R Chopra, Leukemia 26: 2326-2335, 2012)。

【0301】

CRBNおよびDDB1遺伝子のためのcDNAは、ポリメラーゼとしてのPfusion(NEB)および以下のプライマー配列を用いてPCRによって増幅できる。

プライマー	配列
CRBN-フォワード	GTGCCGCGTGGCTCCATGGCCGGCGAAGGAGATCAGCAGGA (SEQ ID NO: 1)
CRBN-リバース	GCTTCCTTTTCGGGCTTATTACAAGCAAAGTATTACTTTGTC (SEQ ID NO: 2)
DDB1-フォワード	TCGGGCGCGGCTCTCGGTCCGAAAAGGATGTTCGTACAACACTACGTGGTAAC (SEQ ID NO: 3)
DDB1-リバース	GCTTCCTTTTCGGGCTTATTTTTTCGAACTGCGGGTGGCTCCAATGGATCCGAGTTAGCTCCT (SEQ ID NO: 4)
CRBN-Flag-リバース	GCTTCCTTTTCGGGCTTACTTATCGTCATCGTCCTTGTAGTCCAAGCAAAGTATTACTTTGT (SEQ ID NO: 5)

【0302】

CRBNは、ライゲーション非依存クローニング26を用いて、pBV-ZZ-HT-LIC、pBV-GST-LIC、pMA-HT-LICに、DDB1はpBV-notag-LICにクローニングできる。哺乳類ベクターpMA-HT-LICへのクローニングのために、CRBN-Flag-リバースオリゴは免疫検出のためのC末端FLAGタグを付加する。DDB1-リバースはStrepTag 27を付加する。ZZタグ28は可溶性CRBNの高い発現を達成するために必要であり；これがなければHis-CRBNの発現は低レベルである一方で、GST-CRBNは凝集タンパク質をもたらす。ZZ-His-CRBNおよびDDB1-StrepTag(ST)の組換えバキュロウイルスは、Sf9昆虫細胞においてInvitrogenからのBac-to-Bacバキュロウイルス発現システムを用いて生成されかつ増幅される。ZZ-His-CRBNおよびDDB1-STは、Expression Systemsからの非補充ESF921培地を用いて、27 で10Lウェーブバッグ内のHigh Five (Tni)昆虫で共発現される。感染後48時間で遠心分離により細胞を回収し、PBS plus5Xプロテアーゼ阻害剤カクテル(Roche, Indianapolis, IN)にペーストを再懸濁する。

【0303】

後続のすべてのタンパク質精製工程を4で行う。凍結細胞を解凍し、5容量の溶解緩衝

液(50mM Tris HCl pH8.0、0.5M NaCl、10%グリセロール、2mM DTT)に20mMイミダゾールおよびプロテアーゼ阻害剤を加えたものに再懸濁し、溶解し、遠心分離して透明な上清を得た。CRBN-DDB1は、ニッケルセファロースおよびS200セファクリルクロマトグラフィーを用いて、AKTA-xpressシステム(GE Healthcare)で精製する。次いで、8ml MonoQカラムを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー、次いでS-200ゲルろ過に供して複合体をさらに精製する。CRBN-DDB1はSDS-PAGEによって同定され、CRBN-DDB1含有フラクションをプールし-70 で保存した。

#### 【 0 3 0 4 】

### 2. 組換えCRBNへの化合物の結合を測定するための蛍光サーマルメルトアッセイ

アッセイは、Lopez-Gironaらの記載に代表されるように当業者には標準的なものである(Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide, A Lopez-Girona, D Mendy, T Ito, K Miller, A K Gandhi, J Kang, S Karasawa, G Carmel, P Jackson, M Abbasian, A Mahmoudi, B Cathers, E Rychak, S Gaidarova, R Chen, P H Schafer, H Handa, T O Daniel, J F Evans and R Chopra, Leukemia 26: 2326-2335, 2012)。

10

#### 【 0 3 0 5 】

試験化合物の存在下または非存在下でのCRBN-DDB1の熱安定性は、Pantoliano et alによるマイクロプレート形式でSypro Orangeの存在下で行われる(Pantoliano MW, Petrella EC, Kwasnoski JD, Lobanov VS, Myslik J, Graf E et al. High-density miniaturized thermal shift assays as a general strategy for drug discovery. J Biomol Screen 2001; 6: 429-440)。20mlのアッセイ緩衝液(25mM Tris HCl、pH8.0、150mM NaCl、2uM Sypro Orange)中の2mgのタンパク質を20 から70 までの段階的な温度上昇に供し、ABI Prism 7900HT(Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)で1 毎に蛍光を読み取る。化合物をDMSOに溶解し(アッセイでは最終1%)30nM~1000uMの濃度範囲で試験を4回繰り返す; 対象は1%DMSOのみを含んでいた。

20

#### 【 0 3 0 6 】

### 3. LCMS法

分析はPoroshell 120 EC C18カラム(50mm x 3.0mmの内径2.7 μmの充填径)で45 にて実施する。

#### 【 0 3 0 7 】

採用した溶媒:

A=ギ酸の0.1%v/v水溶液。

B=ギ酸の0.1%v/vアセトニトリル溶液。

30

#### 【 0 3 0 8 】

採用した勾配は次のとおりである:

時間 (分)	流速 (mL/分)	% A	% B
0	1	95	5
0.5	1	95	5
3.0	1	1	99
3.75	1	1	99
4.0	1	95	5

40

#### 【 0 3 0 9 】

UV検出は210nm~350nmの波長の平均シグナルであり、質量スペクトルはポジティブモードエレクトロスプレーイオン化を用いて質量分析計で記録される。

#### 【 0 3 1 0 】

50

以下は化合物が分取HPLCによる精製を経る際に用いられる移動相およびグラジエントを示す。

【0311】

4. 分取HPLC(ギ酸修飾剤)

HPLC分析はX Bridge RP18 OBDカラム (150mm × 19mmの内径、5 μmの充填径)で周囲温度にて実施される。採用した溶媒：

A=ギ酸の0.1% v/v水溶液。

B=アセトニトリル。

【0312】

5. 分取HPLC(重炭酸アンモニウム修飾剤)

HPLC分析はX Bridge RP18 OBDカラム (150mm × 19mmの内径、5 μmの充填径)で周囲温度で実施される。採用した溶媒：

A=10mM重炭酸アンモニウム水溶液。

B=アセトニトリル。

【0313】

分取精製のそれぞれについて、用いた修飾剤に関係なく、採用したグラジエントは、分析LCMSにおいて記録されるように、精製を受ける特定の化合物の保持時間に依りて異なる。流速は20mL/分である。

【0314】

UV検出は254nmまたは220nmの波長からのシグナルである。

【0315】

本明細書において発明の非限定的な態様を示しかつ記載してきたが、そのような態様は単なる例示として提供されていることが理解されるであろう。当業者であれば、発明の精神から逸脱することなく多くの変形、変更、および置換を思い付くであろう。したがって、添付のクレームは発明の精神および範囲内に入るすべてのそのような変形を包含することを意図している。

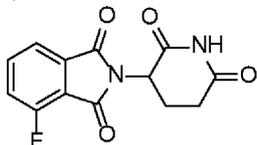
【0316】

B. 合成

下に含まれる例示物の合成の詳細は、より広範な例示物セットの合成について説明する基本的手順の代表的なものである。

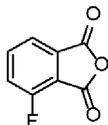
【0317】

1. 2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン



【0318】

工程1: 4-フルオロイソベンゾフラン-1,3-ジオン



無水酢酸 (400mL) 中の3-フルオロフタル酸 (50g、271.7mmol) の混合物を2時間還流した。揮発物を真空で除去し、残渣を無水酢酸中で結晶化して4-フルオロイソベンゾフラン-1,3-ジオン (40g、粗製) を茶色の固形物として得た。LC-MS: 167.1 [MH]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.58 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* =

7.2 Hz, 1H), 7.92-7.97 (m, 1H).

【0319】

10

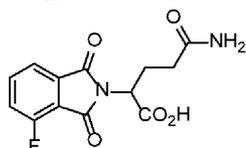
20

30

40

50

工程2：5-アミノ-2-(4-フルオロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-5-オキソペンタン酸



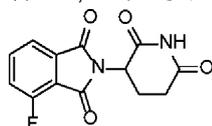
乾燥DMF(200mL)中の上記4-フルオロイソベンゾフラン-1,3-ジオン(40g、粗製)とL-グルタミン(35g、239mmol)との混合物を90℃で8時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去した。残渣を4N HCl(200mL)に再溶解し、さらに8時間攪拌した。得られた析出物をろ過により集め、水で洗浄し、乾燥させて5-アミノ-2-(4-フルオロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-5-オキソペンタン酸(37g、粗製)をオフホワイト色の固形物として得た。LC-MS: 295.2 [MH]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.16-2.20

(m, 2H), 2.31-2.43 (m, 2H), 4.79-4.83 (m, 1H), 6.79 (br, 1H), 7.26(br, 1H), 7.77-7.85 (m, 2H), 7.98-8.03 (m, 1H), 13.32(br, 1H).

【 0 3 2 0 】

工程3：2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン



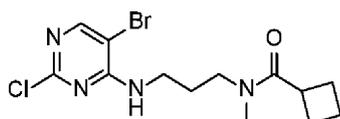
アセトニトリル(80mL)中の上記5-アミノ-2-(4-フルオロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-5-オキソペンタン酸(37g、粗製)と、1,1'-カルボニルジイミダゾール(CDI)(24.2g、149.4mmol)と、4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)(1.3g、11.5mmol)との混合物を5時間還流させた。反応混合物を室温まで冷却した。得られた固形物をろ過により集め、アセトニトリル(100mL)で洗浄して粗生成物を得、これを、溶離液としてDCM中の1~10% MeOHを用いたシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロイソインドリン-1,3-ジオン(9.0g、3工程で12%の収率)を薄黄色の固形物として得た。LC-MS: 277.2 [MH]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.14-2.19 (m,

1H), 2.75-2.95 (m, 3H), 4.97-5.01 (m, 1H), 7.43 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.10-7.81 (m, 2H), 8.08 (br, 1H).

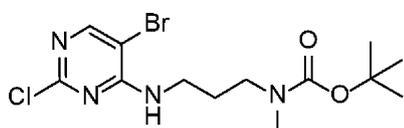
【 0 3 2 1 】

2. N-(3-(5-ブロモ-2-クロロピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド



【 0 3 2 2 】

工程1：N-(3-[(5-ブロモ-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル)-N-メチルカルバミン酸tert-ブチル

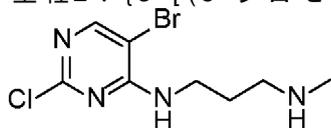


MeOH(10mL)中のN-(3-アミノプロピル)-N-メチルカルバミン酸tert-ブチル(826mg、4.40mmol)と5-ブロモ-2,4-ジクロロピリミジン(400mg、1.76mmol)との混合物を室温で1時間攪

拌した。次いで反応混合物を真空中で濃縮し、残渣をテレダインISCOクロマトグラフィー[0 35%EtOAc/ヘプタン]を用いて精製して、N-{3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}-N-メチルカルバミン酸tert-ブチル(615mg、収率92%)を得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z = 381.05/383.05 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.55分。

【0323】

工程2: {3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}(メチル)アミン

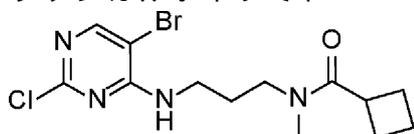


10

DCM(5mL)中のN-{3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}-N-メチルカルバミン酸tert-ブチル(615mg、1.62mmol)の溶液にトリフルオロ酢酸(0.54mL、6.5mmol)を室温に加えた。混合物を1分間攪拌した後、真空中で濃縮した。残渣をテレダインISCOクロマトグラフィー[DCM中の0 15%メタノール]を用いて精製して、{3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}(メチル)アミン(371mg、収率82%)を得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z = 280.99/282.99 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 1.13分。

【0324】

工程3: N-{3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}-N-メチルシクロブタンカルボキサミド



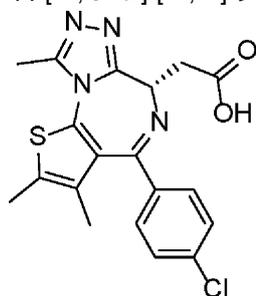
20

室温のDCM(10mL)中の{3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}(メチル)アミン(371mg、1.33mmol)とシクロブタンカルボニルクロリド(188mg、1.60mmol)との溶液にトリエチルアミン(0.41mL、2.92mmol)を加えた。反応混合物を室温で16時間攪拌し続け、次いで真空中で濃縮した。残渣をテレダインISCOクロマトグラフィー[0 100%EtOAc/ヘプタン]を用いて精製して、N-{3-[(5-ブromo-2-クロロピリミジン-4-イル)アミノ]プロピル}-N-メチルシクロブタンカルボキサミド(268mg、56%)を得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z = 363.04/365.04 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.18分。

30

【0325】

3. (S)-2-(4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)酢酸

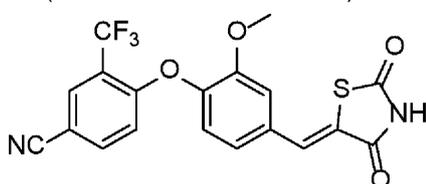


40

表題の化合物はWO2011/143660に記載の手順に従って調製した。

【0326】

4. (Z)-4-(4-((2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル

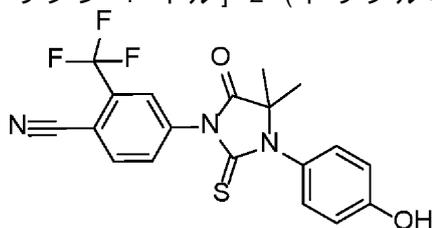


50

表題の化合物はPatch, R. J. et al J. Med. Chem. 2011, 54, 788-808に記載の手順に従って調製した。

【0327】

5. 4-[3-(4-ヒドロキシフェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルファニリデンイミダゾリジン-1-イル]-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル

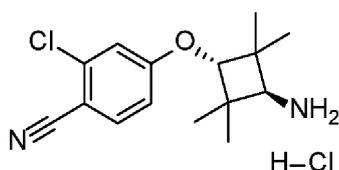


10

表題の化合物はJung, M. E. et al J. Med. Chem. 2010, 53, 2779-2796に記載の手順に従って調製した。

【0328】

6. 2-クロロ-4-(トランス-3-アミノ-2,2,4,4-テトラメチルシクロブトキシ)ベンゾニトリル塩化水素塩

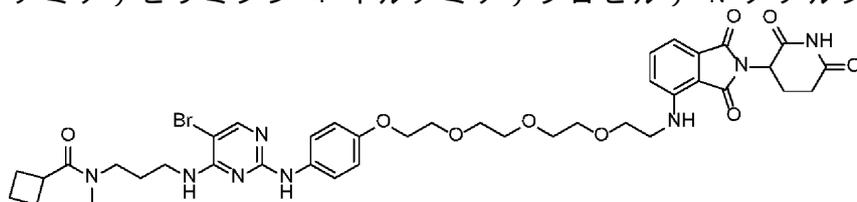


20

表題の化合物はGuo, C. et al J. Med. Chem. 2011, 54, 7693-7704に記載の手順に従って調製した。

【0329】

7. [N-(3-(5-プロモ-2-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニルアミノ)ピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド]

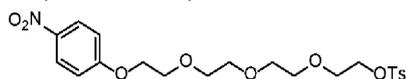


30

(表1に示す化合物構造 #17)

【0330】

工程1: 4-メチルベンゼンスルホン酸2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチル



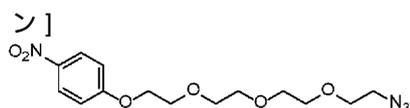
乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(20mL)中のビス(4-メチルベンゼンスルホン酸)2,2'-(2,2'-オキシビス(エタン-2,1-ジイル)ビス(オキシ))ビス(エタン-2,1-ジイル)(3g、5.96mmol)と4-ニトロフェノール(813mg、5.84mmol)と炭酸カリウム(1.65g、11.94mmol)との混合物を50 で一晩攪拌した。混合物を室温まで冷却し、水(60mL)に注ぎ、次いで酢酸エチル(80mL x 3)で抽出した。合わせた有機相を水(50mL)およびブライン(50mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中の10~20%酢酸エチルで溶出)で精製して、4-メチルベンゼンスルホン酸2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチル(2.65g、収率95%)を黄色の油状物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 470.2 [MH<sup>+</sup>] (t<sub>R</sub> = 2.83分)

40

【0331】

工程2: [1-(2-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)-4-ニトロベンゼ

50

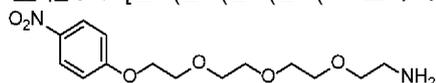


エタノール(30mL)中の4-メチルベンゼンスルホン酸2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチル(2.65g、5.64mmol)とアジ化ナトリウム(734mg、11.29mmol)との混合物を16時間還流させた。混合物を室温まで冷却し、水(50mL)で停止させ、ジクロロメタン(50mL×3)で抽出した。合わせた有機相を水(50mL)およびブライン(40mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して、粗1-(2-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)-4-ニトロベンゼン(865mg)を黄色の油状物として得た。

10

## 【0332】

工程3：[2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エタンアミン]



テトラヒドロフラン(10mL)中の上記1-(2-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)-4-ニトロベンゼン(865mg、2.54mmol)と、トリフェニルホスフィン(999mg、3.81mmol)と、水(69mg、3.83mmol)との混合物を窒素雰囲気下室温で14時間撹拌した。揮発物を減圧下で除去して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン中3~5%メタノールで溶出)で精製して、2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エタンアミン(661mg、収率83%)を黄色の油状物として得た。

20

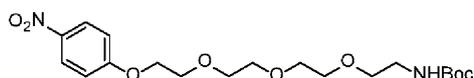
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.86 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H),

3.51 (t,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 3.63-3.75 (m, 8H), 3.90 (t,  $J = 4.4$  Hz, 2H), 4.23 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H),

6.97-6.99 (m, 2H), 8.18-8.22 (m, 2H).

## 【0333】

工程4：2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸 tert-ブチル



ジクロロメタン(25mL)中の2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エタンアミン(661mg、2.1mmol)と、トリエチルアミン(449mg、4.43mmol)と、二炭酸ジ-tert-ブチル(505mg、2.31mmol)との混合物を室温で2時間撹拌した。混合物をジクロロメタン(100mL)で希釈し、水(30mL×2)およびブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中20~40%酢酸エチルで溶出)で精製して、2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸 tert-ブチル(818mg、収率94%)を黄色の油状物として得た。

30

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.44 (s, 9H), 3.37 (d,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 3.54 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H),

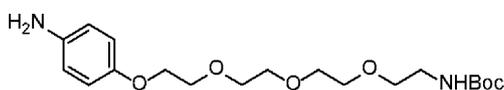
3.62-3.70 (m, 6H), 3.73-3.76 (m, 2H), 3.90 (t,  $J = 4.4$  Hz, 2H), 4.23 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H),

5.01(br, 1H), 6.96-7.00 (m, 2H), 8.18-8.22 (m, 2H).

40

## 【0334】

工程5：2-(2-(2-(2-(4-アミノフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸 tert-ブチル



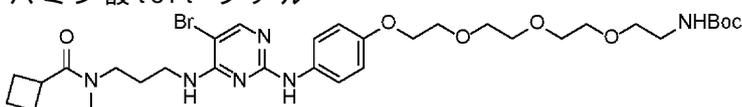
エタノール(20mL)および水(5mL)中の2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸(818mg、1.97mmol)と、鉄粉(1.1g、0.65mmol)と、塩化アンモニウム(528mg、9.87mmol)との混合物を80℃で1時間撹拌した。混合物を室温まで

50

冷却し、固体析出物をろ過により除去し、酢酸エチル(20mL×2)で洗浄した。ろ液を酢酸エチル(120mL)と水(30mL)とで分割した。有機相をブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製して(ヘキサン中30~40%酢酸エチルで溶出)、2-(2-(2-(2-(4-アミノフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル(512mg、収率67%)を黄色の油状物として得た。

【0335】

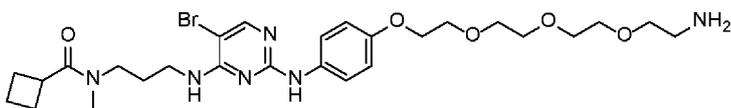
工程6：2-(2-(2-(2-(4-(5-ブロモ-4-(3-(N-メチルシクロブタンカルボキサミド)プロピルアミノ)ピリミジン-2-イルアミノ)フェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル



ジオキササン(1.5mL)中の2-(2-(2-(2-(4-アミノフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル(130mg、0.34mmol)と、N-(3-(5-ブロモ-2-クロロピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド(24mg、0.06mmol)と、p-トルエンスルホン酸(11.6mg、0.07mmol)との混合物を16時間還流させた。反応混合物を室温まで冷却し、炭酸水素ナトリウム水溶液(1.0N、30mL)で停止させ、酢酸エチル(30mL×3)で抽出した。合わせた有機相を水(30mL)およびブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中50%酢酸エチルで溶出)で精製して、2-(2-(2-(2-(4-(5-ブロモ-4-(3-(N-メチルシクロブタンカルボキサミド)プロピルアミノ)ピリミジン-2-イルアミノ)フェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル(40mg、収率17%)を黄色の油状物として得た。

【0336】

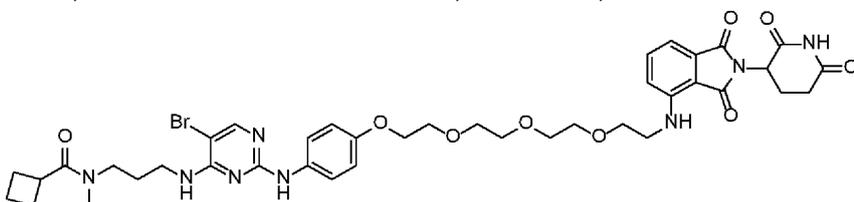
工程7：N-(3-(2-(4-(2-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニルアミノ)-5-プロモピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド



2,2,2-トリフルオロ酢酸(1mL)およびジクロロメタン(1mL)中の2-(2-(2-(2-(4-(5-ブロモ-4-(3-(N-メチルシクロブタンカルボキサミド)プロピルアミノ)ピリミジン-2-イルアミノ)フェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル(40mg、0.06mmol)の混合物を室温で2時間攪拌した。揮発物を減圧下で除去した。残渣をジクロロメタン(60mL)と重炭酸ナトリウム水溶液(2.0N、30mL)とで分割した。有機層をブライン(20mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して、N-(3-(2-(4-(2-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニルアミノ)-5-プロモピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド(18mg、収率52%)を黄色の油状物として得た。

【0337】

工程8：N-(3-(5-ブロモ-2-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニルアミノ)ピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド



10

20

30

40

50

乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(1mL)中のN-(3-(2-(4-(2-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニルアミノ)-5-プロモピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド(130mg、0.03mmol)と、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン(8.2mg、0.03mmol)と、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(7.6mg、0.06mmol)との混合物を90で12時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、酢酸エチル(100mL)と水(30mL)とで分割した。有機相をブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣を分取TLCによって精製してN-(3-(5-プロモ-2-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニルアミノ)ピリミジン-4-イルアミノ)プロピル)-N-メチルシクロブタンカルボキサミド(10.2mg、収率40%)を黄色の固形物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>):

10

$m/z = 865.27/867.27$  (1:1) [MH]<sup>+</sup>.  $t_R = 2.06$ 分。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  1.68-1.77 (m,

3H), 1.89-1.92 (m, 3H), 2.08-2.15 (m, 3H), 2.60-2.79 (m, 7H), 3.28-3.35 (m, 6H), 3.55-3.61

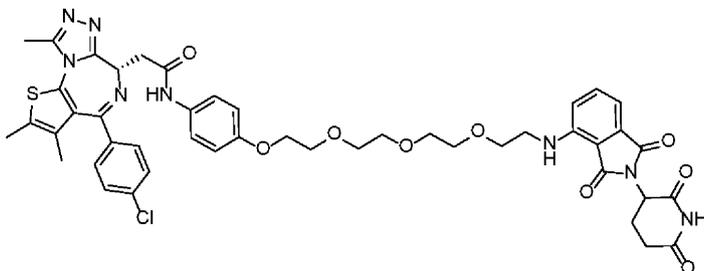
(m, 10H), 3.69-3.72 (m, 2H), 3.96-3.99 (m, 2H), 4.91-4.95 (m, 1H), 6.75-6.78 (m, 2H), 6.91-

6.94 (m, 2H), 7.34-7.42 (m, 3H), 7.76 (d, J = 12.8 Hz, 1H).

【 0 3 3 8 】

8. 2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニル)アセトアミド

20

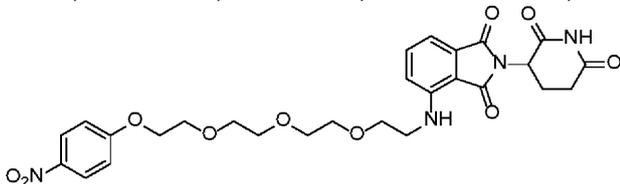


30

(表1に示す構造#14)

【 0 3 3 9 】

工程1: (2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-(2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルアミノ)イソインドリン-1,3-ジオン



乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(2mL)中の2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エタンアミン(128mg、0.41mmol)と、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン(112.5mg、0.41mmol)と、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(105mg、0.81mmol)との混合物を90で12時間攪拌した。混合物を室温まで冷却し、水(20mL)に注ぎ、酢酸エチル(35mL x 2)で抽出した。合わせた有機相を水(30mL)およびブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣を分取TLCで精製して2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-(2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルアミノ)イソインドリン-1,3-ジオン(73mg、収率31%)を黄色の固形物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>):

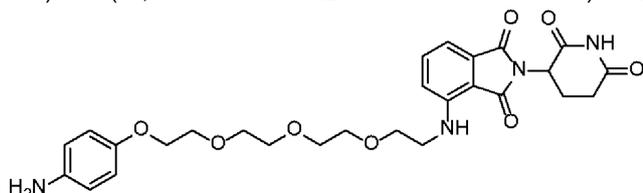
40

$m/z 571.3$  [MH]<sup>+</sup>,  $t_R = 2.46$ 分。

【 0 3 4 0 】

50

工程2: (4-(2-(2-(2-(2-(4-アミノフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルアミノ)-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン)



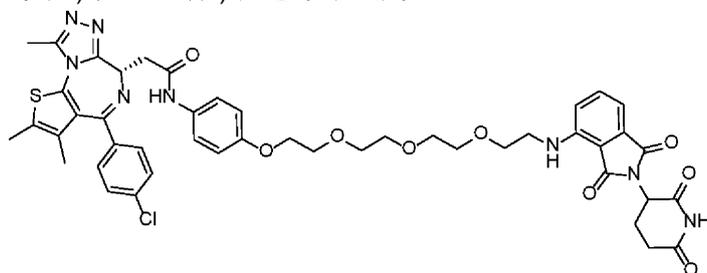
エタノール(2mL)中の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-(2-(2-(2-(2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルアミノ)イソインドリン-1,3-ジオン(73mg、0.128mmol)と鉄粉(71.6mg、1.28mmol)との懸濁液に室温で水(0.5mL)中の塩化アンモニウム(68mg、1.26mmol)の溶液を加え、得られた混合物を80℃で1時間攪拌した。混合物を室温まで冷却した後、固体析出物をろ別し、酢酸エチル(10mL×2)で洗浄した。ろ液を酢酸エチル(60mL)と水(30mL)とに分割した。有機層をブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して、4-(2-(2-(2-(2-(4-アミノフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルアミノ)-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン(66.5mg、粗製)を黄色の油状物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 541.5 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 1.593分。

10

【0341】

工程3: 2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニル)アセトアミド

20



乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(1mL)中の4-(2-(2-(2-(2-(4-アミノフェノキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチルアミノ)-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン(58.4mg、0.11mmol)と、(S)-2-(4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)酢酸(43.3mg、0.11mmol)と、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(41.8mg、0.32mmol)との攪拌溶液に(2-(7-アザ-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リン酸)(82mg、0.21mmol)を0℃で加えた。得られた混合物を室温まで温め、室温で20分間攪拌した。混合物を水(25mL)に注ぎ、酢酸エチル(35mL×2)で抽出した。合わせた有機相を水(20mL)およびブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣を分取TLCにより精製して2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニル)アセトアミド(52mg、収率52%)を黄色の固形物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 923.29/925.29 (3:1) [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.689分。

30

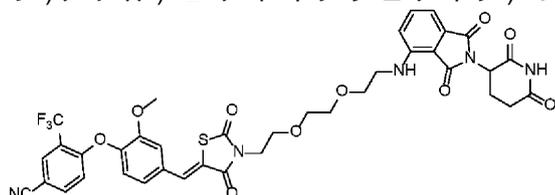
40

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.67 (s, 3H), 2.05-2.12 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.65-2.85 (m, 6H), 3.41-3.54 (m, 4H), 3.65-3.74 (m, 10H), 3.81-3.85 (m, 2H), 4.06-4.11 (m, 2H), 4.63-4.69 (m, 1H), 4.85-4.93 (m, 1H), 6.38-6.55 (m, 1H), 6.83 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 6.92 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.09 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.39-7.51 (m, 5H), 8.59 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 8.77 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H).

【 0 3 4 2 】

9. (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソイン  
ドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデ  
ン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル

10

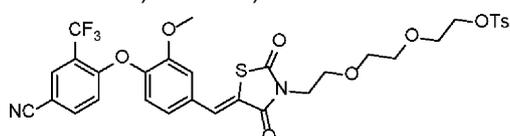


(表1に示す化合物 # 22)

【 0 3 4 3 】

工程1: (Z)-4-メチルベンゼンスルホン酸2-(2-(2-(5-(4-(4-シアノ-2-(トリフルオロメチル)フェノキシ)-3-メトキシベンジリデン)-2,4-ジオキソチアゾリジン-3-イル)エトキシ)エトキシ)エチル)

20



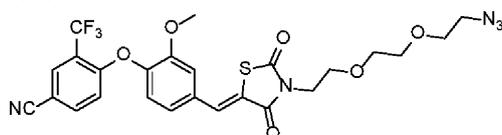
N,N-ジメチルホルムアミド(10mL)中の(Z)-4-(4-((2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデ  
ン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(1.0g、2.3m  
mol)と、炭酸カリウム(1.0g、6.9mmol)と、ビス(4-メチルベンゼンスルホン酸)2,2'-(エ  
タン-1,2-ジイルビス(オキシ))ビス(エタン-2,1-ジイル)(1.3g、2.7mmol)との混合物を80  
で16時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、水(10mL)で停止させ、酢酸エチル(4  
0mL  $\times$  3)で抽出した。合わせた有機相を水(50mL)およびブライン(50mL)で洗浄し、硫酸ナ  
トリウムで乾燥させ、減圧下で蒸発させた。粗残渣シリカゲルフラッシュカラムクロマト  
グラフィ(ヘキサン中10~30%酢酸エチルで溶出)で精製して、(Z)-4-メチルベンゼンス  
ルホン酸2-(2-(2-(5-(4-(4-シアノ-2-(トリフルオロメチル)フェノキシ)-3-メトキシベン  
ジリデン)-2,4-ジオキソチアゾリジン-3-イル)エトキシ)エトキシ)エチル(1.0g、収率61  
%)を薄黄色の固形物として得た。

30

【 0 3 4 4 】

工程2: (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾ  
リジン-5-イリデ)ン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニ  
トリル

40



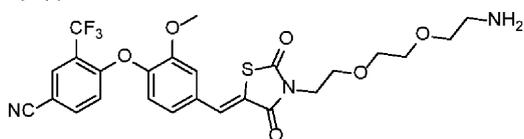
エタノール(20mL)中の(Z)-4-メチルベンゼンスルホン酸2-(2-(2-(5-(4-(4-シアノ-2-(  
トリフルオロメチル)フェノキシ)-3-メトキシベンジリデン)-2,4-ジオキソチアゾリジン-  
3-イル)エトキシ)エトキシ)エチル(1.0g、1.4mmol)とアジ化ナトリウム(185mg、2.8mmol)  
との混合物を16時間還流させた。反応混合物を室温まで冷却し、酢酸エチル(100mL)と水(  
20mL)とで分割した。有機層をブライン(30ml)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ  
、減圧下で濃縮して、(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジ

50

オキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(130mg、粗製)を薄黄色の油状物として得、これをさらに精製することなく次の工程で用いた。

【0345】

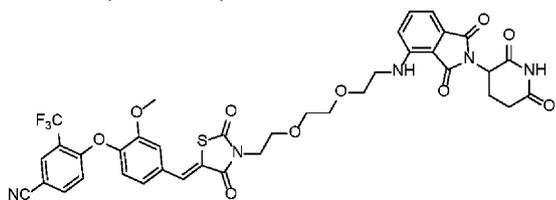
工程3：(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル



水(0.2mL)およびテトラヒドロフラン(20mL)中の上記(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(130mg、粗製)と、トリフェニルホスフィン(100mg、0.34mmol)との混合物を室温で14時間撹拌した。混合物を減圧下で濃縮した。粗残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(ジクロロメタン中3~5%メタノールで溶出)、(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(60mg、2工程で8%の収率)を黄色の油状物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 552.1 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.15分。

【0346】

工程4：(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル



1-メチルピロリジン-2-オン(1mL)中の(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(60mg、0.10mmol)と、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン(30mg、0.13mmol)と、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(50mg、0.39mmol)との混合物を90℃で16時間撹拌した。反応混合物を室温まで冷却し、水(5mL)で停止させ、酢酸エチル(20mL×3)で抽出した。合わせた有機層を水(10mL×2)およびブライン(10mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣を分取TLCにより精製して、(Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エチル)-2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イリデン)メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(9.5mg、収率11.8%)を黄色の固形物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 808.19 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 3.022分。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.12-2.16 (m, 1H), 2.73-2.91

(m, 3H), 3.42 (s, 2H), 3.67-3.80 (m, 11H), 3.99 (s, 2H), 4.91-4.95 (m, 1H), 6.51 (s, 1H),

6.76-6.86 (m, 2H), 7.02-7.19 (m, 4H), 7.43 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.85-

8.12 (m, 3H).

【0347】

10. 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-((2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)アミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチ

10

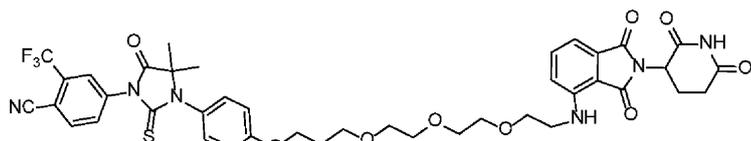
20

30

40

50

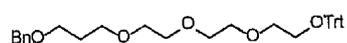
ル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル



(表1に示す化合物#1)

【0348】

工程1: 1,1,1,16-テトラフェニル-2,5,8,11,15-ペンタオキサヘキサデカン



N,N-ジメチルホルムアミド(50mL)中の2-(2-(2-(トリチルオキシ)エトキシ)エトキシ)エタノール(7g、17.7mmol)の溶液に水素化ナトリウム(鉱油中60%、707mg、17.7mmol)を0でゆっくりと加えた。混合物を室温で30分間攪拌した後、4-メチルベンゼンスルホン酸3-(ベンジルオキシ)プロピル(5.8g 18.0mmol)を0で一度に加え、得られた混合物を70で一晩攪拌した。混合物を室温まで冷却した後、水(40mL)で慎重に停止させ、酢酸エチル(60mL×3)で抽出した。合わせた有機相をブライン(80mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン中の5~10%酢酸エチルで溶出)で精製して、1,1,1,16-テトラフェニル-2,5,8,11,15-ペンタオキサヘキサデカン(4.8g、収率50%)を無色の油状物として得た。

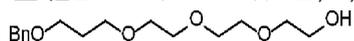
<sup>1</sup>H NMR

(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.85-1.92 (m, 2H), 3.23 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.53-3.59 (m, 6H), 3.64-

3.68 (m, 8H), 4.47 (s, 2H), 7.19-7.33 (m, 15H), 7.45-7.47 (m, 5H).

【0349】

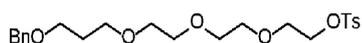
工程2: 1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-オール



二塩化メチレン(10mL)およびメタノール(10mL)中の1,1,1,16-テトラフェニル-2,5,8,11,15-ペンタオキサヘキサデカン(4.8g 8.8mmol)の溶液に塩酸水溶液(37%、2.5mL)を0で加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物を水(30mL)に注ぎ、ジクロロメタン(20mL×3)で抽出した。合わせた有機相を重炭酸ナトリウム水溶液(1N、50mL)、水(30mL)、ブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中20~40%の酢酸エチルで溶出)で精製して、1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-オール(1.9g、収率73%)を無色の油状物として得た。

【0350】

工程3: 4-メチルベンゼンスルホン酸1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-イル



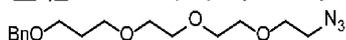
ジクロロメタン(20mL)中の1-フェニル-2,7,10,13-テトラオキサペンタデカン-15-オール(1.9g、6.3mmol)と、トリエチルアミン(1.3mL、9.5mmol)と、N,N-ジメチルピリジン-4-アミン(75mg、0.63mmol)と、4-メチルベンゼン-1-スルホニルクロリド(1.45g、7.65mmol)との混合物を室温で3時間攪拌した。水(20mL)を加えて反応を停止させ、生成物をジクロロメタン(40mL×3)で抽出した。合わせた有機相をブライン(50mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で蒸発させた。粗残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中10~30%酢酸エチルで溶出)で精製して、4-メチルベンゼンスルホン酸1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-イル(2.2g、収率78%)を無色の油状物として得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$

1.87-1.92 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 3.54-3.60 (m, 12H), 3.67 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 4.15 (t,  $J = 5.0$  Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 7.27-7.33 (m, 7H), 7.79 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H).

【 0 3 5 1 】

工程4: 14-アジド-1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン

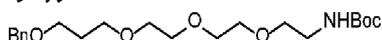


エタノール (10mL) 中の4-メチルベンゼンスルホン酸1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-イル (2.2g, 4.9mmol) とアジ化ナトリウム (420mg, 6.3mmol) との混合物を5時間還流させた。反応混合物を室温まで冷却し、水 (10mL) に注ぎ、そしてジクロロメタン (50mL  $\times$  3) で抽出した。合わせた有機層をブライン (50mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮し、14-アジド-1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン (1.4g, 粗製) を無色の油状物として得、これをさらに精製することなく次の工程で用いた。

10

【 0 3 5 2 】

工程5: (1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-イル)カルバミン酸tert-ブチル

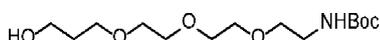


テトラヒドロフラン (15mL) および水 (0.5mL) 中の上記14-アジド-1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン (1.4g, 粗製) とトリフェニルホスフィン (1.7g, 6.5mmol) との混合物を窒素雰囲気下室温で一晩攪拌した。反応混合物にトリエチルアミン (0.9mL, 6.5mmol) および重炭酸ジ-tert-ブチル (1.1g, 5.2mmol) を0 で加えた。得られた混合物を室温まで温め、室温で2時間攪拌した。揮発物を減圧下で蒸発させ、残渣をジクロロメタン (100mL) と水 (50mL) とで分割した。有機相をブライン (30mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中の30~50%酢酸エチルで溶出) により精製して、(1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-イル)カルバミン酸tert-ブチル (1.2g, 2工程で50%の収率) を無色の油状物として得た。

20

【 0 3 5 3 】

工程6: 2-(2-(2-(3-ヒドロキシプロポキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル

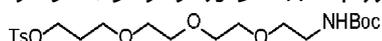


エタノール (50mL) 中の(1-フェニル-2,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-14-イル)カルバミン酸tert-ブチル (1.2g, 3mmol) とパラジウム炭素 (10%, 200mg) との混合物を水素雰囲気下 (水素バルーン) 室温で攪拌した。パラジウム炭素をろ過により除去し、エタノール (20mL) で洗浄した。ろ液を減圧下で濃縮して、2-(2-(2-(3-ヒドロキシプロポキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル (900mg, 粗製) を無色の油状物として得、これをさらに精製することなく次の工程で用いた。

30

【 0 3 5 4 】

工程7: 4-メチルベンゼンスルホン酸2,2-ジメチル-4-オキソ-3,8,11,14-テトラオキサ-5-アザヘプタデカン-17-イル



無水ジクロロメタン (15mL) 中の上記2-(2-(2-(3-ヒドロキシプロポキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル (900mg, 粗製) と、トリエチルアミン (0.6mL, 4.35mmol) と、N,N-ジメチルピリジジ-4-アミン (16mg, 0.14mmol) と、4-メチルベンゼン-1-スルホンクロリド (660mg, 3.5mmol) との混合物を室温で3時間攪拌した。水 (20mL) を加えて反応を停止させ、生成物をジクロロメタン (50mL  $\times$  3) で抽出した。合わせた有機相をブライン (50mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で蒸発させた。粗残渣をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中20~30%酢酸エチルで溶出) で精製して、4-メチルベンゼンスルホン酸2,2-ジメチル-4-オキソ-3,8,11,14-テトラオキサ

40

50

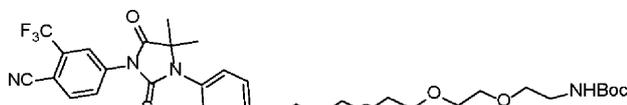
-5-アザヘプタデカン-17-イル(650mg、収率77%)を薄黄色の油状物として得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.44 (s, 9H), 1.88-1.95 (m, 2H), 2.45 (s,

3H), 3.29-3.33 (m, 2H), 3.48-3.61 (m, 12H), 4.09-4.15 (m, 2H), 5.04 (brs, 1H), 7.34 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.79 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H).

【0355】

工程8: (2-(2-(2-(3-(4-(3-(4-シアノ-3-(トリフルオロメチル)フェニル)-5,5-ジメチル-4-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)フェノキシ)プロポキシ)エトキシ)エトキシ)エチル)カルバミン酸tert-ブチル



アセトニトリル(5mL)中の4-メチルベンゼンスルホン酸2,2-ジメチル-4-オキソ-3,8,11,14-テトラオキサ-5-アザヘプタデカン-17-イル(115mg、0.25mmol)と、炭酸カリウム(69mg、0.50mmol)と、4-(3-(4-ヒドロキシフェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(100mg、0.25mmol)との混合物を80℃で16時間撹拌した。反応混合物を室温まで冷却し、水(30mL)で停止させ、酢酸エチル(30mL×3)で抽出した。合わせた有機相を水(30mL)およびブライン(30mL)で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、減圧下で蒸発させた。粗残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフで精製して(ヘキサン中10~30%酢酸エチルで溶出)、2-(2-(2-(3-(4-(3-(4-シアノ-3-(トリフルオロメチル)フェニル)-5,5-ジメチル-4-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)フェノキシ)プロポキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル(150mg、収率82%)を黄色の油状物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>):  $m/z$  695.40 [MH<sup>+</sup>],  $t_R$  = 2.79分。

【0356】

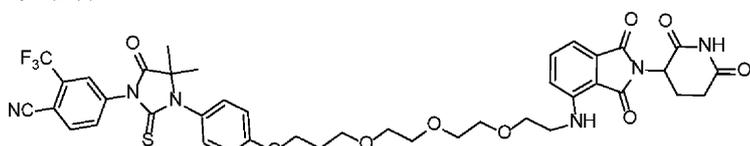
工程9: 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル



無水ジクロロメタン(2mL)および2,2,2-トリフルオロ酢酸(1mL)中の2-(2-(2-(3-(4-(3-(4-シアノ-3-(トリフルオロメチル)フェニル)-5,5-ジメチル-4-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)フェノキシ)プロポキシ)エトキシ)エトキシ)エチルカルバミン酸tert-ブチル(150mg、0.21mmol)の混合物を室温で1時間撹拌した。揮発物を減圧下で蒸発させ、残渣を重炭酸ナトリウム水溶液(1N、20mL)に注ぎ、ジクロロメタン(50mL×3)で抽出した。合わせた有機相をブライン(50mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(115mg、粗製)を得、これをさらに精製することなく次の工程で用いた。

【0357】

工程10: 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-((2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)アミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル



N,N-ジメチルホルムアミド(2mL)中の上記4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル

10

20

30

40

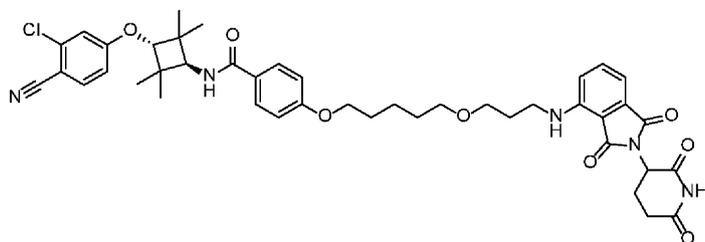
50

シ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(115mg、粗製)と、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン(41mg、0.15mmol)と、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(58mg、0.44mmol)との溶液を90 で16時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、水(3mL)で停止させ、酢酸エチル(30mL×3)で抽出した。合わせた有機層を水(30mL×2)およびブライン(20mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残渣を分取TLCにより精製して、4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-((2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)アミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロポキシ)フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-チオキソイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル(34.5mg、収率 10  
27%)を黄色の固形物として得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 851.25 [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.652分。  
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 1.57 (s, 6H), 2.07-2.11

(m, 3H), 2.70-2.90 (m, 3H), 3.46-3.72 (m, 14H), 4.10 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 4.88-4.92 (m, 1H),  
6.48-6.49 (m, 1H), 6.91-7.26 (m, 6H), 7.49 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.83-7.85(m, 1H), 7.97-8.02  
(m, 3H).

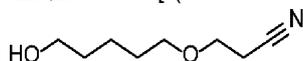
【 0 3 5 8 】

11. 4-{{5-(3-{{2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ}プロポキシ)ペンチル]オキシ}-N-[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]ベンズアミド 20



【 0 3 5 9 】

工程1: 3-[(5-ヒドロキシペンチル)オキシ]プロパンニトリル 30



ペンタン-1,5-ジオール(2.98g、28.6mmol)をTHF(50mL)中の水素化ナトリウム(鉱油中60%分散液、820mg、34.2mmol)の懸濁液に加えた。混合物を室温で20分間攪拌した後、0まで冷却し、アクリロニトリル(1.20g、22.8mmol)を滴下した。得られた混合物を室温で10時間攪拌した。溶媒の一部を真空下で除去し、残渣を水に注いだ。混合物をDCM(3×)で抽出した。有機層をBiotage Universal Phase Separatorに通してろ過し、真空中で濃縮した。粗物質をMeOH/DCM(0:100~3:97)で溶離するTeledyne Combiflash ISCO上のシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、3-[(5-ヒドロキシペンチル)オキシ]プロパンニトリル(635mg、収率18%)を得た。 40

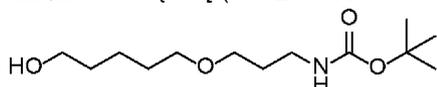
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.60-

3.73 (m, 4H), 3.45-3.55 (m, 2H), 2.60 (dt, J = 4.1, 6.4 Hz, 2H), 2.06 (d, J = 3.9 Hz, 1H),

1.57-1.69 (m, 4H), 1.43-1.50 (m, 2H).

【 0 3 6 0 】

工程2: N-{3-[(5-ヒドロキシペンチル)オキシ]プロピル}カルバミン酸tert-ブチル



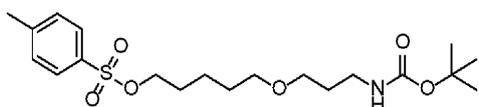
MeOH(12mL)およびH<sub>2</sub>O(2.0mL)中の3-[(5-ヒドロキシペンチル)オキシ]プロパンニトリル 50

(400mg、2.54mmol)の溶液に塩化ニッケル(II)(393mg、3.04mmol)、続いて水素化ホウ素ナトリウム(360mg、9.52mmol)を少しずつ加えた。混合物を室温で3時間攪拌し、次いでMeOH(12mL)で停止させた。混合物をセライトに通してろ過し、MeOHで洗浄した。ろ液を真空中で濃縮した。THF(5mL)中の上記粗生成物の溶液に6M NaOH水溶液(0.5mL)および重碳酸ジ-tert-ブチル(831mg、3.81mmol)を加え、得られた混合物を室温で3時間攪拌し、次いで真空中で濃縮した。粗物質をMeOH/DCM(0:100~4:96)で溶離するTeledyne Combiflash ISCO上のシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、N-{3-[(5-ヒドロキシペンチル)オキシ]プロピル}カルバミン酸tert-ブチル(366mg、収率55%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.91 (br. s., 1H), 3.66 (br. s., 2H), 3.49 (t,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.43 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.24 (q,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 1.75 (quin,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 1.57-1.65 (m, 5H), 1.41-1.52 (m, 11H).

【0361】

工程3: N-[3-({5-[(4-メチルベンゼンスルホニル)オキシ]ペンチル}オキシ)プロピル]カルバミン酸tert-ブチル



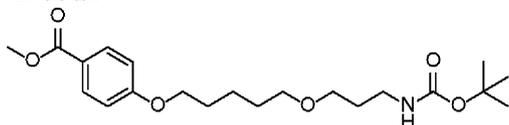
DCM(10mL)中の(3-((5-ヒドロキシペンチル)オキシ)プロピル)カルバミン酸tert-ブチル(300mg、3.88mmol)の溶液にDIPEA(599.3  $\mu\text{L}$ 、3.44mmol)、塩化トシル(262.3mg、1.38mmol)および4-ジメチルアミノピリジン(14.0mg、0.115mmol)を加えた。得られた混合物を室温で20時間攪拌した。反応を半飽和重碳酸ナトリウムで停止させ、DCM(2 $\times$ )で抽出し、Biotage Universal Phase Separatorを通してろ過し、真空中で濃縮した。粗物質をEtOAc/ヘプタン(0:100~30:70)で溶離するTeledyne Combiflash ISCO上のシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、N-[3-({5-[(4-メチルベンゼンスルホニル)オキシ]ペンチル}オキシ)プロピル]カルバミン酸tert-ブチル(914mg、収率26%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.78 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.34 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 4.02 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 3.44 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.35 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.19 (q,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.64-1.74 (m, 5H), 1.49-1.54 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.33-1.40 (m, 2H).

LC-MS ( $\text{ES}^+$ ):  $m/z$  438.19 [ $\text{MNa}^+$ ],  $t_R = 2.65$ 分。

【0362】

工程4: 4-{{5-(3-{{(tert-ブトキシ)カルボニル}アミノ}プロポキシ)ペンチル}オキシ}安息香酸メチル



MeCN(10mL)中のN-[3-({5-[(4-メチルベンゼンスルホニル)オキシ]ペンチル}オキシ)プロピル]カルバミン酸tert-ブチル(340mg、0.82mmol)と、4-ヒドロキシ安息香酸メチル(117mg、0.77mmol)と、炭酸カリウム(203mg、1.47mmol)との混合物を80 $^\circ\text{C}$ で24時間攪拌した。反応混合物をEtOAcで希釈し、半飽和重碳酸ナトリウム溶液(1 $\times$ )、水(2 $\times$ )、ブライン(1 $\times$ )で洗浄し、次いでBiotage Universal Phase Separatorを通してろ過した。ろ液を真空中で濃縮し、残渣をEtOAc/ヘプタン(0:100~50:50)で溶離するTeledyne Combiflash ISCO上のシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、4-{{5-(3-{{(tert-ブトキシ)カルボニル}アミノ}プロポキシ)ペンチル}オキシ}安息香酸メチル(300mg、収率93%)を得た。LC-MS ( $\text{ES}^+$ ):  $m/z$  418.21 [ $\text{MNa}^+$ ],  $t_R = 2.74$ 分。

【0363】

工程5: 4-{{5-(3-{{(tert-ブトキシ)カルボニル}アミノ}プロポキシ)ペンチル}オキシ}安息香酸

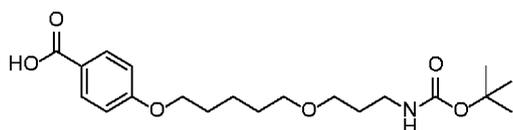
10

20

30

40

50

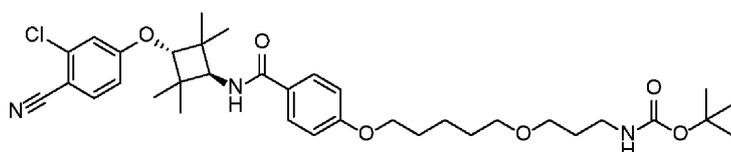


1:1:1のTHF/水/MeOH(6.0mL、v/v/v)中の4-{{5-(3-{{(tert-ブトキシ)カルボニル}アミノ}プロポキシ)ペンチル}オキシ}ベンゾエート(150mg、0.38mmol)の溶液に水酸化リチウム(81.6mg、3.41mmol)を加えた。得られた混合物を室温で一晩攪拌し、次いで6N HCl水溶液でpH2~3まで酸性化した。混合物を真空中で濃縮して溶液のほとんどを除去し、次いでEtOAcで希釈し、水(2x)、ブライン(2x)で洗浄し、Biotage Universal Phase Separatorを通してろ過し、真空中で濃縮した。粗生成物をさらに精製することなく次の工程で用いた(123mg)。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 404.20 [MNa<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.40分。

10

【0364】

工程6: N-(3-{{5-(4-{{[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]カルバモイル}フェノキシ)ペンチル}オキシ}プロピル)カルバミン酸tert-ブチル

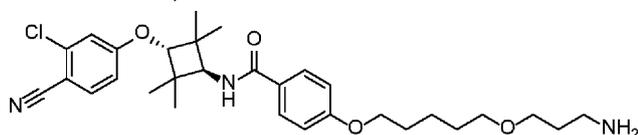


DMF(5mL)中の4-{{5-(3-{{(tert-ブトキシ)カルボニル}アミノ}プロポキシ)ペンチル}オキシ}安息香酸(124mg、0.322mmol)と、2-クロロ-4-(トランス-3-アミノ-2,2,4,4-テトラメチルシクロブトキシ)ベンズニトリル(89.8mg、0.322mmol)との溶液にDIPEA(112 μL、0.65mmol)およびTBTU(155mg、0.48mmol)を加えた。得られた混合物を室温で1時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈し、水(3x)、ブライン(1x)で洗浄し、Biotage Universal Phase Separatorを通してろ過し、真空中で濃縮した。残渣をMeOH/DCM(0:100~5:95)で溶離するTel edyne Combiflash ISCO上のシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、N-(3-{{5-(4-{{[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]カルバモイル}フェノキシ)ペンチル}オキシ}プロピル)カルバミン酸tert-ブチル(169mg、収率82%)を得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 643.32/645.31 (3:1) [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 3.04分。

20

【0365】

12. 4-{{5-(3-アミノプロポキシ)ペンチル}オキシ}-N-[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]ベンズアミド

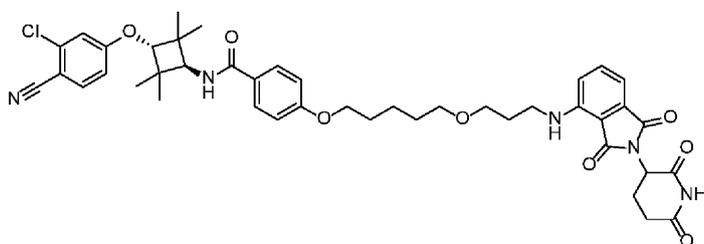


DCM(5mL)中のN-(3-{{5-(4-{{[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]カルバモイル}フェノキシ)ペンチル}オキシ}プロピル)カルバミン酸tert-ブチル(124mg、0.192mmol)の溶液にトリフルオロ酢酸(372 μL、4.86mmol)を加え、完了するまで45 で1時間加熱した。次いで反応物を真空中で固形物にまで濃縮し、さらなる精製はせずに次のステップで用いた(104mg、収率99%)。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 543.27/545.26 (3:1) [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.26分。

40

【0366】

13. 4-{{5-(3-{{2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル}アミノ}プロポキシ)ペンチル}オキシ}-N-[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]ベンズアミド



(表1に示す化合物#11)

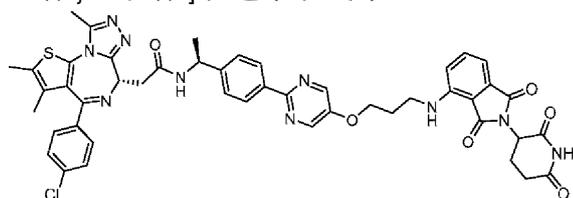
1,4-ジオキサソ(2mL)中の4-{{[5-(3-アミノプロポキシ)ペンチル]オキシ}-N-[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]ベンズアミド(30.0mg、0.0553mmol)の溶液にジイソプロピルエチルアミン(384  $\mu$ L、2.21mmol)、2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1,3-ジオン(18.3mg、0.0664mmol)を加えた。得られた混合物を16時間還流させ、次いでEtOAcで希釈し、半飽和ブライン溶液(2 $\times$ )で洗浄し、Biotage Universal Phase Separatorを通してろ過し、真空中で濃縮した。残渣をMeOH/DCM(0:100~7:93)で溶離するTeledyne Combiflash ISC 0上のシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、4-{{[5-(3-{{[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ}プロポキシ)ペンチル]オキシ}-N-[トランス-3-(3-クロロ-4-シアノフェノキシ)-2,2,4,4-テトラメチルシクロブチル]ベンズアミド(12mg、収率28%)を得た。LC-MS (ES<sup>+</sup>): m/z 799.31/801.31 (3:1) [MH<sup>+</sup>], t<sub>R</sub> = 2.97分。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.03 (s, 1H),

7.72 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.48 (dd, J = 7.2, 8.4 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.89-6.96 (m, 3H), 6.82 (dd, J = 2.5, 8.8 Hz, 1H), 6.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.89 (dd, J = 5.1, 12.1 Hz, 1H), 4.16 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.06 (s, 1H), 4.02 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.56 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.50 (s, 2H), 3.46-3.48 (m, 1H), 3.41 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.82-2.90 (m, 1H), 2.76-2.81 (m, 1H), 2.67-2.75 (m, 1H), 2.07-2.14 (m, 1H), 1.94 (quin, J = 6.1 Hz, 2H), 1.82-1.87 (m, 2H), 1.67-1.73 (m, 2H), 1.53-1.59 (m, 2H), 1.28 (s, 6H), 1.20-1.25 (m, 6H).

【 0 3 6 7 】

14. 2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-((1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチル)アセトアミド、別名2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ[8.3.0.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1S)-1-{4-[5-(3-{{[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ}プロポキシ)ピリミジン-2-イル]フェニル}エチル]アセトアミド



(化合物#40、表1)

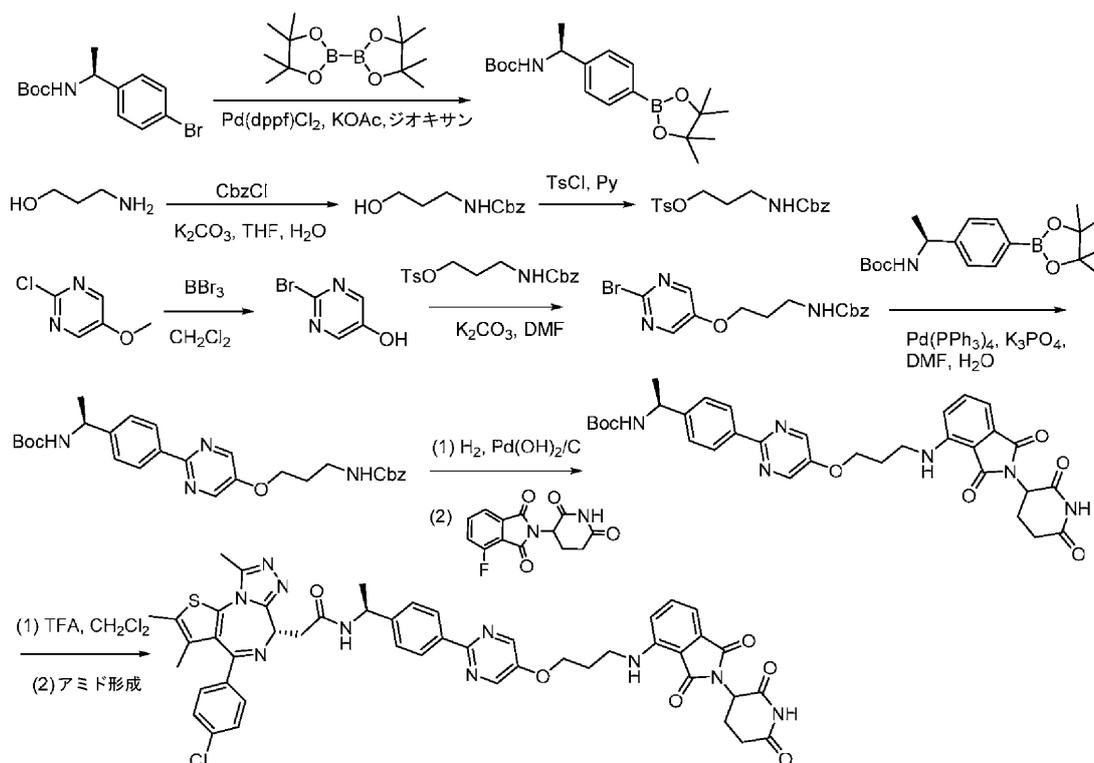
化合物40は以下の例示的なスキームによって調製することができる：

10

20

30

40



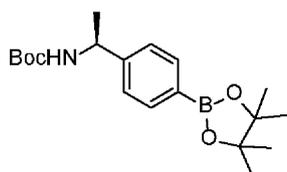
10

20

## 【 0 3 6 8 】

工程1：(S)-1-(4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)フェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチルの調製

## 化合物 40



30

ジオキサン中(50mL)の(S)-1-(4-プロモフェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチル(6g、20.0mmol)と、4,4,4',4',5,5,5',5'-オクタメチル-2,2'-ビ(1,3,2-ジオキサボロラン)(7.6g、29.9mmol)と、酢酸カリウム(5.9mg、60.1mmol)との攪拌溶液に[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)](440mg、0.60mmol)を窒素雰囲気下室温で加えた。混合物に脱気および窒素の再充填を3回行った。得られた混合物を90℃で一晩攪拌した。室温まで冷却した後、反応混合物を酢酸エチル(100mL)および水(50mL)とで分割した。水層を分離し酢酸エチルで抽出した(50mL×2)。合わせた有機層をブライン(100mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(ヘキサン中5~10%酢酸エチルで溶出)、(S)-1-(4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)フェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチル(7.4g、収率98%)を黄色の油状物として得た。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 370.0 [M+Na<sup>+</sup>]; t<sub>R</sub> = 3.165分; <sup>1</sup>HNMR (400MHz,

40

CDCl<sub>3</sub>): δ 1.26 (s, 12H), 1.34 (s, 12H), 4.78 (br, 1H), 7.30 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.78 (d, J = 8.0 Hz, 2H)

化学式: C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>BNO<sub>4</sub>; 分子量: 347.26

## 【 0 3 6 9 】

工程2：3-ヒドロキシプロピルカルバミン酸ベンジルの調製



水 (50mL) とテトラヒドロフラン (100mL) との混合液中の 3-アミノプロパン-1-オール (20g、266mmol) と炭酸カリウム (73g、529mmol) との攪拌溶液に 0 のクロロギ酸ベンジル (68g、398mmol) を加えた。混合物を室温まで温め、室温で一晩攪拌した。反応混合物を酢酸エチル (200mL) と水 (100mL) とで分割した。有機層を集め、ブライン (100mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して (ヘキサン中 20~50% 酢酸エチルで溶出)、3-ヒドロキシプロピルカルバミン酸ベンジル (26.9g、収率 52%) を無色の油状物として得た。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 232.1 [M+Na<sup>+</sup>]; t<sub>R</sub> = 1.697分;

10

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.67-1.73 (m, 2H), 2.56 (t, J=5.8

Hz, 1H), 3.33-3.38 (m, 2H), 3.65-3.70 (m, 2H), 5.06 (br, 1H), 5.11 (s, 2H), 7.29-7.36 (m, 5H)

化学式: C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>; 分子量: 209.24

【 0 3 7 0 】

工程3: 4-メチルベンゼンスルホン酸3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロピルの調製



ピリジン (40mL) 中の 3-ヒドロキシプロピルカルバミン酸ベンジル (26.9g、128.6mmol) の攪拌溶液に塩化4-トルエンスルホニル (73g、384mmol) を 0 で加えた。混合物を室温まで温め、室温で2時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチル (120mL) と水 (80mL) とで分割した。有機層を集め、塩酸 (1N、480mL) およびブライン (100mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して (ヘキサン中 10~20% 酢酸エチルで溶出)、4-メチルベンゼンスルホン酸3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロピル (38.5g、収率 82%) を黄色の油状物として得た。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 386.2 [M+Na<sup>+</sup>]; t<sub>R</sub> = 2.582分;

20

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.85-1.91 (m, 2H), 2.43 (s, 3H),

3.25 (m, 2H), 4.09 (t, J=6.0 Hz, 2H), 4.83 (br, 1H), 5.07 (s, 2H), 7.26-7.39 (m, 7H), 7.78 (d,

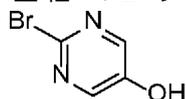
J=8.4 Hz, 2H)

30

化学式: C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>S; 分子量: 363.43

【 0 3 7 1 】

工程4: 2-ブロモピリミジン-5-オールの調製



無水ジクロロメタン (60mL) 中の 2-クロロ-5-メトキシピリミジン (10g、69.1mmol) の攪拌溶液にジクロロメタン (100mL) 中の三臭化ホウ素 (34.7g、138.5mmol) の溶液を -78 で加えた。混合物を室温まで温め、室温で一晩攪拌した。メタノール (80mL) を -78 で滴下して反応を停止させた。溶媒を減圧下で除去して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して (無水ジクロロメタン中 2~5% メタノールで溶出)、2-ブロモピリミジン-5-オール (6.5g、収率 54%) を黄色の固形物として得た。

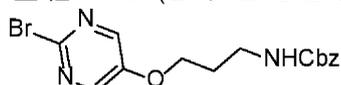
40

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.26(s, 2H), 8.49 (s, 1H)

化学式: C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>BrN<sub>2</sub>O; 分子量: 174.98

【 0 3 7 2 】

工程5: 3-(2-ブロモピリミジン-5-イルオキシ)プロピルカルバミン酸ベンジルの調製



N,N-ジメチルホルムアミド (30mL) 中の 2-ブロモピリミジン-5-オール (5g、38.3mmol) と

50

、4-メチルベンゼンスルホン酸3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロピル(13.9g、38.2mmol)と、炭酸カリウム(10.6g、76.8mmol)との混合物を80 で一晩攪拌した。室温まで冷却した後、反応混合物を酢酸エチル(50mL)および水(30mL)とで分割した。水層を酢酸エチル(50mL×2)で分離し抽出した。合わせた有機層をブライン(80mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(ヘキサン中20~40%酢酸エチルで溶出)、3-(2-プロモピリミジン-5-イルオキシ)プロピルカルバミン酸ベンジル(2.4g、収率23%)を無色の油状物として得た。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 367.9 [M+1] for Br<sup>81</sup>; t<sub>R</sub> = 2.375分;

<sup>1</sup>HNMR (400MHz,

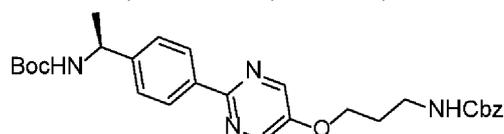
CDCl<sub>3</sub>): δ 2.04-2.08 (m, 2H), 3.39-3.43 (m, 2H), 4.08-4.13 (m, 2H), 5.09 (s, 2H), 7.34-7.36

(m, 5H), 8.22 (s, 2H)

化学式: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>; 分子量: 366.21

【0373】

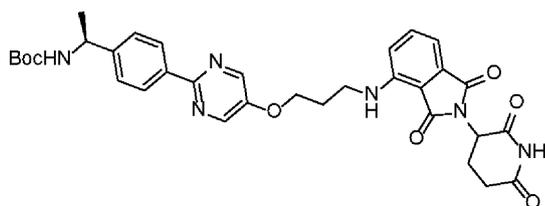
工程6: (S)-(1-(4-(5-(3-(((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチル)カルバミン酸tert-ブチルの調製



N,N-ジメチルホルムアミド(30mL)および水(5mL)中の3-(2-プロモピリミジン-5-イルオキシ)プロピルカルバミン酸ベンジル(2.4g、6.6mmol)と、(S)-1-(4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)フェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチル(2.3g、6.6mmol)と、リン酸カリウム三塩基三水和物(3.5g、13.3mmol)との攪拌溶液に塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(766mg、0.66mmol)を窒素雰囲気下室温に加えた。混合物に脱気および窒素の再充填を3回行った。得られた混合物を80 で4時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチル(70mL)と水(30mL)とで分割した。有機層を集め、ブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(ヘキサン中10~50%酢酸エチルで溶出)、(S)-(1-(4-(5-(3-(((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチル)カルバミン酸tert-ブチル(2.2g、収率67%)を白色の固形物として得た。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 507.5 [M+H<sup>+</sup>]; t<sub>R</sub> = 2.841分; 化学式: C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>; 分子量: 506.59

【0374】

工程7: (1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチルの調製



メタノール(5mL)中の(S)-(1-(4-(5-(3-(((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチル)カルバミン酸tert-ブチル(2.2g、4.4mmol)と水酸化パラジウム炭素(10%、200mg)との混合物を水素雰囲気下(水素バルーン)室温で一晩攪拌した。触媒をろ過により除去し、メタノール(50mL)で洗浄し、合わせたる液を減圧下で濃縮した。残渣を1-メチル-2-ピロリジノン(20mL)に再溶解し、続いて2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロイソインドリン-1,3-ジオン(1.2g、4.3mmol)およびN-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(2.3g、17.4mmol)を順次加えた。得られた混合

10

20

30

40

50

物を80 で2時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチル(30mL)と水(15mL)とで分割した。水層を酢酸エチル(25mL×2)で分離し抽出した。合わせた有機層をブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(ジクロロメタン中1~2%メタノールで溶出)、(1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチル(710mg、収率26%)を黄色の油状物として得た。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 629.3 [M+H<sup>+</sup>]; t<sub>R</sub> = 2.660分;

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ1.42-1.48(m,

12H), 2.04-2.07 (m, 2H), 2.11-2.26 (m, 4H), 3.54-3.59 (m, 2H), 4.24-4.26 (m, 2H), 4.90-4.94

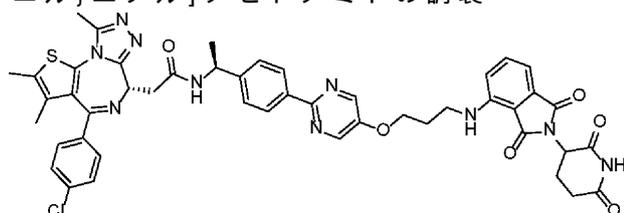
(m, 1H), 6.50-6.53 (m, 1H), 6.93-6.95 (m, 1H), 7.11-7.12 (m, 1H), 7.39-7.41 (m, 2H), 7.43-

7.48 (m, 3H), 8.08 (br, 1H), 8.28-8.32 (m, 2H), 8.51 (s, 2H)

化学式: C<sub>33</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>; 分子量: 628.67

【 0 3 7 5 】

工程8: 2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-((1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチル)アセトアミド、別名2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル)-N-[(1S)-1-{4-[5-(3-{[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ}プロポキシ)ピリミジン-2-イル]フェニル}エチル]アセトアミドの調製



ジクロロメタン(7mL)中の(1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチルカルバミン酸tert-ブチル(710mg、1.1mmol)と2,2,2-トリフルオロ酢酸(7mL)との混合物を室温で1時間攪拌した。揮発物を減圧下で蒸発させた。残渣を乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(10mL)に再溶解し、続いて(S)-2-(4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)酢酸(407mg、1.0mmol)、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン(730mg、5.6mmol)、およびHATU(2-(7-アザ-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)(1.3g、3.3mmol)を0 で順次加えた。得られた混合物を室温まで温め、室温で30分間攪拌した。反応混合物を酢酸エチル(40mL)と水(20mL)とで分割した。水層を酢酸エチル(25mL×2)で分離し抽出した。合わせた有機層をブライン(30mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮して粗残渣を得、これを分取TLCで精製して(ジクロロメタン中7%メタノールで溶出)、2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-((1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)プロポキシ)ピリミジン-2-イル)フェニル)エチル)アセトアミド(160mg、2回の工程後で収率15.5%)。LC/MS (ES<sup>+</sup>): m/z 911.3 [M+H<sup>+</sup>]; t<sub>R</sub> = 2.666分;

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.58 (d, *J*= 6.8 Hz, 3H), 1.66 (s, 3H), 1.94-2.01 (m, 1H), 2.11-2.14 (m, 1H), 2.22-2.23 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 2.75-2.90 (m, 2H), 3.38-3.43 (m, 1H), 3.55-3.62 (m, 3H), 4.24-4.26 (m, 2H), 4.58-4.61 (m, 1H), 4.89-4.93 (m, 1H), 5.18-5.22 (m, 1H), 6.48-6.55 (m, 1H), 6.89-6.94 (m, 2H), 7.10-7.12 (m, 1H), 7.32-7.41 (m, 6H), 7.50 (t, *J*= 7.6 Hz, 1H), 8.26-8.28 (m, 3H), 8.51 (s, 2H)

化学式 : C<sub>47</sub>H<sub>43</sub>C<sub>1</sub>N<sub>10</sub>O<sub>6</sub>S ; 分子量 : 911.43

【 0 3 7 6 】

### C. タンパク質分解バイオアッセイ

本明細書において開示の代表的な化合物を用いて、様々な細胞型で観察されるタンパク質分解のレベルを評価するために以下のバイオアッセイを実施した。

【 0 3 7 7 】

各バイオアッセイにおいて、表1に示すように、様々な量の本開示に含まれる化合物で細胞を処理した。本研究では以下のタンパク質の分解を評価した：TANK-結合キナーゼ1 (TBK1)、エストロゲン受容体 (ER)、プロモドメイン含有タンパク質4 (BRD4)、アンドロゲン受容体 (AR)、およびc-Myc。

【 0 3 7 8 】

#### 1. TBK1 ウエスタンプロトコル

Panc02.13細胞をATCCから購入し、15%FBS(ATCC)および10単位/mLヒト組換えインスリン(Gibco)を補充したRPMI-1640(Gibco)で培養した。DMSO対照および化合物の処理(0.1 μM、0.3 μM、および1 μM)を12ウェルプレート中で16時間行った。TLR3アゴニストPoly I:C(Invivogen; tlr1-pic)を最後の3時間加えた。細胞を回収し、プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤を補充したRIPA緩衝液(50mM Tris pH8、150mM NaCl、1%Tx-100、0.1%SDS、0.5%デオキシコール酸ナトリウム)で溶解した。溶解物を16,000gで10分間清澄化し、上清をSDS-PAGEによって分離した。標準的なプロトコルを用いてイムノブロッティングを実施した。用いた抗体はTBK1(Cell Signaling # 3504)、pIRF3(abcam # ab76493)、およびGAPDH(Cell Signaling # 5174)であった。バンドはBiorad ChemiDoc MPイメージングシステムを用いて定量した。

【 0 3 7 9 】

#### 2. ERR ウエスタンプロトコル

NAMALWA細胞(ATCC)を、15%FBS(Life Technologies)を補充したRPMI-1640(Life Technologies)で培養した。DMSO対照および化合物のインキュベーション(0.1 μM、0.3 μM、および1 μM)は24ウェルプレート中で16時間行った。細胞を採取し、プロテアーゼ阻害剤(Thermo Scientific)を含む細胞溶解緩衝液(Cell Signaling Technologies)で溶解した。溶解物を16,000gで10分間清澄化し、上清をSDS-PAGEによって分離した。標準的なプロトコルを用いてイムノブロッティングを実施した。用いた抗体はERR (Cell Signaling # 8644)およびGAPDH(Cell Signaling # 5174)であった。バンドはBio-Rad ChemiDoc MPイメージングシステムを用いて定量した。

【 0 3 8 0 】

#### 3. BRD4 ウエスタンプロトコル

VCaP細胞をATCCから購入し、10%FBS(ATCC)およびペニシリン/ストレプトマイシン(Life Technologies)を補充したダルベッコ変法イーグル培地(ATCC)で培養した。DMSO対照および化合物の処理(0.003 μM、0.01 μM、0.03 μMおよび0.1 μM)を12ウェルプレート中で16時間実施した。細胞を回収し、プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤を補充したRIPA緩衝液(50mM Tris pH8、150mM NaCl、1%Tx-100、0.1%SDS、0.5%デオキシコール酸ナトリウム)で溶解した。溶解物を16,000gで10分間清澄化し、タンパク質濃度を決定した。同量のタンパク質(20 μg)をSDS-PAGE分析に供し、続いて標準的なプロトコルに従ってイムノブロッティングを行った。用いた抗体は、BRD4(Cell Signaling # 13440)およびアクチン(Sigma # 5441)であった。検出試薬はClarity Western ECL基質(Bio-rad # 170-5060)で

10

20

30

40

50

あった。

【0381】

#### 4. AR ELISAプロトコル

VCaP細胞をATCCから購入し、10%FBS(ATCC)およびペニシリン/ストレプトマイシン(Life Technologies)を補充したダルベッコ変法イーグル培地(ATCC)で培養した。DMSO対照および化合物の処理(0.0001  $\mu$ M ~ 1  $\mu$ M)を96ウェルプレート中で16時間実施した。細胞を採取し、Cell Lysis Buffer(Catalog # 9803)(20mM Tris-HCL(pH7.5)、150mM NaCl、1mM Na<sub>2</sub>EDTA、1mM EGTA、1% Triton、2.5mMピロリン酸ナトリウム、1mM B-グリセロリン酸、1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、1 $\mu$ g/mlロイペプチンで溶解した。溶解物を16,000gで10分間清澄化し、PathScan AR ELISA(Cell Signaling Catalog # 12850)にロードした。PathScan(登録商標) Total Androgen Receptor Sandwich ELISAキットは、総アンドロゲン受容体タンパク質の内因性レベルを検出する固相サンドイッチ酵素免疫測定法(ELISA)である。アンドロゲン受容体ウサギmAbをマイクロウェルにコーティングした。細胞溶解物とのインキュベーション後、アンドロゲン受容体タンパク質はコーティングした抗体によって捕捉される。よく洗浄した後に、アンドロゲン受容体マウス検出mAbを加えて、捕捉されたアンドロゲン受容体タンパク質を検出する。次いで、抗マウスIgG HRP結合抗体を用いて、結合した検出抗体を認識する。HRP基質であるTMBを加えて発色させる。生じた色の吸光度の大きさは、総アンドロゲン受容体タンパク質の量に比例する。キット内の抗体はキットに専用のカスタム仕様である。

10

20

【0382】

#### 5. c-Myc ELISAアッセイプロトコル

22RV-1細胞をATCCから購入し、RPMI + 10%FBS培地で培養した。細胞をトリプシン(Gibco # 25200-114)を用いて採取し、96ウェルプレートにおいてRPMI + 10%FBS培地中75  $\mu$ L/ウェルの量で細胞30,000個/ウェルをカウントし播種した。細胞に0.1%DMSOで希釈した化合物を投与し、18時間インキュベートし、次いで、プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤を補充した50 $\mu$ L RIPA緩衝液(50mM Tris pH8、150mM NaCl、1%Tx-100、0.1%SDS、0.5%デオキシコール酸ナトリウム)で洗浄し溶解した。溶解物を4000rpmにて4分間清澄化した後、一定分量をLife Technologiesカタログ#KH02041からのNovex Human c-myc ELISAキットの96ウェルELISAプレートに加えた。50 $\mu$ Lのc-Myc検出抗体を各ウェルに加え、プレートを室温で3時間インキュベートし、ELISA洗浄緩衝液で洗浄した。100 $\mu$ Lの抗ウサギIgG-HRP二次抗体を各ウェルに加え、室温で30分間インキュベートした。プレートをELISA洗浄緩衝液で洗浄し、100  $\mu$ LのTMBを各ウェルに加え、次いで5分毎に色の変化をモニタリングした。100  $\mu$ Lの停止液を加え、プレートを450nmで読み取る。

30

【0383】

#### D. 結果

表1は、本開示に包含される代表的な数の化合物から得られた実験データの結果を提供する。特に、様々な細胞型を、化学構造、質量分析特性決定、および化合物名によって特定される表1に列挙した化合物で処理した。

【0384】

表1は、(A)1 $\mu$ Mの化合物1、6~9、12、および17で処理した細胞では10~30%の分解が達成され；(B)1 $\mu$ Mの化合物2~5、10、および20で処理した細胞では31~50%の分解が達成され；かつ(C)1 $\mu$ Mの化合物11、13~16、18~19、21および22で処理した細胞では>50%の分解が達成されたことを示す。表1は、(D)化合物24および26~35のIC<sub>50</sub>が<50nMである一方で、(E)化合物23および25のIC<sub>50</sub>が>50nMであることも示す。

40

【0385】

#### 実施例2

小分子阻害剤は腫瘍薬開発の基礎となっており、概して、酵素活性を阻害することによるか(キナーゼ阻害剤など)またはタンパク質間相互作用を妨害することによって(BRD4阻害剤など)働く。ほとんどの小分子阻害剤の可逆的結合を考えると、十分な機能的阻害を確実にするためには往々にして高い全身薬物濃度が必要とされる。さらに、インビボ有効

50

性に必要な高い全身薬物レベルを達成することおよび維持することは多くの標的には困難であることが証明されている。

【0386】

プロモドメイン・エクストラターミナルドメイン(BET)ファミリーのメンバーであるBRD4は、N末端にある2つのプロモドメイン(BDドメイン)およびC末端にあるエクストラターミナルドメイン(ETドメイン)を特徴とするタンパク質である。2つのBDドメインはヒストンタンパク質のN末端テールにあるアセチル化リジン残基を認識しかつこれと相互作用する。ETドメインは多様な転写調節因子を動員する際のスキヤフォールド機能を果たすと考えられているが、未だ完全には特性決定されていない。BRD4は、c-MYC、Bcl-xL、BCL-6などの重要ながん遺伝子の上流に往々にして存在するスーパーエンハンサー領域に位置し、それらの発現の調節に重要な役割を果たすことが示されている。BRD4は、特定のゲノム遺伝子座に関連する転写モジュレーターを動員することによる遺伝子発現を調節するその役割に基づいて、正中線がん、急性骨髄性白血病(AML)、多発性骨髄腫(MM)、パーキットリンパ腫(BL)、および前立腺がんなどの多数のヒトのがんを治療しかつ/または予防するための候補薬物標的である。

10

【0387】

JQ1、iBET、およびOTX15などのいくつかの小分子BETプロモドメイン阻害剤が開発されており、BLを含む様々ながんの特定の前臨床モデルにおける治療の可能性を示している。ほぼすべてのBL症例が、IgHの上流に位置するスーパーエンハンサーの制御下にc-mycを配置するc-myc遺伝子転座を含むため、異常に高レベルのc-MYC発現、腫瘍の発生および維持を促進する。BRD4阻害剤を用いた前臨床研究は、BL細胞株におけるc-MYCおよび増殖を抑制するそれらの能力を実証しているが；しかしながら、これらの阻害剤のIC<sub>50</sub>値は往々にして100nM~1μMの範囲である。

20

【0388】

A. 材料および方法

この研究からの実験計画および手順の詳細を下に提供する。

【0389】

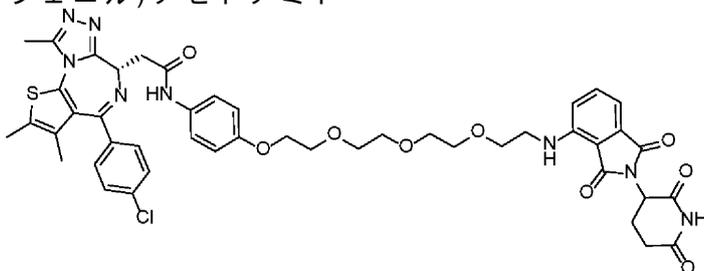
1. 化合物

化合物番号14(表1)を、実施例1、合成#8で上に検討した手順に従って合成した。この実施例全体を通じて「A825」と呼ばれるこの化合物は以下の名称および構造を有する。

30

【0390】

2-((S)-4-(4-クロロフェニル)-2,3,9-トリメチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-イル)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イルアミノ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)フェニル)アセトアミド



40

【0391】

図2に示すように、A825は、テトラオキサテトラデカンリンカーを通じてE3ユビキチンリガーゼセレブロン動員部位(ポマリドミドの誘導体)に接続したBRD4結合部位(OTX-15の誘導体)を含む。

【0392】

A825の細胞効果を様々な細胞株で評価し、これらの効果を2つの公知のBETドメイン阻害剤であるJQ1およびOTX-15と比較した。JQ1は公開された研究において最も頻繁に用いられるBETドメイン阻害剤であり、OTX-15は臨床開発が進んだ段階のBETドメイン阻害剤である

50

。

## 【 0 3 9 3 】

A825のセレブロン動員部分も様々な細胞株において評価し、ポマリドミドと比較した。

## 【 0 3 9 4 】

阻害剤JQ1、OTX-15、およびポマリドミドは公開されている方法に従って合成した。

## 【 0 3 9 5 】

## 2. 細胞および試薬

NAMALWA、Ramos、CA-46およびDAUDI細胞をATCCから購入し、指示どおりに維持した。BRD4 (#E2A7X)、c-MYC (#D84C12)、PARP (#46D11)に対する抗体はCell Signaling Technologyから購入した。アクチン (#A5441)抗体はSigmaAldrichから購入した。二次抗体 (#7074、#7076)はCell Signaling Technologyから購入した。MG132 (#M7449)はSigma Aldrichから購入した。カルフィルゾミブ (#S2853)はSelleckから購入した。

10

## 【 0 3 9 6 】

## 3. ウエスタンブロット分析

培養した細胞を、40mM HEPES(pH7.4)、140mM NaCl、2.5mM EDTA、1%NP-40、0.1%SDSおよびプロテアーゼ阻害剤カクテルを含む溶解緩衝液に集めた。10分間の遠心分離(14000 rpm)後、BCA法によるタンパク質濃度測定のために上清を集め、標準的なプロトコルによるイムノブロッティングに供した。ウエスタンブロットの結果は、Bio-Rad ChemiDoc(商標) MPイメージングシステム上でBio-Rad Clarity ECLウエスタンブロッティング基質を用いて視覚化した。

20

## 【 0 3 9 7 】

## 4. RT-PCR

RNA抽出は、Bio-RadからのAurum(商標) Total RNA Mini Kit (#732-6820)を用いて実施した。全RNAからのファーストストランドcDNAは、製造元の指示書に従ってLife TechnologiesからのHigh-Capacity cDNA逆転写キット (#4368813)により合成した。定量的PCRは、Bio-rad SsoAdvanced(商標) Universal SYBR(登録商標) Green Supermix (#172-5271)を用いて実施した。以下のプライマーを用いた。

プライマー	配列
GAPDH-フォワード	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC (SEQ ID NO: 6)
GAPDH-リバース	GAAGATGGTGATGGGATTTTC (SEQ ID NO: 7)
SLC19A1-フォワード	ATGGCCCCCAAGAAGTAGAT (SEQ ID NO: 8)
SLC19A1-リバース	GTCAACACGTTCTTTGCCAC (SEQ ID NO: 9)

30

## 【 0 3 9 8 】

## 5. 増殖アッセイ

増殖に対する阻害剤の効果を評価するために、細胞(50,000個/100 μl)を96ウェル組織培養プレートに播種し、続いて、示された濃度で化合物を加えた。72時間後、再構成されたCellTiter-Glo(CTG)試薬(Promegaからの#G7572)を1ウェルあたり100 μL加え、BioTekからのCytation 3イメージングリーダーで読み取った。相対的細胞増殖は、処理細胞と対照DMSO処理細胞のアッセイ読み取り値を比較することによって決定した。

40

## 【 0 3 9 9 】

## 6. Kd測定

BRD4のプロモドメイン1および2との化合物の親和性はDiscoverXによるBROMOscan(商標)により決定した。

## 【 0 4 0 0 】

## B. 結果

JQ1、OTX-15、およびA825の細胞効果を以下の実験において評価し比較した。

## 【 0 4 0 1 】

50

1. 小分子BETドメイン阻害剤は、有意なBRD4タンパク質蓄積および非効率なc-MYC抑制につながる

a. JQ1およびOTX-15処理によるBRD4の用量依存的蓄積

研究は、パーキットリンパ腫(BL)細胞株が、転位されBRD4の下流のIgHスーパーエンハンサーの制御下に置かれるc-mycがん遺伝子に依存するためBRD4阻害剤に応答することを示している。

【0402】

最初の実験では、様々なBL細胞株(NAMALWA、Ramos、CA-46、Daudi細胞)を様々な濃度の2つの公知のBETドメイン阻害剤(JQ1およびOTX-15)で処理し、これらの阻害剤がBRD4の分解の低減および/または防止に効果的であることを確認した。具体的には、NAMALWAおよびRamos細胞を様々な濃度のJQ1およびOTX-15(3nM、10nM、100nM、300nM、1000nM、および3000nM)で処理し、CA-46およびDaudi細胞を100nMおよび300nMのJQ1およびOTX-15で処理した。別の細胞セットを、阻害剤の代わりにDMSOを用いたことを除いて同様に処理した。すべての細胞をJQ1およびOTX-15の用量を増加させて一晩処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノプロットで分析した。

【0403】

これらの処理からの効果は、処理後にウエスタンプロット分析によって細胞に存在するBRD4の量を評価することによって決定した(図3A、3B、3C、および3D)。

【0404】

図3A~3Dは、JQ1およびOTX-15はいずれも、試験したすべての細胞株において用量依存的にBRD4タンパク質の有意な蓄積につながることを示す。これらの結果は、JQ1処理が一部の肺がん細胞株においてBRD4の上方制御をもたらすというこれまでの所見と一致している Shimamura, T., Chen, Z., Soucheray, M., Carretero, J., Kikuchi, E., Tchaicha, J.H., Gao, Y., Cheng, K.A., Cohoon, T.J., Qi, J., et al. (2013). (J.A. Mertz, et al., PNAS, 108 (2011) 16669-16674; and K. Klapproth, et al., British journal of haematology, 149 (2010) 484-497)。

【0405】

b. JQ1およびOTX-15処理によるBRD4の蓄積速度

JQ1およびOTX-15による処理後にBL細胞株においてBRD4が蓄積する速度も決定した。具体的には、NAMALWAおよびRamos細胞を300nMの各阻害剤で0時間、0.5時間、1.0時間、2.0時間、4.0時間、7.0時間、24時間、および48.0時間処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノプロットにより分析した。

【0406】

図3Eは、NAMALWA細胞が任意の阻害剤での処理前(0時間)に検出可能なレベルのBRD4を含むことを示す。NAMALWA細胞に存在するBRD4の量は、JQ1またはOTX-15のいずれかによる処理の30分以内に顕著に増加し、BRD4の量はより長時間の処理(0.5時間~48.0時間)で増加し続けた。

【0407】

図3Fは、NAMALWA細胞と同様に、Ramos細胞も任意の阻害剤による処理の前(0時間)に検出可能なレベルのBRD4を含むことを示す。しかしながら、BRD4はNAMALWA細胞と比べてRamos細胞では蓄積速度がより遅かった。具体的には、BRD4の量の顕著な増加がJQ1またはOTX-15のいずれかによる処理の約4.0時間~約7.0時間の間に観察された。両方の阻害剤による処理の24.0時間後にRamos細胞におけるBRD4の量の顕著な増加が観察された。

【0408】

まとめると、図3Eおよび3Fに示す結果は、小分子BRD4阻害剤が0.3 μmのJQ1またはOTX-15で様々なBL細胞株においてBRD4の急速な蓄積につながることを実証している。

【0409】

c. JQ1およびOTX-15は下流のc-Myc抑制につながる

上に検討したように、BRD4は、c-Myc、Bcl-xLおよびBCL-6などの重要ながん遺伝子の下流に往々にして存在するスーパーエンハンサー領域に位置することが示されている。BET

10

20

30

40

50

ドメイン阻害剤が下流のがん遺伝子の発現に影響を与え得るかどうかを判断するために、NAMALWA細胞をJQ1またはOTX-15のいずれかで濃度を増加させて(3nM、10nM、100nM、300nM、1000nM、および3000nM)一晩処理した。別の細胞セットを、阻害剤の代わりにDMSOを用いたことを除いて同様に処理した。処理後、細胞溶解物を集め、c-Mycおよびアクチンについてイムノプロットで分析した。

#### 【0410】

図3Gは、細胞をBETドメイン阻害剤で処理するとある程度c-Mycの下流抑制につながり得るが、高濃度であっても阻害剤はc-Mycの発現を完全に阻害することはできないことを示す。具体的には、図は低濃度(3nM~30nM)では阻害剤が細胞に存在するc-Mycのレベルに顕著な影響を与えなかったことを示す。しかしながら、c-Mycの量は、100nMのJQ1またはOTX-15のいずれかで処理された細胞では顕著に減少し、300nMおよび1000nMのJQ1またはOTX-15で処理された細胞ではさらに減少した。JQ1およびOTX-15のいずれも100nM~1000nMの濃度でc-Mycレベルを有意に抑制したが、どちらの阻害剤もより高い用量ではc-Mycのさらなる減少をもたらさないようであった(図3G、1000nMと3000nMを比較されたい)。

#### 【0411】

これらの結果に基づくと、BETドメイン阻害剤JQ1およびOTX-15による細胞の処理は100nM~1000nMの濃度でBRD4下流タンパク質c-Mycの有意な抑制につながる。しかしながら、より高い濃度のJQ1およびOTX-15(1000nM超)は、1000nMの阻害剤で見られる効果を超えるc-Mycタンパク質のさらなる抑制にはつながらなかった。さらに、JQ1とOTX-15のいずれも、3000nMの濃度であってもc-Myc発現を完全に抑制することはできなかった。

#### 【0412】

d. JQ1およびOTX-15によるc-Mycの抑制は可逆的である

以下の研究は、JQ1およびOTX-15によるc-Myc発現の抑制効果が可逆的であるかどうかを判断するために実施した。

#### 【0413】

この研究では、NAMALWA細胞をJQ1(1000nM)で24時間処理した後、3回洗浄して阻害剤を除去した。細胞を再播種し、阻害剤を用いずに0時間、0.5時間、1.0時間、2.0時間、3.0時間、4.0時間、および6.0時間インキュベートした。次いで細胞溶解物を様々な時点で集め、c-Mycおよびアクチンについてイムノプロットにより分析した。並行対照実験において、JQ1の代わりにDMSOを用いたことを除いてNAMALWA細胞を同様に処理した。

#### 【0414】

図3Hは1000nMのJQ1がNAMALWA細胞におけるc-Mycタンパク質レベルを有意に抑制した(JQ1処理細胞の0時間レーンをDMSO対照の0時間レーンと比較されたい)ことを示し、これは図3A~3Dに示される結果と一致している。図3Hは、JQ1によるc-Mycの抑制は、c-Mycタンパク質レベルが阻害剤の除去後1.0~2.0時間で有意に増加したので、急速に可逆的であり、阻害剤の除去後3.0時間以内にc-Mycタンパク質が対照試料のレベルまで戻ったことも示している。

#### 【0415】

別の実験では、Ramos細胞をJQ1(1000nM)、OTX-15(1000nM)、またはDMSO(対照)のいずれかで24時間処理した。処理後、細胞を溶解するか(阻害剤によるc-Mycの抑制を評価するため)または洗浄して阻害剤を除去し、再播種し、阻害剤を用いずに4.0時間インキュベートした(c-Myc抑制の可逆性を評価するため)。細胞溶解物を集め、c-Mycおよびアクチンについてイムノプロットで分析した。

#### 【0416】

Ramos細胞からの結果は、NAMALWA細胞で観察された結果と一致していた。具体的には、図3I(下パネル)は、JQ1およびOTX-15がRamos細胞においてc-Mycを抑制したが(「JQ1」および「OTX15」レーン)、阻害剤を除去した後4.0時間以内にc-Mycレベルが有意に増加したため(「JQ1の洗い流し後4時間」および「OTX15の洗い流し後4時間」レーン)この抑制効果は可逆的であったことを示す。

#### 【0417】

この研究からの結果は小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)がBL細胞株において下流c-Myc抑制につながることを実証している。しかしながら、阻害剤は、高濃度であっても、細胞におけるc-Mycの発現を完全に抑制することができなかった。さらに、これらの阻害剤によるc-Myc発現の抑制効果は、c-Mycタンパク質レベルが阻害剤の除去後約2.0~4.0時間で増加して、急速に可逆的であることがわかった。この研究で得られた結果は、c-MYCはJQ1処理によって抑制されるがJQ1を除去するとすぐに元に戻るというAMLにおけるこれまでの知見と一致している(J.A. Mertz, et al., PNAS, 108 (2011) 16669-16674)。

#### 【0418】

2. E3ユビキチンリガーゼセレブロンをハイジャックしてPROTACを生成しBRD4を効率的に分解する

先の研究で観察されたBRD4に結合する阻害剤の可逆的特性と併せて、JQ1およびOTX-15処理によるBRD4の迅速かつロバストな蓄積は、BLおよび他のがんにおいて観察される下流のc-Myc抑制および増殖阻害に対する効果が穏やかであることによる可能性がある。小分子BRD4阻害剤の制限を回避するために、PROTAC技術を利用してキメラ化合物A825を設計した(上に検討し、図2に示す)。

#### 【0419】

a. BRD4のプロモドメインへの阻害剤結合親和性

BRD4のプロモドメイン1(BD1)およびプロモドメイン2(BD2)へのA825の結合親和性を評価し、同じドメインへのJQ1およびOTX-15の結合親和性と比較した。これら化合物それぞれの結合親和性を以下の表にまとめた。

化合物	結合親和性( $K_d$ )	
	BD1	BD2
A825	90 nM	28 nM
JQ1	12 nM	10 nM
OTX-15	14 nM	3.5 nM

結合親和性研究は、JQ1およびOTX-15の結合親和性と比べて、BRD4のBD1およびBD2へのA825の結合親和性がわずかに低いことを示した。

#### 【0420】

b. A825はBRD4の効率的な分解につながる

BL細胞株におけるBRD4タンパク質レベルに対するA825の効果を評価した。具体的には、NAMALWAおよびCA-46細胞を、濃度を増加させて(0.3nM、1.0nM、3.0nM、10nM、30nM、100nM、300nM、および1000nM)A825で一晩処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノプロットで分析した。

#### 【0421】

図4Aおよび図4Bは、A825によるBL細胞株の処理によりこの化合物が低濃度で完全なBRD4タンパク質分解を誘導することを示している。特に、この図に示すデータに基づくと、NAMALWA細胞におけるBRD4の $DC_{50}$ (最大分解の50%)は、1.0nM以下のA825で細胞を処理することによって達成されるようである(4A)。同様に、CA-46細胞におけるBRD4の $DC_{50}$ は、0.3nM~1.0nM以下のA825で細胞を処理することによって達成されるようである(4B)。

#### 【0422】

また、BRD4は、約3.0nM~約300nMの範囲の濃度のA825で処理された両方のBL細胞株では、これらの処理濃度ではBRD4の顕著なタンパク質バンドがないことから証明されるように、完全に分解されるようである。興味深いことに、1000nMのA825で処理された両方のBL細胞株の溶解物を含むレーンで少量のBRD4タンパク質が観察され、これはA825によるBRD4分解が用量依存的な釣鐘型の様式で起きることを示している。つまり、BRD4の完全な分解はA825の臨界濃度範囲内で起き、これはA825がこの臨界範囲を上回るかまたは下回って存在すると不完全なBRD4分解が観察されるためである。

#### 【0423】

A825におけるBRD4結合部分およびセレブロン結合部分がそれらそれぞれの標的に対して $K_d$ が28~90nMおよび3 $\mu$ Mであるという事実を考慮すると、これはA825がBRD4を分解する際

10

20

30

40

50

に触媒的に作用することを示唆している。

【0424】

c. A825はBRD4の迅速な分解につながる

A825で処理した後のBL細胞株におけるBRD4の分解速度も決定した。この研究では、NAMA LWAおよびRamos細胞を0時間、0.5時間、1.0時間、2.0時間、4.0時間、7.0時間、および24時間A825(100nM)で処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノプロットで分析した。

【0425】

図4Cおよび図4Dは、A825による処理前(0時間)に両方のBL細胞株にBRD4が存在することを示す。BRD4タンパク質レベルはA825による処理から1時間以内に顕著に低下し、タンパク質レベルは24.0時間の処理期間にわたって着実に低下し続けた。この図は、A825によるBRD4分解が急速に起こり、A825処理から2時間以内にタンパク質の50%超が失われることも示している。

10

【0426】

d. A825によるBRD4分解はセレブロンに依存する

A825処理によって誘導されるBRD4分解がセレブロンに依存することを確認するために、BL細胞株がA825、ポマリドミド、または2つの化合物の組み合わせのいずれかで処理される競合阻害実験を実施した。上に検討し図2に示すように、A825はポマリドミドの誘導体であるE3ユビキチンリガーゼセレブロン動員部分を含み、そのためポマリドミドおよびA825はセレブロン結合をめぐって競合する。よって、A825処理によるBRD4分解がセレブロンに依存しているのであれば、A825とポマリドミドとの組み合わせで処理した細胞は、A825のみで処理した細胞と比べてBRD4分解の減少を示すはずである。

20

【0427】

この研究では、NAMALWAおよびRamos細胞を様々な濃度のA825のみ(10nM、100nM、および1000nM)、ポマリドミド(10 $\mu$ M)のみ、またはA825とポマリドミドとの組み合わせで一晩処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノプロットで分析した。

【0428】

図4Eおよび4Fは10nMおよび100nMのA825で処理した細胞におけるBRD4の完全な分解を示す一方で、1000nMのA825で処理した細胞には少量のBRD4が存在するが、これは図4Aおよび4Bに示される結果と一致している。図4Eおよび4Fはポマリドミドのみで処理された細胞ではBRD4レベルが影響を受けなかったことも示しているが、これはポマリドミドがBRD4を分解の標的にしないため予想されたものである。最後に、図4Eおよび4Fは、BRD4タンパク質レベルが、A825とポマリドミドとの組み合わせで処理された細胞では、部分的に分解を免れたことを示している。

30

【0429】

この研究の結果から、A825によるBRD4分解はセレブロンによって媒介されるということが確認される。

【0430】

e. プロテアソーム阻害剤はA825によるBRD4分解を防止する

40

セレブロンは、単独またはE2ユビキチン結合酵素と組み合わせて、ユビキチンを標的タンパク質上のリジンに結合させ、その後特定のタンパク質基質をプロテアソームによる分解の標的にするE3ユビキチンリガーゼタンパク質である。A825によるBRD4分解がプロテアソーム経路を通じて起きることを確認するために、プロテアソーム阻害剤を用いるか用いないでBL細胞株をA825で処理した。

【0431】

具体的には、NAMALWA細胞をA825のみ(10nMおよび100nM)；MG132のみ(5 $\mu$ M)；またはカルフィゾミブのみ(5 $\mu$ M)；またはA825とMG132またはカルフィゾミブとの組み合わせで一晩処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4およびアクチンについてイムノプロットで分析した。

50

## 【 0 4 3 2 】

図4Gは10nMまたは100nMいずれかのA825のみで処理した細胞においてBRD4が完全に分解したことを示し、これは図4Aおよび4Bに示される結果と一致している。図4Eおよび4Fは、MG132およびカルフィゾミブはいずれも、10nMまたは100nMいずれかのA825によって誘導されるBRD4分解を完全に防止した。これらの結果から、A825によるBRD4分解は、プロテアソームを通じて、通常のセレブロン経路に従って進行することが確認される。

## 【 0 4 3 3 】

## f. まとめおよび考察

まとめると、上の実験(a)~(f)から得られたデータは、A825がセレブロン媒介性かつプロテアソーム依存性のメカニズムで迅速かつ効率的なBRD4分解につながることを実証している。

10

## 【 0 4 3 4 】

この研究において観察されたBRD4分解プロファイルは、図8に示す以下の作用機序モデルを支持している。具体的には、未処理の細胞では、BRD4発現は阻害されず、通常の細胞制御下で機能する。しかしながら、細胞を低濃度のA825で処理すると、分子の一端でBRD4に、かつ他端ではセレブロンに効果的に結合して「BRD4-A825-セレブロン」三量体複合体を形成するのに十分なA825が細胞内に存在する(図8A)。この「BRD4-A825-セレブロン」三量体複合体は細胞において効率的なBRD4分解を促進する。三量体複合体は特定の濃度範囲内のA825で処理された細胞において形成でき、細胞におけるBRD4の完全な枯渇につながり得る(図8A)。しかしながら、細胞を高濃度のA825で処理すると、最適な三量体形成を妨げる「BRD4-A825」および「A825-セレブロン」二量体が形成され、これはBRD4分解の効果が劣る(図8B)。

20

## 【 0 4 3 5 】

## 3. A825は小分子阻害剤よりも有意かつ長期にわたるc-MYC抑制につながる

上に検討したように、100nM以上の低分子BETドメイン阻害剤JQ1およびOTX-15で細胞を処理することは、下流タンパク質c-Mycの有意ではあるが不完全な抑制をもたらし、1000nMを超える濃度ではc-Mycのさらなる抑制をもたらさなかった。以下の研究では、c-Myc発現に対するA825の下流効果を、低分子阻害剤であるJQ1およびOTX15と比較した。

## 【 0 4 3 6 】

## a. A825はJQ1およびOTX-15よりもc-Mycを抑制する程度が大きい

30

この研究では、A825によるc-Mycの抑制をJQ1およびOTX-15と比較した。具体的には、NAMALWAおよびRamos細胞を様々な濃度のA825(100nM、300nM、および1000nM)、またはJQ1(100nM、300nM、1000nM、3000nM、および10000nM)、またはOTX15(100nM、300nM、1000nM、3000nM、および10000nM)で一晩処理した。処理後、細胞溶解物を集め、BRD4、c-Mycおよびアクチンについてイムノプロットで分析した。

## 【 0 4 3 7 】

図5Aおよび5Bは、JQ1およびOTX-15が両方のBL細胞株におけるロバストなBRD4の蓄積および有意であるが不完全なc-Myc抑制につながることを示している(図3Gと一致している)。図5Aおよび5Bは、A825が、JQ1およびOTX-15と比べて、両方のBL細胞株において有意なBRD4分解(図4A~4Gと一致している)およびc-Mycのはるかに顕著な下方制御をもたらしたことも示している。特に、A825は、はるかに低い濃度の化合物でJQ1およびOTX-15よりもc-Myc発現を大幅に下方制御することができた。

40

## 【 0 4 3 8 】

## b. A825はJQ1およびOTX-15よりも長期にc-Myc発現を抑制する

以下の研究はA825、JQ1、およびOTX-15によるc-Myc抑制の期間を比較するために実施した。

## 【 0 4 3 9 】

具体的には、NAMALWA細胞をA825(0.1 μM)、JQ1(1.0 μM)およびOTX-15(1.0 μM)で24時間処理した後、3回洗浄して化合物を除去した。細胞を新たな培地に再播種し、どの化合物も用いずに0時間、2.0時間、4.0時間、6.0時間、および24.0時間インキュベートした。並

50

行対照実験において、阻害剤の代わりにDMSOを用いたことを除いて、細胞を同様に処理した。溶解物を集め、BRD4、c-Myc、およびアクチンについてイムノプロットにより分析した。

#### 【0440】

図5Cは、A825によるBRD4に対する処理後効果(BRD4の分解)がJQ1およびOTX-15による処理後効果(BRD4の蓄積)よりもはるかに長く維持されることを示す。さらに、A825によるc-Mycに対する処理後下流抑制効果もJQ1およびOTX-15と比べてA825でははるかに長く維持される。特に、図は、A825による処理の6時間後の細胞においては観察される検出可能なBRD4タンパク質がなかったことを示している。

#### 【0441】

さらに、A825による処理の24時間後でも、ウエスタンプロットにおいて観察されるBRD4はほんの少量であり、これは対照試料において観察されるBRD4レベルをはるかに下回っていた。一方で、JQ1およびOTX-15によるBRD4の蓄積は短期間であり、これらの試料におけるBRD4のタンパク質レベルは処理後約4時間以内に対照試料のレベルに戻った。図は、A825による処理の2時間~6時間後に検出されるc-Mycタンパク質レベルはほんのわずかであり、処理後24時間であっても、c-Mycレベルは対照試料をはるかに下回っていたことも示している。対照的に、図は、c-Mycタンパク質レベルがJQ1およびOTX-15の除去後約4時間以内に対照レベルまで回復することを示している。したがって、これらの結果は、A825による処理後のBRD4およびc-Mycに対する効果が、JQ1およびOTX-15と比べて長期間維持されることを実証している。

#### 【0442】

c. A825はc-Myc機能をJQ1およびOTX-15よりも長く抑制する。

c-Mycタンパク質は、葉酸のトランスポーターであり、葉酸の細胞内濃度の調節に関与する膜タンパク質であるSLC19A1を含む多くの遺伝子の発現を活性化させる転写因子である。前述の実験では、A825、JQ1、およびOTX-15がc-Mycの発現を抑制すること、A825による効果がJQ1およびOTX-15と比べて強くかつ長続きすることが示された。A825、JQ1、およびOTX-15がBRD4の下流の経路および事象にどのように影響するかをさらに調査するために、細胞を各化合物で処理し、SLC19A1遺伝子の発現を処理後の様々な時点で評価した。

#### 【0443】

具体的には、NAMALWA細胞をA825(0.1  $\mu$ M)、JQ1(1.0  $\mu$ M)、およびOTX-15(1.0  $\mu$ M)で24時間処理した後、3回洗浄して化合物を除去した。細胞を新たな培地に再播種し、どの阻害剤も用いずに0時間、6.0時間、および24.0時間インキュベートした。並行対照実験において、阻害剤の代わりにDMSOを用いたことを除いて、細胞を同様に処理した。各時点で、RNAを溶解物から抽出し、cDNAに逆転写し、SLC19A1特異的プライマーによるQPCRによって定量した。GAPDHも内部標準としてQPCRによって定量した。

#### 【0444】

c-Mycタンパク質抑制の結果(図5Cに示す)と一致して、図5D~5Fは、SLC19A1遺伝子発現によって決定されるように、A825処理が、JQ1およびOTX-15と比べて大きくかつ長期にわたるc-Myc機能の抑制をもたらすことを示している。特に、図は、SLC19A1遺伝子発現がA825によって有意に減少すること、および、処理の24時間後であってもSLC19A1遺伝子発現は対照試料と比べて大幅に減少していることを示している。一方で、図は、SLC19A1遺伝子発現がJQ1およびOTX-15によって減少するが、6.0~24.0時間以内に対照の処理レベルまで戻ることが示している。

#### 【0445】

4. A825は小分子阻害剤と比べて優れた細胞増殖抑制を有する

BL細胞は、c-Mycシグナル伝達を抑制し、細胞増殖の阻害を誘導するBRD4阻害剤に感受性があることが公知である(J.A. Mertz, et al., PNAS, 108 (2011) 16669-16674)。細胞増殖に対するA825、JQ1、およびOTX-15処理の効果を以下の実験で評価した。

#### 【0446】

a. A825は細胞増殖をJQ1およびOTX-15よりも大幅に抑制する

この研究では、A825、JQ1、およびOTX-15による処理後に様々なBL細胞株の増殖を評価した。具体的には、NAMALWA、Ramos、CA-46、およびDaudi細胞株を96ウェルプレートに細胞50,000個/100  $\mu$ lで播種した。図6A~6Dに示すように、漸増濃度のA825(100pM、300pM、1nM、3nM、10nM、30nM、100nM、300nM、1  $\mu$ M)、JQ1およびOTX15(1nM、3nM、10nM、30nM、100nM、300nM、1  $\mu$ M、3  $\mu$ M；NAMALWAには、JQ1およびOTX-15は最大で10 $\mu$ Mまで用いた)で細胞を処理した。処理後、試料の相対的増殖を、処理の72時間後にCTGアッセイによって決定した。

#### 【0447】

図6A~6Dは、試験したすべてのBL細胞株においてA825処理がJQ1またはOTX15と比べてより顕著な増殖抑制をもたらしたこと、およびこの効果ははるかに低い濃度の化合物を用いて達成されたことを示している。興味深いことに、より高い濃度のA825で処理されたRamosおよびDaudi細胞株の相対的成長は0.0に近かった。

10

#### 【0448】

b. A825はJQ1およびOTX-15よりも長く細胞増殖を抑制する

この研究では、NAMALWA細胞における抗増殖効果の持続時間を、A825、JQ1、およびOTX-15による処理および除去後に評価した。具体的には、NAMALWA細胞をA825(0.1  $\mu$ M)、JQ1(1.0  $\mu$ M)およびOTX15(1.0  $\mu$ M)で24時間処理した後、3回洗浄して化合物を除去した。細胞を新たな培地に再播種し、どの化合物も用いずに0時間、24.0時間、および48.0時間インキュベートした。並行対照実験において、阻害剤の代わりにDMSOを用いたことを除いて、細胞を同様に処理した。処理後、試料の相対的増殖をCTGアッセイによって決定した。

20

#### 【0449】

図6Eは、A825による増殖抑制効果がJQ1またはOTX15のものとは比べて処理後48時間を超えて持続したことを示している。この結果は、A825がBRD4分解および下流シグナル伝達抑制に対して長期的な効果をもたらすという、上に検討した実験結果(例えば、図5A~5F)と一致している。

#### 【0450】

c. ポマリドミドはA825によって引き起こされる抗増殖効果を低減する

上に検討したように、図4Cの結果は、ポマリドミドがA825処理時に存在した場合、セレブロン結合の競合的阻害により、BRD4タンパク質レベルが部分的に分解から免れることを実証した。以下の実験を実施して、ポマリドミドがA825による様々なBL細胞株における抗増殖効果も防止するかまたは少なくとも低減できるかどうかを決定した。

30

#### 【0451】

具体的には、NAMALWA、CA-46、およびDaudi細胞を、A825(10nMもしくは100nM)のみ、またはポマリドミド(1.0  $\mu$ Mもしくは10.0  $\mu$ M)との組み合わせで72時間処理した。並行対照実験において、阻害剤の代わりにDMSOを用いたことを除いて、細胞を同様に処理した。処理後、試料の相対的増殖をCTGアッセイによって決定した。

#### 【0452】

10nMのA825のみで細胞を処理することは対照細胞と比べて有意な増殖抑制をもたらした(図6F)、これは図6A~6Eに示す結果と一致している。図6Fは、対照細胞の成長と比べて、10nMのA825のみによる処理は、NAMALWAおよびCA-46細胞では細胞増殖を約40%、Daudi細胞では約65%まで減少させた。ポマリドミドは10nMのA825によって引き起こされる抗増殖効果を用量依存的に減少させた。特に、10nMのA825と組み合わせた1.0  $\mu$ Mのポマリドミドによる処理は、対照試料と比べて、細胞増殖の減少はあまり劇的なものではなかった(NAMALWA細胞では約80%、CA-46細胞では約90%、およびDaudi細胞では約95%)。10nMのA825での処理時にポマリドミドの濃度を10.0  $\mu$ Mまで増加させると、対照試料と比べて、試験したすべての細胞株で抗増殖効果が防止された。

40

#### 【0453】

100nMのA825のみで細胞を処理すると、10nMのA825のみによる処理と比べて、試験したすべての細胞型の増殖が大幅に抑制された(図6Gと図6Fを比較されたい)、これは図6A~6Eに示す結果と一致している。図6Gは、100nMのA825のみによる処理が、対照細胞の増殖と

50

比べて、細胞増殖をNAMALWAおよびDaudi細胞では約25%~27%まで、Daudi細胞では約33%まで減少させた。ポマリドミドは、100nMのA825によって引き起こされる抗増殖効果用量依存的に減少させた。特に、100nMのA825と組み合わせた1.0 $\mu$ Mのポマリドミドによる処理は、対照試料と比べて、細胞増殖の減少はあまり劇的なものではなかった(すべての細胞株で約55%)。100nMのA825による処理時にポマリドミドの濃度を10.0 $\mu$ Mまで増加させると、すべての細胞株において抗増殖効果がさらに減少した(対照試料と比べてすべての細胞株において約70%~約80%)。

【0454】

さらなる対照として、BL細胞をポマリドミドで処理して、A825を用いずにポマリドミドのみが細胞増殖に影響を与えるかどうかを判断した。具体的には、BL細胞を様々な濃度(図6Hに示すように0.001 $\mu$ M、0.003 $\mu$ M、0.01 $\mu$ M、0.03 $\mu$ M、0.1 $\mu$ M、0.3 $\mu$ M、1 $\mu$ M、3 $\mu$ M、10 $\mu$ M)のポマリドミドのみで72時間処理した。並行実験では、ポマリドミドの代わりにDMSOを用いたことを除いて、細胞を同様に処理した。処理後、ポマリドミドで処理した試料の相対的増殖をCTGアッセイによって決定し、DMSO対照と比較した。

10

【0455】

図6Hは、ポマリドミドのみで細胞を処理することがこれらの細胞株の増殖に対して有意な効果をもたらさなかったことを示している。

【0456】

5. A825は低分子阻害剤と比べて優れたアポトーシス誘導を有する

c-Mycは、異なる腫瘍実体に応じて、細胞周期、老化、増殖、アポトーシスを含むがんの多くの特徴に関与する多面発現性腫瘍タンパク質である(M. Gabay, et al., Cold Spring Harb Perspect Med. (2014) 4:a014241)。前述の実験は、小分子BRD4阻害剤(JQ1およびOTX-15)ならびにA825による処理後に、試験したすべてのBL株における増殖抑制に対する共通の効果を実証した。以下の実験はJQ1、OTX-15、およびA825がBL細胞株においてアポトーシスを誘導できる程度を評価する。

20

【0457】

a. A825はJQ1およびOTX-15と比べてカスパーゼ活性の有意な増加につながる

ARV-825(0.1 $\mu$ M)、またはJQ1(1.0 $\mu$ M)、またはOTX015(1.0 $\mu$ M)、またはアポトーシス誘導の陽性対照としてのピューロマイシン(10 mg/ml)で様々なBL細胞株を24時間処理し、カスパーゼ3/7活性をカスパーゼ3/7-グロウアッセイによって測定した。

30

【0458】

図7Aは、カスパーゼ活性が、試験したBL細胞株および処理に用いた阻害剤の両方に応じて著しく異なることを示している。具体的には、100nMのA825によるBL細胞の処理は、JQ1およびOTX-15で処理したBL細胞と比べて、カスパーゼ活性における統計的に有意な増加をもたらした。カスパーゼ活性の増加は、RamosおよびCA-56細胞と比べて、DaudiおよびNAMALWA細胞でさらに有意であった。

【0459】

すべてのBL細胞株をA825で24時間処理した後にカスパーゼ3/7活性の増加が観察されたが、より高い用量のJQ1およびOTX15では観察されなかった(図5A)。

【0460】

b. A825はJQ1およびOTX-15と比べてPARP切断のより有意な増加につながる

RamosおよびCA-46細胞は、ARV-825(最大で1.0 $\mu$ Mまで)、またはJQ1およびOTX015(最大で10.0 $\mu$ Mまで)の漸増用量で48時間処理した。溶解物を集め、負荷対照としてアクチンを用いてPARP切断についてイムノプロットにより分析した。

40

【0461】

図7Bは、顕著なPARP切断によって証明されるように、48時間までに、Ramos細胞が0.1 $\mu$ MのA825処理によって有意なアポトーシスを実証したことを示している。対照的に、対応する細胞株において同様のレベルのアポトーシスを誘発するにははるかに高い用量の阻害剤JQ1およびOTX15が必要である。より高濃度のJQ1およびOTX-15が必要とされるのは、これらの阻害剤のBRD4阻害および下流c-Myc抑制が非効率的であるためと考えられる。まとめ

50

ると、これらの知見は、PROTACが媒介するBRD4の分解が、小分子阻害剤と比べて、BL中のBRD4を標的とする際のより効果的な戦略であるという強力な証拠を提供している。

【0462】

6. まとめおよび考察

BL細胞は、c-Mycシグナル伝達を抑制し、細胞増殖の阻害を誘導するBRD4阻害剤に感受性があることが公知である(J.A. Mertz, et al., PNAS, 108 (2011) 16669-16674)。最近では、細胞内のBRD4を効果的に阻害する化合物の設計に大きな進歩があった。しかしながら、この最近の進歩にもかかわらず、有意な機能的および臨床的利点を有するBRD4阻害剤は未だ発見されておらず、これは阻害剤処理時に観察される顕著なBRD4蓄積および、阻害剤が除去された後、処理後に観察される阻害の可逆的/一時的性質によって部分的に説明

10

【0463】

本実施例で実施した実験は、小分子BRD4阻害剤JQ1およびOTX15が、試験したすべてのBL細胞株において有意なBRD4タンパク質蓄積につながることを実証している。どちらの阻害剤も下流のc-Mycレベルを抑制したが、抑制には高濃度の化合物が必要であった。さらに、これらの阻害剤が高濃度であっても、c-Myc抑制は完全ではなかった。本実施例においてJQ1およびOTX-15について観察された結果は肺および前立腺がん細胞株のパネルにおいて他によって得られた結果と一致している(Shimamura, T., Chen, Z., Soucheray, M., Carretero, J., Kikuchi, E., Tchaicha, J.H., Gao, Y., Cheng, K.A., Cohoon, T.J., Qi, J., et al. (2013). データ示さず)。上で得られた結果は、BRD4のロバストな蓄積が、BRD4への阻害剤結合の可逆的性質と併せて、小分子阻害剤による下流c-Myc抑制および関連する限定的な増殖阻害における効果が穏やかであることを説明し得ることを示唆している。JQ1およびOTX-15データについて1つの考えられる説明は、BRD4との阻害剤の結合が、その安定性の向上につながるかまたはその天然の分解機構へのそのアクセスの妨げとなる立体構造の変化をもたらすということである。あるいは、BRD4阻害剤は、BRD4タンパク質レベルを調節するBRD4媒介ネガティブフィードバックループを抑制している可能性がある。いずれにせよ、BRD4レベルの顕著な増加は、阻害剤結合の可逆的性質と併せて、BRD4阻害および下流MYC抑制の非効率性を部分的に説明し得る。

20

【0464】

前臨床試験および臨床試験の両方が、BRD4阻害剤の効果は主に細胞増殖抑制的であり、アポトーシスがいくつかの細胞株および第I相患者に限定されることを示している。このことから、BRD4阻害剤の臨床的に達成可能な濃度では、将来の患者の潜在的利益を大きく制限し得る。

30

【0465】

小分子阻害剤薬物開発の別の繰り返し発生する現象は、耐性を媒介するか、または拮抗薬から作動薬へと変換することさえある標的タンパク質における変異の出現である。例えば、エンザルタミドはアンドロゲン受容体を阻害することによって前立腺がんを治療する際に効果的であるが、F876L変異を含むアンドロゲン受容体を有する腫瘍細胞では作動薬になる。よって、腫瘍が既存のまたは治療誘発性のARF876Lを含む前立腺がん患者はエンザルタミド治療の恩恵を受けないであろう。対照的に、PROTACが媒介する標的分解は、これらの危険を回避し、効率的な標的指向の強力な戦略を提供する。小分子BRD4阻害剤の制限を回避するために、PROTAC技術を通じてE3リガーゼセレブロン結合部分に小分子BRD4結合部分を接続することによって、キメラ分子A825が設計された。

40

【0466】

上の実験は、BRD4をプロテアソーム分解機構に誘導するE3リガーゼセレブロンを積極的にBRD4に動員することによって、A825が迅速かつ効率的なBRD4分解を誘導したことを示している。これらの結果は、A825が、小分子BRD4阻害剤と比べて、下流c-Myc発現および機能、細胞増殖、ならびにアポトーシス誘導に対する顕著な抑制につながることも実証している。

【0467】

50

阻害剤と比較してBRD4分解剤の改善された機能的効果は、BLにおけるドライバーがんタンパク質であるc-MYCに対するより完全かつ持続的な抑制に部分的に起因し得る。BRD4は、依然としてさらに特定されかつ解明されるべき多くの結合パートナーを有する大型のタンパク質であることから、「シャペロン」機能を備えている可能性もある。当然のことながら、BRD4を除去すると、アセチルリジン含有パートナーへのその結合を単に阻害するよりもより多大な効果をもたらすであろう。BRD4ノックアウトまたはノックダウンの表現型(CRISPRおよびshRNAなどによる)と阻害剤によるBRD4阻害の表現型との比較はこの問いに答えるであろうが、それは本研究の範囲外である。

【0468】

OTX15およびボマリドミドの、それらのそれぞれの標的であるBRD4とセレブロンへの結合親和性はそれぞれ約10nMおよび約3 $\mu$ Mである。これらの2つのリガンドに基づくA825は、BRD4については1nM未満のDC<sub>50</sub>を達成する。これは、BRD4 PROTACが触媒特性を備え、既知の機能がない次善の親和性を有する標的リガンドからなる機能的分解剤を開発する大きな機会を開くことを強く示唆している。したがって、天然のリガンド結合部位が通常は欠如した多くの「困難な」標的は、PROTACが媒介する分解によって「介入可能」になり得る。

10

【0469】

本開示は、PROTAC技術を通じて強力なBRD4分解剤を作製することによってBRD4を効率的に標的とする新規の戦略を提供する。さらに、E3リガーゼを積極的に動員して特定の病理学的タンパク質を分解の標的とする新しいクラスの薬物分子への突破口を開き、よって従来の小分子アプローチによる多くの「困難な」標的を「介入可能」にする。

20

【0470】

#### 7. 産業上の利用可能性

PROTAC技術を通じた、BRD4動員部分とE3リガーゼセレブロン動員部分とを含む、新規な二官能性分子が記載される。A825は積極的にBRD4を分解し、BLにおける有意かつ持続的な下流MYC抑制ならびにロバストな細胞増殖抑制およびアポトーシス誘導につながる。A825は、複数のがんにおける有望な標的として浮上するBRD4を効率的に標的とするための新しい戦略を表している。A825は、PROTACが媒介するタンパク質分解が、従来のアプローチでは「介入不可能な」病理学的タンパク質を標的とする際の有望な戦略を提供する1つの例を表している。

【0471】

30

【表 1】

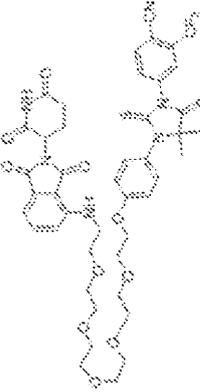
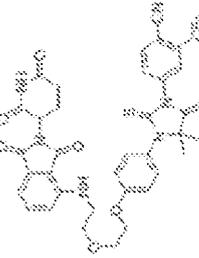
#	構造	分解活性				MH <sup>†</sup>	化学名
		AR <sup>†</sup>	BRD4 <sup>†</sup>	TBK1 <sup>‡</sup>	ERRa <sup>‡</sup>		
1		A				851.25	4-[3-[4-((1-[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザトリデカン-13-イル)オキシ)フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルフアニリデンイミダゾリジン-1-イル]-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
2		B				821.25	4-[3-(4-[3-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ)プロポキシ)プロポキシ)フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルフアニリデンイミダゾリジン-1-イル]-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
3		B				837.23	4-[3-[4-((1-[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザドデカン-12-イル)オキシ)フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルフアニリデンイミダゾリジン-1-イル]-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
4		B				837.24	4-(3-(4-[(1-[2-[(3S)-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル]-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザドデカン-12-イル)オキシ]フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルフアニリデンイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル

10

20

30

40

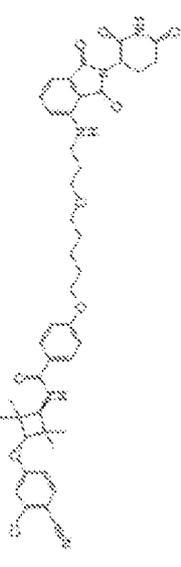
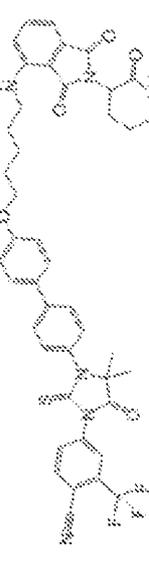
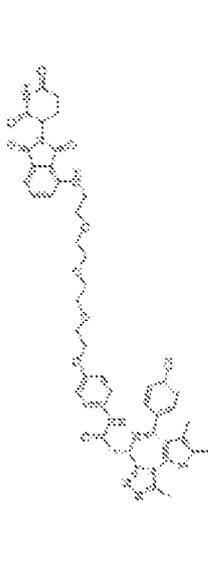
5		B					837.24	4-(3-[4-[(1-[2-[(3R)-2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザドデカン-12-イル]オキシ]フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルファニリデンイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
6		A					925.30	4-[3-[4-[(1-[2-(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10,13,16-ペンタオキサ-1-アザオクタデカン-18-イル]オキシ]フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルファニリデンイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
7		A					749.19	4-(3-[4-[(2-[2-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ]エトキシ]フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルファニリデンイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
8		A					793.28	4-(3-[4-[(2-[2-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルファニリデンイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル
9		A					807.32	4-(3-[4-[(3-[2-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ]エトキシ]エトキシ]プロポキシ]フェニル)-4,4-ジメチル-5-オキソ-2-スルファニリデンイミダゾリジン-1-イル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル

10

20

30

40

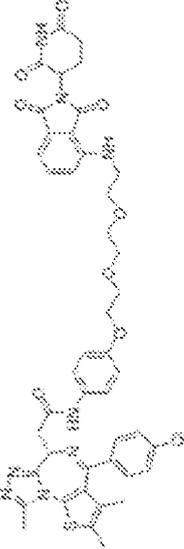
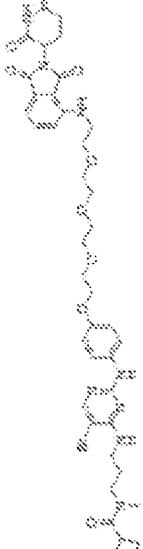
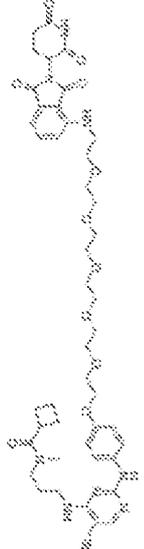
10		B					865.36	<p>4-3-[4-(11-[2-(2,6-ジオキソ          ピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ          -2,3-ジヒドロ-1H-インドール          -4-イル)-4,7,10-トリオキサ-1-          アザトラデカン-14-イル]オキシ)          フェニル]-4,4-ジメチル-5-オキソ          -2-スルファニリデンイミダゾ          リジン-1-イル]-2-(トリフルオロ          メチル)ベンゾニトリル</p>
11		C					799.31	<p>4-[5-(3-[2-(2,6-ジオキソ          ピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ          -2,3-ジヒドロ-1H-インドール          -4-イル]アミノ)プロポキシ)          ペンチル]オキシ]-N-[トランス-3-          (3-クロロ-4-シアノフェノキシ)          -2,2,4,4-テトラメチルシクロ          プチル]ペンズアミド</p>
12		A					865.16	<p>4-[4,4-ジメチル-3-[4-(11-[2-(3-          メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-          イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-          1H-インドール-4-イル]-4,7,          10-トリオキサ-1-アザトリデカン-          13-イル]オキシ)フェニル]-5-          オキソ-2-スルファニリデンイミダ          ゴリジン-1-イル]-2-(トリフルオロ          メチル)ベンゾニトリル</p>
13		C					823.12	<p>4-(3-(4-[4-[5-[2-(2,6-ジオキソ          ピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ          -2,3-ジヒドロ-1H-インドール          -4-イル]アミノ)ペンチル]オキシ)          フェニル]フェニル)-4,4-ジメチル          -5-オキソ-2-スルファニリデン          イミダゾリジン-1-イル]-2-(トリ          フルオロメチル)ベンゾニトリル</p>
14		C					923.29 & 925.29	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,          13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-          テトラアザトリシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]          トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタ          エン-9-イル]-N-[4-(11-[2-(2,6-          ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-          ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イン          ドール-4-イル]-4,7,10-トリ          オキサ-1-アザトリデカン-12-イル]          オキシ)フェニル]アセトアミド</p>

10

20

30

40

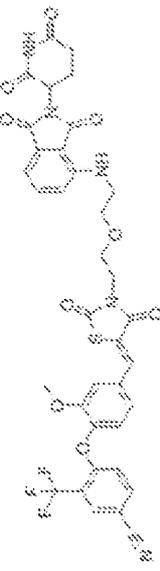
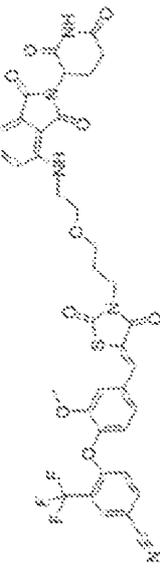
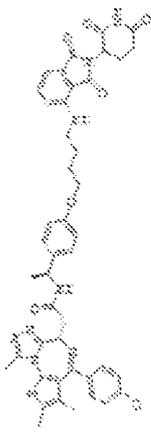
15			C		<p>967.31 &amp; 969.31</p>	<p>2-[9S]-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリスシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-(1-[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドル-4-イル]-4,7,10,13-テトラオキサ-1-アザペンタデカン-15-イル)オキシ]フェニル]アセトアミド</p>
16			C		<p>879.26 &amp; 881.26</p>	<p>2-[9S]-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリスシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-(4-[2-[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドル-4-イル]アミノ]エトキシ)フェニル]アセトアミド</p>
17			A		<p>865.27 &amp; 867.27</p>	<p>N-[3-[(5-プロモ-2-[4-(1-[2(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドル-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザデカン-12-イル)オキシ]フェニル]アミノ]ピリジン-4-イル)アミノ]プロピル]-N-メチルシクロブタンカルボキサミド</p>
18			C		<p>953.32 &amp; 955.32</p>	<p>N-[3-[(5-プロモ-2-[4-(1-[2(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドル-4-イル]-4,7,10,13,16-ペンタオキサ-1-アザオクタデカン-18-イル)オキシ]フェニル]アミノ]ピリジン-4-イル)アミノ]プロピル]-N-メチルシクロブタンカルボキサミド</p>

10

20

30

40

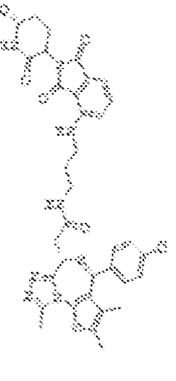
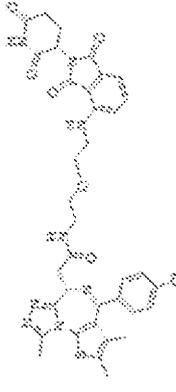
19			C	909.31 & 911.31	N-[3-[(5Z)-プロピロキ-2-[[4-[[1-[2-(2,6-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル)]-4,7,10,13-テトラオキサ-1-アザペンタデカン-15-イル]オキシ]プロピル]アミノ]ピリジン-4-イル]アミノ]プロピル]-N-メチルシクロブタンカルボキサミド
20		B	764.15	4-(4-[[5Z)-3-[[2-(2-(2,6-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ)エトキシ)エチル]-2,4-ジオキソ-1,3-チアゾリジン-5-イリデン]メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル	
21		C	778.18	4-(4-[[5Z)-3-[[2-(2-(2,6-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ)エトキシ)エチル]-2,4-ジオキソ-1,3-チアゾリジン-5-イリデン]メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル	
22		C	808.19	4-(4-[[5Z)-3-[[2-(2-(2,6-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ)エトキシ)エチル]-2,4-ジオキソ-1,3-チアゾリジン-5-イリデン]メチル)-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル	
23		E	847.21 & 849.21	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ[8.3.0.0.0']トリテカ-2(6).4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[[18]-1-[4-(4-[[2-(2,6-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ)プロピル]アミノ]エチル]アセトアミド	

10

20

30

40

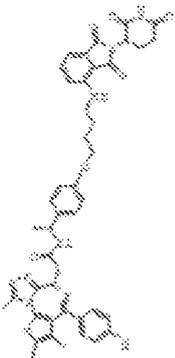
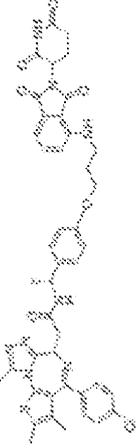
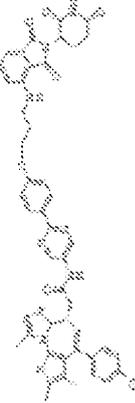
24				D	771.16 & 773.16	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトロシクロ[8.3.0.0 <sup>0,6</sup> ]トリテカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[3-(3-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]プロピル]アセトアミド
25				E	713.14 & 715.14	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトロシクロ[8.3.0.0 <sup>0,6</sup> ]トリテカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[3-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]プロピル]アセトアミド
26				D	863.26 & 865.26	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトロシクロ[8.3.0.0 <sup>0,6</sup> ]トリテカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1S)-1-(4-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エチル]アセトアミド
27				D	743.20 & 745.20	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトロシクロ[8.3.0.0 <sup>0,6</sup> ]トリテカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[2-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エチル]アセトアミド

10

20

30

40

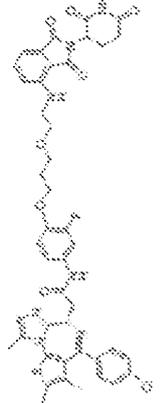
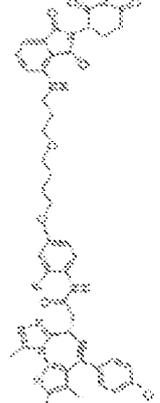
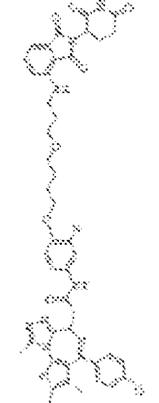
28			847.42 & 849.42	D		2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']ヘキサ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[[1R]-1-[4-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]プロキシ)フェニル]エチル]アセトアミド
29			863.18 & 865.18	D		2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']ヘキサ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[[1R]-1-[4-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ)エトキシ]フェニル]エチル]アセトアミド
30			833.31 & 835.31	D		2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']ヘキサ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[[1R]-1-[4-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]プロキシ)フェニル]エチル]アセトアミド
31			883.24 & 885.24	D		2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']ヘキサ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[[2-[4-[(2,6-ジオキソペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]プロキシ)フェニル]ピリミジン-5-イル]アセトアミド

10

20

30

40

32			D					867.12 & 869.12	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']-1,2-トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-[3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル)アミノ]エトキシ]プロホキシ]-3-フルオロフェニル]アセトアミド
33			D					895.15 & 897.15	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']-1,2-トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-[3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル)アミノ]プロホキシ]プトキシ]-2-フルオロフェニル]アセトアミド
34			D					895.15 & 897.15	2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']-1,2-トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-[3-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル)アミノ]プロホキシ]プトキシ]-3-フルオロフェニル]アセトアミド
35			D					910.21 & 912.21	2-[(9R)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラザトリシクロ[8.3.0.0.0']-1,2-トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-(1-[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザドデカン-12-イル)オキシ]フェニル]アセトアミド

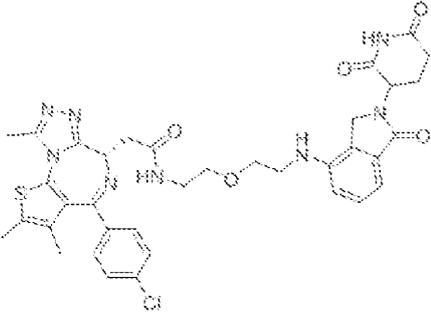
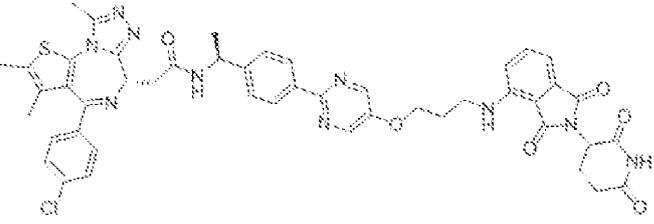
10

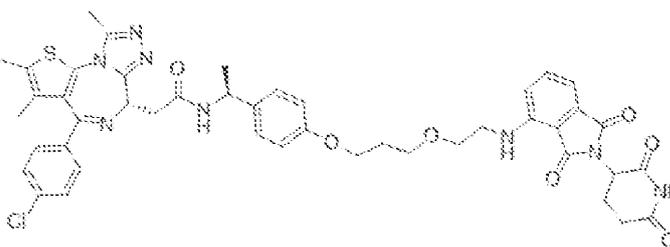
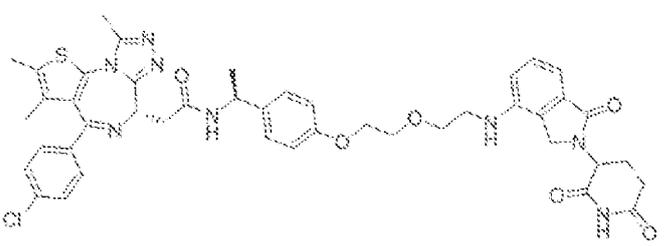
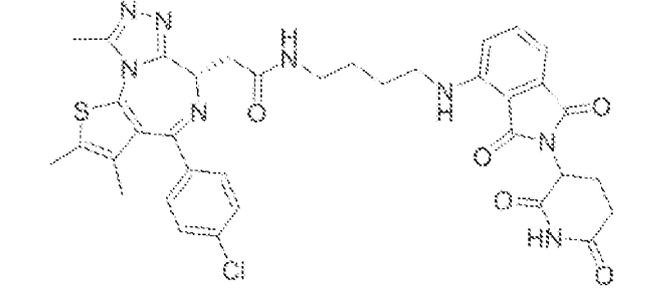
20

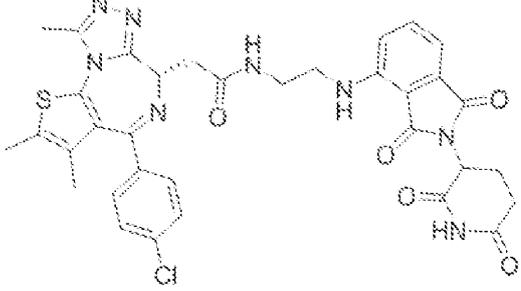
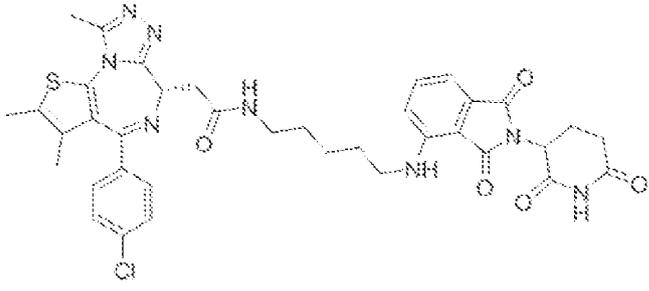
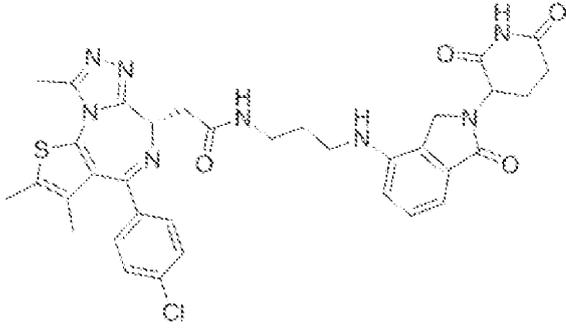
30

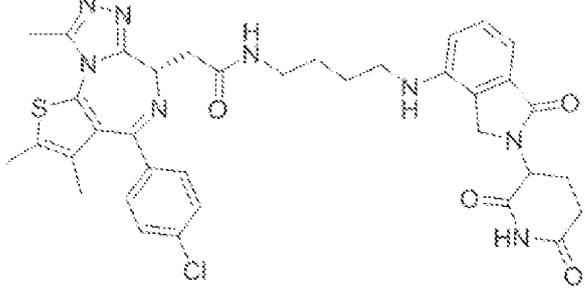
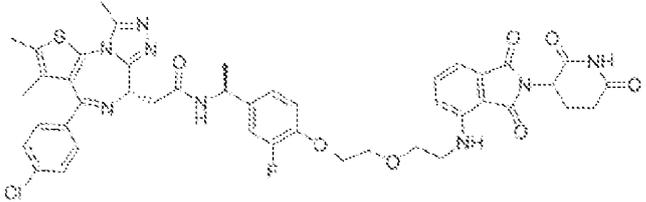
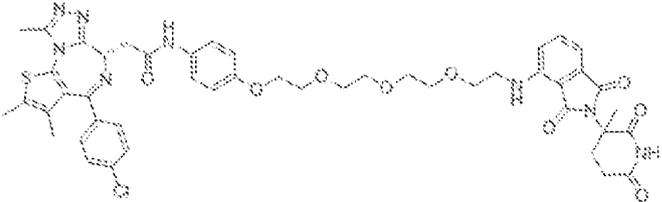
40

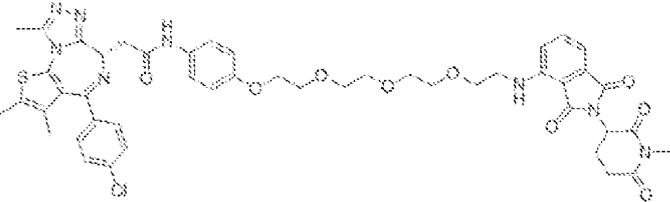
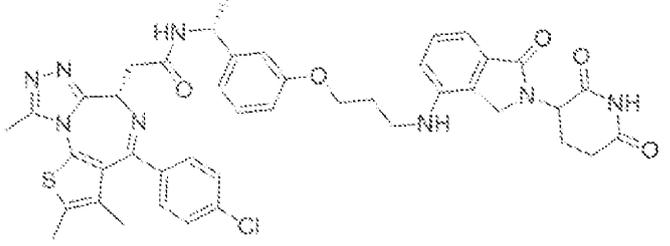
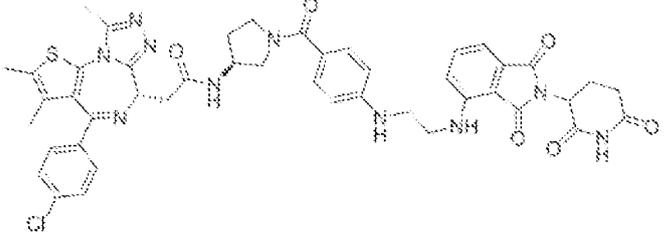


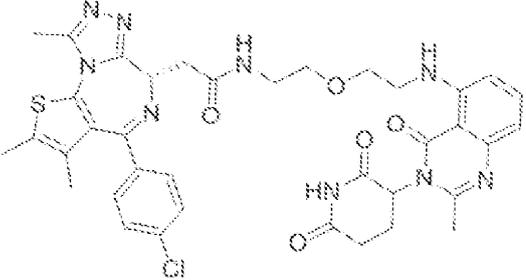
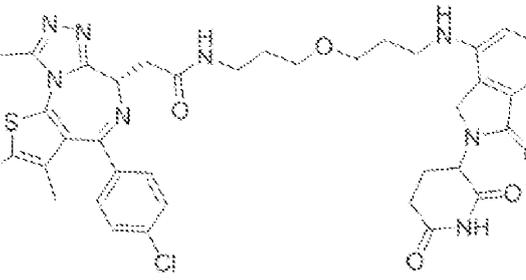
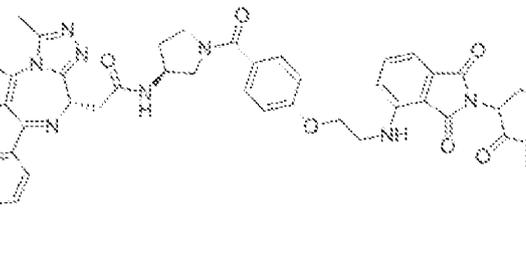
				ジヒドロ-1H- インドール-4- イル]アミノ)エトキシ) エトキシ]フェニル] エチル]アセトアミド	10
39		E	730.15 & 732.15	2-[(9S)-7-(4-クロロ フェニル)-4,5,13- トリメチル-3-チア- 1,8,11,12-テトラアザ トリシクロ [8.3.0.0 <sup>2,6</sup> ]トリデカ -2(6),4,7,10,12- ペンタエン-9-イル] -N-[2-(2-([2-(2,6- ジオキソピペリジン- 3-イル)-1-オキソ-2, 3-ジヒドロ-1H-イン ドール-4-イル] アミノ)エトキシ) エチル]アセトアミド	20
40		D	911.18 & 913.18	2-[(9S)-7-(4-クロロ フェニル)-4,5,13- トリメチル-3-チア- 1,8,11,12-テトラアザ トリシクロ [8.3.0.0 <sup>2,6</sup> ]トリデカ -2(6),4,7,10,12- ペンタエン-9-イル] -N-[(1S)-1-(4-[5- (3-([2-(2,6-ジオキソ ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3- ジヒドロ-1H-イン ドール-4-イル] アミノ)プロポキシ) ピリミジン-2-イル] フェニル]エチル] アセトアミド	30 40

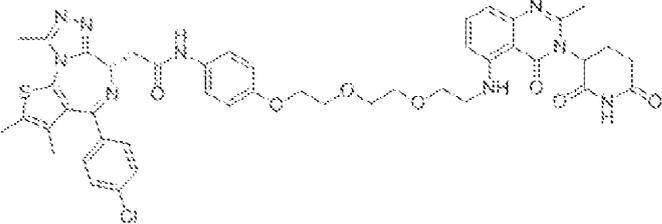
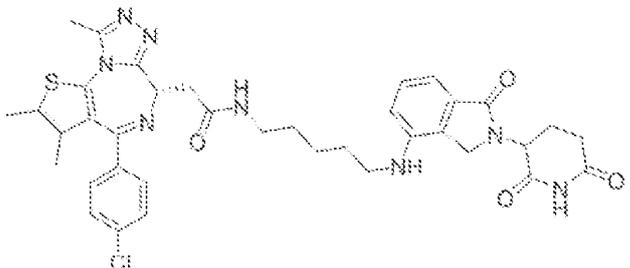
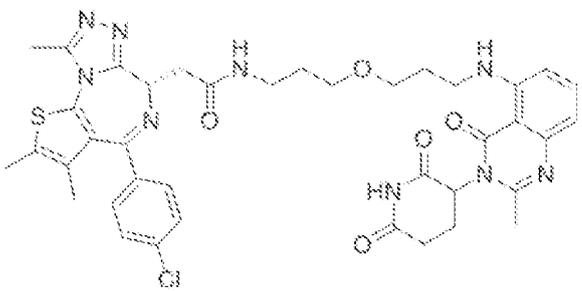
41		D	877.19 & 879.19	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1S)-1-[4-[3-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]エトキシ)プロポキシ]フェニル]エチル]アセトアミド</p>	10
42		D	849.19 & 851.19	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1S)-1-[4-[2-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]エトキシ)エトキシ]フェニル]エチル]アセトアミド</p>	20 30
43		E	727.13 & 729.13	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ[8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-(4-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]ブチル)アセトアミド</p>	40

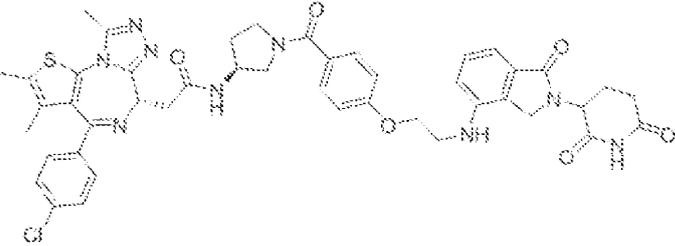
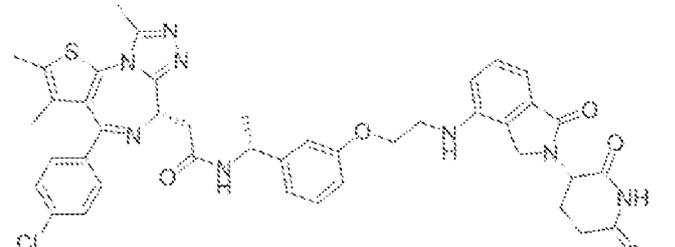
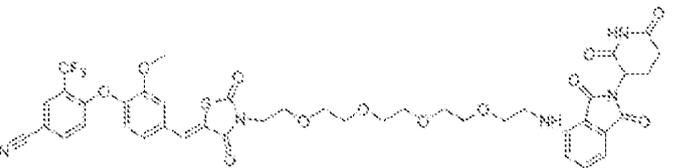
44		E	699.10 & 701.10	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]エチル)アセトアミド</p>	10
45		D	741.14 & 743.14	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-(5-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]ペンチル)アセトアミド</p>	20
46		E	699.13 & 701.13	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-(3-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]プロピル)アセトアミド</p>	30 40

47		E	713.15 & 715.15	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-(4-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]ブチル)アセトアミド</p>	10
48		D	881.15 & 883.15	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1S)-1-{4-[2-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]エトキシ)エトキシ]-3-フルオロフェニル}エチル]アセトアミド</p>	20
49		E	937.20 & 939.20	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-({1-[2-(3-メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザドデカン-12-イル}オキシ)フェニル]アセトアミド</p>	30
					40

50		E	937.20 & 939.20	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2</sup>,<sup>6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[4-({1-[2-(1-メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]-4,7,10-トリオキサ-1-アザドデカン-12-イル}オキシ)フェニル]アセトアミド</p>	10
51		E	819.18 & 821.18	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2</sup>,<sup>6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1R)-1-[3-(3-{[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ}プロポキシ)フェニル]エチル]アセトアミド</p>	20 30
52		E	887.17 & 889.17	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2</sup>,<sup>6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(3S)-1-{4-[[2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]エチル]アミノ]ベンゾイル}ピロリジン-3-イル]アセトアミド</p>	40

53		E	756.15 & 758.15	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[2-(2-[[3-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2-メチル-4-オキソ-3,4-ジヒドロキナゾリン-5-イル]アミノ]エトキシ)エチル]アセトアミド</p>	10
54		D	757.17 & 759.17	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[3-(3-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]プロポキシ)プロピル]アセトアミド</p>	20
55		D	888.16 & 890.16	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(3S)-1-[4-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イル]アミノ]エトキシ)ベンゾイル]ピロリジン-3-イル]アセトアミド</p>	30
					40

56		D	892.19 & 894.19	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル] -N-(4-[2-[2-(2-[3-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2-メチル-4-オキソ-3,4-ジヒドロキナゾリン-5-イル]アミノ)エトキシ]エトキシ]フェニル)アセトアミド</p>	10
57		D	727.16 & 729.16	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル] -N-(5-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]ペンチル)アセトアミド</p>	20
58		E	784.18 & 786.18	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2,6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル] -N-[3-(3-[[3-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-2-メチル-4-オキソ-3,4-ジヒドロキナゾリン-5-イル]アミノ]プロポキシ)プロピル]アセトアミド</p>	30
					40

59		E	874.18 & 876.18	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2</sup>,<sup>6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(3S)-1-[4-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ)ベンゾイル]ピロリジン-3-イル]アセトアミド</p>	10
60		E	805.17 & 807.17	<p>2-[(9S)-7-(4-クロロフェニル)-4,5,13-トリメチル-3-チア-1,8,11,12-テトラアザトリシクロ [8.3.0.0<sup>2</sup>,<sup>6</sup>]トリデカ-2(6),4,7,10,12-ペンタエン-9-イル]-N-[(1R)-1-[3-(2-[[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]アミノ]エトキシ)フェニル]エチル]アセトアミド</p>	20
61		F	918.2 (M+23)	<p>4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-4-イル]-4,7,10,13-テトラオキサ-1-アザペンタデカン-15-イル]-2,4-ジオキソ-1,3-チアゾリジン-5-イリデン]メチル]-2-メトキシフェノキシ)-3-(トリフルオロメチル)ベンゾニトリル</p>	40

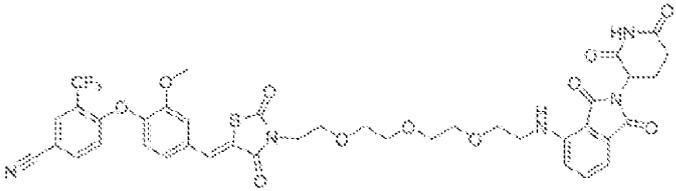
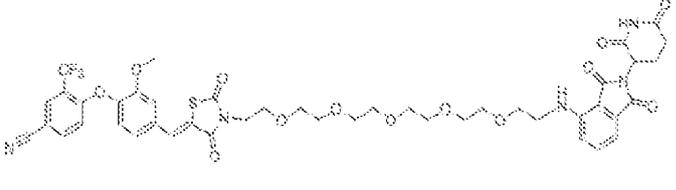
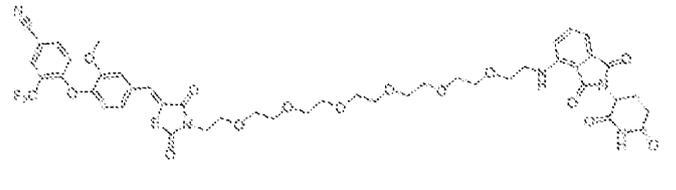
62		F	874.3 (M+23)	4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-ジオキソ ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3- ジヒドロ-1H-イソ インドール-4-イル] -4,7,10-トリオキサ -1-アザドデカン-12- イル]-2,4-ジオキソ -1,3-チアゾリジン-5- イリデン]メチル]-2- メトキシフェノキシ) -3-(トリフルオロ メチル)ベンゾ ニトリル	10
63		F	940.2	4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[ 2-(2,6-ジオキソ ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3- ジヒドロ-1H-イソ インドール-4-イル] -4,7,10,13,16-ペンタ オキサ-1-アザオクタ デカン-18-イル]-2, 4-ジオキソ-1,3- チアゾリジン-5- イリデン]メチル]-2- メトキシフェノキシ) -3-(トリフルオロ メチル)ベンゾ ニトリル	20
64		F	984.3	4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[ 2-(2,6-ジオキソ ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3- ジヒドロ-1H-イソ インドール-4-イル] -4,7,10,13,16,19- ヘキサオキサ-1- アザヘニコサン-21- イル]-2,4-ジオキソ -1,3-チアゾリジン -5-イリデン]メチル] -2-メトキシ フェノキシ)-3- (トリフルオロメチル) ベンゾニトリル	30

表1について：A = 1 $\mu$ Mで10～30%分解、B = 1 $\mu$ Mで31～50%分解、C = 1 $\mu$ Mで > 50%分解、  
 D = IC<sub>50</sub> < 50nM、E = IC<sub>50</sub> > 50nM、F = 試験せず

バイオアッセイにおいて用いた細胞：1：VCaP細胞、2：Panc02.13細胞、3：Nalm1wa細胞  
 、4：22RV-1細胞

【 0 4 7 2 】

## 実施例3：例示的ImiD類縁体

免疫調節薬 (IMiD) として総称して公知であるサリドマイド、ポマリドミド、レナリドミドは長年にわたって多発性骨髄腫を治療するために用いられてきた。この期間の大部分では、分子的な作用機序は知られておらず、構造活性の関係を探求する試みは困難であった。近年、これらの化合物の特有の作用機序の解明によりIMiDへの関心が再び高まっている。これらの化合物は、E3リガーゼセレブロンと非天然基質 (Ikaros、AiolosおよびCK1 ) との異所性タンパク質間相互作用を誘導することによって機能し、ネオ基質のユビキチン化およびその後の分解をもたらす。メカニズムの基本的な理解により、さらなるタンパク質、つまり翻訳終結因子GSPT1の分解を誘発する類縁体の発見が可能になった。最近では、異なるが類似のメカニズムを介して機能する分子の別のファミリーも報告されている。E3ユビキチンリガーゼに結合する分子は、特にタンパク質分解標的指向キメラ (PROTAC) の動員要素として、標的タンパク質分解の分野でも大きな関心が寄せられている。実際、ImiD薬はE3動員要素として広く採用されており、広範な標的の分解を可能にする。

10

## 【0473】

これら化合物の「分子接着剤」メカニズムへの関心から、ImiD類縁体の構造分解への関係は、ネオ基質動員の必要性を解明すること、およびタンパク質分解標的指向キメラにおける使用のための高親和性動員要素の開発の目的で調査された。

## 【0474】

IMiD類縁体の迅速かつロバスタな合成を開発することは困難であった。経路の大部分はグルタミンの環化および無水物との縮合を利用して所望のスクフォールドを生成する。Boc-2-アミノグルタリイミドの調製は、これまでに報告されているように、THFにおいて還流温度でCDIおよび触媒DMAPによりN-(tertブトキシカルボニル)-L-グルタミンを処理することによって実現できる。これまでの経路では、段階的な脱保護反応および縮合反応を利用して、精製後に中程度の収率で所望のスクフォールドを生成してきた。あるいは、グルタリイミドの環化前に縮合反応を実施することができる。

20

## 【0475】

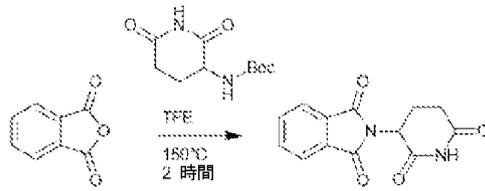
プロセスを早めるために、熱的なBOC脱保護を凝縮工程と組み合わせた。2,2,2-トリフルオロエタノール (TFE) は高温でt-ブトキシカルバメート (BOC) 脱保護を提供できるので、スキーム1、エントリ1に示すワンポット手順を試みた。反応はこれらの条件下で完了まで進行し、室温まで冷却すると生成物が析出して、分析的に純粋な化合物が高収率で得られた。この反応における試薬/溶媒の役割を調査することはこの反応において溶媒としてTFEを採用する利点を例証する。エタノールへの切り替えは、酸性度の低い溶媒では脱保護工程の効率が大幅に低いため有意に低い収率をもたらす。トリフルオロ酢酸の添加は未確認生成物の複合体混合物をもたらした。TFEにおける反応の2時間の還流はBOC基の脱保護をもたらさず、したがってその後の凝縮はない。マイクロ波照射ではなく150 °Cの油浴に反応容器を沈めると収率がわずかに低下するが、これは加熱効率の悪さが原因である可能性がある。無水物に代わるフタル酸の使用は、無水物のインサイチュ形成により許容される。

30

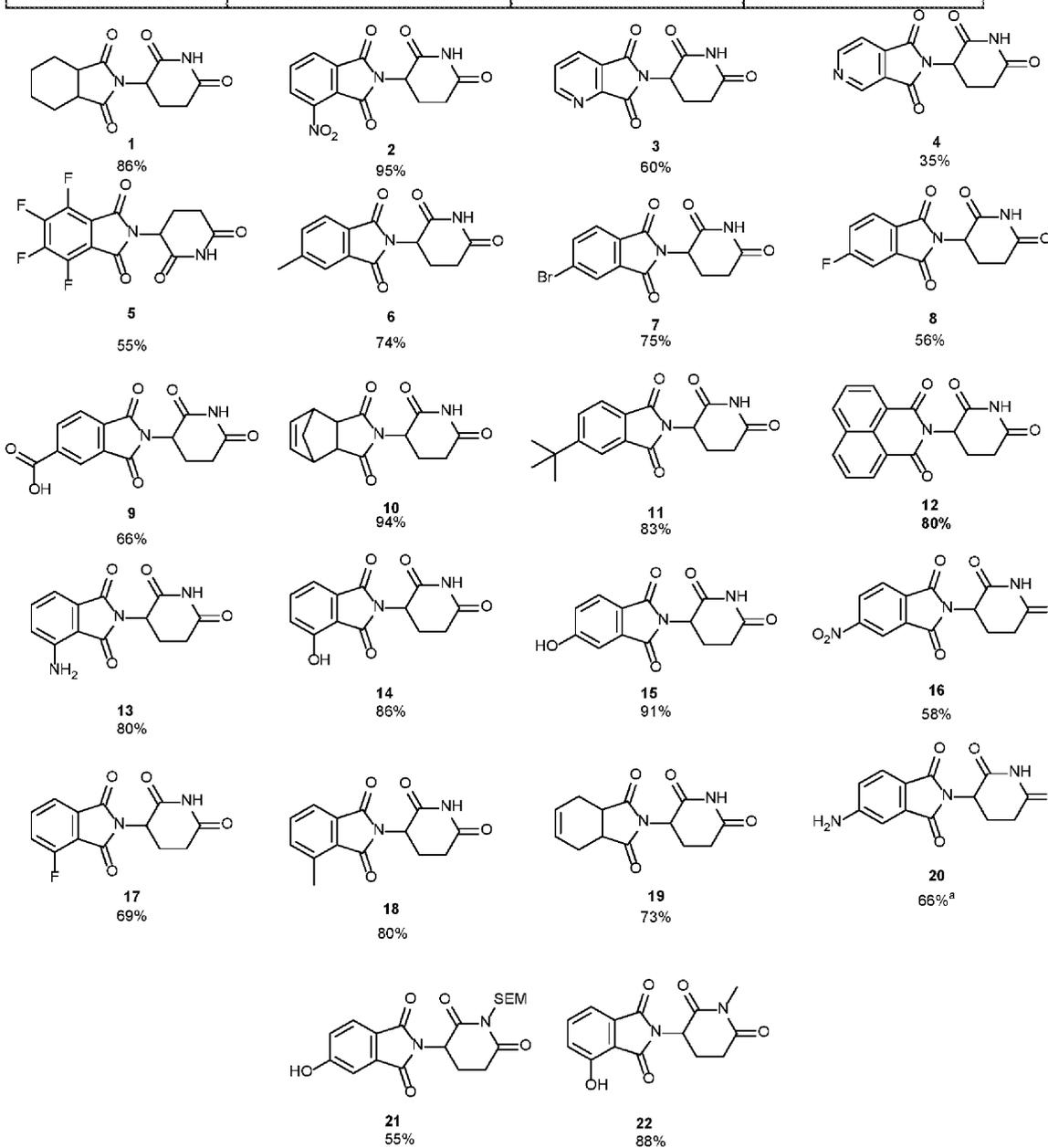
## 【0476】

スキーム1：サリドマイドの合成および反応条件のスクリーニング。a：150 °Cの油浴中で2時間加熱。b：無水フタル酸に代わりにフタル酸を使用。

40



	溶媒	温度 / °C	単離収率
1	トリフルオロエタノール	150	91%
2	エタノール	150	24%
3	エタノール中10%TFA	150	複合体混合物
4	トリフルオロエタノール	還流	無反応
6	トリフルオロエタノール	150	72% <sup>a</sup>
7	トリフルオロエタノール	150	62% <sup>b</sup>



10

20

30

40

50

## 【0477】

サリドマイドの合成のための条件を検討した後、これらの最適化された条件を採用してクロマトグラフィーを用いない迅速な方法で類縁体のライブラリーを作製した。これらの条件は比較的汎用的でありかつ様々な官能基を許容することが証明された。ヘテロ芳香族無水物は許容性がよく、3および4位両方における置換も同様であった。二環式および縮合環系ならびに様々な程度の飽和も許容性がよかった。ポマリドミド(化合物13)は市販の出発原料からワンステップで80%の収率で調製され、精製工程は必要ではなかった。これは、本条件下ではアニリンが許容されるので、ニトロ基還元の使用を回避したポマリドミドの初めての合成である。このアプローチは、SEM保護21またはN-メチル化22類縁体を調製するためにも採用できる。

10

## 【0478】

ImiDの新規な類縁体への先例のないアクセスにより、セレブロン結合とAiolos(IKZF3)およびCK1 weの分解とに関する構造-活性の関連性が調査された。セレブロンへのImiD類縁体の直接的な結合を評価するために、Hisタグ付きセレブロンを固定化したSPRアッセイを採用した。各類縁体毎に用量反応曲線を測定し、Kd値を算出した。結果を表1にまとめた。この直接結合分析は、新たに合成したImiDの多くがCRBNに結合する能力を保持していること、実際にそれらのいくつかは陽性対照として採用したFDA承認化合物よりも高い親和性を有することを明らかにした。例えば、無水1,8-ナフタル酸から誘導された化合物12は、おそらくはタンパク質表面との疎水性相互作用の増加により、親和性が増加した。分子モデリングは、この化合物がポマリドミドと同じ結合構造を採用できることを明らかにした。

20

## 【0479】

表1：表面プラズモン共鳴によって測定されたCRBNへの化合物の結合定数、ならびに、10 $\mu$ Mでのネオ基質AiolosおよびCK1 の分解を誘導するそれらの能力。

	化合物	CRBN Kd / nM <sup>1</sup>	分解	
			Aiolos	CK1 $\alpha$
1	レナリドミド	445 $\pm$ 19	+	+
2	ポマリドミド	264 $\pm$ 18	+	-
3	<b>1</b>	>11000	-	-
4	<b>2</b>	N.B.	-	-
5	<b>3</b>	N.D.	-	-
6	<b>4</b>	N.D.	-	-
7	<b>5</b>	N.D.	-	-
8	<b>6</b>	1450 $\pm$ 49	-	-
9	<b>7</b>	1400 $\pm$ 375	-	-
10	<b>8</b>	55 $\pm$ 18	-	-
11	<b>9</b>	N.B.	-	-
12	<b>10</b>	N.D.	-	-
13	<b>11</b>	221 $\pm$ 52	-	-
14	<b>12</b>	111 $\pm$ 6	-	-
15	<b>13</b>	271 $\pm$ 110	+	-
16	<b>14</b>	N.D.	-	-
17	<b>15</b>	N.D.	-	-
18	<b>16</b>	>11000	-	-
19	<b>17</b>	558 $\pm$ 51	+	-
20	<b>18</b>	2100 $\pm$ 400	-	-
21	<b>19</b>	325 $\pm$ 24	+	-
22	<b>20</b>	549 $\pm$ 66	-	-

30

40

N.B - 結合は観察されず、N.D. - 参照細胞の結合のため決定されず

50

<sup>1</sup> - 少なくとも2つの実験の平均

【0480】

CRBNへの結合を測定することに加えて、これらの新しい類縁体がネオ基質AiolosおよびCK1の分解を誘導する能力を調査した。この目的で、MM-1S細胞を10 $\mu$ Mの各化合物で24時間処理した後、標的タンパク質のイムノブロットングを行った。ポマリドミド、レナリドミドおよびサリドマイドが陽性対照として含まれた一方、DMSOが陰性対照として用いられた。

【0481】

10 $\mu$ MでAiolosの分解を誘発することができた化合物17および19は免疫プロット法を介した用量反応実験でさらに評価した。バンドの定量化およびチューブリン負荷対照への正規化によりDC<sub>50</sub>値(最大分解の半分が観察される濃度)の計算が可能になる(図9A)。ポマリドミド(DC<sub>50</sub> - 11nM)中のアニリン部分の置換により、メチル誘導体化合物19の場合は中程度の活性損失(DC<sub>50</sub> - 81nM)、およびフッ化物化合物17では活性のより顕著な低下(DC<sub>50</sub> - 5300nM)がもたらされる。興味深い分解特性を示したこれらの化合物17および19は、MM1S細胞での細胞増殖アッセイに進み、レナリドミドおよびポマリドミドと比較された。両方の新規化合物はそれらの対応するDC<sub>50</sub>値(化合物19 IC<sub>50</sub> - 128nM、化合物17 IC<sub>50</sub> - 3568nM)と同様の用量で細胞増殖を阻害できた。

【0482】

この類縁体小ライブラリーは、CRBNとネオ基質AiolosおよびCK1との相互作用を誘導する化合物の詳しい要件を明らかにする。いかなる理論によって限定されることを望むものではないが、これは、いくつかの分子が高い親和性でCRBNに結合するが分解を誘導できないことから、CRBNへの親和性には無関係なようである。しかしながら、分解を誘導する化合物であっても、CRBN親和性からは細胞活性が予測できないようであり、化合物17はポマリドミドの概ね2分の1の親和性で結合するが、しかしながら化合物19はタンパク質の分解および増殖に対する効果が20分の1より減少している。より重要なことは、わずかな変化であっても、ネオ基質の動員を完全に無効にすることができる構造変化である。これは、必要なタンパク質間相互作用の錯乱によるものであり、5位のフッ素化(化合物8)などのほんのわずかな変化でさえ、結合したタンパク質/リガンド表面に劇的に影響して三量体形成を妨げる。

【0483】

本報告は、FDAが承認した2つの薬物および20を超えるさらなる類縁体のクロマトグラフィーを用いない迅速な合成、ならびにこれらの新規化合物のためのSARに関する。これは、細胞性多発性骨髄腫モデルにおける抗増殖活性を有する、以前には報告されていないサリドマイド類縁体の同定を含む。さらに、薬理学的特性が改善されかつ/またはCRBN結合親和性が向上したいくつかの化合物が特定され、タンパク質分解標的指向キメラ(PROTAC)のための動員要素として有用な場合がある。特定の態様では、これらの新規な分子は、さらなるネオ基質の分解を誘導するか、または実際にCRBNへの天然基質の結合を阻害して、CRBNの現在は公知ではない基質を発見するための有用なツールを提供する。

【0484】

表面プラズモン共鳴

表面プラズモン共鳴(SPR)実験はS200 Biacore(GE Healthcare)上で実施した。Hisタグ付きセレブロンタンパク質は、NTA/Ni<sup>2+</sup>キレート化を利用して、ニトリロ酢酸(NTA)によりカルボキシメチル化デキストラン表面に固定した。調製した表面は、泳動用緩衝液(10mM HEPES緩衝液 @ pH7.4、150mM NaCl、0.4mg/mL BSA、0.005% P20、2% DMSO)で一晩平衡化した。

【0485】

すべての化合物は、3倍段階希釈において5mMの最高濃度で100% DMSOストックプレートで調製した。化合物をストックプレートからアッセイプレートに移し、DMSO不含泳動用緩衝液で希釈した。すべての化合物は、最終アッセイ最高濃度を33 $\mu$ Mとして、6点濃度シリーズ(six point-concentration series)として実行した。

10

20

30

40

50

## 【0486】

データ解析はS200 Bia評価ソフトウェア(GE Healthcare)で実施した。ブランクを差し引き、標準DMSO曲線を用いてデータをDMSOに対して補正した。すべての報告されたKD値は少なくともN=2の平均を表し、1:1フィッティングアルゴリズムを用いて最小で5つの濃度にフィッティングして取得した。

## 【0487】

## 化合物の細胞評価

MM.1S細胞を10  $\mu$ Mの各化合物で24時間処理した後、溶解緩衝液(プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤を補充した、1%NP-40および0.25%デオキシコール酸を含む25mM Tris-HCl pH7.5)に採取した。4 で10分間16,000xgにて遠心分離して不溶物をペレット化した後、上清のタンパク質濃度をBCAアッセイ(Thermo Fisher Scientific)で定量した。タンパク質試料をSDS-PAGEによって分離し、電気泳動によりニトロセルロースに転写し、Aiolos、CK1 およびチューブリンに対する抗体でプローブした。強化した化学発光を用いてイムノプロットを現像し、Bio-Rad Chemi-Doc MPイメージングシステムを用いて視覚化し、Image Lab v.5.2.1ソフトウェア(Bio-Rad Laboratories)で定量した。

10

## 【0488】

減少したAiolosレベルを示す化合物は、さらに、同様の様式で用量反応実験に供した。

## 【0489】

## 細胞増殖アッセイ

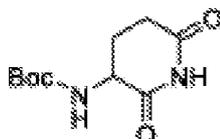
示されているような細胞の72時間の処理後、培地に20  $\mu$ l/ウェルのMTS Aqueous One (Promega Corp., Madison, WI)を補充し、37 で2時間インキュベートした。ホルマザン誘導体へのMTSのミトコンドリア減少を、Wallac Victor2プレートリーダー(Perkin-Elmer Life Sciences, Waltham, MA)を用いて490nmでの培地の吸光度を測定することによってモニタリングした。データ解析および統計処理はPrism v7.0ソフトウェア(GraphPad Software)を用いて実施した。

20

## 【0490】

## 合成

## (2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)カルバミン酸tert-ブチル



30

5-アミノ-2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-5-オキソ-ペンタン酸(Boc-Gln-OH; 7g、28.42mmol)、1,1'-カルボニルジイミダゾール(4.61g、28.42mmol)、およびDMAP(0.02g、0.14mmol)を無水THF(20mL)に溶解し、16時間加熱還流した。反応スラリーを室温まで冷却し、-20 で2時間保持した。生成物をろ別し、THFで洗浄し、一定重量になるまで乾燥させて、5.69g(88%)のN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを白色の固形物として得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 10.74 (s, 1H), 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 4.29-4.15 (m, 1H), 2.79-2.60 (m, 1H), 2.45 (t, J = 3.7 Hz, 1H), 2.01-1.82 (m, 2H), 1.39 (s, 9H).  $^{13}\text{C NMR}$

40

(101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 172.96, 172.51, 155.39, 78.14, 50.38, 30.97, 28.17, 24.42. HRMS: calc. [M-Boc+H] $^+$  for  $\text{C}_5\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2$  = 129.0659; found = 129.0676 [M-Boc+H] $^+$ .

## 【0491】

## 基本手順1: 脱保護/縮合反応

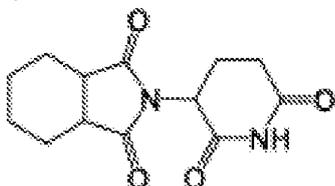
トリフルオロエタノール中のN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチル(1当量)と、対応する無水物(1当量)との懸濁液をマイクロ波条件下150 で2時間加熱した。室温まで冷却した後、反応混合物を-20 まで4時間冷却した。-20 まで冷却した後、所望の生成物が析出しなかった場合は、酢酸エチル(3滴)を加え、混合物を-20 でさらに

50

4時間維持した。析出した生成物をろ別し、酢酸エチル(3×2ml)で洗浄し、一定重量になるまで乾燥させた。

## 【0492】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)ヘキサヒドロ-1*H*-イソインドール-1,3(2*H*)-ジオン, 1



10

化合物1は400mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP 1に従って調製して、399mg(86%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)ヘキサヒドロ-1*H*-イソインドール-1,3(2*H*)-ジオンを得た。

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.00 (s, 1H), 4.88 (dd,  $J = 12.8$ ,

5.5 Hz, 1H), 3.05-2.93 (m, 2H), 2.81 (ddd,  $J = 17.1, 14.0, 5.5$  Hz, 1H), 2.52 (ddd,  $J = 17.0$ ,

4.4, 2.5 Hz, 1H), 2.40 (qd,  $J = 13.1, 4.4$  Hz, 1H), 1.86 (dtd,  $J = 13.1, 5.4, 2.4$  Hz, 1H), 1.78-

1.57 (m, 4H), 1.47-1.19 (m, 4H).  $^{13}\text{C NMR}$  (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  179.30, 179.21, 173.14,

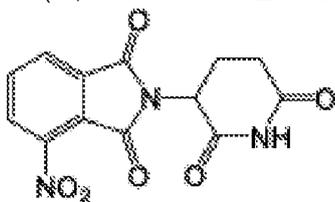
169.85, 49.22, 31.17, 23.58, 23.39, 21.58, 21.53, 21.48. HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$

20

= 263.1110; found = 263.1165  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

## 【0493】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-ニトロイソインドリン-1,3-ジオン, 2



30

化合物2は200mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP 1に従って調製して、252mg(95%)の2-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)-4-ニトロ-イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta = 11.17$  (s, 1H), 8.36 (dd,  $J = 8.1, 0.9$  Hz, 1H),

8.24 (dd,  $J = 7.5, 0.9$  Hz, 1H), 8.12 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 5.20 (dd,  $J = 12.9, 5.4$  Hz, 1H), 2.95-

2.82 (m, 1H), 2.66-2.52 (m, 2H), 2.12-2.03 (m, 1H).  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta =$

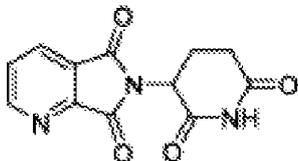
172.67, 169.46, 165.15, 162.50, 144.41, 136.78, 132.98, 128.84, 127.27, 122.53, 49.41, 30.85,

21.71. HRMS: calc.  $[\text{M}+\text{H}]^+$  for  $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_6 = 304.0564$ ; found = 304.0572  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

40

## 【0494】

6-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-5*H*-ピロロ[3,4-*b*]ピリジン-5,7(6*H*)-ジオン, 3



化合物3は200mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP 1に従って調製して、137mg(60%)の6-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)ピロロ[3,4-*b*]ピリジン-5,7-ジオンを得た。

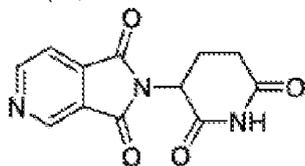
50

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 9.03 (s, 1H), 8.68 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 1H), 8.21 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.46 (dd,  $J$  = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 3.72 (dd,  $J$  = 12.1, 5.1 Hz, 1H), 2.71-2.51 (m, 2H), 2.12-2.01 (m, 1H), 1.90-1.76 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 174.18, 173.03, 166.85, 151.97, 150.28, 136.65, 129.41, 123.40, 50.33, 30.64, 24.87.

HRMS: calc.  $[\text{M}+\text{H}]^+$  for  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_4$  = 260.0666; found = 260.0664  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

【 0 4 9 5 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1H-ピロロ[3,4-c]ピリジン-1,3(2H)-ジオン, 4



10

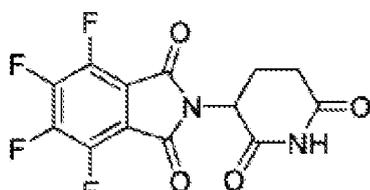
化合物4は200mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP 1に従って調製して、79mg(35%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1H-ピロロ[3,4-c]ピリジン-1,3(2H)-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 11.17 (s, 1H), 9.20 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 1H), 9.16 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 7.96 (dd,  $J$  = 4.9, 1.1 Hz, 1H), 5.22 (dd,  $J$  = 12.9, 5.4 Hz, 1H), 2.96-2.83 (m, 1H), 2.67-2.56 (m, 1H), 2.55-2.44 (m, 1H), 2.12-2.02 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 172.67, 169.51, 166.39, 166.05, 156.30, 144.34, 138.77, 125.30, 117.12, 49.21, 30.86, 21.78. HRMS: calc.  $[\text{M}+\text{H}]^+$  for  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_4$  = 260.0666; found = 260.0687  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

20

【 0 4 9 6 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4,5,6,7-テトラフルオロイソインドリン-1,3-ジオン, 5



30

化合物5は200mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP 1に従って調製して、159,4mg(55%)の2-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)-4,5,6,7-テトラフルオロ-イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 11.18 (s, 1H), 5.19 (dd,  $J$  = 13.0, 5.4 Hz, 1H), 2.97-2.77 (m, 1H), 2.67-2.55 (m, 1H), 2.49-2.38 (m, 1H), 2.18-1.95 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 172.99, 169.62, 162.27, 146.22, 144.48, 143.58, 141.92, 113.83, 49.97, 31.24, 22.07.

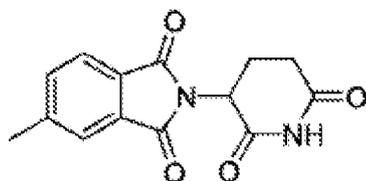
40

$^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = -138.31, -138.35, -143.84, -143.87. HRMS: calc.

$[\text{M}+\text{H}]^+$  for  $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_4$  = 331.0337; found = 331.0356  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

【 0 4 9 7 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-5-メチルイソインドリン-1,3-ジオン, 6



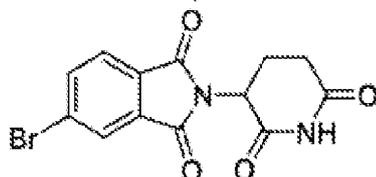
化合物6は2000mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、1750mg(74%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-5-メチルイソインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.09 (s, 1H), 7.77 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.66 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 5.10 (dd, J = 13.0, 5.3 Hz, 1H), 2.95-2.77 (m, 1H), 2.61-2.40 (m, 5H), 2.08-1.94 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172.50, 169.63, 167.03, 166.91, 145.68, 134.95, 131.38, 128.41, 123.58, 123.08, 48.72, 30.72, 21.81, 21.16. HRMS: calc. [M-H]-for  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$  = 271.0724; found = 271.1587 [M-H]-.

10

【 0 4 9 8 】

5-プロモ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン, 7



化合物7は500mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、555mg(75%)の5-プロモ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

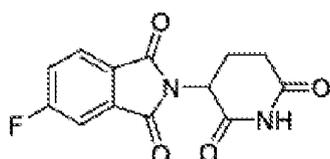
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.11 (s, 1H), 8.12 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.06 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.13 (dd, J = 12.8, 5.4 Hz, 1H), 2.86 (ddd, J = 17.0, 13.8, 5.4 Hz, 1H), 2.65-2.48 (m, 2H), 2.03 (dtd, J = 12.9, 5.2, 2.1 Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.13, 170.09, 166.86, 166.30, 138.05, 133.58, 130.58, 128.95, 126.82, 125.70, 55.34, 49.60, 31.33, 22.33. HRMS: calc. [M+H]+for  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_4$  = 338.9798; found = 338.9832 [M+H]+.

20

30

【 0 4 9 9 】

5-フルオロ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン, 8



化合物8は500mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、342mg(56%)の5-フルオロ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

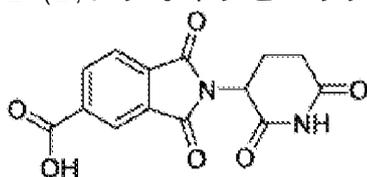
40

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.11 (s, 1H), 7.98 (dd,  $J = 8.3$ , 4.5 Hz, 1H), 7.82 (dd,  $J = 7.4$ , 2.3 Hz, 1H), 7.69 (ddd,  $J = 10.5$ , 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.13 (dd,  $J = 12.8$ , 5.4 Hz, 1H), 2.86 (ddd,  $J = 16.9$ , 13.7, 5.4 Hz, 1H), 2.66-2.52 (m, 2H), 2.03 (dtd,  $J = 13.0$ , 5.2, 2.1 Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.16, 170.17, 167.67, 166.60, 166.33, 166.30, 165.14, 134.67, 134.58, 127.86, 127.84, 126.75, 126.65, 122.30, 122.06, 112.00, 111.74, 49.60, 31.34, 22.36. HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FN}_2\text{O}_4 = 275.0474$ ; found = 275.0462  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

10

【 0 5 0 0 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-5-カルボン酸, 9



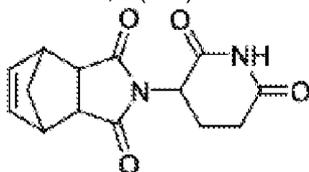
化合物9は2000mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、1760mg(66%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-5-カルボン酸を得た。

20

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.12 (s, 1H), 8.37 (dd,  $J = 7.7$ , 1.4 Hz, 1H), 8.24 (d,  $J = 1.3$  Hz, 1H), 8.01 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 5.17 (dd,  $J = 12.8$ , 5.4 Hz, 1H), 2.87 (ddd,  $J = 16.6$ , 13.6, 5.2 Hz, 1H), 2.62-2.48 (m, 2H), 2.10-1.86 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.15, 170.12, 166.84, 166.80, 166.16, 137.33, 136.11, 134.82, 132.07, 124.27, 123.83, 49.63, 31.34, 22.34. HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4 = 301.0466$ ; found = 301.0252  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

【 0 5 0 1 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-4,7-メタノイソインドール-1,3(2H)-ジオン, 10



化合物10は1500mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、1690mg(94%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-5-カルボン酸を得た。

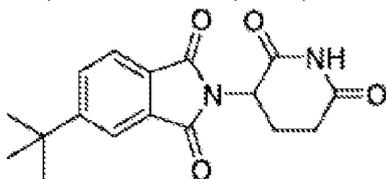
40

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.93 (s, 1H), 6.03 (dd,  $J = 6.9$ , 2.8 Hz, 2H), 4.72 (dd,  $J = 12.6$ , 5.5 Hz, 1H), 3.44-3.34 (m, 2H), 3.30-3.20 (m, 3H), 2.72 (ddd,  $J = 18.4$ , 14.0, 5.4 Hz, 1H), 2.47-2.37 (m, 1H), 2.17 (qd,  $J = 13.0$ , 4.4 Hz, 1H), 1.69-1.57 (m, 1H), 1.56-1.44 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.98, 176.92, 173.02, 169.27, 134.72, 134.62, 51.95, 49.09, 45.58, 45.49, 45.06, 44.86, 30.93, 21.80. HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4 = 273.0881$ ; found = 273.0917  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

【 0 5 0 2 】

50

5-(tert-ブチル)-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン, 11



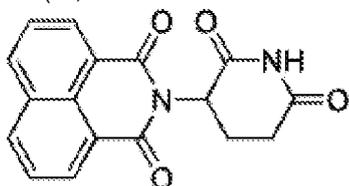
化合物11は300mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、342mg(83%)の5-(tert-ブチル)-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.08 (s, 1H), 7.93-7.85 (m, 2H), 7.82 (dd,  $J = 7.6, 1.0$  Hz, 1H), 5.11 (dd,  $J = 13.0, 5.4$  Hz, 1H), 3.84 (qd,  $J = 9.6, 6.6$  Hz, 2H), 2.86 (ddd,  $J = 17.4, 14.0, 5.4$  Hz, 1H), 2.62-2.46 (m, 4H), 2.02 (dtd,  $J = 12.9, 5.9, 2.8$  Hz, 1H), 1.33 (s, 9H).  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.19, 170.32, 167.77, 167.46, 159.10, 132.10, 131.99, 129.16, 123.76, 120.73, 49.39, 35.97, 31.38, 31.17, 22.45. HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4 = 313.1267$ ; found = 313.1291  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

10

【 0 5 0 3 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1H-ベンゾ[de]イソキノリン-1,3(2H)-ジオン, 12



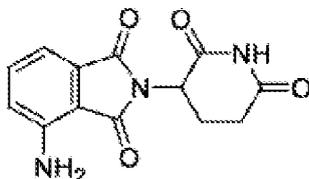
化合物12は、加熱を6時間まで延長することを除いて、68mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、82mg(80%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1H-ベンゾ[de]イソキノリン-1,3(2H)-ジオンを得た。

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.01 (bs, 1H), 8.70-8.33 (m, 4H), 7.90 (dd,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 5.85 (dd,  $J = 11.5, 5.7$  Hz, 1H), 2.95 (ddd,  $J = 18.2, 15.3, 5.4$  Hz, 1H), 2.70-2.54 (m, 2H), 2.11-2.00 (m, 1H).  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172.86, 170.24, 163.44, 162.62, 134.90, 134.85, 131.55, 131.31, 130.96, 127.43, 127.37, 121.83, 121.48, 50.51, 30.86, 21.42. HRMS: (ESI);  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : Calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4, 309.0875$ ; found 309.0858.

30

【 0 5 0 4 】

4-アミノ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン, 13-ボマリドミド



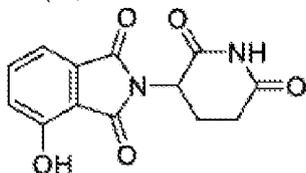
化合物13は97mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、93mg(80%)の4-アミノ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

40

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.07 (s, 1H), 7.58-7.38 (m, 1H), 7.20-6.81 (m, 2H), 6.51 (bs, 2H), 5.04 (dd,  $J = 12.7, 5.4$  Hz, 1H), 2.88 (ddd,  $J = 16.6, 13.7, 5.3$  Hz, 1H), 2.69-2.46 (m, 2H), 2.13-1.91 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172.83, 170.14, 168.57, 167.38, 146.73, 135.48, 132.01, 121.71, 110.98, 108.52, 48.49, 30.99, 22.17. HRMS (ESI);  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : Calcd. for  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4$ , 274.0827; found 274.0837.

## 【 0 5 0 5 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-ヒドロキシインドリン-1,3-ジオン, 14

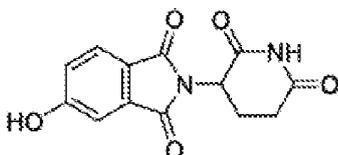


化合物14は265mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてG P1に従って調製して、276mg(86%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-ヒドロキシインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.17 (s, 1H), 11.08 (s, 1H), 7.65 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.32 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 5.07 (dd,  $J = 12.8, 5.4$  Hz, 1H), 2.88 (ddd,  $J = 16.8, 13.8, 5.4$  Hz, 1H), 2.66-2.45 (m, 2H), 2.12-1.94 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172.83, 170.04, 167.04, 165.83, 155.48, 136.41, 133.16, 123.57, 114.37, 114.31, 48.65, 30.98, 22.05. HRMS (ESI);  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calcd. for  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5$ , 275.1080; found 275.0667.

## 【 0 5 0 6 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-5-ヒドロキシインドリン-1,3-ジオン, 15

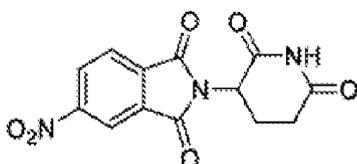


化合物15は156mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてG P1に従って調製して、170mg(91%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-ヒドロキシインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.08 (s, 1H), 11.03 (s, 1H), 7.74 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.24-7.10 (m, 2H), 5.08 (dd,  $J = 12.8, 5.4$  Hz, 1H), 2.98-2.76 (m, 1H), 2.66-2.39 (m, 2H), 2.13-1.94 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172.74, 169.95, 167.01, 166.90, 163.53, 134.05, 125.59, 121.39, 120.74, 109.95, 48.85, 30.94, 22.09. HRMS (ESI);  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calcd. for  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5$ , 275.1080. Found 275.0580.

## 【 0 5 0 7 】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-5-ニトロインドリン-1,3-ジオン, 16



化合物16は500mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてG

10

20

30

40

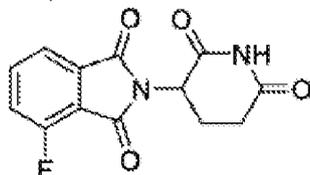
50

P1に従って調製して、389mg(58%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-5-ニトロインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.15 (s, 1H), 8.64 (dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, 1H), 8.53 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 8.16 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 5.21 (dd,  $J = 12.8, 5.4$  Hz, 1H), 2.87 (ddd,  $J = 17.0, 13.8, 5.4$  Hz, 1H), 2.66-2.49 (m, 2H), 2.06 (dtd,  $J = 12.9, 5.2, 2.1$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.11, 169.92, 165.95, 152.14, 136.15, 132.95, 130.50, 125.41, 118.79, 49.91, 31.31, 22.25.

【0508】

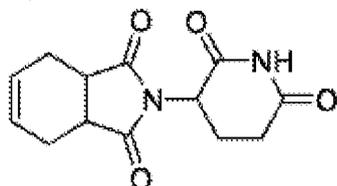
2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロイソインドリン-1,3-ジオン, 17



化合物17は2000mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、1673mg(69%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-フルオロイソインドリン-1,3-ジオンを得た。

【0509】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオン, 18



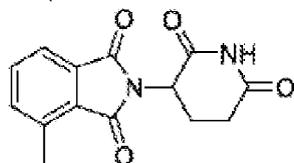
化合物18は2000mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、1678mg(73%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.98 (s, 1H), 5.83 (dt,  $J = 3.4, 1.5$  Hz, 2H), 4.86 (dd,  $J = 12.7, 5.5$  Hz, 1H), 3.22-3.13 (m, 2H), 2.77 (ddd,  $J = 17.1, 13.9, 5.5$  Hz, 1H), 2.50 (dd,  $J = 4.5, 2.6$  Hz, 1H), 2.32 (dtd,  $J = 15.3, 8.0, 3.7$  Hz, 3H), 2.26-2.01 (m, 2H), 1.75 (dtd,  $J = 13.2, 5.5, 2.4$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  179.61, 173.08, 169.29, 127.76, 127.63, 49.60, 38.85, 38.67, 31.04, 23.45, 23.32, 21.70.

HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4 = 261.0954$ ; found = 261.0947  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

【0510】

2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-メチルイソインドリン-1,3-ジオン, 19



化合物19は200mgのN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、174mg(72%)の2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-4-メチルイソインドリン-1,3-ジオンを得た。

10

20

30

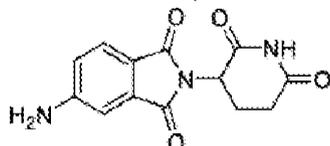
40

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.08 (s, 1H), 7.71 (d,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 7.64 (dd,  $J = 5.9, 2.9$  Hz, 1H), 5.10 (dd,  $J = 13.0, 5.4$  Hz, 1H), 2.87 (ddd,  $J = 17.2, 13.9, 5.3$  Hz, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.58-2.44 (m, 2H), 2.02 (ddt,  $J = 10.6, 5.6, 3.3$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.20, 170.32, 168.25, 167.47, 138.03, 137.33, 134.79, 132.06, 128.33, 121.47, 49.22, 31.39, 22.44, 17.48. HRMS: calc.  $[\text{M}-\text{H}]^-$  for  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4 = 271.0797$ ; found = 271.1587  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

## 【 0 5 1 1 】

10

5-アミノ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン, 20

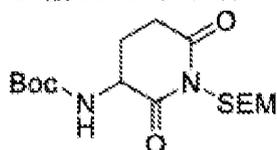


文献の手順に従って、触媒量のPd/C(50mg、10%)を30mLのアセトン中の16(500mg/1.65mmol)の溶液に加えた。混合物を $\text{H}_2$ (g)の雰囲気下周囲温度で20時間攪拌した。次いで混合物をセライトパッドに通してろ過し、セライトを大量のアセトンで洗浄した。溶媒を真空中で蒸発させて、451mg(66%)の5-アミノ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

20

## 【 0 5 1 2 】

(2,6-ジオキソ-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)ピペリジン-3-イル)カルバミン酸tert-ブチル



DMF(1mL)中のN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチル(69mg、0.3mmol)の溶液にNaH(60%、12.09mg、0.3mmol)を0℃で加え、次いで反応を同じ温度で15分間攪拌した。次いで、2-(トリメチルシリル)エトキシメチルクロリド(60.48mg、0.36mmol)を加え、反応混合物を室温でさらに1時間攪拌した。反応混合物をHClの水溶液(1N、30mL)に注ぎ、生成物をAcOEt(30mL)で抽出し、有機層をHCl水溶液(1N、3×20mL)、水(20mL)で洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、真空下で蒸発させた。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィー( $\text{SiO}_2$ -12g、Hex-AcOEt、15分で100%から4:6)によって精製して70mgの生成物を白色の固形物として得た(収率65%)。

30

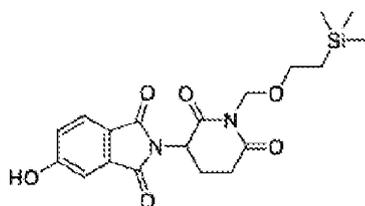
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.42 (s, 1H), 5.23

(d,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 5.14 (d,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 4.37-4.18 (m, 1H), 3.66-3.48 (m, 2H), 2.88 (dd,  $J = 20.5, 2.4$  Hz, 1H), 2.73 (ddd,  $J = 18.4, 13.6, 5.5$  Hz, 1H), 2.56-2.38 (m, 1H), 1.82 (qd,  $J = 13.3, 4.8$  Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 0.98-0.82 (m, 2H), -0.02 (s, 9H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.04, 171.31, 155.62, 80.52, 69.29, 67.54, 52.59, 31.89, 28.40, 24.72, 18.20, -1.32. HRMS: Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{SiNa}$ , 381.1821. Found 381.1870.

40

## 【 0 5 1 3 】

2-(2,6-ジオキソ-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)ピペリジン-3-イル)-5-ヒドロキシイソインドリン-1,3-ジオン, 21



化合物21は、37mgの(2,6-ジオキソ-1-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)ピペリジン-3-イル)カルバミン酸tert-ブチルを用いて、GP1に従って調製し、続いて真空中で濃縮し、分取-TLC(1:1ヘキサン/酢酸エチル)で精製して、23mg(55%)の4-ヒドロキシ-2-(1-メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

10

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,

$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.83 (bs, 1H), 7.62 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 7.05 (dd,  $J = 8.2,$

2.3 Hz, 1H), 5.36-5.21 (m, 2H), 5.05-4.93 (m, 1H), 3.75-3.54 (m, 2H), 3.08-2.95 (m, 1H),

2.91-2.66 (m, 2H), 2.17-2.09 (m, 1H), 0.96 (dd,  $J = 9.1, 7.7$  Hz, 2H), 0.00 (s, 9H).  $^{13}\text{C}$  NMR

(126 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  172.10, 170.40, 167.42, 167.30, 164.04, 134.50, 126.08, 121.81,

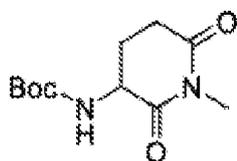
121.26, 110.41, 68.73, 66.39, 49.88, 31.64, 21.54, 17.89, -0.90. HRMS (ESI);  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ :

Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{SiNa}$ , 427.1301. Found 427.1344.

20

【 0 5 1 4 】

(1-メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)カルバミン酸tert-ブチル



DMF(5mL)中のN-(2,6-ジオキソ-3-ピペリジル)カルバミン酸tert-ブチル(371mg、1.63mmol)の溶液にNaH(60%、65.01mg、1.63mmol)を0 で加え、次いで反応を同じ温度で15分間攪拌した。次いで、反応混合物を室温でさらに20分間攪拌した。次いで、 $\text{CH}_3\text{I}$ (0.12ml、1.95mmol)を室温で反応混合物に加え、同じ温度で2時間攪拌した。反応混合物をHClの水溶液(1N、30mL)に注ぎ、生成物をAcOEt(30mL)で抽出し、有機層をHCl水溶液(1N、 $3 \times 20\text{mL}$ )、水(20mL)で洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、真空中で蒸発させた。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィー( $\text{SiO}_2$ -25g、Hex-AcOEt、15分で100%から4:6)によって精製して260mgの生成物を白色の固形物として得た(66%)。

30

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7.19 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 4.39-4.21

(m, 1H), 2.97 (s, 3H), 2.85-2.73 (m, 1H), 2.71-2.53 (m, 1H), 2.09-1.75 (m, 2H), 1.40 (s, 9H).

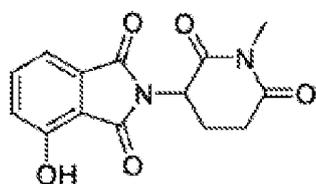
$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  172.28, 172.01, 155.43, 78.18, 50.93, 31.14, 28.18, 26.46,

23.48. HRMS (ESI);  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ , 265.1164. Found 265.1165.

40

【 0 5 1 5 】

4-ヒドロキシ-2-(1-メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオン, 22



化合物22は143mgの(1-メチル-2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)カルバミン酸tert-ブチルを用いてGP1に従って調製して、147mg(88%)の4-ヒドロキシ-2-(1-メチル-2,6-ジオキ

50

ソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.17 (s, 1H),

7.66 (dd,  $J = 8.4, 7.2$  Hz, 1H), 7.32 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 5.14 (dd,  $J =$

13.0, 5.4 Hz, 1H), 3.01 (s, 3H), 3.00-2.87 (m, 1H), 2.82-2.69 (m, 1H), 2.61-2.49 (m, 1H),

2.09-1.96 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  171.79, 169.76, 167.00, 165.79,

155.49, 136.42, 133.13, 123.58, 114.34, 114.30, 49.20, 31.11, 26.60, 21.23. HRMS (ESI);

$m/z$  [M+H] $^+$ : Calcd. for  $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_5$ , 289.0824. Found 289.0789.

10

【 0 5 1 6 】

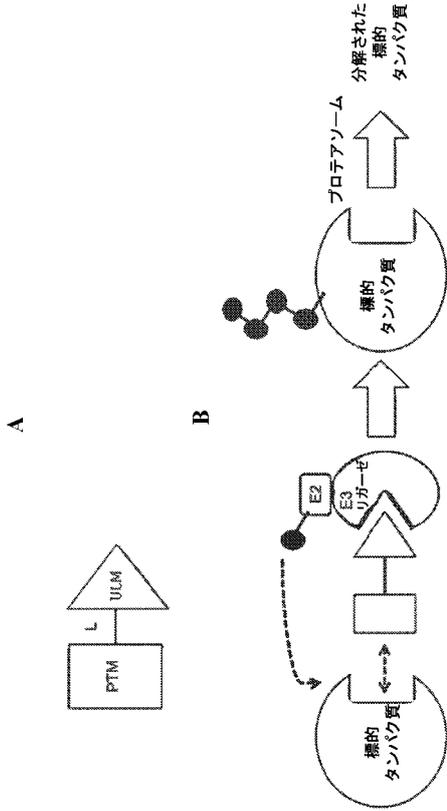
本願全体を通じて引用されるすべての参考文献、特許、係属中の特許出願および公開特許の内容は参照により本明細書に明示的に組み入れられる。

【 0 5 1 7 】

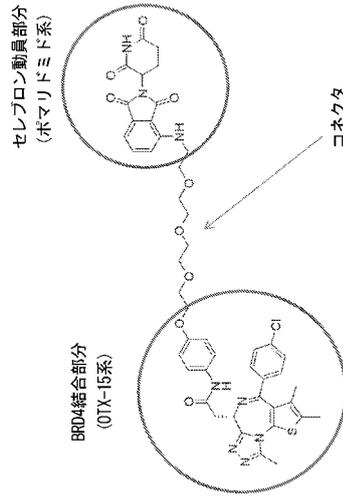
当業者であれば、本明細書に記載の発明の特定の態様に対する多くの均等物を認識するか、または通常の実験を行うのみで確認することができるであろう。そのような均等物は以下のクレームの範囲に包含されることが意図される。本明細書に記載の詳細な例および態様は例示目的のためにのみ例として与えられており、何ら発明を限定すると考えられるものではないと理解される。その観点からの様々な修正または変更が当業者に示唆され、それらは本出願の精神および範囲内に含まれかつ添付のクレームの範囲内にあると見なされる。例えば、成分の相対的な量は所望の効果を最適化するために改変されてもよく、さらなる成分が加えられてもよく、かつ/または類似の成分が1つまたは複数の成分で置換されていてもよい。本発明のシステム、方法、およびプロセスに関連するさらなる有利な特徴および機能は添付のクレームから明らかになるであろう。さらに、当業者であれば本明細書に記載の特定の発明の態様の均等物を多数認識するか、または通常の実験を行うのみで確認することができるであろう。そのような均等物は添付のクレームに包含されることが意図されている。

20

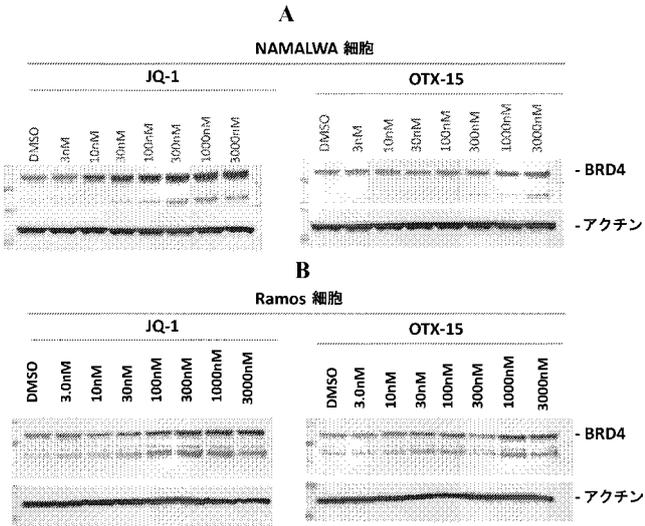
【 図 1 】



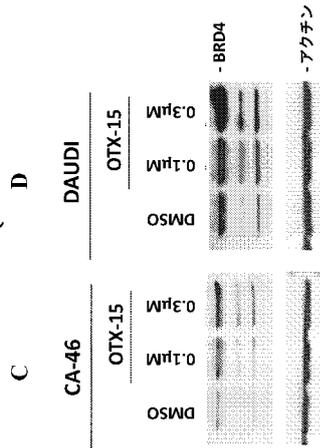
【 図 2 】

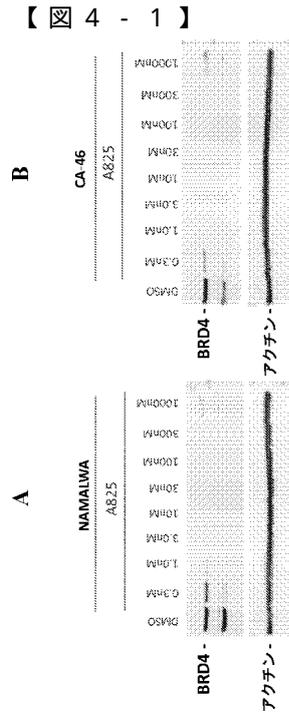
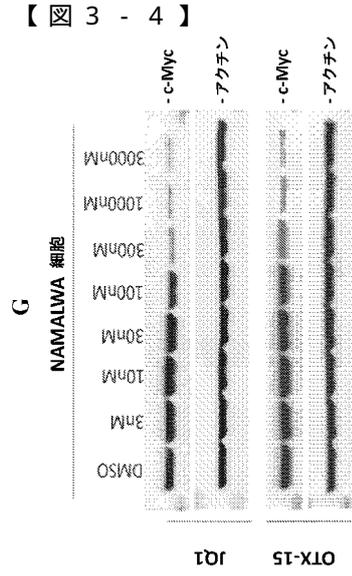
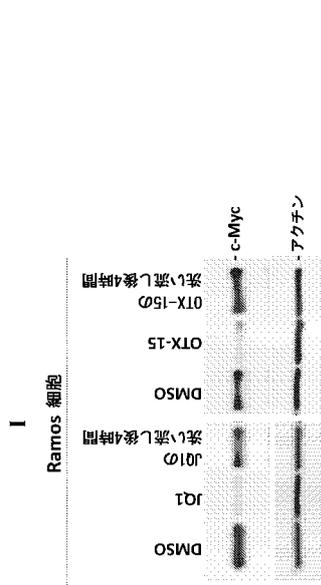
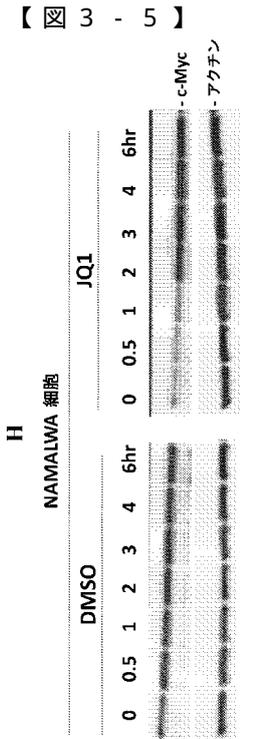
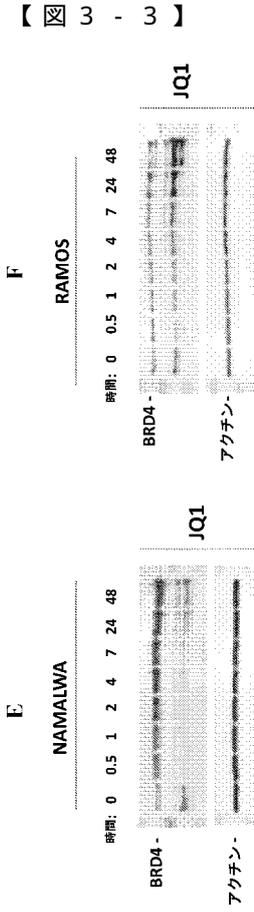


【 図 3 - 1 】



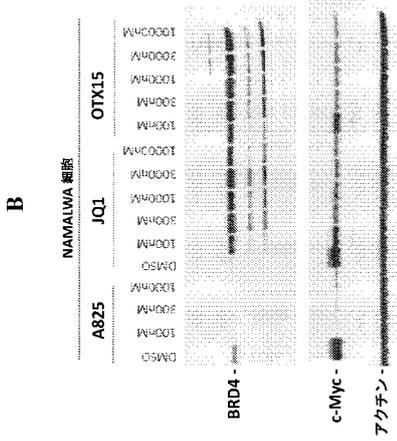
【 図 3 - 2 】



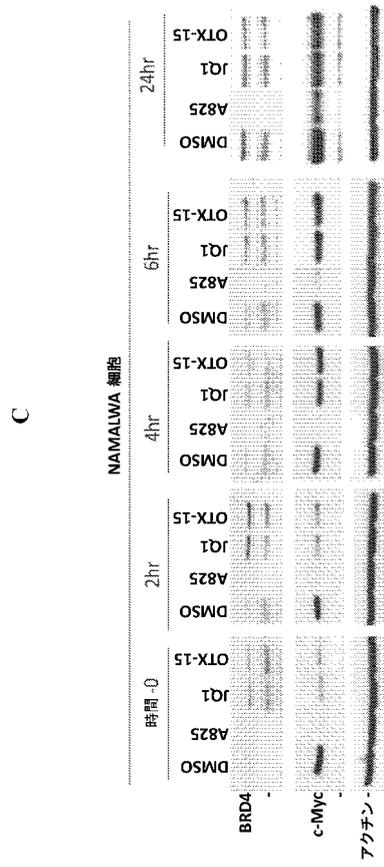




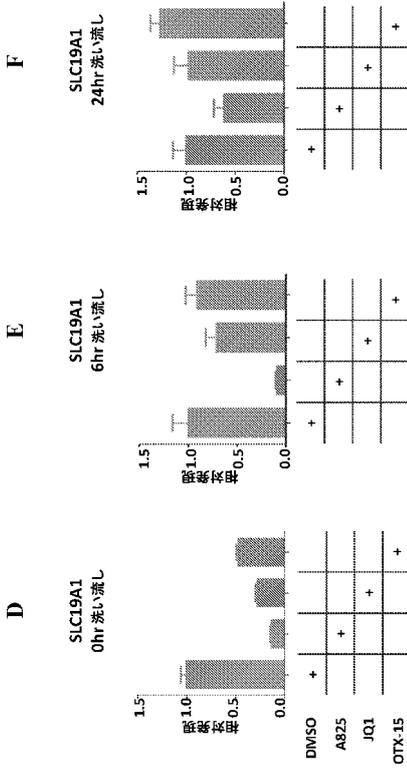
【 図 5 - 2 】



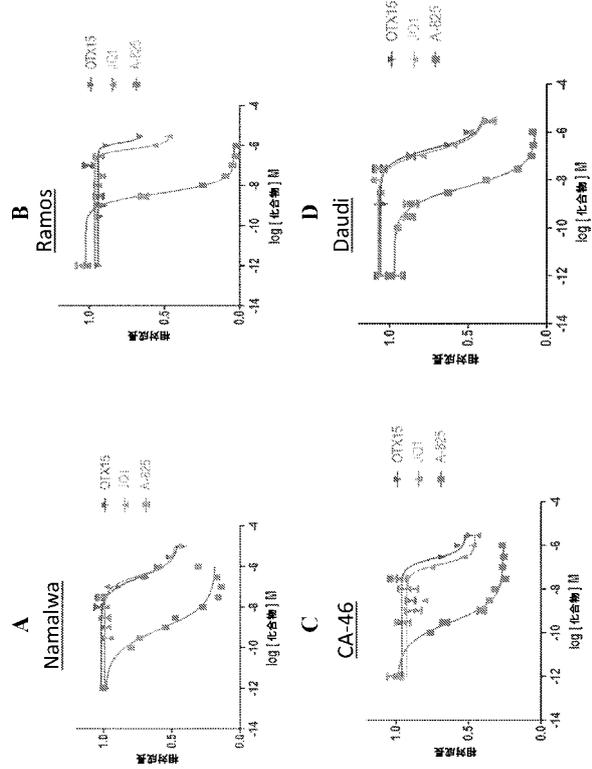
【 図 5 - 3 】



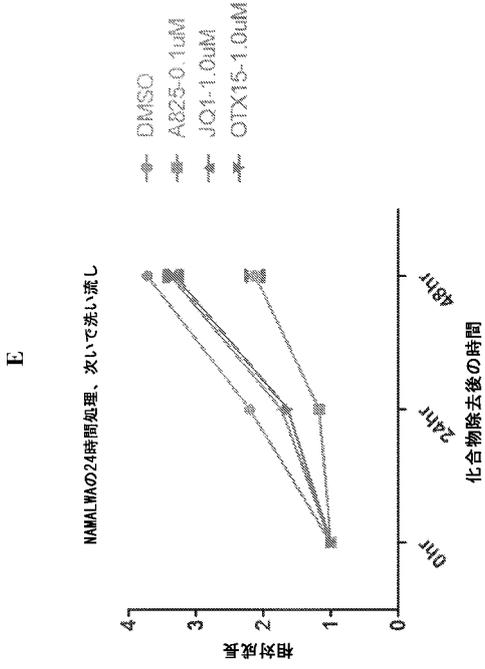
【 図 5 - 4 】



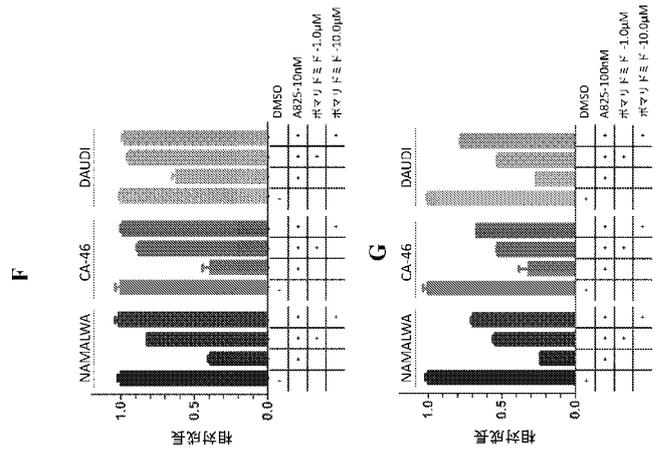
【 図 6 - 1 】



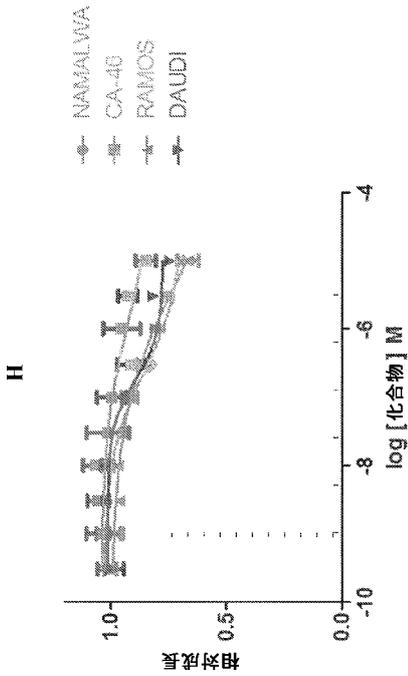
【 図 6 - 2 】



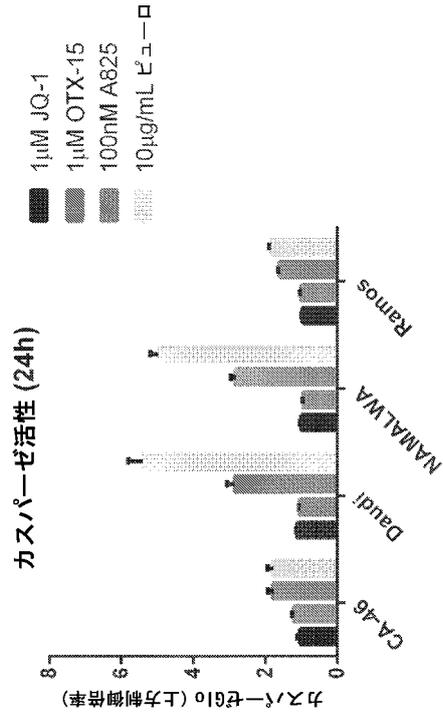
【 図 6 - 3 】



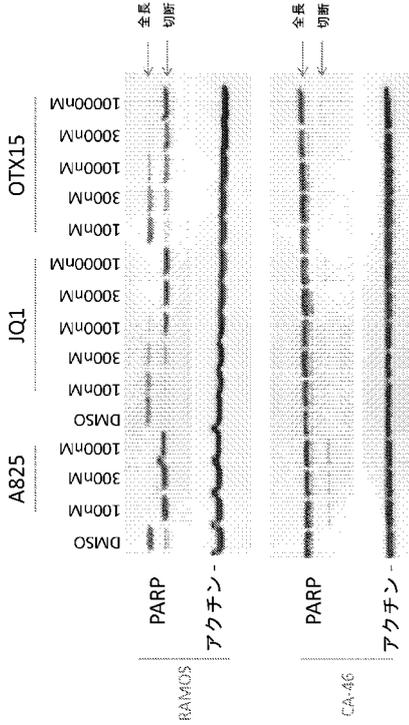
【 図 6 - 4 】



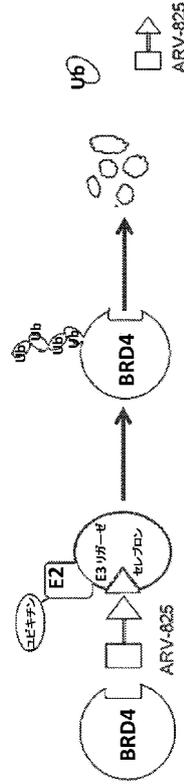
【 図 7 A 】



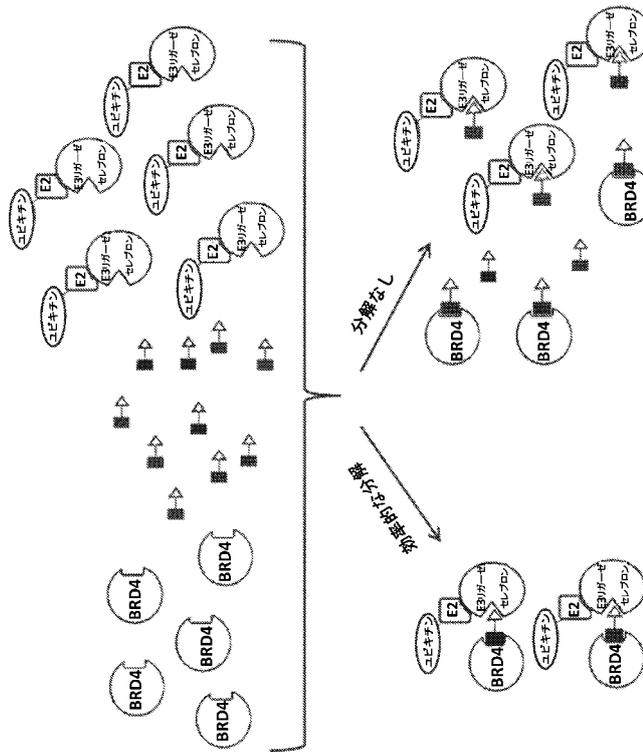
【図 7 B】



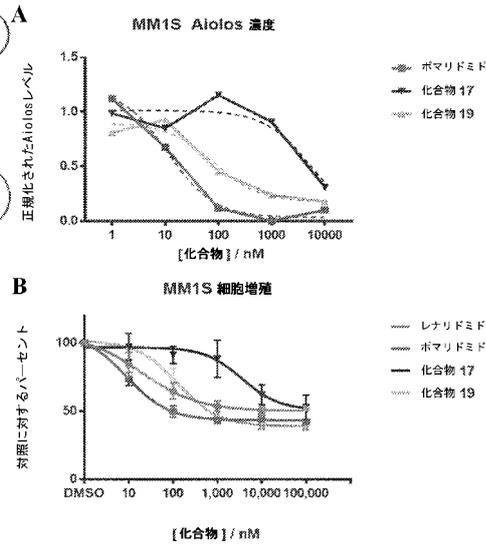
【図 8 A】



【図 8 B】



【図 9】



【配列表】

2021512153000001.app

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2019/015313
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A61K 31/4166; A61K 31/426; A61K 31/436; A61K 31/437 (2019.01) CPC - C12N 9/12; C12N 9/18; C12Q 1/25; C12Y 207/11001; C12Y 301/01031; G01N 2333/9015 (2019.05)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 424/94.3; 435/188; 435/375; 435/7.8; 506/15; 514/220 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2016/0058872 A1 (ARVINAS, INC.) 03 March 2016 (03.03.2016) entire document	1-11, 15-23
A	US 2015/0291562 A1 (ARVINAS, INC.) 15 October 2015 (15.10.2015) entire document	1-11, 15-23
A	BONDESON et al. "Targeted Protein Degradation by Small Molecules," Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 12 October 2016 (12.10.2016), Vol. 57, No. 2017, Pgs. 107-123. entire document	1-11, 15-23
A	HUGHES et al. "Molecular recognition of ternary complexes: a new dimension in the structure-guided design of chemical degraders," Essays in Biochemistry, 08 November 2017 (08.11.2017), Vol. 61, Iss. 5, Pgs. 505-516. entire document	1-11, 15-23
A	LU et al. "Hijacking the E3 Ubiquitin Ligase Cereblon to Efficiently Target BRD4," Chemistry & Biology, 04 June 2015 (04.06.2015), Vol.22, Iss. 6, Pgs. 755-763. entire document	1-11, 15-23
A	NOGUCHI-YACHIDE et al. "BET Bromodomain as a Target of Epigenetic Therapy," Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 01 June 2016 (01.06.2016), Vol. 64, Iss. 6, Pgs. 540-547. entire document	1-11, 15-23
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 02 May 2019		Date of mailing of the international search report <b>15 MAY 2019</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/015313

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
See extra sheet(s).

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims, it is covered by claims Nos.:  
  
1-11 and 15-23 to the extent that they read on the selected chemical compound (see extra sheets).

**Remark on Protest**

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

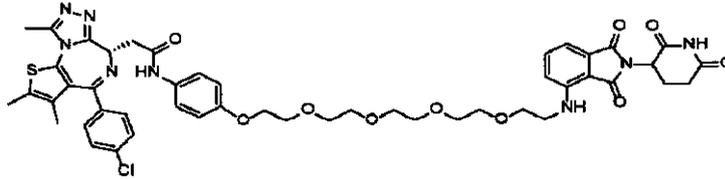
PCT/US2019/015313

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

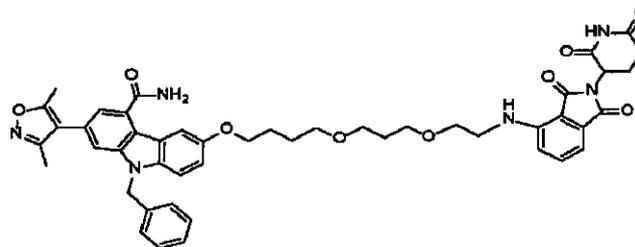
Group I+: claims 1-23 are drawn to compounds of the formula PTM-L-CLM.

The first invention of Group I+ is restricted to a compound of the formula PTM-L-CLM, wherein the compound is selected to be:



It is believed that claims 1-11 and 15-23 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on the above depicted compound.

Applicant is invited to elect additional compounds of the formula PTM-L-CLM, each with a specified chemical structure, to be searched in a specific combination by paying an additional fee for each set of election. An exemplary election would be a compound of the formula PTM-L-CLM, wherein the compound is selected to be:



Additional compounds of the formula PTM-L-CLM will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "\*" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for the treatment or amelioration of a disease condition, such as cancer, requiring the selection of alternatives for the chemical structure of the compounds of the formula PTM-L-CLM, where [the] compound compris[es] the chemical structure: PTM-L-CLM, wherein: L is a bond or a chemical linker coupling the PTM to the CLM; PTM is a protein target moiety that binds to a target protein or polypeptide; CLM is a cereblon E3 ubiquitin ligase binding moiety comprising a structure selected from the group consisting of: (a)-(g), wherein: each occurrence of W is independently selected from the group consisting of CH<sub>2</sub>, CHR, C=O, S(=O)<sub>2</sub>, NH, and N-alkyl; each occurrence of X is independently selected from the group consisting of O, S, and H<sub>2</sub>; each occurrence of Y is independently selected from the group consisting of NH, N-alkyl, N-aryl, N-heteroaryl, N-cycloalkyl, N-heterocyclyl, O, and S; each occurrence of Z is independently selected from the group consisting of O, S, and H<sub>2</sub> with the proviso that both X and Z cannot be simultaneously H<sub>2</sub>; each occurrence of G or G' is independently selected from the group consisting of H, alkyl, OH, CH<sub>2</sub>-heterocyclyl optionally substituted with R', and benzyl optionally substituted with R'; each of Q1-Q7 is independently selected from the group consisting of R', NH<sub>2</sub>, OH, halo, C1-C6 alkyl, C1-C6 alkyl bound to another Q1-Q7 group within the same ring, acetyl, and carboxyl, with the proviso that (a) each ring has 0-2 Q1-Q7 selected from the group corresponding to N and N-oxide; (b) when one Q1-Q7 group is a carbon substituted with a C1-C6 alkyl bound to a non-contiguous Q1-Q7 group within the same given ring, the given ring has 0-2 unsaturated bonds; each occurrence of A is independently selected from the group consisting of H, alkyl, cycloalkyl, Cl, and F; each occurrence of R is independently selected from the group consisting of -C(=O)NR'R'', OR', -NR'R'', -SR', -S(=O)ZR', -S(=O)ZNR'R'', -CRR'', -CRN-RR'', -aryl, heteroaryl, alkyl, cycloalkyl, heterocyclyl, -P(=O)(OR')R'', -P(=O)R'R'', OP(=O)(OR')R'', -OP(=O)R'R'', -Cl, -F, -Br, -I, -CF<sub>3</sub>, -CN, -NR'S(=O)ZNR'R'', NR'C(=O)NR'R'', -C(=O)NR'C(=O)R'', -NR'C(=N-CN)NR'R'', -C(=N-CN)NR'R'', -NR' C(=N-CN)R'', -NR' C(=C-N<sub>0</sub> 2)NR'R'', -S(=O)ZNR'C(=O)R'', -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>R', C(C=N-OR')R'', -CR=CR'R'', -CCR', -S(C=O)(C=N-R')R''.

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 47/60 (2017.01)	A 6 1 K 47/60	
A 6 1 K 47/55 (2017.01)	A 6 1 K 47/55	
A 6 1 K 31/551 (2006.01)	A 6 1 K 31/551	
A 6 1 K 31/454 (2006.01)	A 6 1 K 31/454	
C 0 7 D 417/14 (2006.01)	C 0 7 D 417/14	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

- (74) 代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光
- (74) 代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一
- (74) 代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦
- (74) 代理人 100205707  
弁理士 小寺 秀紀
- (74) 代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人
- (74) 代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥
- (72) 発明者 クルーズ クレイグ エム.  
アメリカ合衆国 0 6 5 1 1 コネチカット州 ニュー ヘブン リビングストーン ストリート  
2 8 6
- (72) 発明者 パースレム ジョージ  
英国 シーティー 1 3 0 アールイー ケント州 サンドウィッチ ヘイスティングス プレイス  
2
- (72) 発明者 クロム フィリップ エム.  
ドイツ連邦共和国 6 1 2 5 0 ウージンゲン リヒャルト - ワグナー シュトラーセ 1 1
- (72) 発明者 ハイメ - フィゲロア ソール  
アメリカ合衆国 0 7 9 5 0 ニュージャージー州 モリス ブレインズ ギャザリング ヒル  
コート 4 5
- (72) 発明者 トウレ モマール  
アメリカ合衆国 0 1 8 2 1 マサチューセッツ州 ビレリカ コンコード ロード 1 5 8 エ  
イチ 2 6
- F ターム(参考) 4C063 AA03 AA05 BB01 CC51 CC62 DD07 DD08 EE01  
4C071 AA01 BB02 CC04 CC21 EE13 FF02 GG06 JJ05 LL01  
4C076 AA95 CC27 CC29 EE23 EE59 FF68  
4C086 AA01 AA02 AA03 BC67 BC82 CB30 GA07 GA09 GA10 MA01

MA05 NA05 NA13 ZB26 ZB27 ZC20 ZC41 ZC75

【要約の続き】

