

明 細 書

発明の名称：新規ピペリジン化合物又はその塩

技術分野

[0001] 本発明は、オーロラ A キナーゼ阻害作用を持つ新規ピペリジン化合物又はその塩、及びその用途に関する。

背景技術

[0002] オーロラ A は、セリン・スレオニンキナーゼの 1 つであり、細胞周期の分裂期（M 期）において、中心体形成や成熟、紡錘体動態、染色体整列等に広く関与し、有糸分裂の進行を調節している（非特許文献 1）。これまでにオーロラ A の過剰発現及び/又は増幅が幅広い種類の癌腫で確認されている（非特許文献 2）。また、腫瘍細胞におけるオーロラ A キナーゼの阻害は、有糸分裂の停止とアポトーシスを誘導することから、オーロラ A は癌治療の重要な標的分子の 1 つである。

[0003] 一方、タキサンやビンカアルカロイドに代表される微小管作動薬は、癌化学療法の基幹薬として広く用いられているが、薬剤への不応性や耐性化により持続的かつ十分な治療効果が得られていない場合も存在する。従って、タキサン系薬剤の抗がん効果を増強できる薬剤の開発は、より効果的な治療機会を提供でき、高い臨床ニーズがある。タキサン系抗癌剤の殺細胞効果には、細胞周期の紡錘体形成チェックポイントの活性化が必要であり、この活性が低下した腫瘍細胞においては、タキサン系抗癌剤に対する感受性が低下することが報告されている（非特許文献 3）。加えて、オーロラ A を過剰発現した細胞株はパクリタキセルに対して耐性となることや（非特許文献 4）、オーロラ A の阻害がパクリタキセル又はドセタキセルの作用を増強することが知られている（非特許文献 5）。一方、サブタイプであるオーロラ B は、オーロラ A とともに細胞周期の分裂期（M 期）に作用するが、その阻害により紡錘体チェックポイントの活性を低下させることが報告されている（非特許文献 6）。そのため、オーロラ B の阻害はタキサン系薬剤の効果を減弱さ

せる可能性が示唆される。また、オーロラCは、精巣や生殖細胞などに強く発現し、ヒト遺伝子解析の結果から精子形成において重要であることが示されている（非特許文献7）。オーロラCの細胞分裂における機能としては、オーロラBの機能を補完するように働くことが知られている（非特許文献8）。その阻害は、オーロラBの阻害と同様に、細胞の異数体化を誘導するためオーロラA阻害とは大きく異なる表現系を示し、タキサン系薬剤の効果増強は期待できないと考えられ、更には生殖系への影響も懸念されるため、薬剤としてはオーロラCの阻害活性を示さないことが望ましい。

以上のことから、オーロラAキナーゼを選択的に阻害する薬剤は、タキサン系抗癌剤と併用することで、その抗腫瘍作用を効果的に増強し、より高い治療効果を可能にすると期待されている。

また、ヒト癌細胞株を移植したマウス腫瘍モデルにおいてパクリタキセルにより誘導される細胞周期停止作用が数日間持続するとの報告があり（非特許文献9）、オーロラA阻害剤を併用する際には、持続的な暴露が可能となる経口剤が望ましいと考えられる。

[0004] これまでに、オーロラA阻害活性を示すアミノピリジン誘導体が経口投与可能である旨報告されている（特許文献1）。しかしながら、特許文献1においては、*in vitro*でのオーロラAに対する阻害活性及び細胞増殖阻害活性の記載はあるが、当該化合物を経口投与した場合の評価について全く記載はない。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開WO2009/104802号パンフレット

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Nat. Rev. Drug Discov., 8, p547-566 (2009)

非特許文献2：Cancer Treat. Rev., 34, p175-182 (2008)

非特許文献3：Mol. Cancer Ther., 5, p2963-2969 (2006)

非特許文献4：Cancer Cell, 3, p51-62 (2003)

非特許文献5 : Cancer Res., 65, p2899-2905 (2005)

非特許文献6 : Mol. Cancer Ther., 8, p2046-2056 (2009)

非特許文献7 : Nature Genet. 39: p661-665, 2007

非特許文献8 : Genes Cells 10: p617-626, 2005

非特許文献9 : Cancer Res., 71, p4608-4616 (2011)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

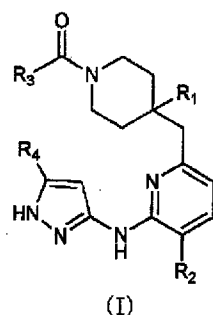
[0007] 従って、本発明の課題は、優れたオーロラA選択的な阻害作用を有し、経口投与可能な抗癌剤として有用である、新規化合物を提供すること、更には、タキサン系抗癌剤を含む微小管作動薬の新規な抗腫瘍効果増強剤及び併用療法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、前記課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、ピリジン環上に特定の置換基を有するピペリジン化合物がオーロラAに対し優れた選択的阻害活性及び癌細胞増殖抑制作用を有し、経口投与が可能であること、更には、タキサン系抗癌剤を含む微小管作動薬の抗腫瘍効果を顕著に増強することを見出し、本発明を完成するに至った。

[0009] すなわち、本発明は、一般式 (I)

[0010] [化1]



[0011] (式中、 R_1 は、カルボキシル基、 $-C(=O)NR_5R_6$ 、又は置換基として C_1-C_6 アルキル基若しくはトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基を示し；

R_2 は、ハロゲン原子又は C_1-C_6 アルコキシ基を示し；

R_3 は、置換基としてハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～3個有してもよいフェニル基を示し；

R_4 は、水素原子又は C_1-C_6 アルキル基を示し；

R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、 C_1-C_6 アルキル基又は C_3-C_6 シクロアルキル基を示すか、 R_5 及び R_6 は、結合する窒素原子と一緒になって3～6員の含窒素飽和ヘテロ環基を形成してもよい。）

で表されるピペリジン化合物又はその塩を提供するものである。

[0012] また、本発明は、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩を有効成分とする医薬を提供するものである。

[0013] また本発明は、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩を有効成分とするオーロラA選択的阻害剤、抗腫瘍剤、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤を提供するものである。

[0014] また、本発明は、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩の、オーロラA選択的阻害剤、抗腫瘍剤、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤製造のための使用を提供するものである。

[0015] また、本発明は、オーロラA選択的阻害のための、癌治療のための、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強のための、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩を提供するものである。

[0016] また、本発明は、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩の有効量を投与することを特徴とする、オーロラA選択的阻害、癌治療、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強のための方法を提供するものである。

[0017] また、本発明は、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩と微小管作動薬とを含有する癌治療薬；癌治療のための、上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩と微小管作動薬とを含有する組成物；上記一般式（1）で表されるピペリジン化合物又はその塩と微小管作動薬とを含有する組成物の、癌治療薬製造のための使用；上記一般式（1）で

表されるピペリジン化合物又はその塩の有効量と、微小管作動薬の有効量とを併用投与することを特徴とする癌治療方法を提供するものである。

[0018] さらに、本発明は、経口投与用の前記医薬、オーロラ A 選択的阻害剤、抗腫瘍剤、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤；経口投与用の前記オーロラ A 選択的阻害剤、抗腫瘍剤、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤製造のための使用；経口投与による前記オーロラ A 選択的阻害のための、癌治療のための、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強のための前記化合物又はその塩；投与手段が経口投与である前記オーロラ A 選択的阻害、癌治療、又は微小管作動薬の抗腫瘍効果増強のための方法を提供するものである。

発明の効果

[0019] 本発明化合物（I）又はその塩は、優れたオーロラ A 選択的な阻害活性及び癌細胞増殖抑制作用を有し、経口投与が可能であり、抗腫瘍剤として有用であるとともにタキサン系抗癌剤を含む微小管作動薬との併用に有用である。

発明を実施するための形態

[0020] 本発明化合物（I）において R_2 の種類は、オーロラ A 選択的阻害活性、経口吸収性、経口投与による抗腫瘍活性、タキサン系抗癌剤を含む微小管作動薬の抗腫瘍効果増強作用の点で重要であり、 R_2 がハロゲン原子又は C_1-C_6 アルコキシ基であることが本発明化合物の特徴である。

[0021] 本願明細書において「 C_1-C_6 アルキル基」とは、炭素数 1～6 の直鎖状若しくは分枝状のアルキル基を示し、具体的にはメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基等が挙げられ、好ましくは炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分枝状のアルキル基（ C_1-C_4 アルキル基）である。

[0022] 本願明細書において「オキサジアゾリル基」とは、1, 2, 4-オキサジアゾリル基又は 1, 3, 4-オキサジアゾリル基である。オキサジアゾリル環上の置換基としては、無置換、 C_1-C_4 アルキル基又はトリフルオロメチル

基が好ましく、無置換、メチル基又はトリフルオロメチル基がより好ましい。

- [0023] 本願明細書において「ハロゲン原子」としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子が挙げられる。
- [0024] 本願明細書において「 C_1-C_6 アルコキシ基」とは、炭素数1～6の直鎖状若しくは分枝状のアルコキシ基を示し、具体的にはメトキシ基、エトキシ基、 n -プロポキシ基、イソプロポキシ基、 n -ブトキシ基、イソブトキシ基、 t -ブトキシ基、ペントキシ基、ヘキソキシ基等であり、好ましくは炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝状のアルコキシ基（ C_1-C_4 アルコキシ基）である。
- [0025] 本願明細書において「 C_3-C_6 シクロアルキル基」とは、炭素数3～6の単環式のシクロアルキル基であり、具体的にはシクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基が挙げられ、好ましくはシクロプロピル基、シクロブチル基である。
- [0026] 本願明細書において「 R_5 及び R_6 は、結合する窒素原子と一緒になって3～6員の含窒素飽和ヘテロ環基を形成してもよい」とは、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒になって（即ち $-NR_5R_6$ が）、更に窒素原子及び／又は酸素原子を0～2個環内に含む3～6員の飽和ヘテロ環基を形成してもよいことを意味し、形成してもよい3～6員の含窒素飽和ヘテロ環基としては、具体的にはアゼチジニル基、ピロリジニル基、ピペリジニル基、ピペラジニル基、モルホリニル基、イソキサゾリジニル基等が挙げられる。
- [0027] 一般式（I）中、 R_1 としては、カルボキシ基、 $-C(=O)NR_5R_6$ （ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、 C_1-C_6 アルキル基又は C_3-C_6 シクロアルキル基を示すか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒になってアゼチジニル基、ピロリジニル基又はイソキサゾリジニル基を形成してもよい）、又は置換基として、 C_1-C_6 アルキル基若しくはトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基が好ましい。
- [0028] 一般式（I）中、 R_1 としては、さらにカルボキシ基、 $-C(=O)NR_5$

R₆（ここで、R₅及びR₆は、同一又は異なって、水素原子、メチル基、シクロプロピル基若しくはシクロブチル基であるか、R₅及びR₆が結合する窒素原子と一緒にアゼチジニル基、ピロリジニル基若しくはイソキサゾリジニル基を示す）、又は置換基としてメチル基若しくはトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基であるのが好ましい。

[0029] 一般式（I）中のR₂がハロゲン原子又はC₁－C₆アルコキシ基であることは後記実施例に示すようにオーロラA選択的阻害活性、経口吸収性、経口投与による抗腫瘍活性、タキサン系抗癌剤を含む微小管作動薬の抗腫瘍効果増強作用の点で重要である。当該R₂としては、フッ素原子、塩素原子又はC₁－C₄アルコキシ基が好ましく、さらに好ましくはフッ素原子、塩素原子又はメトキシ基である。

[0030] 一般式（I）中、R₃としては、置換基としてハロゲン原子、C₁－C₄アルキル基、C₁－C₄アルコキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～3個有してもよいフェニル基が好ましく、これらの置換基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有するフェニル基がより好ましい。さらに好ましくは、置換基としてフッ素原子、塩素原子、メチル基、メトキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有するフェニル基である。

[0031] 一般式（I）中、R₄としては水素原子又はC₁－C₄アルキル基が好ましく、さらに水素原子又はメチル基が好ましい。

[0032] 本発明化合物において、R₁が、カルボキシル基、－C（＝O）NR₅R₆（ここで、R₅及びR₆は、同一又は異なって、水素原子、C₁－C₄アルキル基又はC₃－C₆シクロアルキル基を示すか、R₅及びR₆が結合する窒素原子と一緒にアゼチジニル基、ピロリジニル基又はイソキサゾリジニル基を形成してもよい）、又は置換基として、C₁－C₄アルキル基若しくはトリフルオロメチル基を有していてもよいオキサジアゾリル基であり；R₂がフッ素原子、塩素原子又はC₁－C₄アルコキシ基であり；R₃が置換基としてハロゲン原子、C₁－C₄アルキル基、C₁－C₄アルコキシ基及びトリフルオロメチル基から選ば

れる基を同一又は異なって1～2個有してもよいフェニル基であり； R_4 が水素原子又は C_1-C_4 アルキル基であるのが好ましい。

[0033] また、本発明化合物において、一般式（I）中、 R_1 がカルボキシ基、 $-C(=O)NR_5R_6$ （ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、メチル基、シクロプロピル基又はシクロブチル基であるか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒にアゼチジニル基、ピロリジニル基若しくはイソキサゾリジニル基を示す）、又は置換基としてメチル基又はトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ素原子、塩素原子又はメトキシ基であり； R_3 が置換基としてフッ素原子、塩素原子、メチル基、メトキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有してもよいフェニル基であり； R_4 が水素原子又はメチル基である化合物が好ましい。

また、 R_1 がカルボキシ基、 $-C(=O)NR_5R_6$ （ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子又はメチル基であるか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒にイソキサゾリジニル基を示す）、又は置換基としてメチル基を有してもよい1, 2, 4-オキサジアゾリル基若しくは1, 3, 4-オキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ素原子、塩素原子又はメトキシ基であり； R_3 が置換基としてフッ素原子、塩素原子、メチル基、メトキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有するフェニル基であり； R_4 が水素原子又はメチル基である化合物がより好ましい。

[0034] さらに、 R_1 がカルボキシ基又は置換基としてメチル基を有してもよい1, 2, 4-オキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ素原子であり； R_3 が置換基としてフッ素原子及び塩素原子から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有するフェニル基であり； R_4 がメチル基である化合物が特に好ましい。

[0035] 具体的な好適な本発明化合物は以下のものが例示できる。

1-（2, 3-ジクロロベンゾイル）-4-（（5-フルオロ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル

) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 1)

1-(2-フルオロ-3-トリフルオロメチルベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 2)

1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 10)

1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-メトキシ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 11)

1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-クロロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 12)

1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 13)

1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-N-メチルピペリジン-4-カルボキシアミド (化合物 14)

[0036] 1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-N,N-ジメチルピペリジン-4-カルボキシアミド (化合物 16)

アゼチジン-1-イル(1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)メタノン (化合物 19)

(1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-

6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)(イソキサゾリジン-2-イル)メタノン(化合物21)

(3-クロロ-2-フルオロフェニル)(4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン(化合物22)

(2,3-ジクロロフェニル)(4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン(化合物23)

(3-クロロ-2-フルオロフェニル)(4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン(化合物24)

(3-クロロ-2-フルオロフェニル)(4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,3,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン(化合物28)

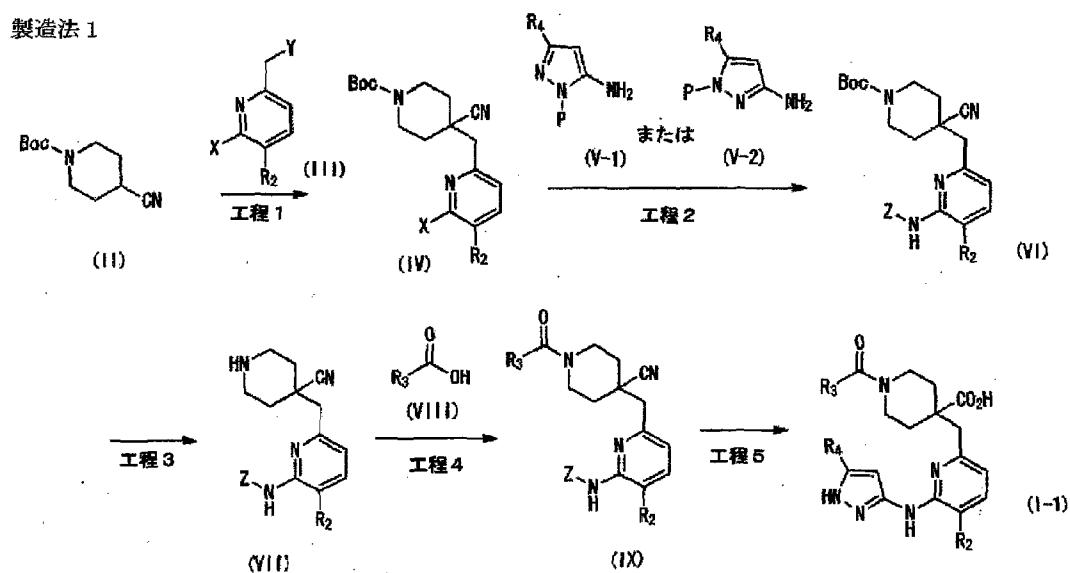
(3-クロロ-2-フルオロフェニル)(4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(3-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン(化合物29)

[0037] 次に、本発明に係る化合物(1)の代表的な製造方法について説明する。

本発明化合物(1)は、例えば、下記の製造法又は実施例に示す方法等により製造することができる。ただし、本発明化合物(1)の製造法はこれら反応例に限定されるものではない。本発明の化合物の合成に必要な原料は市販、又は文献等による製法で容易に製造できる。

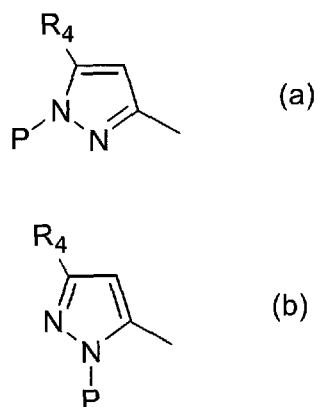
[0038] 本発明化合物 (1) のうち、 R_1 がカルボキシル基である化合物 (1-1) は、例えば、下記の製造法 1 により製造することができる。

[0039] [化2]



[0040] (式中、X、Yは脱離基を示し；Pは水素原子又は保護基を示し；Zは、一般式 (a) 又は (b))

[0041] [化3]



[0042] を示し； R_2 、 R_3 、 R_4 は前記と同義である。)

[0043] 本製造法 1 において、X又はYで示される脱離基としては、ハロゲン原子が挙げられ、好ましくは臭素原子である。Pで表される保護基としては、例えば、tert-ブチル基、メトキシメチル基、[(2-トリメチルシリル

）エトキシ〕メチル基、ベンジル基等が挙げられ、好ましくは *tert*-ブチル基である。

[0044]（工程１） 本工程は、化合物（II）に塩基を反応させた後に、化合物（III）との反応により化合物（IV）を製造する方法である。本工程で用いられる化合物（III）としては、6-ブロモ-2-ブロモメチル-5-フルオロピリジン、6-ブロモ-2-クロロメチル-5-フルオロピリジン、2-ブロモメチル-6-クロロ-5-フルオロピリジン、2-ブロモメチル-5, 6-ジクロロピリジン、6-ブロモ-2-ブロモメチル-5-メトキシピリジン等挙げられ、好ましくは6-ブロモ-2-ブロモメチル-5-フルオロピリジンである。化合物（III）は市販で入手できるか、又は公知の方法に従い製造することができる。

[0045] 本工程に用いられる化合物（III）の量は、化合物（II）１当量に対し、0.1～10当量であり、好ましくは0.8～2当量である。反応温度は-90～100℃であり、好ましくは-78～0℃である。反応時間は0.1～100時間であり、好ましくは0.5～10時間である。塩基としてはリチウムジイソプロピルアミン、リチウムヘキサメチルジシラジド等が挙げられ、0.5～10当量用いることができ、好ましくは1～1.5当量である。本反応で用いる溶媒は、反応に支障のないものであれば特に制限はなく、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、トルエン等が挙げられ、これらを単独で又は混合して用いることができる。

このようにして得られる化合物（IV）は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0046]（工程２）

本工程は、化合物（IV）と化合物（V）とのカップリング反応により、化合物（VI）を製造する方法である。本工程で用いられる化合物（V）（化合物（V-1）または化合物（V-2））としては1-*tert*-ブチル-3

ーメチルー1H-ピラゾール-5-アミン、1-tert-ブチルー1H-ピラゾール-5-アミン、1- {[2-(トリメチルシリル)エトキシ]メチル}-1H-ピラゾール-3-アミン、5-メチルー1- {[2-(トリメチルシリル)エトキシ]メチル}-1H-ピラゾール-3-アミン等が挙げられる。化合物(V)は市販で入手できるか、又は公知の方法に従い製造することができる。

[0047] 本工程に用いる化合物(V)の量は、化合物(IV)1当量に対し、0.5~10当量であり、好ましくは0.8~2当量である。使用する触媒としてはトリスベンジリデンアセトンジパラジウム、酢酸パラジウム等の金属触媒が挙げられ、化合物(IV)1当量に対し、0.001~5当量用いることができ、好ましくは0.005~0.1当量である。前記金属触媒の配位子としては4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン、2,2'-ビスジフェニルホスフィノー1,1'-ビナフチル等が挙げられ、化合物(IV)1当量に対し、0.001~5当量用いることができ、好ましくは0.005~0.2当量である。反応温度は0~200℃であり、好ましくは室温~130℃である。反応時間は0.1~100時間であり、好ましくは0.5~20時間である。塩基としてはリン酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム、ナトリウムtert-ブトキシド等の無機塩基やトリメチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジン等の有機アミン類が挙げられ、0.5~10当量用いることができ、好ましくは1~3当量である。本反応で用いる溶媒は、反応に支障のないものであれば特に制限はなく、トルエン、テトラヒドロフラン、ジオキサン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリジン-2-オン、tert-ブタノール、tert-アミルアルコール等が挙げられ、これらを単独で又は混合して用いることができる。

このようにして得られる化合物(VI)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0048] (工程3)

本工程は、化合物(VI)の保護基である *tert*-ブトキシカルボニル基を酸存在下に脱保護し、化合物(VII)を製造する方法である。本工程で用いる反応条件は、文献記載の方法(Protective Groups in Organic Synthesis、T. W. Greene 著、John Wiley & Sons 社(1981年))又はそれに準じた方法に従って行うことができる。例えば、用いる酸としてはトリフルオロ酢酸、塩酸、硫酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸が挙げられ、0.1～100当量用いることができ、好ましくは1～10当量である。反応温度は0～200℃であり、好ましくは室温～100℃である。反応時間は0.1～100時間であり、好ましくは0.5～20時間である。本反応で用いる溶媒は、反応に支障のないものであれば特に制限はなく、クロロホルム、アセトニトリル、トルエン、テトラヒドロフラン、ジオキサン、水、酢酸等が挙げられ、これらを単独で又は混合して用いることができる。

このようにして得られる化合物(VII)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0049] (工程4)

本工程は、化合物(VII)と化合物(VIII)の脱水縮合反応によって、化合物(IX)を得る反応である。本工程で用いられる化合物(VIII)としては、例えば、2-フルオロ-3-クロロ安息香酸、2,3-ジクロロ安息香酸等が挙げられる。化合物(VIII)は市販で入手できるか、又は公知の方法に従い製造することができる。本工程では一般的に用いられている縮合剤を用いて公知の方法に従って、化合物(IX)を得ることができる。縮合剤として、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、N, N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSC)、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)、(ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ)トリスジメチル

アミノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (BOP)、(ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ)トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PyBOP)、(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ)トリスピロリジノホスホニウムホスフェート (PyAOP)、ブロモトリスピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (BroP)、クロロトリス(ピロリジン-1-イル)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PyCroP)、3-(ジエトキシホスホリロキシ)-1,2,3-ベンゾトリアジン-4(3H)-オン (DEPBT)、O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (HATU)、4-(5,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリン塩酸塩 (DMTMM)等が挙げられる。そのときの添加剤として1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt)、1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール (HOAt)、N-ヒドロキシスクシンイミド (HOSu)等が挙げられ、これらを0.1~100当量用いることができ、好ましくは1~10当量である。必要に応じてトリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、ピリジン、4-(N,N-ジメチルアミノ)ピリジン、ルチジン、コリジン等の塩基を0.1~100当量用いることができ、好ましくは1~10当量である。溶媒としては特に制限はないが、水、メタノール、エタノール、2-プロパノール、テトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、トルエン、塩化メチレン、クロロホルム、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド等を用いることができる。反応温度は-30~200℃であり、好ましくは0~50℃である。反応時間は0.1~100時間で、好ましくは0.5~24時間である。

このようにして得られる化合物(IX)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次行程に付すことができる。

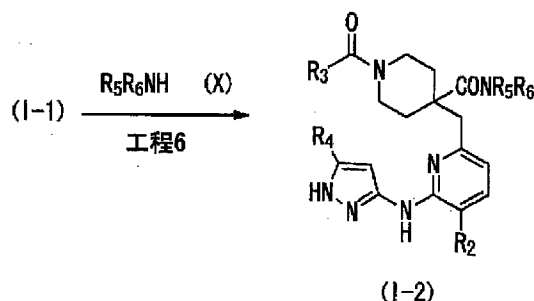
[0050] (工程5)

本工程は、化合物(IX)のシアノ基の加水分解と置換基Z中の保護基(P)の脱保護を酸性条件下で同時に行い、化合物(1-1)を製造する方法である。例えば、用いる酸としては、塩酸、硫酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸が挙げられ、0.1~100当量用いることができ、好ましくは1~10当量である。反応温度は室温~200℃であり、好ましくは60~130℃である。反応時間は0.1~100時間であり、好ましくは0.5~20時間である。本反応で用いる溶媒は、反応に支障のないものであれば特に制限はなく、ジオキサン、水、酢酸、トルエン、テトラヒドロフラン、2-プロパノール等が挙げられ、これらを単独で又は混合して用いることができる。このようにして得られる化合物(1-1)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製することができる。

[0051] 一般式(1)の化合物のうち、 R_1 が $-C(=O)NR_5R_6$ である化合物(1-2)は、例えば、下記の製造法2により製造することができる。

[0052] [化4]

製造法2



[0053] (式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 は前記と同義である。)

[0054] (工程6)

本工程は、製造法1で得られた化合物(1-1)と化合物(X)の脱水縮合反応によって、化合物(1-2)を製造する方法である。本工程で用いられる化合物(X)としては、例えば、メチルアミン、ジメチルアミン、塩化

アンモニウム、シクロプロピルアミン、ピロリジン等のアミン及びその塩が挙げられる。化合物（X）は市販で入手できるか、又は公知の方法に従い製造することができる。本工程では一般的に用いられている縮合剤を用いて公知の方法に従って、化合物（I-2）を得ることができる。縮合剤として、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）、N, N'-ジイソプロピルカルボジイミド（DIC）、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（WSC）、ジフェニルホスホリルアジド（DPPA）、（ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ）トリスジメチルアミノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（BOP）、（ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ）トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（PyBOP）、（7-アザベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ）トリスピロリジノホスホニウムホスフェート（PyAOP）、ブロモトリスピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（BroP）、クロロトリス（ピロリジン-1-イル）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（PyCroP）、3-（ジエトキシホスホロキシ）-1, 2, 3-ベンゾトリアジン-4（3H）-オン（DEPBT）、O-（ベンゾトリアゾール-1-イル）-N, N, N', N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（HATU）、4-（5, 6-ジメトキシ-1, 3, 5-トリアジン-2-イル）-4-メチルモルホリン塩酸塩（DMTMM）等が挙げられる。そのときの添加剤として1-ヒドロキシベンゾトリアゾール（HOBt）、1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール（HOAt）、N-ヒドロキシスクシンイミド（HOSu）等が挙げられ、これらを0.1～100当量用いることができ、好ましくは1～10当量である。必要に応じてトリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、ピリジン、4-（N, N-ジメチルアミノ）ピリジン、ルチジン、コリジン等の塩基を0.1～100当量用いることができ、好ましくは1～10当量である。溶媒としては特に制限はないが、水、メタノール、エタノール、2-プロパノール、テトラ

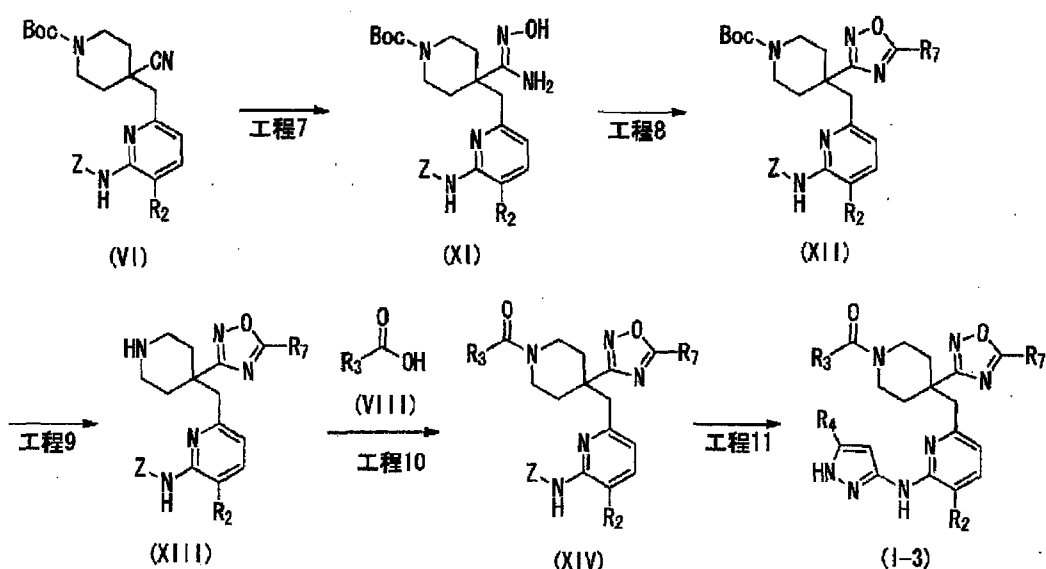
ヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、トルエン、塩化メチレン、クロロホルム、アセトニトリル、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド等を用いることができる。反応温度は $-30 \sim 200^{\circ}\text{C}$ であり、好ましくは $0 \sim 50^{\circ}\text{C}$ である。反応時間は0.1～100時間で、好ましくは0.5～24時間である。

このようにして得られる化合物(1-2)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製することができる。

[0055] 一般式(1)の化合物のうち、 R_1 が R_7 で置換された1, 2, 4-オキサジアゾールである化合物(1-3)は、例えば、下記の製造法3により製造することができる。

[0056] [化5]

製造法3



[0057] (式中、 R_7 は $C_1 \sim C_6$ アルキル基又はトリフルオロメチル基を示し； R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、Zは前記と同義である。)

[0058] (工程7)

本工程は、製造法1で製造中間体として得られた化合物(VI)のシアノ基をアミドオキシムへ変換し、化合物(XI)を製造する方法である。本工程で

用いる反応は、例えば国際公開WO 2005/026123号パンフレット、国際公開WO 2008/117175号パンフレット、国際公開WO 2008/156721号パンフレット等に記載の方法又はそれに準じた方法に従って行うことができる。例えば、化合物(VI)を、エタノール、2-プロパノール等のアルコール溶媒中、ヒドロキシルアミンと反応させることにより行うことができる。必要に応じて塩基を用いてもよく、塩基としては、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、ピリジン等の有機アミン類や炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムtert-ブトキシド等の無機塩類が挙げられる。ヒドロキシルアミンは、1~100当量用いることができ、好ましくは1~10当量である。反応温度は室温~150℃であり、好ましくは50~100℃である。反応時間は0.1~100時間であり、好ましくは0.5~20時間である。

このようにして得られる化合物(XI)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0059] (工程8)

本工程は、化合物(XI)のアミドオキシム基を1, 2, 4-オキサジアゾール環へ変換し、化合物(XII)を製造する方法である。本工程で用いる反応は、例えば国際公開WO 2005/026123号パンフレット、国際公開WO 2008/117175号パンフレット、国際公開WO 2008/156721号パンフレット等に記載の方法又はそれに準じた方法に従って行うことができる。例えば、化合物(XI)を、トルエン、クロロホルム、酢酸、N, N-ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリジン-2-オン、ピリジン等の溶媒中、無水酢酸、塩化アセチル、オルトギ酸トリエチル、オルト酢酸トリエチル等と反応させることにより行うことができる。必要に応じて塩基を用いてもよく、塩基としては、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、ピリジン等が挙げられる。反応温度は室

温～150℃であり、好ましくは50～100℃である。反応時間は0.1～100時間であり、好ましくは0.5～20時間である。

このようにして得られる化合物(XII)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0060] (工程9)

化合物(XII)の保護基であるtert-ブトキシカルボニル基を酸存在下に脱保護し、化合物(XIII)を製造する方法である。本工程は前記工程3と同様の方法、又はこれに準じた方法で行うことができる。

このようにして得られる化合物(XIII)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0061] (工程10)

本工程は、化合物(XIII)と化合物(VIII)の脱水縮合反応によって、化合物(XIV)を製造する方法である。本工程は前記工程4と同様の方法、又はこれに準じた方法で行うことができる。

このようにして得られる化合物(XIV)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

[0062] (工程11)

本工程は、化合物(XIV)の置換基Z中の保護基(P)を酸存在下に脱保護し、化合物(1-3)を製造する方法である。本工程は前記第5工程と同様の方法、又はこれに準じた方法で行うことができる。

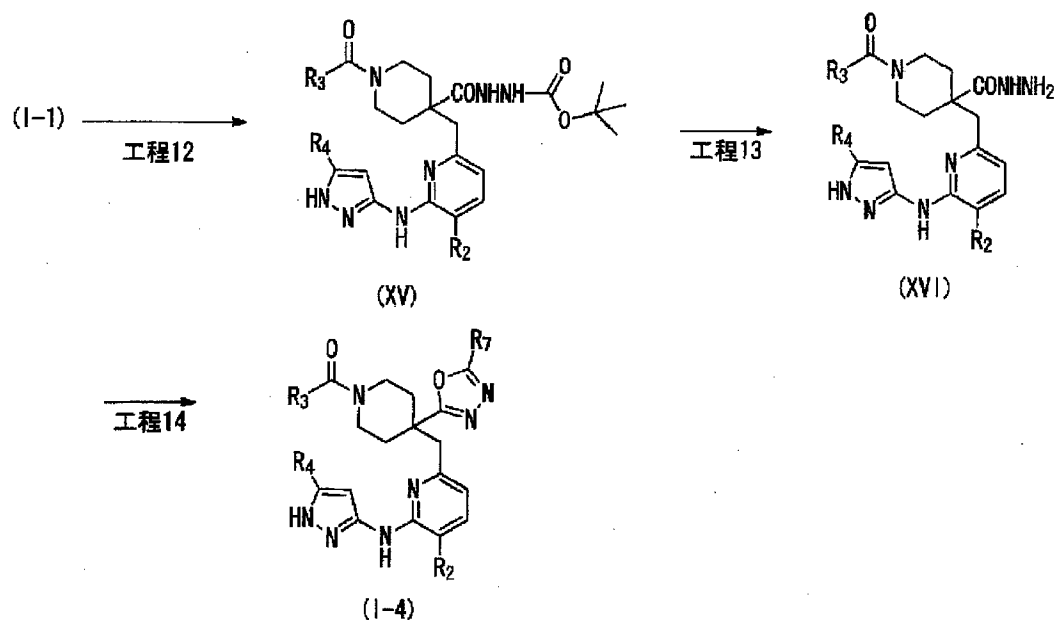
このようにして得られる化合物(1-3)は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製することができる。

[0063] 一般式(1)の化合物のうち、R₁がR₇で置換された1, 3, 4-オキサジアゾールである化合物(1-4)は、例えば、下記の製造法4により製造す

ることができる。

[0064] [化6]

製造法 4



[0065] (式中、 R_7 は C_1-C_6 アルキル基又はトリフルオロメチル基を示し； R_2 、 R_3 、 R_4 は前記と同義である。)

[0066] (工程 1 2)

本工程は、製造法 1 で得られた化合物 (I-1) と *tert*-ブトキシカルボニルヒドラジドの脱水縮合反応によって、化合物 (XV) を製造する方法である。本工程は前記工程 4 と同様の方法、又はこれに準じた方法で行うことができる。

このようにして得られる化合物 (XV) は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付すことができる。

(工程 1 3)

化合物 (XV) の保護基である *tert*-ブトキシカルボニル基を酸存在下に脱保護し、化合物 (XVI) を製造する方法である。本工程は前記工程 3 と同様の方法、又はこれに準じた方法で行うことができる。

このようにして得られる化合物 (XVI) は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付することができる。

(工程 14)

本工程は、化合物 (XVI) のアシルヒドラジド基を 1, 3, 4-オキサジアゾール環へ変換し、化合物 (1-4) を製造する方法である。本工程は前記工程 8 と同様の方法、又はこれに準じた方法で行うことができる。

このようにして得られる化合物 (1-4) は、公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、結晶化、溶媒抽出、再沈殿、クロマトグラフィー等により単離精製するか又は単離精製することなく次工程に付することができる。

[0067] 本発明化合物が、光学異性体、立体異性体、位置異性体、回轉異性体等の異性体を有する場合には、いずれの異性体の混合物も本発明化合物に包含される。例えば、本発明化合物に光学異性体が存在する場合には、ラセミ体から分割された光学異性体も本発明化合物に包含される。これらの異性体は、自体公知の合成手法、分離手法（濃縮、溶媒抽出、カラムクロマトグラフィー、再結晶など）によりそれぞれを単一化合物として得ることができる。

[0068] 本発明化合物又はその塩は、結晶であってもよく、結晶形が単一であっても多形混合物であっても本発明化合物又はその塩に包含される。結晶は、自体公知の結晶化法を適用して、結晶化することによって製造することができる。本発明化合物又はその塩は、溶媒和物（例えば、水和物等）であっても、無溶媒和物であってもよく、いずれも本発明化合物又はその塩に包含される。同位元素（例えば、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{125}I 等）等で標識された化合物も、本発明化合物又はその塩に包含される。

[0069] 本発明化合物の塩とは、有機化学の分野で用いられる慣用的なものを意味し、例えばカルボキシル基を有する場合の当該カルボキシル基における塩基付加塩又はアミノ基若しくは塩基性の複素環基を有する場合の当該アミノ基若しくは塩基性複素環基における酸付加塩の塩類を挙げることができる。

該塩基付加塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金

属塩；例えばカルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；例えばアンモニウム塩；例えばトリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、エタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、プロカイン塩、N，N'-ジベンジルエチレンジアミン塩等の有機アミン塩等が挙げられる。

該酸付加塩としては、例えば塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、過塩素酸塩等の無機酸塩；例えば酢酸塩、ギ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、アスコルビン酸塩、トリフルオロ酢酸塩等の有機酸塩；例えばメタンスルホン酸塩、イセチオン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩等のスルホン酸塩等が挙げられる。

[0070] 本発明化合物又はその塩は、優れた選択的オーロラA阻害活性を有し、特にオーロラB及びオーロラC阻害活性に比べてオーロラA阻害活性が極めて強く、オーロラA選択的阻害剤として有用である。また、優れた抗腫瘍効果を有し、抗腫瘍剤として有用である。対象となる癌は特に制限はされないが、例えば、頭頸部癌、食道癌、胃癌、十二指腸癌、結腸癌、直腸癌、肝臓癌、胆嚢・胆管癌、胆道癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌、腎癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣腫瘍、骨・軟部肉腫、血液癌、多発性骨髄腫、皮膚癌、脳腫瘍、中皮腫、血液癌等が挙げられ、好適には、B細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、末梢性T細胞性リンパ腫、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、多発性骨髄腫等の血液癌、胃癌、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、肺癌、結腸癌である。なお、本発明の医薬は、ヒト及びヒト以外の動物に適用可能である。

[0071] また、本発明化合物又はその塩は、オーロラA選択的阻害活性に優れていることから、微小管作動薬と併用することにより、その抗腫瘍効果を増強するため、微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤として有用である。本発明化合物又はその塩と微小管作動薬とを含有する組成物は、抗腫瘍剤（癌治療薬）として有用である。本発明化合物又はその塩と微小管作動薬との併用投与は癌治療方法として有用である。微小管作動薬としては、タキサン系抗癌剤、エ

ポチロン系抗癌剤等の微小管安定化薬が挙げられ、好ましくはタキサン系抗癌剤である。タキサン系抗癌剤としては、パクリタキセル、ドセタキセル、カバジタキセル等が挙げられ、好ましくはパクリタキセルである。エポチロン系抗癌剤としては、エポチロンB、エポチロンDが挙げられる。本発明抗腫瘍効果増強剤は、微小管作動薬の投与前、後、同時の任意の時期に投与することができる。好ましくは、同時に、若しくは微小管作動薬の投与前後4時間以内に投与するのが良い。本発明抗腫瘍効果増強剤を、微小管作動薬と別々又は同時に投与する場合、例えば、微小管作動薬1モルに対して、本発明化合物又はその塩から選ばれた少なくとも1種の成分の量が0.01~100モル、好ましくは0.05~50モル、より好ましくは0.1~20モルとなる範囲で投与すれば良い。対象となる癌は特に制限はされないが、例えば、頭頸部癌、食道癌、胃癌、十二指腸癌、結腸癌、直腸癌、肝臓癌、胆嚢・胆管癌、胆道癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌、腎癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣腫瘍、骨・軟部肉腫、血液癌、多発性骨髄腫、皮膚癌、脳腫瘍、中皮腫、血液癌等が挙げられ、好適には、B細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、末梢性T細胞性リンパ腫、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、多発性骨髄腫等の血液癌、子宮頸癌、胃癌、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、肺癌、結腸癌である。なお、本発明の医薬は、ヒト及びヒト以外の動物に適用可能である。

[0072] また、本発明では、微小管作動薬に、更に、上記抗腫瘍効果増強剤の有効成分である本発明化合物又はその塩からなる群から選ばれた1種の成分を配合して、抗腫瘍効果増強剤を配合した抗癌剤とすることができる。この場合、微小管作動薬と本発明化合物又はその塩からなる群から選ばれた1種の成分からなる全有効成分を一つの製剤中に含む混合製剤形態として用いてもよく、或いは、これらの有効成分を単独で含む別個の製剤からなる製剤形態としても良く、キット製剤としても良い。

[0073] 本発明化合物又はその塩を医薬として用いるにあたっては、必要に応じて薬学的担体を配合し医薬組成物とすることができ、予防又は治療目的に応じ

て各種の投与形態を採用可能であり、該形態としては、例えば、経口剤、注射剤、坐剤、軟膏剤、貼付剤等のいずれでもよい。本発明化合物又はその塩は、優れた経口吸収性を有し、経口投与において優れた抗腫瘍活性を示すことから好ましくは、経口剤が採用される。これらの投与形態は、各々当業者に公知慣用の製剤方法により製造できる。

[0074] 薬学的担体としては、製剤素材として慣用の各種有機或いは無機担体物質が用いられ、固形製剤における賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、無痛化剤等として配合される。また、必要に応じて防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤、安定化剤等の製剤添加物を用いることもできる。

[0075] 経口用固形製剤を調製する場合は、本発明化合物に賦形剤、必要に応じて賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味・矯臭剤等を加えた後、常法により錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等を製造することができる。注射剤を調製する場合は、本発明化合物にpH調節剤、緩衝剤、安定化剤、等張化剤、局所麻酔剤等を添加し、常法により皮下、筋肉内及び静脈内用注射剤を製造することができる。

[0076] 上記の各投与単位形態中に配合されるべき本発明化合物の量は、これを適用すべき患者の症状により、或いはその剤形等により一定ではないが、一般に投与単位形態あたり、経口剤では0.05～1000mg、注射剤では0.01～500mg、坐剤では1～1000mgとするのが望ましい。

また、上記投与形態を有する薬剤の1日あたりの投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等によって異なり一概には決定できないが、本発明化合物として通常成人（体重50kg）1日あたり0.05～5000mg、好ましくは0.1～1000mgとすればよく、これを1日1回又は2～3回程度に分けて投与するのが好ましい。

実施例

[0077] 以下に実施例及び試験例を示し、本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

実施例で用いた各種試薬は、特に記載の無い限り市販品を使用した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、モリテックス社製プリフパック（登録商標）S I、バイオタージ社製K P-S i l（登録商標）S i l i c a プレパックドカラム、又はバイオタージ社製H P-S i l（登録商標）S i l i c a プレパックドカラムを用いた。塩基性シリカゲルカラムクロマトグラフィーにはモリテックス社製プリフパック（登録商標）N H又はバイオタージ社製K P-N H（登録商標）プレパックドカラムを用いた。分取用薄層クロマトグラフィーにはメルク社製K i e s e l g e l T M 6 0 F 2 5 4, A r t. 5 7 4 4 又は和光社N H 2 シリカゲル6 0 F 2 5 4 プレートを用いた。NMRスペクトルは、A L 4 0 0（4 0 0 M H z；日本電子（J E O L））、M e r c u r y 4 0 0（4 0 0 M H z；アジレント・テクノロジー）型スペクトロメータ、又はOMNMRプローブ（P r o t a s i s）を装備したI n o v a 4 0 0（4 0 0 M H z；アジレント・テクノロジー）型スペクトロメータを使用し、重溶媒中にテトラメチルシランを含む場合は内部基準としてテトラメチルシランを用い、それ以外の場合には内部基準としてN M R 溶媒を用いて測定し、全 δ 値をp p mで示した。マイクロウェーブ反応は、バイオタージ社製I n i t i a t o r 8を用いて行った。

またL C M SスペクトルはW a t e r s 社製A C Q U I T Y S Q D（四重極型）を用いた。

[0078] 略号の意味を以下に示す。

s：シングレット

d：ダブレット

t：トリプレット

d d：ダブル ダブレット

m：マルチプレット

b r：ブロード

b r s：ブロードシングレット

D M S O - d₆：重ジメチルスルホキシド

CDCl_3 : 重クロロホルム

CD_3OD : 重メタノール

Xantphos : 4, 5-ビス (ジフェニルホスフィノ) - 9, 9-ジメチルキサンテン

$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$: トリス (ジベンジリデンアセトン) ジパラジウム (0)

K_3PO_4 : リン酸三カリウム

MsOH : メシル酸

AI BN : アゾビスイソブチロニトリル

HPMC : ヒドロキシプロピルメチルセルロース

[0079] 実施例 1

1 - (2, 3-ジクロロベンゾイル) - 4 - ((5-フルオロ-6 - (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 1) の合成

(工程 a) tert-ブチル 4 - ((6-ブロモ-5-フルオロピリジン-2-イル) メチル) - 4-シアノピペリジン-1-カルボキシレート の合成

N-Boc-4-シアノピペリジン (5.35 g, 25.4 mmol) をテトラヒドロフラン 100 mL に溶解し、 -78°C に冷却した後、リチウムジイソプロピルアミド・テトラヒドロフラン錯体のシクロヘキサン溶液 (1.5 M, 16.5 mL, 24.8 mmol) を、内温を -70°C 以下に保ったまま加えた。反応混合物を -78°C にて 20 分間攪拌した。得られた反応混合物に、2-ブロモ-6 - (ブロモメチル) - 3-フルオロピリジン (6.28 g, 23.4 mmol) の THF 溶液 10 mL を、内温を -70°C 以下に保ったまま加えた後、 -78°C にて 20 分間攪拌した。反応溶液に、塩酸 (5 M, 4.95 mL, 24.8 mmol) と、飽和塩化アンモニウム水溶液 95 mL の混合物を加え、室温にて攪拌した後、酢酸エチルにて抽出した。抽出液を飽和食塩水にて洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥後、濾過、濃縮した。タール状の残渣を酢酸エチル 6 mL に溶解し、攪拌しながらヘプタン 50 mL を滴下し、種結晶を加え、室温にて 1 時間攪拌した。生じた淡黄

色懸濁液に、さらにヘプタン50 mLを滴下した後、終夜攪拌した。得られた固体を濾取し、酢酸エチルのヘプタン溶液にて洗浄後、減圧乾燥し、目的物をオフホワイト固体 (7.10 g, 17.8 mmol) として得た (収率 76%)。物性値を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.45 (1H, t, $J=8.1$ Hz), 7.31 (1H, dd, $J=8.1, 3.5$ Hz), 4.16 (2H, br), 3.09–2.93 (2H, m), 3.04 (2H, s), 1.95–1.84 (2H, m), 1.68–1.57 (2H, m), 1.48 (9H, s); ESI-MS m/z 298, 300 (MH^+).

[0080] (工程b) tert-ブチル4-((6-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イルアミノ)-5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)-4-シアノピペリジン-1-カルボキシレート の合成

上記工程aで得られた化合物 (6.37 g, 16.0 mmol)、5-アミノ-1-tert-ブチル-3-メチルピラゾール (2.42 g, 15.8 mmol)、Xantphos (65.9 mg, 114 μmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (51.1 mg, 55.8 μmol)、 K_3PO_4 (3.63 g, 17.1 mmol) を反応容器に入れ、最後にトルエン50 mLを加え、脱気、アルゴン置換した。得られた混合物を110°Cにて8時間攪拌した後、室温にて酢酸エチル200 mLを加えた。得られた混合物を、水、飽和食塩水にて洗浄し、硫酸ナトリウムにて乾燥後、濾過、濃縮した。残渣を酢酸エチル10 mLに溶解し、75°Cにて攪拌しながらヘプタン40 mLを加えた後、室温にて終夜攪拌した。生じた個体を濾取し、15%酢酸エチル/ヘプタンにて洗浄後、減圧乾燥し、目的化合物 (4.15 g, 8.81 mmol) を白色固体として得た (収率 56%)。物性値を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.26 (1H, dd, $J=10.7, 8.0$ Hz), 6.74 (1H, dd, $J=8.0, 3.2$ Hz), 6.23–6.15 (2H, m), 4.19–3.92 (2H, m), 3.09–2.92 (2H, m), 2.85 (2H, s), 2.26 (3H, s), 1.95

− 1. 86 (2 H, m), 1. 64 (9 H, s), 1. 58−1. 48 (2 H, m), 1. 46 (9 H, s); ESI-MS m/z 471 (MH⁺)

[0081] (工程c) 4-((6-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イルアミノ)-5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)-ピペリジン-4-カルボニトリルの合成

上記工程bで得られた化合物 (4. 11 g, 8. 73 mmol) を THF (33 mL) に溶解し、水浴上で MsOH (7. 0 mL) を加えた。得られた溶液を室温にて2時間攪拌後、内容物を水 160 mL に注いだ。得られた水溶液をイソプロピルエーテル 50 mL にて洗浄した後、5 M 水酸化ナトリウム 21. 5 mL を加え、酢酸エチルにて抽出した。得られた酢酸エチル溶液を飽和食塩水にて洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。濾過後、濾液を濃縮し、目的化合物 (3. 09 g, 8. 34 mmol) を得た (収率 96%)。物性値を以下に示す。

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7. 22 (1 H, dd, J=10. 6, 8. 0 Hz), 6. 71 (1 H, dd, J=8. 0, 3. 2 Hz), 6. 25−6. 16 (2 H, m), 3. 02−2. 95 (2 H, m), 2. 91−2. 84 (2 H, m), 2. 83 (2 H, s), 2. 21 (3 H, s), 1. 90−1. 83 (2 H, m), 1. 61 (9 H, s), 1. 59−1. 49 (2 H, m); ESI-MS m/z 371 (MH⁺) .

[0082] (工程d) 4-((6-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イルアミノ)-5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)-1-(2, 3-ジクロロベンゾイル)ピペリジン-4-カルボニトリルの合成

上記工程cで得られた化合物 (3. 65 g, 9. 85 mmol)、2, 3-ジクロロ安息香酸 (2. 05 g, 10. 8 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水和物 (1. 80 g, 13. 3 mmol) の混合物にアセトニトリル 25 mL を加えた後、WSC 塩酸塩 (2. 05 g, 10. 7 m

m o l) を加えた。反応混合物を室温にて終夜攪拌した後、1 M水酸化ナトリウム30 mLを加え、15分間攪拌した。得られた混合物を酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル層を水、1 M塩酸、水、飽和食塩水にて順に洗浄した。得られた酢酸エチル溶液を無水硫酸ナトリウムにて洗浄後、濾過、濃縮し、目的物化合物(5.55 g)を、白色固体として得た(収率100%)。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 543, 545 (MH⁺) .

[0083] (工程e) 化合物1の合成

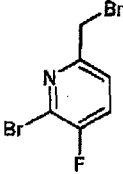
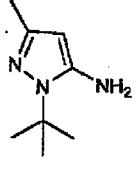
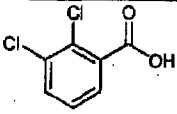
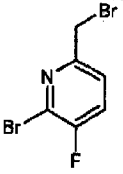
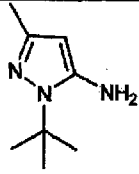
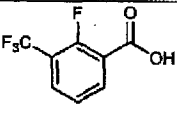
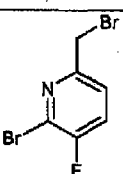
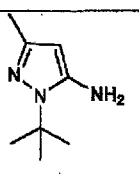
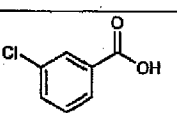
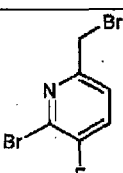
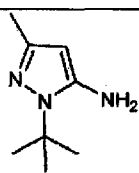
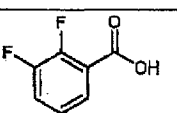
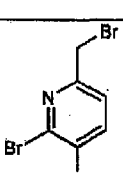
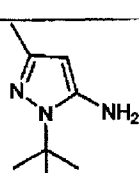
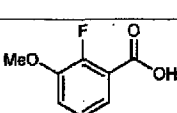
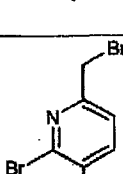
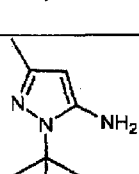
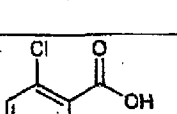
上記工程dで得られた化合物(524 mg, 0.964 mmol)を1,4-ジオキサン3 mLに溶解した後、5 M塩酸3 mLを加え、マイクロウェーブ反応装置にて、150℃で10分間加熱した。反応混合物を減圧濃縮後、得られた残渣をクロロホルムに溶解し、飽和食塩水にて洗浄した。得られたクロロホルム溶液を無水硫酸ナトリウムにて乾燥後、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール=100/0~90/10)にて精製後、得られた固体をエタノール-酢酸エチルにて再沈殿し、目的化合物(290 mg, 0.573 mmol)を白色固体として得た(収率59%)。物性値を表9に示す。

[0084] 実施例2~13

実施例2~13については、表1~表3に記載の原料を使用し、実施例1に準じた方法により合成した。物性値を表9~表17に示す。

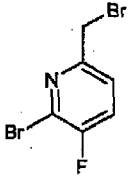
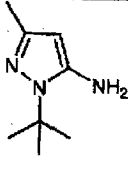
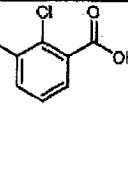
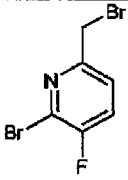
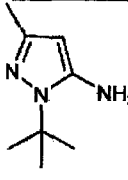
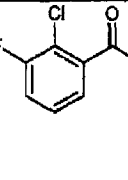
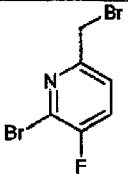
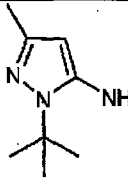
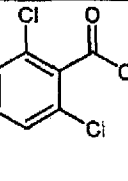
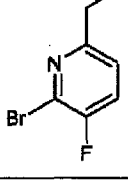
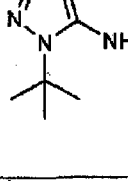
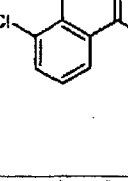
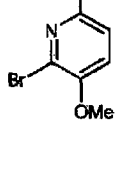
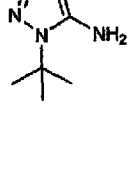
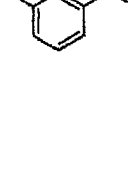
[0085]

[表1]

実施例	化合物名	原料 1	原料 2	原料 3
1	1- (2, 3-ジクロロベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物1)			
2	1- (2-フルオロ-3-トリフルオロメチルベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物2)			
3	1- (3-クロロベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物3)			
4	1- (2, 3-ジフルオロベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物4)			
5	1- (2-フルオロ-3-メトキシベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物5)			
6	1- (2-クロロベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物6)			

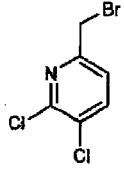
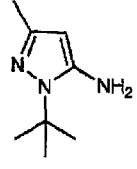
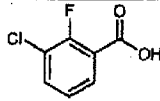
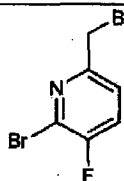
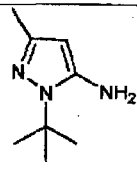
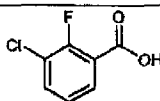
[0086]

[表2]

実施例	化合物名	原料 1	原料 2	原料 3
7	1-(2-クロロ-3-メチルベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸(化合物7)			
8	1-(2-クロロ-3-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸(化合物8)			
9	1-(2,6-ジクロロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸(化合物9)			
10	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸(化合物10)			
11	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-メトキシ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボン酸(化合物11)			

[0087]

[表3]

実施例	化合物名	原料 1	原料 2	原料 3
1 2	1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル) -4- ((5-クロロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 1 2)			
1 3	1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (化合物 1 3)			

[0088] 実施例 1 4

1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル) -4- ((5-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) -N-メチルピペリジン-4-カルボキシアミド (化合物 1 4) の合成

実施例 1 3 で得られた化合物 1 3 (50 mg, 0.1 mmol)、1-エチル-3- (3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (40 mg, 0.21 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水和物 (30 mg, 0.22 mmol)、メチルアミン塩酸塩 (25 mg, 0.37 mmol)、ジメチルホルムアミド 1 mL の混合物に、トリエチルアミン 0.05 mL を加え、室温にて 13 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルにて抽出後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣を HPLC にて精製し、目的化合物 (41 mg, 0.082 mmol) を白色固体として得た (収率 82%)。物性値を表 9 ~ 表 17 に示す。

[0089] 実施例 1 5 ~ 2 1

実施例 1 5 ~ 2 1 については、表 4 ~ 表 5 に記載の原料を使用し、実施例

14に準じた方法により合成した。物性値を表9～表17に示す。

[0090] [表4]

実施例	化合物名	原料4
14	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-N-メチルピペリジン-4-カルボキシアミド(化合物14)	メチルアミン塩酸塩
15	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボキシアミド(化合物15)	塩化アンモニウム
16	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-N,N-ジメチルピペリジン-4-カルボキシアミド(化合物16)	ジメチルアミン
17	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-N-シクロプロピル-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボキシアミド(化合物17)	シクロプロピルアミン
18	1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-N-シクロブチル-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボキシアミド(化合物18)	シクロブチルアミン
19	アゼチジン-1-イル(1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)メタノン(化合物19)	アゼチジン塩酸塩

[0091] [表5]

実施例	化合物名	原料4
20	(1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン(化合物20)	ピロリジン
21	(1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)(イソキサゾリジン-2-イル)メタノン(化合物21)	イソキサゾリジン塩酸塩

[0092] 実施例 2 2

(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物 2 2) の合成

(工程 a) tert-ブチル 4-((6-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イルアミノ)-5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)-4-(N'-ヒドロキシカルバミミドイル)ピペリジン-1-カルボキシレートの合成

実施例 1 (工程 b) で得られた化合物 (50 g) をエタノール 530 mL に 60℃ にて溶解させ、室温に戻し 50% ヒドロキシルアミン水溶液 65 mL を加え、60℃ にて 46 時間攪拌した。反応液を蒸留水に加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を蒸留水、飽和食塩水で洗浄した。これを硫酸ナトリウムで乾燥させて減圧濃縮し、目的化合物 (53 g, 106 mmol) を得た (収率 100%)。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 504 (MH⁺) .

[0093] (工程 b) tert-ブチル 4-((6-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イルアミノ)-5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-カルボキシレートの合成

上記工程 a で得られた化合物 (53 g, 106 mmol) をトルエン 525 mL に懸濁させ、無水酢酸 10 mL を加え、室温で 1 時間 20 分、その後 100℃ にて 16 時間攪拌した。反応溶液に氷浴下、アンモニア水 175 mL、蒸留水 500 mL、酢酸エチル 500 mL を順に加え、飽和食塩水で洗浄した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮し、目的化合物 (58 g) を粗精製物として得た。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 528 (MH⁺) .

[0094] (工程 c) N-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)-3-フルオロ-6-((4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-4-イル)メチル)ピリジン-2-アミンの合成

上記工程 b で得られた化合物 (57 g) をアセトニトリル 210 mL に溶解させ、氷浴下、メシル酸 27 mL を加え、氷浴下 1 時間、室温にて 17 時間攪拌した。反応溶液を氷浴下蒸留水 500 mL に加え、ジイソプロピルエーテル 500 mL で洗浄した。水層に氷浴下、5 M 水酸化ナトリウム 100 mL を加え、水層を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムで乾燥させて減圧濃縮し、目的化合物 (44 g, 102 mmol) を得た (収率 91%)。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 428 (MH⁺) .

[0095] (工程 d) 4-((6-(1-tert-ブチル-3-メチル-1H-ピラゾール-5-イルアミノ)-5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)(3-クロロ-2-フルオロフェニル)メタノンの合成

上記工程 c で得られた化合物 (44 g)、3-クロロ-2-フルオロ安息香酸 (20 g)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水和物 (21 g) をアセトニトリル 343 mL に溶解させ、氷浴下、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (22 g) を加え、室温にて 15 時間攪拌した。反応液に 1 M 水酸化ナトリウム (500 mL) を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を蒸留水、1 M 塩酸、蒸留水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をヘプタン-酢酸エチルより結晶化を行い、目的化合物 (52 g, 89 mmol) を得た (収率 86%)。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 584, 586 (MH⁺) .

[0096] (工程 e) 化合物 22 の合成

上記工程 d で得られた化合物 (2.94 g, 5.03 mmol) を 5 M 塩

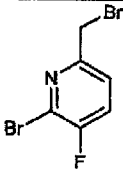
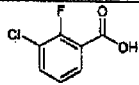
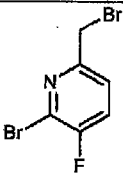
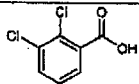
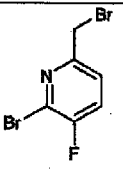
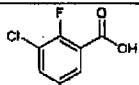
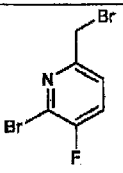
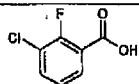
酸 30 mL 及び 2-プロパノール 20 mL に溶解し、100℃で2時間加熱した。反応液を氷冷し、水及び5 M水酸化ナトリウムを加え、pHを約8に調整した後、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム／メタノール＝100／0～95／5）で精製し、目的物化合物（2.26 g, 4.28 mmol）を得た（収率85%）。物性値を表9～表17に示す。

[0097] 実施例 23～27

実施例 23～27については、表6～表7に記載の原料を使用し、実施例 22に準じた方法により合成した。物性値は表9～表17に示す。

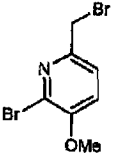
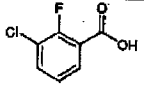
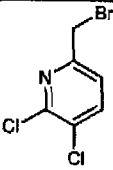
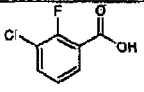
[0098]

[表6]

実施例	化合物名	原料5	原料6	原料7
22	(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物22)			無水酢酸
23	(2,3-ジクロロフェニル) (4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物23)			無水酢酸
24	(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物24)			オルトギ酸 トリエチル
25	(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-(トリフルオロメチル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物25)			トリフルオロ酢酸無水物

[0099]

[表7]

実施例	化合物名	原料 5	原料 6	原料 7
26	(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-メトキシ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物26)			無水酢酸
27	(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-クロロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物27)			無水酢酸

[0100] 実施例 28

(3-クロロ-2-フルオロフェニル) (4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(5-メチル-1,3,4-オキサジアゾール-3-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン (化合物28) の合成

(工程 a) tert-ブチル 2-(1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-カルボニル)ヒドラジンカルボキシレート の合成

実施例13で得られた化合物13 (62 mg, 0.13 mmol)、tert-ブトキシカルボニル ヒドラジド (25 mg, 0.19 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水和物 (30 mg, 0.22 mmol) をジメチルホルムアミド 3 mL に溶解し、(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (41 mg, 0.22 mmol) を加え、室温にて3時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルにて抽出後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=1

00/0~95/5)で精製し、目的化合物(70mg, 0.12mmol)を得た(収率92%)。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 604, 606 (MH⁺)。

[0101] (工程b) 化合物28の合成

上記工程aで得られた化合物(70mg, 0.12mmol)をクロロホルム4mLに溶解し、トリフルオロ酢酸2mLを加え、室温にて3時間攪拌した。反応混合物を濃縮後、残渣にクロロホルムと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え分液した。クロロホルム抽出液を、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣にトルエン4mLとオルト酢酸エチル0.5mLを加え、110℃で2時間加熱攪拌した。反応液に水を室温に加え、酢酸エチルで抽出した。抽出液を無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール=100/0~90/10)で精製し、目的化合物(39mg, 0.077mmol)を得た(収率64%)。物性値を表9~表17に示す。

[0102] 実施例29

(3-クロロ-2-フルオロフェニル)(4-((5-フルオロ-6-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)ピリジン-2-イル)メチル)-4-(3-メチル-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)ピペリジン-1-イル)メタノン(化合物29)の合成

実施例13で得られた化合物13(49mg, 0.10mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(38mg, 0.20mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水和物(27mg, 0.20mmol)、アセトアミドオキシム(15mg, 0.20mmol)、ジメチルホルムアミド(1mL)の混合物に、ジイソプロピルエチルアミン(0.07mL)を加え、室温にて7時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルにて抽出後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた粗生成物に1,4-ジオキサン(1mL)を加え

、マイクロウェーブ反応装置（Biotage Initiator 8）を用いて 120℃で6時間攪拌照射した。濃縮後得られた残渣をHPLCにて精製し、目的化合物（29 mg、0.055 mmol）を淡橙色固体として得た（収率55%）。物性値を表9～表17に示す。

[0103] 比較例 1

5-（1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（6-（1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-イル）-1, 3, 4-オキサジアゾール-2（3H）-オン（比較化合物1）の合成

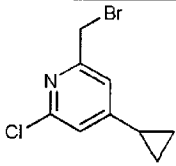
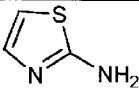
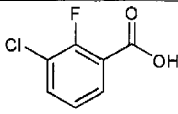
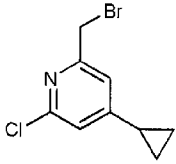
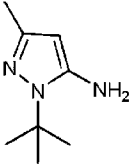
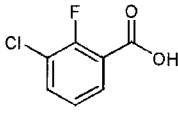
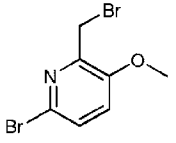
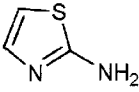
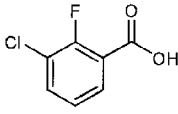
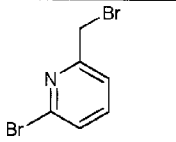
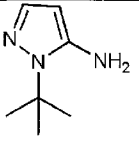
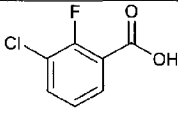
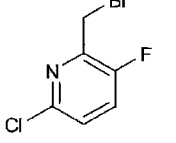
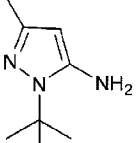
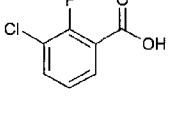
国際公開WO2009/104802号パンフレットに記載の方法に準じて、以下のように合成した。5-（4-（（6-（（1-tert-ブチル-1H-ピラゾール-5-イル）アミノ）ピリジン-2-イル）メチル）-1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）ピペリジン-4-イル）-1, 3, 4-オキサジアゾール-2-（3H）-オン（4.45 g、8.03 mmol）に、5 M塩酸（40 mL）及び2-プロパノール（40 mL）を加え100℃、4時間攪拌した。反応混合物に5 M水酸化ナトリウム（40 mL）を加えた後、クロロホルムで分液抽出した。クロロホルム抽出液を、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム／メタノール＝100／0～95／5）で精製後、酢酸エチル中で攪拌洗浄し、目的化合物（1.63 g、3.29 mmol）を淡橙色固体として得た（収率41%）。物性値を表18に示す。

[0104] 比較例 2～5、7

比較例2～5及び7は、表8に記載の原料を使用し、実施例1に準じた方法に従って合成した。物性値を表18に示す。

[0105]

[表8]

比較例	化合物名	原料 8	原料 9	原料 10
2	1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4- ((4-シクロプロピル-6- (チアゾール-2-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (比較化合物 2)			
3	1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4- ((4-シクロプロピル-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (比較化合物 3)			
4	1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4- ((3-メトキシ-6- (チアゾール-2-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (比較化合物 4)			
5	4- ((6- (1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) -1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル) ピペリジン-4-カルボン酸 (比較化合物 5)			
7	1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4- ((3-フルオロ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (比較化合物 7)			

[0106] 比較例 6

1- (3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)-4- ((5-シアノ-6- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ) ピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-4-カルボン酸 (比較化合物 6) の合成

(工程 a) tert-ブチル 4-エチル 4- ((5-ブロモ-6-クロロピリジン-2-イル) メチル) ピペリジン-1, 4-ジカルボキシレート
の合成

3-ブロモ-2-クロロ-6-メチルピリジン (880 mg, 4.26 mmol) を四塩化炭素 21 mL に溶解し、N-ブロモスクシンイミド (682 mg, 3.83 mmol) 及び AIBN (70 mg, 0.426 mmol) を加え 90°C で 1 時間攪拌した。反応液を濃縮後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/0 ~ 95/5) で精製し、3-ブロモ-6-(ブロモメチル)-2-クロロピリジンを粗精製物として得た。

N-Boc ピペリジンカルボン酸エチルエステル (1.16 mL, 4.72 mmol) をテトラヒドロフラン 18 mL に溶解し、リチウムジイソプロピルアミド・テトラヒドロフラン錯体のシクロヘキサン溶液 (1.5 M, 3.3 mL, 4.96 mmol) を -78°C で加え 40 分攪拌した。上記で得られた 3-ブロモ-6-(ブロモメチル)-2-クロロピリジンのテトラヒドロフラン溶液 2 mL を滴下し、さらに 10 分間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え昇温し、水及び酢酸エチルで分配した。酢酸エチル層を、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 95/5 ~ 65/35) で精製後、目的化合物 (592 mg, 1.28 mmol) を得た (収率 27%)。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 461, 463, 465 (MH⁺) .

[0107] (工程 b) エチル 4-((5-ブロモ-6-クロロピリジン-2-イル)メチル)-1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)ピペリジン-4-カルボキシレート の合成

上記工程 a で得られた化合物 (590 mg, 1.28 mmol) をクロロホルム 5 mL に溶解し、トリフルオロ酢酸 2 mL を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液を濃縮し、DMF 5 mL に溶解した。1H-ベンゾ [b] [1, 2, 3] -トリアゾール-1-イル 3-クロロ-2-フルオロベンゾエート (411 mg, 1.41 mmol) 及び N, N-ジイソプロピルエチルアミン (0.45 mL, 2.56 mmol) を 0°C で加え 15 分間攪拌した。水

を加えた後、混合物を酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル層を水及び飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル＝90／10～50／50）で精製後、目的化合物（581 mg, 1.13 mmol）を得た（収率88%）。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 517, 519, 521 (MH⁺) .

[0108] (工程 c) 4-((5-ブロモ-6-クロロピリジン-2-イル)メチル)-1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)ピペリジン-4-カルボン酸の合成

上記工程 b で得られた化合物（310 mg, 0.598 mmol）をエタノール 6 mL に溶解し、5 M 水酸化ナトリウム（0.96 mL）を加え、80℃で1.5時間攪拌した。反応液を水で薄め、5 M 塩酸を加え pH を 1 とした後、酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル層を水及び飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル＝30／70～0／100→クロロホルム／メタノール＝100／0～90／10）で精製後、目的化合物（259 mg, 0.526 mmol）を得た（収率88%）。物性値を以下に示す。

ESI-MS m/z 489, 491, 493 (MH⁺) .

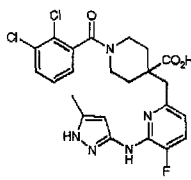
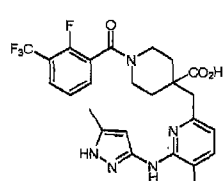
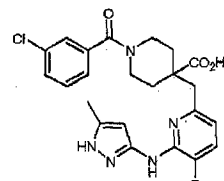
[0109] (工程 d) 比較化合物 6 の合成

上記工程 c で得られた化合物（80 mg, 0.163 mmol）及びシアニン化銅（16 mg, 0.180 mmol）に N-メチルピロリドン 1 mL を加え、マイクロウェーブ反応装置（Biotage Initiator 8）を用いて 195℃で40分間攪拌照射した。反応液を水で薄め、1 M 塩酸を加えた後、酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル層を水及び飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル＝50／50～0／100→クロロホルム／メタノール＝100／0～90／10）で精

製し、粗精製物として4-((5-シアノ-6-クロロピリジン-2-イル)メチル)-1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)ピペリジン-4-カルボン酸(9 mg)を得た。ここで得られた粗精製物(9 mg)、5-アミノ-1-tert-ブチル-3-メチルピラゾール(3.5 mg, 0.022 mmol)、Xantphos(2.4 mg, 0.0041 mmol)、Pd₂(dba)₃(2.0 mg, 0.0023 mmol)及びリン酸カリウム(8.7 mg, 0.041 mmol)にジオキサン0.2 mLを加え、100℃で3.5時間攪拌した。反応液を水で薄め、酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル層を水及び飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、濾過、濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル=25/75~0/100→クロロホルム/メタノール=100/0~90/10)で精製し、粗精製物として4-((6-(1-tert-ブチル-5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ)-5-シアノピリジン-2-イル)メチル)-1-イル)-1-(3-クロロ-2-フルオロベンゾイル)ピペリジン-4-カルボン酸(4 mg)を得た。得られた粗精製物(4 mg)をトリフルオロ酢酸0.5 mL及びアニソール0.05 mLに溶解し、85℃で1時間加熱攪拌した。濃縮後、得られた残渣を逆相HPLCにて精製し、目的化合物(1 mg, 0.002 mmol)を得た(収率1%)。物性値を表18に示す。

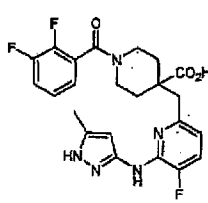
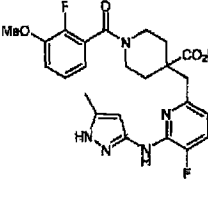
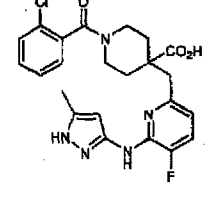
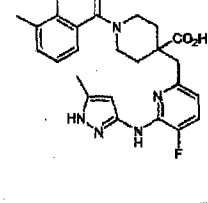
[0110]

[表9]

例	構造式	物性値
実施例 1		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 10.05 (1H, br s), 7.70–7.65 (1H, m), 7.59–7.54 (1H, m), 7.46–7.29 (2H, m), 6.72–6.68 (1H, m), 6.30–6.29 (1H, m), 4.23–4.18 (1H, m), 3.26–3.20 (1H, m), 3.09–2.95 (4H, m), 2.27–2.26 (3H, m), 2.05–2.00 (1H, m), 1.90–1.83 (1H, m), 1.67–1.49 (2H, m); ESI-MS m/z 506, 508 (MH ⁺).
実施例 2		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 10.05 (1H, br s), 7.86 (1H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 7.75 (1H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 7.57 (1H, dd, $J=11.1, 8.2\text{Hz}$), 7.48 (1H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 6.70 (1H, dd, $J=8.2, 2.8\text{Hz}$), 6.29 (1H, s), 4.20 (1H, d, $J=13.7\text{Hz}$), 3.36 (1H, d, $J=13.7\text{Hz}$), 3.11–2.98 (4H, m), 2.25 (3H, s), 2.02 (1H, d, $J=13.7\text{Hz}$), 1.91–1.87 (1H, m), 1.64–1.50 (2H, m); ESI-MS m/z 524 (MH ⁺).
実施例 3		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.38–7.00 (5H, m), 6.70–6.58 (1H, m), 5.68 (1H, s), 4.60–4.45 (1H, m), 3.40–3.09 (4H, m), 3.04–2.89 (1H, m), 2.40–2.10 (2H, m), 2.24 (3H, s), 1.71–1.42 (2H, m); ESI-MS m/z 472, 474 (MH ⁺).

[0111]

[表10]

例	構造式	物性値
実施例4		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.30–6.95 (4H, m), 6.68–6.60 (1H, m), 5.69 (1H, s), 4.64–4.55 (1H, m), 3.42–3.15 (4H, m), 3.03–2.90 (1H, m), 2.50–2.30 (1H, m), 2.28–2.16 (1H, m), 2.23 (3H, s), 1.58–1.40 (2H, m); ESI-MS m/z 474 (MH ⁺).
実施例5		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.23 (1H, br s), 7.73–7.65 (1H, m), 7.58–7.46 (2H, m), 7.23–7.13 (1H, m), 6.83–6.79 (1H, m), 6.60 (1H, s), 4.51–4.40 (1H, m), 4.17 (3H, s), 3.75–3.36 (1H, m), 3.52–3.30 (2H, m), 3.20 (2H, s), 2.46 (3H, s), 2.39–2.27 (1H, m), 2.23–2.12 (1H, m), 1.97–1.78 (2H, m); ESI-MS m/z 486 (MH ⁺).
実施例6		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.38–7.02 (4H, m), 6.68–6.59 (1H, m), 5.68 (1H, s), 4.66–4.56 (1H, m), 3.33–3.09 (4H, m), 3.03–2.91 (1H, m), 2.40–2.25 (1H, m), 2.24 (3H, s), 2.20–2.10 (1H, m), 1.62–1.40 (2H, m); ESI-MS m/z 472, 474 (MH ⁺).
実施例7		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.24 (1H, br s), 7.75–7.43 (4H, m), 6.87–6.79 (1H, m), 6.60 (1H, s), 4.54–4.41 (1H, m), 3.71–3.29 (3H, m), 3.20 (2H, s), 2.66 (3H, s), 2.46 (3H, s), 2.39–2.28 (1H, m), 2.22–2.12 (1H, m), 2.00–1.80 (2H, m); ESI-MS m/z 486, 488 (MH ⁺).

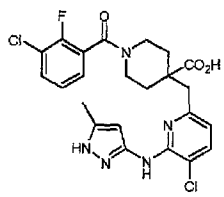
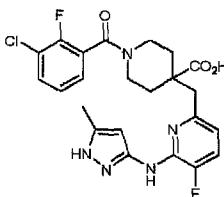
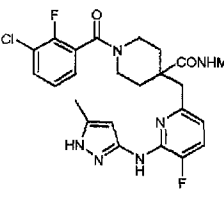
[0112]

[表11]

例	構造式	物性値
実施例8		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.23 (1H, br s), 7.82–7.63 (3H, m), 7.60–7.48 (1H, m), 6.85–6.79 (1H, m), 6.66–6.56 (1H, m), 4.56–4.44 (1H, m), 3.72–3.29 (3H, m), 3.24–3.12 (2H, m), 2.47 (3H, s), 2.41–2.29 (1H, m), 2.24–2.12 (1H, m), 2.01–1.80 (2H, m); ESI-MS m/z 490, 492 (MH ⁺).
実施例9		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.23 (1H, br s), 7.89–7.63 (4H, m), 6.85–6.79 (1H, m), 6.61 (1H, s), 4.58–4.48 (1H, m), 3.72–3.30 (3H, m), 3.26–3.14 (2H, m), 2.47 (3H, s), 2.41–2.30 (1H, m), 2.27–2.16 (1H, m), 2.01–1.85 (2H, m); ESI-MS m/z 506, 508 (MH ⁺).
実施例10		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.07 (1H, br s), 7.65 (1H, td, $J=7.8, 2.0\text{Hz}$), 7.49 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 7.41–7.35 (2H, m), 7.29 (1H, t, $J=7.8\text{Hz}$), 6.53–6.51 (2H, m), 4.19 (1H, d, $J=13.7\text{Hz}$), 3.34 (1H, d, $J=13.7\text{Hz}$), 3.07–3.02 (2H, m), 2.90 (1H, d, $J=13.4\text{Hz}$), 2.87 (1H, d, $J=13.4\text{Hz}$), 2.03 (1H, d, $J=13.4\text{Hz}$), 1.88 (1H, d, $J=13.4\text{Hz}$), 1.61–1.48 (2H, m); ESI-MS m/z 476, 478 (MH ⁺).
実施例11		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.68 (1H, br s), 7.67 (1H, t, $J=7.6\text{Hz}$), 7.51 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.37 (1H, t, $J=6.7\text{Hz}$), 7.30 (1H, t, $J=7.6\text{Hz}$), 6.85 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 6.14 (1H, s), 4.32–4.20 (1H, m), 3.97 (3H, s), 3.43–3.32 (1H, m), 3.15–2.96 (4H, m), 2.27 (3H, s), 2.12–2.03 (1H, m), 1.99–1.87 (1H, m), 1.70–1.45 (2H, m); ESI-MS m/z 502, 504 (MH ⁺).

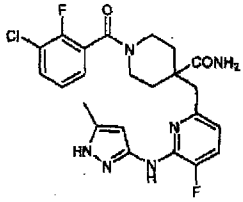
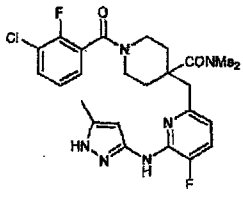
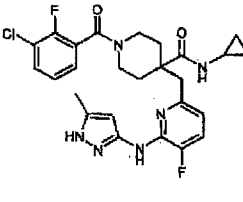
[0113]

[表12]

例	構造式	物性値
実施例 12		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.55 (1H, d, $J=8.7\text{Hz}$), 7.42–7.35 (1H, m), 7.34 (1H, s), 7.25–7.16 (2H, m), 6.70–6.61 (1H, m), 5.67 (1H, s), 4.61–4.53 (1H, m), 3.40–3.09 (4H, m), 3.05–2.94 (1H, m), 2.37–2.10 (2H, m), 2.25 (3H, s), 1.61–1.40 (2H, m); ESI-MS m/z 506, 508 (MH ⁺).
実施例 13		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 10.13 (1H, br s), 7.68–7.64 (1H, m), 7.58 (1H, dd, $J=11.0\text{Hz}$, 8.0Hz), 7.38–7.35 (1H, m), 7.29 (1H, t, $J=8.0\text{Hz}$), 6.73–6.70 (1H, m), 6.29 (1H, s), 4.21–4.18 (1H, m), 3.38–3.34 (1H, m), 3.09–2.99 (4H, m), 2.27 (3H, s), 2.03–1.99 (1H, m), 1.89–1.87 (1H, m), 1.63–1.49 (2H, m); ESI-MS m/z 490, 492 (MH ⁺).
実施例 14		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 11.79 (1H, s), 8.68 (0.5H, s), 7.68–7.61 (2H, m), 7.36–7.27 (3H, m), 6.41 (1.5H, s), 4.06–4.01 (1H, m), 3.32 (3H, s), 3.30–3.28 (1H, m), 3.20–3.16 (1H, m), 3.09–3.03 (1H, m), 2.87–2.82 (2H, m), 2.13 (3H, s), 2.05–2.01 (1H, m), 1.91–1.87 (1H, m), 1.61–1.49 (2H, m); ESI-MS m/z 503, 505 (MH ⁺).

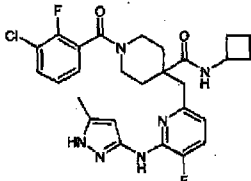
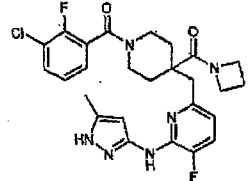
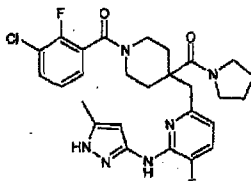
[0114]

[表13]

例	構造式	物性値
実施例15		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 11.79 (1H, brs), 8.66 (0.5H, brs), 7.65 (1H, td, $J=7.7, 1.6\text{Hz}$), 7.37-7.26 (4H, m), 6.98 (1H, s), 6.48 (1H, brs), 6.41 (0.5H, brs), 4.09-4.04 (1H, m), 3.31-3.28 (1H, m), 3.21-3.18 (1H, m), 3.12-3.07 (1H, m), 2.86-2.83 (2H, m), 2.13 (3H, s), 2.06-2.03 (1H, m), 1.92-1.89 (1H, m), 1.61-1.48 (2H, m); ESI-MS m/z 489, 491 (MH^+).
実施例16		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 11.74 (1H, brs), 7.65 (1H, td, $J=7.7, 1.6\text{Hz}$), 7.37-7.26 (3H, m), 6.49-6.47 (1H, m), 6.17 (1H, brs), 4.13-4.10 (1H, m), 3.30-3.28 (1H, m), 3.15-2.86 (10H, m), 2.23-2.19 (1H, m), 2.15 (3H, s), 2.11-2.07 (1H, m), 1.66-1.50 (2H, m); ESI-MS m/z 517, 519 (MH^+).
実施例17		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 11.81 (1H, brs), 7.68-7.63 (2H, m), 7.38-7.26 (3H, m), 6.41 (1H, brs), 4.08-4.04 (1H, m), 3.29-3.27 (1H, m), 3.14-3.02 (2H, m), 2.84 (2H, brs), 2.51-2.46 (1H, m), 2.12 (3H, s), 2.09-2.05 (1H, m), 1.95-1.92 (1H, m), 1.60-1.47 (2H, m), 0.53-0.48 (2H, m), 0.34-0.31 (2H, m); ESI-MS m/z 529, 531 (MH^+).

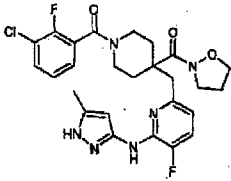
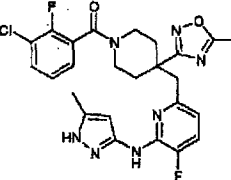
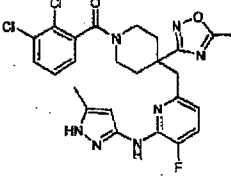
[0115]

[表14]

例	構造式	物性値
実施例18		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.80 (1H, brs), 8.67 (0.5H, brs), 7.71 (1H, d, $J=7.6\text{Hz}$), 7.66 (1H, td, $J=7.6, 1.5\text{Hz}$), 7.39–7.29 (2H, m), 7.28 (1H, t, $J=7.8\text{Hz}$), 6.38 (1.5H, brs), 4.17–4.15 (1H, brm), 4.06–4.03 (1H, brm), 3.31–3.29 (1H, m), 3.19–3.16 (1H, m), 3.07–3.02 (1H, m), 2.83 (2H, brs), 2.13 (3H, s), 1.94–1.93 (1H, m), 2.07–2.05 (1H, m), 2.00–1.96 (2H, m), 1.87–1.78 (2H, m), 1.63–1.49 (4H, m); ESI-MS m/z 543, 545 (MH ⁺).
実施例19		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.99 (1H, brs), 7.66 (1H, td, $J=7.7, 1.5\text{Hz}$), 7.42–7.35 (2H, m), 7.29 (1H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 6.54–6.51 (1H, m), 6.27 (1H, brs), 4.14–4.10 (1H, m), 3.87–3.72 (4H, m), 3.36–3.34 (1H, m), 3.13–3.00 (2H, m), 2.82 (2H, s), 2.15 (3H, s), 2.08–2.02 (1H, m), 1.95–1.88 (3H, m), 1.56–1.45 (2H, m); ESI-MS m/z 529, 531 (MH ⁺).
実施例20		$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.80 (1H, brs), 8.69 (1H, brs), 7.65 (1H, td, $J=7.7, 1.7\text{Hz}$), 7.38–7.29 (2H, m), 7.29 (1H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 6.57–6.36 (2H, m), 4.14–4.10 (1H, m), 3.34–3.27 (5H, m), 3.15–3.02 (2H, m), 2.87 (2H, brs), 2.26–2.22 (1H, m), 2.12–2.10 (1H, m), 2.15 (3H, s), 1.65–1.53 (6H, m); ESI-MS m/z 543, 545 (MH ⁺).

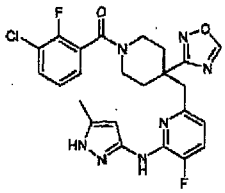
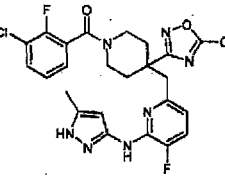
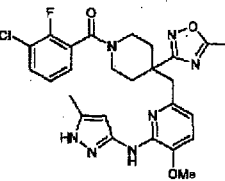
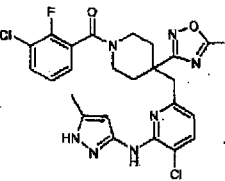
[0116]

[表15]

例	構造式	物性値
実施例21		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.42 (1H, dd, $J=8.0$, 7.1, 1.7 Hz), 7.23 (1H, brs), 7.17 (1H, dd, $J=10.5$, 8.0 Hz), 7.12 (1H, dd, $J=8.0$, 7.1 Hz), 7.07 (1H, brs), 6.53–6.50 (1H, m), 5.85 (1H, s), 4.48–4.45 (1H, m), 4.13–4.07 (2H, m), 3.84–3.73 (2H, m), 3.39–3.37 (2H, brm), 3.24–3.12 (2H, m), 3.03 (1H, d, $J=13.7$ Hz), 2.52 (1H, d, $J=13.7$ Hz), 2.37–2.29 (3H, m), 2.26 (3H, s), 1.67–1.42 (2H, m); ESI-MS m/z 545, 547 (MH ⁺).
実施例22		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.45 (1H, dd, $J=8.2$, 6.6, 1.3 Hz), 7.34–7.15 (1H, m), 7.15 (1H, t, $J=7.7$ Hz), 7.14 (1H, dd, $J=10.6$, 8.1 Hz), 7.03 (1H, brs), 6.42–6.31 (1H, m), 5.98 (1H, s), 4.63–4.52 (1H, m), 3.50–3.38 (1H, m), 3.17 (1H, brs), 3.10 (1H, d, $J=13.2$ Hz), 3.05 (1H, d, $J=13.2$ Hz), 3.02–2.89 (1H, m), 2.53–2.39 (1H, m), 2.51 (3H, s), 2.37–2.26 (1H, m), 2.31 (3H, s), 1.96–1.66 (2H, m); ESI-MS m/z 528, 530 (MH ⁺).
実施例23		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.50–7.47 (1H, m), 7.28–7.23 (1H, m), 7.16–7.08 (2H, m), 6.38–6.33 (1H, m), 6.04–5.99 (1H, m), 4.60 (1H, d, $J=13.9$ Hz), 3.37–3.29 (1H, m), 3.19–3.03 (3H, m), 3.01–2.91 (1H, m), 2.52–2.43 (4H, m), 2.32–2.27 (4H, m), 1.98–1.84 (2H, m); ESI-MS m/z 544, 546 (MH ⁺).

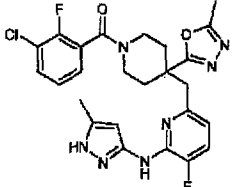
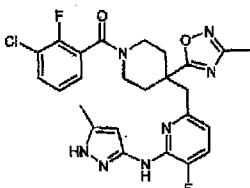
[0117]

[表16]

例	構造式	物性値
実施例24		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.73 (1H, s), 7.46 (1H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 7.32-7.10 (3H, m), 7.00 (1H, s), 6.37 (1H, brs), 5.92 (1H, s), 4.63-4.52 (1H, m), 3.52-3.40 (1H, m), 3.27-2.88 (4H, m), 2.54-2.43 (1H, m), 2.40-2.30 (1H, m), 2.31 (3H, s), 2.02-1.68 (2H, m); ESI-MS m/z 514, 516 (MH $^+$).
実施例25		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.46 (1H, dd, $J=8.3, 6.7, 1.2\text{Hz}$), 7.26-7.17 (2H, m), 7.16 (1H, t, $J=7.7\text{Hz}$), 7.12 (1H, dd, $J=10.6, 8.0\text{Hz}$), 6.28 (1H, dd, $J=7.0, 2.4\text{Hz}$), 6.15 (1H, brs), 4.64-4.50 (1H, m), 3.60-3.43 (1H, m), 3.24-2.92 (4H, m), 2.56-2.45 (1H, m), 2.42-2.34 (1H, m), 2.32 (3H, s), 2.09-1.81 (2H, m); ESI-MS m/z 582, 584 (MH $^+$).
実施例26		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.44 (1H, dd, $J=8.3, 6.5, 1.0\text{Hz}$), 7.30-7.10 (3H, m), 6.86 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 6.39 (1H, brs), 5.72 (1H, s), 4.64-4.49 (1H, m), 3.86 (3H, s), 3.49-3.35 (1H, m), 3.28-2.85 (2H, m), 3.06 (2H, s), 2.52 (3H, s), 2.49-2.39 (1H, m), 2.37-2.28 (1H, m), 2.27 (3H, s), 1.94-1.64 (2H, m); ESI-MS m/z 540, 542 (MH $^+$).
実施例27		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.50-7.39 (2H, m), 7.36-7.09 (2H, m), 6.42-6.30 (1H, m), 6.04-5.89 (1H, m), 4.61-4.50 (1H, m); 3.50-3.39 (1H, m), 3.29-2.88 (4H, m), 2.52-2.38 (4H, m), 2.36-2.20 (4H, m), 1.95-1.78 (2H, m); ESI-MS m/z 544, 546 (MH $^+$).

[0118]

[表17]

例	構造式	物性値
実施例28		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.46 (1H, dd, $J=8.3, 6.7, 1.3\text{Hz}$), 7.33-7.20 (2H, brm), 7.16 (1H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 7.14 (1H, dd, $J=10.6, 7.9\text{Hz}$), 6.34 (1H, dd, $J=7.8, 2.1\text{Hz}$), 6.07 (1H, s), 4.66-4.57 (1H, m), 3.53-3.45 (1H, m), 3.20 (1H, brs), 3.09 (1H, d, $J=13.4\text{Hz}$), 3.05 (1H, d, $J=13.4\text{Hz}$), 3.00-2.84 (1H, m), 2.52-2.43 (1H, m), 2.43-2.34 (1H, m), 2.38 (3H, s), 2.32 (3H, s), 2.01-1.66 (2H, m); ESI-MS m/z 528, 530 (MH^+).
実施例29		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.45 (1H, dd, $J=8.3, 6.7, 1.3\text{Hz}$), 7.34-7.16 (2H, m), 7.14 (1H, t, $J=7.8\text{Hz}$), 7.11 (1H, dd, $J=10.7, 7.8\text{Hz}$), 6.34-6.20 (1H, m), 6.11 (1H, s), 4.66-4.50 (1H, m), 3.58-3.40 (1H, m), 3.20-3.02 (1H, m), 3.10 (2H, s), 3.01-2.88 (1H, m), 2.58-2.45 (1H, m), 2.43-2.30 (1H, m), 2.32 (3H, s), 2.26 (3H, s), 2.03-1.65 (2H, brm); ESI-MS m/z 528, 530 (MH^+).

[0119]

[表18]

例	構造式	物性値
比較例1		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.60 (1H, m), 7.55–7.20 (4H, m), 6.81 (1H, m), 6.58–6.20 (2H, m), 4.45 (1H, m), 3.48 (1H, m), 3.35–3.12 (2H, m), 3.04 (2H, s), 2.28 (1H, m), 2.15 (1H, m), 1.94–1.77 (2H, m); ESI-MS m/z 498, 500 (MH+).
比較例2		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 7.68–7.60 (1H, m), 7.58–7.43 (1H, m), 7.40–7.00 (3H, m), 6.72 (1H, s), 6.50 (1H, s), 4.32–4.20 (1H, m), 3.38–3.28 (1H, m), 3.09–2.88 (3H, m), 2.13–1.40 (5H, m), 1.13–1.00 (2H, m), 0.84–0.65 (2H, m); ESI-MS m/z 515, 517 (MH+).
比較例3		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.50–7.10 (3H, m), 6.55–6.41 (1H, m), 6.25 (1H, s), 5.70–5.50 (1H, m), 4.45–4.20 (1H, m), 3.40–3.09 (5H, m), 2.32–1.95 (5H, m), 1.85–1.20 (3H, m), 1.15–1.00 (2H, m), 0.87–0.65 (2H, m); ESI-MS m/z 512, 514 (MH+).
比較例4		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.48 (1H, t, $J=7.4\text{ Hz}$), 7.24–7.16 (2H, m), 7.10 (1H, d, $J=8.8\text{ Hz}$), 6.99 (1H, s), 6.41 (1H, s), 6.19 (1H, brs), 4.73–4.55 (1H, m), 3.83 (3H, s), 3.58–3.44 (1H, m), 3.39–2.96 (4H, m), 2.49–2.14 (2H, m), 1.89–1.44 (2H, m); ESI-MS m/z 505, 507 (MH+).
比較例5		$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 7.90–7.85 (1H, m), 7.69 (1H, brs), 7.10–7.02 (1H, m), 6.95–6.87 (1H, m), 6.11 (1H, brs), 4.53–4.42 (1H, m), 3.55–3.45 (1H, m), 3.30–3.05 (4H, m), 2.33–2.26 (1H, m), 2.20–2.08 (1H, m), 1.80–1.58 (2H, m); ESI-MS m/z 458, 460 (MH+).
比較例6		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.03 (1H, d, $J=8.6\text{ Hz}$), 7.49 (1H, t, $J=7.5\text{ Hz}$), 7.31–7.24 (1H, m), 7.28 (1H, d, $J=8.6\text{ Hz}$), 7.20 (1H, t, $J=7.5\text{ Hz}$), 6.14 (1H, s), 4.56–4.37 (1H, m), 3.50–3.41 (1H, m), 3.23 (2H, s), 3.11–2.90 (2H, m), 2.53 (3H, s), 2.36–2.26 (2H, m), 2.22–2.13 (2H, m), 1.80–1.46 (2H, m); ESI-MS m/z 497, 499 (MH+).
比較例7		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.55–7.42 (1H, m), 7.35–7.10 (3H, m), 6.57 (1H, dd, $J=9.2, 2.9\text{ Hz}$), 5.52 (1H, s), 4.50–4.40 (1H, m), 3.45–3.04 (5H, m), 2.26–2.19 (1H, m), 2.23 (3H, s), 2.15–2.05 (1H, m), 1.71–1.40 (2H, m); ESI-MS m/z 490, 492 (MH+).

[0120] 試験例1 オーロラA及びオーロラB阻害作用の評価

被検化合物のオーロラA及びオーロラBに対する阻害活性は以下の方法に従って測定した。なお、対照化合物として臨床開発中のオーロラA選択的阻害剤であるMLN8237を使用した。

1) オーロラAタンパク質の精製

アミノ末端にヒスチジンタグを融合したヒトオーロラAのcDNAを発現ベクターに組み込み大腸菌BL21-Codon Plus (DE3)-RIL株で高発現させた。大腸菌を回収して可溶化した後、ヒスチジンタグ付加ヒトオーロラAタンパク質をニッケルキレートカラムに吸着させ、イミダゾールでカラムから溶出し、活性画分を脱塩カラムで脱塩し精製酵素とした。

2) オーロラA阻害活性の測定

オーロラAキナーゼ活性に対する上記化合物のインビトロでの阻害活性測定法は、特開2008-81492号公報に記載されている方法を参考にした。化合物の阻害活性測定においては、まず、被検化合物をジメチルスルホキシド(DMSO)で段階希釈した。次に、反応用緩衝液[50mM Tris-塩酸バッファー(pH7.4)、15mM 酢酸マグネシウム、0.2mM エチレンジアミン-N,N,N',N'-四酢酸(EDTA)]中に精製ヒトオーロラA蛋白質、FL-Peptide 21(キャリパーライフサイエンス社、終濃度は100nM)、ATP(終濃度は5μM)と本発明化合物DMSO溶液(DMSOの終濃度は5%)を加えて25℃で50分間インキュベーションし、キナーゼ反応を行った。そこへモレキュラーデバイス社のIMAP(登録商標)Progressive Binding Buffer Aにて500倍希釈したIMAP(登録商標)Progressive Binding Reagentを加えてキナーゼ反応を停止させた。室温で暗所に120分間静置後に、PHERAstar(BMG LABTECH社、励起波長485nm、検出波長520nm)で測定して得られた蛍光偏光度よりリン酸化反応量を求め、リン酸化反応を50%抑制することのできる化合物濃度をIC₅₀値(nM)と定義し、結果を表19に示した。

3) オーロラBキナーゼ活性の測定

オーロラBキナーゼ活性に対する被検化合物のインビトロでの阻害活性測定法はオーロラAとほぼ同様で、精製リコンビナントヒトオーロラB蛋白質

はカルナバイオサイエンス株式会社より購入した。反応用緩衝液の組成は、20 mM HEPES (pH 7.4), 2 mM DTT, 0.01% Tween-20、塩化マグネシウムの終濃度は1 mM、ATPの終濃度は40 μ M、インキュベーション時間は60分間とした。リン酸化反応を50%抑制することのできる化合物濃度をIC₅₀値 (nM) と定義し、結果を表19に示した。

[0121] [表19]

実施例番号	オーロラA IC ₅₀ (nM)	オーロラB IC ₅₀ (nM)	実施例番号	オーロラA IC ₅₀ (nM)	オーロラB IC ₅₀ (nM)
1	0.4	140	19	1.0	680
2	0.5	340	22	0.7	380
11	0.6	930	24	0.5	190
12	0.4	260	28	0.7	450
13	0.4	180	29	0.8	390
14	0.9	460	比較例6	220	320
17	0.9	900	MLN8237	0.6	90

[0122] 結果、本発明化合物は、対照化合物であるMLN8237に比しても、高いオーロラA阻害活性及び低いオーロラB阻害活性を示し、オーロラAに対する選択性を示すことが確認された。これに対し、比較例6では、オーロラA阻害活性及びオーロラAに対する選択性は認められなかった。このことから、一般式(1)で表される本発明化合物の構造において、ピリジン環上の特定の位置に特定の置換基(R₂としてハロゲン原子又はC₁-C₆アルコキシ基)を導入することにより高いオーロラA阻害活性及びオーロラA選択性を与えることが示唆された。

[0123] 試験例2 細胞増殖抑制効果の評価

ヒト由来胃がん細胞株SNU-16細胞を、各々10%ウシ胎児血清(FBS)を含むRPMI-1640培地およびダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)中で、80%を超えない細胞密度で日常的に継代した。細胞増殖抑制活性の試験を開始するため、各細胞を上記培地中に懸濁し、96ウェル

平底プレート（底面が透明な黒色プレート）の各ウェルに1ウェルあたりの細胞数が2,500または3,000個となるように播種した後、5%炭酸ガス含有の培養器中37℃で1日間培養した。翌日、本発明化合物および対象化合物をDMSOに溶解し、DMSOを用いて被検化合物を終濃度の2000倍の濃度になるように段階希釈した。被検化合物のDMSO溶液を培養に用いた培地で希釈し、これを細胞の培養プレートの各ウェルにDMSOの最終濃度が0.5%になるように加え、5%炭酸ガス含有の培養器中37℃で72時間培養した。被検化合物の添加時および72時間培養後の細胞数の計測は、CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assayキット（プロメガ社製）を用いて、プロメガ社の推奨するプロトコールに基づき実施した。キット含有の試薬を各プレートに添加し攪拌後10分間室温で静置した。反応終了後、マイクロプレートリーダーを用いて、発光シグナルを測定した。

以下の式より細胞増殖阻害率を算出し、50%阻害する被検化合物の濃度（GI₅₀（nM））を求め、表20に結果を示した。

$$\text{細胞増殖阻害率 (\%)} = (C - T) / (C - C_0) \times 100$$

T：被検化合物を添加したウェルの発光シグナル

C：被検化合物を添加しなかったウェルの発光シグナル

C₀：化合物添加前に測定したウェルの発光シグナル

[0124] [表20]

実施例番号	GI ₅₀ (nM)
1	120
13	60
22	970

[0125] 結果、本発明化合物は細胞増殖阻害効果を示し、抗腫瘍剤として有用であることが示唆された。

[0126] 試験例3 経口吸収性の評価

被検化合物を0.5%HPMCに懸濁又は溶解し、BALB/c Aマウスに経口投与した。経口投与後、0.5、1、2、4及び6時間後に眼底採血し血漿を得た。得られた血漿中の化合物濃度をLCMSにより測定し、経口吸収性の評価を行った。

結果、本発明化合物である実施例1、11、12、13及び22の化合物は、経口投与後に十分な血漿中濃度が観測され、良好な経口吸収性を示した。一方、比較例2～5及び7では十分な経口吸収性を示さず（ AUC_{0-6hr} は本発明化合物の1/8未満）、経口投与製剤に有効成分として含有させることは難しく、経口投与では臨床効果を期待できないと考えられた。このことから、一般式(1)で表される本発明化合物の構造において、ピリジン環上の R_2 としてハロゲン原子又は C_1-C_6 アルコキシ基に導入することにより高い経口吸収性を与えることが判明した。

[0127] 試験例4 抗腫瘍効果の評価(1)

ルシフェラーゼ導入ヒト子宮頸部癌細胞株(HeLa-Luc)をヌードマウスの皮下に移植し、腫瘍の生着した体積が100～200mm³になった時点で、各群の腫瘍体積が均一になるように、無作為層別化法により1群5匹を単剤群及び併用群に群分けした(1日目)。単剤群では、グループ1：パキリタキセル(30mg/kg)を1日目に静脈内投与、グループ2：本発明化合物(化合物1)(60mg/kg)を2日目及び3日目に1日2回経口投与、グループ3：比較化合物1(60mg/kg)を2日目及び3日目に1日2回経口投与した。併用群では、グループ4：パキリタキセル(30mg/kg)を1日目に静脈内投与し、化合物1(60mg/kg)を2日目及び3日目に1日2回経口投与、グループ5：パキリタキセル(30mg/kg)を1日目に静脈内投与し、比較化合物1(60mg/kg)を2日目及び3日目に1日2回経口投与した。薬剤投与における抗腫瘍効果を比較するため、腫瘍の増殖割合として群分け時の腫瘍体積を1とした相対腫瘍体積(RTV; Relative Tumor Volume)を以下の式に従って求めた。

[0128] $RTV = (\text{腫瘍体積測定日の腫瘍体積}) / (\text{群分け時の腫瘍体積})$

[0129] コントロール及び単剤群（グループ2，3）では、群分け後23日目の平均RTV値を、パクリタキセル単剤投与群（グループ1）と併用群（グループ4，5）では群分け後23日目と46日目の平均RTV値を表21に記載した。

また、J. Clin. Oncol., 29(31), p4129-4136, (2010)等に記載の病勢コントロール率（DCR; Disease Control Rate）も薬剤投与における抗腫瘍効果の指標として用いた。DCRは、腫瘍体積測定最終日（46日目）において、RTVが1を超えない個体の割合として定義し、以下の式に従って求め、結果を表21に示した。

[0130] $DCR(\%) = [(\text{腫瘍体積の最終測定日のRTVが1を超えない個体数}) / (\text{最終日に生存したマウス個体数})] \times 100$

[0131] 一方、薬剤投与による全身毒性を表す指標として、体重変化率（BWC; Body Weight Change）を使用した。BWCは、以下の式に従って算出し、平均BWC値を表21に示した。

[0132] $BWC(\%) = ([(\text{体重計測日のマウス体重}) - (\text{群分け時のマウス体重})] / (\text{群分け時のマウス体重})) \times 100$

[0133] [表21]

グループ	23日目		46日目		
	RTV	BWC	RTV	BWC	DCR
コントロール	15.66	11.3			
1. パクリタキセル	0.69	3.0	5.38	11.6	40%
2. 化合物1	10.47	11.6			
3. 比較化合物1	15.23	11.6			
4. 化合物1 /パクリタキセル	0.08	2.2	0.61	9.4	80%
5. 比較化合物1 /パクリタキセル [#]	0.29	-3.9	3.95	6.7	25%

[#]5例中1例死亡（29日目）

[0134] 結果、パクリタキセルを単独で用いた場合（グループ１）と比較して、本発明化合物（化合物１）とパクリタキセルとを併用した場合（グループ４）では、体重減少等の毒性を大きく上昇させることなく、顕著な抗腫瘍効果の増強が認められた。また、化合物１の投与によって持続的な腫瘍縮小効果が期待できることが、投与４６日目のＲＴＶ値及びＤＣＲ値から認められた。一方、比較化合物１では、パクリタキセルとの併用において（グループ５）、投与２３日目及び４６日目のＲＴＶ値及びＤＣＲ値から明らかなように、パクリタキセル単剤群（グループ１）と比較して明確な抗腫瘍性効果の増強は認められなかった。

[0135] 試験例５ 抗腫瘍効果の評価（２）

試験例４と同様の方法により、ルシフェラーゼ導入ヒト子宮頸部癌細胞株（Ｈｅｌａ－Ｌｕｃ）をヌードマウスの皮下に移植し、無作為層別化法により１群５匹を単剤群及び併用群に群分けした（１日目）。単剤群では、パクリタキセル（２０ｍｇ／ｋｇ）を１日目に静脈内投与した。また、化合物１３（３０ｍｇ／ｋｇ）又は化合物２２（１００ｍｇ／ｋｇ）を２日目及び３日目に１日２回経口投与した。併用群では、パクリタキセル（２０ｍｇ／ｋｇ）を１日目に静脈内投与し、化合物１３（３０ｍｇ／ｋｇ）又は化合物２２（６０ｍｇ／ｋｇ）を２日目及び３日目に１日２回経口投与した。群分け後１１日目の平均ＲＴＶ値と平均ＢＷＣ値を表２２及び表２３に示した。

[0136] [表22]

グループ	１１日目	
	ＲＴＶ	ＢＷＣ
コントロール	7.24	7.2
パクリタキセル	2.90	5.4
化合物１３	6.54	6.0
化合物１３ /パクリタキセル	0.72	4.2

[0137] [表23]

グループ	11日目	
	RTV	BWC
コントロール	5.68	10.9
パクリタキセル	3.05	7.8
化合物22	4.66	6.9
化合物22 /パクリタキセル	1.73	2.8

[0138] 結果、パクリタキセルを単独で用いた場合と比較して、本発明化合物である化合物13又は化合物22をパクリタキセルと併用した場合は、体重減少等の毒性を大きく上昇させることなく、顕著な抗腫瘍効果の増強が見られた。

[0139] 試験例6 オーロラCキナーゼ活性の測定

オーロラCキナーゼ活性に対する本発明化合物のインビトロでの阻害活性を測定した。具体的には、Off-chip Mobility Shift Assay法を用い、以下の手順で反応を行った。

反应用緩衝液（20mM HEPES, 0, 01% Triton X-100, 2mM DTT, pH7.5）に本発明化合物、ATP（終濃度は25 μ M）、基質（Kemptide, 終濃度1000nM）、マグネシウム（終濃度5mM）および精製ヒトオーロラCキナーゼを加え混合後、室温にて1時間反応させた。精製ヒトオーロラCキナーゼは、全長オーロラCキナーゼのN末端側にGSTタンパク質を融合し、バキュロウイルスにて発現させた。GST-オーロラC融合タンパク質は、グルタチオンセファロースクロマトグラフィーにより精製した。反応後、反応停止液（Quick Scout Screening Assist MSA; カルナバイオサイエンス株式会社）を加え、反応液中の基質ペプチドとリン酸化ペプチドをLabChip3000システム（カルナバイオサイエンス株式会社）にて分離、定量した。オーロラCキナーゼ活性に対する本発明化合物のインビトロで

の阻害活性測定法は、上記試験例 1 - 2) に示すオーロラ A 阻害活性の測定方法に準じて行い、リン酸化反応を 50%抑制することのできる化合物濃度を IC_{50} 値 (nM) と定義し、上記試験例 1 - 2) で得られたオーロラ A 阻害活性と比較した。

結果、本発明化合物のオーロラ C 阻害活性は、オーロラ A 阻害活性に比して、80~100 倍程度弱く、本発明化合物のオーロラ A に対する有意な選択的阻害活性が示唆された。

[0140] 試験例 7 微小管作動薬の効果増強作用 (in vitro)

ヒト由来胃がん細胞株 O C U M - 2 M 細胞およびヒト由来子宮癌細胞株 H e L a 細胞を、10%ウシ胎児血清 (F B S) を含むダルベッコ変法イーグル培地 (D M E M) 中で、80%を超えない細胞密度で日常的に継代した。細胞増殖抑制活性の試験を開始するため、各細胞を上記培地中に懸濁し、96 ウェル平底プレート (底面が透明な黒色プレート) の各ウェルに 1 ウェルあたりの細胞数が 2, 500 または 3, 000 個となるように播種した後、5%炭酸ガス含有の培養器中 37℃で 1 日間培養した。翌日、微小管作動薬 (ドセタキセル、カバジタキセルおよびエポチロン B) の段階希釈液を D M S O で作製 (各薬剤の試験濃度は、いずれも 0.03 nM から 1000 nM の範囲で 10 用量を設定) し、培地で希釈をした後、D M S O の最終濃度が 0.1%となるように細胞の培養プレートの各ウェルに添加した。また微小管作動薬と本発明化合物との併用効果を検証するため、上記化合物を終濃度 300 nM (D M S O の最終濃度は 0.1%) になるように D M S O にて希釈し、これを細胞の培養プレートの各ウェルに加えた。比較対照群として、微小管作動薬単独および本化合物単独のウェルを別途準備し、5%炭酸ガス含有の培養器中 37℃で 72 時間培養した。細胞数の計測は、C e l l T i t e r - G l o L u m i n e s c e n t C e l l V i a b i l i t y A s s a y キット (プロメガ社製) を用いて、プロメガ社の推奨するプロトコールに基づき実施した。キット含有の試薬を各プレートに添加し攪拌後 10 分間室温で静置した。反応終了後、マイクロプレートリーダーを用いて

、発光シグナルを測定した。

以下の式より細胞増殖率を算出し、増殖を50%阻害する被検化合物の濃度（ IC_{50} （ μM ））を求めた。

$$\text{細胞増殖率（\%）} = T / C \times 100$$

T：被検化合物を添加したウェルの発光シグナル

C：被検化合物を添加しなかったウェルの発光シグナル

さらに、微小管作動薬単独時の IC_{50} 値（ IC_{50} __微小管作動薬）および微小管作動薬と本発明化合物を併用した際の微小管作動薬の IC_{50} 値（ IC_{50} __併用）を求めた。後者の IC_{50} 値（ IC_{50} __併用）は、本発明化合物単独時の細胞増殖率を100%とした場合の併用群の細胞増殖阻害率（換算値）より算出した。本発明化合物添加による微小管作動薬の効果増強の程度は、以下の式より算出した値の大小により判断をした。

$$(\text{併用増強効果}) = (IC_{50}\text{__併用}) / (IC_{50}\text{__微小管作動薬})$$

上記の値が1を上回るほど、強い増強効果があると判断し、逆に1あるいは1を下回った場合は、併用による効果が乏しいと判断した。

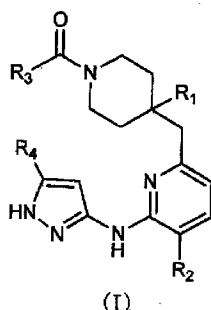
結果、ドセタキセル、カバジタキセルおよびエポチロンBといった微小管作動薬に本発明化合物を添加することにより上記式にて2を上回る値を示し、これら微小管作動薬の細胞増殖抑制効果を増強することが判明した。

[0141] 以上のように、本発明化合物は、優れたオーロラA選択的な阻害を有し、優れた抗腫瘍効果を示し、且つ経口吸収が良好であった。また、ヌードマウスを用いた *in vivo* 試験においてパクリタキセルの抗腫瘍効果を強く増強することが明らかとなった。更には、パクリタキセル以外の微小管作動薬の細胞増殖抑制効果も増強することが明らかとなった。

請求の範囲

[請求項1] 一般式 (I)

[化1]



(式中、 R_1 は、カルボキシル基、 $-C(=O)NR_5R_6$ 、又は置換基として C_1-C_6 アルキル基若しくはトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基を示し；

R_2 は、ハロゲン原子又は C_1-C_6 アルコキシ基を示し；

R_3 は、置換基としてハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～3個有してもよいフェニル基を示し；

R_4 は、水素原子又は C_1-C_6 アルキル基を示し；

R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、 C_1-C_6 アルキル基又は C_3-C_6 シクロアルキル基を示すか、 R_5 及び R_6 は、結合する窒素原子と一緒になって3～6員の含窒素飽和ヘテロ環基を形成してもよい。)で表されるピペリジン化合物又はその塩。

[請求項2] 一般式 (I) 中、 R_1 が、カルボキシル基、 $-C(=O)NR_5R_6$ (ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、 C_1-C_6 アルキル基又は C_3-C_6 シクロアルキル基を示すか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒になってアゼチジニル基、ピロリジニル基又はイソキサゾリジニル基を形成してもよい)、又は置換基として、 C_1-C_6 アルキル基若しくはトリフルオロメチル基を有していてもよいオキサジアゾリル基である請求項1記載の化合物又はその塩。

- [請求項3] 一般式 (I) 中、 R_1 がカルボキシル基、 $-C(=O)NR_5R_6$ (ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、メチル基、シクロプロピル基若しくはシクロブチル基であるか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒にアゼチジニル基、ピロリジニル基若しくはイソキサゾリジニル基を示す)、又は置換基としてメチル基若しくはトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基である請求項1又は2記載の化合物又はその塩。
- [請求項4] 一般式 (I) 中、 R_2 がフッ素原子、塩素原子又は C_1-C_4 アルコキシ基である請求項1～3のいずれか記載の化合物又はその塩。
- [請求項5] 一般式 (I) 中、 R_2 がフッ素原子、塩素原子又はメトキシ基である請求項1～4のいずれか記載の化合物又はその塩。
- [請求項6] 一般式 (I) 中、 R_3 が置換基としてハロゲン原子、 C_1-C_4 アルキル基、 C_1-C_4 アルコキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有してもよいフェニル基である請求項1～5のいずれか記載の化合物又はその塩。
- [請求項7] 一般式 (I) 中、 R_3 が置換基としてフッ素原子、塩素原子、メチル基、メトキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有してもよいフェニル基である請求項1～6のいずれか記載の化合物又はその塩。
- [請求項8] 一般式 (I) 中、 R_4 が水素原子又は C_1-C_4 アルキル基である請求項1～7のいずれか記載の化合物又はその塩。
- [請求項9] 一般式 (I) 中、 R_1 が、カルボキシル基、 $-C(=O)NR_5R_6$ (ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、 C_1-C_4 アルキル基又は C_3-C_6 シクロアルキル基を示すか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒にアゼチジニル基、ピロリジニル基又はイソキサゾリジニル基を形成してもよい)、又は置換基として、 C_1-C_4 アルキル基若しくはトリフルオロメチル基を有していてもよいオキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ素原子、塩素原子又は C_1-C_4 アルコ

キシ基であり； R_3 が置換基としてハロゲン原子、 C_1-C_4 アルキル基、 C_1-C_4 アルコキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有してもよいフェニル基であり； R_4 が水素原子又は C_1-C_4 アルキル基である請求項1記載の化合物又はその塩。

[請求項10]

一般式(1)中、 R_1 がカルボキシ基、 $-C(=O)NR_5R_6$ (ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子、メチル基、シクロプロピル基又はシクロブチル基であるか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒にアゼチジニル基、ピロリジニル基又はイソキサゾリジニル基を示す)、又は置換基としてメチル基又はトリフルオロメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ素原子、塩素原子又はメトキシ基であり； R_3 が置換基としてフッ素原子、塩素原子、メチル基、メトキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有してもよいフェニル基であり； R_4 が水素原子又はメチル基である請求項9記載の化合物又はその塩。

[請求項11]

一般式(1)中、 R_1 がカルボキシ基、 $-C(=O)NR_5R_6$ (ここで、 R_5 及び R_6 は、同一又は異なって、水素原子又はメチル基であるか、 R_5 及び R_6 が結合する窒素原子と一緒にイソキサゾリジニル基を示す)、又は置換基としてメチル基を有してもよい1, 2, 4-オキサジアゾリル基又は1, 3, 4-オキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ素原子、塩素原子又はメトキシ基であり； R_3 が置換基としてフッ素原子、塩素原子、メチル基、メトキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有するフェニル基であり； R_4 が水素原子又はメチル基である請求項10記載の化合物又はその塩。

[請求項12]

一般式(1)中、 R_1 がカルボキシ基又は置換基としてメチル基を有してもよい1, 2, 4-オキサジアゾリル基であり； R_2 がフッ

素原子であり； R_3 が置換基としてフッ素原子及び塩素原子から選ばれる基を同一又は異なって1～2個有するフェニル基であり； R_4 がメチル基である請求項1記載の化合物又はその塩。

[請求項13] 化合物が、以下の化合物群から選択されるものである請求項1～8のいずれか1項記載の化合物又はその塩。

1-（2，3-ジクロロベンゾイル）-4-（（5-フルオロ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-カルボン酸；

1-（2-フルオロ-3-トリフルオロメチルベンゾイル）-4-（（5-フルオロ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-カルボン酸；

1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（5-フルオロ-6-（1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-カルボン酸；

1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（5-メトキシ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-カルボン酸；

1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（5-クロロ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-カルボン酸；

1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（5-フルオロ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）ピペリジン-4-カルボン酸；

1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（5-フルオロ-6-（5-メチル-1H-ピラゾール-3-イルアミノ）ピリジン-2-イル）メチル）-N-メチルピペリジン-4-カルボキシアミド；

1-（3-クロロ-2-フルオロベンゾイル）-4-（（5-フルオ

ロー 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) - N, N - ジメチルピペリジン - 4 - カルボキシアミド ;

アゼチジン - 1 - イル (1 - (3 - クロロ - 2 - フルオロベンゾイル) - 4 - ((5 - フルオロ - 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) ピペリジン - 4 - イル) メタノン ;

(1 - (3 - クロロ - 2 - フルオロベンゾイル) - 4 - ((5 - フルオロ - 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) ピペリジン - 4 - イル) (イソキサゾリジン - 2 - イル) メタノン ;

(3 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) (4 - ((5 - フルオロ - 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) - 4 - (5 - メチル - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル) ピペリジン - 1 - イル) メタノン ;

(2, 3 - ジクロロフェニル) (4 - ((5 - フルオロ - 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) - 4 - (5 - メチル - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル) ピペリジン - 1 - イル) メタノン ;

(3 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) (4 - ((5 - フルオロ - 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) - 4 - (1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル) ピペリジン - 1 - イル) メタノン ;

(3 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) (4 - ((5 - フルオロ - 6 - (5 - メチル - 1 H - ピラゾール - 3 - イルアミノ) ピリジン - 2 - イル) メチル) - 4 - (5 - メチル - 1, 3, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル) ピペリジン - 1 - イル) メタノン ;

(3 - クロロ - 2 - フルオロフェニル) (4 - ((5 - フルオロ - 6

－（５－メチル－１Ｈ－ピラゾール－３－イルアミノ）ピリジン－２－イル）メチル）－４－（３－メチル－１，２，４－オキサジアゾール－５－イル）ピペリジン－１－イル）メタノン

[請求項14] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩を有効成分とするオーロラＡ選択的阻害剤。

[請求項15] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩と薬学的担体を含む医薬組成物。

[請求項16] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩を有効成分とする抗腫瘍剤。

[請求項17] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩を有効成分とする微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤。

[請求項18] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩の、抗腫瘍剤製造のための使用。

[請求項19] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩の、微小管作動薬の抗腫瘍効果増強剤製造のための使用。

[請求項20] 癌治療のための、請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩。

[請求項21] 微小管作動薬の抗腫瘍効果増強のための、請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩。

[請求項22] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩の有効量を投与することを特徴とする癌の治療方法。

[請求項23] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩の有効量を投与することを特徴とする微小管作動薬の抗腫瘍効果増強方法。

[請求項24] 請求項１～１３のいずれか１項記載の化合物又はその塩の有効量、及び微小管作動薬の有効量を併用投与することを特徴とする癌治療方法。