

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6457623号
(P6457623)

(45) 発行日 平成31年1月23日(2019.1.23)

(24) 登録日 平成30年12月28日(2018.12.28)

(51) Int. Cl.		F I	
C07D 487/04	(2006.01)	C07D 487/04	140
C07D 519/00	(2006.01)	C07D 487/04	CSP
A61P 35/00	(2006.01)	C07D 519/00	311
A61P 43/00	(2006.01)	A61P 35/00	
A61K 31/519	(2006.01)	A61P 43/00	111

請求項の数 10 (全 66 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-504050 (P2017-504050)
 (86) (22) 出願日 平成27年7月24日(2015.7.24)
 (65) 公表番号 特表2017-524703 (P2017-524703A)
 (43) 公表日 平成29年8月31日(2017.8.31)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2015/085089
 (87) 国際公開番号 W02016/011979
 (87) 国際公開日 平成28年1月28日(2016.1.28)
 審査請求日 平成29年2月8日(2017.2.8)
 (31) 優先権主張番号 201410361024.X
 (32) 優先日 平成26年7月25日(2014.7.25)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 516254256
 シャンハイ ハイヤン ファーマシューテ
 イカル テクノロジー カンパニー リミ
 テッド
 SHANGHAI HAIYAN PHA
 RMACEUTICAL TECHNOL
 OGY CO., LTD.
 中華人民共和国 上海 201203、プ
 ードン ニュー エリア、ツァンジャン
 ハイテク パーク、リーピン ロード、
 レーン 67、ナンバー 8
 No. 8, Lane 67, Libi
 ng Road, Zhangjiang
 High-Tech Park, Pu
 dong New Area, Shan
 最終頁に続く

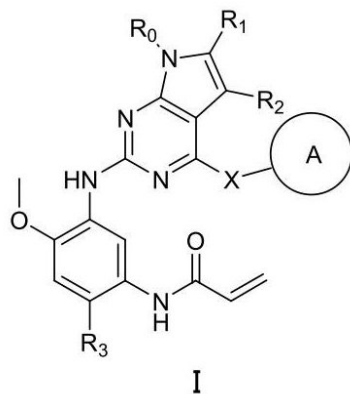
(54) 【発明の名称】 2, 4-二置換7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン誘導体、その製造方法および医薬における使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(1)で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体。

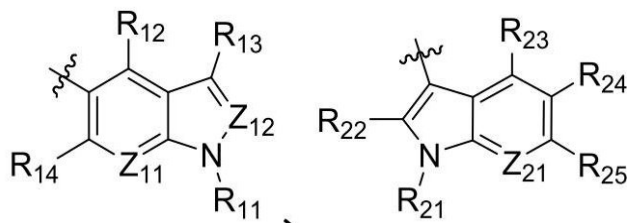
【化1】



(式中において、

A環は、置換または無置換のC₃₋₁₀複素環基、または無置換のC₄₋₁₀シクロアルケニル基であり、前記置換または無置換のC₃₋₁₀複素環基は、置換または無置換の1、2または3個の窒素原子を含む9~10員の二環式ヘテロアリアル環であり、

【化2】



から選ばれ、

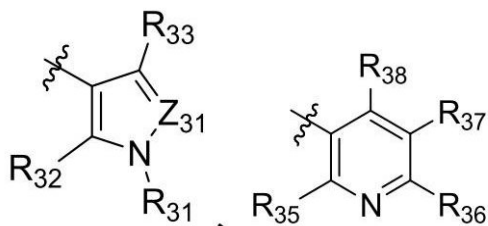
ここで、 Z_{11} は、 CR_{15} またはNであり、 Z_{12} は、 CR_{16} またはNであり、 Z_{21} は、 CR_{26} またはNであり、

R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} は、それぞれ独立に、水素、ヒドロキシ基、CN、 NO_2 、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-CON(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-N(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-C(O)OC_{1-3}$ アルキル基、 $-OC(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基、 $-S(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-S(O)$ -フェニル基であり、前記のアルキル基、フェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、

R_{11} 、 R_{21} は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、または

前記置換または無置換の C_{3-10} 複素環基は、置換または無置換の1~2個の窒素原子を含む5~6員の単環式ヘテロアリール環であり、

【化3】



から選ばれ、

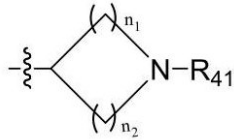
ここで、 Z_{31} は、 CR_{34} またはNであり、

R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} は、それぞれ独立に、水素、ヒドロキシ基、CN、 NO_2 、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-CON(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-N(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-C(O)OC_{1-3}$ アルキル基、 $-OC(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基、 $-S(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-S(O)$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、

R_{31} は、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、または

前記置換または無置換の C_{3-10} 複素環基は、置換または無置換の1個の窒素原子を含む4~7員の飽和単環式複素環であり、

【化4】



から選ばれ、

ここで、 n_1 は、1、2または3であり、 n_2 は、1または2であり、

R_{41} は、水素、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO-$ フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2-$ フェニル基、 $-S(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-S(O)-$ フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、

10

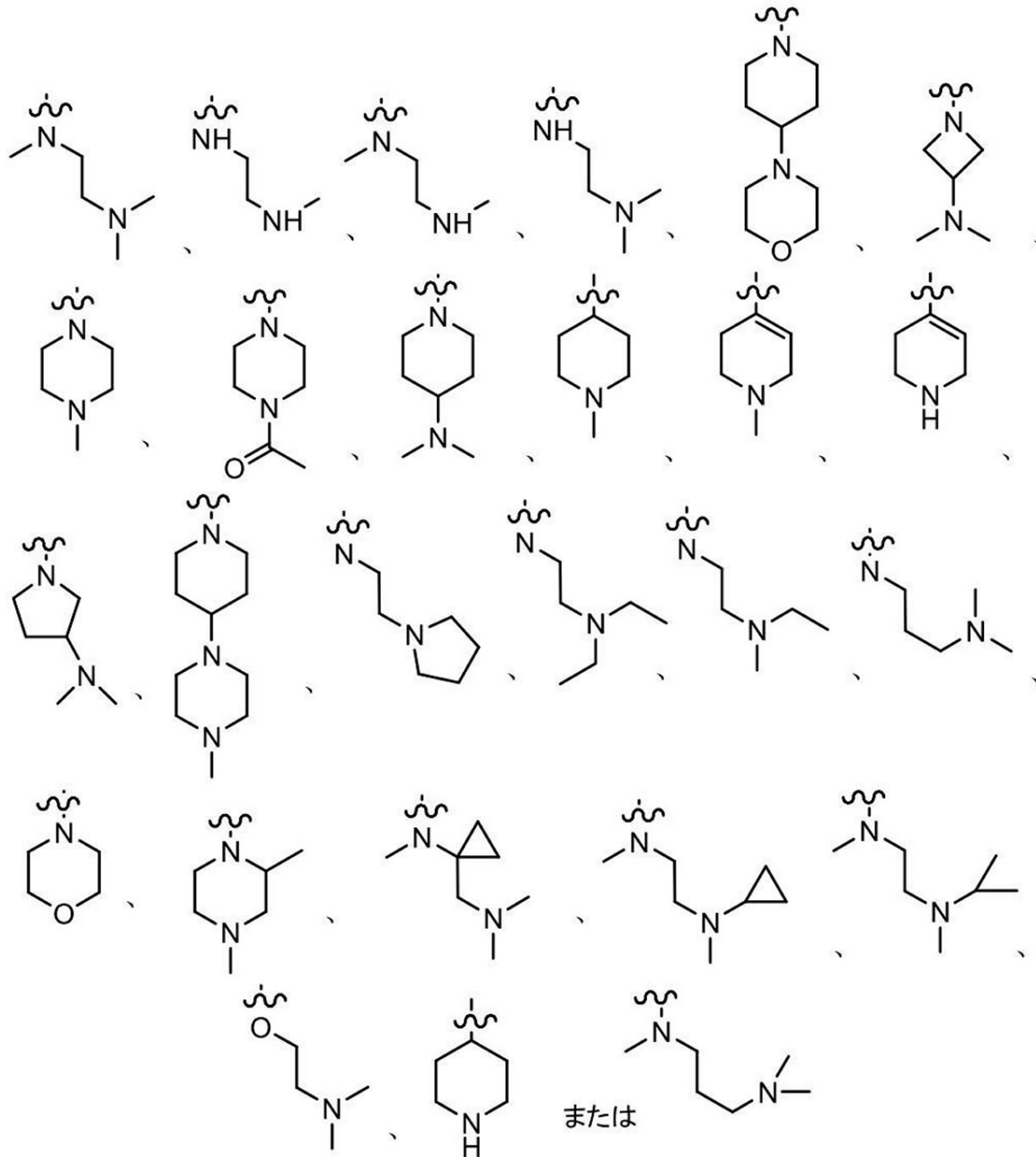
Xは、共役結合、あるいはNH、OまたはSであり、

R_0 は、水素、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基、ハロゲン置換の C_{3-6} シクロアルキル基、 $-CHO$ 、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO-$ フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2-$ フェニル基であり、

R_1 、 R_2 は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基であり、

R_3 は、

【化5】



10

20

30

から選ばれ、

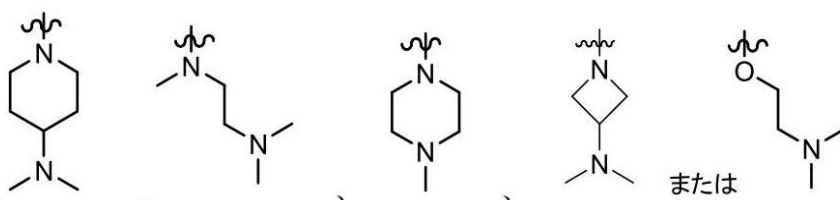
ここで、前記のフェニル基は、無置換のものまたはハロゲン、 $C_1 \sim 3$ アルキル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。)

【請求項2】

R_3 は、

40

【化6】



から選ばれる、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体。

50

【請求項3】

R₀は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、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、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、-COCH₃、-CO-フェニル基、-SO₂CH₃または-SO₂-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、かつ/あるいは、

R₁、R₂は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基である、

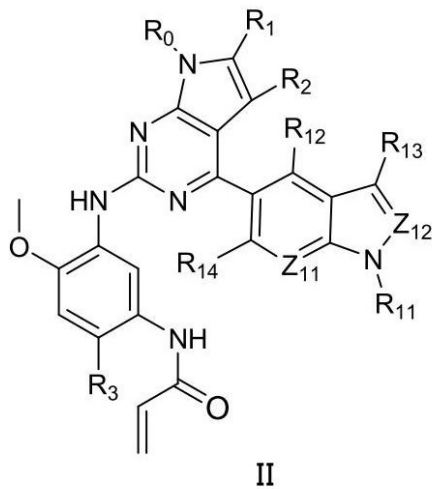
請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体。

10

【請求項4】

式(I)化合物は、式(II)、式(III)、式(IV)、式(V)、または式(VI)で表される化合物である、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体。

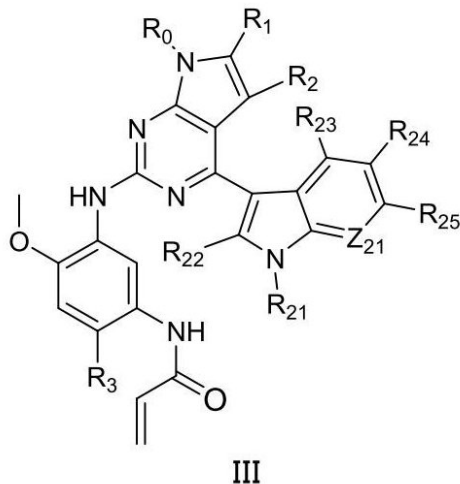
【化7】



20

(式において、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄、R₀、R₁、R₂、R₃、Z₁₁、Z₁₂は請求項1で定義された通りである)、

【化8】

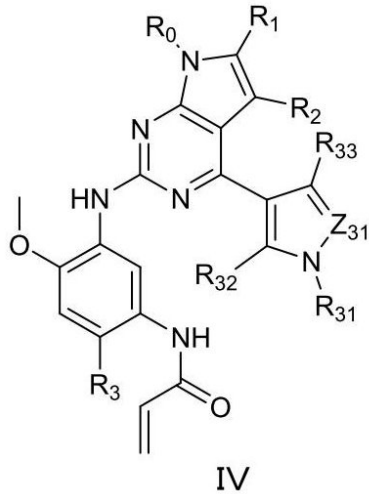


30

40

(式において、R₂₁、R₂₂、R₂₃、R₂₄、R₂₅、R₀、R₁、R₂、R₃、Z₂₁は請求項1で定義された通りである)、

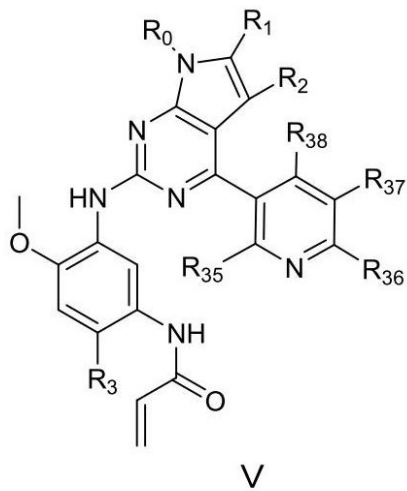
【化 9】



10

(式において、 R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 Z_{31} は請求項 1 で定義された通りである) 、

【化 10】

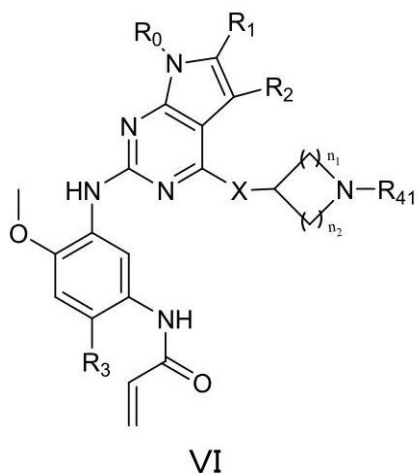


20

30

(式において、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 は請求項 1 で定義された通りである) 、

【化 11】



40

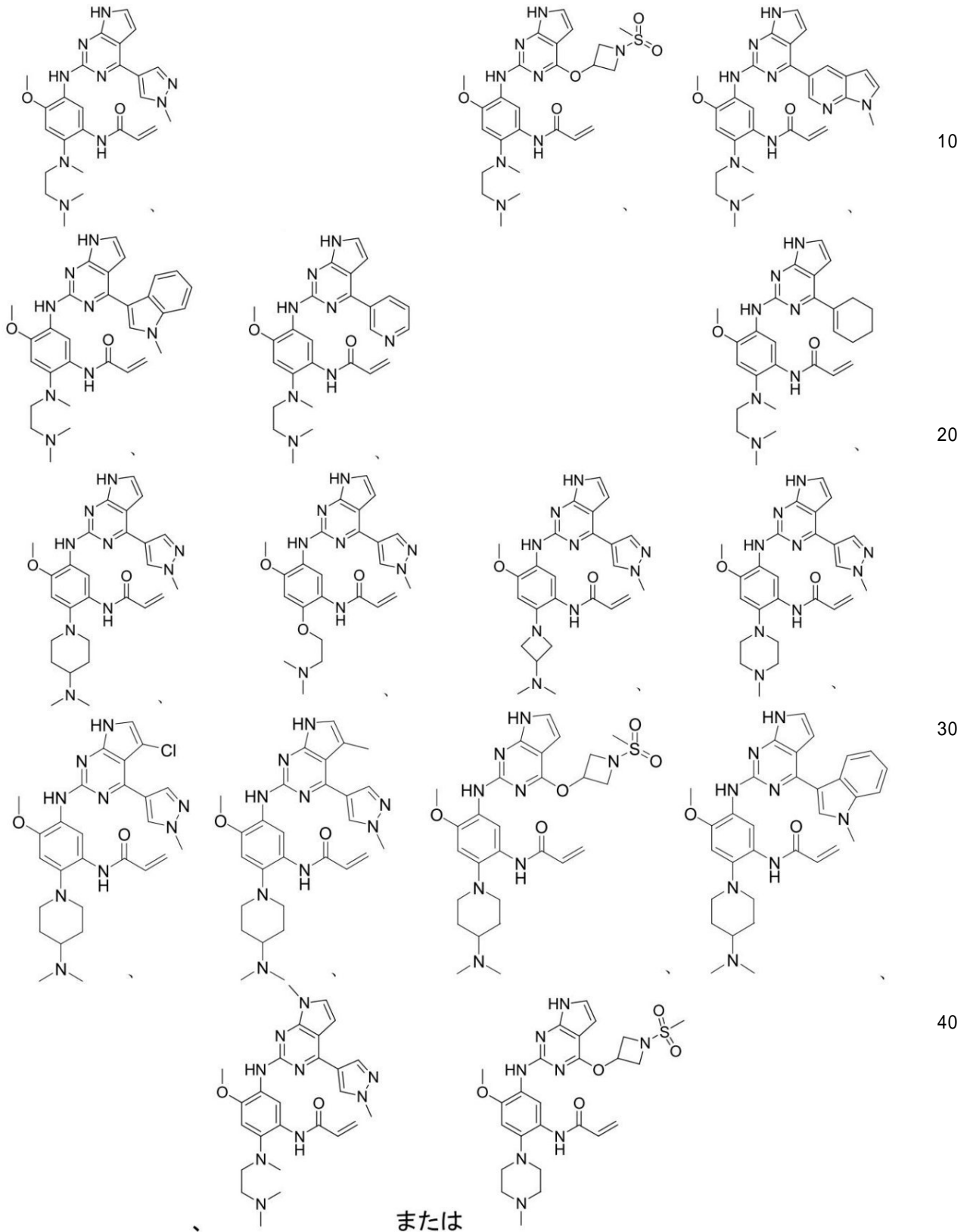
(式において、 R_{41} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 X 、 n_1 、 n_2 は請求項 1 で定義された通りである) 。

50

【請求項5】

前記式(1)化合物は、以下の群から選ばれる、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体。

【化12】



【請求項6】

請求項1~5のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または

10

20

30

40

50

その溶媒和物、またはその立体異性体、薬学的に許容される担体とを含む薬物組成物。

【請求項 7】

(i) EGFRチロシンキナーゼの活性を調節する薬物、あるいは(ii)EGFR関連疾患を予防および/または治療する薬物の製造における請求項1~5のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体の使用。

【請求項 8】

請求項1~5のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその立体異性体、またはその溶媒和物と、

ゲフィチニブ、エルロチニブ、イコチニブ、ラパチニブ、XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、CI-1033、バンデタニブ、PF00299804、WZ4002、セツキシマブ、トラスツズマブ、パニツムマブ、マツズマブ、ニモツズマブ、ザルツムマブ、ペルツズマブ、MDX-214、CDX-110、IMC-11F8、Zemab、Her2ワクチンPX 1041、HSP90阻害剤、CNF2024、タネスピマイシン、アルベスピマイシン、IPI-504、SNX-5422、NVP-AUY922から選ばれる一種または複数種の薬物とを含む、薬用組成物。

10

【請求項 9】

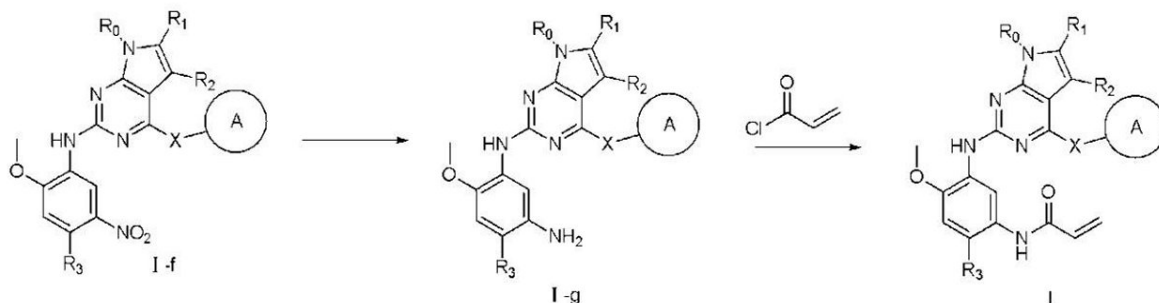
請求項1に記載の式(1)で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体の製造方法であって、

(i) 式I-f化合物に対して還元反応を行うことによって、式I-g化合物を形成する工程と、

(ii) 式I-g化合物をアクリロイルクロリドと縮合反応させることによって、式(1)で表される化合物を形成する工程とを含む前記製造方法。

20

【化 1 3】



30

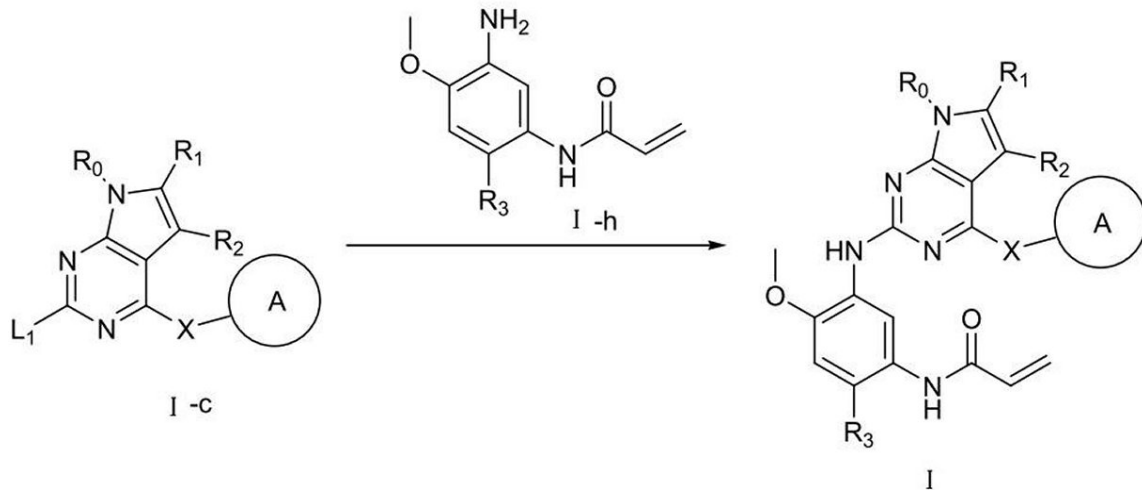
(上記各式においてR₀、R₁、R₂、R₃、X、A環の定義は請求項1と同様である。)

【請求項 10】

請求項1に記載の式(1)で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体の製造方法であって、

(i') 不活性溶媒において、式I-c化合物と式I-h化合物を反応させることによって、式(1)で表される化合物を形成する工程を含むことを特徴とする方法。

【化14】



10

(上記各式において、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 X 、 A 環の定義は請求項1と同様である。 L_1 は脱離基である。)

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

本発明は、医薬の技術分野に関し、特に、2,4-二置換7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン誘導体およびその製造方法とEGFRチロシンキナーゼ阻害剤としての使用、ならびにそれから製造される薬物組成物および薬用組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

肺癌は世界中で発症率が最も高い癌である。中国で肺癌の発症率はすべての癌において1位で、中国で発症率と死亡率が最も高い癌である。

【0003】

中国の肺癌患者のうち、30%の患者がEGFR突然変異を持ち、中でも、L858Rとエクソン19欠失変異は90%以上を占め、このような患者はEGFR阻害剤に対してより敏感である。現在市販されている第一世代のEGFR阻害剤、たとえば、エルロチニブ、ゲフィチニブは、このような患者に治療効果が良好で、そのうちの60%以上の患者の腫瘍を縮小させ、患者の無増悪生存期間を顕著に延長させることができる。しかし、ほとんどの患者は、6~12か月で薬剤耐性になり、第一世代のEGFR阻害剤が効かなくなり、このような患者はいま使用できる薬がない状態にある。臨床で第一世代のEGFR阻害剤に対して薬剤耐性になった患者のうち、50%がEGFR T790M突然変異が検出されることが見出された。T790M変異細胞系H1975において、第一世代のEGFR阻害剤のゲフィチニブとエルロチニブは、いずれも3 μ M超で、基本的に活性がない。

30

【0004】

現在、第二世代の不可逆的pan-EGFR阻害剤であるアファチニブは市販が許可され、当該薬のEGFR変異の肺癌患者に対する効果が第一世代のEGFR阻害剤よりも顕著に優れている。しかし、第二世代の阻害剤は、同時に強い野生型EGFR阻害活性も有し、野生型EGFRに対する阻害活性は薬剤耐性T790M変異のものよりも顕著に高く、患者の皮疹などの毒性・副作用が強く、かつ薬剤耐性の患者に対する治療効果が比較的劣っており、一部だけの第一世代のEGFR阻害剤に対する薬剤耐性の患者しか、このような薬物に反応しない。

40

【0005】

EGFRの薬剤耐性T790M変異に対する阻害活性を向上させると同時に、野生型EGFRに対する阻害活性を低下させるために、より活性が高く、選択性が良く、毒性が低い第三世代のEGFR変異体の選択性阻害剤の開発は、重要な意義がある。

【発明の概要】

50

【 0 0 0 6 】

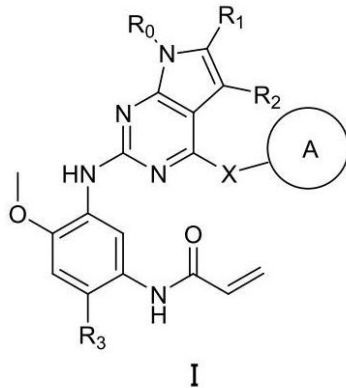
本発明の目的は、EGFRの薬剤耐性T790M変異および感受性（たとえばL858Rやエクソン19欠失）突然変異に対して高い阻害活性を有するだけでなく、野生型EGFRに対する阻害活性が顕著に低下し、高い選択的阻害性を有すると同時に、細胞毒性も低い、2,4-二置換7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン誘導体を提供することにある。また、ほかの既知のEGFR突然変異体阻害剤と比べ、本発明の化合物は、有利な物理的性質、毒性の特徴および/または代謝の特徴も示す。

【 0 0 0 7 】

本発明の第一では、式(1)で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグを提供する。

10

【化1】



20

【 0 0 0 8 】

(式中において、

A環は、置換または無置換の C_{3-10} 複素環基、置換または無置換の C_{6-10} アリール環あるいは置換または無置換の C_{4-10} シクロアルケニル基である。

前記の「置換」とは、環原子における1~6個の水素原子がヒドロキシ基、CN、 NO_2 、ハロゲン、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 $-CON(C_{1-3}アルキル基)_2$ 、 $-C(O)OC_{1-3}アルキル基$ 、 $-OC(O)C_{1-3}アルキル基$ 、 $-COC_{1-3}アルキル基$ 、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}アルキル基$ 、 $-SO_2$ -フェニル基、 $-S(O)C_{1-3}アルキル基$ 、 $-S(O)$ -フェニル基、 $-N(C_{1-3}アルキル基)_2$ から選ばれる置換基で置換されることを指す。

30

Xは、共役結合、あるいはNH、OまたはSである。

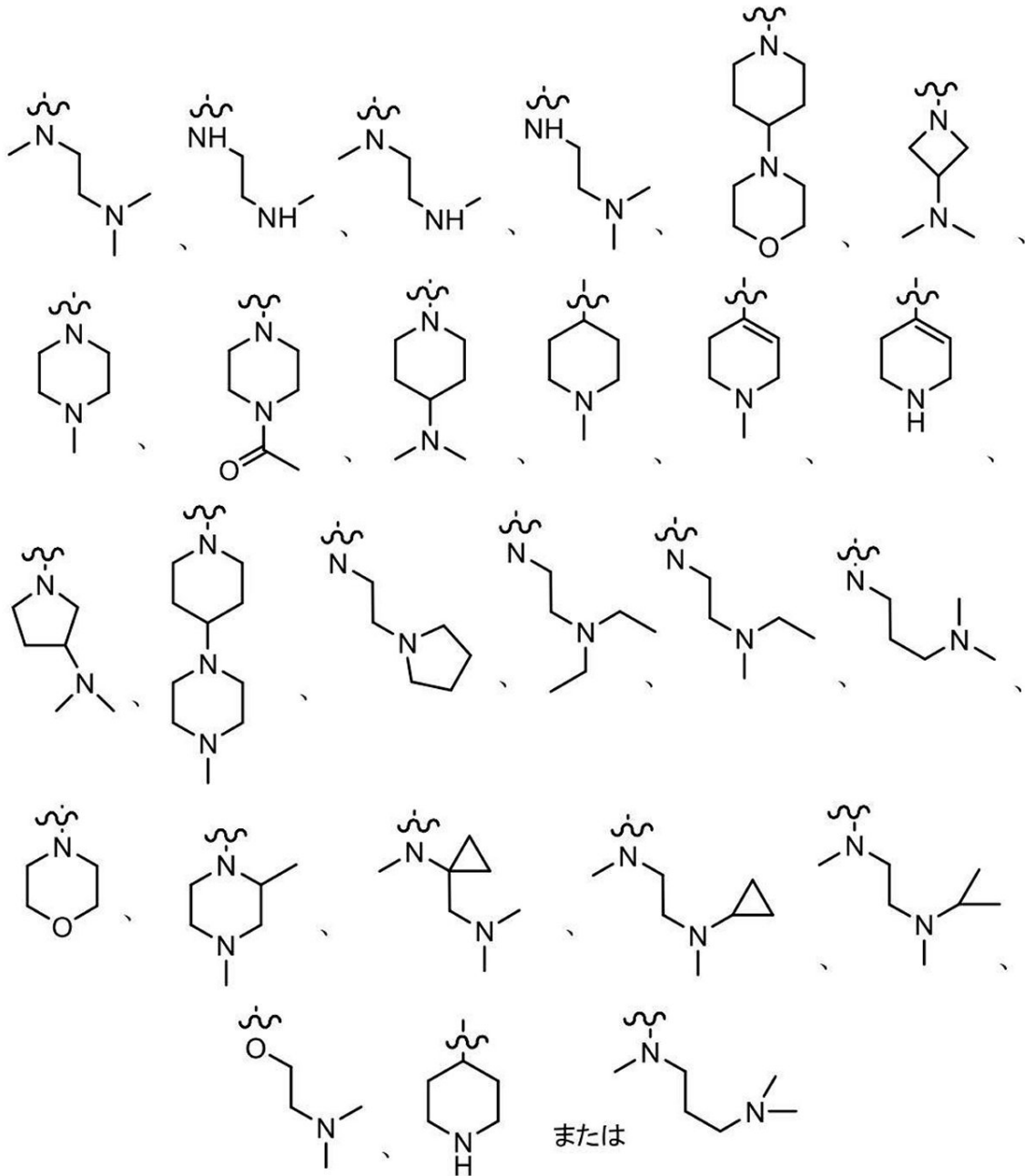
R_0 は、水素、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基、ハロゲン置換の C_{3-6} シクロアルキル基、 $-CHO$ 、 $-COC_{1-3}アルキル基$ 、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}アルキル基$ 、 $-SO_2$ -フェニル基である。

R_1 、 R_2 は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基である。

【 0 0 0 9 】

R_3 は、

【化2】



10

20

30

から選ばれる。

【0010】

ここで、前記のフェニル基は、無置換のものまたはハロゲン、 $C_1 - 3$ アルキル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。) 40

もう一つの好適な例において、前記A環は、

(i) 置換または無置換の1、2または3個の窒素原子を含む9~10員の二環ヘテロアリアル環、

(ii) 置換または無置換の1または2個の窒素原子を含む5~6員の単環式ヘテロアリアル環、

(iii) 置換または無置換の1個の窒素原子を含む4~7員の飽和単環式複素環、

(iv) 置換または無置換の6員の部分不飽和単環、

(v) 置換または無置換の C_{6-10} アリアル環、あるいは

(vi) モルホリン環である。

【0011】

50

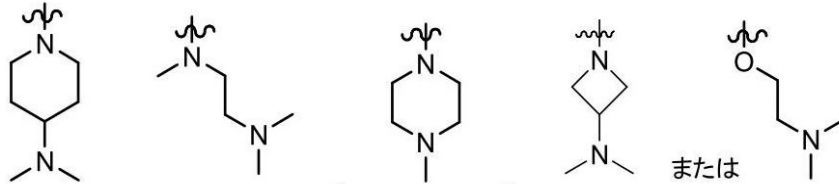
もう一つの好適な例において、前記 C_{3-10} 複素環基は、ピラゾリル基、モルホリル基、アザ C_{3-7} シクロアルキル基、ピロロピリジル基、ピラゾロピリジン、インダゾール、ピロール、インドリル基、またはピリジル基である。

もう一つの好適な例において、前記 C_{4-10} シクロアルケニルは、シクロペンテニル基、シクロヘキセニル基、またはシクロヘプテニル基である。

もう一つの好適な例において、前記の「置換」とは、環原子における1~3個の水素原子がヒドロキシ基、 NO_2 、ハロゲン、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-S(O)C_{1-3}$ アルキル基から選ばれる置換基で置換されることを指す。

もう一つの好適な例において、式(1)化合物では、 R_3 は、

【化3】



から選ばれる。

【0012】

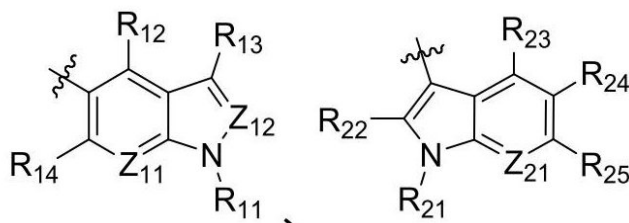
もう一つの好適な例において、式(1)化合物では、 R_0 は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、 $-COCH_3$ 、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2CH_3$ または $-SO_2$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。

もう一つの好適な例において、式(1)化合物では、 R_1 、 R_2 は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基である。

【0013】

もう一つの好適な例において、式(1)化合物では、前記置換または無置換の C_{3-10} 複素環基は、置換または無置換の1、2または3個の窒素原子を含む9~10員の二環ヘテロアール環であり、

【化4】



から選ばれ、ここで、 Z_{11} は、 CR_{15} またはNであり、 Z_{12} は、 CR_{16} またはNであり、 Z_{21} は、 CR_{26} またはNであり、

R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} は、それぞれ独立に、水素、ヒドロキシ基、CN、 NO_2 、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-CON(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-N(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-C(O)OC_{1-3}$ アルキル基、 $-OC(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基、 $-S(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-S(O)$ -フェニル基であり、前記のアルキル基、フェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、

R_{11} 、 R_{21} は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基である。

10

20

30

40

50

前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。

【0014】

もう一つの好適な例において、 Z_{11} はNであり、 Z_{12} は CR_{16} であり、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{16} は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基であり、 R_{11} は、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基である。

もう一つの好適な例において、 Z_{11} はNであり、 Z_{12} は CR_{16} であり、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{16} は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基であり、 R_{11} は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、 $-COCH_3$ 、 $-SO_2CH_3$ である。

10

【0015】

もう一つの好適な例において、 Z_{21} は CR_{26} であり、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基であり、 R_{21} は、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基である。

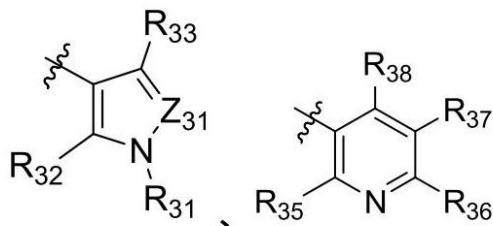
もう一つの好適な例において、 Z_{21} は CR_{26} であり、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基であり、 R_{21} は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、 $-COCH_3$ 、 $-SO_2CH_3$ である。

20

【0016】

もう一つの好適な例において、式(1)化合物では、前記置換または無置換の C_{3-10} 複素環基は、置換または無置換の1または2個の窒素原子を含む5~6員の単環式ヘテロアリアル環であり、

【化5】



30

から選ばれ、ここで、 Z_{31} は、 CR_{34} またはNであり、

R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} は、それぞれ独立に、水素、ヒドロキシ基、CN、 N 、 O_2 、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-CON(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-N(C_{1-3}$ アルキル基) $_2$ 、 $-C(O)OC_{1-3}$ アルキル基、 $-OC(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基、 $-S(O)C_{1-3}$ アルキル基、 $-S(O)$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものであり、

40

R_{31} は、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-CO$ -フェニル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。

【0017】

もう一つの好適な例において、 Z_{31} はNであり、 R_{32} 、 R_{33} は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基であり、 R_{31} は、水素、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 C_{1-3} アルキル基、 $-COC_{1-3}$ アルキル基、 $-SO_2C_{1-3}$ アルキル基である。

50

もう一つの好適な例において、 Z_{31} はNであり、 R_{32} 、 R_{33} は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基であり、 R_{31} は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ である。

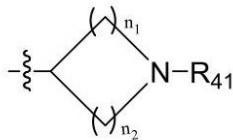
もう一つの好適な例において、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、 C_{1-3} アルキル基である。

もう一つの好適な例において、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基である。

【0018】

もう一つの好適な例において、式(I)化合物では、前記置換または無置換の C_{3-10} 複素環基は、置換または無置換の1個の窒素原子を含む4~7員の飽和単環式複素環であり、

【化6】



から選ばれ、ここで、 n^1 は、1、2または3であり、 n_2 は、1または2であり、

R_{41} は、水素、 C_{1-3} アルキル基、ハロゲン置換の C_{1-3} アルキル基、 $-\text{COC}_{1-3}$ アルキル基、 $-\text{CO}$ -フェニル基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-3}$ アルキル基、 $-\text{SO}_2$ -フェニル基、 $-\text{S(O)}\text{C}_{1-3}$ アルキル基、 $-\text{S(O)}$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。

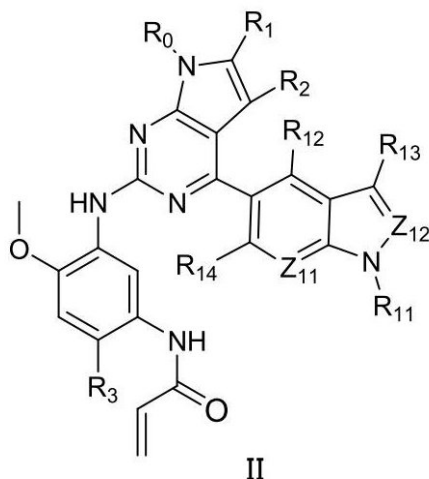
【0019】

もう一つの好適な例において、 n^1 は1であり、 n_2 は1であり、 R_{41} は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{SO}_2$ -フェニル基、 $-\text{CO}$ -フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1~3個の置換基で置換されたものである。

もう一つの好適な例において、式(I)化合物は、式(II)、式(III)、式(IV)、式(V)、または式(VI)で表される化合物である。

【0020】

【化7】



(式において、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 Z_{11} 、 Z_{12} は本明細書で定義された通りである。)

【0021】

10

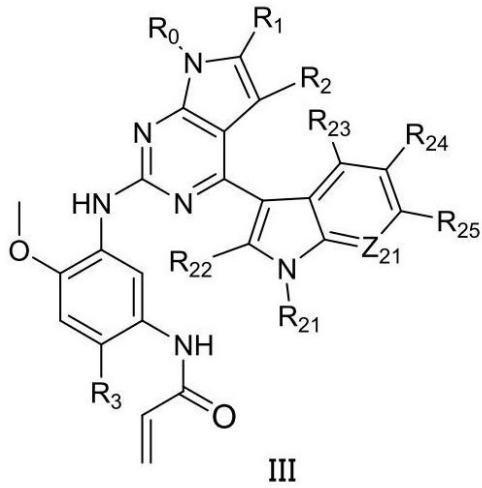
20

30

40

50

【化 8】

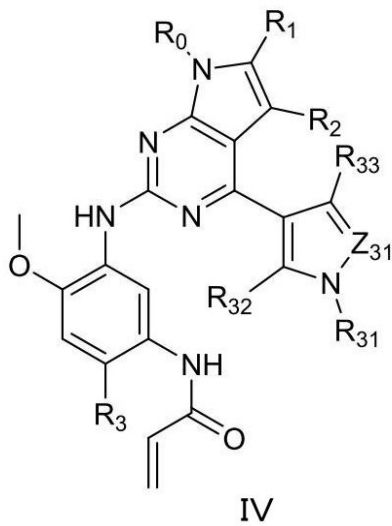


10

(式において、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 Z_{21} は本明細書で定義された通りである。)

【 0 0 2 2 】

【化 9】



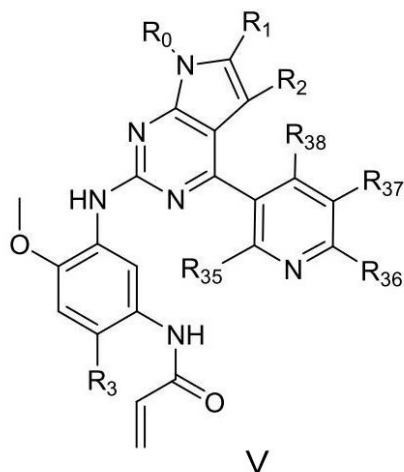
20

(式において、 R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 Z_{31} は本明細書で定義された通りである。)

【 0 0 2 3 】

30

【化10】

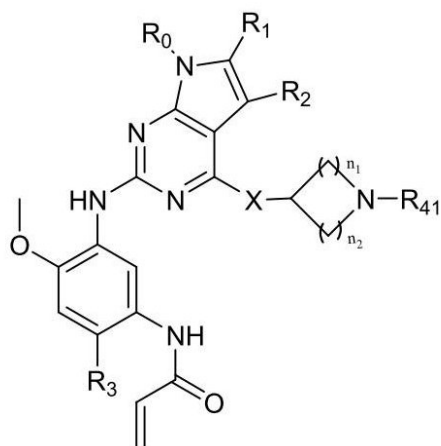


10

(式において、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 は本明細書で定義された通りである。)

【0024】

【化11】



20

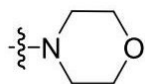
(式において、 R_{41} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 X 、 n_1 、 n_2 は本明細書で定義された通りである。)

【0025】

もう一つの好適な例において、式(VI)化合物では、 X は O である。

もう一つの好適な例において、置換または無置換の C_{3-10} 複素環基は、

【化12】

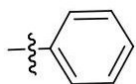


40

から選ばれる。

もう一つの好適な例において、置換または無置換の C_{6-10} アリアル環は、

【化13】



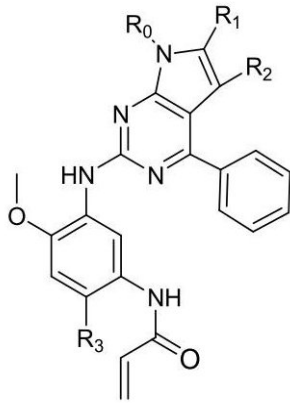
から選ばれる。

【0026】

もう一つの好適な例において、式(I)化合物は、式(VII)または(VIII)

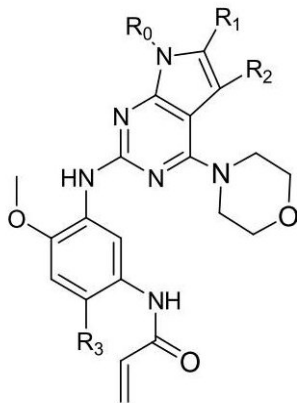
50

【化14】



VII

または



VIII

10

(式において、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 は本明細書で定義された通りである。) で表される化合物である。

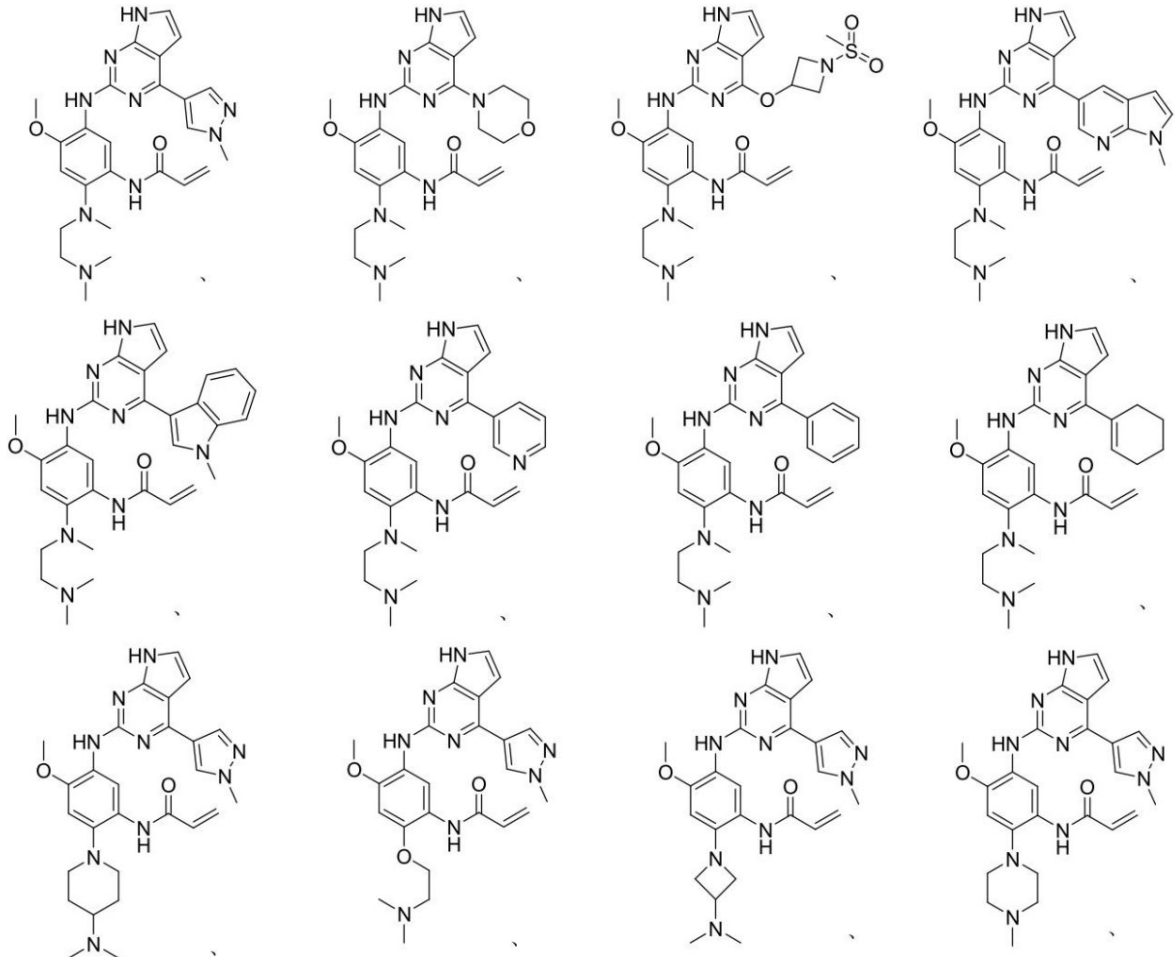
もう一つの好適な例において、式(1)における R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 X 、およびA環は、それぞれ独立に、実施例における具体的な各化合物の対応する基である。

【0027】

20

もう一つの好適な例において、前記式(1)化合物は、実施例で製造される化合物を含み、たとえば、

【化15】



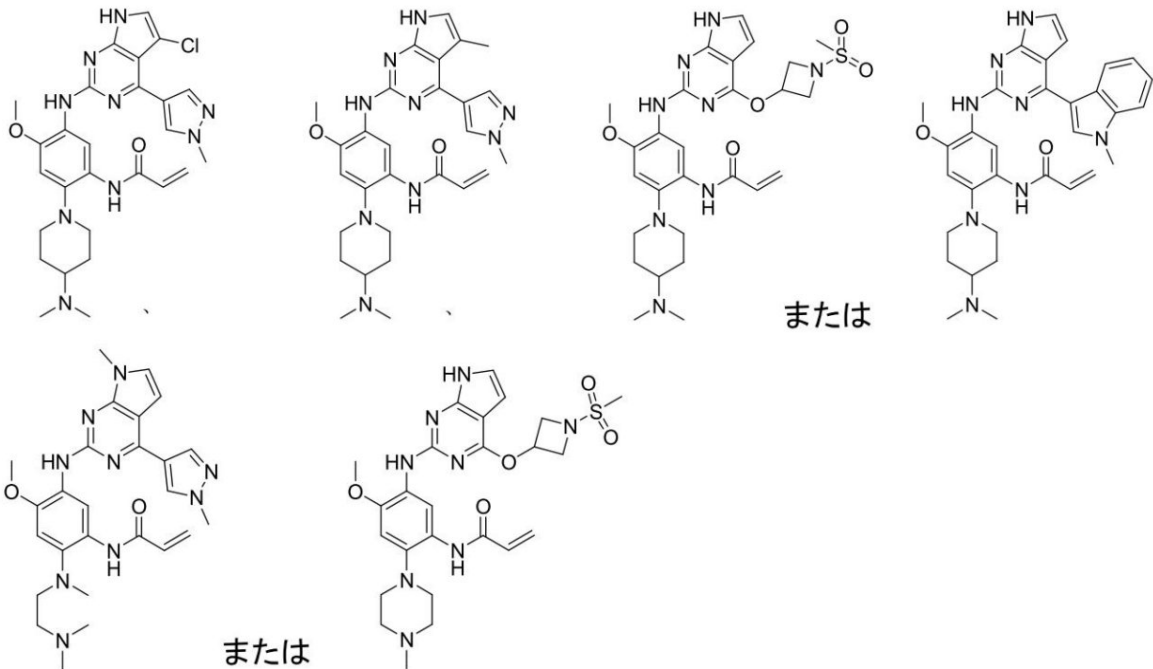
30

40

【0028】

50

【化16】



から選ばれる。

【0029】

本発明の第二では、本発明の第一に係る式(1)化合物もしくは上記で挙げられた化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、あるいはプロドラッグを含み、かつ、さらに薬学的に許容される担体を含む薬物組成物を提供する。

【0030】

通常、本発明の化合物またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはプロドラッグは、一つまたは複数の薬用担体と適切な剤形にして施用してもよい。これらの剤形は、経口投与、直腸投与、局部投与、口内投与およびほかの非経腸用(たとえば、皮下、筋肉、静脈など)に適する。たとえば、経口投与に適する剤形は、カプセル、錠剤、顆粒剤およびシロップなどを含む。これらの製剤に含まれる本発明の化合物は、固体粉末または顆粒、水性または非水性液体における溶液または懸濁液、油中水または水中油の乳剤などでもよい。上記剤形は、活性化合物と一つまたは複数の担体または補助剤とから通常の方法によって製造することができる。上記の担体は、活性化合物またはほかの補助剤と併用できるものでなければならない。固体製剤について、通常は無毒性担体は、マンニトール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、セルロース、ブドウ糖、ショ糖などを含むが、これらに限定されない。液体製剤に使用される担体は、水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、エチレングリコールやポリエチレングリコールなどを含む。活性化合物は、上記担体と溶液または懸濁液を形成してもよい。

30

40

【0031】

本発明の組成物は、医学実践規範に合う状態で調製、定量および投与される。投与する化合物の「有効量」は、治療する具体的な疾患、治療する個体、疾患の原因、薬物の標的および投与状態などの要素によって決まる。

【0032】

本発明の第三では、(i) EGFRチロシンキナーゼの活性を調節する薬物、あるいは(ii) EGFR関連疾患を予防および/または治療する薬物の製造における本発明の第一に係る化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはプロドラッグの使用を提供する。

【0033】

もう一つの好適な例において、前記調節は、上方調節または下方調節である。

好ましくは、前記EGFR関連疾患は、癌、糖尿病、免疫系疾患、神経変性疾患または心血管疾患、EGFR調節剤で治療する期間中に獲得性薬剤耐性を有する疾患である。

好ましくは、前記癌は、非小細胞肺癌、頭頸部癌、乳癌、腎臓癌、膵臓腺癌、子宮頸癌、食道癌、膵臓腺癌、前立腺癌、膀胱癌、結腸直腸癌、卵巣癌、胃癌、膠細胞腫などを含む脳悪性腫瘍、またはこれらの任意の組み合わせである。

好ましくは、前記獲得性薬剤耐性は、EGFRのエクソン20がコードするT790突然変異、たとえばT790Mによるものであるか、あるいはEGFRのエクソン20がコードするT790突然変異、たとえばT790Mによるものを含む。

好ましくは、前記非小細胞肺癌は、EGFR突然変異によるもので、感受性突然変異（たとえばL858R突然変異またはエクソン19欠失）および薬剤耐性突然変異（たとえばEGFR T790M突然変異）を含む。

本発明において、EGFR調節剤とは、EGFRを標的とする小分子チロシンキナーゼ阻害剤、たとえばゲフィチニブ、エルロチニブ、イコチニブ、ラパチニブ、アフアチニブなどである。

【0034】

本発明の第四では、治療有効量の本発明の第一に係る化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはプロドラッグと、ゲフィチニブ、エルロチニブ、イコチニブ、ラパチニブ、XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、CI-1033、バンデタニブ、PF00299804、WZ4002、セツキシマブ、トラスツズマブ、パニツムマブ、マツズマブ、ニモツズマブ、ザルツムマブ、ペルツズマブ、MDX-214、CDX-110、IMC-11F8、Zemab、Her2ワクチンPX 1041、HSP90阻害剤、CNF2024、タネスピマイシン、アルベスピマイシン、IPI-504、SNX-5422、NVP-AUY922、またはこれらの組み合わせから選ばれる薬物とを含む薬用組成物を提供する。本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または溶媒和物、またはその立体異性体、またはプロドラッグ以外、上記薬用組成物におけるほかの薬物はいずれも当業者に熟知されている抗腫瘍薬である。

「治療有効量」とは、ヒトおよび/または動物に機能や活性があり、かつ、ヒトおよび/または動物にとって受けられる量である。

【0035】

本発明の前記薬物組成物あるいは前記薬用組成物に含まれる本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグの治療有効量は0.1mg～5g/kg（体重）であることが好ましい。

前記の薬用組成物は、EGFR関連疾患、たとえば癌、糖尿病、免疫系疾患、神経変性疾患または心血管疾患、EGFR調節剤で治療する期間中に獲得性薬剤耐性を有する疾患の治療に有用である。

前記獲得性薬剤耐性の疾患は、EGFRのエクソン20がコードするT790突然変異による疾患であるか、あるいはEGFRのエクソン20がコードするT790突然変異による疾患を含む。

もう一つの好適な例において、前記のEGFRのエクソン20がコードするT790は、T790Mである。

【0036】

本発明の式(1)化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはプロドラッグは、一部の疾患でほかの薬物と併用することによって、所期の治療効果を実現することができる。一つの併用の例は、末期NSCLCの治療への使用である。たとえば、治療有効量の本発明の式Iで表される化合物を、mTOR阻害剤（たとえばラパマイシン）と、あるいはMet阻害剤（Met抗体MetMAbおよびMet小分子阻害剤PF02341066を含む）と、あるいはIGF1R阻害剤（たとえばOSI-906）と、あるいは熱ショックタンパク質阻害剤と併用する。

【0037】

本発明の第五では、第一に係る式(1)で示される化合物、またはその薬学的に許容さ

10

20

30

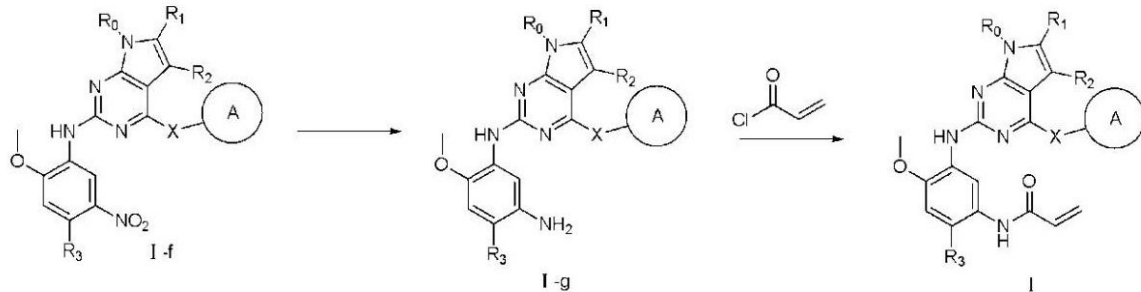
40

50

れる塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグの製造方法であって、

(i) 式I-f化合物に対して還元反応を行うことによって、式I-g化合物を形成する工程と、

(ii) 式I-g化合物をアクリルクロリドと縮合反応させることによって、式(I)で表される化合物を形成する工程とを含む方法、あるいは
【化17】



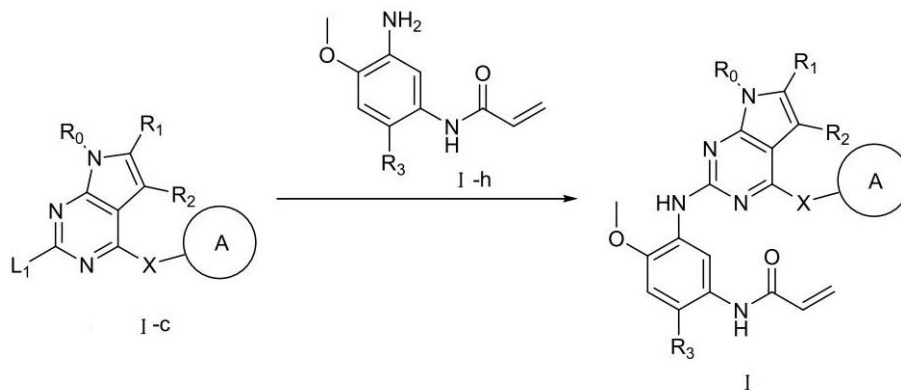
10

(i') 不活性溶媒において、式I-c化合物と式I-h化合物を反応させることによって、式(I)で表される化合物を形成する工程を含む方法を提供する。

【0038】

【化18】

20



30

(上記各式において、R₀、R₁、R₂、R₃、X、A環の定義は上記と同様である。L₁は脱離基である。)

【0039】

もう一つの好適な例において、前記のL₁は、トリフルオロメタンスルホン酸エステル、塩素、臭素、ヨウ素、スルホン酸エステル基(たとえばメタンスルホン酸エステル、トルエンスルホン酸エステル、p-プロモベンゼンスルホン酸エステル、p-トルエンスルホン酸エステルなど)、アシルオキシ基(たとえばアセチルオキシ基、トリフルオロアセチルオキシ基など)を含む。

40

もう一つの好適な例において、前記工程(i)では、前記反応は酸性条件下で行われる。

もう一つの好適な例において、前記工程(i)では、金属(たとえば鉄粉、亜鉛粉)または塩化第一スズで還元を行う。

【0040】

もう一つの好適な例において、前記工程(i)では、パラジウム炭素による触媒で水素化還元を行う。

もう一つの好適な例において、前記工程(ii)は塩基性条件下で行われる。

もう一つの好適な例において、前記工程(ii)では、縮合剤の存在下で、式I-g化合物をカルボン酸と縮合させて式I化合物を形成する。

50

【0041】

もう一つの好適な例において、前記工程(i')は触媒、配位子または塩基の存在下で行われる。

もう一つの好適な例において、前記工程(i')では、前記触媒はTFA、p-トルエンスルホン酸、Pd₂(dba)₃(トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム)、BINAP((±)-2,2'-ビス-(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル)、またはこれらの組み合わせから選ばれ、

前記配位子は、キサントホス(4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサントホス)を含み、かつ/または

前記の塩基は炭酸セシウムを含む。

10

【0042】

もちろん、本発明の範囲内において、本発明の上記の各技術特徴および下記(例えば実施例)の具体的に記述された各技術特徴は互いに組合せ、新しい、または好適な技術方案を構成できることが理解される。

【0043】

具体的な実施形態

本発明者は、長時間で深い研究を経て、1種類のEGFR突然変異選択性阻害剤を意外にも見出し、体外の実験において、ナノモルの濃度でEGFR T790M/L858R二重突然変異酵素および細胞株H1975の増殖を抑制することができると同時に、EGFR感受性突然変異株HCC827(エクソン19欠失)にも高い抑制強度を有するが、野生型EGFR酵素および細胞株A431に対する抑制は比較的弱いことが示された。そのため、このような構造は、EGFR感受性突然変異の癌の治療だけでなく、現在EGFR-TKI治療で続発性の薬剤耐性が生じる症例にも適する。同時に、その突然変異の選択性は野生型EGFRに対する抑制による毒性・副作用を大幅に減らし、また、このような化合物は正常細胞系(たとえばNIH-3T3細胞)において細胞毒性が比較的低いいため、非特異的な毒性・副作用を大幅に低下させ、第二世代のEGFR-TKIの理想的な代替物である。

20

【0044】

用語の定義

「C₃₋₁₀複素環基」とは、炭素原子を3~10個有する複素環基であり、環を構成する原子は、炭素以外、N、S、Oから選ばれるヘテロ原子を少なくとも1個含む。たとえば、ピラゾリル基、モルホリル基、アザC3-7シクロアルキル基、ピロロピリジル基、ピラゾロピリジン、インダゾール、ピロール、インドリル基、またはピリジル基が挙げられる。

30

「C₁₋₃アルキル基」とは、炭素原子を1~3個有する直鎖または分岐鎖の飽和脂肪族炭化水素基である。たとえば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基が挙げられる。

「C₃₋₆シクロアルキル基」とは、炭素原子を3~6個有するシクロアルキル基である。シクロアルキル基の実例として、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基などが挙げられる。

【0045】

「アザC₃₋₇シクロアルキル基」とは、炭素原子を3~7個有するシクロアルキル基であり、かつ環を構成する原子は、炭素以外、N原子を少なくとも1個含む。

40

「C₆₋₁₀アリール基」と「C₆₋₁₀アリール環」は、入れ替えて使用することができ、炭素原子を6~10個有する芳香族炭化水素基であり、たとえばフェニル基、ナフチル基などが挙げられる。

「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を指す。

「ヘテロアリール環」と「ヘテロアリール基」は、入れ替えて使用することができ、環原子を5~10個、好ましくは5、6、9または10個を有し、環配列に6、10または14個の電子を共有し、かつ炭素原子以外、さらにヘテロ原子を1~5個有する基である。用語「ヘテロ原子」とは、窒素、酸素または硫黄である。

【0046】

50

ここで用いられるように、「部分不飽和」とは、一つまたは複数の不飽和結合を含むが、完全共役の電子系を有さないことである。

「1~2個の窒素原子を含む5~6員の単環式ヘテロアリール環」とは、環原子を5~6個含む単環式ヘテロアリール基であり、たとえばイミダゾール環、ピロール環、ピラゾール環、ピリジン環、ピリダジン環、ピリミジン環、ピラジン環などを含む、これらに限定されない。

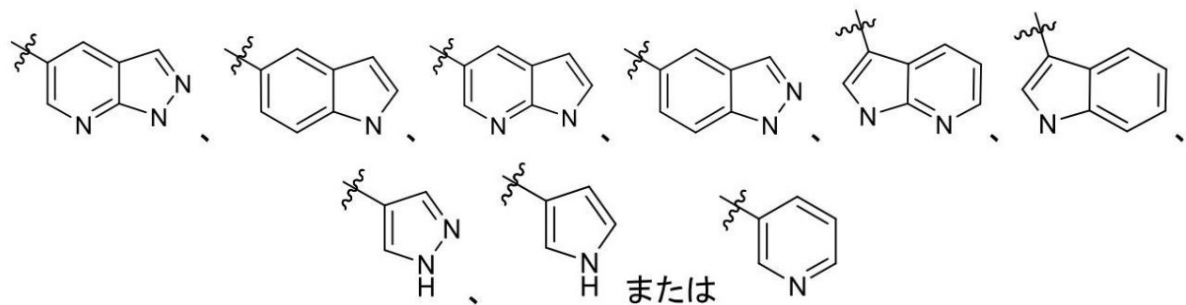
「1、2または3個の窒素原子を含む9~10員の二環式ヘテロアリール環」とは、環原子を9~10個含む二環式ヘテロアリール基であり、たとえばインドール環、イソインドール環、キノリン環、イソキノリン環、インドゾール環、ベンゾイミダゾール環、キナゾリン環、キノキサリン環、シンノリン環、フトラジン環を含む、これらに限定されない。

10

【0047】

本発明において、前記5~6員の単環式ヘテロアリール環または9~10員の二環式ヘテロアリール環は、好ましくは、

【化19】



20

から選ばれる。

「1個の窒素原子を含む4~7員の飽和単環式複素環」とは、環原子を4~7個有し、かつ1個の炭素原子が窒素原子に置き換えられた飽和単環である。単環式複素環の実例は、ピペリジン環、テトラヒドロピロール環、アゼチジン、アゼパニンを含むが、これらに限定される。

「6員の部分不飽和単環」とは、環原子を6個含む部分不飽和の全炭素単環である。たとえば、1,3-シクロヘキサジエン、1,4-シクロヘキサジエン、シクロヘキセンなどが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0048】

薬物組成物

用語の「本発明の活性物質」または「本発明の活性化合物」とは、本発明の式(1)化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、あるいはそのプロドラッグであり、顕著なEGFR T790M/L858Rの選択的阻害活性を有する。

ここで用いられるように、前記「薬学的に許容される塩」は、薬学的に許容される酸付加塩および薬学的に許容される塩基付加塩を含む。

【0049】

「薬学的に許容される酸付加塩」とは、遊離塩基の生物学的有効性を残したまま、ほかの副作用がなく、無機酸または有機酸と形成された塩である。無機酸塩は、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩などを含むが、これらに限定されない。有機酸塩は、ギ酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、グリコール酸塩、グルコン酸塩、乳酸塩、シュウ酸、マレイン酸、コハク酸塩、フマル酸、酒石酸塩、クエン酸塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩やサリチル酸塩などを含むが、これらに限定されない。これらの塩は、本分野で既知の方法で製造することができる。

40

【0050】

「薬学的に許容される塩基付加塩」とは、無機塩基の塩、たとえばナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩やマグネシウム塩などを含むが、これらに限定されない。有機塩基

50

の塩、たとえばアンモニウム塩、トリエチルアミン塩、リシン塩、アルギニン塩などを含むが、これらに限定されない。これらの塩は、本分野で既知の方法で製造することができる。

ここで用いられるように、式(1)化合物は1種または複数種の結晶形が存在しうが、本発明の活性化化合物は、様々な結晶形およびその混合物を含む。

【0051】

本発明における「溶媒和物」とは本発明の化合物と溶媒が形成した錯体である。これらは、溶媒で反応させること、または溶媒から沈殿・析出させることまたは結晶させることによってできる。たとえば、一つの水と形成した錯体は「水和物」と呼ばれる。式(1)化合物の「溶媒和物」は本発明の範囲内に含まれる。

10

【0052】

本発明の式(1)で表される化合物は、一つまたは複数のキラル中心を含み、異なる光学的活性の形態で存在してもよい。化合物が一つのキラル中心を含む場合、化合物はエナンチオマーを含む。本発明は、この2種類の異性体および異性体の混合物、たとえばラセミ混合物を含む。エナンチオマーは、本分野で既知の方法、たとえば結晶やキラルクロマトグラフィーなどの方法によって分割することができる。化合物が複数のキラル中心を含む場合、ジアステレオマーが存在しうる。本発明は、分割された光学的に単一の特定の異性体およびジアステレオマーの混合物を含む。ジアステレオマーは、本分野で既知の方法、たとえば結晶やクロマトグラフィーなどによって分割することができる。

【0053】

本発明は、上記化合物のプロドラッグを含む。プロドラッグは、既知のアミノ保護基およびカルボキシ保護基が生理的条件において加水分解されてまたは酵素反応によって母体化合物を放出することを含む。具体的なプロドラッグの製造方法はSaulnier, M.G.; Frennesson, D.B.; Deshpande, M.S.; Hansel, S.B. および Vysa, D.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1994, 4, 1985-1990、およびGreenwald, R.B.; Choe, Y.H.; Conover, C.D.; Shum, K.; Wu, D.; Royzen, M. *J. Med. Chem.* 2000, 43, 475. を参照する。

20

【0054】

製造方法

本発明は、式(1)化合物の製造方法を提供するが、本発明における化合物は、複数の合成操作を組み合わせて容易に製造することができ、これらの操作は当業者に熟知されたものである。これらの化合物の例示的な製造方法は、後述のような流れを含むが、これらに限定されない。

30

通常、本発明の製造方法において、各反応は、不活性溶媒において、-20 ~ 150 (または還流温度) (好ましくは-5 ~ 100、または0 ~ 80) で、一定の時間 (たとえば0.1 ~ 72時間、好ましくは0.5 ~ 24時間) で行われる。

好ましくは、本発明の式(1)化合物は、以下のスキームおよび実施例に記載の例示的な方法ならびに当業者に使用される関連する公開文献の操作によって完成することができる。

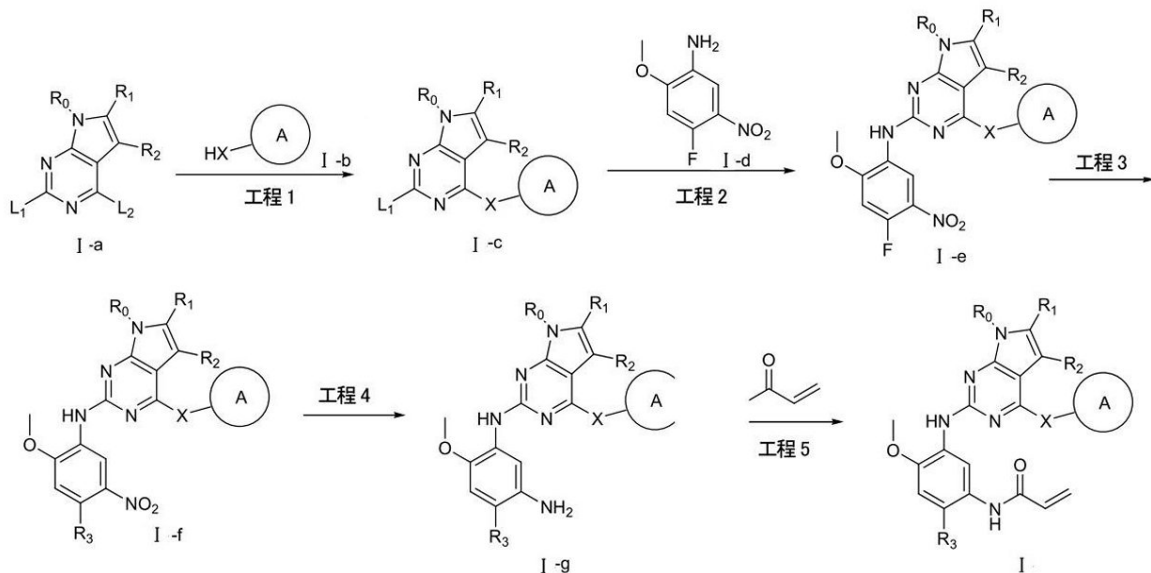
具体的な操作過程において、必要によって方法における工程を拡張または合併することができる。

40

【0055】

【化20】

スキーム1



10

スキーム1において、各置換基および基は本明細書で定義された通りである。

【0056】

20

工程1において、XがN、OまたはSである場合、式(I-a)化合物と式(I-b)化合物を置換反応(たとえば求核置換反応など)させて式(I-c)化合物を生成することができる。

Xが共役結合である場合、式(I-b)化合物は、様々なA環のホウ酸またはホウ酸エステル系化合物であり、式(I-a)化合物と式(I-b)化合物をカップリング反応(たとえば鈴木カップリングなど)させて式(I-c)化合物を生成することができる。

式(I-a)化合物におけるL₁およびL₂は脱離基であり、トリフルオロメタンスルホン酸エステル、塩素、臭素、ヨウ素、たとえばメタンスルホン酸エステル、トルエンスルホン酸エステル、p-ブロモベンゼンスルホン酸エステル、p-トルエンスルホン酸エステルなどのスルホン酸エステル基、たとえばアセチルオキシ基、トリフルオロアセチルオキシ基などのアシルオキシ基を含むが、これらに限定されない。

30

【0057】

工程2において、式(I-c)化合物は置換反応またはカップリング反応によって式(I-d)化合物と反応して式(I-e)化合物が生成し、たとえば所定の温度において、適切な触媒(または適切な配位子)または塩基および適切な溶媒で行うことができる。酸触媒を使用する場合、触媒はTFAまたはp-トルエンスルホン酸でもよいが、これらに限定されない。Buchwald-Hartwigアミン化法を使用し、使用されるパラジウム触媒はPd₂(dba)₃でもよいが、これに限定されず、使用される配位子はキサントホス(4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサントホス)でもよいが、これに限定されず、使用される塩基は炭酸セシウムでもよいが、これに限定されない。

【0058】

40

工程3において、式(I-e)化合物は様々なアミン化合物とアミン置換反応させて式(I-e)化合物を生成することができ、異なるアミン化合物によって、適切な条件および方法を選択して便利に合成を行うことができる。たとえば所定の温度において、適切な触媒(または適切な配位子)または塩基および適切な溶媒で行うことができる。この方法は、当業者に使用される通常の方法である。

【0059】

工程4において、当該ニトロ化合物I-fの相応のアミノ化合物への転化は、酸性条件において、金属(鉄粉、亜鉛粉でもよいが、これらに限定されない)または塩化第一スズで還元させこと、あるいはパラジウム炭素による触媒で水素化還元させることによって行うことができる。

50

【0060】

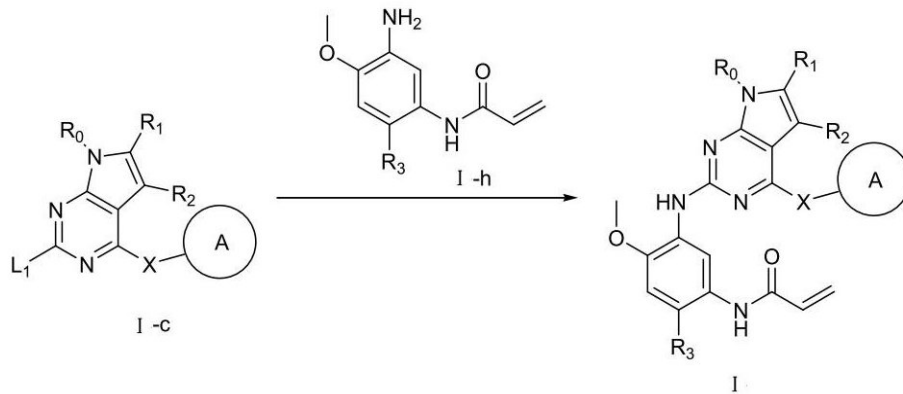
工程5において、当該アミノ化合物I-gは、塩基性条件において相応の塩化アシルとアミドに縮合させてもよく、あるいは縮合剤の存在下で相応のカルボン酸とアミドに縮合させてもよい。

スキーム1において、式(I-a)および式(I-b)化合物は市販品として購入してもよく、あるいは本分野で熟知された方法で製造してもよい。

【0061】

【化21】

スキーム2



10

20

スキーム2において、各置換基および基は本明細書で定義された通りである。

【0062】

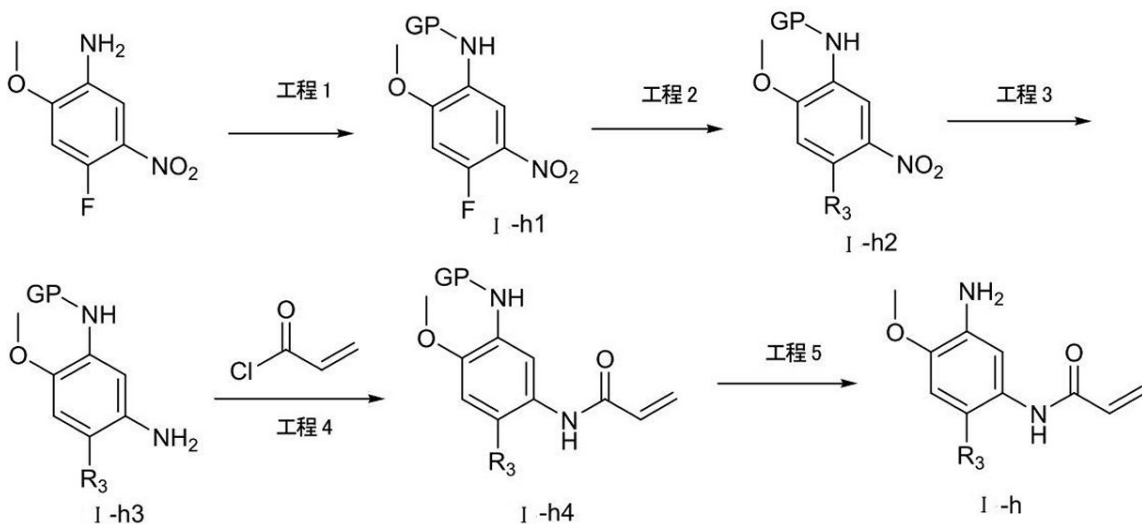
式(I-c)化合物は置換反応またはカップリング反応によって式(I-h)化合物と反応して式(I)化合物が生成し、たとえば所定の温度において、適切な触媒(または適切な配位子)または塩基および適切な溶媒で行うことができる。酸触媒を使用する場合、触媒はTFAまたはp-トルエンスルホン酸でもよいが、これらに限定されない。Buchwald-Hartwigアミン化法を使用し、使用されるパラジウム触媒はPd₂(dba)₃(トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム)、BINAP((±)-2,2'-ビス-(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル)でもよいが、これらに限定されない。使用される配位子はキサントホス(4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサントホス)でもよいが、これに限定されず、使用される塩基は炭酸セシウムでもよいが、これに限定されない。

30

スキーム2において、式(I-h)化合物は下記例示の方法1によって製造することができる。

【0063】

【化22】



40

50

【0064】

化合物4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロアニリンを出発原料とし、順にアミノ基における保護基反応、アミン置換反応、ニトロ基還元反応、アシル化反応およびアミノ基脱保護反応を経て式(1-h)化合物を製造する。上記各工程の反応はいずれも本分野の通常の方法である。化合物4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロアニリンは、市販品として購入してもよく、当業者に既知の方法で調製してもよい(式(1-h)化合物の合成方法はWO2013014448A1を参照する)。

式(1-h1)化合物におけるPGはアミノ保護基である。アミノ保護基は、t-ブトキシカルボニル基(Boc)、アリールメトキシカルボニル基、ペントキシカルボニル基(Cbz)および9-フルオレニルメトキシカルボニル基(Fmoc)、ベンジル基(Bn)、トリフェニルメチル基(Tr)、1,1-ビス(4'-メトキシフェニル)メチル基、トリメチルシリル基(TMS)およびt-ブチルジメチルシリル基(TBS)などを含むが、これらに限定されない。保護および脱保護の方法は、本分野で熟知された通常の方法を参照する。

10

【0065】

本発明で公開された式(1)化合物ならびに化合物の製造方法、薬物組成および治療方法は、当業者が本明細書の内容を参考に、適切にプロセスのパラメーターを変更して実現することができるものである。特別に指摘したいのは、すべての類似の置き換えおよび変更は当業者が容易に思いつくもので、いずれも本発明に含まれると見なすことである。本発明の製品、方法および使用はすでに好適な実施例で記述され、当業者は容易に本発明の内容、趣旨および範囲以内でここに記載の方法および使用を修正し、あるいは適切に変更

20

【0066】

既存技術と比べ、本発明の主な利点は以下の通りである。

(1) 本発明の化合物は、EGFR T790M突然変異型(特にEGFR T790M/L858R二重突然変異型)の酵素および細胞に対して高い抑制活性を有し、かつEGFR野生型(EGFR WT)の酵素および細胞に対して低い抑制活性を有するため、高い選択的阻害性を有する。

(2) 本発明の化合物は、EGFR二重突然変異型の酵素および細胞に対して高い選択的阻害性を示すと同時に、低い非特異的な細胞毒性を有する。

(3) ほかの既知のEGFR突然変異阻害剤と比べ、本発明の化合物は、有利な物理的性質(たとえば、高い水溶性)、有利な毒性の特徴(たとえば低いhERG遮断傾向)、有利な代謝の特徴(たとえば、優れた薬物動態学の特徴、たとえば生物学的利用能)を示す。

30

【0067】

以下、具体的な実施例によって、さらに本発明を説明する。これらの実施例は本発明を説明するために用いられるものだけで、本発明の範囲の制限にはならないと理解されるものである。下述実施例で具体的な条件が示されていない実験方法は、通常、例えばSambrookら、「モレキュラー・クローニング：研究室マニュアル」(ニューヨーク、コールド・スプリング・ハーバー研究所出版社、1989)に記載の条件などの通常の方法に、或いは、メーカーのお勧めの条件に従う。特に断らない限り、%と部は、重量で計算される。

別途に定義しない限り、ここで用いられる用語は、当業者に熟知された意味と同様である。また、記載の内容と類似或いは同等の方法及び材料は、いずれも本発明に用いることができる。

40

【0068】

試薬と機器

¹HNMR: Bruker AVANCE-400核磁気共鳴装置で、内部標準はテトラメチルシラン(TMS)である。

LC-MS: Agilent 1200 HPLC System/6140 MSのLC/MS装置(メーカー: アジレント)で、カラムはWatersX-Bridge, 150×4.6mm, 3.5μmである。

調製高速液体クロマトグラフ(pre-HPLC): Waters PHW007、カラムXBridge C18, 4.6×150mm, 3.5μm。

ISCO Combiflash-Rf75またはRf200型のフラッシュクロマトシステム、Agela 4g、12g、

50

20g、40g、80g、120gの使い捨て型シリカゲルカラムを使用した。

既知の出発原料は、本分野で既知の方法で合成されたものを使用してもよく、あるいは ABCR GmbH&Co.KG、Acros Organics、Aldrich Chemical Company、韶遠化学科技 (Accela ChemBio Inc) および達瑞化学品などの会社から購入したもよい。

特に説明しない限り、実施例における反応はいずれも窒素またはアルゴンの雰囲気で行われる。

特に説明しない限り、実施例における溶液は水溶液である。

【0069】

実施例において、反応の進展のモニタリングは、薄層クロマトグラフィー (TLC) を使用してもよく、化合物の精製は、カラムクロマトグラフィーを使用してもよい。カラムクロマトグラフィーまたはTLCで使用されるビヘクシル系は、塩化メチレンとメタノール系、n-ヘキサンと酢酸エチル系、石油エーテルと酢酸エチル系、アセトン系から選んでもよいが、溶媒の体積比は化合物の極性によって調節された。

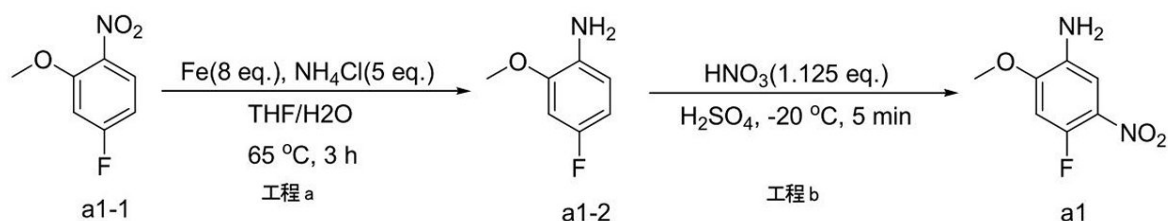
DMF: ジメチルホルムアミド、DMSO: ジメチルスルホキシド、THF: テトラヒドロフラン、DIEA: N,N-ジイソプロピルエチルアミン、EA: 酢酸エチル、PE: 石油エーテル、BINAP: (2R,3S)-2,2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル。NBS(N-ブロモスクシンイミド)、NCS(N-クロロスクシンイミド)、Pd₂(dba)₃(トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム)、Pd(dppf)Cl₂([1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]パラジウムジクロリド)。

ここで用いられるように、室温とは約20~30 °Cである。

【0070】

化合物a1の製造

【化23】



【0071】

工程a:

反応基質a1-1 (10.6 g, 58 mmol) を500 mLの単口反応瓶に置き、テトラヒドロフラン / 水 (100 mL / 60 mL) 混合溶液を入れて基質を溶解させた。室温条件において、攪拌中の反応瓶に順に塩化アンモニウム (15.5 g, 292 mmol) および還元鉄粉 (26 g, 467 mmol) を入れた後、反応系を65 °Cに加熱して3h攪拌を続けた。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、余分の鉄粉をろ過で除去し、ケーキを酢酸エチルで3回洗浄した。ろ液を酢酸エチル / 水系で3回抽出し、有機層を分離し、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧で濃縮させて化合物a1-2 (8.0 g) を得、直接次の工程の反応に使用した。収率: 93%、純度: 90%、MS m/z(ESI): 142.0 [M+H]⁺。

【0072】

工程b:

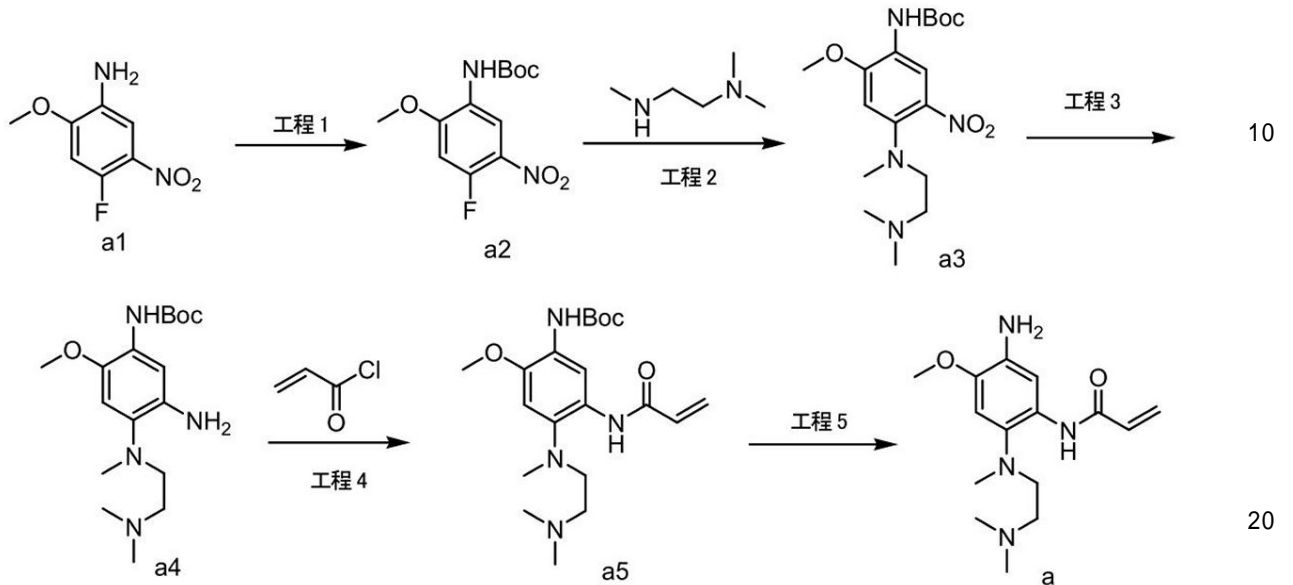
化合物a1-2 (8.0 g, 43 mmol) を500 mLの単口反応瓶に置き、等速で攪拌する条件で濃硫酸 (100 mL) を入れて基質を溶解させた。-20 °Cの条件において、攪拌中の反応瓶にゆっくり濃硝酸 (6.15 mL, 48 mmol) を滴下し、かつ保温しながら5min攪拌した。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、氷水に注いだ。-20 °Cの氷浴条件を保ちながら、反応系にゆっくり水酸化ナトリウム / 水溶液 (150 mL / 300 mL) を入れ、pH値を8-9に調整した。中和が完成した反応液を酢酸エチル / 水系で3回抽出し、有機層を分離し、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧で濃縮させて化合物4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロアニリンa1 (8.7 g) を得、直接次の工程の反応に使用

した。収率：80%；純度：100%；MS m/z(ESI)：187.0 [M+H]⁺；¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 7.34 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 5.25 (brs, 2H), 3.90 (s, 3H)。

【0073】

化合物aの製造

【化24】



【0074】

工程1：

4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロアニリンa1 (11.16 g, 60 mmol)を150 mLの塩化メチレンに溶解させ、二炭酸ジ-t-ブチル (15.60 g, 72 mmol)、トリエチルアミン (12.24 g, 120 mmol) および4-ジメチルアミノピリジン (0.74 g, 6 mmol) を入れて室温で攪拌しながら18 h反応させた。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、減圧で反応液を濃縮させ、カラムクロマトグラフィー [PE:EA体積比 = 80:20] で分離・精製して目的産物a2 (12.56 g, 73%) を得た。MS m/z(ESI)：285 [M-H]⁺。(注：以下の実験において、カラムクロマトグラフィーはいずれも体積比である)

30

【0075】

工程2：

反応基質であるt-ブチル4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロフェニルカルバミン酸t-ブチルa2 (11.46 g, 40 mmol) を60 mLのN,N-ジメチルアセトアミドに溶解させ、N,N,N'-トリメチルエチレンジアミン (4.90 g, 48 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (7.74 g, 60 mmol) を入れ、90 °Cに加熱して攪拌しながら6 h反応させた。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、反応液を室温に冷却し、氷水に注ぎ、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧で濃縮させて目的産物a3 (12.51 g, 85%) を得た。そのまま次の工程に使用した。MS m/z(ESI)：369 [M+H]⁺。

40

【0076】

工程3：

4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-2-メトキシ-5-ニトロフェニルカルバミン酸t-ブチルa3 (12 g, 32.6 mmol)を200 mLのメタノールに溶解させ、1.0gの10% Pd/Cを入れた。水素ガスで空気を置換した後、室温で水素風船で水素を入れ、攪拌しながら1 h反応させた。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、砂芯漏斗で吸引ろ過し、少量のメタノールでケーキを洗浄し、ろ液を濃縮させて目的産物a4 (10.70 g, 97%) を得た。そのまま次の工程に使用した。MS m/z(ESI)：339 [M+H]⁺。

【0077】

工程4：

50

5-アミノ-4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-2-メトキシフェニルカルバミン酸 t-ブチルa4 (10.1 g, 30 mmol)およびトリエチルアミン(6.12 g, 60 mmol)を200 mLの塩化メチレンに溶解させ、0 °Cに冷却し、アクリロイルクロリド(3.24 g, 36 mmol)を入れ、窒素ガスの保護下で、室温で3 h攪拌した。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で順に洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、吸引ろ過し、減圧で濃縮させて目的産物a5 (9.64 g, 82%)を得た。そのまま次の工程に使用した。MS m/z(ESI): 393 [M+H]⁺。

【0078】

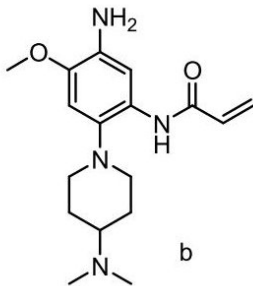
工程5:

5-アクリルアミノ-4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-2-メトキシフェニルカルバミン酸 t-ブチルa5(9.41 g, 24 mmol)を100 mLの塩化メチレンに溶解させ、0 °Cに冷却し、20 mLのトリフルオロ酢酸を入れ、窒素ガスの保護下で、室温で18 h攪拌した。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、減圧で反応液を濃縮させた。残留物を300 mLの塩化メチレンで溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で順に洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、吸引ろ過し、減圧で濃縮させて粗製品を得た。カラムクロマトグラフィー[DCM:MeOH体積比 = 10:1]によって精製してN-(5-アミノ-2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシフェニル)アクリルアミドa(3.26 g, 46.5%)を得た。MS m/z(ESI): 293 [M+H]⁺。

【0079】

化合物bの製造

【化25】

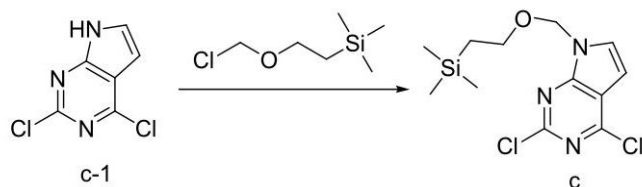


製造方法は化合物aと同様で、異なるのは化合物aの製法における工程2でのN,N,N'-トリメチルエチレンジアミンを4-ジメチルアミノピペリジンに変えた。

【0080】

化合物cの製造

【化26】



0 °Cにおいて、化合物2,4-ジクロロ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンc-1 (1 g, 5.32 mmol)のDMF (40 ml)溶液に水素化ナトリウム (420 mg, 10.64 mmol)を入れ、反応混合物を30分間攪拌した後、2-(トリメチルシリル)エトキシメチルクロリド (1.34 g, 7.98 mmol)を入れた。反応混合物を0 °Cで3時間攪拌した。反応終了後、0 °Cで水を入れて反応をクエンチングした。酢酸エチルおよび水で抽出し、有機相を水および飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄し、減圧で有機相を濃縮して2 gの油状物の2,4-ジクロロ-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンcを得、精製せずにそのまま次の工程に進んだ。MS m/z(ESI): 318 [M+H]⁺。

【0081】

10

20

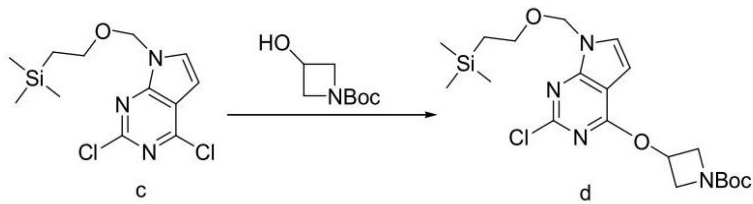
30

40

50

化合物dの製造

【化27】



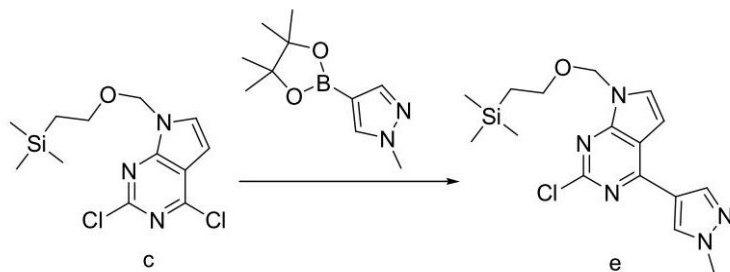
化合物c (1.6 g, 4.57 mmol)、3-ヒドロキシアゼチジン-1-カルボン酸 t-ブチル (881 mg, 5.09 mmol) および炭酸セシウム (3 g, 9.21 mmol) を30 mlのアセトニトリルに入れ、反応混合物をアルゴン雰囲気において80 °Cで5 h攪拌した。TLC板およびLC-MSで反応をモニタリングした。反応終了後、反応液をろ過し、塩化メチレンで洗浄し、ろ液を濃縮して粗製品を得、粗製品をcombi flash (PE:EA体積比 = 100:0-80:20) によって精製して化合物3-(2-クロロ-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-イルオキシ)アゼチジン-1-カルボン酸 t-ブチルd (1.76 g, 収率84.53%) を得た。MS m/z(ESI):455.1 [M+H]⁺。

10

【0082】

化合物eの製造

【化28】



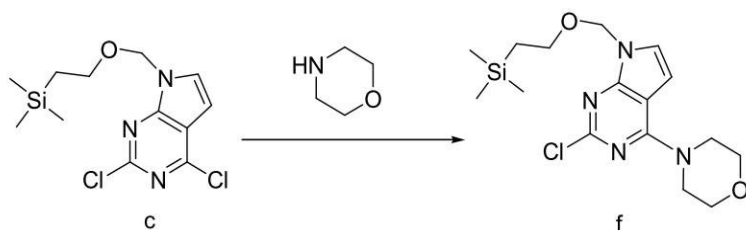
攪拌しながら、化合物c (100 mg, 0.31 mmol) のアセトニトリル/水 (5/1ml) 溶液に1-メチル-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-ピラゾール(66 mg, 0.31 mmol)、Pd(dppf)Cl₂(23 mg, 0.031 mmol)および炭酸ナトリウム(66 mg, 0.62 mmol)を入れ、反応混合物をアルゴンガスで3回置換した後80 °Cで4 h攪拌した。基質が完全に反応したら、水を入れてクエンチングし、反応混合物に酢酸エチル (150 ml) を入れて層分離した後、水相を酢酸エチル(50 mL x 2)で2回抽出し、合併した有機相をNa₂SO₄で乾燥した後濃縮し、得られた粗製品をCombi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して目的産物である2-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンe (100 mg, 収率70%) を得た。MS m/z(ESI): 364 [M+H]⁺。

30

【0083】

化合物fの製造

【化29】



攪拌しながら、化合物c (100 mg, 0.31 mmol) のTHF (3ml) 溶液にモルホリン(25 mg, 0.26 mmol)およびトリエチルアミン(41 mg, 0.4 mmol)を入れ、反応混合物を室温で一晩

40

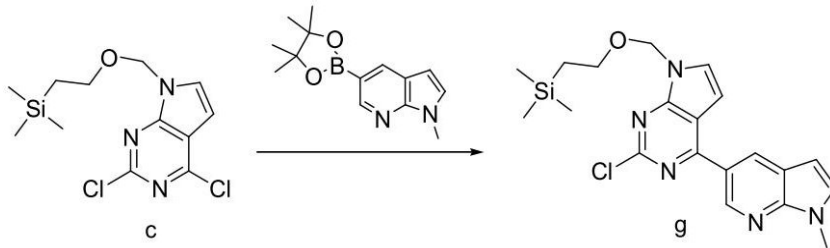
50

攪拌し、反応終了後、水を入れ、酢酸エチルで抽出し、有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、減圧で濃縮して化合物2-クロロ-4-モルホリノ-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンf (100 mg, 70%)を得た。精製せずにそのまま次の工程に入った。MS m/z (ESI) : 369 [M+H]⁺。

【0084】

化合物gの製造

【化30】



10

攪拌しながら、化合物c (500 mg, 1.58 mmol) のアセトニトリル/水 (10/2 ml) 溶液に1-メチル-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン(370 mg, 1.43 mmol)、Pd(dppf) Cl_2 (106 mg, 0.14 mmol) および炭酸ナトリウム(304 mg, 2.87 mmol)を入れ、反応混合物をアルゴン雰囲気において80 で4 h攪拌した。

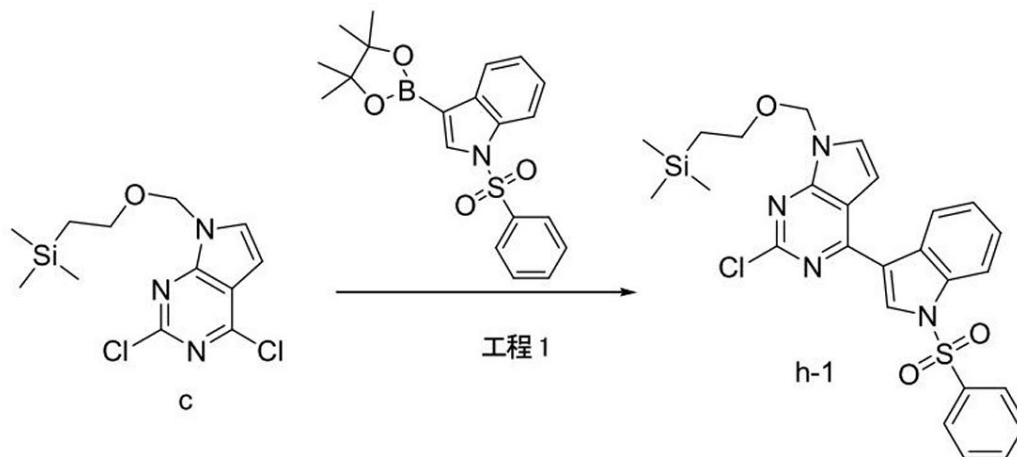
基質が完全に反応したら、水を入れてクエンチングし、反応混合物に酢酸エチル (150 ml) を入れて層分離した後、水相を酢酸エチル(50 mL x 2)で2回抽出し、合併した有機相を Na_2SO_4 で乾燥した後濃縮し、得られた粗製品をCombi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して210 mgの目的産物である2-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-5-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンgを得た。MS m/z (ESI) : 414.1 [M+H]⁺。

20

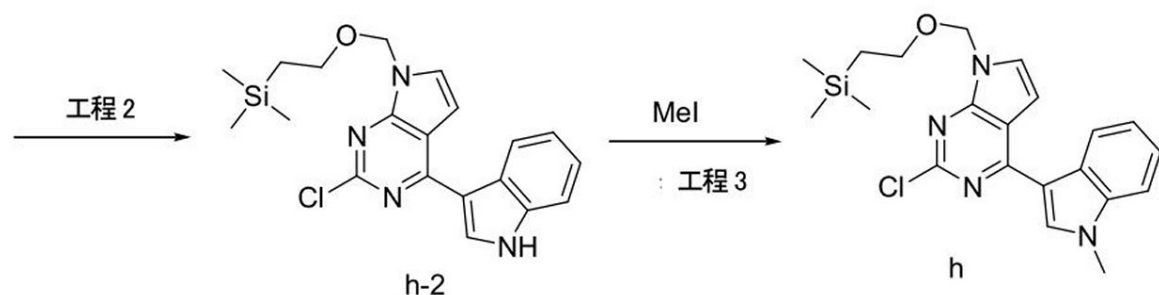
【0085】

化合物hの製造

【化31】



30



40

【0086】

50

工程1:

化合物c (500 mg, 1.57 mmol) および化合物1-(フェニルスルホニル)-3-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-インドール (605 mg, 1.57 mmol) を原料とし、化合物gの製造方法を参照して製造し、化合物h-1 (400 mg, 収率60%) を得た。MS m/z(ESI) : 539[M+H]⁺。

【0087】

工程2:

化合物h-1 (350 mg, 0.65 mmol) の20 mlメタノール溶液に水酸化カリウム (365 mg, 6.5 mmol) を入れた。反応混合物を室温で4時間攪拌した。反応終了後、反応混合物を2M HCl溶液でpH7に調整した。濃縮し、水および酢酸エチルを入れて抽出し、有機相を水および飽和食塩水で洗浄し、減圧で濃縮して300 mgの目的物h-2を得た。精製せずにそのまま次の工程に入った。MS m/z(ESI) : 399.2[M+H]⁺。

【0088】

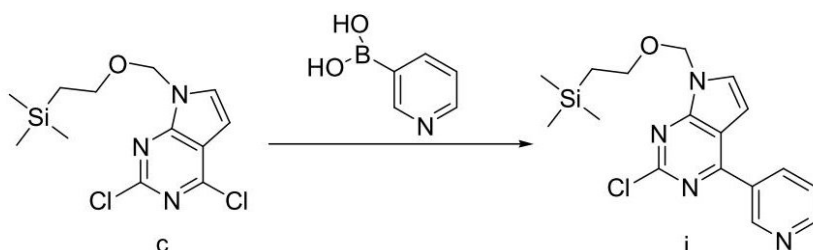
工程3:

0において、水素化ナトリウム (126 mg, 3.16 mmol) のTHF (8 ml) 溶液に化合物h-2 (630 mg, 1.58 mmol) を入れた。反応混合物を0で20分間攪拌した。ヨードメタン (337 mg, 2.37 mmol) を入れた。反応混合物を室温で2時間攪拌した。反応終了後、0で水を入れてクエンチングし、酢酸エチルで抽出し、水および飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、濃縮して粗製品を得た。Combi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して340 mgの目的産物である2-クロロ-4-(1-メチル-1H-インドール-3-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンhを得た。MS m/z(ESI) : 413.3[M+H]⁺。

【0089】

化合物iの製造

【化32】



化合物c (500 mg, 1.58 mmol) のアセトニトリル/水 (10/2 ml) 溶液にピリジン-3-イルホウ酸 (173 mg, 1.43 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (116 mg, 0.14 mmol) および炭酸ナトリウム (344 mg, 2.87 mmol) を入れ、反応混合物を100で15分間マイクロ波反応させた。基質が完全に反応したら、水を入れてクエンチングし、反応混合物に酢酸エチル (150 ml) を入れて層分離した後、水相を酢酸エチル (50 mL x 2) で2回抽出し、合併した有機相をNa₂SO₄ で乾燥した後濃縮し、得られた粗製品をCombi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して280 mgの目的産物である2-クロロ-4-(ピリジン-3-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンiを得た。MS m/z(ESI) : 361.1[M+H]⁺。

【0090】

化合物jの製造

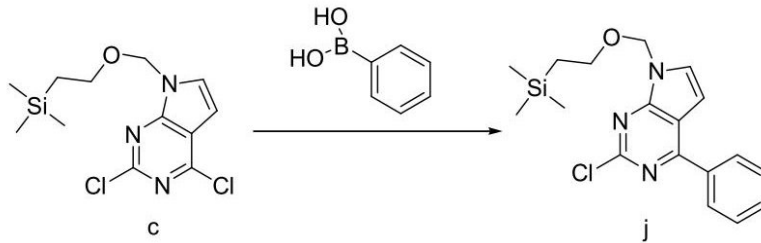
10

20

30

40

【化33】



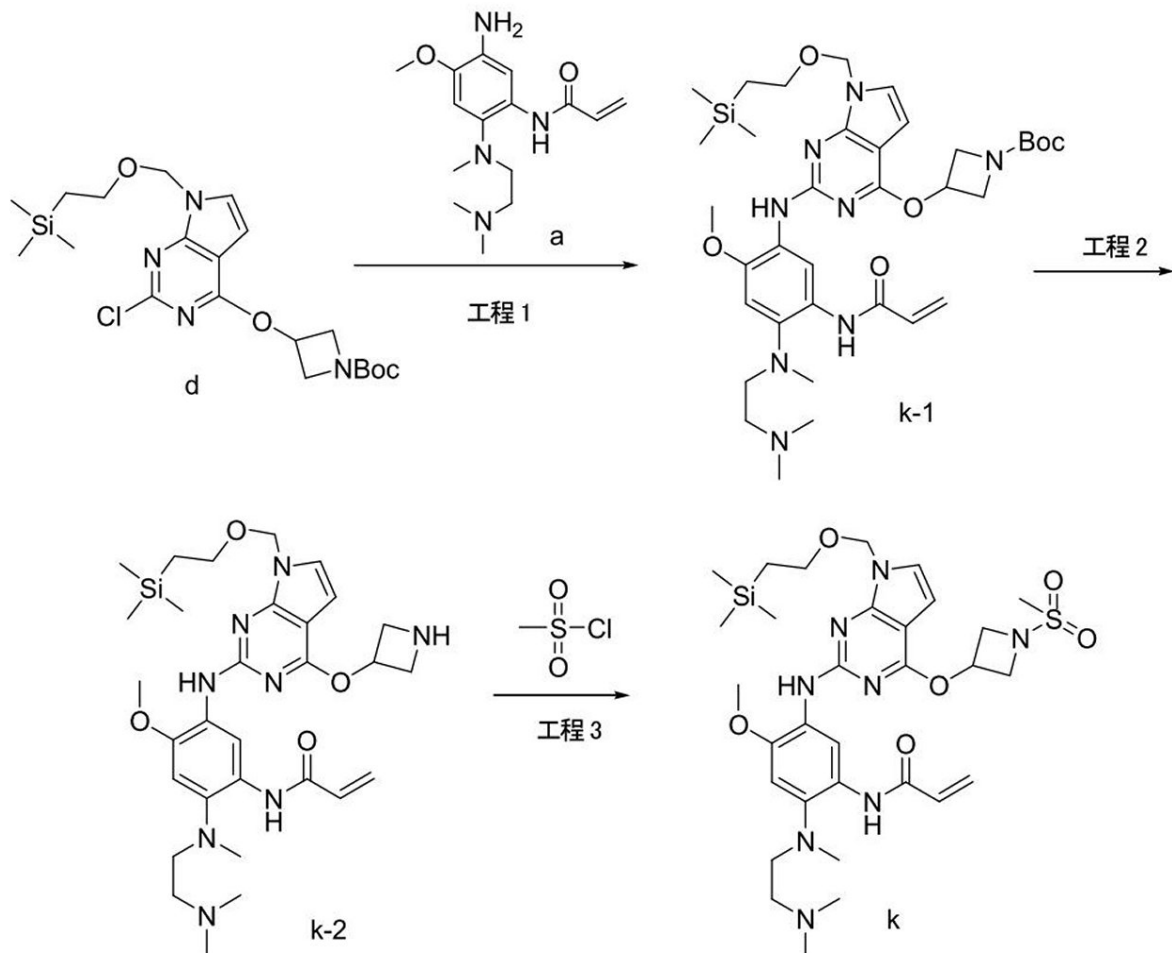
化合物3cおよびフェニルホウ酸を原料とし、化合物iの製造方法を参照して製造した。MS m/z (ESI): 360 $[M+H]^+$.

10

【0091】

化合物kの製造

【化34】



20

30

【0092】

工程1:

化合物d(500 mg, 1.10 mmol)および化合物a(321 mg, 1.10 mmol)の15 mLの1,4-ジオキサン溶液に $Pd_2(dba)_3$ (101 mg, 0.11 mmol)、BINAP(137 mg, 0.22 mmol)および炭酸セシウム(718 mg, 2.21 mmol)を入れた。反応混合物を140 °Cで25分間マイクロ波反応させた。反応終了後、反応混合物をろ過し、塩化メチレンで洗浄し、ろ液を減圧で濃縮させて粗製品を得、調製液相によって分離精製して700 mgの化合物kを得た。MS m/z (ESI): 711.3 $[M+H]^+$.

40

【0093】

工程2:

0において、トリフルオロ酢酸(1.124 g, 9.86 mmol)を化合物k-1(700 mg, 0.986 mmol)

50

l)の10 mLの塩化メチレン溶液に入れ、室温で激しく2 h 攪拌した。反応終了後、反応液を減圧条件で蒸留乾燥し、1.5 gの化合物k-2を得、産物をそのまま次の工程に使用した。MS m/z (ESI):611 [M+H]⁺。

【0094】

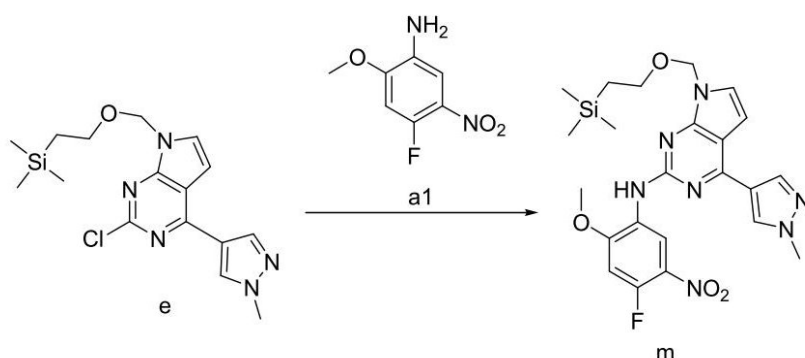
工程3:

0 において、トリエチルアミン(747 mg, 7.39 mmol)を化合物k-2(750 mg, 0.49 mmol)の5 mLの塩化メチレン溶液に入れ、0 で激しく30分間攪拌した後、メタンスルホニルクロリド(56 mg, 0.49 mmol)を入れ、0 で激しく2 h 攪拌した。反応終了後、水を入れて希釈し、塩化メチレン/水系で3回抽出し、有機層を減圧で濃縮し、combiflashによって精製して90 mgの化合物kを得た。MS m/z (ESI):689.3 [M+H]⁺。

【0095】

化合物mの製造

【化35】

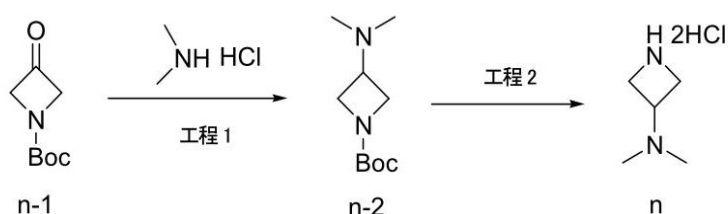


化合物e(800 mg, 2.2 mmol)および化合物a1(410 mg, 2.2 mmol)の10 mLの1,4-ジオキサン溶液にPd₂(dba)₃(202 mg, 0.22 mmol)、BINAP(274 mg, 0.44 mmol)および炭酸セシウム(1.437 g, 4.41 mmol)を入れた。反応混合物を140 で25分間マイクロ波反応させた。反応終了後、反応混合物をろ過し、塩化メチレンで洗浄し、ろ液を減圧で濃縮して粗製品を得、combiflash[PE: EA =100:0]によって精製して840 mgの化合物N-(4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロフェニル)-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-アミンmを得た。MS m/z (ESI):514.2[M+H]⁺。

【0096】

化合物nの製造

【化36】



【0097】

工程1:

水素雰囲気において、化合物n-1(5.0 g, 0.0292 mmol)、ジメチルアミン塩酸塩(4.77 g, 0.0584 mmol)、2.1 gのPd/Cおよび2.5 mlの酢酸を100 mlのメタノールに入れ、水素ガスで置換した後、室温で48時間反応させた。反応終了後、ろ過し、濃縮させて粗製品を得た。飽和NaHCO₃および酢酸エチルを入れて抽出し、塩水で洗浄し、濃縮させて目的物n-2を得た(5.0 g、収率85%)。MS m/z (ESI): 201 [M+H]⁺。

【0098】

工程2:

10

20

30

40

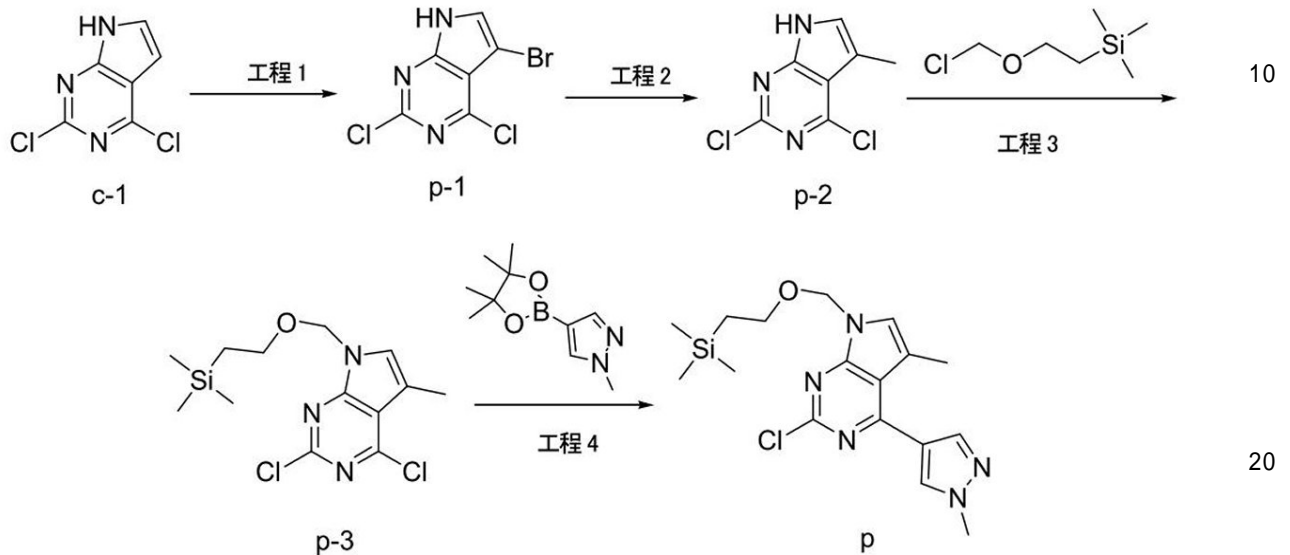
50

0 において、化合物n-2(5.0 g, 0.025 mmol)の塩化メチレン(100 ml)溶液に塩酸/1,4-ジオキサン溶液(4M)を入れた。反応混合物を室温で3時間攪拌した。反応終了後、濃縮し、目的物であるN,N-ジメチル二甲基アザ-3-アミン二塩酸塩nを得た(3.5 g, 82%)。MS m/z(ESI): 173 [M+H]⁺。

【0099】

化合物pの製造

【化37】



【0100】

工程1:

化合物c-1(1 g, 5.32 mmol)の80 mlの塩化メチレン溶液にNBS(1.04 g, 5.85 mmol)を入れた。反応混合物を室温で4時間攪拌した。反応終了後、減圧で濃縮し、combi flashによって精製して化合物p-1を得た(900 mg, 収率64%)。MS m/z(ESI):266[M+H]⁺。

【0101】

工程2:

-70 において、化合物p-1(800mg, 3 mmol)の110 ml THF溶液にゆっくりn-ブチルリチウム(576 mg, 9 mmol)を滴下した。反応混合物を1時間攪拌した後、-70 でヨードメタン(511 mg, 3.6 mmol)を入れ、続いてこの温度で1.5時間攪拌した。反応終了後、-70 で飽和塩化アンモニウム溶液を入れてクエンチングした。酢酸エチルで抽出し、乾燥し、減圧で濃縮した。combi flashによって精製して320 mgの化合物p-2を得た。MS m/z(ESI):202[M+H]⁺。

【0102】

工程3:

化合物p-2を原料とし、化合物cの製造方法を参照し、化合物p-3を製造した。MS m/z(ESI):332[M+H]⁺。

【0103】

工程4:

化合物p-3を原料とし、化合物eの製造方法を参照し、化合物2-クロロ-5-メチル-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンpを得た。MS m/z(ESI):378.2[M+H]⁺。

【0104】

化合物rの製造

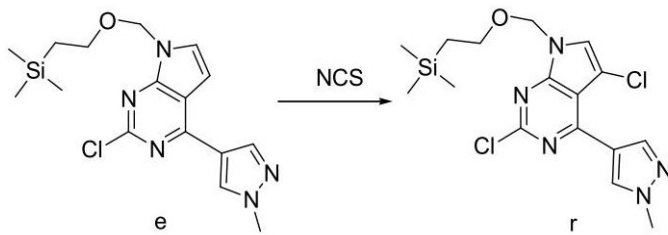
10

20

30

40

【化38】



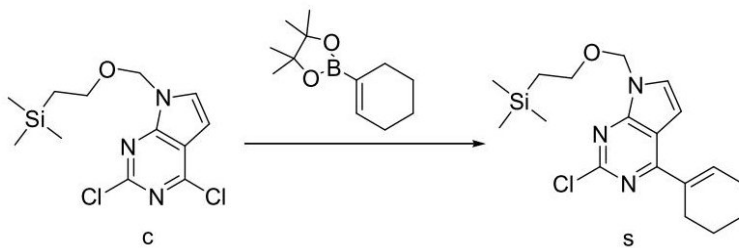
化合物e (410 mg, 1.12 mmol) の10 mlアセトニトリル溶液にNCS (180 mg, 1.35 mmol) を入れた。反応混合物を70 °Cで2時間撹拌した。反応終了後、濃縮し、combiflashによって精製して化合物2,5-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン**r** (300 mg, 収率67%) を得た。MS m/z (ESI):398[M+H]⁺。

10

【0105】

化合物sの製造

【化39】



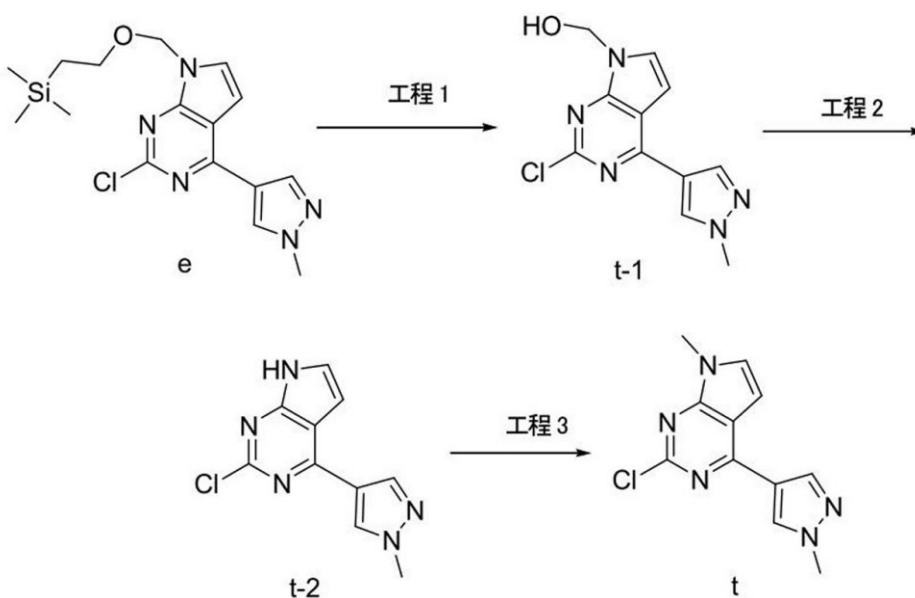
20

化合物cおよび2-シクロヘキセニルオキシ-4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロランを原料とし、化合物gの製造方法を参照して製造した。化合物2-クロロ-4-シクロヘキセニル-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン**s**を得た。MS m/z (ESI):364 [M+H]⁺。

【0106】

化合物tの製造

【化40】



40

【0107】

50

工程1-2

化合物eを原料とし、実施例3と類似の方法を参照して化合物t-2を製造した。MS m/z(ESI): 234 [M+H]⁺。

【 0 1 0 8 】

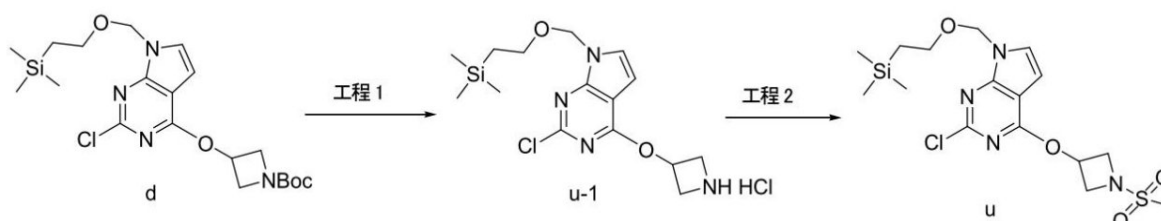
工程3:

氷浴において、化合物t-2 (23.3 mg, 0.1 mmol) の5 ml DMF溶液に一括で水素化ナトリウム (5 mg, 0.12 mmol) を入れ、反応混合物を0 °Cで20分間攪拌した後、ヨードメタン (28.4 mg, 0.2 mmol) を滴下した。反応液を室温に昇温して2時間攪拌した。反応終了後、水を入れてクエンチングし、酢酸エチルで抽出し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後濃縮し、combiflashによって精製して化合物2-クロロ-7-メチル-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンt (20 mg, 0.08 mmol) を得た。MS m/z(ESI): 248 [M+H]⁺。

【 0 1 0 9 】

化合物uの製造

【 化 4 1 】



【 0 1 1 0 】

工程1

0 °Cにおいて、化合物d (60 mg, 0.132 mmol) の5 mlメタノール溶液に36%塩酸 (0.5 ml, 4.9 mmol) を入れ、反応液を室温に昇温して18時間攪拌し、反応終了後、濃縮し、化合物u-1の粗製品を得、精製せずにそのまま次の反応に使用した。MS m/z(ESI): 355 [M+H]⁺。

【 0 1 1 1 】

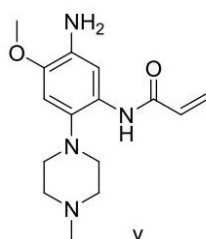
工程2

0 °Cにおいて、化合物u-1 (460 mg, 1.18 mmol) の20 ml塩化メチレン溶液にN,N-ジイソプロピルエチルアミン (610 mg, 4.72 mmol) を入れ、5分間攪拌した後、0 °Cでメタンスルホニルクロリド (203mg, 1.77mmol) を滴下した。反応混合物を室温に昇温して1時間攪拌した。反応終了後、濃縮させ、粗製品を得た。combiflashによって精製して化合物2-クロロ-4-(1-(メタンスルホニル)アゼチジン-3-イルオキシ)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンu (255 mg, 収率50%) を得た。MS m/z(ESI): 433 [M+H]⁺。

【 0 1 1 2 】

化合物vの製造

【 化 4 2 】



製造方法は化合物aと同様で、異なるのは化合物aの製法における工程2でのN,N,N'-トリメチルエチレンジアミンを1-メチルピペラジンに変えた。MS m/z(ESI): 291 [M+H]⁺。

10

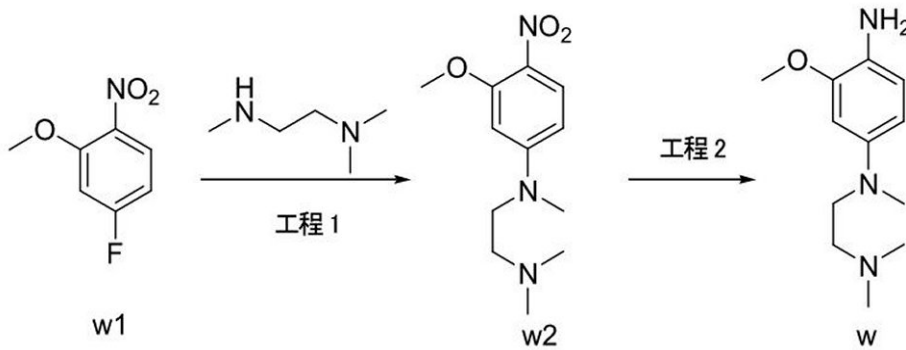
20

30

40

50

【 0 1 1 3 】
 化合物wの製造
 【 化 4 3 】



10

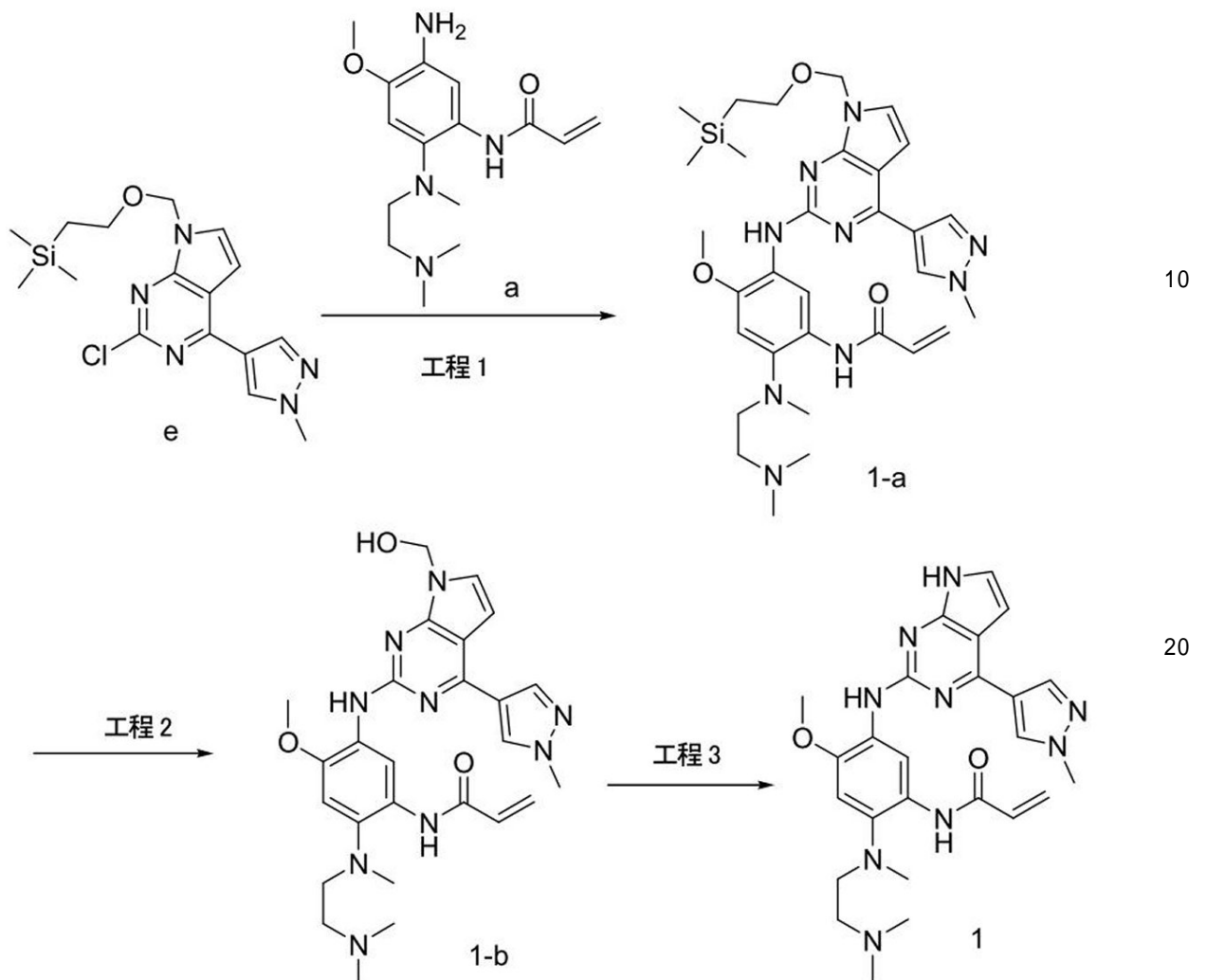
化合物w1およびN,N,N'-トリメチルエチレンジアミンを出発原料とし、化合物aにおける工程2および3を参照して製造し、化合物wを得、収率は98%であった。MS m/z(ESI): 224 [M+H]⁺。

【 0 1 1 4 】

実施例1 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド(1)の製造

20

【化44】



【0115】

工程1:

化合物e(100 mg, 0.27 mmol)、化合物a(80 mg, 0.27 mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (25 mg, 0.027 mmol)、キサントホス(28 mg, 0.054 mmol)および炭酸セシウム(180 mg, 0.54 mmol)を4 mLの密封管反応器に置き、5 mLの1,4-ジオキサンを入れ、アルゴンで空気を1分間置換し、160 に加熱して封じて15分間反応させた。反応液をろ過し、塩化メチレンでケーキを洗浄し、ろ液を濃縮して粗製品を得、調製液相によって分離・精製して目的産物1-aを得た(200 mg、収率80%)。MS m/z(ESI): 620[M+H]⁺。

【0116】

工程2:

化合物1-a(100 mg, 0.16 mmol)の5 mL塩化メチレン溶液に2 mLのトリフルオロ酢酸を入れ、反応混合物を室温で4時間撹拌した。反応終了後、反応液を減圧条件で蒸留乾燥し、化合物1-b(100 mg)を得、産物をそのまま次の工程に使用した。MS m/z(ESI): 520 [M+1]⁺。

【0117】

工程3:

化合物1-b(100 mg, 0.16 mmol)のエタノール/水(10/2 ml)溶液に炭酸カリウム(250 mg, 1.6 mmol)を入れ、反応混合物を室温で2時間撹拌した。反応終了後、反応液を減圧条件で蒸留乾燥し、酢酸エチルで抽出し、無水 Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮して粗製品を得た。調製液相によって分離・精製して表題化合物1(100 mg、収率90%)を得、黄色固体であ

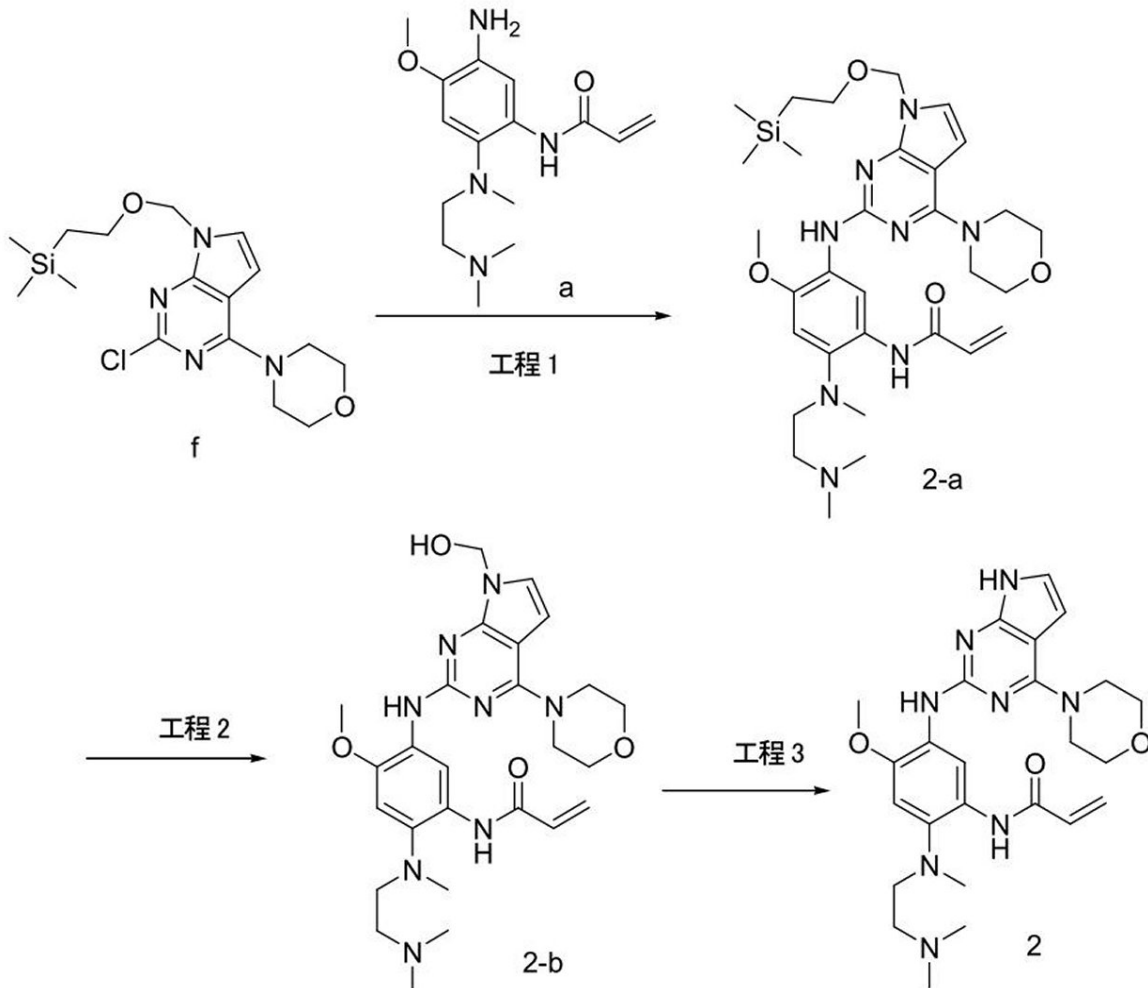
った。

MS m/z(ESI):490[M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 10.24 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.05 (dd, J = 3.5, 2.0 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.66 (dd, J = 3.5, 1.8 Hz, 1H), 6.45 - 6.24 (m, 2H), 5.71 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 4.06 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.91 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.26 (overlap, 8H)。

【 0 1 1 8 】

実施例2 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-モルホリノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド(2)の製造

【 化 4 5 】



【 0 1 1 9 】

化合物fおよび化合物aを原料とし、実施例1を参照して製造し、表題化合物2を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI): 495 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 10.04 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.74 (dd, J = 3.5, 2.1 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.35 - 6.29 (m, 2H), 6.26 (s, 1H), 5.60 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 3.95 - 3.89 (m, 4H), 3.82 - 3.80 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 2.81 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.18 (overlap, 8H)。

【 0 1 2 0 】

実施例3 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-(1-(メタンスルホニル)アゼチジン-3-イルオキシ)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド(3)の製造

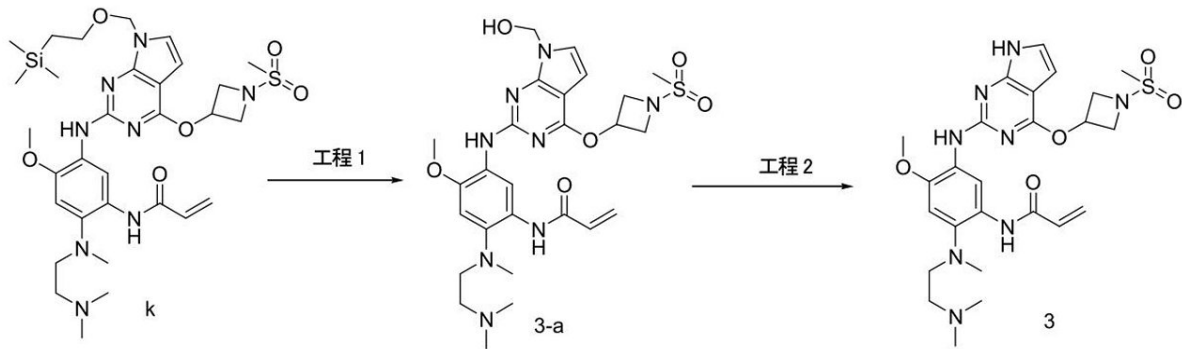
10

20

30

40

【化46】



10

【0121】

工程1:

0 において、化合物k (90 mg, 0.13 mmol) の3ml塩化メチレン溶液に3 mlのトリフルオロ酢酸を入れ、反応混合物を40 で3時間攪拌し、反応終了後、反応液を濃縮して粗製品を得、精製せずにそのまま次の反応に使用した。

【0122】

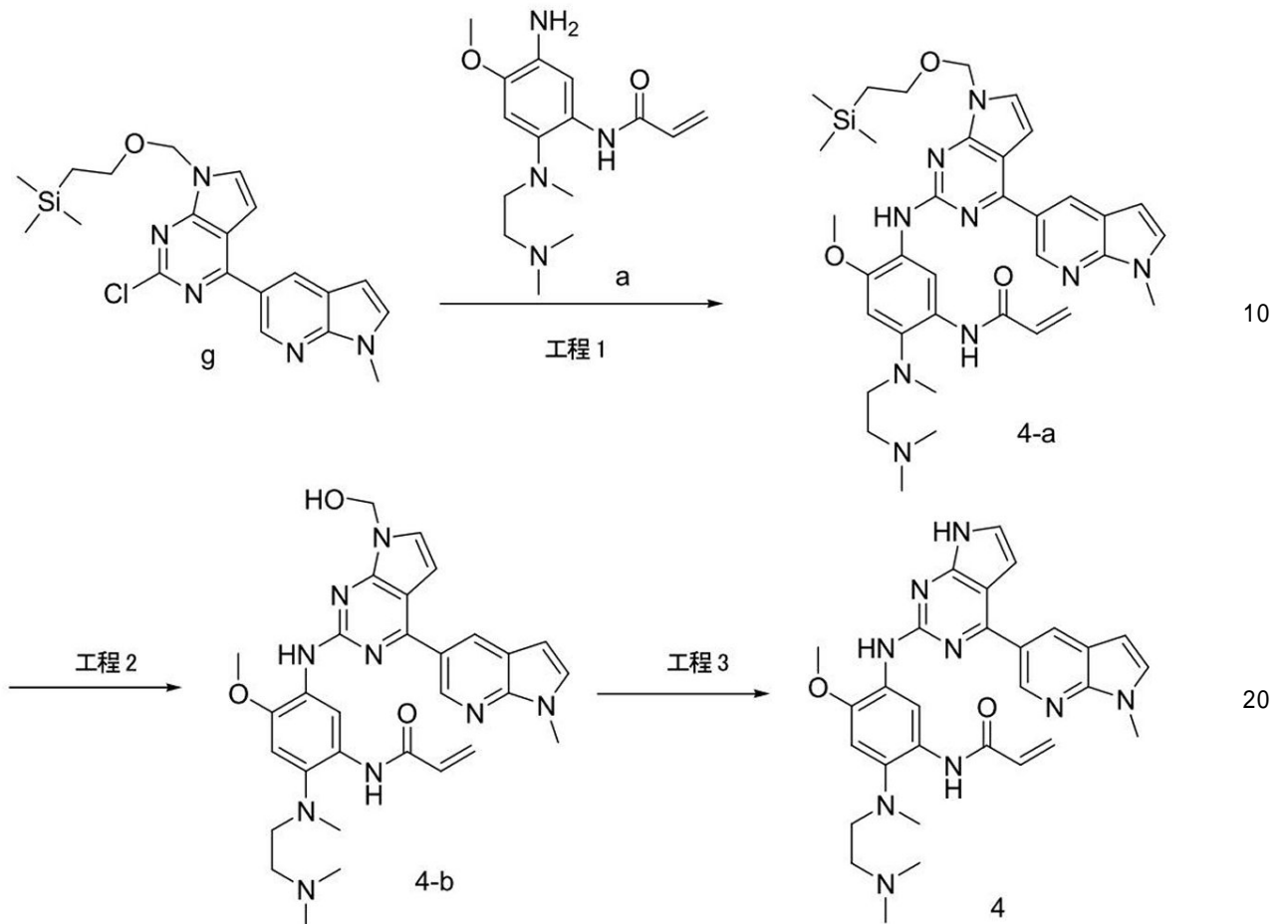
工程2:

0 において、工程1における粗製品に3 mlのメタノールを入れて溶解させ、さらに3 ml
20
のアンモニア水を入れ、反応混合物を40 で3時間攪拌し、反応終了後、反応液を濃縮して粗製品を得、調製液相によって分離・精製して6 mgの表題化合物3を得、白色固体であった。MS m/z (ESI): 559.2 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 11.47 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.06 - 7.02 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.39 (dd, J = 16.9, 9.9 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 3.5, 1.9 Hz, 1H), 6.33 - 6.25 (m, 1H), 5.76 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.33 - 4.23 (m, 2H), 3.99 (dd, J = 9.7, 4.8 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 2.85 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.27 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)。

【0123】

実施例4 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-5-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド(4)の製造 30

【化47】



【0124】

工程1:

化合物g(210 mg, 0.51 mmol)および化合物a(148 mg, 0.51 mmol)の10 mLの1,4-ジオキサン溶液にPd₂(dba)₃(46 mg, 0.05 mmol)、BINAP(63 mg, 0.12 mmol)および炭酸セシウム(332 mg, 1.02 mmol)を入れた。反応混合物を140 °Cで30分間マイクロ波反応させた。反応終了後、反応混合物をろ過し、塩化メチレンで洗浄し、ろ液を減圧で濃縮させて粗製品を得、combiflash[PE: EA =90:10]によって精製して270 mgの化合物4-aを得た。MS m/z(ESI): 670.5[M+H]⁺。

30

【0125】

工程2と工程3

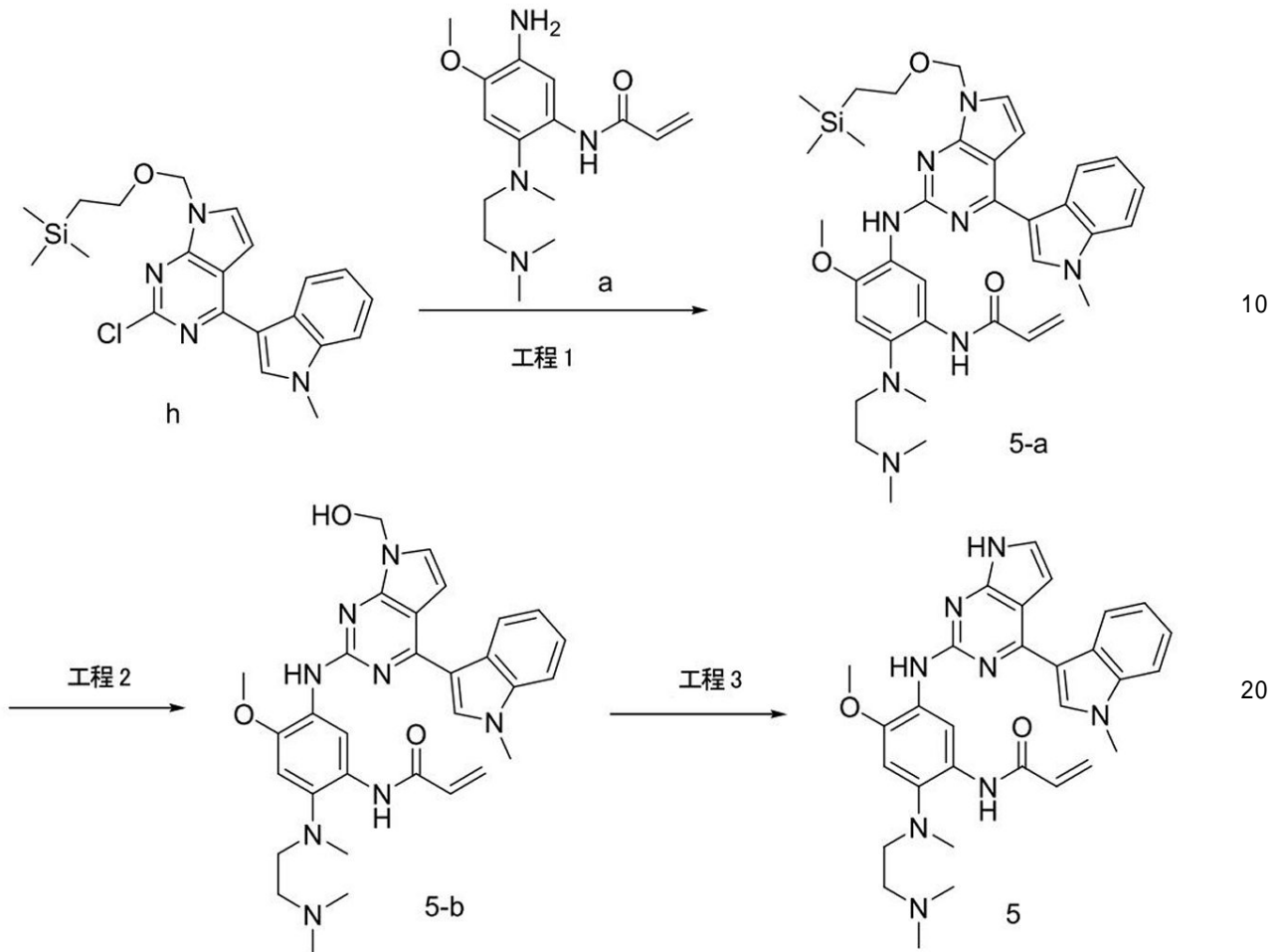
化合物4-aを原料とし、実施例3における工程1と2の方法を参照して合成し、41 mgの表題化合物4を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI):540.2 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 11.61 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 9.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.62 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.61 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 5.80 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.88 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.29 (s, 2H), 2.21 (s, 6H)。

40

【0126】

実施例5 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-インドール-3-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド(5)の製造

【化48】



【0127】

化合物hおよび化合物aを原料とし、実施例4の方法を参照して製造し、表題化合物5の粗製品を得、得られた粗製品を調製液相によって分離・精製して[H₂O(0.05vol%ギ酸):CH₃CN=85:15~90:10]表題化合物5のギ酸塩を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):539 [M+H]⁺ ; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 10.05 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.48 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.41 - 7.37 (m, 1H), 7.32 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.30 - 7.28 (m, 1H), 7.04 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.84 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.65 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 16.9, 1.6 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.2, 1.5 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.16 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.90 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.62 (overlap, 6H)。

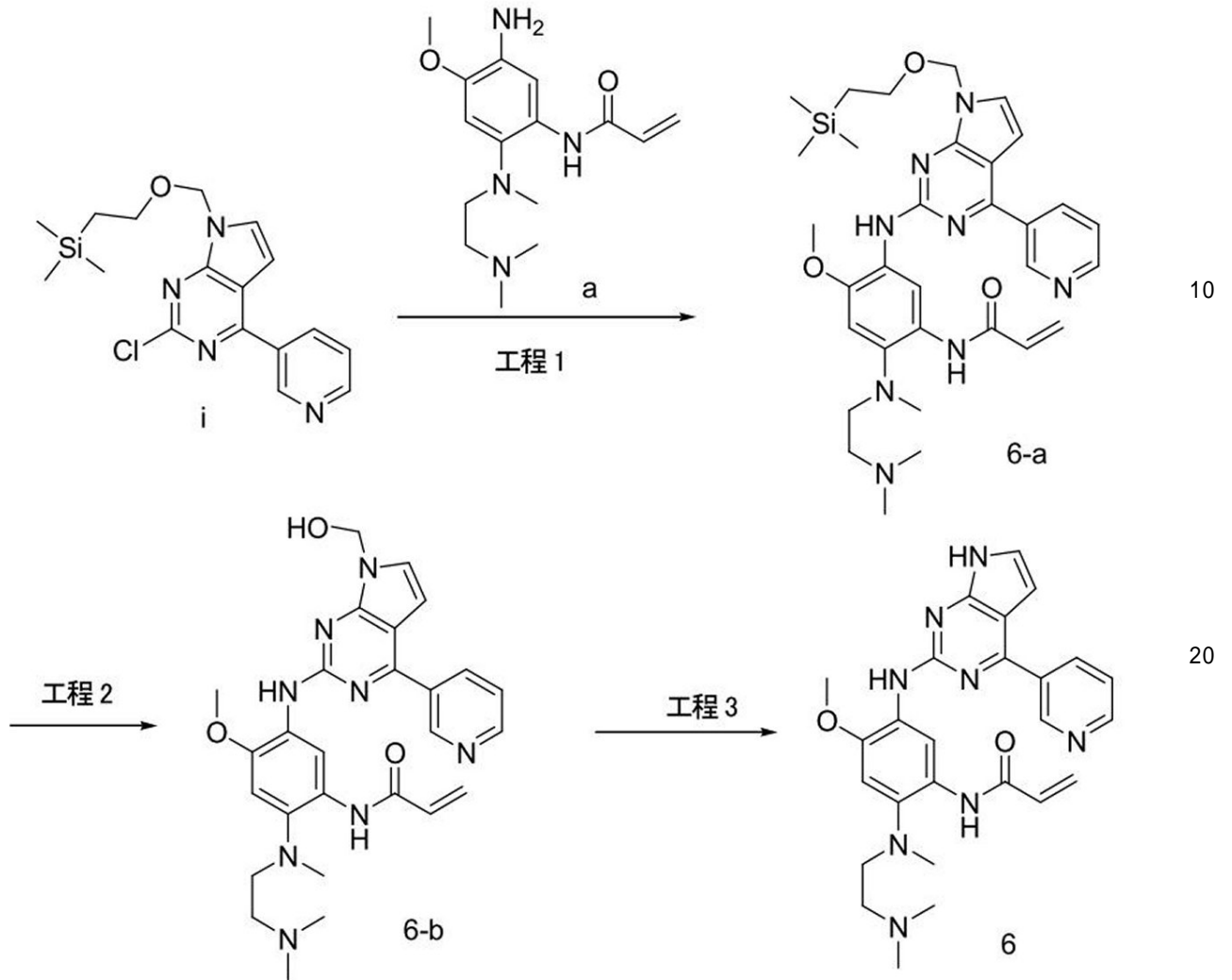
30

【0128】

実施例6 N-(6-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-(ピリジン-3-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド (6) の製造

40

【化49】



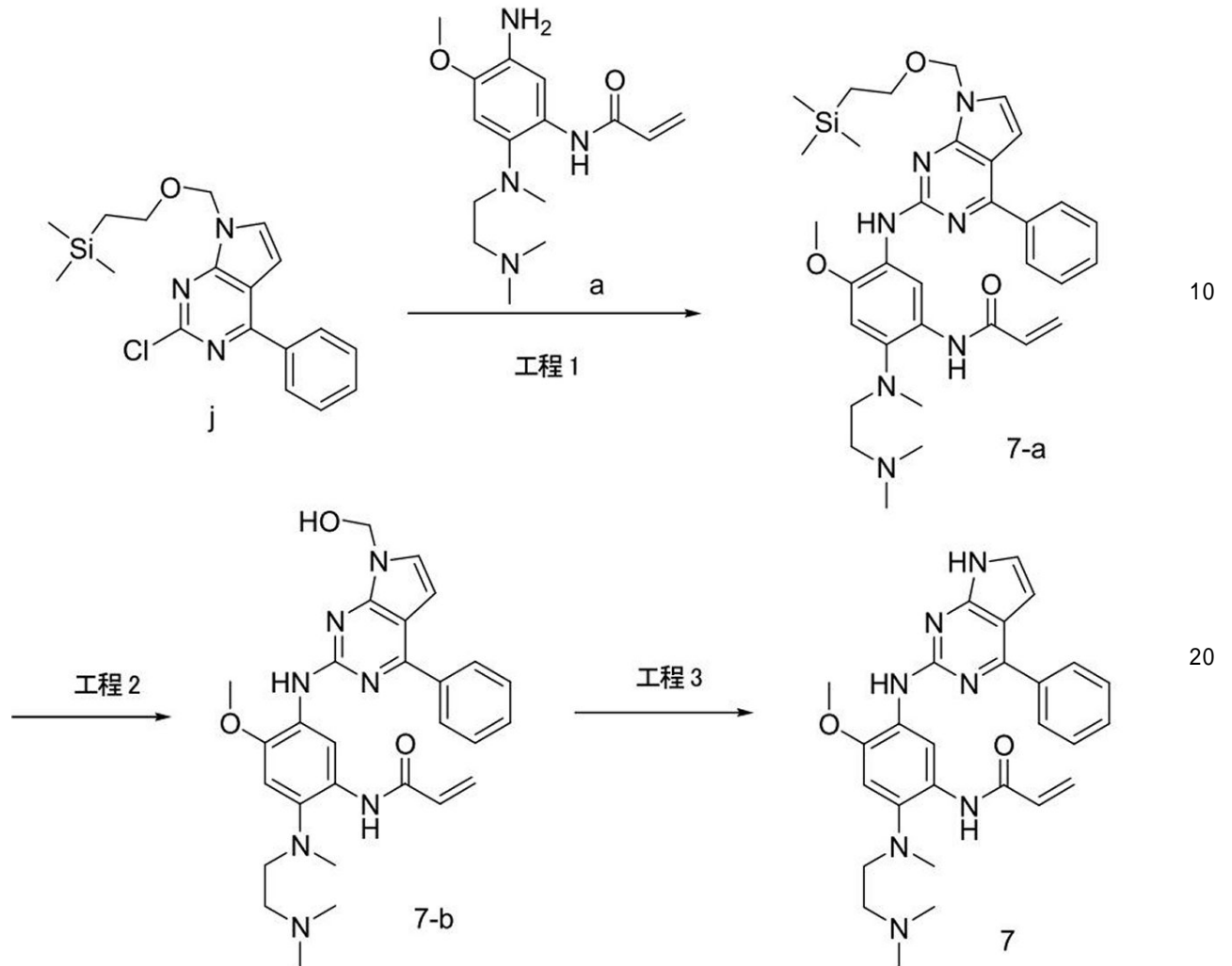
【0129】

化合物iおよび化合物aを原料とし、実施例4の方法を参照して製造し、表題化合物6を得、浅黄色固体であった。MS m/z (ESI):487.2 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 11.87 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.88 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.74 (dd, $J = 7.6, 5.0$ Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.93 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.57 (dd, $J = 16.9, 9.9$ Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 5.94 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.04 (s, 2H), 2.87 (s, 3H), 2.46 (s, 2H), 2.37 (s, 6H)。

【0130】

実施例7 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-フェニル-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド(7)の製造

【化50】



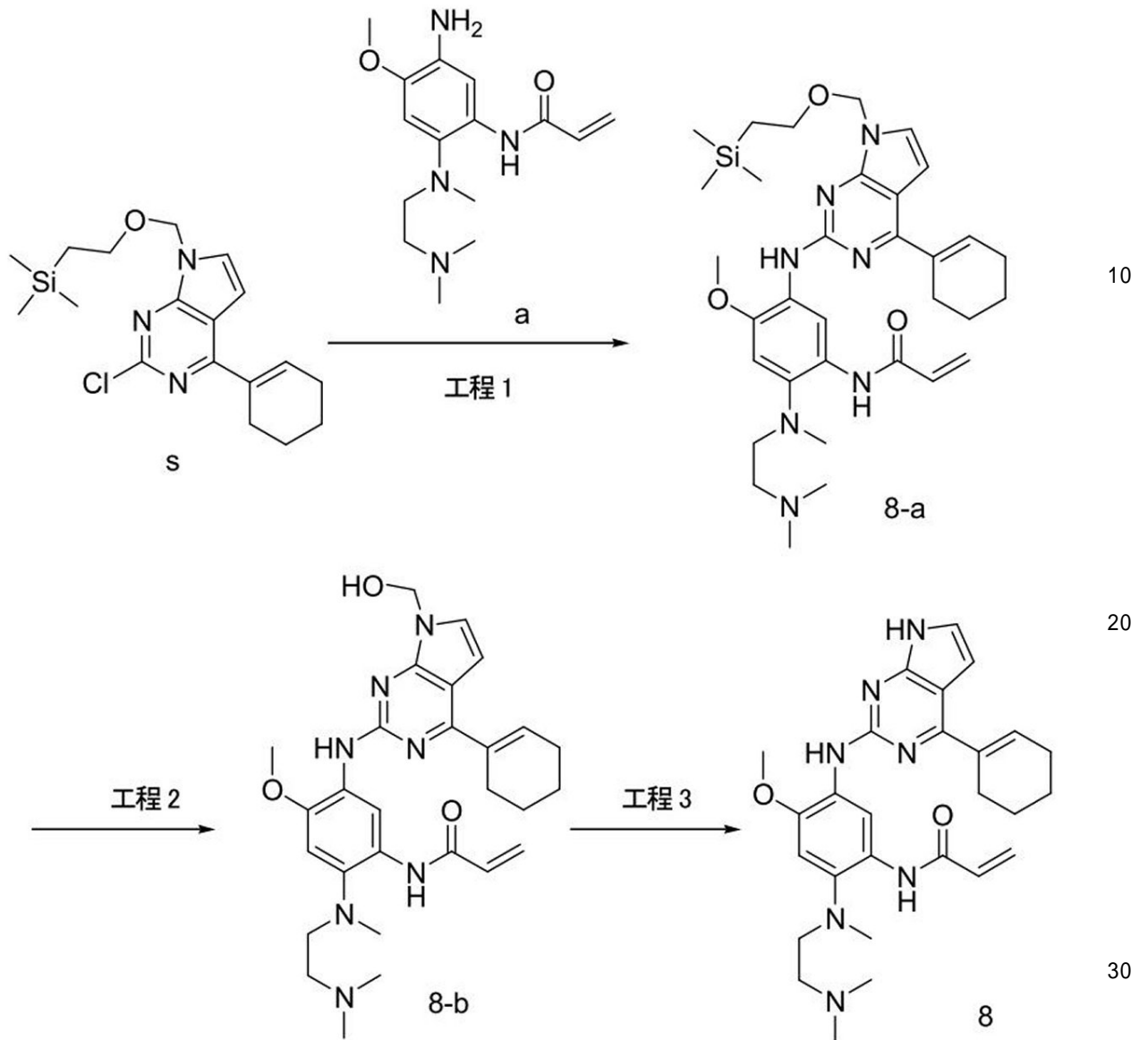
【0131】

化合物jおよび化合物aを原料とし、実施例4の方法を参照して製造し、表題化合物7を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):486.2 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 11.79 (s, 1H), 10.30 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.44 (dd, J = 7.4, 2.0 Hz, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.75 - 7.69 (m, 3H), 7.44 (dd, J = 3.5, 2.1 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.88 (dd, J = 3.5, 1.3 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 16.9, 9.9 Hz, 1H), 6.47 (dd, J = 16.9, 2.2 Hz, 1H), 5.94 (dd, J = 9.9, 2.2 Hz, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.03 (s, 2H), 2.86 (s, 3H), 2.45 (s, 2H), 2.37 (s, 6H)。

【0132】

実施例8 N-(5-(4-シクロヘキセニル-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)-2-(2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシフェニル)アクロイルアミド (8) の製造

【化51】



化合物sおよび化合物aを原料とし、実施例4の方法を参照して製造し、表題化合物8を得、黄色固体であった。MS m/z (ESI):490.3 $[M+H]^+$ 。

【0133】

実施例9 N-(2-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-D]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリロイルアミド(9)の製造

工程1:

化合物e(100 mg, 0.275 mmol)、化合物b(87 mg, 0.275 mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (26 mg, 0.028 mmol)、キサントホス(32 mg, 0.056 mmol)および炭酸セシウム(185 mg, 0.56 mmol)を4 mLの密封管反応器に置き、5 mLの1,4-ジオキサンを入れ、アルゴンで空気を1分間置換し、160 に加熱して封じて15分間反応させた。反応液をろ過し、塩化メチレンでケーキを洗浄し、ろ液を濃縮して粗製品を得、調製液相によって分離・精製して目的産物9-aを得た(200 mg、収率70%)。MS m/z (ESI): 646 $[M+H]^+$ 。

【0134】

工程2と3

化合物9-aを原料とし、実施例3の工程1と2を参照して製造し、表題化合物9の粗製品を得、得られた粗製品を調製液相によって分離・精製して $[\text{H}_2\text{O}(0.05\text{vol}\% \text{ギ酸})]:\text{CH}_3\text{CN}=80:2$

10

20

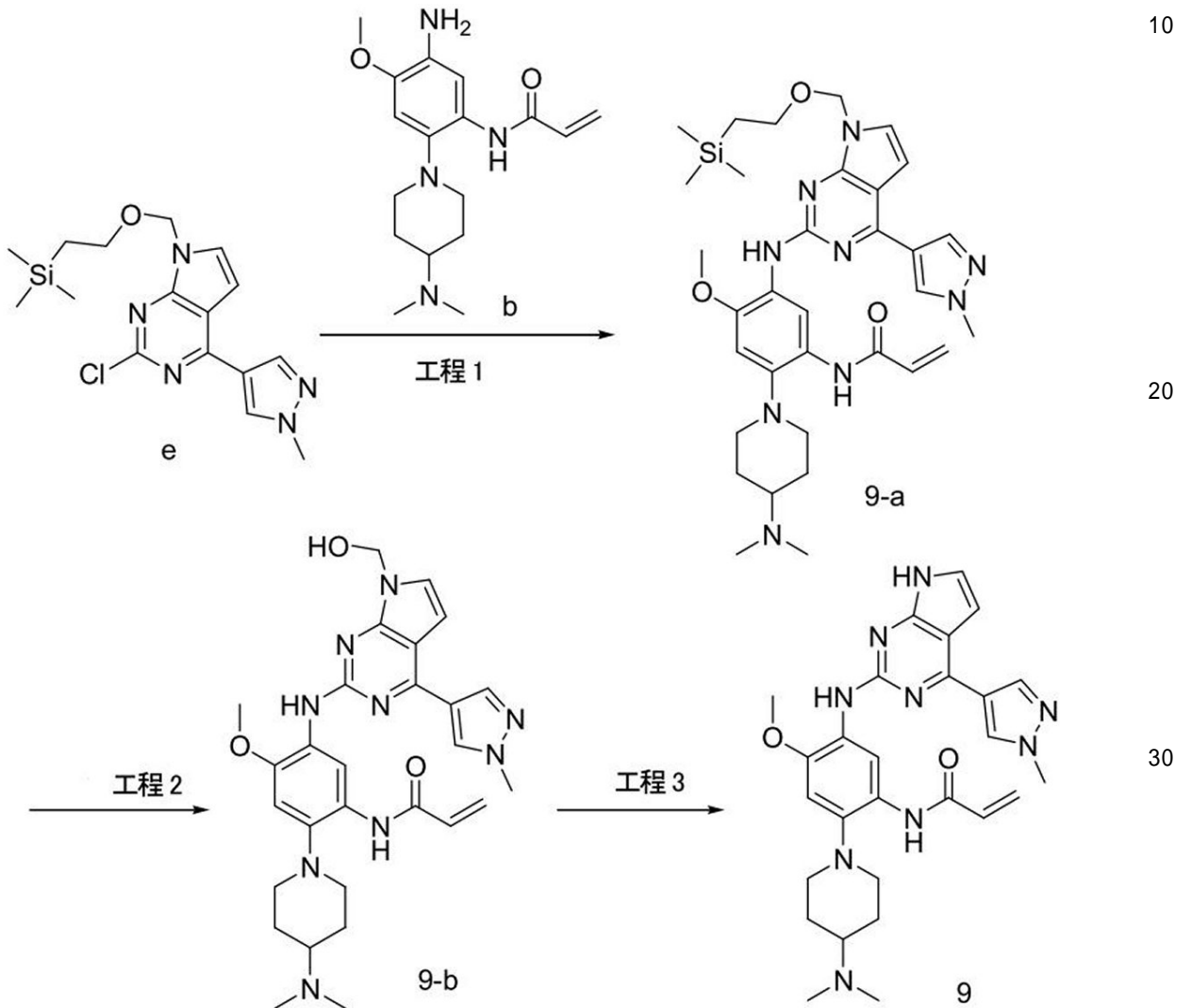
30

40

50

0~90:10]表題化合物9のギ酸塩を得、黄色固体であった。MS m/z (ESI):516[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 11.46 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.22 (dd, $J = 3.4, 2.3$ Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.81 (dd, $J = 3.4, 1.5$ Hz, 1H), 6.72 (dd, $J = 17.1, 10.0$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 5.79 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.05 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H), 2.70 (t, $J = 11.1$ Hz, 2H), 2.56 (overlap, 1H), 2.44 (s, 6H), 1.92 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H), 1.77 (m, 2H)。

【化52】

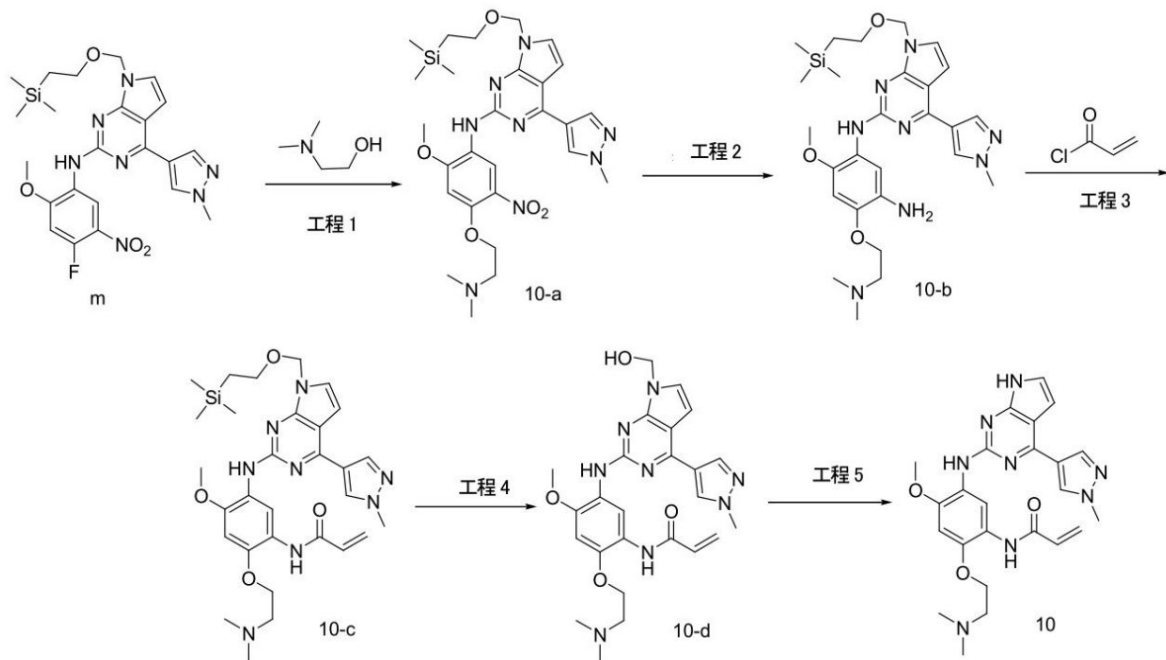


【0135】

実施例10 N-(2-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド (10) の製造

40

【化53】



10

【0136】

工程1:

0 において、2-(ジメチルアミノ)エタノール (104 mg, 1.17 mmol) の10 ml THF溶液に水素化ナトリウム (69 mg, 1.72 mmol) を入れ、0 で30分間攪拌した後、化合物m (400 mg, 0.78 mmol) を入れた。反応混合物を室温で4時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチルおよび水を入れて抽出し、有機相を水および飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄し、有機相を濃縮し、combiflash[塩化メチレン:メタノール = 90:10]によって精製して400 mgの化合物10-aを得た。MS m/z (ESI): 583.2[M+H]⁺。

20

【0137】

工程2:

Pd/C (1 mg) を化合物10-a (10 mg, 0.017 mmol) の5mLメタノール溶液に入れた。室温で、 H_2 雰囲気において4 h攪拌した。反応終了後、ろ過し、ろ液を濃縮させて10 mgの化合物10-bを得、産物をそのまま次の工程に使用した。MS m/z (ESI): 553.2[M+H]⁺。

30

【0138】

工程3:

0 において、アクロイルクロリド (137 mg, 0.74 mmol) およびトリエチルアミン (203 mg, 2.01 mmol) を化合物10-b (60 mg, 0.117 mmol) の15 mL塩化メチレン溶液に入れ、0 で2 h攪拌した。反応終了後、水を入れて希釈し、塩化メチレン/水系で3回抽出し、有機層を減圧で濃縮させて粗製品を得た。調製液相によって分離・精製して化合物10-cを得た。MS m/z (ESI): 607.2[M+H]⁺。

40

【0139】

工程4と5:

化合物10-cを原料とし、実施例3における工程1と2を参照して製造し、表題化合物10を得、浅黄色固体であった。

MS m/z (ESI): 490[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 11.45 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.25 - 7.16 (m, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.85 - 6.77 (m, 1H), 6.48 (dd, $J = 17.0, 10.0$ Hz, 1H), 6.39 - 6.23 (m, 1H), 5.85 - 5.74 (m, 1H), 4.16 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 2.55 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.28 (s, 6H)。

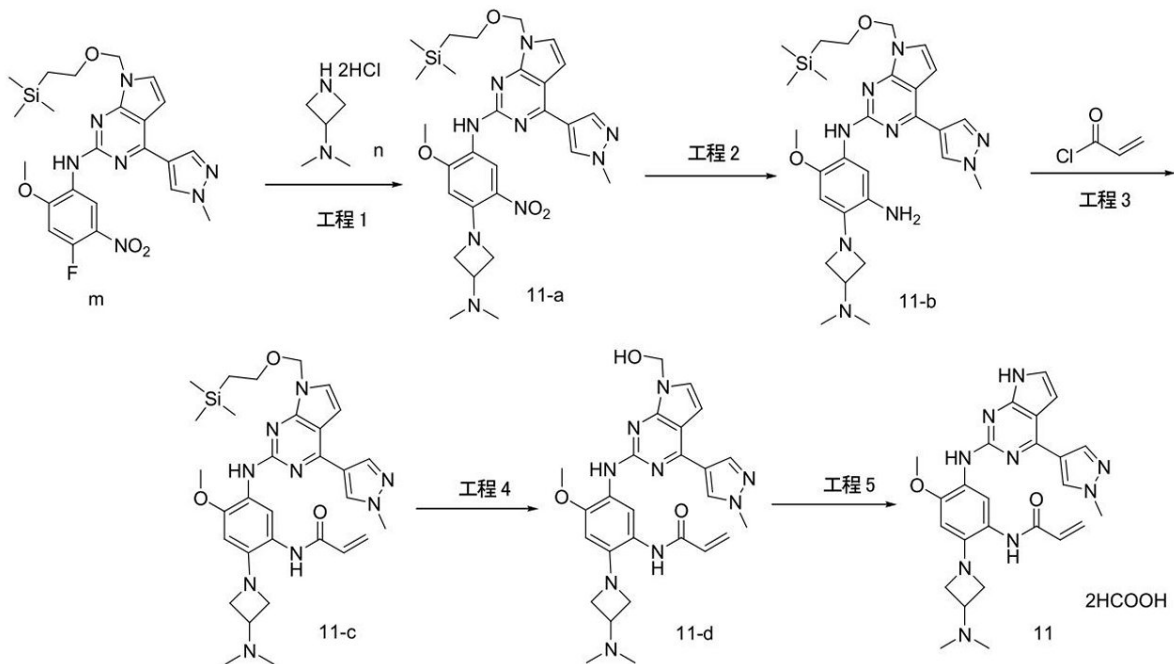
【0140】

実施例11 N-(2-(3-(ジメチルアミノ)アゼチジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル

50

-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリロイルアミドギ酸塩(11)の製造

【化54】



10

20

【0141】

工程1:

化合物m (400 mg, 0.78 mmol)、化合物n (400 mg, 2.3 mmol) および炭酸カリウム (861 mg, 6.24 mmol) を25 mlのDMFに入れ、100 °Cで2時間攪拌し、反応終了後ろ過し、ろ液に酢酸エチルを入れ、抽出し、有機相を濃縮した。Combi-flashカラムクロマトグラフィーによって精製して化合物11-a (310 mg, 収率67%) を得た。MS m/z(ESI): 594 [M+H]⁺。

【0142】

工程2-5

化合物11-aを原料とし、実施例10における工程2-5を参照して製造し、表題化合物11を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI): 488[M+H]⁺。¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆) 11.45 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.23 (s, 3H), 7.34 (s, 1H), 7.20 - 7.14 (m, 1H), 6.76 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.54 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.32 - 6.23 (m, 2H), 5.73 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.96 - 3.89 (m, 8H), 3.53 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 3.07 - 3.04 (m, 1H), 2.08 (s, 6H)。

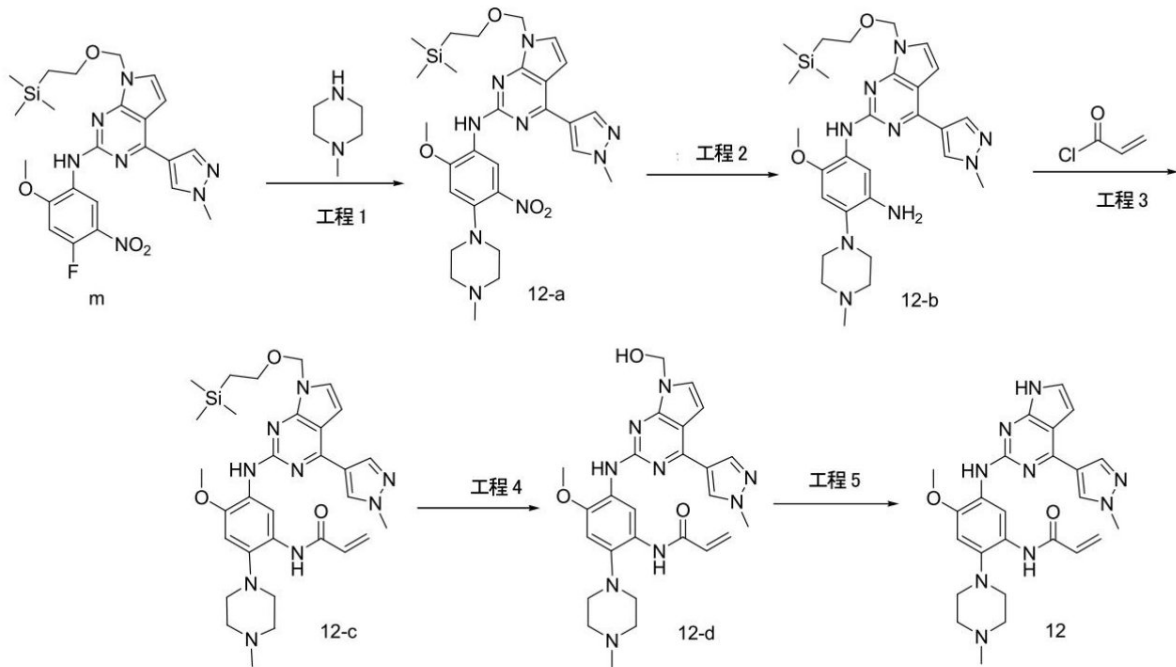
30

【0143】

実施例12 N-(4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル)アクリロイルアミド(12)の製造

40

【化55】



【0144】

化合物mおよび1-メチルピペラジンを原料とし、実施例11の方法を参照して製造し、表題化合物12を得、黄色固体であった。MS m/z (ESI):488[M+H]⁺。¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆) 11.46 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.22 (dd, J = 3.5, 2.3 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.81 (dd, J = 3.6, 1.7 Hz, 1H), 6.66 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 2.85 (t, J = 4.6 Hz, 4H), 2.52 (s, 4H), 2.26 (s, 3H)。

【0145】

実施例13 N-(5-(5-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)-2-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)-4-メトキシフェニル)アクリルアミド(13)の製造

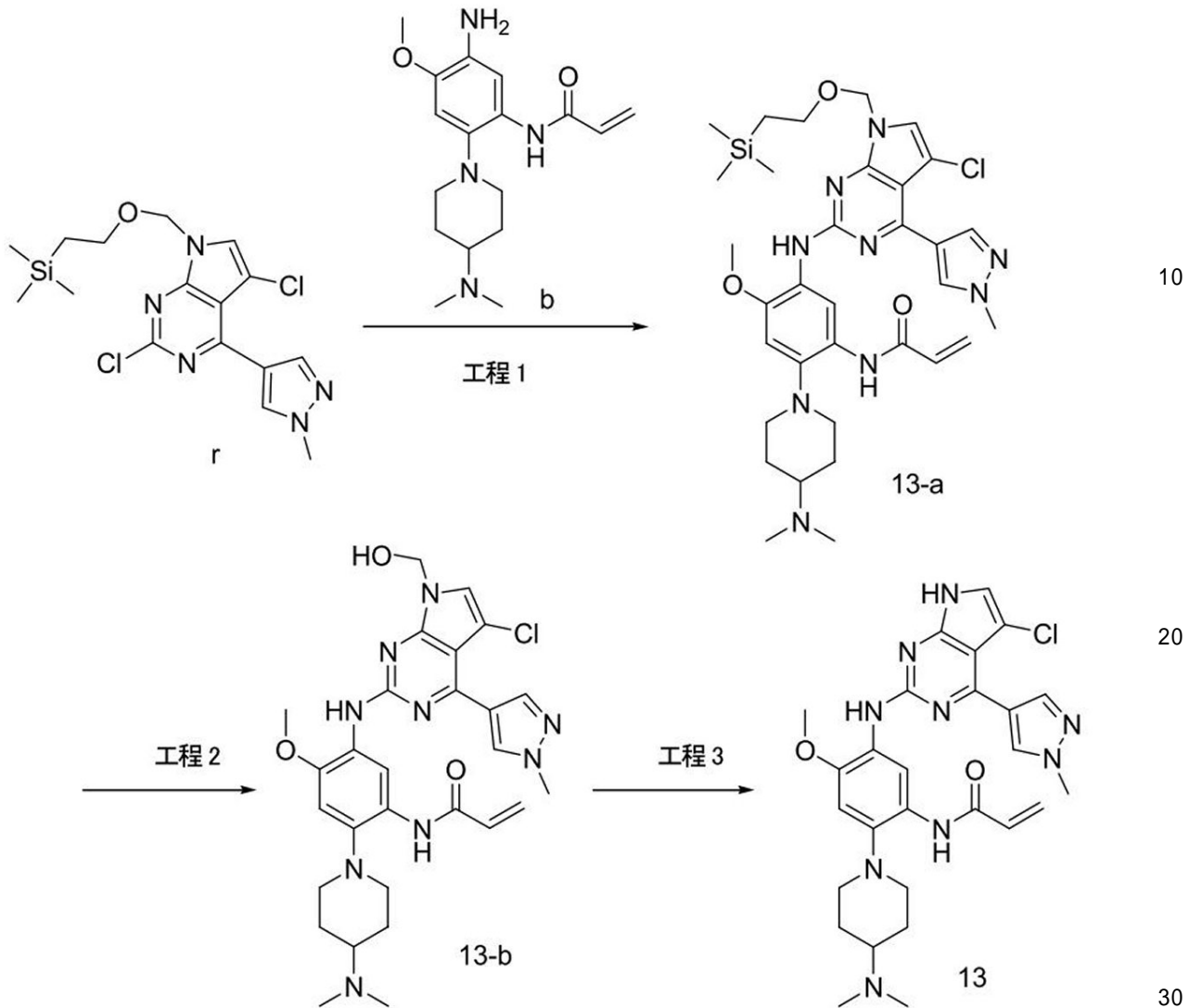
化合物rおよび化合物bを原料とし、実施例9を参照して製造し、表題化合物13を得、黄色固体であった。MS m/z (ESI):550[M+H]⁺。¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆) 11.81 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.38 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.71 (dd, J = 16.8, 10.1 Hz, 1H), 6.30 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.03 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.67 (t, J = 11.1 Hz, 2H), 2.31 (s, 1H), 2.29 (s, 6H), 1.86 (d, J = 10.6 Hz, 2H), 1.70 (d, J = 8.8 Hz, 2H)。

10

20

30

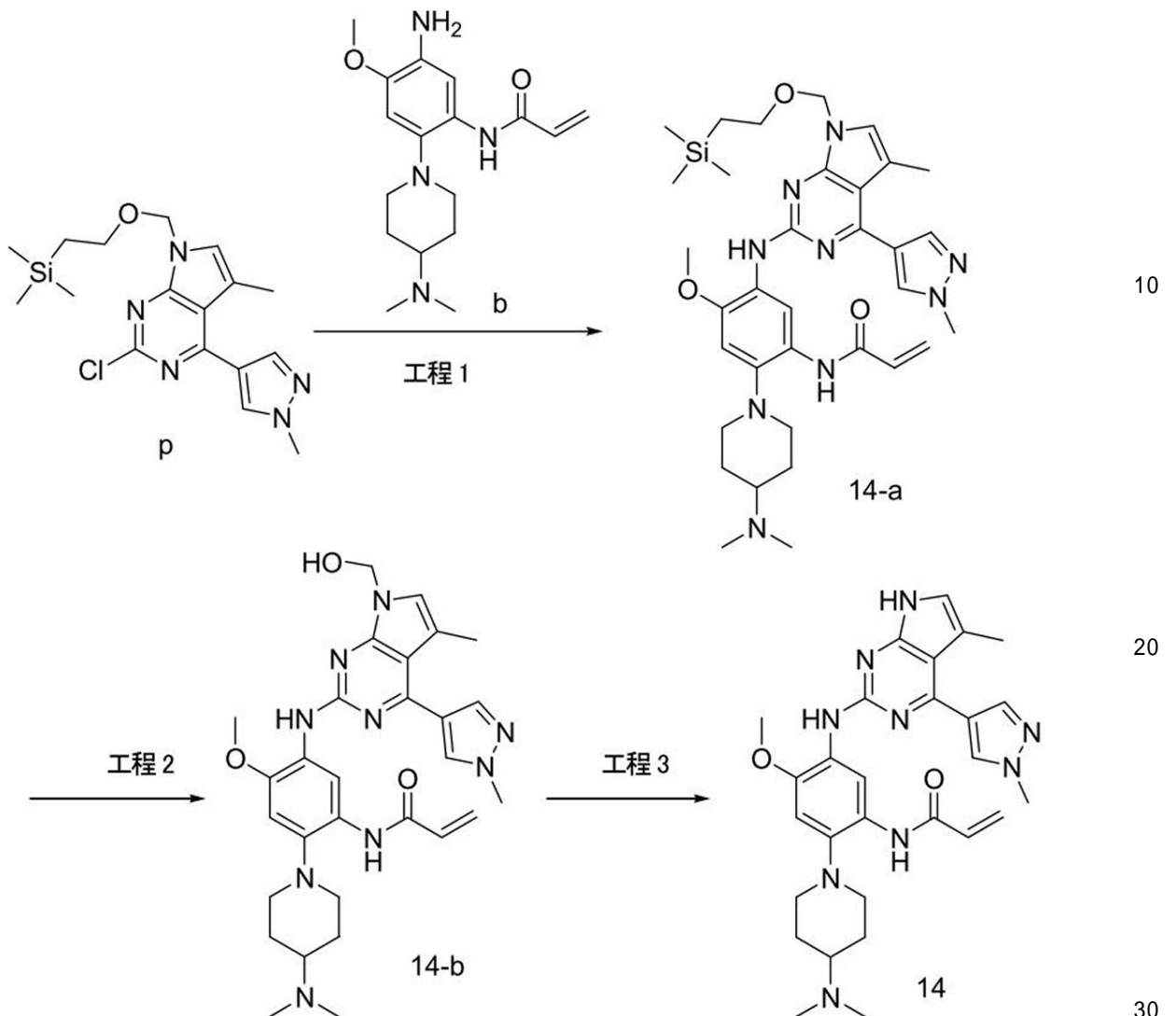
【化56】



【0146】

実施例14 N-(2-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(5-メチル-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド(14)の製造

【化57】



【0147】

化合物pおよび化合物bを原料とし、実施例9を参照して製造し、表題化合物14を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI):530.3[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 11.18 (s, 1H), 9.03 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 8.52 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.70 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.30 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.01 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 2.66 (t, J = 10.9 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.24 (s, 6H), 2.23 - 2.18 (m, 1H), 1.84 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 1.68 (d, J = 11.2 Hz, 2H)。

【0148】

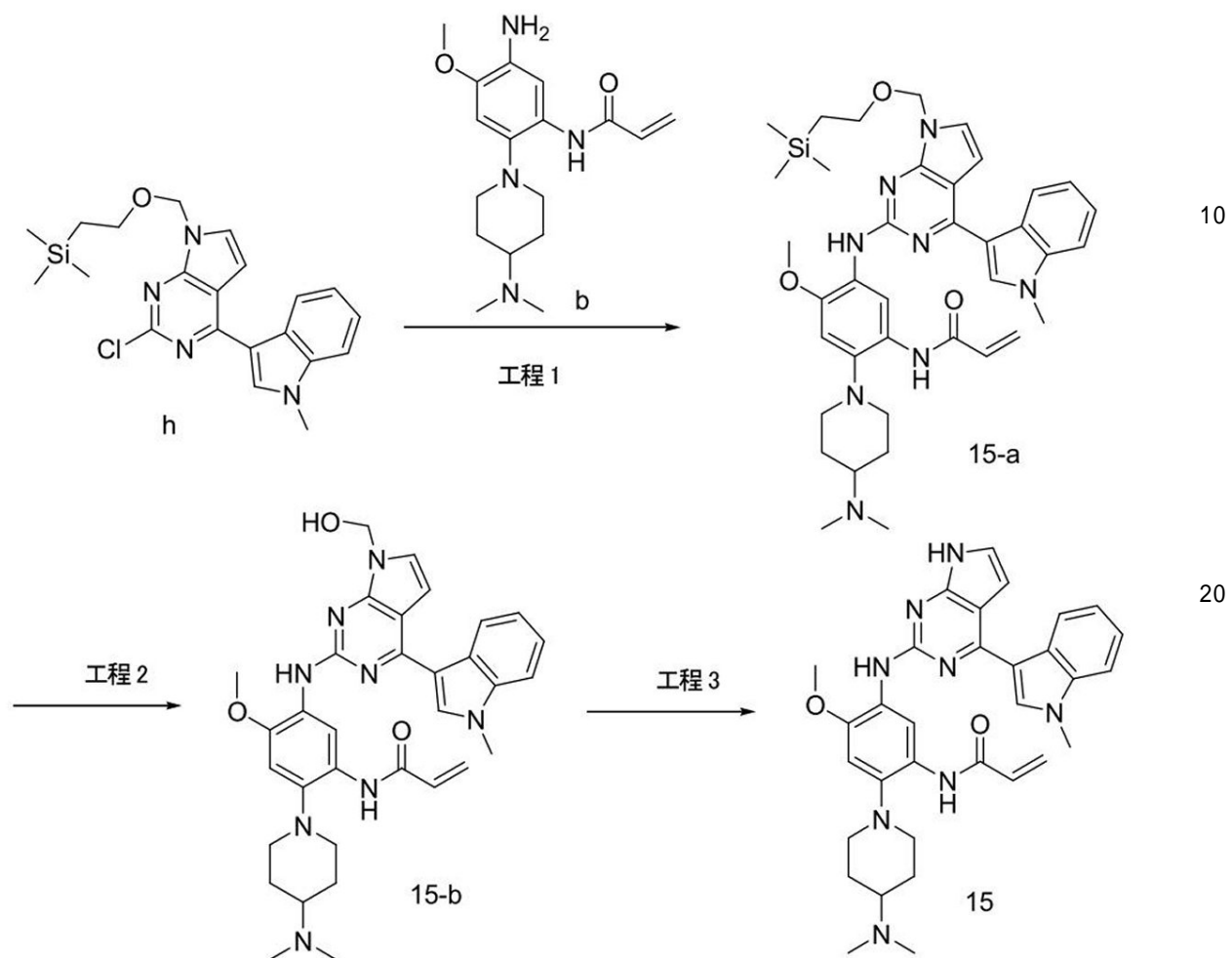
実施例15 N-(2-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-インドール-3-イル)-7H-ピロロ[2,3-D]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリロイルアミド(15)の製造

化合物hと化合物bを原料とし、実施例1の方法を参照して製造した。表題化合物15を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):565[M+H]⁺。¹H NMR(400 MHz, DMSO) 11.41 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.60 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.51 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.25 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 6.85 (dd, J = 3.9, 2.1 Hz, 2H), 6.68 (dd, J = 16.8, 10.3 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.72 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.09 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 11.2 Hz, 2H), 2.62 (s, 1H), 2.46 (

s, 6H), 1.94 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 1.77 (d, J = 9.7 Hz, 2H).

【 0 1 4 9 】

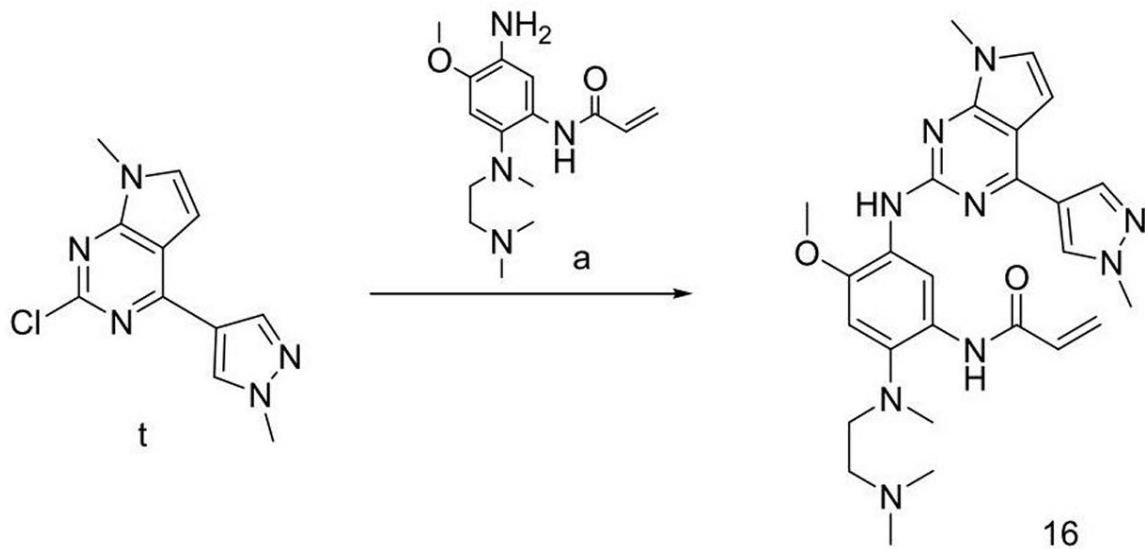
【 化 5 8 】



【 0 1 5 0 】

実施例16 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(7-メチル-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクリルアミド (16) の製造

【化59】



10

化合物tと化合物aを原料とし、実施例4における工程1の方法を参照して製造した。表題化合物16を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI):504[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO)

10.23 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.29 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.85 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.42-6.29 (m, 2H), 5.79 (dd, J = 11.4, 1.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.87 (t, J = 4.2 Hz, 2H), 2.70 (s, 2H), 2.26 (t, J = 4.2 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)。

20

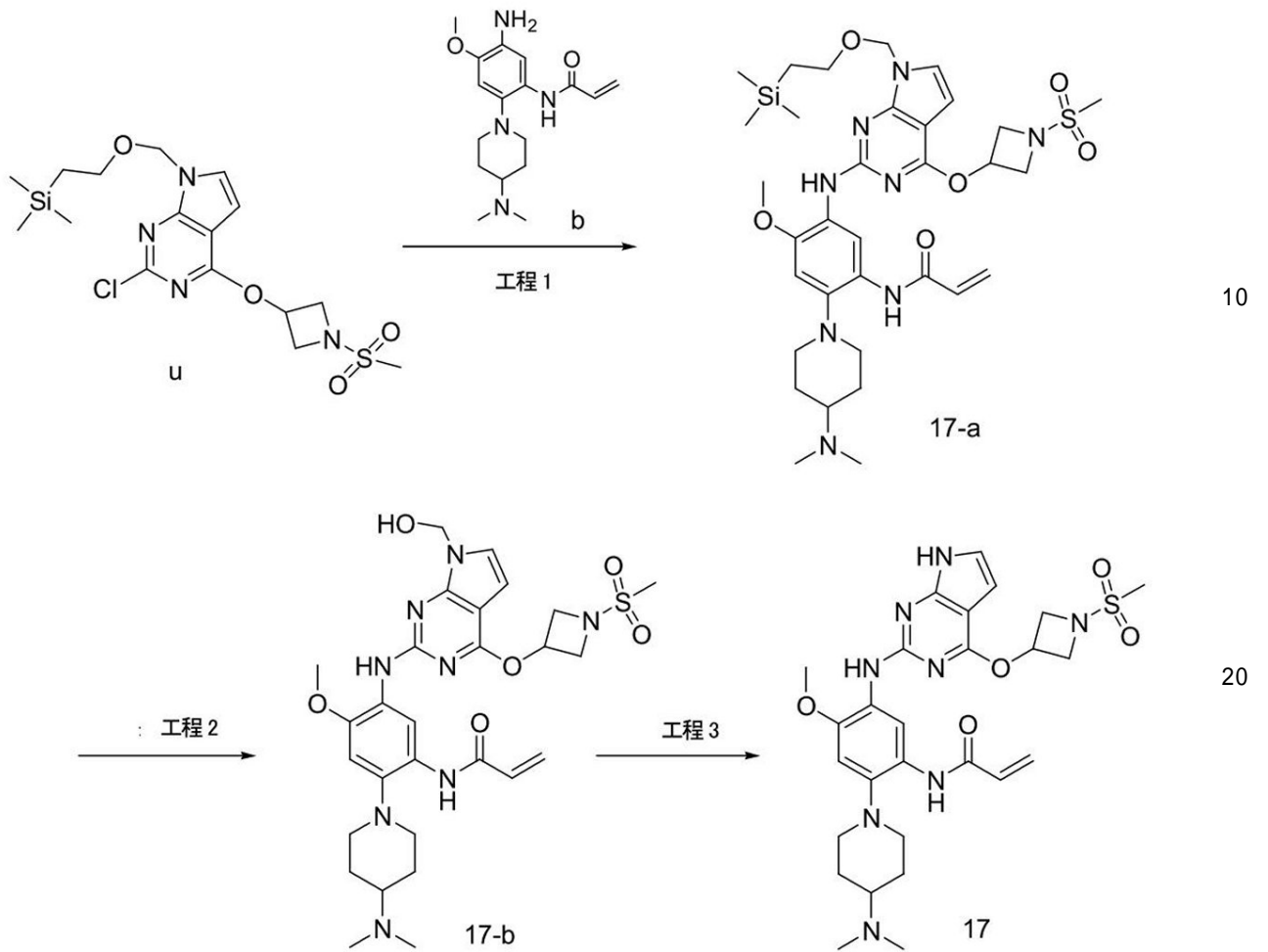
【0151】

実施例17 N-(2-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(4-(1-(メタンズルホニル)アゼチジン-3-イルオキシ)-7H-ピロロ[2,3-D]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド(17)の製造

化合物uと化合物bを原料とし、実施例9の方法を参照して製造した。表題化合物17を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):585[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 9.18 (s, 1H), 6.97 (d, 1H, J = 3.2), 6.89 (s, 1H), 6.59 (dd, J = 17.6, 9.6 Hz, 1H), 6.44 (d, J = 16.8, 1H), 6.41 (d, J = 4.0, 1H), 5.82 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 5.82-5.79 (m, 1H), 4.40-4.34 (m, 2H), 4.10-4.05 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.22-3.15 (m, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.93 (s, 6H), 2.87-2.82(m, 2H), 2.20-2.13 (m, 2H), 2.06-1.91 (m, 2H)

30

【化60】

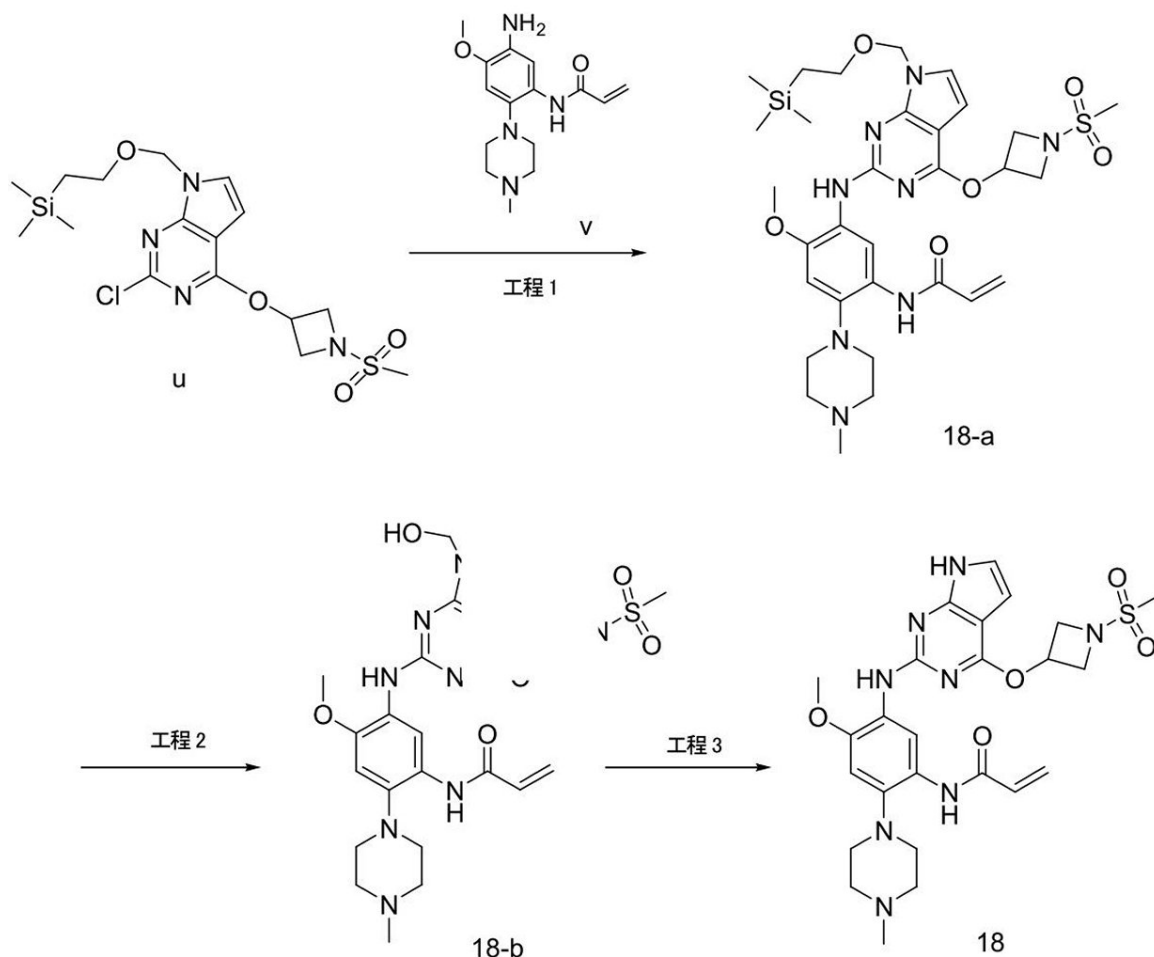


【0152】

実施例18 N-(4-メトキシ-2-(4-メチルピペラジン-1-イル)-5-(4-(1-(メタンスルホニル)アゼチジン-3-イルオキシ)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド(18)の製造

30

【化61】



化合物uと化合物vを原料とし、実施例9の方法を参照して製造した。表題化合物18を得、黄色固体であった。MS m/z (ESI):557[M+H]⁺。

【0153】

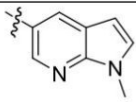
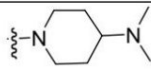
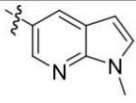
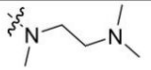
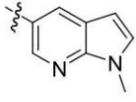
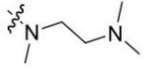
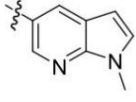
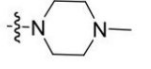
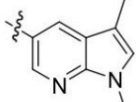
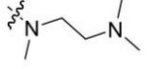
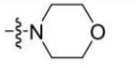
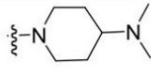
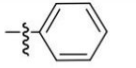
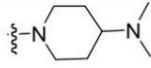
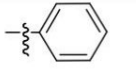
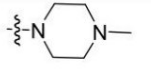
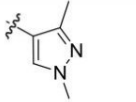
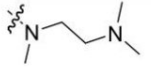
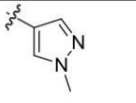
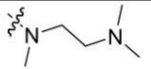
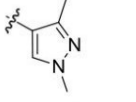
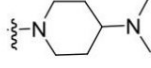
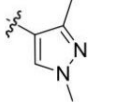
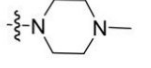
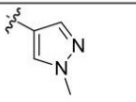
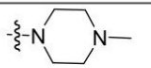
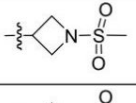
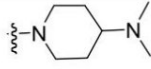
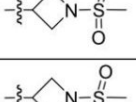
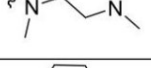
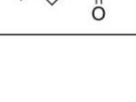
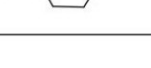
実施例19~34

化合物19~34は式(1)で表され、ここで、置換基A、X、R₀、R₁、R₂、R₃は下記表の通りである。化合物19~34は下記表に示された異なる構造によって化合物1~18と類似の方法によって製造した。使用された出発原料および中間体は当業者が既存の方法によって製造することができる。

【0154】

30

【表 A】

化合物 番号	A 環	R ₃	R ₀	R ₁	R ₂	X	MS[M+H] ⁺
19			H	H	CH ₃	共役結合	580
20			CH ₃	H	H	共役結合	554
21			CH ₃	H	CH ₃	共役結合	568
22			H	H	Cl	共役結合	572
23			H	H	H	共役結合	554
24			H	H	CH ₃	共役結合	535
25			H	H	CH ₃	共役結合	526
26			CH ₃	H	H	共役結合	498
27			CH ₃	H	H	共役結合	518
28			CH ₃	H	Cl	共役結合	538
29			CH ₃	H	H	共役結合	544
30			H	H	Cl	共役結合	536
31			CH ₃	H	H	共役結合	502
32			CH ₃	H	H	0	599
33			H	H	CH ₃	0	573
34			H	H	Cl	0	591

10

20

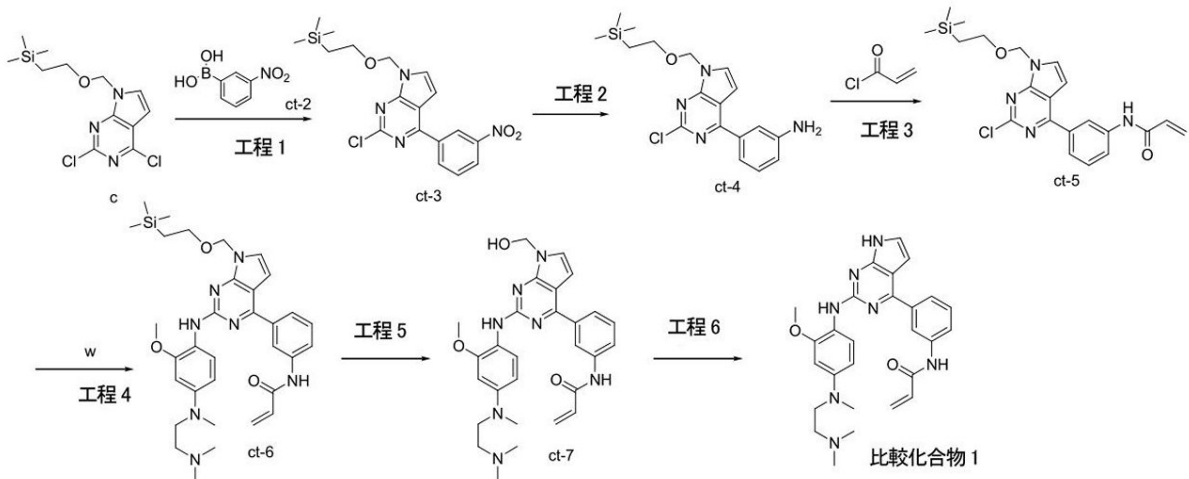
30

40

【 0 1 5 5 】

比較例

【化62】



10

工程1：化合物cとct-2を出発原料とし、化合物iの方法を参照して製造し、化合物ct-3を得、収率は65%であった。MS m/z(ESI)：405 [M+H]⁺。

工程2～3：化合物ct-3を原料とし、化合物aにおける工程3と4の方法を参照して製造し、化合物ct-5を得、収率は55%であった。MS m/z(ESI)：429 [M+H]⁺。

【0156】

工程4：化合物ct-5とwを出発原料とし、実施例1における工程1の方法を参照して製造し、化合物ct-6を得、収率は11.7%であった。MS m/z(ESI)：616 [M+H]⁺。

20

工程5～6：化合物ct-6を原料とし、実施例3の方法を参照して製造し、比較化合物1を得、収率は11%であった。MS m/z(ESI)：486[M+H]⁺。

【0157】

試験例1：野生型EGFRおよび突然変異型EGFRキナーゼに対する活性阻害試験

以下のz'-lyte試験方法で使用された試薬はいずれもInvitrogenから購入された。

z'-lyte方法は、T790M/L858R二重突然変異型EGFRキナーゼ(Invitrogen, PV4879)、野生型EGFRキナーゼ(Invitrogen, PV3872)に対する阻害活性を測定するものである。

10 μL T790M/L858Rキナーゼ反応系における各成分の使用濃度は、25 μM ATP、0.1 ng/μL T790M/L858Rキナーゼ、2 μM Tyr04 基質(Invitrogen、PV3193)であった。本発明の上記実施例で製造された化合物(すなわち被験物)を入れた後のDMSOの濃度は2 vol%であった。

30

10 μL野生型EGFRキナーゼ反応系における各成分の使用濃度は、10 μM ATP、0.8 ng/μL野生型EGFRキナーゼ、2 μM Tyr04 基質(Invitrogen、PV3193)であった。被験物を入れた後のDMSOの濃度は2 vol%であった。

【0158】

室温で10 mMの薬物保存液を溶解させ、最終濃度が4～0.002 μMになるように8 vol% DMSO溶液で勾配希釈した。各ウェルに2.5 μLの被験物溶液および5 μLの反応緩衝液で希釈されたT790M/L858Rキナーゼ(または野生型EGFRキナーゼ)とTyr04基質の混合物を入れ、さらに2.5 μLのATPを入れて反応を開始させた。ここで、C1ウェルはATPの代わりに反応緩衝液を入れ、C2ウェルは何らの薬物も入れず、C3ウェルは説明書の記載に従ってリン酸化された基質を入れた。25 のシェーカーで光を避けて60分間反応させた。5 μLのDevelopment Reagent B(Invitrogen、TR-FRET希釈緩衝液で希釈したもの)を入れ、室温でシェーカーで60分間反応させた。VictorX5蛍光マイクロプレートリーダー(PerkinElmer)でプレートを読み取り、励起波長が405 nmで、発光波長が450 nmおよび520 nmの光吸収を測定した(たとえば、C3_{520nm}はC3ウェルの520 nmにおける読み取り値を示す)。

40

【0159】

抑制率の計算方法(Invitrogen、PV3193の説明書を参照する)は以下の通りである。

1、ER=クマリン発光(450nm)/フルオレセイン発光(520nm)

2、リン酸化率= (1 - ((ER × C3_{520nm} - C3_{450nm}) / ((C1_{450nm} - C3_{450nm}) + ER × (C3_{520nm} - C1_{520nm})))

50

$0_{nm})) \times 100\%$

3、抑制率(IR)=(1-(被験化合物のリン酸化率)/(C2のリン酸化率)) × 100%

XLFIT 5.0ソフト(英国IDBS社)でフィッティングして半数阻害濃度IC₅₀を算出した。

【 0 1 6 0 】

【表 1】

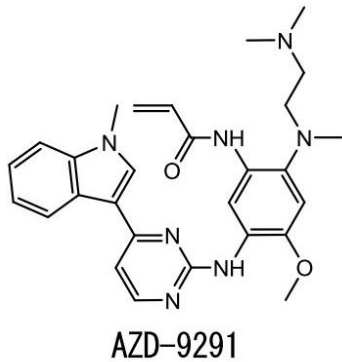
表 1 酵素の阻害活性と選択的阻害活性

化合物 番号	T790M/L858R (IC ₅₀ /μM)	EGFR WT (IC ₅₀ /μM)	酵素に対する選択的抑制活性 [IC ₅₀ (EGFR WT)/IC ₅₀ (T790M/L858R)]
1	0.010	0.393	39.3
2	0.045	>1	>22.2
3	0.005	0.088	17.6
4	0.001	0.039	39
5	0.003	0.015	5
6	0.013	0.347	27
7	0.020	0.315	16
9	0.022	>1	>45.5
10	0.024	0.578	24.1
11	0.197	>1	>5.1
12	0.098	>1	>10.2
13	0.051	>1	>19.6
14	0.110	>1	>9.1
AZD-9291	0.002	0.003	1.5
BIBW2992	0.005	0.001	0.2
比較化合物 1	1.002	>10	>10

【 0 1 6 1 】

表1から、陽性コントロールのBIBW2992(アファチニブ)およびAZD-9291(製造方法はW02 013014448A1を参照し、構造は以下の通りである)と比べ、本発明の実施例化合物1-14はEGFR突然変異型酵素(T790M/L858R)に対して強い阻害活性を表したが、EGFR野生型酵素(T790M WT)に対する阻害活性が弱いことがわかり、そして研究によって、アクリルアミド基の置換位置を変えると、化合物はほとんど活性がないことが見出された。そのため、本発明の化合物はEGFR突然変異型酵素に対して優れた選択的阻害活性を有する。

【化63】



10

【0162】

試験例2：EGFR T790M阻害剤のA431（EGFR野生型）およびH1975（EGFR T790M突然変異）細胞EGFRリン酸化レベルに対する阻害（ELISA法で測定）

以下の方法における試薬、溶液の調製方法および細胞処理と分解液の調製手順、ELISA検出手順はいずれもR&D DYC3570、R&D DYC1095EおよびR&D DYC1095BEの説明書に従って行われた。

【0163】

一、試薬と溶液

細胞分解緩衝液：1%（W/V）NP-40，20 mM Tris（pH 8.0），137 mM NaCl，10%（V/V）グリセロール，1 mM NaVO_3 ，2 mM EDTA。 20

細胞分解液：細胞分解緩衝液 + 10 $\mu\text{g/mL}$ アプロチニン(Aprotinin) (Sigma)、10 $\mu\text{g/mL}$ ロイペプチン(Leupeptin) (Sigma)で、使用直前に調製する。

1×PBS緩衝液：NaCl：0.137M，KCl：0.0027M， $\text{Na}_2\text{PO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ：0.01M， KH_2PO_4 ：0.0015 M，pH7.4。

洗浄緩衝液：0.05%（V/V）Tween-20を含有するPBS緩衝液。

検出抗体希釈液：20 mM Tris，137 mM NaCl，0.05%（V/V）Tween-20，0.1%（W/V）BSA，pH 7.2-7.4。

ブロッキング液：1%（W/V）BSAを含有するPBS緩衝液。

ELISAキット：R&D DYC3570，R&D DYC1095EおよびR&D DYC1095BE。 30

【0164】

二、H1975細胞

2.1 H1975細胞処理と分解液の調製

(1) H1975細胞（中国科学院典型培養物寄託委員会細胞ライブラリー）を 1×10^4 /ウェルの密度で96ウェルプレートに接種し、各ウェルに90 μL の10%（V/V）FBS含有RPMI 1640培地を入れ、37℃、5%（V/V） CO_2 で一晩培養した。

(2) 被験化合物をMTT実験における薬物希釈方法で希釈し、10 μL の希釈された化合物または希釈されたDMSOを細胞培養プレートの対応のウェルに入れ、DMSOの最終濃度は0.5%（V/V）で、37℃、5%（V/V） CO_2 で1時間培養した。DMSOだけで処理した細胞培養系を細胞コントロールとした。 40

(3) 培地を吸い捨てた後、100 μL の細胞分解液を入れ、プレートを密封して-80℃の冷蔵庫に一晩置いた。細胞分解緩衝液をブランクコントロールとした。

【0165】

2.2 ELISA検出手順

R&D DYC1095EまたはR&D DYC1095BEについての説明書に従って操作した。

(1) R&D捕獲抗体(DYC1095BEまたはDYC1095E)をPBSで1:180希釈し、希釈された抗体を100 μL /ウェルでELISA反応プレート(Corning costar 42592)に入れ、25℃のシェーカーで一晩コーティングさせた。

(2) 360 μL の洗浄緩衝液で3回洗浄した。

(3) 200 μL のブロッキング液を入れ、25℃のシェーカーで2時間インキュベートした。 50

(4) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

(5) 40 μ Lの細胞分解緩衝液と60 μ Lの細胞分解液を入れ、25 のシェーカーで2時間インキュベートした。

(6) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

【 0 1 6 6 】

(7) 検出抗体を検出抗体希釈液でキットの説明書に書いた比率で希釈し、各ウェルに100 μ Lずつ入れ、25 のシェーカーで光を避けて1時間インキュベートした。

(8) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

(9) TMB基質(R&D DY999)におけるA試薬とB試薬を1:1で混合し、各ウェルに100 μ Lずつ入れ、25 のシェーカーで光を避けて20分間インキュベートした。

(10) 2N H_2SO_4 を各ウェルに50 μ Lずつ入れた。

(11) マイクロプレートリーダーでプレートを読み取り(Thermo Multiskan K3)、それぞれ細胞コントロール、ブランクコントロールおよび薬物処理の場合のOD 450値およびOD570値を測定し、かつ同様のウェルのOD 450値から相応のOD570値を引いてそれぞれOD_{細胞}、OD_{ブランク}およびOD_{薬物処理}を得た。

2.3 データ分析

抑制率(%)=100% × (OD_{細胞} - OD_{薬物処理}) / (OD_{細胞} - OD_{ブランク})

2.4 算出した抑制率からXLFIT 5.0ソフトでIC₅₀値を計算し、表4に示す。

【 0 1 6 7 】

三、A431細胞

3.1 A431細胞の処理と試験手順

(1) A431細胞(中国科学院典型培養物寄託委員会細胞ライブラリー)を 1×10^4 /ウェルの密度で96ウェルプレートに接種し、各ウェルに90 μ Lの10%FBS含有DMEM培地を入れ、37、5% CO₂で一晩培養した。

(2) A431細胞培地を90 μ Lの無血清DMEM培地に換え、続いて一晩培養した。

(3) 被験化合物をMTT実験における薬物希釈方法で希釈し、10 μ Lの希釈された化合物または希釈されたDMSOを細胞培養プレートの相応のウェルに入れ、DMSOの最終濃度は0.5%で、37、5% CO₂で1時間培養した。その後、細胞コントロールウェル以外の各ウェルに10 μ Lの2 μ g/LのEGF(R&D, 236-EG-01M)を入れ、細胞ウェルに10 μ Lの無血清DMEMを入れて45分間培養した。EGFまたは薬物で処理していない細胞を細胞コントロールとし、薬物を入れずにEGFだけで処理した細胞をEGFコントロールとした。

(4) 培地を吸い捨てた後、100 μ Lの細胞分解液を入れ、プレートを密封して-80 の冷蔵庫に一晩置いた。

【 0 1 6 8 】

3.2 ELISA検出手順

R&D DY3570Eの説明書を参照して操作した。

(1) R&D捕獲抗体(DY3570E)をPBSで1:180希釈し、希釈された抗体を100 μ L/ウェルでELISA反応プレート(Corning costar 42592)に入れ、25 のシェーカーで一晩コーティングさせた。

(2) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

(3) 200 μ Lのブロッキング液を入れ、25 のシェーカーで2時間インキュベートした。

(4) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

(5) 40 μ Lの細胞分解緩衝液と60 μ Lの細胞分解液を入れ、25 のシェーカーで2時間インキュベートした。

(6) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

【 0 1 6 9 】

(7) 検出抗体を検出抗体希釈液でキットの説明書に書いた比率で希釈し、各ウェルに100 μ Lずつ入れ、25 のシェーカーで光を避けて1時間インキュベートした。

(8) 360 μ Lの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

(9) TMB基質(R&D DY999)におけるA試薬とB試薬を1:1で混合し、各ウェルに100 μ Lずつ

10

20

30

40

50

入れ、25 のシェーカーで光を避けて20分間インキュベートした。

(10) 2N H₂SO₄を各ウェルに50 μLずつ入れた。

(11) マイクロプレートリーダーでプレートを読み取り(Thermo Multiskan K3)、それぞれ細胞コントロール、ブランクコントロールおよび薬物処理の場合のOD 450値およびOD570値を測定し、かつ同様のウェルのOD 450値から相応のOD570値を引いてそれぞれOD_{EGF}、OD_{薬物}、OD_{細胞}を得た。

3.3 データ分析

抑制率(%)=100% × (OD_{EGF}-OD_{薬物})/(OD_{EGF}-OD_{細胞})

【0170】

3.4 算出した抑制率からXLFIT 5.0ソフトでIC₅₀値を計算し、表2に示す。

【表2】

表2 細胞活性のELISA法の測定結果

化合物番号	H1975 細胞 (IC ₅₀ /μM)	A431 細胞 (IC ₅₀ /μM)	細胞レベルの標的に対する 選択的抑制活性 [IC ₅₀ (A431 細胞)/IC ₅₀ (H1975 細胞)]
1	0.112	3.667	32.7
2	0.322	>10	31
3	0.032	0.860	26.9
4	0.015	0.254	17
5	0.016	0.119	7.4
6	0.096	1.674	17.4
7	0.204	1.874	9.2
9	0.384	>10	>26
10	0.166	8.982	54.1
13	0.329	>10	30.4
BIBW2992	0.021	0.005	0.24

表2から、陽性コントロールのBIBW2992と比べ、本発明実施例の化合物はEGFR突然変異型細胞に対して優れた選択的阻害活性を有することがわかる。

【0171】

試験例3：MTT(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド)方法による細胞阻害活性の検出

MTT試験方法の工程は当業者に熟知された方法で行われ、方法で使用された試薬はいずれも市販品として入手可能である。

まず、培地を捨てて0.25%のトリプシン/EDTA(Gibco, 25200-056)を1 mL入れた。1回洗浄した後、さらに1.5 mLのトリプシン/EDTAを入れて細胞が分離するまで付着細胞を消化した後、3.5 mLの培地を入れて消化を終了させた。消化した細胞の懸濁液を15 mL遠心管に移し、1300 rpmで3分間遠心した後、上清を捨て、かつ新鮮な培地で細胞を再懸濁させた。その後、細胞をカウントし、かつ細胞を希釈し、H1975細胞は2.78万/mLで、A431細胞およびNIH3T3細胞は3.33万/mLであった。細胞を96ウェルプレート(BD 3072)に接種し、各ウェルに90 μLずつ、一晚培養した。

【0172】

A431細胞の培地は10%FBS(Gibco, 10099-141)含有DMEM(Hyclone SH30243.01B)で、

10

20

30

40

50

NIH3T3細胞の培地は10%FBS (Gibco, 10099-141) 含有DMEM (Hyclone SH30243.01B) で、
 H1975細胞の培地は10%FBS (Gibco, 10099-141) 含有RPMI-1640 (Hyclone SH30809.01B) で、

20 μ Lの10mM被験化合物を取り、以下のような濃度勾配(2000、666.67、222.22、74.07、24.69、8.23、2.74、0.91 μ M)で200 \times 薬品を希釈し、さらに無血清培地(最終濃度: 100、33.33、11.11、3.704、1.235、0.412、0.137、0.046 μ M)を入れ、かつ細胞培養プレートの各ウェルに10 μ lの薬品をDMSOの最終濃度が0.5%にあるように入れた。

【0173】

薬品を入れた後、細胞をインキュベーターに置き、72 h培養した後、各ウェルに10 μ Lの5 mg/mlのMTT (Sigma, M5655) 溶液を入れ、さらに96ウェルプレートを37 $^{\circ}$ C、5%CO₂のインキュベーターで4 hインキュベートした。

その後、2000 rpm、5分間の条件でプレートを遠心させ、上清を捨てた後、各ウェルに150 μ LのDMSOを入れ、かつクリスタルバイオレットが全部溶解するまでシェーカーでプレートを振とうさせた。最後に、マイクロプレートリーダーで492 nmにおける光吸収を測定し、XLFIT 5.0ソフト(英国IDBS社)でIC₅₀を算出した。

【0174】

【表3】

表3 化合物の細胞生長に対する阻害活性および選択性

化合物番号	H1975 細胞 (IC ₅₀ / μ M)	A431 細胞 (IC ₅₀ / μ M)	細胞生長に対する選択的抑制活性 [IC ₅₀ (A431細胞)/IC ₅₀ (H1975細胞)]
1	0.043	1.561	36.3
2	0.143	4.006	28
3	0.029	2.930	101
4	0.029	1.122	38.7
5	0.009	0.308	34.2
6	0.079	1.801	22.8
7	0.225	1.688	7.5
9	0.300	4.342	14.5
10	0.112	3.799	34
13	0.531	3.036	5.7
BIBW2992	0.088	0.029	0.33

表3から、陽性コントロールのBIBW2992と比べ、本発明実施例の化合物は、EGFR突然変異型細胞(H1975細胞)に強い阻害活性を示したが、EGFR野生型細胞(A431細胞)に弱い阻害活性を示したため、本発明の化合物はEGFR突然変異型細胞に優れた選択的阻害活性を有することがわかる。

【0175】

10

20

30

40

【表4】

表4 化合物のNIH3T3細胞に対する毒性試験の結果

化合物番号	NIH3T3細胞のMTT試験(IC ₅₀ /μM)
1	>10
2	>10
3	>10
4	2.094
5	2.632
6	5.101
7	2.423
9	>10
10	>10
13	>10
BIBW2992	2.750

10

表4から、陽性コントロールのBIBW2992と比べ、本発明実施例の化合物は、NIH3T3細胞に高いIC₅₀値を有するため、低い毒性を示すことがわかる。

20

【0176】

体外キナーゼ活性阻害、細胞内EGFRリン酸化レベル阻害、細胞生長阻害の実験から、本発明実施例の化合物は突然変異型EGFR酵素活性、EGFRリン酸化レベル、細胞増殖に強い阻害活性を示したが、野生型EGFR酵素活性、EGFRリン酸化レベル、細胞増殖に弱い阻害活性を示したため、EGFR突然変異株細胞に対して優れた選択性を有することが示された。細胞毒性実験においてNIH-3T3細胞に極めて弱い阻害作用を有するため、低い細胞毒性を示す。そのため、このような化合物はT790M突然変異のEGFRに対して優れた選択的阻害活性および低い細胞毒性を有する。

同様に、本発明の化合物は優れた生物学的利用能を示す。

30

【0177】

各文献がそれぞれ単独に引用されるように、本発明に係るすべての文献は本出願で参考として引用する。また、本発明の上記の内容を読み終わった後、この分野の技術者が本発明を各種の変動や修正をすることができるが、それらの等価の様態のものは本発明の請求の範囲に含まれることが理解されるはずである。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 K	31/5377	(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 2 1
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	31/519
			A 6 1 K	31/5377
			A 6 1 K	45/00

(73)特許権者 516254256

シャanghai ハイヤン ファーマシューティカル テクノロジー カンパニー リミテッド
SHANGHAI HAIYAN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8
No. 8, Lane 67, Libing Road, Zhangjiang High-Tech Park, Pudong New Area, Shanghai 201203
China

(73)特許権者 516254267

ヤンツェー リバー ファーマシューティカル グループ カンパニー リミテッド
YANGTZE RIVER PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.
中華人民共和国 ジャンスウ 225321、タイツォウ、ガオガン ディストリクト、サウス
ヤンツェー リバー ロード 1
1 South Yangtze River Road, Gaogang District, Taizhou, Jiangsu 225321 China

(74)代理人 100102842

弁理士 葛和 清司

(72)発明者 ラン, ジオン

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

(72)発明者 ジン, ユンツォウ

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

(72)発明者 ツォウ, フウシェン

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

(72)発明者 レイ, ジン

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

(72)発明者 ウェン, チョン

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

(72)発明者 ツァン, ツィーユアン

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

(72)発明者 ヘー, シャンユウ

中華人民共和国 上海 201203、プードン ニュー エリア、ツァンジャン ハイ-テク
パーク、リーピン ロード、レーン 67、ナンバー 8

審査官 安藤 倫世

- (56)参考文献 国際公開第2011/140338(WO, A1)
特表2013-544273(JP, A)
国際公開第2013/169401(WO, A1)
国際公開第2012/151561(WO, A1)
特表2012-517426(JP, A)
国際公開第2009/049028(WO, A1)
特表2010-523522(JP, A)
国際公開第2009/026107(WO, A1)
国際公開第2010/034740(WO, A1)
特表2013-515786(JP, A)
国際公開第2015/127872(WO, A1)
国際公開第2015/158233(WO, A1)
Journal of Medicinal Chemistry, 2013年, Vol.56, p.7025-7048

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D

A61K

CAplus/REGISTRY(STN)