

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6921101号
(P6921101)

(45) 発行日 令和3年8月18日(2021.8.18)

(24) 登録日 令和3年7月29日(2021.7.29)

(51) Int. Cl.	F I
C07D 401/14 (2006.01)	C07D 401/14 CSP
A61K 31/506 (2006.01)	A61K 31/506
C07D 471/04 (2006.01)	C07D 471/04 113
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00

請求項の数 43 (全 85 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-546737 (P2018-546737)
(86) (22) 出願日	平成28年11月28日 (2016.11.28)
(65) 公表番号	特表2019-500413 (P2019-500413A)
(43) 公表日	平成31年1月10日 (2019.1.10)
(86) 国際出願番号	PCT/CN2016/107455
(87) 国際公開番号	W02017/092635
(87) 国際公開日	平成29年6月8日 (2017.6.8)
審査請求日	令和1年8月1日 (2019.8.1)
(31) 優先権主張番号	201510856641.1
(32) 優先日	平成27年11月30日 (2015.11.30)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)

(73) 特許権者	518188142 甘李薬業股▲フン▼有限公司 GAN&LEE PHARMACEUTICALS 中華人民共和国 101109 北京市通州区▲カク▼県鎮南鳳西一路8号 No. 8 Nanfeng West 1st Street, Huoxian, Tongzhou District Beijing 101109 China
(74) 代理人	110000796 特許業務法人三枝国際特許事務所

前置審査

最終頁に続く

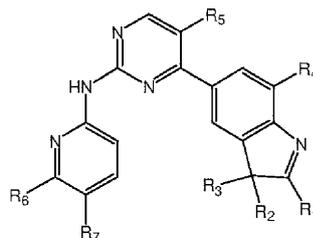
(54) 【発明の名称】 プロテインキナーゼ阻害剤及びその調製方法と医薬用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

構造式 I で表される化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

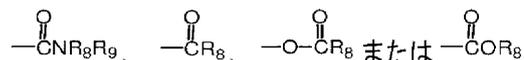
【化1】



I

(式中、R₁は、水素原子、無置換の C₁ ~ C₆ の炭化水素基、または C₁ ~ C₆ の炭化水素基、C₃ ~ C₆ のシクロアルキル基、C₁ ~ C₆ のハロゲン化アルキル基、C₁ ~ C₆ のアルコキシ基、ヒドロキシ基、ハロゲン、シアノ基、-NR₈R₉、

【化2】



から選択される一個または複数の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択され；

R_2 及び R_3 は、それぞれ独立に $C_1 \sim C_6$ アルキル基；

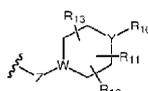
あるいは、 R_2 、及び R_3 は、それぞれが結合する炭素原子とともに飽和または不飽和の 3 ~ 7 員環を形成し；

R_4 と R_5 は、それぞれ独立に水素、ハロゲンから選択され、且つ、 R_4 と R_5 の少なくとも 1 つはハロゲンであり；

R_6 は、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択され；

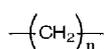
R_7 は

【化3】



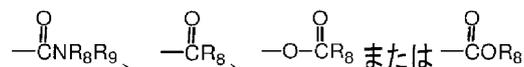
であり、そのうち、Zはカルボニル基、O、S、イミノ基、スルホニル基または

【化4】



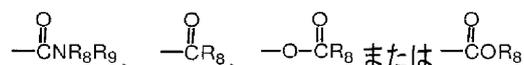
であり、 n は 0 ~ 4 の整数であり；WとYは、それぞれ独立にC、N、OまたはSである。ただし、WとYが同時にCであってはならず、そして、ZがOまたはSである場合、WはCであり； R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} は、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシ基、ヒドロキシ基、ハロゲン、シアノ基、 $-\text{N}R_8R_9$ 、

【化5】



から選択され、そして、 $Y = \text{N}$ の時、 R_{10} が NH_2 、 $-\text{NHR}_8$ 、 $-\text{NR}_8R_9$ 、

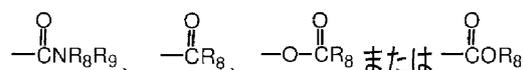
【化6】



であってはならず；

あるいは、 R_6 と R_7 は、それらが結合する炭素原子とともに、N、OまたはSから選択される一個または複数を含む 5 ~ 7 員複素環を形成し、そして、前記 5 ~ 7 員複素環は、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシ基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、ヒドロキシ基、ハロゲン、シアノ基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}_8$ 、 $-\text{NR}_8R_9$ 、

【化7】



から選択される一個または複数の置換基で置換され；

そのうち、 R_8 と R_9 は、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基から選択される。))

【請求項2】

R_1 は、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、または $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシ基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択される一個または複数の置換基で置換された C

10

20

30

40

50

$C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択される

ことを特徴とする、請求項1に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項3】

R_1 は、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、または $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択される一個または複数の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択される、請求項1又は2に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

10

【請求項4】

R_1 は、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の直鎖または分岐鎖アルキル基、無置換の $C_2 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルケニル基から選択される、請求項1又は2に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

20

【請求項5】

R_1 は、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルキル基から選択され、 R_2 及び R_3 は、それぞれ独立に無置換の $C_1 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルキル基である、請求項1又は2に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項6】

R_2 と R_3 が、それらが一緒に結合する炭素原子とともに、飽和または不飽和の3～7員環を形成する

30

ことを特徴とする、請求項1に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項7】

R_2 と R_3 が、それらが一緒に結合する炭素原子とともに、飽和の3～7員環を形成する、請求項1に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

40

【請求項8】

R_4 と R_5 が、それぞれ独立に、水素、フッ素または塩素であり、且つ R_4 と R_5 の少なくとも1つがフッ素または塩素である

ことを特徴とする、請求項1～7のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

50

【請求項 9】

R₄とR₅が、それぞれ独立に、水素またはフッ素であり、且つR₄とR₅の少なくとも1つがフッ素である、請求項1～7のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 10】

R₄が水素またはフッ素であり、R₅がフッ素である、請求項1～7のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

10

【請求項 11】

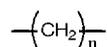
R₆が、水素原子またはC₁～C₆のアルキル基から選択されることを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

20

【請求項 12】

Zがカルボニル基、Oまたは

【化 8】



であり、nが0～4の整数であり；

WとYがそれぞれ独立にCまたはNから選択され、；

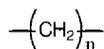
ことを特徴とする、請求項1～11のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

30

【請求項 13】

Zが

【化 9】



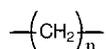
であり、nが0～2の整数である、請求項12に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

40

【請求項 14】

Zが

【化 10】



であり、nが0又は1である、請求項12に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチ

50

オマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 15】

WとYがそれぞれ独立にCまたはNから選択され、ただしWとYは同時にCではない、請求項 12 ~ 14 の何れか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 16】

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} と R_{13} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、ヒドロキシ基または $-NR_8R_9$ から選択され、そして、 $Y = N$ の時、 R_{10} が $-NR_8R_9$ ではない、請求項 12 ~ 15 の何れか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

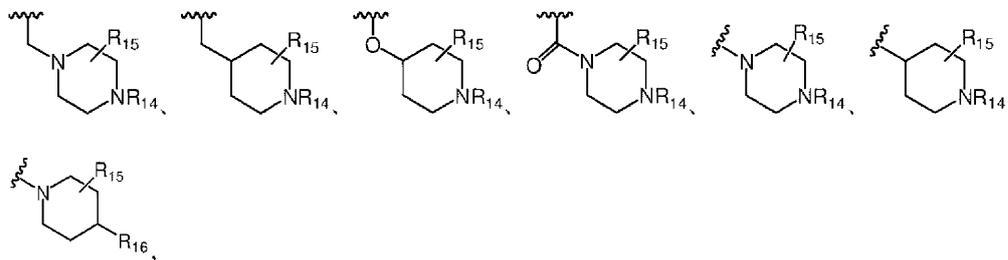
【請求項 17】

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} と R_{13} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基または $-NR_8R_9$ から選択される、請求項 12 ~ 15 の何れか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 18】

R_7 が以下のような構造の置換基から選択され、

【化 11】



そのうち、 R_{14} と R_{15} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基またはヒドロキシ基から選択され、 R_{16} が、水素原子、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、ヒドロキシ基または $-NR_8R_9$ から選択される

ことを特徴とする、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 19】

R_{14} と R_{15} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロ

アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基から選択され、 R_{16} が、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基または $-NR_8R_9$ から選択される、請求項 18 に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 20】

R_8 と R_9 が、それぞれ独立に、水素原子と $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択される、請求項 18 又は 19 に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

10

【請求項 21】

R_6 と R_7 が、それらが結合する炭素原子とともに、N、O または S から選択される一個または複数を含む 6 員複素環を形成する

ことを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

20

【請求項 22】

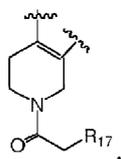
R_6 と R_7 が、それらが結合する炭素原子とともに一個の N を含む 6 員複素環を形成する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 23】

R_6 と R_7 が、それらが結合する炭素原子とともに以下のような化学構造を形成し、

30

【化 12】



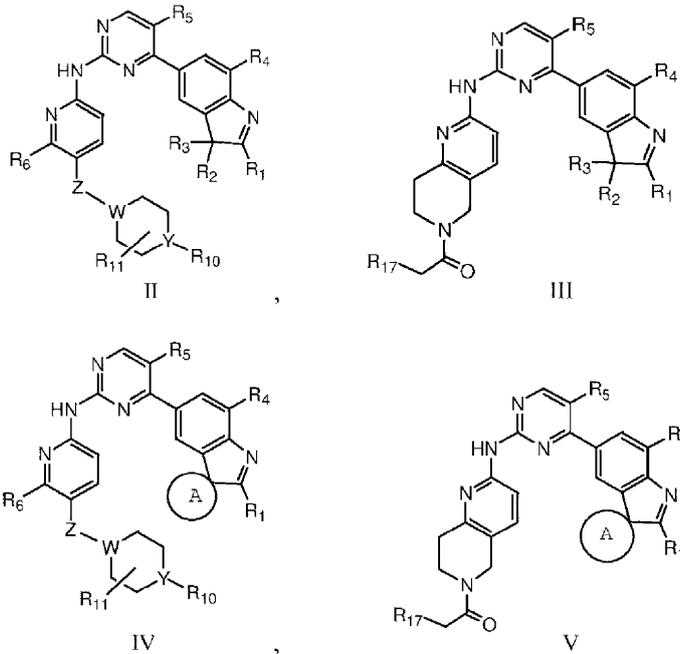
そのうち、 R_{17} はヒドロキシ基である、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

40

【請求項 24】

構造式 II、III、IV または V で表される化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式 II、III、IV または V で表される化合物、それぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【化13】



10

(式中、 R_1 、 R_2 と R_3 の定義は請求項1に記載のとおりであり、 R_4 と R_5 の定義は請求項1に記載のとおりであり； R_6 の定義は請求項1に記載のとおりであり； R_{10} と R_{11} の定義は請求項1に記載のとおりであり； R_{17} の定義は請求項23に記載のとおりであり；Z、WとYの定義は請求項1に記載のとおりであり；

20

A環は飽和の3～7員環である。)

【請求項25】

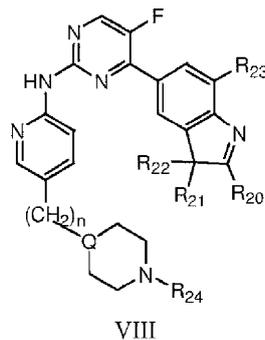
A環は飽和3～6員環である、請求項24に記載の化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式II、III、IVまたはVで表される化合物、それぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

30

【請求項26】

構造式VIIで表される化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式VIIの化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【化14】



40

(式中、 R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} は、それぞれ独立に、 $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択され、あるいは、 R_{20} は $C_1 \sim C_4$ のアルキル基であり、 R_{21} と R_{22} は、それらが一緒に結合する炭素原子とともに、5～6員飽和環を形成し； R_{23} は水素またはフッ素から選択され；n

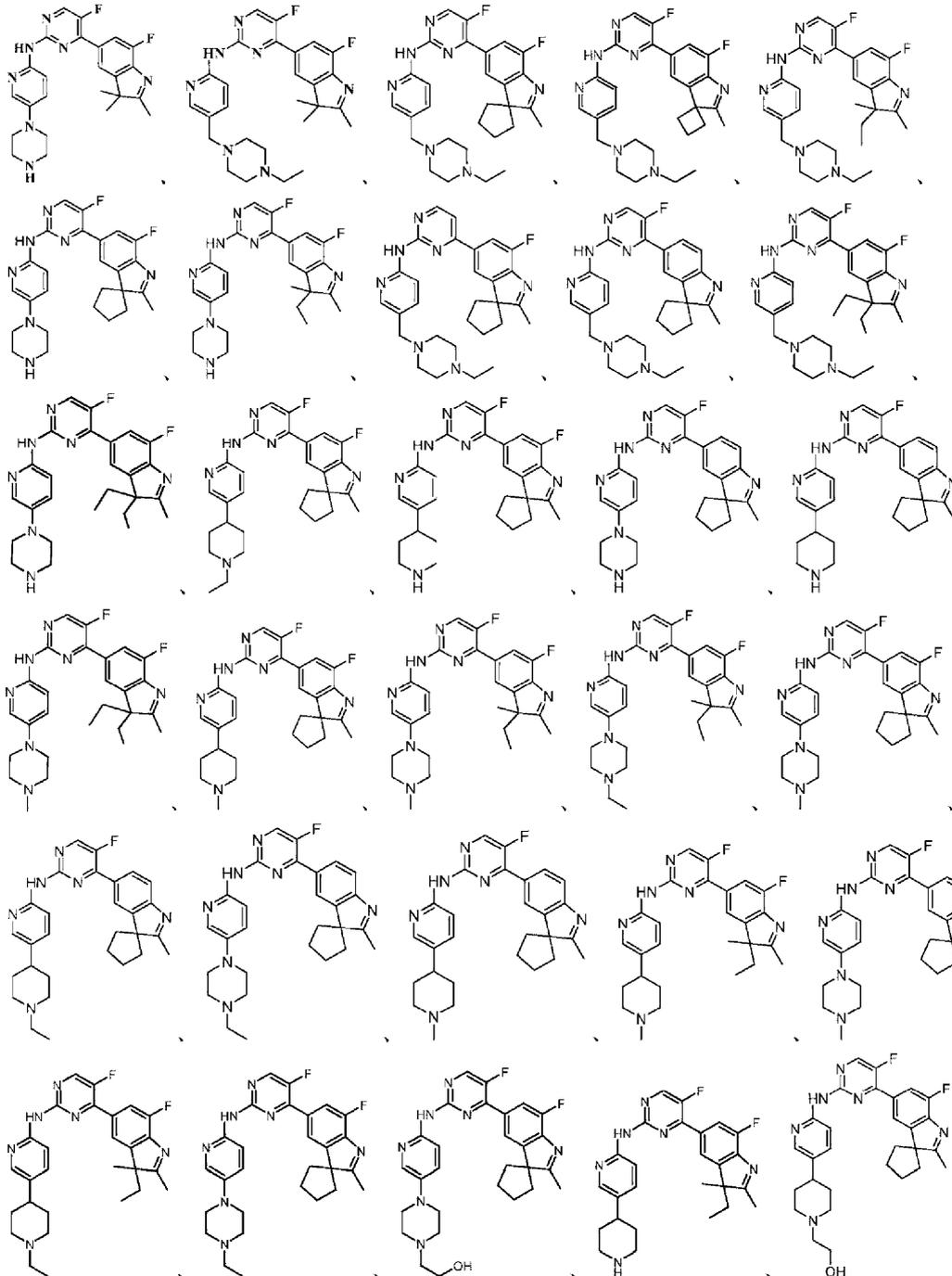
50

は0または1であり； R_{24} は、水素、 $C_1 \sim C_4$ のアルキル基または $C_1 \sim C_4$ のヒドロキシアルキル基から選択され、 Q はCまたはNである。）

【請求項27】

以下の構造の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物、またはそれらの混合物形式、あるいは、前記化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物、またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【化15】

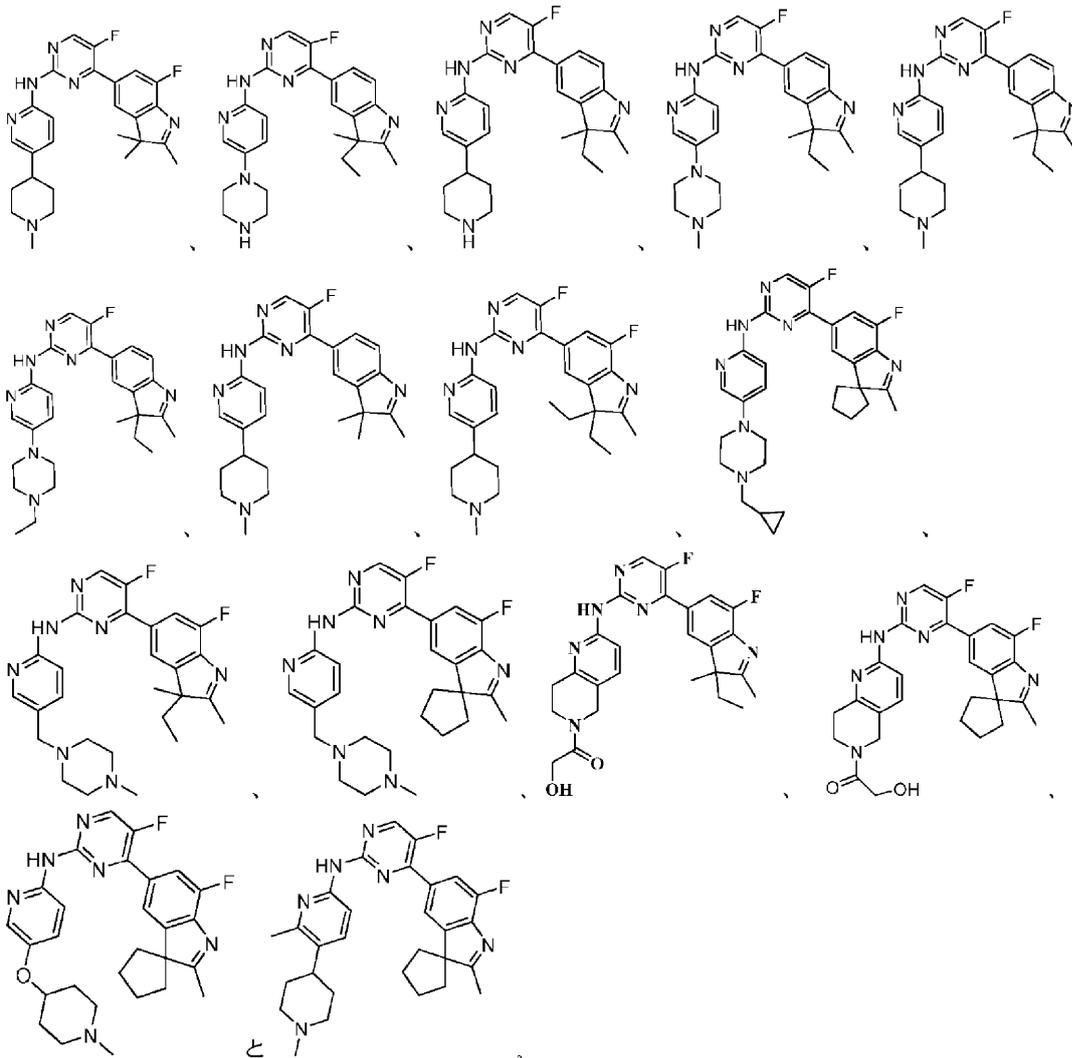


10

20

30

40



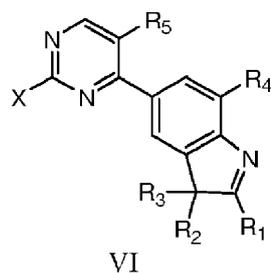
【請求項 28】

前記同位体標識化合物が重水素化合物であることを特徴とする、請求項 1 ~ 27 の何れか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 29】

構造式 VI で表される化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式 VI の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【化 16】



VI

(式中、 R_1 、 R_2 と R_3 の定義は請求項 1 に記載のとおりであり； R_4 と R_5 の定義は請求項 1 に記載のとおりであり；X は脱離基またはアミノ基である。)

【請求項 30】

Xがハロゲンまたはアミノ基である、請求項 29 に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 V I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 31】

Xがフッ素、臭素、塩素又はアミノ基である、請求項 29 又は 30 に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 V I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

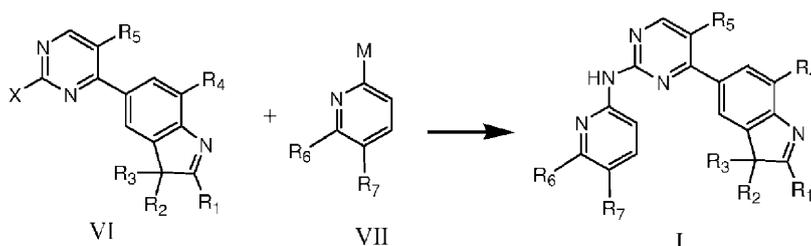
【請求項 32】

前記同位体標識化合物が重水素化化合物であることを特徴とする、請求項 29 ~ 31 の何れか一項に記載の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式 V I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物。

【請求項 33】

構造式 V I と構造式 V I I で表される化合物が溶媒において、パラジウム触媒カップリング反応を経て構造式 I で表される化合物を得ることを含む、構造式 I で表される化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、構造式 I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物の調製方法。

【化 17】



(式中、 R_1 、 R_2 と R_3 の定義は請求項 1 に記載のとおりであり、 R_4 と R_5 の定義は請求項 1 に記載のとおりであり； R_6 の定義は請求項 1 に記載のとおりであり； R_7 の定義は請求項 1 に記載のとおりであり；XとMは、それぞれ独立に、脱離基またはアミノ基であり、XとMのうちの一つだけがアミノ基であり、かつ1つが必ずアミノ基である。)

【請求項 34】

前記脱離基がハロゲンである、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記脱離基がフッ素、臭素または塩素である、請求項 33 又は 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記同位体標識化合物が重水素化化合物であることを特徴とする請求項 33 ~ 35 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 37】

請求項 1 ~ 28 の何れか 1 項に記載の化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式、あるいは、前記化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、同位体標識化合物またはそれらの混合物形式の薬学的に許容される塩または溶媒和物を含む、細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

【請求項 3 8】

前記細胞増殖障害性疾患が、哺乳動物の癌、ヒトの癌、A I D S、アテローム性動脈硬化症及び血管ステント植え込み後の再狭窄から選択される少なくとも一種である、請求項 3 7 に記載の細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

【請求項 3 9】

前記ヒトの癌は、悪性固形腫瘍及び悪性非固形腫瘍からなる群より選択される少なくとも一種である、請求項 3 8 に記載の細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

【請求項 4 0】

前記ヒトの癌は、乳癌、肺癌、前立腺癌、白血病、脳癌、神経膠腫、及び胃癌からなる群より選択される少なくとも一種である、請求項 3 9 に記載の細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

10

【請求項 4 1】

前記治療は、前記医薬品性剤を唯一の活性成分として、又は、生物活性を有する他の活性物質と併用する、請求項 3 7 ~ 4 0 の何れか 1 項に記載の細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

【請求項 4 2】

前記生物活性を有する他の活性物質は、抗癌剤、免疫抑制剤、及び抗ウイルス剤からなる群より選択される少なくとも一種であり、

前記抗癌剤は、シクロホスファミド、イソホスファミド、チオテパ、セムスチン、塩酸メクロレタミン、ブスルファン、クロラムブシル、フェニルアラニンマスタード、ニトロカファン、ホルミルメルファラン、カルムスチン、ロムスチン、アルトレタミン、ジプロモマンニトール、テモゾロミド、シタラビン、フルオロウラシル、メトトレキサート、ヒドロキシ尿素、テガフル、メイソインジゴ、メルカプトプリン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、アクチノマイシン D、マイトマイシン、アドリアマイシン、ピンヤンマイシン、エピルピシン、ピラルピシン、ダウノルピシン、プレオマイシン、ホモハリングトニンおよびその誘導体、ピンクリスチンおよびその誘導体、ヒドロキシカンプトテシンおよびその誘導体、ピンブラスチンおよびその誘導体、エトポシドおよびその誘導体、ビンデシンおよびその誘導体、ピンブラスチンおよびその誘導体、ピノレルビン酒石酸塩、パクリタキセルおよびその誘導体、コルヒチンおよびその誘導体、エレメンおよびその誘導体、アミノグルテチミド、タモキシフェン、デキサメタゾン、デュタステリド、フルタミド、ゴナドレリン、酢酸リュープロレリン、レトロゾール、スニチニブ、ソラフェニブ、イマチニブ、ゲフィチニブ、エルロチニブ、バンデタニブ、パゾパニブ、ラパチニブ、カネルチニブ、アフアチニブ、ムブリチニブ、ダサチニブ、ネラチニブ、テモゾロミド、トラスツズマブ、ペルツズマブ、リツキシマブ、パニツムマブ、ベバシズマブ、イピリムマブ、オフアツムマブ、ラムシルマブ、エベロリムス、シロリムス、およびゾタロリムスからなる群より選択される少なくとも一種である、請求項 4 1 に記載の細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

20

30

【請求項 4 3】

前記同位体標識化合物が重水素化化合物である、請求項 3 7 ~ 4 2 の何れか 1 項に記載の細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤。

40

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0 0 0 1】

本出願は、2 0 1 5 年 1 1 月 3 0 日に出願された中国発明特許第 C N 2 0 1 5 1 0 8 5 6 6 4 1 . 1 号の優先権を主張し、引用により前記出願全体を本明細書に援用する。

【技術分野】

【0 0 0 2】

本発明は医薬分野に属するものであり、具体的には、プロテインキナーゼ阻害作用を有する一連の置換 2 - (ピリジン - 2 - イル)アミノピリミジン系化合物、及びその調製方法と医薬用途に関するものである。

50

【背景技術】

【0003】

細胞周期は、細胞生命活動の重要な部分であり、正常な細胞生長過程において、細胞周期の進行の実現は、細胞周期に対する各レベル制御因子の正確且つ厳密な制御に依存するものである。これらの制御因子の核心は、サイクリン依存性キナーゼ (Cyclin Dependent Kinase, CDK)、及びその正、負の制御因子---サイクリン (Cyclin) とサイクリン依存性キナーゼ阻害剤 (CDI) である。サイクリン依存性キナーゼとサイクリンから形成されるCDK-サイクリン複合体は、細胞の生長、増殖、休眠またはアポトーシスに入ることに関与するものである。細胞周期の過程において、サイクリンは周期的且つ連続的に発見や分解し、そして、それらが瞬間的に活性化させたCDKにそれぞれ結合し、CDK活性により、異なる基質のリン酸化が促進され、細胞周期の異なる段階に対する促進および形質転換が実現される。

10

【0004】

現在、CDKファミリーでは13個のメンバーが発見され、それぞれがCDK1~CDK13である。そのうち、CDK1、CDK2、CDK3、CDK4及びCDK6が、細胞増殖の調節に関するものであり、CDK7、CDK8、CDK9、CDK11、CDK12及びCDK13が、転写の制御に関与するものである。

【0005】

サイクリンはA-Lに分けられ、異なるCDKはそれぞれ、異なるサブタイプのサイクリンと結合する。その中で、サイクリンDファミリー (サイクリンD1、D2、D3) はG1期で発見し始め、CDK4とCDK6と結合してそれらを活性化させ、CDK4/6-サイクリンD複合体を形成し、網膜芽細胞腫タンパク質 (Retinoblastoma protein, Rb) を含む一連の基質をリン酸化させる。Rbはリン酸化された後、それと結合して阻害されたタンパク質、主に転写因子E2F等を放出し、E2Fは、S期に入るのに必要となるいくつかの遺伝子を活性化させ、転写させる (馬珂、CDK4/6阻害剤の抗腫瘍効果の研究進展、「外国医薬品・抗生物質分冊」2013、34(5):197~202)。様々な原因によりバランスが崩れると、細胞増殖を促進するシグナルが増強されても、あるいは細胞増殖を阻害するシグナルがある程度まで減少されても、細胞増殖はいずれも制御不能となり、その結果、腫瘍が生じる。研究により、約80%のヒト腫瘍にはサイクリンD-CDK4/6-INK4-Rb経路の異常があることが見出されている (1. Malumbres M, Barbacid M., To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer [J]. Nature Reviews Cancer, 2001, 1(3): 222; 2. Shapiro GI., Cyclin-dependent kinase pathways as targets for cancer treatment [J]. J Clinical Oncology, 2006, 2(11): 1770)。この経路の変化により、G1期の進行が加速され、腫瘍細胞の増殖が速められ、生存の優勢が得られる。したがって、それに対する介入は一種の治療策となっており、CDK4/6は潜在的な抗腫瘍標的の1つになっている。

20

30

【0006】

CDK4/6の抗腫瘍標的としての利点は以下のとおりである。(1)ほとんどの増殖細胞は、CDK2またはCDK4/6によって増殖するが、CDK4/6阻害剤は「pan-CDK阻害剤」の細胞毒性、例えば骨髄抑制および腸応答を示さない。(2)前臨床試験により、細胞のサイクリンDのレベルが上昇し、またはp16INK4aが活性を失うと、細胞の薬物感受性を増加できることが証明されている。正常細胞と比較して、腫瘍細胞には上記の現象が存在するため、薬物のターゲティングをある程度増加させている。

40

【0007】

CDKs阻害剤は、腫瘍の成長を阻害することに加えて、他の疾患の治療に使用されることもある。例えば、心血管障害アテローム性動脈硬化症、血管ステント植え込み後の再狭窄および異常な細胞増殖による他の心血管障害を含む心血管障害の治療に使用される。

50

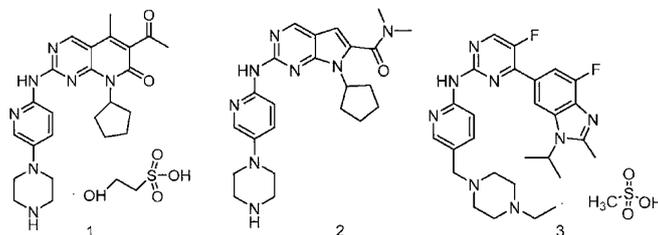
また、例えば、真菌、原生動物寄生虫（例えば、熱帯熱マラリア原虫）、及びDNAとRNAウイルス感染に起因する、マラリア、AIDSなどを含む疾患の治療に使用される。そのほか、研究により、CDK阻害剤が自己免疫疾患（例えば、乾癬、慢性関節リウマチ、糸球体腎炎およびエリテマトーデスなど）にも使用でき、炎症細胞の増殖を阻害することも見出されている。

【0008】

WO9811095で細胞キナーゼ阻害活性を有する一連の2-ピリミジンアミン類化合物が開示されてから、このような母核構造に基づいて、従来技術では、CDK4/6阻害活性を有する多くの化合物が次々と発見され、その中のいくつかは有望な候補薬となり、さらに臨床第III相試験の段階に入ったものもある。例えば、WO2003062236で開示された、別称がPalbociclibである化合物PD0332991は、ファイザーにより開発されたものであり、その構造式が1に示すとおりである。CDK4およびCDK6を阻害するPD0332991のIC50は、それぞれ11nmol/Lと15nmol/Lである。CDK2、CDK1及びCDK5を阻害するIC50は10µmol/Lより大きい(Fry DW, Harvey PJ, Keller PR, et al. Specific inhibition of cyclin-dependent kinase 4/6 by PD 0332991 and associated anti-tumor activity in human tumor xenografts [J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2004, 3(11):1427)。Novartis AGが研究している化合物LEE011(WO2011101409によって公開)の構造式は2に示すとおりである。別称がBemaciclibである化合物LY2835219(WO2010075074によって公開)の構造式は3に示すとおりである。報告によると、そのCDK4及びCDK6を阻害するIC50がそれぞれ2nmol/Lと9.9nmol/Lである(Lawrence M.G., S.F. Cai, X. Lin et al. Preclinical characterization of the CDK4/6 inhibitor LY2835219: in-vivo cell cycle-dependent/independent anti-tumor activities alone/in combination with gemcitabine [J]. Invest New Drugs, (2014), 32:825)ことがわかる。現在、LY2835219の第III相臨床試験は、Eli Lilly and Companyによって行われている。

【0009】

【化1】



【0010】

これらの化合物の出現により、CDK4/6は明らかな抗腫瘍標的となっている。出願人は、一連の新しい置換2-(ピリジン-2-イル)アミノピリミジン類化合物についても特許出願(出願番号:201510708487.3、出願日:2015年10月27日)を提出し、これらの化合物は、CDK4/6の活性に対する選択的な阻害を示している。

【0011】

悪性腫瘍は依然として、ヒトの健康を深刻に脅かしている。活性、選択性及びバイオアベイラビリティがより良いCDK4/6阻害剤を開発し、癌などの異常な細胞増殖に関連する疾患の治療に対するより多くの新しい選択を臨床に提供するの、非常に必要かつ緊

10

20

30

40

50

急なことである。

【発明の概要】

【0012】

上記問題について、本発明の目的の一つは、新しい置換2-(ピリジン-2-イル)アミノピリミジン類化合物を提供することである。本発明が提供する化合物は、選択的にサイクリンキナーゼCDK4/6を阻害でき、細胞をG1期に停止させるため、細胞増殖障害性疾患の治療に用いられる。

【0013】

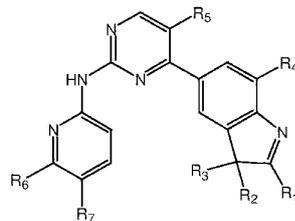
上記の技術効果を達成するため、本発明は以下のような技術方案を採用する。

【0014】

一方では、本発明は、構造式Iの化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、構造式Iの化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物を提供する。

【0015】

【化2】



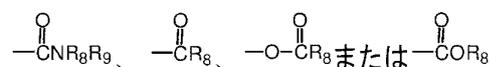
I

【0016】

式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 は、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、または $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシ基、ヒドロキシ基、ハロゲン、シアノ基、 $-NR_8R_9$ 、

【0017】

【化3】



【0018】

から選択される一個または複数の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択され；

あるいは、 R_1 、 R_2 、 R_3 のいずれか2つは、それぞれが結合する炭素原子とともに飽和または不飽和の3～7員環を形成し；

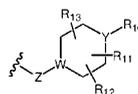
R_4 と R_5 は、それぞれ独立に水素、ハロゲンから選択され、且つ、 R_4 と R_5 の少なくとも1つはハロゲンであり；

R_6 は、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択され；

R_7 は

【0019】

【化4】

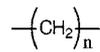


【0020】

であり、そのうち、Zはカルボニル基、O、S、イミノ基、スルホニル基または

【0021】

【化5】



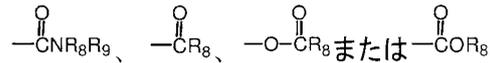
【0022】

であり、 n は0～4の整数であり； W と Y は、それぞれ独立にC、N、OまたはSであるが、 W と Y が同時にCであってはならず、そして、 Z がOまたはSである場合、 W はCであり； R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} と R_{13} は、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、ヒドロキシ基、ハロゲン、シアノ基、 $-\text{NR}_8$ 、 R_9 、

10

【0023】

【化6】

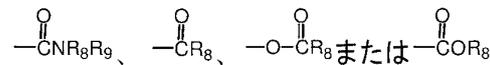


【0024】

から選択され、そして、 $Y = \text{N}$ の時、 R_{10} が NH_2 、 $-\text{NHR}_8$ 、 $-\text{NR}_8\text{R}_9$ 、

【0025】

【化7】



20

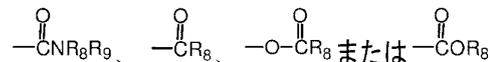
【0026】

であってはならず；

あるいは、 R_6 と R_7 は、それらが結合する炭素原子とともに、N、OまたはSから選択される一個または複数を含む5～7員複素環を形成し、そして、前記5～7員複素環は、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、ヒドロキシ基、ハロゲン、シアノ基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}_8$ 、 $-\text{NR}_8\text{R}_9$ 、

【0027】

【化8】



30

【0028】

から選択される一個または複数の置換基で置換され；

そのうち、 R_8 と R_9 は、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基から選択される。

【0029】

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、または $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択される一個または複数の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択されることが好ましい。

40

【0030】

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、または $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択される一個または複数の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択されることがより好ましい。

【0031】

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の直鎖または分岐鎖アルキル基、無置換の $C_2 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルケニル基から選択されることが更に好ましい。

【0032】

50

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルキル基から選択されることが最も好ましい。

【0033】

別の好ましい態様として、 R_2 と R_3 は、それらが一緒に結合する炭素原子とともに、飽和または不飽和の3～7員環を形成する。

【0034】

R_2 と R_3 が、それらが一緒に結合する炭素原子とともに、飽和の3～7員環を形成することがより好ましい。

【0035】

R_4 と R_5 が、それぞれ独立に、水素、フッ素または塩素であり、且つ R_4 と R_5 の少なくとも1つがフッ素または塩素であることが好ましい。

10

【0036】

R_4 と R_5 が、それぞれ独立に、水素またはフッ素であり、且つ R_4 と R_5 の少なくとも1つがフッ素であることがより好ましい。

【0037】

R_4 が水素またはフッ素であり、 R_5 がフッ素であることが最も好ましい。

【0038】

R_6 が水素原子または $C_1 \sim C_6$ のアルキル基から選択されることが好ましい。

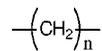
【0039】

Zがカルボニル基、Oまたは

20

【0040】

【化9】



【0041】

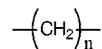
であり、nが0～4の整数であることが好ましい。

【0042】

Zが

【0043】

【化10】



30

【0044】

であり、nが0～2の整数であることがより好ましく、nが0または1であることが更に好ましい。

【0045】

WとYが、それぞれ独立にCまたはNから選択されるが、WとYが同時にCであってはならないことが好ましい。

【0046】

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} と R_{13} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、ヒドロキシ基または $-NR_8R_9$ から選択され、そして、 $Y = N$ の時、 R_{10} が $-NR_8R_9$ であってはならず、 R_8 と R_9 が、それぞれ独立に、水素原子と $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択されることが好ましい。

40

【0047】

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} と R_{13} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基または $-NR_8R_9$ から選択され、 R_8 と R_9 が、それぞれ独立に、水素原子と $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択されることがより好ましい。

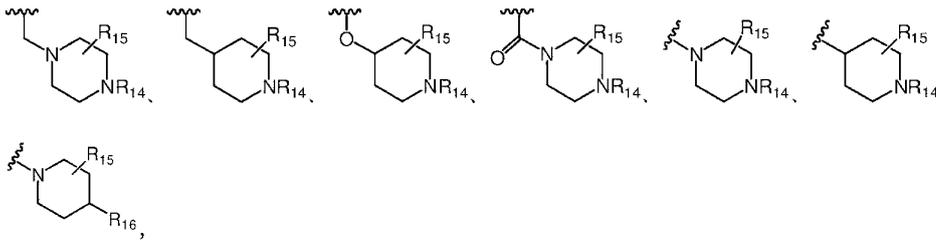
【0048】

50

R_7 が以下のような構造の置換基から選択されるのが更に好ましく；

【0049】

【化11】



10

【0050】

そのうち、 R_{14} と R_{15} は、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基またはヒドロキシ基から選択され、 R_{16} は、水素原子、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のハロゲン化アルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のアルコキシル基、ヒドロキシ基または $-NR_8R_9$ から選択され、 R_8 と R_9 は、それぞれ独立に、水素原子と $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択される。

【0051】

R_{14} と R_{15} が、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基から選択され、 R_{16} が、水素原子、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル基、 $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、 $C_1 \sim C_6$ のヒドロキシアルキル基または $-NR_8R_9$ から選択され、 R_8 と R_9 が、それぞれ独立に、水素原子と $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択されることがより好ましい。

20

【0052】

別の好ましい態様として、 R_6 と R_7 は、それらが結合する炭素原子とともに、N、OまたはSから選択される一個または複数を含む6員複素環を形成する。

【0053】

R_6 と R_7 が、それらが結合する炭素原子とともに一個のNを含む6員複素環を形成することがより好ましい。

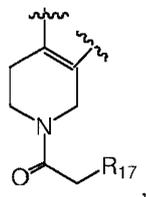
【0054】

R_6 と R_7 が、それらが結合する炭素原子とともに以下のような化学構造を形成することが更に好ましい：

30

【0055】

【化12】



40

【0056】

そのうち、 R_{17} はヒドロキシ基または $C_1 \sim C_3$ のアルコキシル基から選択され、ヒドロキシ基であるのが更に好ましい。

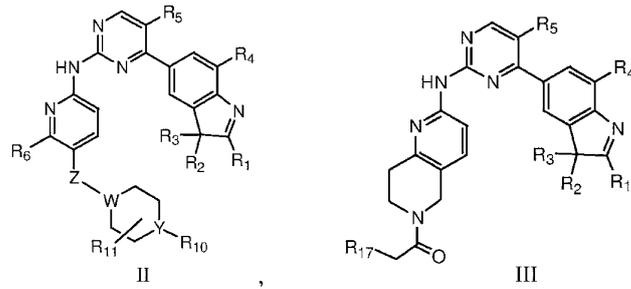
【0057】

好ましい実施態様として、本発明はまた、構造式 I I、I I I、I VまたはVの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式 I I、I I I、I VまたはVの化合物、それぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物を提供する。

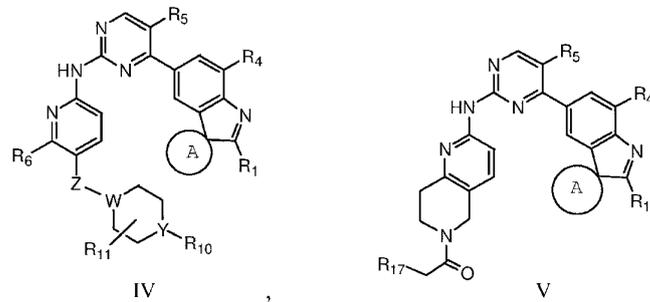
50

【 0 0 5 8 】

【 化 1 3 】



10



【 0 0 5 9 】

式中、Z、W、Y、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11} と R_{17} の定義は前記のとおりであり、A環は飽和の3～7員環である。

20

【 0 0 6 0 】

A環が飽和3～6員環であることが好ましい。

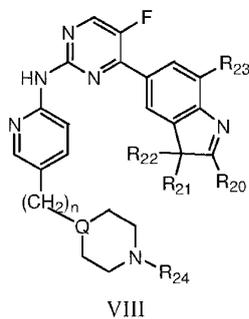
【 0 0 6 1 】

本発明が、構造式V I I Iの化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式V I I Iの化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物を提供することが更に好ましい。

【 0 0 6 2 】

30

【 化 1 4 】



【 0 0 6 3 】

40

式中、 R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} は、それぞれ独立に、 $C_1 \sim C_4$ のアルキル基から選択され、あるいは、 R_{20} は $C_1 \sim C_4$ のアルキル基であり、 R_{21} と R_{22} は、それらが一緒に結合する炭素原子とともに、5～6員飽和環を形成する； R_{23} は水素またはフッ素から選択される；nは0または1である； R_{24} は、水素、 $C_1 \sim C_4$ のアルキル基または $C_1 \sim C_4$ のヒドロキシアルキル基から選択される；QはCまたはNである。

【 0 0 6 4 】

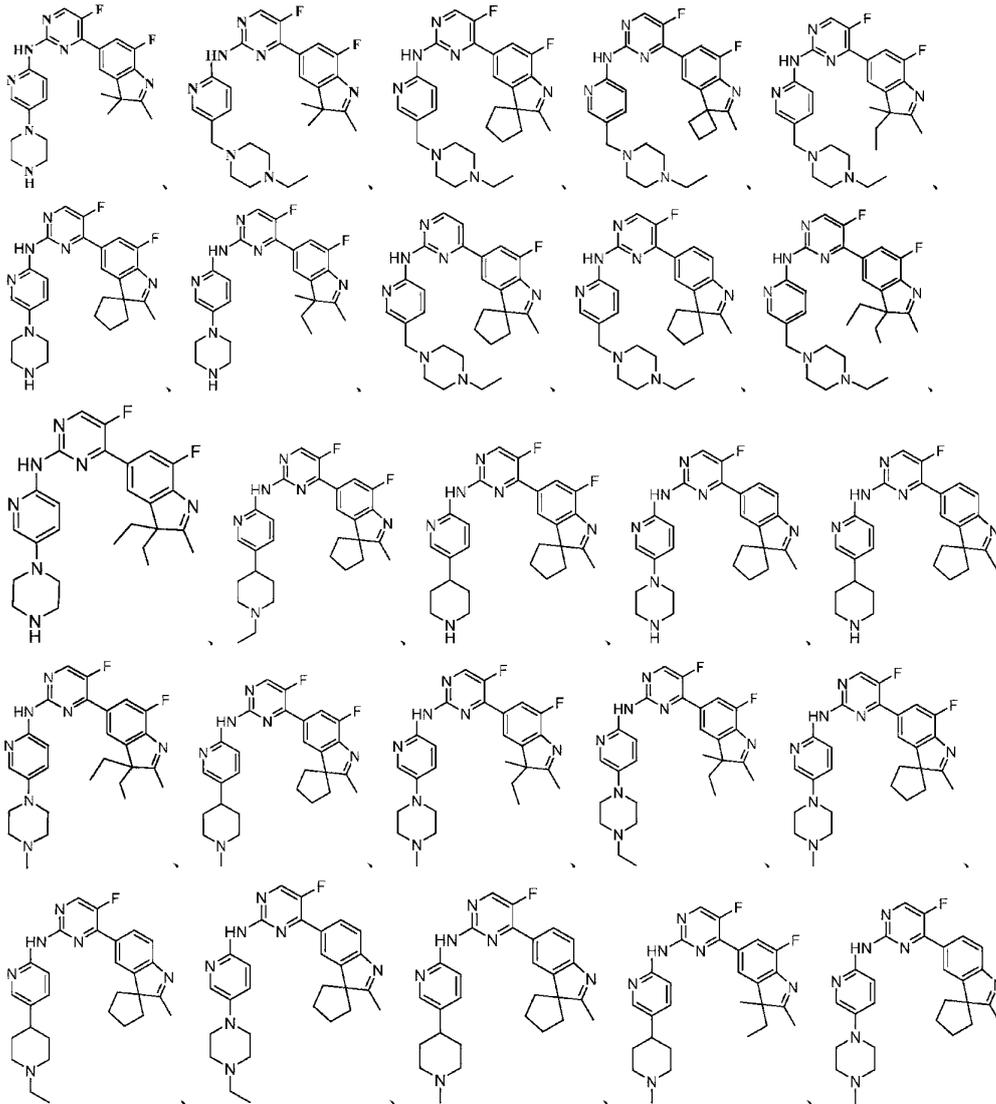
より好ましい実施の態様として、本発明は、以下のような構造の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそ

50

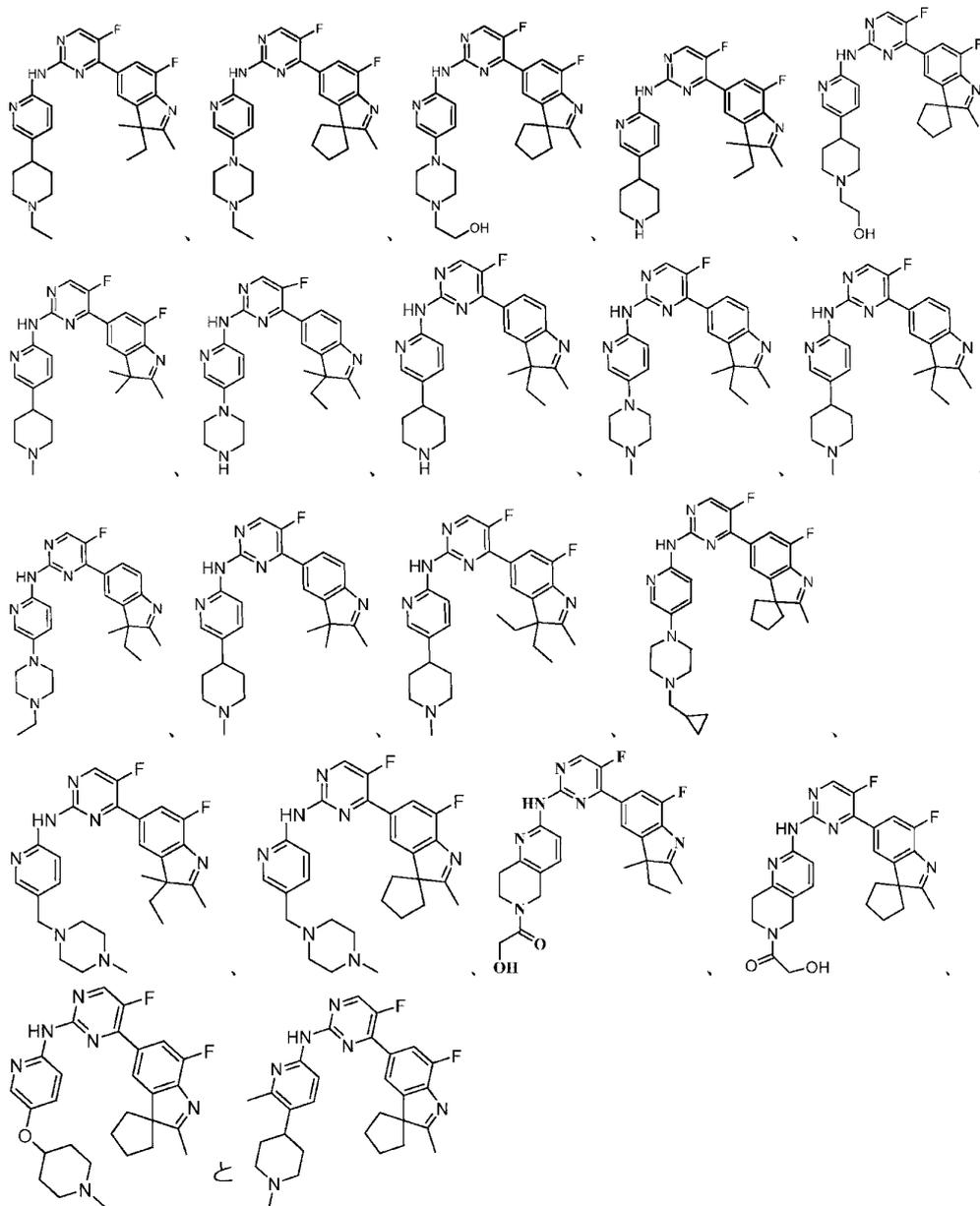
これらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物を提供する。

【 0 0 6 5 】

【 化 1 5 】



【 0 0 6 6 】



【 0 0 6 7 】

本発明に記載の化合物は同位体標識された上記のすべての化合物をも含む。

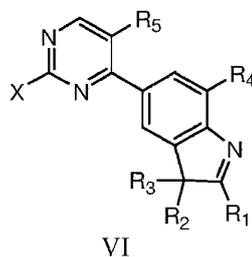
【 0 0 6 8 】

もう一方では、本発明はまた、構造式 V I の化合物またはその互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式 V I の化合物、その互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物を提供する。

40

【 0 0 6 9 】

【 化 1 6 】



【 0 0 7 0 】

50

式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 と R_5 の定義は前記のとおりであり、 X は脱離基またはアミノ基である。

【0071】

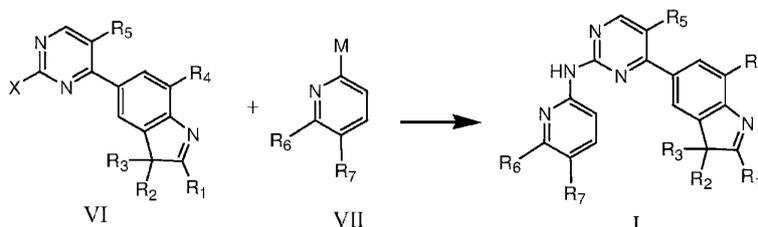
X がハロゲンまたはアミノ基であることが好ましく、フッ素、臭素、塩素またはアミノ基であることがより好ましい。

【0072】

もう一方では、本発明は、構造式VIと構造式VIIの化合物が溶媒において、パラジウム触媒カップリング反応を経て構造式Iの化合物を得ることを含む、構造式Iの化合物の調製方法を提供する。

【0073】

【化17】



【0074】

式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 と R_7 の定義は前記のとおりであり、 X と M は、それぞれ独立に、脱離基またはアミノ基であり、 X と M のうちの一つだけがアミノ基であり、かつ一つが必ずアミノ基であり；

前記脱離基がハロゲンであることが好ましく；

前記脱離基がフッ素、臭素または塩素であることがより好ましい。

【0075】

ただし、上記調製方法は保護基の脱保護を含んでも良い。

【0076】

ただし、上記調製方法は生成物の分離、精製を含んでも良く、前記分離及び/または精製は、一般的に有機合成に用いられる方法を採用してもよく、例えば、ろ過、抽出、洗浄、濃縮、クロマトグラフィー等を適切に組み合わせて行うことができる。

【0077】

もう一方では、本発明は、構造式I～VとVIIの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式I～VとVIIの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物の、細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤の調製における用途を提供する。

【0078】

前記医薬品製剤が、薬学的に許容される補助剤(adjuvant)を含むことが好ましい。

【0079】

前記細胞増殖障害性疾患が、哺乳動物またはヒトの癌を意味するのが好ましく、悪性固形腫瘍と悪性非固形腫瘍を含むヒトの癌を意味するのがより好ましく、具体的には、乳癌、肺癌、前立腺癌、白血病、脳癌、胃癌、神経膠腫などを含むが、それらに限定されない。

【0080】

前記細胞増殖障害性疾患が、AIDS、アテローム性動脈硬化症、血管ステント植え込み後の再狭窄であってもよいことが好ましい。

【0081】

上記用途が、前記構造式I～VとVIIの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記構造式I～VとVIIの化合物またはそれぞれ

10

20

30

40

50

の互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物が、唯一の活性成分としてまたは生物活性を有する他の物質と併用して、細胞増殖障害性疾患を治療するための医薬品製剤の調製における用途を意味するのが好ましい。

【0082】

前記生物活性を有する他の物質は、抗癌剤、免疫抑制剤、抗ウイルス剤等を含むが、それらに限定されない。そのうち、前記抗癌剤は、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、イソホスファミド、チオテパ、セムスチン、塩酸メクロレタミン、ブスルファン、クロラムブシル、フェニルアラニンマスタード、ニトロカファン（nitrocaphane）、ホルミルメルファラン（Formylmelphalan）、カルムスチン、ロムスチン、アルトレタミン、ジプロモマンニトール、テモゾロミド等）、代謝拮抗類抗がん薬（シタラビン、フルオロウラシル、メトトレキサート、ヒドロキシ尿素、テガフル、メイソインジゴ、メルカプトプリン等）、白金錯体剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン等）、抗生物質類抗がん薬（アクチノマイシンD、マイトマイシン、アドリアマイシン、ピンヤンマイシン、エピルピシン、ピラルピシン、ダウノルピシン、プレオマイシン等）、天然由来の抗がん薬（ホモハリングトニンおよびその誘導体、ピンクリスチンおよびその誘導体、ヒドロキシカンプトテシンおよびその誘導体、エトポシドおよびその誘導体、ビンデシンおよびその誘導体、ピンブラスチンおよびその誘導体、ビノレルピン酒石酸塩（vinorelbine tartrate）、パクリタキセルおよびその誘導体、コルヒチンおよびその誘導体、エレメンおよびその誘導体等）、ホルモン類抗がん薬（例えば、アミノグルテチミド、タモキシフェン、デキサメタゾン、デュタステリド、フルタミド、ゴナドレリン、酢酸リュープロレリン、レトロゾール等）、VEGFRまたはEGFR阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブ、イマチニブ、ゲフィチニブ、エルロチニブ、バンデタニブ、パゾパニブ、ラパチニブ、カネルチニブ、アフアチニブ、ムブリチニブ（Mubritinib）、ダサチニブ、ネラチニブ等）、抗体抗がん薬（例えば、トラスツズマブ、ベルツズマブ、リツキシマブ、パニツムマブ、ペバシズマブ、イピリムマブ、オファツムマブ、ラムシルマブ等）、mTOR阻害剤（例えば、エベロリムス、シロリムス、ゾタロリムス等）、脳腫瘍類治療用薬テモゾロミド等から選択される。

【0083】

もう一方では、本発明は、構造式I~V、VIIの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、構造式I~V、VIIの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式の薬学的に許容される塩または溶媒和物から選択される一種または複数種を含む、細胞増殖障害性疾患を治療するための組み合わせ製品を提供する。

【0084】

前記組み合わせ製品がさらに薬学的に許容される補助剤を含むこと、及び/または前記組み合わせ製品がキットであることが好ましい。

【0085】

もう一方では、本発明はまた、経口または非経口の経路によって、前記細胞増殖障害性疾患に罹っている患者に、有効用量の本発明に記載の化合物または上記組み合わせ製品を投与することを含む、細胞増殖障害性疾患の治療方法を提供する。

【0086】

上記細胞増殖障害性疾患の治療方法が、経口または非経口の経路によって、前記患者に有効用量の本発明の前記化合物と前記生物活性を有する他の物質を投与することを含むのが好ましい。前記生物活性を有する他の物質は、抗癌剤、免疫抑制剤、抗ウイルスなどを含むが、それらに限定されない。そのうち、前記抗癌剤は、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、イソホスファミド、チオテパ、セムスチン、塩酸メクロレタミン、ブス

10

20

30

40

50

ルファン、クロラムブシル、フェニルアラニンマスタード、ニトロカファン(nitrocaphane)、ホルミルメルファラン、カルムスチン、ロムスチン、アルトレタミン、ジプロモマンニトール、テモゾロミド等)、代謝拮抗類抗がん薬(シタラビン、フルオロウラシル、メトトレキサート、ヒドロキシ尿素、テガフル、メイソインジゴ、メルカプトプリン等)、白金錯体剤(例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン等)、抗生物質類抗がん薬(アクチノマイシンD、マイトマイシン、アドリアマイシン、ピンヤンマイシン、エピルピシン、ピラルピシン、ダウノルピシン、ブレオマイシン等)、天然由来の抗がん薬(ホモハリングトニンおよびその誘導体、ピンクリスチンおよびその誘導体、ヒドロキシカンプトテシンおよびその誘導体、エトポシドおよびその誘導体、ビンデシンおよびその誘導体、ピンブラスチンおよびその誘導体、ピノレルビン酒石酸塩、パクリタキセルおよびその誘導体、コルヒチンおよびその誘導体、エレメンおよびその誘導体等)、ホルモン類抗がん薬(例えば、アミノグルテチミド、タモキシフェン、デキサメタゾン、デュタステリド、フルタミド、ゴナドレリン、酢酸リュープロレリン、レトロゾール等)、VEGFRまたはEGFR阻害剤(例えば、スニチニブ、ソラフェニブ、イマチニブ、ゲフィチニブ、エルロチニブ、バンデタニブ、パゾパニブ、ラパチニブ、カネルチニブ、アフアチニブ、ムブリチニブ、ダサチニブ、ネラチニブ等)、抗体抗がん薬(例えば、トラスツズマブ、ペルツズマブ、リツキシマブ、パニツムマブ、ベバシズマブ、イピリムマブ、オフアツムマブ、ラムシルマブ等)、mTOR阻害剤(例えば、エベロリムス、シロリムス、ゾタロリムス等)、脳腫瘍類治療用薬テモゾロミド等から選択される。

10

20

【0087】

前記経口または非経口の経路は、経口、注射、パッチ、スプレー及びその他の公知のもの一種または複数種によって前記患者に投与する経路であってもよい。前記有効用量は、一種または複数種の症状を治療、低下、緩和、軽減、排除するのに有効な用量を含んでも良く、前記状況が治療されることが求められ、または選択的に、前記状況が避けられることが求められ、あるいは他に、前記状況またはその効果において、臨床的に確認できる有益な変化が発生することが求められる。

【0088】

もう一方では、本発明は、細胞増殖障害性疾患を治療するための化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式、あるいは、前記化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはそれらの混合物形式の薬学的に許容される塩または溶媒和物を提供し、前記化合物の構造式は、構造式I~VとVIIから選択される一種または複数種である。

30

【0089】

前記細胞増殖障害性疾患が、哺乳動物またはヒトの癌を意味するのが好ましく、悪性固形腫瘍と悪性非固形腫瘍を含むヒトの癌を意味するのがより好ましく、具体的には、乳癌、肺癌、前立腺癌、白血病、脳癌、神経膠腫と胃癌を含むが、それらに限定されず、及び/または

前記細胞増殖障害性疾患は、AIDS、アテローム性動脈硬化症と血管ステント植え込み後の再狭窄から選択される一種または複数種である。

40

【0090】

本発明の明細書において、特別な説明がない限り、前記「C₁~C₆アルキル基」とは、C₁~C₆の直鎖または分岐鎖アルキル基であり；「C₁~C₄アルキル基」とは、C₁~C₄の直鎖または分岐鎖アルキル基、好ましくはメチル、エチル、プロピルまたはイソプロピルである。前記「C₁~C₆アルコキシ基」とは、C₁~C₆の直鎖または分岐鎖アルコキシ基、好ましくはC₁~C₄の直鎖または分岐鎖アルコキシ基、さらに好ましくはメトキシ、エトキシ、プロポキシまたは2-メチルエトキシである。前記「C₃~C₆シクロアルキル基」とは、無置換またはC₁~C₄アルキル基、C₁~C₄アルコキシ基で置換されたC₃~C₆のシクロアルキル基、好ましくは無置換またはC₁~C₄アルキル基、C₁~C₄

50

アルコキシル基で置換された $C_3 \sim C_6$ のシクロアルキル基、さらに好ましくはシクロプロピル、シクロブチル、メチルシクロプロピル、シクロペンチルまたはシクロヘキシルである。前記「ハロゲン」とは、臭素、塩素またはフッ素である。前記「 $C_1 \sim C_6$ ハロゲン化アルキル基」とは、臭素置換、塩素置換またはフッ素置換の $C_1 \sim C_6$ の直鎖または分岐鎖アルキル基、好ましくは塩素置換またはフッ素置換の $C_1 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルキル基、さらに好ましくはモノフルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、クロロメチル、ジクロロメチル、トリクロロメチル、1-フルオロエチル、1-クロロプロピル、1-クロロエチル、1-クロロプロピルである。

【0091】

既存の研究では、CDKs阻害剤の毒性は主に、そのCDK1及び他のプロテインキナーゼ、例えば、同名のプロトオンコジーンによってコードされるスレオニン/セリンキナーゼPim-1に対する阻害に関するものであるとされている。したがって、CDKs阻害剤類化合物として、そのCDK4/CDK6とCDK1、及びその他のキナーゼに対する作用の差は顕著であればあるほど望ましく、即ち、選択的にCDK4/CDK6を阻害することが望ましい。本発明が提供する化合物の活性は、現在第III相臨床試験における候補薬LY2835219より優れるか、またはそれに相当するものであり、一部の化合物はより良いキナーゼ選択性を示している。さらに、好ましい化合物(実施例17で調製したもの)の経口吸収が良好で、血漿・脳への分布が良い。上記結果は、本発明の化合物が、細胞増殖に関連する疾患、特に悪性腫瘍(特に脳腫瘍)を治療する新薬として開発されるのが有望であることを示唆している。

【発明を実施するための形態】

【0092】

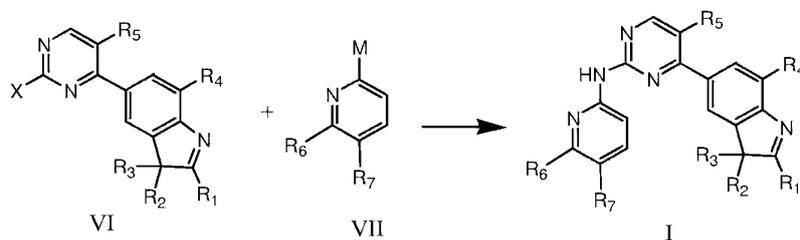
以下、具体的な実施例を参照して本発明を説明する。当業者は、これらの実施例は本発明を説明するためのものに過ぎず、いかなる態様でも本発明の範囲が制限されないと理解することができる。

【0093】

本発明に記載の構造式VIの化合物は、構造式Iの化合物を合成するための重要な中間体であり、溶媒において、構造式VIIの化合物とともに、パラジウム触媒カップリング反応を経て、構造式Iの化合物を得る。

【0094】

【化18】

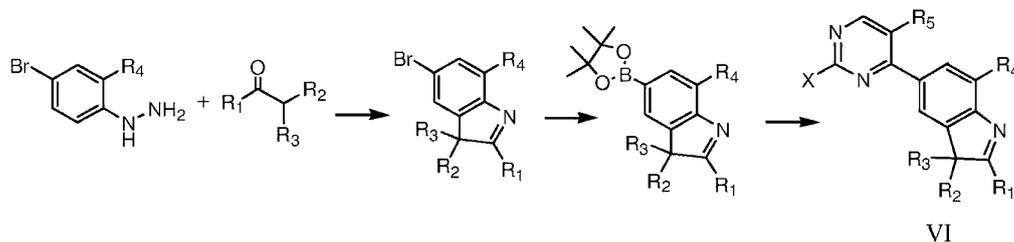


【0095】

構造式VIの化合物は、以下のような反応経路によって合成できる。

【0096】

【化19】



【0097】

10

20

30

40

50

そのうち、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 および R_7 の定義は前記の通りであり、 X は脱離基またはアミノ基である。

【0098】

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、または $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基、ヒドロキシ基またはハロゲンから選択される一個または複数の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ の炭化水素基から選択されることが好ましい。

【0099】

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_6$ の直鎖または分岐鎖アルキル基、無置換の $C_2 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルケニル基から選択されることがより好ましい。

10

【0100】

R_1 、 R_2 、 R_3 が、それぞれ独立に、水素原子、無置換の $C_1 \sim C_4$ の直鎖または分岐鎖アルキル基から選択されることが更に好ましい。

【0101】

また、別の好ましい態様として、 R_1 は前記のとおりであって、 R_2 と R_3 はそれらが一緒に結合する炭素原子とともに、飽和または不飽和の3～7員環を形成し； R_2 と R_3 がそれらが一緒に結合する炭素原子とともに、飽和の3～7員環を形成することがより好ましい。

【0102】

R_4 と R_5 が、それぞれ独立に、水素またはフッ素であり、且つ R_4 と R_5 の少なくとも1つがフッ素であることが好ましい。

20

【0103】

X がハロゲンまたはアミノ基であることが好ましく、フッ素、臭素、塩素またはアミノ基であることがより好ましい。

【0104】

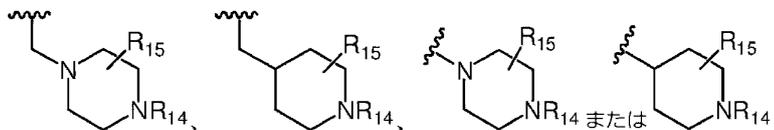
R_6 が水素原子または $C_1 \sim C_4$ のアルキル基であることが好ましい。

【0105】

R_7 が以下のような構造の置換基であることが好ましい。

【0106】

【化20】



30

【0107】

そのうち、 R_{14} と R_{15} は、それぞれ独立に、水素原子、 $C_1 \sim C_4$ のアルキル基、 $C_1 \sim C_4$ のヒドロキシアルキル基から選択される。

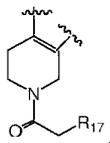
【0108】

あるいは、別の好ましい実施態様として、 R_6 と R_7 は、それらが結合する炭素原子とともに、以下のような化学構造を形成する。

40

【0109】

【化21】



【0110】

そのうち、 R_{17} はヒドロキシ基または $C_1 \sim C_3$ のアルコキシル基から選択され；ヒドロキシ基であるのが更に好ましい。

【0111】

50

下記の実施例における実験方法は、特別な説明がない限り、いずれも常法である。下記の実施例で用いる化学原料、試薬等は、特別な説明がない限り、いずれも市販品である。

【0112】

本発明の実施例における略語及びその意味は以下の通りである。

【0113】

PE：石油エーテル

EA：酢酸エチル

DCM：ジクロロメタン

MeOH：メタノール

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(II)ジクロリド 10

Pd(PPh₃)₄：テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム

Pd₂(dba)₃：トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム

NaHB(OAc)₃：ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド

LHMDS：リチウムビス(トリメチルシリル)アミド

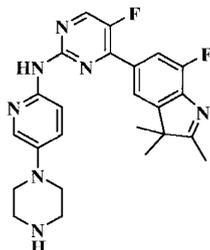
DAPI：DAPI 蛍光染料

【0114】

実施例 1 5 - フルオロ - 4 - (7 - フルオロ - 2 , 3 , 3 - トリメチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - N - (5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピリジン - 2 - イル) ピリミジン - 2 - アミノ 20

【0115】

【化22】

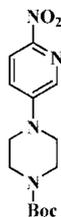


【0116】

ステップ 1 4 - (6 - ニトロピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル 30

【0117】

【化23】



【0118】

反応フラスコに、5 - ブロモ - 2 - ニトロピリジン (5 . 0 g、24 . 63 mmol) と、ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (5 . 04 g、27 . 09 mol) と、アセトニトリル (30 mL) と、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (4 . 77 g、36 . 94 mmol) とを加え、還流反応を 2 時間行い、溶媒をスピン乾燥し、カラムクロマトグラフィー (PE / EA = 1 : 1 から DCM / MeOH = 20 : 1 まで) で分離し、標題化合物 (黄色固体) を 3 . 8 g 得た。

【0119】

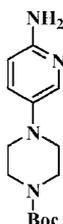
MS (ESI) : mass calcd . for C₁₄H₂₀N₄O₄ 308 . 1 , m / z found 309 . 1 [M + H]⁺. 50

【0120】

ステップ2 4 - (6 - アミノピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル

【0121】

【化24】



10

【0122】

反応フラスコに、ステップ1で調製した4 - (6 - ニトロピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (0.92 g, 3.0 mmol) と、酢酸エチル / メタノール (10 mL / 10 mL) と、Pd / C (0.1 g) とを加え、水素ガスを導入し、室温で2時間反応し、ろ過、濃縮し、標題化合物 (白っぽい固体) を792 mg 得た。

【0123】

MS (ESI) : mass calcd. for $C_{14}H_{22}N_4O_2$ 278.2, m/z found 279.2 [M+H]⁺.

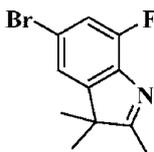
20

【0124】

ステップ3 5 - ブロモ - 7 - フルオロ - 2, 3, 3 - トリメチル - 3H - インドールの合成

【0125】

【化25】



【0126】

反応フラスコに、(4 - ブロモ - 2 - フルオロベンゼン) ヒドラジン塩酸塩 (1.0 g, 4.14 mmol) と、酢酸 (10 mL) と、3 - メチル - 2 - プタノン (0.32 g, 4.14 mmol) とを加え、その後、還流反応を5時間行い、溶媒をスピン乾燥し、水20 mLを加え、酢酸エチルで毎回20 mLにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。その後、飽和塩化ナトリウム水溶液25 mLで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、カラムクロマトグラフィー (DCM : MeOH = 50 : 1 ~ 25 : 1) で分離し、標題化合物 (黄色固体) を420 mg 得た。

30

【0127】

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.23 - 7.21 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 1.32 (s, 6H).

40

【0128】

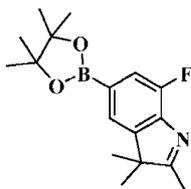
MS (ESI) : m/z 258.0 [M+H]⁺.

【0129】

ステップ4 7 - フルオロ - 2, 3, 3 - トリメチル - 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) - 3H - インドールの合成

【0130】

【化26】



【0131】

反応フラスコに、ステップ3で調製した5-プロモ-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール(400.0mg、1.56mmol)と、4,4,4',4',5,5,5',5'-オクタメチル-2,2'-ビス(1,3,2-ジオキサボロラン) (436.5mg、1.71mmol)と、酢酸カリウム(306.3mg、3.12mmol)と、ジオキサン(10ml)と、Pd(dppf)Cl₂(228.7mg、0.32mmol)とを加え、窒素で保護し、90℃まで加熱し、一晩反応させた。混合物を室温まで冷却させ、ろ過し、水10mlを加え、酢酸エチルで毎回20mlにして抽出を3回行った。酢酸エチル有機相を合わせ、飽和食塩水25mlで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM:MeOH=50:1~30:1)で分離し、標題化合物(黄色油状物質)を306.5mg得た。

10

【0132】

MS(ESI): m/z 304.1 [M+H]⁺.

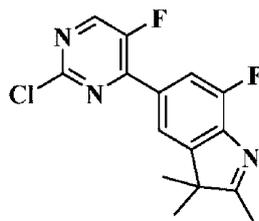
20

【0133】

ステップ5 5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドールの合成

【0134】

【化27】



30

【0135】

マイクロ波反応フラスコに、ステップ4で調製した7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-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)-3H-インドール(300mg、0.99mmol)と、2,4-ジクロロ-5-フルオロピリミジン(181.8mg、1.08mmol)と、リン酸カリウム(419.8mg、1.98mmol)と、ジオキサン/水(4mL/1mL)と、Pd(PPh₃)₄(114.5mg、0.09mmol)とを加え、窒素で保護し、130℃でマイクロ波反応を1時間行った。室温まで冷却させ、ろ過し、水10mlを加え、ジクロロメタンで毎回15mlにして抽出を3回行った。ジクロロメタン有機相を合わせ、飽和塩化ナトリウム水溶液20mlで一回洗浄してから、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM:MeOH=100:1~50:1)で分離し、標題化合物(黄色固体)を301.2mg得た。

40

【0136】

MS(ESI): mass calcd. for C₁₅H₁₂ClF₂N₃ 307.1, m/z found 308.1 [M+H]⁺.

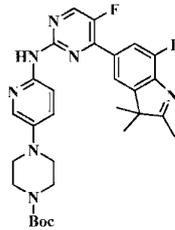
【0137】

ステップ6 4-(6-(5-フルオロ-4-(7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール-5-イル)ピリミジン-2-イル)アミノ)ピリジン-3-イル)ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルの合成

50

【0138】

【化28】



【0139】

反応フラスコに、ステップ5で調製した5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール(150.0mg、0.48mmol)と、ステップ2で調製した4-(6-アミノピリジン-3-イル)ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル(135.8mg、0.48mmol)と、炭酸セシウム(371.6mg、0.96mmol)と、ジオキサン(3ml)と、Pd₂(dba)₃(44.7mg、0.05mmol)と、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(30.4mg、0.05mmol)とを加え、窒素で保護し、150℃まで加熱し、マイクロ波反応を1時間行ってから、室温まで冷却させた。ろ過し、水10mlを加え、ジクロロメタンで毎回10mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせ、飽和塩化ナトリウム水溶液30mlで一回洗浄して、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM/MeOH=50:1)で分離し、標題化合物(黄色固体)を53.4mg得た。

10

20

【0140】

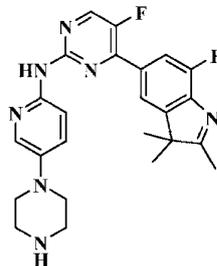
MS(ESI): mass calcd. for C₂₉H₃₃F₂N₇O₂ 549.3, m/z found 550.3 [M+H]⁺.

【0141】

ステップ7 5-フルオロ-4-(7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール-5-イル)-N-(5-(ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノトリフルオロ酢酸塩の合成

【0142】

【化29】



30

【0143】

反応フラスコに、ステップ6で調製した4-(6-(5-フルオロ-4-(7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール-5-イル)ピリミジン-2-イル)アミノ)ピリジン-3-イル)ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル(30.0mg、0.054mmol)と、ジクロロメタン(4ml)と、トリフルオロ酢酸(1ml)とを加え、室温で攪拌し、2時間反応させた。溶媒をスピン乾燥し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液でpHを8に調整し、ジクロロメタンで毎回5mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせ、飽和塩化ナトリウム水溶液10mlで一回洗浄し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM/MeOH=20:1)で分離し、標題化合物(黄色固体)を10.5mg得た。

40

【0144】

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) 9.75(br s, 1H), 8.65(d, 1H, J=3.2Hz), 8.02-7.94(m, 3H), 7.82(d, 1

50

H, J = 10.8 Hz), 7.43 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 3.09 - 3.02 (m, 4H), 2.84 - 2.83 (m, 4H), 2.31 (s, 3H), 1.34 (s, 6H)。

【0145】

MS (ESI): mass calcd. for $C_{24}H_{25}F_2N_7$ 449.50, m/z found 450.2 [M+H]⁺。

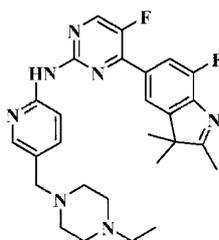
【0146】

実施例 2 N - (5 - ((4 - エチルピペラジン - 1 - イル) メチル) ピリジン - 2 - イル) - 5 - フルオロ - 4 - (7 - フルオロ - 2 , 3 , 3 - トリメチル - 3 H - インドール - 5 - イル) ピリミジン - 2 - アミノ

10

【0147】

【化30】



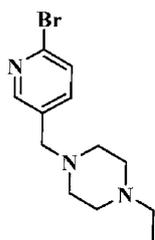
【0148】

ステップ 1 1 - ((6 - プロモピリジン - 3 - イル) メチル) - 4 - エチルピペラジン

20

【0149】

【化31】



30

【0150】

反応フラスコに、2 - プロモ - 5 - ホルミルピリジン (1.5 g、8.15 mmol) と、1 - エチルピペラジン (0.93 g、8.15 mmol) と、ジクロロメタン (15 mL) とを加え、その後、バッチ方式で $NaHB(OAc)_3$ (2.58 g、12.23 mmol) を加えた。室温で一晩反応させ、ろ過、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (DCM / MeOH = 100 : 1 ~ 10 : 1) で分離し、標題生成物 (黄色油状物質) を 1.64 g 得た。

【0151】

MS (ESI): mass calcd. for $C_{12}H_{18}BrN_3$ 285.1, m/z found 286.1 [M+H]⁺。

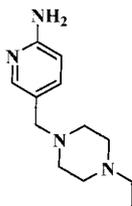
40

【0152】

ステップ 2 5 - ((4 - エチルピペラジン - 1 - イル) メチル) ピリジン - 2 - アミノ

【0153】

【化32】



【0154】

反応フラスコに、ステップ1で調製した1-((6-プロモピリジン-3-イル)メチル)-4-エチルピペラジン(2.84g、10mmol)と、2-(ジシクロヘキシルホスフィノ)ピフェニル(700mg、2mmol)と、Pd₂(dba)₃(915mg、1mmol)と、トルエン(30mL)とを加え、窒素の保護下、LHMDS(1N)(20mL、20mmol)を加えた。当該混合物を80℃まで加熱し、一晩反応させてから、室温まで冷却し、ろ過、濃縮し、カラムクロマトグラフィー(DCM/MeOH=100:1~10:1)で分離し、標題生成物(褐色固体)を1.52g得た。

10

【0155】

MS(ESI): mass calcd. for C₁₃H₂₁N₃ 220.2, m/z found 221.2 [M+H]⁺.

【0156】

ステップ3 5-プロモ-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドールの合成

20

【0157】

【化33】



【0158】

反応フラスコに、(4-プロモ-2-フルオロフェニル)ヒドラジン塩酸塩(900.0mg、3.73mmol)と、酢酸(5mL)と、3-メチルブチル-2-オン(353.3mg、4.09mmol)とを加え、還流反応を5時間行った。溶媒をスピン乾燥し、水10mLを加え、酢酸エチルで毎回20mLにして抽出を3回行い、有機相を合わせ、有機相を飽和塩化ナトリウム水溶液25mLで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル:石油エーテル=1:50~1:25)で分離し、標題化合物(黄色固体)を910mg得た。

30

【0159】

MS(ESI): m/z 258.0 [M+H]⁺.

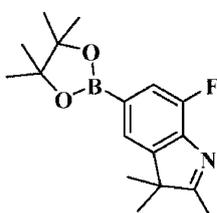
【0160】

ステップ4 7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-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)-3H-インドールの合成

40

【0161】

【化34】



【0162】

50

反応フラスコに、ステップ3に記載の方法に従って調製した5-ブromo-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール(1.0g、3.91mmol)と、4,4,4',4',5,5,5',5'-オクタメチル-2,2'-ビス(1,3,2-ジオキサボロラン)(1.09g、4.29mmol)と、酢酸カリウム(770mg、7.82mmol)と、ジオキサン(10ml)と、Pd(dppf)Cl₂(570mg、0.78mmol)とを加え、窒素で保護し、90℃まで昇温して一晩反応させた。その後、室温まで冷却させ、ろ過し、水10mlを加えて希釈し、酢酸エチルで毎回20mlにして抽出を3回行った。有機相を合わせ、有機相を飽和食塩水25mlで一回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(EA:PE=1:100~1:20)で分離し、標題化合物(黄色油状物質)を1.02g得た。

10

【0163】

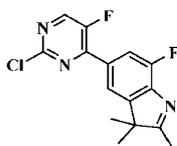
MS(ESI): m/z 304.2 [M+H]⁺。

【0164】

ステップ5 5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドールの合成

【0165】

【化35】



20

【0166】

マイクロ波反応フラスコに、ステップ4で調製した7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-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)-3H-インドール(1.0g、3.30mmol)と、2,4-ジクロロ-5-フルオロピリミジン(610mg、3.63mmol)と、リン酸カリウム(1.39g、6.60mmol)と、ジオキサン/水(8mL/2mL)と、Pd(PPh₃)₄(380mg、0.33mmol)とを加え、窒素で保護し、130℃でマイクロ波反応を1時間行った。室温まで冷却させ、ろ過し、水10mlを加え、ジクロロメタンで毎回15mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせ、有機相を飽和食塩水20mlで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(EA:PE=1:50~1:10)で分離し、標題化合物(黄色固体)を290.0mg得た。

30

【0167】

MS(ESI): m/z 308.1 [M+H]⁺。

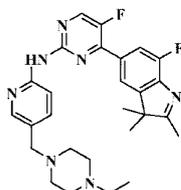
【0168】

ステップ6 N-(5-((4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール-5-イル)ピリミジン-2-アミノの合成

40

【0169】

【化36】



【0170】

反応フラスコに、ステップ5で調製した5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-7-フルオロ-2,3,3-トリメチル-3H-インドール(290.0m

50

g、0.94 mmol)と、ステップ2で調製した5-(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-アミノ(228.6 mg、1.04 mmol)と、リン酸カリウム(400.5 mg、1.88 mmol)と、ジオキサン10 mlと、Pd₂(dba)₃(86.4 mg、0.09 mmol)と、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(109.2 mg、0.19 mmol)とを加え、窒素で保護し、150℃まで昇温してマイクロ波反応を1時間行った。混合物を室温まで冷却させ、ろ過し、水10 mlを加えて希釈し、ジクロロメタンで毎回10 mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水30 mlで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン:メタノール=30:1)で分離し、標題化合物(黄色固体)を140.3 mg

10

【0171】

¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) 8.72(s, 1H), 8.49(d, 1H, J=3.2 Hz), 8.38(d, 1H, J=8.4 Hz), 8.31(s, 1H), 7.92(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.73(d, 1H, J=8.4 Hz), 3.52(s, 2H), 2.54-2.41(m, 10H), 2.38(s, 3H), 1.40(s, 6H), 1.10(t, 3H, J=7.2 Hz)。

【0172】

MS(ESI): m/z 492.2 [M+H]⁺。

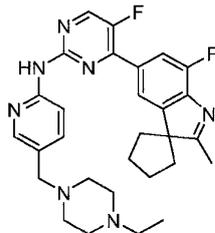
【0173】

実施例3 N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

20

【0174】

【化37】



30

【0175】

実施例2と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0176】

¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) 9.75(s, 1H), 8.54(d, 1H, J=3.2 Hz), 8.38-8.37(m, 2H), 7.94(s, 1H), 7.87(d, 1H, J=10.8 Hz), 7.68(d, 1H, J=8.4 Hz), 3.49(s, 2H), 2.99-2.39(m, 10H), 2.37(s, 3H), 2.14-2.08(m, 6H), 1.87-1.84(m, 2H), 1.06(t, 3H, J=6.4 Hz)。

40

【0177】

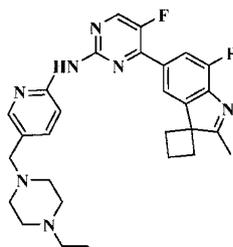
MS(ESI): m/z 518.3 [M+H]⁺。

【0178】

実施例4 N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロブタン-1,3'-インドール]-5'-イル)アミノピリミジン-2-アミノ

【0179】

【化38】



【0180】

実施例2と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0181】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.36 - 8.32 (m, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.78 - 7.75 (m, 2H), 7.71 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 5.84 - 5.83 (m, 1H), 5.63 - 5.62 (m, 1H), 4.39 - 4.38 (m, 1H), 3.66 - 3.64 (m, 1H), 3.51 (s, 2H), 3.06 - 3.00 (m, 1H), 2.71 - 2.38 (m, 1H), 1.55 (s, 3H), 1.11 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz)。

【0182】

MS (ESI): m/z 504.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

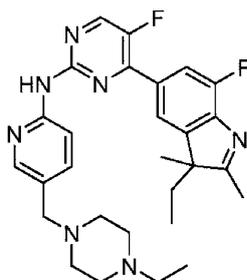
【0183】

実施例5 4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロピリミジン-2-アミノ

20

【0184】

【化39】



30

【0185】

実施例2と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0186】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.71 (s, 1H), 8.49 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.38 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 8.31 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 7.86 (s, 1H), 7.72 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, 1.2 Hz), 3.52 (s, 2H), 2.53 - 2.41 (m, 10H), 2.34 (s, 3H), 2.06 - 1.93 (m, 1H), 1.91 - 1.84 (m, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz), 0.50 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz)。

40

【0187】

MS (ESI): m/z 506.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

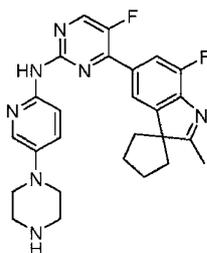
【0188】

実施例6 5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0189】

50

【化40】



【0190】

実施例1と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0191】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.67 (br s, 1H), 8.44 (d, 1H, $J = 3.6 \text{ Hz}$), 8.29 (d, 1H, $J = 9.2 \text{ Hz}$), 8.11 (d, 1H, $J = 2.4 \text{ Hz}$), 7.95 (s, 1H), 7.89 (d, 1H, $J = 10.8 \text{ Hz}$), 7.36 (dd, 1H, $J = 9.2, 2.8 \text{ Hz}$), 3.12 - 3.06 (m, 8H), 2.39 (s, 3H), 2.16 - 2.10 (m, 6H)、1.89 - 1.86 (m, 2H)。

【0192】

MS (ESI): m/z 476.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

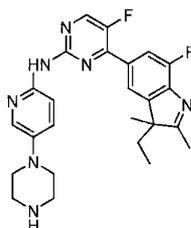
【0193】

実施例7 4 - (3 - エチル - 7 - フルオロ - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

20

【0194】

【化41】



30

【0195】

実施例1と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0196】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.33 (br s, 1H), 8.46 (d, 1H, $J = 3.6 \text{ Hz}$), 8.28 (d, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}$), 8.16 (d, 1H, $J = 2.4 \text{ Hz}$), 7.90 (d, 1H, $J = 10.8 \text{ Hz}$), 7.82 (s, 1H), 7.35 (dd, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}, 2.8 \text{ Hz}$), 3.10 - 3.03 (m, 8H), 2.31 (s, 3H), 2.03 - 1.80 (m, 3H), 1.36 (s, 3H), 0.47 (t, 6H, $J = 7.6 \text{ Hz}$)。

40

【0197】

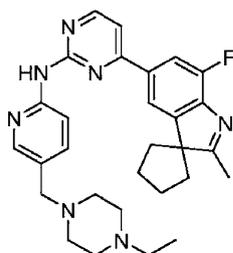
MS (ESI): m/z 464.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

【0198】

実施例8 N - (5 - ((4 - エチルピペラジン - 1 - イル)メチル)ピリジン - 2 - イル) - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ[シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0199】

【化42】



【0200】

実施例2と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0201】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.83 (s, 1H), 8.61 (d, 1H, $J = 5.2 \text{ Hz}$), 8.49 (d, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}$), 8.32 (d, 1H, $J = 1.2 \text{ Hz}$), 7.91 (d, 1H, $J = 1.2 \text{ Hz}$), 7.78 (d, 1H, $J = 10.8 \text{ Hz}$), 7.78 (dd, 1H, $J = 8.4, 1.6 \text{ Hz}$), 7.21 (d, 1H, $J = 5.2 \text{ Hz}$), 3.52 (s, 2H), 2.54 - 2.41 (m, 10H), 2.38 (s, 3H), 2.19 - 2.08 (m, 6H), 1.90 - 1.87 (m, 2H), 1.10 (t, 3H, $J = 6.8 \text{ Hz}$).

【0202】

MS (ESI): m/z 500.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

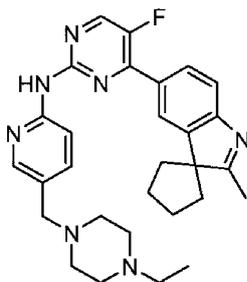
20

【0203】

実施例9 N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0204】

【化43】



30

【0205】

実施例2と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0206】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.73 (br s, 1H), 8.47 (d, 1H, $J = 3.6 \text{ Hz}$), 8.43 (d, 1H, $J = 8.4 \text{ Hz}$), 8.30 (s, 1H), 8.15 - 8.13 (m, 2H), 7.70 - 7.64 (m, 2H), 3.52 (s, 2H), 2.53 - 2.37 (m, 10H), 2.31 (s, 3H), 2.21 - 2.06 (m, 6H), 1.89 - 1.86 (m, 2H), 1.10 (t, 3H, $J = 7.2 \text{ Hz}$).

40

【0207】

MS (ESI): m/z 500.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

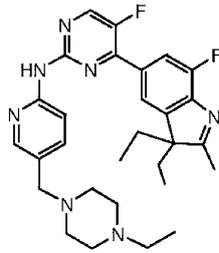
【0208】

実施例10 4-(3,3-ジエチル-7-フルオロ-2-メチル-3H-インドール-5-イル)-N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロピリミジン-2-アミノ

【0209】

50

【化44】



【0210】

実施例2と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0211】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.19 (br s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.39 - 8.34 (m, 2H), 7.95 (d, 1H, $J = 11.2 \text{ Hz}$), 7.83 (s, 1H), 7.72 (d, 1H, $J = 8.0 \text{ Hz}$), 3.51 (s, 2H), 2.52 - 2.41 (m, 10H), 2.31 (s, 3H), 2.06 - 2.01 (m, 2H), 1.90 - 1.85 (m, 2H), 1.08 (t, 3H, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 0.46 (t, 6H, $J = 6.8 \text{ Hz}$).

【0212】

MS (ESI): m/z 520.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

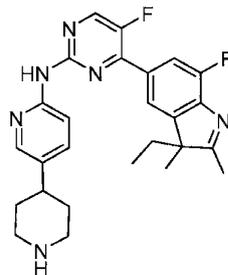
【0213】

20

実施例11 4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロ-N-(5-(ピペリジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0214】

【化45】



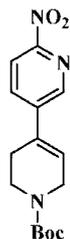
30

【0215】

ステップ1 6-ニトロ-3',6'-ジヒドロ-[3,4'-ビピリジン]-1'(2'H)-カルボン酸 tert-ブチル

【0216】

【化46】



40

【0217】

反応フラスコに、5-ブロモ-2-ニトロピリジン(20.3g、0.1mol)と、4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロナート-2-イル)-5,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸 tert-ブチル(31g、0.1mol)と、ジオキサン/水(250mL/30mL)と、炭酸セシウム(66g、0.

50

2 mol) と、Pd(dppf)Cl₂ (7.33 g、0.01 mol) とを加え、窒素で保護した。当該混合物を 85 °C まで加熱して 12 時間反応させ、室温まで冷却させ、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (PE/EAc = 1:1 - DCM/MeOH = 20:1) で分離し、標題生成物 (黄色固体) を 11 g 得た。

【0218】

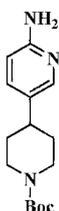
MS (ESI): mass calcd. for C₁₅H₁₉N₃O₄ 305.1, m/z found 306.1 [M+H]⁺.

【0219】

ステップ 2 4 - (6 - アミノピリジン - 3 - イル) ピペリジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル

【0220】

【化 47】



【0221】

反応フラスコに、ステップ 1 で調製した 6 - ニトロ - 3', 6' - ジヒドロ - [3, 4' - ビピリジン] - 1' (2'H) - カルボン酸 tert - ブチル (0.9 g、3.0 mmol) と、酢酸エチル/メタノール (10 mL / 10 mL) と、Pd/C (0.1 g) とを加え、水素ガスを導入し、室温で 2 時間反応させ、ろ過、濃縮し、標題生成物 (白っぽい固体) を 790 mg 得た。

【0222】

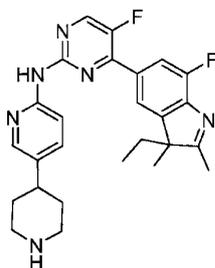
MS (ESI): mass calcd. for C₁₅H₂₃N₃O₂ 277.2, m/z found 278.2 [M+H]⁺.

【0223】

4 - (3 - エチル - 7 - フルオロ - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペリジン - 1 - イル) ピリジン - 2 - イル) ピリミジン - 2 - アミノ

【0224】

【化 48】



【0225】

その他のステップについて、実施例 1 の 3 ~ 7 と類似するステップに従い、本実施例の標題化合物を得た。

【0226】

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.61 (br s, 1H), 8.46 (d, 1H, J = 3.6 Hz), 8.34 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 8.26 (d, 1H, J = 1.6 Hz), 7.93 (d, 1H, J = 11.2 Hz), 7.64 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.86 (s, 1H), 7.61 (dd, 1H, J = 8.4 Hz, 2.0 Hz), 3.24 - 3.21 (m, 2H), 2.77 (t, 1H, J = 10.8 Hz), 2.64 - 2.61 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.06 - 1.91 (

10

20

30

40

50

m, 4H), 1.89 - 1.84 (m, 3H), 1.72 - 1.63 (m, 2H), 1.39 (s, 3H), 0.50 (t, 1H, J = 7.2 Hz)。

【0227】

MS (ESI): m/z found 463.3 [M+H]⁺。

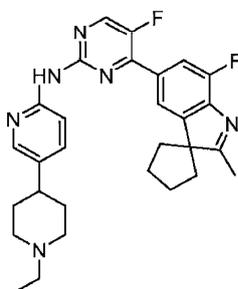
【0228】

実施例 12 N-(5-(1-エチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0229】

【化49】

10



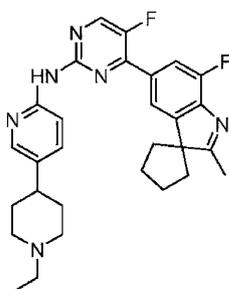
【0230】

5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N(5-(ピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

20

【0231】

【化50】



30

【0232】

実施例 11 と類似するステップに従い、当該中間体を得た。

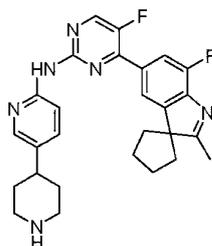
【0233】

N-(5-(1-エチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0234】

【化51】

40



【0235】

反応フラスコに、上記のステップで調製した5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(

50

ピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ 50 mg (0.1 mmol) と、アセトアルデヒド 26 mg (0.6 mmol) と、ジクロロメタン 5 ml とを加え、室温で 0.5 時間反応させてから、水素化トリエチルホウ素ナトリウム 60 mg (0.28 mmol) を加え、室温で 2 時間反応させ、反応液に飽和炭酸ナトリウム水溶液 20 ml を加えてから、ジクロロメタンで毎回 10 ml にして抽出を 3 回行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (PE/EA = 5 : 1) で分離し、標題化合物が 11 mg 得られ、収率は 22% であった。

【0236】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.45 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.38 (s, 1H), 8.33 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 8.25 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.90 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 7.62 (dd, 1H, $J = 8.8, 2.0$ Hz), 3.14 - 3.11 (m, 2H), 2.55 - 2.46 (m, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.18 - 2.03 (m, 8H), 1.90 - 1.82 (m, 6H), 1.15 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

10

【0237】

MS (ESI): m/z 503.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

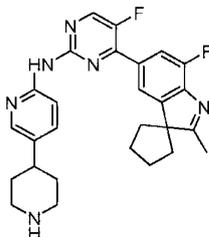
【0238】

実施例 13 5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) - N - (5 - (ピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

20

【0239】

【化52】



30

【0240】

実施例 11 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0241】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.14 (br s, 1H), 8.48 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz), 8.34 - 8.30 (m, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.89 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz), 7.58 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 3.22 - 3.19 (m, 2H), 2.76 (t, 2H, $J = 11.6$ Hz), 2.66 - 2.60 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.16 - 2.02 (m, 6H), 1.88 - 1.83 (m, 4H), 1.69 - 1.61 (m, 2H).

【0242】

MS (ESI): m/z 475.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

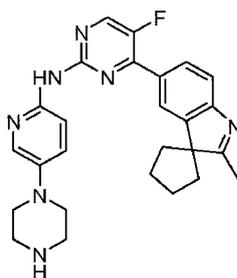
40

【0243】

実施例 14 5 - フルオロ - 4 - (2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) - N - (5 - (ピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0244】

【化53】



【0245】

10

実施例 1 1 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0246】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.28 (br s, 1H), 8.43 (d, 1H, $J = 3.6 \text{ Hz}$), 8.33 (d, 1H, $J = 9.2 \text{ Hz}$), 8.16 - 8.09 (m, 3H), 7.63 (d, 1H, $J = 8.0 \text{ Hz}$), 7.32 (dd, 1H, $J = 9.2 \text{ Hz}, 2.8 \text{ Hz}$), 3.08 - 3.06 (m, 4H), 3.03 - 3.02 (m, 4H), 2.34 (s, 3H), 2.29 - 2.04 (m, 7H), 1.86 - 1.83 (m, 2H)。

【0247】

MS (ESI): m/z 458.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

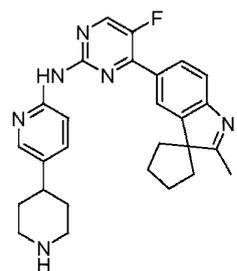
20

【0248】

実施例 1 5 5 - フルオロ - 4 - (2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) - N - (5 - (ピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0249】

【化54】



30

【0250】

実施例 1 1 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0251】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.99 (br s, 1H), 8.46 (d, 1H, $J = 3.6 \text{ Hz}$), 8.39 (d, 1H, $J = 8.4 \text{ Hz}$), 8.29 (d, 1H, $J = 1.6 \text{ Hz}$), 8.15 - 8.11 (m, 2H), 7.65 (d, 1H, $J = 8.0 \text{ Hz}$), 7.58 (dd, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}, 2.0 \text{ Hz}$), 3.22 - 3.19 (m, 2H), 2.76 (t, 2H, $J = 10.4 \text{ Hz}$), 2.65 - 2.59 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.18 - 2.05 (m, 7H), 1.88 - 1.83 (m, 4H), 1.70 - 1.60 (m, 2H)。

40

【0252】

MS (ESI): m/z 457.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

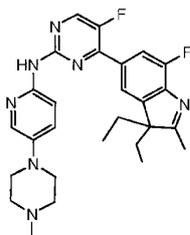
【0253】

実施例 1 6 4 - (3, 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0254】

50

【化55】

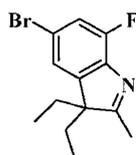


【0255】

ステップ1 5 - ブロモ - 3 , 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - イン
ドールの合成 10

【0256】

【化56】



【0257】

反応フラスコに、酢酸10mlと、(4-ブロモ-2-フルオロベンゼン)ヒドラジン
塩酸塩5.0g(20.75mmol)と、3-エチルペンタン-2-オン2.35g(20.75mmol)とを加え、混合物を5時間還流反応させ、溶媒をスピン乾燥し、水50mlを加えてから、酢酸エチルで毎回50mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。有機層を食塩水50mlで一回洗浄し、硫酸ナトリウムを加えて乾燥させ、ろ過、スピン乾燥し、カラムクロマトグラフィー(EA:PE=1:100~1:10)で分離し、標題化合物(黄色油状物質)が2.5g得られ、収率は87.1%であった。 20

【0258】

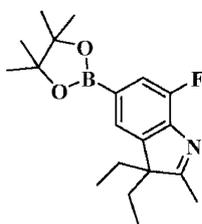
MS(ESI): m/z 286.1 [M+H]⁺。

【0259】

ステップ2 3,3-ジエチル-7-フルオロ-2-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)-3H-インドールの合成 30

【0260】

【化57】



【0261】

反応フラスコに、ステップ1で調製した5-ブロモ-3,3-ジエチル-7-フルオロ
-2-メチル-3H-インドール2.0g(7.07mmol)と、4,4,4',4',5,5,5',5'-
オクタメチル-2,2'-ビス(1,3,2-ジオキサボロラン)1.97g(7.77mmol)と、酢酸カリウム1.38g(1.41mmol)と、1,4-ジオキサン10mlと、Pd(dppf)Cl₂1.03g(1.41mmol)とを加え、窒素で保護し、混合物を90℃まで加熱し、一晚反応させた。混合物を室温まで冷却させ、ろ過し、水10mlで希釈し、酢酸エチルで毎回10mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。有機相を食塩水15mlで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(EA:PE=1:50~1:10)で分離し、標題化合物(黄色油状物質)が2.0g得られ、収率は86.96%であった。 50

【0262】

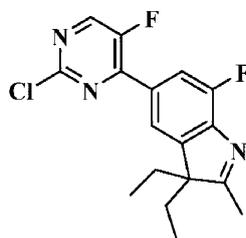
MS (ESI) : m/z 332.3 [M+H]⁺.

【0263】

ステップ3 5 - (2 - クロロ - 5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 3 , 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - インドール

【0264】

【化58】



10

【0265】

反応フラスコに、ステップ2で調製した3,3-ジエチル-7-フルオロ-2-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)-3H-インドール2.0g(6.05mmol)と、2,4-ジクロロ-5-フルオロピリミジン1.10g(6.65mmol)と、リン酸カリウム2.56g(12.1mmol)と、1,4-ジオキサン/水20mL/5mLと、Pd(PPh₃)₄0.69g(0.61mmol)とを加え、窒素で保護し、混合物を120℃まで加熱し、2時間反応させた。混合物を室温まで冷却させ、ろ過し、水10mLで希釈し、ジクロロメタン50mLで3回抽出し、有機相を合わせた。有機相を食塩水20mLで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(EA:PE=1:100~1:10)で分離し、標題化合物(黄色固体)が1.2g得られ、収率は59.4%であった。

20

【0266】

MS (ESI) : m/z 336.1 [M+H]⁺.

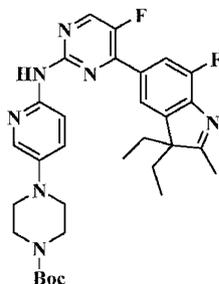
【0267】

ステップ4 4 - (6 - ((4 - (3 , 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) アミノ) ピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル

30

【0268】

【化59】



40

【0269】

反応フラスコに、ステップ3で調製した5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-3,3-ジエチル-7-フルオロ-2-メチル-3H-インドール400.0mg(1.19mmol)と、実施例1のステップ1~2に従い調製した4-(6-アミノピリジン-3-イル)ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル331.9mg(1.19mmol)と、炭酸セシウム776.2mg(2.38mmol)と、1,4-ジオキサン10mLと、Pd₂(dba)₃109.5mg(0.12mmol)と、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69.0mg(0.

50

12 mmol) とを加え、窒素で保護し、混合物を 130 で、マイクロ波反応を 1 時間行った。混合物を室温まで冷却させ、ろ過して水 10 ml で希釈し、ジクロロメタン 10 ml で 3 回抽出し、有機相を合わせた。有機相を食塩水 30 ml で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、TLC で分離し、標題化合物 (黄色固体) が 253.1 mg 得られ、収率は 36.74% であった。

【0270】

MS (ESI) : m/z 578.3 [M+H]⁺。

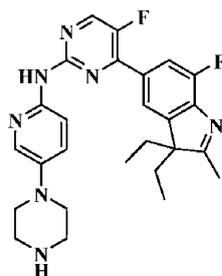
【0271】

ステップ 5 4 - (3, 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

10

【0272】

【化60】



20

【0273】

反応フラスコに、ステップ 4 で調製した 4 - (6 - ((4 - (3, 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロピリミジン - 2 - イル)アミノ)ピリジン - 3 - イル)ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル 250.0 mg (0.43 mmol) と、ジクロロメタン 4 mL と、TFA 1 mL とを加えた。混合物を室温で 2 時間回転攪拌させてから、溶媒を除去し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液 5 mL で pH を 8 に調整し、ジクロロメタンで毎回 5 mL にして抽出を 3 行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水 10 mL で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、TLC で分離精製し、標題化合物 (黄色固体) が 201.2 mg 得られ、収率は 97.6% であった。

30

【0274】

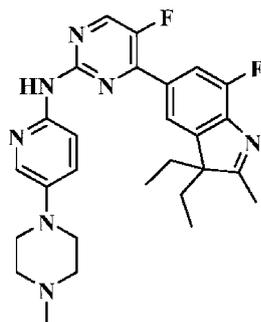
MS (ESI) : m/z 478.3 [M+H]⁺。

【0275】

ステップ 6 4 - (3, 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0276】

【化61】



40

【0277】

反応フラスコに、4 - (3, 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3 H - インド

50

ール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピリジン - 2 - イル) ピリミジン - 2 - アミノ 50.0 mg (0.10 mmol) と、ホルムアルデヒド 30.8 mg (1.0 mmol) と、1 - エチル - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド 2 ml と、水素化トリエチルホウ素ナトリウム 65.3 mg (0.3 mmol) とを加え、一晩反応させた。メタノール 2 ml を加えてクエンチし、ジクロロメタンで毎回 5 ml にして抽出を 3 回行った。有機相を飽和食塩水 10 ml で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、TLC で分離し、標題化合物 (黄色固体) が 20.3 mg 得られ、収率は 39.4 % であった。

【 0 2 7 8 】

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) 9.57 (br s, 1H), 8.47 (d, 1H, J = 3.2 Hz), 8.28 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 8.18 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 7.91 (d, 1H, J = 11.2 Hz), 7.78 (s, 1H), 7.33 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 3.16 - 3.15 (m, 4H), 2.58 - 2.57 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.04 - 1.95 (m, 2H), 1.85 - 1.78 (m, 7H), 0.43 (t, 6H, J = 7.2 Hz)。

【 0 2 7 9 】

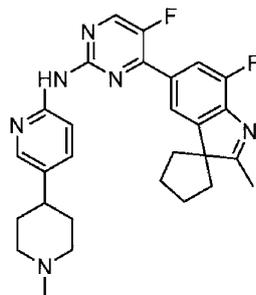
MS (ESI) : m / z 492.3 [M + H]⁺

【 0 2 8 0 】

実施例 17 5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) - N - (5 - (1 - メチルピペリジン - 4 - イル) ピリジン - 2 - イル) ピリミジン - 2 - アミノ

【 0 2 8 1 】

【 化 6 2 】

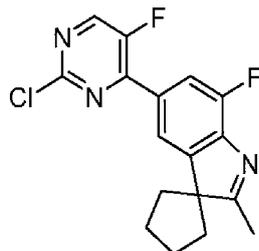


【 0 2 8 2 】

実施例 1 と類似するステップに従い、中間体である 5' - (2 - クロロ - 5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] を得た。

【 0 2 8 3 】

【 化 6 3 】

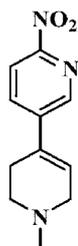


【 0 2 8 4 】

ステップ 1 1' - メチル - 6 - ニトロ - 1', 2', 3', 6' - テトラヒドロ - 3, 4' - ピピリジン

【 0 2 8 5 】

【化64】



【0286】

反応フラスコに、5-ブロモ-2-ニトロピリジン(20.3g、0.1mol)と、1-メチル-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキソボロナート-2-イル)-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン(22.3g、0.1mol)と、ジオキサン/水(250mL/30mL)と、炭酸セシウム(66g、0.2mol)と、Pd(dppf)Cl₂(7.33g、0.01mol)とを加え、窒素で保護した。当該混合物を85℃で12時間攪拌反応させ、室温まで冷却させて濃縮し、カラムクロマトグラフィー(PE/EA=1:1-DCM/MeOH=20:1)で分離し、標題生成物(白色固体)を5.7g得た。

10

【0287】

MS(ESI): mass calcd. for C₁₁H₁₃N₃O₂ 219.1, m/z found 220.1 [M+H]⁺.

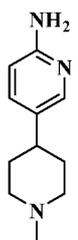
20

【0288】

ステップ2 5-(1-メチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-アミノ

【0289】

【化65】



30

【0290】

反応フラスコに、ステップ1で調製した1'-メチル-6-ニトロ-1',2',3',6'-テトラヒドロ-3,4'-ビピリジン(657mg、3.0mmol)と、酢酸エチル/メタノール(10mL/10mL)と、Pd/C(0.1g)とを加えた。当該混合物に水素ガスを導入し、2時間攪拌反応させ、ろ過、濃縮し、標題生成物(白色固体)を550mg得た。

【0291】

MS(ESI): mass calcd. for C₁₁H₁₇N₃ 191.1, m/z found 192.2 [M+H]⁺.

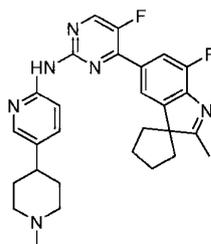
40

【0292】

ステップ3 5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(1-メチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0293】

【化66】



【0294】

反応フラスコに、中間体である5'-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール](150.0mg、0.45mmol)と、ステップ2で調製した5-(1-メチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-アミノ(86.6mg、0.45mmol)と、炭酸セシウム(293.2mg、0.9mmol)と、ジオキサン(3ml)と、Pd₂(dba)₃(44.7mg、0.05mmol)と、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(30.4mg、0.05mmol)とを加え、窒素で保護し、150℃まで加熱し、マイクロ波反応を1時間行った。室温まで冷却させ、ろ過し、水10mlを加え、ジクロロメタンで毎回10mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。飽和塩化ナトリウム水溶液30mlで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン/メタノール=50:1)で分離し、標題化合物(黄色固体)を51.1mg得た。

【0295】

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) 9.38(br s, 1H), 8.49(d, 1H, J=3.2Hz), 8.34-8.33(m, 2H), 7.96(s, 1H), 7.88(d, 1H, J=11.2Hz), 7.58(dd, 1H, J=8.8Hz, 1.6Hz), 3.01-2.98(m, 2H), 2.52-2.44(m, 1H), 2.38(s, 3H), 2.34(s, 3H), 2.25-2.04(m, 8H), 1.87-1.76(m, 6H)。

【0296】

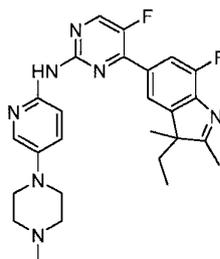
MS(ESI): m/z 489.3[M+H]⁺。

【0297】

実施例18 4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロ-N-(5-(4-メチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0298】

【化67】



【0299】

実施例16と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0300】

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) 9.48(br s, 1H), 8.47(d, 1H, J=3.2Hz), 8.28(d, 1H, J=9.2Hz), 8.17(s, 1H), 7.90(d, 1H, J=10.8Hz), 7.82(s, 1H), 7.34(d, 1H, J=8.4Hz), 3.17-3.16(m, 4H), 2.59-2.58(m

, 4 H), 2.35 (s, 3 H), 2.31 (s, 3 H), 2.01 - 1.96 (m, 1 H), 1.87 - 1.82 (m, 1 H), 1.35 (s, 3 H), 0.47 (t, 3 H, J = 7.2 Hz)。

【0301】

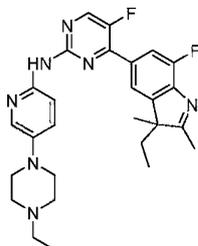
MS (ESI): m/z 478.3 [M+H]⁺。

【0302】

実施例 19 4 - (3 - エチル - 7 - フルオロ - 2, 3 - ジメチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - N - (5 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル) - 5 - フルオロピリミジン - 2 - アミノ

【0303】

【化68】

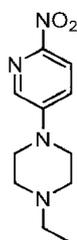


【0304】

ステップ 1 1 - エチル - 4 - (6 - ニトロピリジン - 3 - イル) ピペラジンの合成

【0305】

【化69】



【0306】

5 - ブロモ - 2 - ニトロピリジン 4.00 g (19.7 mmol) と、1 - エチルピペラジン 3.40 g (2.98 mmol) と、炭酸カリウム 4.10 g (29.6 mmol) と、テトラブチルアンモニウムヨード 0.4 g (1.2 mmol) と、DMSO 40 mL とを順に反応フラスコに加え、80 で 16 時間反応させた。その後、反応液を氷水に注ぎ込み、ジクロロメタンで毎回 20 mL にして抽出を 3 回行い、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (DCM/MeOH = 100 : 1 ~ 10 : 1) で分離し、黄色固体が 3.59 g 得られ、収率は 56.1% であった。

【0307】

MS (ESI): m/z 237.2 [M+H]⁺。

【0308】

ステップ 2 5 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) ピリジン - 2 - アミノの合成

【0309】

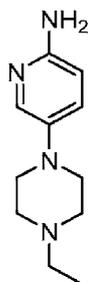
10

20

30

40

【化70】



【0310】

10

ステップ1で調製した1-エチル-4-(6-ニトロピリジン-3-イル)ピペラジン650mg(2.13mmol)をメタノール45mlに溶解し、10%パラジウム炭素(250mg, cat)を加え、水素ガス置換を3回行い、3気圧下、水素ガス雰囲気にて室温で12時間反応させた。反応を停止させ、少量の珪藻土でろ過し、ケーキをジクロロメタンとメタノール(V/V=10:1)との混合溶媒20mlで一回洗浄し、ろ液を集め、減圧濃縮し、標題化合物の粗生成物(透明の粘り気がある物質)が559mg得られ、これを精製せず、そのまま後続の反応に用いた。

【0311】

MS(ESI): m/z 207.1 [M+H]⁺.

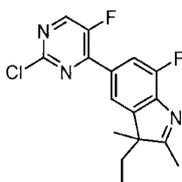
【0312】

20

ステップ3 5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドールの合成

【0313】

【化71】



【0314】

30

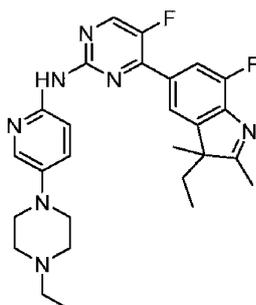
当該中間体を実施例16のステップ1~3と同様の方法に従い調製した。

【0315】

ステップ4 4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロピリミジン-2-アミノの合成

【0316】

【化72】



40

【0317】

反応フラスコに、ステップ3で調製した5-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール321mg(1mmol)と、ステップ2で調製した5-(4-エチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-アミノ206mg(1mmol)と、1,4-ジオキササン2mlと、Cs₂

50

CO₃650mg(2mmol)と、Pd₂(dba)₃91mg(0.1mmol)と、ジフェニルホスフィン58mg(0.1mmol)とを加えた。混合物を120℃まで加熱し、マイクロ波反応を1時間行った。室温まで冷却させ、水10mlを加えてから、酢酸エチルで毎回40mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水40mlで一回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM/MeOH=10:1)で分離し、標題化合物(黄色固体)が49mg得られ、収率は10%であった。

【0318】

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) 9.25(br s, 1H), 8.46(d, 1H, J=3.2Hz), 8.28(d, 1H, J=9.2Hz), 8.17(d, 1H, J=2.0Hz), 7.90(d, 1H, J=11.2Hz), 7.82(s, 1H), 7.35(dd, 1H, J=9.2Hz, 2.8Hz), 3.20-3.18(m, 4H), 2.64-2.61(m, 4H), 2.51(q, 2H, J=6.8Hz), 2.31(s, 3H), 2.03-1.94(m, 1H), 1.89-1.82(m, 1H), 1.36(s, 3H), 1.13(t, 3H, J=7.2Hz), 0.48(t, 3H, J=7.2Hz)。

10

【0319】

MS(ESI): m/z 492.3[M+H]⁺。

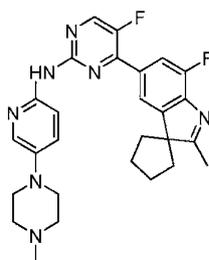
【0320】

実施例20 5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(4-メチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

20

【0321】

【化73】



30

【0322】

実施例16と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0323】

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) 9.77(br s, 1H), 8.63(d, 1H, J=4.0Hz), 8.02-7.98(m, 3H), 7.82(d, 1H, J=11.2Hz), 7.41(dd, 1H, J=8.8Hz, 2.8Hz), 3.13-3.11(m, 4H), 2.49-2.46(m, 4H), 2.33(s, 3H), 2.26(s, 3H), 2.23-2.07(m, 6H), 1.76-1.74(m, 2H)。

40

【0324】

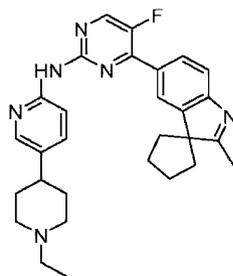
MS(ESI): m/z 490.3[M+H]⁺。

【0325】

実施例21 N-(5-(1-エチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0326】

【化74】



【0327】

10

実施例12と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0328】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) 9.91 (br s, 1H), 8.65 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz), 8.28 - 8.14 (m, 3H), 8.04 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.43 (dd, 1H, $J = 8.4$ Hz, 2.0 Hz), 7.60 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 3.00 - 2.97 (m, 4H), 2.38 - 2.33 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.08 - 2.07 (m, 6H), 1.99 - 1.94 (m, 2H), 1.77 - 1.64 (m, 6H), 1.02 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz)。

【0329】

20

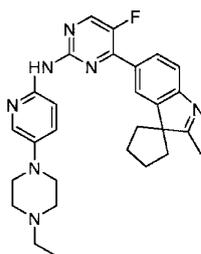
MS (ESI): m/z 485.3 [M+H] $^+$ 。

【0330】

実施例22 N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0331】

【化75】



30

【0332】

実施例19と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0333】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl $_3$) 8.87 (br s, 1H), 8.42 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.33 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 8.13 - 8.10 (m, 3H), 7.65 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.35 (dd, 1H, $J = 8.8$ Hz, 2.4 Hz), 3.19 - 3.18 (m, 4H), 2.64 - 2.63 (m, 4H), 2.53 (q, 2H, $J = 6.8$ Hz), 2.35 (s, 3H), 2.27 - 2.06 (m, 6H), 1.88 - 1.85 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz)。

40

【0334】

MS (ESI): m/z 486.4 [M+H] $^+$ 。

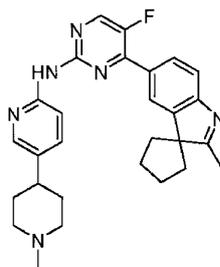
【0335】

実施例23 N-(5-(4-メチルピペリジン-1-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

50

【0336】

【化76】



【0337】

実施例17と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0338】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.24 (br s, 1H), 8.47 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz), 8.38 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 8.31 (s, 1H), 8.14 - 8.09 (m, 2H), 7.64 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.57 (dd, 1H, $J = 8.4$ Hz, 2.4 Hz), 3.00 - 2.98 (m, 2H), 2.49 - 2.46 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.16 - 1.99 (m, 8H), 1.85 - 1.76 (m, 6H)。

【0339】

MS (ESI): m/z 471.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

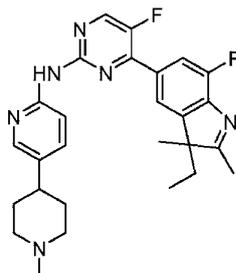
20

【0340】

実施例24 4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロ-N-(5-(1-メチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0341】

【化77】



30

【0342】

実施例17と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0343】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.74 (br s, 1H), 8.50 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.35 - 8.32 (m, 2H), 7.88 - 7.82 (m, 2H), 7.57 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 2.97 - 2.95 (m, 2H), 2.49 - 2.42 (m, 1H), 2.30 (s, 6H), 2.24 - 1.93 (m, 3H), 1.88 - 1.74 (m, 5H), 1.35 (s, 3H), 0.47 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz)。

40

【0344】

MS (ESI): m/z 477.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

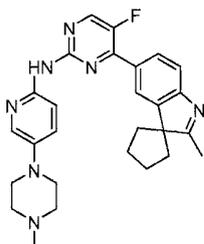
【0345】

実施例25 5-フルオロ-N-(5-(4-メチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)-4-(2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0346】

50

【化78】



【0347】

実施例16と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0348】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.28 (br s, 1H), 8.44 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.33 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 8.18 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz), 8.12 - 8.09 (m, 2H), 7.64 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.33 (dd, 1H, $J = 9.2$ Hz, 2.4 Hz), 3.16 - 3.14 (m, 4H), 2.59 - 2.58 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.15 - 2.06 (m, 6H), 1.87 - 1.83 (m, 2H)。

【0349】

MS (ESI): m/z 472.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

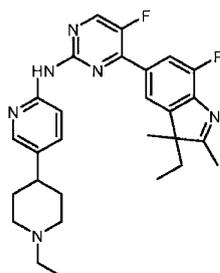
【0350】

20

実施例26 4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-N-(5-(1-エチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロピリミジン-2-アミノ

【0351】

【化79】



30

【0352】

実施例12と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0353】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) 9.99 (br s, 1H), 8.70 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz), 8.19 (s, 1H), 8.14 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.92 (s, 1H), 7.85 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 7.69 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 3.04 - 3.02 (m, 2H), 2.42 - 2.41 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.04 - 1.99 (m, 3H), 1.89 - 1.84 (m, 1H), 1.78 - 1.63 (m, 4H), 1.33 (s, 3H), 1.04 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 0.36 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz)。

40

【0354】

MS (ESI): m/z 491.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

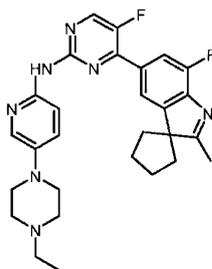
【0355】

実施例27 N-(5-(4-エチルピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0356】

50

【化80】



【0357】

実施例19と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

10

【0358】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.92 (br s, 1H), 8.44 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.29 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 8.15 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz), 7.94 (s, 1H), 7.89 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 7.36 (dd, 1H, $J = 9.2$ Hz, 2.8 Hz), 3.21 - 3.19 (m, 4H), 2.65 - 2.63 (m, 4H), 2.51 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.38 (s, 3H), 2.22 - 2.07 (m, 6H), 1.89 - 1.86 (m, 2H), 1.15 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz)。

【0359】

MS (ESI): m/z 504.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

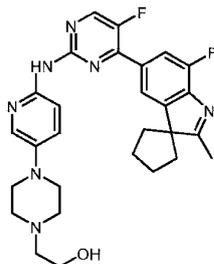
20

【0360】

実施例28 2-(4-(6-(5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-イル)アミノ)ピリジン-3-イル)ピペラジン-1-イル)エタノール

【0361】

【化81】



30

【0362】

反応フラスコに、5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ20mg (0.04 mmol、実施例6と同様にして調製したものと)、2-プロモ-エタノール16mg (0.12 mmol)と、DMF 2mlと、炭酸セシウム17mg (0.12 mmol)とを加え、80℃まで加熱し、1時間反応させてから室温までに冷却させ、水10mlを加えた。その後、酢酸エチルで毎回40mlにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水40mlで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (DCM/MeOH = 10:1) で分離し、標題化合物 (黄色固体) が10mg得られ、収率は55%であった。

40

【0363】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.52 (br s, 1H), 8.43 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz), 8.29 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 8.09 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.89 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz), 7.36 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 3.70 - 3.68 (m, 2H), 3.19 - 3.18 (m, 4H), 2.71 - 2.63 (m, 7H), 2.39 (s, 3H), 2.25 - 2.0

50

0 (m, 6H), 1.90 - 1.87 (m, 2H)。

【0364】

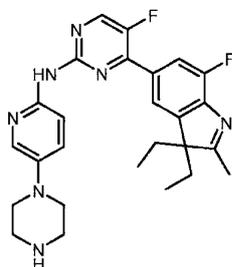
MS (ESI) : m/z 520.3 [M+H]⁺。

【0365】

実施例 29 4 - (3, 3 - ジエチル - 7 - フルオロ - 2 - メチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペラジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0366】

【化82】



10

【0367】

実施例 1 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0368】

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.66 (br s, 1H), 8.45 (d, 1H, J = 3.6 Hz), 8.29 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 8.11 (d, 1H, J = 2.8 Hz), 7.94 (d, 1H, J = 11.2 Hz), 7.81 (s, 1H), 7.37 (dd, 1H, J = 8.8 Hz, 2.4 Hz), 3.13 - 3.12 (m, 4H), 3.08 - 3.07 (m, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.08 - 1.99 (m, 2H), 1.91 - 1.82 (m, 3H), 0.46 (t, 6H, J = 7.6 Hz)。

20

【0369】

MS (ESI) : m/z 478.3 [M+H]⁺。

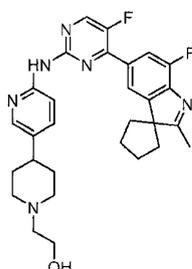
【0370】

実施例 30 2 - (4 - (6 - ((5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ[シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル)ピリミジン - 2 - イル)アミノ)ピリジン - 3 - イル)ピペリジン - 1 - イル)エタノール

30

【0371】

【化83】



40

【0372】

反応フラスコに、実施例 13 と同様な方法で調製した 5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ[シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) - N - (5 - (ピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ 20 mg (0.04 mmol) と、2 - ブロモエタノール 16 mg (0.12 mmol) と、DMF 2 mL と、炭酸セシウム 17 mg (0.12 mmol) とを加え、80 °C まで加熱し、1 時間反応させた。その後、室温まで冷却させ、水 10 mL を加え、酢酸エチルで毎回 40 mL にして抽出を 3 回行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水 40 mL で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、シリカゲルカラムクロマト

50

グラフィー（DCM/MeOH = 10 : 1）で分離し、標題化合物（黄色固体）が10 mg 得られ、収率は55%であった。

【0373】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.63 (br s, 1H), 8.46 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz), 8.34 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 8.26 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.90 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz), 7.60 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 3.67 - 3.66 (m, 2H), 3.08 - 3.06 (m, 2H), 2.60 - 2.52 (m, 4H), 2.39 (s, 3H), 2.25 - 2.11 (m, 8H), 1.89 - 1.83 (m, 4H), 1.80 - 1.77 (m, 2H)。

【0374】

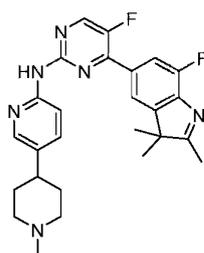
MS (ESI): m/z 519.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

【0375】

実施例 3 1 5 - フルオロ - 4 - (7 - フルオロ - 2, 3, 3 - トリメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - N - (5 - (1 - メチルピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0376】

【化84】



【0377】

実施例 17 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0378】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol-d_4) 8.57 (br s, 1H), 8.37 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.18 (s, 1H), 8.13 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.84 (s, 1H), 7.70 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 7.51 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz), 3.21 - 3.18 (m, 2H), 2.60 - 2.54 (m, 4H), 2.50 - 2.44 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.90 - 1.79 (m, 4H), 1.38 (s, 6H)。

【0379】

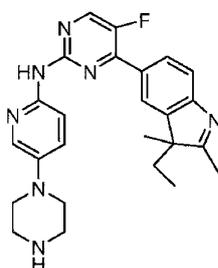
MS (ESI): m/z 463.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

【0380】

実施例 3 2 4 - (3 - エチル - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0381】

【化85】



【0382】

実施例 6 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0383】

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) 9.68 (br s, 1H), 8.44 (d, 1H, J = 3.6 Hz), 8.32 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 8.18 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 8.11 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.98 (s, 1H), 7.64 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.30 (d, 1H, J = 2.8 Hz), 3.05 - 3.04 (m, 4H), 3.00 - 2.98 (m, 4H), 2.26 (s, 3H), 2.00 - 1.90 (m, 2H), 1.83 - 1.74 (m, 1H), 1.32 (s, 3H), 0.45 (t, 1H, J = 7.2 Hz)。

【0384】

MS (ESI) : m/z 446.3 [M + H]⁺。

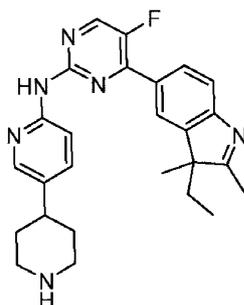
10

【0385】

実施例 33 4 - (3 - エチル - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (ピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0386】

【化 86】



20

【0387】

実施例 13 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0388】

¹H - NMR (400 MHz, Methanol - d₄) 8.33 (d, 1H, J = 2.8 Hz), 8.16 - 8.13 (m, 2H), 7.95 - 7.93 (m, 2H), 7.48 - 7.41 (m, 2H), 3.18 - 3.15 (m, 2H), 2.73 (t, 1H, J = 11.6 Hz), 2.59 - 2.53 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.01 - 1.96 (m, 1H), 1.89 - 1.83 (m, 1H), 1.79 - 1.76 (m, 2H), 1.66 - 1.58 (m, 2H), 1.32 (s, 3H), 0.42 (t, 1H, J = 6.8 Hz)。

30

【0389】

MS (ESI) : m/z 445.3 [M + H]⁺。

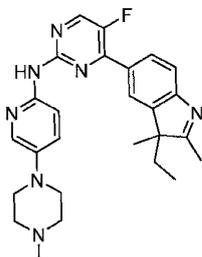
【0390】

実施例 34 4 - (3 - エチル - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

40

【0391】

【化 87】



【0392】

50

実施例 16 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0393】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) 8.42 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz), 8.18 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 8.09 - 8.01 (m, 3H), 7.57 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.42 - 7.37 (m, 1H), 3.22 - 3.15 (m, 4H), 2.61 - 2.60 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.07 - 2.02 (m, 1H), 1.94 - 1.89 (m, 1H), 1.38 (s, 3H), 0.43 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz)。

【0394】

MS (ESI) : m/z 460.3 [M+H] $^+$ 。

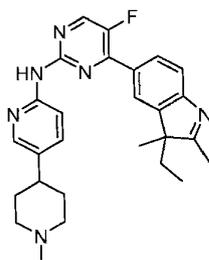
10

【0395】

実施例 35 4 - (3 - エチル - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - (1 - メチルピペリジン - 4 - イル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0396】

【化88】



20

【0397】

実施例 17 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0398】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.97 (br s, 1H), 8.47 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.39 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 8.30 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz), 8.15 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 8.04 (s, 1H), 7.68 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.59 (dd, 1H, $J = 8.8$ Hz, 2.4 Hz), 3.01 - 2.98 (m, 4H), 2.51 - 2.45 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.10 - 1.97 (m, 3H), 1.85 - 1.81 (m, 5H), 1.37 (s, 3H), 0.49 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz)。

30

【0399】

MS (ESI) : m/z 459.3 [M+H] $^+$ 。

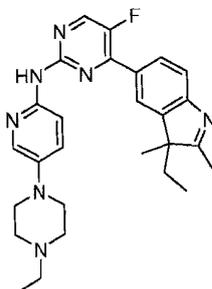
【0400】

実施例 36 4 - (3 - エチル - 2, 3 - ジメチル - 3H - インドール - 5 - イル) - N - (5 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル)ピリジン - 2 - イル) - 5 - フルオロピリミジン - 2 - アミノ

40

【0401】

【化89】



50

【0402】

実施例19と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0403】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.93 (br s, 1H), 8.44 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 8.33 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 8.15 - 8.13 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.67 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.35 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 3.19 - 3.18 (m, 4H), 2.63 - 2.62 (m, 4H), 2.52 - 2.47 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.02 - 1.97 (m, 1H), 1.86 - 1.80 (m, 1H), 1.36 (s, 3H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz), 0.57 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz)。

10

【0404】

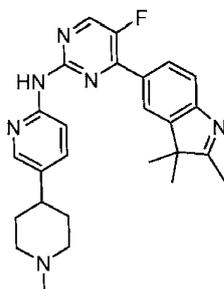
MS (ESI): m/z 474.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

【0405】

実施例37 5-フルオロ-N-(5-(1-メチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)-4-(2,3,3-トリメチル-3H-インドール-5-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0406】

【化90】



20

【0407】

実施例17と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0408】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 9.03 (br s, 1H), 8.46 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz), 8.38 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 8.29 (s, 1H), 7.67 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.60 (dd, 1H, $J = 8.8$ Hz, 1.6 Hz), 3.00 - 2.97 (m, 2H), 2.49 - 2.44 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.10 - 2.03 (m, 2H), 1.84 - 1.79 (m, 4H), 1.37 (s, 6H)。

30

【0409】

MS (ESI): m/z 445.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

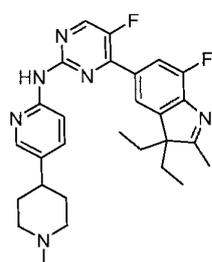
【0410】

実施例38 4-(3,3-ジエチル-7-フルオロ-2-メチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロ-N-(5-(1-メチルピペリジン-4-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ

40

【0411】

【化91】



50

【0412】

実施例17と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0413】

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 9.95 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.19 - 8.11 (m, 2H), 7.89 - 7.84 (m, 2H), 7.67 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 2.87 - 2.85 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.02 - 1.92 (m, 6H), 1.90 - 1.65 (m, 4H), 0.34 (m, 6H)。

【0414】

MS (ESI): m/z 491.3 [M+H]⁺。

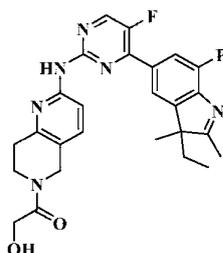
10

【0415】

実施例39 1-(2-(4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロピリミジン-2-イル)アミノ)-7,8-ジヒドロ-1,6-ナフチリジン-6(5H)-イル)-2-ヒドロキシアセトアミド

【0416】

【化92】



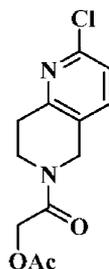
20

【0417】

ステップ1 2-(2-クロロ-7,8-ジヒドロ-1,6-ナフチリジン-6(5H)-イル)-2-アセトキシアセトアミド

【0418】

【化93】



30

【0419】

反応フラスコに、2-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロ-1,6-ナフチリジン 1.0 g (5.95 mmol) と、トリエチルアミン 1.21 g (11.90 mmol) と、ジクロロメタン 5 ml とを加え、その後、2-クロロ-2-アセトキシアセチルクロライド 1.22 g (8.93 mmol) をゆっくり滴下した。当該混合物を室温で1時間反応させ、水 5 ml を加えてクエンチ反応を行い、溶媒を除去し、ジクロロメタンで毎回 15 ml にして抽出を3回を行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水 10 ml で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、真空濃縮し、標題化合物である灰白色の粗生成物が 1.09 g 得られ、収率は 68.21% であった。

40

【0420】

MS (ESI): m/z 269.1 [M+H]⁺。

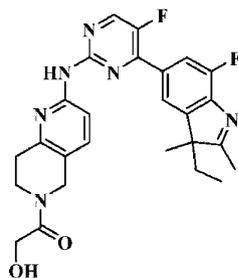
【0421】

ステップ2 1-(2-(4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロピリミジン-2-イル)アミノ)-7,8-ジヒドロ-1,6-ナフチリジン-6(5H)-イル)-2-ヒドロキシアセトアミド

50

【0422】

【化94】



10

【0423】

反応フラスコに、実施例1のステップ1～3と類似する方法で調製した4-(3-エチル-7-フルオロ-2,3-ジメチル-3H-インドール-5-イル)-5-フルオロピリミジン-2-アミノ101mg(0.34mmol)と、ステップ1で調製した2-(2-クロロ-7,8-ジヒドロ-1,6-ナフチリジン-6(5H)-イル)-2-アセトキシアセトアミド85.2mg(0.32mmol)と、ジオキサン10mLと、ナトリウムtert-ブトキシド65.3mg(0.68mmol)と、Pd₂(dba)₃31.2mg(0.034mmol)と、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19.7mg(0.034mmol)とを加えた。当該混合物を120℃まで加熱し、マイクロ波反応を1時間行ってから、室温まで冷却させ、水50mLを加え、酢酸エチルで毎回50mLにして抽出を3回行い、有機相を合わせた。有機相を飽和食塩水50mLで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン/メタノール=10:1)で分離し、標題化合物(白色固体)が20mg得られ、収率は12%であった。

20

【0424】

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) 9.98(s, 1H), 8.70(d, 1H, J=3.6Hz), 8.07(d, 1H, J=8.4Hz), 7.94(s, 1H), 7.87(d, 1H, J=11.2Hz), 7.64-7.57(m, 1H), 4.68-4.55(m, 3H), 4.22-4.21(m, 2H), 4.21-4.19(m, 2H), 2.89-2.81(m, 2H), 2.28(s, 3H), 2.04-1.84(m, 2H), 1.33(s, 3H), 0.37(t, 3H, J=7.2Hz)。

30

【0425】

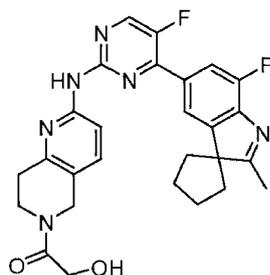
MS(ESI): m/z 493.2[M+H]⁺。

【0426】

実施例40 1-(2-((5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-イル)アミノ)-7,8-ジヒドロ-1,6-ナフチリジン-6(5H)-イル)-2-ヒドロキシアセトアミド

【0427】

【化95】



40

【0428】

実施例39と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

50

【0429】

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 10.07 (brs, 1H), 8.69 (d, 1H, J = 3.6 Hz), 8.53 (s, 1H), 8.09 - 8.02 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.88 (d, 1H, J = 12.4 Hz), 7.62 - 7.54 (m, 1H), 4.73 (brs, 1H), 4.62 - 4.61 (m, 2H), 4.21 - 4.19 (m, 2H), 2.89 - 2.81 (m, 2H), 2.50 (s, 2H), 2.34 - 2.11 (m, 5H), 1.75 - 1.72 (m, 2H)。

【0430】

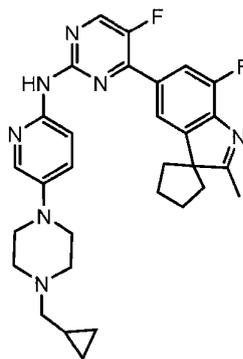
MS (ESI): m/z 505.2 [M+H]⁺。

【0431】

実施例 41 N-(5-(4-(シクロプロピルメチル)ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノ

【0432】

【化96】

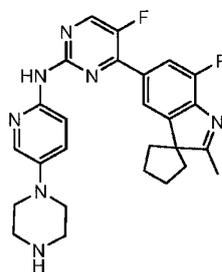


【0433】

実施例 6 と類似するステップに従い、中間体である 5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノを得た。

【0434】

【化97】



【0435】

反応フラスコに、上記中間体である 5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)-N-(5-(ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)ピリミジン-2-アミノ (150 mg、0.32 mmol) と、ブromoメチルシクロプロパンと、アセトニトリル (5 ml) と、炭酸カリウム (130.0 mg、0.96 mmol) とを加え、80 °C まで加熱し、4 時間反応させた。室温まで冷却させ、水 50 ml を加え、ジクロロメタンで毎回 10 ml にして抽出を 3 回行い、有機層を合わせた。飽和食塩水 15 ml で一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、カラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン/メタノール = 10 : 1) で分離し、本実施例の標題生成物 (白色固体) を 42.1 mg 得た。

【0436】

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 9.89 (s, 1H), 8.68 (m

10

20

30

40

50

, 1 H), 8.64 - 8.01 (m, 3 H), 7.87 (d, 1 H, J = 14.4 Hz), 7.42 - 7.40 (m, 1 H), 3.14 - 3.13 (m, 5 H), 2.60 - 2.51 (m, 5 H), 2.33 (s, 3 H), 2.24 - 2.23 (m, 2 H), 2.09 - 2.02 (m, 6 H), 1.99 - 1.97 (m, 2 H), 1.75 - 1.74 (m, 2 H), 0.85 - 0.83 (m, 2 H), 0.48 - 0.47 (m, 2 H)

【0437】

MS (ESI): m/z 530.3 [M+H]⁺.

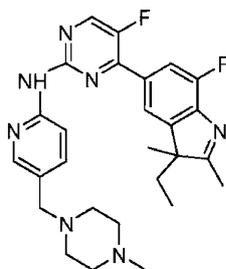
【0438】

実施例 4 2 4 - (3 - エチル - 7 - フルオロ - 2, 3 - ジメチル - 3 H - インドール - 5 - イル) - 5 - フルオロ - N - (5 - ((4 - メチルピペラジン - 1 - イル)メチル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

10

【0439】

【化98】



20

【0440】

実施例 2 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0441】

¹H - NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 10.06 (brs, 1 H), 8.72 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 8.18 - 8.15 (m, 2 H), 7.93 (s, 1 H), 7.86 (d, 1 H, J = 11.6 Hz), 7.67 (d, 1 H, J = 5.2 Hz), 3.42 (s, 2 H), 2.35 - 2.28 (m, 8 H), 2.14 (s, 3 H), 2.04 - 1.98 (m, 1 H), 1.89 - 1.84 (m, 1 H), 1.34 (s, 3 H), 0.36 (t, 3 H, J = 7.2 Hz)。

【0442】

MS (ESI): m/z 492.3 [M+H]⁺.

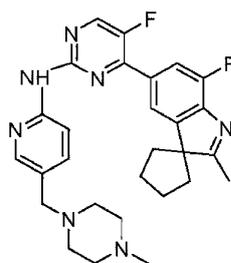
30

【0443】

実施例 4 3 5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ[シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) - N - (5 - ((4 - メチルピペラジン - 1 - イル)メチル)ピリジン - 2 - イル)ピリミジン - 2 - アミノ

【0444】

【化99】



40

【0445】

実施例 2 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0446】

¹H - NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 10.09 (s, 1 H), 8.71 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 8.18 - 8.15 (m, 2 H), 8.02 (s, 1 H), 7.85 (d, 1 H, J = 11.2 Hz), 7.67 (d, 1 H, J = 8.4 Hz),

50

3.43 (s, 2H), 2.50 - 2.34 (m, 8H), 2.14 (s, 3H), 2.14 - 2.08 (m, 6H), 1.75 - 1.74 (m, 2H), 1.75 - 1.72 (m, 2H)。

【0447】

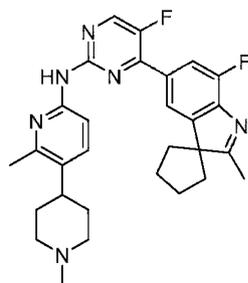
MS (ESI): m/z 504.2 [M+H]⁺。

【0448】

実施例 4.4 N - (5 - (1 - メチルピペリジン - 4 - イル) - (6 - メチルピリジン) - 2 - イル) - 5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) ピリミジン - 2 - アミノ

【0449】

【化100】



【0450】

実施例 1.2 と類似するステップに従い、標題化合物を得た。

【0451】

¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆), 9.84 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.98 - 8.01 (d, 2H), 7.81 - 7.85 (d, 1H), 2.87 - 2.90 (d, 2H), 2.50 - 2.51 (m, 1H), 2.20 - 2.34 (m, 6H), 1.78 - 1.98 (m, 8H), 1.69 - 1.75 (m, 6H)。

【0452】

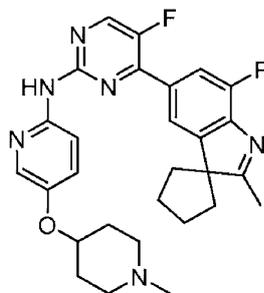
MS (ESI): m/z 503.3 [M+H]⁺。

【0453】

実施例 4.5 N - (5 - ((1 - メチルピペリジン - 4 - イル) オキシ) - ピリジン - 2 - イル) - 5 - フルオロ - 4 - (7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] - 5' - イル) ピリミジン - 2 - アミノ

【0454】

【化101】



【0455】

実施例 1 と類似するステップに従い、中間体である 5' - (2 - クロロ - 5 - フルオロピリミジン - 4 - イル) - 7' - フルオロ - 2' - メチルスピロ [シクロペンタン - 1, 3' - インドール] を得た。

【0456】

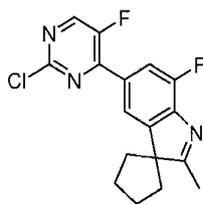
10

20

30

40

【化102】



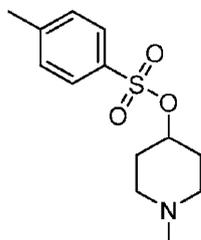
【0457】

ステップ1 4 - メチルベンゼンスルホン酸 1 - メチルピペリジン - 4 - イル

【0458】

10

【化103】



【0459】

反応フラスコに、4 - ヒドロキシ - 1 - メチルピペリジン (1000 mg、8.69 mmol) と、塩化パラトルエンスルホニル (3310 mg、17.38 mmol) と、ジクロロメタン (50 ml) と、トリエチルアミン (1 ml) とを加え、室温で2時間反応させ、水50 mlを加え、ジクロロメタンで毎回30 mlにして抽出を3回行い、有機層を合わせた。飽和食塩水50 mgで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、カラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン/メタノール = 50 : 1) で分離し、中間体 (淡黄色固体) が1.87 g得られ、収率は80.0%であった。

20

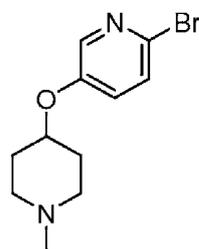
【0460】

ステップ2 2 - ブロモ - 5 - ((1 - メチルピペリジン - 4 - イル) オキシ) ピリジン

【0461】

30

【化104】



【0462】

反応フラスコに、中間体である4 - メチルベンゼンスルホン酸 1 - メチルピペリジン - 4 - イル (1000 mg、3.70 mmol) と、2 - ブロモ - 5 - ヒドロキシピリジン (637 mg、3.70 mmol) と、DMF (50 ml) とを加え、90 °Cまで加熱し、2時間反応させ、水50 mlを加え、ジクロロメタンで毎回30 mlにして抽出を3回行い、有機層を合わせた。飽和食塩水50 mgで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、カラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン/メタノール = 40 : 1) で分離し、中間体 (淡黄色固体) が0.49 g得られ、収率は50.1%であった。

40

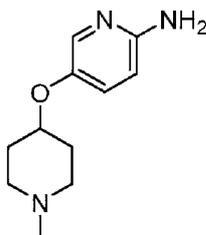
【0463】

ステップ3 5 - ((1 - メチルピペリジン - 4 - イル) オキシ) ピリジン - 2 - アミン

【0464】

50

【化105】



【0465】

反応フラスコに、中間体である2-ブromo-5-(1-メチルピペリジン-4-イル)オキシ)ピリジン(1000mg、3.70mmol)と、ナトリウムビス(トリメチルシリル)アミド(618mg、3.70mmol)と、テトラヒドロフラン(50ml)と、2-(ジシクロヘキシルホスフィノ)ピフェニル(120mg、0.37mmol)と、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(338mg、0.37mmol)とを加え、65℃まで加熱し、12時間反応させ、水50mlを加え、ジクロロメタンで毎回30mlにして抽出を3回行い、有機層を合わせた。飽和食塩水50mgで一回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、カラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン/メタノール=10:1)で分離し、中間体が0.37g得られ、収率は49.3%(黄色固体)であった。

10

【0466】

ステップ4 実施例1のステップ6の試験方法に従い、N-(5-(1-メチルピペリジン-4-イル)オキシ)-ピリジン-2-イル)-5-フルオロ-4-(7'-フルオロ-2'-メチルスピロ[シクロペンタン-1,3'-インドール]-5'-イル)ピリミジン-2-アミノの合成を完成させた。

20

【0467】

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6), 9.69(s, 1H), 8.63(s, 1H), 7.93-7.99(d, 1H), 7.80-7.83(d, 1H), 7.81-7.85(d, 1H), 7.12-7.14(d, 1H), 5.76-5.82(m, 1H), 5.02-5.13(m, 2H), 3.79(s, 2H), 2.56-2.59(m, 13H), 2.28-2.33(m, 6H), 1.74-1.99(m, 2H)

30

【0468】

MS (ESI): m/z 505.2 [M+H] $^+$.

【0469】

以下の実験例で用いられる番号がLY2835219である対照品は、特許WO2010075074の製造方法を参照して調製されるもので、その構造式は背景技術の構造式3に示したとおりである。

【0470】

実験例1 本発明の化合物のCDKsキナーゼ阻害活性の測定

以下の方法により、生体外における本発明に記載の化合物の、CDK(CDK1、CDK4、CDK6)キナーゼ活性に対する阻害作用を測定した。

40

【0471】

【数1】

1. 1 器械とキット情報

名称	型番	メーカー
マイクロプレートシェーカー	MTS2/4	IKA
マイクロプレートリーダー	M1000pro	TECAN
遠心分離機	Avanti J-26XP	Beckman Coulter
ADP-Glo™ Kinase Assay+ CDK1/CyclinA2 Kinase Enzyme System	V9211	Promega
ADP-Glo™ Kinase Assay+ CDK4/CyclinE1 Kinase Enzyme System	V4489	Promega
ADP-Glo™ Kinase Assay+ CDK6/CyclinD3 Kinase Enzyme System	V4511	Promega
ADP-Glo™ Kinase Assay+ CDK9/CyclinK Kinase Enzyme System	V4105	Promega
5xReaction Buffer A	V307A-C	Promega

10

【0472】

1. 2 実験準備：

20

1. 2. 1 キナーゼ反応緩衝液 I の調製：キットにより提供された 5 x Reaction Buffer A (Promega; V307A-C) を、Milli Q H₂O と 0.1 M DTT (ジチオスレイトール) とで混合して希釈し、4 x キナーゼ緩衝液とした。次に、割合に従って Milli Q H₂O を添加し、最終的に 1 x キナーゼ緩衝液を調製した。

【0473】

キナーゼ反応緩衝液 II の調製：1 x キナーゼ反応緩衝液に、0.5% DMSO (ジメチルスルホキシド) を添加して均一にすれば良い。

【0474】

1. 2. 2 キナーゼ溶液の調製：1 x キナーゼ反応緩衝液で、100 ng / μl キナーゼ貯蔵液を、各反応系の必要な濃度のキナーゼ溶液に調製した。

30

【0475】

1. 2. 3 試験化合物と対照品である LY2835219 溶液の調製：

(1) 対照品である LY2835219 溶液の調製

a. 1 μl の 10 mM 標準品貯蔵液をそれぞれ取り、9 μl のキナーゼ反応緩衝液 I に添加し、均一に混ぜた。更に、90 μl のキナーゼ反応緩衝液 I を添加し、均一に混ぜた。更に、100 μl のキナーゼ反応緩衝液 I を添加し、均一に混ぜた。得られた最終濃度が 50 μM であった。

【0476】

b. 96 ウェルプレートの B2 - B10 に、40 μl のキナーゼ反応緩衝液 II を添加した。B1 に 50 μl の上記溶液を添加した。

40

【0477】

c. ウェル B1 から 10 μl を取って B2 に添加し、均一に混ぜた後、10 μl を取って B3 に添加し、順に B9 まで希釈した。順に 5 倍ずつ希釈された対照品溶液を得た。

【0478】

(2) 試験化合物溶液の準備：

a. 一定濃度の試験化合物溶液をそれぞれに取り、キナーゼ反応緩衝液 I で化合物溶液の最終濃度が 50 μM となるように希釈した；

b. 96 ウェルプレートの H2 - H10 に、40 μl のキナーゼ反応緩衝液 II を添加した。H1 に 50 μl の上記溶液を添加した。

50

【0479】

c. ウェルH1から10 μ lを取ってH2に添加し、均一に混ぜた後、10 μ lを取ってH3に添加し、順にH9まで希釈した。順に5倍ずつ希釈された試験化合物溶液を得た。

【0480】

1.2.4 反応基質とATPとの混合溶液の準備:

a. ATP溶液の準備:

200 μ lの0.1mM ATP溶液: 2 μ lの10mM ATPを198 μ lのキナーゼ反応緩衝液Iに添加した。

【0481】

300 μ lの50 μ M ATP溶液: 150 μ lのキナーゼ反応緩衝液Iを150 μ lの上記0.1mM ATP溶液に添加した。

【0482】

b. 300 μ lの反応基質溶液の準備:

1 μ g/ μ lの反応基質貯蔵液150 μ lを、150 μ lのキナーゼ反応緩衝液Iに添加し、均一に混ぜた。

【0483】

c. 上記a/b二種類の溶液を混合し、混合溶液をそれぞれ得た。

【0484】

1.3 実験プロセス: 1.3.1 各濃度の化合物溶液を2 μ l取って、384ウェルプレートに添加し、3分間遠心した。

【0485】

1.3.2 各ウェルにキナーゼ溶液4 μ lを添加し、18 $^{\circ}$ C、5000rpmで10分間遠心させ、マイクロプレートシェーカーで10分間シェイクし、均一にした。

【0486】

1.3.3 各ウェルに基質とATPとの混合溶液4 μ lを添加し、18 $^{\circ}$ C、5000rpmで10分間遠心させ、37 $^{\circ}$ Cでマイクロプレートシェーカーにて90分間シェイクし、均一にした。

【0487】

1.3.4 384ウェルプレートを取り出し、室温になるまで放置した。

【0488】

1.3.5 各ウェルにADP-Glo試薬10 μ lを添加し、18 $^{\circ}$ C、5000rpmで10分間遠心させ、25 $^{\circ}$ Cでマイクロプレートシェーカーにて40分間シェイクして均一にし、反応を終了した。

【0489】

1.3.6 各ウェルにキナーゼ検出試薬20 μ lを添加し、18 $^{\circ}$ C、5000rpmで10分間遠心させ、25 $^{\circ}$ Cでマイクロプレートシェーカーにて30分間シェイクし、均一にした。

【0490】

1.3.7 M1000proマイクロプレートリーダーで蛍光値を読み取った。

【0491】

1.4 データ処理:

以下の式によって各化合物の各濃度点における阻害率を計算し、ソフトウェアGraphPad Prism 5でカーブフィッティングを行い、IC₅₀値を得た。

【0492】

【数2】

$$\text{各濃度点の阻害率 (inh\%)} = \frac{\text{零点濃度の蛍光値} - \text{各濃度点の蛍光値}}{\text{零点濃度の蛍光値}} \times 100\%$$

【0493】

10

20

30

40

50

1.5 検出結果：

WO2010075074で開示されたLY2835219及び実施例1～43の化合物の、CDK1/サイクリンA2とCDK6/サイクリンD3に対する阻害作用をIC₅₀で表し、具体的な結果を表1に示す。

【0494】

【表1-1】

表1 被験化合物のCDK1/サイクリンA2とCDK6/サイクリンD3に対する阻害活性の検出結果 (IC₅₀: nM)

実施例	CDK1/ サイクリンA2	CDK6/ サイクリンD3	CDK1/ CDK6
LY2835219	319.43	3.81	83.83
1	2223.92	43.03	51.68
2		158.7	—
3	1678	79.06	21.22
4	—	2147	—
5	438.5	7.528	58.23
6	152.2	6.45	23.59
7	83.83	3.26	25.71
8	—	85.77	—
9	268.28	20.42	13.13
10	435.68	47.11	9.25
11	110.06	5.62	19.58
12	1071.23	3.78	283.33
13	327.00	0.39	838.46
14	233.64	4.07	57.40
15	26.92	4.31	6.25
16	95.70	9.02	10.61
17	2707.11	0.73	3708.37
18	189.86	2.74	69.29
19	64.82	65.49	0.99
20	1444.45	87.60	16.49
21	135.19	27.67	4.89
22	915.35	52.50	17.43
23	50.27	4.53	11.10
24	76.44	12.86	5.94
25	417.16	8.78	47.51
26	216.08	12.51	17.27
27	1160.23	16.21	71.57

【0495】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

実施例	CDK1/ サイクリンA2	CDK6/ サイクリンD3	CDK1/ CDK6
28	328.47	6.24	52.63
29	82.42	3.145	26.20
30	176.58	0.49	360.37
31	—	58.84	—
32	142.03	10.14	14.01
33	166.28	15.61	10.65
34	111.59	5.13	21.75
35	64.03	8.74	7.33
36	100.9	3.79	26.65
37	73.67	22.87	3.22
38	19.83	0.20	99.15
39	38.51	5.65	6.82
40	161.60	24.97	6.47
41		76.65	
42	3681.98	2.33	1580.25
43	268.90	0.90	298.78
44	—	37.5	—
45	—	43.9	—

10

20

【0496】

本発明の一部の代表的な化合物の、CDK9/サイクリンD3、Pim-1とCDK2/サイクリンE1及びCDK4/サイクリンE1に対する阻害作用をそれぞれ表2、表3と表4に示す。

30

【0497】

【表 2】

表 2 一部の被験化合物のCDK9/サイクリンD3に対する阻害活性の検出結果
(IC₅₀: nM)

実施例	CDK1/ サイクリンA2	CDK6/ サイクリンD3	CDK9/ サイクリンD3	CDK1/ CDK6	CDK9/ CDK6
LY2835219	319.43	3.81	5.08	83.83	1.33
1	2223.92	43.03	244.97	51.68	5.69
3	1678	79.06	50.02	21.22	0.63
6	152.2	6.45	0.42	23.59	0.06
7	83.83	3.26	4.58	25.71	1.40
9	268.28	20.42	14.43	13.13	0.71
10	435.68	47.11	27.04	9.25	0.57
12	1071.23	3.78	57.19	283.33	18.75
13	327.00	0.39	2.56	838.46	6.56
16	95.70	9.02	16.37	10.61	1.81
17	2707.11	0.73	5.36	3708.37	7.33
18	189.86	2.74	1.00	69.29	0.36
20	1444.45	87.60	0.24	16.49	0.003
22	915.35	52.50	0.50	17.43	0.009
24	76.44	12.86	1.74	5.94	0.13
25	417.16	8.78	1.09	47.51	0.12
26	216.08	12.51	10.95	17.27	0.88
27	1160.23	16.21	2.83	71.57	0.17
28	328.47	6.24	0.96	52.63	0.15
30	176.58	0.49	0.43	360.37	0.88

10

20

30

【0498】

【表 3】

表 3 一部の被験化合物の P i m - 1 に対する阻害活性の検出結果 (I C ₅₀ : nM)

実施例	CDK1/ サイクリンA2	CDK6/ サイクリンD3	CDK9/ サイクリンD3	P i m - 1	CDK1/ CDK6	CDK9/ CDK6	P i m - 1/ CDK6
LY283 5219	319.43	3.81	5.08	3.92	83.83	1.33	1.03
1	2223.92	43.03	244.97	220.42	51.68	5.69	5.12
3	1678	79.06	50.02	197.8	21.22	0.63	2.50
6	152.2	6.45	0.42	15.09	23.59	0.06	2.33
7	83.83	3.26	4.58	461.39	25.71	1.40	141.53
9	268.28	20.42	14.43	173.89	13.13	0.71	8.51
12	1071.23	3.78	57.19	15.11	283.33	18.75	3.99
13	327.00	0.39	2.56	2.22	838.46	6.56	5.69
14	233.64	4.07	-	28.65	57.40	-	7.03
16	95.70	9.02	16.37	686.40	10.61	1.81	76.10
17	2707.11	0.73	5.36	38.27	3708.37	7.33	52.43
24	76.44	12.86	1.74	72.81	5.94	0.13	5.66

10

20

【 0 4 9 9 】

【表 4】

表 4 一部の被験化合物の CDK 4 と CDK 2 に対する阻害作用 (I C ₅₀ : nM)

実施例	CDK1/ サイクリンA2	CDK2/ サイクリンE1	CDK4/ サイクリンE1	CDK6/ サイクリンD3	CDK9/ サイクリンD3	P i m - 1	CDK1/ CDK6	CDK9/ CDK6	P i m - 1/ CDK6
LY283 5219	319.43	769.22-	14.83	3.81	5.08	3.92	83.83	1.33	1.03
6	152.2	-	80.9	6.45	0.42	15.09	23.59	0.06	2.33
12	1071.23	394.21	4.46	3.78	57.19	15.11	283.33	18.75	3.99
17	2707.11	2320.88	2.62	0.73	5.36	38.27	3708.37	7.33	52.43

30

【 0 5 0 0 】

1.6 試験の結論:

1) 本発明の化合物は、CDK6とCDK4に対して顕著な阻害作用を有する。

【 0 5 0 1 】

2) CDK1/CDK6、CDK9/CDK6とPim-1/CDK6は、化合物のプロテインキナーゼに対する選択性を示すことができ、数値が大きければ大きいほど、化合物のCDK6に対する選択性はより良いものとなり、これは化合物のユビキチンキナーゼ阻害の毒性がより小さくなる可能性があることを意味する。対照化合物(LY2835219)について、CDK1/CDK6 = 83.83、CDK9/CDK6 = 1.33、Pim-1/CDK6 = 1.03である。本発明の一部の化合物はLY2835219より良い選択性を示し、特に、実施例17で調製した化合物は、CDK6に対してより高い酵素的活性を示し、CDK1、CDK9及びPim1に対してより良い選択性を有する。

40

【 0 5 0 2 】

実験例2 本発明の代表的な化合物の、ヒト乳癌細胞MDA-MB-231に対する増殖阻害の測定

50

2.1 実験材料：北京協和細胞資源センターから購入したヒト乳癌細胞MDA - MB - 231、DAPI (5mg/mL、Beyotime、c1002)、4%パラホルムアルデヒド(dingguo biology、AR-0211)、黒色透明底96ウェルプレート(PE、6005182)、In Cell Analyzer 2200(GE Healthcare)

【0503】

2.2 実験準備：

2.2.1 ヒト乳癌細胞MDA - MB - 231培養培地の調製：RPIM1640 + 10% FBS + 1% ペニシリン/ストレプトマイシン

【0504】

2.2.2 試験化合物と標準品LY2835219溶液の調製：

(1) 標準品LY2835219溶液の調製

a. 3.6 μ lの10mM標準品貯蔵液をそれぞれ取り、6.4 μ lの培養培地に添加し、均一に混ぜた。更に、90 μ lの培養培地を添加し、均一に混ぜた。更に、200 μ lの培養培地を添加し、均一に混ぜた。初期濃度が20 μ Mとなるように調製した。

【0505】

b. 96ウェルプレートのB2 - B10に、200 μ lの0.2% DMSO (ジメチルスルホキシド)を含む培養培地を添加した。B1に300 μ lの上記溶液を添加した。

【0506】

c. ウェルB1から100 μ lを取ってB2に添加し、均一に混ぜた後、100 μ lを取ってB3に添加し、順にB9まで希釈した。順に3倍ずつ希釈された標準品溶液を得た。

【0507】

(2) 試験化合物溶液の準備：

a. 一定濃度の試験化合物溶液をそれぞれ取り、培養培地で化合物溶液の最終濃度が20 μ Mとなるように希釈した。

【0508】

b. 96ウェルプレートのH2 - H10に、200 μ lの0.2% DMSO (ジメチルスルホキシド)を含む培養培地を添加した。H1に300 μ lの上記溶液を添加した。

【0509】

c. ウェルH1から100 μ lを取ってH2に添加し、均一に混ぜた後、100 μ lを取ってH3に添加し、順にH9まで希釈した。順に3倍ずつ希釈された試験化合物溶液を得た。

【0510】

2.3 実験プロセス：

2.3.1 MDA - MB - 231細胞をそれぞれ4000 cells / 100 μ l / wellで、96ウェルの黒色透明底細胞培養プレートに接種し、37 で一晩培養した。

【0511】

2.3.2 上記サンプルをそれぞれ100 μ l / ウェルで、細胞が接種された培養プレートに添加し、軽くパットして均一に混ぜ、37 で72時間インキュベートした。

【0512】

2.3.3 固定：細胞プレートを取り出し、培養培地を除去し、各ウェルに4%パラホルムアルデヒド50 μ lを添加して10分間固定した。

【0513】

2.3.4 50 μ lの0.1M グリシン (glycine) を添加して10分間中和した。

【0514】

2.3.5 1x PBS (リン酸塩緩衝液PH7.2) で二回洗浄した。

【0515】

10

20

30

40

50

2.3.6 透過：各ウェルに50 μ lの0.2% Triton X-100 (トリトン)を添加して室温で10分間透過した。

【0516】

2.3.7 1 x PBS (リン酸塩緩衝液 pH 7.2) で二回洗浄した。

【0517】

2.3.8 5 mg/mLのDAPI貯蔵液を1:5000に希釈し(最終濃度1 μ g/mL)、室温で20分間染色した。

【0518】

2.3.9 1 x PBS (リン酸塩緩衝液 pH 7.2) で三回洗浄した。

【0519】

2.3.10 In cell analyser でスキャンし分析した。

【0520】

2.4 データ処理：

以下の式によって各化合物の各濃度点における阻害率を計算し、ソフトウェア Graph Pad Prism 5 でカーブフィッティングを行い、IC₅₀値を得た。

【0521】

【数3】

$$\text{各濃度点の阻害率 (inh\%)} = \frac{\text{零点濃度の細胞数値} - \text{各濃度点の細胞数値}}{\text{零点濃度の細胞数値}} \times 100\%$$

10

20

【0522】

2.5 測定結果：

WO2010075074で開示されたLY2835219及び実施例12と17の化合物の細胞学的活性の測定結果をIC₅₀で表し、具体的な結果を表5に示す。

【0523】

【表5】

表5 本発明の代表的な化合物のヒト乳癌細胞MDB-MA-231の増殖に対する阻害活性 (IC₅₀:nM)

実施例	IC ₅₀
LY2835219	229.05
12	182.72
17	109.82

30

【0524】

2.6 実験結論：

実施例12と17の化合物は、MDA-MB-231細胞系に対して顕著な増殖阻害活性を有し、対照化合物LY2835219と比較して、本発明の代表的な化合物はより高い増殖阻害活性を有する。

【0525】

実験例3 本発明の代表的な化合物のラットにおける薬物動態学的測定

40

3.1 実験の要約

SDラットを被験動物として、LC/MS/MS方法により、代表的な化合物をラットに静脈注射投与と胃内投与した後、異なる時間での血漿中の薬物濃度を測定することで、本発明の化合物のラット体内における薬物動態学的振舞を研究し、その薬物動態学的特徴を評価する。

【0526】

3.2 実験の方案

3.2.1 被験薬：

本発明の実施例17で調製した化合物；

対照薬LY2835219、自製。

50

【0527】

3.2.2 被験動物：

健康な成年SDラット12匹、オス、6～8週齢、体重200～250g、JOINN Laboratories (Suzhou) から購入し、動物生産ライセンス番号：SCXK (蘇) 2013-0003。

【0528】

3.2.3 被験薬の調製

胃内投与：適量のサンプルを秤り、0.1%ヒドロキシエチルセルロース/0.5%ポリソルベート80を最終体積になるまで添加し、1mg/ml溶液に調製した。

【0529】

静脈注射：適量のサンプルを秤り、10%のN-メチル-2-ピロリドンと90%の18%スルホブチルエーテル-β-シクロデキストリンを最終体積になるまで添加し、0.4mg/ml溶液に調製して、静脈注射投与に供した。

10

【0530】

3.2.4 被験薬の投与

静脈注射投与：各試験化合物はそれぞれ、一晚絶食した3匹のオスSDラットに静脈注射投与され、投与量が2mg/kgであり、投与体積が1ml/kgであった。

【0531】

胃内投与：各試験化合物はそれぞれ、一晚絶食した3匹のオスSDラットに胃内投与され、投与量が5mg/kgであり、投与体積が5ml/kgであった。

20

【0532】

3.3 実験の操作

投与前、及び投与した0.0833、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24時間後に、頸動脈挿管により採血した。全血についてEDTA-K2で凝固を阻害し、遠心で上清を除去し、サンプルの分析を行うまで-20℃で冷凍保存した。LC-MS/MSで血漿サンプル分析を行い、タンパク質沈殿法でサンプルを前処理し、サンプル分析の直線範囲が1～2000ng/mlであった。最低定量限界が1ng/mlであった。

【0533】

3.4 薬物動態学的データの結果

本発明の化合物の薬物動態学的パラメーターを表6と表7に示す。

30

【0534】

【表6】

表6 本発明の化合物17のラット単回静脈投与PKパラメーター (Mean±SD)

PKパラメータ	LY2835219	実施例17
半減期 $T_{1/2}$ (hr)	3.69±1.40	8.67±4.98
曲線下面積 AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	1499±337.3	1018±239
曲線下面積 $AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	1535±346.9	1220±456
見かけ分布容積 V_z (L/Kg)	6.95±2.43	19.42±5.89
クリアランスCl (mL/min/kg)	22.4±4.49	30.0±11.1
滞在時間MRT (hr)	3.82±1.44	7.78±1.30

40

【0535】

【表 7】

表 7 本発明の化合物 17 のラット単回胃内投与 PK パラメーター (Mean ± SD)

PKパラメータ	LY2835219	実施例 17
半減期 $T_{1/2}$ (hr)	4.07	2.00
血中濃度 C_{max} (ng/mL)	312 ± 33.0	188 ± 75
曲線下面積 AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	3275 ± 731	2608 ± 1217.8
曲線下面積 $AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	3438	5256
滞在時間 MRT (hr)	7.97 ± 1.17	10.21 ± 0.27
バイオアベイラビリティ (%)	87.4	102.5

10

【0536】

3.5 実験の結論：本発明の代表的な化合物（実施例 17 で調製したもの）は、化合物 LY2835219 と比較して、ラットにおいて、より高いバイオアベイラビリティと良好な経口吸収効果を有する。

【0537】

実験例 4 本発明の代表的な化合物のマウスにおける薬物動態学的測定

4.1 実験の要約

ICR マウスを被験動物として、LC/MS/MS 方法により、本発明の代表的な化合物をマウスに胃内投与、静脈注射投与した後、異なる時間での血漿中の薬物濃度を測定することで、本発明の化合物のマウス体内における薬物動態学的振舞を研究し、その薬物動態学的特徴を評価する。

20

【0538】

4.2 実験の方案

4.2.1 被験薬：

本発明の実施例 17 で調製した化合物；
対照薬 LY2835219、自製。

【0539】

4.2.2 被験動物：

健康な成年 ICR マウス、12 匹、オス、6 ~ 8 週齢、体重 20 ~ 25 g、JOINN Laboratories (Suzhou) から購入し、動物生産ライセンス番号：SCXK (蘇) 2013 - 0003。

30

【0540】

4.2.3 被験薬の調製

適量のサンプルを秤り、0.1% ヒドロキシエチルセルロース / 0.5% ポリソルベート 80 を最終体積になるまで添加し、0.5 mg / ml 溶液に調製して、胃内投与に供した。

【0541】

適量のサンプルを秤り、10% の N - メチル - 2 - ピロリドンと 90% の 18% スルホブチルエーテル - シクロデキストリンを最終体積になるまで添加し、0.2 mg / ml 溶液に調製して、静脈注射投与に供した。

40

【0542】

4.2.4 被験薬の投与

各被験薬はそれぞれ、一晚絶食した 3 匹のオス ICR マウスに胃内投与され、投与量が 5 mg / kg であり、投与体積が 10 ml / kg であった。

【0543】

各被験薬はそれぞれ、一晚絶食した 3 匹のオス ICR マウスに静脈注射投与され、投与量が 2 mg / kg であり、投与体積が 10 ml / kg であった。

【0544】

4.3 実験の操作

50

胃内投与のグループでは、投与前及び投与した0.25、0.5、1、2、4、8、12、24時間後に、頸動脈挿管により採血した。全血についてEDTA-K2で凝固を阻害し、遠心で上清を除去し、サンプルの分析を行うまで-20で冷凍保存した。静脈注射投与のグループでは、投与前及び投与した0.083h、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24時間後に、頸動脈挿管により採血した。血漿サンプルの処理は胃内投与と同様にして行なった。LC-MS/MSで血漿サンプル分析を行い、タンパク質沈殿法でサンプルを前処理し、サンプル分析の直線範囲が1~2000ng/mlであった。最低定量限界が1ng/mlであった。

【0545】

4.4 薬物動態学的データ結果を表8と表9に示す。

10

【0546】

【表8】

表8 本発明の化合物17のマウス単回静脈投与PKパラメーター (Mean±SD)

PKパラメータ	LY2835219	実施例17
半減期T _{1/2} (hr)	1.68±0.10	9.1±0.26
曲線下面積AUC _{0-t} (ng·hr/mL)	674±82.1	1137±77.8
曲線下面積AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)	679±81.0	1327±4
見かけ分布容積V _z (L/Kg)	7.21±1.08	19.8±0.81
クリアランスCl (mL/min/kg)	49.6±5.72	25.2±1.72
滞在時間MRT (hr)	1.64±0.17	7.51±0.28

20

【0547】

【表9】

表9 本発明の化合物17のマウス単回胃内投与PKパラメーター (Mean±SD)

PKパラメータ	LY2835219	実施例17
半減期T _{1/2} (hr)	1.70±0.02	8.38±3.16
血中濃度C _{max} (ng/mL)	154±6.4	134±11.8
曲線下面積AUC _{0-t} (ng·hr/mL)	756±34	2134±96.9
曲線下面積AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)	765±34	2504±387
滞在時間MRT (hr)	3.08±0.02	9.45±1.05
バイオアベイラビリティ (%)	45.1	75.1

30

【0548】

4.5 実験の結論：本発明の代表的な化合物17は、化合物LY2835219と比較して、マウスにおいて、より高いバイオアベイラビリティとより長い半減期を有し、良好な経口吸収効果を有する。

【0549】

実験例5 本発明の代表的な化合物17の血漿中曝露量と脳中曝露量の測定

40

5.1 実験要約

CD-1マウスを被験動物として、LC/MS/MS方法により、本発明の代表的な化合物をマウスに単回胃内投与した後、異なる時間での血漿と脳組織中の薬物濃度を測定することで、本発明の化合物のマウス体内における血漿中曝露量と脳中曝露量を研究する。

【0550】

5.2 実験の方案

5.2.1 被験薬：

本発明の実施例17で調製した化合物；

対照薬LY2835219、自製。

【0551】

50

5.2.2 被験動物：

健康な成年CD-1マウス、24匹、オス、6～8週齢、体重20～25g、上海西普爾-必凱実験動物有限公司から購入し、動物生産ライセンス番号：SCXK(滬)2013-0016。

【0552】

5.2.3 被験薬の調製

適量のサンプルを秤り、0.1%ヒドロキシエチルセルロース/0.5%ポリソルベート80を最終体積になるまで添加し、1.0mg/ml溶液に調製した。

【0553】

5.2.4 被験薬の投与

各被験薬はそれぞれ、一晚絶食した12匹のオスCD-1マウスに胃内投与され、投与量が10mg/kgであり、投与体積が10ml/kgであった。

【0554】

5.3 実験の操作

LY2835219：投与前及び投与した0.25、1.5、6時間後に、頸動脈挿管により採血し、同時に3匹のマウスをサクリフェイスして、全脳を収集し、粉碎して液体窒素中で冷凍保存した。投与した10時間後、残りの動物をサクリフェイスして、心臓穿刺により全血を採取し、全脳を収集して粉碎し、液体窒素中で冷凍保存した。

【0555】

実施例17：投与前及び投与した2、4、24時間後に、頸動脈挿管により採血し、同時に3匹のマウスをサクリフェイスして、全脳を収集し、粉碎して液体窒素中で冷凍保存した。投与した48時間後、残りの動物をサクリフェイスして、心臓穿刺により全血を採取し、全脳を収集して粉碎し、液体窒素中で冷凍保存した。

【0556】

全血サンプル処理：採取した全血についてEDTA-K2で凝固を阻害し、遠心で上清を除去し、LC-MS/MSでサンプルの分析を行うまで-20℃で冷凍保存した。

【0557】

脳ホモジネートのサンプリング：脳ホモジネートを体積が脳ホモジネート溶液の5倍であるPBS(pH=7.4)：MeOH(v:v,2:1)溶液で分散し、100μLを取り、600μLのISでその中の蛋白質を沈殿させた。混合物を20～25℃、1300rpmで15分間遠心させ、上清50μLを取り、0.3%FAを含む水150μLで混合し、4℃で遠心させ、サンプル5μLを取り、LC-MS/MSで分析を行った。

【0558】

サンプル分析の直線範囲は1～2000ng/mlであって、最低定量限界は1ng/mlであった。

5.4 血漿中曝露量と脳中曝露量の測定結果を表10に示す。

【0559】

【表10】

表10 被験化合物のCD-1マウスにおける血漿中平均曝露量と脳中平均曝露量

パラメータ		LY2835219	17
血中濃度C _{max} (ng/mL)	血漿	836	639
	脳	188	1270
	脳/血漿	0.22	1.98
血中濃度がピークに達する時間T _{max} (h)	血漿	1.50	4.00
	脳	6.00	4.00
曲線下面積AUC _{0-last} (ng·h/mL)	血漿	4247	7661
	脳	1113	16786
	脳/血漿	0.28	2.19

【0560】

10

20

30

40

50

5.5 実験の結論：本発明の代表的な化合物（実施例17で調製したもの）は、化合物LY2835219と比較して、より良い血漿・脳への分布と、より高いAUC_{0-1ast}比率（脳/血漿）と、より高いC_{max}比率（脳/血漿）とを有する。また、脳部T_{max}と血漿中のT_{max}とが相等することは、薬物が脳と血漿中で類似するPK挙動を有することを示している。本発明の化合物が、血液脳関門を通ることで、脳腫瘍（脳癌）の成長を阻止し、脳腫瘍を治療できることを示唆している。

【0561】

実験例6 本発明の代表的な化合物17の、U87MG細胞系の増殖に対する阻害の測定

6.1 実験材料：上海中国科学院細胞バンクから購入したヒト神経膠腫細胞系（human glioma cell line）U87MG、DAPI（5mg/mL、Beyotime、c1002）、4%パラホルムアルデヒド（dingguo biology、AR-0211）、黒色透明底96ウェルプレート（PE、6005182）、In Cell Analyzer 2200（GE Healthcare）。 10

【0562】

6.2 実験の準備：

6.2.1 U87MG培養培地の調製：RPMI1640 + 10% FBS + 1% ペニシリン/ストレプトマイシン

【0563】

6.2.2 試験化合物と標準品LY2835219溶液の調製： 20

(1) 標準品LY2835219溶液の調製

a. 3.6 μlの10mM標準品貯蔵液をそれぞれ取り、6.4 μlの培養培地に添加し、均一に混ぜた。更に、90 μlの培養培地を添加し、均一に混ぜた。更に、200 μlの培養培地を添加し、均一に混ぜた。初期濃度が20 μMとなるように調製した。

【0564】

b. 96ウェルプレートのB2 - B10に、200 μlの0.2% DMSO（ジメチルスルホキシド）を含む培養培地を添加した。B1に300 μlの上記溶液を添加した。

【0565】

c. ウェルB1から100 μlを取ってB2に添加し、均一に混ぜた後、100 μlを取ってB3に添加し、順にB9まで希釈した。順に3倍ずつ希釈された標準品溶液を得た。 30

【0566】

(2) 試験化合物溶液の準備：

a. 一定濃度の試験化合物溶液をそれぞれ取り、培養培地で化合物溶液の最終濃度が20 μMとなるように希釈した。

【0567】

b. 96ウェルプレートのH2 - H10に、200 μlの0.2% DMSO（ジメチルスルホキシド）を含む培養培地を添加した。H1に300 μlの上記溶液を添加した。

【0568】

c. ウェルH1から100 μlを取ってH2に添加し、均一に混ぜた後、100 μlを取ってH3に添加し、順にH9まで希釈した。順に3倍ずつ希釈された試験化合物溶液を得た。 40

【0569】

6.3 実験のプロセス：

6.3.1 U87MG細胞をそれぞれ4000 cells / 100 μl / wellで、96ウェルの黒色透明底細胞培養プレートに接種し、37 °Cで一晩培養した。

【0570】

6.3.2 上記サンプルをそれぞれ100 μl / ウェルで、細胞が接種された培養プレートに添加し、軽くパットして均一に混ぜ、37 °Cで72時間インキュベートした。

【0571】

6.3.3 固定：細胞プレートを取り出し、培養培地を除去し、各ウェルに4%パラホルムアルデヒド50 μ lを添加して10分間固定した。

【0572】

6.3.4 50 μ lの0.1Mグリシン(glycine)を添加して10分間中和した。

【0573】

6.3.5 1xPBS(リン酸塩緩衝液PH7.2)で二回洗浄した。

【0574】

6.3.6 透過：各ウェルに50 μ lの0.2%TritonX-100(トリトン)を添加して室温で10分間透過した。

【0575】

6.3.7 1xPBS(リン酸塩緩衝液PH7.2)で二回洗浄した。

【0576】

6.3.8 5mg/mLのDAPI貯蔵液を1:5000に希釈し(最終濃度1 μ g/mL)、室温で20分間染色した。

【0577】

6.3.9 1xPBS(リン酸塩緩衝液PH7.2)で三回洗浄した。

【0578】

6.3.10 In cell analyserでスキャンし分析した。

【0579】

6.4 データの処理：

以下の式によって各化合物の各濃度点における阻害率を計算し、ソフトウェアGraph Pad Prism 5でカーブフィッティングを行い、IC₅₀値を得た。

【0580】

【数4】

$$\text{各濃度点の阻害率 (inh\%)} = \frac{\text{零点濃度の細胞数値} - \text{各濃度点の細胞数値}}{\text{零点濃度の細胞数値}} \times 100\%$$

【0581】

6.5 測定の結果：

WO2010075074で開示されたLY2835219及び実施例17の化合物の細胞学的活性の測定結果をIC₅₀で表し、具体的な結果を表11に示す。

【0582】

【表11】

表11 本発明の代表的な化合物のU87MG細胞系増殖に対する阻害活性
(IC₅₀:nM)

実施例	IC ₅₀
LY2835219	150.70
17	35.43

【0583】

6.6 実験の結論：

実施例17の化合物は、U87MG細胞系に対して顕著な増殖阻害活性を有し、対照化合物LY2835219と比較して、本発明の代表的な化合物はより高い増殖阻害活性を有する。

【0584】

実験例7 本発明の化合物17、及びテモゾロミドとの併用薬のU87-luc同所性脳異種移植モデルにおける薬力学的研究

7.1 実験の要約

成年メスBALB/cヌードマウスを被験動物として、同所性脳異種移植モデルを応用

10

20

30

40

50

し、胃内投与することで、本発明の代表的な化合物 17 のメス B A L B / c ヌードマウスの生存期間中央値に対する影響を研究する。

【 0 5 8 5 】

7 . 2 実験の方案

7 . 2 . 1 被験薬：

本発明の実施例 17 で調製した化合物；

対照薬 L Y 2 8 3 5 2 1 9、自製。

【 0 5 8 6 】

s e l l e c k から購入したテモゾロミド。

【 0 5 8 7 】

7 . 2 . 2 被験動物：

健康な成年メス B A L B / c ヌードマウス、8 匹 / グループ、6 ~ 8 週齢、体重 1 8 ~ 2 2 g、上海西普爾一必凱実験動物有限公司から購入し、動物生産ライセンス番号：2 0 0 8 0 0 1 6 5 8 2 6 1；2 0 0 8 0 0 1 6 5 8 2 6 3。

【 0 5 8 8 】

7 . 2 . 3 被験化合物の調製

適量の化合物 17 を秤り、0 . 3 1 2 5 m g / m l になるまで 0 . 1 % ヒドロキシエチルセルロース / 0 . 5 % ポリソルベート 8 0 の溶媒を添加した。

【 0 5 8 9 】

適量のテモゾロミドサンプルを秤り、0 . 3 m g / m l になるまで 1 % C M C - N a + 0 . 2 5 % T w e e n 8 0 の溶媒を添加した。

【 0 5 9 0 】

7 . 3 同所性脳異種移植モデル

成年メス B A L B / c ヌードマウスに、8 0 m g / k g の投与量でネンブタールを腹腔内注射して麻酔を行った。痛みを軽減するため、手術前の 3 0 分間及び手術後の 6 時間に、動物に投与量が 0 . 1 m g / k g のブプレノルフィンを皮下注射した。麻酔の後に、すべての動物が目を覚ますまで動物を観察した。

【 0 5 9 1 】

麻酔後の動物は適切に固定され、動物の頭部皮膚は 7 0 % のエタノールで消毒され、正中線の右側に、額から両外耳道を結ぶ線までの間に、長さが約 1 0 m m の切り口を実施した。各動物の前泉門右側から 2 m m 及び冠状縫合前側から 1 m m のところに位置する右前頭葉に、 3×10^5 U 8 7 - l u c 細胞 (3 μ l、P B S と M a t r i g e l を 4 : 1 で混合したもの) を接種した。切り口を N o . 6 の糸で縫合し、ポリビニルピロリドンヨードで消毒した。回復するまでに、動物を暖かいところに放置した。腫瘍細胞が移植された 6 日後に、蛍光シグナル強度値によって、層別無作為化法で担癌動物を組み分け、組み分けして投与する場合、平均生物発光は 2.812×10^7 p h o t o n s / s e c に達した。異なる動物のグループでは、異なる投与量で投与し始め、投与時間が合計で 3 5 日であった。

【 0 5 9 2 】

7 . 4 本発明の化合物 17、及びテモゾロミドとの併用薬の、U 8 7 - l u c 同所性脳異種移植モデルにおける生存期間中央値 (日)

【 0 5 9 3 】

10

20

30

40

【表 1 2】

表 1 2 化合物 1 7 及びテモゾロミドとの併用薬による生存期間中央値

グループ	生存期間中央値 (日)	P value ^b	P value ^c
溶媒	30 (29~37) ^a	-	-
化合物 17 3. 125mg/kg QD	38. 5 (26~59)	0. 0822	-
化合物 17 6. 25mg/kg QD	43. 5 (31~48)	0. 0007	-
化合物 17 12. 5mg/kg QD	44. 5 (31~114)	0. 0004	-
化合物 17 25mg/kg QD	61 (41~76)	<0. 0001	-
化合物 17 50mg/kg QD	78. 5 (63~>114)	<0. 0001	-
テモゾロミド 3mg/kg IP Day 0、7、14、21、28	47 (38~83)	<0. 0001	-
化合物 17 6. 25 mg/kg QD+テモゾロミド 3mg/kg IP Day 0、7、14、21、28	57 (42~>114)	<0. 0001	0. 0454

10

【 0 5 9 4 】

a 生存時間の範囲。

【 0 5 9 5 】

b 各グループと溶媒グループとを対照する際の p 値。

【 0 5 9 6 】

c 各グループとテモゾロミド単投与量グループとを対照する際の p 値。

20

【 0 5 9 7 】

7. 5 実験の結論：本発明の代表的な化合物 1 7 は、U 8 7 - 1 u c 同所性脳異種移植モデルにおいて、動物の中間生存期間を顕著に延長でき、そして投与量依存関係を有する。テモゾロミドとの併用薬の研究において、テモゾロミドの単独投与に比べて、併用投与の方が動物の中間生存期間をより延長させた。

【 0 5 9 8 】

とりわけ、本発明は、選択的 C D K 4 / 6 キナーゼ阻害活性を有する一連の新しい化合物を提供し、その活性は、現在第 I I I 相臨床試験における候補薬 L Y 2 8 3 5 2 1 9 の活性よりも優れ、またはそれに相等するものであり、一部の化合物はより良好な選択性を示している。また、好ましい化合物の経口吸収が良好で、血漿・脳への分布がよく、U 8 7 - 1 u c 同所性脳異種移植モデルに対して顕著な薬効を有する。本発明の化合物が、細胞増殖に関連する疾患、特に悪性腫瘍（特に脳腫瘍）の治療のための新薬として開発されるのが有望であることを示唆し、臨床医と患者に新しい選択を提供できる。

30

【 0 5 9 9 】

キット

本発明はまた、構造式 I ~ V、V I I I で表される化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化合物、プロドラッグまたはその混合物形式、あるいは、構造式 I ~ V、V I I I で表される化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化合物、プロドラッグまたはその混合物形式の、薬学的に許容される塩または溶媒和物を含むキットを提供する。

40

【 0 6 0 0 】

また、前記キットには使用明細書が含まれてもよい。

【 0 6 0 1 】

薬物組成物

本発明はまた細胞増殖障害性疾患を治療するための組み合わせ製品に関するものであり、当該製品は薬学的に許容される担体、及び構造式 I ~ V、V I I I の化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化合物、プロドラッグまたはその混合物形式、あるいは、構造式 I ~ V、V I I I の化合物

50

またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはその混合物形式の薬学的に許容される塩または溶媒和物を含む。前記化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはその混合物形式、あるいは、構造式Ⅰ～ⅤとⅤⅠⅠⅠの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはその混合物形式の薬学的に許容される塩または溶媒和物は、当該薬物組成物において、有効量または治療有効量であっても良い。

【0602】

例えば、本明細書で使用する「有効量」とは、ヒト及び/または動物に対して機能できまたは活性的で、且つヒト及び/または動物が受け入れられる量である。

10

【0603】

例えば、本明細書で使用する「薬学的に許容される」成分とは、ヒト及び/または動物（例えば、哺乳動物または禽類）に適用され、過度の不良な副作用（例えば、毒性、刺激およびアレルギー反応など）がない、即ち、合理的な利益/リスクの比率を有する物質である。「薬学的に許容される担体」とは投与用担体であり、各種の賦形剤と希釈剤等を含んでも良い。このような担体は水、生理食塩水、リポソーム、脂質、タンパク、タンパク-抗体複合体、ペプチド、セルロース、ナノゲル、緩衝液、デキストロース、グリセロール、エタノール、およびそれらの組み合わせを含んでも良いが、それらに限定されるものではない。担体の選択は、当業者が熟知しているように、一般的に投与方式とマッチングすべきである。

20

【0604】

本発明に記載の有効用量は、投与方式/モードおよび治療待ちの疾患の重篤度等につれて、変化し得るものである。好ましい有効用量は、様々な要因（例えば、臨床試験を通じて）に基づいて当業者が決定できるものである。前記の要因は、例えば生物学的利用能、代謝、半減期などの前記の有効成分の薬物動態学的パラメーター、及び治療しようとする患者の疾患の重篤度、患者の体重、患者の免疫状態、投与経路等を含んでも良いが、それらに限定されるものではない。

【0605】

治療方法

30

本発明はまた、前記患者に、経口または非経口の経路によって有効用量の構造式Ⅰ～Ⅴ、ⅤⅠⅠⅠの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはその混合物形式、あるいは、構造式Ⅰ～ⅤとⅤⅠⅠⅠの化合物またはそれぞれの互変異性体、メソ体、ラセミ体、エナンチオマー、ジアステレオマー、重水素化化合物、プロドラッグまたはその混合物形式の薬学的に許容される塩または溶媒和物、あるいは上記薬物組成物を投与することを含む、細胞増殖障害性疾患の治療方法を提供する。

【0606】

前記経口または非経口の経路は、消化管、鼻腔、気管、肺、非病変部位の静脈または表皮、皮内、皮下、心臓内、筋肉、骨髄、腹腔、硬膜外、口腔、舌下、眼、直腸、膣、尿道、耳道等の経路で投与するものであってもよい。好ましい使用方式または投与方式は、経口、呼吸管、注射、経皮、粘膜または腔内投与を含む。

40

【0607】

その中、前記経口投与は、嚥下、口腔内崩壊等を含む。前記呼吸管投与方式は吸入方式、例えば超音波噴霧吸入、酸素噴霧吸入、手圧式噴霧吸入等を含む。前記注射投与方式は、動脈注射、静脈注射、筋肉注射、心臓内注射、皮内注射等を含む。前記透皮投与または経皮投与方式は、イオントフォoresis、エレクトロポレーション経皮法等を含む。前記粘膜投与方式は、経鼻粘膜投与、口腔粘膜投与、眼粘膜投与、直腸粘膜投与、子宮投与、および膣粘膜投与等を含む。前記腔道投与方式は、直腸投与、膣投与、尿道投与、鼻腔投与、および耳道投与等を含む。

50

【 0 6 0 8 】

本発明で言及される全ての文献（特許文献または非特許文献を含む）は、各々の文献が参考として単独で引用されるように、参照として本発明によって引用される。

【 0 6 0 9 】

本発明は一定程度の説明を行ったが、本発明の趣旨および範囲から逸脱しない限り、各条件の適切な変形を行ってもよいことは明らかである。本発明は前記実施形態に限定されるものではなく、請求の範囲の属するものであり、前記各要素の等価的な代替も含むものである。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I			
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
			A 6 1 P	43/00	1 0 5

(72)発明者 尹 磊
 中華人民共和国 1 0 1 1 0 2 北京市通州区中関村科技園区通州園金橋科技産業基地景盛北三街
 8号

(72)発明者 劉 文剣
 中華人民共和国 1 0 1 1 0 2 北京市通州区中関村科技園区通州園金橋科技産業基地景盛北三街
 8号

(72)発明者 李 恒
 中華人民共和国 1 0 1 1 0 2 北京市通州区中関村科技園区通州園金橋科技産業基地景盛北三街
 8号

(72)発明者 朱 殿璽
 中華人民共和国 1 0 1 1 0 2 北京市通州区中関村科技園区通州園金橋科技産業基地景盛北三街
 8号

審査官 伊佐地 公美

(56)参考文献 特表2012-513396(JP,A)
 国際公開第2008/124085(WO,A2)
 国際公開第2009/017838(WO,A2)
 国際公開第2014/063068(WO,A1)
 特表2009-525337(JP,A)
 HUANG, S. et al., BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, 2007年, Vol. 17, pp. 2
 179-2183

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D
 A 6 1 K
 A 6 1 P
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)