

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7154656号

(P7154656)

(45)発行日 令和4年10月18日(2022.10.18)

(24)登録日 令和4年10月7日(2022.10.7)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 401/14 (2006.01)

C 0 7 D 401/14

C S P

C 0 7 D 403/06 (2006.01)

C 0 7 D 403/06

A 6 1 K 31/496 (2006.01)

A 6 1 K 31/496

A 6 1 K 31/454 (2006.01)

A 6 1 K 31/454

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 7 (全24頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-537454(P2021-537454)

(86)(22)出願日 平成30年9月19日(2018.9.19)

(65)公表番号 特表2021-535931(P2021-535931
A)

(43)公表日 令和3年12月23日(2021.12.23)

(86)国際出願番号 PCT/CN2018/106524

(87)国際公開番号 WO2020/056634

(87)国際公開日 令和2年3月26日(2020.3.26)

審査請求日 令和3年3月10日(2021.3.10)

(73)特許権者 521102041

勤浩医 薬 (蘇 州) 有 限 公 司
SUZHOU GENHOUSE PHA
RMACEUTICAL CO., LT
D .中華人民共和国、215000、江 蘇
省 蘇 州 市 工 業 園 区 若 水 路
388号ディー505室

(74)代理人 110000729

特許業務法人 ユニアス国際特許事務所

(72)発明者 胡 立 宏

中華人民共和国、201203、上海市
中国(上海)自由貿易試 験
区芳春路400号1幢3 層

審査官 三須 大樹

最終頁に続く

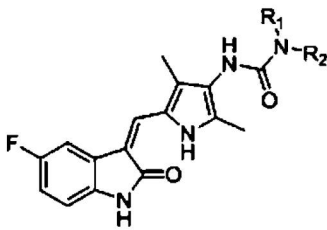
(54)【発明の名称】 ピロール置換インドロン誘導体又はその薬学的に許容される塩、及びそれらの調製方法並びに使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式Iで示される構造である化合物又はその薬学的に許容される塩であって、

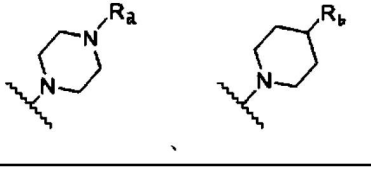
【化1】



式1

R₁は、H、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基から選択され、R₂は、4-ピペリジニル、N-メチル-4-ピペリジニルから選択され、又は、窒素原子に結合したR₁及びR₂は、下記に示す基を形成することを特徴とする化合物又はその薬学的に許容される塩。

【化2】



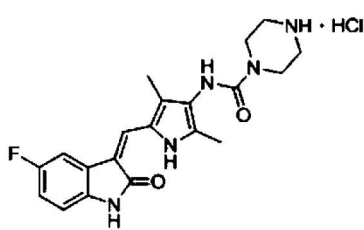
(式中、 R_a は、直鎖状又は分岐状のC1～C3アルキル基から選択され、 R_b は、アミノ基、直鎖状又は分岐状の、置換若しくは非置換のC1～C3アルキル基から選択され、置換基はアミノ基から選択される。)

10

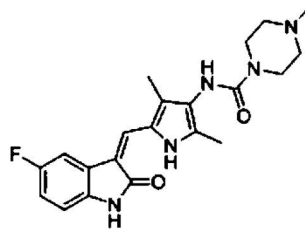
【請求項2】

下記の構造式である、式1の化合物、式2の化合物、式3の化合物、式4の化合物、式5の化合物、式6の化合物、式7の化合物、式8の化合物から選択されることを特徴とする請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【化3】

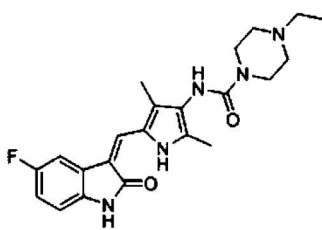


式1

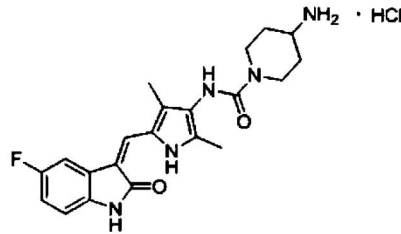


式2

20

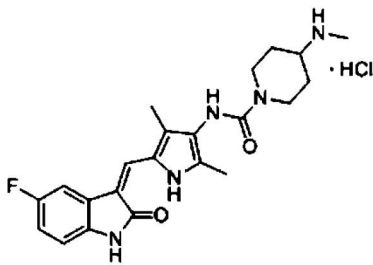


式3

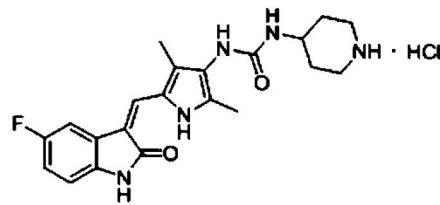


式4

30

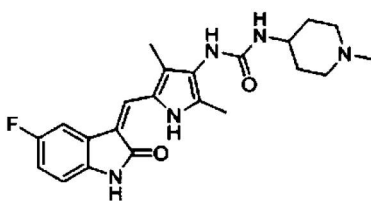


式5

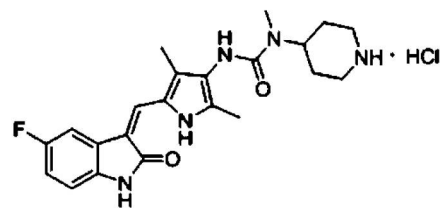


式6

40



式7



式8。

【請求項3】

請求項1又は2に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩の、受容体チロシンキナーゼ阻害剤の調製における使用。

50

【請求項 4】

前記阻害剤はマルチターゲット型受容体チロシンキナーゼ阻害剤であり、
及び/又は前記受容体チロシンキナーゼはFLT3又はその突然変異体であり、
及び/又は、前記阻害剤は選択的阻害剤であることを特徴とする請求項3に記載の使用。

【請求項 5】

前記阻害剤はFLT3又はその突然変異体の選択的阻害剤であることを特徴とする請求項4に記載の使用。

【請求項 6】

請求項1又は2に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩の、腫瘍を治療するための薬物の調製における使用。

10

【請求項 7】

前記腫瘍は、急性骨髄性白血病から選択されることを特徴とする請求項6に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は医薬分野、特にピロール置換インドロン誘導体又はその薬学的に許容される塩、及びそれらの調製方法並びに使用に関する。

【背景技術】

【0002】

白血病とは、造血幹細胞の悪性クローン性疾患であり、血液のがんとも呼ばれる。急性骨髄性白血病 (Acute Myeloid Leukemia、AML) は成人で最もよくみられる急性白血病であり、白血病の総発生率の40%、急性白血病の総発生率の約80%を占める。その発生原因は、元の造血幹細胞及び前駆細胞の分化異常による未熟な骨髄性前駆細胞の異常増殖及び分化にある (Gilliland, D. G. et al. Cancer Cell, 2002, 1, 417.)。現在、急性骨髄性白血病の治療方法には主に、薬物療法と骨髄移植が含まれる。薬物療法は主に従来化学療法であり、寛解導入療法による治療と寛解後療法による治療の2段階に分けられる。現在、AMLに対する寛解導入療法は依然として、アントラサイクリン系抗がん性抗生物質とシタラピンの併用がメインとなっており、寛解後療法は強化地固め療法、維持療法、中枢神経白血病予防を含み、通常、高用量シタラピン併用化学療法が選択される。近年、支持療法による改善と化学療法の強度の増加により、化学療法の治療効果が向上し、AML患者の化学療法による総完全寛解率が50%~70%、長期的な無病生存率が25%~30%に達成することが可能となる。しかし、AMLの著しい個人の異質性及び高い再発率のため、予後不良又は再発を示した患者の割合が依然としてかなり高い。造血幹細胞移植 (HSCT) はAMLを治療するための信頼できる方法である。しかし、移植後に患者は再発するリスクがあり、標準リスク患者の再発率が8%~12%であり、高リスク患者の再発率が39%~74%に達する可能性がある。移植後の再発は移植に失敗する最もメインな原因の一つである。

20

【0003】

薬物療法の有効率を高め、生存期間を延ばすための新たなAML治療薬の開発研究は依然としてAML患者に切望されている。FMS様チロシンキナーゼ-3 (FLT3) は近年、大きな注目を集めている新たなAML治療標的である。

40

【0004】

研究によると、FMS様チロシンキナーゼ-3 (Fms-like tyrosine kinase、FLT3) タンパク質は主に正常な骨髄性及びリンパ性細胞前駆体で発現し、急性骨髄性白血病 (AML) 及び急性リンパ性白血病細胞の70%~90%でも発現する。FLT3タンパク質はプロテインチロシンキナーゼ (protein tyrosine kinase、PTK) ファミリーに属し、1991年にRosnet研究グループとMatthews研究グループによってそれぞれ独立して発見された。FLT3タンパク質はクラスIIIの受容体型プロテインチロシンキナーゼファミリーに属し、5つの

50

免疫グロブリンを含む細胞外領域 (extracellular domain)、膜貫通領域 (transmembrane domain)、膜近傍領域 (juxtamembrane fragment)、及び細胞質 (cytoplasmic region) から構成される。大量の研究によると、チロシンキナーゼ FLT3 タンパク質の突然変異及び異様な活性化は急性骨髄性白血病の発生及び進展に緊密に関係している (Marri n, C. et al. Blood, 2014, 124, 3.)。第1種の突然変異は膜近傍領域の遺伝子内縦列重複 (Internal Tandem Duplication, ITD) に関係しており、FLT3 タンパク質変異の約23%を占める。第2種の変異は活性化ループの点変異 (Tyrosine Kinase Domain, TKD) であり、FLT3 タンパク質変異の約8%を占める。第3種の変異は、膜近傍領域の点変異であり、FLT3 タンパク質変異の約2%を占める。FLT3 タンパク質が変異した後、FLT3 タンパク質の二量体化が誘導され、さらに、受容体間で自己リン酸化が起こる。これと同時に、細胞質内で活性化ループが近く、細胞内の基質がFLT3の活性結合部位に結合しやすく、FLT3の活性化を引き起こす。FLT3が活性化された後、下流のRas経路及びホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (Phosphatidy l Inositol 3-Kinase, PI3K) 経路が活性化され、さらに経路におけるアポトーシス因子及び抗アポトーシス因子を調節し、細胞の成長、増殖及び生存に影響を与え、腫瘍の成長を阻害する効果を発揮する (Choudhary, C. et al. Int. J. Hematol., 2005, 82, 93-99.)。FLT3が急性骨髄性白血病の発生及び進展において果たす作用に鑑みれば、FLT3タンパク質は急性骨髄性白血病を治療するための1つの重要な標的とされることができるとされている。したがって、高効率で安全且つ低毒性のFLT3阻害剤の開発は、急性骨髄性白血病の治療に一定の科学的価値及び社会的意味を持つ。

【0005】

スニチニブ (Sunitinib) はファイザー社によって開発されたマルチターゲット型チロシンキナーゼ阻害剤であり、主に血管内皮細胞 PDGFR- 及び VEGFR-2 を阻害して血管新生阻害作用を發揮し、また、RTKs が異常に活性化された腫瘍細胞にも作用し、抗がん作用をそのまま發揮する。2006年に、消化管間質腫瘍および腎細胞がんの治療薬としてFDAによって承認され、その後、また外科的切除不能や進展 (転移) した進行性膵神経内分泌腫瘍 (pNET) の治療薬として承認された。スニチニブは VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR-、c-Kit、FLT3 等複数種の受容体チロシンキナーゼに対して強力な阻害効果を示す: VEGFR-1 (IC50: 15.1 nM)、VEGFR-2 (IC50: 38.1 nM)、VEGFR-3 (IC50: 30.6 nM)、PDGFR- (IC50: 55.1 nM)、c-Kit (IC50: 211.34 nM)、CSF-1R (IC50: 35.6 nM)、FIT3 (IC50: 21.5 nM) (P. W. Manley et al. Biochimica et Biophysica Acta, 2004, 1697, 17.)。nMレベルでFLT3を阻害できるが、血管新生形成関連のVEGFR、PDGFR等に対してもかなり強い阻害活性を示す。スニチニブは非選択的FLT3阻害剤であり、かつ、FLT3変異のFLT3-ITD及びFLT3-TKDのいずれに対しても強い阻害活性を有することが示されている。in vitroでFLT3を介したリン酸化を阻害し、細胞死を誘導し、FLT3-ITD陽性細胞株のin vitro増殖を阻害することができる。20 mg/kg/dの経口投与はMV-4-11 (FLT3-ITD) ノードマウス移植腫瘍モデルにおいて顕著な抗腫瘍効果を示し、1回投与でFLT3-ITDのリン酸化阻害効果を16h維持できる (Anne-Marie O'Farrell, Tinya J. Abrams, et al. Blood, 2003, 101(9), 3597.)。

【0006】

第I相臨床試験では、29例の難治性、再発性又は標準治療に適しないAML患者を選択し、投与量を50 mgから350 mgとするスニチニブの単回投与を行い、耐性を観察し、且つPK/PD相関を検討した。その結果、31%の患者で主に下痢や嘔吐等の胃腸反

10

20

30

40

50

応を含む薬物関連副作用が見られ、且つ250mg以上の投与量の場合のみに見られ、グレード1/2程度であった。200mg以上の投与量では、50%超の患者ではFLT3リン酸化の強力な阻害効果が見られ、且つ関連下流側のシグナル経路が阻害された(Anne-Marie O'F, James M.F, et al., Clinical Cancer Research, 2003, 9(15), 5465.)。

【0007】

Fiedlerらは急性骨髄性白血病に対するスニチニブの第I相臨床試験では、16例の再発性や難治性急性骨髄性白血病(AML)患者をA群、B群の2群に分け、それぞれ異なる投与計画(A群: 50mg・d⁻¹、4/2計画、B群: 75mg・d⁻¹、4/1計画)を採用し、その結果、1例では形態学的反応が生じ、5例では部分奏効を示し(PR)、50mg群では毒性反応が固形腫瘍の臨床試験に類似するが、骨髄抑制の発生率が高まり、また、75mg群では患者の耐性が低下し、グレード4の使用量制限疲労及び高血圧が生じた(Fiedler, W. et al. Blood, 2005, 105, 986.)。このように、初期の臨床研究では、スニチニブがAMLに対して一定の治療効果を示したが、その毒性副作用が大きく、耐用量が低く、FLT3阻害活性に必要な血漿曝露量を得ることができず、FLT3阻害剤としてのスニチニブのAMLへの治療が成功に至っていない。したがって、その化学構造を最適化することで毒性副作用を低減し、創薬可能性を最適化し、より安全で有効な理想的な薬物を得る必要がある。

10

【発明の概要】

【0008】

上記従来技術の欠点を鑑み、本発明は、従来技術に存在している課題を解決するために、ピロール置換インドロン誘導体又はその薬学的に許容される塩、及びそれらの調製方法並びに使用を提供することを目的とする。

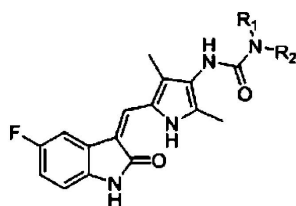
20

【0009】

上記の目的及びその他の関連目的を実現するために、本発明の第一側面では、式Iで示される構造を有する化合物又はその薬学的に許容される塩を提供する。

【0010】

【化1】



式1

30

【0011】

式中、

【0012】

R₁は、H、直鎖状又は分岐状の、置換若しくは非置換のC1~C6アルキル基から選択され、

40

R₂は、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル基から選択され、又は、窒素原子に結合したR₁及びR₂は、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル基を形成する。

【0013】

本発明の一部の形態においては、R₁は、H、直鎖状又は分岐状のC1~C3アルキル基から選択される。

【0014】

本発明の一部の形態においては、R₂は、一置換、多置換又は非置換の5員又は6員のヘテロシクロアルキル基から選択され、置換基は、直鎖状又は分岐状のC1~C3アルキル

50

基から選択される。

【0015】

本発明の一部の形態においては、窒素原子に結合した R_1 及び R_2 は、一置換、多置換又は非置換の5員又は6員のヘテロシクロアルキル基を形成し、置換基は、直鎖状又は分岐状のC1~C3アルキル基、アミノ基から選択される。

【0016】

本発明の一部の形態においては、窒素原子に結合した R_1 及び R_2 から形成されるヘテロシクロアルキル基は、1個又は2個の窒素原子を有し、好ましくは、前記ヘテロシクロアルキル基が2個の窒素原子を有する場合、1個又は複数個のアルキル基で置換されてもよく、前記ヘテロシクロアルキル基が1個の窒素原子を有する場合、1個又は複数個のアミノ基及び/又はアミノアルキル基で置換される。

10

【0017】

本発明の一部の形態においては、 R_1 は、H、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基から選択される。

【0018】

本発明の一部の形態においては、 R_2 は、4-ピペリジニル、N-メチル-4-ピペリジニルから選択される。

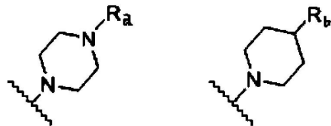
【0019】

本発明の一部の形態においては、窒素原子に結合した R_1 及び R_2 は、下記に示す基を形成する。

20

【0020】

【化2】



【0021】

式中、 R_a は、直鎖状又は分岐状のC1~C3アルキル基から選択され、 R_b は、アミノ基、直鎖状又は分岐状の、置換若しくは非置換のC1~C3アルキル基から選択され、置換基はアミノ基から選択される。

30

【0022】

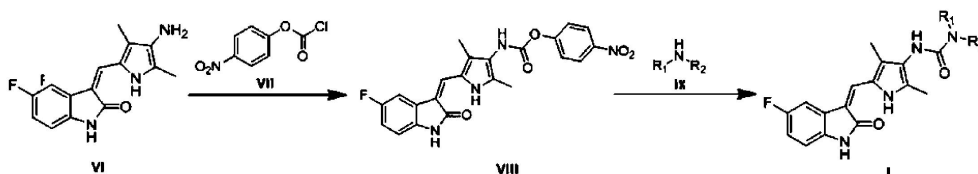
本発明の一部の形態においては、前記化合物又はその薬学的に許容される塩は、式1の化合物、式2の化合物、式3の化合物、式4の化合物、式5の化合物、式6の化合物、式7の化合物、式8の化合物から選択される。

【0023】

本発明の第二側面では、下記の化学反応式に示すように、アルカリの存在下で、式VIの化合物をそれぞれ式VIIの化合物及び式IXの化合物と反応させ、式Iの化合物を生成するステップを含む、前記化合物又はその薬学的に許容される塩の調製方法を提供する。

【0024】

【化3】



40

【0025】

式中、前記式IXの化合物では、 R_1 及び/又は R_2 は式Iの化合物と同じ定義である。

【0026】

50

本発明の第三側面では、前記化合物又はその薬学的に許容される塩の、受容体チロシンキナーゼ阻害剤の調製における使用を提供する。

【0027】

本発明の一部の形態においては、前記阻害剤はマルチターゲット型受容体チロシンキナーゼ阻害剤である。

【0028】

本発明の一部の形態においては、前記受容体チロシンキナーゼはFLT3又はその突然変異体である。

【0029】

本発明の一部の形態においては、前記阻害剤は選択的阻害剤であり、より具体的にはFLT3又はその突然変異体の選択的阻害剤である。

10

【0030】

本発明の第四側面では、前記腫瘍は好ましくは、急性骨髄性白血病から選択される前記化合物又はその薬学的に許容される塩の、腫瘍を治療するための薬物の調製における使用を提供する。

【0031】

本発明の第五側面では、前記化合物又はその薬学的に許容される塩を含有する薬物組成物を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0032】

本発明者らは鋭意研究を重ねた結果、受容体チロシンキナーゼ (receptor tyrosine kinase、RTKs) に対して顕著な阻害効果を有し、かつ、毒性副作用が低いピロール置換インドロン誘導体を提供し、本発明の完成に至った。

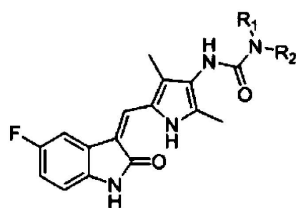
20

【0033】

本発明の一側面では、式Iで示される構造を有するピロール置換インドロン誘導体である化合物又はその薬学的に許容される塩を提供する。

【0034】

【化4】



式I

30

【0035】

式中、

【0036】

R₁は、H、直鎖状又は分岐状の、置換若しくは非置換のC1~C6アルキル基から選択され、

40

R₂は置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル基から選択され、

又は、窒素原子に結合したR₁及びR₂は、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル基を形成する。

【0037】

本発明では、「アルキル基」は通常、飽和脂肪族基を指す。

【0038】

本発明では、「ヘテロシクロアルキル基」は通常、飽和又は不飽和(芳香族でない)環状炭化水素を指し、非置換、一置換又は多置換されてもよく、その構造にN、O又はSから選択される少なくとも1個のヘテロ原子を有する。

50

【0039】

本発明では、「薬学的に許容される塩」とは通常、適切な方法で治療に用いられ、特に適用対象がヒト及び/又は哺乳動物である場合に、生理的に許容される（通常、無毒性を意味する）いかなる塩を指す。より具体的に、これら薬学的に許容される塩は通常、本発明で提供される化合物（通常、プロトン化されたもの）と少なくとも1種の生理的に許容される陰イオンから形成される塩を指す。例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、メタンスルホン酸、ギ酸、酢酸、シュウ酸、コハク酸、リンゴ酸、酒石酸、マンデル酸、フマル酸、乳酸又はクエン酸等から形成されることができる。

【0040】

本発明で提供される式 I で表される化合物では、より具体的に、 R_1 は H、直鎖状又は分岐状の C 1 ~ C 3 アルキル基から選択されることができ、本発明の一部の実施形態において、 R_1 は、H、メチル基、エチル基、n - プロピル基、イソプロピル基から選択される。

10

【0041】

本発明で提供される式 I で表される化合物では、 R_2 は一置換、多置換又は非置換の 5 員又は 6 員のヘテロシクロアルキル基から選択され、置換基は、直鎖状又は分岐状の C 1 ~ C 3 アルキル基、例えばメチル基、エチル基、n - プロピル基、イソプロピル基であってもよい。本発明の一部の実施形態において、 R_2 は、4 - ピペリジニル、N - メチル - 4 - ピペリジニルから選択される。

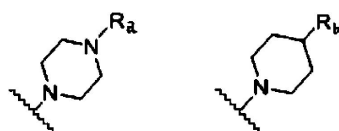
【0042】

本発明で提供される式 I で表される化合物では、窒素原子に結合した R_1 及び R_2 は、一置換、多置換又は非置換の 5 員又は 6 員のヘテロシクロアルキル基を形成することができ、形成されるヘテロシクロアルキル基は通常、1 個又は 2 個の窒素原子を含むことができる。窒素原子を計算する際に、通常、結合した窒素原子が含まれる。置換基は、直鎖状又は分岐状の C 1 ~ C 3 アルキル基、アミノ基等であってもよい。例えば、窒素原子に結合した R_1 及び R_2 から形成されるヘテロシクロアルキル基は 6 員のヘテロシクロアルキル基であってもよく、当該ヘテロシクロアルキル基は、2 個の窒素原子を含み、かつ、1 個又は複数個のアルキル基で置換されてもよい。当該ヘテロシクロアルキル基はまた、1 個の窒素原子を含み、かつ、1 個又は複数個のアミノ基で置換されてもよい。本発明の 1 つの実施形態において、窒素原子に結合した R_1 及び R_2 は、下記に示す基を形成する。

20

【0043】

【化 5】



30

【0044】

式中、

【0045】

R_a は、直鎖状又は分岐状の C 1 ~ C 3 アルキル基（例えば、メチル基、エチル基、n - プロピル基、イソプロピル基）から選択され、

40

R_b は、アミノ基、直鎖状又は分岐状の C 1 ~ C 3 アルキル基（例えば、メチル基、エチル基、n - プロピル基、イソプロピル基）から選択される。

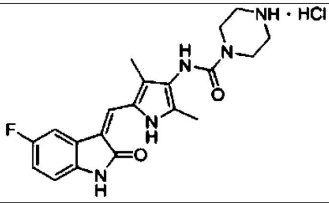
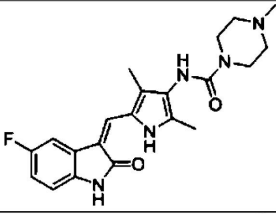
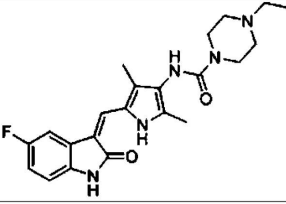
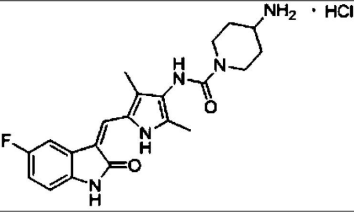
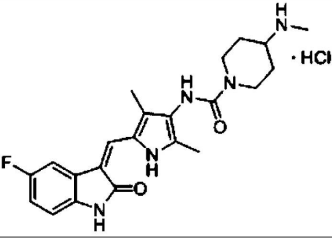
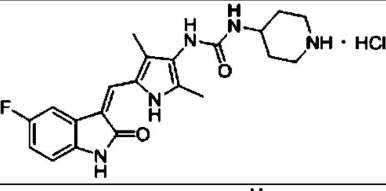
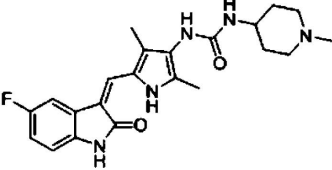
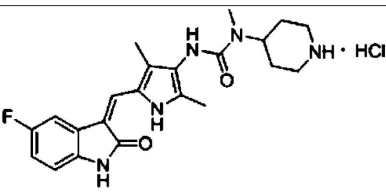
【0046】

本発明で提供される式 I の化合物又はその薬学的に許容される塩として、具体的に、式 1 の化合物、式 2 の化合物、式 3 の化合物、式 4 の化合物、式 5 の化合物、式 6 の化合物、式 7 の化合物、式 8 の化合物が挙げられる。前記式 1 の化合物 ~ 式 8 の化合物の構造式は表 1 に示すとおりである。

【0047】

50

【表 1】

化合物の番号	化合物の構造式
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

10

20

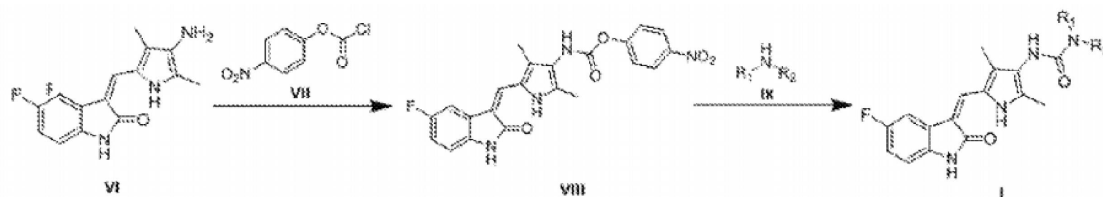
30

40

本発明の別の側面では、下記の化学反応式に示すように、アルカリの存在下で、式V Iの化合物をそれぞれ式V I Iの化合物及び式I Xの化合物と反応させ、式Iの化合物を生成するステップを含む、前記化合物の調製方法を提供する。

【0049】

【化6】



10

【0050】

式中、前記式I Xの化合物では、 R_1 及び/又は R_2 は式Iの化合物と同じ定義である。

【0051】

上記の反応では、式V Iの化合物は通常、アルカリの存在下で、式V I Iの化合物と反応して式V I I Iの化合物を生成し、式V I I Iの化合物は、アルカリの存在下で、式I Xの化合物とさらに反応して式Iの化合物を生成する。

【0052】

式V Iの化合物から式Iの化合物を調製する反応では、式V I Iの化合物及び/又は式I Xの化合物の使用量が通常、式V Iの化合物に対して同量又は過量であり、例えば、式V I Iの化合物と式V Iの化合物とのモル比が1 ~ 1.5 : 1、式I Xの化合物と式V Iの化合物とのモル比が1 ~ 5 : 1であってもよい。

20

【0053】

式V Iの化合物から式Iの化合物を調製する反応では、前記塩基は通常、例えばD I P E A等の有機塩基であってもよい。塩基の使用量が通常、式V Iの化合物に対して同量又は過量であり、例えば、塩基と式V Iの化合物とのモル比が1 ~ 1.5 : 1であってもよい。

【0054】

式V Iの化合物から式Iの化合物を調製する反応は、溶媒中で行われることができる。前記溶媒は通常、非プロトン性溶媒であってもよい。この分野の技術者は、反応原料が溶媒への溶解性が良好となるように、反応原料に応じて適切な溶媒の種類及び使用量を選択することができる。例えば、前記溶媒として、テトラヒドロフラン(T H F)等が挙げられる。

30

【0055】

式V Iの化合物から式Iの化合物を調製する反応では、反応温度を室温から溶媒の還流温度とすることができ、例えば、反応を室温で行うことができる。反応は通常、ガス保護の条件下で行われることができる。ガス保護の条件を形成するためのガスとして、窒素ガス、不活性ガス等が挙げられる。前記不活性ガスとして、より具体的に、ヘリウム、ネオン、アルゴン、クリプトン、キセノン等が挙げられる。この分野の技術者は反応の進行状況に応じて、反応時間を調整し、反応の進行状況を例えばT L C、H P L C等の方法によりモニタリングし、反応時間を0.1 ~ 24 hとすることができる。反応が終了した後に、反応生成物を脱溶媒して精製すれば、式Iの化合物を得ることができる。この分野の技術者は、例えば、適切な溶媒を使用して生成物を洗浄する等、精製のために適切な方法を選択することができる。また、例えば、使用可能な溶媒として、水、酢酸エチル(E A)、メタノール等から選択される1種又は複数種の組み合わせが挙げられる。前記式Iの化合物はさらに、適切な酸とともにその薬学的に許容される塩を形成することができる。

40

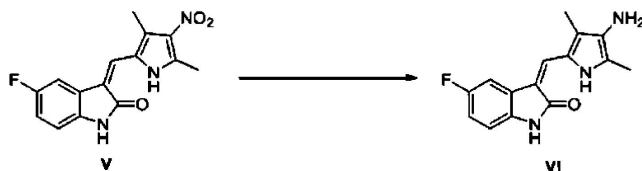
【0056】

さらに、前記式V Iの化合物の調製方法は、下記の化学反応式に示すように、式Vの化合物を電解質溶液中で還元反応させ、式V Iの化合物を生成するステップを含んでもよい。

【0057】

50

【化 7】



【0058】

式Vの化合物から式VIの化合物を調製する反応では、還元反応で使用される還元剤として、通常、例えばZn粉、Fe粉等から選択される1種又は複数種の組み合わせが挙げられ、還元剤の使用量は通常、式Vの化合物に対して同量又は過量であり、例えば還元剤と式Vの化合物とのモル比が1～50：1であってもよい。

10

【0059】

この分野の技術者は、式Vの化合物を式VIの化合物に還元するために、適切な電解質溶液を選択することができる。例えば、電解質は塩化アンモニウム等から選択される1種又は複数種の組み合わせであってもよく、溶液における電解質の濃度がその飽和濃度の1/10～1/2であってもよい。また、例えば、電解質溶液を形成するための溶媒として、水、テトラヒドロフラン、メタノール等から選択される1種又は複数種の組み合わせが挙げられる。また、例えば、電解質溶液中の式Vの化合物の濃度が1～20mmol/Lであってもよい。本発明の1つの実施形態において、電解質溶液を形成するための溶媒は水、テトラヒドロフラン及びメタノールの混合液であり、水とテトラヒドロフランとメタノールとの体積比が1：0.5～3：0.5～3である。

20

【0060】

式Vの化合物から式VIの化合物を調製する反応では、還元反応の反応温度を室温から溶媒の還流温度とすることができ、例えば、反応を約50℃で行うことができる。反応は通常、ガス保護の条件下で行われることができる。ガス保護の条件を形成するためのガスとして、窒素ガス、不活性ガス等が挙げられる。前記不活性ガスとして、より具体的に、ヘリウム、ネオン、アルゴン、クリプトン、キセノン等が挙げられる。この分野の技術者は反応の進行状況に応じて、反応時間を調整し、反応の進行状況を例えばTLC、HPLC等の方法によりモニタリングし、反応時間を0.5～24hとすることができる。反応が終了した後に、反応生成物から少なくとも一部の有機溶媒を除去し、pHをアルカリ性に調整し、有機溶媒で抽出し、有機相を脱溶媒すれば、式VIの化合物を得ることができる。抽出時に使用される有機溶媒として、例えば酢酸エチル等が挙げられる。

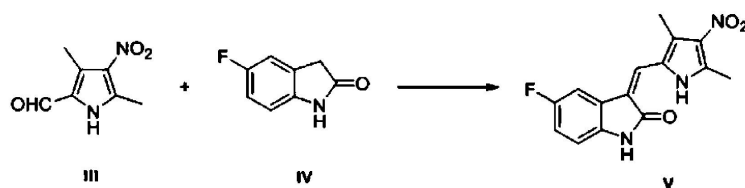
30

【0061】

さらに、前記式Vの化合物の調製方法は、下記の化学反応式に示すように、式IIIの化合物と式IVの化合物を縮合反応させ、式Vの化合物を生成するステップを含んでもよい。

【0062】

【化 8】



40

【0063】

式IIIの化合物から式Vの化合物を調製する反応は通常、触媒の存在下で行われる。この分野の技術者は、式IIIの化合物及び式IVの化合物の縮合反応に適する触媒の種類及び使用量を選択することができる。例えば、触媒として、ピロリジン等が挙げられ、触媒と式IIIの化合物とのモル比が1～1.5：1であってもよい。

【0064】

50

式 I I I の化合物から式 V の化合物を調製する反応では、式 I V の化合物の使用量が通常、式 I I I の化合物に対して同量又は過量であり、例えば、式 I I I の化合物と式 I V の化合物とのモル比が 1 : 1 ~ 1 . 5 であってもよい。

【 0 0 6 5 】

式 I I I の化合物から式 V の化合物を調製する反応は、溶媒中で行われることができる。前記溶媒は通常、極性プロトン性溶媒であってもよい。この分野の技術者は、反応原料が溶媒への溶解性が良好となるように、反応原料に応じて適切な溶媒の種類及び使用量を選択することができる。例えば、前記溶媒として、エタノール (E t O H) 等が挙げられる。

【 0 0 6 6 】

式 I I I の化合物から式 V の化合物を調製する反応では、反応温度を室温から溶媒の還流温度とすることができ、例えば、反応を約 5 0 °C で行うことができる。反応は通常、ガス保護の条件下で行われることができる。ガス保護の条件を形成するためのガスとして、窒素ガス、不活性ガス等が挙げられる。前記不活性ガスとして、より具体的に、ヘリウム、ネオン、アルゴン、クリプトン、キセノン等が挙げられる。この分野の技術者は反応の進行状況に応じて、反応時間を調整し、反応の進行状況を例えば T L C 、 H P L C 等の方法によりモニタリングし、反応時間を 0 . 5 ~ 2 4 h とすることができる。反応が終了した後に、反応生成物を固液分離することができ、固相物が式 V の化合物である。

10

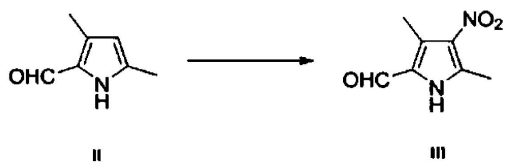
【 0 0 6 7 】

さらに、前記式 I I I の化合物の調製方法は、下記の化学反応式に示すように、式 I I の化合物をニトロ化剤及び脱水剤の存在下でニトロ化反応させ、式 I I I の化合物を生成するステップを含んでもよい。

20

【 0 0 6 8 】

【 化 9 】



【 0 0 6 9 】

式 I I の化合物から式 I I I の化合物を調製する反応では、この分野の技術者はニトロ化反応に適する適切なニトロ化剤及び / 又は脱水剤の種類及び使用量を選択することができる。例えば、ニトロ化剤として、硝酸、例えば硝酸カリウム等の硝酸塩等が挙げられる。ニトロ化剤の使用量が通常、式 I I の化合物に対して同量又は過量であり、例えば、ニトロ化剤と式 I I の化合物とのモル比が 1 ~ 1 . 5 : 1 であってもよい。前記脱水剤として、濃硫酸等が挙げられる。

30

【 0 0 7 0 】

式 I I の化合物から式 I I I の化合物を調製する反応では、反応温度が通常室温よりも低く、例えば、反応を約 - 1 0 °C で行うことができる。反応は通常、ガス保護の条件下で行われることができる。ガス保護の条件を形成するためのガスとして、窒素ガス、不活性ガス等が挙げられる。前記不活性ガスとして、より具体的に、ヘリウム、ネオン、アルゴン、クリプトン、キセノン等が挙げられる。この分野の技術者は反応の進行状況に応じて、反応時間を調整し、反応の進行状況を例えば T L C 、 H P L C 等の方法によりモニタリングし、反応時間を 0 . 5 ~ 2 4 h とすることができる。反応が終了した後に、反応生成物を水で希釈し、有機溶媒で抽出し、有機相を脱溶媒 (脱溶媒後に、さらに有機溶媒で洗浄してもよい。) すれば、式 I I I の化合物を得ることができる。抽出及び / 又は洗浄時に使用される有機溶媒として、例えば酢酸エチル等が挙げられる。

40

【 0 0 7 1 】

本発明の別の側面では、前記化合物又はその薬学的に許容される塩の、受容体チロシンキナーゼ阻害剤の調製における使用を提供する。前記化合物又はその薬学的に許容される塩

50

は具体的に、マルチターゲット型受容体チロシンキナーゼ阻害剤、より具体的に、I I I型受容体チロシンキナーゼファミリーの一員であるFLT3又はその突然変異体(Fms-like tyrosine kinase、FMS様チロシンキナーゼ3、例えば、FLT3、FLT3-ITD、FLT3D835Y等)の阻害剤が挙げられる。前記阻害剤が選択的阻害剤であってもよく、前記選択的阻害とは、KDR(人血管内皮成長因子受容体2、VEGFR2)に比べ、前記化合物又はその薬学的に許容される塩がFLT3又はその突然変異体に対しより優れた阻害効果を有し、例えば、KDRに比べ、前記化合物又はその薬学的に許容される塩の、FLT3又はその突然変異体に対するIC50濃度が10%以下であってもよいことを意味する。

【0072】

本発明の別の側面では、前記化合物又はその薬学的に許容される塩の、腫瘍を治療するための薬物の調製における使用を提供する。前記化合物又はその薬学的に許容される塩は、腫瘍細胞の成長を阻害できるため、腫瘍治療薬の調製に用いられる。前記腫瘍は、より具体的に急性骨髄性白血病(AML、acute myelocyticleukemia)等が挙げられる。

【0073】

本発明の別の側面では、前記化合物又はその薬学的に許容される塩を含有し、より具体的に治療有効量の前記化合物又はその薬学的に許容される塩を含むことができる薬物組成物を提供する。前記薬物組成物はまた、薬学的に許容される担体、添加剤、アジュバント又は賦形剤等を含んでもよい。

【0074】

本発明では、「治療有効量」とは通常、適切な投与期間後に治療効果を達成できる使用量を指す。一般には、1つ又は複数の症状或いは臨床指標を軽減できれば、この治療が有効であることを意味する。より好ましい治療効果とは、医学的に腫瘍の1種又は複数種の症状を軽減し、又は腫瘍を完全に排除し、或いは腫瘍の発生を阻害、遅延し、又は腫瘍の進行又は悪化のリスクを低減することを意味する。

【0075】

本発明で調製されるピロール置換インドロン誘導体又はその薬学的に許容される塩は、合成が簡単で、調製しやすく、合成のための原料が豊富であるのみならず、複数種のチロシンキナーゼに対して阻害効果を有し、特にKDR(VEGFR2)、FLT3及びその突然変異体に対してより高い選択的阻害活性を有し、KDRを抑制することによる毒性副作用、例えば、血管新生阻害に関連する毒性副作用を避け、耐量を増やすことができる。さらに、関連実験により、このような化合物は腫瘍の成長を選択的に阻害できることから、このような化合物は例えば急性骨髄性白血病(Acute myeloid leukemia、AML)等複数種の腫瘍疾患への治療に用いられることが示されている。また、本発明で提供されるピロール置換インドロン誘導体又はその薬学的に許容される塩が毒性副作用が非常に低いため、このような化合物はより広範に利用されることが期待されている。

【0076】

以下、特定の具体的な実例を用いて本発明の実施形態を説明する。この分野の技術者は本明細書に開示されている内容から、本発明のほかの利点及び効果を容易に理解することができる。本発明はまた、別の異なる実施形態により実施又は利用されることができる。本明細書に記載される様々な細部も本発明の趣旨を逸脱しない範囲で、異なる視点及び利用に基づいて修正や変更されることができる。

【0077】

なお、下記の実施例では、特に説明されていないプロセス設備又は装置はすべてこの分野の一般の設備又は装置である。

【0078】

また、特に断りのない限り、本発明に言及されている1個又は複数個の方法ステップは、前記組み合わせられたステップの前後にほかの方法ステップを含む場合、又はこれら明示されているステップの間にほかの方法ステップを挿入する場合も含まれると理解されるべき

10

20

30

40

50

である。さらに、特に断りのない限り、各方法ステップの番号は各方法ステップの順番を制限したり、本発明の実施可能の範囲を制限したりするものではなく、各方法ステップの識別の便宜上を図るためのものに過ぎず、実質的な技術的内容の変更がない場合、それら相対関係の変更又は調整も本発明の実施可能の範囲と見なされるべきである。実施例では、全溶媒は使用前に改めて蒸留され、使用される無水溶媒はすべて標準方法で乾燥処理されて得られたものである。

【0079】

各実施例では、 ^1H -NMRはVarian Mercury AMX300、400、500機器で測定され、MSはVG ZAB-HS又はVG-7070型及びEsquire 3000 plus-01005で測定される。

10

【0080】

特に断りのない限り、全反応はすべてアルゴンの保護下で行われ、且つTLCでモニタリングされ、後処理がすべて飽和食塩水による水洗及び無水硫酸マグネシウムによる乾燥を含む。特に断りのない限り、製品の精製はすべてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを使用し、使用されるシリカゲルは200-300メッシュであり、GF254は青島海洋化工廠製又は煙台縁博珪膠公司製である。

【実施例】

【0081】

実施例1

式1の化合物の調製

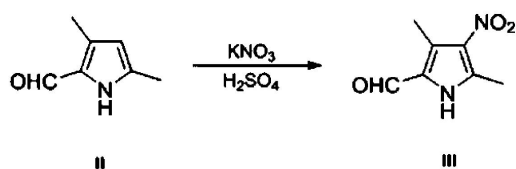
20

【0082】

式IIIの化合物の調製

【0083】

【化10】



30

【0084】

60 mLの濃硫酸を250 mLの丸底フラスコに入れ、系を -10 以下に維持しながら原料3,5-ジメチル-2-ピロールカルボキシアルデヒド(式IIの化合物、5 g、40 mmol)をゆっくりと添加した。添加が完了した後に、この温度下で硝酸カリウム(4.35 g、42 mmol)を約2 hで何回も分けてゆっくりと添加した。この過程では、温度を -10 に維持し、添加後にこの温度下で約2 h攪拌し続けた。TLCにて反応が完全に進行したと検出された後に、この溶液を1 Lの氷水に加え、1 Lの酢酸エチルで2回で抽出し、有機層を飽和食塩水で水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に有機溶媒を減圧下で蒸発乾固させて7 gの粗生成物を得た。この粗生成物を10~20 mLの酢酸エチルに加え、激しく攪拌した後にろ過し、5 gの純粋な目的化合物IIIを得た。 ^1H NMR(400 MHz, Chloroform-d) : 10.22 (br s, 1H), 9.68 (s, 1H), 2.71 (s, 3H), 2.66 (s, 3H)。

40

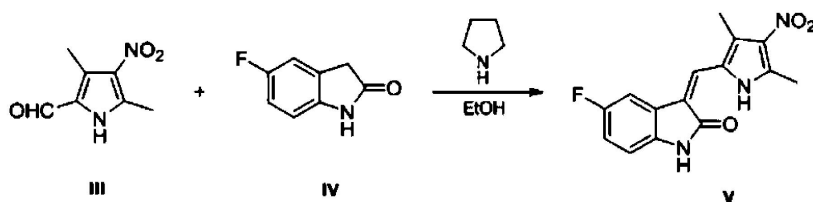
【0085】

式Vの化合物の調製

【0086】

50

【化 1 1】



【 0 0 8 7】

化合物 III (1.68 g、10 mmol) 及び化合物 IV (1.8 g、12 mmol) を 50 mL の無水エタノールに加え、室温でテトラヒドロピロール (850 mg、12 mmol) を添加した。添加後、系の色が黄色になり、50 °C までに昇温し、この温度下で 2 h 反応し続けた。反応終了後に直接的に系をろ過し、濾過ケーキを少量のエタノール及び酢酸エチルで洗浄し、2.7 g の純粋な目的化合物 V を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 11.14 (s, 1H), 7.88 (dd, J = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.05 - 6.97 (m, 1H), 6.88 (dd, J = 8.5, 4.5 Hz, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.58 (s, 3H)。

10

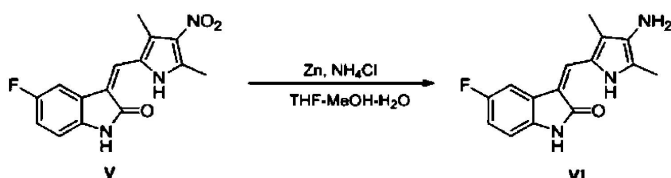
【 0 0 8 8】

式 VI の化合物の調製

20

【 0 0 8 9】

【化 1 2】



【 0 0 9 0】

化合物 V (900 mg、3 mmol) を 500 mL の二つ口フラスコに入れ、次に、それぞれ 200 mL のテトラヒドロフラン、100 mL のメタノール、60 mL の水、60 mL の飽和塩化アンモニウム溶液を添加した。添加後に 50 °C までに昇温させ、次に攪拌しながら亜鉛粉末 (1.8 g、30 mmol) を添加した。亜鉛粉末の添加後にこの条件下で 2 h 反応し続けた。この過程で、系が澄んだ状態になってから濁った状態になった。濁った後に、LC-MS にて反応が完全に進行したと検出された。反応が完全に進行した後に、溶液を蒸発乾固させ、飽和炭酸ナトリウム溶液を添加して系をアルカリ性に調整し、2 L の酢酸エチルで 2 回で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に減圧下で有機溶媒を蒸発乾固させ、目的化合物 VI (800 mg) を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 13.55 (s, 1H), 10.62 (s, 1H), 7.63 - 7.55 (m, 1H), 7.47 (s, 1H), 6.82 - 6.79 (m, 1H), 6.79 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.01 (s, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.15 (s, 3H)。

30

40

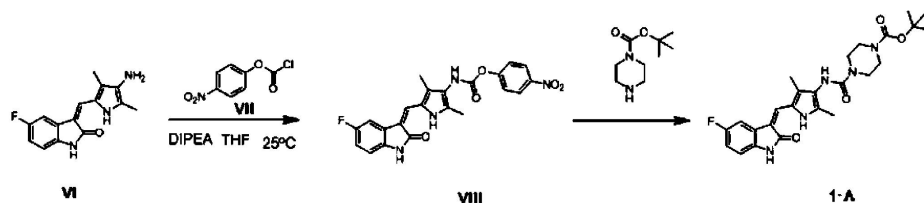
【 0 0 9 1】

式 1 - A の化合物の調製

【 0 0 9 2】

50

【化13】



【0093】

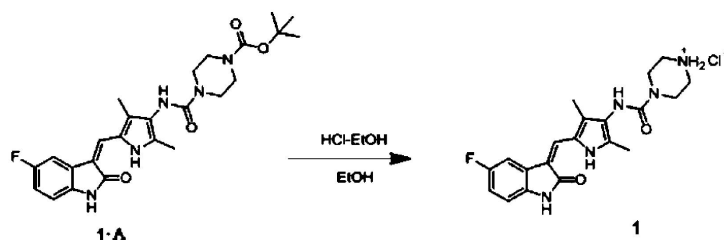
化合物VI (100 mg、0.37 mmol) をテトラヒドロフラン (5 mL) に溶解し、室温でDIPEA (0.1 mL、0.55 mmol) を添加した後に、クロロ酸 p - ニトロフェニル (110 mg、0.55 mmol) を添加した。添加後、室温で20 min 程度反応させた。TLCにて反応が終了したと検出された。反応終了後に、系にN - BOC - ピペラジン (275 mg、1.48 mmol) を添加し、30 min 攪拌し続け、LC - MSにて反応が完全に進行したと検出された。反応が完全に進行した後に、溶媒を蒸発乾固させ、EAで叩き、ろ過し、メタノールですすいで純粋な生成物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) : 13.55 (s, 1H), 10.78 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 9.5, 2.2 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.87 (ddd, J = 9.5, 9.1, 2.2 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 8.4, 4.7 Hz, 1H), 3.37 ~ 3.20 (m, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.82 ~ 1.88 (m, 4H)。

【0094】

式1の化合物の調製

【0095】

【化14】



【0096】

式1 - Aの化合物 (100 mg、0.21 mmol) を3 mLのエタノールで溶解した後に、3 mLの塩酸エタノール溶液を加え、30 min 攪拌した後に、LC - MSにて反応が完全に進行したと検出され、直接的に遠心脱水して純粋な式1の化合物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) : 13.57 (s, 1H), 10.81 (s, 1H), 9.35 (s, 2H), 8.07 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 9.5, 2.5 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 6.88 (ddd, J = 9.5, 9.0, 2.5 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 8.4, 4.7 Hz, 1H), 3.68 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 3.11 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.17 (s, 3H)。

【0097】

実施例2

式2の化合物の調製

【0098】

10

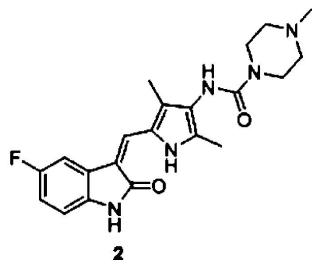
20

30

40

50

【化 1 5】



【0099】

10

調製方法を式 1 の化合物の合成と同様にし、N - BOC - ピペラジンの代わりに N - メチルピペラジンをを用いて目的化合物である式 2 の化合物を得た。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 13.56 (s, 1H), 10.78 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.68 (dd, $J = 9.5, 2.3$ Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 6.88 (ddd, $J = 9.5, 9.1, 2.3$ Hz, 1H), 6.83 (dd, $J = 8.3, 4.7$ Hz, 1H), 3.45 ~ 3.39 (m, 4H), 2.33 ~ 2.28 (m, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.16 (s, 3H)。

【0100】

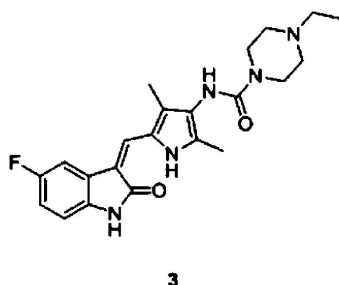
実施例 3

式 3 の化合物の調製

20

【0101】

【化 1 6】



30

【0102】

調製方法を式 1 の化合物の合成と同様にし、N - BOC - ピペラジンの代わりに N - エチルピペラジンをを用いて目的化合物である式 3 の化合物を得た。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 13.56 (s, 1H), 10.79 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.68 (dd, $J = 9.5, 2.4$ Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.88 (ddd, $J = 9.5, 9.0, 2.5$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J = 8.4, 4.7$ Hz, 1H), 3.46 ~ 3.38 (m, 4H), 2.40 ~ 2.30 (m, 6H), 2.18 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.02 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

40

【0103】

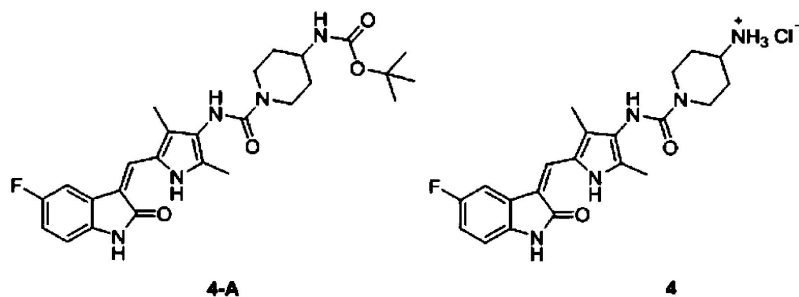
実施例 4

式 4 の化合物の調製

【0104】

50

【化17】



10

【0105】

調製方法を式1の化合物の合成と同様にし、N-BOC-ピペラジンの代わりに4-N-BOC-アミノピペリジンを用いて目的化合物である式4-Aの化合物を得、次に塩酸エタノール溶液でBOCを除去して式4の化合物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 13.56 (s, 1H), 10.81 (s, 1H), 8.16 (brs, 3H), 7.88 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 9.5, 2.3 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 6.88 (ddd, J = 9.5, 9.0, 2.3 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 1H), 4.15 ~ 4.06 (m, 2H), 3.28 ~ 3.16 (m, 1H), 2.90 ~ 2.80 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 1.95 ~ 1.86 (m, 2H), 1.53 ~ 1.40 (m, 2H)。

20

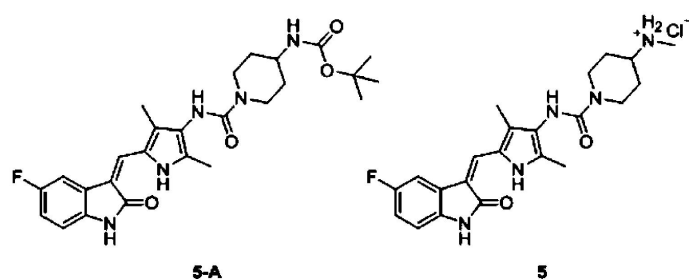
【0106】

実施例5

式5の化合物の調製

【0107】

【化18】



30

【0108】

調製方法を式1の化合物の合成と同様にし、N-BOC-ピペラジンの代わりに4-N-BOC-4-N-メチルアミノピペラジンをを用いて目的化合物である式5-Aの化合物を得、次に塩酸エタノール溶液でBOCを除去して式5の化合物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 13.57 (s, 1H), 10.80 (s, 1H), 8.87 (brs, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 9.5, 2.4 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 6.88 (ddd, J = 9.5, 9.0, 2.4 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 1H), 4.20 ~ 4.10 (m, 2H), 3.22 ~ 3.11 (m, 1H), 2.86 ~ 2.77 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.05 ~ 1.97 (m, 2H), 1.53 ~ 1.39 (m, 2H)。

40

【0109】

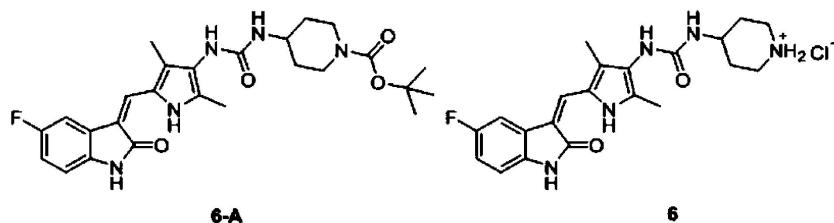
実施例6

式6の化合物の調製

【0110】

50

【化 19】



【0111】

調製方法を式1の化合物の合成と同様にし、N-BOC-ピペラジンの代わりに1-BOC-4-アミノピペリジンを用いて目的化合物である式6-Aの化合物を得、次に塩酸エタノール溶液でBOCを除去して式6の化合物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 13.56 (s, 1H), 10.80 (s, 1H), 8.78 (brs, 1H), 8.69 (brs, 1H), 7.68 (dd, J = 9.5, 2.4 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.88 (ddd, J = 9.5, 9.0, 2.4 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 8.4, 4.7 Hz, 1H), 6.49 (brs, 1H), 3.78 ~ 3.65 (m, 1H), 3.28 ~ 3.18 (m, 2H), 3.02 ~ 2.90 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.00 ~ 1.84 (m, 2H), 1.69 ~ 1.51 (m, 2H)。

10

20

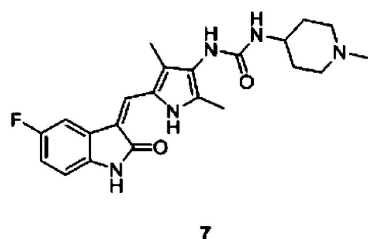
【0112】

実施例7

式7の化合物の調製

【0113】

【化20】



30

【0114】

調製方法を式1の化合物の合成と同様にし、N-BOC-ピペラジンの代わりに1-アミノ-4-メチルピペラジンをを用いて目的化合物である式7の化合物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 13.55 (s, 1H), 10.79 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 9.5, 2.4 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.87 (ddd, J = 9.4, 9.0, 2.5 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 8.4, 4.7 Hz, 1H), 5.96 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 3.45 ~ 3.36 (m, 1H), 2.65 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.94 (t, J = 10.6 Hz, 2H), 1.76 ~ 1.69 (m, 2H), 1.45 ~ 1.32 (m, 2H)。

40

【0115】

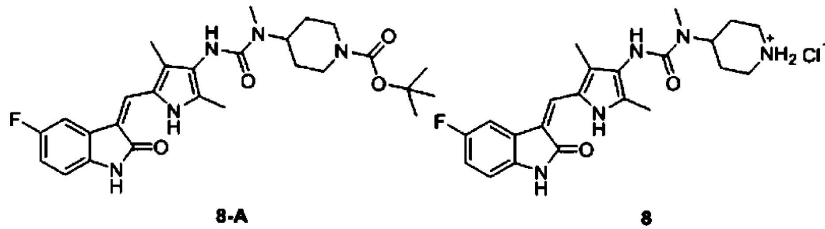
実施例8

式8の化合物の調製

【0116】

50

【化 2 1】



【0117】

調製方法を式1の化合物の合成と同様にし、N-BOC-ピペラジンの代わりに1-Boc-4-(メチルアミノ)ピペリジンを用いて目的化合物である式8-Aの化合物を得、次に塩酸エタノール溶液でBOCを除去して式8の化合物を得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 13.56 (s, 1H), 10.80 (s, 1H), 8.83 (brs, 2H), 7.70~7.63 (m, 3H), 6.88 (td, J = 9.5, 9.0, 2.4 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 1H), 4.37~4.22 (m, 1H), 3.32~3.28 (m, 2H), 3.02~2.90 (t, J = 12.6 Hz, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.04~1.88 (m, 2H), 1.76~1.66 (m, 2H)。

【0118】

実施例9

式2の化合物の塩酸塩の調製

【0119】

飽和エタノール塩化水素溶液0.5 mLを取り、無水エタノールで10倍希釈した後に、式2の化合物(397 mg, 1 mmol)を添加し、5~10分間攪拌した。次に、反応液を減圧濃縮し、少量のメタノールで洗浄し、式2の化合物の塩酸塩を得た。

【0120】

ほかのすべての化合物の塩酸塩は、この方法で対応する化合物を希塩酸エタノール溶液と反応させて調製できる。

【0121】

実施例10

チロシンキナーゼの*in vitro*生化学的活性試験

【0122】

HTRF (homogeneous time-resolved fluorescence) 方法により、チロシンキナーゼに対する化合物の*in vitro*阻害活性を測定した。

【0123】

DMSOで化合物を96ウェルプレートで100倍の最終濃度に段階的に希釈し、8個の異なる濃度を有する溶液とした。次に、キットで提供される1×Enzyme TIC bufferに5 mMのMgCl₂及び1 mMのDTTを添加して配合した緩衝液を、96ウェルプレートで5倍の最終濃度の溶液に希釈した。

【0124】

希釈後の化合物をそれぞれ384ウェルプレートに加え、各濃度ごとにダブルウェル試験を設置した。次に、各ウェルに0.25 ngのキナーゼを添加した。また、最終濃度が1%である同量の5% DMSOを添加したウェルを対照群とし、且つネガティブウェルにキナーゼが含まれないように、ネガティブウェルとポジティブウェルを設置した。室温で10 minプレインキュベートした。最終濃度がそれぞれ1 μMである基質及び120 μMであるATPを添加し、室温で90 minインキュベートした。次に最終濃度がそれぞれ0.0625 μMである蛍光アクセプター(XL665標識ストレプトアビジン)及び1

10

20

30

40

50

×蛍光ドナー（Europium cryptate 標識TK抗体）を添加し、室温で60 min インキュベートした。マイクロプレートリーダーを用いて $ex = 330 \text{ nm}$ 、 $em = 620 \text{ nm}$ 及び $em = 665 \text{ nm}$ の条件下でプレートを読み取った。665 nm の読み取り値と620 nm の読み取り値との比を計算し、この計算値から阻害率を計算した。

【0125】

結果として、上記の実施例の化合物（式1-8の化合物）はすべてFLT3 に対して顕著な阻害活性を有し、 $IC_{50} < 20 \text{ nM}$ であった。KDR（VEGFR2）に対して一定の阻害活性を有したが、比較的弱く（ $IC_{50} > 200 \text{ nM}$ ）、選択的FLT3 阻害活性を示した。式5の化合物はFLT3、FLT3-ITD、FLT3D835Yのすべてに 10
 に対して強い阻害活性を示し、PDGFR、c-Kit、RET、KDR、AXL等に対しても一定の阻害活性を示したが、 $IC_{50} > 100 \text{ nM}$ であり、選択的FLT3 阻害剤であった。

【0126】

【表2】

様々なチロシンキナーゼに対する式5の化合物の阻害活性

チロシンキナーゼ	IC_{50} (nM)
FLT3	8.8
FLT3-ITD	<1.5
FLT3 D835Y	17.3
PDGFR β	189.7
KDR	891.3
c-Kit	286.4
AXL	4897.8
RET	109.9
FGRF1	2338.8
AXL	284.5

【0127】

実施例11

ヒト急性白血病細胞MV-4-11はFlt-3変異細胞株である。MTS方法によりMV-4-11（ATCC由来）に対する化合物の*in vitro* 抗増殖活性を測定した。対数増殖期の細胞をトリプシン処理し、カウントし、適量の細胞を取り、培地に最懸濁し、96ウェルプレートにウェルあたり150 μL を加え、夜通し培養した。各ウェルに50 μL の4倍勾配で希釈された被験化合物又は対象培地を加え、72 h 培養した。培地を吸引し、各ウェルに120 μL のMTS検出液（100 μL の新鮮な培地及び20 μL のMTS溶液）を加え、37 °C でインキュベートし、OD490値を読み取った。Graphpad Prism5ソフトウェアによりデータを分析して処理し、 IC_{50} を求めた。 40

【0128】

結果として、上記の実施例の化合物1-8はすべてMV-4-11に対して顕著な抗増殖活性を示し、一部の化合物はスニチニブと同等以上の活性を有していた（表2を参照）。

【0129】

10

20

30

40

50

【表 3】

ヒトMV-4-11細胞株の *in vitro* 増殖に対する式1-8化合物の阻害効果

化合物	IC ₅₀ (nM)
1	59.3
2	178.1
3	138.0
4	62.2
5	66.0
6	103.0
7	82.2
8	82.3
スニチニブ	74.3

10

【0130】

実施例12

MV-4-11ヌードマウス皮下移植腫瘍に対する *in vivo* 阻害効果

【0131】

MV-4-11細胞 (FLT3-ITD変異ヒト急性二表現型骨髄性白血病細胞株、ATCC) を *in vitro* で培養して増殖させ、対数増殖期の細胞を収集し、無血清EMEM培地に最懸濁し、細胞懸濁液を雄Balb/cヌードマウスの右前肢の脇腹に皮下注射した。動物及び移植腫瘍の成長状況を定期的に観察した。腫瘍体積が約100~300 mm³に成長したら、中程度の腫瘍サイズを有する動物を選択してランダムに6匹ずつ群分けした。それぞれブランク溶媒 (0.5% CMC) 又は上記の実施例の式5の化合物 (この化合物が塩酸塩であり、投与量がそれぞれ2.5 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、80 mg/kg、160 mg/kgである。) 、実施例の式1の化合物 (塩酸塩、投与量が5 mg/kg、160 mg/kgである) 又はスニチニブ (投与量がそれぞれ10 mg/kg、80 mg/kgである) の懸濁液を1日1回で3週間連続で胃内投与した。投与期間中、腫瘍径、動物の体重をモニタリングし、動物の生活状態を観察した。投与3週間後に実験を終了し、CO₂で動物を殺して解剖した。

20

30

【0132】

腫瘍体積 (tumor volume、TV) の計算公式は以下のとおりである。

$$TV = 1/2 \times a \times b^2$$

(式中、aは腫瘍の長径を表し、bは腫瘍の短径を表す。)

【0133】

結果として、胃内投与21日間後 (接種後36日目) に、溶媒対照群の腫瘍が初期体積の約6.6倍に増加し、式5の化合物は顕著な抗がん性効果を示し、2.5 mg/kgで顕著な移植腫瘍成長阻害効果を示し、5 mg/kg以上の投与量では移植腫瘍の退縮が見られ、10 mg/kgの投与量では明らかに同じ投与量のスニチニブよりも高い抗がん性作用を示し、80 mg/kgのスニチニブと同等であり、また、160 mg/kgの投与量でも動物に明らかな毒性を示さなかった (一般の臨床症状及び解剖に異常なし、体重がわずかに減少。)。式1の化合物は2つの投与量ではいずれもヌードマウス移植腫瘍がほぼ完全に退縮し、動物の体重にも顕著な変化がなかった。一方、スニチニブは80 mg/kgの投与量では体重が顕著に減少し、顕著な毒性を示し、最大耐量に近かった。

40

【0134】

50

【表 4】

MV-4-11 ノードマウス移植腫瘍に対する化合物 5 の塩酸塩の阻害効果

	投与量 (mg/kg)	N (初期/最終)	平均腫瘍体積 (mm ³)	
			d15	d36
溶媒対照群	-	6/6	167.59±13.50	1118.58±76.62
スニチニブ	10	6/6	167.64±12.88	178.93±13.89**
	80	6/6	167.62±13.27	22.17±1.95**
式 5 の化合物	2.5	6/6	167.76±11.65	359.18±49.62**
	5	6/6	167.69±11.70	34.71±4.32**
	10	6/6	167.75±11.59	28.41±3.38**
	80	6/6	167.79±13.04	19.60±4.21**
	160	6/6	167.59±11.93	20.74±1.38**
式 1 の化合物	5	6/6	167.89±15.27	18.60±5.46**
	160	6/6	167.70±12.15	21.60±8.29**

10

【 0 1 3 5 】

MV-4-11 ノードマウス移植腫瘍の実験結果から、本発明の式 5 の化合物（塩酸塩）及び式 1 の化合物（塩酸塩）は FLT3 - ITD 変異ヒト AML 細胞（MV-4-11）ノードマウス皮下移植腫瘍に対して選択的抗がん性作用を示し、スニチニブと比較して最小有効用量が低く、毒性が低く、治療濃度域が広く、より高い開発価値を有する。

20

【 0 1 3 6 】

以上より、本発明は従来技術に存在していた様々な欠陥を克服したため、高い産業利用価値を有する。

【 0 1 3 7 】

上記の実施例は本発明の原理及びその効果を例示的に説明するためのものであり、本発明がこれらに制限されることがない。この技術を熟知している者は本発明の趣旨及び範囲から逸脱しない限り、上記の実施例を修正又は変更することができる。したがって、この分野の一般知識を有する者が本発明の趣旨及び思想を逸脱しない範囲で行ったいかなる同等の修正又は変更はすべて本発明の特許請求の範囲に含まれるものと理解されるべきである。

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 35/02 (2006.01) A 6 1 P 35/02

(56)参考文献

特表 2 0 1 7 - 5 0 5 8 0 3 (J P , A)

中国特許出願公開第 1 0 8 7 2 7 3 4 1 (C N , A)

国際公開第 2 0 0 7 / 0 8 5 2 0 5 (W O , A 1)

ZHANG, L et al. , Synthesis and in vivo SAR study of indolin-2-one-based multi-targeted inhibitors as potential anticancer agents , European Journal of Medicinal Chemistry , 2014年
 , Vol. 82 , pp. 139-151

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 D

A 6 1 K

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)