

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-538768

(P2017-538768A)

(43) 公表日 平成29年12月28日 (2017. 12. 28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 495/04 (2006.01)	C O 7 D 495/04 1 O 3	4 C O 7 1
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	4 C O 7 2
A 6 1 K 31/553 (2006.01)	A 6 1 K 31/553	4 C O 8 6
C O 7 D 519/00 (2006.01)	C O 7 D 519/00 C S P	
A 6 1 K 31/5386 (2006.01)	A 6 1 K 31/5386	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 71 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-533381 (P2017-533381)	(71) 出願人	594197872
(86) (22) 出願日	平成27年12月16日 (2015. 12. 16)		イーライ リリー アンド カンパニー
(85) 翻訳文提出日	平成29年6月20日 (2017. 6. 20)		アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/065940		8 5 インディアナポリス リリー コー
(87) 国際公開番号	W02016/106029		ポレイト センター (番地なし)
(87) 国際公開日	平成28年6月30日 (2016. 6. 30)	(74) 代理人	100092783
(31) 優先権主張番号	62/095, 185		弁理士 小林 浩
(32) 優先日	平成26年12月22日 (2014. 12. 22)	(74) 代理人	100095360
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 片山 英二
		(74) 代理人	100120134
			弁理士 大森 規雄
		(74) 代理人	100176094
			弁理士 箱田 満
		(74) 代理人	100104282
			弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 E R K阻害剤としてのチエノ [2, 3-C] ピロール-4-オン誘導体

(57) 【要約】

本発明は、細胞外シグナル調節キナーゼ (E R K) の活性を阻害し、癌の治療に有用であり得るチエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン化合物を提供する。

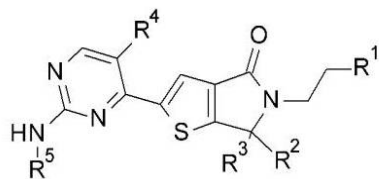
【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式の化合物：

【化 1】

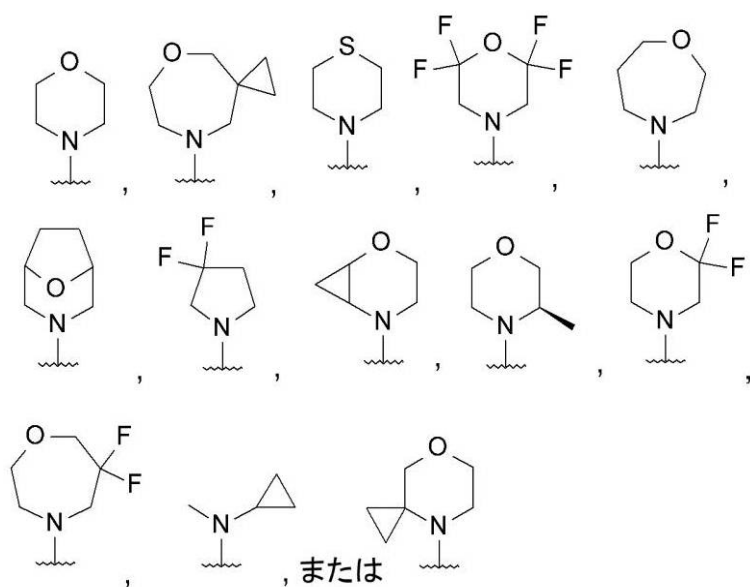


10

(式中、

R¹ は、

【化 2】



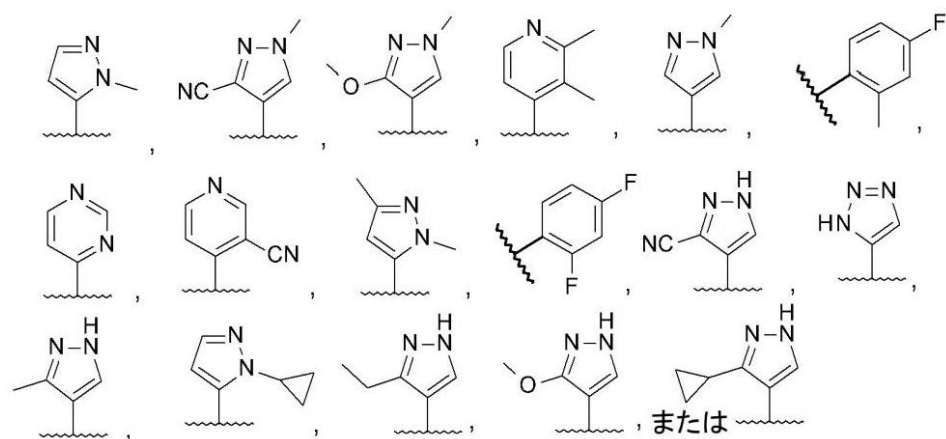
20

30

であり、

R² および R³ はメチルであるか、または R² および R³ は一緒になってシクロプロピルを形成してもよく、R⁴ は、水素、メチル、クロロ、フルオロまたはトリフルオロメチルであり、R⁵ は、

【化 3】



40

50

である)

またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 2】

R^2 および R^3 は独立してメチルである、請求項 1 に記載の化合物または塩。

【請求項 3】

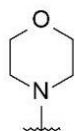
R^4 は水素である、請求項 2 に記載の化合物または塩。

【請求項 4】

R^1 は、

【化 4】

10



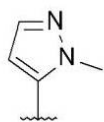
である、請求項 3 に記載の化合物または塩。

【請求項 5】

R^5 は、

【化 5】

20



である、請求項 3 に記載の化合物または塩。

【請求項 6】

6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンである、請求項 4 に記載の化合物または塩。

30

【請求項 7】

6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンである、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩と、薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 9】

40

有効量の請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩を、それを必要とする患者に投与することを含む、癌を治療する方法。

【請求項 10】

前記癌は、黒色腫、大腸癌、膀胱癌、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記癌は、大腸癌である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記癌は、膀胱癌である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

50

前記癌は、非小細胞肺癌である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 14】

療法に使用するための請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩。

【請求項 15】

癌の治療に使用するための請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩。

【請求項 16】

前記癌は、黒色腫、大腸癌、膵癌、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項 15 に記載の使用のための化合物または塩。

【請求項 17】

前記癌は、大腸癌である、請求項 16 に記載の使用のための化合物または塩。

10

【請求項 18】

前記癌は、膵癌である、請求項 16 に記載の使用のための化合物または塩。

【請求項 19】

前記癌は、非小細胞肺癌である、請求項 16 に記載の使用のための化合物または塩。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）の活性を阻害し、癌を治療するのに有用であり得るチエノ〔2，3-c〕ピロール-4-オン化合物またはその薬学的に許容可能な塩、およびその化合物を含む医薬組成物に関する。

20

【背景技術】

【0002】

ERK/MAPK経路は細胞増殖に重要であり、多くの腫瘍において活性化されることが頻繁に観察される。ERK/1/2の上流であるRAS遺伝子は、大腸癌、黒色腫、非小細胞肺癌ならびに乳房および膵臓腫瘍を含むいくつかの癌において変異される。高いRAS活性は多くのヒト腫瘍において上昇したERK活性を伴う。研究によりまた、ERKはRASシグナル伝達の重要な構成要素であることが示されている。これらの観察により、広範囲のヒト腫瘍における抗癌治療の開発に関してERK1/2シグナル伝達経路が魅力的であることが支持される。

30

【0003】

ERK阻害剤は当該分野において公知であり、例えば特許文献1を参照のこと。さらに、他のアミノピリミジン化合物が当該分野において公知であり、例えば特許文献2を参照のこと。より特には癌を治療するための代替のERK阻害剤を提供する必要性が存在したままである。したがって、本発明は、癌を治療するのに有用であり得るERK1/2阻害剤を提供する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2013130976号

40

【特許文献2】国際公開第2010/022121号

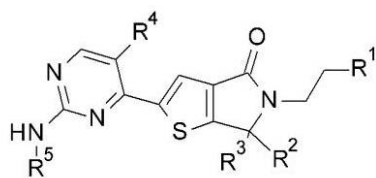
【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、以下の式の化合物：

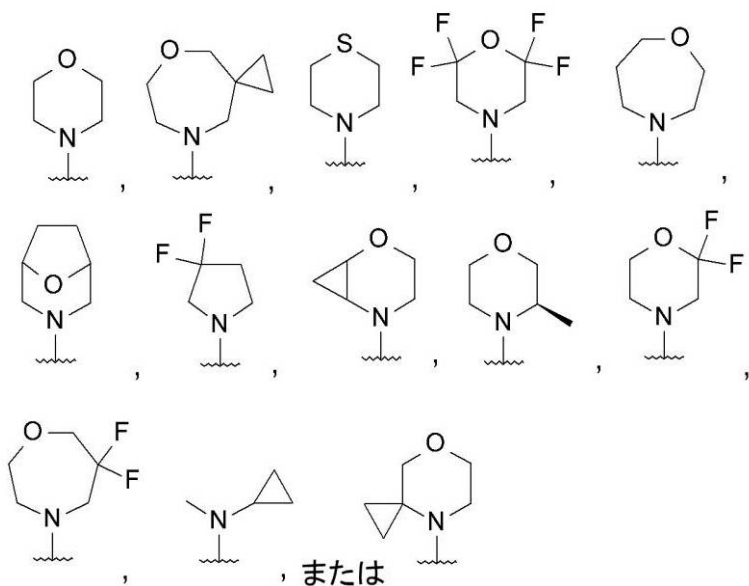
【化 1】



式 I

(式中、
R¹ は、

【化 2】



10

20

30

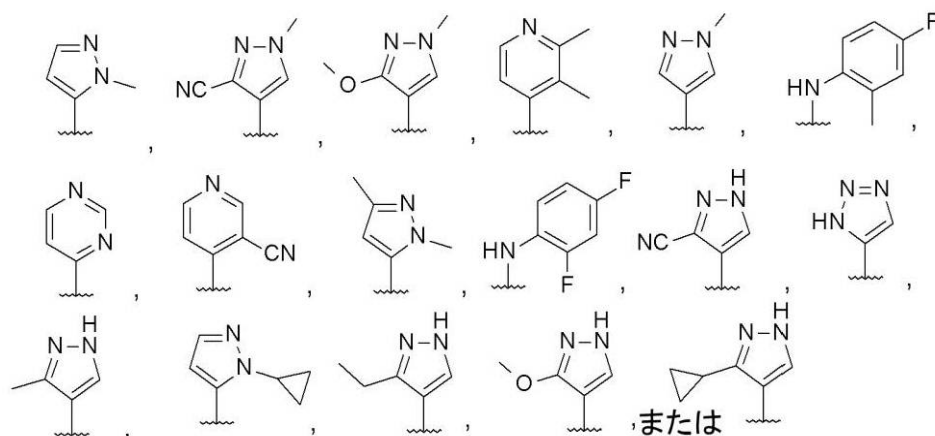
であり、

R² および R³ は独立してメチルであるか、または R² および R³ は一緒になってシクロプロピルを形成してもよく、

R⁴ は、水素、メチル、クロロ、フルオロ、またはトリフルオロメチルであり、

R⁵ は、

【化 3】



40

50

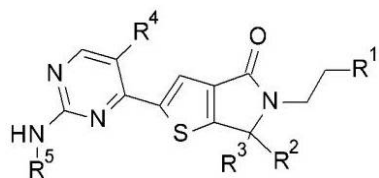
である)

またはその薬学的に許容可能な塩である。

【0006】

本発明はまた、以下の式の化合物：

【化4】



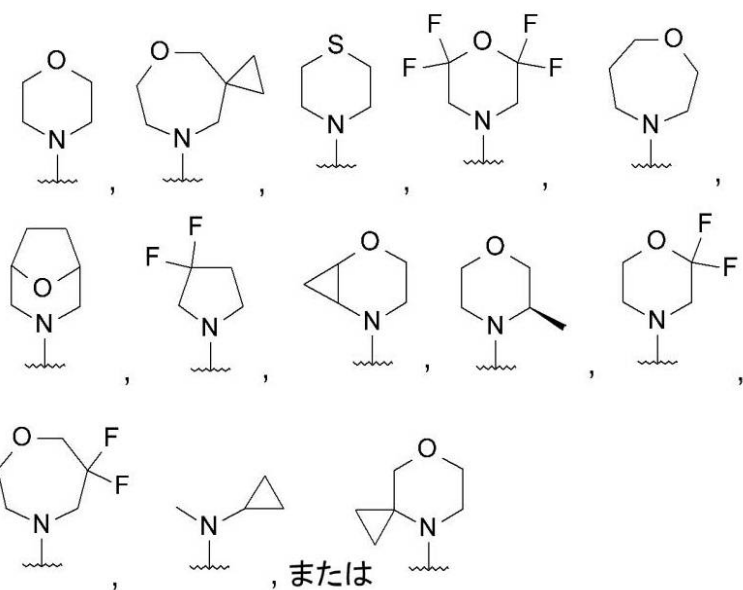
式 I

10

(式中、

R¹ は、

【化5】



20

30

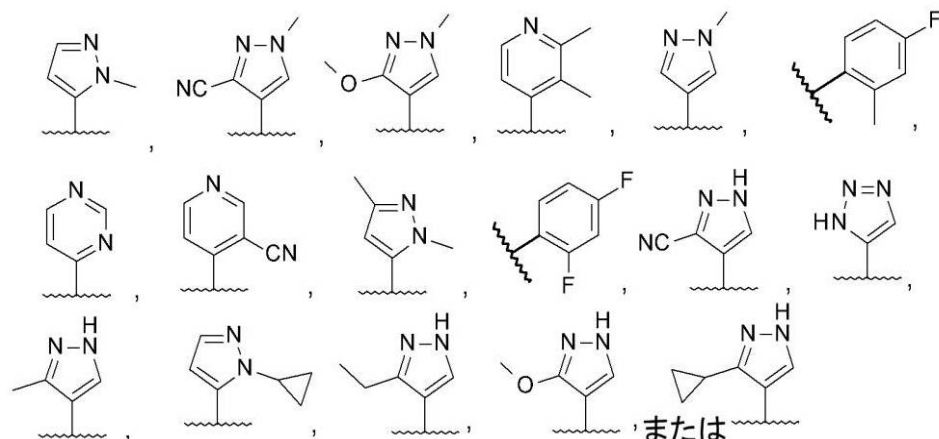
であり、

R² および R³ は独立してメチルであるか、または R² および R³ は一緒になってシクロプロピルを形成してもよく、

R⁴ は、水素、メチル、クロロ、フルオロ、またはトリフルオロメチルであり、

R⁵ は、

【化 6】



10

である)

またはその薬学的に許容可能な塩を提供する。

【0007】

本発明はまた、 R^2 および R^3 がメチルである式 I の化合物についての実施形態を提供する。

【0008】

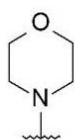
本発明はまた、 R^4 が水素である式 I の化合物についての別の実施形態を提供する。

20

【0009】

本発明はまた、 R^1 が

【化 7】



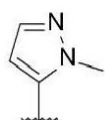
である式 I の化合物についてのさらに別の実施形態を提供する。

30

【0010】

本発明はまた、 R^5 が

【化 8】



である式 I の化合物についてのなおさらなる実施形態を提供する。

40

【0011】

好ましくは、本発明は、6,6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(モルホリン-4-イル) エチル〕-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ〔2,3-c〕ピロール-4-オンである化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を提供する。

【0012】

特定の実施形態として、本発明は、6,6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(モルホリン-4-イル) エチル〕-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ〔2,3-c〕ピロール-4-オンである化合物を提供する。

【0013】

50

本発明は、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、またはその薬学的に許容可能な塩、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本発明は、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【0014】

本発明は、有効量の6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、またはその薬学的に許容可能な塩を、それを必要とする患者に投与することを含む、癌を治療する方法を提供する。本発明は、有効量の6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンを、それを必要とする患者に投与することを含む、癌を治療する方法を提供する。

【0015】

本発明は、療法に使用するための、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、またはその薬学的に許容可能な塩を提供する。本発明は、癌の治療に使用するための、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、またはその薬学的に許容可能な塩を含む、癌を治療するのに使用するための医薬組成物を提供する。

【0016】

本発明はまた、療法に使用するための、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンを提供する。本発明は、癌の治療に使用するための6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンを提供する。本発明は、医薬組成物が6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンを含む、癌を治療するのに使用するための医薬組成物を提供する。

【0017】

本発明は、癌の治療のための医薬の製造における、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、またはその薬学的に許容可能な塩の使用を提供する。本発明はまた、癌の治療のための医薬の製造における6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-

ーオンの使用も提供する。

【0018】

本発明は、結晶形態の6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンを提供する。本発明はまた、 $2\theta \pm 0.2^\circ$ において、 15.5° 、 17.1° 、 18.0° 、 20.2° 、 21.5° および 22.1° からなる群から選択されるピークの1つ以上と組み合わせて 19.3° で生じる特性ピークを有するX線粉末回折パターンにより特徴付けられる結晶形態の6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンを提供する。

10

【0019】

さらに、本発明は、癌が、黒色腫、大腸癌、膵癌、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、本明細書に記載される方法および使用の好ましい実施形態を提供する。好ましい癌は、大腸癌、膵癌、および非小細胞肺癌である。

【0020】

本発明はまた、癌の治療における1種以上の化学療法剤と組み合わせた同時、別々または連続的に投与に使用するための、6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル} -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン、またはその薬学的に許容可能な塩を提供する。このような組み合わせのための好ましい化学療法剤は、pan-RAF阻害化合物、より特には1- (3, 3-ジメチルブチル) -3- (2-フルオロ-4-メチル-5- (7-メチル-2- (メチルアミノ) ピリド [2, 3-d] ピリミジン-6-イル) フェニル) 尿素)、CDK4/6阻害化合物、より特にはパルボシクリブ、リボシクリブ、または[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-3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル) -ピリミジン-2-イル] -アミン、もしくはそれらの薬学的に許容可能な塩、または抗VEGFR2抗体、より特にはラムシルマブである。このような組み合わせのためのさらなる好ましい化学療法剤は、TGF-β受容体キナーゼ阻害化合物、より特にはガルニセルチブ (国際公開第2004/048382を参照のこと)、ALK-5キナーゼ阻害剤、より特にはEW-7197、MEK阻害化合物、より特にはコビメチニブもしくはトラメチニブ、またはNोटch阻害化合物、より特には4, 4, 4-トリフルオロ-N- [(1S) -2- [(7S) -5- (2-ヒドロキシエチル) -6-オキソ-7H-ピリド [2, 3-d] [3] ベンザゼピン-7-イル] アミノ] -1-メチル-2-オキソ-エチル] ブタンアミド (国際公開第2013/016081を参照のこと) である。このような組み合わせのためのさらなる追加の好ましい化学療法剤はPD-L1 (プログラム死-リガンド1) 阻害剤またはPD-1 (プログラム死1) 阻害剤である。

20

30

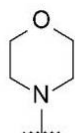
【0021】

本発明は好ましくは、以下の置換基を有する式Iの化合物を含む：

40

a) R1は

【化9】



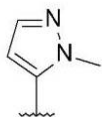
であり、

b) R2はメチルであり、

50

- c) R³ はメチルであり、
 d) R⁴ は水素であり、または
 e) R⁵ は

【化 1 0】



10

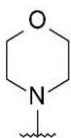
である。

【0 0 2 2】

より好ましくは、本発明は、以下の置換基の組み合わせを有する式 I の化合物を含む：

- a) R² および R³ はメチルであり、
 b) R² はメチルであり、R³ はメチルであり、R⁴ は水素であり、
 c) R¹ は

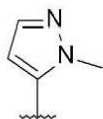
【化 1 1】



20

であり、R⁵ は

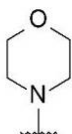
【化 1 2】



であり、

- d) R² はメチルであり、R³ はメチルであり、R⁴ は水素であり、R¹ は

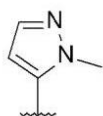
【化 1 3】



であり、

- e) R² はメチルであり、R³ はメチルであり、R⁴ は水素であり、R⁵ は

【化 1 4】

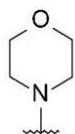


であり、または

- f) R² はメチルであり、R³ はメチルであり、R⁴ は水素であり、R¹ は

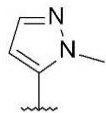
40

【化 1 5】



であり、R⁵は

【化 1 6】



10

である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

上記および本発明の記述全体にわたって使用される場合、以下の用語は、別段の指示がない限り、以下の意味を有すると理解されるものとする。

【0024】

20

「薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤」は、哺乳動物、例えば、ヒトへの生物学的活性剤の送達のために当該技術分野において一般的に認められた媒体である。

【0025】

「薬学的に許容可能な塩」または「1つの薬学的に許容可能な塩」とは、比較的非毒性の、本発明の化合物の無機および有機の塩を指す。

【0026】

「有効量」は、研究者、獣医師、医師または他の臨床医によって求められている組織、器官、動物、哺乳動物またはヒトへの生物学的もしくは医学的反応または所望の治療効果を誘発するであろう、本発明の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩、あるいは本発明の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩を含有する医薬組成物の量を意味する。

30

【0027】

「治療」、「治療する」、「治療すること」および同類の用語は、障害の進行を遅らせるまたは逆転させることを含むことが意図される。これらの用語は、たとえ障害または状態が実際に解消されないおよび障害または状態の進行自体が遅くならないもしくは逆転しないとしても、障害または状態の1種または複数の症状を軽減する、改善する、弱める、解消する、または減少することも含む。

【0028】

本発明の化合物は塩を形成できることは当業者により理解されるであろう。本発明の化合物は塩基性複素環を含有し、したがって複数の無機および有機酸のいずれかと反応して薬学的に許容可能な酸付加塩を形成する。このような薬学的に許容可能な酸付加塩およびそれらを調製するための一般的な方法は当該分野において周知である。例えば、P. Stahlら、HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE、(VCH/Wiley-VCH、2008)；S. M. Bergerら、「Pharmaceutical Salts」、Journal of Pharmaceutical Sciences、Vol 66、No. 1、1977年1月を参照のこと。

40

【0029】

本発明の化合物は、好ましくは、様々な経路によって投与される医薬組成物として製剤化される。好ましくは、このような組成物は経口投与用である。このような医薬組成物およびそれらを調製するための方法は、当該分野において周知である。例えば、REMIN

50

GTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaroら、第21版、MacK Publishing Co.、2005)を参照のこと。

【0030】

本発明の化合物は概して広範な投薬範囲にわたって効果的である。例えば、1日当たりの投薬量は、通常、1日に約1～2000mgの範囲内である。好ましくは、このような用量は、1日に50～1000mgの範囲内である。より好ましくは、このような用量は1日に125～400mgの範囲内である。一部の場合、上述の範囲の下限值未満の投薬レベルが十分以上であってもよく、一方、他の場合、さらに多くの用量が利用されてもよく、したがって上記の投薬範囲は本発明の範囲を限定することを決して意図していない。実際に投与される化合物の量は、治療される状態、選択される投与経路、投与される実際の1つまたは複数の化合物、個々の患者の年齢、体重および反応、ならびに患者の症状の重症度を含む、関連状況を考慮して、医師により決定されることは理解されるであろう。

10

【0031】

当業者は、本発明の特定の化合物が少なくとも1つのキラル中心を含有することを理解するであろう。本発明は、全ての個々のエナンチオマーまたはジアステレオマー、ならびにラセミ体を含む前記化合物のエナンチオマーとジアステレオマーの混合物を意図する。少なくとも1つのキラル中心を含有する本発明の化合物は単一のエナンチオマーまたはジアステレオマーとして存在することが好ましい。単一のエナンチオマーまたはジアステレオマーは、キラル試薬で開始して、または立体選択的もしくは立体特異的合成技術によって調製され得る。あるいは、単一のエナンチオマーまたはジアステレオマーは、標準的なキラルクロマトグラフまたは結晶化技術によって混合物から単離されてもよい。

20

【0032】

化合物名において「異性体1」の指定は、本発明の対応する中間体または化合物が、エナンチオマーの対の混合物がキラルクロマトグラフィーにより分離される場合、2つの溶出しているエナンチオマーのうちの1番目であることを表す。化合物名において「異性体2」の指定は、本発明の対応する中間体または化合物が、エナンチオマーの対の混合物がキラルクロマトグラフィーにより分離される場合、2つの溶出しているエナンチオマーのうちの2番目であることを表す。

【0033】

本発明の化合物は、当該分野において周知で理解されている合成法に従って調製され得る。これらの反応の工程についての適切な反応条件は当該分野において周知であり、溶媒および共試薬の適切な置換は当業者の範囲内である。同様に、合成中間体は、必要または所望の場合、様々な周知の技術によって単離および／または精製され得ること、ならびに高い頻度で、ほとんどまたは全く精製せずに後の合成工程において様々な中間体を直接使用できることは当業者により理解されるであろう。さらに、当業者は、一部の状況において、部分が導入される順序は重要ではないことを理解するであろう。本発明の化合物を生成するのに必要とされる工程の特定の順序は、熟練の化学者によって十分に理解されるように、合成される特定の化合物、出発化合物、および置換部分の相対的傾向に依存する。他に示されない限り、全ての置換基は以前に定義されている通りであり、全ての試薬は当該分野において周知であり、理解されている。

30

40

【0034】

本明細書で使用される場合、以下の用語は示した意味を有する：「ACN」はアセトニトリルを指し；「DCM」はジクロロメタンを指し；「DMF」はN，N-ジメチルホルムアミドを指し；「DMSO」はジメチルスルホキシドを指し；「DTT」はジチオスレイトールを指し；「EDTA」はエチレンジアミン四酢酸を指し；「EGTA」はエチレンジグリコール四酢酸を指し；「ELISA」は酵素結合免疫吸着測定法を指し；「EtOAc」は酢酸エチルを指し；「EtOH」はエタノールを指し；「FBS」はウシ胎仔血清を指し；「HBSS」はハンクス平衡塩溶液を指し；「IC₅₀」は半数阻害濃度を指し；「IVTI」はインビボ標的阻害を指し；「MS」は質量分析を指し；「MeOH」

50

【 0 0 3 5 】

【 0 0 3 6 】

【 0 0 3 7 】

【化 1 7】



10

20

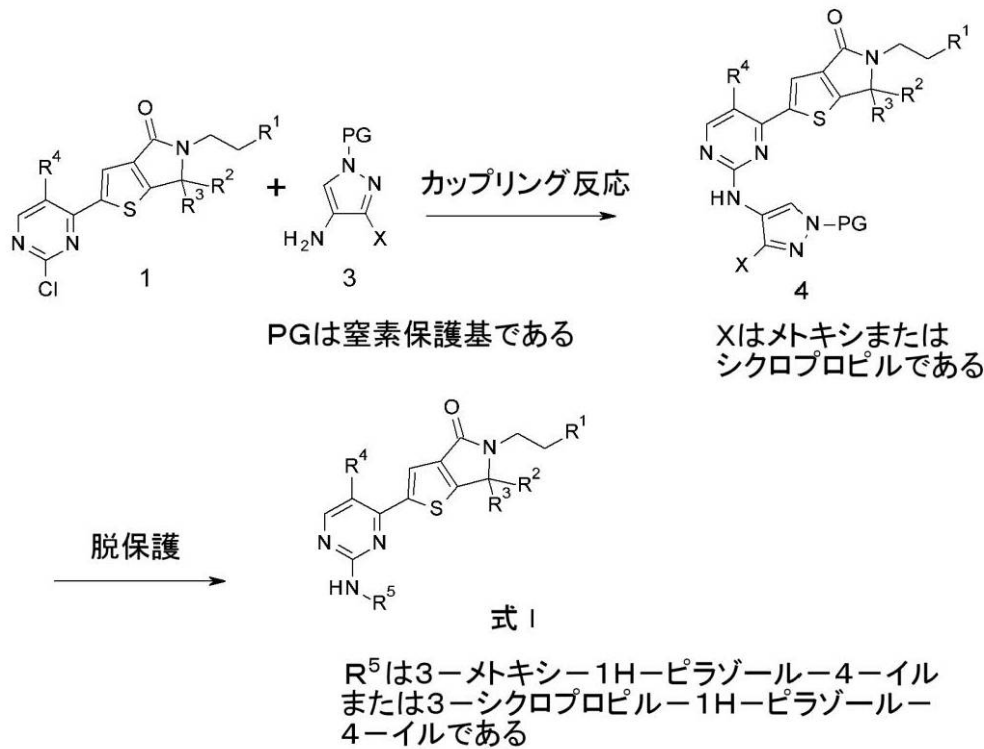
【 0 0 3 8 】

スキーム 1 は式 I の化合物の一般的合成を例示する。化合物 1 は周知の芳香族置換またはカップリング反応条件下で適切に置換された化合物 2 と反応して、式 I の化合物が得られる。より具体的には、化合物 1 は、水素化ナトリウム、イソプロピルマグネシウムクロリド、炭酸セシウム、炭酸カリウムまたは *tert*-ブトキシドなどの適切な塩基の存在下で高温で化合物 2 と反応する。任意に、1, 4-ジオキサンまたは *tert*-ブチルアルコールなどの適切な溶媒中への、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または 2-（*tert*-ブチルホスフィノ）-2', 4', 6'-トリイソプロピル-3, 6-ジメトキシ-1, 1'-ビフェニルなどの適切なリガンド剤、および酢酸パラジウム（II）、トリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウム（0）またはクロロ〔2-（*tert*-ブチルホスフィノ）-2', 4', 6'-トリイソプロピル-1, 1'-ビフェニル〕〔2-（2-アミノエチル）フェニル〕パラジウム（II）などの適切な触媒の導入もまた、式 I の化合物を得ることができる。

30

【 0 0 3 9 】

【化 1 8】



10

20

【0040】

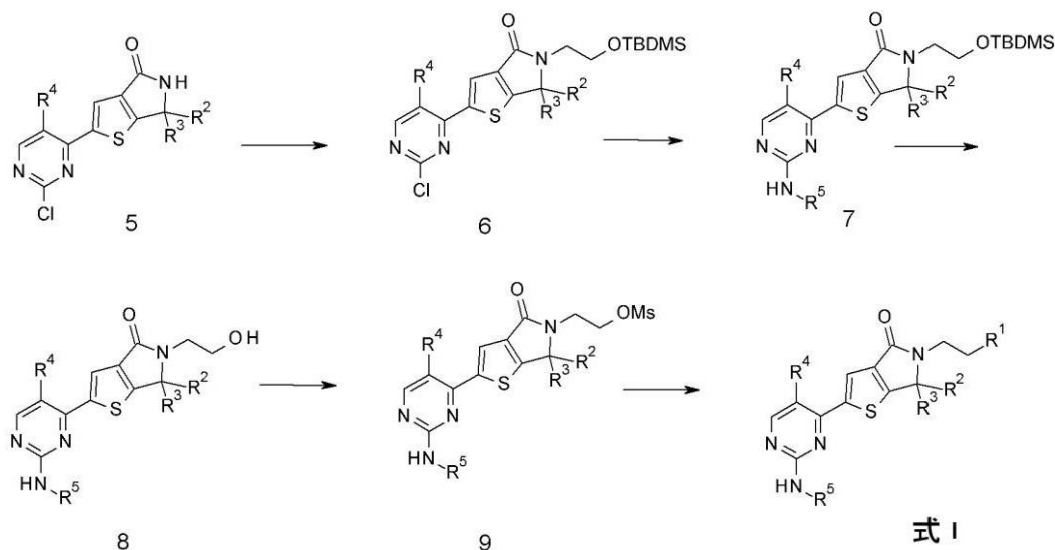
スキーム 2 : R⁵ が 3-メトキシ-1H-ピラゾール-4-イルまたは 3-シクロプロピル-1H-ピラゾール-4-イルである場合の式 I の化合物の合成

スキーム 2 は、R⁵ が 3-メトキシ-1H-ピラゾール-4-イルまたは 3-シクロプロピル-1H-ピラゾール-4-イルである場合の式 I の化合物の合成を例示する。以前に記載されている周知のカップリング反応条件下で、化合物 1 を、tert-ブチルオキシカルボニルなどの適切な窒素保護基を有する適切に置換されたピラゾールアミンである、化合物 3 と反応させて化合物 4 を得る。1, 4-ジオキサンまたは MeOH などの適切な溶媒中で、化合物 4 を、塩化水素またはトリフルオロ酢酸などの適切な窒素脱保護剤とさらに反応させて、R⁵ が 3-メトキシ-1H-ピラゾール-4-イルまたは 3-シクロプロピル-1H-ピラゾール-4-イルである式 I の化合物を得る。

30

【0041】

【化 19】



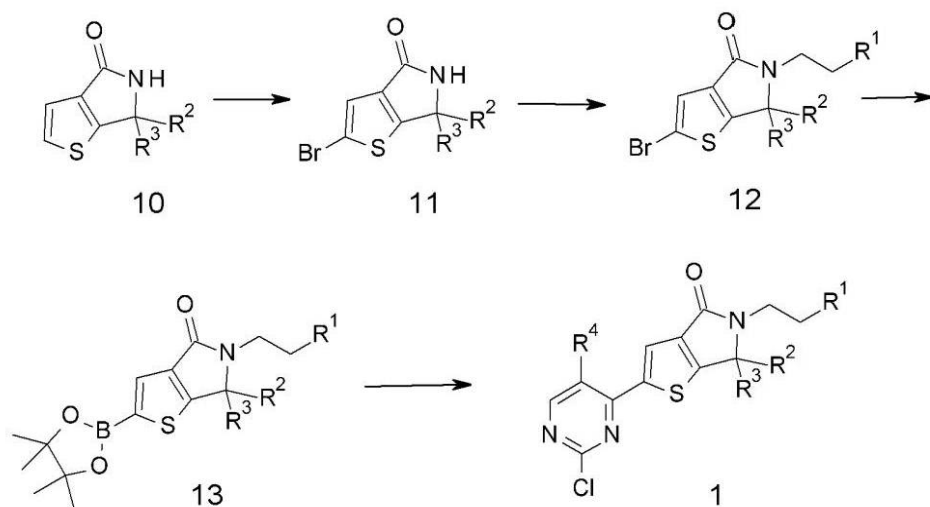
【0042】

スキーム 3：式 I の化合物の代替合成

スキーム 3 は、式 I の化合物の代替合成を例示する。DMF などの適切な溶媒中の水素化ナトリウムなどの適切な塩基の存在下で、化合物 5 を (2-ブロモエトキシ)-tert-ブチルジメチルシランと反応させて化合物 6 を得る。次いで以前に記載されている周知のカップリング反応条件下で、化合物 6 を適切に置換された化合物 2 (R^5-NH_2) と反応させて化合物 7 を得る。化合物 7 を THF と水の混合物などの適切な溶媒中の酢酸などの適切な脱保護剤と反応させて化合物 8 を得る。トリエチルアミンなどの適切な塩基の存在下で、化合物 8 を DMF などの適切な溶媒中のメタンスルホニルクロリドとさらに反応させて化合物 9 を得る。化合物 9 を ACN などの適切な溶媒中の適切なアミンと反応させて式 I の化合物を得る。

【0043】

【化 20】



【0044】

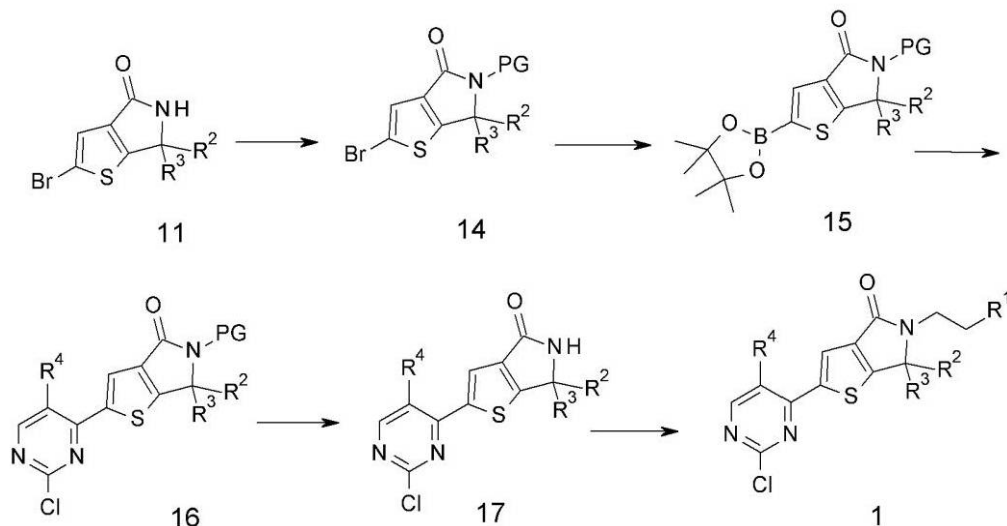
スキーム 4：化合物 I の合成

スキーム 4 は化合物 I を合成するための方法を例示する。化合物 10 を ACN などの適切な溶媒中の N-ブロモスクシンイミドなどの適切な臭素化剤と反応させて化合物 11 を

得る。化合物 11 を水素化ナトリウムまたは水酸化ナトリウムなどの適切な塩基、および 4-(2-クロロエチル)モルホリンなどの適切な N-アルキル化剤と反応させて化合物 12 を得る。高温下で、化合物 12 を、1,4-ジオキサンなどの適切な溶媒中のビス(ピナコラト)ジボロン、酢酸カリウムなどの適切な塩基、および(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)クロリドなどの適切な触媒と反応させて化合物 13 を得る。高温下で、化合物 13 を、1,4-ジオキサンと水の混合物などの適切な溶媒中の 2,4-ジクロロ-5-メチルピリミジンなどの適切に置換されたピリミジン化合物、炭酸カリウムなどの適切な塩基、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムなどの適切な触媒と反応させて化合物 1 を得る。

【0045】

【化 21】



【0046】

スキーム 5：化合物 1 の代替合成

スキーム 5 は化合物 1 を合成するための代替方法を例示する。N,N-ジイソプロピルエチルアミンなどの適切な塩基の存在下で、化合物 11 を ACN などの適切な溶媒中のジ-tert-ブチルジカーボネートなどの適切な窒素保護剤と反応させて化合物 14 を得る。以前に記載されている周知のカップリング反応条件下で、化合物 14 をビス(ピナコラト)ジボロンと反応させて化合物 15 を得る。以前に記載されている周知のカップリング反応条件下で、化合物 15 を適切に置換されたピリミジン化合物と反応させて化合物 16 を得る。化合物 16 を DCM または 1,4-ジオキサンなどの適切な溶媒中のトリフルオロ酢酸または塩化水素などの適切な脱保護剤で脱保護させて化合物 17 を得る。水素化ナトリウムなどの適切な塩基の存在下で、化合物 17 を N-メチルピロリドンなどの適切な溶媒中の 4-(2-ブロモエチル)モルホリンなどの適切なアルキル化剤と反応させて化合物 1 を得る。

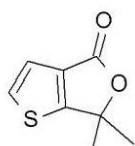
【実施例】

【0047】

調製例 1

6,6-ジメチルチエノ[2,3-c]フラン-4-オン

【化 22】



10

20

30

40

50

20 Lの3つ口フラスコ中で、THF（9750 mL）中の3-チオフェンカルボン酸（250 g、1.95 mol）の溶液を-70℃に冷却する。この溶液に、温度を-55℃未満に維持しながら、n-ブチルリチウム（ヘキサン中に2.5 M、1872 mL、4.68 mol）をゆっくり加える。反応混合物を-70℃にて1時間攪拌する。アセトン（187 mL、2.55 mol）を-70℃にてゆっくり加える。反応混合物を0℃に加熱し、0℃で3時間攪拌する。得られた溶液に、4 MのHCl（1500 mL）を0℃にて加え、反応混合物を室温に加熱する。得られた混合物を一晩攪拌する。反応混合物を珪藻土パッドで濾過し、パッドをトルエン（3×500 mL）で洗浄する。減圧下で濾液を濃縮する。得られた粗残渣をトルエン（3750 mL）および水（250 mL）に溶解し、p-トルエンスルホン酸（100.1 g、0.526 mol）を室温にて加える。反応混合物を100℃にて16時間還流する。反応物を室温に冷却し、50℃にて減圧下で濃縮する。得られた残渣を水に溶解し、EtOAc（2×10 L）で抽出する。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄する。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、50℃にて減圧下で濾液を濃縮して、茶色の粘性のある液体として標題化合物200 g（61%）を得る。MS（m/z）：169（M+1）。

10

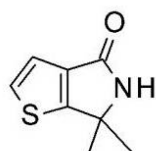
【0048】

調製例 2

6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン

【化23】

20



水酸化アンモニウム（1000 mL）中の6, 6-ジメチルチエノ[2, 3-c]フラン-4-オン（150 g、0.891 mol）の溶液を5 Lのオートクレーブに入れる。密閉した環境で、反応混合物を注意深く200℃の温度にし、200℃で4時間攪拌する。4時間後、反応混合物を室温に冷却し、アンモニアガスを放出する。反応混合物をDCM（3×750 mL）で抽出する。有機層を水（1×750 mL）で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を50℃にて減圧下で濃縮して、標題化合物100 g（67%）を得る。MS（m/z）：168（M+1）。

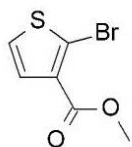
30

【0049】

調製例 3

メチル2-ブロモチオフェン-3-カルボキシレート

【化24】



40

MeOH（100 mL）中の2-ブロモ-3-チオフェンカルボン酸（10.1 g、49 mmol）の溶液を硫酸（2.5 mL、45 mmol）で処理する。反応物を一晩加熱還流する。混合物を減圧下で濃縮して有機溶媒を除去し、得られた混合物を氷冷水に注ぐ。冷溶液をEtOAcで抽出する。合わせた有機抽出物を水で、続いて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減

50

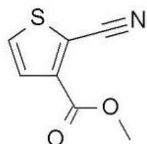
圧下で濃縮して、標題化合物 10.77 g (100%) を得る。 ^1H NMR (400.15 MHz, DMSO- d_6) δ 7.65 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H)。

【0050】

調製例 4

メチル 2-シアノチオフェン-3-カルボキシレート

【化 25】



10

N-メチルピロリドン (130 mL) 中のメチル 2-ブロモチオフェン-3-カルボキシレート (28 g, 128 mmol) およびシアン化銅 (15 g, 167 mmol) の混合物を 120°C で一晩加熱する。反応物を室温に冷却し、EtOAc で希釈する。有機溶液を飽和 NaCl で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。ヘキサン中の 25% EtOAc で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残渣を精製して、標題化合物 15.2 g (71%) を得る。 ^1H NMR (400.15 MHz, DMSO- d_6) δ 8.10 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 3.86 (s, 3H)。

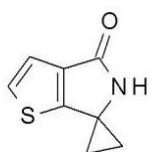
20

【0051】

調製例 5

スピロ [5H-チエノ [2, 3-c] ピロール-6, 1'-シクロプロパン] -4-オン

【化 26】



30

ジエチルエーテル (330 mL) 中のメチル 2-シアノチオフェン-3-カルボキシレート (13.7 g, 79 mmol) およびチタンテトラ (イソプロポキシド) (24.8 g, 87.4 mmol) の -70°C の溶液を、エチルマグネシウムブロミド (ジエチルエーテル中 3M, 58 mL, 175 mmol) の溶液で処理する。反応混合物を 60 分間攪拌する。冷却浴を取り外し、混合物を 1 時間かけてゆっくりと室温に加温する。三フッ化ホウ素エーテラート (22.6 mL, 159 mmol) を加え、混合物をさらに 1 時間攪拌する。反応物を 1N の塩酸 (240 mL) でクエンチし、一晩攪拌する。有機層を分離し、追加のエーテルで水層を逆抽出する。有機抽出物を合わせ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和 NaCl で洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を C18 カラム (カラム: 275 g; 移動相: A) 水中の 0.10% ギ酸、B) ACN 中の 0.10% ギ酸; 勾配: 5~35% B; 流速: 80 mL/分) での HPLC によって精製して、標題化合物 1.02 g (35%) を得る。 ^1H NMR (400.15 MHz, DMSO- d_6) δ 8.43 (bs, 1H), 7.53 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 1.51 (m, 2H), 1.38 (m, 2H)。

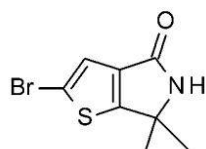
40

【0052】

50

調製例 6

2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン
【化27】



6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン (835 g、4.99 mol) を含有する 20 L のフラスコに ACN (10000 mL) を加え、溶液を 10 °C に冷却する。反応混合物に N-ブロモスクシンイミド (444.4 g、2.49 mol) を 4 等分して加え、25 °C にて 6 時間攪拌する。反応混合物を減圧下で濃縮し、得られた化合物を水中でスラリーにし、EtOAc (3×4.1 L) で抽出する。合わせた有機抽出物を水 (3×4.1 L) および飽和 NaCl (4.1 L) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過する。追加のバッチと合わせるために有機溶液を保存する。

10

【0053】

上記と同じプロセスを使用して、650 g および 835 g それぞれの 6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オンで開始する 2 つのさらなるバッチを調製する。全ての 3 回の実施から有機溶液を合わせ、50 °C にて減圧下で濃縮して、茶色の粘着性物質として 2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オンを得る。得られた生成物をジエチルエーテル/ヘキサン (2:1 v/v) 中でスラリーにし、濾過して標題化合物 1542 g (45%) を得る。MS (m/z): 246/248 (M+1/M+3)。

20

【0054】

以下の化合物を本質的に調製例 6 の方法によって調製する。

【表1】

調製例 番号	化合物名	構造	MS (m/z):
7	2-ブロモスピロ[5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-6, 1'-シクロプロパン]-4-オン		244/246 (M+1/M+3)

30

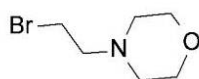
【0055】

調製例 8

4-(2-ブロモエチル)モルホリン臭化水素酸塩
【化28】

40

H-Br



DCM (2.44 L) 中のトリフェニルホスフィンジブロミド (124 g、293 mmol) の溶液を、25 °C 未満の反応温度を維持しながら、DCM (60 mL) 中の 4-モルホリンエタノール (32 g、244 mmol) の溶液で 1 時間にわたって滴下して処理

50

する。混合物を室温にて一晩攪拌する。試薬を適切にスケーリングして4-モルホリンエタノール(10 g、76 mmol)で開始する上記のさらなる反応を行う。反応混合物を合わせ、真空濾過により固体を回収して標題化合物76.7 g(84%)を得る。¹H NMR(399.8 MHz, DMSO-d₆) δ 4.05(m, 2H), 3.84(m, 2H), 3.78(t, J=7 Hz, 1H), 3.67(t, J=7 Hz, 2H), 3.56(m, 2H), 3.26(m, 2H)。

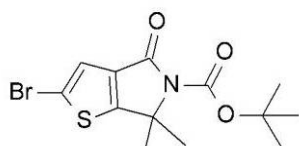
【0056】

調製例9

tert-ブチル 2-ブロモ-6,6-ジメチル-4-オキソ-チエノ[2,3-c]ピロール-5-カルボキシレート

10

【化29】



合成方法1:

ACN(481 mL)中の2-ブロモ-6,6-ジメチル-5H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(25 g、102 mmol)、4-ジメチルアミノピリジン(1.25 g、10 mmol)およびN,N-ジイソプロピルエチルアミン(24 mL、138 mmol)の溶液をジ-tert-ブチルジカーボネート(35 g、162 mmol)で処理する。混合物を室温にて一晩攪拌する。混合物を減圧下で濃縮する。混合物をヘキサンで希釈し、混合物をシリカゲルパッドで濾過し、パッドをヘキサンで、続いてヘキサン中の20%DCMで溶出する。濾液を濃縮して乾燥させて、橙色の油状物として標題化合物36.5 g(93%)を得る。¹H NMR(399.8 MHz, CDCl₃) δ 7.19(s, 1H), 1.74(s, 6H), 1.58(s, 9H)。

20

【0057】

合成方法2:

ACN(2 L)中の2-ブロモ-6,6-ジメチル-5H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(200 g、813 mmol)、N,N-ジメチルピリジン-4-アミン(9.93 g、81 mmol)およびジ-tert-ブチルジカーボネート(266 g、1219 mmol)の溶液を、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(213 mL、1219 mmol)で滴下して処理する。混合物を室温にて4時間攪拌する。反応物を30℃で2時間加熱する。混合物を室温に冷却し、一晩攪拌する。混合物を減圧下で濃縮する。混合物をEtOAcで希釈し、得られた有機溶液を水(300 mL)、次いで飽和NaCl(300 mL)で2回洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、ヘキサン中の0~20%のEtOAcの勾配で溶出するシリカゲルパッド上で精製して標題化合物253 g(90%)を得る。MS(m/z): 290/292(M-イソブテン+1/M-イソブテン+3)。¹H NMR(399.8 MHz, CDCl₃) δ 7.19(s, 1H), 1.74(s, 6H), 1.58(s, 9H)。

30

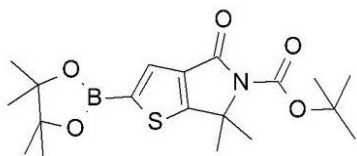
40

【0058】

調製例10

tert-ブチル 6,6-ジメチル-4-オキソ-2-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)チエノ[2,3-c]ピロール-5-カルボキシレート

【化 30】



1, 4-ジオキササン (1.6 L) 中の tert-ブチル 2-ブロモ-6, 6-ジメチル-4-オキソチエノ [2, 3-c] ピロール-5-カルボキシレート (114 g、329 mmol)、ビス (ピナコラト) ジボロン (125 g、494 mmol) および酢酸カリウム (97 g、988 mmol) の混合物を窒素で 10 分間脱気する。(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) クロリド (5.38 g、6.6 mmol) を加え、混合物を 90 °C にて 4 時間加熱する。反応物を室温に冷却し、CELITE (登録商標) パッドで濾過する。濾液を濃縮し、次いで残渣をヘキサン中の 10 % EtOAc で処理する。真空濾過により沈殿物を回収して標題化合物 65.8 g (40 %) を得る。MS (m/z) : 338 (M-イソブテン+1)。

10

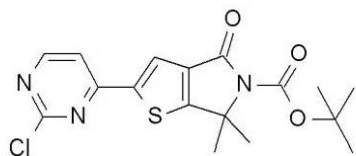
【0059】

調製例 11

tert-ブチル 2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-4-オキソチエノ [2, 3-c] ピロール-5-カルボキシレート

20

【化 31】



合成方法 1 :

30

1, 4-ジオキササン (520 mL) 中の tert-ブチル 2-ブロモ-6, 6-ジメチル-4-オキソチエノ [2, 3-c] ピロール-5-カルボキシレート (36 g、104 mmol)、ビス (ピナコラト) ジボロン (59.8 g、235 mmol) および酢酸カリウム (33.2 g、338 mmol) の混合物を窒素で 10 分間脱気する。(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) クロリド (4.45 g、5.5 mmol) を加え、混合物を 90 °C で加熱する。混合物を 90 °C にて 2 時間加熱する。反応物を室温に冷却し、3 時間攪拌する。2, 4-ジクロロピリミジン (22 g、145 mmol)、続いて炭酸カリウム (20.4 g、147 mmol) の水溶液 (83 mL) を加える。得られた混合物を窒素で 10 分間脱気する。テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (1.59 g、1.38 mmol) を加え、混合物を 90 °C で 2 時間加熱する。混合物を室温に冷却し、CELITE (登録商標) のパッドで濾過する。濾液を 3 部の水、および 1 部の飽和 NaCl で洗浄する。有機物を減圧下で濃縮する。残渣を、DCM 中の 0 ~ 25 % の EtOAc の勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標題化合物 11 g (59 %) を得る。MS (m/z) : 324 (M-イソブテン+1)。

40

【0060】

合成方法 2

1, 4-ジオキササン (100 mL) 中の tert-ブチル 6, 6-ジメチル-4-オキソ-2-(4, 4, 5, 5-テトラメチル-1, 3, 2-ジオキサボロラン-2-イル)チエノ [2, 3-c] ピロール-5-カルボキシレート (11.7 g、30 mmol)、

50

2, 4-ジクロロピリミジン (13 g、89 mmol)、炭酸カリウム (20.4 g、147 mmol) および水 (50 mL) の混合物を窒素で10分間脱気する。テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム (2.58 g、2.2 mmol) を加え、混合物を87℃で1.5時間加熱する。混合物を室温に冷却する。混合物をEtOAc (1 L) で希釈し、得られた溶液を水および飽和NaClで洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣をヘキサン (200 mL) 中の30%のEtOAcで処理し、得られた沈殿物を真空濾過により回収して標題化合物7.6 g (67%) を得る。MS (m/z) : 324 (M-イソブテン+1)。

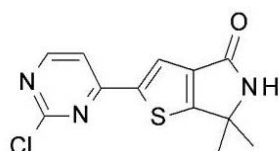
【0061】

調製例 12

10

2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-5H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン

【化32】



DCM (25 mL) 中のtert-ブチル 2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-4-オキソチエノ [2, 3-c] ピロール-5-カルボキシレート (6.36 g、16.7 mmol) およびトリフルオロ酢酸 (25 mL) の混合物を室温にて2時間攪拌する。混合物を減圧下で濃縮し、残渣をDCMで希釈する。混合物を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で分配し、二相エマルションから固体を回収する。固体をエーテルで洗浄し、50℃にて一晚真空下で乾燥させて標題化合物4.65 g (99%) を得る。MS (m/z) : 280 (M+1)。

20

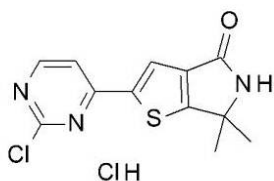
【0062】

調製例 13

2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-5H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン塩酸塩

30

【化33】



1, 4-ジオキサン (585 mL) 中のtert-ブチル 2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-4-オキソチエノ [2, 3-c] ピロール-5-カルボキシレート (66.7 g、176 mmol) および塩化水素 (1, 4-ジオキサン中に4M、263 mL、1054 mmol) の溶液を30℃にて5時間加熱する。加熱要素を取り外し、混合物を室温にて一晚攪拌する。ヘキサン (800 mL) を反応混合物にゆっくりと加える。得られたスラリーを10分間攪拌し、真空濾過により固体を回収する。固体を真空下で乾燥させて標題化合物56 g (100%) を得る。MS (m/z) : 280 (M+1)。

40

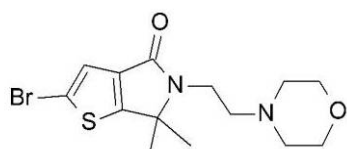
【0063】

調製例 14

2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン

50

【化 3 4】



水酸化ナトリウム（160 g、4 mmol）を水（250 mL）に加え、透明な溶液が生成するまで混合物を撹拌する。1, 4-ジオキサン（2 L）、続いて2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン（215 g、874 mmol）、テトラブチルアンモニウムヨード（300 g、812 mmol）および4-(2-クロロエチル)モルホリン塩酸塩（300 g、1564 mmol）を加える。混合物を80℃にて1時間加熱する。反応混合物を室温に冷却する。反応物を水（2 L）で希釈し、混合物をEtOAc（3×2 L）で抽出する。合わせた有機抽出物を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。DCM（2 L）およびヘキサン（2 L）を加え、得られた有機溶液を飽和NaCl（2×1 L）で洗浄する。有機溶液を減圧下で最小体積に濃縮する。固体を濾去して標題化合物180 g（57%）を得る。MS（m/z）：359/361（M+1/M+3）。

10

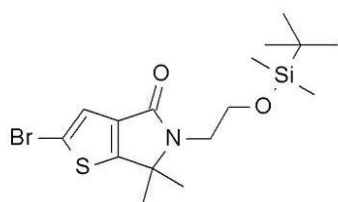
【0064】

20

調製例 15

2-ブロモ-5-[2-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシエチル]-6, 6-ジメチル-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン

【化 3 5】



30

DMF（203 mL）中の水素化ナトリウム（鉱油中に60 wt%、3.9 g、97.5 mmol）の懸濁液を、0℃にて2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン（20 g、81.3 mmol）、続いて(2-ブロモエトキシ)-tert-ブチルジメチルシラン（23.3 g、97.5 mmol）で処理する。反応物を0℃にて1時間撹拌する。氷浴を取り外し、反応混合物を一晩撹拌する。反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチし、EtOAcで抽出する。有機溶液を飽和NaClで洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。ヘキサン中の20% EtOAcで溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって残渣を精製して標題化合物26 g（79%）を得る。MS（m/z）：404/406（M+1/M+3）。

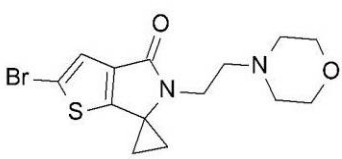
40

【0065】

以下の化合物を本質的に調製例15の方法によって調製する。

【0066】

【表 2】

調製例 番号	化合物名	構造	MS (m/z):
16	2'-ブロモ-5'-(2-モルホリ ノエチル)スピロ[シクロプロパン- 1,6'-チエノ[2,3-c]ピロー ル]-4'-オン		357/359 (M+1/M+3)

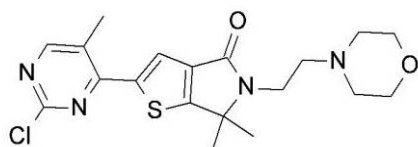
10

【0067】

調製例 17

2-(2-クロロ-5-メチルピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化 36】



20

1,4-ジオキサン(80 mL)中の2-ブロモ-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(5.76 g、16 mmol)、ビス(ピナコラト)ジボロン(4.88 g、19.2 mmol)および酢酸カリウム(4.86 g、48 mmol)の混合物を窒素で20分間脱気する。(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)クロリド(668 mg、0.80 mmol)を加え、混合物を90℃にて一晩加熱する。反応物を室温に冷却し、濾液を濃縮し、次いで残渣をEtOAcで処理する。沈殿物を真空濾過により回収する。固体(3.7 g)に2,4-ジクロロ-5-メチルピリミジン(1.5 g、9.1 mmol)、1,4-ジオキサン(50 mL)、炭酸カリウム(3.8 g、27 mmol)および水(33 mL)を加える。得られた混合物を窒素で20分間脱気する。テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(790 mg、0.68 mmol)を加え、混合物を90℃で2時間加熱する。混合物を室温に冷却し、EtOAcで希釈する。有機溶液を飽和NaClで洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、EtOAc中の0~10% MeOHの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標題化合物1.82 g(19%)を得る。MS(m/z): 407(M+1)。

30

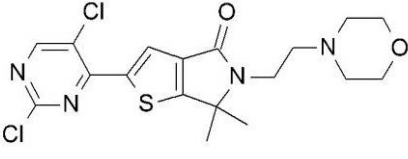
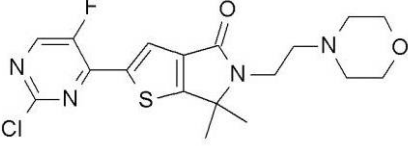
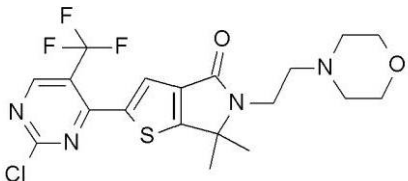
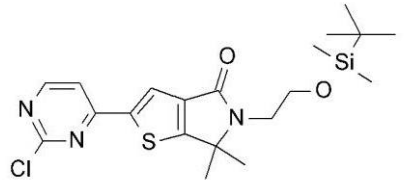
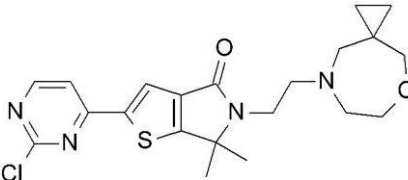
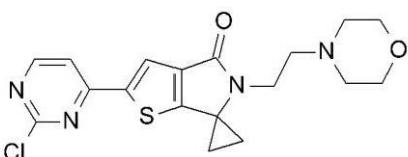
【0068】

以下の化合物を本質的に調製例17の方法によって調製する。

40

【0069】

【表 3】

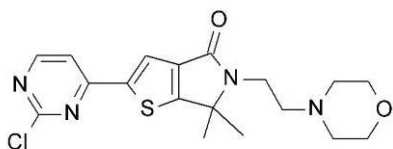
調製例 番号	化合物名	構造	MS (m/z):
18	2-(2,5-ジクロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		427 (M+1)
19	2-(2-クロロ-5-フルオロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		411 (M+1)
20	2-[2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ピリミジン-4-イル]-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		461 (M+1)
21	5-[2-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシエチル]-2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチルチエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		438 (M+1)
22	2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-[2-(5-オキサ-8-アザスピロ[2.6]ノナン-8-イル)エチル]チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		433 (M+1)
23	2'-(2-クロロピリミジン-4-イル)-5'-(2-モルホリノエチル)スピロ[シクロプロパン-1,6'-チエノ[2,3-c]ピロール]-4'-オン		391 (M+1)

【0070】

調製例 24

2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化 3 7】



合成方法 1：

10

1, 4-ジオキサン (1 L) 中の 2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン (200 g、557 mmol)、ビス(ピナコラト)ジボロン (200 g、788 mmol) および酢酸カリウム (200 g、2038 mmol) の混合物を窒素で15分間脱気する。(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)クロリド (20 g、27 mmol) を加え、混合物を90℃で加熱する。混合物を90℃にて1時間加熱する。反応物を50℃に冷却し、炭酸カリウム (250 g、1809 mmol)、2, 4-ジクロロピリミジン (230 g、1543 mmol) および水 (300 mL) を加える。混合物を90℃にて1時間加熱する。混合物を35℃に冷却し、水 (700 mL) を加える。反応混合物をDCM (2 L) で抽出する。水溶液をDCM (500 mL) で逆抽出する。合わせた有機溶液を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣をヘキサン (2 L) 中の10% EtOAcで希釈し、1時間攪拌する。母液をデカントし、固体をヘキサン (500 mL) でリンスする。固体をDCM (300 mL) に溶解し、ヘキサン (2 L) をゆっくりと加える。得られた固体を真空濾過により回収し、乾燥させて標題化合物 150 g (65%) を得る。MS (m/z) : 393 (M+1)。

20

【0071】

合成方法 2：

N-メチルピロリドン (211 mL) 中の 2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン塩酸塩 (10 g、32 mmol) およびテトラブチルアンモニウムヨード (1.17 g、3.16 mmol) の混合物を、氷水浴を使用して0℃に冷却する。水素化ナトリウム (鉱油中に60wt%、5.06 g、126.5 mmol) を少しずつ加える。混合物を0℃にて10分間攪拌し、次いで4-(2-ブロモエチル)モルホリン臭化水素酸塩 (13.9 g、50.6 mmol) を加える。氷浴を取り除き、混合物を1時間攪拌する。反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチし、混合物を水 (1 L) で希釈する。混合物を酢酸イソプロピル (4×700 mL) で抽出する。合わせた有機抽出物を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。ヘキサン中の20% EtOAcを加え、混合物を1時間攪拌する。固体を真空濾過により回収し、乾燥させて標題化合物 8.6 g (69%) を得る。MS (m/z) : 393 (M+1)。

30

【0072】

合成方法 3：

DMF (14 mL) 中の 2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-5H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン (500 mg、1.4 mmol) の溶液を水素化ナトリウム (鉱油中に60wt%、129 mg、3.2 mmol) で処理する。混合物を10分間攪拌し、次いで4-(2-ブロモエチル)モルホリン塩酸塩 (412 mg、1.8 mmol) を加える。反応混合物を室温にて一晩攪拌する。混合物を0℃に冷却し、4-(2-ブロモエチル)モルホリン塩酸塩 (165 mg、0.7 mmol)、続いて水素化ナトリウム (鉱油中に60wt%、14 mg、0.4 mmol) を加える。氷浴を取り除き、混合物を室温にて一晩攪拌する。水素化ナトリウム (鉱油中に60wt%、14 mg、0.4 mmol) を加え、得られた混合物を室温にて5時間攪拌する。混

40

50

合物を水で希釈し、E t O A cで抽出する。有機抽出物を5%の塩化リチウム水溶液で洗浄する。有機溶液を減圧下で濃縮する。残渣を、D C M中の0~10% M e O Hの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して標題化合物524mg (93%)を得る。M S (m/z) : 393 (M+1)。

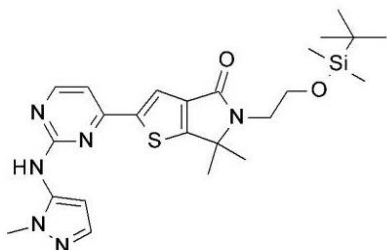
【0073】

調製例25

5-[2-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシエチル]-6,6-ジメチル-2-[2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル]チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化38】

10



5-[2-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシエチル]-2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(6g、13.7mmol)、2-メチルピラゾール-3-アミン(1.60g、16.4mmol)、炭酸セシウム(8.92g、27.4mmol)、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(790mg、1.37mmol)および1,4-ジオキサン(150mL)の混合物を窒素で10分間脱気する。酢酸パラジウム(II)(610mg、2.74mmol)を加え、混合物を90℃にて2.5時間加熱する。混合物を室温に冷却し、混合物を室温にて一晩攪拌する。反応混合物をD C M中の10% M e O Hで希釈し、混合物を15分間攪拌する。混合物をC E L I T E(登録商標)で濾過し、固体をD C M中の10% M e O Hで洗浄する。濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、D C M中の60~100% E t O A cの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標題化合物5.73g(84%)を得る。M S (m/z) : 499 (M+1)。

20

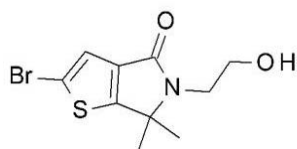
30

【0074】

調製例26

2-ブromo-5-(2-ヒドロキシエチル)-6,6-ジメチル-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化39】



40

T H F (40mL)中の2-ブromo-5-[2-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシエチル]-6,6-ジメチル-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(26g、64mmol)を酢酸(120mL)および水(40mL)で処理する。混合物を室温にて一晩攪拌する。反応混合物を減圧下で濃縮する。残渣をE t O A cで希釈し、得られた溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、続いて飽和N a C lで洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を濃縮して標題化合物18.97g(1

50

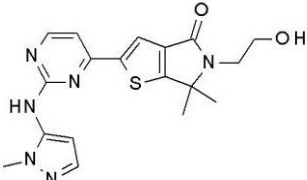
00%)を得る。MS (m/z) : 290 / 292 (M+1 / M+3)。

【0075】

以下の化合物を本質的に調製例26の方法によって調製する。

【0076】

【表4】

調製例 番号	化合物名	構造	注釈	MS (m/z):
27	5-(2-ヒドロキシエチル)- 6,6-ジメチル-2-[2-[(2- メチルピラゾール-3-イル) アミノ]ピリミジン-4-イル]チ エノ[2,3-c]ピロール-4- オン		4 N HCl ジオキサン を使用する。	385 (M+1)

10

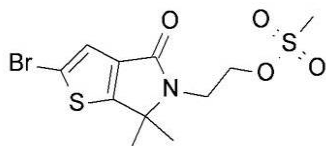
【0077】

20

調製例28

2-(2-ブロモ-6,6-ジメチル-4-オキソチエノ[2,3-c]ピロール-5-イル)エチルメタンスルホネート

【化40】



30

DCM (300 mL) 中の2-ブロモ-5-(2-ヒドロキシエチル)-6,6-ジメチルチエノ[2,3-c]ピロール-4-オン (18.97 g、65.4 mmol) の溶液を0℃に冷却する。混合物をトリエチルアミン (13.7 mL、98.1 mmol) およびメタンスルホニルクロリド (8.24 g、71.9 mmol) で処理する。混合物を0℃にて2時間攪拌する。溶液を水および飽和NaClで洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣をEtOAcで溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して標題化合物23.8 g (99%)を得る。MS (m/z) : 368 / 370 (M+1 / M+3)。

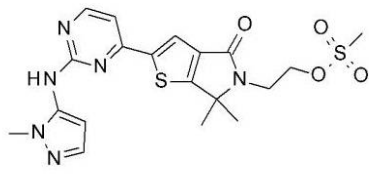
【0078】

40

以下の化合物を本質的に調製例28の方法によって調製する。

【0079】

【表 5】

調製例 番号	化合物名	構造	MS (m/z):
29	2-[6,6-ジメチル-2-[2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル]-4-オキソ-チエノ[2,3-c]ピロール-5-イル]エチルメタンスルホネート		463 (M+1)

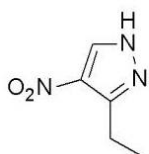
10

【0080】

調製例 30

3-エチル-4-ニトロ-1H-ピラゾール

【化 4 1】



20

3-エチル-1H-ピラゾール (1 g、10.4 mmol) を硫酸 (5 mL) に溶解し、混合物を -5 °C に冷却する。次いで硝酸カリウム (1.16 g、11.4 mmol) を混合物に少しずつ加える。混合物を室温にゆっくり加温しながらそれを一晩攪拌する。混合物を 0 °C に冷却し、pH が約 10 になるまで水酸化アンモニウムでゆっくりクエンチする。得られた固体を真空濾過により回収し、少量の水で洗浄する。濾液を 0 °C に冷却し、次いで真空濾過により濾液から固体を回収し、少量の水で洗浄する。固体を合わせ、DCM に溶解する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。ジエチルエーテルで 1 回共蒸発させて標題化合物 1.34 g (91%) を得る。MS (m/z): 140 (M-1)。

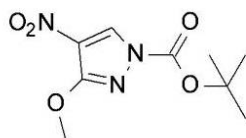
30

【0081】

調製例 31

tert-ブチル 3-メトキシ-4-ニトロ-ピラゾール-1-カルボキシレート

【化 4 2】



40

DCM (300 mL) 中の 5-メトキシ-4-ニトロ-1H-ピラゾール (3 g、21 mmol)、ジ-tert-ブチルジカーボネート (6.9 g、31.6 mmol) および 4-ジメチルアミノピリジン (1.28 g、10.5 mmol) の懸濁液をトリエチルアミン (5.85 mL、42 mmol) で処理し、混合物を室温にて一晩攪拌する。反応混合物を減圧下で濃縮する。残渣を、ヘキサン中の 1~10% EtOAc の勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して標題化合物 3.48 g (68%) を得る。¹H NMR (399.8 MHz, DMSO-d₆) δ 9.10 (s, 1H), 3.98 (s, 3H), 1.56 (s, 9H)。

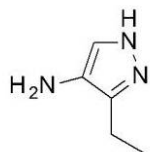
50

【0082】

調製例 32

3-エチル-1H-ピラゾール-4-アミン

【化43】



10

EtOH (21 mL) 中のパラジウム (炭素上 5 wt %, 450 mg、0.21 mmol) の懸濁液を 3-エチル-4-ニトロ-1H-ピラゾール (300 mg、2.13 mmol) で処理する。得られた混合物を水素雰囲気下で 6.5 時間攪拌する。反応混合物を CELITE (登録商標) で濾過し、固体をさらなる EtOH でリンスする。濾液を減圧下で濃縮して標題化合物 240 g (99%) を得る。¹H NMR (400.1 MHz, CD₃CN) δ 7.02 (s, 1H), 2.54 (q, J = 7 Hz, 3H), 1.17 (t, J = 7 Hz, 9H)。

【0083】

以下の化合物を本質的に調製例 32 の方法によって調製する。

【0084】

20

【表6】

調製例 番号	化合物名	構造	MS (m/z):
33	tert-ブチル 4-アミノ-3-メトキシ- ピラゾール-1-カルボキシレート		214 (M+1)

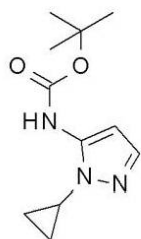
30

【0085】

調製例 34

tert-ブチル N-(2-シクロプロピルピラゾール-3-イル) カルバメート

【化44】



40

THF (35 mL) 中の 2-シクロプロピルピラゾール-3-カルボン酸 (4 g、26 mmol) の溶液を 0 °C に冷却し、次いでトリエチルアミン (5.5 mL、39 mmol)、続いてジフェニルリン酸アジド (8.5 mL、39 mmol) を加える。混合物を、反応温度を室温にゆっくり加温しながら 4 時間攪拌する。tert-ブチルアルコール (4.99 mL) を加え、混合物を 70 °C にて 18 時間加熱する。反応混合物を減圧下で濃縮する。残渣を、DCM 中の 0 ~ 20 % の MeOH の勾配で溶出するシリカゲルカラムク

50

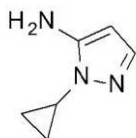
ロマトグラフィーによって精製して標題化合物 5.39 g (92%) を得る。MS (m/z) : 224 (M+1)。

【0086】

調製例 35

2-シクロプロピルピラゾール-3-アミン

【化45】



10

DCM (12 mL) 中の tert-ブチル N-(2-シクロプロピルピラゾール-3-イル) カルバメート (5.39 g、24 mmol) の溶液をトリフルオロ酢酸 (16 mL、213 mmol) で処理する。溶液を室温にて1時間攪拌する。反応混合物を減圧下で濃縮する。残渣をDCMに溶解し、水相のpHが7超で存続するまで飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で処理する。相を分離し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させる。混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。水相を減圧下で濃縮する。残渣を有機相および水相から合わせ、逆相カラムクロマトグラフィー (カラム: 130 g C18; 移動相: A) 水、B) ACN; 勾配: 0~20% B) によって精製する。画分を濃縮し、残渣をDCM中の25% MeOHに溶解する。混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣をEtOAcに溶解し、水を加える。層を分離し、水層をEtOAc (8×100 mL) で逆抽出する。合わせた有機抽出物を減圧下で濃縮して標題化合物 2.27 g (76%) を得る。¹H NMR (400.1 MHz, CD₃CN) δ 7.02 (d, J = 2 Hz, 1H), 5.33 (d, J = 2 Hz, 1H), 4.28 (bs, 2H), 3.10 (m, 1H), 0.96 (m, 4H)。

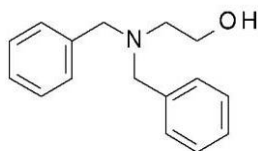
20

【0087】

調製例 36

2-(ジベンジルアミノ) エタノール

【化46】



30

ACN (35 mL) 中の 2-(ベンジルアミノ) エタノール (0.95 mL、6.6 mmol) の混合物を炭酸カリウム (1.83 g、13.2 mmol)、続いて臭化ベンジル (1.18 mL、9.89 mmol) で処理する。反応混合物を80℃にて1.5時間加熱する。反応物を室温に冷却し、混合物を濾過する。濾液を減圧下で濃縮し、残渣を、ヘキサン中の0~30% EtOAcの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して標題化合物 1.7 g (100%) を得る。MS (m/z) : 242 (M+1)。

40

【0088】

調製例 37

2-[2-(ジベンジルアミノ) エトキシ]-2-ジフルオロ酢酸

【化 4 7】



THF (12 mL) 中の 2-(ジベンジルアミノ)エタノール (1.5 g、6.2 mmol) およびナトリウムクロロ-2, 2-ジフルオロ-酢酸 (950 mg、6.19 mmol) の溶液を、0℃にて水素化ナトリウム (鉱油中に 60 wt%、500 mg、12.5 mmol) で処理する。反応混合物を一晩加熱還流する。さらなる水素化ナトリウム (鉱油中に 60 wt%、120 mg、3 mmol) を反応混合物に加え、さらに 1 時間加熱を継続する。反応物を室温に冷却し、水で希釈する。混合物をジエチルエーテルで抽出する。層を分離し、水層を 6 N の塩酸で pH 6 に調整する。水溶液を EtOAc で抽出する。全ての有機溶液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥させる。混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮して標題化合物 1.03 g (49%) を得る。MS (m/z) : 336 (M+1)。

【0089】

調製例 38

メチル 2-[2-(ジベンジルアミノ)エトキシ]-2, 2-ジフルオロ-アセテート

【化 4 8】



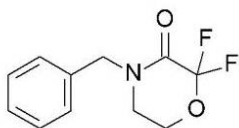
トルエン (9 mL) および MeOH (2 mL) 中の 2-[2-(ジベンジルアミノ)エトキシ]-2, 2-ジフルオロ-酢酸 (100 mg、0.298 mmol) の溶液を、(トリメチルシリル)ジアゾメタン (ヘキサン中に 2 M、0.16 mL、0.32 mmol) を滴下して処理する。混合物を室温にて 15 分間攪拌する。反応物を酢酸 (0.1 mL) でクエンチし、反応混合物を減圧下で濃縮して標題化合物 102 mg (98%) を得る。MS (m/z) : 350 (M+1)。

【0090】

調製例 39

4-ベンジル-2, 2-ジフルオロ-モルホリン-3-オン

【化 4 9】



EtOH (15 mL) 中のパラジウム (炭素上 10%、50 mg、0.141 mmol) の懸濁液を、EtOH (15 mL) 中のメチル 2-[2-(ジベンジルアミノ)エトキシ]-2, 2-ジフルオロ-アセテート (485 mg、1.39 mmol) で処理する。

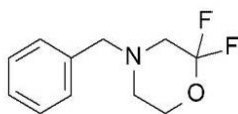
反応混合物を水素雰囲気（バルーン）下で室温にて一晩攪拌する。反応混合物を C E L I T E（登録商標）で濾過し、濾液を減圧下で濃縮して標題化合物 294 mg（93%）を得る。MS（m/z）：228（M+1）。

【0091】

調製例 40

4-ベンジル-2, 2-ジフルオロ-モルホリン

【化50】



10

THF（13 mL）中の 4-ベンジル-2, 2-ジフルオロ-モルホリン-3-オン（290 mg、1.28 mmol）の溶液をボロンジメチルスルフィド錯体（THF中に 2 M、3.06 mL、6.12 mmol）で処理する。反応混合物を 55℃にて 3.5 時間加熱し、次いで熱を除去し、攪拌を一晩継続する。反応混合物をさらに 2 時間 55℃で加熱する。反応混合物を室温に冷却し、塩酸（6 N、3.06 mL、18.4 mmol）を滴下して加えることによってクエンチする。反応混合物を 100℃にて 1 時間加熱する。混合物を室温に冷却し、減圧下で濃縮する。混合物を水で希釈し、2 N の水酸化ナトリウムで pH を 12 に調整する。混合物を EtOAc で抽出する。有機抽出物を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して標題化合物 120 mg（44%）を得る。MS（m/z）：214（M+1）。

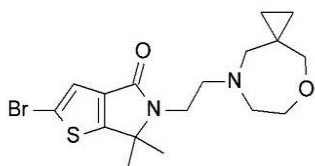
20

【0092】

調製例 41

2-ブロモ-6, 6-ジメチル-5-[2-(5-オキサ-8-アザスピロ[2.6]ノナン-8-イル)エチル]チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化51】



30

DMF（33 mL）中の 2-(2-ブロモ-6, 6-ジメチル-4-オキソチエノ[2,3-c]ピロール-5-イル)エチルメタンスルホネート（2.76 g、6.9 mmol）および 5-オキサ-8-アザスピロ[2.6]ノナン（2.18 g、16.3 mmol）の混合物を 80℃にて一晩加熱する。混合物を室温に冷却し、EtOAc で希釈する。有機溶液を飽和 NaCl（3×30 mL）で洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、逆相カラムクロマトグラフィー（カラム：100 g 金 C18；移動相：A）水中の 0.1% ギ酸、B）ACN 中の 0.1% ギ酸；勾配：5 分間 5% B、20 分にわたって 5%～50% B；流速：53 mL/分）によって精製して標題化合物 3.6 g（85%）を得る。MS（m/z）：399/401（M+1/M+3）。

40

【0093】

調製例 42

tert-ブチル 4-[[4-[6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)-4-オキソチエノ[2,3-c]ピロール-2-イル]-5-メチルピリミジン-2-イル]アミノ]-3-メトキシピラゾール-1-カルボキシレート

CC1(C)C(=O)N(CC2CCOCC2)C1=Cc3cc(C)c4nc(Nc5cc(OC)nn5C(=O)OC(C)(C)C)cnc43

20

【 0 0 9 4 】

【 0 0 9 5 】

【表 7】

調製例 番号	化合物名	構造	注釈	MS (m/z):
43	<i>tert</i> -ブチル 4-[[4-[6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)-4-オキソ-チエノ[2, 3- <i>c</i>]ピロール-2-イル]ピリミジン-2-イル]アミノ]-3-メトキシ-ピラゾール-1-カルボキシレート		触媒: トリス (ジベンジリ デンアセトン) ジパラジウム (0)	570 (M+1)
44	<i>tert</i> -ブチル 4-[[4-[6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)-4-オキソ-チエノ[2, 3- <i>c</i>]ピロール-2-イル]-5-フルオロ-ピリミジン-2-イル]アミノ]-3-メトキシ-ピラゾール-1-カルボキシレート			588 (M+1)
45	<i>tert</i> -ブチル 5-シクロプロピル-4-[[4-[6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)-4-オキソ-チエノ[2, 3- <i>c</i>]ピロール-2-イル]ピリミジン-2-イル]アミノ]ピラゾール-1-カルボキシレート			580 (M+1)

10

20

30

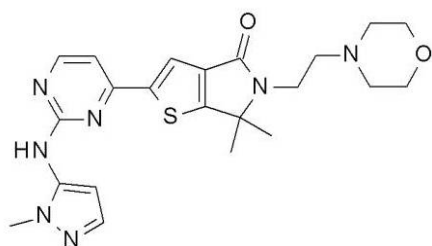
【0096】

実施例 1

6, 6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1*H*-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4*H*-チエノ[2, 3-*c*]ピロール-4-オン

40

【化 5 3】



10

合成方法 1：

2-メチルピラゾール-3-アミン（75 g、772 mmol）を、N-メチルピロリドン（500 mL）中の水素化ナトリウム（鉱油中に60 wt %、30 g、750 mmol）の懸濁液にゆっくり加える。得られた混合物を90分間攪拌する。N-メチルピロリドン（200 mL）中の2-（2-クロロピリミジン-4-イル）-6,6-ジメチル-5-（2-モルホリノエチル）チエノ〔2,3-c〕ピロール-4-オン（145 g、369 mmol）の溶液を加える。発熱反応物を室温に冷却し、反応物を水（3 L）に注ぐ。濃塩酸（200 mL）でpHを約3に調整する。混合物をDCM（4×2 L）で抽出する。5 Mの水酸化ナトリウムを使用して水層を中和する。この水溶液をDCM（2×2 L）で抽出する。これらの有機抽出物を合わせ、水（2 L）で洗浄する。有機物を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、DCM（2 L）、DCM（2 L）中の2.5 % EtOH、DCM（2 L）中の5 % EtOH、DCM（2 L）中の7.5 % EtOHおよび最後にDCM（10 L）中の10 % EtOHで連続的に溶出するシリカゲルプラグ（2 kg）で精製する。適切な画分を減圧下で濃縮する。EtOAc（1 L）を加え、減圧下で濃縮する。EtOAc（1 L）を加え、減圧下で濃縮する。EtOAc（500 mL）およびヘキサン（500 mL）を加える。固体を真空濾過により回収し、固体をヘキサン（500 mL）で洗浄する。固体を50℃にて真空下で乾燥させて、標題化合物 65.7 g（39%）を得る。MS（m/z）：454（M+1）。

20

【0097】

30

合成方法 2：

2-（2-クロロピリミジン-4-イル）-6,6-ジメチル-5-（2-モルホリノエチル）チエノ〔2,3-c〕ピロール-4-オン（20.8 g、52.9 mmol）、2-メチルピラゾール-3-アミン（5.7 g、58.2 mmol）、炭酸セシウム（37.9 g、116.5 mmol）、4,5-ビス（ジフェニルホスフィノ）-9,9-ジメチルキサンテン（2.6 g、4.5 mmol）および1,4-ジオキサン（529 mL）の混合物を窒素で10分間脱気する。トリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウム（0）（2.4 g、2.6 mmol）を加え、混合物を85℃で4時間加熱する。混合物を室温に冷却し、混合物を濾紙で濾過する。濾液を減圧下で濃縮する。8 gの2-（2-クロロピリミジン-4-イル）-6,6-ジメチル-5-（2-モルホリノエチル）チエノ〔2,3-c〕ピロール-4-オンで出発する反応を繰り返し、2つの残渣を合わせる。残渣を、（DCM中の10 % EtOAc）中の5～25 % MeOHの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィー（330 g）により精製する。画分をプールし、減圧下で濃縮する。残渣を、DCM中の10 % EtOAc中の5～25 % MeOHの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィー（330 g）により再精製する。画分をプールし、減圧下で濃縮する。残渣をDCM（400 mL）に溶解し、次いでアセトン（1 L）を加える。混合物を減圧下で約700 mLまでゆっくり濃縮する。固体を真空濾過により回収して標題化合物 14.8 g（48%）を得る。MS（m/z）：454（M+1）。

40

【0098】

50

合成方法 3 :

2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6, 6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン(250mg、0.64mmol)、2-メチルピラゾール-3-アミン(124mg、1.3mmol)、炭酸セシウム(622mg、1.9mmol)、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(55mg、0.095mmol)および1, 4-ジオキサン(6.4mL)の混合物を窒素で15分間脱気する。酢酸パラジウム(II)(14.3mg、0.0636mmol)を加え、混合物を90℃にて一晩加熱する。混合物を室温に冷却し、混合物を濾紙で濾過する。固体をDCM中の10%MeOHで洗浄する。濾液を減圧下で濃縮する。反応を繰り返し、2つの残渣を合わせる。残渣を、水中の10mM炭酸アンモニウム(pH10)中の9~28%ACNの85mL/分の勾配で溶出するC18カラム(30×75mm、5μm、xbridge ODB)でのHPLCによって精製する。画分をプールし、減圧下で濃縮してACNを除去する。水溶液を凍結乾燥して標題化合物100mg(18%)を得る。MS(m/z): 454(M+1)。

10

【0099】

以下の化合物を本質的に実施例1の合成方法3によって調製する。

【0100】

【表 8 - 1】

実施例 番号	化学名	構造	物理 データ MS (m/z):
2	6, 6-ジメチル-2-〔5-メチル-2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(モルホリン-4-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		468 (M+1)
3	4-〔(4-〔6, 6-ジメチル-5-〔2-(モルホリン-4-イル)エチル〕-4-オキソ-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-2-イル〕ピリミジン-2-イル)アミノ〕-1-メチル-1H-ピラゾール-3-カルボニトリル		479 (M+1)
4	6, 6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(5-オキサ-8-アザスピロ[2.6]ノン-8-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		494 (M+1)
5	2'-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5'-〔2-(モルホリン-4-イル)エチル〕スピロ[シクロプロパン-1, 6'-チエノ[2, 3-c]ピロール]-4' (5' H)-オン		452 (M+1)
6	6, 6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕-5-(トリフルオロメチル)ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(モルホリン-4-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		522 (M+1)
7	2-〔2-〔(3-メトキシ-1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ〕-5-メチルピリミジン-4-イル〕-6, 6-ジメチル-5-〔2-(モルホリン-4-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		498 (M+1)

10

20

30

40

【表 8 - 2】

8	2- {2- [(2, 3-ジメチルピリジン-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6, 6-ジメチル-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		479 (M+1)
9	6, 6-ジメチル-2- {2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		454 (M+1)
10	2- {2- [(4-フルオロ-2-メチルフェニル)アミノ]-5-メチルピリミジン-4-イル}-6, 6-ジメチル-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		496 (M+1)
11	6, 6-ジメチル-2- [5-メチル-2- (ピリミジン-4-イルアミノ)ピリミジン-4-イル]-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		466 (M+1)
12	2- {2- [(2, 3-ジメチルピリジン-4-イル)アミノ]-5-メチルピリミジン-4-イル}-6, 6-ジメチル-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		493 (M+1)
13	4- [(4- {6, 6-ジメチル-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-4-オキソ-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-2-イル}ピリミジン-2-イル)アミノ]ピリジン-3-カルボニトリル		476 (M+1)
14	2- {5-クロロ-2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6, 6-ジメチル-5- [2- (モルホリン-4-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		488 (M+1)

10

20

30

40

【表 8 - 3】

15	2-{5-フルオロ-2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		472 (M+1)
16	4-[(4-{6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-4-オキソ-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-2-イル}-5-フルオロピリミジン-2-イル)アミノ]-1-メチル-1H-ピラゾール-3-カルボニトリル		497 (M+1)
17*	2-{2-[(1,3-ジメチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		468 (M+1)
18	2-{2-[(2,4-ジフルオロフェニル)アミノ]-5-メチルピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		500 (M+1)
19	2-{2-[(2,4-ジフルオロフェニル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		486 (M+1)

*: [(4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン)-2-(2'-アミノ-1,1'-ビフェニル)]パラジウム(II)メタンスルホネートをリガンドとして使用する。

【0101】

実施例 20

4-[(4-{6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-4-オキソ-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-2-イル}ピリミジン-2-イル)アミノ]-1H-ピラゾール-5-カルボニトリル

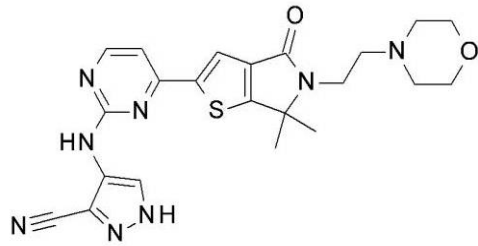
10

20

30

40

【化 5 4】



10

2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(350mg、0.89mmol)、4-アミノ-1H-ピラゾール-5-カルボニトリル(116mg、1.07mmol)、炭酸カリウム(320mg、2.32mmol)、2-(ジ-tert-ブチルホスフィノ)-2',4',6'-トリイソプロピル-3,6-ジメトキシ-1,1'-ビフェニル(87mg、0.18mmol)、tert-ブチルアルコール(2.3mL)および酢酸(1滴)の溶液を90℃にて2時間加熱する。混合物を室温に冷却する。混合物をDCM中の10%MeOHで希釈し、溶液を上部に少量のシリカゲルを含むCELI TE(登録商標)カラムで濾過する。カラムをDCM中の10%MeOHで洗浄し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(カラム:C18、275gの金;移動相:A)5%MeOHを含む水中の10mM重炭酸アンモニウム、B)ACN;勾配:5分間10%B、25分にわたって40%Bの勾配;流速:125mL/分)によって精製して標題化合物240mg(58%)を得る。MS(m/z):465(M+1)。

20

【0102】

以下の化合物を本質的に実施例20の方法によって調製する。

【0103】

【表 9】

実施例 番号	化学名	構造	物理 データ MS (m/z):
21	6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-5-イルアミノ)ピリミジン-4-イル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		44 (M+1)

30

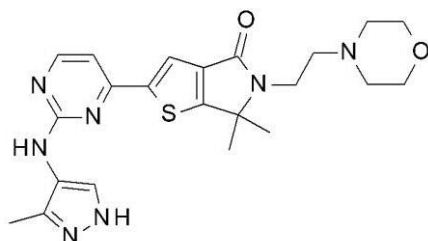
40

【0104】

実施例 22

6,6-ジメチル-2-{2-[(5-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化 5 5】



10

2-(2-クロロピリミジン-4-イル)-6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン(230mg、0.59mmol)、3-メチル-1H-ピラゾール-4-アミン(142mg、0.73mmol)、クロロ[2-(ジ-tert-ブチルホスフィノ)-2',4',6'-トリイソプロピル-1,1'-ビフェニル][2-(2-アミノエチル)フェニル]パラジウム(II)(8mg、0.012mmol)、2-ジ-tert-ブチルホスフィノ-2',4',6'-トリイソプロピルビフェニル(5mg、0.012mmol)およびナトリウムtert-ブトキシド(118mg、1.2mmol)の混合物を窒素で3回パージする。tert-ブチルアルコール(2mL)を加え、反応物を密閉し、混合物を室温にて1.5時間攪拌する。反応混合物をEtOAcで処理し、混合物を一晩攪拌する。減圧下で濃縮する。残渣をEtOAcに溶解し、有機溶液を飽和塩化アンモニウム水溶液で洗浄する。水層をEtOAcで2回逆抽出する。合わせた有機抽出物を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、DCM中の0~10%MeOHの勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して標題化合物164mg(62%)を得る。MS(m/z):454(M+1)。

20

【0105】

以下の化合物を本質的に実施例22の方法によって調製する。

【0106】

【表10】

実施例 番号	化学名	構造	物理 データ MS (m/z):
23	2-{2-[(1-シクロプロピル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		480 (M+1)
24	2-{2-[(5-エチル-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		468 (M+1)

30

40

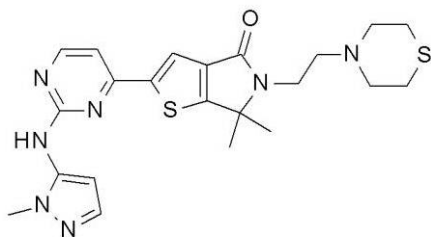
【0107】

実施例25

6,6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]

50

】ピリミジン-4-イル}-5-[2-(チオモルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン
【化56】



10

ACN(2mL)中の2-[6,6-ジメチル-2-[2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル]-4-オキソ-チエノ[2,3-c]ピロール-5-イル]エチルメタンスルホネート(260mg、0.56mmol)、チオモルホリン(116mg、1.12mmol)およびトリエチルアミン(0.18mL、0.38mmol)の混合物を60℃にて一晩加熱する。混合物を室温に冷却し、溶液をCELITE(登録商標)で濾過する。固体をDCM中の10%MeOHで洗浄し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を、逆相カラムクロマトグラフィー(カラム:C18、275gの金;移動相:A)水中の5%MeOH中の10mMアンモニア、B)ACN;勾配:5分間10%B、25分にわたって10~65%Bの勾配;流速:200mL/分)によって精製して標題化合物170mg(64%)を得る。MS(m/z):470(M+1)。

20

【0108】

以下の化合物を本質的に実施例25の方法によって調製する。

【0109】

【表 1 1 - 1】

実施例 番号	化学名	構造	物理 データ MS (m/z):
26	6, 6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(2, 2, 6, 6-テトラフルオロモルホリン-4-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ〔2, 3-c〕ピロール-4-オン		526 (M+1)
27	6, 6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(1, 4-オキサゼパン-4-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ〔2, 3-c〕ピロール-4-オン		468 (M+1)
28	6, 6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5-〔2-(8-オキサ-3-アザビシクロ [3. 2. 1] オクター-3-イル)エチル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ〔2, 3-c〕ピロール-4-オン		480 (M+1)
29	5-〔2-(3, 3-ジフルオロピロリジン-1-イル)エチル〕-6, 6-ジメチル-2-〔2-〔(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ〕ピリミジン-4-イル〕-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ〔2, 3-c〕ピロール-4-オン		474 (M+1)

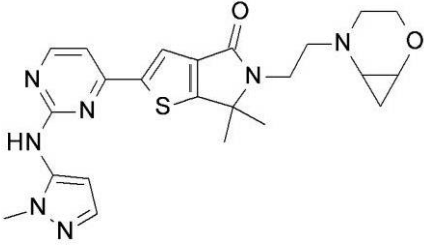
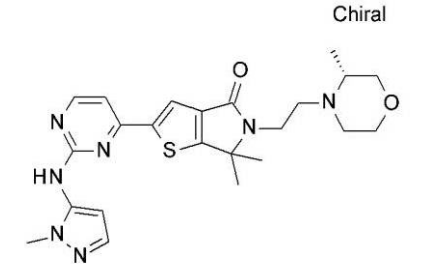
10

20

30

40

【表 1 1 - 2】

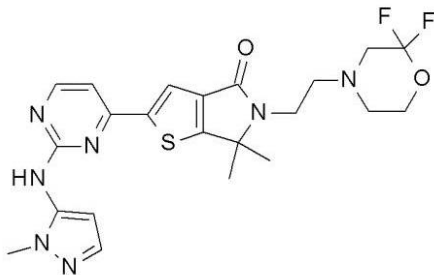
30	6, 6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5-[2-(2-オキサ-5-アザビシクロ [4. 1. 0]ヘプタ-5-イル)エチル]-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		466 (M+1)
31	6, 6-ジメチル-5-{2-[(3R)-3-メチルモルホリン-4-イル]エチル}-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン		468 (M+1)

【0 1 1 0】

実施例 3 2

5-[2-(2, 2-ジフルオロモルホリン-4-イル)エチル]-6, 6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロール-4-オン

【化 5 7】



EtOAc (5 mL) 中の水酸化パラジウム (炭素上 20%, 63 mg、0.09 mmol) の懸濁液を EtOAc (5 mL) 中の 4-ベンジル-2, 2-ジフルオロモルホリン (95 mg、0.45 mmol) で処理する。反応混合物を水素雰囲気 (バルーン) 下で室温にて 5 時間攪拌する。反応混合物を CELITE (登録商標) で濾過し、濾液を単離する。濾液に、トリエチルアミン (0.11 mL、0.79 mmol) および 2-[6, 6-ジメチル-2-[2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル]-4-オキソチエノ[2, 3-c]ピロール-5-イル]エチルメタンスルホネート (306 mg、0.66 mmol) を加える。混合物を 80℃にて 1 時間加熱する。ACN (15 mL) を加え、混合物を 80℃にて 2 日間加熱する。反応混合物を室温に冷却し、減圧下で濃縮する。残渣を、EtOAc 中の 0~10% MeOH の勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製する。画分を減圧下で濃縮する。残渣を、ヘキサン中の 50~100% EtOAc の勾配、続いて EtOAc 中の 0~10% MeOH の第 2 の勾配で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって再

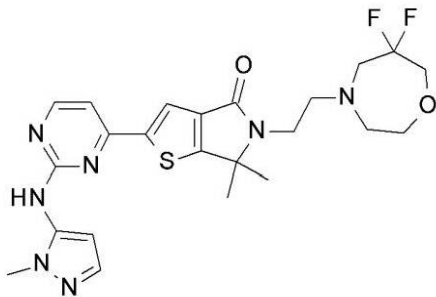
精製して標題化合物 47 mg (30%) を得る。MS (m/z) : 490 (M+1)。

【0111】

実施例 33

5-[2-(6,6-ジフルオロ-1,4-オキサゼパン-4-イル)エチル]-6,6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

【化58】



10

6,6-ジフルオロ-1,4-オキサゼパン塩酸塩 (200 mg、0.15 mmol) を DCM (5 mL) 中の炭酸塩樹脂 (3 モル当量) で処理する。樹脂懸濁液を 1 時間回転させる。濾過により固体を除去し、濾液を p-トルエンスルホン酸 (250 mg、1.45 mmol) で処理する。得られた混合物を 2 時間攪拌し、次いで混合物を減圧下で濃縮する。ACN (2 mL) および 2-[6,6-ジメチル-2-{2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-4-オキソチエノ[2,3-c]ピロール-5-イル]エチルメタンスルホネート (200 mg、0.43 mmol) を加える。得られた溶液をトリエチルアミン (0.15 mL、1.08 mmol) で処理する。反応容器を密封し、混合物を 80 °C にて 3 時間加熱する。室温に冷却し、反応混合物を濃縮する。残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (カラム: 50 g の C-18; 移動相: A) 水中の 0.1% TFA、B) ACN 中の 0.1% TFA; 勾配 10~80% B) によって精製する。生成物を含有する画分を濃縮する。残渣を DCM に溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄する。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (カラム: 15 g の金 C-18; 移動相: A) 10% MeOH を含む水中の 10 mM 炭酸アンモニウム、B) ACN; 勾配 10~80% B) により精製して、標題化合物 16 mg (7%) を得る。MS (m/z) : 504 (M+1)。

20

30

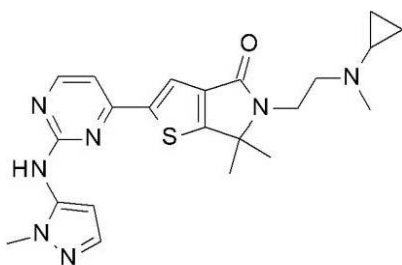
【0112】

実施例 34

5-{2-[シクロプロピル(メチル)アミノ]エチル}-6,6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン

40

【化59】



50

DMF (1.7 mL) 中の 2-[6,6-ジメチル-2-[2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル]-4-オキソ-チエノ[2,3-c]ピロール-5-イル]エチルメタンスルホネート (70 mg、0.16 mmol) および N-メチルシクロプロパンアミン (77 mg、1.08 mmol) の溶液を 90 °C にて一晩加熱する。混合物を室温に冷却する。溶液を逆相カラムクロマトグラフィー (カラム: 100 g の金 C-18; 移動相: A) 水中の 0.1 % ギ酸、B) 0.1 % ギ酸 ACN; 勾配: 5 分間 5 % B、25 分にわたって 65 % B の勾配; 流速: 60 mL/分) によって精製して標題化合物 70 mg (37 %) を得る。MS (m/z): 438 (M+1)。

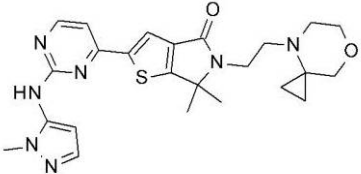
【0113】

以下の化合物を本質的に実施例 34 の方法によって調製する。

10

【0114】

【表 12】

実施例 番号	化学名	構造	物理 データ MS (m/z):
35	6,6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5-[2-(7-オキサ-4-アザスピロ[2.5]オクタ-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		480 (M+1)

20

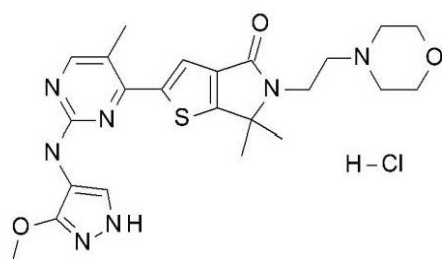
【0115】

実施例 36

2-{2-[(3-メトキシ-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]-5-メチルピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン塩酸塩

30

【化 60】



40

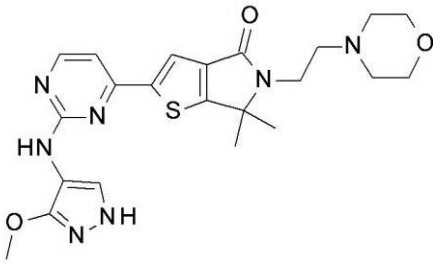
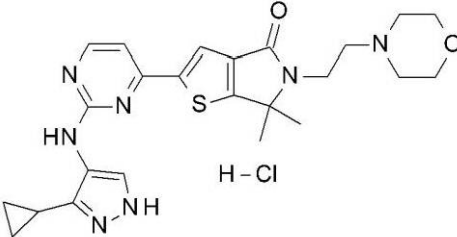
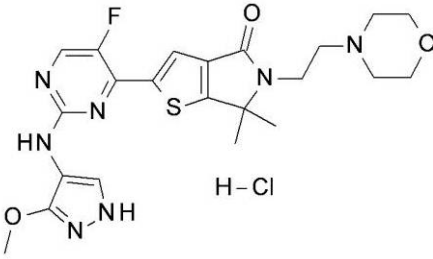
MeOH (20 mL) 中の tert-ブチル 4-[[4-[6,6-ジメチル-5-(2-モルホリノエチル)-4-オキソ-チエノ[2,3-c]ピロール-2-イル]-5-メチルピリミジン-2-イル]アミノ]-3-メトキシピラゾール-1-カルボキシレート (101 mg、0.173 mmol) および塩化水素 (1,4-ジオキサン中に 4.0 M、2 mL、8 mmol) の溶液を室温にて 12 時間攪拌する。混合物を濃縮乾固して標題化合物 80 mg (89 %) を得る。MS (m/z): 484 (M+1)。

【0116】

以下の化合物を本質的に実施例 36 の方法によって調製する。

【0117】

【表 13】

実施例 番号	化学名	構造	物理 データ MS (m/z):
37*	2-{2-[(3-メトキシ-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン		470 (M+1)
38	2-{2-[(5-シクロプロピル-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン塩酸塩		480 (M+1)
39	2-{5-フルオロ-2-[(3-メトキシ-1H-ピラゾール-4-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-6,6-ジメチル-5-[2-(モルホリン-4-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン塩酸塩		488 (M+1)

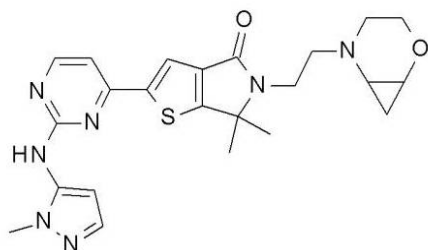
*: 反応後に調製した遊離塩基

【0118】

実施例 40

6,6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5-{2-[2-オキサ-5-アザビシクロ[4.1.0]ヘプタ-5-イル]エチル}-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン、異性体 2

【化 61】



6,6-ジメチル-2-{2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]ピリミジン-4-イル}-5-[2-(2-オキサ-5-アザビシクロ[4.1.0]ヘプタ-5-イル)エチル]-5,6-ジヒドロ-4H-チエノ[2,3-c]ピロール

－４－オン（実施例３０）を、キラルカラムクロマトグラフィー（カラム：Lux Cellulose－４ 21. 2×250mm；移動相：４０％イソプロピルアルコール（０．２％イソプロピルアミン）／CO₂）；溶出時間：１１分）によって精製して標題化合物２４mg（３４％）を得る。MS（m/z）：４６６（M＋１）。

【０１１９】

X線粉末回折

結晶性固体のXRDパターンを、３５kVおよび５０mAで作動する、CuK α 源（ λ ＝１．５４０６０Å）およびVantec検出器を備えたBruker D4 Endeavor X線粉末回折装置上で得る。試料を、 2θ での４～４０°で、 2θ でのステップサイズ０．００９°および走査速度０．５秒／ステップを用い、ならびに０．６mmの発散、５．２８mmの固定抗散乱、および９．５mmの検出器スリットを用いて走査する。乾燥粉末を石英試料ホルダに詰めて、滑面をスライドガラスを使用して得る。結晶形回折パターンを周囲温度および相対湿度で得る。結晶学技術分野において周知なのは、任意の所与の結晶形に関して、回折ピークの相対強度が、結晶形態および晶癖などの因子から生じる優先配向に起因して異なる可能性があることである。優先配向の効果が存在する場所では、ピーク強度が変化するが、多形体の特徴的ピーク位置は変化しない。さらに、任意の所与の結晶形に関して、ピーク角度位置が若干変化する場合がありますということも結晶学技術分野では周知である。例えば、試料を解析する温度もしくは湿度の変動、試料変位、または内部標準の存在もしくは非存在に起因して、ピーク位置はシフト可能である。この場合、 2θ での±０．２のピーク位置変動は、示される結晶形の明白な同定を妨げることなく、これらの潜在の変動を考慮に入れることにする。結晶形の確認は、区別可能なピーク（° 2θ 単位での）、典型的にはより顕著なピークの任意の特有の組み合わせに基づいてなされ得る。周囲温度および相対湿度で得られる結晶形回折パターンを、８．８５３および２６．７７４° 2θ でのNIST 675標準ピークに基づいて調整する。

10

20

【０１２０】

実施例１、結晶形１のX線粉末回折

６，６－ジメチル－２－〔２－〔（１－メチル－１H－ピラゾール－５－イル）アミノ〕ピリミジン－４－イル〕－５－〔２－（モルホリン－４－イル）エチル〕－５，６－ジヒドロ－４H－チエノ〔２，３－c〕ピロール－４－オン（結晶形１）

６，６－ジメチル－２－〔２－〔（１－メチル－１H－ピラゾール－５イル）アミノ〕ピリミジン－４－イル〕－５－〔２－（モルホリン－４－イル）エチル〕－５，６－ジヒドロ－４H－チエノ〔２，３－c〕ピロール－４－オン（１０３mg）をACN（１mL）および水（１mL）の溶液に加え、混合物を７０℃にて１０分間加熱する。溶液を濾過し、一晚室温に冷却する。水（２mL）を５時間にわたって溶液にゆっくり加える。固体を真空濾過により回収し、水で洗浄する。固体を空気乾燥させて標題化合物９４mg（９２％）を得る。

30

【０１２１】

実施例１の結晶形１の調製した試料を、CuK α 放射線を使用してXRDパターンによって、以下の表１に記載される回折ピーク（ 2θ 値）を有し、特に、０．２°の回折角に対する許容誤差で、１５．５、１７．１、１８．０、２０．２、２１．５および２２．１°からなる群から選択されるピークの１つ以上と共に１９．３°でのピークを有すると特徴付ける。

40

【０１２２】

【表 1 4】

表1. 実施例1の結晶形1のX線粉末回折ピーク

ピーク	角度 ($^{\circ} 2-\theta$)+/-0.2 $^{\circ}$	相対強度(最も強いピークの%)
1	7.1	7
2	8.8	11
3	12.6	7
4	14.3	6
5	15.5	29
6	16.6	15
7	17.1	25
8	17.6	8
9	18.0	63
10	18.7	13
11	19.3	100
12	20.2	24
13	20.7	14
14	21.5	27
15	22.1	26
16	22.8	9
17	23.8	13
18	24.5	10
19	26.4	15
20	27.2	13
21	28.0	9
22	29.3	8

10

20

30

【0123】

いくつかの系統の証拠により、腫瘍発生、成長および進行に関与するプロセスが、癌細胞における1つ以上のシグナル伝達経路の活性化によって媒介されることが示される。マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)経路は細胞増殖および生存の重要な調節因子である。ERKはこの経路の下流メンバーであり、EGFR、FGFR、PDGFR、VEGFRなどの活性化受容体チロシンキナーゼ(RTK)からの細胞外シグナルの伝達において中心的役割を果たす。この経路は、RAF、MEKおよびERK(細胞外シグナル調節キナーゼ)キナーゼからなる3つの段階的キナーゼカスケードであり、この経路の活性化はRAS、低分子GTPaseの活性化により開始する。RASの活性化により、RAFの動員、セリン/トレオニンキナーゼおよびその活性化が生じる。次いで活性化したRAFはリン酸化し、MRK1/2を活性化し、それは次にリン酸化し、ERK1/2を活性化する。活性化すると、ERK1/2は、細胞増殖、成長、生存およびEMT(上皮から間葉の変化)に関与するいくつかの下流の細胞質および核標的物をリン酸化す

40

50

る。

【0124】

RAS/MAPK経路は細胞増殖についての最も重要な経路の1つであり、この経路は全てのヒト癌の約30%において頻繁に活性化されると考えられる。構成的MAPK経路活性化は、RAS、BRAF、MEK1における変異の活性化、腫瘍抑制因子NF1の損失または変異によって媒介される上流活性化、RTKの増幅またはリガンド媒介活性化に起因し得る。3つ全てのRASファミリー遺伝子(KRAS、NRASおよびHRAS)は、最も一般的にはコドン12、13および61における一点変異の結果として、大腸癌、黒色腫、肺癌および膵癌を含む、いくつかの癌において体細胞変異することが示されている。これらの変異は、増加したERK1/2活性および成長シグナル伝達を伴うRASの構成的活性化を引き起こす。KRASのコドン12、13および61における変異は、EGFRを阻害する化合物およびモノクローナル抗体に耐性を与える。KRAS変異は、肺癌の30%、膵癌の90%、胃癌の10%および大腸癌の50%において見出される。NRAS変異は黒色腫の約10~25%において検出された。さらに、RAS変異(HRAS、KRASおよびNRAS)は甲状腺癌の約55~60%において識別されている。BRAFにおける体細胞点突然変異は、ヒト腫瘍の約8%、最も頻繁には黒色腫(60%)、大腸癌(10%)および甲状腺癌(50%)において発生する。黒色腫において、全てのBRAF変異はキナーゼドメイン内であるように見え、単一置換(T→A、V600E)は変異の80%を占める。BRAF変異は、まれな例外として、RAS変異との相互排他的パターンにおいて見出され、これらの遺伝子変化は共通の下流エフェクターを活性化することが示唆される。

10

20

【0125】

生物学的アッセイ

以下のアッセイは、本発明の例示的な化合物がERK1およびERK2キナーゼ活性の阻害剤であることを実証している。以下のアッセイの結果はまた、本発明の例示的な化合物が癌細胞におけるERKシグナル伝達を阻害することを実証している。さらに、実施例1の化合物は、癌の特定の異種移植腫瘍モデルにおけるERK経路標的阻害を実証している。さらに、実施例1の化合物は癌の特定の異種移植腫瘍モデルにおける腫瘍成長を阻害する。

【0126】

30

ERK1キナーゼアッセイ

このアッセイの目的は、ERK1キナーゼ活性を阻害する化合物の能力を測定することである。TR-FRETアッセイを使用してインビトロでERK1キナーゼアッセイを実施する。384ウェルPROXIPATE(商標)(Perkin Elmer、#GRN6260)において、5μLのERK1酵素(Invitrogen、#PR5254B、最終濃度100ng/mL)と基質GFP-ATF2(Invitrogen、#PV4445、最終濃度0.2μM)、キナーゼ緩衝液(50mMのHepes pH7.4、5mMのMgCl₂、0.1mMのEGTA、0.01%のTriton X-100、1mMのDTT)中で調製した5μLのATP溶液(Invitrogen、#PV3227、最終濃度10μM)およびDMSO溶液中の2.5μLの試験化合物(最終4%、v/v)を加えることによって反応(12.5μL)を開始する。反応混合物を室温にて60分間インキュベートする。TR-FRET希釈緩衝液(Invitrogen、#PV3574)中の12.5μLの停止緩衝液(10mMのEDTA、2nMのTb-抗pATF2(pThr71)抗体、Invitrogen、#PV4448)を加えることによって反応を停止させる。プレートは室温にてさらに60分間インキュベートし、励起波長340nmにてENVISION(登録商標)(Perkin Elmer)プレートリーダーで読み取る。GFPアクセプター放出シグナル(520nmにて)をTbドナー放出シグナル(495nmにて)で割ることによってTR-FRET比を算出する。オンプレートMax(DMSO対照)およびMin(酵素添加なし)対照ウェルTR-FRET比データに対して化合物処理したウェルを使用して阻害パーセントを算出する{

40

50

阻害% = $100 - \left[\frac{(\text{試験化合物} - \text{中央値Min})}{(\text{中央値Max} - \text{中央値Min})} \times 100 \right]$ }。1:3の希釈スキームを使用して10の濃度(20 μM ~ 0.001 μM)にて全ての化合物を試験する。ACTIVITYBASE(登録商標)7.3(ID Business Solutions Limited)を使用して阻害パーセントおよび10点濃度データを4-パラメーター非線形ロジスティック式(式205)に適合することによってAbs-IC₅₀値を導く。

【0127】

本発明の範囲内の例示した化合物を実質的に上記のようにこのアッセイにおいて試験する。このアッセイの結果は、例示した化合物の全てが、0.15 μM未満のIC₅₀値でERK1キナーゼ活性を阻害することを実証している。例えば、実施例1の化合物は4.86 nM(±0.20、n=7)のIC₅₀値を有する。

10

【0128】

ERK2キナーゼアッセイ

このアッセイの目的は、ERK2キナーゼ活性を阻害する化合物の能力を測定することである。TR-FRETアッセイを使用してインビトロでERK2キナーゼアッセイを実施する。384ウェルPROXIPATE(商標)(Perkin Elmer、#GRN6260)において、5 μLのERK2酵素(Invitrogen、#PV3595B、最終濃度50 ng/mL)と基質GFP-ATF2(Invitrogen、#PV4445、最終濃度0.2 μM)、キナーゼ緩衝液(50 mMのHepes pH7.4、5 mMのMgCl₂、0.1 mMのEGTA、0.01%のTriton X-100、1 mMのDTT)中で調製した5 μLのATP溶液(Invitrogen、#PV3227、最終濃度10 μM)およびDMSO溶液中の2.5 μLの試験化合物(最終4%、v/v)を加えることによって全ての反応(12.5 μL)を開始する。反応物を室温にて60分間インキュベートする。TR-FRET希釈緩衝液(Invitrogen、#PV3574)中の12.5 μLの停止緩衝液(10 mMのEDTA、2 nMのTb-抗pATF2(pThr71)抗体、Invitrogen、#PV4448)を加えることによって反応を停止させる。プレートを室温にてさらに60分間インキュベートし、励起波長340 nmにてENVISION(登録商標)(Perkin Elmer)プレートリーダーで読み取る。GFPアクセプター放出シグナル(520 nmにて)をTbドナー放出シグナル(495 nmにて)で割ることによってTR-FRET比を算出する。オンプレートMax(DMSO対照)およびMin(酵素添加なし)対照ウェルTR-FRET比データに対して化合物ウェルを使用して阻害パーセントを算出する{阻害% = $100 - \left[\frac{(\text{試験化合物} - \text{中央値Min})}{(\text{中央値Max} - \text{中央値Min})} \times 100 \right]$ }。1:3希釈スキームを使用して10の濃度(20 μM ~ 0.001 μM)で全ての化合物を試験する。ACTIVITYBASE7.3(ID Business Solutions Limited)を使用して阻害パーセントおよび10点濃度データを4-パラメーター非線形ロジスティック式(式205)に適合することによってAbs-IC₅₀値を導く。

20

30

【0129】

本発明の範囲内の例示した化合物を実質的に上記のようにこのアッセイにおいて試験する。このアッセイの結果は、例示した化合物の全てが、0.15 μM未満のIC₅₀値でERK2キナーゼ活性を阻害することを実証している。例えば、実施例1の化合物は5.24 nM(±0.24、n=7)のIC₅₀値を有する。

40

【0130】

ERK1/2細胞機構アッセイ(pRSK1アルファスクリーンアッセイ)

このアッセイの目的は、インビトロで癌細胞におけるERKシグナル伝達を阻害する化合物の能力を測定することである。HCT116大腸癌細胞株(ATCC、#CCL-247)を使用してpRSK1アルファスクリーンアッセイを実施する。T-150フラスコ内で5%ウシ胎仔血清(FBS)(Gibco、#16000-044)を含有するダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)(HyClone、#SH30022)成長培地

50

中でHCT116細胞を慣用的に培養し、37℃にて5%CO₂インキュベーター内でインキュベートする。細胞がコンフルエントになると細胞を採取し、「アッセイの準備ができた凍結細胞」として 1×10^7 細胞/mLにて凍結培地中で凍結させ、液体窒素中で保存する。アッセイを実施するために、96ウェル組織培養プレートに40,000HCT116細胞/ウェルを播種し、5%CO₂インキュベーター内で37℃にて一晩インキュベートする。20μMの最も高い濃度で開始して10の濃度で化合物を試験し、0.5% (v/v)の最終DMSO濃度で1:3希釈スキーム(20μM~0.001μM)を利用する。20μLの無血清成長培地中に化合物を加え、37℃にて2時間インキュベートする。成長培地を取り除き、1×holtプロテアーゼおよびリン酸塩阻害剤カクテル[Thermo、#78441]を含有する50μLの1×溶解緩衝液[Cell Signaling Technology、#9803]を各ウェルに加え、振盪器で室温にて10分間インキュベートする。各ウェルからの4μLの細胞溶解物を384ウェルアッセイプレート[Perkin Elmer、#6006280]におけるそれぞれのウェルに移し、5μLの反応混合物[2000部の1×アッセイ緩衝液(Perkin Elmer、#A1000)、1部のピオチン-RSK1抗体(Santa Cruz、#sc-231-B-G)、4部のpRSK1抗体(Abcam、#ab32413)、35部のアクセプタービーズ(Perkin Elmer、#6760617R)]を加える。プレートをオイルプレートシール(Beckman Coulter、#538619)で密閉し、室温にて2時間インキュベートする。2μLのドナービーズ[20部の1×アッセイ緩衝液、1部のドナービーズ]を各ウェルに加え、プレートを透明なプレートシール(Applied Biosystems、#4311971)で密閉し、暗所で室温にて2時間インキュベートする。ENVISION(登録商標)(Perkin Elmer)プレートリーダーでプレートを読み取ることによって各ウェルにおける蛍光強度を測定する。ACTIVITYBASE(登録商標)7.3(ID Business Solutions Limited)を使用してpRSK1阻害パーセント[阻害% = $100 - [(試験化合物 - 中央値Min) / (中央値Max - 中央値Min)] \times 100$]および10点濃度データを4-パラメーター非線形ロジスティック式(ABase式205)に適合することによってRel IC₅₀値を導く。

【0131】

本発明の範囲内の例示した化合物を実質的に上記のようにこのアッセイにおいて試験する。このアッセイの結果は、例示した化合物の全てが、腫瘍細胞において3μM未満のIC₅₀値でERK基質(RSK)リン酸化を阻害することを実証している。例えば、実施例1の化合物は0.429μM(±0.173、n=8)のIC₅₀値を有する。

【0132】

インビボでの標的阻害(IVTI)アッセイ(pRSK1 ELISAアッセイ)

このアッセイの目的は、動物モデルにおけるERK1/2基質リン酸化を阻害する試験化合物の能力を測定することである。Harlan Laboratoriesからのメスの無胸腺ヌードマウス(22~25g)に、200μLの1:1のハンクス平衡塩溶液(HBSS)+マトリゲル溶液中の 5×10^6 のHCT116大腸癌細胞(ATCC、#CCL-247)を右脇腹領域の皮下に移植する。移植の7日後に開始して1週間に2回、腫瘍成長および体重を測定する。腫瘍サイズが300~500mm³に到達したとき、動物を無作為化し、5匹の動物の群に分類する。化合物特異的ビヒクル中の適切な用量の化合物またはビヒクル単独(ビヒクル:1%HEC/0.25%Tween80/0.05%消泡剤)のいずれかを動物に経口投与し、投与後、所望の時間間隔で腫瘍および血液を採取する。イソフルラン麻酔と頸椎脱臼を使用して動物を屠殺する。腫瘍を急速冷凍し、ELISAアッセイによってpRSK1レベルを処理するまで-80℃で保存する。EDTAチューブ内に血液を回収し、血漿を沈殿させ、96ウェルプレート内で-80℃にて凍結する。標準的な方法を使用して化合物曝露を測定する。

【0133】

液体窒素中で腫瘍を粉砕し、冷室(4℃)でFast Prep-24(商標)細胞破壊

器 (MP Biomedical) においてマトリクスDビーズ (MP Biomedical、#6913-500) を使用して、 $1\times$ halt プロテアーゼおよびリン酸塩阻害剤カクテル (Thermo Scientific、#0861281)、 1mM のフッ化フェニルメタンスルホニル (PMSF) (Sigma、#93482-50ML-F) および $1\text{ }\mu\text{M}$ のメタバナジン酸ナトリウム (Sigma、#590088) を含有する $1\times$ 溶解緩衝液 (MSD、#R60TX-3) 中に溶解する。 4°C 、 14000rpm にて20分間回転させた後、腫瘍溶解物を新たなチューブに移す。Pierce BCAタンパク質アッセイキット (カタログ番号23225、Thermo Scientific) を使用して腫瘍または細胞溶解物のタンパク質濃度を測定する。このキットは、3つの主な成分— (1) 0.1M の水酸化ナトリウム中に炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ピシンコニン酸および酒石酸ナトリウムを含有するBCA試薬A、(2) 4%の硫酸銅を含有するBCA試薬B、ならびに (3) 0.9%の生理食塩水および0.05%のアジ化ナトリウム中で 2mg/mL を含有するアルブミン標準アンプルを含む。96ウェルプレート中に、二連ウェルにおいて $25\text{ }\mu\text{L}$ で $20\sim 2000\text{ }\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲のウシ血清アルブミンタンパク質標準物を加えて標準曲線を生成する。 $25\text{ }\mu\text{L}$ の $1\times\text{PBS}$ 中で希釈した細胞または腫瘍溶解物を二連試験ウェルに加える。2%の試薬Bを試薬Aに加える (2mL のB+ 98mL のA) ことによって作業BCA試薬を調製し、ウェルを混合し、 $200\text{ }\mu\text{L}$ を各試料または標準物に加える。ウェルを混合し、プレートを覆い、 37°C にて30分間インキュベートする。プレートを室温に冷却し、 562nm においてまたは 562nm 付近で吸光度をプレートリーダー (Perkin Elmer製のEnvisionプレートリーダー) で測定する。ブランク標準複製物の平均 562nm 吸光測定値を全ての他の個々の標準および未知 (細胞または腫瘍溶解物) 試料複製物の 562nm 測定値から差し引く。各々のウシ血清アルブミン標準物についての平均ブランク補正 562nm 測定値をその濃度 ($\mu\text{g/mL}$) に対してプロットすることによって標準曲線を作成する。標準曲線を使用して、各々の未知の試料のタンパク質濃度をMicrosoft Excelでの曲線適合対数を使用して決定する。 -80°C にて腫瘍溶解物を凍結させたままにする。一度凍結解凍した腫瘍溶解物を使用して、サンドイッチELISAによってpRSK1発現を測定する。

【0134】

96ウェルプレート (Thermo、#15042) を 4°C にて一晩、 40ng のRSK1ヤギ抗体 (Santa Cruz、#sc-231-G) でコーティングし、室温にて1時間、次いで 4°C にて一晩インキュベートする。 $300\text{ }\mu\text{L}$ のPBST (0.05% のTween-20を含有する $1\times$ リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)) で3回プレートを洗浄し、 $100\text{ }\mu\text{L}$ /ウェルの遮断緩衝液 (Thermo Scientific、#37532) で遮断し、室温にて2時間インキュベートする。 $300\text{ }\mu\text{L}$ のPBSTでプレートを3回洗浄し、 $20\text{ }\mu\text{g}$ の腫瘍溶解物を各ウェルに移し、 4°C にて一晩インキュベートする。 $300\text{ }\mu\text{L}$ のPBSTでプレートを3回洗浄し、 $100\text{ }\mu\text{L}$ のpRSK1 (T359/S363) ウサギ抗体 (遮断緩衝液中で $1:1000$ 希釈) と室温にて1時間インキュベートする。 $300\text{ }\mu\text{L}$ のPBSTでプレートを3回洗浄し、 $100\text{ }\mu\text{L}$ の抗ウサギHRPコンジュゲート二次抗体 (GE Healthcare UK、#NA934V; 遮断緩衝液中で $1:10000$ 希釈) とインキュベートする。室温にて1時間インキュベートする。 $300\text{ }\mu\text{L}$ のPBSTでプレートを3回洗浄し、 $100\text{ }\mu\text{L}$ のSUPER SIGNAL (登録商標) ELISA Femto最大感度基質 (Thermo、#37075) を加え、振盪器で1分間インキュベートする。ENVISION (登録商標) プレートリーダーを使用して発光シグナルを決定する。ビヒクル単独で処理した動物由来の腫瘍溶解物を 100% とみなすことによって各腫瘍溶解物においてpRSK1レベルを決定する。各試料を二連で分析し、計算のために平均数を使用する。ExcelおよびXLfitを使用してTED₅₀を算出する。

【0135】

本発明の範囲内である化合物を実質的に上記のようにこのアッセイにおいて試験する。

このアッセイの結果は、実施例 1 の化合物が腫瘍異種移植モデルにおいて R S K 1 リン酸化を阻害することを実証している。例えば、実施例 1 の化合物は $16 \text{ mg} / \text{kg}$ の TD_{50} 値を有する。

【0136】

異種移植腫瘍モデル

このアッセイの目的は、試験化合物投与に反応する腫瘍体積の減少を測定することである。培養物中でヒト大腸癌細胞 HCT 116 (ATCC、# CCL-247) を増殖させ、採取し、 $200 \mu\text{L}$ の 1:1 の HBSS+マトリゲル溶液中の 5×10^6 細胞を、メスの無胸腺ヌードマウス (22~25 g、Harlan Laboratories) の後部右脇腹に皮下注射する。培養物中でヒト膵癌細胞 MIA PACA-2 (ATCC、# CRL-1420) またはヒト非小細胞肺癌細胞 CALU-6 (ATCC、# HTB-56) またはヒト大腸癌細胞 COLO-205 (ATCC、# CCL-222) を増殖させ、採取し、 $200 \mu\text{L}$ の 1:1 の HBSS+マトリゲル溶液中の 5×10^6 細胞を、メスの無胸腺ヌードマウス (22~25 g、Harlan Laboratories) の後部右脇腹に皮下注射する。移植の 7 日後に開始して 1 週間に 2 回、腫瘍成長および体重を測定する。腫瘍サイズが $200 \sim 400 \text{ mm}^3$ に到達したとき、動物を無作為化し、8~10 匹の動物の群に分類する。適切なビヒクル (ビヒクル: 1% HEC / 0.25% Tween 80 / 0.05% 消泡剤) 中に試験化合物を調製し、14~21 日間、経口強制投与する。腫瘍反応を、処置過程の間、1 週間に 2 回実施する腫瘍体積測定によって決定する。体重を毒性の一般的尺度とみなす。

10

20

【0137】

本発明の範囲内である化合物を実質的に上記のようにこのアッセイにおいて試験する。実施例 1 の化合物は以下の表 2 に提供されるようなデルタ T / C % 値を有することが見出される。これらの結果は、実施例 1 の化合物が、HCT 116、MIA PACA-2、CALU-6 および COLO-205 を含む、いくつかのヒト癌異種移植モデルにおいて有意な抗腫瘍活性を実証していることを示す。

【0138】

【表 15】

表2: 異種移植モデルにおける実施例1の効果

腫瘍モデル	用量 (mg/kg)	スケジュール	p-値	デルタT/C% またはRegr%	TGI%
HCT116	25	QD		-8	108
HCT116	50	QD	<0.001*	11	89
HCT116	100	QD	<0.001*	-25	125
MIA PACA-2	12.5	QD	0.003*	32	68
MIA PACA-2	25	QD	<0.001*	2	98
MIA PACA-2	50	QD	<0.001*	-22	122
MIA PACA-2	100	QD	<0.001*	-66	166
CALU-6	12.5	QD	0.010*	22	78
CALU-6	25	QD	0.005*	14	86
CALU-6	50	QD	<0.001*	-31	131
CALU-6	100	QD	<0.001*	-77	177
COLO-205	12.5	QD	<0.001*	-19	119
COLO-205	25	QD	<0.001*	-32	132
COLO-205	100	QD	<0.001*	-76	176

腫瘍体積についての分析はLog10およびSpatialPower共分散構造に基づく。

*: 有意(p<0.05)

NA: 非適用

デルタT/C%は、処置群におけるエンドポイント腫瘍体積がベースライン腫瘍体積にあるか、または超えるときに算出する。式は $100 \times (T - T_0) / (C - C_0)$ である。式中、TおよびCはそれぞれ処置群または対照群における平均エンドポイント腫瘍体積である。T₀およびC₀はそれらの群における平均ベースライン腫瘍体積である。

退縮%は、エンドポイント体積がベースライン未満にあるときに算出する。式は $100 \times (T - T_0) / T_0$ である。式中、T₀は処置群についての平均ベースライン腫瘍体積である。

HCT116、MIA PACA-2およびCALU-6のモデルについて、10日、20日および15日のそれぞれにおけるベースラインからの全ての群(無作為化)の総平均を使用してT/Cの変化%をコンピューターで算出する。

【0139】

インビボでの併用研究

腫瘍の不均一性に起因して、併用療法は、効果的な療法のため、または獲得耐性を克服するために特定の種類の癌治療において不可欠である。標的療法の併用は、癌の遅延または停止においてもより効果的である可能性を有すると仮定される。これに関して、実施例1の化合物を、pan-RAF阻害化合物(国際公開第2013/134243号、1-(3,3-ジメチルブチル)-3-(2-フルオロ-4-メチル-5-(7-メチル-2-(メチルアミノ)ピリド[2,3-d]ピリミジン-6-イル)フェニル)尿素を参照のこと、本明細書以下において「pan-RAF阻害化合物」、CDK4/6阻害化合物(国際公開第2010/075074、[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-3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミン、またはその薬学的に許容可能な塩を参照のこと、本明細書以下において「CDK4/6阻害化合物」、またはDC101(例えば、Witte L.ら、Cancer Metastasis Rev.、17、155-161、1998、抗VEGFR2 Abに対してマウスにおける代用物として実験において使用され得るマウスVEGFR2に対するラットモノクローナル抗体、好ましくはラムシルマブ(Cyramza(登録商標)、IMC-1121b、CAS登録番号947687-13-0としても知られてい

る、国際公開第2003/075840号を参照のこと）を参照のこと）と併用した腫瘍成長阻害について試験する。より具体的には、実施例1の化合物を、HCT116、KRAS変異大腸癌異種移植モデルにおいてpan-RAF阻害化合物またはCDK4/6阻害化合物のいずれかと併用して試験する。また、実施例1の化合物を、NCI-H441、A549およびNCI-H2122、KRAS変異非小細胞肺癌（NSCLC）異種移植モデルにおいてCDK4/6阻害化合物またはDC101のいずれかと併用して試験する。

【0140】

HCT116併用有効性研究を無胸腺ヌードラットにおいて行う。培養物中でヒト大腸癌細胞HCT116（ATCC、#CCL-247）を増殖させ、採取し、200 μ Lの1:1のHBSS+マトリゲル溶液中の5 $\times$ 10⁶細胞を、メスのNIHヌードラット（120～145gm、Taconic Farms）の後部右脇腹に皮下注射する。移植の7日後に開始して1週間に2回、腫瘍成長および体重を測定する。平均腫瘍サイズが200～300mm³に到達したとき、動物を無作為化し、5～7匹の動物の群に分類する。適切なビヒクル（以下を参照のこと）中に試験化合物を調製し、21～28日間、強制経口投与する。腫瘍反応を、処置過程の間、1週間に2回実施する、腫瘍体積測定によって決定する。この研究において使用したビヒクルは1%HEC（ヒドロキシエチルセルロース）/0.25%Tween（登録商標）80/0.05%消泡剤である。実施例1の化合物およびpan-RAF阻害化合物を1%HEC/0.25%Tween（登録商標）80/0.05%消泡剤中で製剤化する。CDK4/6阻害化合物を、25mMのリン酸ナトリウム緩衝液、pH2中の1%のHEC中で製剤化する。10mpkおよび20mpkのQDでの実施例1の化合物の投与は、それぞれ52%および64%の腫瘍成長阻害の単剤活性を生じる（表3）。対照的に、10mpkおよび20mpkのBIDでのpan-RAF阻害化合物の投与は、それぞれ29%および68%の単剤活性を生じる。全ての処置は、10mpkのBIDでのpan-RAF阻害化合物を除いてビヒクル対照から統計的に有意である（ $p < 0.05$ ）。10mpkのBIDでのpan-RAF阻害化合物と併用した10mpkのQDでの実施例1の投与は94%の腫瘍成長阻害（ $p < 0.001$ ）を生じ、併用結果はBliss Independence法によって算出して「相乗的」である（表3）。この併用は有意な体重損失がないので許容可能であるように見える。20mpkのBIDでのpan-RAF阻害化合物と併用した10mpkのQDでの実施例1の化合物の投与もまた、有意（ $p < 0.05$ ）な腫瘍成長阻害（95%）を生じ、併用結果はBliss Independence法によって算出して「付加」である（表3）。この併用は有意な体重損失がないので許容可能であるように見える。同じ研究において、20mpkのQDでのCDK4/6阻害化合物と併用した10mpkのQDでの実施例1の化合物の投与は98%の腫瘍成長阻害を生じるのに対して、実施例1の化合物およびCDK4/6阻害化合物の単剤効果はそれぞれ52%および76%の腫瘍成長阻害である。これらの2つの薬剤の併用はBliss Independence法によって算出して統計的に有意な「付加」結果を示す（表3）。この併用は有意な体重損失がないので許容可能であるように見える。これらの結果は、pan-RAF阻害化合物またはCDK4/6阻害化合物のいずれかとの実施例1の化合物の併用が、KRAS変異大腸癌を有する患者に、より大きな利点を提供できることを示唆している。

【0141】

【表 16】

表3:HCT116 KRAS変異大腸癌異種移植モデルにおけるpan-RAF阻害化合物またはCDK4/6阻害化合物との実施例1の化合物の併用研究

処置	化合物	用量 (mg/kg)	スケジ ュール	デルタ T/C%	TGI%	p-値	併用結果**
1	ビヒクル	NA	BID	NA	NA	NA	NA
2	実施例1	10	QD	48	52	0.038*	NA
3	実施例1	20	QD	36	64	0.005*	NA
4	pan-RAF 阻害剤	10	BID	71	29	0.303	NA
5	pan-RAF 阻害剤	20	BID	32	68	0.001*	NA
6	CDK4/6 阻害剤	20	QD	24	76	<0.001*	NA
7	実施例1+ pan-RAF 阻害剤	10, 10	QD, BID	6	94	<0.001*	相乗的
8	実施例1+ pan-RAF 阻害剤	10, 20	QD, BID	5	95	<0.001*	付加
9	実施例1+ CDK4/6 阻害剤	10, 20	QD, QD	2	98	<0.001*	付加

腫瘍体積についての分析はLog10およびSpatialPower共分散構造に基づく。

*:有意($p < 0.05$)

**2種の薬剤の併用の統計効果は、Bliss Independence法によって決定する:最初に、反復測定モデルを、群、時間および群×時間(group-by-time)に対してlog腫瘍体積に適合する。次に、コントラストステートメント(contrast statement)を使用して、各時点における相互作用効果を試験する。併用についての予想される付加反応(EAR)は、 $EAR体積 = V_1 * V_2 / V_0$ (式中、 V_0 、 V_1 および V_2 は、ビヒクル対照、処置1のみ、および処置2のみのそれぞれについての推定される平均腫瘍体積である)として腫瘍体積スケールに基づいて算出される。相互作用試験が有意($p < 0.05$)ならば、試験した用量およびスケジュールにおいて、観察された併用の体積がEAR体積未満である場合、併用効果は相乗的と示され、観察された併用の体積がEAR体積よりも大きい場合、拮抗またはそうでなければ付加である。

NA:非適用

デルタT/C%は、処置群におけるエンドポイント腫瘍体積がベースライン腫瘍体積にあるか、または超えるときに算出する。式は $100 * (T - T_0) / (C - C_0)$ である。式中、TおよびCはそれぞれ処置群または対照群における平均エンドポイント腫瘍体積である。 T_0 および C_0 はそれらの群における平均ベースライン腫瘍体積である。

全ての研究において28日間投与する。

11日におけるベースラインからの全ての群(無作為化)の総平均を使用してT/Cの変化%をコンピューターで算出する。

【0142】

併用効果をまた、SCIDマウスにおけるA549(KRAS_G12S)ならびに無胸腺ヌードマウスにおけるNCI-H441(KRAS_G12V)およびNCI-H2122(KRAS_G12C)を含む、3つのKRAS変異NSCLC異種移植モデルにおいて試験する。培養物中でヒト非小細胞肺癌細胞NCI-H441(ATCC、#CR

L-5807) およびNCI-H2122 (ATCC、#CRL-5985) を増殖させ、採取し、200 μ Lの1:1のHBSS+マトリゲル溶液中の 5×10^6 細胞を、メスの無胸腺ヌードマウス(20~22 gm、Harlan Laboratories)の後部右脇腹に皮下注射する。培養物中でヒト非小細胞肺癌細胞A549 (ATCC、#CC1-185) を増殖させ、採取し、200 μ Lの1:1のHBSS+マトリゲル溶液中の 5×10^6 細胞を、メスのCB-17 SCIDマウス(18~20 gm、Taconic Farms)の後部右脇腹に皮下注射する。全ての細胞株について、移植の7日後に開始して1週間に2回、腫瘍成長および体重を測定する。平均腫瘍サイズが200~300 mm³に到達したとき、動物を無作為化し、5~7匹の動物の群に分類する。適切なビヒクル(以下を参照のこと)中に試験化合物を調製し、21~28日間、強制経口(実施例1の化合物およびCDK4/6阻害化合物)または腹腔内(DC101)投与する。腫瘍反応を、処置過程の間、1週間に2回実施する腫瘍体積測定によって決定する。これらの研究において使用したビヒクルは、1%HEC/0.25%Tween(登録商標)80/0.05%消泡剤である。実施例1の化合物は、1%HEC/0.25%Tween(登録商標)80/0.05%消泡剤中で製剤化し、CDK4/6阻害化合物は、25mMのリン酸ナトリウム緩衝液、pH2中の1%HEC中で製剤化する。50mpkでの単剤としての実施例1の化合物の投与は、NCI-H2122およびA549腫瘍のそれぞれにおいて41%および91%の腫瘍成長阻害を生じ、NCI-H441腫瘍において101%の腫瘍成長阻害(すなわち、1%の腫瘍退縮)を導く。50mpkでの単剤としてのCDK4/6阻害化合物の投与は、NCI-H2122、A549およびNCI-H441モデルのそれぞれにおいて53%、51%および81%の腫瘍成長阻害を生じる。また、実施例1の化合物(50mpk)とCDK4/6阻害化合物(50mpk)の併用は、A549およびNCI-H441腫瘍のそれぞれにおいて151%(すなわち51%退縮)および147%(すなわち47%退縮)の腫瘍成長阻害、ならびにNCI-H2122腫瘍において82%の腫瘍成長阻害を生じる。3つ全ての腫瘍モデルにおける併用結果は、Bliss Independence法によって算出して「付加」である(表4)。概して、全ての処置は、有意な体重損失がないことによって示されるようにこれらの研究において許容可能であるように見える。同じNCI-H441異種移植モデルにおいて、リン酸緩衝液中のDC101もまた、単剤として、または50mpk、QDでの実施例1の化合物と併用して1週間に2回(BIW)で28日間、腹腔内に投与する。20mpk、BIWでのDC101の投与は、102%の腫瘍成長阻害(すなわち2%退縮)の単剤活性を生じる。50mpk、QDでの実施例1の化合物と、20mpk、BIWでのDC101の併用は、146%の腫瘍成長阻害(すなわち46%退縮)を生じる。この併用結果は、Bliss Independence法によって算出して「付加」である(表4)。この併用は、有意な体重損失がないので許容可能であるように見える。これらの結果は、実施例1の化合物と、CDK4/6阻害化合物または抗VEGFR2抗体のいずれかとの併用が、KRAS変異を有する非小細胞肺癌患者に、より大きな利点を提供できることを示唆している。

【0143】

10

20

30

【表 17】

表4:KRAS変異非小細胞肺癌異種移植モデルにおけるCDK4/6阻害化合物またはDC101との実施例1の化合物の併用研究

腫瘍モデル	処置	化合物	用量 (mg/kg)	スケジュール	デルタT/C %	退縮%	p-値 (対ビヒクル)	併用効果**
NCI-H441 NSCLC モデル	1	ビヒクル	NA	QD	NA	NA	NA	NA
	2	CDK4/6 阻害剤	50	QD	19	NA	<0.001*	NA
	3	DC101	20	BIW	NA	2	<0.001*	NA
	4	実施例1	50	QD	NA	1	<0.001*	NA
	5	実施例1 + DC101	50 20	QD BIW	NA	46	<0.001*	付加
	6	実施例1 + CDK4/6 阻害剤	50 50	QD QD	NA	47	<0.001*	付加
A549 NSCLC モデル	1	ビヒクル	NA	QD	NA	NA	NA	NA
	2	CDK4/6 阻害剤	50	QD	49	NA	0.033*	NA
	3	実施例1	50	QD	9	NA	<0.001*	NA
	4	実施例1 + CDK4/6 阻害剤	50 50	QD QD	NA	51	<0.001*	付加
NCI-H2122 NSCLCモデル	1	ビヒクル	NA	QD	NA	NA	NA	NA
	2	CDK4/6 阻害剤	50	QD	47	NA	0.008*	NA
	3	実施例1	50	QD	59	NA	0.055	NA
	4	実施例1 + CDK4/6 阻害剤	50 50	QD QD	18	NA	<0.001*	付加

* 腫瘍体積についての分析はLog10変換およびspecial power共分散構造を用いた反復測定ANOVAに基づく。

*:有意(p<0.05)

**2種の薬剤の併用の統計効果は、Bliss Independence法によって決定する:最初に、反復測定モデルを、群、時間および群×時間 (group-by-time)に対してlog腫瘍体積に適合する。次に、コントラストステートメント(contrast statement)を使用して、各時点における相互作用効果を試験する。併用についての予想される付加反応(EAR)は、EAR体積=V1*V2/V0(式中、V0、V1およびV2は、ビヒクル対照、処置1のみ、および処置2のみのそれぞれについての推定される平均腫瘍体積である)として腫瘍体積スケールに基づいて算出される。相互作用試験が有意(p<0.05)ならば、試験した用量およびスケジュールにおいて、観察された併用の体積がEAR体積未満である場合、併用効果は相乗的と示され、観察された併用の体積がEAR体積よりも大きい場合、拮抗またはそうでなければ付加である。

NA:非適用

デルタT/C%は、処置群におけるエンドポイント腫瘍体積がベースライン腫瘍体積にあるか、または超えるときに算出する。式は $100 \times (T - T_0) / (C - C_0)$ である。式中、TおよびCはそれぞれ処置群または対照群における平均エンドポイント腫瘍体積である。T₀およびC₀はそれらの群における平均ベースライン腫瘍体積である。

11日(HCT116)、25日(NCI-H441)、22日(A549)、18日(NCI-H2122)におけるベースライン(無作為化)を使用してT/Cの変化%をコンピューターで算出する。

全ての研究において28日間投与する。

【提出日】平成29年6月20日(2017.6.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

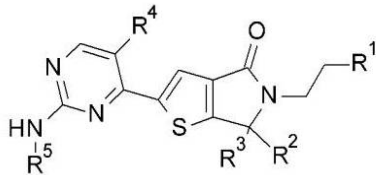
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式の化合物：

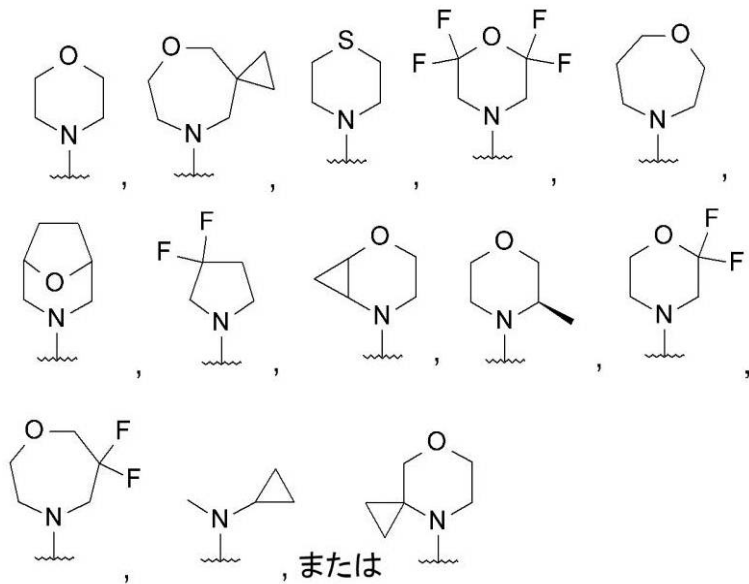
【化1】



(式中、

R^1 は、

【化2】



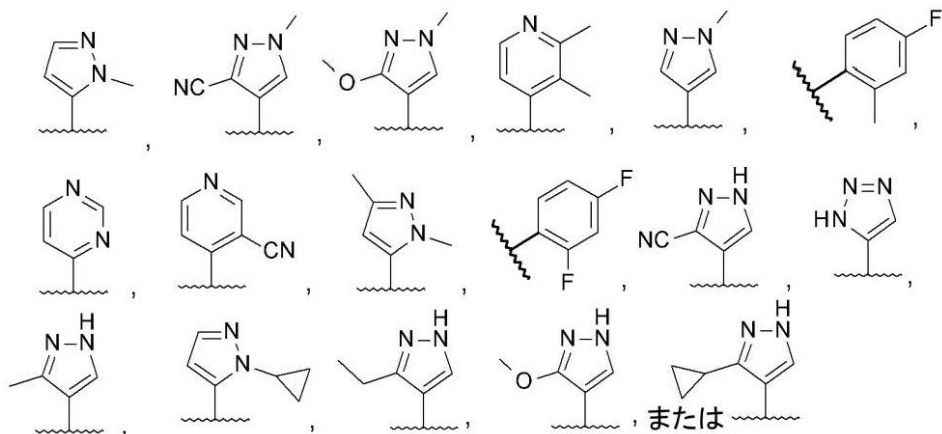
であり、

R^2 および R^3 はメチルであるか、または R^2 および R^3 は一緒になってシクロプロピルを形成してもよく、

R^4 は、水素、メチル、クロロ、フルオロまたはトリフルオロメチルであり、

R^5 は、

【化 3】



である)

またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 2】

R^2 および R^3 は独立してメチルである、請求項 1 に記載の化合物または塩。

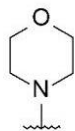
【請求項 3】

R^4 は水素である、請求項 2 に記載の化合物または塩。

【請求項 4】

R^1 は、

【化 4】

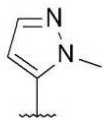


である、請求項 3 に記載の化合物または塩。

【請求項 5】

R^5 は、

【化 5】



である、請求項 3 に記載の化合物または塩。

【請求項 6】

6, 6-ジメチル-2- { 2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル } -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンである、請求項 4 に記載の化合物または塩。

【請求項 7】

6, 6-ジメチル-2- { 2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル } -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンである、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩と、薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 9】

療法に使用するための請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩。

【請求項 10】

癌の治療に使用するための請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物または塩。

【請求項 11】

前記癌は、黒色腫、大腸癌、膀胱癌、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項 10 に記載の使用のための化合物または塩。

【請求項 12】

前記癌は、大腸癌である、請求項 11 に記載の使用のための化合物または塩。

【請求項 13】

前記癌は、膀胱癌である、請求項 11 に記載の使用のための化合物または塩。

【請求項 14】

前記癌は、非小細胞肺癌である、請求項 11 に記載の使用のための化合物または塩。

【請求項 15】

非小細胞肺癌の治療において同時、別々または連続的に使用するための請求項 6 に記載の化合物またはその塩と、ラムシルマブとを含む組み合わせ。

【請求項 16】

非小細胞肺癌の治療においてラムシルマブと組み合わせる同時、別々または連続的に使用するための請求項 6 に記載の化合物またはその塩。

【請求項 17】

非小細胞肺癌の治療において請求項 6 に記載の化合物またはその塩と組み合わせる同時、別々または連続的に使用するためのラムシルマブ。

【請求項 18】

前記非小細胞肺癌は、K R A S 変異非小細胞肺癌である、請求項 15～17 のいずれか一項に記載の組み合わせ、化合物もしくはその塩、またはラムシルマブ。

【請求項 19】

非小細胞肺癌の治療において同時、別々または連続的に使用するための、請求項 6 に記載の化合物またはその塩と、
[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-3-イソプロピル-2-メチル-3 H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンまたはその薬学的に許容可能な塩とを含む組み合わせ。

【請求項 20】

非小細胞肺癌の治療において、
[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-3-イソプロピル-2-メチル-3 H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンまたはその薬学的に許容可能な塩と組み合わせる同時、別々または連続的に使用するための請求項 6 に記載の化合物またはその塩。

【請求項 21】

非小細胞肺癌の治療において、請求項 6 に記載の化合物またはその塩と組み合わせる同時、別々または連続的に使用するための、
[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-3-イソプロピル-2-メチル-3 H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンまたはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 22】

前記非小細胞肺癌は、K R A S 変異非小細胞肺癌である、請求項 19～21 のいずれか一項に記載の組み合わせ、化合物もしくはその塩、または
[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-

3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンもしくはその塩。

【請求項 23】

大腸癌の治療において同時、別々または連続的に使用するための、請求項 6 に記載の化合物またはその塩と、[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-3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンまたはその薬学的に許容可能な塩とを含む組み合わせ。

【請求項 24】

大腸癌の治療において、[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-3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンまたはその薬学的に許容可能な塩と組み合わせて同時、別々または連続的に使用するための請求項 6 に記載の化合物またはその塩。

【請求項 25】

大腸癌の治療において、請求項 6 に記載の化合物またはその塩と組み合わせて同時、別々または連続的に使用するための、[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-3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンまたはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 26】

前記大腸癌は、KRAS 変異大腸癌である、請求項 23～25 のいずれか一項に記載の組み合わせ、化合物もしくはその塩、または[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-3-イソプロピル-2-メチル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イル)-ピリミジン-2-イル]-アミンもしくはその薬学的に許容可能な塩。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0143

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0143】

【表 17】

表4:KRAS変異非小細胞肺癌異種移植モデルにおけるCDK4/6阻害化合物またはDC101との実施例1の化合物の併用研究

腫瘍モデル	処置	化合物	用量 (mg/kg)	スケジュール	デルタT/C %	退縮%	p-値 (対ビヒクル)	併用効果**
NCI-H441 NSCLC モデル	1	ビヒクル	NA	QD	NA	NA	NA	NA
	2	CDK4/6 阻害剤	50	QD	19	NA	<0.001*	NA
	3	DC101	20	BIW	NA	2	<0.001*	NA
	4	実施例1	50	QD	NA	1	<0.001*	NA
	5	実施例1 + DC101	50 20	QD BIW	NA	46	<0.001*	付加
	6	実施例1 + CDK4/6 阻害剤	50 50	QD QD	NA	47	<0.001*	付加
A549 NSCLC モデル	1	ビヒクル	NA	QD	NA	NA	NA	NA
	2	CDK4/6 阻害剤	50	QD	49	NA	0.033*	NA
	3	実施例1	50	QD	9	NA	<0.001*	NA
	4	実施例1 + CDK4/6 阻害剤	50 50	QD QD	NA	51	<0.001*	付加
NCI-H2122 NSCLCモデル	1	ビヒクル	NA	QD	NA	NA	NA	NA
	2	CDK4/6 阻害剤	50	QD	47	NA	0.008*	NA
	3	実施例1	50	QD	59	NA	0.055	NA
	4	実施例1 + CDK4/6 阻害剤	50 50	QD QD	18	NA	<0.001*	付加

* 腫瘍体積についての分析はLog10変換およびspecial power共分散構造を用いた反復測定ANOVAに基づく。

*:有意(p<0.05)

**2種の薬剤の併用の統計効果は、Bliss Independence法によって決定する:最初に、反復測定モデルを、群、時間および群×時間 (group-by-time)に対してlog腫瘍体積に適合する。次に、コントラストステートメント(contrast statement)を使用して、各時点における相互作用効果を試験する。併用についての予想される付加反応(EAR)は、EAR体積=V1*V2/V0(式中、V0、V1およびV2は、ビヒクル対照、処置1のみ、および処置2のみのそれぞれについての推定される平均腫瘍体積である)として腫瘍体積スケールに基づいて算出される。相互作用試験が有意(p<0.05)ならば、試験した用量およびスケジュールにおいて、観察された併用の体積がEAR体積未満である場合、併用効果は相乗的と示され、観察された併用の体積がEAR体積よりも大きい場合、拮抗またはそうでなければ付加である。

NA:非適用

デルタT/C%は、処置群におけるエンドポイント腫瘍体積がベースライン腫瘍体積にあるか、または超えるときに算出する。式は $100 \times (T - T_0) / (C - C_0)$ である。式中、TおよびCはそれぞれ処置群または対照群における平均エンドポイント腫瘍体積である。T₀およびC₀はそれらの群における平均ベースライン腫瘍体積である。

11日(HCT116)、25日(NCI-H441)、22日(A549)、18日(NCI-H2122)におけるベースライン(無作為化)を使用してT/Cの変化%をコンピューターで算出する。

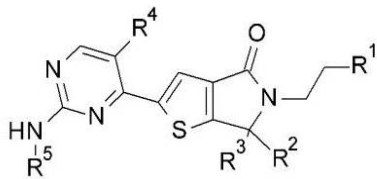
全ての研究において28日間投与する。

本発明は、以下の態様を含む。

[1]

以下の式の化合物：

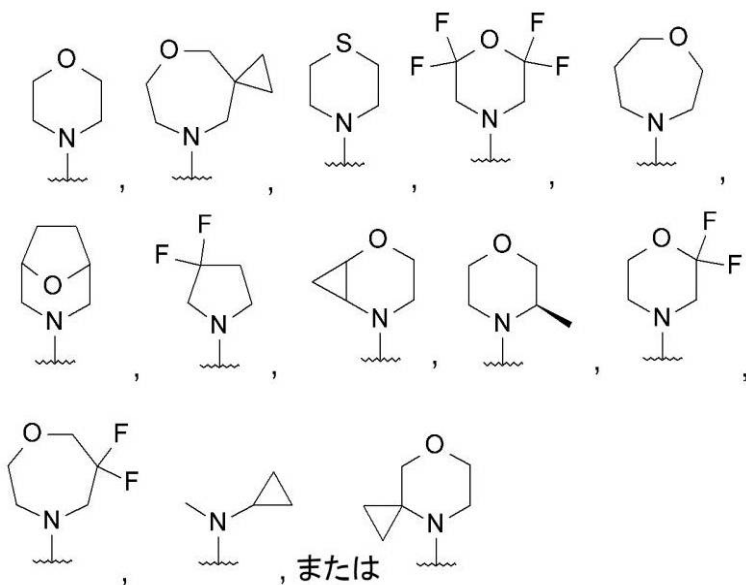
【化 6 2】



(式中、

R¹ は、

【化 6 3】



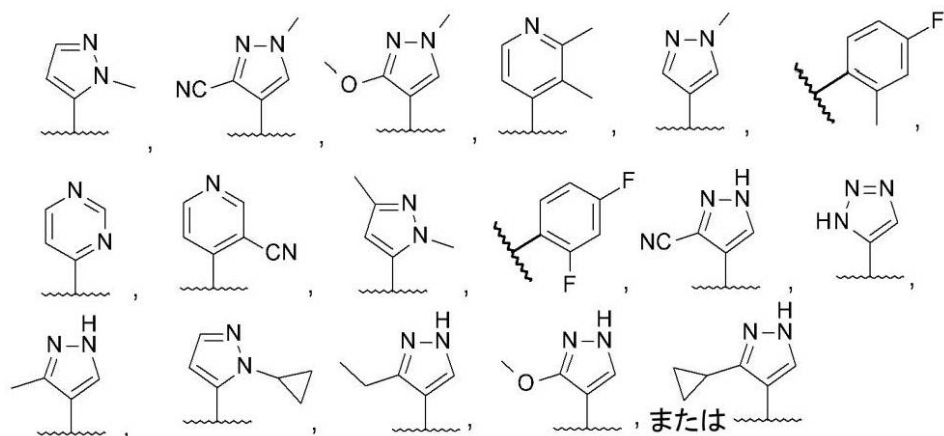
であり、

R² および R³ はメチルであるか、または R² および R³ は一緒になってシクロプロピルを形成してもよく、

R⁴ は、水素、メチル、クロロ、フルオロまたはトリフルオロメチルであり、

R⁵ は、

【化 6 4】



である)

またはその薬学的に許容可能な塩。

[2]

R^2 および R^3 は独立してメチルである、[1] に記載の化合物または塩。

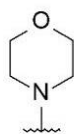
[3]

R^4 は水素である、[2] に記載の化合物または塩。

[4]

R^1 は、

【化 6 5】

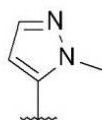


である、[3] に記載の化合物または塩。

[5]

R^5 は、

【化 6 6】



である、[3] に記載の化合物または塩。

[6]

6, 6-ジメチル-2- { 2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル } -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンである、[4] に記載の化合物または塩。

[7]

6, 6-ジメチル-2- { 2- [(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル } -5- [2- (モルホリン-4-イル) エチル] -5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オンである、[6] に記載の化合物

[8]

[1] ～ [7] のいずれか一項に記載の化合物または塩と、薬学的に許容可能な担体、希釈剤、または賦形剤を含む、医薬組成物。

[9]

有効量の [1] ～ [7] のいずれか一項に記載の化合物または塩を、それを必要とする患者に投与することを含む、癌を治療する方法。

[1 0]

前記癌は、黒色腫、大腸癌、膀胱癌、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、 [9] に記載の方法。

[1 1]

前記癌は、大腸癌である、 [1 0] に記載の方法。

[1 2]

前記癌は、膀胱癌である、 [1 0] に記載の方法。

[1 3]

前記癌は、非小細胞肺癌である、 [1 0] に記載の方法。

[1 4]

療法に使用するための [1] ～ [7] のいずれか一項に記載の化合物または塩。

[1 5]

癌の治療に使用するための [1] ～ [7] のいずれか一項に記載の化合物または塩。

[1 6]

前記癌は、黒色腫、大腸癌、膀胱癌、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、 [1 5] に記載の使用のための化合物または塩。

[1 7]

前記癌は、大腸癌である、 [1 6] に記載の使用のための化合物または塩。

[1 8]

前記癌は、膀胱癌である、 [1 6] に記載の使用のための化合物または塩。

[1 9]

前記癌は、非小細胞肺癌である、 [1 6] に記載の使用のための化合物または塩。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/065940

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D513/04 A61K31/506
ADD. A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2003/064982 A1 (DAVIES ROBERT [US] ET AL) 3 April 2003 (2003-04-03) page 226, biological testing example 4; claims 1-3,9,24-25 -----	1-19
A	WO 2013/130976 A1 (ARRAY BIOPHARMA INC [US]; GENENTECH INC [US]; BLAKE JAMES F [US]; CHIC) 6 September 2013 (2013-09-06) cited in the application claims 1,58-76 -----	1-19
A	WO 2007/053776 A1 (SGX PHARMACEUTICALS INC [US]; ARNOLD WILLIAM D [US]; CHEN CHIXU [US];) 10 May 2007 (2007-05-10) claims 1,3,43,44,47,48; tables 1,17 -----	1-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 March 2016

Date of mailing of the international search report

05/04/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rufet, Jacques

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/065940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003064982	A1	03-04-2003	NONE
WO 2013130976	A1	06-09-2013	AR 090220 A1 29-10-2014
		CA 2866086 A1 06-09-2013	
		CL 2014002301 A1 08-05-2015	
		CN 104507926 A 08-04-2015	
		CO 7081155 A2 10-10-2014	
		CR 20140413 A 05-11-2014	
		EP 2820009 A1 07-01-2015	
		HK 1204323 A1 13-11-2015	
		HK 1206011 A1 31-12-2015	
		JP 2015508828 A 23-03-2015	
		JP 2016027053 A 18-02-2016	
		KR 20140138820 A 04-12-2014	
		PE 06662015 A1 06-05-2015	
		PH 12014501947 A1 24-11-2014	
		SG 11201405356Q A 27-11-2014	
		TW 201339146 A 01-10-2013	
		US 2013252934 A1 26-09-2013	
		US 2014249127 A1 04-09-2014	
		WO 2013130976 A1 06-09-2013	
WO 2007053776	A1	10-05-2007	CA 2628474 A1 10-05-2007
		EP 1948647 A1 30-07-2008	
		JP 2009519218 A 14-05-2009	
		US 2007117800 A1 24-05-2007	
		US 2010305128 A1 02-12-2010	
		WO 2007053776 A1 10-05-2007	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/538 (2006.01)	A 6 1 K 31/538	
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

- (72)発明者 コルテス, ギジェルモ エス.
アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2 0 6 - 6 2 8 8, インディアナポリス, ピー. オー. ボックス 6 2 8 8, イーライ リリー アンド カンパニー内
- (72)発明者 ジョセフ, サジャン
アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2 0 6 - 6 2 8 8, インディアナポリス, ピー. オー. ボックス 6 2 8 8, イーライ リリー アンド カンパニー内
- (72)発明者 マクリーン, ジョナサン アレクサンダー
アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2 0 6 - 6 2 8 8, インディアナポリス, ピー. オー. ボックス 6 2 8 8, イーライ リリー アンド カンパニー内
- (72)発明者 マクミラン, ウィリアム ティー.
アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2 0 6 - 6 2 8 8, インディアナポリス, ピー. オー. ボックス 6 2 8 8, イーライ リリー アンド カンパニー内
- (72)発明者 ロドリゲス, マイケル ジョン
アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2 0 6 - 6 2 8 8, インディアナポリス, ピー. オー. ボックス 6 2 8 8, イーライ リリー アンド カンパニー内
- (72)発明者 ザオ, ガイイン
アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2 0 6 - 6 2 8 8, インディアナポリス, ピー. オー. ボックス 6 2 8 8, イーライ リリー アンド カンパニー内

Fターム(参考) 4C071 AA01 AA07 BB01 CC01 CC21 DD03 EE13 FF03 GG01 GG10
HH08 JJ05 JJ08 LL01
4C072 MM08 UU01
4C086 AA01 AA02 AA03 CB27 GA07 GA12 MA01 MA04 NA14 ZB26