(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2017-524703
(P2017-524703A)
(43)公表日　平成29年8月31日(2017.8.31)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07D 487/04	***(2006.01)***	C07D	487/04	140	4C050
A61P 43/00	***(2006.01)***	C07D	487/04	CSP	4C072
C07D 519/00	***(2006.01)***	A61P	43/00	111	4C084
A61P 35/00	***(2006.01)***	A61P	43/00	121	4C086
A61K 31/519	***(2006.01)***	C07D	519/00	311	

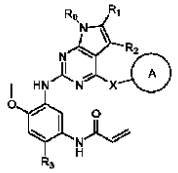
審査請求 有　予備審査請求 未請求　（全 73 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-504050 (P2017-504050)
(86)(22)出願日　平成27年7月24日 (2015.7.24)
(85)翻訳文提出日　平成29年2月8日 (2017.2.8)
(86)国際出願番号　PCT/CN2015/085089
(87)国際公開番号　WO2016/011979
(87)国際公開日　平成28年1月28日 (2016.1.28)
(31)優先権主張番号　201410361024.X
(32)優先日　平成26年7月25日 (2014.7.25)
(33)優先権主張国　中国 (CN)

(71)出願人　516254256
シャンハイ　ハイヤン　ファーマシューティカル　テクノロジー　カンパニー　リミテッド
SHANGHAI HAIYAN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
No. 8, Lane 67, Libing Road, Zhangjiang High-Tech Park, Pudong New Area, Shan
最終頁に続く

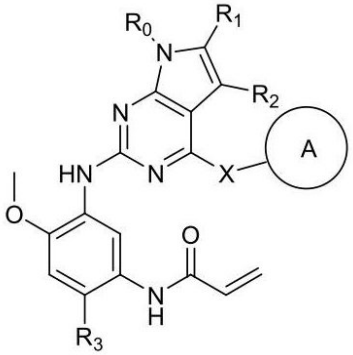
(54)【発明の名称】２，４－二置換７Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン誘導体、その製造方法および医薬における使用

(57)【要約】
本発明は、2,4-二置換7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン誘導体、その製造方法および医薬における使用に関する。具体的に、本発明は、式（I）化合物、またはその薬学的に許容される塩、立体異性体、溶媒和物あるいはプロドラッグ、およびその製造方法と使用を公開したが、式中における各基の定義は明細書を参照する。



(I)

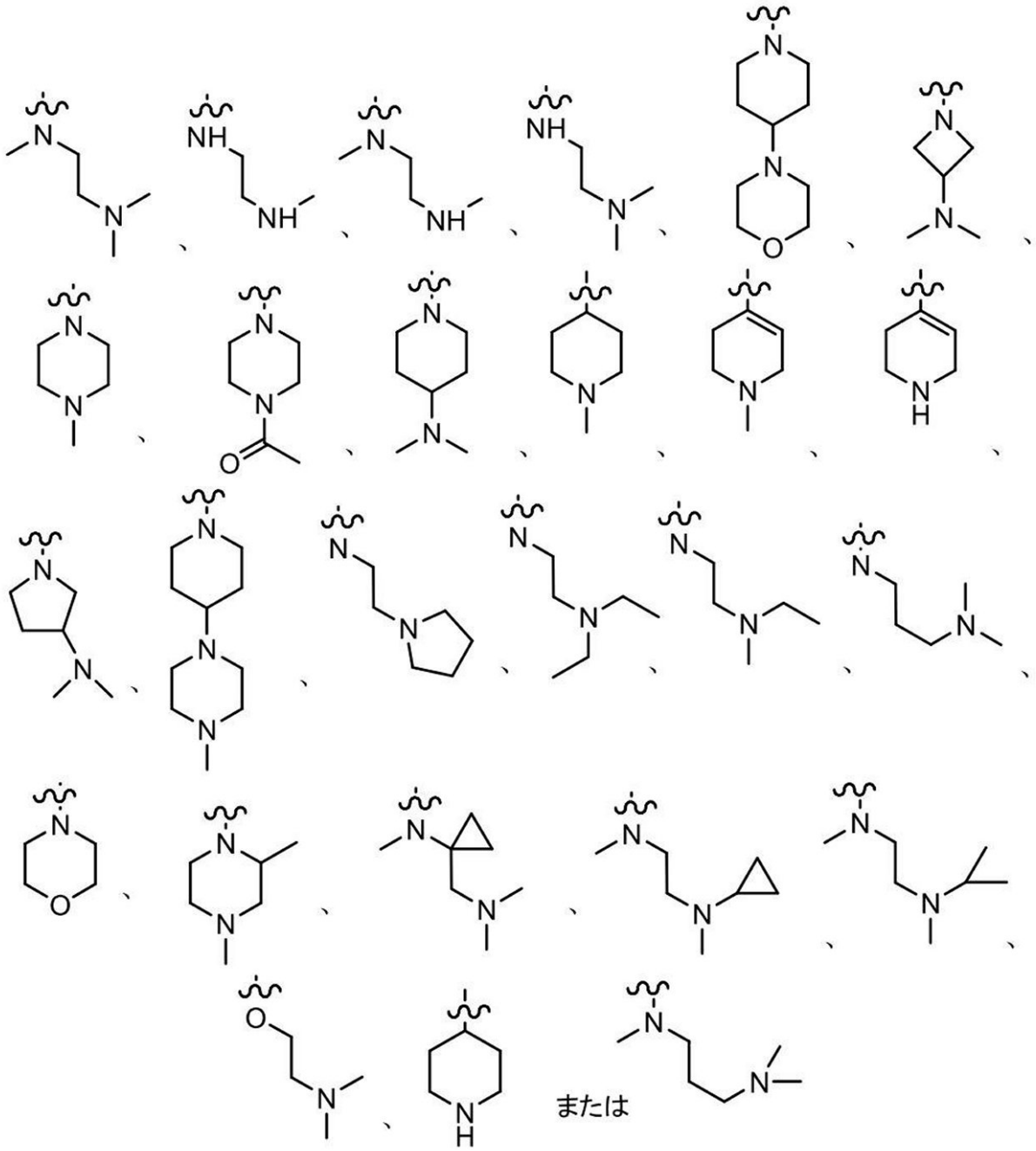
【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（I）で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。
【化１】



I

（式中において、
A環は、置換または無置換のC_{3-10}複素環基、置換または無置換のC_{6-10}アリール環あるいは置換または無置換のC_{4-10}シクロアルケニル基であり、
前記の「置換」とは、環原子における1～6個の水素原子が、ヒドロキシ基、CN、NO_2、ハロゲン、C_{1-3}アルキル基、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、-CON(C_{1-3}アルキル基)$_2$、-C(O)OC_{1-3}アルキル基、-OC(O)C_{1-3}アルキル基、-COC_{1-3}アルキル基、-CO-フェニル基、-SO_2C_{1-3}アルキル基、-SO_2-フェニル基、-S(O)C_{1-3}アルキル基、-S(O)-フェニル基、-N(C_{1-3}アルキル基)$_2$から選ばれる置換基で置換されることを指し、
Xは、共役結合、あるいはNH、OまたはSであり、
R_0は、水素、C_{1-3}アルキル基、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{3-6}シクロアルキル基、ハロゲン置換のC_{3-6}シクロアルキル基、-CHO、-COC_{1-3}アルキル基、-CO-フェニル基、-SO_2C_{1-3}アルキル基、-SO_2-フェニル基であり、
R_1、R_2は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、C_{1-3}アルキル基、ハロゲン置換のC1-3アルキル基であり、
R_3は、

【化２】



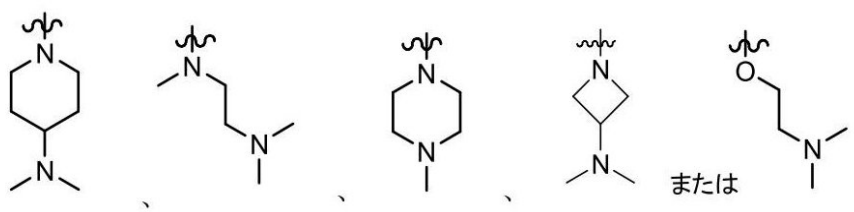
から選ばれ、

ここで、前記のフェニル基は、無置換のものまたはハロゲン、$C_{1\sim3}$アルキル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである。）

【請求項２】

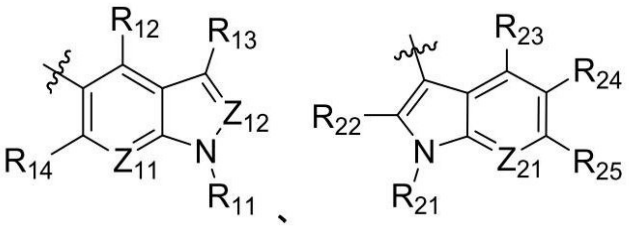
R_3は、

【化３】

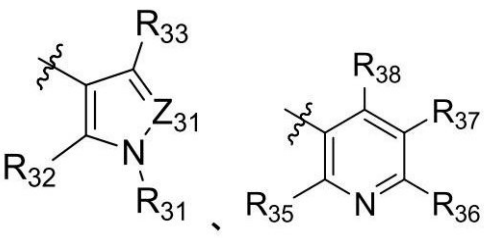


から選ばれる、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその

溶媒和物、またはそのプロドラッグ。
【請求項３】
R_0は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、$-COCH_3$、-CO-フェニル基、$-SO_2CH_3$または$-SO_2$-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものであり、かつ/あるいは、
R_1、R_2は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基である、
請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。
【請求項４】
前記置換または無置換のC_{3-10}複素環基は、置換または無置換の1、2または3個の窒素原子を含む9～10員の二環式ヘテロアリール環であり、
【化４】



から選ばれ、
ここで、Z_{11}は、CR_{15}またはNであり、Z_{12}は、CR_{16}またはNであり、Z_{21}は、CR_{26}またはNであり、
R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_{26}は、それぞれ独立に、水素、ヒドロキシ基、CN、NO_2、ハロゲン、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{1-3}アルキル基、$-CON(C_{1-3}$アルキル基$)_2$、$-N(C_{1-3}$アルキル基$)_2$、$-C(O)OC_{1-3}$アルキル基、$-OC(O)C_{1-3}$アルキル基、$-COC_{1-3}$アルキル基、-CO-フェニル基、$-SO_2C_{1-3}$アルキル基、$-SO_2$-フェニル基、$-S(O)C_{1-3}$アルキル基、-S(O)-フェニル基であり、前記のアルキル基、フェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものであり、
R_{11}、R_{21}は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{1-3}アルキル基、$-COC_{1-3}$アルキル基、-CO-フェニル基、$-SO_2C_{1-3}$アルキル基、$-SO_2$-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである、
請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。
【請求項５】
前記置換または無置換のC_{3-10}複素環基は、置換または無置換の1～2個の窒素原子を含む5～6員の単環式ヘテロアリール環であり、
【化５】



から選ばれ、

ここで、Z_{31}は、CR_{34}またはNであり、

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

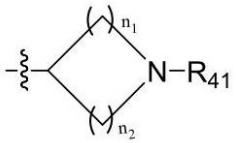
R_{31}は、水素、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{1-3}アルキル基、-COC_{1-3}アルキル基、-CO-フェニル基、-SO_2C_{1-3}アルキル基、-SO_2-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである、

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

【請求項６】

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

【化６】



から選ばれ、

ここで、n^1は、1、2または3であり、n_2は、1または2であり、

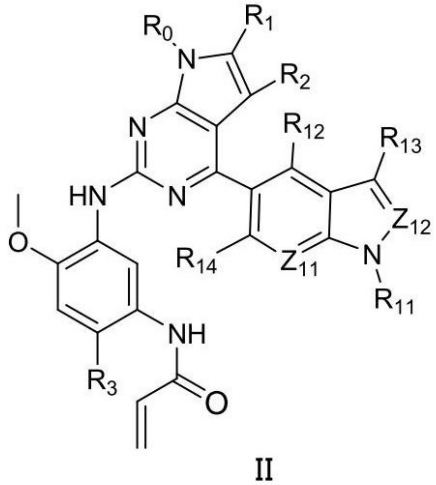
R_{41}は、水素、C_{1-3}アルキル基、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、-COC_{1-3}アルキル基、-CO-フェニル基、-SO_2C_{1-3}アルキル基、-SO_2-フェニル基、-S(O)C_{1-3}アルキル基、-S(O)-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである、

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

【請求項７】

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

【化７】

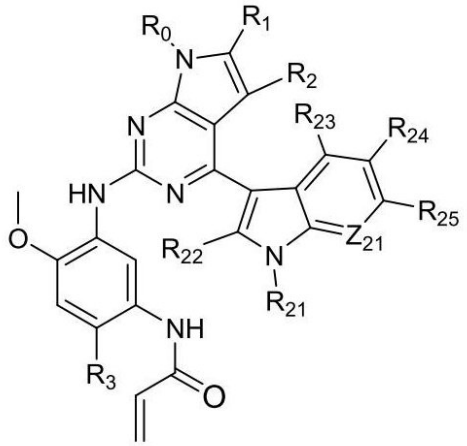


II

（式において、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_0、R_1、R_2、R_3、Z_{11}、Z_{12}は請求項4で定義され

た通りである）、

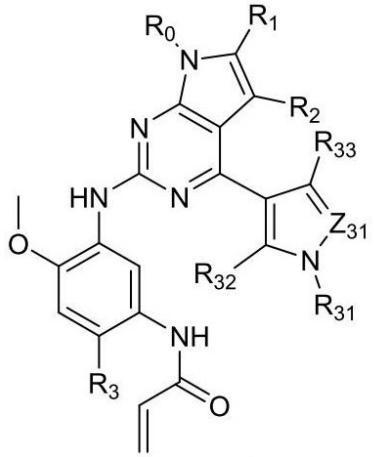
【化８】



III

（式において、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_0、R_1、R_2、R_3、Z_{21}は請求項4で定義された通りである）、

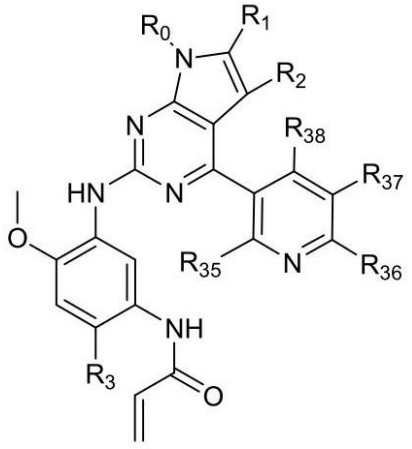
【化９】



IV

（式において、R_{31}、R_{32}、R_{33}、R_0、R_1、R_2、R_3、Z_{31}は請求項5で定義された通りである）、

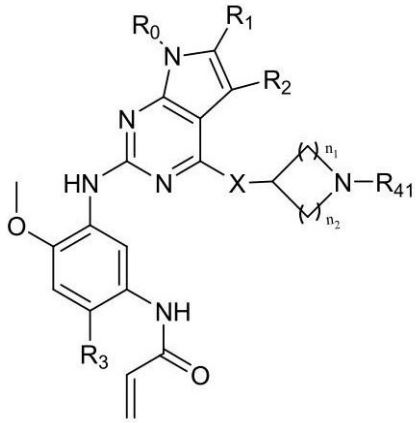
【化１０】



V

（式において、R_{35}、R_{36}、R_{37}、R_{38}、R_0、R_1、R_2、R_3は請求項5で定義された通りである）、

【化１１】



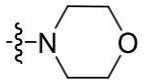
VI

（式において、R_{41}、R_0、R_1、R_2、R_3、X、n_1、n_2は請求項6で定義された通りである）。

【請求項８】

前記置換または無置換のC_{3-10}複素環基は、

【化１２】

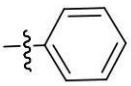


から選ばれる、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。

【請求項９】

前記置換または無置換のC_{6-10}アリール環は、

【化１３】

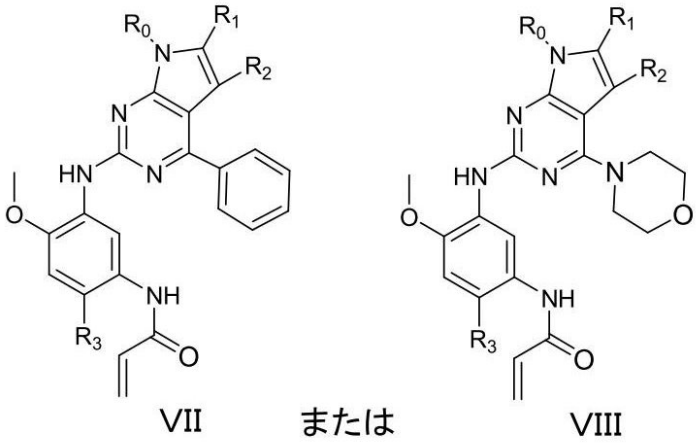


から選ばれる、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。

【請求項１０】

式（I）化合物は、式（VII）または式（VIII）で表される化合物、

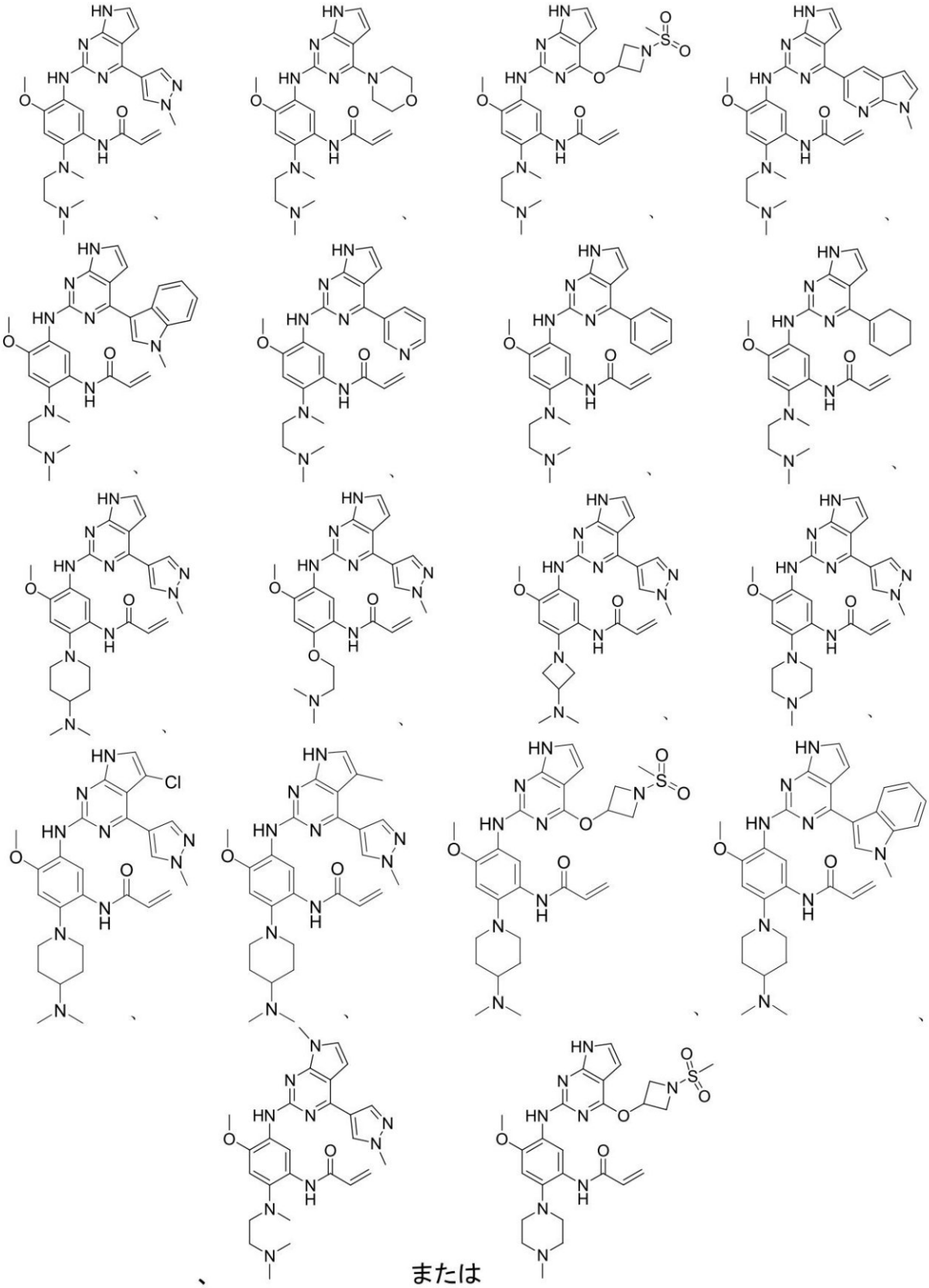
【化１４】



（式において、R_0、R_1、R_2、R_3の定義は請求項1で定義された通りである）
である、
請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。

【請求項１１】
前記式（I）化合物は、以下の群から選ばれる、請求項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグ。

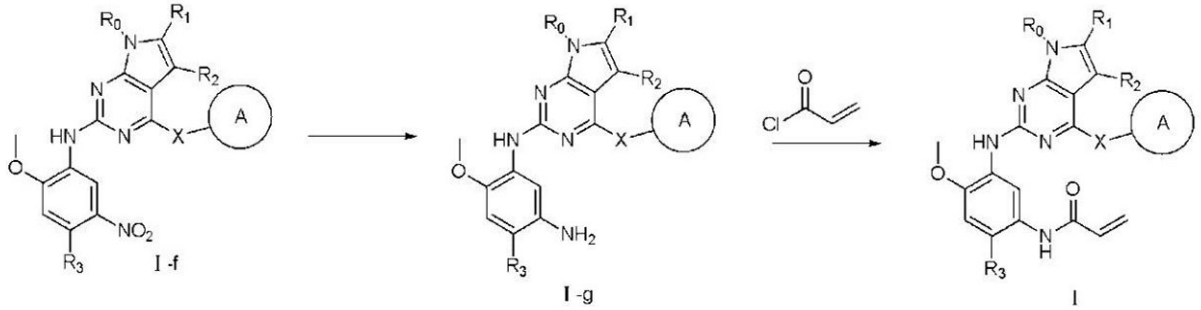
【化１５】



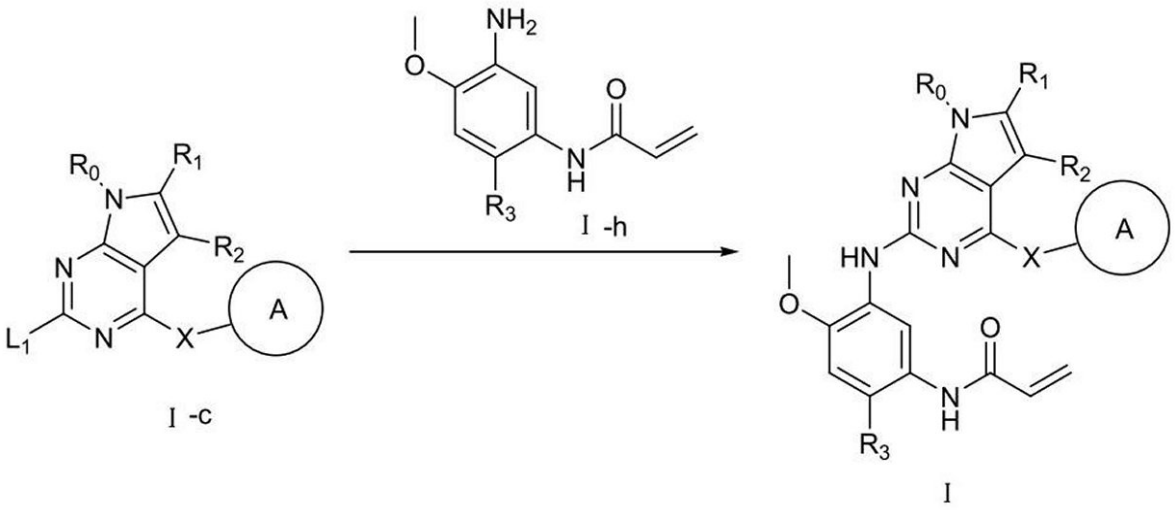
【請求項１２】

請求項1～11のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグと、薬学的に許容される担体とを含む薬物組成物。

【請求項１３】
（ｉ）EGFRチロシンキナーゼの活性を調節する薬物、あるいは(ii)EGFR関連疾患を予防および／または治療する薬物の製造における請求項1～11のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグの使用。
【請求項１４】
請求項1～11のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその立体異性体、またはその溶媒和物、またはそのプロドラッグと、
ゲフィチニブ、エルロチニブ、イコチニブ、ラパチニブ、XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、CI-1033、バンデタニブ、PF00299804、WZ4002、セツキシマブ、トラスツズマブ、パニツムマブ、マツズマブ、ニモツズマブ、ザルツムマブ、ペルツズマブ、MDX-214、CDX-110、IMC-11F8、Zemab、Her2ワクチンPX 1041、HSP90阻害剤、CNF2024、タネスピマイシン、アルベスピマイシン、IPI-504、SNX-5422 、NVP-AUY922から選ばれる一種または複数種の薬物と
を含む、薬用組成物。
【請求項１５】
請求項1に記載の式（I）で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグの製造方法であって、
（ｉ）式I-f化合物に対して還元反応を行うことによって、式I-g化合物を形成する工程と、
（ｉｉ）式I-g化合物をアクロイルクロリドと縮合反応させることによって、式（I）で表される化合物を形成する工程とを含むか、あるいは
【化１６】



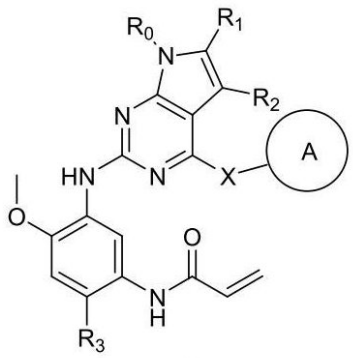
（ｉ'）不活性溶媒において、式I-c化合物と式I-h化合物を反応させることによって、式（I）で表される化合物を形成する工程を含むことを特徴とする方法。
【化１７】



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

離基である。）
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、医薬の技術分野に関し、特に、2,4-二置換7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン誘導体およびその製造方法とEGFRチロシンキナーゼ阻害剤としての使用、ならびにそれから製造される薬物組成物および薬用組成物に関する。
【背景技術】
【０００２】
肺癌は世界中で発症率が最も高い癌である。中国で肺癌の発症率はすべての癌において1位で、中国で発症率と死亡率が最も高い癌である。
【０００３】
中国の肺癌患者のうち、30％の患者がEGFR突然変異を持ち、中でも、L858Rとエクソン19欠失変異は90％以上を占め、このような患者はEGFR阻害剤に対してより敏感である。現在市販されている第一世代のEGFR阻害剤、たとえば、エルロチニブ、ゲフィチニブは、このような患者に治療効果が良好で、そのうちの60％以上の患者の腫瘍を縮小させ、患者の無増悪生存期間を顕著に延長させることができる。しかし、ほとんどの患者は、6～12か月で薬剤耐性になり、第一世代のEGFR阻害剤が効かなくなり、このような患者はいま使用できる薬がない状態にある。臨床で第一世代のEGFR阻害剤に対して薬剤耐性になった患者のうち、50％がEGFR T790M突然変異が検出されることが見出された。T790M変異細胞系H1975において、第一世代のEGFR阻害剤のゲフィチニブとエルロチニブは、いずれも3 μM超で、基本的に活性がない。
【０００４】
現在、第二世代の不可逆的pan-EGFR阻害剤であるアファチニブは市販が許可され、当該薬のEGFR変異の肺癌患者に対する効果が第一世代のEGFR阻害剤よりも顕著に優れている。しかし、第二世代の阻害剤は、同時に強い野生型EGFR阻害活性も有し、野生型EGFRに対する阻害活性は薬剤耐性T790M変異のものよりも顕著に高く、患者の皮疹などの毒性・副作用が強く、かつ薬剤耐性の患者に対する治療効果が比較的劣っており、一部だけの第一世代のEGFR阻害剤に対する薬剤耐性の患者しか、このような薬物に反応しない。
【０００５】
EGFRの薬剤耐性T790M変異に対する阻害活性を向上させると同時に、野生型EGFRに対する阻害活性を低下させるために、より活性が高く、選択性が良く、毒性が低い第三世代のEGFR変異体の選択性阻害剤の開発は、重要な意義がある。
【発明の概要】
【０００６】
本発明の目的は、EGFRの薬剤耐性T790M変異および感受性（たとえばL858Rやエクソン19欠失）突然変異に対して高い阻害活性を有するだけでなく、野生型EGFRに対する阻害活性が顕著に低下し、高い選択的阻害性を有すると同時に、細胞毒性も低い、2,4-二置換7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン誘導体を提供することにある。また、ほかの既知のEGFR突然変異体阻害剤と比べ、本発明の化合物は、有利な物理的性質、毒性の特徴および／または代謝の特徴も示す。
【０００７】
本発明の第一では、式（I）で示される化合物、またはその薬学的に許容される塩、またはその溶媒和物、またはその立体異性体、またはそのプロドラッグを提供する。

【化１】



I

【０００８】

（式中において、

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

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

Xは、共役結合、あるいはNH、OまたはSである。

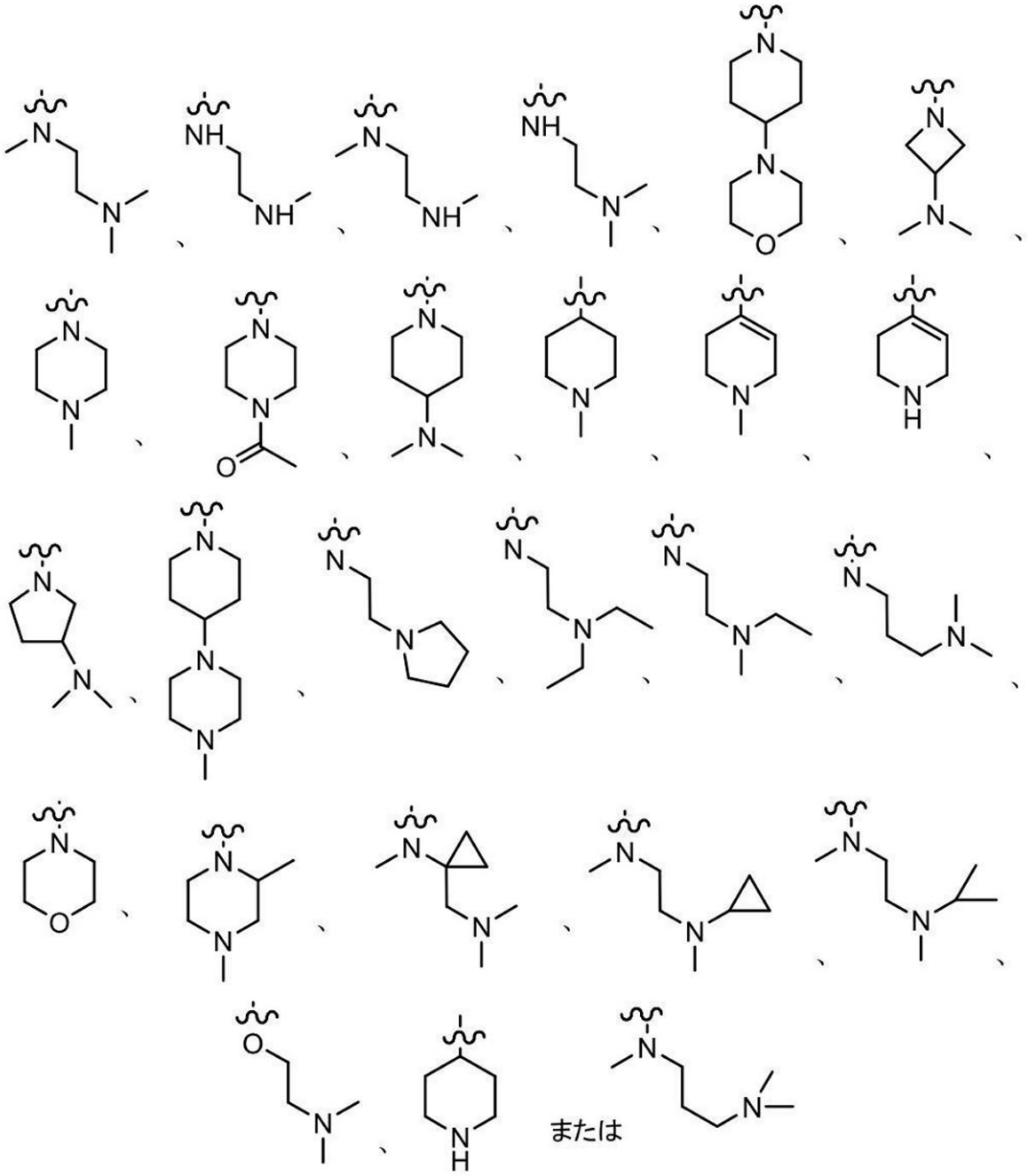
R_0は、水素、C_{1-3}アルキル基、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{3-6}シクロアルキル基、ハロゲン置換のC_{3-6}シクロアルキル基、-CHO、-COC_{1-3}アルキル基、-CO-フェニル基、-SO_2C_{1-3}アルキル基、-SO_2-フェニル基である。

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

【０００９】

R_3は、

【化２】



から選ばれる。

【００１０】

ここで、前記のフェニル基は、無置換のものまたはハロゲン、$C_{1\sim3}$アルキル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである。）

もう一つの好適な例において、前記A環は、

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

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

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

（iv）置換または無置換の6員の部分不飽和単環、

（v）置換または無置換のC_{6-10}アリール環、あるいは

（vi）モルホリン環である。

【００１１】

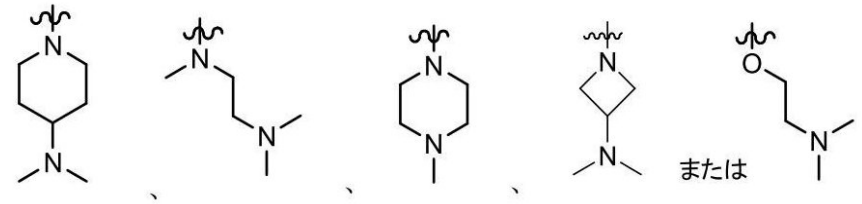
もう一つの好適な例において、前記C_{3-10}複素環基は、ピラゾリル基、モルホリル基、アザC_{3-7}シクロアルキル基、ピロロピリジル基、ピラゾロピリジン、インダゾール、ピロール、インドリル基、またはピリジル基である。

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

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

もう一つの好適な例において、式（I）化合物では、R_3は、

【化３】



から選ばれる。

【００１２】

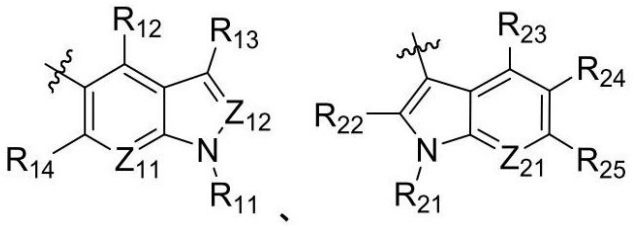
もう一つの好適な例において、式（I）化合物では、R_0は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、$-COCH_3$、-CO-フェニル基、$-SO_2CH_3$または$-SO_2$-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである。

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

【００１３】

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

【化４】



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

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

R_{11}、R_{21}は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{1-3}アルキル基

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

【００１４】

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

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

【００１５】

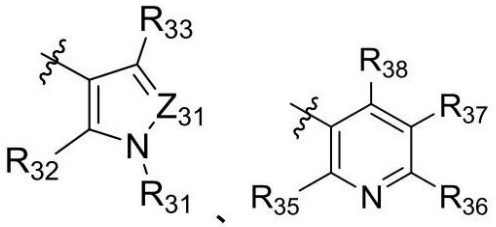
もう一つの好適な例において、Z_{21}はCR_{26}であり、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_{26}は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{1-3}アルキル基であり、R_{21}は、水素、ハロゲン置換のC_{1-3}アルキル基、C_{1-3}アルキル基、-COC_{1-3}アルキル基、-SO_2C_{1-3}アルキル基である。

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

【００１６】

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

【化５】



から選ばれ、ここで、Z_{31}は、CR_{34}またはNであり、

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

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

【００１７】

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

ある。

もう一つの好適な例において、Z_{31}はNであり、R_{32}、R_{33}は、それぞれ独立に、水素、フッ素、塩素、臭素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基であり、R_{31}は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、$-COCH_3$、$-SO_2CH_3$である。

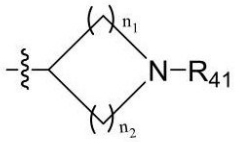
もう一つの好適な例において、R_{35}、R_{36}、R_{37}、R_{38}は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、C_{1-3}アルキル基である。

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

【００１８】

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

【化６】



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

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

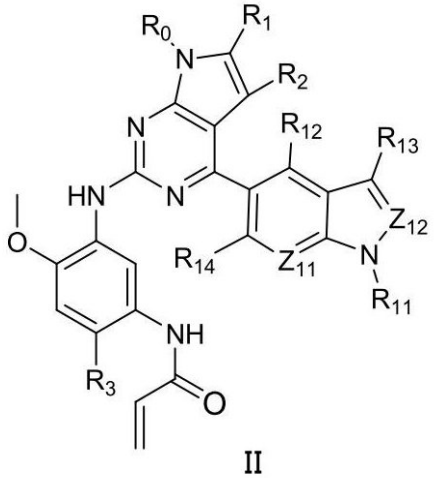
【００１９】

もう一つの好適な例において、n^1は1であり、n_2は1であり、R_{41}は、水素、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、モノフルオロエチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、$-COCH_3$、$-SO_2CH_3$、$-SO_2$-フェニル基、-CO-フェニル基であり、前記のフェニル基は、無置換のものまたはフッ素、塩素、メチル基から選ばれる1～3個の置換基で置換されたものである。

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

【００２０】

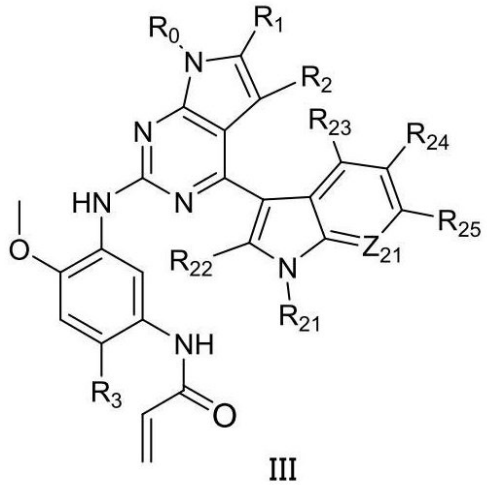
【化７】



II

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

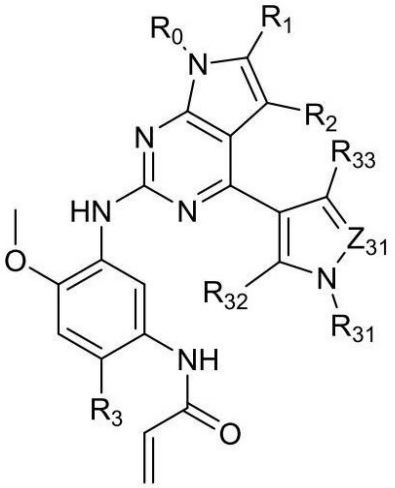
【００２１】
【化８】



III

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

【００２２】
【化９】

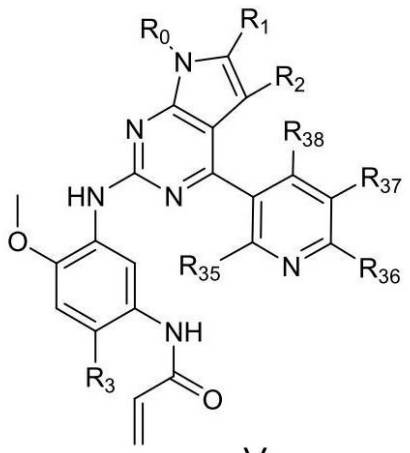


IV

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

【００２３】

【化１０】

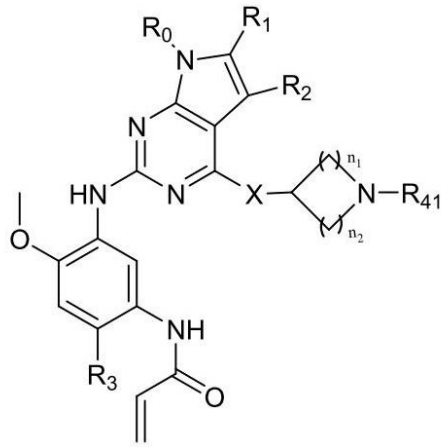


V

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

【００２４】

【化１１】



VI

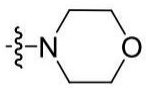
（式において、R_{41}、R_0、R_1、R_2、R_3、X、n_1、n_2は本明細書で定義された通りである。）

【００２５】

もう一つの好適な例において、式（VI）化合物では、Xは0である。

もう一つの好適な例において、置換または無置換のC_{3-10}複素環基は、

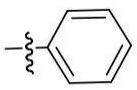
【化１２】



から選ばれる。

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

【化１３】

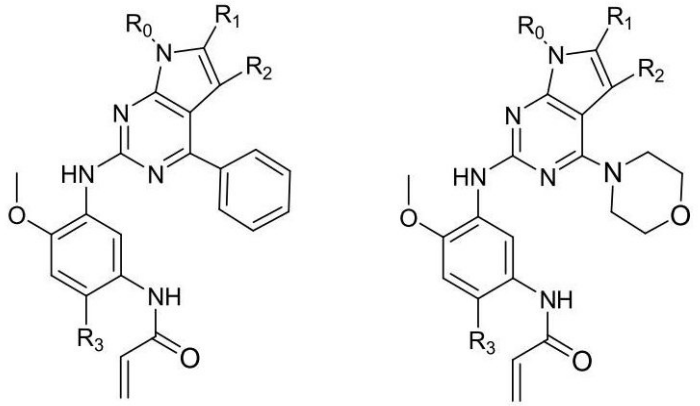


から選ばれる。

【００２６】

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

【化１４】



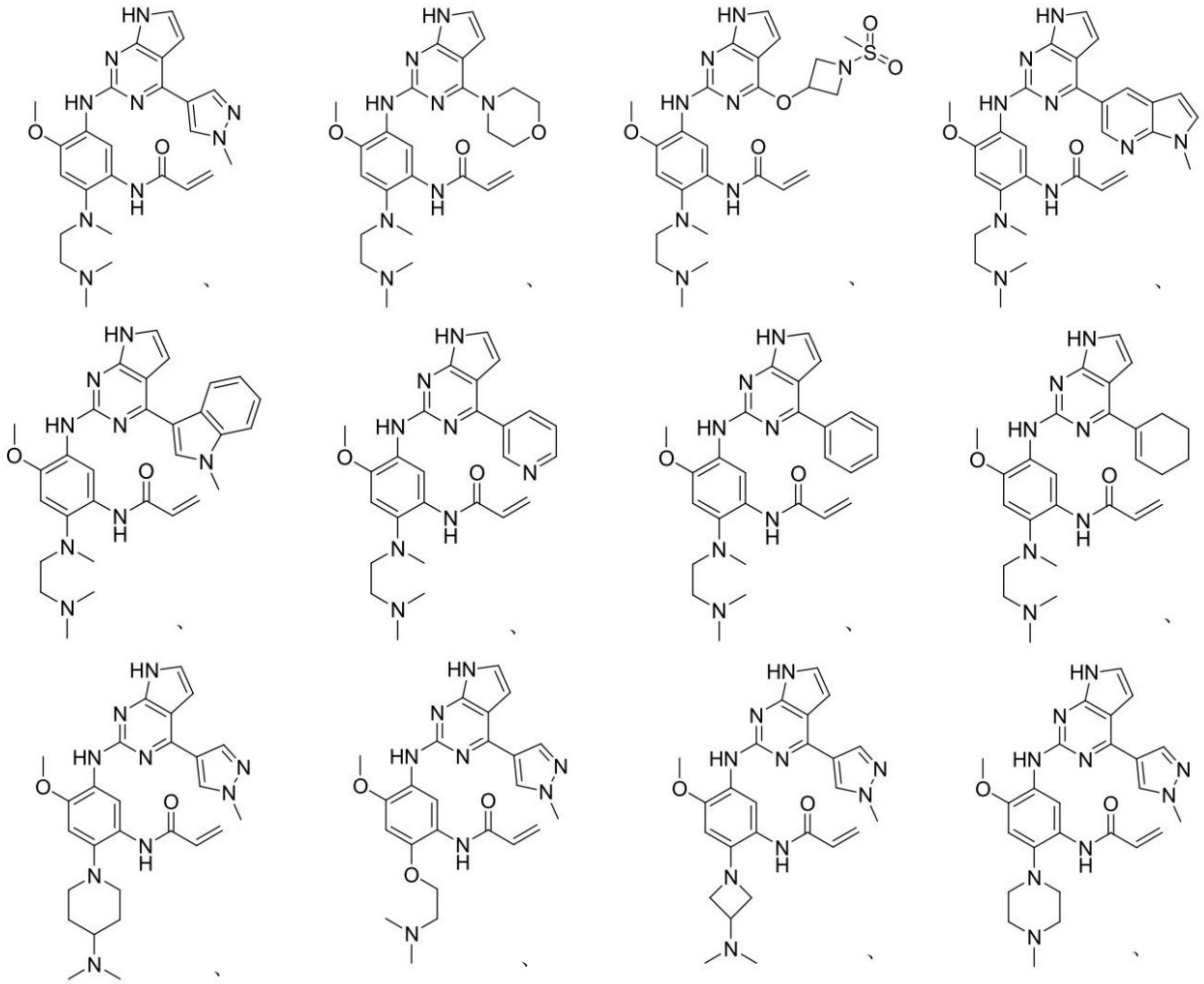
（式において、R_0、R_1、R_2、R_3は本明細書で定義された通りである。）
で表される化合物である。

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

【００２７】

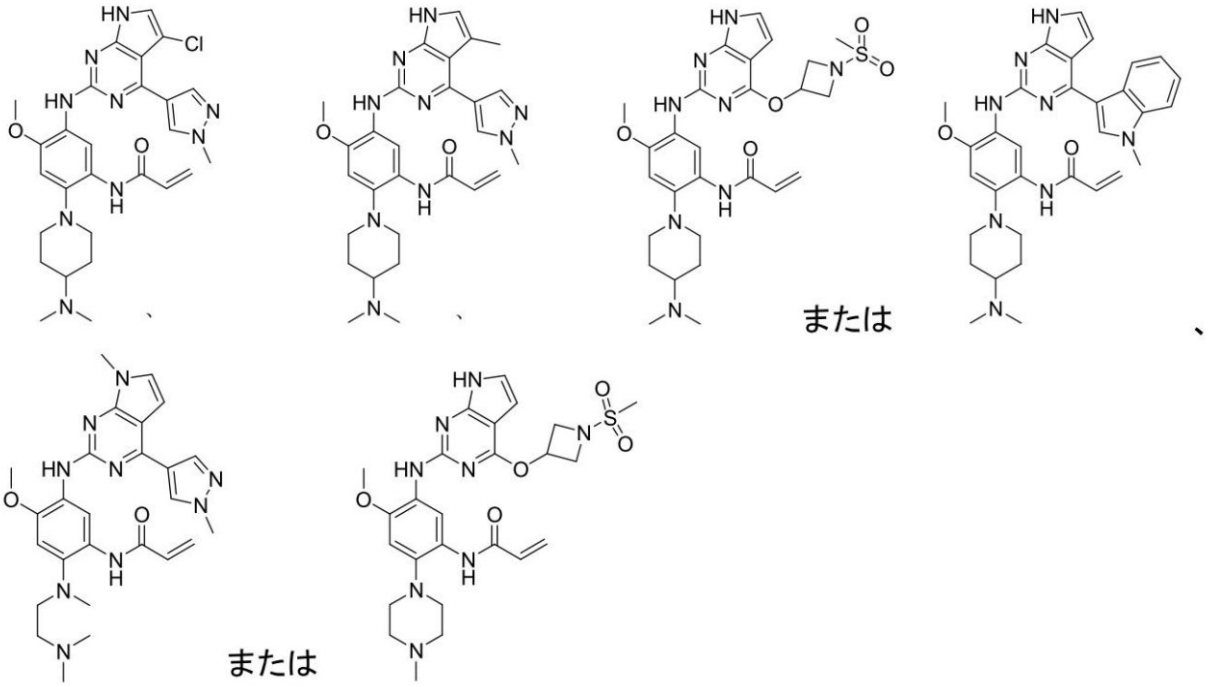
もう一つの好適な例において、前記式（I）化合物は、実施例で製造される化合物を含み、たとえば、

【化１５】



【００２８】

【化１６】



から選ばれる。

【００２９】

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

【００３０】

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

【００３１】

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

【００３２】

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

【００３３】

もう一つの好適な例において、前記調節は、上方調節または下方調節である。

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

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

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

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

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

【００３４】

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

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

【００３５】

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

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

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

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

【００３６】

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

【００３７】

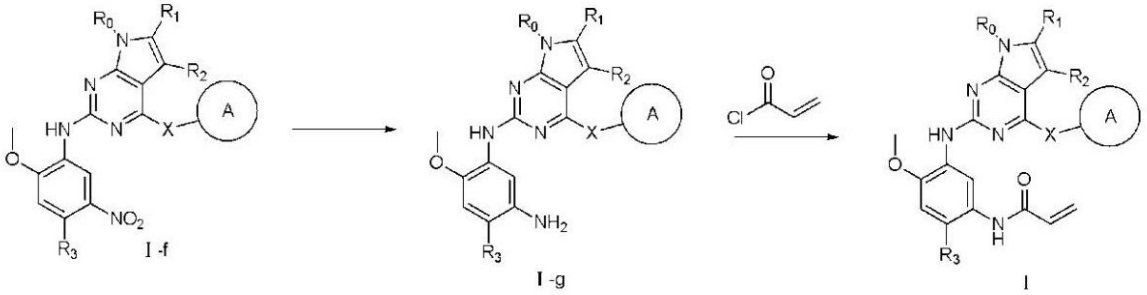
本発明の第五では、第一に係る式（I）で示される化合物、またはその薬学的に許容さ

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

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

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

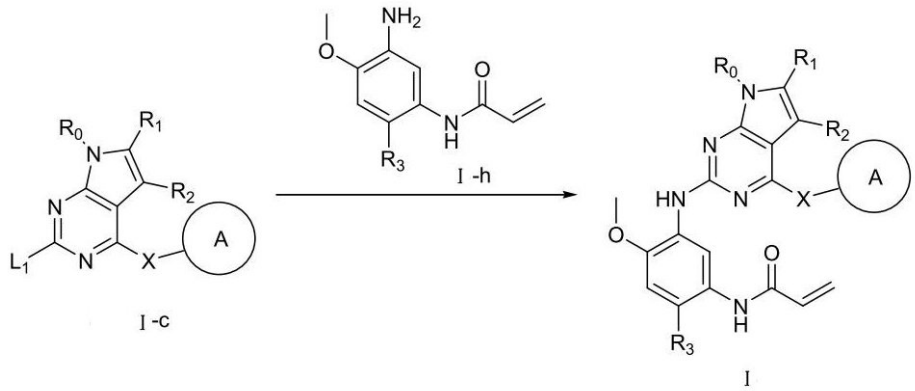
【化１７】



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

【００３８】

【化１８】



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

【００３９】

もう一つの好適な例において、前記のL_1は、トリフルオロメタンスルホン酸エステル、塩素、臭素、ヨウ素、スルホン酸エステル基（たとえばメタンスルホン酸エステル、トルエンスルホン酸エステル、p-ブロモベンゼンスルホン酸エステル、p-トルエンスルホン酸エステルなど）、アシルオキシ基（たとえばアセチルオキシ基、トリフルオロアセチルオキシ基など）を含む。

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

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

【００４０】

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

もう一つの好適な例において、前記工程（ii）は塩基性条件下で行われる。

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

【００４１】
もう一つの好適な例において、前記工程（i'）は触媒、配位子または塩基の存在下で行われる。
もう一つの好適な例において、前記工程（i'）では、前記触媒はTFA、p-トルエンスルホン酸、$Pd_2(dba)_3$（トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム）、BINAP((±)-2,2'-ビス-(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル)、またはこれらの組み合わせから選ばれ、
前記配位子は、キサントホス（4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン）を含み、かつ／または
前記の塩基は炭酸セシウムを含む。
【００４２】
もちろん、本発明の範囲内において、本発明の上記の各技術特徴および下記（例えば実施例）の具体的に記述された各技術特徴は互いに組合せ、新しい、または好適な技術方案を構成できることが理解される。
【００４３】
具体的な実施形態
本発明者は、長時間で深い研究を経て、1種類のEGFR突然変異選択性阻害剤を意外にも見出し、体外の実験において、ナノモルの濃度でEGFR T790M/L858R二重突然変異酵素および細胞株H1975の増殖を抑制することができると同時に、EGFR敏感性突然変異株HCC827（エクソン19欠失）にも高い抑制強度を有するが、野生型EGFR酵素および細胞株A431に対する抑制は比較的に弱いことが示された。そのため、このような構造は、EGFR感受性突然変異の癌の治療だけでなく、現在EGFR-TKI治療で続発性の薬剤耐性が生じる症例にも適する。同時に、その突然変異の選択性は野生型EGFRに対する抑制による毒性・副作用を大幅に減らし、また、このような化合物は正常細胞系（たとえばNIH-3T3細胞）において細胞毒性が比較的に低いため、非特異的な毒性・副作用を大幅に低下させ、第二世代のEGFR-TKIの理想的な代替物である。
【００４４】
用語の定義
「C_{3-10}複素環基」とは、炭素原子を3～10個有する複素環基であり、環を構成する原子は、炭素以外、N、S、Oから選ばれるヘテロ原子を少なくとも1個含む。たとえば、ピラゾリル基、モルホリル基、アザC3-7シクロアルキル基、ピロロピリジル基、ピラゾロピリジン、インダゾール、ピロール、インドリル基、またはピリジル基が挙げられる。
「C_{1-3}アルキル基」とは、炭素原子を1～3個有する直鎖または分岐鎖の飽和脂肪族炭化水素基である。たとえば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基が挙げられる。
「C_{3-6}シクロアルキル基」とは、炭素原子を3～6個有するシクロアルキル基である。シクロアルキル基の実例として、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基などが挙げられる。
【００４５】
「アザC_{3-7}シクロアルキル基」とは、炭素原子を3～7個有するシクロアルキル基であり、かつ環を構成する原子は、炭素以外、N原子を少なくとも1個含む。
「C_{6-10}アリール基」と「C_{6-10}アリール環」は、入れ替えて使用することができ、炭素原子を6～10個有する芳香族炭化水素基であり、たとえばフェニル基、ナフチル基などが挙げられる。
「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を指す。
「ヘテロアリール環」と「ヘテロアリール基」は、入れ替えて使用することができ、環原子を5～10個、好ましくは5、6、9または10個を有し、環配列に6、10または14個のπ電子を共有し、かつ炭素原子以外、さらにヘテロ原子を1～5個有する基である。用語「ヘテロ原子」とは、窒素、酸素または硫黄である。
【００４６】

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

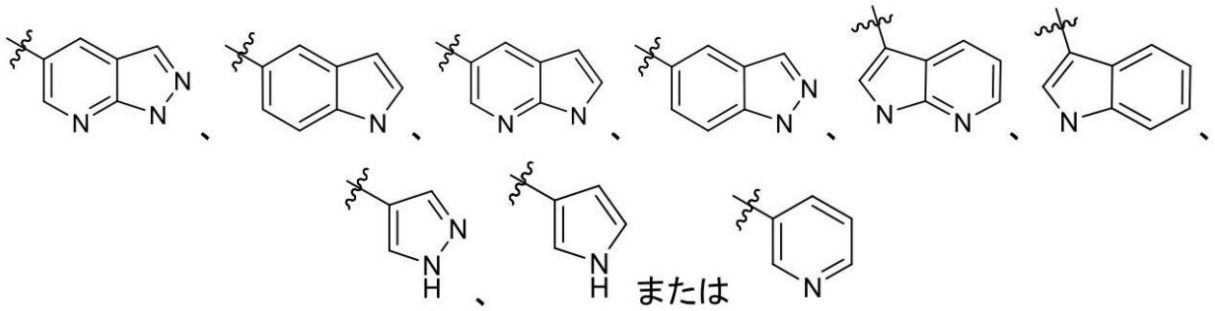
「1～2個の窒素原子を含む5～6員の単環式ヘテロアリール環」とは、環原子を5～6個含む単環式ヘテロアリール基であり、たとえばイミダゾール環、ピロール環、ピラゾール環、ピリジン環、ピリダジン環、ピリミジン環、ピラジン環などを含む、これらに限定されない。

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

【００４７】

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

【化１９】



から選ばれる。

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

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

【００４８】

薬物組成物

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

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

【００４９】

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

【００５０】

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

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

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

【００５１】

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

【００５２】

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

【００５３】

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

【００５４】

製造方法

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

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

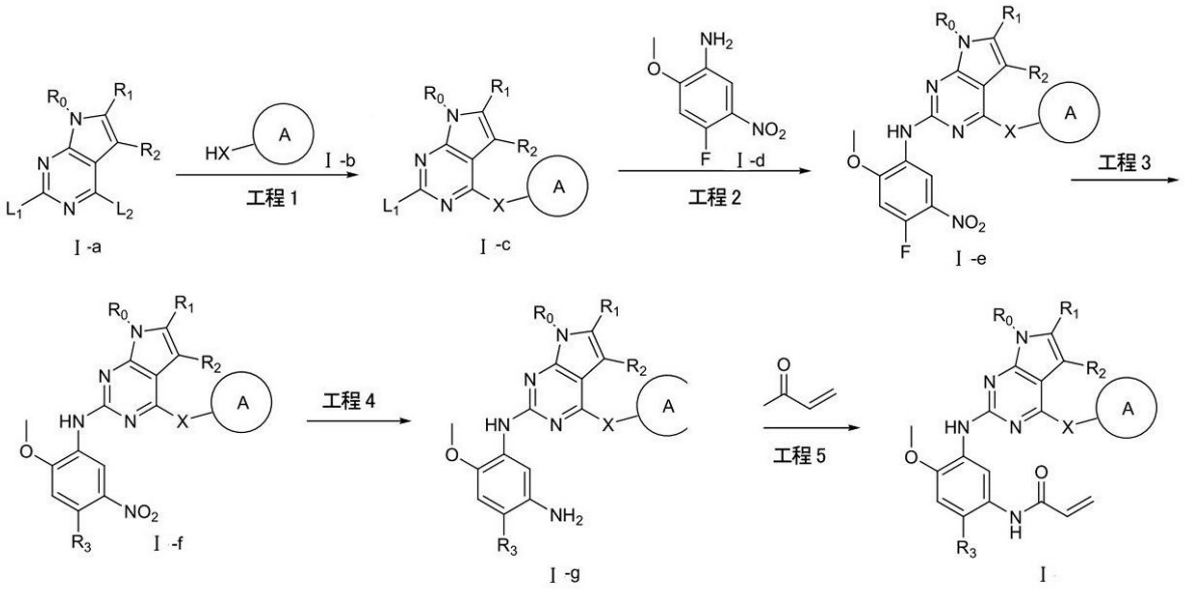
好ましくは、本発明の式（I）化合物は、以下のスキームおよび実施例に記載の例示的な方法ならびに当業者に使用される関連する公開文献の操作によって完成することができる。

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

【００５５】

【化２０】

スキーム１



スキーム1において、各置換基および基は本明細書で定義された通りである。

【００５６】

工程1において、XがN、0またはSである場合、式(I-a)化合物と式(I-b)化合物を置換反応(たとえば求核置換反応など)させて式(I-c)化合物を生成することができる。

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

式(I-a)化合物におけるL_1およびL_2は脱離基であり、トリフルオロメタンスルホン酸エステル、塩素、臭素、ヨウ素、たとえばメタンスルホン酸エステル、トルエンスルホン酸エステル、p-ブロモベンゼンスルホン酸エステル、p-トルエンスルホン酸エステルなどのスルホン酸エステル基、たとえばアセチルオキシ基、トリフルオロアセチルオキシ基などのアシルオキシ基を含むが、これらに限定されない。

【００５７】

工程2において、式(I-c)化合物は置換反応またはカップリング反応によって式(I-d)化合物と反応して式(I-e)化合物が生成し、たとえば所定の温度において、適切な触媒(または適切な配位子)または塩基および適切な溶媒で行うことができる。酸触媒を使用する場合、触媒はTFAまたはp-トルエンスルホン酸でもよいが、これらに限定されない。Buchwald-Hartwigアミン化法を使用し、使用されるパラジウム触媒は$Pd_2(dba)_3$でもよいが、これに限定されず、使用される配位子はキサントホス（4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン）でもよいが、これに限定されず、使用される塩基は炭酸セシウムでもよいが、これに限定されない。

【００５８】

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

【００５９】

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

とができる。

【００６０】

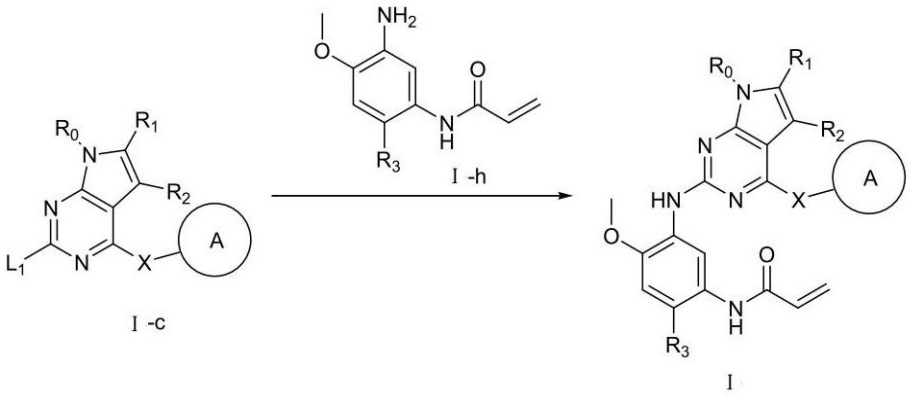
工程5において、当該アミノ化合物I-gは、塩基性条件において相応の塩化アシルとアミドに縮合させてもよく、あるいは縮合剤の存在下で相応のカルボン酸とアミドに縮合させてもよい。

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

【００６１】

【化２１】

スキーム2



スキーム2において、各置換基および基は本明細書で定義された通りである。

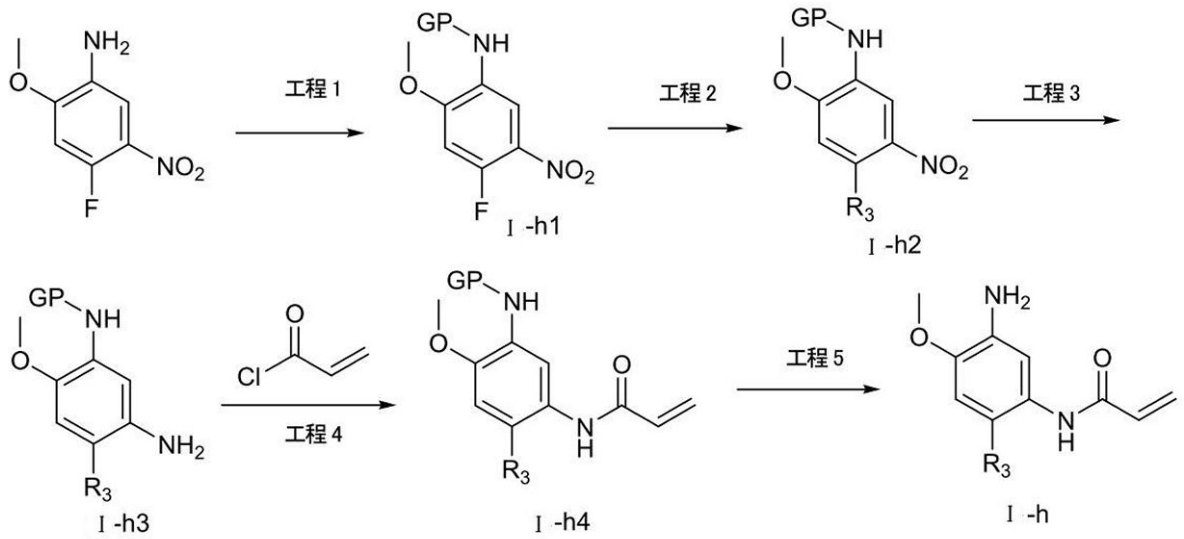
【００６２】

式(I-c)化合物は置換反応またはカップリング反応によって式(I-h)化合物と反応して式(I)化合物が生成し、たとえば所定の温度において、適切な触媒(または適切な配位子)または塩基および適切な溶媒で行うことができる。酸触媒を使用する場合、触媒はTFAまたはp-トルエンスルホン酸でもよいが、これらに限定されない。Buchwald-Hartwigアミン化法を使用し、使用されるパラジウム触媒は$Pd_2(dba)_3$（トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム）、BINAP((±)-2,2'-ビス-(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル)でもよいが、これらに限定されない。使用される配位子はキサントホス（4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン）でもよいが、これに限定されず、使用される塩基は炭酸セシウムでもよいが、これに限定されない。

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

【００６３】

【化２２】



【００６４】

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

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

【００６５】

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

【００６６】

既存技術と比べ、本発明の主な利点は以下の通りである。

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

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

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

【００６７】

以下、具体的な実施例によって、さらに本発明を説明する。これらの実施例は本発明を説明するために用いられるものだけで、本発明の範囲の制限にはならないと理解されるも

のである。下述実施例で具体的な条件が示されていない実験方法は、通常、例えばSambrookら、「モレキュラー・クローニング：研究室マニュアル」(ニューヨーク、コールド・スプリング・ハーバー研究所出版社、1989）に記載の条件などの通常の条件に、或いは、メーカーのお薦めの条件に従う。 特に断らない限り、％と部は、重量で計算される。

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

【００６８】

試薬と機器

$_1$HNMR：Bruker AVANCE-400核磁気共鳴装置で、内部標準はテトラメチルシラン（TMS）である。

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

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

ISCO Combiflash-Rf75またはRf200型のフラッシュクロマトシステム、Agela 4g、12g、20g、40g、80g、120gの使い捨て型シリカゲルカラムを使用した。

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

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

特に説明しない限り、実施例における溶液は水溶液である。

【００６９】

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

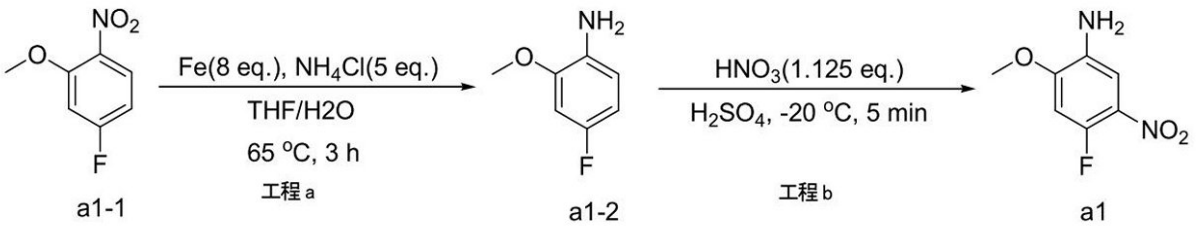
DMF：ジメチルホルムアミド、DMSO：ジメチルスルホキシド、THF：テトラヒドロフラン、DIEA：N,N-ジイソプロピルエチルアミン、EA：酢酸エチル、PE：石油エーテル、BINAP：(2R,3S)-2,2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル。NBS(N-ブロモスクシンイミド)、NCS(N-クロロスクシンイミド)、$Pd_2(dba)_3$(トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム)、$Pd(dppf)Cl_2$([1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]パラジウムジクロリド)。

ここで用いられるように、室温とは約20～30℃である。

【００７０】

化合物a1の製造

【化２３】



【００７１】

工程a：

反応基質a1-1（10.6 g，58 mmol）を500 mLの単口反応瓶に置き、テトラヒドロフラン

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

【００７２】

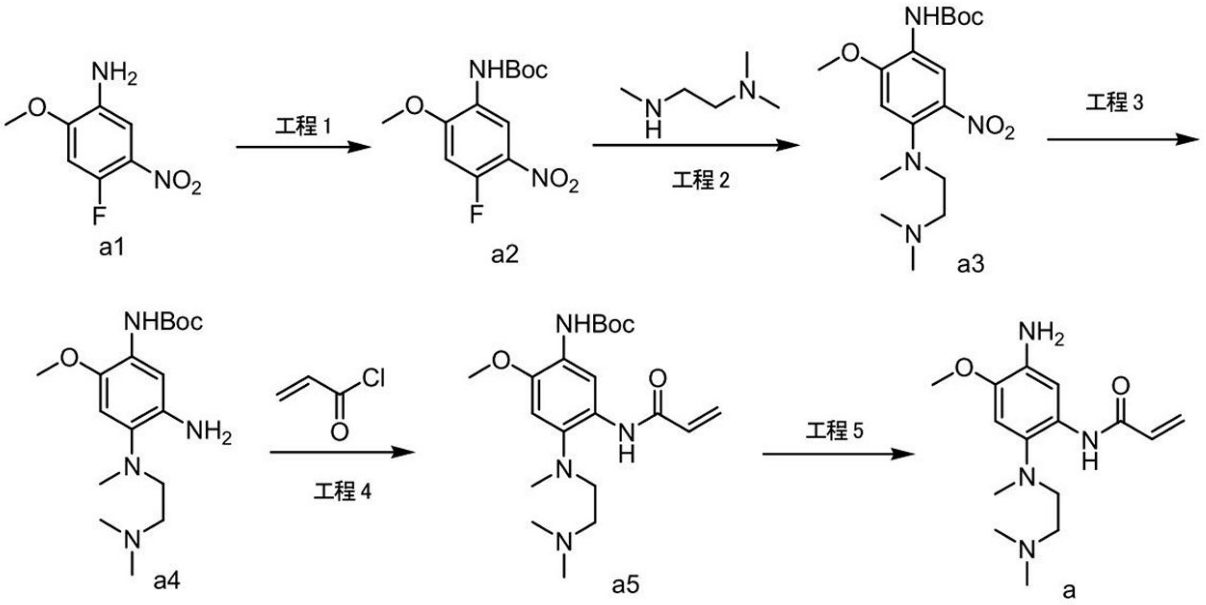
工程b：

化合物a1-2（8.0 g, 43 mmol）を500 mLの単口反応瓶に置き、等速で撹拌する条件で濃硫酸（100 mL）を入れて基質を溶解させた。-20℃の条件において、撹拌中の反応瓶にゆっくり濃硝酸（6.15 mL, 48 mmol）を滴下し、かつ保温しながら5min撹拌した。TLCで反応の進展を検出し、基質が完全に反応したら、氷水に注いだ。-20℃の氷浴条件を保ちながら、反応系にゆっくり水酸化ナトリウム／水溶液（150 mL / 300 mL）を入れ、pH値を8-9に調整した。中和が完成した反応液を酢酸エチル／水系で3回抽出し、有機層を分離し、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧で濃縮させて化合物4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロアニリンa1（8.7 g）を得、直接次の工程の反応に使用した。収率：80%；純度：100%； MS m/z(ESI)：187.0 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.34 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 5.25 (brs, 2H), 3.90 (s, 3H)。

【００７３】

化合物aの製造

【化２４】



【００７４】

工程1：

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

【００７５】

工程2：

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

【００７６】

工程3：

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

【００７７】

工程4：

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

【００７８】

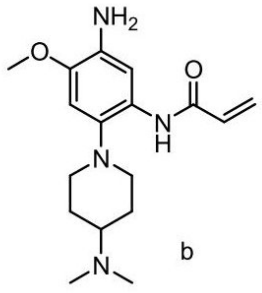
工程5：

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

【００７９】

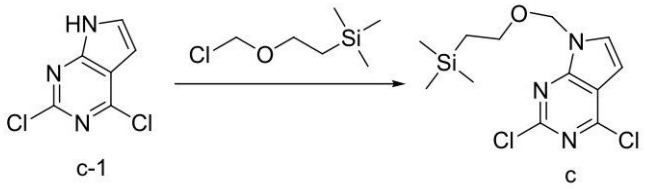
化合物bの製造

【化２５】



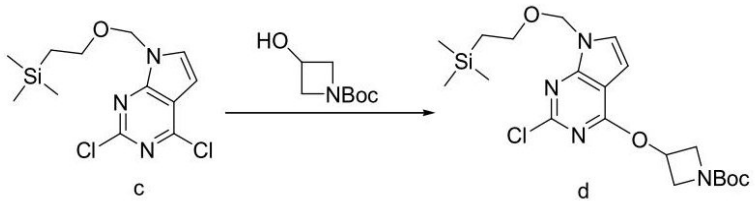
製造方法は化合物aと同様で、異なるのは化合物aの製法における工程2でのN,N,N'-トリメチルエチレンジアミンを4-ジメチルアミノピペリジンに変えた。

【００８０】
化合物cの製造
【化２６】



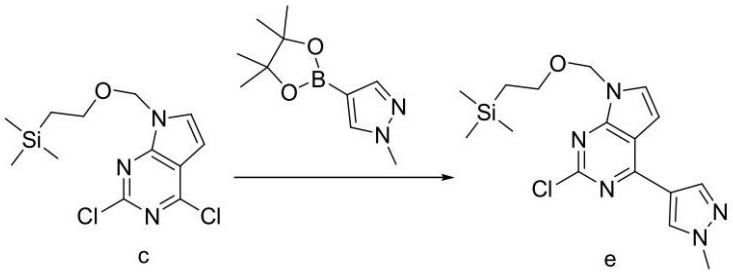
0℃において、化合物2,4-ジクロロ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンc-1（1 g, 5.32 mmol）のDMF（40 ml）溶液に水素化ナトリウム（420 mg, 10.64 mmol）を入れ、反応混合物を30分間撹拌した後、2-(トリメチルシリル)エトキシメチルクロリド（1.34 g, 7.98 mmol）を入れた。反応混合物を0℃で3時間撹拌した。反応終了後、0℃で水を入れて反応をクエンチングした。酢酸エチルおよび水で抽出し、有機相を水および飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄し、減圧で有機相を濃縮して2 gの油状物の2,4-ジクロロ-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-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

【００８１】
化合物dの製造
【化２７】



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

【００８２】
化合物eの製造
【化２８】



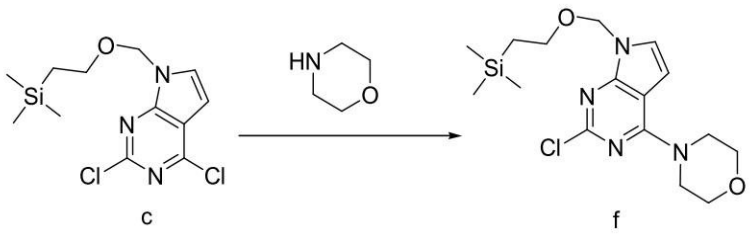
撹拌しながら、化合物c（100 mg, 0.31 mmol）のアセトニトリル/水（5/1ml）溶液に1-メチル-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-ピラゾール(66 mg, 0.31 mmol)、$Pd(dppf)Cl_2$(23 mg, 0.031 mmol)および炭酸ナトリウム(66 mg, 0.62 mmol)を入れ、反応混合物をアルゴンガスで3回置換した後80℃で4 h撹拌した。基質が完全

に反応したら、水を入れてクエンチングし、反応混合物に酢酸エチル（150 ml）を入れて層分離した後、水相を酢酸エチル(50 mL×2)で2回抽出し、合併した有機相をNa_2SO_4で乾燥した後濃縮し、得られた粗製品をCombi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して目的産物である2-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンe（100 mg, 収率70％）を得た。MS m/z(ESI)：364 $[M+H]^+$。

【００８３】

化合物fの製造

【化２９】



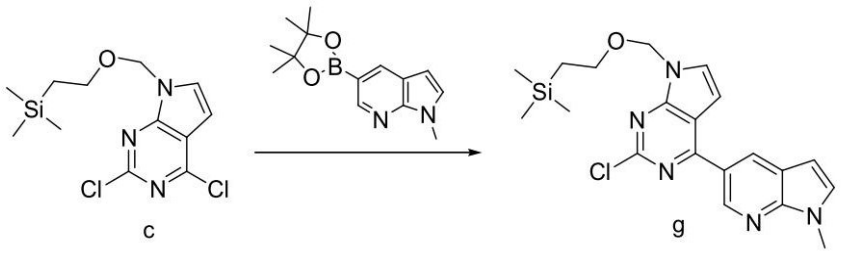
c f

撹拌しながら、化合物c（100 mg, 0.31 mmol）のTHF（3ml）溶液にモルホリン(25 mg, 0.26 mmol)およびトリエチルアミン(41 mg, 0.4 mmol)を入れ、反応混合物を室温で一晩撹拌し、反応終了後、水を入れ、酢酸エチルで抽出し、有機相を無水Na_2SO_4で乾燥し、減圧で濃縮して化合物2-クロロ-4-モルホリノ-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンf（100 mg, 70％）を得た。精製せずにそのまま次の工程に入った。MS m/z(ESI)：369 $[M+H]^+$。

【００８４】

化合物gの製造

【化３０】



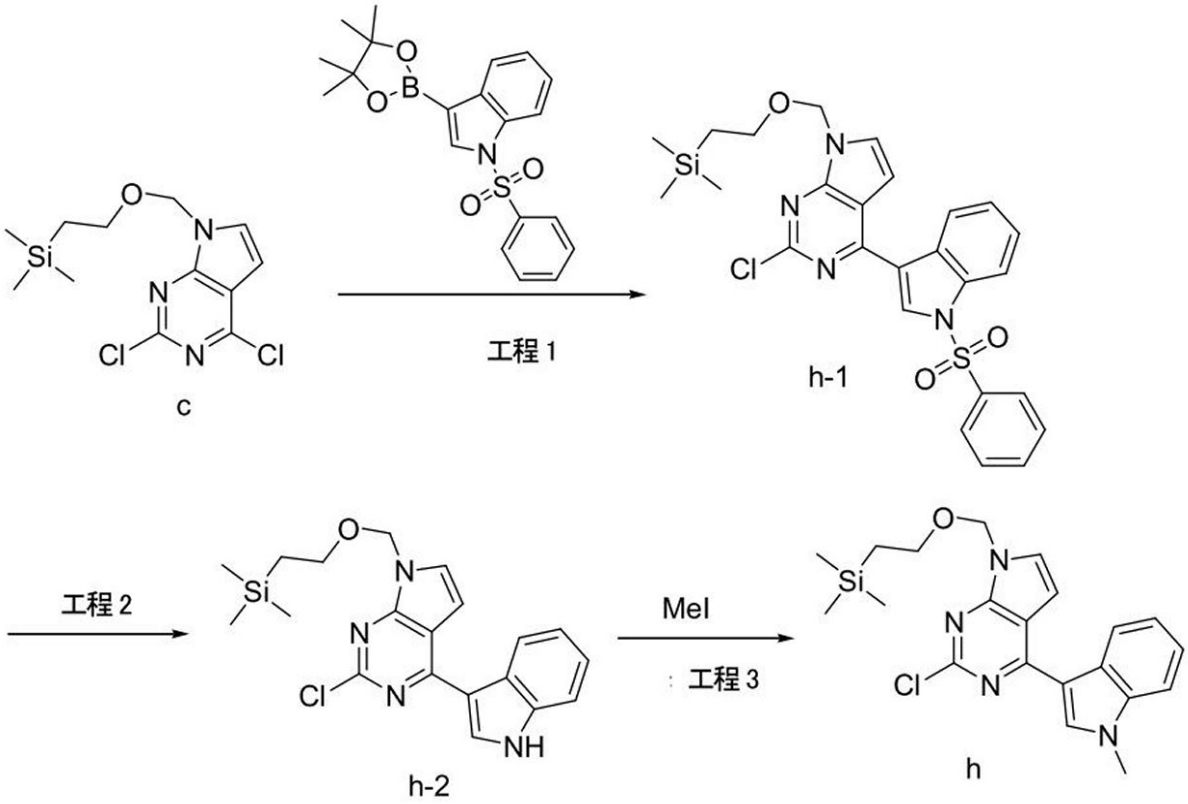
c g

撹拌しながら、化合物c（500 mg, 1.58 mmol）のアセトニトリル/水（10/2 ml）溶液に1-メチル-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン(370 mg, 1.43 mmol)、$Pd(dppf)Cl_2$(106 mg, 0.14 mmol)および炭酸ナトリウム(304 mg, 2.87 mmol)を入れ、反応混合物をアルゴン雰囲気において80℃で4 h撹拌した。基質が完全に反応したら、水を入れてクエンチングし、反応混合物に酢酸エチル（150 ml）を入れて層分離した後、水相を酢酸エチル(50 mL×2)で2回抽出し、合併した有機相をNa_2SO_4で乾燥した後濃縮し、得られた粗製品をCombi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して210 mgの目的産物である2-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-5-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンgを得た。MS m/z(ESI)：414.1 $[M+H]^+$。

【００８５】

化合物hの製造

【化３１】



【００８６】

工程1：

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

【００８７】

工程2：

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

【００８８】

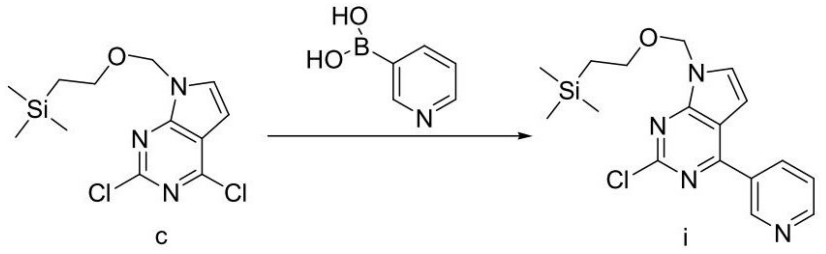
工程3：

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

【００８９】

化合物iの製造

【化３２】

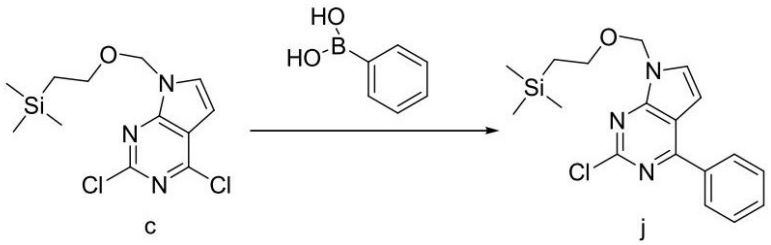


化合物c（500 mg, 1.58 mmol）のアセトニトリル/水（10/2 ml）溶液にピリジン-3-イルホウ酸（173 mg, 1.43 mmol)、Pd(dppf)Cl_2(116 mg, 0.14 mmol)および炭酸ナトリウム(344 mg, 2.87 mmol)を入れ、反応混合物を100℃で15分間マイクロ波反応させた。基質が完全に反応したら、水を入れてクエンチングし、反応混合物に酢酸エチル（150 ml）を入れて層分離した後、水相を酢酸エチル(50 mL×2)で2回抽出し、合併した有機相をNa_2SO_4で乾燥した後濃縮し、得られた粗製品をCombi-flashカラムクロマトグラフィーによって分離・精製して280 mgの目的産物である2-クロロ-4-(ピリジン-3-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンiを得た。MS m/z(ESI)：361.1 $[M+H]^+$。

【００９０】

化合物jの製造

【化３３】

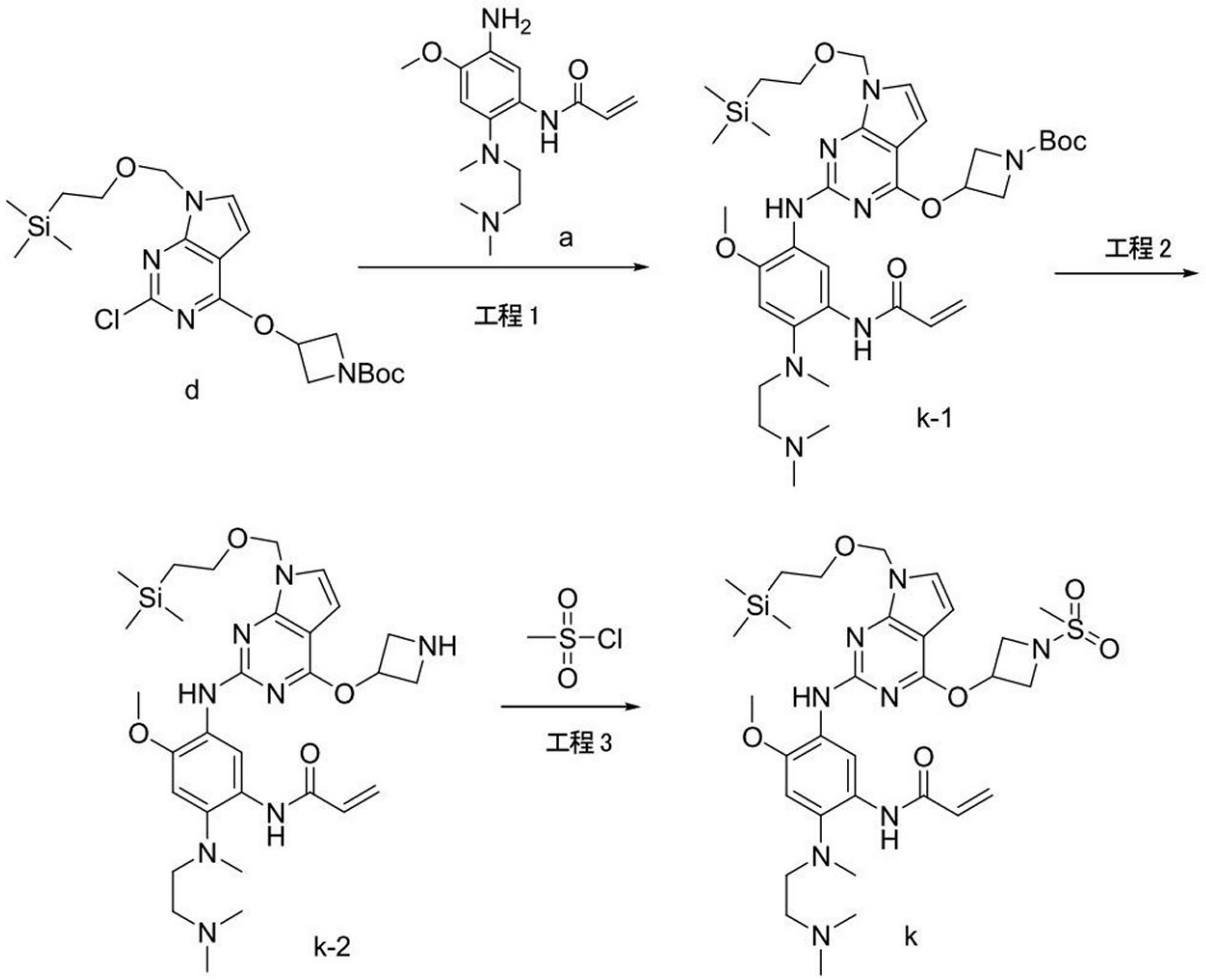


化合物3cおよびフェニルホウ酸を原料とし、化合物iの製造方法を参照して製造した。MS m/z(ESI):360 $[M+H]^+$。

【００９１】

化合物kの製造

【化３４】



【００９２】

工程1：

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

【００９３】

工程2：

0℃において、トリフルオロ酢酸(1.124 g, 9.86 mmol)を化合物k-1(700 mg, 0.986 mmol)の10 mLの塩化メチレン溶液に入れ、室温で激しく2 h撹拌した。反応終了後、反応液を減圧条件で蒸留乾燥し、1.5 gの化合物k-2を得、産物をそのまま次の工程に使用した。MS m/z(ESI):611 $[M+H]^+$。

【００９４】

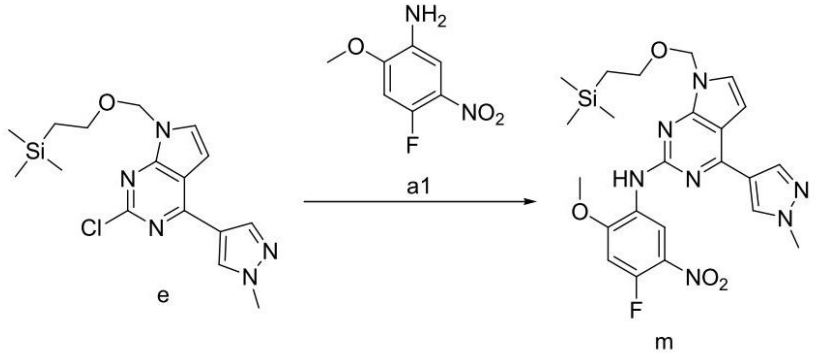
工程3：

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

【００９５】

化合物mの製造

【化３５】

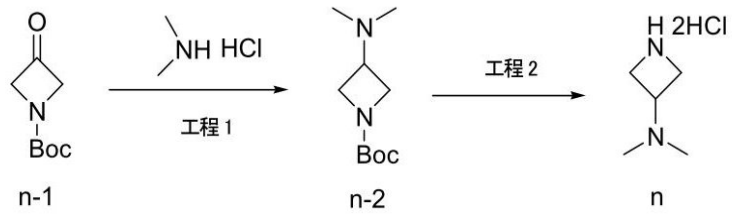


化合物e(800 mg, 2.2 mmol)および化合物a1(410 mg, 2.2 mmol)の10 mLの1,4-ジオキサン溶液に$Pd_2(dba)_3$(202 mg, 0.22 mmol)、BINAP(274 mg, 0.44 mmol)および炭酸セシウム(1.437 g, 4.41 mmol)を入れた。反応混合物を140℃で25分間マイクロ波反応させた。反応終了後、反応混合物をろ過し、塩化メチレンで洗浄し、ろ液を減圧で濃縮して粗製品を得、combiflash[PE: EA =100:0]によって精製して840 mgの化合物N-(4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロフェニル)-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-アミンmを得た。MS m/z(ESI):514.2[M+H]$^+$。

【００９６】

化合物nの製造

【化３６】



【００９７】

工程1：

水素雰囲気において、化合物n-1(5.0 g, 0.0292 mmol)、ジメチルアミン塩酸塩(4.77 g, 0.0584 mmol)、2.1 gのPd/Cおよび2.5 mlの酢酸を100 mlのメタノールに入れ、水素ガスで置換した後、室温で48時間反応させた。反応終了後、ろ過し、濃縮させて粗製品を得た。飽和$NaHCO_3$および酢酸エチルを入れて抽出し、塩水で洗浄し、濃縮させて目的物n-2を得た(5.0 g、収率85%)。MS m/z(ESI): 201 [M+H]$^+$。

【００９８】

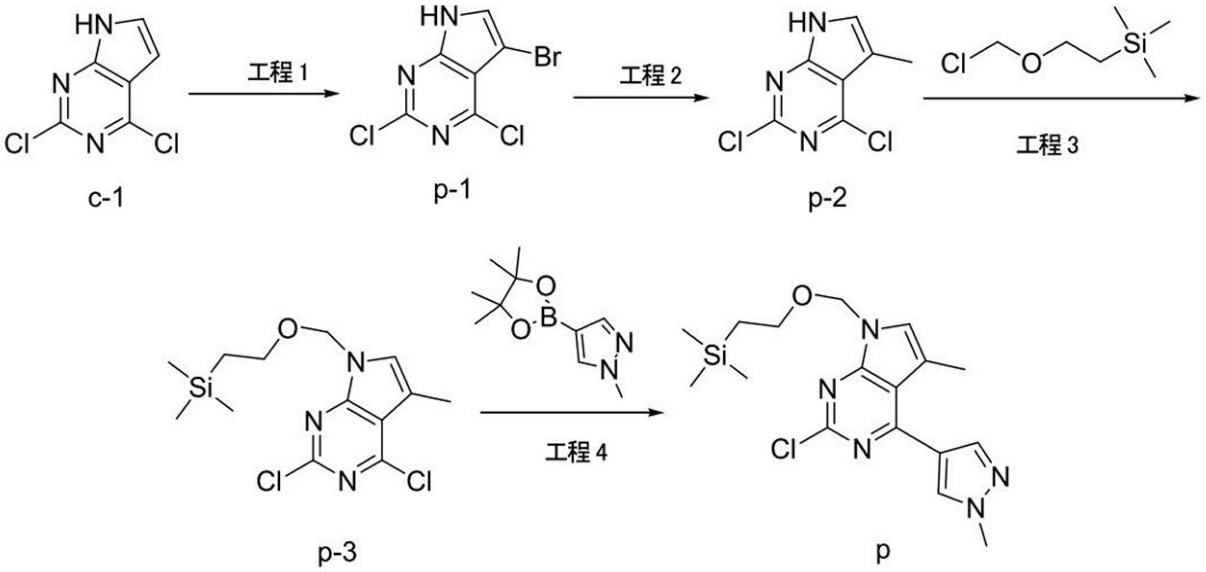
工程2：

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

【００９９】

化合物pの製造

【化３７】



【０１００】

工程1：

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

【０１０１】

工程2：

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

【０１０２】

工程3：

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

【０１０３】

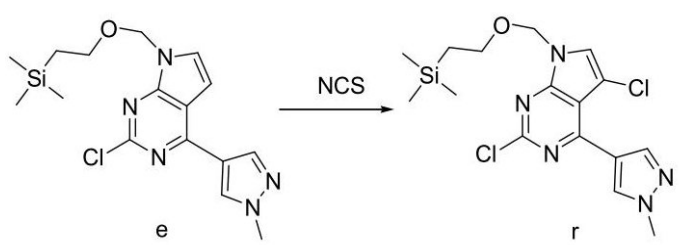
工程4：

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

【０１０４】

化合物rの製造

【化３８】

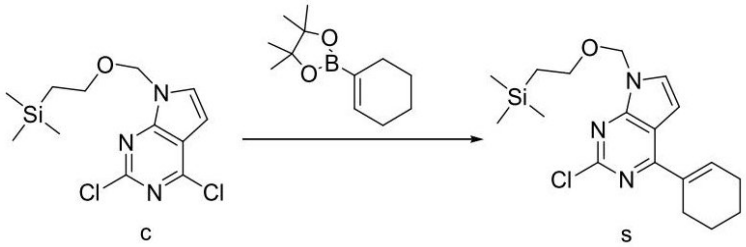


化合物e（410 mg, 1.12 mmol）の10 mlアセトニトリル溶液にNCS（180 mg, 1.35 mmol）を入れた。反応混合物を70℃で2時間撹拌した。反応終了後、濃縮し、combiflashによって精製して化合物2,5-クロロ-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンr（300 mg, 収率67％）を得た。MS m/z(ESI):398[M+H]$^+$。

【０１０５】

化合物sの製造

【化３９】

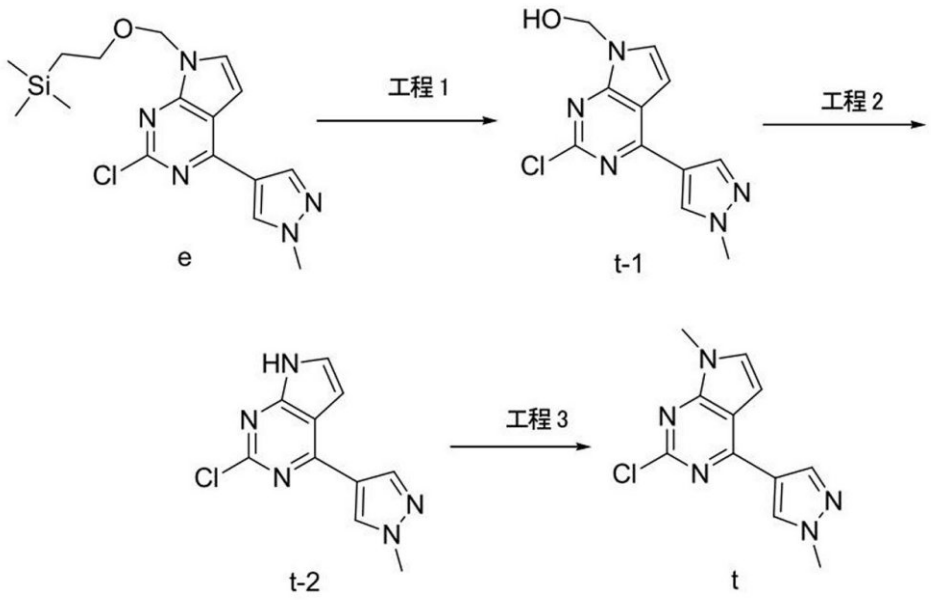


化合物cおよび2-シクロヘキセニルオキシ-4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロランを原料とし、化合物gの製造方法を参照して製造した。化合物2-クロロ-4-シクロヘキセニル-7-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンsを得た。MS m/z(ESI):364 [M+H]$^+$。

【０１０６】

化合物tの製造

【化４０】



【０１０７】

工程1-2

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

【０１０８】

工程3：

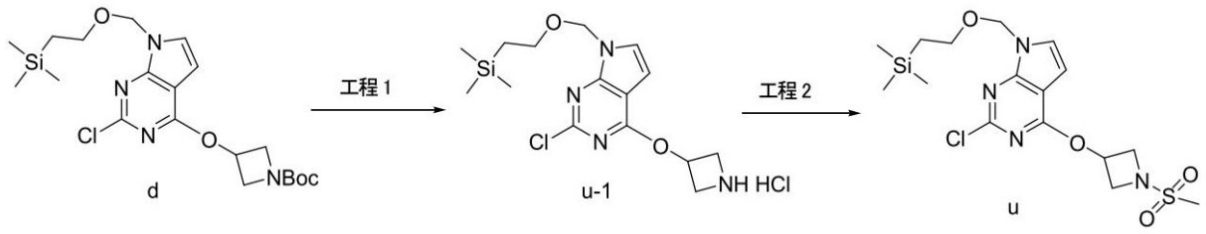
氷浴において、化合物t-2（23.3 mg, 0.1 mmol）の5 ml DMF溶液に一括で水素化ナトリウム（5 mg, 0.12 mmol）を入れ、反応混合物を0℃で20分間撹拌した後、ヨードメタン（28.4 mg, 0.2 mmol）を滴下した。反応液を室温に昇温して2時間撹拌した。反応終了後、水を入れてクエンチングし、酢酸エチルで抽出し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し

た後濃縮し、combiflashによって精製して化合物2-クロロ-7-メチル-4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンt（20 mg, 0.08 mmol）を得た。MS m/z(ESI): 248 $[M+H]^+$。

【０１０９】

化合物uの製造

【化４１】



【０１１０】

工程1

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

【０１１１】

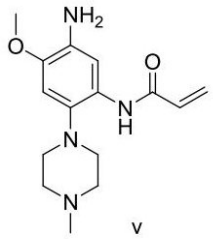
工程2

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

【０１１２】

化合物vの製造

【化４２】

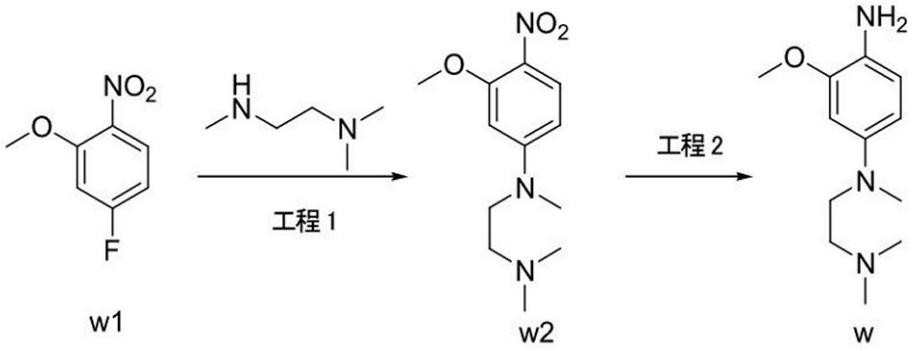


製造方法は化合物aと同様で、異なるのは化合物aの製法における工程2でのN,N,N'-トリメチルエチレンジアミンを1-メチルピペラジンに変えた。MS m/z(ESI): 291 $[M+H]^+$。

【０１１３】

化合物wの製造

【化４３】

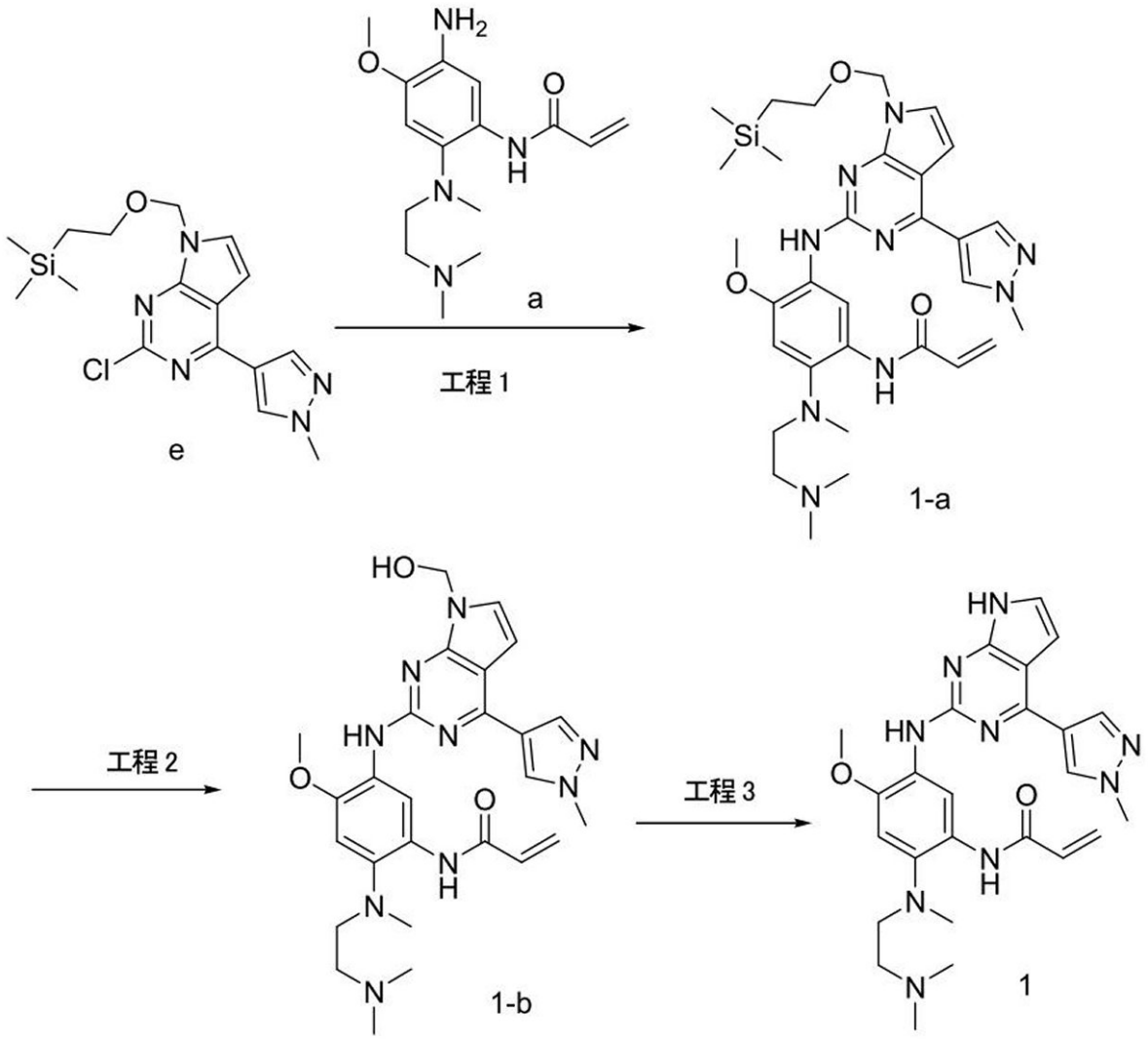


化合物w1およびN,N,N'-トリメチルエチレンジアミンを出発原料とし、化合物aにおける工程2および3を参照して製造し、化合物wを得、収率は98％であった。MS m/z(ESI): 224 $[M+H]^+$。

【０１１４】

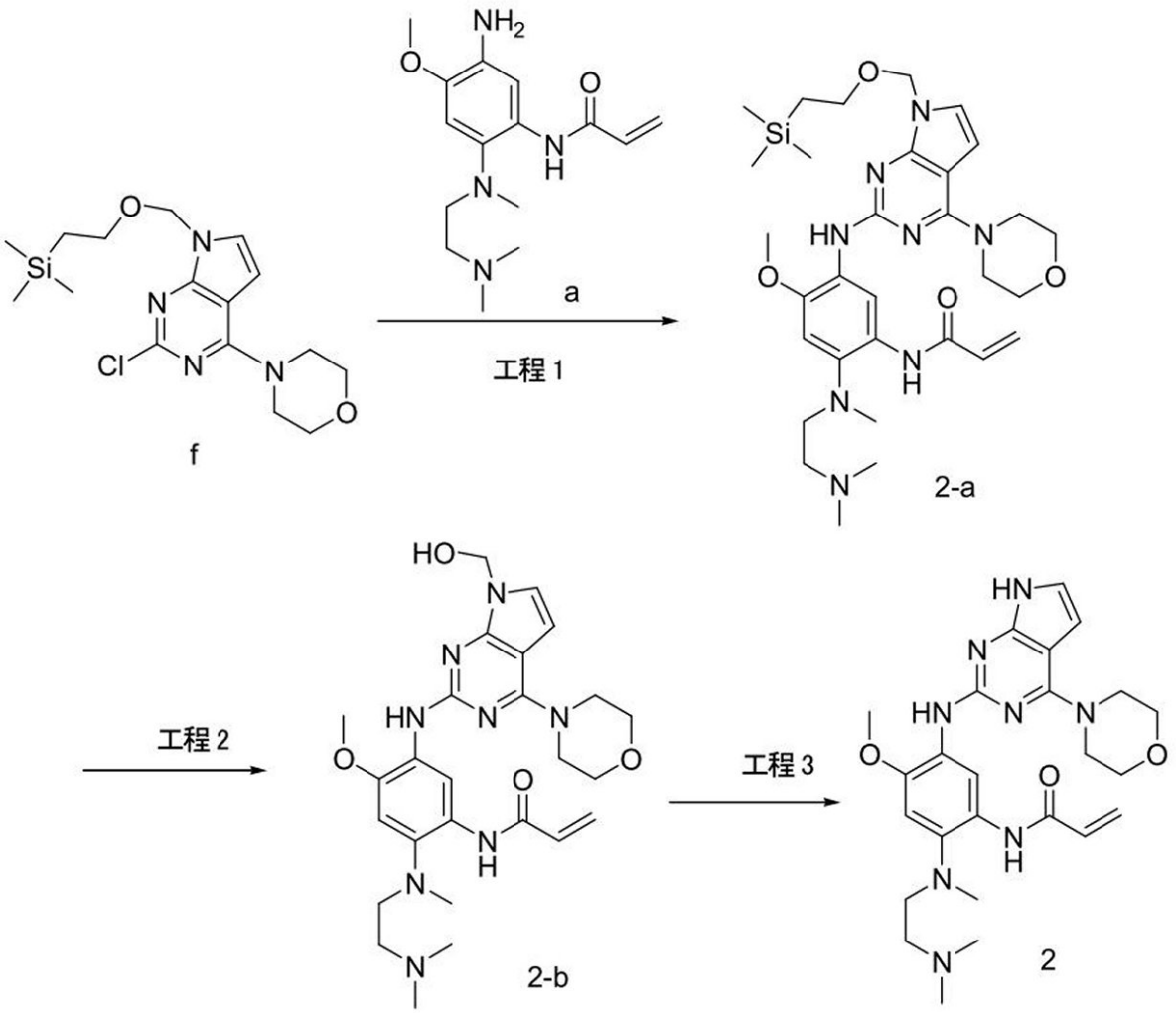
実施例1　N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド（1）の製造

【化４４】



【０１１５】
工程1：
化合物e(100 mg, 0.27 mmol)、化合物a(80 mg, 0.27 mmol)、$Pd_2(dba)_3$(25 mg, 0.027 mmol)、キサントホス(28 mg, 0.054 mmol)および炭酸セシウム(180 mg, 0.54 mmol)を4 mLの密封管反応器に置き、5 mLの1,4-ジオキサンを入れ、アルゴンで空気を1分間置換し、160℃に加熱して封じて15分間反応させた。反応液をろ過し、塩化メチレンでケーキを洗浄し、ろ液を濃縮して粗製品を得、調製液相によって分離・精製して目的産物1-aを得た(200 mg、収率80％)。MS m/z(ESI): 620$[M+H]^+$。
【０１１６】
工程2：
化合物1-a(100 mg、0.16 mmol)の5 mL塩化メチレン溶液に2 mLのトリフルオロ酢酸を入れ、反応混合物を室温で4時間撹拌した。反応終了後、反応液を減圧条件で蒸留乾燥し、化合物1-b（100 mg）を得、産物をそのまま次の工程に使用した。MS m/z(ESI): 520 $[M+1]^+$。
【０１１７】
工程3：
化合物1-b(100 mg、0.16 mmol)のエタノール/水（10/2 ml）溶液に炭酸カリウム（250 mg, 1.6 mmol）を入れ、反応混合物を室温で2時間撹拌した。反応終了後、反応液を減圧条件で蒸留乾燥し、酢酸エチルで抽出し、無水Na_2SO_4で乾燥し、濃縮して粗製品を得た。調製液相によって分離・精製して表題化合物1（100 mg、収率90％）を得、黄色固体であった。
MS m/z(ESI):490$[M+H]^+$。^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.24 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.05 (dd, J = 3.5, 2.0 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.66 (dd, J = 3.5, 1.8 Hz, 1H), 6.45 - 6.24 (m, 2H), 5.71 (d, J = 11.8 Hz, 1H) , 4.06 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.91 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.26 (overlap, 8H)。
【０１１８】
実施例2 N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-4-メトキシ-5-(4-モルホリノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド（2）の製造

【化４５】



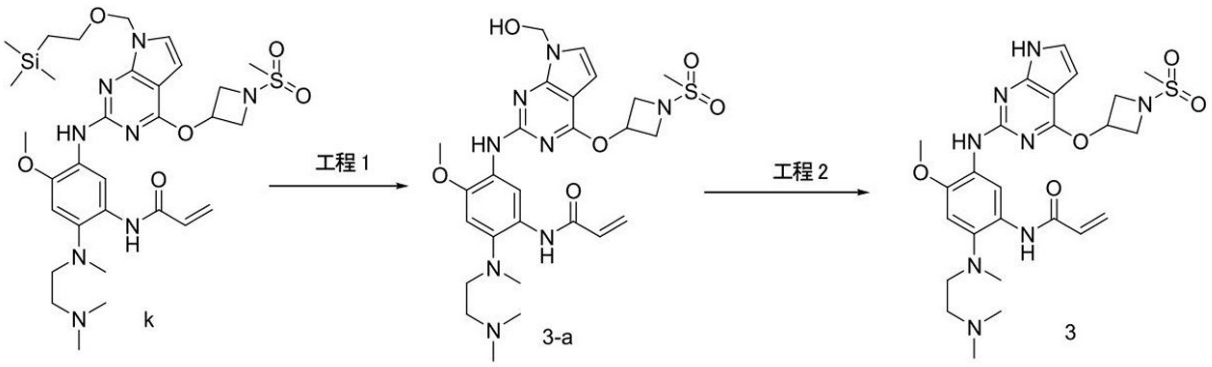
【０１１９】

化合物fおよび化合物aを原料とし、実施例1を参照して製造し、表題化合物2を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI): 495 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.04 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.74 (dd, J = 3.5, 2.1 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.35 - 6.29 (m, 2H), 6.26 (s, 1H), 5.60 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 3.95 - 3.89 (m, 4H), 3.82 - 3.80 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 2.81 (t, J =5.6 Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.18 (overlap, 8H)。

【０１２０】

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

【化４６】



【０１２１】

工程1：

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

【０１２２】

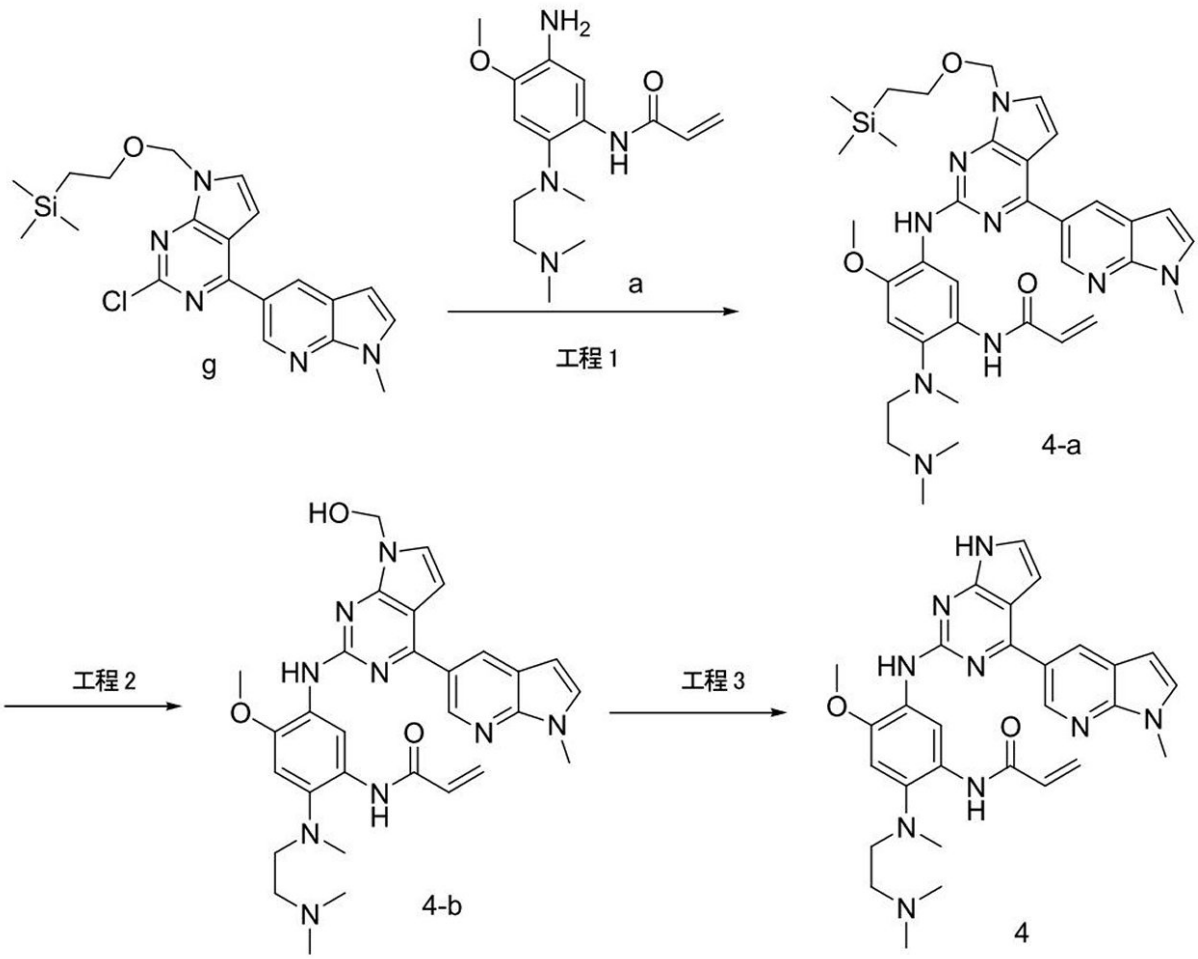
工程2：

0℃において、工程1における粗製品に3 mlのメタノールを入れて溶解させ、さらに3 mlのアンモニア水を入れ、反応混合物を40℃で3時間撹拌し、反応終了後、反応液を濃縮して粗製品を得、調製液相によって分離・精製して6 mgの表題化合物3を得、白色固体であった。MS m/z(ESI):559.2 $[M+H]^+$。^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.47 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.06 - 7.02 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.39 (dd, J = 16.9, 9.9 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 3.5, 1.9 Hz, 1H), 6.33 - 6.25 (m, 1H), 5.76 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.33 - 4.23 (m, 2H), 3.99 (dd, J = 9.7, 4.8 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 2.85 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.27 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H)。

【０１２３】

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

【化４７】



【０１２４】

工程1：

化合物g(210 mg, 0.51 mmol)および化合物a(148 mg, 0.51 mmol)の10 mLの1,4-ジオキサン溶液に$Pd_2(dba)_3$(46 mg, 0.05 mmol)、BINAP(63 mg, 0.12 mmol)および炭酸セシウム(332 mg, 1.02 mmol)を入れた。反応混合物を140℃で30分間マイクロ波反応させた。反応終了後、反応混合物をろ過し、塩化メチレンで洗浄し、ろ液を減圧で濃縮させて粗製品を得、combiflash[PE: EA =90:10]によって精製して270 mgの化合物4-aを得た。 MS m/z(ESI): 670.5$[M+H]^+$。

【０１２５】

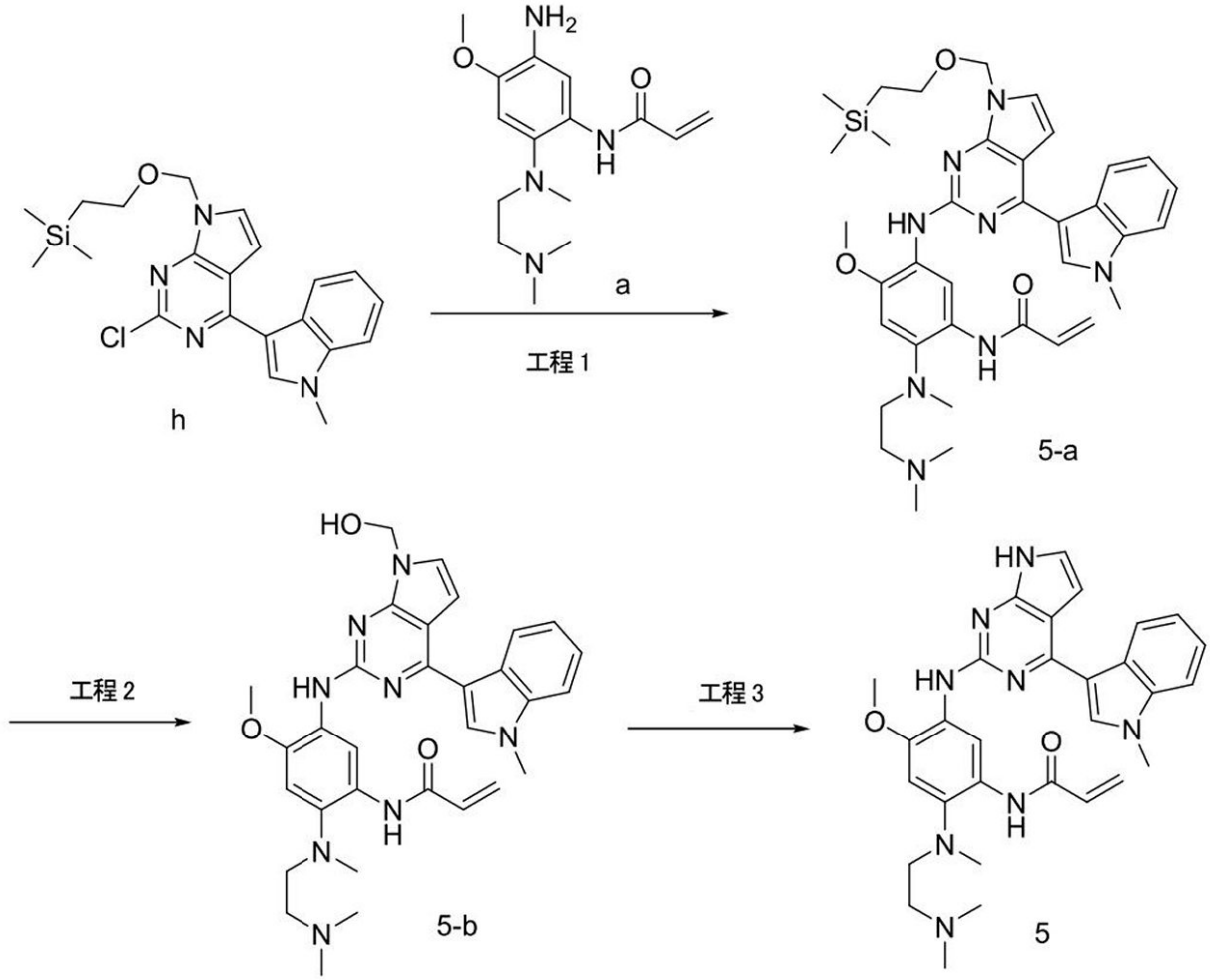
工程2と工程3

化合物4-aを原料とし、実施例3における工程1と2の方法を参照して合成し、41 mgの表題化合物4を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI):540.2 $[M+H]^+$； ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.61 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 9.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.62 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.61 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 5.80 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.88 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.29 (s, 2H), 2.21 (s, 6H)。

【０１２６】

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

【化４８】



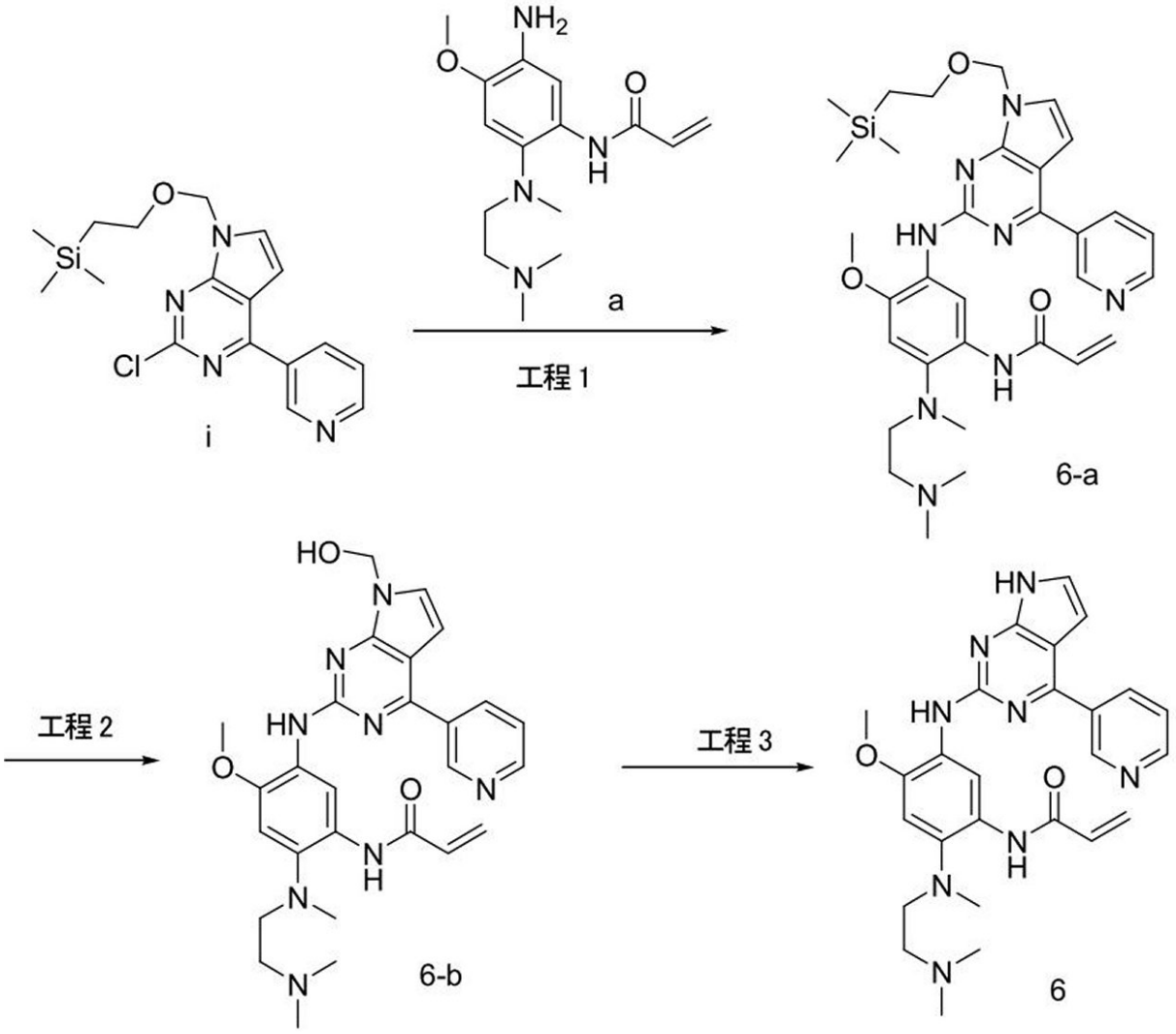
【０１２７】

化合物hおよび化合物aを原料とし、実施例4の方法を参照して製造し、表題化合物5の粗製品を得、得られた粗製品を調製液相によって分離・精製して[H_2O(0.05vol％ギ酸):CH_3CN=85:15～90:10]表題化合物5のギ酸塩を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):539 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.05 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.48 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.41 - 7.37 (m, 1H), 7.32 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.30 - 7.28 (m, 1H), 7.04 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.84 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.65 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 16.9, 1.6 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.2, 1.5 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.16 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.90 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.62 (overlap, 6H)。

【０１２８】

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

【化４９】



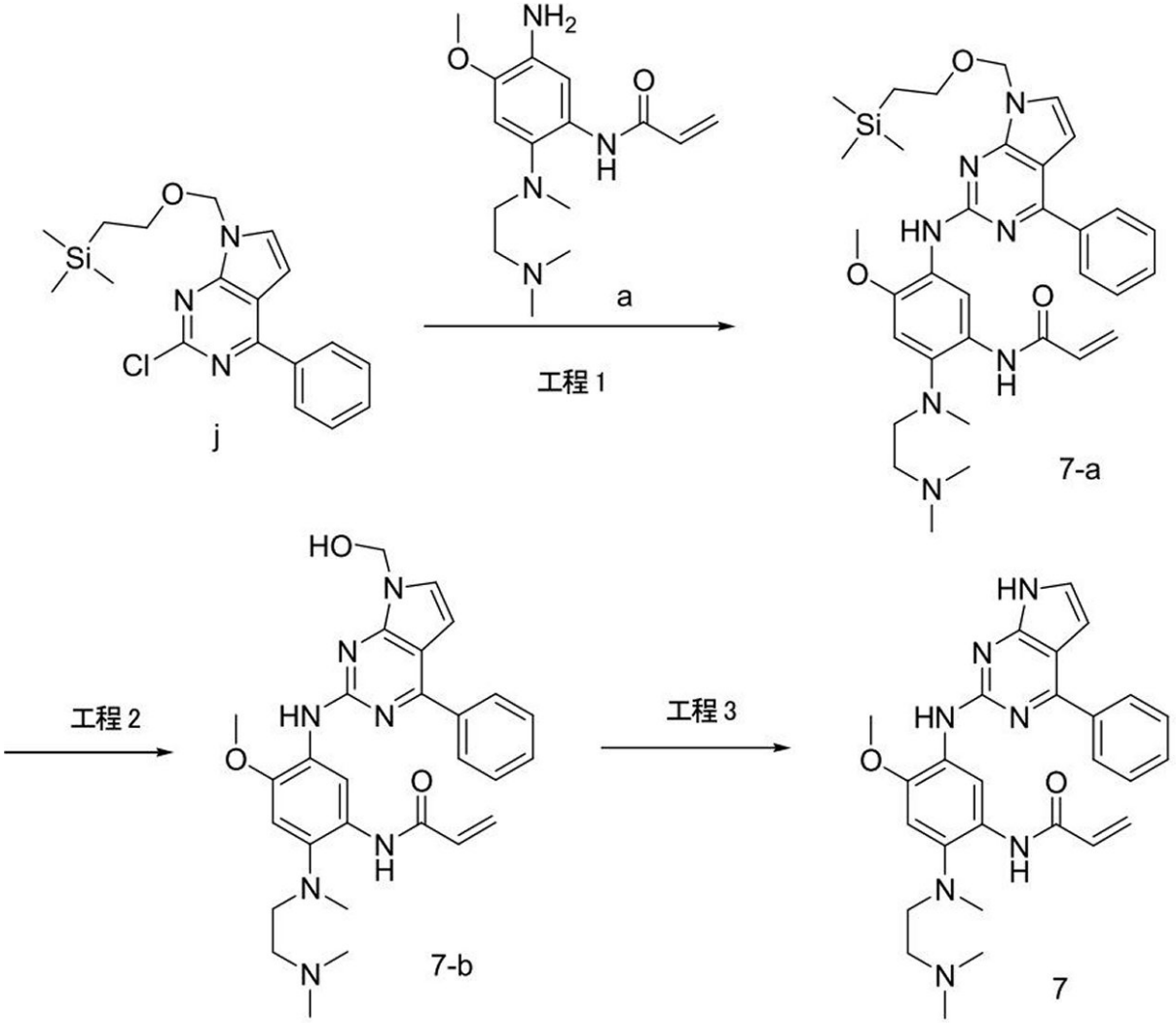
【０１２９】

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

【０１３０】

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

【化５０】



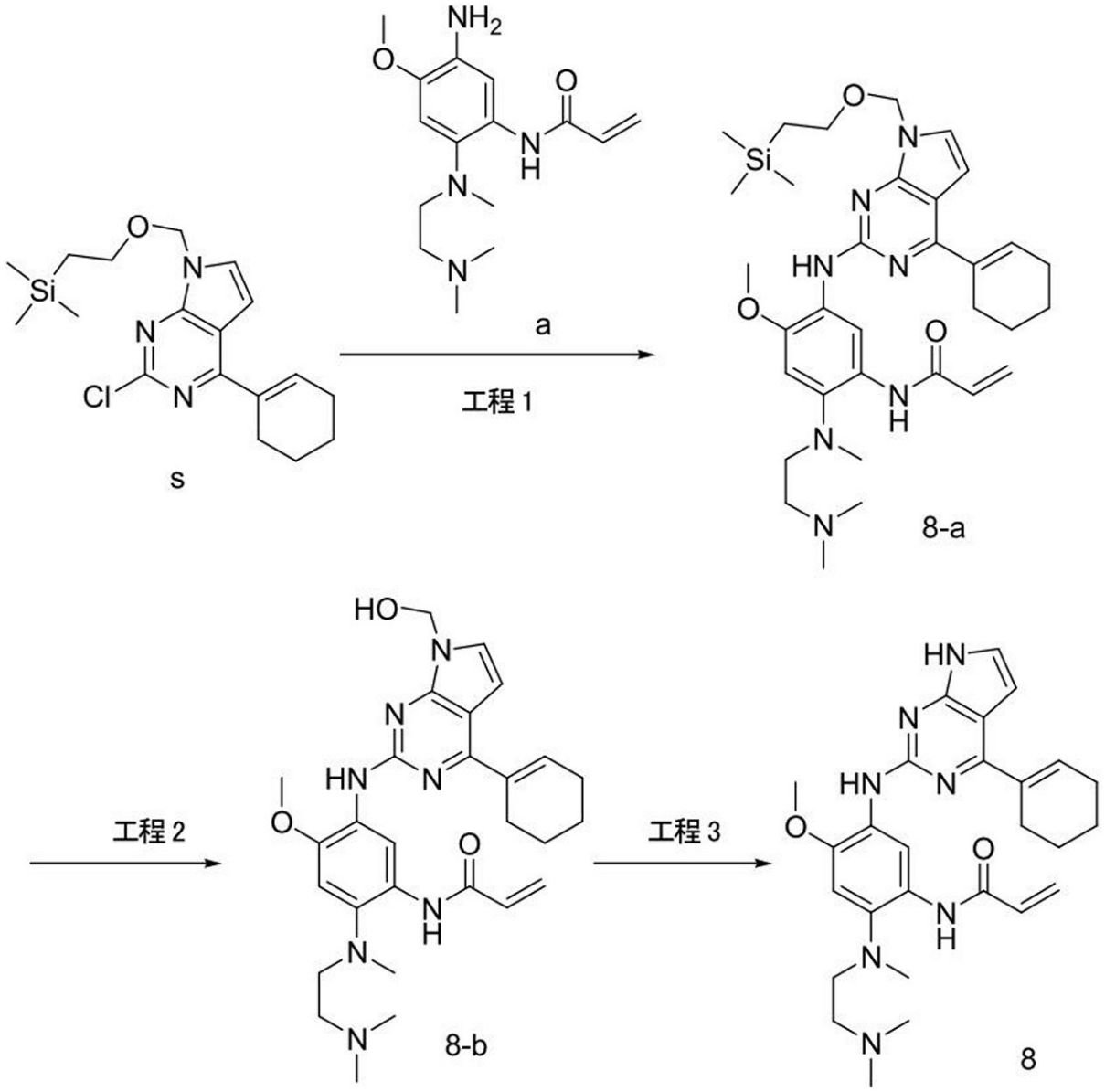
【０１３１】

化合物jおよび化合物aを原料とし、実施例4の方法を参照して製造し、表題化合物7を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):486.2 $[M+H]^+$；^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.79 (s, 1H), 10.30 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.44 (dd, J = 7.4, 2.0 Hz, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.75 - 7.69 (m, 3H), 7.44 (dd, J = 3.5, 2.1 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.88 (dd, J = 3.5, 1.3 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 16.9, 9.9 Hz, 1H), 6.47 (dd, J = 16.9, 2.2 Hz, 1H), 5.94 (dd, J = 9.9, 2.2 Hz, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.03 (s, 2H), 2.86 (s, 3H), 2.45 (s, 2H), 2.37 (s, 6H)。

【０１３２】

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

【化５１】



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

【０１３３】

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

工程1：

化合物e(100 mg, 0.275 mmol)、化合物b(87 mg, 0.275 mmol)、$Pd_2(dba)_3$(26 mg, 0.028 mmol)、キサントホス(32 mg, 0.056 mmol)および炭酸セシウム(185 mg, 0.56 mmol)を4 mLの密封管反応器に置き、5 mLの1,4-ジオキサンを入れ、アルゴンで空気を1分間置換し、160℃に加熱して封じて15分間反応させた。反応液をろ過し、塩化メチレンでケーキを洗浄し、ろ液を濃縮して粗製品を得、調製液相によって分離・精製して目的産物9-aを得た(200 mg、収率70％)。MS m/z(ESI): 646$[M+H]^+$。

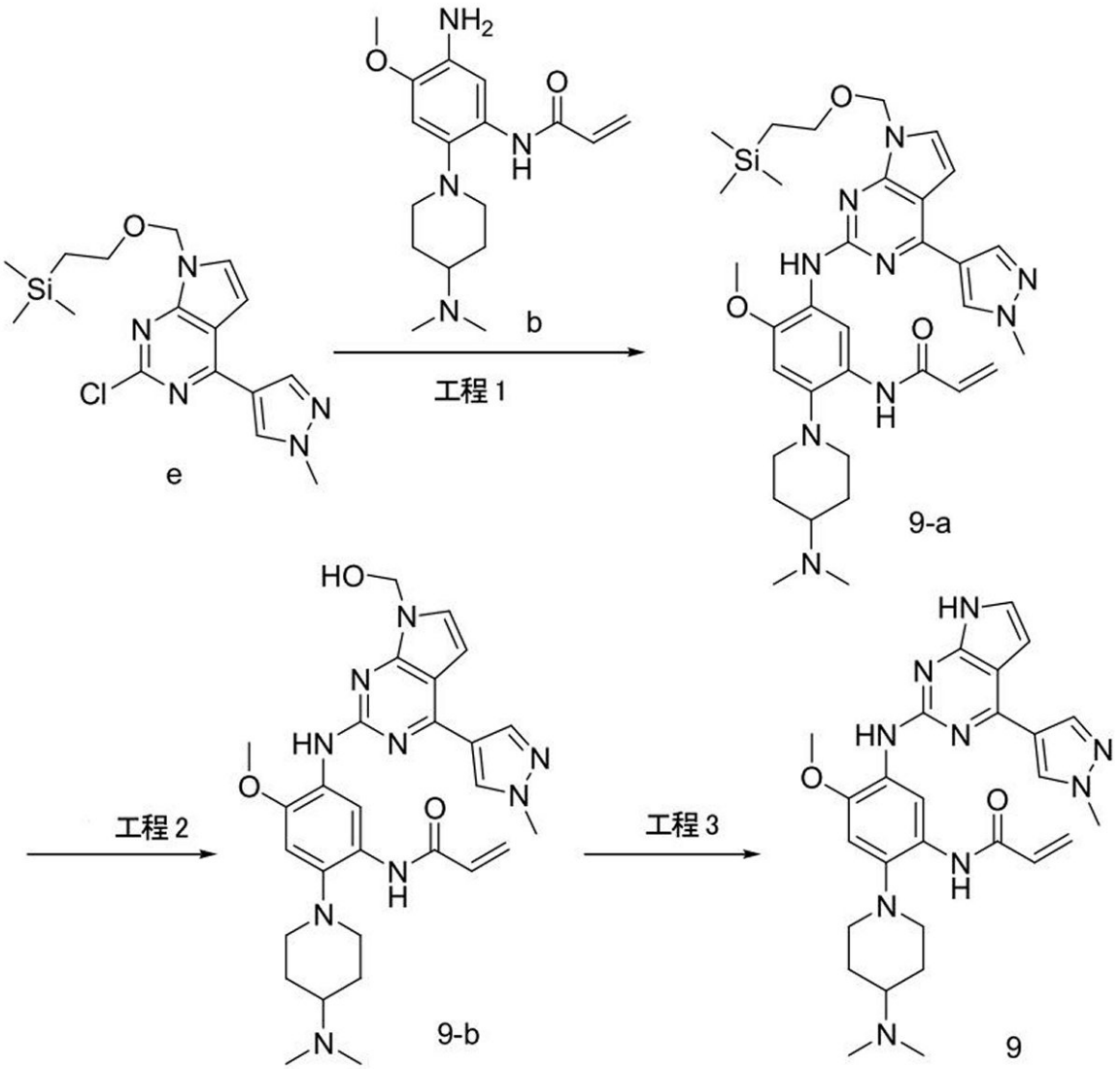
【０１３４】

工程2と3

化合物9-aを原料とし、実施例3の工程1と2を参照して製造し、表題化合物9の粗製品を

得、得られた粗製品を調製液相によって分離・精製して[H_2O(0.05vol％ギ酸):CH_3CN=80:20～90:10]表題化合物9のギ酸塩を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):516[M+H]$^+$。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.46 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.22 (dd, J = 3.4, 2.3 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.81 (dd, J = 3.4, 1.5 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 17.1, 10.0 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 5.79 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.05 (d, J = 11.0 Hz, 2H), 2.70 (t, J = 11.1 Hz, 2H), 2.56 (overlap, 1H), 2.44 (s, 6H), 1.92 (d, J = 10.6 Hz, 2H), 1.77 (m, 2H)。

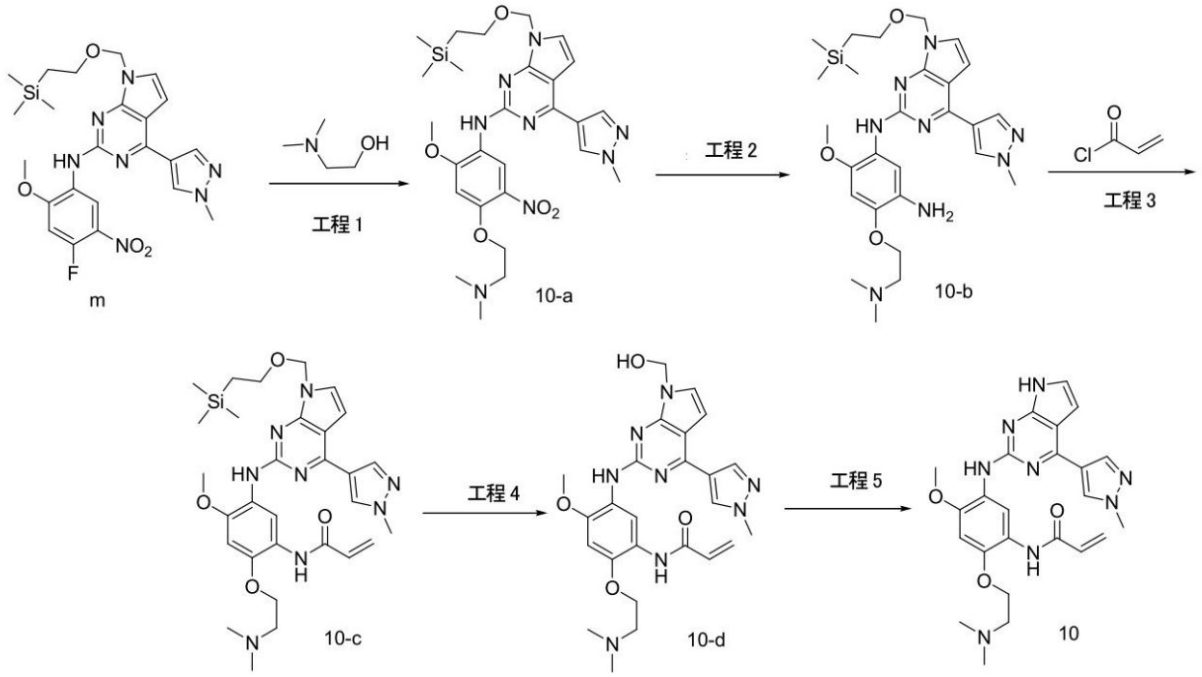
【化５２】



【０１３５】

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

【化５３】



【０１３６】

工程1：

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

【０１３７】

工程2：

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

【０１３８】

工程3：

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

【０１３９】

工程4と5：

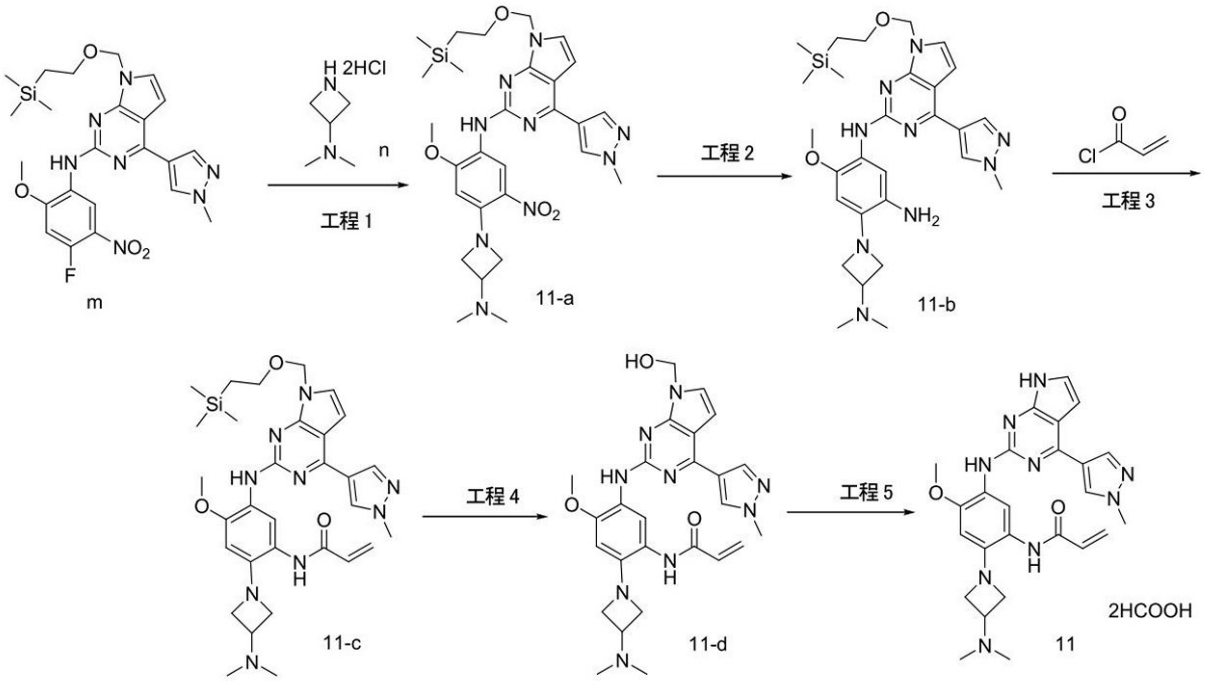
化合物10-cを原料とし、実施例3における工程1と2を参照して製造し、表題化合物10を得、浅黄色固体であった。

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

【０１４０】

実施例11　N-(2-(3-(ジメチルアミノ)アゼチジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミドギ酸塩（11）の製造

【化５４】



【０１４１】

工程1：

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

【０１４２】

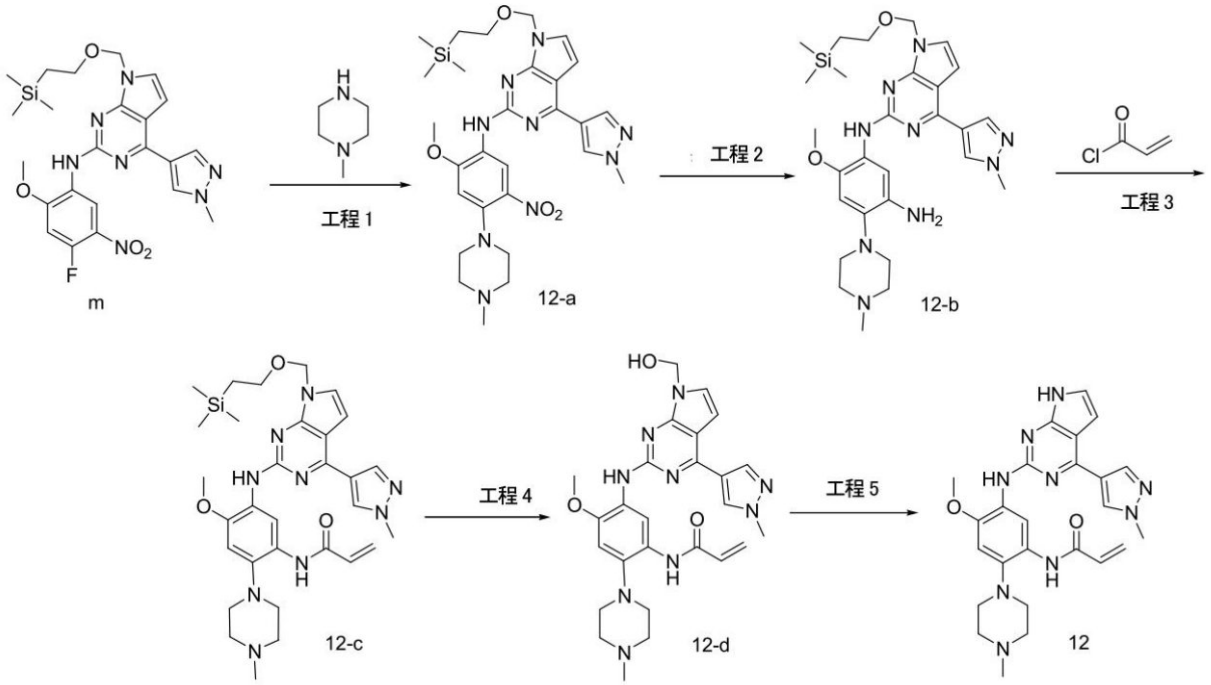
工程2-5

化合物11-aを原料とし、実施例10における工程2-5を参照して製造し、表題化合物11を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI): 488$[M+H]^+$。^{1}HNMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 11.45 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.23 (s, 3H), 7.34 (s, 1H), 7.20 - 7.14 (m, 1H), 6.76 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.54 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.32 - 6.23 (m, 2H), 5.73 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.96 - 3.89 (m, 8H), 3.53 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 3.07 - 3.04 (m, 1H), 2.08 (s, 6H)。

【０１４３】

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

【化５５】



【０１４４】

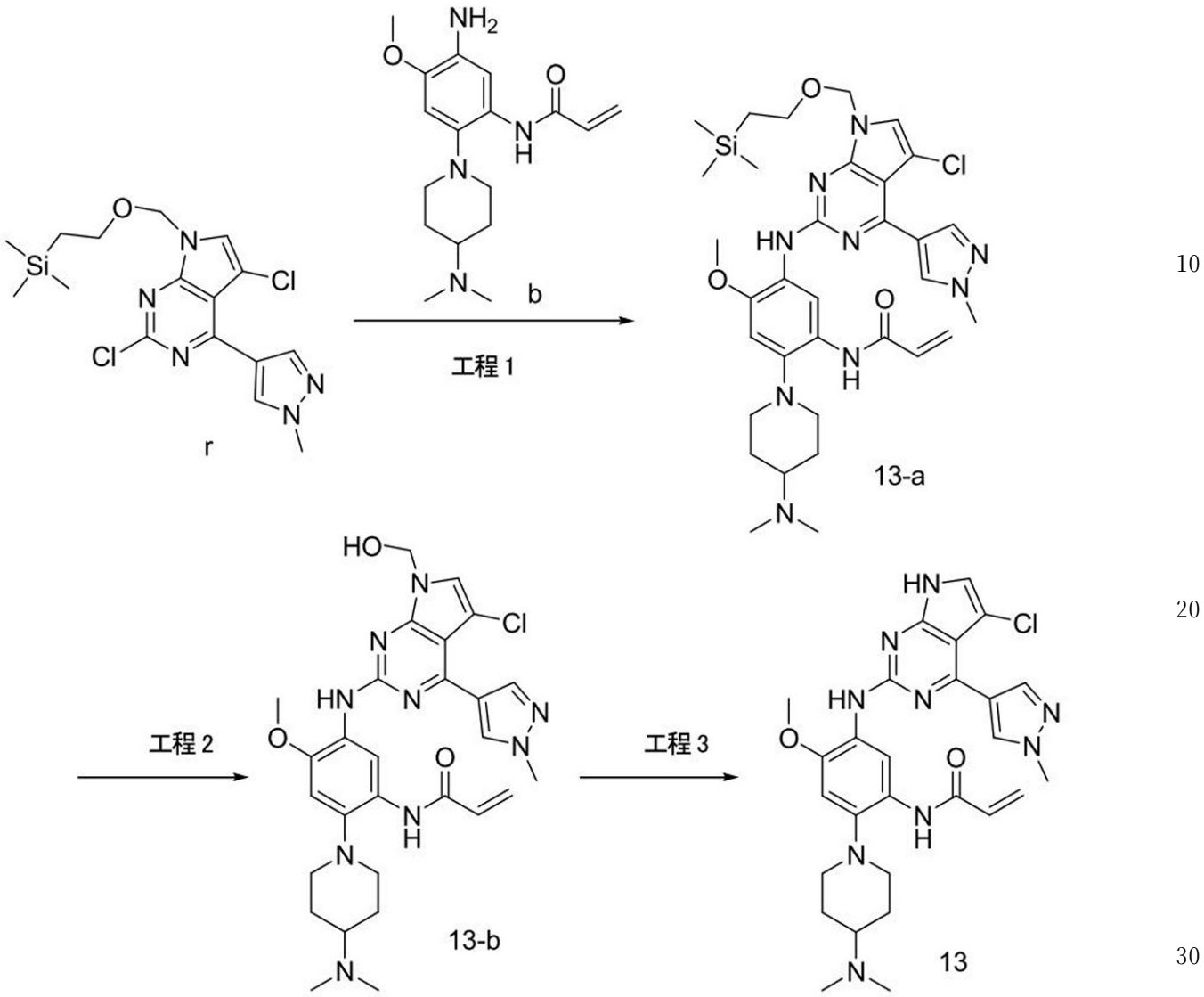
化合物mおよび1-メチルピペラジンを原料とし、実施例11の方法を参照して製造し、表題化合物12を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):488[M+H]$^+$。^{1}HNMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 11.46 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.22 (dd, J = 3.5, 2.3 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.81 (dd, J = 3.6, 1.7 Hz, 1H), 6.66 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 2.85 (t, J = 4.6 Hz, 4H), 2.52 (s, 4H), 2.26 (s, 3H)。

【０１４５】

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

化合物rおよび化合物bを原料とし、実施例9を参照して製造し、表題化合物13を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):550[M+H]$^+$。^{1}HNMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 11.81 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.38 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.71 (dd, J = 16.8, 10.1 Hz, 1H), 6.30 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.03 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.67 (t, J = 11.1 Hz, 2H), 2.31 (s, 1H), 2.29 (s, 6H), 1.86 (d, J = 10.6 Hz, 2H), 1.70 (d, J = 8.8 Hz, 2H)。

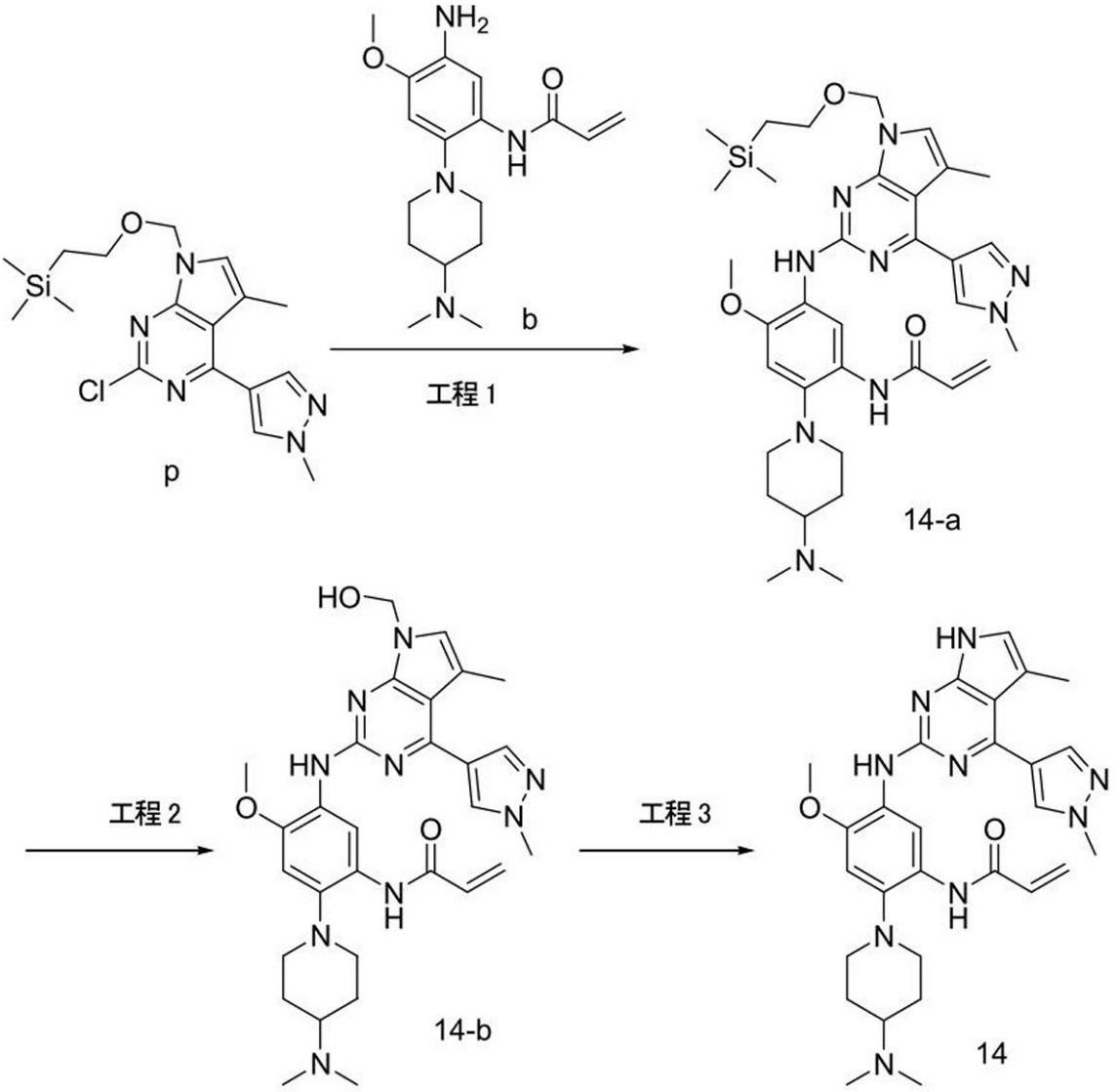
【化５６】



【０１４６】

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

【化５７】



【０１４７】

化合物pおよび化合物bを原料とし、実施例9を参照して製造し、表題化合物14を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI):530.3[M+H]$^+$。^{1}HNMR(400MHz, DMSO-d_6) ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.18 (s, 1H), 9.03 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 8.52 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.70 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.30 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.01 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 2.66 (t, J = 10.9 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.24 (s, 6H), 2.23 - 2.18 (m, 1H), 1.84 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 1.68 (d, J = 11.2 Hz, 2H)。

【０１４８】

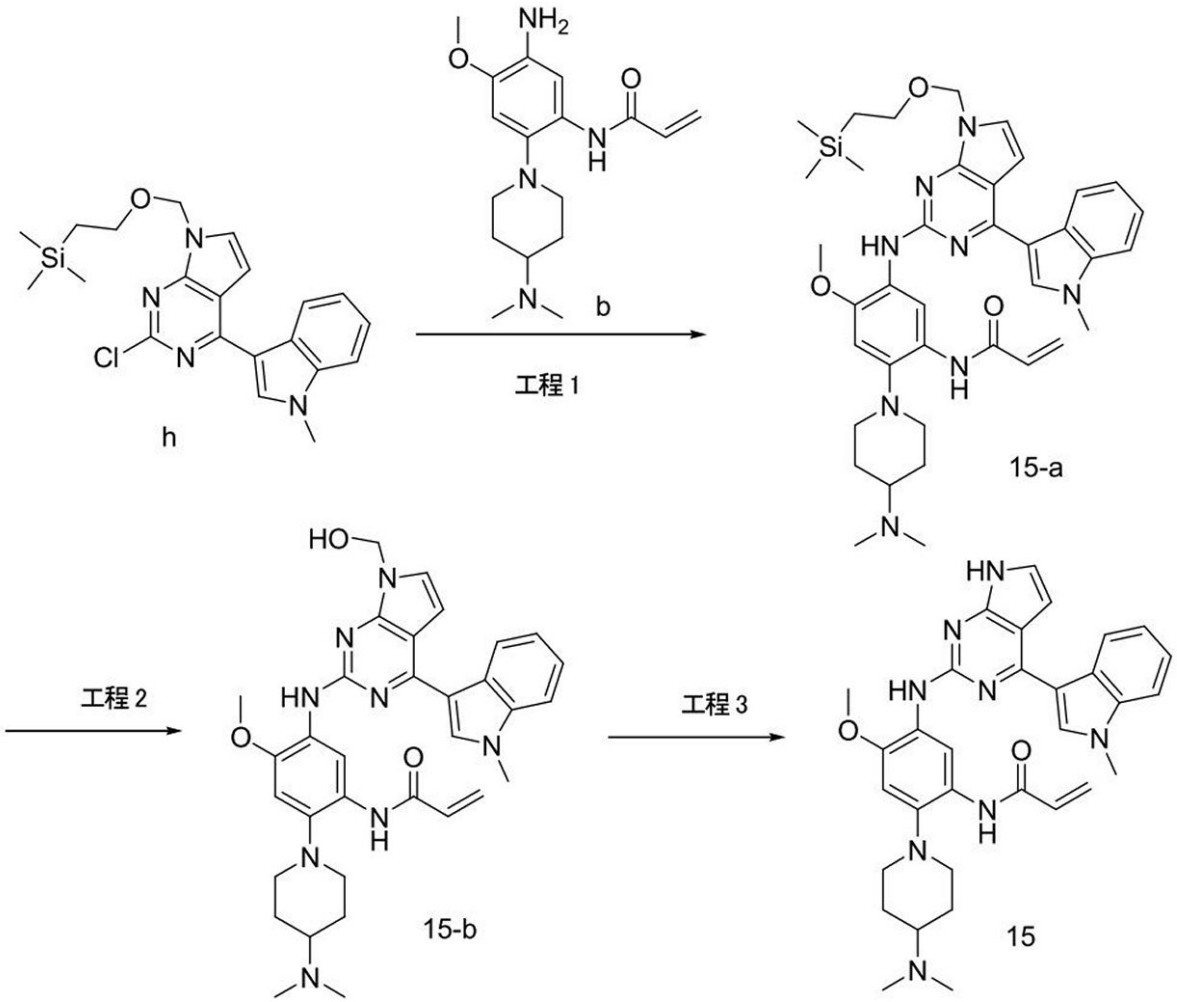
実施例15 N-(2-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)-4-メトキシ-5-(4-(1-メチル-1H-インドール-3-イル)-7H-ピロロ[2,3-D]ピリミジン-2-イルアミノ)フェニル)アクロイルアミド（15）の製造

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

3H), 3.09 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 11.2 Hz, 2H), 2.62 (s, 1H), 2.46 (s, 6H), 1.94 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 1.77 (d, J = 9.7 Hz, 2H).

【０１４９】

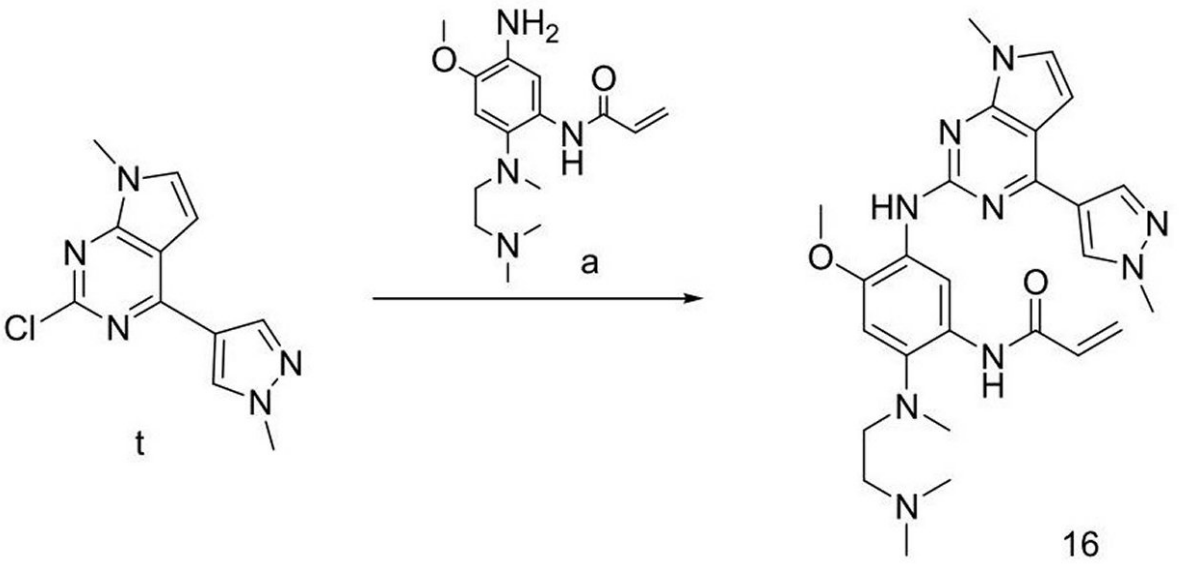
【化５８】



【０１５０】

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

【化５９】



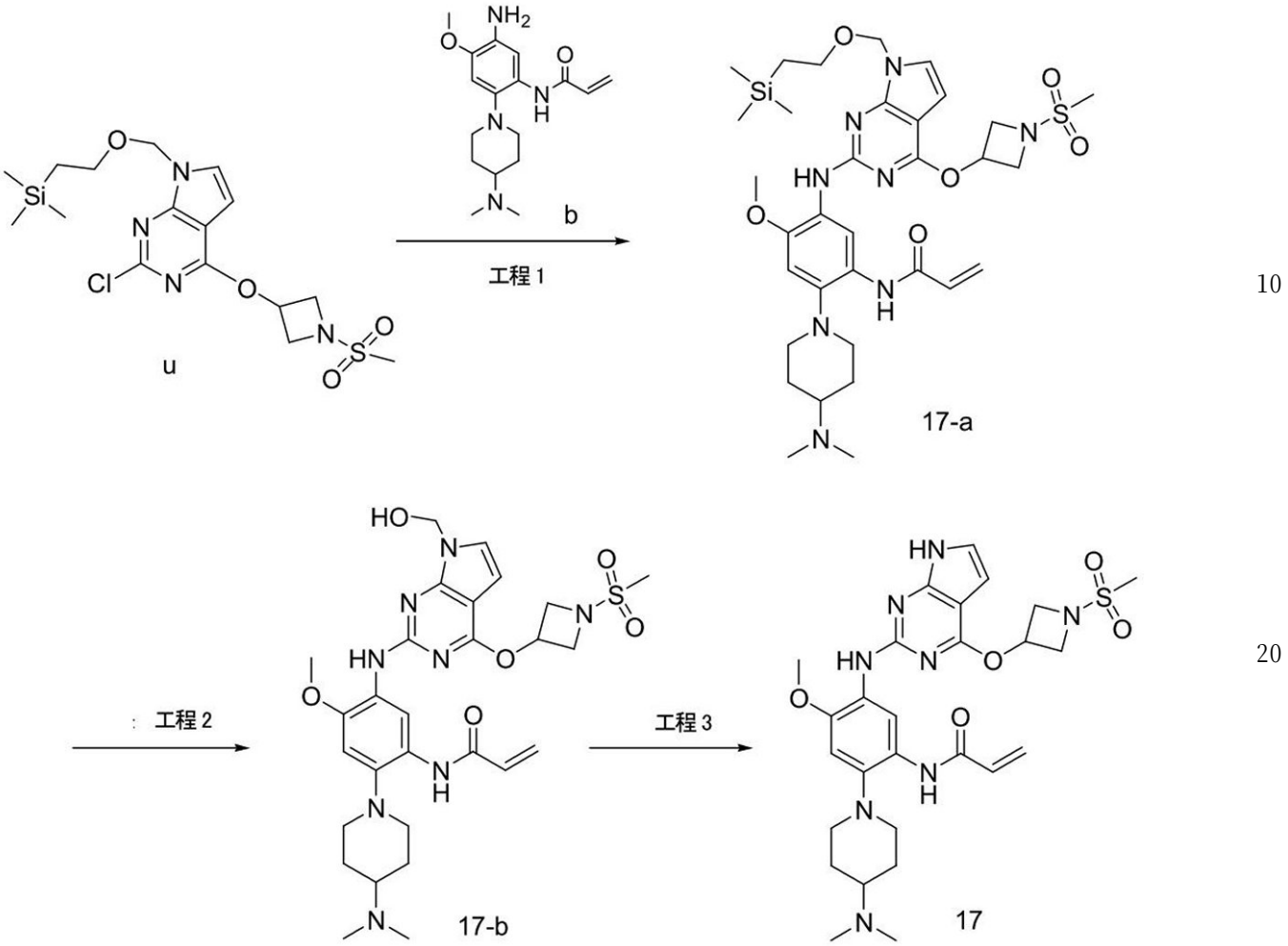
化合物tと化合物aを原料とし、実施例4における工程1の方法を参照して製造した。表題化合物16を得、浅黄色固体であった。MS m/z(ESI):504[M+H]$^+$。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.23 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.29 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.85 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.42-6.29 (m, 2H), 5.79 (dd, J = 11.4, 1.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.87 (t, J = 4.2 Hz, 2H), 2.70 (s, 2H), 2.26 (t, J = 4.2 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H).

【０１５１】

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

化合物uと化合物bを原料とし、実施例9の方法を参照して製造した。表題化合物17を得、黄色固体であった。MS m/z(ESI):585[M+H]$^+$。^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9.18 (s, 1H), 6.97 (d, 1H, J = 3.2), 6.89 (s, 1H), 6.59 (dd, J = 17.6, 9.6 Hz, 1H), 6.44 (d, J = 16.8, 1H), 6.41 (d, J = 4.0, 1H), 5.82 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 5.82-5.79 (m, 1H), 4.40-4.34 (m, 2H), 4.10-4.05 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.22-3.15 (m, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.93 (s, 6H), 2.87-2.82(m, 2H), 2.20-2.13 (m, 2H), 2.06-1.91 (m, 2H).

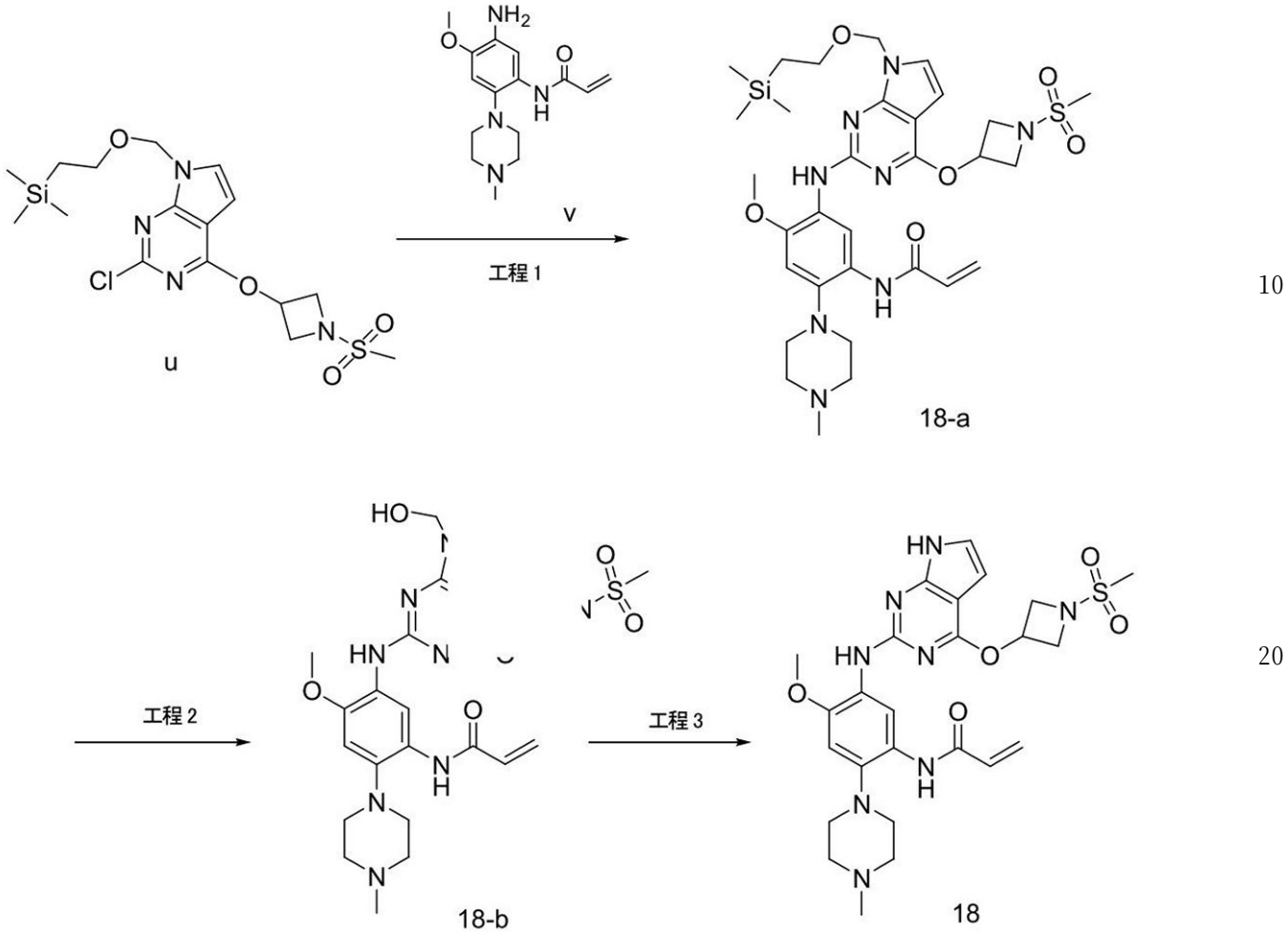
【化６０】



【０１５２】

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

【化６１】



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

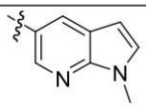
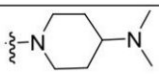
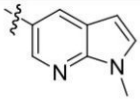
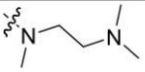
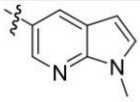
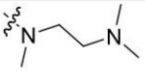
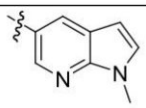
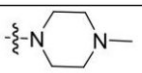
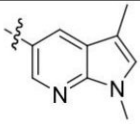
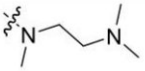
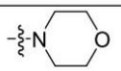
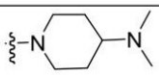
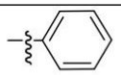
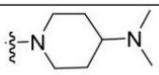
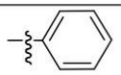
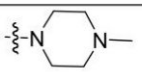
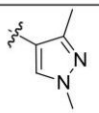
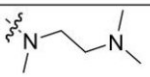
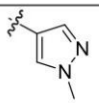
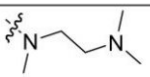
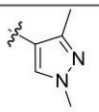
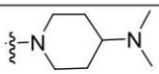
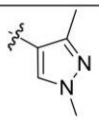
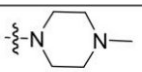
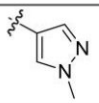
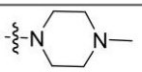
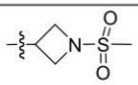
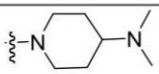
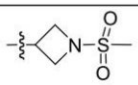
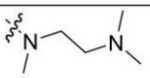
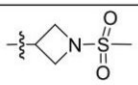
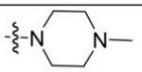
【０１５３】

実施例19～34

化合物19～34は式（I）で表され、ここで、置換基A、X、R_0、R_1、R_2、R_3は下記表の通りである。化合物19～34は下記表に示された異なる構造によって化合物1～18と類似の方法によって製造した。使用された出発原料および中間体は当業者が既存の方法によって製造することができる。

【０１５４】

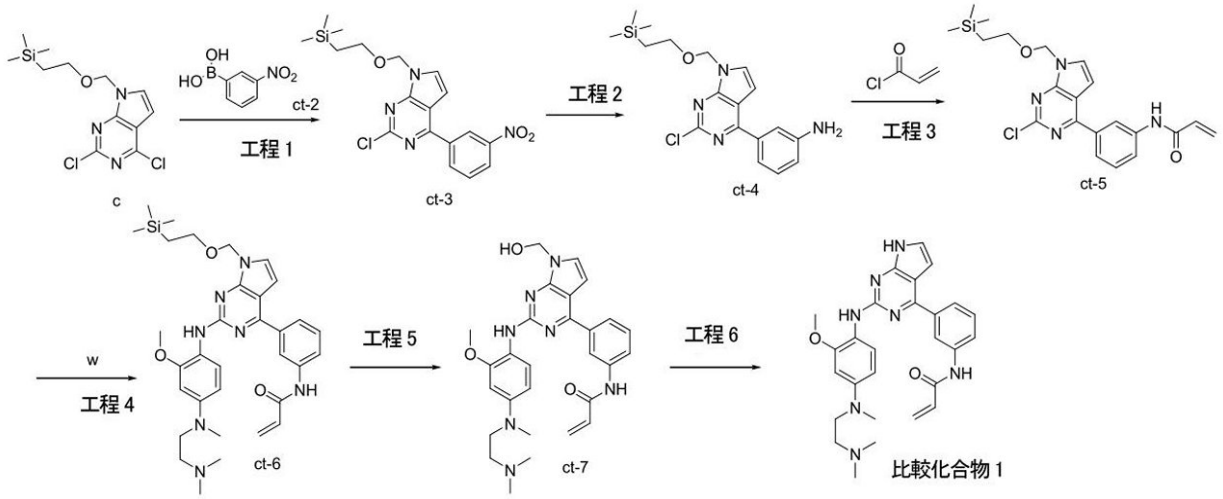
【表Ａ】

化合物番号	Ａ環	R_3	R_0	R_1	R_2	X	MS[M+H]$^+$
19			H	H	CH_3	共役結合	580
20			CH_3	H	H	共役結合	554
21			CH_3	H	CH_3	共役結合	568
22			H	H	Cl	共役結合	572
23			H	H	H	共役結合	554
24			H	H	CH_3	共役結合	535
25			H	H	CH_3	共役結合	526
26			CH_3	H	H	共役結合	498
27			CH_3	H	H	共役結合	518
28			CH_3	H	Cl	共役結合	538
29			CH_3	H	H	共役結合	544
30			H	H	Cl	共役結合	536
31			CH_3	H	H	共役結合	502
32			CH_3	H	H	O	599
33			H	H	CH_3	O	573
34			H	H	Cl	O	591

【０１５５】

比較例

【化６２】



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

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

【０１５６】

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

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

【０１５７】

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

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

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

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

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

【０１５８】

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

【０１５９】

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

1、ER=クマリン発光(450nm)/フルオレセイン発光(520nm)

2、リン酸化率=（1-((ER×$C3_{520nm}$-$C3_{450nm}$)/(($C1_{450nm}$-$C3_{450nm}$)＋ER×(C3520nm-$C1_{520nm}$)))）×100％

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

XLFIT 5.0ソフト(英国IDBS社)でフィッティングして半数阻害濃度IC_{50}を算出した。

【０１６０】

【表１】

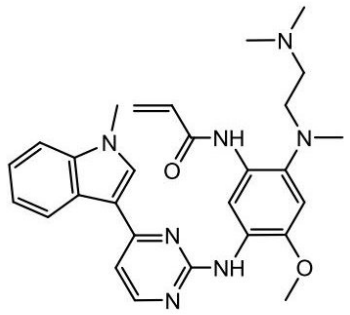
表１　酵素の阻害活性と選択的阻害活性

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

【０１６１】

表1から、陽性コントロールのBIBW2992(アファチニブ)およびAZD-9291（製造方法はWO2013014448A1を参照し、構造は以下の通りである）と比べ、本発明の実施例化合物1-14はEGFR突然変異型酵素(T790M/L858R)に対して強い阻害活性を表したが、EGFR野生型酵素(T790M WT)に対する阻害活性が弱いことがわかり、そして研究によって、アクリルアミド基の置換位置を変えると、化合物はほとんど活性がないことが見出された。そのため、本発明の化合物はEGFR突然変異型酵素に対して優れた選択的阻害活性を有する。

【化６３】



AZD-9291

【０１６２】

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

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

【０１６３】

一、試薬と溶液

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

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

1×PBS緩衝液：NaCl: 0.137M, KCl: 0.0027M, Na_2PO_4-$12H_2O$: 0.01M, KH_2PO_4 : 0.0015M, pH7.4。

洗浄緩衝液：0.05％（V/V）Tween-20を含有するPBS緩衝液。

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

ブロッキング液：1％（W/V）BSAを含有するPBS緩衝液。

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

【０１６４】

二、H1975細胞

2.1 H1975細胞処理と分解液の調製

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

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

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

【０１６５】

2.2 ELISA検出手順

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

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

(2) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

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

(4) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
(5) 40 μLの細胞分解緩衝液と60 μLの細胞分解液を入れ、25℃のシェーカーで2時間インキュベートした。
(6) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
【０１６６】
(7) 検出抗体を検出抗体希釈液でキットの説明書に書いた比率で希釈し、各ウェルに100 μLずつ入れ、25℃のシェーカーで光を避けて1時間インキュベートした。
(8) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
(9) TMB基質(R&D DY999)におけるA試薬とB試薬を1:1で混合し、各ウェルに100 μLずつ入れ、25℃のシェーカーで光を避けて20分間インキュベートした。
(10) 2N H_2SO_4を各ウェルに50 μLずつ入れた。
(11) マイクロプレートリーダーでプレートを読み取り(Thermo Multiskan K3)、それぞれ細胞コントロール、ブランクコントロールおよび薬物処理の場合のOD 450値およびOD570値を測定し、かつ同様のウェルのOD 450値から相応のOD570値を引いてそれぞれ$OD_{細胞}$、$OD_{ブランク}$および$OD_{薬物処理}$を得た。
2.3 データ分析
抑制率(%)=100%×($OD_{細胞}$-$OD_{薬物処理}$)/($OD_{細胞}$-$OD_{ブランク}$)
2.4 算出した抑制率からXLFIT 5.0ソフトでIC_{50}値を計算し、表4に示す。
【０１６７】
三、A431細胞
3.1 A431細胞の処理と試験手順
(1) A431細胞（中国科学院典型培養物寄託委員会細胞ライブラリー）を1×10^4/ウェルの密度で96ウェルプレートに接種し、各ウェルに90 μLの10%FBS含有DMEM培地を入れ、37℃、5% CO_2で一晩培養した。
(2) A431細胞培地を90 μLの無血清DMEM培地に換え、続いて一晩培養した。
(3) 被験化合物をMTT実験における薬物希釈方法で希釈し、10 μLの希釈された化合物または希釈されたDMSOを細胞培養プレートの相応のウェルに入れ、DMSOの最終濃度は0.5%で、37℃、5% CO_2で1時間培養した。その後、細胞コントロールウェル以外の各ウェルに10 μLの2 μg/LのEGF（R&D, 236-EG-01M）を入れ、細胞ウェルに10 μLの無血清DMEMを入れて45分間培養した。EGFまたは薬物で処理していない細胞を細胞コントロールとし、薬物を入れずにEGFだけで処理した細胞をEGFコントロールとした。
(4) 培地を吸い捨てた後、100 μLの細胞分解液を入れ、プレートを密封して-80℃の冷蔵庫に一晩置いた。
【０１６８】
3.2 ELISA検出手順
R&D DYC3570Eの説明書を参照して操作した。
(1) R&D捕獲抗体(DYC3570E)をPBSで1:180希釈し、希釈された抗体を100 μL/ウェルでELISA反応プレート(Corning costar 42592)に入れ、25℃のシェーカーで一晩コーティングさせた。
(2) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
(3) 200 μLのブロッキング液を入れ、25℃のシェーカーで2時間インキュベートした。
(4) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
(5) 40 μLの細胞分解緩衝液と60 μLの細胞分解液を入れ、25℃のシェーカーで2時間インキュベートした。
(6) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
【０１６９】
(7) 検出抗体を検出抗体希釈液でキットの説明書に書いた比率で希釈し、各ウェルに100 μLずつ入れ、25℃のシェーカーで光を避けて1時間インキュベートした。
(8) 360 μLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。
(9) TMB基質(R&D DY999)におけるA試薬とB試薬を1:1で混合し、各ウェルに100 μLずつ

入れ、25℃のシェーカーで光を避けて20分間インキュベートした。

(10) 2N H_2SO_4を各ウェルに50 μLずつ入れた。

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

3.3 データ分析

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

【０１７０】

3.4 算出した抑制率からXLFIT 5.0ソフトでIC_{50}値を計算し、表2に示す。

【表２】

表2 細胞活性のELISA法の測定結果

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

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

【０１７１】

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

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

まず、培地を捨てて0.25 %のトリプシン/EDTA（Gibco, 25200-056）を1 mL入れた。 1回洗浄した後、さらに1.5 mLのトリプシン/EDTAを入れて細胞が分離するまで付着細胞を消化した後、3.5 mLの培地を入れて消化を終了させた。消化した細胞の懸濁液を15 mL遠心管に移し、1300 rpmで3分間遠心した後、上清を捨て、かつ新鮮な培地で細胞を再懸濁させた。その後、細胞をカウントし、かつ細胞を希釈し、 H1975細胞は2.78万/mLで、A431細胞およびNIH3T3細胞は3.33万/mLであった。細胞を96ウェルプレート(BD 3072)に接種し、各ウェルに90 μLずつ、一晩培養した。

【０１７２】

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

NIH3T3細胞の培地は10％FBS（Gibco，10099-141）含有DMEM（Hyclone SH30243.01B)で、
H1975細胞の培地は10％FBS（Gibco，10099-141）含有RPMI-1640（Hyclone SH30809.01B)で、
20 μLの10mM被験化合物を取り、以下のような濃度勾配(2000、666.67、222.22、74.07、24.69、8.23、2.74、0.91 μM)で200×薬品を希釈し、さらに無血清培地(最終濃度：100、33.33、11.11、3.704、1.235、0.412、0.137、0.046 μM)を入れ、かつ細胞培養プレートの各ウェルに10 μlの薬品をDMSOの最終濃度が0.5％にあるように入れた。

【０１７３】

薬品を入れた後、細胞をインキュベーターに置き、72 h培養した後、各ウェルに10 μLの5 mg/mlのMTT（Sigma、M5655）溶液を入れ、さらに96ウェルプレートを37℃、5％CO_2のインキュベーターで4 hインキュベートした。
その後、2000 rpm、5分間の条件でプレートを遠心させ、上清を捨てた後、各ウェルに150 μLのDMSOを入れ、かつクリスタルバイオレットが全部溶解するまでシェーカーでプレートを振とうさせた。最後に、マイクロプレートリーダーで492 nmにおける光吸収を測定し、XLFIT 5.0ソフト(英国IDBS社)でIC_{50}を算出した。

【０１７４】

【表３】

表3 化合物の細胞生長に対する阻害活性および選択性

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

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

【０１７５】

【表４】

表4 化合物のNIH3T3細胞に対する毒性試験の結果

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

表4から、陽性コントロールのBIBW2992と比べ、本発明実施例の化合物は、NIH3T3細胞に高いIC_{50}値を有するため、低い毒性を示すことがわかる。

【０１７６】

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

同様に、本発明の化合物は優れた生物的利用能を示す。

【０１７７】

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

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/085089

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 487/04 (2006.01) i; C07D 519/00 (2006.01) i; A61K 31/519 (2006.01) i; A61K 31/5377 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i; A61P 37/02 (2006.01) i; A61P 25/28 (2006.01) i; A61P 9/00 (2006.01) i;
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 487/-; C07D 519/-; A61K 31/-; A61P 35/-; A61P 3/-; A61P 37/-; A61P 25/-; A61P 9/-

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)

CNPAT, CNKI, DWPI, SIPOABS, STN (Registry, CApius): pyrrole, pyrimidine, tyrosine kinase

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2011140338 A1 (GATEKEEPER PHARMACEUTICALS INC.) 10 November 2011 (10.11.2011) description, paragraph [0049]	1-15
A	WO 2013169401 A1 (ARIAD PHARMA INC.) 14 November 2013 (14.11.2013) the whole document	1-15
A	CN 103501612 A (ARIAD GENE THERAPEUTICS INC.) 08 January 2014 (08.01.2014) the whole document	1-15

☐ 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	Date of mailing of the international search report
26 September 2015	14 October 2015
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer DI, Yanxin Telephone No. (86-10) 62086311

Form PCT/ISA /210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/085089

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2011140338 A1	10 November 2011	US 2013137709 A1	30 May 2013
WO 2013169401 A1	14 November 2013	JP 2015518490 A	02 July 2015
		AU 2013204563 A1	21 November 2013
		US 2015166591 A1	18 June 2015
CN 103501612 A	08 January 2014	US 2012316135 A1	13 December 2012
		EP 2704572 A1	12 March 2014
		AU 2012250517 A1	02 May 2013
		MX 2013012895 A	17 February 2014
		KR 20140028057 A	07 March 2014
		EP 2704572 A4	05 November 2014
		IL 228739 D0	31 December 2013
		EA 201391626 A1	31 March 2014
		WO 2012151561 A1	08 November 2012
		CA 2832504 A1	08 November 2012
		JP 2014514348 A	19 June 2014

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2015/085089

A. 主题的分类

C07D 487/04(2006.01)i; C07D 519/00(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61K 31/5377(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D 487/-,C07D 519/-,A61K 31/-,A61P 35/-,A61P 3/-,A61P 37/-,A61P 25/-,A61P 9/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNPAT,CNKI,DWPI,SIPOABS,STN(Registry,CApius):吡咯，嘧啶，EGFR，酪氨酸激酶，pyrrole,pyrimidine, tyrosine kinase

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2011140338 A1 (GATEKEEPER PHARMACEUTICALS INC) 2011年 11月 10日 (2011-11-10) 说明书第0049段	1-15
A	WO 2013169401 A1 (ARIAD PHARMA INC) 2013年 11月 14日 (2013-11-14) 全文	1-15
A	CN 103501612 A (阿里亚德医药股份有限公司) 2014年 1月 8日 (2014-01-08) 全文	1-15

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2015年 9月 26日	2015年 10月 14日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国 传真号 (86-10)62019451	受权官员 狄延鑫 电话号码 (86-10) 62086311

表 PCT/ISA/210 (第2页) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2015/085089

检索报告引用的专利文件			公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
WO	2011140338	A1	2011年 11月 10日	US	2013137709	A1	2013年 5月 30日
WO	2013169401	A1	2013年 11月 14日	JP	2015518490	A	2015年 7月 2日
				AU	2013204563	A1	2013年 11月 21日
				US	2015166591	A1	2015年 6月 18日
CN	103501612	A	2014年 1月 8日	US	2012316135	A1	2012年 12月 13日
				EP	2704572	A1	2014年 3月 12日
				AU	2012250517	A1	2013年 5月 2日
				MX	2013012895	A	2014年 2月 17日
				KR	20140028057	A	2014年 3月 7日
				EP	2704572	A4	2014年 11月 5日
				IL	228739	D0	2013年 12月 31日
				EA	201391626	A1	2014年 3月 31日
				WO	2012151561	A1	2012年 11月 8日
				CA	2832504	A1	2012年 11月 8日
				JP	2014514348	A	2014年 6月 19日

表 PCT/ISA/210（同族专利附件）（2009年7月）

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　31/5377		*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｋ　45/00		*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２３	
			Ａ６１Ｋ	31/519		
			Ａ６１Ｋ	31/5377		
			Ａ６１Ｋ	45/00		

(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

(71)出願人　516254256
シャンハイ　ハイヤン　ファーマシューティカル　テクノロジー　カンパニー　リミテッド
ＳＨＡＮＧＨＡＩ　ＨＡＩＹＡＮ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＹ　ＣＯ．，　ＬＴＤ．
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
Ｎｏ．８，　Ｌａｎｅ　６７，　Ｌｉｂｉｎｇ　Ｒｏａｄ，　Ｚｈａｎｇｊｉａｎｇ　Ｈｉｇｈ－Ｔｅｃｈ　Ｐａｒｋ，　Ｐｕｄｏｎｇ　Ｎｅｗ　Ａｒｅａ，　Ｓｈａｎｇｈａｉ　２０１２０３　Ｃｈｉｎａ
(71)出願人　516254267
ヤンツェー　リバー　ファーマシューティカル　グループ　カンパニー　リミテッド
ＹＡＮＧＴＺＥ　ＲＩＶＥＲ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＧＲＯＵＰ　ＣＯ．，　ＬＴＤ．
中華人民共和国　ジャンスウ　２２５３２１、タイツォウ、ガオガン　ディストリクト、サウス　ヤンツェー　リバー　ロード　１
１　Ｓｏｕｔｈ　Ｙａｎｇｔｚｅ　Ｒｉｖｅｒ　Ｒｏａｄ，　Ｇａｏｇａｎｇ　Ｄｉｓｔｒｉｃｔ，　Ｔａｉｚｈｏｕ，　Ｊｉａｎｇｓｕ　２２５３２１　Ｃｈｉｎａ
(74)代理人　100102842
弁理士　葛和　清司
(72)発明者　ラン，ジオン
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
(72)発明者　ジン，ユンツォウ
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
(72)発明者　ツォウ，フウシェン
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
(72)発明者　レイ，ジン
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
(72)発明者　ウェン，チョン
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テク　パーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８

(72)発明者　ツァン，ツィーユアン
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テクパーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８
(72)発明者　ヘー，シャンユウ
中華人民共和国　上海　２０１２０３、プードン　ニュー　エリア、ツァンジャン　ハイ－テクパーク、リービン　ロード、レーン　６７、ナンバー　８

Ｆターム(参考) 4C050 AA01 BB04 CC08 EE03 FF10 GG01 HH04
4C072 MM02 UU01
4C084 AA19 NA05 ZB261 ZC201
4C086 AA01 AA02 AA03 CB05 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 NA15
ZB26 ZC20 ZC75