

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7154455号

(P7154455)

(45)発行日 令和4年10月17日(2022.10.17)

(24)登録日 令和4年10月6日(2022.10.6)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 403/04 (2006.01)

C 0 7 D 403/04

C S P

A 6 1 K 31/506 (2006.01)

A 6 1 K 31/506

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 8 (全64頁)

(21)出願番号 特願2022-505482(P2022-505482)

(86)(22)出願日 令和2年7月24日(2020.7.24)

(65)公表番号 特表2022-533473(P2022-533473
A)

(43)公表日 令和4年7月22日(2022.7.22)

(86)国際出願番号 PCT/CN2020/103985

(87)国際公開番号 WO2021/018017

(87)国際公開日 令和3年2月4日(2021.2.4)

審査請求日 令和4年3月11日(2022.3.11)

(31)優先権主張番号 201910684658.1

(32)優先日 令和1年7月26日(2019.7.26)

(33)優先権主張国・地域又は機関

中国(CN)

早期審査対象出願

(73)特許権者 522313695

チャイナ・リソースズ・ファーマシュー

ティカル・ホールディングス・カンパニ

ー・リミテッド

中華人民共和国・ 베이징・ 1 0 0 0 1

8・チャオヤン・ディストリクト・ノー

ス・サード・リング・ミドル・ロード・

コートヤード・ナンバー・2・ビルディ

ング・ナンバー・7

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(74)代理人 100133400

弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

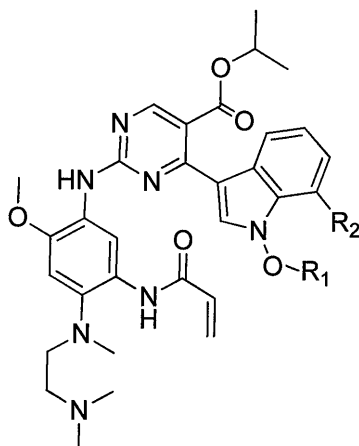
(54)【発明の名称】 E G F R 及び E R B B 2 に作用するピリミジン系化合物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I)に示す化合物又はその薬学的に許容される塩。

【化1】



(I)

(式中、R₁はC₁~3アルキル基から選ばれ、

R₂はH、F、Cl、Br、I、C₁~₃アルキル基及びシクロプロピル基から選ばれる。
)

【請求項2】

R₁はメチル基、エチル基及びイソプロピル基から選ばれる、請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項3】

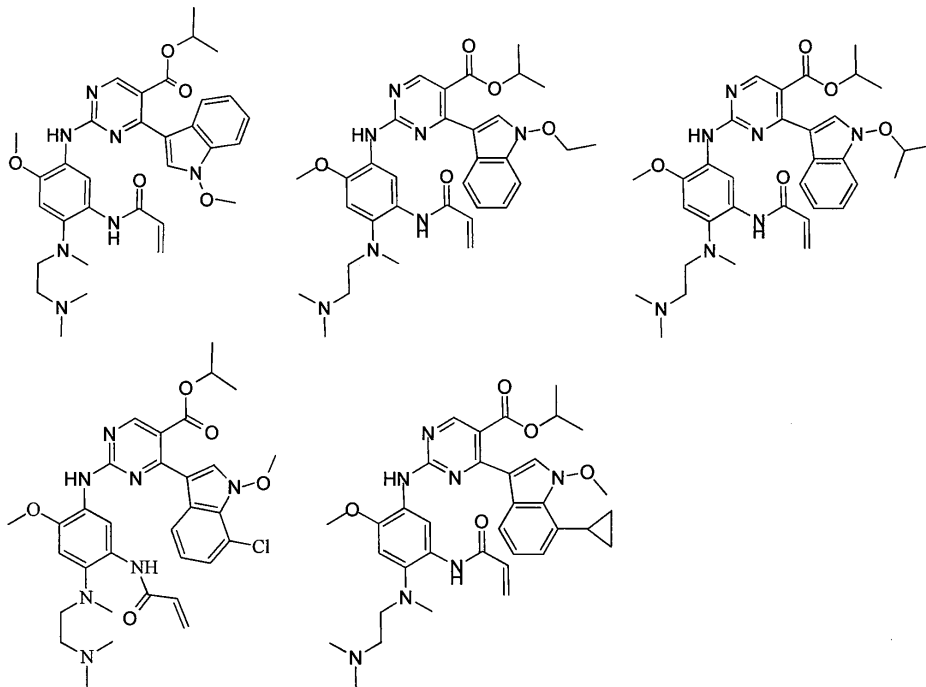
R₂はH、Cl及びシクロプロピル基から選ばれる、請求項1又は2に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項4】

下式に示す化合物又はその薬学的に許容される塩。

10

【化2】



20

【請求項5】

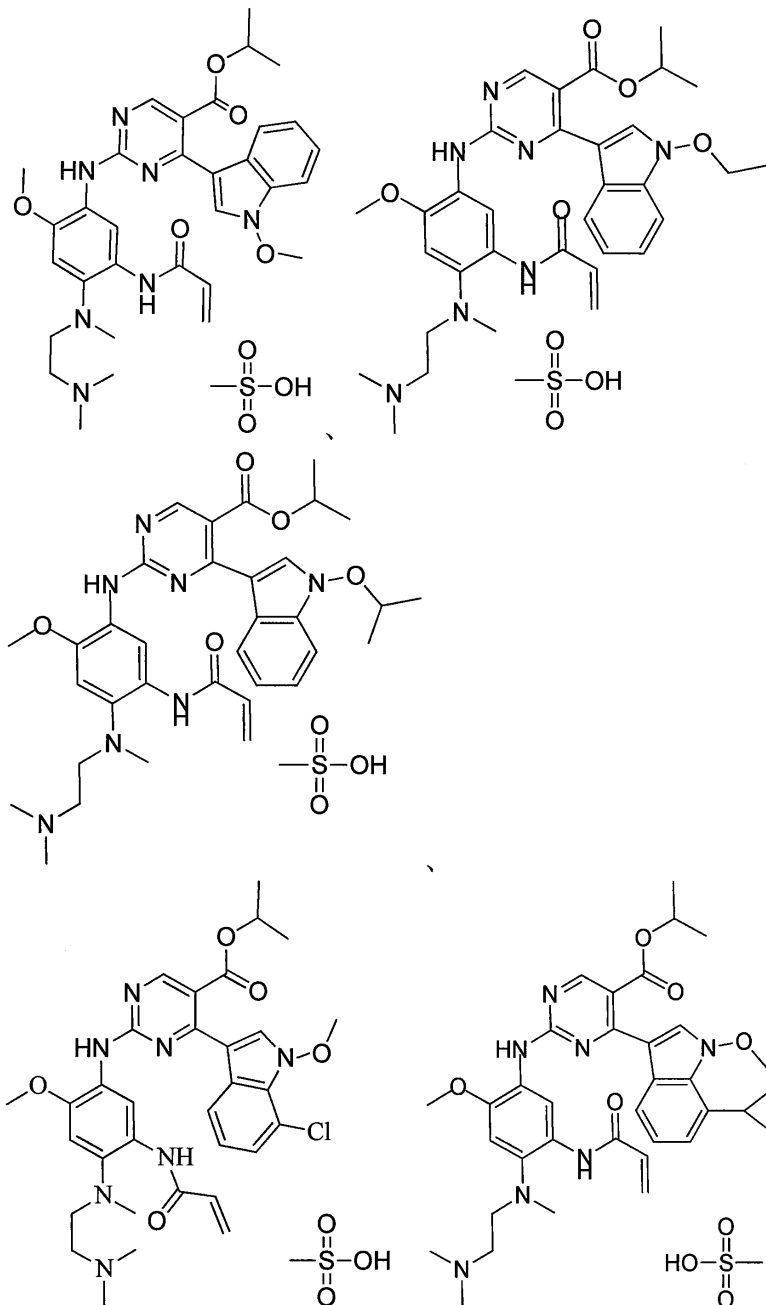
薬学的に許容される塩は、

30

40

50

【化 3】



から選ばれる、請求項 4 に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 6】

有効成分としての治療有効量の請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 7】

E G F R 又は E R B B 2 に関連する疾患の薬を製造するための請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩又は請求項 6 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 8】

がん治療薬を製造するための請求項 1 ～ 5 に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩又は請求項 6 に記載の医薬組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本願は出願日が2019年07月26日の中国特許出願CN201910684658.1号の優先権を主張する。

【0002】

本発明は、EGFRエクソン20挿入突然変異及びERBB2エクソン20挿入突然変異に作用するピリミジン系化合物及びその薬学的に許容される塩に関する。

【背景技術】

【0003】

肺がんは最も一般的な悪性腫瘍の1つであり、世界中で毎年160万人の新しい肺がんの症例があり、全ての悪性腫瘍の13%を占めており、毎年140万人の肺がんによる死亡がある。世界一のガンキラーとして、肺がんの発生率は近年世界的に増加し続けている。非小細胞肺がん(NSCLC)は全ての肺がんの約85%を占め、非小細胞肺がんの患者は初期段階では明らかな特徴がないため、大部分の患者は診断時にすでに進行期にあり、NSCLCの65%は、診断時に手術の機会を失っている。したがって薬物療法、即ち化学療法と標的療法は、進行期非小細胞肺がん患者の治療にとって非常に重要である。

【0004】

EGFRは、ErbB1(EGFR又はHER1と呼ばれる)、ErbB2(HER2)、ErbB3(HER3)及びErbB4(HER4)を含む、チロシンキナーゼ受容体のErbBファミリーの主要なメンバーである。EGFRは、細胞外リガンド結合ドメイン、 α -ヘリックス膜貫通ドメイン、細胞内チロシンキナーゼドメイン及び自己リン酸化部位を含むカルボキシル末端領域から構成される。リガンドが受容体に結合すると、EGFR二量体化を引き起こし、細胞内タンパク質チロシンキナーゼの活性を活性化し、チロシン残基の自己リン酸化を引き起こし、関連するシグナルタンパク質を動員し、下流のERK/MAPK、PI3K/Akt及びSTATシグナル伝達経路の活性化を引き起こし、それによって腫瘍細胞の増殖、生存、分化、転移及び腫瘍血管新生を調節する。したがって、EGFRの標的療法は、下流のシグナル伝達経路の伝導を阻害し、腫瘍の増殖と分化を阻害するという効果を達成することができる。

【0005】

EGFR Exon 20挿入突然変異は、NSCLCで3番目に大きい一連のEGFR遺伝子突然変異であり、EGFR突然変異全体の約4%~7%を占め、エクソン20から翻訳されたアミノ酸部位は762-823である。N-末端から始まるグルタミン酸Glu762は重要な触媒部位であり、その後のAla763-Met766はEGFRチロシンキナーゼドメインのC-ヘリックスであり、リン酸転移において重要な役割を果たす。EGFRエクソン20挿入突然変異は、アジア人、女性、非喫煙者、及び腺癌集団に多く発生し、古典的なEGFR突然変異と同じ臨床的及び病理学的特徴を持っている。エクソン20の最も一般的なタイプの突然変異は、Asp770_{ins}SerValAspであり、次はVal769_{ins}Asp770_{ins}AlaSerVal、Asp770_{ins}SerValAsp、Ala767_{dup}AlaSerVal、Val769_{ins}AlaSerVa及びSer768_{dup}SerValAspであり、これらは類似の挿入配列を有し、エクソン20突然変異の36%を占める。さらに、主な突然変異タイプはHis773_{ins}Val774_{ins}AsnProHisであり、エクソン20突然変異の約14%を占める。

【0006】

HER2 Exon 20挿入突然変異は、全てのHER2突然変異タイプの95%以上を占め、ここでHER2 exon 20挿入突然変異タイプの中で、A775_{ins}YVMAは85%を占め、最も一般的なタイプの突然変異である。

【発明の概要】

10

20

30

40

50

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

現在、EGFR及びHER2 exon20挿入突然変異を効果的に阻害できる標的薬は市場にない。臨床試験では、市販されている(Erlotinib/Gefitinib/Afatitinib)などのEGFR TKIsは、EGFR又はHER2 Exon20挿入突然変異の両方に対して有効性を欠いており、奏効率が低い。例えば、EGFR Exon20挿入突然変異を有する患者のPFSはわずか2か月であり、従来の突然変異(Exon19 deletion & L858R)を有する患者のPFSよりもはるかに低く、アファチニブやダコミチニブなどの第2世代EGFR阻害剤はエクソン20挿入突然変異に対する治療効果も理想的ではないことが臨床的に報告されているため、EGFR及びHER2エクソン20挿入突然変異に対する大きなアンメットクリニカルニーズがある。

10

【0008】

武田薬品工業が開発したEGFR及びHER2エクソン20挿入突然変異の阻害剤であるTAK788は、EGFR及びHER2エクソン20挿入突然変異を伴う非小細胞肺癌の前臨床及び臨床第I/I相で優れた有効性を示し、その客観的奏効率が43%、病勢コントロール率が86%に達することが臨床的に報告されている。安全性は他の市販のEGFR-TKIと同様であり、EGFR及びHER2エクソン20挿入突然変異を治療する可能性が高くなる。

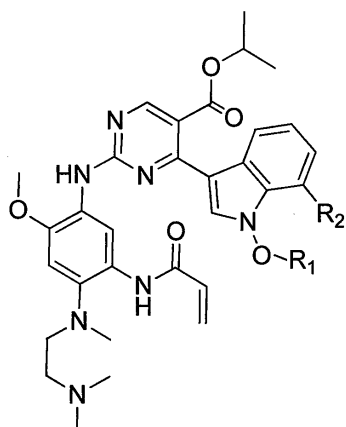
【課題を解決するための手段】

20

【0009】

本発明は式(I)に示す化合物又はその薬学的に許容される塩を提供する。

【化1】



(I)

30

式中、R₁はC₁~3アルキル基から選ばれ、

R₂はH、F、Cl、Br、I、C₁~3アルキル基及びシクロプロピル基から選ばれる。

40

【0010】

本発明のいくつかの形態において、前記R₁はメチル基、エチル基及びイソプロピル基から選ばれ、他の変数は本発明により定義される。

【0011】

本発明のいくつかの形態において、前記R₂はH、Cl及びシクロプロピル基から選ばれ、他の変数は本発明により定義される。

【0012】

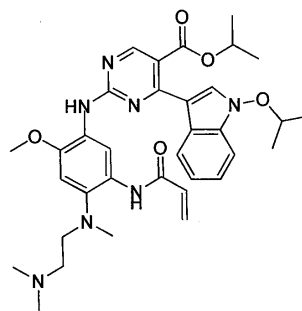
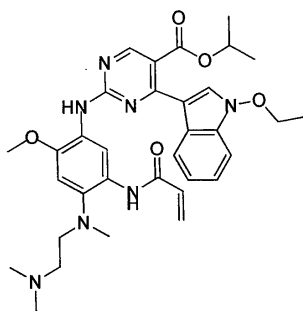
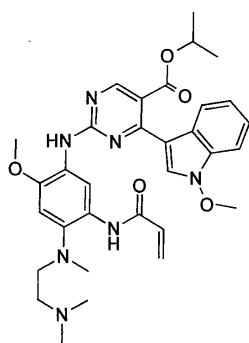
本発明のさらに他の形態は、前記各変数の任意の組み合わせからなる。

【0013】

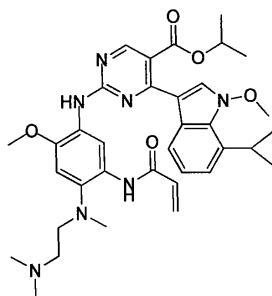
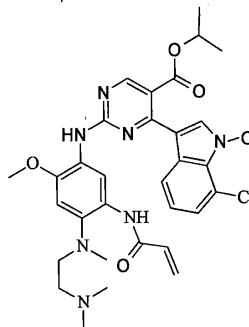
本発明はさらに下式に示す化合物又はその薬学的に許容される塩を提供する。

50

【化 2】



10



20

【 0 0 1 4 】

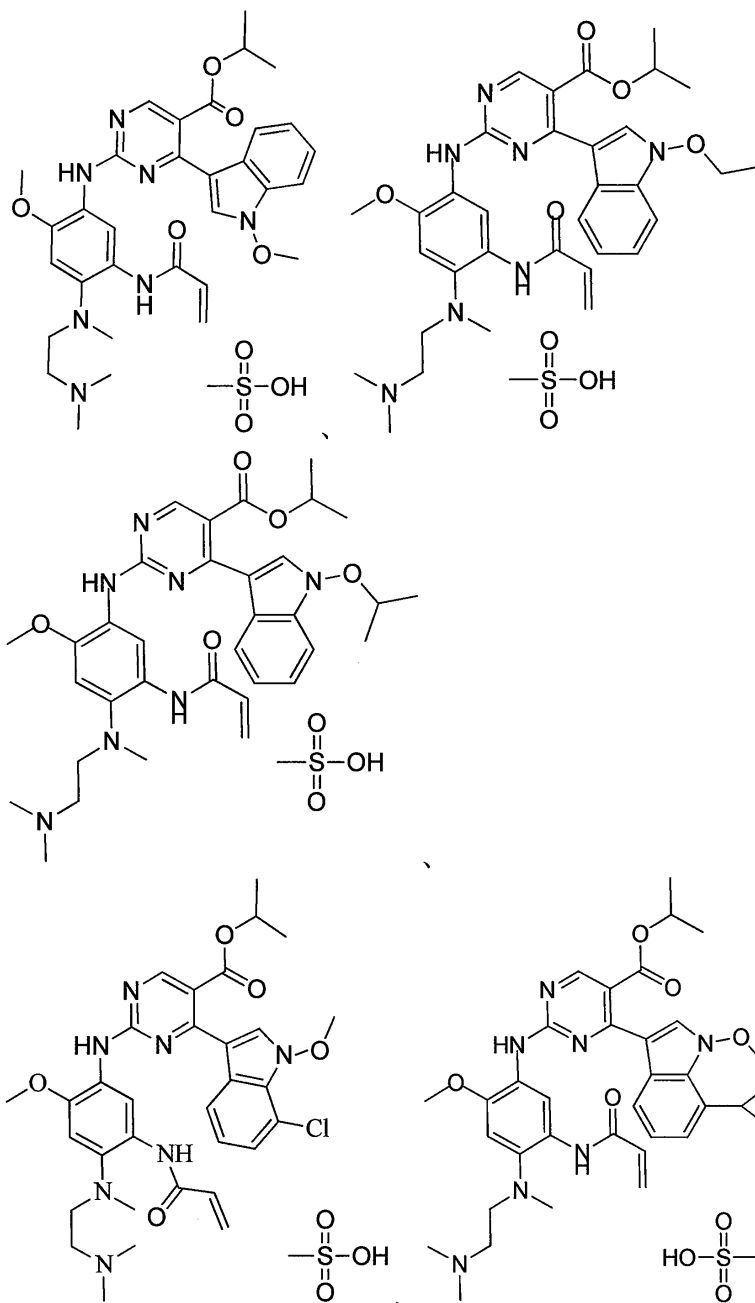
本発明のいくつかの形態において、前記薬学的に許容される塩は、

30

40

50

【化 3】



から選ばれる。

【 0 0 1 5 】

本発明はさらに有効成分としての治療有効量の前記化合物又はその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物を提供する。

【 0 0 1 6 】

本発明はさらに E G F R 又は E R B B 2 に関連する疾患の薬を製造するための前記化合物又はその薬学的に許容される塩又は前記医薬組成物の使用を提供する。

【 0 0 1 7 】

本発明はさらにがん治療薬を製造するための前記化合物又はその薬学的に許容される塩又は前記医薬組成物の使用を提供する。

【発明の効果】

【 0 0 1 8 】

本発明に係る化合物は、EGFR及びERBB2エクソン20挿入突然変異に対して優れた活性を示し、上皮成長因子受容体の酵素の異常に起因する疾患に対してより効果的な治療を提供する可能性がある。

定義及び説明

【 0 0 1 9 】

特に断らない限り、本明細書で使用されている以下の用語及び句は、以下の意味を有することを意図している。1つの特定の用語又は句は、特に定義しない場合、不確実又は不明瞭とみなされるべきではなく、一般的な意味で理解されるべきである。本明細書で商品名が現れる場合、それに対応する商品又はその有効成分を指すことを意図している。

10

【 0 0 2 0 】

本明細書で使用される用語「薬学的に許容される」とは、それらの化合物、材料、組成物及び/又は剤形に関して、信頼できる医学的判断の範囲内であり、毒性、刺激性、アナフィラキシー、又は他の問題又は合併症を過度に伴わずに、ヒト及び動物の組織と接触して使用するのに適しており、妥当な利益/リスク比に見合うことである。

【 0 0 2 1 】

用語「薬学的に許容される塩」とは本発明により見出される特定の置換基を有する化合物と相対的に毒性がない酸又は塩基とから製造される本発明に係る化合物の塩である。本発明に係る化合物に相対的に酸性を示す官能基が含まれる場合に、純粋な溶液又は適切な不活性溶媒において十分な量の塩基と当該化合物とを接触させることによって塩基付加塩を得る。薬学的に許容される塩基付加塩はナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、アンモニウム塩、有機アミン塩又はマグネシウム塩又は類似の塩を含む。本発明に係る化合物に相対的に塩基性を示す官能基が含まれる場合に、純粋な溶液又は適切な不活性溶媒において十分な量の酸と当該化合物とを接触させることによって酸付加塩を得る。薬学的に許容される酸付加塩の例は、例えば塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸水素イオン、リン酸、リン酸一水素イオン、リン酸二水素イオン、硫酸、硫酸水素イオン、ヨウ化水素酸、亜リン酸などを含む無機酸の塩と、酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、クエン酸、酒石酸及びメタンスルホン酸などの類似の酸を含む有機酸の塩と、を含み、さらにアミノ酸（例えば、アルギニンなど）の塩、及びグルクロン酸などの有機酸の塩を含む。本発明の特定の化合物は塩基性を示す官能基と酸性を示す官能基を含む場合に、いずれかの塩基付加塩又は酸付加塩に変換されることが可能である。

20

30

【 0 0 2 2 】

本発明に係る薬学的に許容される塩は、酸性基又は塩基を含有する親化合物から従来の化学的方法によって合成することができる。一般に、そのような塩は、遊離酸又は塩基の形態のこれらの化合物を、水又は有機溶媒又は両者の混合物中で、化学量論的に適切な塩基又は酸と反応させることによって製造される。

【 0 0 2 3 】

特に明記しない限り、用語「有効量」又は「治療有効量」とは無毒であるが所望の効果を達成することができる量を指す。有効量の決定は、人によって異なり、受容体の年齢及び一般的条件に依存し、特定の活性物質にも依存するが、本明細書における適切な有効量は、当業者が通常の実験に基づいて決定することができる。

40

【 0 0 2 4 】

特に明記しない限り、用語「C₁₋₃アルキル基」は、1~3個の炭素原子からなる直鎖又は分岐鎖の飽和炭化水素基を表すために使用される。前記C₁₋₃アルキル基は、C₁₋₂及びC₂₋₃アルキル基などを含み、一価（例えば、メチル基）、二価（例えば、メチレン基）又は多価（例えば、メチン基）であってもよい。C₁₋₃アルキル基の例はメチル基（Me）、エチル基（Et）、プロピル基（n-プロピル基及びイソプロピル基を含む）などを含み、ただしそれらに限定されない。

50

【 0 0 2 5 】

本発明で使用する溶媒は市販品であってもよい。

【 0 0 2 6 】

本発明は、N, N - ジメチルホルムアミドを表すDMF、p - トルエンスルホン酸一水和物を表すTsOH・H₂O、1 - エチル - 3 (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミドを表すEDCI、1, 8 - ジアザビシクロウンデカ - 7 - エンを表すDBU、N, N - ジイソプロピルエチルアミンを表すDIEA、ナトリウム水素を表すNaH、ナトリウムエトキシドを表すEtONa、メタクロロ過安息香酸を表すm - CPBA、ジクロロメタンを表すDCM、塩化アンモニウムを表すNH₄Cl、水酸化ナトリウムを表すNaOH、N, N - ジメチルホルムアミドジメチルアセタールを表すDMF - DMA、塩化マグネシウムを表すMgCl₂、カルボニルジイミダゾールを表すCDI、テトラヒドロフランを表すTHF、リン酸二水素カリウムを表すNaH₂PO₄、t - ブタノールを表すt - BuOH、オキシ塩化リンを表すPOCl₃、亜塩素酸ナトリウムを表すNaClO₂、トリオクチルメチルアンモニウムクロリドを表すTOMAC、メチルト - ブチルエーテルを表すMTBEという略語を使用する。

10

【 0 0 2 7 】

本発明が使用するカラムクロマトグラフィー分離の充填剤は特に明記しない限り全てシリカゲルであり、本発明が使用する薄層クロマトグラフィー分離の充填剤は特に明記しない限り全てシリカゲルである。

【 0 0 2 8 】

化合物は、当技術分野で一般的な命名規則に従い、又はChemDraw (登録商標) ソフトウェアを用いて命名され、市販の化合物はベンダーカタログ名を使用する。

20

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 9 】

【図1】ヒト肺がんNCI - H1975マウス皮下異種移植腫瘍モデルの腫瘍増殖曲線である。

【図2】ヒト肺がんNCI - H1975マウス皮下異種移植腫瘍モデルである腫瘍担持マウスの投与中の体重変化である。

【図3】Ba/F3 EGFR D770__N771 ins SVD皮下同種移植腫瘍モデルの腫瘍増殖曲線である。

30

【図4】Ba/F3 EGFR D770__N771 ins SVD皮下同種移植腫瘍モデルである腫瘍担持マウスの投与中の体重変化である。

【図5】HuPrime肺がんLU0387マウス皮下異種移植腫瘍モデルの腫瘍増殖曲線である。

【図6】HuPrime肺がんLU0387マウス皮下異種移植腫瘍モデルである腫瘍担持マウスの投与中の体重変化である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 0 】

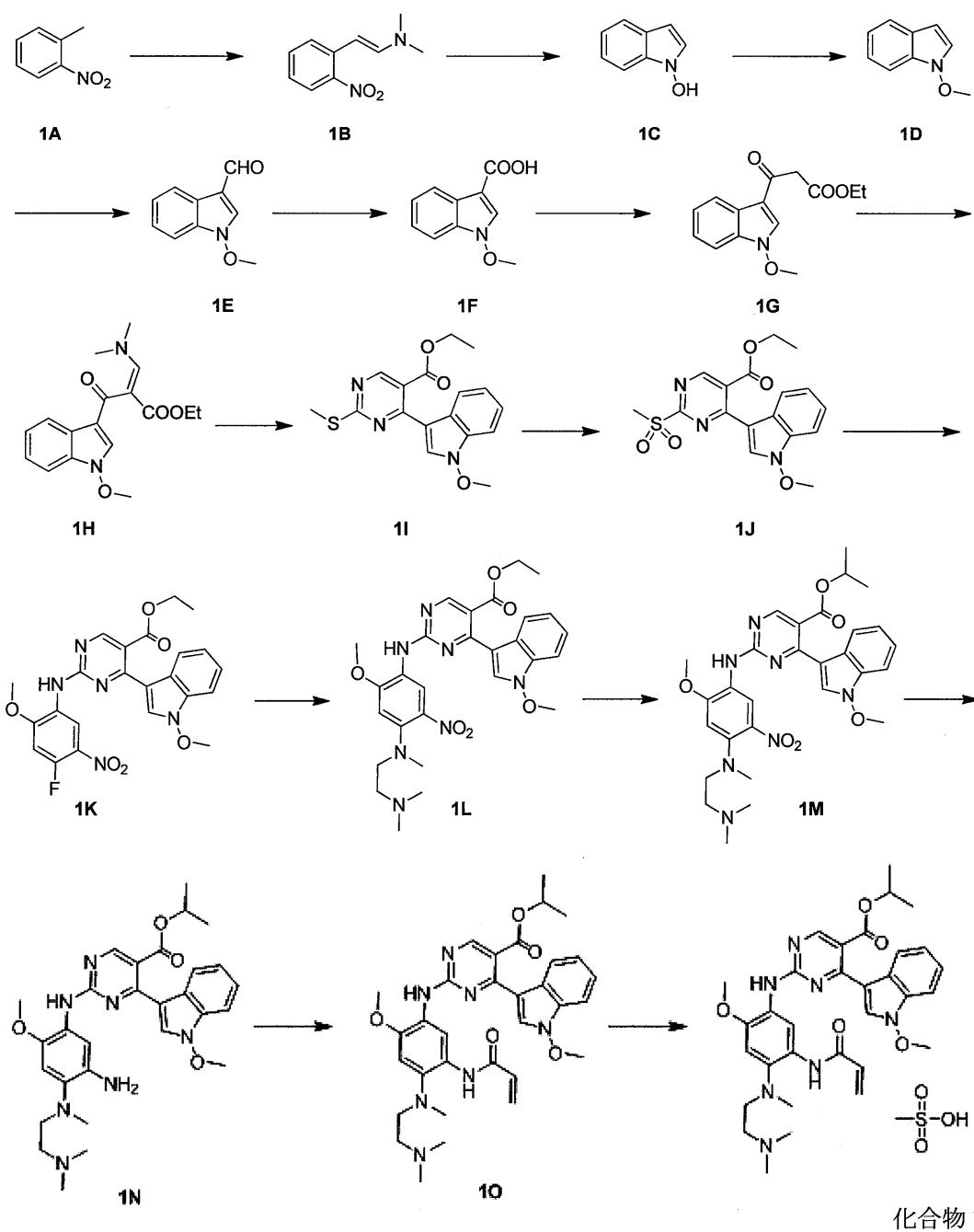
以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。本発明に係る化合物は、以下に列挙する特定の実施形態、他の化学合成方法と組み合わせて形成される実施形態、及び当業者に周知の同等の代替形態を含む、当業者に周知の様々な合成方法によって製造することができ、好ましい実施形態には、本発明の実施例が含まれるが、これらに限定されない。本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、本発明の特定の実施形態について様々な変更及び改良を行うことは、当業者には明らかであろう。

40

【 0 0 3 1 】

実施例1：

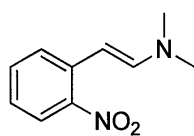
【化 4】



【 0 0 3 2 】

【化 5】

化合物 1 B



【 0 0 3 3 】

10

20

30

40

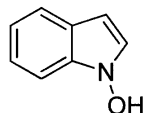
50

化合物 1 A (1 2 . 3 g、8 9 . 6 9 m m o l) の D M F (1 0 0 m L) 溶液に D B U (1 . 3 7 g、8 . 9 7 m m o l) 及び D M F - D M A (2 6 . 9 1 g、2 2 5 . 8 3 m m o l) を加えた。混合物を 1 2 0 ~ 1 3 0 で 1 6 時間攪拌し、反応を終了させた。反応液を濃縮し、表題化合物を得た。

【 0 0 3 4 】

【 化 6 】

化合物 1 C



10

【 0 0 3 5 】

窒素雰囲気下で、化合物 1 B (1 7 . 2 4 g、8 9 . 6 9 m m o l) の M T B E (3 0 0 m L) 溶液に亜鉛粉末 (7 0 g、1 . 0 7 m o l) 及び塩化アンモニウム (1 9 g、3 5 5 . 2 0 m o l) の水溶液 (6 0 m L) を何回かに分けて加えた。混合物を 2 0 ~ 3 0 で 4 時間攪拌した。反応を終了させた。反応液を減圧下で吸引濾過し、濾過ケーキを M T B E (5 0 m L) で洗浄し、濾液を合わせ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (5 0 m L × 2) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、表題化合物溶液を得、そのまま次のステップの反応に使用した。

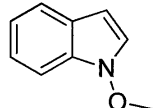
20

L C M S (E S I) : m / z : 1 3 4 . 6 [M + 1] .

【 0 0 3 6 】

【 化 7 】

化合物 1 D



30

【 0 0 3 7 】

化合物 1 C (1 1 . 9 4 g、8 9 . 6 8 m m o l) の M T B E (3 5 0 m L) 溶液にヨウ化メチル (6 8 . 4 0 g、4 8 1 . 9 m m o l)、NaOH 水溶液 (2 . 5 M、3 0 0 m L) 及び T O M A C (1 . 8 1 g、4 . 4 8 m m o l) を加えた。混合物を 2 0 ~ 3 0 で 1 2 時間攪拌した。反応を終了させた。反応液を分層し、下層の水相を酢酸エチル (1 0 0 m L) で抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル : 酢酸エチル = 8 0 : 1、体積比) により分離精製し、表題化合物を得た。

40

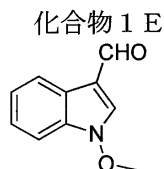
$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 7 . 6 2 - 7 . 5 7 (m , 1 H) , 7 . 4 5 (d d , J = 0 . 9 , 8 . 2 H z , 1 H) , 7 . 2 7 (d , J = 3 . 4 H z , 1 H) , 7 . 2 6 - 7 . 2 3 (m , 1 H) , 7 . 1 1 (d d d , J = 1 . 0 , 7 . 0 , 7 . 9 H z , 1 H) , 6 . 3 6 (d d , J = 0 . 7 , 3 . 4 H z , 1 H) , 4 . 0 9 (s , 3 H) .

L C M S (E S I) m / z : 1 4 8 . 6 [M + 1] .

【 0 0 3 8 】

50

【化 8】



【 0 0 3 9】

窒素雰囲気下で、0 ~ 10 °C で DMF (20 mL) 溶液に POCl_3 (4.7 g、30.65 mmol、2.85 mL) をゆっくりと滴下し、15 分間攪拌した後、化合物 1 D (2.3 g、15.63 mmol) を加え、混合物を 20 ~ 30 °C で 2 時間攪拌した。反応液に 15 % NaOH 水溶液 (20 mL) を加えてクエンチし、反応液に酢酸エチル (20 mL × 3) を加えて抽出した。合わせた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル : 酢酸エチル = 10 : 1 体積比) により分離精製し、表題化合物を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.99 (s, 1H), 8.36 - 8.31 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.53 - 7.48 (m, 1H), 7.40 (dt, J = 1.3, 7.6 Hz, 1H), 7.38 - 7.33 (m, 1H), 4.21 (s, 3H) .

【 0 0 4 0】

【化 9】



【 0 0 4 1】

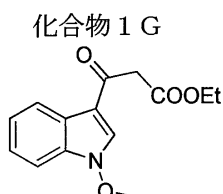
0 °C で化合物 1 E (2.6 g、14.84 mmol) の t -BuOH (120 mL) 及び 2 - メチル - 2 - ブテン (120 mL) 溶液に NaClO_2 (26.85 g、296.83 mmol) 及び NaH_2PO_4 (26.71 g、222.62 mmol) の水溶液 (150 mL) を何回かに分けて加え、混合物を 20 ~ 30 °C で 24 時間攪拌した。反応液に酢酸エチル (300 mL) を加えて抽出し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濾液を濃縮し、表題化合物を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.18 - 8.14 (m, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.45 - 7.39 (m, 1H), 7.26 (d, J = 1.1, 7.3 Hz, 2H), 4.11 (s, 3H) .

LCMS (ESI) m/z : 192.5 [$M + 1$] .

【 0 0 4 2】

【化 10】



10

20

30

40

50

【 0 0 4 3 】

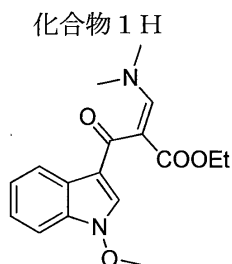
化合物 1 F (2 . 8 g、1 4 . 6 5 m m o l) 及び C D I (3 . 5 6 g、2 1 . 9 7 m m o l) を T H F (5 0 m L) に溶解し、2 0 で 2 時間攪拌し、当該混合物にマロン酸モノエチルカリウム塩 (3 . 7 4 g、2 1 . 9 7 m m o l) 及び M g C l ₂ (2 . 7 9 g、2 9 . 2 9 m m o l) を加え、反応液を 2 0 ~ 3 0 で 1 8 時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチル (6 0 m L) を加え、反応液を水 (5 0 m L) で洗浄し、水相を酢酸エチル (5 0 m L) で抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル : 酢酸エチル = 1 0 : 1 体積比) により分離精製し、表題化合物を得た。

¹ H N M R (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 8 . 3 3 - 8 . 2 8 (m , 1 H) , 7 . 9 2 (s , 1 H) , 7 . 4 2 - 7 . 3 8 (m , 1 H) , 7 . 2 7 (d t d , J = 1 . 2 , 7 . 3 , 1 6 . 3 H z , 2 H) , 4 . 1 8 - 4 . 1 2 (m , 2 H) , 4 . 1 1 (s , 3 H) , 3 . 7 8 (s , 2 H) , 1 . 2 0 (t , J = 7 . 2 H z , 3 H) .

L C M S (E S I) m / z : 2 6 2 . 1 [M + 1] .

【 0 0 4 4 】

【 化 1 1 】

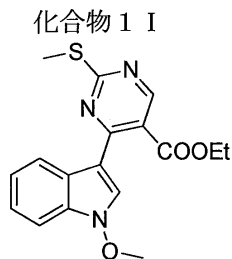


【 0 0 4 5 】

化合物 1 G (0 . 5 g、1 . 9 1 m m o l) を D M F - D M A (0 . 2 6 g、2 . 1 8 m m o l) に加え、反応液を 8 0 ~ 9 0 で 1 時間攪拌した。反応液を濃縮し、表題化合物を得た。粗生成物をそのまま次のステップの反応に使用した。

【 0 0 4 6 】

【 化 1 2 】



【 0 0 4 7 】

化合物 1 H (6 0 5 m g、1 . 9 1 m m o l) をエタノール (6 m L) に溶解し、E t O N a (0 . 2 7 g、3 . 9 7 m m o l) 及び S - メチルイソチオウレア硫酸塩 (3 0 0 m g、1 . 0 8 m m o l) をゆっくりと加え、混合物を 3 0 で 1 2 時間攪拌し、反応液を濃縮し、混合物に酢酸エチル (3 0 m L) を加え、反応液を飽和食塩水 (2 0 m L) で洗浄し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。粗生成物をシリカゲル製薄層クロマトグラフィープレート (石油エーテル : 酢酸エチル = 5 : 1) により分離精製し、表題化合物を得た。

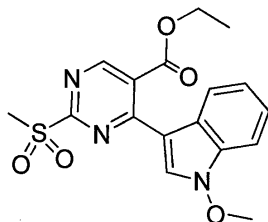
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.86 (s, 1H), 8.18 - 8.14 (m, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.51 (td, J = 0.9, 8.1 Hz, 1H), 7.37 - 7.32 (m, 1H), 7.29 - 7.24 (m, 1H), 4.31 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.19 (s, 3H), 2.70 (s, 3H), 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

LCMS (ESI) m/z : 344.2 [M + 1].

【0048】

【化13】

化合物1J



10

【0049】

化合物1I (180 mg、0.524 mmol) をDCM (5 mL) に溶解し、当該混合物に *m*-CPBA (226 mg、1.05 mmol、80% 純度) を加え、反応液を25 で5時間撹拌した。反応液に飽和亜硫酸ナトリウム溶液 (20 mL) を加えてクエンチし、DCM (50 mL) を加えて抽出し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、濃縮し、表題化合物を得た。

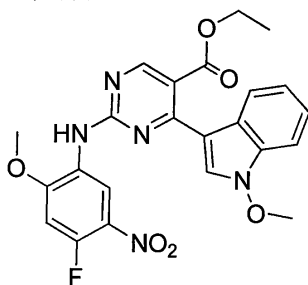
20

LCMS (ESI) m/z : 376.0 [M + 1].

【0050】

【化14】

化合物1K



30

【0051】

化合物1J (300 mg、0.8 μ mol) 及び4-フルオロ-2-メトキシ-5-ニトロ-アニリン (179 mg、0.961 mmol) のジクロロヘキササイクリック (10 mL) 溶液にTsOH $\cdot$ H₂O (456 mg、2.40 mmol) を加え、反応液を100 で16時間撹拌した。反応混合物に酢酸エチル (50 mL) を加えて抽出し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム (30 mL) で洗浄し、有機相を分離して無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮し、粗生成物を得、シリカゲル製薄層クロマトグラフィープレート (石油エーテル: 酢酸エチル = 2:1) により分離精製し、表題化合物を得た。

40

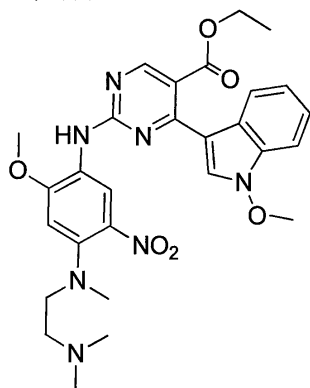
LCMS (ESI) m/z : 482.1 [M + 1].

【0052】

50

【化 1 5】

化合物 1 L



10

【0053】

化合物 1 K (1 5 0 m g 、 3 1 1 . 5 7 μ m o l) の D M F (2 m L) 溶液に N , N , N - トリメチルエチレンジアミン (5 8 m g 、 5 6 7 . 6 μ m o l) 及び D I P E A (8 2 . 1 4 m g 、 0 . 6 3 5 m m o l) を加えた。反応液を 1 0 0 で 0 . 5 時間攪拌した。反応液を室温まで冷却し、精製水 (2 0 m L) を加え、溶液中に固体を析出させ、減圧下で吸引濾過し、濾過ケーキを乾燥し、表題化合物を得た。

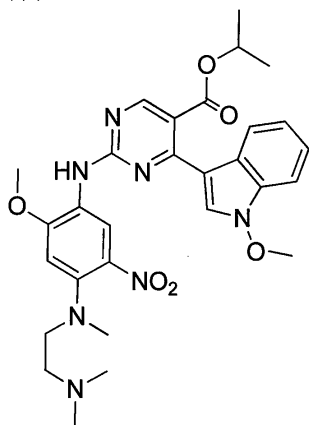
20

L C M S (E S I) m / z : 5 6 4 . 2 [M + 1] .

【0054】

【化 1 6】

化合物 1 M



30

【0055】

窒素雰囲気下で、NaH (4 7 m g 、 1 . 1 8 m m o l 、 6 0 % 純度) をイソプロピルアルコール (1 m L) に加え、反応液を 2 5 で 1 5 分間攪拌し、化合物 1 L (1 3 0 m g 、 2 3 0 . 6 6 μ m o l) の T H F (0 . 5 m L) 溶液を前記溶液に滴下した。反応液を 8 0 で 1 時間攪拌した。反応液に精製水 (3 0 m L) を加えてクエンチし、水相を D C M (6 0 m L) で抽出し、有機相を乾燥し、濃縮し、表題化合物を得た。

40

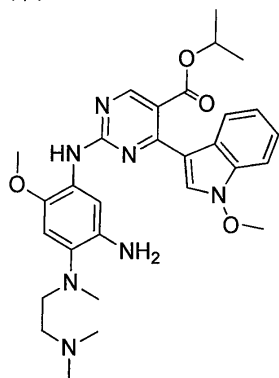
L C M S (E S I) m / z : 5 7 8 . 0 [M + 1] .

【0056】

50

【化 17】

化合物 1 N



10

【0057】

窒素雰囲気下で、化合物 1 M (89 mg、0.154 mmol) のエタノール (3 mL) 及び精製水 (1 mL) に、亜鉛粉末 (101 mg、1.54 mmol) 及び NH_4Cl (83 mg、1.55 mmol) を加え、反応液を 25 °C で 1 時間撹拌した。反応液を減圧下で吸引濾過し、濾液に精製水 (20 mL) を加え、濾液に DCM (45 mL) を加えて抽出し、有機相を乾燥し、濃縮し、表題化合物を得た。

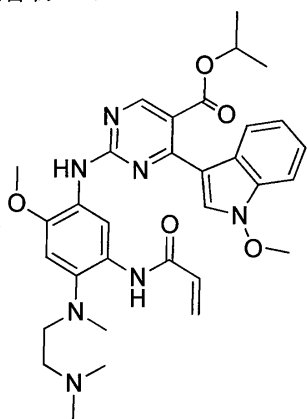
20

LCMS (ESI) m/z : 548.2 [M+1].

【0058】

【化 18】

化合物 1 O



30

【0059】

化合物 1 O (84 mg、153.38 μmol) 及びアクリル酸 (17 mg、0.236 mmol) のジクロロメタン (2 mL) 溶液に EDCI (44 mg、229 μmol) 及び DIPEA (40 mg、309 μmol) を加え、反応液を 25 °C で 1 時間撹拌した。反応混合物に水 (10 mL) を加え、DCM (15 mL $\times$ 2) で抽出し、有機相を分離して無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮し、粗生成物を得、粗生成物をシリカゲル製薄層クロマトグラフィープレート (DCM : MeOH = 10 : 1) により分離精製して表題化合物を得た。

40

^1H NMR (400 MHz, 重水素化メタノール) δ = 9.31 - 9.13 (m, 1H), 8.85 - 8.76 (m, 1H), 8.47 (br d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.73 - 7.63 (m, 1H), 7.51 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.31 - 7.23 (m, 1H), 7.17 - 7.08 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.

50

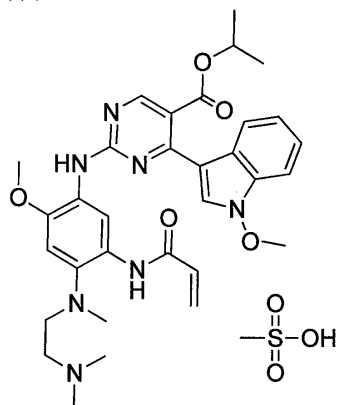
6.6 - 6.34 (m, 2H), 5.97 - 5.74 (m, 1H), 5.04 - 4.96 (m, 1H), 4.59 (br s, 3H), 4.20 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.15 - 3.05 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.58 - 2.45 (m, 2H), 2.35 (br s, 3H), 1.08 (d, J = 6.1 Hz, 6H).

LCMS (ESI) m/z : 602.3 [M + 1].

【0060】

【化19】

化合物1



10

20

【0061】

化合物10 (15 mg、24.93 μmol) のアセトニトリル (0.5 mL) 及び水 (10 mL) 溶液にメタンスルホン酸 (2.40 mg、24.93 μmol) を加えた。混合物を凍結乾燥して表題化合物を得た。

¹H NMR (400 MHz, 重水素化メタノール) δ = 9.18 - 8.95 (m, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.44 - 8.29 (m, 1H), 7.73 (br d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.26 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.17 - 7.08 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.58 - 6.31 (m, 2H), 5.83 (dd, J = 2.1, 9.6 Hz, 1H), 5.00 (quin, J = 6.3 Hz, 1H), 4.57 (br s, 3H), 4.19 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.25 - 3.10 (m, 2H), 2.77 - 2.62 (m, 6H), 2.48 (br s, 5H), 1.09 (d, J = 6.3 Hz, 6H).

30

LCMS (ESI) m/z : 602.3 [M + 1].

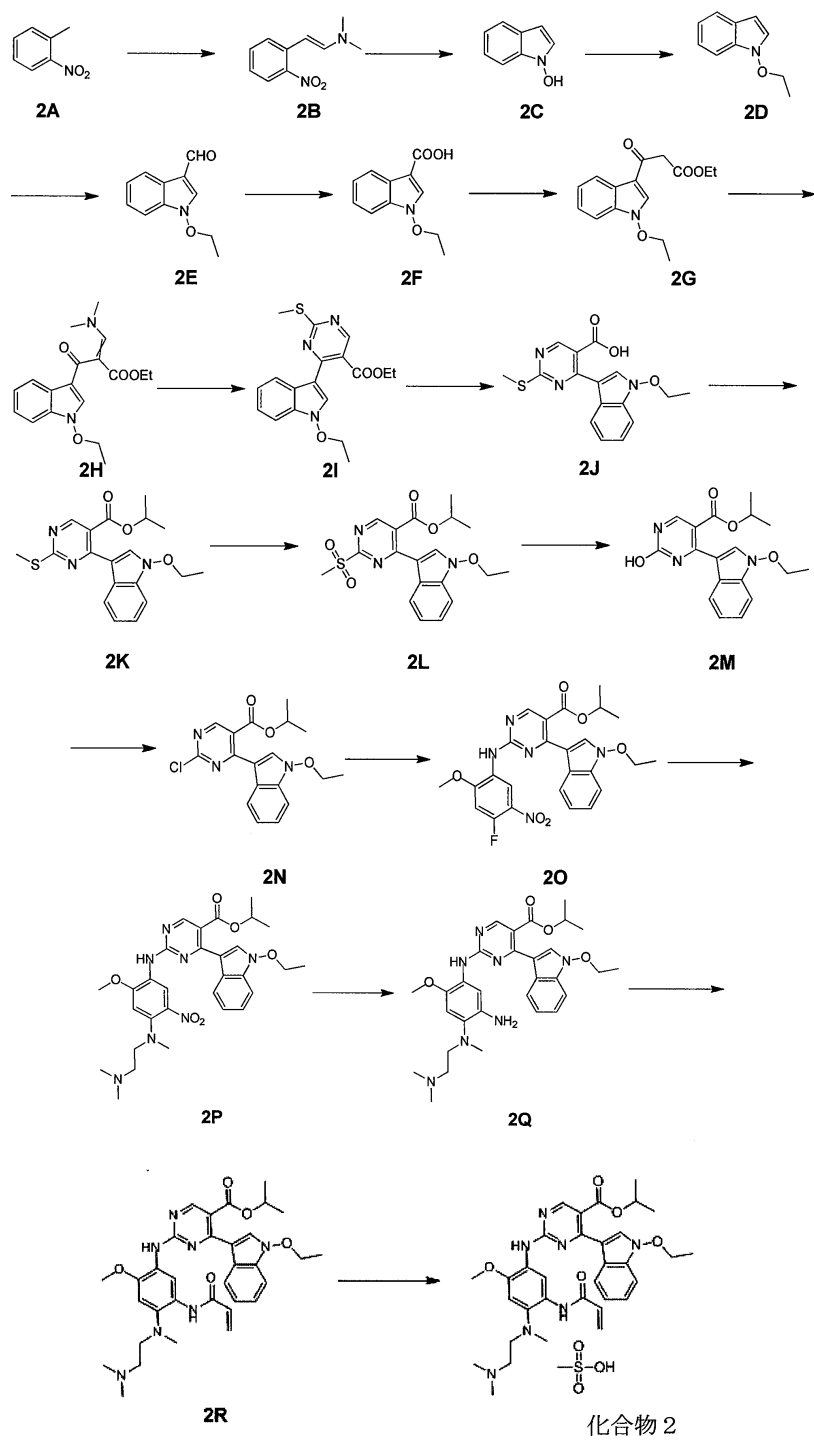
【0062】

実施例2：

40

50

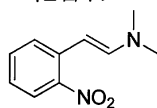
【化 2 0】



【 0 0 6 3】

【化 2 1】

化合物 2 B



10

20

30

40

50

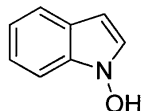
【 0 0 6 4 】

本化合物を、実施例 1 の化合物 1 B の方法に従って製造し、化合物 1 A を化合物 2 A に置き換えた。

【 0 0 6 5 】

【 化 2 2 】

化合物 2 C



10

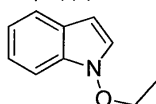
【 0 0 6 6 】

本化合物を、実施例 1 の化合物 1 C の方法に従って製造し、化合物 1 B を化合物 2 B に置き換えた。

【 0 0 6 7 】

【 化 2 3 】

化合物 2 D



20

【 0 0 6 8 】

化合物 2 C (1 1 . 0 8 g 、 8 3 . 2 2 m m o l) の 2 - M e T H F (4 0 0 m L) 溶液にヨードエタン (6 5 . 1 3 g 、 4 1 7 . 5 9 m m o l) 、 N a O H 水溶液 (2 M 、 4 0 0 m L) 及び T O M A C (1 . 6 7 g 、 4 . 1 4 m m o l) を加えた。混合物を 2 0 ~ 3 0 で 1 2 時間撹拌した。反応を終了させた。反応液を分液し、下層の水相を酢酸エチル (2 0 0 m L × 2) で抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル : 酢酸エチル = 1 : 0 、 体積比) により分離精製し、表題化合物を得た。

30

^1H NMR (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 7 . 5 1 (t d , J = 0 . 9 , 8 . 0 H z , 1 H) , 7 . 3 5 (d d , J = 0 . 9 , 8 . 2 H z , 1 H) , 7 . 1 8 - 7 . 1 3 (m , 2 H) , 7 . 0 2 (d d d , J = 1 . 1 , 7 . 0 , 8 . 0 H z , 1 H) , 6 . 2 7 (d d , J = 1 . 0 , 3 . 4 H z , 1 H) , 4 . 2 4 (q , J = 7 . 1 H z , 2 H) , 1 . 3 3 (t , J = 7 . 1 H z , 3 H) .

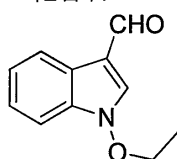
L C M S (E S I) m/z : 1 6 2 . 5 [$M + 1$] .

【 0 0 6 9 】

【 化 2 4 】

40

化合物 2 E



【 0 0 7 0 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 E の方法に従って製造し、化合物 1 D を化合物 2 D に置

50

き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.89 (s, 1H), 8.26 - 8.21 (m, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.41 - 7.37 (m, 1H), 7.32 - 7.27 (m, 1H), 7.27 - 7.23 (m, 1H), 4.32 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

LCMS (ESI) m/z : 190.1 [M + 1]。

【0071】

【化25】



10

【0072】

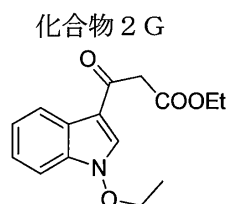
本化合物を実施例 1 の化合物 1 F の方法に従って製造し、化合物 1 E を化合物 2 E に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.28 - 8.23 (m, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.52 - 7.48 (m, 1H), 7.39 - 7.31 (m, 2H), 4.41 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.47 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

LCMS (ESI) m/z : 205.8 [M + 1]。

【0073】

【化26】



30

【0074】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 G の方法に従って製造し、化合物 1 F を化合物 2 F に置き換えた。

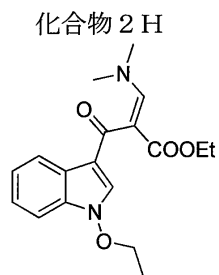
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.32 - 8.29 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.40 - 7.36 (m, 1H), 7.30 - 7.22 (m, 2H), 4.32 (q, J = 6.9 Hz, 2H), 4.14 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.78 (s, 2H), 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.20 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

LCMS (ESI) m/z : 276.4 [M + 1]。

【0075】

40

【化 2 7】



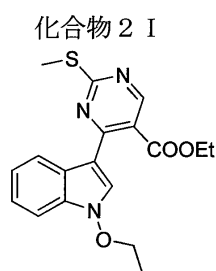
10

【 0 0 7 6】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 H の方法に従って製造し、化合物 1 G を化合物 2 G に置き換えた。

【 0 0 7 7】

【化 2 8】



20

【 0 0 7 8】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 I の方法に従って製造し、化合物 1 H を化合物 2 H に置き換えた。

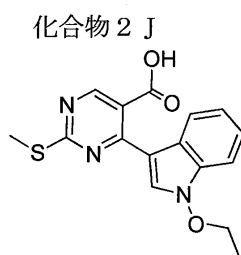
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.76 (s, 1H), 8.08 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.27 - 7.21 (m, 1H), 7.19 - 7.14 (m, 1H), 4.32 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.21 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.38 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.14 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

30

LCMS (ESI) m/z : 358.2 [M + 1].

【 0 0 7 9】

【化 2 9】



40

【 0 0 8 0】

化合物 2 I (0.74 g, 2.07 mmol) をエタノール (8 mL) に溶解して水酸

50

化ナトリウム (2 M、4 mL) 水溶液を加えた。反応系を 20 ~ 30 で 1 時間撹拌した。LCMS によるモニタリング反応を終了させた。反応液を塩酸水溶液 (2 M) で pH 3 ~ 4 に調整した後に酢酸エチル (10 mL × 3) で抽出した。有機相を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に減圧下で濃縮して表題化合物を得た。

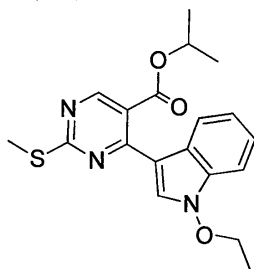
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.90 (s, 1H), 8.15 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.42 - 7.38 (m, 1H), 7.24 (dt, J = 1.1, 7.6 Hz, 1H), 7.19 - 7.16 (m, 1H), 4.30 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, 3H) .

LCMS (ESI) m/z : 330.3 [M + 1] .

【0081】

【化30】

化合物 2 K



【0082】

化合物 2 J (0.66 g、2.00 mmol) 及びヨードイソプロパン (1.70 g、10.00 mmol) を N - Nジメチルホルムアミド (7 mL) に溶解し、炭酸セシウム (1.31 g、4.01 mmol) を加えた。内温 40 ~ 50 で 1 時間撹拌した。反応液に酢酸エチル (30 mL) を加え、濾過した。濾液を飽和塩化ナトリウム水溶液 (7 mL × 1) で洗浄した。洗浄水相を酢酸エチル (7 mL × 2) で抽出した。有機相を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に減圧下で濃縮し、表題化合物を得た。

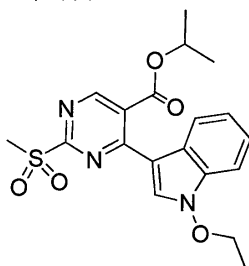
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.73 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.40 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.26 - 7.21 (m, 1H), 7.19 - 7.13 (m, 1H), 5.07 (spt, J = 6.2 Hz, 1H), 4.31 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.14 (d, J = 6.4 Hz, 6H) .

LCMS (ESI) m/z : 372.3 [M + 1] .

【0083】

【化31】

化合物 2 L



10

20

30

40

50

【 0 0 8 4 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 J の方法に従って製造し、化合物 1 I を化合物 2 K に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.00 (s, 1H), 8.40 - 8.35 (m, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.54 - 7.49 (m, 1H), 7.41 - 7.32 (m, 2H), 5.29 (m, 1H), 4.43 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.43 (s, 3H), 1.48 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.32 (d, J = 6.4 Hz, 6H) .

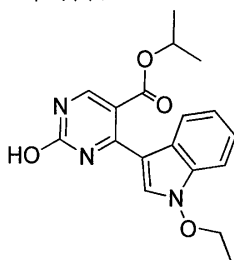
LCMS (ESI) m/z : 404.2 [M + 1] .

【 0 0 8 5 】

10

【化 3 2】

化合物 2M



20

【 0 0 8 6 】

化合物 2 L (760 mg、1.88 mmol) をテトラヒドロフラン (10 mL) に溶解してナトリウム *tert*-ブトキシド (905.17 mg、9.42 mmol) を加えて 25 で 1 時間撹拌しながら反応させた。LCMS によるモニタリング反応を終了させた。反応液に水 (20 mL) を加えてジクロロメタン (20 mL $\times$ 3 回) で抽出した。有機相を合わせて飽和食塩水 (20 mL $\times$ 2 回) で洗浄し、分液し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥して濾過し、濾液を回転蒸発し、表題化合物を得た。

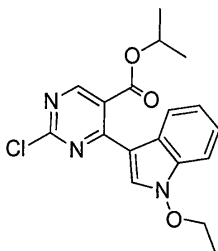
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化ジメチルスルホキシド) δ = 8.51 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.26 - 7.18 (m, 1H), 7.14 - 7.03 (m, 1H), 4.82 - 4.71 (m, 1H), 4.40 - 4.28 (m, 2H), 1.34 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 0.96 (d, J = 6.3 Hz, 6H) .

30

【 0 0 8 7 】

【化 3 3】

化合物 2N



40

【 0 0 8 8 】

化合物 2 M (640 mg、1.87 mmol) をオキシ塩化リン (13.20 g、86.09 mmol) に加えて 80 で 1 時間撹拌しながら反応させた。反応液を減圧下で濃縮し、残った残渣に 0 で酢酸エチル (20 mL) 及び飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (

50

10 mL)を加えた。分液し、有機相を飽和食塩(20 mL × 1)で洗浄した。分液し、有機相を乾燥して濃縮して表題化合物を得た。

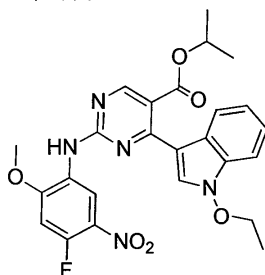
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化ジメチルスルホキシド) δ = 8.91 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.12 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.67 - 7.55 (m, 1H), 7.39 - 7.33 (m, 1H), 7.32 - 7.25 (m, 1H), 5.14 (spt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.42 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.35 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.21 (d, J = 6.3 Hz, 6H)。

【0089】

【化34】

10

化合物2O



20

【0090】

本化合物を実施例1の化合物1Kの方法に従って製造し、化合物1Jを化合物2Nに置き換えた。

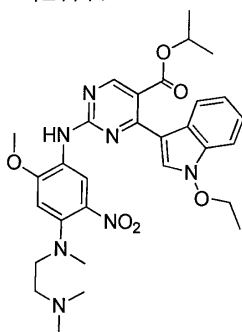
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化ジメチルスルホキシド) δ = 9.12 (s, 1H), 8.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.84 (br d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.60 - 7.49 (m, 1H), 7.41 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 7.33 - 7.25 (m, 1H), 7.10 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 5.10 - 4.95 (m, 1H), 4.40 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 1.38 - 1.34 (m, 3H), 1.15 (d, J = 6.2 Hz, 6H)。

30

【0091】

【化35】

化合物2P



40

【0092】

本化合物を実施例1の化合物1Lの方法に従って製造し、化合物1Kを化合物2Oに置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化ジメチルスルホキシド) δ = 8.93 (s, 1H), 8.75 - 8.68 (m, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.85 (br s, 1H), 7.55 - 7.49 (m, 1H), 7.25 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 5.10 - 4.95 (m, 1H), 4.40 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 1.38 - 1.34 (m, 3H), 1.15 (d, J = 6.2 Hz, 6H)。

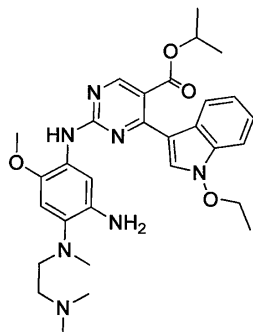
50

6 Hz, 1H), 7.07 (br d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.88 - 6.76 (m, 1H), 5.02 (td, $J = 6.3, 12.4$ Hz, 1H), 4.41 - 4.35 (m, 2H), 3.94 - 3.89 (m, 3H), 3.30 - 3.27 (m, 2H), 2.86 (s, 3H), 2.48 - 2.47 (m, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.36 - 1.32 (m, 3H), 1.18 - 1.14 (m, 6H).

【0093】

【化36】

化合物2Q



10

【0094】

20

本化合物を実施例1の化合物1Nの方法に従って製造し、化合物1Mを化合物2Pに置き換えた。

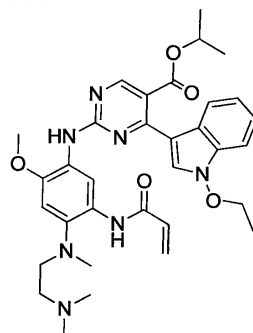
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化ジメチルスルホキシド) $\delta = 8.74 - 8.65$ (m, 2H), 8.01 - 7.87 (m, 2H), 7.51 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.25 (br t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.18 - 7.06 (m, 2H), 6.80 (br s, 1H), 5.76 (s, 2H), 5.01 (td, $J = 6.2, 12.4$ Hz, 1H), 4.37 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.71 (s, 3H), 2.95 - 2.90 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.40 (br d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.34 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.15 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H).

30

【0095】

【化37】

化合物2R



40

【0096】

本化合物を実施例1の化合物1Oの方法に従って製造し、化合物1Nを化合物2Qに置き換えた。

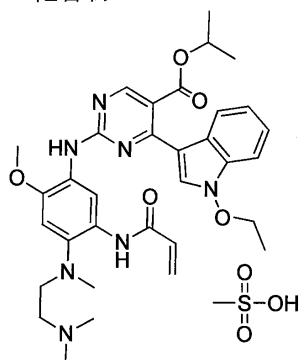
LCMS (ESI) m/z : 616.2 [M+1].

【0097】

50

【化 3 8】

化合物 2



10

【0098】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 の方法に従って製造し、化合物 1 O を化合物 2 R に置き換え、表題化合物を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化メタノール) δ = 8.80 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.90 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.25 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.16 - 7.08 (m, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.50 - 6.41 (m, 2H), 5.93 - 5.76 (m, 1H), 5.06 (td, J = 6.2, 12.5 Hz, 1H), 4.41 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.52 - 3.44 (m, 2H), 3.28 - 3.25 (m, 2H), 2.86 (s, 6H), 2.70 (d, J = 3.0 Hz, 6H), 1.43 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.16 (d, J = 6.3 Hz, 6H) .

20

【0099】

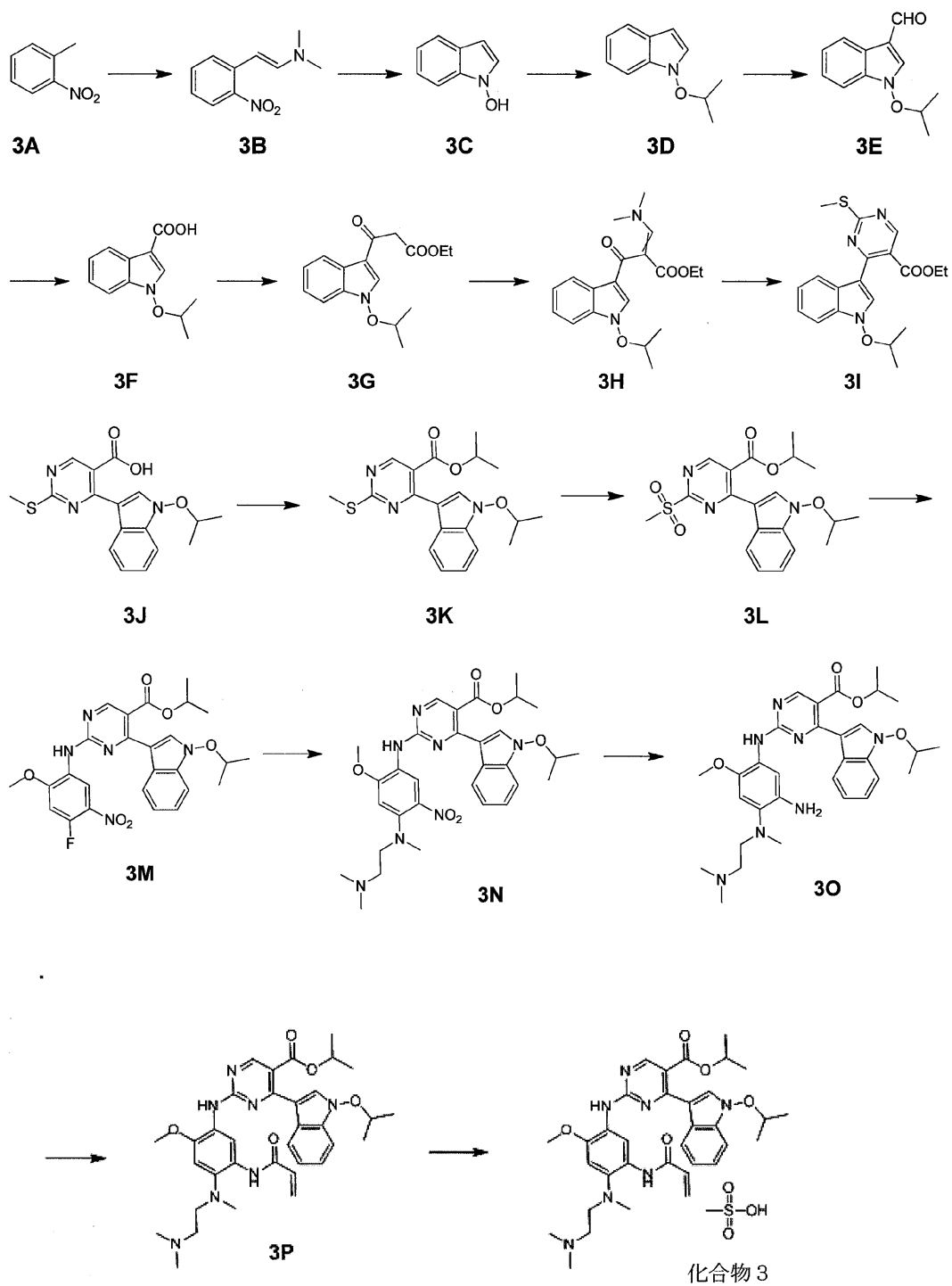
実施例 3 :

30

40

50

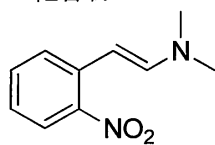
【化 3 9】



【 0 1 0 0】

【化 4 0】

化合物 3 B



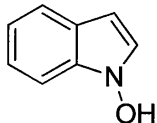
【 0 1 0 1 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 B の方法に従って製造し、化合物 1 A を化合物 3 A に置き換えた。

【 0 1 0 2 】

【 化 4 1 】

化合物 3 C



10

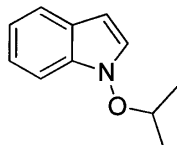
【 0 1 0 3 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 C の方法に従って製造し、化合物 1 B を化合物 3 B に置き換えた。

【 0 1 0 4 】

【 化 4 2 】

化合物 3 D



20

【 0 1 0 5 】

化合物 3 C (1 . 3 9 g 、 1 0 . 4 4 m m o l) の 2 - M e T H F (5 0 m L) 溶液にヨードイソプロパン (8 . 5 0 g 、 5 0 m m o l) 、 N a O H 水溶液 (2 M 、 5 0 m L) 及び T O M A C (2 1 0 m g 、 5 1 9 . 6 0 μ m o l) を加えた。混合物を 2 0 ~ 3 0 で 4 8 時間撹拌した。反応を終了させた。反応液を分層し、下層の水相を酢酸エチル (2 0 m L × 2) で抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル : 酢酸エチル = 1 : 0 、体積比) により分離精製し、表題化合物を得た。

30

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 7 . 5 1 (d , J = 7 . 8 H z , 1 H) , 7 . 3 3 (d d , J = 0 . 9 , 8 . 2 H z , 1 H) , 7 . 1 7 - 7 . 1 1 (m , 2 H) , 7 . 0 1 (d t , J = 1 . 0 , 7 . 6 H z , 1 H) , 6 . 2 6 (d d , J = 0 . 7 , 3 . 4 H z , 1 H) , 4 . 4 7 (s p t , J = 6 . 2 H z , 1 H) , 1 . 2 9 (d , J = 6 . 4 H z , 6 H) .

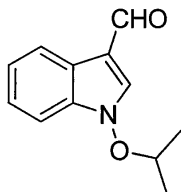
L C M S (E S I) m/z : 1 7 6 . 5 [$M + 1$] .

【 0 1 0 6 】

【 化 4 3 】

40

化合物 3 E



【 0 1 0 7 】

50

本化合物を実施例 1 の化合物 1 E の方法に従って製造し、化合物 1 D を化合物 3 D に置き換えた。

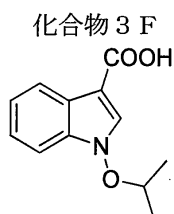
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.99 (s, 1H), 8.32 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.50 - 7.45 (m, 1H), 7.41 - 7.31 (m, 2H), 4.65 (sept, J = 6.2 Hz, 1H), 1.42 (d, J = 6.1 Hz, 6H) .

LCMS (ESI) m/z : 204.5 [M + 1] .

【0108】

【化44】

10



【0109】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 F の方法に従って製造し、化合物 1 E を化合物 3 E に置き換えた。

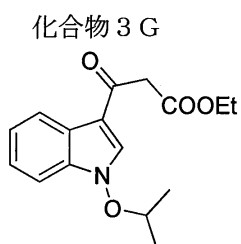
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.29 - 8.23 (m, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.51 - 7.46 (m, 1H), 7.38 - 7.30 (m, 2H), 4.65 (sept, J = 6.1 Hz, 1H), 1.42 (d, J = 6.3 Hz, 6H) .

LCMS (ESI) m/z : 220.4 [M + 1] .

【0110】

【化45】

20



30

【0111】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 G の方法に従って製造し、化合物 1 F を化合物 3 F に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.42 - 8.37 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.47 - 7.43 (m, 1H), 7.38 - 7.30 (m, 2H), 4.69 - 4.60 (m, 1H), 4.23 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 1.42 (d, J = 6.4 Hz, 6H), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H) .

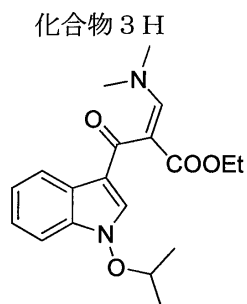
LCMS (ESI) m/z : 289.9 [M + 1] .

【0112】

40

50

【化 4 6】



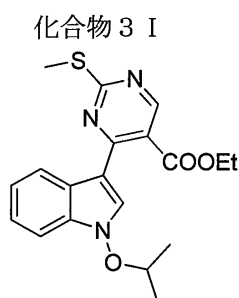
10

【 0 1 1 3】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 H の方法に従って製造し、化合物 1 G を化合物 3 G に置き換えた。

【 0 1 1 4】

【化 4 7】



20

【 0 1 1 5】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 I の方法に従って製造し、化合物 1 H を化合物 3 H に置き換えた。

30

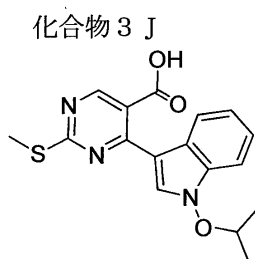
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.84 (s, 1H), 8.18 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.32 (dt, J = 1.1, 7.6 Hz, 1H), 7.28 - 7.23 (m, 1H), 4.64 (spt, J = 6.2 Hz, 1H), 4.30 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 1.43 (d, J = 6.3 Hz, 6H), 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

LCMS (ESI) m/z : 372.3 [M + 1].

【 0 1 1 6】

【化 4 8】

40



50

【 0 1 1 7 】

本化合物を実施例 2 の化合物 2 J の方法に従って製造し、化合物 2 I を化合物 3 I に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 8 . 8 7 (s , 1 H) , 8 . 2 4 (d , J = 7 . 8 H z , 1 H) , 8 . 0 2 (s , 1 H) , 7 . 4 1 (d , J = 8 . 1 H z , 1 H) , 7 . 2 8 - 7 . 1 9 (m , 2 H) , 4 . 5 9 - 4 . 4 9 (m , 1 H) , 2 . 6 8 (s , 3 H) , 1 . 3 2 (d , J = 5 . 9 H z , 6 H) .

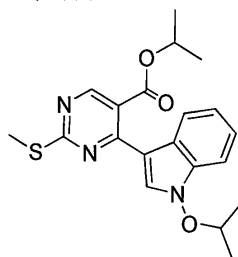
L C M S (E S I) m / z : 3 4 4 . 2 [M + 1] .

【 0 1 1 8 】

【 化 4 9 】

10

化合物 3 K



20

【 0 1 1 9 】

本化合物を実施例 2 の化合物 2 K の方法に従って製造し、化合物 2 J を化合物 3 J に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 8 . 8 1 (s , 1 H) , 8 . 1 9 - 8 . 1 3 (m , 1 H) , 8 . 0 3 (s , 1 H) , 7 . 4 7 (d , J = 8 . 1 H z , 1 H) , 7 . 3 2 (d t , J = 1 . 1 , 7 . 6 H z , 1 H) , 7 . 2 7 - 7 . 2 2 (m , 1 H) , 5 . 1 6 (s p t , J = 6 . 3 H z , 1 H) , 4 . 6 3 (s p t , J = 6 . 2 H z , 1 H) , 2 . 6 9 (s , 3 H) , 1 . 4 3 (d , J = 6 . 1 H z , 6 H) , 1 . 2 3 (d , J = 6 . 1 H z , 6 H) .

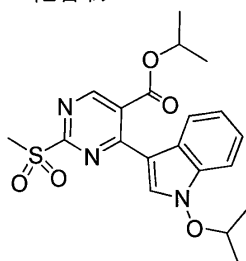
L C M S (E S I) m / z : 3 8 6 . 3 [M + 1] .

30

【 0 1 2 0 】

【 化 5 0 】

化合物 3 L



40

【 0 1 2 1 】

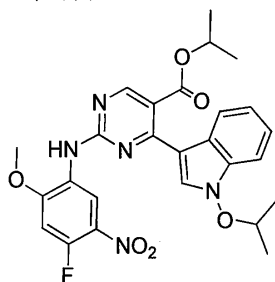
本化合物を実施例 1 の化合物 1 J の方法に従って製造し、化合物 1 I を化合物 3 K に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 9 . 0 0 (s , 1 H) , 8 . 4 1 - 8 . 3 6 (m , 1 H) , 8 . 1 7 (s , 1 H) , 7 . 5 2 - 7 . 4 8 (m , 1 H) , 7 . 4 1 - 7 . 3 1 (m , 2 H) , 5 . 3 8 (s p t , J = 6 . 2 H z , 1 H) , 4 . 6 6 (s p t , J = 6 . 2 H z , 1 H) , 3 . 4 3 (s , 3 H) , 1 . 4 3 (d , J = 6 . 4 H z , 6 H) , 1 . 3 2 (d , J = 6 . 4 H z , 6 H) .

50

LCMS (ESI) m/z : 418.2 [M+1].
 【0122】
 【化51】

化合物3M



10

【0123】

本化合物を実施例1の化合物1Kの方法に従って製造し、化合物1Jを化合物3Lに置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.53 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.76 (br d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.24 - 7.19 (m, 1H), 7.12 (dt, J = 1.0, 7.6 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 4.95 - 5.02 (m, 1H), 4.68 - 4.58 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 1.36 (d, J = 6.1 Hz, 6H), 1.03 (d, J = 6.1 Hz, 6H).

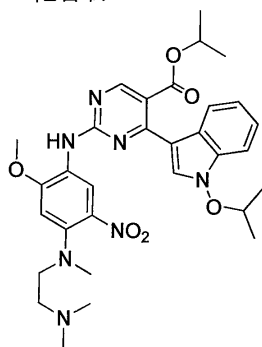
20

LCMS (ESI) m/z : 524.2 [M+1].

【0124】

【化52】

化合物3N



30

【0125】

本化合物を実施例1の化合物1Lの方法に従って製造し、化合物1Kを化合物3Mに置き換えた。

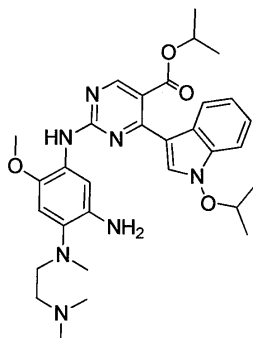
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.19 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.80 - 7.72 (m, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.38 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.18 (br d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.15 - 7.07 (m, 1H), 6.60 (s, 1H), 4.97 (quin, J = 6.2 Hz, 1H), 4.62 (td, J = 6.2, 12.4 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.25 - 3.19 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.54 - 2.47 (m, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.35 (d, J = 6.0 Hz

40

50

, 6 H), 1.02 (d, J = 6.3 Hz, 6 H).
 LCMS (ESI) m/z : 606.2 [M + 1].
 【0126】
 【化53】

化合物3O



10

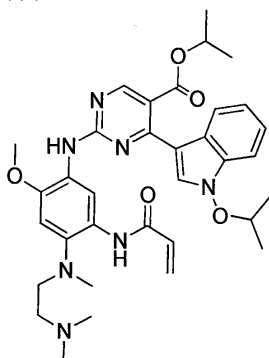
【0127】

本化合物を実施例1の化合物1Nの方法に従って製造し、化合物1Mを化合物3Nに置き換えた。

20

LCMS (ESI) m/z : 576.3 [M + 1].
 【0128】
 【化54】

化合物3P



30

【0129】

本化合物を実施例1の化合物1Oの方法に従って製造し、化合物1Nを化合物3Oに置き換えた。

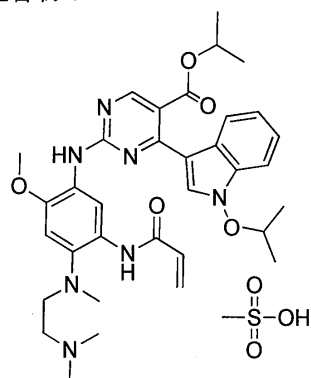
40

LCMS (ESI) m/z : 630.2 [M + 1].
 【0130】

50

【化 5 5】

化合物 3



10

【0131】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 の方法に従って製造し、化合物 1 O を化合物 3 P に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化メタノール) δ = 8.69 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.17 - 7.10 (m, 1H), 7.04 - 6.98 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 6.35 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 5.79 - 5.73 (m, 1H), 4.95 (spt, J = 6.2 Hz, 1H), 4.57 (spt, J = 6.1 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.38 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.17 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.76 (s, 6H), 2.62 - 2.58 (m, 6H), 1.29 (d, J = 6.1 Hz, 6H), 1.05 (d, J = 6.1 Hz, 6H).

20

LCMS (ESI) m/z : 630.2 [M + 1].

【0132】

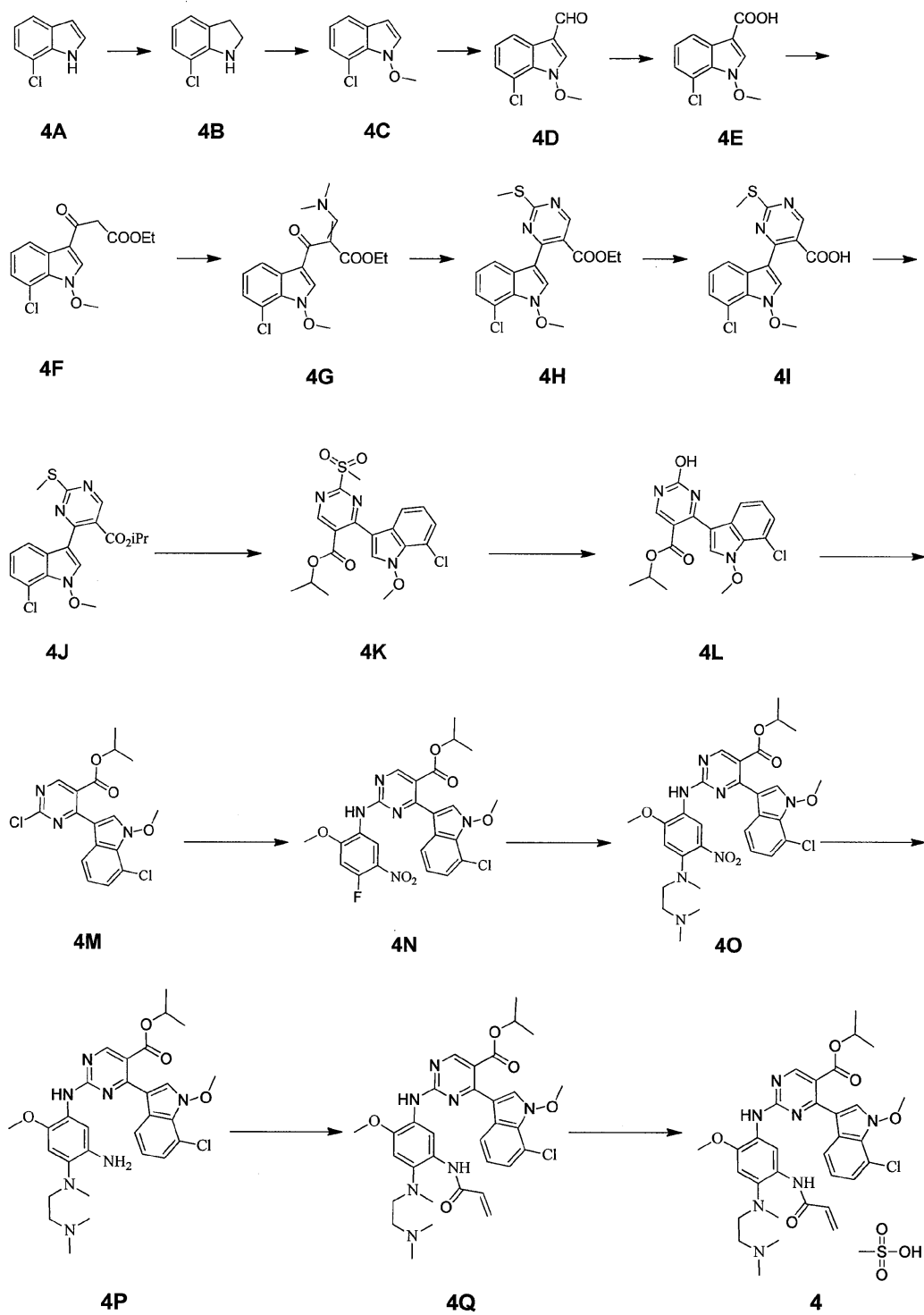
実施例 4 :

30

40

50

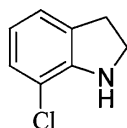
【化 5 6】



【 0 1 3 3】

【化 5 7】

化合物 4 B



【0134】

化合物4A (10.5 g、69.26 mmol) を酢酸 (50 mL) に溶解し、シアノ水素化ホウ素ナトリウム (13.06 g、207.79 mmol) を加え、内温を10に制御した。反応液を25で1時間攪拌しながら反応させた。TLC (PE/EA = 1/0) により原料の消費が完了したことをモニタリングした。反応液に水 (30.0 mL) を加え、水酸化ナトリウム水溶液 (2 M) で反応液 pH = 7 ~ 8 に調整し、酢酸エチル (80 mL × 3回) で抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に減圧下で濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 0) により精製した後に表題化合物を得た。

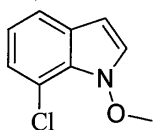
¹H NMR (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ : 6.96 - 7.05 (m, 2H), 6.63 (t, J = 7.64 Hz, 1H), 4.00 (br s, 1H), 3.63 (t, J = 8.44 Hz, 2H), 3.12 (t, J = 8.44 Hz, 2H)

10

【0135】

【化58】

化合物4C



20

【0136】

タングステン酸ナトリウム (2.26 g、6.86 mmol) を水 (30 mL) に溶解し、-20で化合物4B (6.2 g、40.36 mmol) のメタノール (300 mL) 溶液に滴下した。過酸化水素水 (39.35 g、347.12 mmol、30%含有量) をメタノール (100 mL) に溶解して反応液にゆっくりと滴下した。滴下終了後、25で3時間攪拌した。反応液に炭酸カリウム (44.63 g、322.90 mmol) 及び硫酸ジメチル (8.15 g、64.58 mmol) を加え、25で15分間攪拌した。TLC (石油エーテル：酢酸エチル = 20 : 1) により原料の消費が完了したことを示した。反応液を濾過し、濾液に水 (200.0 mL) を加え、酢酸エチル (300 mL × 3回) で抽出し、有機相を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に減圧下で濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 1 / 0) により精製して表題化合物を得た。

30

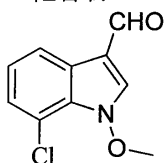
¹H NMR (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ : 7.48 (dd, J = 7.97, 0.82 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 3.39 Hz, 1H), 7.22 (dd, J = 7.65, 0.63 Hz, 1H), 7.00 - 7.06 (m, 1H), 6.39 (d, J = 3.51 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H)

【0137】

【化59】

40

化合物4D



【0138】

本化合物を実施例1の化合物1Eの方法に従って製造し、化合物1Dを化合物4Cに置き換えた。

50

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 9.98 (s, 1H), 8.22 - 8.28 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.33 - 7.37 (m, 1H), 7.21 - 7.27 (m, 1H), 4.22 (s, 3H).

【0139】

【化60】



10

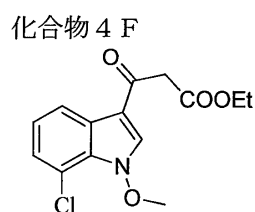
【0140】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 F の方法に従って製造し、化合物 1 E を化合物 4 D に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 8.17 (dd, $J = 8.01$, 0.79 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.30 - 7.34 (m, 1H), 7.20 - 7.26 (m, 1H), 4.21 (s, 3H).

【0141】

【化61】



20

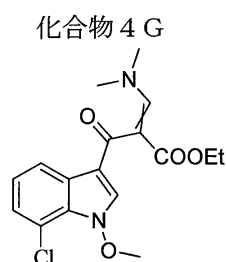
【0142】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 G の方法に従って製造し、化合物 1 F を化合物 4 E に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 8.34 (dd, $J = 8.00$, 1.00 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.31 - 7.34 (m, 1H), 7.20 - 7.25 (m, 1H), 4.22 - 4.26 (m, 2H), 4.21 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 1.27 - 1.31 (m, 3H).

【0143】

【化62】



40

【0144】

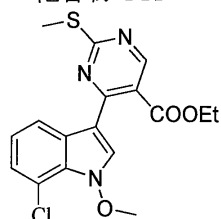
本化合物を実施例 1 の化合物 1 H の方法に従って製造し、化合物 1 G を化合物 4 F に置き換えた。

50

【 0 1 4 5 】

【 化 6 3 】

化合物 4 H



10

【 0 1 4 6 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 I の方法に従って製造し、化合物 1 H を化合物 4 G に置き換えた。

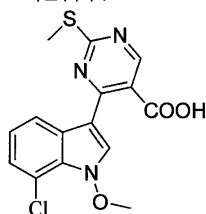
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 8.88 (s, 1H), 7.93 - 8.11 (m, 2H), 7.29 (dd, $J = 7.75, 0.75$ Hz, 1H), 7.09 - 7.22 (m, 1H), 4.29 (q, $J = 7.13$ Hz, 2H), 4.20 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 1.25 - 1.33 (m, 3H) .

【 0 1 4 7 】

【 化 6 4 】

20

化合物 4 I



【 0 1 4 8 】

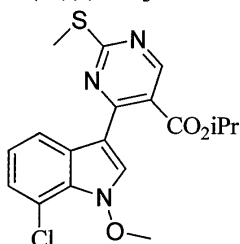
本化合物を実施例 2 の化合物 2 J の方法に従って製造し、化合物 2 I を化合物 4 H に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 9.00 (s, 1H), 8.05 - 8.10 (m, 2H), 7.29 (dd, $J = 7.75, 0.75$ Hz, 1H), 7.13 - 7.19 (m, 1H), 4.19 (s, 3H), 2.67 (s, 3H) ,

【 0 1 4 9 】

【 化 6 5 】

化合物 4 J



40

【 0 1 5 0 】

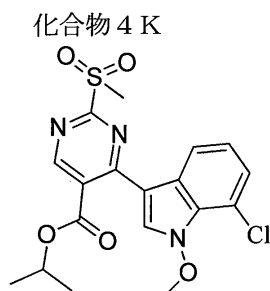
本化合物を実施例 2 の化合物 2 K の方法に従って製造し、化合物 2 J を化合物 4 I に置き換えた。

50

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 8.85 (s, 1H), 7.98 - 8.05 (m, 2H), 7.27 - 7.30 (m, 1H), 7.12 - 7.17 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.20 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 1.23 (s, 3H),

【0151】

【化66】



10

【0152】

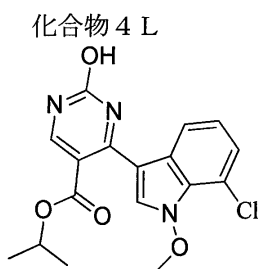
本化合物を実施例 1 の化合物 1 J の方法に従って製造し、化合物 1 I を化合物 4 J に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 9.03 (s, 1H), 8.28 (d, $J = 8.07\text{ Hz}$, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 7.58\text{ Hz}$, 1H), 7.21 - 7.26 (m, 1H), 5.28 (m, 1H), 4.22 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.32 (s, 3H)

20

【0153】

【化67】



30

【0154】

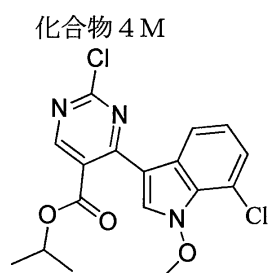
本化合物を実施例 2 の化合物 2 M の方法に従って製造し、化合物 2 L を化合物 4 K に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 8.37 - 8.94 (m, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.78 - 8.04 (m, 1H), 7.29 (br d, $J = 7.70\text{ Hz}$, 1H), 7.15 (br t, $J = 7.89\text{ Hz}$, 1H), 5.03 - 5.12 (m, 1H), 4.23 (s, 3H), 1.20 (br s, 3H), 1.18 (br s, 3H).

40

【0155】

【化 6 8】



10

【 0 1 5 6】

本化合物を実施例 2 の化合物 2 N の方法に従って製造し、化合物 2 M を化合物 4 L に置き換えた。

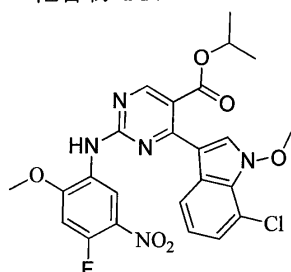
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 8.85 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.13 (dd, $J = 8.13, 1.00$ Hz, 1H), 7.32 (dd, $J = 7.69, 0.81$ Hz, 1H), 7.18 - 7.23 (m, 1H), 5.21 (m, 1H), 4.20 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.27 (s, 3H).

【 0 1 5 7】

【化 6 9】

20

化合物 4 N



30

【 0 1 5 8】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 K の方法に従って製造し、化合物 1 J を化合物 4 M に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 9.65 (d, $J = 8.25$ Hz, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.68 (br d, $J = 8.25$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 0.75$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 7.88$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 12.01$ Hz, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.27 (s, 3H), 4.05 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.14 (s, 3H).

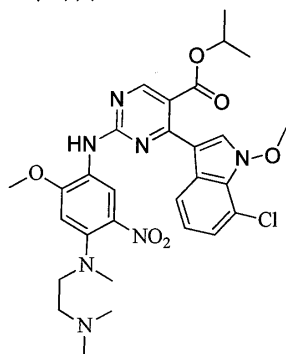
40

【 0 1 5 9】

50

【化 7 0】

化合物 4 O



10

【 0 1 6 0】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 L の方法に従って製造し、化合物 1 K を化合物 4 N に置き換えた。

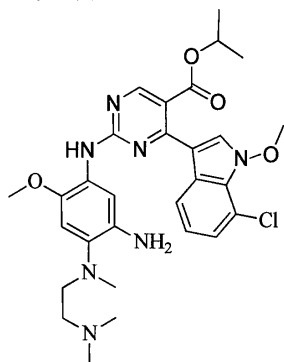
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ 9.34 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.70 (br d, $J = 5.62$ Hz, 1H), 7.24 - 7.26 (m, 1H), 7.08 - 7.14 (m, 1H), 6.80 - 6.87 (m, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.26 (s, 3H), 4.05 (s, 3H), 3.50 (s, 4H), 2.91 (s, 3H), 2.44 - 2.68 (m, 6H), 1.15 (s, 3H), 1.14 (s, 3H)

20

【 0 1 6 1】

【化 7 1】

化合物 4 P



30

【 0 1 6 2】

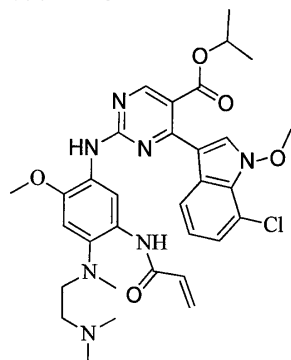
本化合物を実施例 1 の化合物 1 N の方法に従って製造し、化合物 1 M を化合物 4 O に置き換えた。

40

【 0 1 6 3】

【化 7 2】

化合物 4 Q



10

【 0 1 6 4】

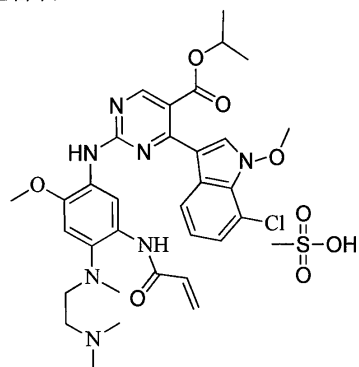
本化合物を実施例 1 の化合物 1 O の方法に従って製造し、化合物 1 N を化合物 4 P に置き換えた。

【 0 1 6 5】

【化 7 3】

20

化合物 4



30

【 0 1 6 6】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 の方法に従って製造し、化合物 1 O を化合物 4 Q に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化メタノール) δ 9.06 (br s, 1H), 8.83 (d, $J = 0.88$ Hz, 1H), 8.39 (br s, 1H), 7.65 (br d, $J = 6.88$ Hz, 1H), 7.23 (br d, $J = 7.63$ Hz, 1H), 7.06 (br t, $J = 7.82$ Hz, 1H), 6.97 (br s, 1H), 6.50 - 6.58 (m, 1H), 6.40 - 6.47 (m, 1H), 5.83 (br d, $J = 9.76$ Hz, 1H), 4.96 - 5.07 (m, 1H), 4.19 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.16 (br s, 2H), 2.65 - 2.70 (m, 5H), 2.44 (s, 6H), 1.43 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.10 (s, 3H).

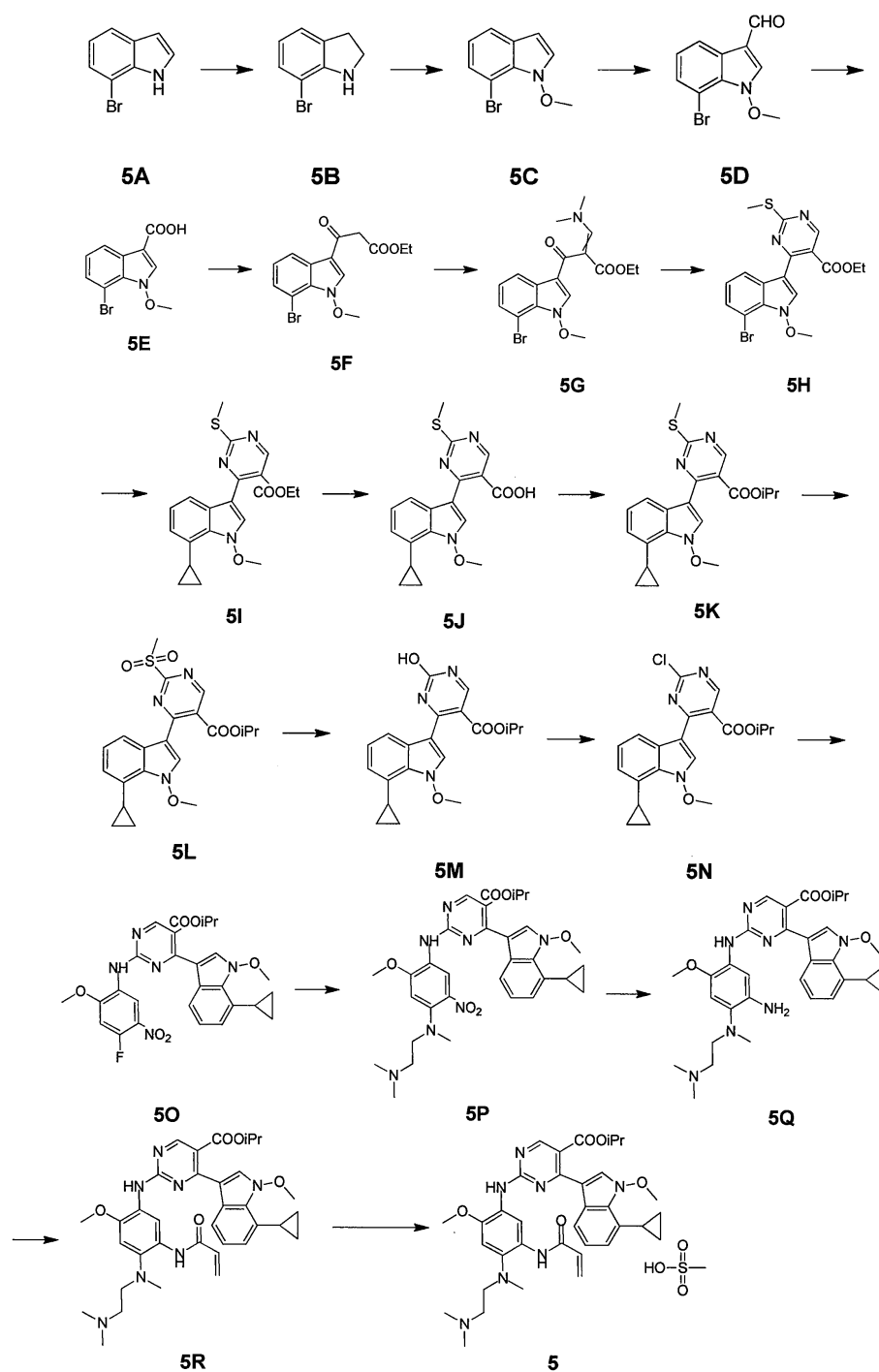
40

【 0 1 6 7】

実施例 5 :

50

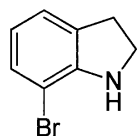
【化 7 4】



【 0 1 6 8】

【化 7 5】

化合物 5 B



10

20

30

40

50

【 0 1 6 9 】

本化合物を実施例 4 の化合物 4 B の方法に従って製造し、化合物 4 A を化合物 5 A に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 7 . 1 7 (d d , J = 0 . 6 , 8 . 1 H z , 1 H) , 7 . 0 4 (d d , J = 1 . 1 , 7 . 2 H z , 1 H) , 6 . 6 2 - 6 . 5 2 (m , 1 H) , 4 . 0 8 - 3 . 7 1 (m , 1 H) , 3 . 6 2 (t , J = 8 . 5 H z , 2 H) , 3 . 1 6 (t , J = 8 . 5 H z , 2 H) .

【 0 1 7 0 】

【 化 7 6 】

10



【 0 1 7 1 】

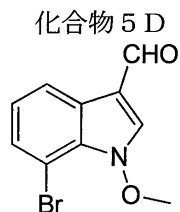
本化合物を実施例 4 の化合物 4 C の方法に従って製造し、化合物 4 B を化合物 5 B に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 7 . 5 3 (d d , J = 0 . 8 , 7 . 9 H z , 1 H) , 7 . 4 1 (d , J = 7 . 6 H z , 1 H) , 7 . 3 0 (d , J = 3 . 5 H z , 1 H) , 6 . 9 8 (t , J = 7 . 8 H z , 1 H) , 6 . 3 9 (d , J = 3 . 5 H z , 1 H) , 4 . 1 1 (s , 3 H) .

20

【 0 1 7 2 】

【 化 7 7 】



30

【 0 1 7 3 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 E の方法に従って製造し、化合物 1 D を化合物 5 C に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム) δ = 1 0 . 0 2 - 9 . 8 4 (m , 1 H) , 8 . 2 8 (d d , J = 0 . 8 , 7 . 9 H z , 1 H) , 8 . 0 1 (s , 1 H) , 7 . 5 5 - 7 . 4 6 (m , 1 H) , 7 . 1 6 (t , J = 7 . 8 H z , 1 H) , 4 . 2 0 (s , 3 H) .

40

【 0 1 7 4 】

50

【化 7 8】



10

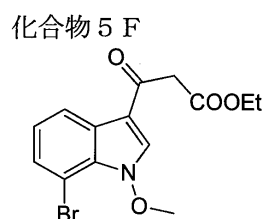
【 0 1 7 5】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 F の方法に従って製造し、化合物 1 E を化合物 5 D に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.22 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.50 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.16 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 4.25 (s, 3H).

【 0 1 7 6】

【化 7 9】



20

【 0 1 7 7】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 G の方法に従って製造し、化合物 1 F を化合物 5 E に置き換えた。

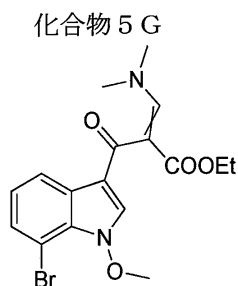
30

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.40 (d, J = 0.9, 8.1 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.51 (d, J = 0.7, 7.6 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 4.25 - 4.20 (m, 5H), 3.85 (s, 2H), 1.32 - 1.27 (m, 3H).

LCMS (ESI) m/z : 342.1 [M + 1].

【 0 1 7 8】

【化 8 0】



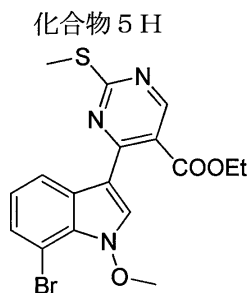
40

本化合物を実施例 1 の化合物 1 H の方法に従って製造し、化合物 1 G を化合物 5 F に置き換えた。

50

【 0 1 7 9 】

【 化 8 1 】



10

【 0 1 8 0 】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 I の方法に従って製造し、化合物 1 H を化合物 5 G に置き換えた。

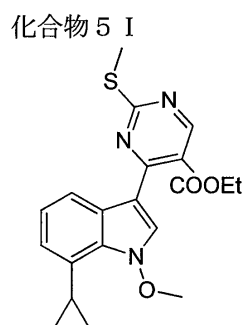
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.88 (s, 1H), 8.32 - 7.96 (m, 2H), 7.67 - 7.37 (m, 1H), 7.09 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 4.29 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.19 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3H)

20

LCMS (ESI) m/z : 421.9 [M + 1].

【 0 1 8 1 】

【 化 8 2 】



30

【 0 1 8 2 】

化合物 5 H (1 g, 2.37 mmol) 及びシクロプロピルボロン酸 (407 mg, 4.74 mmol) をトルエン (5 mL) 及び水 (5 mL) に溶解し、炭酸セシウム (926 mg, 2.84 mmol) 及び Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂ (200 mg, 244.91 μmol) を加え、窒素雰囲気下で、100 °C で 16 時間撹拌した。反応液を減圧下で濃縮し、残渣に水 (10 mL) を加え、かつ酢酸エチル (10 mL × 2 回) で抽出した。有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に減圧下で濃縮し、粗生成物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル：酢酸エチル = 50 : 1 to 20 : 1) により精製して表題化合物を得た。

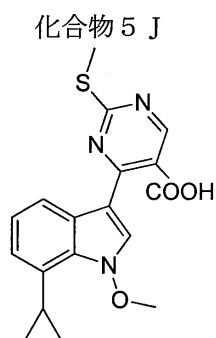
40

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.83 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.94 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.14 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 4.29 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 4.18 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.27 (s, 1H), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.08 - 1.03 (m, 2H), 0.89 - 0.86 (m, 2H).

50

【 0 1 8 3 】

【 化 8 3 】



10

【 0 1 8 4 】

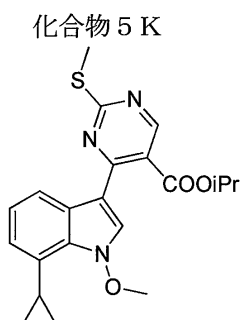
本化合物を実施例 2 の化合物 2 J の方法に従って製造し、化合物 2 I を化合物 5 I に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化メタノール) δ = 8.80 (s, 1H), 8.22 - 8.13 (m, 1H), 8.01 (dd, J = 0.8, 8.1 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 4.20 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.21 - 1.16 (m, 1H), 1.10 - 1.04 (m, 2H), 0.88 - 0.83 (m, 2H).

20

【 0 1 8 5 】

【 化 8 4 】



30

【 0 1 8 6 】

本化合物を実施例 2 の化合物 2 K の方法に従って製造し、化合物 2 J を化合物 5 J に置き換えた。

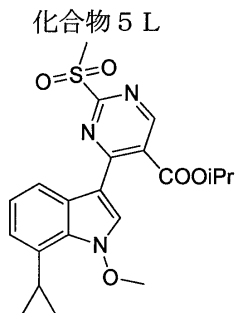
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.82 - 8.77 (m, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.92 (dd, J = 0.7, 8.1 Hz, 1H), 7.13 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.14 (m, 1H), 4.17 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.28 - 1.25 (m, 1H), 1.22 (d, J = 6.3 Hz, 6H), 1.07 - 1.01 (m, 2H), 0.90 - 0.84 (m, 2H).

40

【 0 1 8 7 】

50

【化 8 5】



10

【 0 1 8 8】

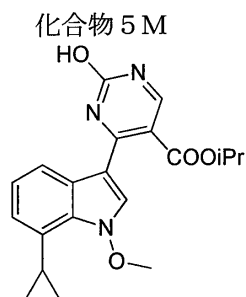
本化合物を実施例 1 の化合物 1 J の方法に従って製造し、化合物 1 I を化合物 5 K に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.99 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.12 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.22 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 5.26 (m, 1H), 4.20 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 2.67 (tt, J = 5.3, 8.4 Hz, 1H), 1.33 - 1.28 (m, 6H), 1.10 - 1.05 (m, 2H), 0.91 - 0.86 (m, 2H).

20

【 0 1 8 9】

【化 8 6】



30

【 0 1 9 0】

本化合物を実施例 2 の化合物 2 M の方法に従って製造し、化合物 2 L を化合物 5 L に置き換えた。

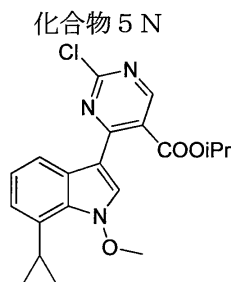
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.01 - 8.60 (m, 1H), 8.14 (br s, 1H), 7.81 - 7.33 (m, 1H), 7.09 (br t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.85 (br d, J = 7.3 Hz, 1H), 5.09 - 4.95 (m, 1H), 4.29 (s, 3H), 2.71 - 2.60 (m, 1H), 1.12 (br d, J = 5.6 Hz, 6H), 1.04 (br d, J = 8.2 Hz, 2H), 0.85 (br d, J = 4.8 Hz, 2H).

40

【 0 1 9 1】

50

【化 8 7】



10

【 0 1 9 2】

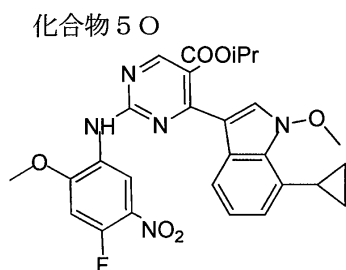
本化合物を実施例 2 の化合物 2 N の方法に従って製造し、化合物 2 M を化合物 5 M に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.84 - 8.76 (m, 1 H), 8.17 - 8.09 (m, 1 H), 8.00 (dd, J = 0.7, 8.1 Hz, 1 H), 7.18 (t, J = 7.8 Hz, 1 H), 6.90 (d, J = 7.4 Hz, 1 H), 5.19 (spt, J = 6.3 Hz, 1 H), 4.19 (s, 3 H), 2.67 (tt, J = 5.3, 8.4 Hz, 1 H), 1.26 (d, J = 6.4 Hz, 6 H), 1.08 - 1.03 (m, 2 H), 0.90 - 0.85 (m, 2 H) .

20

【 0 1 9 3】

【化 8 8】



30

【 0 1 9 4】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 K の方法に従って製造し、化合物 1 J を化合物 5 N に置き換えた。

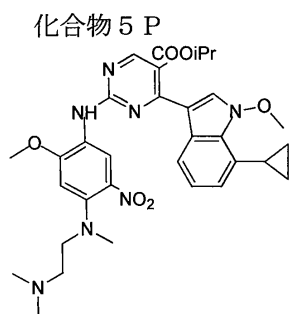
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.71 (d, J = 8.3 Hz, 1 H), 8.91 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.87 (s, 1 H), 7.61 - 7.50 (m, 1 H), 6.85 (d, J = 7.3 Hz, 1 H), 6.78 (d, J = 12.0 Hz, 1 H), 5.05 (td, J = 6.3, 12.5 Hz, 1 H), 4.26 (s, 3 H), 4.04 (s, 3 H), 2.75 - 2.65 (m, 1 H), 1.11 (d, J = 6.1 Hz, 6 H), 1.07 - 1.04 (m, 2 H), 0.89 - 0.85 (m, 2 H) .

40

【 0 1 9 5】

50

【化 8 9】



10

【 0 1 9 6】

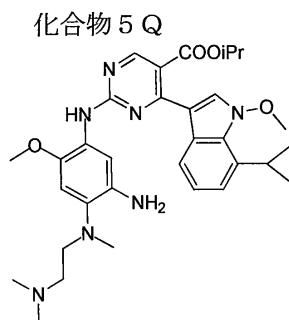
本化合物を実施例 1 の化合物 1 L の方法に従って製造し、化合物 1 K を化合物 5 O に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 9.38 (br s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.54 (br d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.08 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 5.03 (td, J = 6.3, 12.5 Hz, 1H), 4.25 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.32 - 3.27 (m, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.74 - 2.67 (m, 1H), 2.58 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H), 1.10 (br d, J = 6.3 Hz, 6H), 1.06 - 1.01 (m, 2H), 0.87 - 0.83 (m, 2H).

20

【 0 1 9 7】

【化 9 0】



30

【 0 1 9 8】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 N の方法に従って製造し、化合物 1 M を化合物 5 P に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化クロロホルム) δ = 8.88 (s, 2H), 8.17 (br d, J = 13.3 Hz, 1H), 7.98 (br s, 3H), 7.17 (br s, 1H), 7.05 - 6.96 (m, 1H), 6.89 (br d, J = 16.5 Hz, 1H), 6.73 (br s, 1H), 5.11 (br d, J = 6.3 Hz, 1H), 4.19 (br s, 3H), 3.85 (br s, 3H), 2.78 (br s, 2H), 2.56 (br s, 6H), 2.42 (br s, 2H), 2.27 (br s, 3H), 1.24 (br s, 6H), 1.07 - 1.03 (m, 2H), 0.83 - 0.76 (m, 2H).

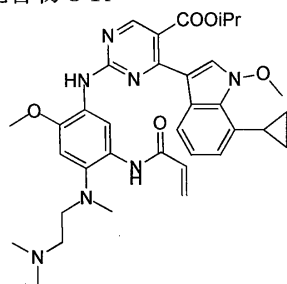
40

【 0 1 9 9】

50

【化 9 1】

化合物 5 R



10

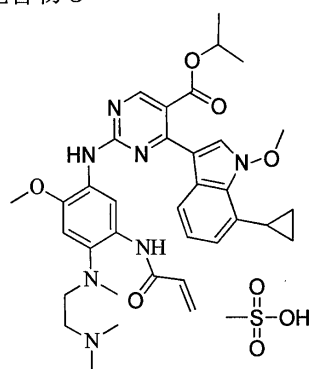
【 0 2 0 0】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 O の方法に従って製造し、化合物 1 N を化合物 5 Q に置き換えた。

【 0 2 0 1】

【化 9 2】

化合物 5



20

【 0 2 0 2】

本化合物を実施例 1 の化合物 1 の方法に従って製造し、化合物 1 O を化合物 5 R に置き換えた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重水素化メタノール) δ = 8.77 (s, 1H), 8.46 (br s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.71 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.01 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.82 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.48 - 6.42 (m, 2H), 5.91 - 5.77 (m, 1H), 5.07 (td, J = 6.2, 12.5 Hz, 1H), 4.18 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.52 - 3.46 (m, 2H), 3.27 - 3.24 (m, 2H), 2.86 (s, 6H), 2.70 (d, J = 4.8 Hz, 6H), 1.28 (s, 1H), 1.17 (d, J = 6.2 Hz, 6H), 1.10 - 1.04 (m, 2H), 0.85 - 0.80 (m, 2H).

40

【 0 2 0 3】

実験例 1：異なる種の血漿における化合物の安定性試験

本研究では、材料としてマウス、SD ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒト血漿を用いて、前記 5 種の血漿における被験化合物の安定性を調べた。対照化合物としてプロパンサイン (Propantheline)、エナラプリル (Enalapril)、ビスコジル (Bisacodyl) 及びプロカイン (Procaine) を用いた。

被験化合物の実験条件は以下のとおりである。

- 試験濃度：2 μM (DMSO 0.5%) ;

50

- インキュベート時間：0、10、30、60及び120分間；
- 試験システムは凍結血漿（多くの種から）を使用する
- インキュベート条件：37

実験前に、混合凍結血漿を37 の水浴中で解凍した。血漿を4000回転/分で5分間遠心分離し、凝集塊があれば除去した。必要に応じて、pH値を7.4±0.1に調整した。

1 mMの化合物及び陽性対照品の間接液を、10 mMの貯蔵液を90 µlのジメチルスルホキシドで希釈して調製した。20 µlの間接液（1 mM）を180 µlの45%メタノール/水で希釈することにより100 µMの溶液を調製した。

100 µMの溶液2 µlを98 µlのブランク血漿に加えて最終濃度2 µM（2連）のサンプルを得、サンプルを37 の水浴中でインキュベートした。各時点（0、10、30、60及び120 min）で、400 µlの停止液（200 ng/mlのトルエンシルホニル尿素及び200 ng/mlのラベタロール、50%ACN/MeOH）を加えてタンパク質を沈殿させて十分に混合した。

サンプルプレートに4000回転/分で10分間遠心分離した。各ウェルから上清液（50 µl）を少量ずつ移し、100 µlの超純水と混合した。LC-MS/MS分析を行う前に、サンプルを800 rpmで約10分間振とうした。

データ処理に使用する式は以下のとおりである。

%残量 = (いずれかの時点における対照品と内部標準物質とのピーク面積比 / 0分における対照品と内部標準物質とのピーク面積比) × 100%

実験結果：表1及び2参照。

【表1】

化合物のインビトロ血漿安定性

インビトロ血漿安定性（異なる時点での残存パーセンテージ）	化合物1
ヒト120分間	19%
サル120分間	93.7%
犬120分間	101.7%
ラット120分間	87.9%
マウス120分間	45%

【表2】

化合物のインビトロ血漿半減期

異なる種の半減期 $T_{1/2}$ (min)	化合物1
ヒト $T_{1/2}$	51.6
サル $T_{1/2}$	>289.1
犬 $T_{1/2}$	>289.1
ラット $T_{1/2}$	>289.1
マウス $T_{1/2}$	108.8

実験結論：

表 1 - 1 及び 1 - 2 から明らかなように、本発明に係る化合物は、異なる種において優れた血漿安定性を有する。

【 0 2 0 4 】

実験例 2：生化学実験

実験目的：EGFR WT、EGFR (D770__N771insNPG)、ERBB2 (V777__G778ins>CG)、EGFR T790M/L858R 酵素活性に対する化合物の阻害効果の検出

実験材料：

EGFR WT (Invitrogen, Cat. No. PR7295B), EGFR [L858R] (Invitrogen, Cat. No. PR7447A), EGFR [D746-750] (Invitrogen, Cat. No. PV6179), ATP (Sigma, Cat. No. A7699-1G), DMSO (Sigma, Cat. No. D2650), DTT (Sigma, Cat. No. 43815), 384 ウェルプレート, 化合物希釈プレート (Greiner, Cat. No. 781280), 384 ウェルプレート, 試験プレート (Perkin Elmer, Cat. No. 6007299), HTRF KinEASE TK Kit (Cisbio, Cat. No. 62TK0PEB), 塩化マグネシウム (Sigma, Cat. No. M1028), Orthovanadate (Sigma, Cat. No. S6508), BSA (Sigma, Cat. No. A7030), HEPES (Life technology, Cat. No. 11344-041)

実験方法：

化合物の最終試験濃度：

被験化合物の最終試験濃度は 10 μ M から 0.17 nM ままで、3 倍で勾配希釈し、11 個の濃度であった。

キナーゼ検出：

50 mM HEPES (pH 7.5)、0.01% BSA、5 mM の塩化マグネシウム、0.1 mM Orthovanadate を含む緩衝液を調製した。緩衝液を調製した後、酵素及び基質を、予め希釈して調製した異なる濃度の化合物と混合し、室温で 15 分間放置した。ATP を加えて反応を開始し、室温で 60 分間インキュベートした (陰陽対照を設定した)。10 μ L の反応系には、2.5 μ L の化合物、5 μ L の酵素及び基質の混合物、及び 2.5 μ L の ATP が含まれる。反応終了後に抗体を加えて検出し、室温で 60 分間インキュベートした後に Envision (プレートリーダー) で検出し、データを収集した。XLFit5 ソフトウェア (データ解析ソフトウェア) に従ってデータ解析及びプロットを行った。

実験結果：表 3 参照。

【表 3】

化合物の酵素阻害活性

酵素 IC ₅₀ (nM)	化合物 1	
野生型 EGFR 酵素	/	0.39
EGFR エクソン 20 挿入 (D770__N771insNPG) 酵素	0.8	0.7
EGFR L858R/T790M 二重突然変異酵素	3.71	/
HER2 エクソン 20 挿入 (V777__G778ins>CG) 酵素	1.86	/

注：「/」は未試験を示す。

実験結論：

本発明に係る化合物はEGFRエクソン20挿入突然変異及びERBB2エクソン20挿入突然変異の両方に対して優れた酵素活性を有し、同時にL858R及びT790M二重突然変異に対しても優れた酵素活性を有する。

【0205】

実験例3：細胞に対する化合物の抗増殖実験

(1) LU-0387 (EGFRエクソン20 NPH挿入突然変異) 細胞抗増殖活性試験

実験材料：

ウシ胎児血清FBS、Cell Titer Glo (登録商標) 発光細胞生存率アッセイ、96ウェル透明平底黒壁板

実験機器：

EnVisionマルチラベルマイクロプレート検出器、パーキンエルマー機器有限公司、型番：2104-0010A；

CO₂インキュベーター、サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社、Model 3100 Series；

バイオセキュリティキャビネット、サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社、Model 1300 Series A2；

倒立顕微鏡、オリンパス、型番：CKX41SF；

電子天秤、メトラー・トレド、型番：AL-104；

冷蔵庫、シーメンス、型番：KK25E76TI。

実験ステップ：

細胞計数機で細胞計数を行い、細胞生存率を測定し、各細胞系の生存率が90%以上であることを確保し、細胞懸濁液を96ウェルプレートに加えて細胞密度が指定の濃度になるようにし、37℃、5%CO₂、95%湿度条件下で一晩培養した。T0プレートに培養液を補充し、CTG試薬を融解して細胞プレートを室温まで平衡化した。各ウェルにCTG溶液を加えた。振動によって細胞を溶解し、冷光値を読み取った。被験化合物及び参照薬を勾配希釈し、10倍溶液を得た。細胞を接種した96ウェルプレートに、1ウェル当たり10μLの薬物溶液を加えた。37℃、5%CO₂、95%湿度条件下で4日間培養を続け、それぞれCTG分析を行い、冷光値を読み取った。GraphPad Prism 5.0ソフトウェアを用いてデータを解析し、これからIC₅₀値を計算した。

実験結果：LU-0387細胞EGFRエクソン20挿入突然変異NPHに対する本発明に係る化合物のIC₅₀データを表4に示した。

実験結論：本発明に係る化合物は、EGFRエクソン20挿入突然変異の優れた阻害活性を示した。

(2) 化合物のH1975細胞の抗増殖活性及びA431細胞の抗増殖活性IC₅₀試験

実験材料：

RPMI1640培地、FBSウシ胎児血清、トリプシン-EDTAは、いずれもGibcoから購入した。DPBSはCorningから、ペニシリン/ストレプトマイシン溶液はHycloneから、Cell-Titer Glo reagentはPromega (1kit、カタログ番号G7571) から購入した。プレートリーダー：EnVision (PerkinElmer)。

実験方法：

384ウェルプレート1、2、24列に45μLの培地を加え、細胞懸濁液をMulti-dropで分液し、1ウェル当たり45μL (1000個の細胞) をインキュベーターに入れて一晩培養した。化合物をEcho分液要求に応じてsourceプレートに加え、sourceプレート中の化合物をinterプレートに加えて中間濃度に希釈し、さらにsourceプレート及びinterプレート中の化合物を細胞プレートに加え、細胞をインキュベーター中で72時間培養し続けた。72時間後、Cell-Titer Glo reagent及び細胞を取り出して室温で30min平衡化し、Multi-dropで25μL Cell-Titer Glo reagentを384ウェルプレ

10

20

30

40

50

ート細胞に分液し、中速で3min振とうし、1000rpmで2min遠心分離し、10min静置した。Envisionプレートリーダー(Luminescence)。

本発明に係る化合物のH1975細胞の抗増殖活性IC₅₀及びA431細胞の抗増殖活性IC₅₀のデータを表4に示した。

【表4】

細胞に対する化合物の抗増殖活性データ

細胞 IC ₅₀ (nM)	LU0387 EGFR-H773_V774insNPH	H1975 (L858R/T790M)	A431
化合物1	25.6	15.3	335

10

実験結論：

本発明に係る化合物はH1975(L858R/T790M)細胞、LU0387 EGFR-H773_V774insNPH(エクソン20挿入突然変異)に対して非常に良好な抗増殖活性を有し、同時にA431(EGFR野生型)に対して弱い阻害作用を有し、本発明に係る化合物がより優れた選択性を有することを示した。

20

【0206】

実験例4：Ba/F3エクソン20挿入突然変異細胞に対する化合物の抗増殖実験

実験材料：

RPMI1640培地はHycloneから、FBSウシ胎児血清はGIBCOから、トリプシン-EDTAはGibcoから購入した。DPBSはCorningから、ペニシリン/ストレプトマイシン溶液はHyclone、Cell-Titer Glo reagentはPromega(カタログ番号G7572)から購入した。Ba/F3 EGFR-D770_N771insSVD、Ba/F3 EGFR-H773_V774insNPH、Ba/F3 EGFR-V769_D770insASV、Ba/F3 ERBB2 A775_G776insYVMA、細胞株は北京康源博創生物科技有限公司によって構築された。プレートリーダー：Envision(PerkinElmer)。

30

実験方法：

対数増殖期にある細胞を回収して血小板カウンタを用いて細胞計数を行った。トリパンブルー排除法を用いて細胞生存率を測定した。細胞濃度を調整し、細胞懸濁液をそれぞれ96ウェルプレートに加えた。96ウェルプレート中の細胞を37℃、5%CO₂、95%湿度条件下で一晩培養した。薬物溶液を調製し、細胞を接種した96ウェルプレートに1ウェル当たり10μLの薬物溶液を加え、薬物濃度ごとに3つの同一のウェルを設定した。投与した96ウェルプレート中の細胞を37℃、5%CO₂、95%湿度条件下で72時間培養し続けた後、CTG分析を行い、オービタルシェーカー上で振とうして細胞を溶解させた。細胞プレートを室温に置いて冷光信号を安定化し、冷光値を読み取った。GraphPad Prism7.0ソフトウェアを用いてデータを解析し、非線形S曲線回帰を用いてデータをフィッティングして投与量-効果曲線を得て、それからIC₅₀値を計算した。

40

Ba/F3Exon20挿入突然変異細胞に対する本発明に係る化合物の抗増殖活性IC₅₀を表5に示した。

【表 5】

Ba/F3エクソン20挿入突然変異細胞に対する化合物の抗増殖活性データ

突然変異細胞 IC ₅₀ (nM)	化合物 1		化合物 2	化合物 3	化合物 4	化合物 5
Ba/F3 EGFR-D770_N771insSVD	27	24	27	54	33	58
Ba/F3 EGFR-H773_V774insNPH	/	15	/	/	/	/
Ba/F3 EGFR-V769_D770insASV	/	7	/	/	/	/
BaF3 ERBB2 A775_G776insYVMA	/	37	/	/	/	/

注：「/」は未試験を示す。

実験結論：

Ba/F3エクソン20挿入突然変異細胞は、マウスB細胞を用いて人工的に構築されたSVD、NPH、ASV、YVMA挿入突然変異を有する細胞系であり、表5から明らかのように、本発明に係る化合物はSVD、NPH、ASV、YVMAなどの突然変異頻度の高いエクソン20挿入突然変異に対していずれも優れた細胞抗増殖活性を有し、SVD突然変異などの一般的なエクソン20挿入突然変異に対しても優れた細胞抗増殖活性を示した。

【0207】

実験例5：マウス肺がんNCI-H1975細胞皮下異種移植腫瘍BALB/cヌードマウスモデルのインビボ薬力学的研究

細胞培養：

ヒト肺がんNCI-H1975細胞を、1640培地に10%ウシ胎児血清、1%二重抗体を加え、37℃5%CO₂インキュベーターで培養するという培養条件下で、インビトロで単層培養した。週2回、通常の処理を行って継代した。細胞飽和度が80%~90%であり、数が要求に達したとき、細胞を回収し、計数し、接種した。

動物：

BALB/c nudeヌードマウス、雌性、6~8週齢、体重18~22g。上海西普爾-必凱実験動物有限公司又はその他の資質のあるサプライヤーによって提供される。

腫瘍接種：

ヒト肺がん異種移植モデルH1975腫瘍担持マウスから腫瘍組織を採取し、直径2~3mmの腫瘍塊に切断してBALB/cヌードマウスの右前肩甲に皮下接種し、腫瘍の平均体積145mm³を測定したところ、腫瘍の大きさに応じてランダムに群分けし、群分け日を0日目と定義した。

腫瘍測定及び実験指標：

実験指標は、腫瘍増殖が阻害、遅延、又は治癒されたか否かを調べることである。腫瘍直径をノギスで週2回測定した。腫瘍体積の計算式は、 $V = 0.5a \times b^2$ であり、a及びbはそれぞれ腫瘍の長径及び短径を表す。化合物の腫瘍阻害効果をTGI(%)又は相対腫瘍増殖率T/C(%)で評価した。TGI(%)は、腫瘍増殖阻害率を反映した。TGI(%)の計算： $TGI(\%) = [(1 - (\text{ある処置群の投与終了時の平均腫瘍体積} - \text{当該処置群の投与開始時の平均腫瘍体積})) / (\text{溶媒対照群の治療終了時の平均腫瘍体積} - \text{溶媒対照群の治療開始時の平均腫瘍体積})] \times 100\%$ 。相対腫瘍増殖率T/C(%)の計算式は、 $T/C\% = TRTV / CRTV \times 100\%$ (TRTV：治療群RTV、CRTV：陰性対照群RTV)である。腫瘍測定の結果に基づいて相対腫瘍体積 (relative tumor volume、RTV) を計算し、計算式は $RTV = V_t / V_0$ であり、

ここで V_0 は群分け投与時（即ち d_0 ）に測定された平均腫瘍体積であり、 V_t はある測定時の平均腫瘍体積であり、 T_{RTV} 及び C_{RTV} は同じ日のデータを取った。実験終了後に腫瘍重量を測定し、 T/C_{weight} 百分率を計算し、 T_{weight} 及び C_{weight} はそれぞれ投与群及び溶媒対照群の腫瘍重量を示した。

実験結果：図 1、2 及び表 6 参照。

実験結論：

図 1、2 及び表 6 の腫瘍体積データから明らかなように、本発明に係る化合物は抗腫瘍効果が顕著であり、 TGI が 105% に達し、腫瘍縮小効果を達成した。

【表 6】

ヒト肺がん細胞 H1975 皮下異種移植腫瘍モデルに対する化合物の腫瘍阻害効果

群別	腫瘍体積 (mm ³) ^a (0 日目)	腫瘍体積 (mm ³) ^a (20 日目)	RTV	TGI (%)	T/C (%)
ブランク	153 ± 6	2419 ± 196	16.0 1 ± 1.72	—	—
化合物 1	153 ± 7	33 ± 16	0.20 ± 0.10	105.3	1.35%

注：a. 平均値 ± 標準誤差、n = 6。

【0208】

実験例 6：マウス Ba/F3 EGFR D770__N771 ins SVD 皮下同種移植腫瘍モデルにおける化合物の増殖阻害作用

実験目的：

Ba/F3 (EGFR - D770__N771 ins SVD) 細胞は、マウス B 細胞を用いて人工的に構築された EGFR - D770__N771 ins SVD 挿入突然変異を有する細胞系であり、当該細胞系によって構築された CDX モデルを用いて動物体内における Exon 20 EGFR - D770__N771 ins SVD 挿入突然変異に対する好ましい化合物の阻害効果を評価した。

実験材料：

ヌードマウス (BALB/c Nude)、Ba/F3 (EGFR - D770__N771 ins SVD) 細胞株

実験方法：

1. 細胞培養：RPMI - 1640 (細胞培養液) に 10% ウシ胎児血清、100 U/mL ペニシリン及び 100 µg/mL ストレプトマイシンを加え、37、5% CO₂ インキュベーターで培養するという培養条件下で、細胞のインピトロ単層培養を行った。週 2 回パンクレアチン - EDTA による通常の消化処理を行って継代した。細胞 Ba/F3 (EGFR - D770__N771 ins SVD) 飽和度が 80% ~ 90% であり、数が要求に達したとき、細胞を回収し、計数した。密度が 5×10^6 個の細胞であった。

2. 細胞接種：0.2 mL (5×10^6 個を含む) の Ba/F3 (EGFR - D770__N771 ins SVD) 細胞懸濁液 (PBS: Matrigel = 1:1) を各マウスの右後背に皮下接種し、合計 64 匹のマウスに接種した。接種後 7 日目に、腫瘍平均体積が 133 mm³ に達することを測定したところ、腫瘍体積及び動物体重に基づいてランダム層別群分け方法を用いて群分け投与を開始した。PBS はリン酸緩衝液であり、Matrigel はマトリゲルである。

3. 投与：投与量 0 ~ 7 日：10 mg/kg、8 ~ 21 日：40 mg/kg、経口投与、投与頻度、1 日 1 回 × 3 週間。

腫瘍測定及び実験指標

腫瘍直径をノギスで週 2 回測定した。腫瘍体積の計算式は、 $V = 0.5 a \times b^2$ であり、 a 及び b はそれぞれ腫瘍の長径及び短径を表す。

化合物の腫瘍阻害効果を $TGI(\%)$ 又は相対腫瘍増殖率 $T/C(\%)$ で評価した。

相対腫瘍増殖率 $T/C(\%) = TRTV / CRTV \times 100\%$ ($TRTV$: 治療群平均 RTV 、 $CRTV$: 溶媒対照群平均 RTV)。

腫瘍測定の結果に基づいて相対腫瘍体積 (relative tumor volume、 RTV) を計算し、計算式は $RTV = V_t / V_0$ であり、ここで V_0 は群分け投与時 (即ち D_0) に測定された腫瘍体積であり、 V_t はマウスのある測定時に対応する腫瘍体積であり、 $TRTV$ 及び $CRTV$ は同じ日のデータを取った。

$TGI(\%)$ は、腫瘍増殖阻害率を反映した。 $TGI(\%) = [(1 - (ある処置群の投与終了時の平均腫瘍体積 - 当該処置群の投与開始時の平均腫瘍体積) / (溶媒対照群の治療終了時の平均腫瘍体積 - 溶媒対照群の治療開始時の平均腫瘍体積))] \times 100\%$ 。

実験終了後に腫瘍重量を測定し、 $T/C(\%)$ を計算し、 T 及び C はそれぞれ投与群及び溶媒対照群の腫瘍重量を表す。

実験結果: 表 7 及び図 3、4 参照。

【表 7】

Ba/F3 (EGFR-D770__N771insSVD) 皮下同種移植腫瘍モデルに対する化合物の腫瘍阻害効果

群別	腫瘍体積 (mm ³) ^a (0 日目)	腫瘍体積 (mm ³) ^a (14 日目)	RTV	TGI (%)	T/C (%)
ブランク	133.5 ± 7.6	1734.7 ± 281.7	13.0	—	—
化合物 1	133.2 ± 8.2	259.1 ± 35.2	1.9	92.1	14.9

注: a. 平均値 ± 標準誤差、n = 6。

実験結論:

図 3、4 及び表 7 の腫瘍体積データから明らかなように、Ba/F3 (EGFR-D770__N771insSVD) 皮下同種移植腫瘍のインビボ薬効モデルにおいて、本発明に係る化合物は腫瘍増殖に対して顕著な阻害作用を有する。

【0209】

実験例 7: HuPrime (登録商標) 肺がん LU0387 皮下異種移植 BALB/C 雌性ヌードマウスモデルにおける化合物の増殖阻害作用

実験目的:

HuPrime (登録商標) 肺がん LU0387 皮下異種移植 BALB/c ヌードマウス動物モデルにおける試験薬物の抗腫瘍作用を評価した。

実験材料:

BALB/c Nude マウス、雌性、7 ~ 8 週齢、HuPrime (登録商標) 肺がん異種移植モデル LU0387 腫瘍担持マウス腫瘍組織

実験方法:

BALB/c ヌードマウスに HuPrime (登録商標) モデル LU0387 腫瘍塊を皮下接種し、ヒト肺がん皮下移植腫瘍モデルを構築した。試験は溶媒対照群、試験薬群に分けた。胃内投与し、1 日 1 回、21 日間連続投与した。相対腫瘍阻害率 (TGI) に基づいて治療効果評価を行い、動物の体重変化及び死亡状況に基づいて安全性評価を行った。

腫瘍測定及び実験指標

腫瘍直径をノギスで週 2 回測定した。腫瘍体積の計算式は、 $V = 0.5 a \times b^2$ であり、 a 及び b はそれぞれ腫瘍の長径及び短径を表す。

化合物の腫瘍阻害効果を $TGI(\%)$ 又は相対腫瘍増殖率 $T/C(\%)$ で評価した。

相対腫瘍増殖率 $T/C(\%) = TRTV / CRTV \times 100\%$ (RTV : 治療群平均 RTV 、 $CRTV$: 溶媒対照群平均 RTV)。

腫瘍測定の結果に基づいて相対腫瘍体積 ($relative\ tumor\ volume$ 、 RTV) を計算し、計算式は $RTV = V_t / V_0$ であり、ここで V_0 は群分け投与時 (即ち D_0) に測定された腫瘍体積であり、 V_t はマウスのある測定時に対応する腫瘍体積であり、 $TRTV$ 及び $CRTV$ は同じ日のデータを取った。

$TGI(\%)$ は、腫瘍増殖阻害率を反映した。 $TGI(\%) = [(1 - (\text{ある処置群の投与終了時の平均腫瘍体積} - \text{当該処置群の投与開始時の平均腫瘍体積})) / (\text{溶媒対照群の治療終了時の平均腫瘍体積} - \text{溶媒対照群の治療開始時の平均腫瘍体積})] \times 100\%$ 。

実験終了後に腫瘍重量を測定し、 $T/C(\%)$ を計算し、 T 及び C はそれぞれ投与群及び溶媒対照群の腫瘍重量を表す。

実験結果: 表 8 及び図 5、6 参照。

実験結論:

図 5、6 及び表 8 の腫瘍体積データから明らかなように、HuPrime (登録商標) 肺がん LU0387 皮下異種移植 BALB/c ノードマウス動物モデルにおいて、本発明に係る化合物は腫瘍成長に対して顕著な阻害作用を有し、 $TGI = 114\%$ であり、腫瘍縮小効果を達成した。

【表 8】

HuPrime (登録商標) 肺がん LU0387 モデルの腫瘍阻害効果

群別	腫瘍体積 (mm^3) ^a (0 日目)	腫瘍体積 (mm^3) ^a (20 日目)	RTV	TGI (%)	T/C (%)
ブランク	120.20 ± 4.06	883.6 ± 175.2	7.38 ± 1.51	—	—
化合物 1	122.13 ± 3.12	16.97 ± 10.54	0.14 ± 0.08	114	2

注: a. 平均値 ± 標準誤差、 $n = 6$ 。

【0210】

実験例 8: マウス、ラット、ビーグル犬の単回静脈投与と経口投与の薬物動態研究

実験目的:

本実験は被験化合物の単回静脈及び単回経口投与後、異なる種の体内における化合物の薬物動態 (PK) 状況を研究することを目的とする。

サンプル収集及び製造:

静脈注射又は経口投与後、動物の血液サンプルを採取し、実際の採血時間を記録した。血液サンプルを採取した後、直ちにラベルを貼付した K2-EDTA 入り遠心分離管に移し、その後遠心処理して血漿を採取した。血漿を予め冷却した遠心分離管に移し、ドライアイス中で急速凍結し、LC-MS/MS 分析を行うまで、 $-70 \pm 10^\circ C$ 超低温冷蔵庫に保存した。

薬物動態データの分析:

薬物動態ソフトウェアを用いて、非コンパートメントモデルで化合物の血漿薬物濃度データを処理した。ピーク到達濃度 (C_{max}) 及びピーク到達時間 (T_{max}) ならびに最終定量可能時点は、血中濃度 - タイムチャートから直接得られた。以下の薬物動態パラメータ: 半減期 ($T_{1/2}$)、見掛け分布容積 (V_{dss}) 及びクリアランス (Cl)、0 時間から無限大時間までの時間 - 血漿濃度曲線下面積 (AUC_{0-last})、初期濃度 (C_0) を、対数線形台形法を用いて計算した。

実験結果：表 9 - 1、表 9 - 2、表 9 - 3 参照

【表 9 - 1】

マウスに異なる投与量を単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

投与方式	マウス PK パラメータ	化合物 1
静脈内注射	投与量 (mg/kg/日)	2
	クリアランス (mL/kg/分)	57.7
	見掛け分布容積 (L/kg)	6.95
	暴露量 AUC (nmol·h/L)	884
	半減期 ($T_{1/2}$) (h)	1.76
経口	投与量 (mg/kg/日)	10
	最大血中濃度 (nmol)	300
	ピーク到達時間 (h)	2.00
	暴露量 AUC _{0-last} (nmol·h/L) :	1421
	経口バイオアベイラビリティ (%)	22.1

10

20

【表 9 - 2】

ラットに異なる投与量を単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

投与方式	ラット PK パラメータ	化合物 1			
静脈内注射	投与量 (mg/kg/日)	2			
	クリアランス (mL/kg/分)	90.5			
	見掛け分布容積 (L/kg)	18.0			
	暴露量 AUC (nmol·h/L)	548			
	半減期 ($T_{1/2}$) (h)	2.62			
経口	投与量 (mg/kg/日)	10	20	50	200
	暴露量 AUC _{0-last} (nmol·h/L)	593	3132	9394	18913
	経口バイオアベイラビリティ (%)	21.6	57.1	68.6	34.5

30

40

【表 9 - 3】

ビーグル犬に異なる投与量を単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

投与方式	ビーグル犬PKパラメータ	化合物 1	
静脈内注射	投与量 (mg/kg/日)	2	
	クリアランス (mL/kg/分)	12.7	
	見掛け分布容積 (L/kg)	7.98	
	暴露量AUC (nmol·h/L)	3854	
	半減期 ($T_{1/2}$) (h)	8.79	
経口	投与量 (mg/kg/日)	10	50
	暴露量AUC _{0-last} (nmol·h/L)	10307	35292
	経口バイオアベイラビリティ (%)	53.5	36.6

実験結論：

本発明に係る化合物は、マウス、ラット及び犬において経口吸収が比較的良く、暴露量が高く、バイオアベイラビリティに優れ、PK性質に優れている。

10

20

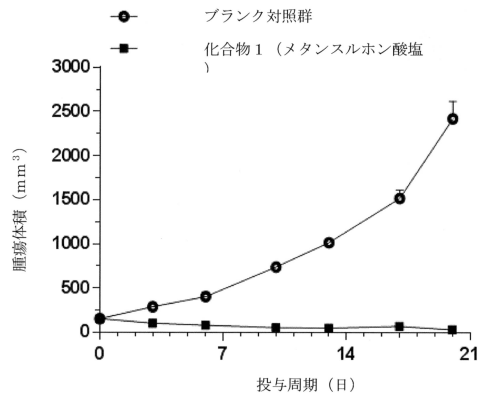
30

40

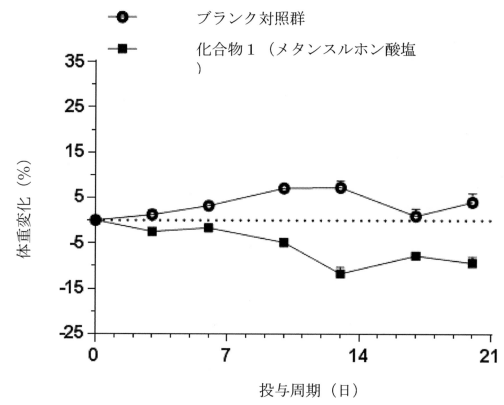
50

【図面】

【図 1】

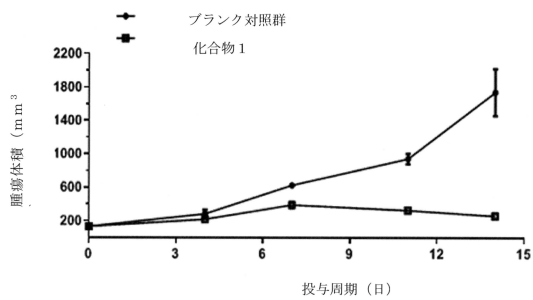


【図 2】

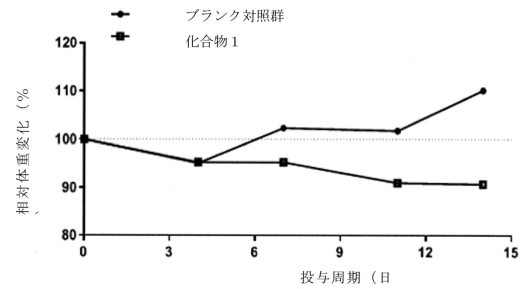


10

【図 3】



【図 4】



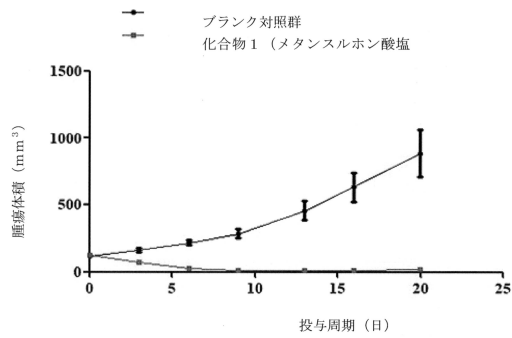
20

30

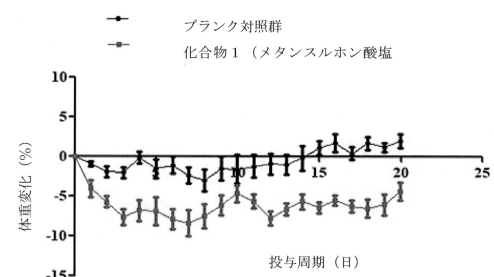
40

50

【 図 5 】



【 図 6 】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (72)発明者 丁 照中
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- (72)発明者 ▲張▼ 路
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- (72)発明者 ▲劉▼ 希 ▲樂▼
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- (72)発明者 胡 利 ▲紅▼
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- (72)発明者 江 文
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- (72)発明者 黎 健
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- (72)発明者 ▲陳▼ 曙 ▲輝▼
中華人民共和国 2 0 0 1 3 1 上 ▲海▼市浦 ▲東▼新区富特中路 2 8 8 号
- 審査官 三上 晶子
- (56)参考文献 特表 2 0 1 9 - 5 0 1 2 2 2 (J P , A)
特表 2 0 1 7 - 5 2 1 3 9 4 (J P , A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
C 0 7 D
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)