

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3984319号

(P3984319)

(45) 発行日 平成19年10月3日(2007.10.3)

(24) 登録日 平成19年7月13日(2007.7.13)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 239/94 (2006.01)

C O 7 D 239/94

A 6 1 K 31/505 (2006.01)

A 6 1 K 31/505

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 22 (全 36 頁)

(21) 出願番号 特願平9-21384  
 (22) 出願日 平成9年2月4日(1997.2.4)  
 (65) 公開番号 特開平9-221478  
 (43) 公開日 平成9年8月26日(1997.8.26)  
 審査請求日 平成16年1月20日(2004.1.20)  
 (31) 優先権主張番号 60/011128  
 (32) 優先日 平成8年2月5日(1996.2.5)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 591000791  
 ワイス・ホールディングズ・コーポレイ  
 ション  
 Wyeth Holdings Corp  
 oration  
 アメリカ合衆国ニュージャージー州079  
 40-0874 マディソン・ファイブジ  
 ラルダフアームス(番地なし)

(74) 代理人 100062144

弁理士 青山 稔

(74) 代理人 100081422

弁理士 田中 光雄

(72) 発明者 アラン・ウィスナー

アメリカ合衆国10502ニューヨーク州  
アーズレー、ウッド・アベニュー31番

最終頁に続く

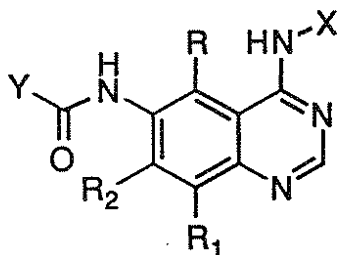
(54) 【発明の名称】 置換キナゾリン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式：

【化1】



1

〔式中、Xは、ハロゲン、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、カルボキシ、炭素数2～7のカルボアルコキシ、炭素数2～7のカルボアルキル、アミノ、および炭素数1～6のアルカノイルアミノからなる群から選択される1種またはそれ以上の置換基で置換されていてもよいフェニル；

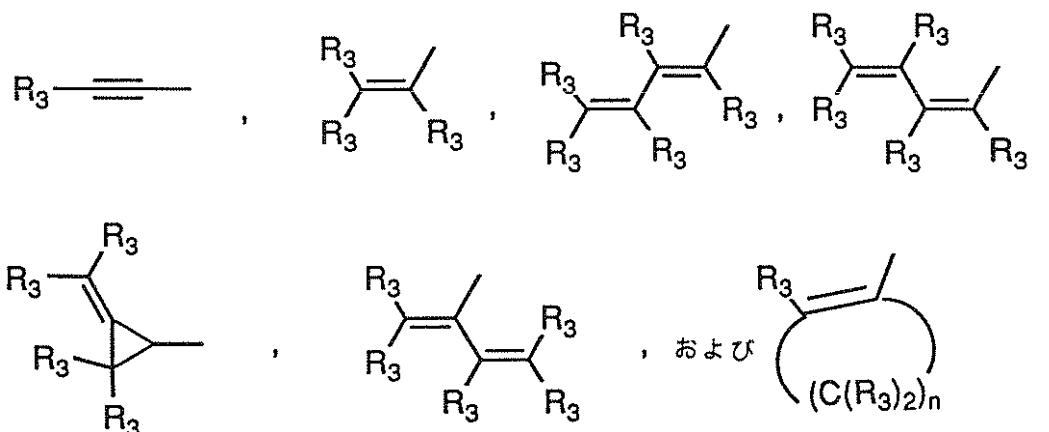
RおよびR<sub>1</sub>は、各々独立して、水素、ハロゲン、炭素数1～6のアルキル、炭素数1

～ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

$R_2$  は、水素、炭素数 1 ～ 6 のアルキル、炭素数 1 ～ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

Y は、

【化 2】



10

からなる群から選択される基；

各  $R_3$  は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数 1 ～ 6 のアルキル、カルボキシ、炭素数 1 ～ 6 のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数 2 ～ 7 のカルボアルキル；および

$n = 2 \sim 4$  ]

で示される化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 2】

$R$ 、 $R_1$ 、および  $R_2$  が水素である請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 3】

X が無置換あるいはハロゲンまたは炭素数 1 ～ 6 のアルキルで置換されている請求項 2 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

30

【請求項 4】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - ブチンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 5】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - メチル - 2 - プロペンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 6】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2, 4 - ヘキサジエンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 7】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - ( E ) - 2 - ブテンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

40

【請求項 8】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 3 - メチル - 2 - ブテンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 9】

4 - [ [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( Z ) - 2 - ブテン酸である請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 10】

50

4 - [ [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキシ - ( E ) - 2 - ブテン酸である請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 1 1】

4 - [ [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキシ - ( E ) - 2 - ブテン酸エチルエステルである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 1 2】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - シクロペンテンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

10

【請求項 1 3】

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - プロペンアミドである請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 1 4】

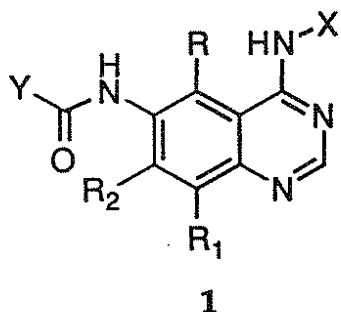
N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - ( 3 - フェニル - 2 - プロピンアミド ) である請求項 1 記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項 1 5】

哺乳動物における脱調節タンパクチロシンキナーゼの生物学的効果を阻害するための医薬組成物であって、式：

【化 3】

20



30

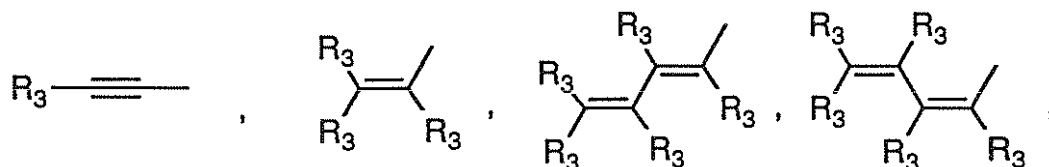
【式中、Xは、1個のハロゲンにより置換されているフェニル；

RおよびR<sub>1</sub>は、水素；

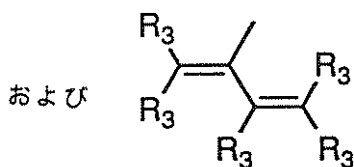
R<sub>2</sub>は、水素、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

Yは、

【化 4】



40



からなる群から選択される基；

50

各  $R_3$  は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、カルボキシ、炭素数 1 ~ 6 のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数 2 ~ 7 のカルボアルキルである]

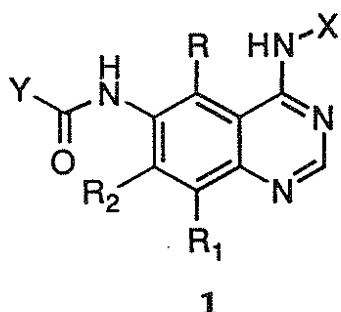
で示される化合物またはその医薬上許容される塩からなることを特徴とする医薬組成物。

【請求項 16】

哺乳動物における新生物を治療、その増殖を阻害、または根絶するための医薬組成物であって、

式：

【化 5】



10

[ 式中、X は、1 個のハロゲンにより置換されているフェニル；

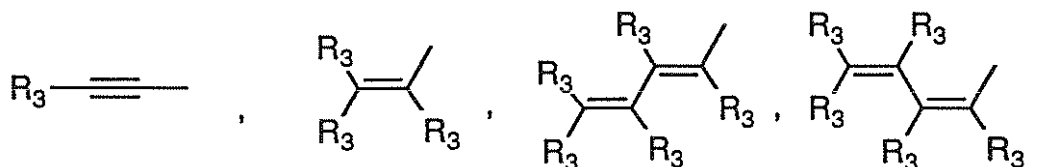
20

R および  $R_1$  は、水素；

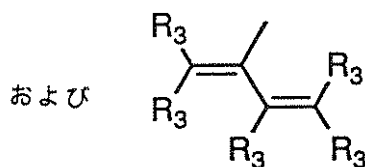
$R_2$  は、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

Y は、

【化 6】



30



からなる群から選択される基；

各  $R_3$  は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、カルボキシ、炭素数 1 ~ 6 のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数 2 ~ 7 のカルボアルキルである]

40

で示される化合物またはその医薬上許容される塩からなることを特徴とする医薬組成物。

【請求項 17】

新生物が EGFR を発現する請求項 16 記載の医薬組成物。

【請求項 18】

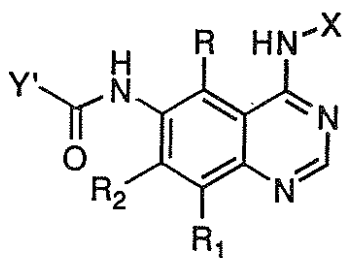
新生物が、乳房、腎臓、膀胱、口腔、喉頭、食道、胃、結腸、卵巣、および肺の新生物からなる群から選択される請求項 16 記載の医薬組成物。

【請求項 19】

式：

50

## 【化7】



10

[式中、Xは、ハロゲン、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、カルボキシ、炭素数2～7のカルボアルコキシ、炭素数2～7のカルボアルキル、アミノ、および炭素数1～6のアルカノイルアミノからなる群から選択される1種またはそれ以上の置換基で置換されていてよいフェニル；

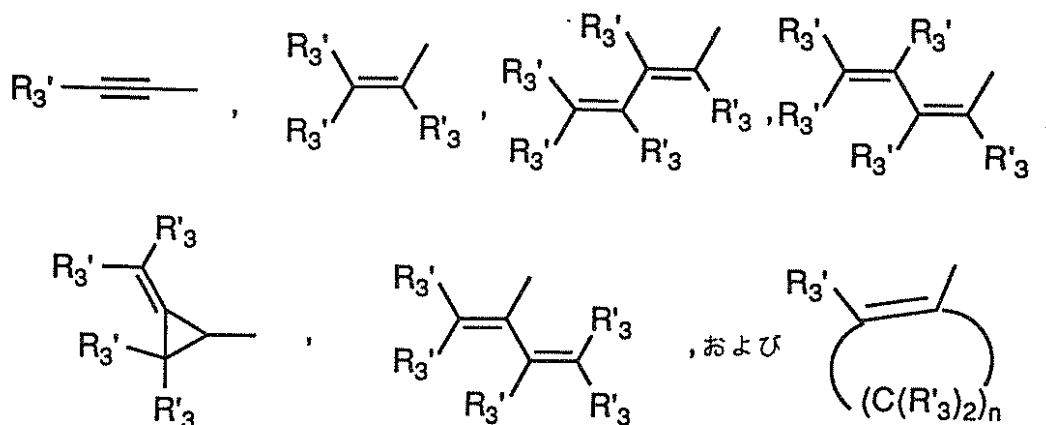
RおよびR<sub>1</sub>は、各々独立して、水素、ハロゲン、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

R<sub>2</sub>は、水素、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

Y'は、

20

## 【化8】



30

からなる群から選択される基；

各R<sub>3</sub>'は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数1～6のアルキル、カルボキシ、炭素数1～6のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数2～7のカルボアルキル；および

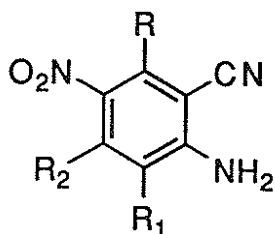
n = 2～4]

で示される化合物またはその医薬上許容される塩を製造する方法であって、

40

式：

## 【化9】

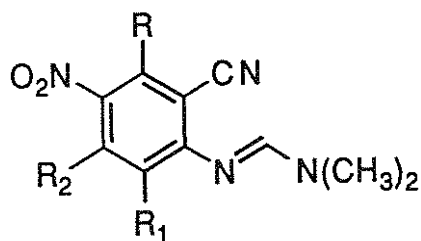


50

[ 式中、R、R<sub>1</sub>、およびR<sub>2</sub> は上記と同意義 ]

で示されるアントラニロニトリルを、必要に応じて溶媒を用いて、ジメチルホルムアミド  
ジメチルアセタールで処理し、式：

【化10】



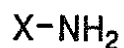
10

[ 式中、R、R<sub>1</sub>、およびR<sub>2</sub> は上記と同意義 ]

で示される化合物を得て、

該化合物を、酸性有機溶媒中で、式：

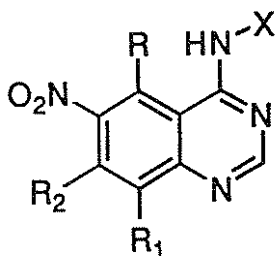
【化11】



[ 式中、X は上記と同意義 ]

で示されるアニリンと共に加熱し、式：

【化12】



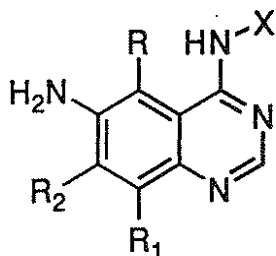
20

[ 式中、X、R、R<sub>1</sub>、およびR<sub>2</sub> は上記と同意義 ]

で示される6-ニトロ-キナゾリンを得て、

該化合物を還元剤で処理し、式：

【化13】



30

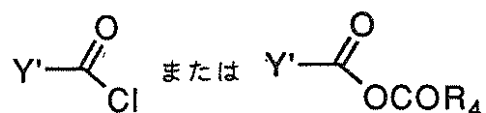
[ 式中、X、R、R<sub>1</sub>、およびR<sub>2</sub> は上記と同意義 ]

で示される6-アミノ-キナゾリンを得て、そして

該化合物を式：

40

## 【化 1 4】



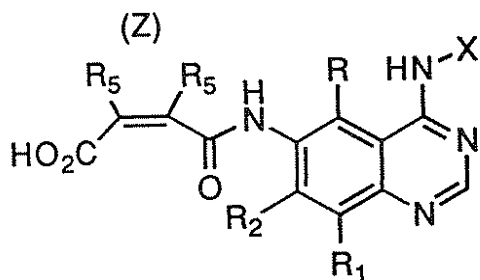
[ 式中、 $R_4$  は炭素数 1 ~ 6 のアルキルおよび  $Y'$  は上記と同意義 ]  
 で示される酸塩化物または混合無水物と反応させることを特徴とする製造方法。

## 【請求項 2 0】

10

式：

## 【化 1 5】



20

[ 式中、 $X$  は、ハロゲン、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、カルボキシ、炭素数 2 ~ 7 のカルボアルコキシ、炭素数 2 ~ 7 のカルボアルキル、アミノ、および炭素数 1 ~ 6 のアルカノイルアミノからなる群から選択される 1 種またはそれ以上の置換基で置換されていてもよいフェニル；

$R$  および  $R_1$  は、各々独立して、水素、ハロゲン、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

$R_2$  は、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

30

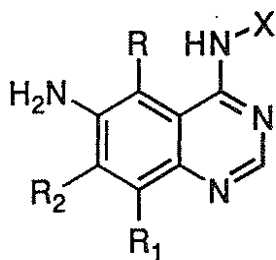
各  $R_5$  は、独立して、水素、フェニル、または炭素数 1 ~ 6 のアルキル；および

(Z) は二重結合の立体配置を表す ]

で示される化合物またはその医薬上許容される塩を製造する方法であって、

式：

## 【化 1 6】

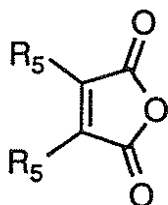


40

[ 式中、 $X$ 、 $R$ 、 $R_1$ 、および  $R_2$  は上記と同意義 ]

で示される化合物を、有機塩基の存在下、不活性溶媒中で、式：

【化17】

【式中、各 R<sub>5</sub> は上記と同意義】

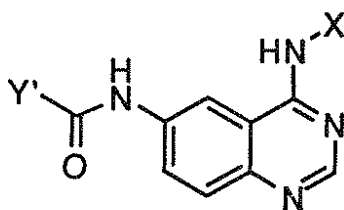
で示される環状無水物と反応させることを特徴とする製造方法。

10

【請求項21】

式：

【化18】

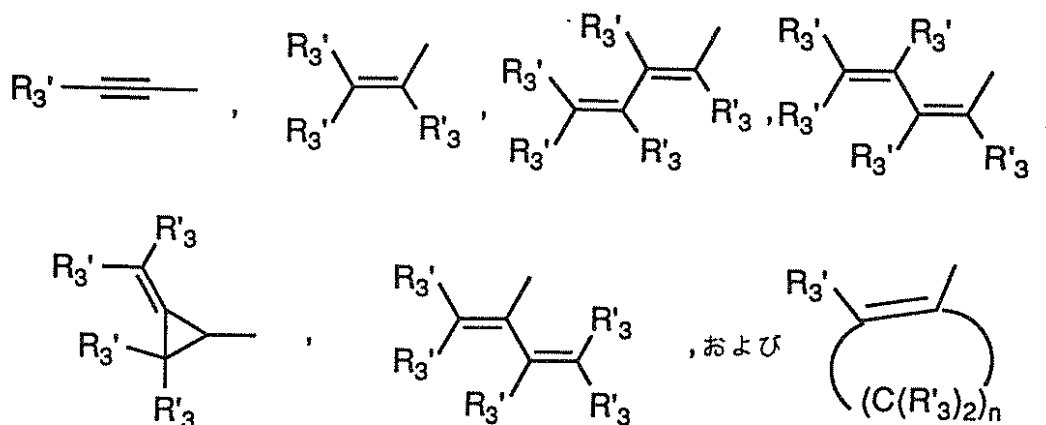


20

【式中、Xは、ハロゲン、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、カルボキシ、炭素数2～7のカルボアルコキシ、炭素数2～7のカルボアルキル、アミノ、および炭素数1～6のアルカノイルアミノからなる群から選択される1種またはそれ以上の置換基で置換されていてよいフェニル；および

Y'は、

【化19】



30

40

からなる群から選択される基；

各 R<sub>3</sub>'は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数1～6のアルキル、カルボキシ、炭素数1～6のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数2～7のカルボアルキル；および

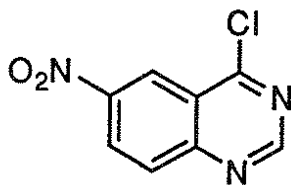
n = 2～4】

で示される化合物およびその医薬上許容される塩を製造する方法であって、

式：



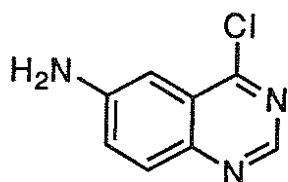
【化 2 0】



で示される化合物を、不活性有機溶媒および水からなる溶媒混合物中、亜二チオン酸ナトリウムおよび相間移動触媒で還元し、式：

10

【化 2 1】

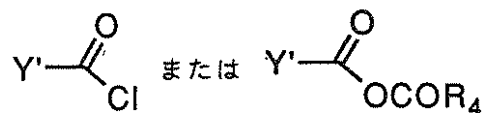


で示される化合物を得て、

該化合物を、不活性溶媒中、アミン塩基の存在下で、式：

20

【化 2 2】

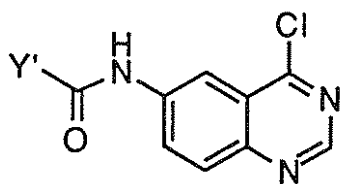


[ 式中、 $R_4$  は炭素数 1 ~ 6 のアルキルおよび  $Y'$  は上記と同意義 ]

で示される酸塩化物または混合無水物と反応させ、式：

【化 2 3】

30



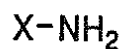
[ 式中、 $Y'$  は上記と同意義 ]

で示される化合物を得て、そして

該化合物を、式：

40

【化 2 4】



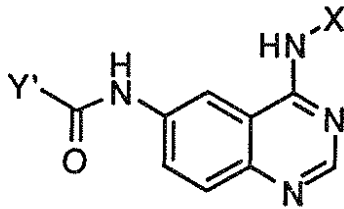
[ 式中、 $X$  は上記と同意義 ]

で示されるアニリンと共に加熱することを特徴とする製造方法。

【請求項 2 2】

式：

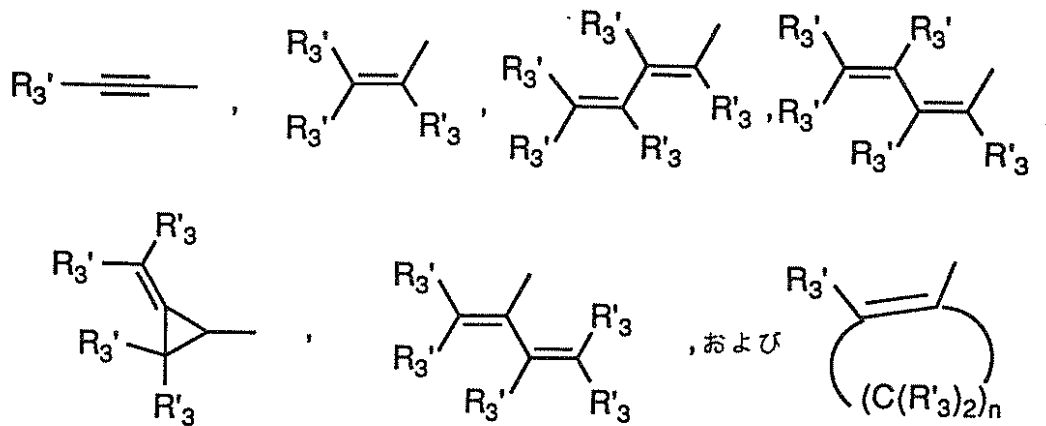
## 【化 2 5】



[式中、Xは、ハロゲン、炭素数1～6のアルキル、炭素数1～6のアルコキシ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、カルボキシ、炭素数2～7のカルボアルコキシ、炭素数2～7のカルボアルキル、アミノ、および炭素数1～6のアルカノイルアミノからなる群から選択される1種またはそれ以上の置換基で置換されていてもよいフェニル；および

Y'は、

## 【化 2 6】



からなる群から選択される基；

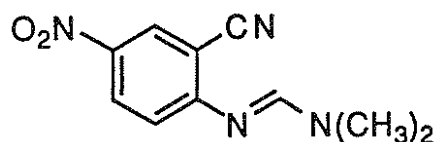
各R<sub>3</sub>'は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数1～6のアルキル、カルボキシ、炭素数1～6のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数2～7のカルボアルキル；および

n = 2～4]

で示される化合物またはその医薬上許容される塩を製造する方法であって、

式：

## 【化 2 7】



で示される化合物を、不活性溶媒中で、パラジウム触媒および水素源で還元し、式：

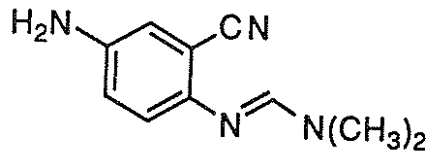
10

20

30

40

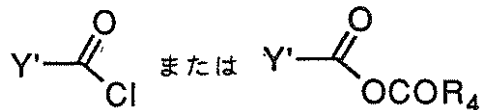
【化 2 8】



で示される化合物を得て、

該化合物を、不活性溶媒中、アミン塩基の存在下で、式：

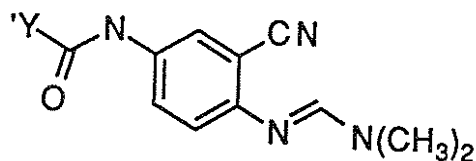
【化 2 9】



[ 式中、 $R_4$  は炭素数 1 ~ 6 のアルキルおよび  $Y'$  は上記と同意義 ]

で示される酸塩化物または混合無水物と反応させ、式：

【化 3 0】



[ 式中、 $Y'$  は上記と同意義 ]

で示される化合物を得て、そして

該化合物を、式：

【化 3 1】



[ 式中、 $X$  は上記と同意義 ]

で示されるアニリンと共に加熱することを特徴とする製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ある種のキナゾリン化合物およびその医薬上許容される塩に関する。本発明の化合物は、ある種の増殖因子受容体タンパクチロシンキナーゼ (PTK) の作用を阻害し、それによって、ある種の細胞型の異常な増殖を阻害する。本発明の化合物は、それゆえ、抗癌薬であって、哺乳動物における癌の治療に有用である。さらに、本発明は、かかるキナゾリン類の製造、それらの癌治療への使用、およびそれらを含む医薬製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

タンパクチロシンキナーゼは、ATP からタンパク質上にあるチロシン残基へのリン酸基の転移を触媒する酵素の種類である。タンパクチロシンキナーゼは、明らかに、正常

10

20

30

40

50

な細胞増殖において、ある役割を果たしている。増殖因子受容体タンパクの多くはチロシンキナーゼとして機能し、それらがシグナルを発するのは、この過程による。これらの受容体と増殖因子の相互作用は、細胞増殖の正常な調節に必要な事象である。しかし、ある条件下では、変異または過剰発現の結果として、これらの受容体は脱調節 (deregulated) される。その結果、細胞増殖が無調節となり、腫瘍増殖をもたらし、やがて癌として知られる疾患に至る [ウィルクス, エイ・エフ (Wilks, A.F.)、アドバンシーズ・イン・キャンサー・リサーチ (Adv. Cancer Res.), 60, 43 (1993) およびパーソンズ, ジェイ・ティー (Parsons, J.T.) ; パーソンズ, エス・ジェイ (Parsons, S.J.)、インポートアント・アドヴァンシーズ・イン・オンコロジー (Important Advances in Oncology)、ド・ヴィタ, ヴィー・ティ (DeVita, V.T.) 編、ジェイ・ピー・リピンコット・カンパニー (J.B. Lippincott Co.)、フィラデルフィア、3 (1993) ]。同定されており、本発明の化合物の標的である増殖因子受容体キナーゼおよびそれらの初期腫瘍遺伝子の中には、表皮増殖因子受容体キナーゼ (EGF-Rキナーゼ、erbB腫瘍遺伝子のタンパク産物)、および erbB-2 (neuまたはHER2とも呼ばれる) 腫瘍遺伝子によって生産される産物が含まれる。リン酸化の事象は、細胞の分割が生じるのに必要なシグナルであるので、また、過剰発現または変異されたキナーゼが癌と関連しているため、この事象の阻害薬、すなわちタンパクチロシンキナーゼ阻害薬は、癌や、無調節または異常な細胞増殖によって特徴づけられる他の疾患の治療用として治療上の価値を有する。例えば、erbB-2腫瘍遺伝子の受容体キナーゼ産物の過剰発現は、ヒトの乳癌および卵巣癌に関連している [スラモン, ディー・ジェイ (Slamon, D.J.) ら、サイエンス (Science), 244, 707 (1989) およびサイエンス (Science), 235, 1146 (1987) ]。EGF-Rキナーゼの脱調節は、類表皮腫瘍 [レイス, エム (Reiss, M.) ら、キャンサー・リサーチ (Cancer Res.), 51, 6254 (1991) ]、乳腺腫瘍 [マシアス, エイ (Macias, A.) ら、アンチキャンサー・リサーチ (Anticancer Res.), 7, 459 (1987) ]、および他の主要な臓器における腫瘍 [グリック, ダブリュー・ジェイ (Gullick, W.J.)、ブリティッシュ・メディカル・ブリティン (Brit. Med. Bull.), 47, 87 (1991) ] と関連している。癌の発病において脱調節受容体キナーゼが重要な役割を果たすので、多くの最近の研究は、特定のPTK阻害薬を可能性のある抗癌性治療薬として開発することを取り扱っている [いくつかの最近の総説: ブルケ, ティー・アール (Burke, T.R.)、ドラッグズ・フューチャー (Drugs Future), 17, 119 (1992) およびチャン, シー・ジェイ (Chang, C.J.) ; ゲーレン, アール・エル (Geahlen, R.L.)、ジャーナル・オブ・ナチュラル・プロダクツ (J. Nat. Prod.), 55, 1529 (1992) ]。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、ある種の細胞型の異常な増殖を阻害することができる新規な化合物およびそれを用いた医薬組成物を提供することにある。

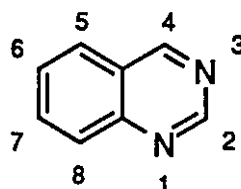
【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明の化合物は、ある種の4-アニリノキナゾリン類である。この特許出願を通じて、キナゾリン環系は次式に示すように番号づけられる。

【0005】

【化32】



10

20

30

40

50

## 【0006】

本発明の化合物と比較して、5～8位の置換基の性質および配置がいずれも異なる他の4-アニリノキナゾリン類は、PTK阻害活性を有することが注目されている。欧州特許出願公開第520,722 A1号から、5～8位に水素、クロロ、トリフルオロメチル、またはニトロ置換基を含有するある種の4-アニリノキナゾリン類は公知である。上記出願の化合物は、いずれも本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせを有しない。さらに、抗癌用途が上記欧州特許出願の化合物についてクレームされているが、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。欧州特許出願公開第566,226 A1号から、所望により5～8位に様々な置換基を含有するある種の4-アニリノキナゾリン類は公知である。上記出願の化合物は、いずれも本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせを有しない。さらに、抗癌用途が上記欧州特許出願の化合物についてクレームされているが、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。上記欧州特許出願に記載されている唯一のインビボ活性は、TGF- $\beta$ に刺激されたラット肝細胞の増殖の阻害である。欧州特許出願公開第635,498 A1号から、所望により6位には様々な置換基を含有するのに対し、7位にはハロゲンをも有しなければならないある種の4-アニリノキナゾリン類は公知である。上記出願の化合物は、いずれも本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせを有しない。さらに、抗癌用途が上記欧州特許出願の化合物についてクレームされているが、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。上記欧州特許出願に記載されている唯一のインビボ活性は、TGF- $\beta$ に刺激されたラット肝細胞の増殖の阻害である。さらに、4-アニリノ基を有しないある種のキナゾリン阻害薬は公知である。欧州特許出願公開第602,851 A1号から、4位にアニリノ基を有しないが、所望により5～8位に様々な置換基を有するある種のキナゾリン類は公知である。上記出願の化合物は、いずれも本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせを有しない。さらに、抗癌用途が上記欧州特許出願の化合物についてクレームされているが、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。上記欧州特許出願に記載されている唯一のインビボ活性は、TGF- $\beta$ に刺激されたラット肝細胞の増殖の阻害である。国際特許出願公開第W0 95/19774号から、本発明の4-アニリノキナゾール類に類似したピリミジン環を有するPTKの阻害薬であるある種のヘテロ環式化合物は公知である。上記出願は、4-アニリノキナゾリン類についても、本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせについても言及していない。さらに、抗癌用途が上記出願の化合物についてクレームされているが、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。国際特許出願公開第W0 95/157581号から、所望により5～7位に様々な置換基を含有するある種のキナゾリン類は公知である。上記出願の化合物は、いずれも本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせを有しない。さらに、抗癌用途が上記出願の化合物についてクレームされているが、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。

## 【0007】

上記の特許出願に加えて、数多くの刊行物が4-アニリノキナゾリン類について記載している：フライ、ディー・ダブリュー (Fry, D.W.) ら、サイエンス (Science), 265, 1093 (1994)、リュウキャスル、ジー・ダブリュー (Rewcastle, G.W.) ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (J. Med. Chem.), 38, 3482 (1995)、およびブリッジズ、エイ・ジェイ (Bridges, A.J.) ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (J. Med. Chem.), 39, 267 (1996)。これらの刊行物に記載されている化合物は、いずれも本発明の化合物に含有される置換基の独特の組み合わせを有しない。さらに、これらの報告には、インビボでの抗癌効果が示されていないことに注目すべきである。

## 【0008】

PTKは、ATP分子からタンパク質上にあるチロシン残基へのリン酸基の転移を触媒する。当該分野で従来公知の阻害薬は、通常、ATP、またはキナーゼのタンパク質のいずれかと拮抗する。これらの阻害薬、いわゆる混合拮抗阻害薬の中には、ATPおよび基質の両方と同時に拮抗することができるものが存在する。かかる拮抗阻害薬は、すべて

10

20

30

40

50

可逆的な阻害薬として機能する。当該分野で公知の 4 - アニリノキナゾリン類は、A T P と拮抗する可逆的な阻害薬である [フライ, ディー・ダブリュー (Fry, D.W.) ら、サイエンス (Science), 265, 1093 (1994)]。細胞における A T P の濃度は、通常、非常に高い (ミリモル) ので、A T P と拮抗する化合物はインピボ活性を欠く場合がある。該化合物が A T P をその結合部位から置換するのに必要な細胞内濃度に達することができそうにないからである。以下で示すように、本発明のキナゾリン阻害薬は、これらの P T K を不可逆的に阻害する独特の能力を有し、それゆえ、A T P またはタンパク基質と拮抗しない。本発明の化合物は、上記酵素の活性部位にあるアミノ酸残基に対する共有結合を形成することができるという事実によって、不可逆的な阻害薬として機能することができる。以下で示すように、このことから、本発明の化合物の治療上の有用性が可逆型の阻害薬に比べて向上する。特に、上記酵素に対する阻害薬の非可逆的な結合をもたらすのが、本発明の化合物に含有される置換基の独特の性質および組み合わせであることが示される。本発明の化合物のこれら独特の性質は、それらが癌のインピボモデルにおけるヒト腫瘍の増殖を阻害する能力に寄与する。

10

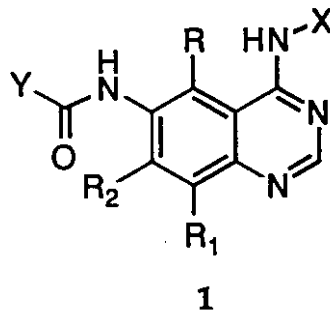
【 0 0 0 9 】

【 発明の実施の形態 】

本発明は、式 1 :

【 0 0 1 0 】

【 化 3 3 】



20

【 0 0 1 1 】

[ 式中、X は、所望により、ハロゲン、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、カルボキシ、炭素数 2 ~ 7 のカルボアルコキシ、炭素数 2 ~ 7 のカルボアルキル、アミノ、および炭素数 1 ~ 6 のアルカノイルアミノからなる群から選択される 1 種またはそれ以上の置換基で置換されていてもよいフェニル；

R および R<sub>1</sub> は、各々独立して、水素、ハロゲン、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

R<sub>2</sub> は、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、ヒドロキシ、またはトリフルオロメチル；

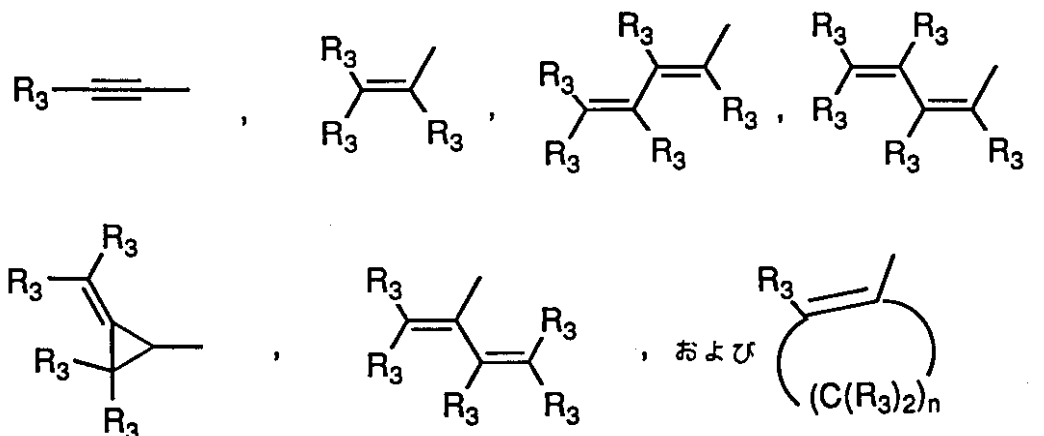
Y は、

【 0 0 1 2 】

【 化 3 4 】

30

40



10

## 【0013】

からなる群から選択される基；

各  $R_3$  は、同一または相異なり、独立して、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、カルボキシ、炭素数 1 ~ 6 のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数 2 ~ 7 のカルボアルキル；

および

$n = 2 \sim 4$  ]

で示される化合物またはその医薬上許容される塩を提供する。

## 【0014】

医薬上許容される塩は、酢酸、乳酸、クエン酸、酒石酸、コハク酸、マレイン酸、マロン酸、グルコン酸、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硝酸、硫酸、メタンスルホン酸、および同様に公知の許容される酸などの有機酸および無機酸から誘導されるものである。

## 【0015】

アルキル、アルコキシ、カルボアルコキシ、カルボアルキル、およびアルカノイルアミノ置換基のアルキル部分は、直鎖および分枝した炭素鎖のいずれをも含む。カルボキシは、 $-CO_2H$  基として定義される。炭素数 2 ~ 7 のカルボアルコキシは、 $-CO_2R''$  基として定義され、 $R''$  は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基である。カルボアルキルは、 $-COR''$  基として定義され、 $R''$  は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基である。X が置換されている場合、モノ置換、ジ置換、またはトリ置換が好ましく、モノ置換が最も好ましい。本発明の化合物が不斉中心を含有する場合、本発明は個々の R 型および S 型エナンチオマーだけでなく、かかる化合物に関するラセミ体をも包含する。

## 【0016】

本発明の化合物のうち、好ましいメンバーとしては、R、 $R_1$ 、および  $R_2$  が水素である化合物、ならびに、R、 $R_1$ 、および  $R_2$  が水素、X が無置換あるいはハロゲンまたは炭素数 1 ~ 6 のアルキルでモノ置換されている化合物である。

## 【0017】

式 9 で示される本発明の化合物の調製は、以下のフローチャート A で説明する。ここで、R、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、X、および n は上記と同意義、 $R_4$  は炭素数 1 ~ 6 のアルキル（好ましくは、イソブチル）である。Y' は、

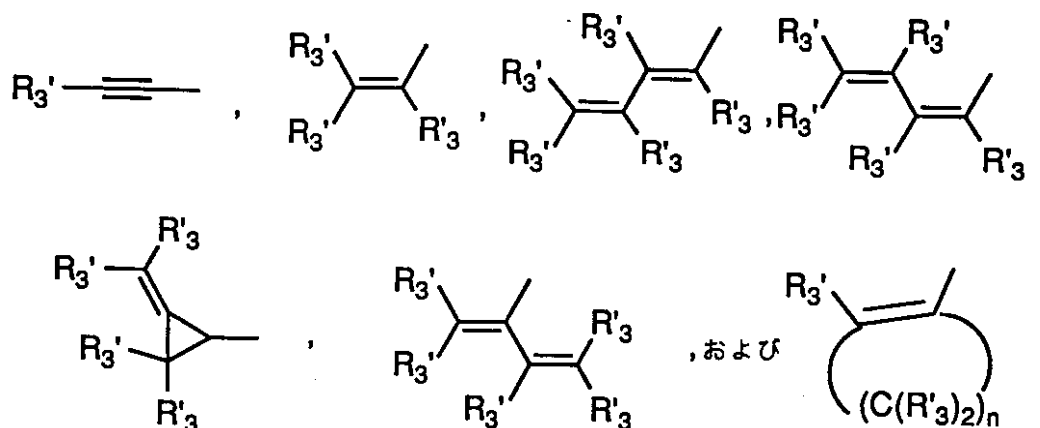
## 【0018】

## 【化 35】

20

30

40



10

## 【 0 0 1 9 】

[ 式中、各  $R'_3$  は、独立して、水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル、カルボキシ、炭素数 1 ~ 6 のカルボアルコキシ、フェニル、または炭素数 2 ~ 7 のカルボアルキル ]

からなる群から選択される基である。フローチャート A で概説した一連の反応に従って、式 2 で示される 5 - ニトロ - アントラニロニトリルを、必要に応じて過剰のジメチルホルムアミドジメチルアセタールを含有する溶媒を用いて、約 100 ° で加熱して、式 3 で示されるアミジンを得る。酢酸中におけるアミジン 3 およびアニリン 4 の溶液を 1 ~ 5 時間加熱することによって、式 5 で示される 6 - ニトロ - 4 - アニリノキナゾリンを得る。酢酸 - アルコール混合物中における鉄などの還元剤を用いて、化合物 5 のニトロ基を高温で還元することによって、式 6 で示される 6 - アミノ - 4 - アニリノキナゾリンを得る。化合物 6 を、ピリジンまたはトリエチルアミンなどの有機塩基の存在下、テトラヒドロフラン (THF) などの不活性溶媒中、式 7 で示される酸塩化物または式 8 で示される混合無水物 (対応するカルボン酸から調製される) でアシル化することによって、式 9 で示される本発明の化合物を得る。化合物 7 または 8 が不斉炭素原子を有する場合、それらはラセミ体として用いるか、あるいは、個々の R 型または S 型エナンチオマーとして用いることができる。この場合、本発明の化合物は、それぞれラセミ体または光学活性な R 体および S 体である。本発明の化合物を調製するのに必要な式 2 で示される 5 - ニトロ - アントラニロニトリルは、当該分野ですでに公知であるか、あるいは、以下の参考文献に詳述されているように、当該分野で公知の方法によって調製することができる。ボーデット (Baudet)、レクエイル・デス・トラバウクス・キミクエス・デス・ペイズ - パス (Recl. Trav. Chim. Pays-Bas), 43, 710 (1924); ハートマンズ (Hartmans)、レクエイル・デス・トラバウクス・キミクエス・デス・ペイズ - パス (Recl. Trav. Chim. Pays-Bas), 65, 468, 469 (1946); テイラー (Taylor) ら、ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティ (J. Amer. Chem. Soc.), 82, 6058, 6063 (1960); テイラー (Taylor) ら、ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティ (J. Amer. Chem. Soc.), 82, 3152, 3154 (1960); デspande (Deshpande); セシャデリ (Seshadri)、インディアン・ジャーナル・オブ・ケミストリー (Indian J. Chem.), 11, 538 (1973); カトリツキー、アラン・アール (Katritzky, Alan R.); ローレンツォ、カトリーン・エス (Laurenzo, Kathleen S.); ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー (J. Org. Chem.), 51 (1986); ニクラス、ハンス - ヨハヒム (Niclas, Hans-Joachim); ボーレ、マシアス (Bohle, Matthias); リック、イェンス - デトレブ (Rick, Jens-Detlev); ツォイナー、フランク (Zeuner, Frank); ツェルヒ、ロタール (Zoelch, Lothar); ツァイトシュリヒト・フュア・ヒェミー (Z. Chem.), 25(4), 137-138 (1985)。

20

30

40

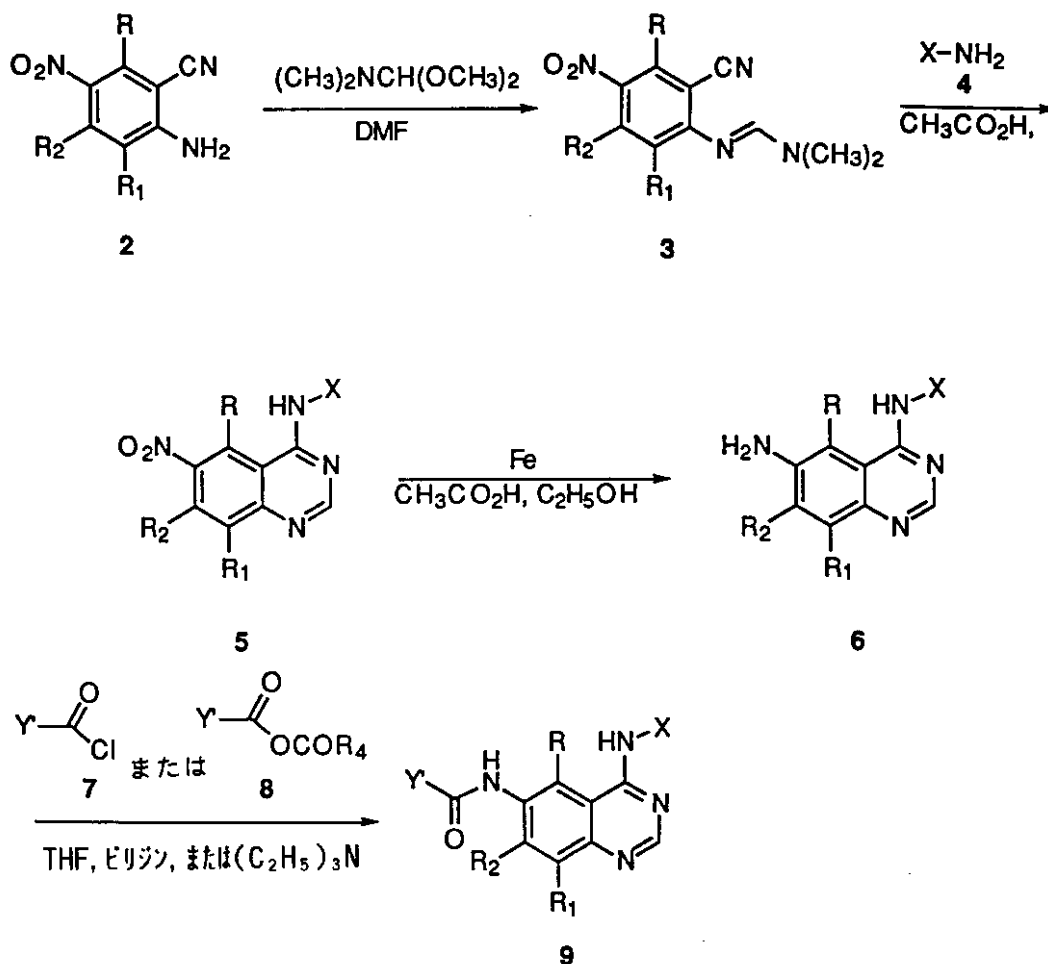
## 【 0 0 2 0 】

【 化 3 6 】

50



## フローチャート A



## 【 0 0 2 1 】

式 1 2 で示される本発明の化合物の調製は、以下のフローチャート B で説明する。ここで、R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、X、および n は上記と同意義である。各 R<sub>5</sub> は、独立して、水素、フェニル、または炭素数 1 ~ 6 のアルキルである。フローチャート b に概説した反応に従って、(フローチャート A のように調製した) 式 1 0 で示される 6 - アミノ - 4 - アニリノキナゾリンを、ピリジンまたはトリエチルアミンなどの塩基性触媒の存在下、テトラヒドロフランなどの不活性溶媒中、式 1 1 で示される環状無水物でアシル化する。

## 【 0 0 2 2 】

## 【 化 3 7 】

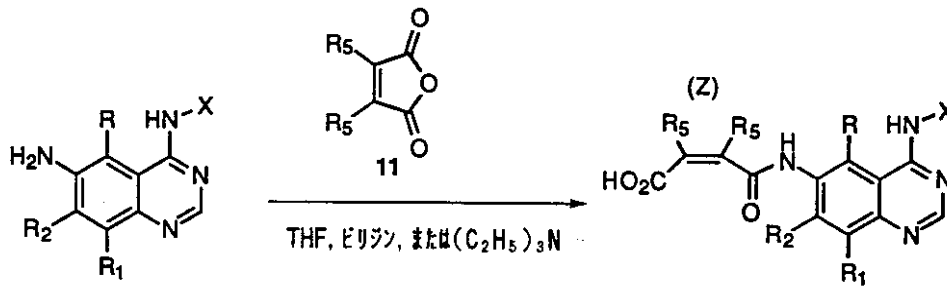
10

20

30

40

## フローチャート B



10

## 【0023】

本発明の代表的な化合物をいくつかの標準的な薬理的試験法で評価したところ、本発明の化合物はタンパクチロシンキナーゼの阻害薬として有意な活性を有し、抗増殖薬であることが示された。標準的な薬理的試験法で示される活性に基づいて、本発明の化合物は、それゆえ、抗新生物薬として有用である。用いた試験法および得られた結果を以下に示す。

20

## 【0024】

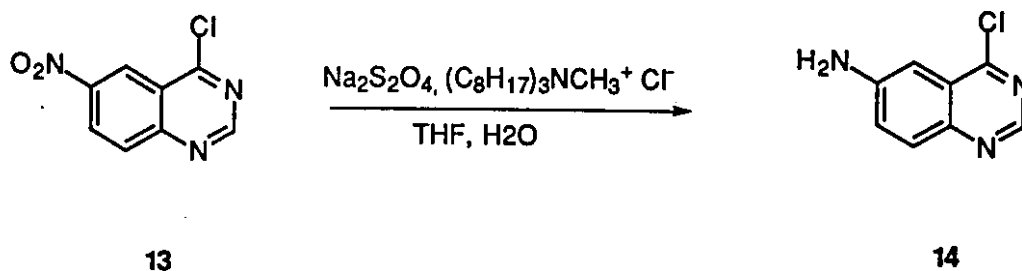
式19で示される本発明の化合物の調製は、以下のフローチャートCで説明する。ここで、 $Y'$ 、 $R_4$ 、および $X$ は上記と同意義である。フローチャートCに概説した反応に従って、4-クロロ-6-ニトロキナゾリン13 (モルリー、ジェイ・エス (Morley, J.S.) およびシンプソン (Simpson)、ジャーナル・オブ・ケミカル・ソサイエティ (J. Chem. Soc.), 360 (1948)) を、少量の相間移動触媒の存在下、テトラヒドロフランおよび水からなる二相系における亜二チオン酸ナトリウムなどの還元剤を用いて、6-アミノ-4-クロロキナゾリン14に還元する。化合物14を、ピリジンまたは $N$ -メチルモルホリンなどの有機塩基の存在下、テトラヒドロフラン (THF) などの不活性溶媒中、式15で示される酸塩化物または式16で示される混合無水物 (対応するカルボン酸から調製される) を用いて、アシル化することによって、式17で示される化合物を得る。化合物15または16が不斉炭素原子を有する場合、それらはラセミ体として用いるか、あるいは、個々の $R$ 型または $S$ 型エナンチオマーとして用いることができる。この場合、本発明の化合物は、それぞれラセミ体または光学活性な $R$ 体および $S$ 体である。式17で示される化合物を、イソプロパノールなどの不活性溶媒中で、式18で示されるアニリンと共に加熱することによって、式19で示される本発明の化合物を得る。

30

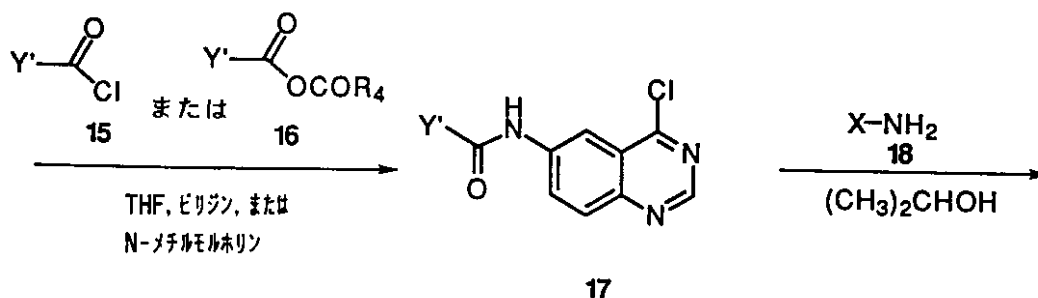
## 【0025】

## 【化38】

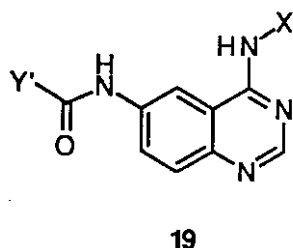
## フローチャート C



10



20



30

## 【 0 0 2 6 】

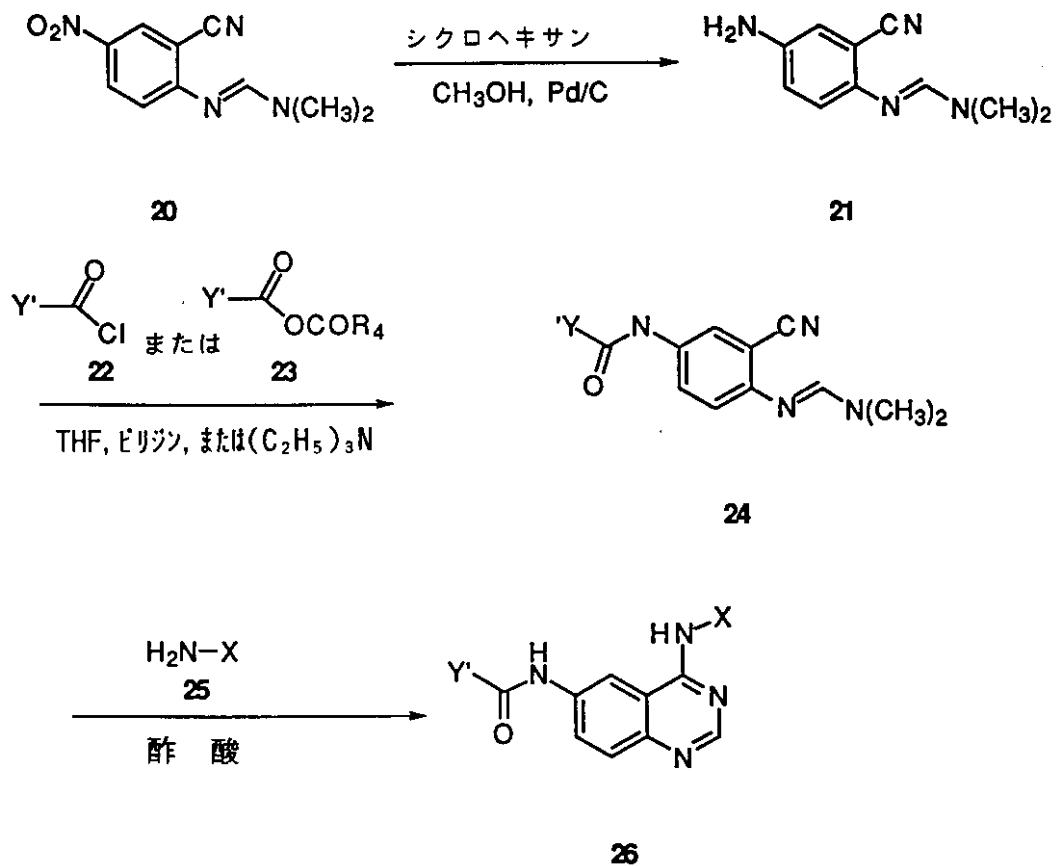
式 26 で示される本発明の化合物の調製は、以下のフローチャート D で説明する。ここで、Y'、R<sub>4</sub>、および X は上記と同意義である。フローチャート D に概説した反応に従って、化合物 20 (フローチャート A のように調製した) のニトロ基を、パラジウム触媒および水素源 (水素自体またはシクロヘキサンとすることができる) を用いて、対応するアミノ化合物 21 に還元する。化合物 21 を、ピリジンまたは N - メチルモルホリンなどの有機塩基の存在下、テトラヒドロフラン (THF) などの不活性溶媒中、式 22 で示される酸塩化物または式 23 で示される混合無水物 (対応するカルボン酸から調製される) を用いて、アシル化することによって、式 24 で示される化合物を得る。化合物 22 または 23 が不斉炭素原子を有する場合、それらはラセミ体として用いるか、あるいは、個々の R

40

## 【 0 0 2 7 】

## 【 化 3 9 】

## フローチャート D



10

20

## 【 0 0 2 8 】

表皮増殖因子受容体キナーゼ ( E G F - R ) の阻害

試験化合物は、それらが酵素表皮増殖因子受容体キナーゼによって触媒されるペプチド基質のチロシン残基のリン酸化を阻害する能力について評価した。ペプチド基質 ( R R - S R C ) は、配列 *arg - arg - leu - ile - glu - asp - ala - glu - tyr - ala - ala - arg - gly* を有する。この酵素は、A 4 3 1 細胞 ( アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション ( American Type Culture Collection )、ロックビル、MD ) の膜抽出物として得た。A 4 3 1 細胞は、T 1 7 5 フラスコ内で 8 0 % の密集度まで増殖させた。これらの細胞は、 $\text{Ca}^{2+}$  を含まないリン酸緩衝食塩水 ( P B S ) で 2 回洗浄した。フラスコに 1 . 0 m M エチレンジアミン四酢酸 ( E D T A ) を含む 2 0 m l の P B S を入れて室温で 1 . 5 時間回転させ、6 0 0 g で 1 0 分間遠心した。これらの細胞を、ダウンス ( Dounce ) ホモジナイザー中、氷上で 1 0 ストロークによって、 $5 \times 10^6$  個の細胞あたり 1 m l の冷たい溶解緩衝液 { 1 0 m M 4 - ( 2 - ヒドロキシエチル ) - 1 - ピペラジニエタンスルホン酸 ( H E P E S )、p H 7 . 6、1 0 m M N a C l、2 m M E D T A、1 m M フェニルメチルスルホニル - フルオリド ( P M S F )、1 0 m g / m l アプロチニン、1 0 m g / m l ロイペプチン、0 . 1 m M オルトパナジン酸ナトリウム } に可溶化した。溶解物を、まず 6 0 0 g で 1 0 分間遠心して、細胞破砕物を清澄にし、上澄みを 4 にて、さらに 1 0 0 , 0 0 0 g で 3 0 分間遠心した。膜ペレットを 1 . 5 m l の H N G 緩衝液 ( 5 0 m M H E P E S、p H 7 . 6、1 2 5 m M N a C l、1 0 % グリセロール ) に懸濁した。膜抽出物を既知量に分割し、直ちに液体窒素で凍結し、- 7 0 で保存した。

30

40

50

## 【 0 0 2 9 】

試験化合物は、100%ジメチルスルホキシド(DMSO)中における10mg/mlの原液とした。実験に先だって、原液は緩衝液(30mM HEPES、pH7.4)で500mMに希釈し、次いで所望の濃度に系列希釈した。

## 【 0 0 3 0 】

既知量のA431膜抽出物(10mg/ml)を30mM HEPES(pH7.4)に希釈して、50μg/mlのタンパク濃度を得た。4μlの酵素調製物に、EGF(12μg/mlで1μl)を添加し、氷上で10分間インキュベートした後、4μlの試験化合物または緩衝液を添加した。この混合物を氷上で30分間インキュベートした。これに、濃度0.5mMの基質ペプチドと共に、アッセイ緩衝液に1:10希釈した<sup>33</sup>P-ATP(10mCi/ml)を添加し(対照反応物は試験化合物を含まない)、30で30分間反応させた。反応を10%TCAで停止させ、氷上で少なくとも10分間放置した後、これらのチューブを最高速度で15分間微小遠心した。上澄みの一部をP81ホスホセルロースディスク上にスポットし、1%酢酸中、次いで水中で、2回、5分間洗浄した後、各々をシンチレーションカウンティングに付した。本発明の代表的な化合物に関する阻害データを以下の表1に示す。IC<sub>50</sub>は、リン酸化された基質の合計量を50%だけ減少させるのに必要な試験化合物の濃度である。試験化合物の阻害率(%)は少なくとも3つの異なる濃度について測定し、IC<sub>50</sub>値は用量応答曲線から求めた。阻害率(%)は次式で求めた。

10

## 【 0 0 3 1 】

20

## 【 数 1 】

$$\text{阻害率(\%)} = 100 - [\text{CPM(薬物)} / \text{CPM(対照)}] \times 100$$

## 【 0 0 3 2 】

ここで、CPM(薬物)は、1分間あたりのカウント数の単位であり、試験化合物の存在下、30で30分後に、酵素によってRR-SRCペプチド基質上に取り込まれた放射標識ATP(g-<sup>33</sup>P)の量を表し、液体シンチレーションカウンティングによって測定した値である。CPM(対照)は、1分間あたりのカウント数の単位であり、試験化合物の非存在下、30で30分後に、酵素によってRR-SRCペプチド基質上に取り込まれた放射標識ATP(g-<sup>33</sup>P)の量を表し、液体シンチレーションカウンティングによって測定した値である。CPM値は、酵素反応の非存在下でATPによって生じるバックグラウンドのカウント数について補正した。表1に示すIC<sub>50</sub>値は、実施した試験回数による平均である。

30

## 【 0 0 3 3 】

## 【 表 1 】

表皮増殖因子受容体キナーゼの阻害

<u>化合物</u>	<u>IC50 (<math>\mu</math>M)</u>	<u>試験数</u>	
実施例 4	0.012	5	
実施例 5	0.198	4	
実施例 6	0.5	1	10
実施例 7	0.05	1	
実施例 8	0.04	2	
実施例 9	0.002	20	
実施例 10	0.11	2	
実施例 11	0.056	4	
実施例 13	$10^{-7}$	1	
実施例 14	1.0	1	20

【 0 0 3 4 】

試験化合物の表皮増殖因子受容体キナーゼへの共有結合の判定

A 4 3 1 酵素抽出物（上記のように調製した）の既知量を、標準的な試験条件下で約 2 % の反応が起こり、（上記の標準的なアッセイのように）最終的な E G F 濃度が  $2.4 \mu\text{g} / \text{ml}$  であるように、E G F を濃度  $12 \mu\text{g} / \text{ml}$  で含有する p H 7.4 の 30 m M H E P E S 緩衝液で  $50 \sim 100 \mu\text{g} / \text{ml}$  に希釈した。この混合物は、使用前に、4 で少なくとも 10 分間インキュベートした。この酵素調製物を以下の透析試験法に用いた。

【 0 0 3 5 】

60  $\mu$  l の酵素調製物に、5 % ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した 48  $\mu$  l の試験化合物（または対照として 48  $\mu$  l の 5 % DMSO のみ）を添加した。試験化合物の濃度は、理想的には 80 ~ 90 % の阻害を確保するために、I C<sub>50</sub> 値の 20 ~ 100 倍を選択した。酵素 - 阻害薬溶液を 4 で 45 ~ 60 分間インキュベートした。非透析対照試験法では、既知量 9  $\mu$  l の酵素 - 阻害薬溶液を上記のような標準的なプロトコルで評価した。透析試験法では、既知量 60  $\mu$  l の酵素 - 阻害薬溶液をピアース・マイクロダイアライザー・システム（Pierce Microdialyzer System）100 のウェルに入れ、 $1.25 \mu\text{g} / \text{ml}$  の E G F を含有する 30 m M H E P E S に対して、4 で、24 時間透析した。緩衝液は 2 回交換した（各々の交換前に最低 3 時間は透析した）。カットオフ分子量 8000 のメンブレンを用いた。既知量 9  $\mu$  l（少なくとも 2 通り）の透析溶液を、上記のような標準的なプロトコルによって、活性について評価した。試験化合物を添加していない酵素は、透析後も、その初期活性の 50 ~ 90 % を保持している。酵素を添加していない試験化合物の透析溶液も評価し、これらの化合物が透析可能であることを確認した。

【 0 0 3 6 】

酵素活性が透析後に回復しなければ、試験化合物が共有結合していることがわかる（不可逆的阻害）。酵素活性が透析後に大いに回復すれば、試験化合物が非共有結合していることがわかる（可逆的阻害）。共有結合の判定は、透析前後の阻害率（%）を利用する次式を用いて計算される活性回復率（%）として表すことができる。

【 0 0 3 7 】

【 数 2 】

活性回復率(%) = [(阻害率(%) {透析前} - 阻害率(%) {透析後})

／阻害率(%) {透析前}] × 100

【0038】

活性回復率(%) が100%に近い値は、非共有結合(可逆的阻害)を示す。活性回復率(%) が100%よりはるかに低い値は、共有結合(不可逆的阻害)を示す。本発明の代表的な化合物に関してEGF-Rキナーゼへの共有結合の判定について得られた結果を以下の表2に示す。比較を目的として、表2には、N-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミンの結合データも示す。このキナゾリン阻害薬は、EGF-Rキナーゼの有効な阻害薬として同定され[Fry, D.W.ら、サイエンス(Science), 265, 1093(1994); リュウキャスル, ジー・ダブリューー(Rewcastle, G.W.)ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー(J. Med. Chem.), 38, 3482(1995)、およびブリッジズ, エイ・ジェイ(Bridges, A.J.)ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー(J. Med. Chem.), 39, 267(1996)]、欧州特許出願公開第566,226 A1号に包含される。評価された各化合物の多重独立評価の結果を表2に示す。

【0039】

【表2】

表皮増殖因子受容体キナーゼへの共有結合の判定

化合物	活性回復率(%)			判定
実施例4	20	11	17	共有結合 (不可逆的結合)
実施例9	9	4		共有結合 (不可逆的結合)
N-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミン	102	70	107	非共有結合 (可逆的結合)

【0040】

表2の結果は、本発明の化合物が、EGF-Rキナーゼを、この酵素上にあるアミノ酸残基に共有結合を形成することによって、非可逆的に阻害することを示す。この点で、それらは、可逆的に結合するN-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミンなどの通常の4-アニリノキナゾリン類とは明らかに異なる。以下で述べるように、本発明の化合物と従来技術の通常のキナゾリン阻害薬との結合能におけるこの差は、有意に向上した生物学的活性をもたらし、それゆえ治療上の有用性が増大する。

【0041】

[<sup>3</sup>H]-チミジンの取り込みによって測定した細胞増殖の阻害

本発明の代表的な化合物を、それらが下記の細胞系の増殖をインビトロで阻害する能力について評価した。阻害は、細胞が阻害薬の存在下で増殖する場合の放射標識チミジンの取り込みの減少を測定することによって定量する。A431およびSKBR3細胞系は、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(American Type Culture Collection)、ロックビル、MDから得る。Neu-3T3細胞は、NIH 3T3マウスの線維芽細胞を活性化ラットNeu腫瘍遺伝子でトランスフェクトすることによって得る。NHEK細

10

20

30

40

50

胞は、クロネティックス (Clonetics) (サンディエゴ、CA) から入手する。細胞は、常法によって、5% CO<sub>2</sub>を含む雰囲気下、加湿インキュベーター中で増殖させた。これらの細胞系は、本発明の化合物の標的である受容体チロシンキナーゼに対するリガンドである増殖因子に依存し、以下の特性を有する：

【0042】

A431：EGFRを過剰発現するヒト類表皮癌腫細胞

Neu-3T3：活性化Neu腫瘍遺伝子でトランスフェクトしたNIH3T3細胞

NHEK：EGF依存性の正常ヒト表皮ケラチノサイト

SKBR3：Erbb2遺伝子を過剰発現するヒト乳癌細胞

【0043】

細胞系は、下記のような適当な培地中で増殖させた：

A431：ダルベッコの修正イーグル培地、高グルコース、BRL/ギブコ

(10%ウシ胎児血清(FBS)、グルタミン、ペニシリン-ストレプトマイシン)

ダルベッコ, アール (Dulbecco, R.), フリーマン, ジー (Freeman, G.), バイロロジ- (Virology) 8, 396 (1959)

Neu-3T3：ダルベッコの修正イーグル培地、高グルコース

(10%ウシ胎児血清(FBS)、グルタミン、ペニシリン-ストレプトマイシン)

SKBR3：ロズウェル・パーク・メモリアル・インスティテュート (Roswell Park Memorial Institute) 1640W/GLU (10%FBS、GLU、PS)

ムーア, ジー・イー (Moore, G.E.), ゲーナー, アール・イー (Gerner, R.E.), およびフランクリン, エイチ・エイ (Franklin, H.A.) エイ・エム・エイ (A.M.A.), 199, 516 (1967)

NHEK：ケラチノサイト増殖培地、クロネティックス (Clonetics)

ボイス, エス・ティー (Boyce, S.T.) およびハム, アール・ジー (Ham, R.G.) インビトロ17, 239 (要約No.159) (1981)

【0044】

細胞を完全培地の入った96ウェル・プレートに10,000細胞/ウェルで接種し、対数期まで増殖させた。この段階で、完全培地を、0.5%FBSを含有する培地(10%FBSで増殖する細胞の場合)、または、表皮増殖因子(EGF)を欠く培地(血清を含有しない培地で増殖する細胞の場合)と交換した。低血清(またはEGFを欠く)培地中で一晩インキュベートした後、評価すべき化合物を添加し、細胞を化合物の存在下で48~72時間保持した。次いで、試験化合物を含む培地を除去し、完全培地を再び添加した。これらの細胞を18時間増殖させた。この後、<sup>3</sup>Hチミジン(血清/EGF培地中に1mCi/ml)中で4時間インキュベートする。細胞を37℃少なくとも30分間、0.5M NaOHに溶解し、放射活性分析した。

【0045】

細胞増殖の阻害データを以下の表3に示す。IC<sub>50</sub>は、取り込まれる<sup>3</sup>Hチミジンの量を50%まで減少させるのに必要な試験化合物の濃度である。評価した化合物の阻害率(%)を少なくとも3つの濃度について測定し、用量応答曲線からIC<sub>50</sub>値を求めた。阻害率(%)は次式で求める：

【0046】

【数3】

$$\text{阻害率(\%)} = 100 - [\text{CPM(薬物)} / \text{CPM(対照)}] \times 100$$

【0047】

ここで、CPM(薬物)は1分間あたりのカウント数の単位であり、細胞が試験化合物の存在下で増殖する場合にDNAに取り込まれる<sup>3</sup>Hチミジンの量を表す数値であって、液体シンチレーションカウンティングによって測定した値である。CPM(対照)は1

10

20

30

40

50



分間あたりのカウント数の単位であり、細胞が試験化合物の非存在下で増殖する場合に DNA に取り込まれる [<sup>3</sup>H]チミジンの量を表す数値であって、液体シンチレーションカウンティングによって測定した値である。

【 0 0 4 8 】

【表 3】

[<sup>3</sup>H]-チミジンの取込みによって測定した細胞増殖の阻害 (IC<sub>50</sub>)

化合物	A431 ( $\mu$ M)	SKBR3 ( $\mu$ M)	NHEK ( $\mu$ M)	NEU-3T3 ( $\mu$ M)
実施例 4	0.07	> 50	0.17	> 50
実施例 5	0.825	0.30	0.17	10
実施例 6	27	> 50	4.5	> 50
実施例 7	0.45	5.5	0.45	7.5
実施例 8	0.22	7	0.5	0.3
実施例 9	0.011	1.057	0.002	0.002
実施例 10	60	> 50	> 50	15
実施例 11	0.8	4	0.85	0.4

10

20

【 0 0 4 9 】

ヒト類表皮腫瘍 (A 4 3 1) の増殖のインビボ阻害

インビボでの標準的な薬理的試験法には、BALB/c nu/nu 雌マウス (チャールズ・リバー (Charles River)、ウィルミントン、MA) を用いた。ヒト類表皮癌腫細胞 A - 4 3 1 (アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション (American Type Culture Collection)、ロックビル、メリーランド # CRL - 1 5 5) を上記のようにインビトロで増殖させた。5 × 10<sup>6</sup> 個の細胞ユニットをマウスに皮下注射した。腫瘍が 1 0 0 ~ 1 5 0 m g の塊になったら、これらマウスをいくつかの処理群に無作為に分けた (第 0 日)。腫瘍発生後 1、5、および 9 日目、あるいは、1 ~ 1 0 日目に、0.2% クルーセル (KluCel) 中における評価すべき化合物が 8 0、4 0、または 2 0 m g / k g / 回の投与量で、1 日 1 回、マウスを腹腔内処理した。対照の動物には、薬物を与えなかった。腫瘍の塊は、発生後 2 8 日間、7 日毎に測定した [ (長さ × 幅<sup>2</sup>) / 2 ]。相対的な腫瘍増殖度 (7、1 4、2 1、および 2 8 日目における平均の腫瘍重量を第 0 日における平均の腫瘍重量で割った値) を各処理群について求める。% T / C (腫瘍 / 対照) は処理群の相対的な腫瘍増殖度をプラセボ群の相対的な腫瘍増殖度で割って、1 0 0 を掛けることによって求める。% T / C が 4 2 % 以下であれば、化合物は活性であるとみなす。

30

40

【 0 0 5 0 】

実施例 9 に化合物について得られた阻害の結果を以下の表 4 に示す。

【 0 0 5 1 】

【表 4】

実施例9の化合物によるマウスにおけるヒト類表皮腫瘍(A431)の増殖の、インビボ阻害

腫瘍内投与量(mg/kg/回) <sup>a</sup> IP	RTG <sup>b</sup> 7日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 16日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 21日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 28日目	%T/C <sup>c</sup>	S/T <sup>d</sup>
* 対 照	3.68		7.91		11.41		15.04		10/10
* 80	0.71	18	0.91	11	1.07	9	1.36	9	5/5
* 40	1.48	40	2.23	28	3.05	27	4.04	27	5/5
* 20	1.72	47	2.69	34	4.33	38	6.18	41	5/5
** 20	0.75	20	1.01	13	1.25	11	2.53	17	5/5

a)薬物は1, 5, 9日目\*または1~10日目\*\*に腹腔内投与した。

b)相対的な腫瘍増殖 =  $\frac{\text{0日目の平均的な腫瘍重量}}{\text{7, 14, 21, 28日目の平均的な腫瘍重量}}$

c)% T / C =  $\frac{\text{処理群の相対的な腫瘍増殖}}{\text{プラセボ群の相対的な腫瘍増殖}} \times 100$

d) S / T = 生存動物数 / 腫瘍発生後28日目の処理動物数

### 【 0 0 5 2 】

実施例9の化合物およびN-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミンがヒト類表皮腫瘍(A431)の増殖をインビボで阻害する能力を以下の表5で比較する。N-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミンは、このキナゾリン阻害薬がEGF-Rキナーゼの有効な阻害薬として同定され[Fライ, ディー・ダブリュー(Fry, D.W.)ら、サイエンス(Science), 265, 1093(1994); リュウキャスル, ジー・ダブリュー(Rewcastle, G.W.)ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー(J. Med. Chem.), 38, 3482(1995)、およびブリッジズ, エイ・ジェイ(Bridges, A.J.)ら、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー(J. Med. Chem.), 39, 267(1996)]、欧州特許出願公開第566,226 A1号に包含されるので、比較化合物として選んだ。

【 0 0 5 3 】

【 表 5 】

マウスにおけるヒト類表皮腫瘍(A431)の増殖の、実施例9の化合物およびN-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミンによるインビボ阻害の比較。腹腔内投与量20 mg/kg/回

化合物	RTG <sup>b</sup> 7日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 14日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 21日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 28日目	%T/C <sup>c</sup>	S/T <sup>d</sup>
* 対 照	3.18		5.65		7.79		10.3		10/10
実施例9	1.11	35	1.26	22	1.51	19	2.55	22	14/15
N-(3-プロモフェニル)- 6,7-ジメトキシ-4- キナゾリンアミン	3.03	95	6.58	116	10.5	128	14.47	140	15/15

- a) 薬物は1~15日目に腹腔内投与した。
- b) 相対的な腫瘍増殖 =  $\frac{\text{7, 14, 21, 28日目の平均的な腫瘍重量}}{\text{0日目の平均的な腫瘍重量}}$
- c) %T/C =  $\frac{\text{処理群の相対的な腫瘍増殖}}{\text{プラセボ群の相対的な腫瘍増殖}} \times 100$
- d) S/T = 生存動物数 / 腫瘍発生後28日目の処理動物数

【 0 0 5 4 】

表4~5に示すように、本発明の化合物は、哺乳動物におけるヒト腫瘍の増殖を阻害し、それゆえ、抗新生物薬として有用である。この点で、それらは、抗新生物活性を欠くN-(3-プロモフェニル)-6,7-ジメトキシ-4-キナゾリンアミンなどの通常の4-アニリノキナゾリン類とは明らかに異なる。

【 0 0 5 5 】

実施例9の化合物がヒト類表皮腫瘍(A431)の増殖をインビボで阻害する能力を、2つの構造的に類似する化合物のN-[4-[(3-メチルフェニル)アミノ]-6-キナ

ゾリニル] - 7 - フルオロ - 2 - プロペンアミド (比較物 A と呼ぶ) および N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] ブタンアミド (比較物 B と呼ぶ) (それぞれ、欧州特許出願公開第 635, 488 A1 号および第 566, 226 A1 号に包含される) と比較した。これらの比較の結果を表 6 および 7 に示す。

【 0 0 5 6 】

【 表 6 】

マウスにおけるヒト類表皮腫瘍 (A 4 3 1) の増殖の、実施例 9 の化合物および N - [ 4 - [ ( 3 - メチルフルフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 7 - フルオロ - 2 - プロペンアミド (比較物 A) によるインビボ阻害の比較

化合物 <sup>a</sup>	RTG <sup>b</sup> 7日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 14日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 21日目	%T/C <sup>c</sup>	S/T <sup>d</sup>
対 照	5.52		11.63		7.79		10/10
実施例 9 (80 mg/kg)	1.25	18*	2.50	21*	3.77	24*	10/10
比較物 A (80 mg/kg)	3.39	61	5.60	48	7.68	48	10/10
実施例 9 (20 mg/kg)	0.79	14*	1.39	12*	2.55	16*	10/10
比較物 A (20 mg/kg)	4.82	87	7.36	63	8.75	56	9/10

a) 薬物は腹腔内投与した。対照および 80 mg/kg 量は 1, 5, および 9 日目に投与した; 20 mg/kg 量は 1 ~ 10 日目に投与した。

b) 相対的な腫瘍増殖 =  $\frac{\text{7, 14, 21日目の平均的な腫瘍重量}}{\text{0日目の平均的な腫瘍重量}}$

c) % T / C =  $\frac{\text{処理群の相対的な腫瘍増殖}}{\text{プラセボ群の相対的な腫瘍増殖}} \times 100$

d) S / T = 生存動物数 / 腫瘍発生後 21 日目の処理動物数

\* は  $p < 0.01$  で統計学的に有意であることを示す。

【 0 0 5 7 】

【 表 7 】

マウスにおけるヒト類表皮腫瘍(A431)の増殖の、実施例9の化合物および  
N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-プタアンアミド  
(比較物B)によるインビボ阻害の比較

化合物 <sup>a</sup>	RTG <sup>b</sup> 7日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 14日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 21日目	%T/C <sup>c</sup>	RTG <sup>b</sup> 28日目	%T/C <sup>c</sup>	S/T <sup>d</sup>
対 照	3.56		5.55		5.85		7.63		10/10
実施例9 (80 mg/kg)	0.89	25*	1.50	27*	2.44	42*	3.45	45*	5/5
比較物B (80 mg/kg)	3.37	95	5.43	98	6.21	106	10.26	142	5/5
比較物B (20 mg/kg)	2.90	81	4.19	75	5.62	96	8.04	105	5/5

a)薬物は腹腔内投与した。対照および80 mg/kg量は1, 5, および9日目に投与した；  
20 mg/kg量は1～10日目に投与した。

b)相対的な腫瘍増殖 =  $\frac{\text{7, 14, 21, 28日目の平均的な腫瘍重量}}{\text{0日目の平均的な腫瘍重量}}$

c) % T / C =  $\frac{\text{処理群の相対的な腫瘍増殖}}{\text{プラセボ群の相対的な腫瘍増殖}} \times 100$

d) S / T = 生存動物数 / 腫瘍発生後28日目の処理動物数  
\*は  $p < 0.01$  で統計学的に有意であることを示す。

#### 【0058】

表6および7に得られた結果は、本発明の代表的な化合物である実施例9の化合物がヒト類表皮腫瘍の増殖をインビボで有意に ( $p < 0.01$ ) 阻害したことを示す。欧州特許出願公開第635,488 A1号(比較物A)および第566,226 A1号(比較物B)の構造的に最も近い化合物は、実施例9の化合物に比べて、実質的に活性が低く、両者はいずれの試験投与量でも腫瘍の増殖を実質的に減少させなかつた。

#### 【0059】

本発明の代表的な化合物について得られた結果に基づいて、本発明の化合物は、新生物を治療、その増殖を阻害、または、根絶するのに、特に有用である。特に本発明の化合物は

、EGFRを発現する新生物（例えば、乳房、腎臓、膀胱、口腔、喉頭、食道、胃、結腸、卵巣、または肺の新生物）を治療、その増殖を阻害、または、根絶するのに有用である。

#### 【0060】

本発明の化合物は、単独で処方しても、1種またはそれ以上の医薬上許容される投与用担体、例えば、溶媒、希釈剤などと組み合わせてもよい。本発明の化合物は、錠剤、カプセル剤、分散性散剤、顆粒剤、または、例えば約0.05%～5%の懸濁化剤を含有する懸濁剤、例えば約10%～50%の白糖を含有するシロップ剤、および、例えば約20%～50%のエタノールなどを含有するエリキシル剤などの形態で経口的に投与するか、あるいは、等張性の媒質中に約0.05%～5%の懸濁化剤を含有する無菌の注射可能な液剤または懸濁剤の形態で非経口的に投与すればよい。かかる医薬製剤は、例えば約0.05重量%～約90重量%まで、より一般的には約5重量%～60重量%の有効成分を担体と組み合わせて含有していてもよい。

10

#### 【0061】

採用した有効成分の効果的な用量は、採用した特定の化合物、投与の様式、および治療中の症状の重篤度に応じて変化しうる。しかし、一般的には、本発明の化合物が、哺乳動物の体重1kgあたり約0.5～約1000mgの一日量で、所望により1日に2～4回の分割量で、または、緩徐放出の形態で、投与される場合に、満足な結果が得られる。たいていの大型哺乳動物の場合、合計の一日量は、約1～1000mg、好ましくは約2～500mgである。内部使用に適した剤形は、約0.5～1000mgの活性化化合物を固形または液状の医薬上許容される担体と十分に混合した形で含有する。この投与計画は、至適な治療応答が得られるように調節すればよい。例えば、分割量を一日に数回投与してもよいし、かかる投与量を治療状況の急迫性による必要に応じて比例的に減少させてもよい。

20

#### 【0062】

これらの活性化化合物は、経口的に投与するだけでなく、静脈内、筋肉内、または皮下的な経路で投与してもよい。固形の担体としては、デンプン、乳糖、リン酸二カルシウム、微結晶セルロース、白糖、およびカオリンなどが挙げられる。液状の担体としては、滅菌水、ポリエチレングリコール、非イオン性界面活性剤、および食用油（例えば、コーン油、落花生油、およびゴマ油）などが挙げられる。いずれも、有効成分の性質や、望ましい特定の投与形態に対して適当なものが選択される。医薬組成物の調製に習慣的に採用される添加剤を含有させれば好都合であるが、例えば、香味剤、着色剤、保存剤、および抗酸化剤（例えば、ビタミンE、アスコルビン酸、BHT、およびBHA）などが挙げられる。

30

#### 【0063】

調製および投与が容易であるという観点から好ましい医薬組成物は、固形組成物、特に錠剤および硬質または軟質カプセル剤である。上記化合物の経口投与が好ましい。

#### 【0064】

場合によっては、上記化合物をエアロゾルの形態で直接気道に投与することが望ましいこともある。

#### 【0065】

これらの活性化化合物は、非経口的または腹腔内に投与してもよい。遊離塩基であるこれらの活性化化合物または医薬上許容される塩の液剤または懸濁剤は、ヒドロキシ-プロピルセルロースなどの界面活性剤と適当に混合した水をベースにして調製することもできる。グリセロール、液状ポリエチレングリコール、およびその油中混合物をベースとして、分散剤を調製することもできる。保存および使用に関する通常の条件下では、これらの製剤に保存剤を含有させて、微生物の増殖を予防する。

40

#### 【0066】

注射可能な用途に適した医薬形態としては、無菌で水性の液剤または懸濁剤、および、無菌の注射可能な液剤または懸濁剤を即席的に調製するための無菌散剤が挙げられる。いずれの場合も、その剤形は、無菌でなければならず、また、容易に注射器で使用可能な程度

50

まで流体でなければならない。それは、製造条件下で安定でなければならない、また、細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対して保存されねばならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液状ポリエチレングリコール）、それらの適当な混合物、および植物油を包含する溶媒または分散媒とすることができる。

【0067】

癌の治療の場合、本発明の化合物は、他の抗腫瘍物質または放射線と組み合わせて投与することができる。これらの他の物質または放射線治療は、本発明の化合物と同時に、または、異なる時点で与えることができる。これらの組合せ療法は、相乗効果を奏し、効力が向上する。例えば、本発明の化合物は、タキソールまたはビンブラスチンなどの有糸分裂抑制薬、シスプラチンまたはシクロホスファミドなどのアルキル化剤、5-フルオロウラシルまたはヒドロキシ尿素などの抗代謝薬、アドリアマイシンまたはブレオマイシンなどのDNA挿入薬、エトポシドまたはカンプトテシンなどのトポイソメラーゼ阻害薬、およびタモキシフェンなどの抗エストロゲン薬と組み合わせて用いることができる。

10

【0068】

【実施例】

以下の実施例は、本発明の化合物の代表例の調製を例示するものである。

【0069】

実施例 1

N' - (2 - シアノ - 4 - ニトロフェニル) - N, N - ジメチルホルムアミジン 40.8 g の 5 - ニトロ - アントラニロニトリルおよび 40 ml の N, N - ジメチルホルムアミドジメチルアセタールを蒸気浴上で 2 時間加熱した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を塩化メチレンに溶解した。この溶液をマグネゾル (Magnesol) に通過させた後、溶媒を除去した。エーテルで洗浄した後、50.8 g の N' - (2 - シアノ - 4 - ニトロフェニル) - N, N - ジメチルホルムアミジンを得た。

20

【0070】

実施例 2

N - (3 - プロモフェニル) - 6 - ニトロ - 4 - キナゾリンアミン

100 ml の氷酢酸中における 23.74 ml の 3 - プロモアニリンおよび 40.5 g の N' - (2 - シアノ - 4 - ニトロフェニル) - N, N - ジメチルホルムアミジンの溶液を攪拌し、油浴中、148 で 1.5 時間加熱した。冷却した後、生じた固形物を濾過することによって、定量的な収量の N - (3 - プロモフェニル) - 6 - ニトロ - 4 - キナゾリンアミンを得た。融点 267 ~ 270、マススペクトル (m/e) : 345。

30

【0071】

実施例 3

N - (3 - プロモフェニル) - 4,6 - キナゾリンジアミン

150 ml のエタノールおよび 150 ml の氷酢酸中における 34.5 g の N - (3 - プロモフェニル) - 6 - ニトロ - 4 - キナゾリンアミンおよび 16.8 g の鉄粉末の混合物を油浴中、120 で 2 時間加熱した。固形物を濾過した後、固形の炭酸ナトリウムを濾液に添加して、固形物を得た。これを濾過し、この固形物をメタノールで抽出した。抽出物を活性炭で処理し、蒸発乾固した。固形物をエーテルで洗浄した後、27.5 g の N - (3 - プロモフェニル) - 4,6 - キナゾリンジアミンを得た。マススペクトル (m/e) : 315。

40

【0072】

実施例 4

4 - [ [ 4 - (3 - プロモフェニル) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - (Z) - 2 - プテン酸

15 ml のピリジンを、1.6 g の N - (3 - プロモフェニル) - 4,6 - キナゾリンジアミンおよび 0.6 g の無水マレイン酸に添加した。一晩攪拌した後、溶媒を回転エバポレーターで除去した。固形物を約 400 ml の熱エタノールに溶解し、不溶物を濾過して、

50

0.33 gの4 - [ [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( Z ) - 2 - ブテン酸を得た。マススペクトル ( m / e ) : M + H 413, 415。

【 0073 】

実施例 5

4 - [ [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( E ) - 2 - ブテン酸エチルエステル

15 mlのピリジン中におけるN - ( 3 - プロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を氷浴中で冷却し、10 mlの塩化メチレン中における1.22 gのエチルフルマリルクロリドの溶液を滴下した。1.5時間攪拌した後、反応物を室温に戻した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を水で処理した。赤色の固形物を濾過し、熱アセトンで抽出した。不溶物を濾過した後、濾液を濃縮して、0.45 gの4 - [ [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( E ) - 2 - ブテン酸エチルエステルを得た。融点 259 ~ 263、マススペクトル ( m / e ) : M + H 441, 443。

【 0074 】

実施例 6

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 3 - メチル - 2 - ブテンアミド

15 mlのピリジン中における1.58 gのN - ( 3 - プロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を氷浴中で冷却し、7 mlのエーテル中における0.67 mlの3,3 - ジメチルアクリロイルクロリドの溶液を滴下した。2時間攪拌・冷却した後、溶媒を減圧下で除去した。残渣を水で処理し、生じた固形物をメチルセロソルブから再結晶して、0.97 gのN - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 3 - メチル - 2 - ブテンアミドを得た。融点 300 ~ 301、マススペクトル ( m / e ) : 396, 398。

【 0075 】

実施例 7

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - ( E ) - 2 - ブテンアミド

15 mlのピリジン中における1.6 gのN - ( 3 - プロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を氷浴中で冷却し、6 mlのエーテル中における0.57 mlのトランス - クロトノイルクロリドの溶液を滴下した。2時間攪拌・冷却した後、溶媒を減圧下で除去した。残渣を水で処理し、生じた固形物をn - ブタノールから再結晶して、0.69 gのN - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - ( E ) - 2 - ブテンアミドを得た。融点 153 ~ 160、マススペクトル ( m / e ) : M + H 383, 385。

【 0076 】

実施例 8

N - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - メチル - 2 - プロペンアミド

15 mlのピリジン中における1.6 gのN - ( 3 - プロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を氷浴中で冷却し、6 mlのエーテル中における0.59 mlのメタクリオイルクロリドの溶液を滴下した。2時間攪拌・冷却した後、溶媒を減圧下で除去した。残渣を水で処理し、生じた固形物をn - ブタノール ( 加温 ) に溶解した。冷却溶液にエーテルを添加して、0.44 gのN - [ 4 - [ ( 3 - プロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - メチル - 2 - プロペンアミドを得た。融点 240 ~ 245、マススペクトル ( m / e ) : M + H 383, 385。

【 0077 】

実施例 9

10

20

30

40

50



N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - ブチンアミド  
 10 ml のテトラヒドロフラン中における 0.50 g の 2 - ブチン酸の溶液を氷浴中で冷却した。0.79 ml のクロロギ酸イソブチル、次いで 0.66 ml の N - メチルモルホリンを添加した。約 1 分後、10 ml のピリジン中における 1.6 g の N - ( 3 - ブロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を添加した。反応物を室温に戻し、一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、固形物を n - ブタノールから再結晶して、1.07 g の N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - ブチンアミドを得た。マススペクトル ( m / e ) : 381 , 383 。

【 0078 】

実施例 10

4 - [ [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( E ) - 2 - プテン酸

2.5 ml の 10 N 水酸化ナトリウム水溶液を 25 ml のエタノール中における 2.3 g の 4 - [ [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( E ) - 2 - プテン酸エチルエステル ( 実施例 5 ) に添加した。1 時間攪拌した後、2.1 ml の濃塩酸を添加し、反応物をさらに 2 時間攪拌した。生じた固形物を n - ブタノールから再結晶して、0.97 g の 4 - [ [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] アミノ ] - 4 - オキソ - ( E ) - 2 - プテン酸を得た。マススペクトル ( m / e ) : M + H 431 。

【 0079 】

実施例 11

N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2,4 - ヘキサジエンアミド

10 ml のテトラヒドロフラン中における 0.67 g の 2,4 - ヘキサジエン酸の溶液を氷浴中で冷却した。0.79 ml のクロロギ酸イソブチル、次いで 0.66 ml の N - メチルモルホリンを添加した。約 1 分後、10 ml のピリジン中における 1.6 g の N - ( 3 - ブロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を添加した。反応物を室温に戻し、一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、固形物を再結晶して、1.0 g の N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2,4 - ヘキサジエンアミドを得た。融点 258 ~ 260 。

【 0080 】

実施例 12

N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - シクロペンテンアミド

5 ml のテトラヒドロフラン中における 0.43 g の 2 - シクロペンテン酸の溶液を氷浴中で冷却した。0.49 ml のクロロギ酸イソブチル、次いで 0.41 ml の N - メチルモルホリンを添加した。約 1 分後、10 ml のピリジン中における 1.0 g の N - ( 3 - ブロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を添加した。反応物を室温に戻し、一晩攪拌した。さらに 0.5 当量の混合無水物を添加した。この混合物を 5 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、固形物をシリカゲル上でのクロマトグラフィーによって精製して、0.30 g の N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - シクロペンテンアミドを得た。マススペクトル ( m / e ) : 409 ( M + H , E I ) 。

【 0081 】

実施例 13

N - [ 4 - [ ( 3 - ブロモフェニル ) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - プロペンアミド

10 ml のピリジン中における 2.0 g の N - ( 3 - ブロモフェニル ) - 4,6 - キナゾリンジアミンの溶液を氷浴中で冷却し、30 ml のエーテル中における 0.61 ml のアクリロイルクロリドの溶液を 0 で滴下した。室温で 3.5 時間攪拌した後、溶媒を減圧下

10

20

30

40

50

で除去した。残渣をクロマトグラフィーによって精製して、0.2 gのN-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-プロペンアミドを得た。マススペクトル(m/e): M+H 369。

【0082】

実施例14

N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-(3-フェニル-2-プロピンアミド)

10 mlのテトラヒドロフラン中における0.93 gの3-フェニル-2-プロピン酸の溶液を氷浴中で冷却した。0.82 mlのクロロギ酸イソブチル、次いで0.69 mlのN-メチルモルホリンを添加した。約1分後、7 mlのピリジン中における1.0 gのN-(3-プロモフェニル)-4,6-キナゾリンジアミンの溶液を添加した。反応物を0で1時間冷却した。溶媒を減圧下で除去し、固形物をシリカゲル上でのクロマトグラフィーによって精製して、0.01 gのN-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-(3-フェニル-2-プロピンアミド)を得た。マススペクトル(m/e): 443.2, 445.2 (M+H, エレクトロスプレー)。

10

【0083】

実施例15

6-アミノ-4-クロロキナゾリン

97 mlのテトラヒドロフランおよび32 mlの水の中における3.25 gの4-クロロ-6-ニトロキナゾリン、10.8 gの亜二チオン酸ナトリウム、および0.3 gの相間移動触媒(C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>)<sub>3</sub>NCH<sub>3</sub><sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>からなる混合物を2時間急速に攪拌した。この混合物をエーテルで希釈し、有機層を分離した。有機溶液を食塩水で水洗し、次いで硫酸マグネシウム上で乾燥させた。この溶液をシリカゲルの小さいカラムに通過させた。溶媒を減圧下、30で除去して、6-アミノ-4-クロロキナゾリンを得た。これは、さらに精製することなく、次の工程に用いた。

20

【0084】

実施例16

[4-クロロ-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミド

46 mlのテトラヒドロフラン中における1.64 gの2-ブチン酸の溶液を氷浴中で冷却した。2.34 mlのクロロギ酸イソブチル、次いで4.13 mlのN-メチルモルホリンを添加した。約10分後、これを46 mlのテトラヒドロフラン中における6-アミノ-4-クロロキナゾリンの溶液に注ぎ込んだ。この反応物を室温で2時間攪拌した。この混合物を食塩水および飽和重炭酸ナトリウムの混合物に注ぎ込み、エーテルで抽出した。このエーテル溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過した。溶媒を除去して、[4-クロロ-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミドを着色した油状物として得た。これは、さらに精製することなく、次の工程に用いた。

30

【0085】

実施例17

N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミド

1.76 gの[4-クロロ-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミドおよび1.23 gの3-プロモアニリンからなる溶液を、23 mlのイソプロパノール中、不活性雰囲気下で40分間還流した。この混合物を室温に冷却し、200 mlのエーテルを添加して、0.4 gのN-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミドを塩酸塩として得た。重炭酸ナトリウム溶液で中和し、酢酸エチルで抽出し、溶媒を除去し、1-ブタノールから再結晶して、N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミドを遊離塩基として得た。

40

【0086】

実施例18

N'-(4-アミノ-2-シアノフェニル)-N,N-ジメチルホルムアミジン 360 mlのメタノール中における6.0 g(27.5ミリモル)のN'-(2-シアノ-4-ニトロ

50

フェニル) - N, N - ジメチルホルムアミジン、33.9 g (41.8 ml、412.4 ミリモル) のシクロヘキセン、および 0.6 g の 10% Pd/C の溶液を 4 時間還流した。この熱混合物をセライトで濾過した。溶媒を除去し、残渣をクロロホルム - 四塩化炭素から再結晶して、4.9 g (95%) の表題化合物を明るい灰色の結晶性固形物として得た。マススペクトル (m/e) : 188.9 (M+H、エレクトロスプレー)。

## 【0087】

## 実施例 19

N - [ 3 - シアノ - 4 - [ [ (ジメチルアミノ) メチレン ] アミノ ] フェニル ] - 2 - ブチンアミド

30 ml のテトラヒドロフラン中における 2.01 g (23.9 ミリモル) の 2 - ブチン酸 および 2.9 ml (22.3 ミリモル) のクロロギ酸イソブチルの溶液に、窒素下、0 で 10 攪拌しながら、2.42 g (2.63 ml、22.3 ミリモル) の N - メチルモルホリンを 3 分間にわたって添加した。15 分間攪拌した後、25 ml のテトラヒドロフラン中における N' - (4 - アミノ - 2 - シアノフェニル) - N, N - ジメチルホルムアミジンおよび 1.6 g (1.75 ml、15.9 ミリモル) の N - メチルモルホリンの溶液を 4 分間かけて添加した。この混合物を 0 で 30 分間および室温で 30 分間攪拌した。この混合物を 70 ml の酢酸エチルで希釈し、食塩水および飽和重炭酸ナトリウムの混合物に注ぎ込んだ。有機層を (MgSO<sub>4</sub> で) 乾燥させ、シリカゲルのパッドで濾過した。溶媒を除去し、残渣を 50 ml のエーテルと共に攪拌した。懸濁した固形物を採取して、3.61 g (89%) の灰色がかった白色の固形物を得た。マススペクトル (m/e) : 255.0 (M+H、エレクトロスプレー)。

## 【0088】

## 実施例 20

N - [ 4 - [ (3 - ブロモフェニル) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - ブチンアミド 18 ml の酢酸中における 3.0 g (11.8 ミリモル) の N - [ 3 - シアノ - 4 - [ [ (ジメチルアミノ) メチレン ] アミノ ] フェニル ] - 2 - ブチンアミドおよび 2.23 g (12.98 ミリモル) の 3 - ブロモアニリンの溶液を、窒素下で攪拌しながら、穏やかに 1 時間 15 分還流した。この混合物を氷浴中で冷却したところ、固形物の塊が形成した。この固形物を濾過によって採取し、エーテル - アセトニトリル (1 : 1) で洗浄して、黄色の固形物を得た。これをエタノールから再結晶して、2.51 g の N - [ 4 - [ (3 - 30 ブロモフェニル) アミノ ] - 6 - キナゾリニル ] - 2 - ブチンアミドを得た。マススペクトル (m/e) : 381, 383。

## 【0089】

## 【発明の効果】

本発明によれば、ある種の増殖因子受容体タンパクチロシンキナーゼ (PTK) の作用を阻害し、それによって、ある種の細胞型の異常な増殖を阻害することができる新規な置換キナゾリン誘導体が提供される。かかる置換キナゾリン誘導体は、哺乳動物における癌の治療に有用であり、しかも、PTK の活性部位にあるアミノ酸残基に対して共有結合を形成することができることから、不可逆的な阻害薬として機能し、ATP またはタンパク基質と拮抗しないという利点を有する。

## フロントページの続き

- (72)発明者 バーナード・ディーン・ジョンソン  
アメリカ合衆国10980ニューヨーク州ストーニー・ポイント、パーク・ロード47番
- (72)発明者 ミドルトン・ブラウナー・フロイド・ジュニア  
アメリカ合衆国10901ニューヨーク州サファーン、バブリング・ブルック・レイン5番
- (72)発明者 ダグラス・ブルース・キッチン  
アメリカ合衆国10992ニューヨーク州ワシントンビル、ハンプシャー・ドライブ28番

審査官 當麻 博文

- (56)参考文献 特開平05-208911(JP,A)  
特表平10-508616(JP,A)  
国際公開第95/003283(WO,A1)  
特開平06-073025(JP,A)  
特開平08-003102(JP,A)  
特開平06-016647(JP,A)  
特開平02-076861(JP,A)  
BRIDGES, A.J. et al., Journal of Medicinal Chemistry, 米国, 1996年 1月 5日, Vol. 39/No.1, p.267-276

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 239/94  
A61K 31/33~33/44  
A61P 35/00  
CAplus(STN)  
MEDLINE(STN)  
BIOSIS(STN)  
EMBASE(STN)  
REGISTRY(STN)  
WPIDS(STN)