(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2017-509664
(P2017-509664A)
(43)公表日　平成29年4月6日(2017.4.6)

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

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 32 頁）

(21)出願番号　特願2016-559902 (P2016-559902)
(86)(22)出願日　平成27年4月3日 (2015.4.3)
(85)翻訳文提出日　平成28年11月10日 (2016.11.10)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/024216
(87)国際公開番号　WO2015/153955
(87)国際公開日　平成27年10月8日 (2015.10.8)
(31)優先権主張番号　61/975,089
(32)優先日　平成26年4月4日 (2014.4.4)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　511082090
デュケイン　ユニバーシティー　オブ　ザ　ホリー　スピリット
アメリカ合衆国　ペンシルバニア　１５２８２，　ピッツバーグ，　フォーブス　アベニュー　６００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川　大輔

最終頁に続く

(54)【発明の名称】チューブリンおよび複数の受容体阻害を有する置換二環式ピリミジン化合物

(57)【要約】
本発明は、それぞれが、チューブリンおよび複数の受容体阻害特性を有する、置換二環式ピリミジン化合物、ならびに該化合物の薬学的に許容される塩、水和物および溶媒和物を提供する。がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、患者に、治療有効量の置換二環式ピリミジン化合物、ならびに該化合物の薬学的に許容される塩、水和物および溶媒和物を投与するステップを含む方法が開示される。本発明の化合物は、抗血管新生活性および細胞毒性活性の両方を有する単一の薬剤として作用することができる。本発明の化合物は、複数の薬剤の送達に伴う薬物動態の問題の回避、薬物－薬物相互作用の回避、毒性の緩和、および腫瘍細胞の抵抗性の遅延または防止という利点を有する。

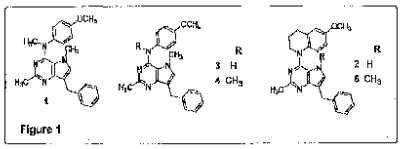
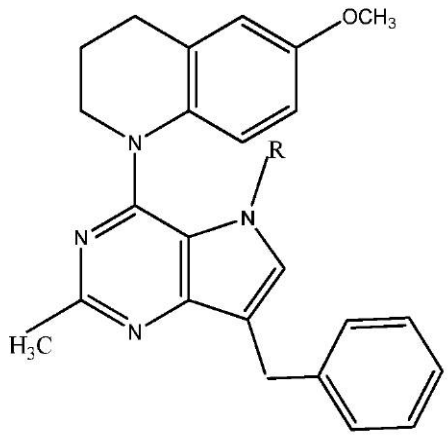


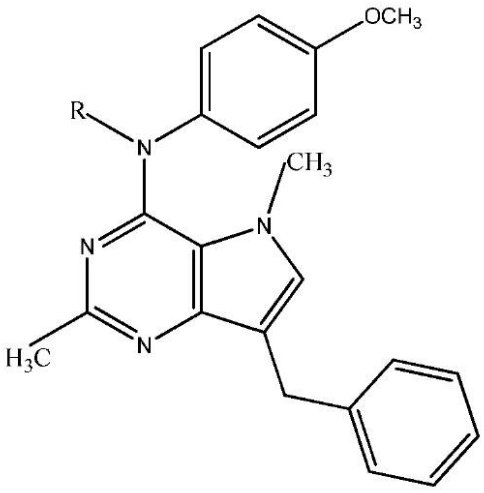
Figure 1

Also identified as	Compound number, Figure 1
RP/AG/159-306	2
RP/AG/159-313	3
RP/AG/159-321	4
RP/AG/159-341	5

【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の式：
【化１０】

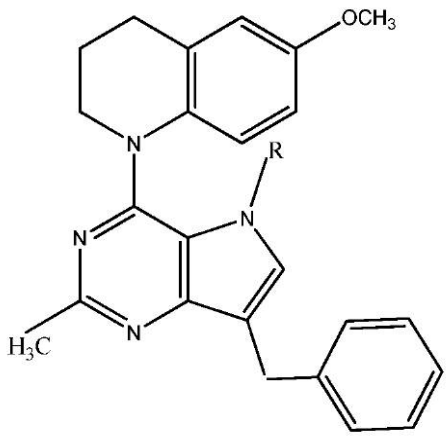


（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）
を含む化合物。
【請求項２】
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
以下の式：
【化１１】



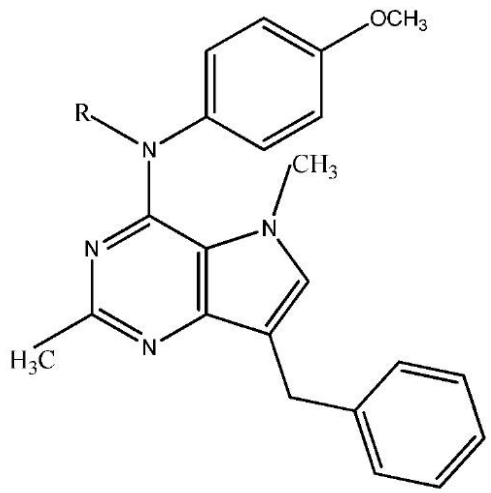
（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）
を含む化合物。
【請求項４】
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、請求項３に記載の化合物。
【請求項５】
７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オ

ンである化合物。
【請求項６】
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、請求項５に記載の化合物。
【請求項７】
７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジンである化合物。
【請求項８】
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、請求項７に記載の化合物。
【請求項９】
７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジンである化合物。
【請求項１０】
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、請求項９に記載の化合物。
【請求項１１】
がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、前記患者に、式：
【化１２】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法。
【請求項１２】
がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、前記患者に、式：

【化１３】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法。

【請求項１３】

がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、前記患者に、７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン、７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－Ｎ，２，５－トリメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、および１－（７－ベンジル－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリンの群から選択される治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願との相互参照

この実用的な特許出願は、２０１４年４月４日に出願されたともに係属中の米国仮特許出願第６１／９７５，０８９号に対する利益を主張する。米国仮特許出願第６１／９７５，０８９号の内容全体が、完全に本明細書に完全に記載されているかのように本特許出願に参照により援用される。

【０００２】

連邦政府により支援を受けた研究または開発に関する記述

本発明は、米国国立衛生研究所、国立がん研究センターにより交付された、助成金番号ＣＡ１３６９４４のもと、政府支援により行われた。本政府は、本発明においてある種の権利を有する。

【０００３】

本発明は、チューブリンおよび複数の受容体チロシンキナーゼ阻害を有する置換二環式ピリミジン化合物（単一の薬剤として）の設計および前臨床評価を提供する。

【背景技術】

【０００４】

発明の背景

１．発明の分野

本発明の置換二環式ピリミジン化合物は、細胞毒性作用と抗血管新生作用の両方を有する単一の薬剤である。この抗血管新生作用は、血管内皮成長因子－２（ＶＥＧＦＲ２）の阻害によって媒介される。細胞毒性作用は、チューブリン阻害によって媒介される。本化合物、本化合物、またはそれらの塩、それらの溶媒和物および水和物を含む医薬組成物は、微小管標的剤の活性を制限する、２つの臨床的に重要な腫瘍抵抗性機序：Ｐ－糖タンパク質およびβＩＩＩチューブリンの発現を克服する。

【０００５】

２．背景技術の記載

微小管に干渉する薬剤は、重要な抗腫瘍剤である。腫瘍成長および転移にとって重大な腫瘍の血管新生機序は、抗血管新生剤により標的とされる。抗血管新生剤は、通常、殺腫瘍性ではないが、主に細胞増殖抑制性である。抗血管新生剤および細胞毒性剤による組合せ化学療法は顕著な有望性を示しており、このような組合せによるいくつかの研究が、臨床的に進行中である。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

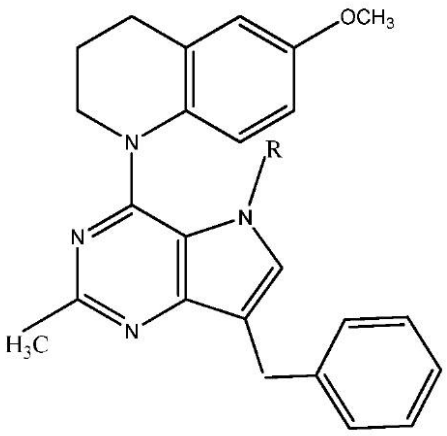
【０００６】

本発明は、置換二環式ピリミジン化合物、ならびにこれらの化合物、およびこれらの化合物の塩、溶媒和物および水和物を含む医薬組成物を提供する。本発明の化合物は、抗血管新生活性および細胞毒性活性の両方を有する単一の薬剤として作用することができる。本発明の化合物は、複数の薬剤の送達に伴う薬物動態の問題の回避、薬物－薬物相互作用の回避、毒性の緩和、および腫瘍細胞の抵抗性の遅延または防止という利点を有する。

【０００７】

本発明は、以下の式：

【化１】

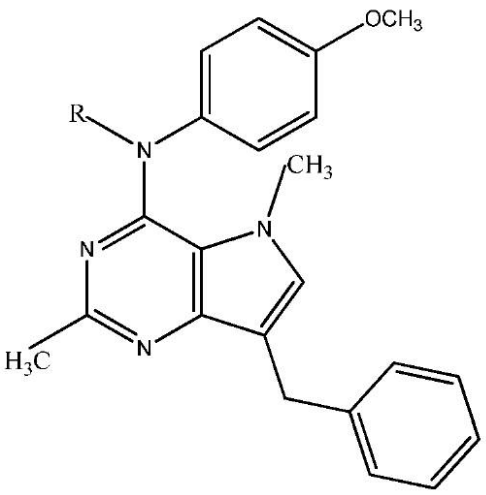


（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を含む化合物を提供する。本発明の別の実施形態は、この化合物、ならびに薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む医薬組成物を提供する。

【０００８】

本発明の別の実施形態は、以下の式：

【化２】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を含む化合物を提供する。本発明の別の実施形態は、この化合物、ならびに薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む医薬組成物を提供する。

【０００９】

本発明のさらに別の実施形態では、以下の７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン、７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－Ｎ，２，５－トリメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、および１－（７－ベンジル－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリンから選択される群からなる化合物、ならびに薬学的に許容されるそれらの塩、水和物および溶媒和物を含むこれらの化合物の医薬組成物が提供される。

【００１０】

本発明の別の実施形態は、がんと診断された患者を処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載されている化合物、または任意選択で、治療有効量の本明細書に記載されているこれらの化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物および溶媒和物を含む医薬組成物を患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００１１】

【図１】図１は、本発明の好ましい実施形態である化合物を示している。

【００１２】

【図２】図２は、トリプルネガティブマウス腫瘍に対する、本発明の化合物４のＨＣｌ塩形態（図１に示されている化合物４の化学構造）の効果を示している。

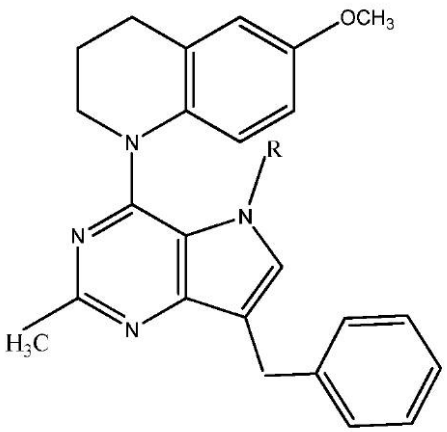
【００１３】

【図３】図３は、動物重量に対する、本発明の化合物４のＨＣｌ塩形態（図１に示されている化合物４の化学構造）の効果を示している。

【００１４】

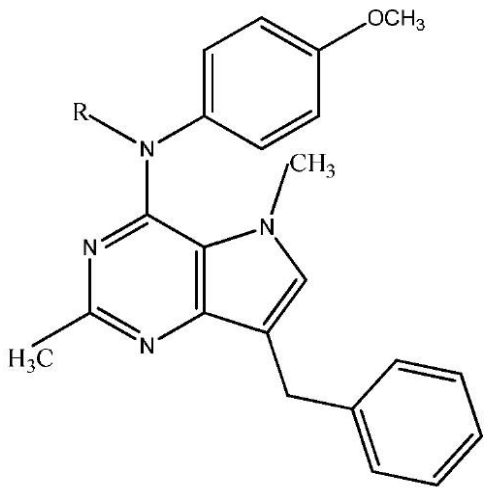
【図４】図４は、腫瘍重量に対する、本発明の化合物４のＨＣｌ塩形態（図１に示されている化合物４の化学構造）の効果を示している。

【００１５】
【図５】図５は、肺の微小転移およびマクロ転移（ｍａｃｒｏｍｅｔａｓｔａｓｅｓ）に対する、本発明の化合物４のＨＣｌ形態（図１に示されている化合物４の化学構造）の効果を示している。
【発明を実施するための形態】
【００１６】
本明細書で使用する場合、用語「患者」とは、以下に限定されないが、ヒトを含めた、動物界のメンバーを意味する。
【００１７】
本明細書で使用する場合、用語「がんを有する」とは、患者ががんと診断されたことを意味する。本明細書で使用する場合、用語「治療有効量」とは、患者において、所望の効果をもたらすのに必要な、本化合物のいずれか、あるいは該化合物または薬学的に許容されるその塩、水和物もしくは溶媒和物のいずれか１つまたは複数を含む医薬組成物の量を指す。所望の効果は、処置されている疾病に依存して様々である。例えば、所望の効果は、腫瘍サイズを縮小すること、がん性細胞を破壊すること、および／または転移を防止することであり得、これらのいずれの１つも、所望の治療的応答であり得る。その最も基礎的なレベルでは、治療有効量は、がん性細胞の有糸分裂を阻害するため、または、特に、例えばＰ－糖タンパク質（すなわち、有糸分裂を阻害するのに有効な量）もしくはβＩＩＩチューブリンによる多剤抵抗性の反転を容易にするために必要な量である。有糸分裂を阻害するまたは多剤抵抗性を反転するいかなる量も、患者に利益をもたらし、したがって、本発明の範囲内である。
【００１８】
本発明は、以下の式：
【化３】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を含む化合物を提供する。本発明の別の実施形態は、この化合物、ならびに薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む医薬組成物を提供する。
【００１９】
本発明の別の実施形態は、以下の式：

【化４】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を含む化合物を提供する。本発明の別の実施形態は、この化合物、ならびに薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む医薬組成物を提供する。

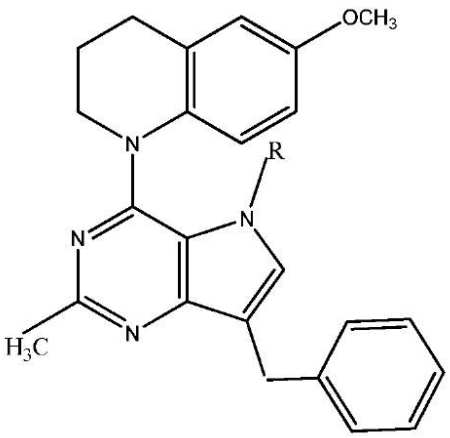
【００２０】

本発明のさらに別の実施形態では、以下の７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン、７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－Ｎ，２，５－トリメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、および１－（７－ベンジル－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリンから選択される群からなる化合物、ならびに薬学的に許容されるそれらの塩、水和物および溶媒和物を含むこれらの化合物の医薬組成物が提供される。

【００２１】

本発明の別の実施形態は、がんと診断された患者を処置する方法であって、がんと診断された患者を処置するために、患者に、式：

【化５】

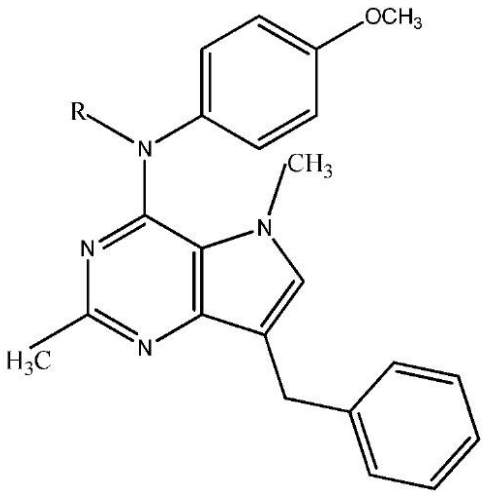


（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法を提供する。

【００２２】

本発明の別の実施形態は、がんと診断された患者を処置する方法であって、がんと診断された患者を処置するために、患者に、式：

【化６】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法を提供する。

【００２３】

本発明の別の実施形態は、がんと診断された患者を処置する方法であって、がんと診断された患者を処置するため、患者に、７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン、７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキ

ノリン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－Ｎ，２，５－トリメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、および１－（７－ベンジル－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリンの群から選択される治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む、治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法を提供する。

【００２４】

本発明は、単一の薬剤、例えば、以下に限定されないが、細胞毒性作用および抗血管新生作用の両方を有するよう設計された、図１の化合物１～５を提供する。この抗血管新生作用は、血管内皮成長因子－２（ＶＥＧＦＲ２）の阻害を介して媒介される。細胞毒性作用は、チューブリン阻害によって媒介される。例えば、図１の化合物１は、微小管標的剤の活性を制限する、２つの臨床的に重要な腫瘍抵抗性機序：Ｐ－糖タンパク質およびβＩＩＩチューブリンの発現を克服する。図１の化合物１は、細胞の微小管の脱重合を引き起こし、G_2／Ｍ期において細胞を抑止して、アポトーシス細胞死の引き金となった。インビボで、この化合物は、２つの横腹異種移植片モデル［ＢＬＢＣ　ＭＤＡ－ＭＢ－４３５およびＵ２５１神経膠腫モデル］および４Ｔ１トリプルネガティブ胸部の同所性の同種移植片モデルにおいて、腫瘍サイズを縮小し、血管分布を低減させた。これらのインビボモデルでは、図１の化合物１の活性は、動物に対する明白な毒性なしに、テモゾロミド（Ｕ２５１）、ドセタキセルおよびスニチニブ（ＭＤＡ－ＭＢ－４３５および４Ｔ１）の活性よりも優れていた。

【００２５】

血管新生経路の複雑さは、血管新生の単一局面だけを撹乱しても、顕著な臨床的成功に帰着し得ないことを暗示している。複数の受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）は、腫瘍において共活性化され、重複するインプットは下流のシグナル伝達を駆動および維持し、これにより、単一ＲＴＫを標的とする治療法の有効性が限定される。ＶＥＧＦＲ２阻害に対する抵抗性は、腫瘍内皮細胞における血小板由来成長因子受容体－β（ＰＤＧＦＲβ）発現の向上、腫瘍の脈管構造への周皮細胞の動員の向上、および他の血管新生誘導因子の増加と関連している。同様に、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）阻害は、ＶＥＧＦＲ２の上方調節をもたらすことができ、これは続いて、ＥＧＦＲに依存しない腫瘍成長のシグナル伝達を促進し、こうして、ＥＧＦＲ阻害剤の抵抗性に寄与する。ＥＧＦＲ阻害の影響はまた、ＰＤＧＦＲの活性化によって部分的に克服され得る。したがって、複数のＲＴＫを標的とすることにより、効果的に標的化される血管新生性シグナル伝達の割合が最大化される。

【００２６】

本発明は、とりわけ、ＶＥＧＦＲ２、ＰＤＧＦＲβおよびＥＧＦＲなどの、複数のＲＴＫを阻害する、抗血管新生剤を開示している。したがって、抗チューブリンおよび複数のＲＴＫを阻害する可能性を有する単一の薬剤を特定することを目的として、細胞毒性抗チューブリン作用を有することに加え、ＲＴＫ、ＶＥＧＦＲ２、ＰＤＧＦＲβおよびＥＧＦＲに対する活性に及ぼす構造的変化の影響を調査することは興味深いことであった。本発明の図１の化合物２～５は、本発明の図１の化合物１の立体構造的に拘束されたアナログとして設計した。

【００２７】

生物学的評価

抗チューブリンおよびＲＴＫ阻害作用（表１）

本発明の図１の化合物２、４および５は、コンブレタスタチンＡ－４と同等である、有効かつ強力な、ウシチューブリン会合の阻害剤である。

【００２８】

腫瘍内皮細胞によって過剰発現されるＲＴＫに対するこれらの活性について、図１の化

合物２～５を評価した。図１の化合物２～５は、ＶＥＧＦＲ２に対して、スニチニブおよびセマキシニブと同等である効力を有する（表１）。図１の化合物３～５は、ＥＧＦＲに対して、エルロチニブと同等である効力を有する。図１の化合物３および４は、ＰＤＧＦＲβに対して、ＤＭＢＩと同等である効力を有する。

【００２９】

図１の化合物３～４は、Ａ４３１細胞の強力な阻害を示し、ドキソルビシンの活性と同等である活性を示す。

【００３０】

パクリタキセルおよびドセタキセルは、野生型ＨｅＬｅ細胞中よりもβＩＩＩチューブリンを過剰発現する細胞系において、３分の１少ない効力しかない一方、図１の化合物２～５は、βＩＩＩチューブリンの過剰発現とは無関係に、両方の細胞系を等しい効力で阻害した。

【表１】

表1.チューブリン、コルヒチン結合およびRTKの阻害

図 1: 化合物	阻害			キナーゼ阻害 IC_{50}[全細胞アッセイ]			A431 細胞毒性	HeLa 細胞毒性	
	チューブリン会合 IC_{50}	コルヒチン結合		VEGFR2	PDGFR β	EGFR		野生型	βIII 過剰発現
	(μM)	(5μM 阻害剤)	(1μM 阻害剤)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)
2	3.3 ± 0.3			38.7 ± 7.1	90.3 ± 18.3	33.6 ± 5.6	40.1 ± 5.6	250 ± 0	250 ± 0
3	> 20 (作用しない)			26.7 ± 4.6	7.2 ± 0.9	2.6 ± 0.42	2.3 ± 0.3	5000 ± 0	5000 ± 0
4	0.48 ± 0.008	92 ± 0.2	73 ± 3	33.0 ± 5.0	10.3 ± 1.7	2.3 ± 0.3	1.2 ± 0.07	14 ± 2	14 ± 1
5	0.91 ± 0.03	72 ± 2		32.9 ± 4.9	30.2 ± 7.2	4.9 ± 0.6	8.1 ± 0.8	60 ± 0	58 ± 2
コンブレタスタチン A-4	1.2 ± 0.01	98 ± 0.3						1.8 ± 0.4	2.5 ± 0.7
パクリタキセル								5.3 ± 2	16.1 ± 1
ドセタキセル								4.0 ± 2	13 ± 4
セマキシニブ				12.9					
スニチニブ				18.9 ± 2.7	83.1 ± 10.1	172.1 ± 19.4			
エルロチニブ				124.7 ± 18.2	12.2 ± 1.9	1.2 ± 0.2			
DMBI					3.75				
ドキソルビシン							1.35 ± 0.03		

【００３１】

［^{3}Ｈ］コルヒチン結合に及ぼす作用（表１）

図１において示されている化合物４および５は、ウシ脳チューブリン会合、およびチューブリンに結合している［^{3}Ｈ］コルヒチンの強力な阻害剤（コンブレタスタチンＡ－４の活性と同等である活性）であり、これらの化合物は、チューブリンのコルヒチン部位に結合することを示している。

【表２－１】

表2.図1の化合物2および4の腫瘍細胞阻害活性(NCI)GI_{50}(10^{-8}M)

パネル/細胞系列	GI_{50} (10^{-8} M) 化合物		パネル/細胞系列	GI_{50} (10^{-8} M) 化合物		パネル/細胞系列	GI_{50} (10^{-8} M) 化合物		パネル/細胞系列	GI_{50} (10^{-8} M) 化合物	
白血病	2	4	結腸がん	2	4	黒色腫	2	4	腎がん	2	4
CCRF-CEM	22.6	3.35	COLO 205	23.2	2.63	LOX IMVI	52.1	5.88	786 - 0	93.4	9.32
HL-60(TB)	22.2	2.68	HCC-2998	31.8	7.11	MALME-3M	33.0	1.77	A498	19.7	2.02
K-562	11.1	3.37	HCT-116	36.8	3.50	M14	25.2	2.95	ACHN	83.0	17.2
MOLT-4	34.5	5.08	HCT-15	36.6	3.81	MDA-MB-435	34.1	2.14	CAKI-1	34.1	5.66
RPMI-8226	26.6	3.69	HT29		3.51	SK-MEL-2		2.86	RXF 393	21.2	2.54
SR	92.2	3.38	KM12	36.6	4.45	SK-MEL-28	36.8	4.87	SN12C	61.8	8.87
NSCLC			SW-	37.0	3.84	SK-MEL-5	32.5	5.42	TK10	12.3	

【表２－２】

			620								
A549/ATCC	40.6	4.40	**CNS がん**			UACC-257	10.8	7.82	UO-31	39.0	20.9
EKVX	46.3		SF-268	72.3	35.0	UACC-62	65.9	47.5	**前立腺がん**		
HOP-62	37.9	4.78	SF-295	19.2	3.04	**卵巣がん**			PC-3		4.96
HOP-92	18.9	4.71	SF-539	26.0	2.54	IGROVI	44.0	9.58	DU-145	38.3	4.44
NCI-H226	13.6	30.4	SNB-19	54.9	5.47	OVCAR-3	28.5	3.52	**乳がん**		
NCI-H23	32.0	4.58	SNB-75	18.2	2.78	OVCAR-4	46.8		MCF7	24.8	3.33
NCI-H322M	36.2	7.36	U251	31.6	4.43	OVCAR-5	54.3	26.9	MDA-MB-231/ATCC	64.1	6.37
NCI-H460	33.7	3.87				OVCAR-8	48.7	4.91	HS 578T	58.2	6.23
NCI-H522	31.6	2.39				NCI/ADR-RES	26.5	3.28	BT-549	75.5	4.82
						SK-OV-3	42.3	4.54	T-47D	12.8	
									MDA-MB-468	15.3	3.01

【００３２】

ＮＣＩ６０腫瘍パネル（表２）

ＮＣＩ６０腫瘍細胞系パネルにおける、腫瘍の細胞毒性について、図１に示されている化合物２（チューブリンおよびＶＥＧＦＲ２阻害剤）および４（チューブリン、ＶＥＧＦＲ２、ＥＧＦＲおよびＰＤＧＦＲβ阻害剤）を評価した。どちらの化合物も２～３桁のナノモルのGI_{50}を示す。

【００３３】

ＣＡＭアッセイ

ニワトリしょう尿膜（ＣＡＭ）抗血管新生活性アッセイにおける血管形成に及ぼす効果について、図１に示されている化合物４を試験し、２．２±０．４μＭのIC_{50}値［スニチニブ、IC_{50}＝１．３±０．０７μＭ；エルロチニブIC_{50}＝２９．１±１．９μＭ］を有することが見出された。

【００３４】

インビボ試験

作用機序に関する特定のどのような理論にも拘泥されないが、本発明者らは、図１に示されている化合物４が、チューブリン、ＰＤＧＦＲβ、ＶＥＧＦＲ２およびＥＧＦＲの阻害を含めた、単一の実体における４つの別々の作用機序を有すると考えている。図１に示されている化合物４を、マウスの前臨床腫瘍モデルで評価した。

【００３５】

４Ｔ１－Ｌｕｃ２ＧＦＰのトリプルネガティブマウス乳がんモデル

ＢＡＬＢ／ｃマウスの乳房脂肪パッド４に７．５ｋの４Ｔ１－Ｌｕｃ２ＧＦＰトリプルネガティブマウス乳がん細胞を同所的に移植した。移植７日後に、腫瘍は動物の９０％を超えて目視可能である。８日目、および実験が終了するまで１週間に２回、継続して、化合物４・ＨＣｌ（すなわち、図１に示されている化合物４の塩酸塩）のＭＴＤ（４０ｍｇ／ｋｇと決定した）を、腫瘍を有するマウスにＩＰ投与した。ドキソルビシンをそのＭＴＤの毎週１ｍｇ／ｋｇで比較として投与した。両方の薬物とも溶媒（通常の生理食塩水中、５％のｓｏｌｕｔｏｌ－１５、５％のＰｈａｒｍａＳｏｌｖｅ）中であり、溶媒対照群は、偽注射（未処置）群に加えて含まれた。一次腫瘍体積および動物重量は、実験全体を通してノギスによって評価した。

【００３６】

図２は、トリプルネガティブマウス乳房腫瘍に及ぼす、化合物４・ＨＣｌ（図１に示されている化合物４のＨＣｌ塩形態）の効果を示している。図２において、化合物４・ＨＣｌ（すなわち、図４に示されている化合物４の塩形態、ここでは、塩酸塩形態として）は、対担体または対ドキソルビシンで、４Ｔ１一次成長を有意に低下させた。

【００３７】

図３は、動物重量に及ぼす図１に示されている化合物４（ここでは、ＨＣｌ塩形態として）の効果を示している。ドキソルビシンは、数匹の動物において重量減少をもたらし始めた。しかし、化合物４・ＨＣｌは、動物重量（動物は重量が増加、図４）に変化をもたらさず、全身毒性がより低いことを示している。

【００３８】

４０日目に、すべての動物に、脈管構造のマーカーとして、蛍光標識デキストランをＩＶ注射した。腫瘍を摘出して秤量した。肺を摘出して、転移について評価した。小さな微小転移（脈管構造がなんらない１～９個の細胞）；大きな微小転移（脈管構造のない＞１０個の細胞）およびマクロ転移（明白な脈管構造を有する＞１０個の細胞）を計数した。図４は、腫瘍重量に及ぼす図４の化合物４（ここでは、ＨＣｌ塩として）の効果を示している。

【００３９】

図４は、動物重量に及ぼす、図１の化合物４のＨＣｌ塩形態の効果を示している。化合物４・ＨＣｌは、実験の終わりの腫瘍重量を低下させた。

【００４０】

図５は、肺の微小転移およびマクロ転移に及ぼす、図１の化合物４（ここでは、ＨＣｌ塩形態として）の効果を示している。化合物４・ＨＣｌにより、肺の小さな微小転移の数が減少し、より重要なことに、４・ＨＣｌ化合物で処置した動物では、肺マクロ転移はまったくなかった。

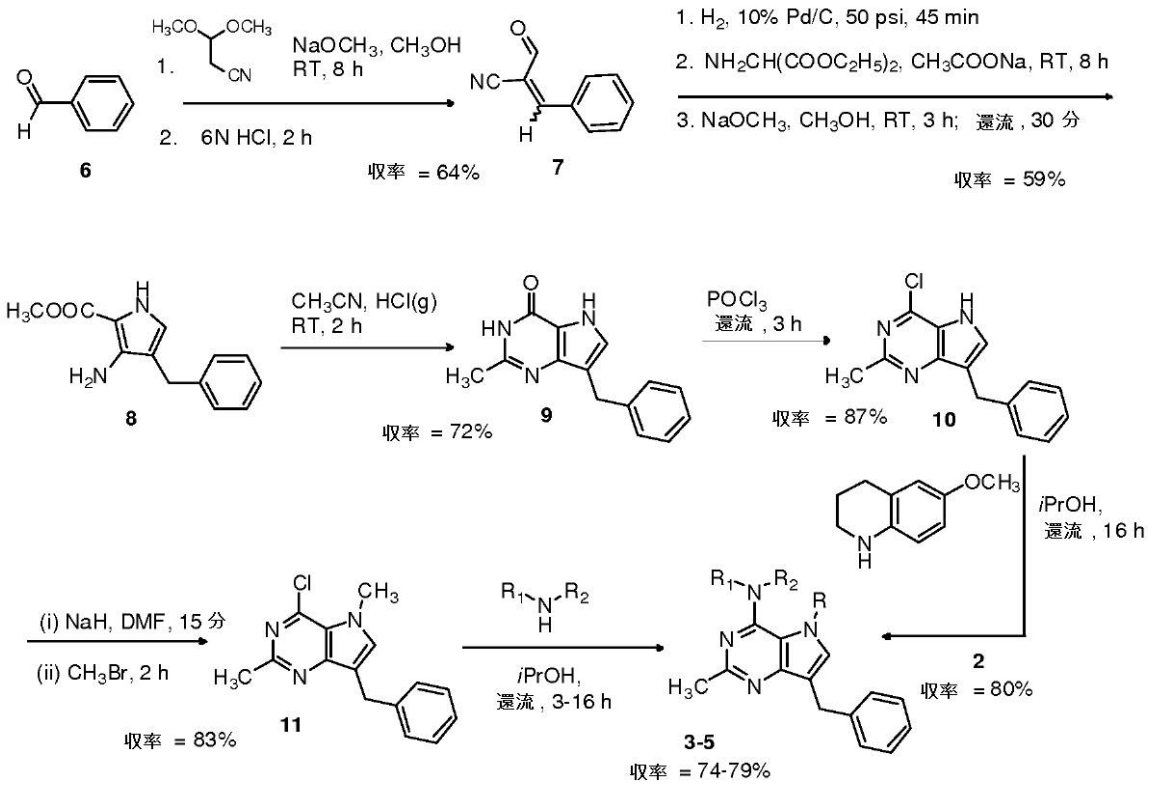
【００４１】

要約すると、本発明者らは、図１の化合物１のこれらの立体構造的に拘束されるアナログは、チューブリンおよびＶＥＧＦＲ２阻害活性を有することに加えて、ＰＤＧＦＲβおよびＥＧＦＲに対する改善された活性を有することを発見した。本発明者らは、単一の実体で、チューブリン阻害により複数のＲＴＫ阻害および細胞毒性作用による、抗血管新生作用を有するこれらの水溶性化合物は、腫瘍細胞抵抗性を遅延または防止することに加え、恐らくは、複数の薬剤の薬物動態問題を回避すること、薬物－薬物相互作用を回避すること、より少ない用量を使用して毒性を緩和すること、および重複毒性がないことが可能となると考えている。

【００４２】

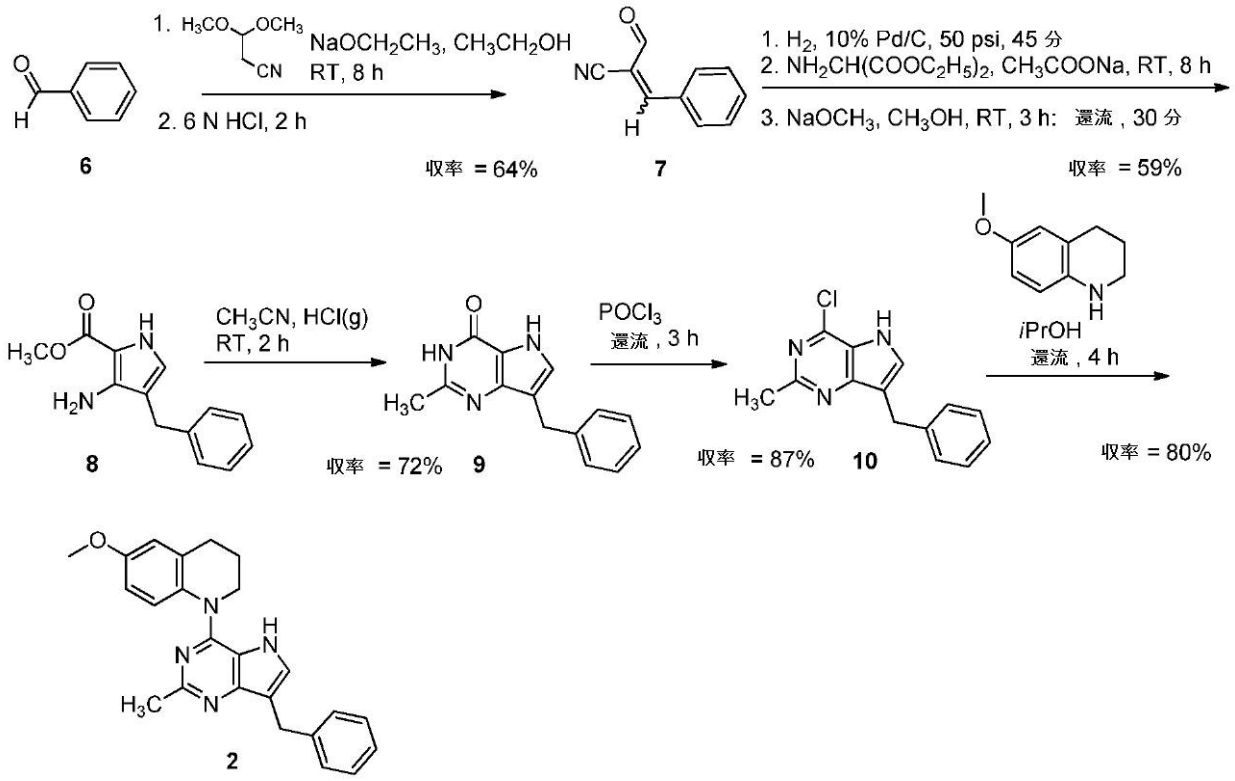
化学－合成スキーム（一般）

【化７】

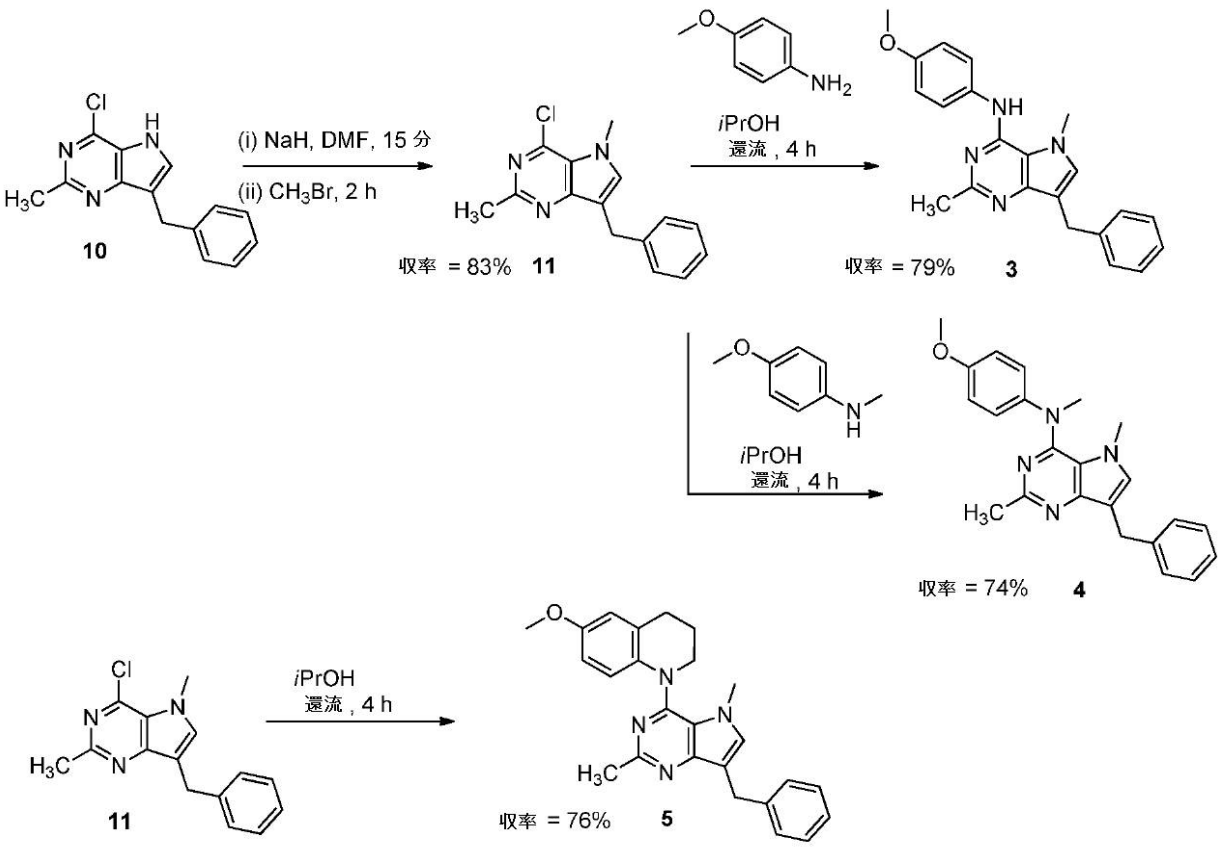


化学－合成スキーム

【化８】


1. H3CO OCH3 CN NaOCH2CH3, CH3CH2OH RT, 8 h
2. 6 N HCl, 2 h
6
収率 = 64%
7
1. H2, 10% Pd/C, 50 psi, 45 分
2. NH2CH(COOC2H5)2, CH3COONa, RT, 8 h
3. NaOCH3, CH3OH, RT, 3 h: 還流 , 30 分
収率 = 59%
CH3CN, HCl(g) RT, 2 h
8
収率 = 72%
9
POCl3 還流 , 3 h
収率 = 87%
10
iPrOH 還流 , 4 h
収率 = 80%
2

【化９】



【００４３】

実験：

蒸発はすべて、回転式蒸発器を用いて真空中で実施した。分析用試料は、ＣＨＥＭ－ＤＲＹ乾燥装置中、５０℃、P_2O_5上、真空中で乾燥した。融点は、ＦＬＵＫＥ５１Ｋ／Ｊ電子温度計を備えたＭＥＬ－ＴＥＭＰ　ＩＩ融点測定装置を使用するか、またはＭＰＡ１００　ＯｐｔｉＭｅｌｔ自動化融点システムを使用するかのどちらかで決定し、補正しない。プロトン（^{1}Ｈ　ＮＭＲ）の核磁気共鳴スペクトルは、ＴｏｐＳｐｉｎ処理ソフトウェアとともに、Ｂｒｕｋｅｒ　Ａｖａｎｃｅ　ＩＩ４００（４００ＭＨｚ）またはＢｒｕｋｅｒ　Ａｖａｎｃｅ　ＩＩ５００（５００ＭＨｚ）ＮＭＲシステムで記録した。化学シフト値（δ）は、内部標準としてのテトラメチルシランに対するｐｐｍ（百万分率）で表す：ｓ、シングレット；ｄ、ダブレット；ｄｄ、ダブレットのダブレット；ｔ、トリプレット；ｑ、カルテット；ｍ、マルチプレット；ｂｒ、ブロードなシングレット；ｔｄ、ダブレットのトリプレット；ｄｔ、トリプレットのダブレット；ｑｕｉｎ、クインテット。薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）は、Ｗｈａｔｍａｎ（登録商標）ＰＥ　ＳＩＬ　Ｇ／ＵＶ２５４フレキシブルシリカゲルプレート上で行い、スポットは、２５４および３６５ｎｍの紫外線照射下で可視化した。ＴＬＣに使用した溶媒の比は、体積基準である。分析用試料はすべて、少なくとも２つの異なる溶媒系で、ＴＬＣ上で均一であった。カラムクロマトグラフィーは、シリカゲル（７０～２３０メッシュ、Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）カラム上で行った。フラッシュクロマトグラフィーは、ＣｏｍｂｉＦｌａｓｈ（登録商標）Ｒｆシステム、モデルＣＯＭＢＩＦＬＡＳＨ　ＲＦで実施した。あらかじめ充填されている、様々なサイズのＲｅｄｉＳｅｐ（登録商標）Ｒｆ順相フラッシュカラム（２３０～４００メッシュ）を使用した。カラムクロマトグラフィー用のシリカゲルの量（重量）は、分離される粗製化合物の量（重量）の５０～１００倍の範囲とした。元素

分析は、Ａｔｌａｎｔｉｃ Ｍｉｃｒｏｌａｂ，Ｉｎｃ．、Ｎｏｒｃｒｏｓｓ、ＧＡにより行った。元素組成は、計算値の±０．４％以内である。一部の分析用試料において頻繁に見出される少量モルの水または有機溶媒は、真空中で２４～４８時間乾燥したにもかかわらず防止することができず、^{1}Ｈ ＮＭＲスペクトルにおけるそれらの存在により可能な場合、確認した。

【００４４】

メチル３－アミノ－４－ベンジル－１Ｈ－ピロール－２－カルボキシレート（８）

ベンズアルデヒド（６．２０ｇ、０．２５ｍｏｌ）および３，３－ジメトキシプロピオニトリル（３５ｇ、０．３０ｍｏｌ）を一緒に混合して、ナトリウムエトキシドのエタノール溶液（０．５Ｍ）に１５分間で加えた。この混合物を室温で８時間撹拌した。大部分の溶媒を真空中で除去し、残留物をＥｔＯＡｃ（５００ｍＬ）と水（４５０ｍＬ）との間で分配した。有機層を分離し、ブラインにより洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥して、溶媒を真空中で蒸発させた。残留油状物を６Ｎ ＨＣｌ（７５ｍＬ）により注意深く処理し、この混合物を室温で２時間撹拌した。固体を濾別し、水により十分に洗浄し、真空中で乾燥すると、オフホワイトの粉末（７）が得られ、これを水素化用瓶中、５０ｐｓｉのH_2下、メタノールおよび１０％Ｐｄ／Ｃと一緒に４５分間振とうした。触媒を濾過によって除去し、アミノマロン酸ジエチル、酢酸ナトリウムおよび水の混合物を加え、この混合物を室温で８時間撹拌した。大部分の溶媒を真空中で除去し、残留物をＥｔＯＡｃと水との間で分配した。有機層を分離し、硫酸ナトリウムで乾燥して、真空中で蒸発させた。ナトリウムメトキシドを含有するメタノールに残留黄色油状物を溶解して、室温で３時間撹拌し、次に、３０分間加熱して還流した。大部分の溶媒を真空中で蒸発させ、残留物を水（２００ｍＬ）により処理すると、８が明るい黄色固体として得られ、これを$CHCl_3$中の１％（ｖ／ｖ）CH_3OHによるフラッシュクロマトグラフィーにかけた。ｍｐ：１２０～１２２℃；^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）δ ｐｐｍ ３．６２（ｓ，２Ｈ，CH_2）３．６８（ｓ，３Ｈ，CH_3）４．８４（ｂｒ，２Ｈ，ｅｘｃｈ，NH_2）６．４６（ｄ，Ｊ＝３．５１Ｈｚ，１Ｈ，６－Ｈ）７．１１－７．１６（ｍ，１Ｈ，C_6H_5）７．１９－７．２７（ｍ，４Ｈ，C_6H_5）１０．４７（ｂｒ，１Ｈ，ｅｘｃｈ，ＮＨ）．

【００４５】

７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン［９］

２５０ｍＬフラスコに、８（１．５ｇ、６．５１ｍｍｏｌ）およびアセトニトリル（３０ｍＬ）を加えた。室温で１５分間乾燥ＨＣｌガスを溶液に通気した。沈殿物が形成され、それは、反応が進行するにつれて溶解した。ＨＣｌガスをさらに１時間溶液に通気し、この混合物を２時間撹拌した。大部分の溶媒を真空中で蒸発させて、水（２０ｍＬ）を加えて、水性混合物をアンモニアにより中和すると、沈殿物が得られ、これを濾過により除去して、水により洗浄し、真空中で乾燥すると明るい黄色固体が得られた。シリカゲルおよびメタノールを加えた。溶媒を蒸発させると、プラグが得られた。得られたシリカゲルのプラグをシリカゲルカラムにロードし、１％（ｖ／ｖ）ＭｅＯＨ／$CHCl_3$により溶出した。生成物を含有しているフラクション（ＴＬＣ）をプールして、溶媒を蒸発させると、９（１．１２ｇ、７２％）が得られた。ＴＬＣ R_f＝０．４２（CH_3OH：$CHCl_3$；１：２０）；白色固体；ｍｐ、２５４～２５６℃；^{1}Ｈ ＮＭＲ，ＤＭＳＯ－d_6：δ ２．２９（ｓ，３Ｈ，２－CH_3）３．９０（ｓ，２Ｈ，CH_2）７．０７（ｄ，Ｊ＝２．９０ Ｈｚ，１Ｈ，Ａｒ）７．１０－７．１５，（ｍ，１Ｈ，Ａｒ）７．２１－７．２４，（ｍ，４Ｈ，Ａｒ）１２．０８６（ｓ，１Ｈ，ｅｘｃｈ，ＮＨ）分析、計算値$C_{14}H_{13}N_3O\cdot 0.1H_2O$：Ｃ、６９．７５；Ｈ、５．５２；Ｎ、１７．４３。測定値Ｃ、６９．８１；Ｈ、５．５２；Ｎ、１７．４４。

【００４６】

７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン［１０］

ＰＯＣｌ$_3$（１２ｍＬ）に化合物９（１．５ｇ、６．２７ｍｍｏｌ）を加え、３時間、加熱して還流した。溶媒を真空中で蒸発させて、アンモニア溶液を用いて残留物をｐＨ８に調整した。得られた沈殿物を濾過により除去し、水によって洗浄して、Ｐ$_2$Ｏ$_5$上で、真空中で乾燥すると、明るい黄色固体が得られた。シリカゲル（４．５ｇ）およびメタノール（２０ｍＬ）を加えた。溶媒を蒸発させると、プラグが得られた。得られたシリカゲルのプラグをシリカゲルカラムにロードし、１％（ｖ／ｖ）ＣＨ$_3$ＯＨ／ＣＨＣｌ$_3$により溶出した。生成物を含有するフラクション（ＴＬＣ）をプールして、溶媒を蒸発させると、１０（１．４１ｇ、８７％）が得られた。ＴＬＣ Ｒ$_f$＝０．５６（ＣＨ$_3$ＯＨ：ＣＨＣｌ$_3$；１：２０）；白色固体；ｍｐ１８１～１８３℃；^{1}Ｈ ＮＭＲ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$：δ ２．６１（ｓ，３Ｈ，２－ＣＨ$_3$）４．０４（ｓ，２Ｈ，ＣＨ$_2$）７．１３－７．２８（ｍ，５Ｈ，Ａｒ）７．６８（ｄ，Ｊ＝２．７２Ｈｚ，１Ｈ，ＣＨ）１２．０８６（ｓ，１Ｈ，ｅｘｃｈ，５－ＮＨ）分析、計算値Ｃ$_{14}$Ｈ$_{12}$Ｎ$_3$Ｃｌ：Ｃ、６５．２５；Ｈ、４．６９；Ｎ、１６．３０。測定値Ｃ、６５．２３；Ｈ、４．７０；Ｎ、１６．３１。

【００４７】

１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン（２）

化合物１０（０．１ｇ、０．３８ｍｍｏｌ）および６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン（０．０７ｇ、１．０５ｍｍｏｌ）をイソプロパノール（２０ｍＬ）に溶解し、４時間還流しながら加熱して。溶媒を真空中で蒸発させて、カラムクロマトグラフィー（ＣＨＣｌ$_3$：ＣＨ$_3$ＯＨ；５０：１；ｖ／ｖ）により残留物を精製すると、茶色固体（１２０．０ｍｇ）が得られた：収率＝８０％；ＴＬＣ Ｒ$_f$＝０．６（ＣＨ$_3$ＯＨ：ＣＨＣｌ$_3$；１：２５）。淡黄色固体；ｍｐ２６２～２６４℃；^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）^{TM} ｐｐｍ １．９７－２．０５（ｍ，２Ｈ，ＣＨ$_2$）２．６７（ｓ，３Ｈ，ＣＨ$_3$）２．７６－２．８２（ｍ，２Ｈ，ＣＨ$_2$）３．７９（ｓ，３Ｈ，ＣＨ$_3$）４．１１（ｓ，４Ｈ，ＣＨ$_2$）６．７７－６．８２（ｍ，１Ｈ，Ａｒ）６．９２－６．９６（ｍ，１Ｈ，Ａｒ）７．１２－７．２４（ｍ，２Ｈ，Ａｒ）７．２８－７．３４（ｍ，４Ｈ，Ａｒ）７．４４－７．４８（ｍ，１Ｈ，Ａｒ）１０．８８（ｓ，１Ｈ，ｅｘｃｈ，ＮＨ）１４．３６（ｓ，１Ｈ，ｅｘｃｈ，ＨＣｌ）分析、計算値Ｃ$_{24}$Ｈ$_{24}$Ｎ$_4$Ｏ・ＨＣｌ・０．２５Ｈ$_2$Ｏ：Ｃ、６７．７５；Ｈ、６．０４；Ｎ、１３．１７；Ｃｌ、８．３３。測定値Ｃ、６７．８４；Ｈ、６．２１；Ｎ、１２．９５；Ｃｌ、８．０６。

【００４８】

７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン（１１）

窒素下で、化合物１０（３００ｍｇ、１．１６ｍｍｏｌ）をジメチルホルムアミド（２０ｍＬ）に溶解し、水素化ナトリウム（３１ｍｇ、１．２８ｍｍｏｌ）を加えた。水素ガスのさらなる発生が観察されなくなった後、この混合物を１５分間撹拌した。臭化メチル（０．２ｍＬ）を加え、この反応物を２時間撹拌した。水を加えることによりこの反応をクエンチし、酢酸エチルを加えた。有機層を採集し、ブラインにより洗浄して、硫酸ナトリウムで乾燥した。シリカゲルプラグを作製し、カラムクロマトグラフィー（ＣＨＣｌ$_3$：ＭｅＯＨ；１００：１ ｖ／ｖ）によって精製すると、オフホワイトの固体が、収率＝８３％で得られた；ＴＬＣ Ｒ$_f$０．５（ＣＨ$_3$ＯＨ：ＣＨＣｌ$_3$；１：２５）。白色固体；ｍｐ、１４５～１４７℃^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）^{TM} ｐｐｍ ２．６２（ｓ，３Ｈ，ＣＨ$_3$）４．０１（ｓ，３Ｈ，ＣＨ$_3$）４．０３（ｓ，２Ｈ，ＣＨ$_2$）７．１７（ｔｄ，Ｊ＝５．６

5，2.76 Hz，1 H，6－CH）7.26 － 7.30 （m，4 H，C_6H_5）7.64 （s，1 H，C_6H_5）.

【００４９】

7－ベンジル－N－（4－メトキシフェニル）－2，5－ジメチル－5H－ピロロ［3，2－d］ピリミジン－4－アミン（3）

化合物3（11およびp－アニシジンから、2について記載されている通り合成した）：収率＝７９％；ＴＬＣ R_f 0．5（CH_3OH：$CHCl_3$；1：20）。白色固体；mp、２９１～２９２℃；^{1}H NMR （DMSO－d_6）：δ 2.66 （s，3 H，2－CH_3）3.6 （s，3 H，NCH_3）3.82 （s，3 H，OCH_3）4.08 （s，2 H，CH_2）7.08 （d，2 H，J ＝ 8.84 Hz，Ar）7.17 － 7.26 （m，6 H，Ar and 6－CH）7.4 （d，2 H，J ＝ 8.73，Ar）9.41 （br，1H，exch，NH）14.43 （s，1H，exch，HCl）．分析、計算値$C_{22}H_{22}N_4O$・HCl：C、66.91；H、5.87；N、14.19；Cl、8.98。測定値C、66.88；H、5.86；N、14.07；Cl、8.84。

【００５０】

7－ベンジル－N－（4－メトキシフェニル）－N，2，5－トリメチル－5H－ピロロ［3，2－d］ピリミジン－4－アミン（4）

化合物4（11および4－メトキシN－メチルアニリンから、2について記載されている通り合成した）：収率＝７４％；ＴＬＣ R_f＝0．5（CH_3OH：$CHCl_3$；1：20）、灰色固体；mp、１８６～１８７℃；^{1}H NMR （４００ MHz，DMSO－d_6）^{TM} ppm 2.73 （s，3 H，CH_3）2.80 （s，3 H，CH_3）3.63 （s，3 H，CH_3）3.78 （s，3 H，CH_3）4.08 （s，2 H，CH_2）7.00 （d，J ＝ 9.03 Hz，2 H，Ar）7.22 （d，J ＝ 5.52 Hz，1 H，Ar）7.25 － 7.33 （m，6 H，Ar）7.37 （s，1 H，Ar）8.33 （s，1 H，Ar）14.63 （s，1 H，exch，HCl）分析、．計算値$C_{23}H_{24}N_4O$・HCl：C、67.55；H、6.16；N、13.70；Cl、8.67。測定値C、67.41；H、6.20；N、13.59；Cl、8.61。

【００５１】

1－（7－ベンジル－2，5－ジメチル－5H－ピロロ［3，2－d］ピリミジン－4－イル）－6－メトキシ－1，2，3，4－テトラヒドロキノリン（5）

化合物5（11および6－メトキシ－1，2，3，4－テトラヒドロキノリンから、2について記載されている通り合成した）：収率＝７６％；ＴＬＣ R_f 0．6（CH_3OH：$CHCl_3$；1：20）白色固体；mp、１３０～１３２℃；^{1}H NMR （４００ MHz，DMSO－d_6）^{TM} ppm 2.07 （t，J ＝ 6.53 Hz，2 H，CH_2）2.72 （s，3 H，CH_3）2.79 － 2.88 （m，2 H，CH_2）2.97 （s，3 H，CH_3）3.72 － 3.78 （m，3 H，CH_3）3.96 － 4.06 （m，2 H，CH_2）4.13 （s，2 H，CH_2）6.68 － 6.72 （m，1 H，Ar）6.79 （d，J ＝ 9.03 Hz，1 H，Ar）6.91 （d，J ＝ 2.76 Hz，1 H，Ar）7.22 （td，J ＝ 5.84，2.64 Hz，1 H，Ar）7.30 － 7.35 （m，4 H，Ar）7.50 （s，1 H，Ar）14.71 （s，1 H，exch，HCl）.

【００５２】

参考文献

【数１】

1. Gangjee, A.; Pavana, R.K.; Ihnat, M.A.; Thorpe, J.E.; Disch, B.C.; Bastian, A.; Bailey-Downs, L.C.; Hamel, E.; Bai, R. Discovery of antitubulin agents with antiangiogenic activity as single entities with multitarget chemotherapy potential. *ACS. Med.Chem. Lett,* **2014**, *doi: 10.1021/ml4004793*

2. Gangjee, A.; Zaware, N.; Raghavan, S.; Disch, B. C.; Thorpe, J. E.; Bastian, A.; Ihnat, M. A. Synthesis and biological activity of 5-chloro-*N*4-substituted phenyl-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indole-2,4-diamines as vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibitors and antiangiogenic agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 1857-1864.

3. Gangjee, A.; Kurup, S.; Ihnat, M.A.; Thorpe, J.E.; Disch, B.C. N^4-aryl-6-substituted-phenylmethyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-diamines as receptor tyrosine kinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 910-914.

4. Gangjee, A.; Zaware, N.; Raghavan, S.; Ihnat, M.; Shenoy, S.; Kisliuk, R. L. Single agents with designed combination chemotherapy potential: Synthesis and evaluation of substituted pyrimido[4,5-*b*]indoles as receptor tyrosine kinase and thymidylate synthase inhibitors and as antitumor agents. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1563-1578.

【図１】

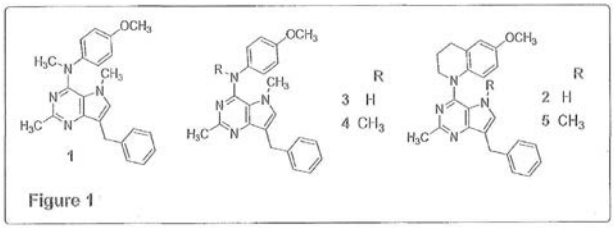


Figure 1

以下の通りにも特定される	化合物番号、図1
RP/AG/159-306	2
RP/AG/159-313	3
RP/AG/159-321	4
RP/AG/159-341	5

【図２】

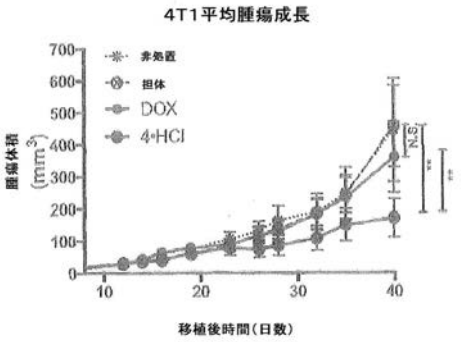


Figure 2

【図３】

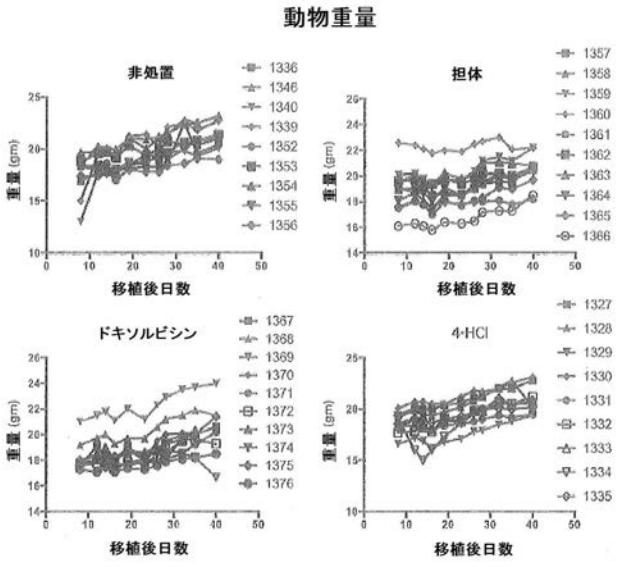


Figure 3

【図４】

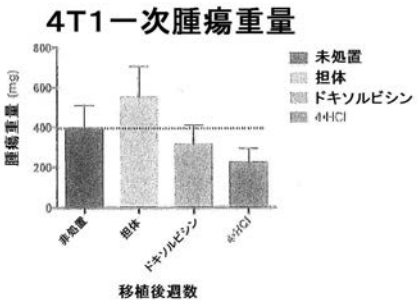
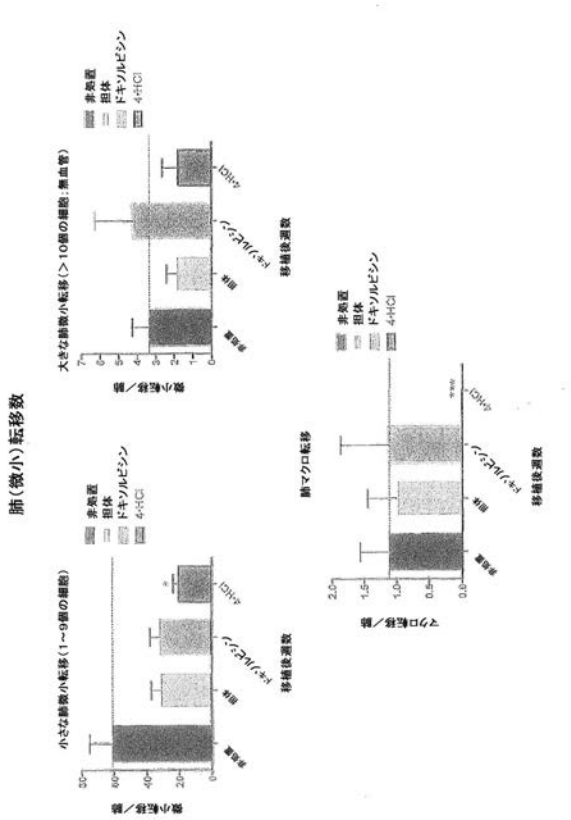


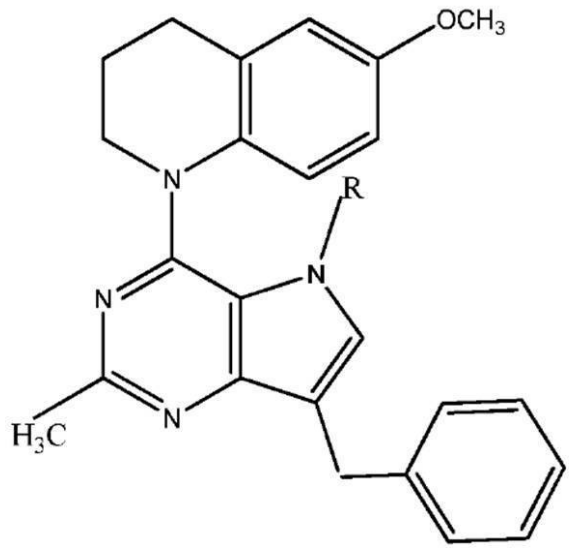
Figure 4

【図５】



【手続補正書】
【提出日】平成28年11月30日(2016.11.30)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の式：

【化１０】

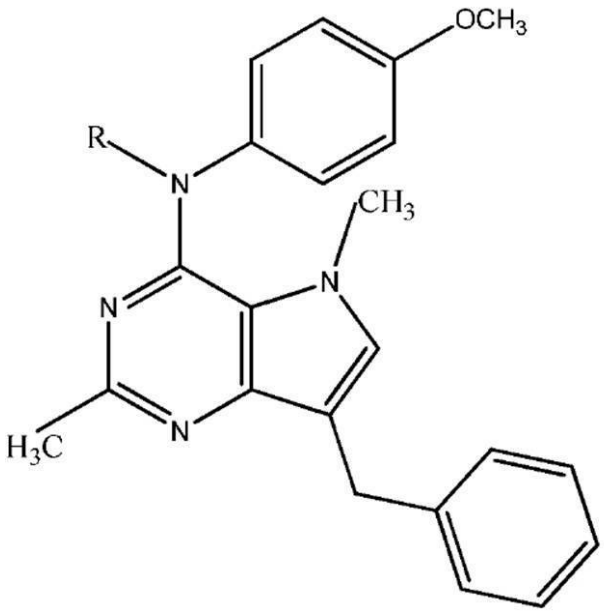


（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）
の化合物または前記式の化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物。

【請求項２】

以下の式：

【化１１】

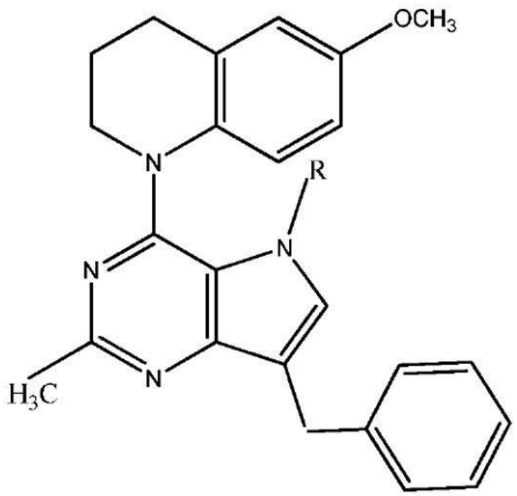


（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）
を含む化合物または前記式の化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物。

【請求項３】

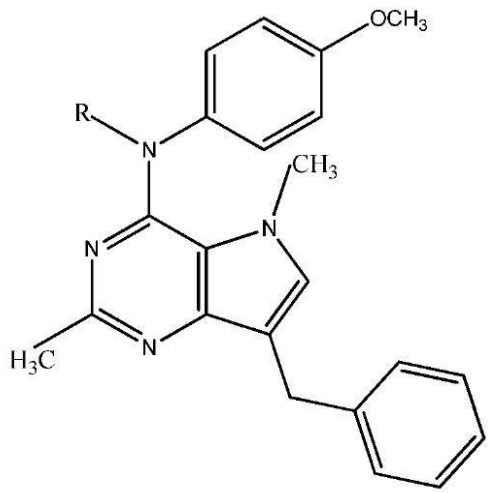
７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オ

ンである化合物または前記化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物。
【請求項４】
７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジンである化合物または前記化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物。
【請求項５】
７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジンである化合物または前記化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物。
【請求項６】
患者におけるがんの処置に使用するための組成物であって、
以下の式：
【化１２】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する化合物または前記式を有する化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物を含む、組成物。
【請求項７】
患者におけるがんの処置に使用するための組成物であって、
式：

【化１３】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する化合物または前記式を有する化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物を含む、組成物。

【請求項８】

患者におけるがんの処置に使用するための組成物であって、

７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン、７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－Ｎ，２，５－トリメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、および１－（７－ベンジル－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリンの群から選択される化合物または化合物の薬学的な塩、水和物もしくは溶媒和物を含む、組成物。

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１０】

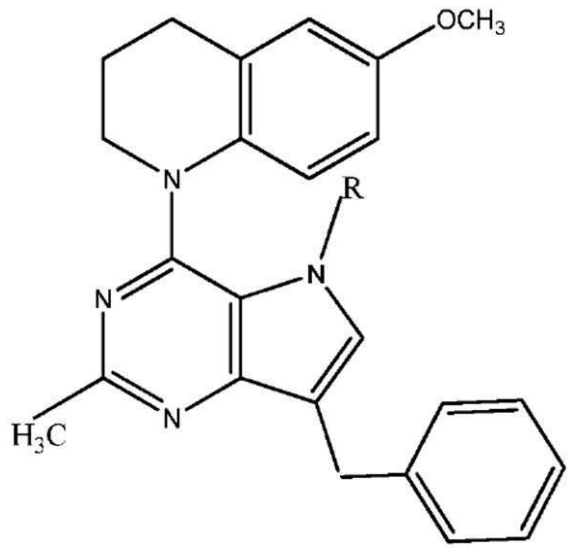
本発明の別の実施形態は、がんと診断された患者を処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載されている化合物、または任意選択で、治療有効量の本明細書に記載されているこれらの化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物および溶媒和物を含む医薬組成物を患者に投与するステップを含む方法を提供する。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

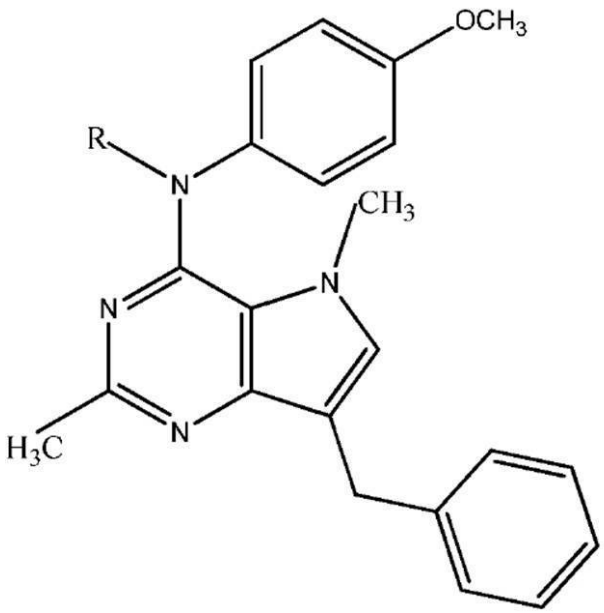
（項目１）

以下の式：

【化１０】

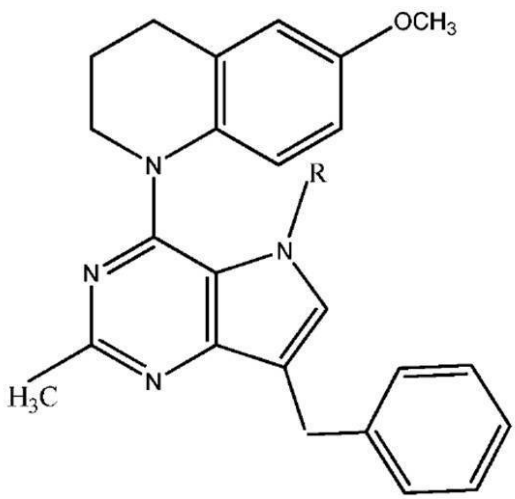


（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）
を含む化合物。
（項目２）
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、項目１に記載の化合物。
（項目３）
以下の式：
【化１１】



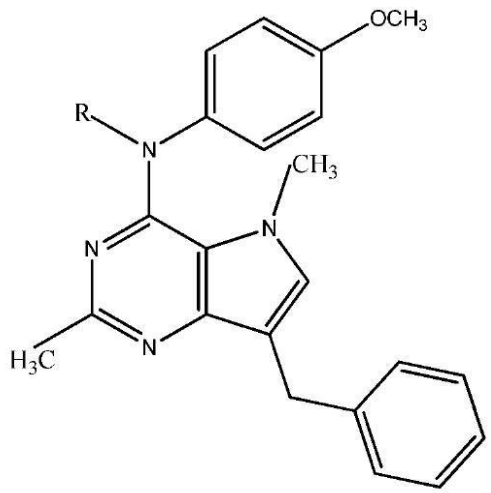
（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）

を含む化合物。
（項目４）
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、項目３に記載の化合物。
（項目５）
７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オンである化合物。
（項目６）
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、項目５に記載の化合物。
（項目７）
７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジンである化合物。
（項目８）
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、項目７に記載の化合物。
（項目９）
７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジンである化合物。
（項目１０）
薬学的に許容される前記化合物の塩、水和物および溶媒和物を含む、項目９に記載の化合物。
（項目１１）
がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、前記患者に、式：
【化１２】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法。
（項目１２）
がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、前記患者に、式：

【化１３】



（式中、Ｒは、Ｈ、および１～１０個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基からなる群から選択され、前記アルキル基は、部分的または完全に飽和されている）を有する治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法。

（項目１３）

がんと診断された患者を処置する方法であって、がんを処置するために、前記患者に、７－ベンジル－２－メチル－３Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４（５Ｈ）－オン、７－ベンジル－４－クロロ－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、７－ベンジル－４－クロロ－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン、１－（７－ベンジル－２－メチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、７－ベンジル－Ｎ－（４－メトキシフェニル）－Ｎ，２，５－トリメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－アミン、および１－（７－ベンジル－２，５－ジメチル－５Ｈ－ピロロ［３，２－ｄ］ピリミジン－４－イル）－６－メトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロキノリンの群から選択される治療有効量の化合物を投与するステップ、または任意選択で、薬学的に許容されるその塩、水和物および溶媒和物を含む治療有効量の前記化合物を投与するステップを含む方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 15/24216

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 31/519; C07D 487/04; A61P 35/00 (2015.01)
CPC - C07D 487/04
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols).
IPC(8): A61K 31/519; C07D 487/04; A61P 35/00 (2015.01)
CPC: C07D 487/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 514/265.1; 544/280

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase, Google Scholar, PubWEST, SureChem
pyrrolo[3,2-d]pyrimidine, pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4(5H)-one, 7-benzyl, tubulin, cancer/tumor, antitubulin/anti-tubulin

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2012/0264768 A1 (GANGJEE) 18 October 2012 (18.10.2012) Fig 2; Fig 7; Fig 8; Fig 18, Scheme A; para [0088], [0097], [0100]-[0101]	3-10, 12 ---------- 1-2, 11, 13
Y	GANGJEE et al. 'Discovery of Antitubulin Agents with Antiangiogenic Activity as Single Entities with Multitarget Chemotherapy Potential', ACS Med. Chem. Lett. 2014, Vol.5, pp 480-484. [Published 27 February 2014] pg 481, Fig 1; Table 1; pg 481, col 2, para 3	1-2, 11, 13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 May 2015 (15.05.2015)	15 JUN 2015
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

フロントページの続き

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

(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策
(72)発明者 ガンジー, アレーム
アメリカ合衆国 ペンシルバニア １５１０１, アリソン パーク, オークブルック コート ３８５５

Ｆターム(参考) 4C050 AA01 BB04 CC08 EE03 FF02 GG04 HH04
4C086 AA01 AA02 AA03 CB05 MA01 MA04 NA14 ZB26