

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-545096

(P2023-545096A)

(43)公表日 令和5年10月26日(2023.10.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L	4 C 0 7 6
A 6 1 K	31/496 (2006.01)	A 6 1 K	31/496	Z N A	4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 6
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02		4 H 0 4 5
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全120頁) 最終頁に続く

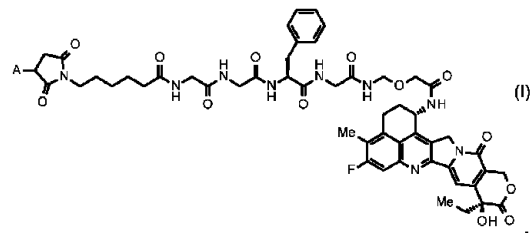
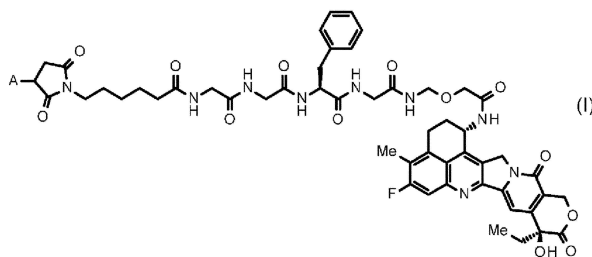
(21)出願番号	特願2023-521678(P2023-521678)	(71)出願人	523126102
(86)(22)出願日	令和3年10月8日(2021.10.8)		アストラゼネカ ユーケー リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年5月30日(2023.5.30)		イギリス国 シービー-2 0 エーエー ケ
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/059232		ンブリッジシャー, ケンブリッジ, フラ
(87)国際公開番号	WO2022/074617		ンシス クリック アヴェニュー 1, ケ
(87)国際公開日	令和4年4月14日(2022.4.14)		ンブリッジ バイオメディカル キャンパス
(31)優先権主張番号	63/089,859	(71)出願人	307010166
(32)優先日	令和2年10月9日(2020.10.9)		第一三共株式会社
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		東京都中央区日本橋本町三丁目5番1号
(81)指定国・地域	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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	230104019
			弁護士 大野 聖二
		(74)代理人	100119183
			弁護士 松任谷 優子
		(74)代理人	100149076
			弁護士 梅田 慎介
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗体-薬物コンジュゲート及びP A R P 1 選択的阻害薬の組み合わせ

(57)【要約】

P A R P 1 選択的阻害薬と組み合わせた抗 H E R 2 抗体-薬物コンジュゲートの投与のための医薬生成物が提供される。抗 H E R 2 抗体-薬物コンジュゲートは、以下の式:

【化1】



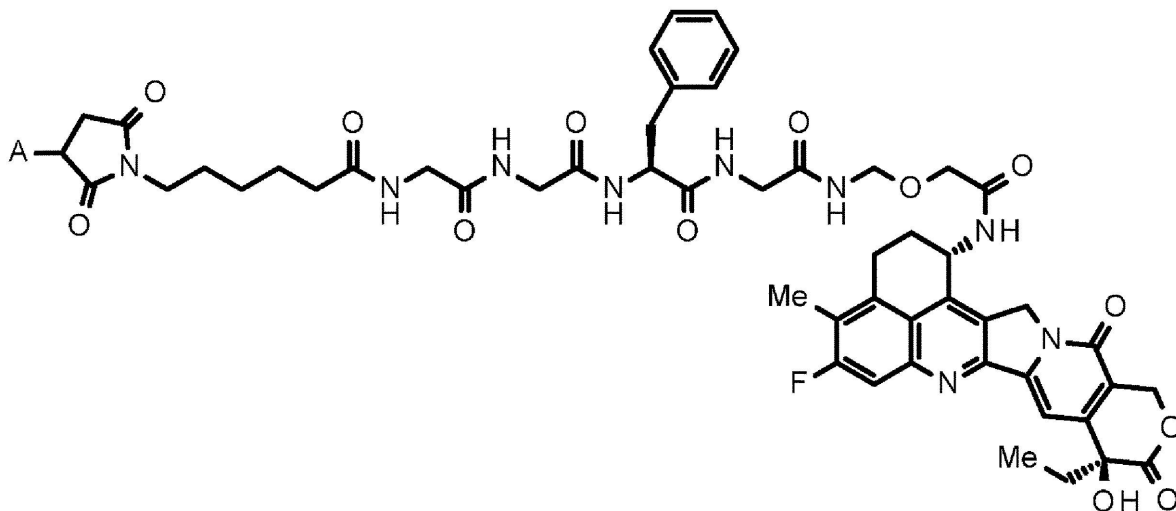
(式中、Aは、抗体に対する接続位置を表す)によって表される薬物-リンカーがチオエーテル結合を介して抗 H E R 2 抗体にコンジュゲートされている、抗体-薬物コンジュゲートである。抗体-薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬が対象に組み合わせて投与される治療的使用及び方法も提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

組み合わせでの投与のための、抗HER2抗体-薬物コンジュゲートと、PARP1選択的阻害薬と、を含む医薬生成物であって、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲートが、以下の式：

【化 1】



10

20

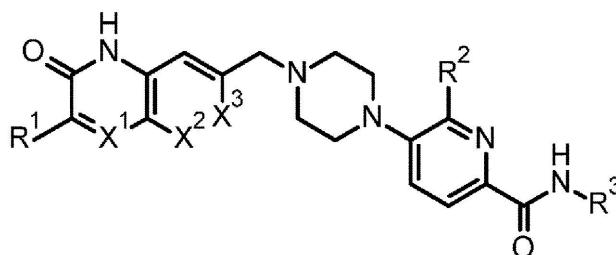
(式中、Aが、抗体に対する接続位置を表す)

によって表される薬物-リンカーがチオエーテル結合を介して抗HER2抗体にコンジュゲートされている、抗体-薬物コンジュゲートである、医薬生成物。

【請求項 2】

前記PARP1選択的阻害薬が、以下の式(I)：

【化 2】



30

(I)

(式中、

X¹及びX²が、それぞれ独立して、N及びC(H)から選択され、
X³が、独立して、N及びC(R⁴) (ここで、R⁴が、H又はフルオロである)から選択され、

R¹が、C₁~4アルキル又はC₁~4フルオロアルキルであり、

R²が、独立して、H、ハロ、C₁~4アルキル、及びC₁~4フルオロアルキルから選択され、

R³が、H又はC₁~4アルキルである)によって表わされる化合物、

又はその薬学的に許容される塩であり、

(但し、

X¹がNであるとき、X²がC(H)であり、且つX³がC(R⁴)であり、

40

50

X^2 が N であるとき、 X^1 が C (H) であり、且つ X^3 が C (R^4) であり；
 X^3 が N であるとき、 X^1 及び X^2 がいずれも C (H) である)、請求項 1 に記載の医薬生成物。

【請求項 3】

式 (I) において、 R^3 が C_{1-4} アルキルである、請求項 2 に記載の医薬生成物。

【請求項 4】

式 (I) において、 R^3 がメチルである、請求項 2 に記載の医薬生成物。

【請求項 5】

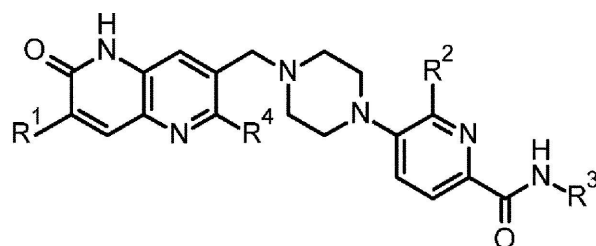
式 (I) において、 R^1 が、エチルである、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬生成物。

10

【請求項 6】

前記 P A R P 1 選択的阻害薬が、以下の式 (I a) :

【化 3】



(Ia)

20

(式中、
 R^1 が、 C_{1-4} アルキルであり、
 R^2 が、H、ハロ、 C_{1-4} アルキル、及び C_{1-4} フルオロアルキルから選択され、
 R^3 が、H 又は C_{1-4} アルキルであり、
 R^4 が、H である) によって表わされる化合物、
 又はその薬学的に許容される塩である、請求項 1 に記載の医薬生成物。

【請求項 7】

式 (I a) において、 R^2 が H 又はハロである、請求項 6 に記載の医薬生成物。

30

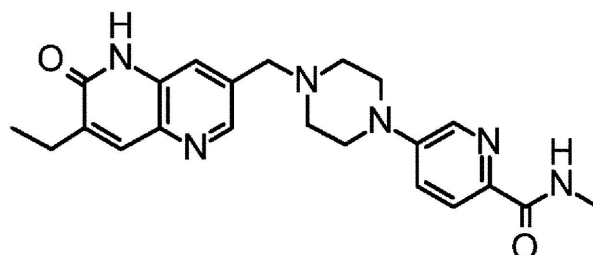
【請求項 8】

式 (I a) において、 R^1 がエチルであり、 R^2 が H、クロロ及びフルオロから選択され、 R^3 がメチルである、請求項 6 に記載の医薬生成物。

【請求項 9】

前記 P A R P 1 選択的阻害薬が、以下の式 :

【化 4】



40

によって表される A Z D 5 3 0 5、
 又はその薬学的に許容される塩である、請求項 1 に記載の医薬生成物。

【請求項 10】

前記抗 H E R 2 抗体が、配列番号 3 によって表されるアミノ酸配列からなる C D R H 1、
 配列番号 4 によって表されるアミノ酸配列からなる C D R H 2、及び配列番号 5 によ

50

て表されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖並びに配列番号6によって表されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号7のアミノ酸残基1～3からなるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号8によって表されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖を含む抗体である、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項11】

前記抗HER2抗体が、配列番号9によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号10によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖を含む抗体である、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項12】

前記抗HER2抗体が、配列番号1によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号2によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む抗体である、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬生成物。

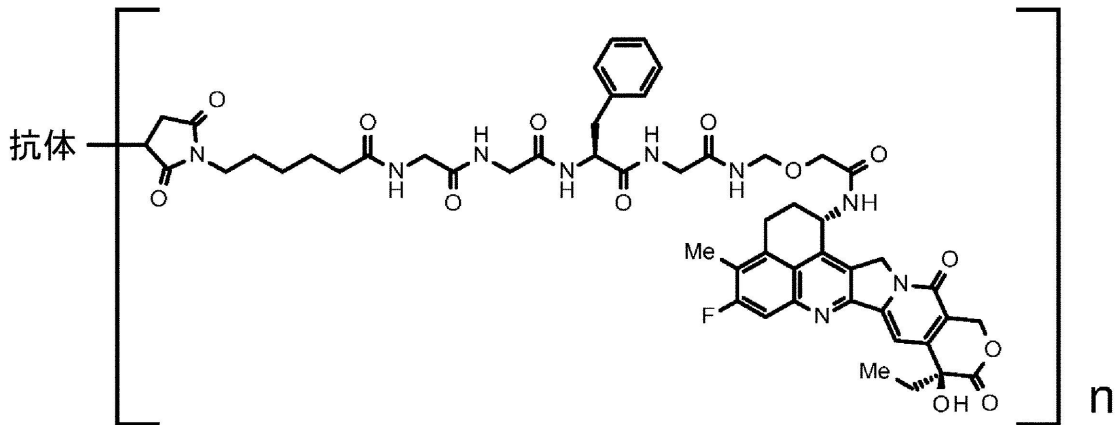
【請求項13】

前記抗HER2抗体が、配列番号11によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号2によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む抗体である、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項14】

前記抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートが、以下の式：

【化5】



(式中、「抗体」が、チオエーテル結合を介して前記薬物 - リンカーにコンジュゲートされた前記抗HER2抗体を指し、及びnが、前記抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗体分子あたりでコンジュゲートされた前記薬物 - リンカーの単位の平均数を指し、nが、7～8の範囲である)によって表される、請求項1～13のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項15】

前記抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートが、トラスツズマブ・デルクスステカン(DSS-8201)である、請求項1～14のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項16】

前記生成物が、同時投与のための、前記抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートと前記PARP1選択的阻害薬とを含む組成物である、請求項1～15のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項17】

前記生成物が、連続又は同時投与のための、前記抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートと前記PARP1選択的阻害薬とを含む組み合わせ調製物である、請求項1～15のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項18】

癌を治療するためのものである、請求項1～17のいずれか一項に記載の医薬生成物。

【請求項 19】

前記癌が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、消化管間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮細胞癌腫、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮体部癌腫、腎臓癌、外陰部癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも1つである、請求項18に記載の医薬生成物。

【請求項 20】

前記癌が、乳癌である、請求項19に記載の医薬生成物。

【請求項 21】

前記乳癌が、HER2ステータススコアがIHC 3+である、請求項20に記載の医薬生成物。

10

【請求項 22】

前記乳癌が、HER2低発現乳癌である、請求項20に記載の医薬生成物。

【請求項 23】

前記乳癌が、HER2ステータススコアがIHC 2+である、請求項20に記載の医薬生成物。

【請求項 24】

前記乳癌が、HER2ステータススコアがIHC 1+である、請求項20に記載の医薬生成物。

20

【請求項 25】

前記乳癌が、HER2ステータススコアがIHC > 0であり且つ < 1+である、請求項20に記載の医薬生成物。

【請求項 26】

前記乳癌が、トリプルネガティブ乳癌である、請求項20に記載の医薬生成物。

【請求項 27】

前記癌が、胃癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

【請求項 28】

前記癌が、結腸直腸癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

【請求項 29】

前記癌が、肺癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

30

【請求項 30】

前記肺癌が、非小細胞肺癌である、請求項29に記載の医薬生成物。

【請求項 31】

前記癌が、膵臓癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

【請求項 32】

前記癌が、卵巣癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

【請求項 33】

前記癌が、前立腺癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

【請求項 34】

前記癌が、腎臓癌である、請求項18に記載の医薬生成物。

40

【請求項 35】

癌の処置での使用のための、請求項1～17のいずれか一項で定義されている医薬生成物。

【請求項 36】

前記癌が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、パジェット病、膵癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、消化管間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮体癌腫、腎癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも1つである

50

、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 37】

前記癌が、乳癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 38】

前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC 3+ である、請求項 37 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 39】

前記乳癌が、HER2 低発現乳癌である、請求項 37 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 40】

前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC 2+ である、請求項 37 に記載の使用のための医薬生成物。

10

【請求項 41】

前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC 1+ である、請求項 37 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 42】

前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC > 0 であり且つ < 1+ である、請求項 37 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 43】

前記乳癌が、トリプルネガティブ乳癌である、請求項 37 に記載の使用のための医薬生成物。

20

【請求項 44】

前記癌が、胃癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 45】

前記癌が、結腸直腸癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 46】

前記癌が、肺癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 47】

前記肺癌が、非小細胞肺癌である、請求項 46 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 48】

前記癌が、膵臓癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

30

【請求項 49】

前記癌が、卵巣癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 50】

前記癌が、前立腺癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 51】

前記癌が、腎癌である、請求項 35 に記載の使用のための医薬生成物。

【請求項 52】

癌を処置するための、組み合わせでの抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬の投与のための薬剤の製造における、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲート又は前記PARP1選択的阻害薬の使用であって、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及び前記PARP1選択的阻害薬が、請求項1～15のいずれか一項に定義される通りである、使用。

40

【請求項 53】

前記癌が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、バジレット病、膵癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、消化管間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮体癌腫、腎癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも1つである、請求項 52 に記載の使用。

50

- 【請求項 5 4】
前記癌が、乳癌である、請求項 5 2 に記載の使用。
- 【請求項 5 5】
前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC 3 + である、請求項 5 4 に記載の使用。
- 【請求項 5 6】
前記乳癌が、HER2 低発現乳癌である、請求項 5 4 に記載の使用。
- 【請求項 5 7】
前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC 2 + である、請求項 5 4 に記載の使用。 10
- 【請求項 5 8】
前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC 1 + である、請求項 5 4 に記載の使用。
- 【請求項 5 9】
前記乳癌が、HER2 ステータススコアが IHC > 0 であり且つ < 1 + である、請求項 5 4 に記載の使用。
- 【請求項 6 0】
前記乳癌が、トリプルネガティブ乳癌である、請求項 5 4 に記載の使用。
- 【請求項 6 1】
前記癌が、胃癌である、請求項 5 2 に記載の使用。 20
- 【請求項 6 2】
前記癌が、結腸直腸癌である、請求項 5 2 に記載の使用。
- 【請求項 6 3】
前記癌が、肺癌である、請求項 5 2 に記載の使用。
- 【請求項 6 4】
前記肺癌が、非小細胞肺癌である、請求項 6 3 に記載の使用。
- 【請求項 6 5】
前記癌が、膵臓癌である、請求項 5 2 に記載の使用。
- 【請求項 6 6】
前記癌が、卵巣癌である、請求項 5 2 に記載の使用。 30
- 【請求項 6 7】
前記癌が、前立腺癌である、請求項 5 2 に記載の使用。
- 【請求項 6 8】
前記癌が、腎臓癌である、請求項 5 2 に記載の使用。
- 【請求項 6 9】
前記薬剤が、同時投与のための、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及び前記PARP1選択的阻害薬を含む組成物である、請求項 5 2 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の使用。
- 【請求項 7 0】
前記薬剤が、連続又は同時投与のための、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及び前記PARP1選択的阻害薬を含む組み合わせ調製物である、請求項 5 2 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の使用。 40
- 【請求項 7 1】
癌を処置する方法であって、それを必要とする対象に組み合わせて、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に定義されるような抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬を投与することを含む、方法。
- 【請求項 7 2】
前記癌が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、パジェット病、膵癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、消化管間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮体癌 50

腫、腎癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも1つである、請求項71に記載の方法。

【請求項73】

前記癌が、乳癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項74】

前記乳癌が、HER2ステータスコアがIHC 3+である、請求項73に記載の方法。

【請求項75】

前記乳癌が、HER2低発現乳癌である、請求項73に記載の方法。

10

【請求項76】

前記乳癌が、HER2ステータスコアがIHC 2+である、請求項73に記載の方法。

【請求項77】

前記乳癌が、HER2ステータスコアがIHC 1+である、請求項73に記載の方法。

【請求項78】

前記乳癌が、HER2ステータスコアがIHC > 0であり且つ < 1+である、請求項73に記載の方法。

【請求項79】

前記乳癌が、トリプルネガティブ乳癌である、請求項73に記載の方法。

20

【請求項80】

前記癌が、胃癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項81】

前記癌が、結腸直腸癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項82】

前記癌が、肺癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項83】

前記肺癌が、非小細胞肺癌である、請求項82に記載の方法。

【請求項84】

前記癌が、膵臓癌である、請求項71に記載の方法。

30

【請求項85】

前記癌が、卵巣癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項86】

前記癌が、前立腺癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項87】

前記癌が、腎癌である、請求項71に記載の方法。

【請求項88】

前記方法が、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲートと前記PARP1選択的阻害薬とを逐次的に投与することを含む、請求項71~87のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項89】

前記方法が、前記抗HER2抗体-薬物コンジュゲートと前記PARP1選択的阻害薬とを同時に投与することを含む、請求項71~87のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、PARP1選択的阻害薬と組み合わせた、リンカー構造を介して抗HER2抗体にコンジュゲートされた抗腫瘍薬を有する、特異的な抗体-薬物コンジュゲートの投与のための医薬生成物及び特異的な抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬が対象に組み合わせて投与される、治療的使用及び方法に関する。

50

【背景技術】

【0002】

酵素のポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)ファミリーは、複製、組換え、クロマチンリモデリング、及びDNA損傷修復などの複数の細胞プロセスにおいて重要な役割を果たす(O'Connor MJ, Mol Cell (2015) 60(4): 547-60)。PARP阻害薬の例、及びその作用機序は、例えば、国際公開第2004/080976号パンフレットに教示されている。

【0003】

PARP1及びPARP2は、DNA損傷修復におけるその役割について最も広く研究されているPARPである。PARP1はDNA損傷切断によって活性化され、ポリ(ADP-リボース)(PAR)鎖の標的タンパク質への付加を触媒する機能をもつ。PAR化として知られるこの翻訳後修飾は、付加的なDNA修復因子のDNA損傷への動員を媒介する。この動員の役割が完了すると、PARPの自己PAR化が引き金となって、結合したPARPがDNAから遊離し、他のDNA修復タンパク質に接近し、修復を完結させる。このように、PARPの損傷部位への結合、その触媒活性、及びDNAからの最終的な遊離は全て、癌細胞が化学療法剤及び放射線療法によって引き起こされたDNA損傷に応答するための重要なステップである(Bai P. Biology of poly(ADP-ribose) polymerases: the factotums of cell maintenance. Mol Cell 2015; 58: 947-58)。

10

【0004】

PARPファミリー酵素の阻害は、相補的DNA修復経路を不活性化することによって癌細胞を選択的に殺す戦略として利用されている。複数の前臨床研究及び臨床研究により、相同組換え(HR)による二本鎖DNA切断(DSB)修復に關与する重要な腫瘍抑制タンパク質であるBRCA1又はBRCA2の有害な変化を有する腫瘍細胞は、DNA修復酵素であるPARPファミリーの低分子阻害薬に対して選択的な感受性を示すことが実証されている。このような腫瘍は相同組換え修復(HRR)経路が欠損しており、生存をPARP酵素の機能に依存している。PARP阻害薬治療は主にBRCA変異癌を標的としているが、PARP阻害薬は非BRCA変異腫瘍、即ち相同組換え欠損(HRD)を示す腫瘍において臨床試験が行われている(Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. Nat Rev Cancer 2004; 4: 814-9)。

20

c 30

【0005】

PARP1に対する選択性が改善されたPARP阻害薬は、非選択的PARP阻害薬と比較して効果が改善され、且つ毒性が低減され得ると考えられる。また、PARP1を選択的に強く阻害すると、DNAにPARP1がトラッピングされ、S期の複製フォークの崩壊によってDNA二本鎖切断(DSB)が生じることと考えられる。また、PARP1-DNAトラッピングは、HRDを有する腫瘍細胞を選択的に死滅させる有効な機序であることも考えられる。

【0006】

抗体にコンジュゲートした細胞毒性薬からなる抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、選択的に癌細胞に対して薬物を送達することができ、したがって癌細胞内で薬物の蓄積をもたらして癌細胞を殺傷することが期待される(Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13; Alley, S.C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537; Damle N.K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452; Senter P.D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637; Burris HA., et al., J. Clin. Oncol. (2011) 29(4): 398-405)。

40

【0007】

50

1つのこうした抗体 - 薬物コンジュゲートは、HER2 標的化抗体からなり、エキサテカンの誘導体であるトラスツマブ・デルクステカンである (Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22 (20) , 5097 - 5108 ; Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107 , 1039 - 1046)。トラスツマブ・デルクステカン (Enhertu (登録商標)、DS - 8201) は、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、及び非小細胞肺癌を含む、HER2 発現固形腫瘍において有意な臨床的有効性を示している。意義深いことに、DS - 8201 は、上記適応症において、HER2 低発現の腫瘍での有望な活性を実証している。効力を増強し、治療応答の持続性を向上させ、患者に対する忍容性を改善し、及び / 又は用量依存的毒性を低減するために DS - 8201 に対する組み合わせパートナーを特定する必要がある。

10

【0008】

トラスツマブ・デルクステカンなどの抗体 - 薬物コンジュゲート、及びPARP1 阻害薬の治療可能性にもかかわらず、抗体 - 薬物コンジュゲート及びPARP1 選択的阻害薬の組み合わせ使用の卓越した効果を明らかにする試験結果を記載する文献は公表されていない。

【0009】

したがって、既存の癌治療剤の効力を増強し、治療応答の持続性を向上させ、患者に対する忍容性を改善し、且つ / 又は用量依存的毒性を低減することができる改善された治療組成物及び方法に対する必要性が依然として存在する。

20

【発明の概要】

【0010】

本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲート (トポイソメラーゼI 阻害薬エキサテカンの誘導体を、成分として含む抗HER2 抗体 - 薬物コンジュゲート) は、乳癌及び胃癌などの特定の癌の治療において、単独で投与された場合に優れた抗腫瘍効果を示すことが確認されている。さらに、PARP1 阻害薬は、ある特定の癌の治療において抗腫瘍効果を示すことが確認されている。しかし、有効性の増強、治療反応の持続時間の延長及び / 又は用量依存的な毒性の低下などの、癌の治療での優れた抗腫瘍効果を得ることができる薬剤及び治療を提供することが望まれる。

【0011】

30

本開示は、PARP1 選択的阻害薬と組み合わせた抗HER2 抗体 - 薬物コンジュゲートの投与を通じて、癌の治療において卓越した抗腫瘍効果を示し得る医薬生成物を提供する。本開示は、抗HER2 抗体 - 薬物コンジュゲート及びPARP1 選択的阻害薬が対象に組み合わせ投与される治療的な使用及び方法も提供する。

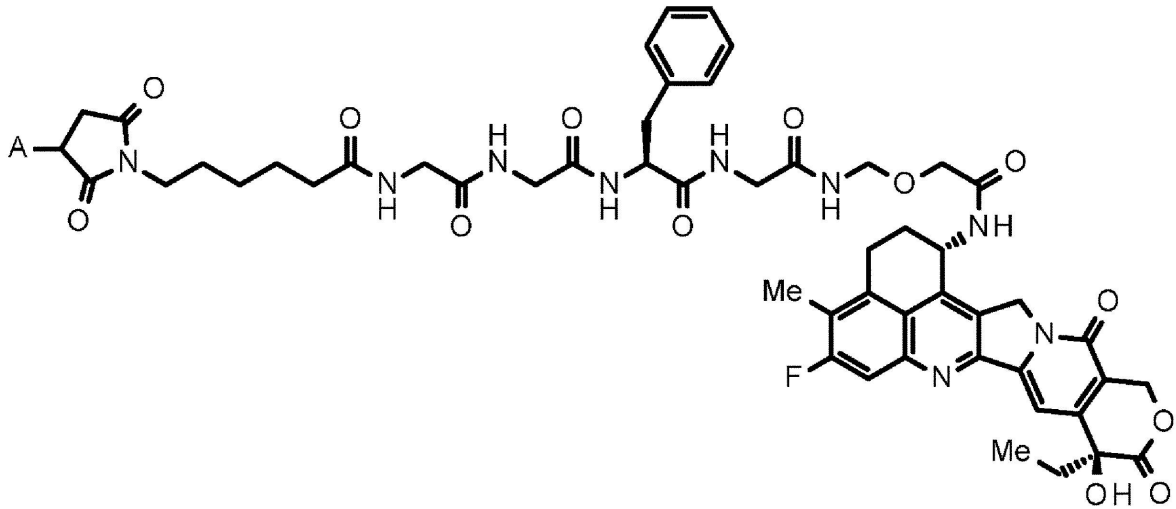
【0012】

具体的には、本開示は、以下の [1] ~ [54] に関する。

[1] 組み合わせ投与のための抗HER2 抗体 - 薬物コンジュゲート及びPARP1 選択的阻害薬を含む医薬生成物であって、抗HER2 抗体 - 薬物コンジュゲートが、以下の式：

40

【化 1】



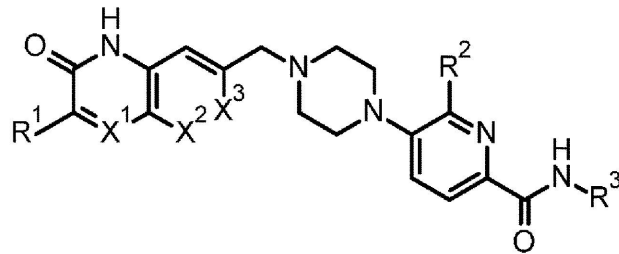
10

(式中、Aは、抗体に対する接続位置を表す)によって表される薬物-リンカーがチオエーテル結合を介して抗HER2抗体にコンジュゲートされている、抗体-薬物コンジュゲートである、医薬生成物；

[2] PARP1 選択的阻害薬が、以下の式 (I) ；

20

【化 2】



30

(I)

(式中、

X^1 及び X^2 が、それぞれ独立して、N 及び C (H) から選択され、

X^3 が、独立して、N 及び C (R^4) (ここで、 R^4 は H 又はフルオロである) から選択され、

R^1 が、 C_{1-4} アルキル又は C_{1-4} フルオロアルキルであり、

R^2 が、独立して、H、ハロ、 C_{1-4} アルキル、及び C_{1-4} フルオロアルキルから選択され、

40

R^3 が、H 又は C_{1-4} アルキルである) によって表わされる化合物、

又はその薬学的に許容される塩であり、

(但し、

X^1 が N であるとき、 X^2 は C (H) であり、且つ X^3 は C (R^4) であり、

X^2 が N であるとき、 X^1 は C (H) であり、且つ X^3 は C (R^4) であり、

X^3 が N であるとき、 X^1 及び X^2 は両方とも C (H) である)、[1] に記載の医薬生成物；

[3] 式 (I) において、 R^3 が C_{1-4} アルキルである、[2] に記載の医薬生成物；

[4] 式 (I) において、 R^3 がメチルである、[3] に記載の医薬生成物；

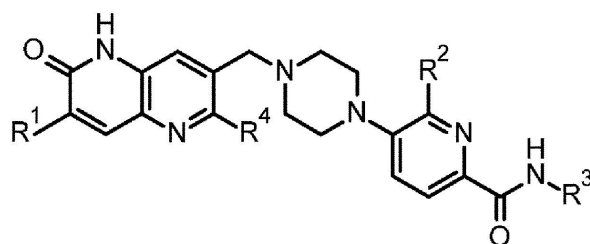
[5] 式 (I) において、 R^1 がエチルである、[2] ~ [4] のいずれか 1 つに記載の

50

医薬生成物；

[6] P A R P 1 選択的阻害薬が、以下の式 (I a) ；

【化 3】



(Ia)

10

(式中、

R¹ が、C₁ ~ 4 アルキルであり、

R² が、H、ハロ、C₁ ~ 4 アルキル、及び C₁ ~ 4 フルオロアルキルから選択され、

R³ が、H 又は C₁ ~ 4 アルキルであり、

R⁴ が、H である) によって表わされる化合物、

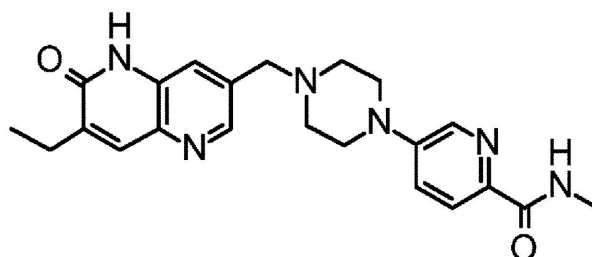
又はその薬学的に許容される塩である、[1] に記載の医薬生成物；

[7] 式 (I a) において、R² が、H 又はハロである、[6] に記載の医薬生成物；

[8] 式 (I a) において、R¹ がエチルであり、R² が H、クロロ、及びフルオロから
選択され、R³ がメチルである、[6] に記載の医薬生成物；

[9] P A R P 1 選択的阻害薬が A Z D 5 3 0 5 であり、また A Z 1 4 1 7 0 0 4 9 とし
ても知られ、以下の式：

【化 4】



30

又はその薬学的に許容される塩である、[1] に記載の医薬生成物；

[10] 抗 H E R 2 抗体が、配列番号 3 によって表されるアミノ酸配列からなる C D R H
1 (= 配列番号 1 のアミノ酸残基 26 ~ 33)、配列番号 4 によって表されるアミノ酸配
列からなる C D R H 2 (= 配列番号 1 のアミノ酸残基 51 ~ 58) 及び配列番号 5 によっ
て表されるアミノ酸配列からなる C D R H 3 (= 配列番号 1 のアミノ酸残基 97 ~ 109)
を含む重鎖並びに配列番号 6 によって表されるアミノ酸配列からなる C D R L 1 (= 配
列番号 2 のアミノ酸残基 27 ~ 32)、配列番号 7 のアミノ酸残基 1 ~ 3 からなるアミノ
酸配列からなる C D R L 2 (= 配列番号 2 のアミノ酸残基 50 ~ 52) 及び配列番号 8 に
よって表されるアミノ酸配列からなる C D R L 3 (= 配列番号 2 のアミノ酸残基 89 ~ 9
7) を含む軽鎖を含む抗体である、[1] ~ [9] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

40

[11] 抗 H E R 2 抗体が、配列番号 9 によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変
領域 (= 配列番号 1 のアミノ酸残基 1 ~ 120) を含む重鎖及び配列番号 10 によって表
されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域 (= 配列番号 2 のアミノ酸残基 1 ~ 107) を
含む軽鎖を含む抗体である、[1] ~ [9] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[12] 抗 H E R 2 抗体が、配列番号 1 によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖及び
配列番号 2 によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む抗体である、[1] ~ [9

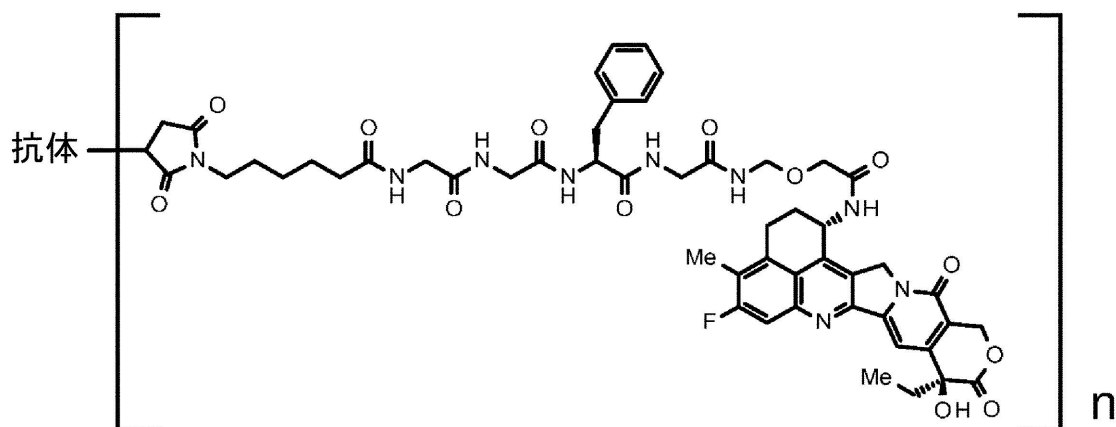
50

】のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[1 3] 抗 H E R 2 抗体が、配列番号 1 1 によって表されるアミノ酸配列（＝配列番号 1 のアミノ酸残基 1 ～ 4 4 9 ）からなる重鎖及び配列番号 2 によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む抗体である、[1] ～ [9] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[1 4] 抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートが、以下の式：

【化 5】



10

20

（式中、「抗体」は、チオエーテル結合を介して薬物 - リンカーにコンジュゲートされた抗 H E R 2 抗体を指し、及び n は、抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗体分子あたりでコンジュゲートされた薬物 - リンカーの単位の平均数を指し、n は、7 ～ 8 の範囲である）

によって表される、[1] ～ [1 3] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[1 5] 抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートが、トラスツズマブ・デルクスステカン（D S - 8 2 0 1 ）である、[1] ～ [1 4] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[1 6] 製品が、同時投与のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を含む組成物である、[1] ～ [1 5] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[1 7] 製品が、連続投与又は同時投与のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を含む組み合わせられた調製物である、[1] ～ [1 5] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

30

[1 8] 製品が、癌を治療するためのものである、[1] ～ [1 7] のいずれか 1 つに記載の医薬生成物；

[1 9] 癌が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、消化管間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮細胞癌腫、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮体部癌腫、腎臓癌、外陰部癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髓腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも 1 つである、[1 8] に記載の医薬生成物；

40

[2 0] 癌が、乳癌である、[1 9] に記載の医薬生成物；

[2 1] 乳癌が、H E R 2 ステータススコアが I H C 3 + である、[2 0] に記載の医薬生成物；

[2 2] 乳癌が、H E R 2 低発現乳癌である、[2 0] に記載の医薬生成物；

[2 3] 乳癌が、I H C 2 + の H E R 2 ステータススコアを有する、[2 0] に記載の医薬生成物；

[2 4] 乳癌が、I H C 1 + の H E R 2 ステータススコアを有する、[2 0] に記載の医薬生成物；

[2 5] 乳癌が、I H C > 0 且つ < 1 + の H E R 2 ステータススコアを有する、[2 0] に記載の医薬生成物；

50

- [2 6] 乳癌が、トリプルネガティブ乳癌である、[2 0] に記載の医薬生成物；
- [2 7] 癌が、胃癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [2 8] 癌が、結腸直腸癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [2 9] 癌が、肺癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [3 0] 肺癌が、非小細胞肺癌である、[2 9] に記載の医薬生成物；
- [3 1] 癌が、膵臓癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [3 2] 癌が、卵巣癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [3 3] 癌が、前立腺癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [3 4] 癌が、腎臓癌である、[1 8] に記載の医薬生成物；
- [3 5] 癌の治療での使用のための、[1] ~ [1 7] のいずれか 1 つで定義されている
医薬生成物； 10
- [3 6] 癌が、[1 9] ~ [3 4] のいずれか 1 つで定義されている通りである、[2 5]
に記載の使用のための医薬生成物；
- [3 7] 癌を治療するための、組み合わせて抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を投与するための薬剤の製造における抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート又は P A R P 1 選択的阻害薬の使用であって、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬が、[1] ~ [1 5] のいずれか 1 つで定義されている
通りである、使用；
- [3 8] 癌が、[1 9] ~ [3 4] のいずれか 1 つで定義されている通りである、[3 7]
に記載の使用； 20
- [3 9] 薬剤が、同時投与のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を含む組成物である、[3 7] 又は [3 8] に記載の使用；
- [4 0] 薬剤が、連続又は同時投与のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を含む組み合わせられた調製物である、[3 7] 又は [3 8] に記載
の使用；
- [4 1] 癌の治療での、P A R P 1 選択的阻害薬と組み合わせた使用のための、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートであって、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬が [1] ~ [1 5] のいずれか 1 つで定義されている通りである、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート；
- [4 2] 癌が、[1 9] ~ [3 4] のいずれか 1 つで定義されている通りである、[4 1] 30
に記載の使用のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート；
- [4 3] 使用が、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬の逐
次的な投与を含む、[4 1] 又は [4 2] に記載の使用のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コ
ンジュゲート；
- [4 4] 使用が、同時に抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻
害薬の投与を含む、[4 1] 又は [4 2] に記載の使用のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コ
ンジュゲート；
- [4 5] 対象において、癌の治療で使用するための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート
であって、当該治療が、i) 当該抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートと、i i) P A R P 1 選択的阻害薬との、当該対象への別個の、逐次的又は同時的な投与を含み、当該抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び当該 P A R P 1 選択的阻害薬が、[1] ~ [1 5]
のいずれか 1 つに定義されている通りである、使用のための抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート； 40
- [4 6] 癌の治療での、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートと組み合わせた使用のため
の P A R P 1 選択的阻害薬であって、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬が [1] ~ [1 5] のいずれか 1 つに定義されている通りである、使用の
ための P A R P 1 選択的阻害薬；
- [4 7] 癌が、[1 9] ~ [3 4] のいずれか 1 つに定義されている通りである、[4 6]
- [4 8] 使用が、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を逐 50

次的に投与することを含む、[4 6] 又は [4 7] に記載の使用のための P A R P 1 選択的阻害薬；

[4 9] 使用が、同時に抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を投与することを含む、[4 6] 又は [4 7] に記載の使用のための P A R P 1 選択的阻害薬；

[5 0] 対象において、癌の治療で使用するための P A R P 1 選択的阻害薬であって、当該治療が、i) 当該 P A R P 1 選択的阻害薬と、i i) 抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートとの、当該対象への別個の、逐次的又は同時的な投与を含み、当該 P A R P 1 選択的阻害薬及び当該 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートが、[1] ~ [1 5] のいずれか 1 つに定義されている通りである、使用のための P A R P 1 選択的阻害薬；

[5 1] 必要とする対象に組み合わせて、[1] ~ [1 5] のいずれか 1 つに定義されている通りの抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を投与することを含む、癌を治療する方法；

[5 2] 癌が、[1 9] ~ [3 4] のいずれか 1 つに定義されている通りである、[5 1] に記載の方法；

[5 3] 方法が、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を逐次的に投与することを含む、[5 1] 又は [5 2] に記載の方法；並びに

[5 4] 方法が、抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬を同時に投与することを含む、[5 1] 又は [5 2] に記載の方法。

【発明の効果】

【 0 0 1 3 】

本開示は、リンカー構造を介して抗 H E R 2 抗体にコンジュゲートされる抗腫瘍薬を有する抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬が組み合わせて投与される医薬生成物、並びに特異的な抗体 - 薬物コンジュゲート及び P A R P 1 選択的阻害薬が対象に組み合わせて投与される治療的な使用及び方法を提供する。したがって、本開示は、癌治療においてより高い抗腫瘍効果を得ることができる薬剤及び治療を提供し得る。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 4 】

【図 1】図 1 は、抗 H E R 2 抗体の重鎖のアミノ酸配列（配列番号 1）を示す図表である。

【図 2】図 2 は、抗 H E R 2 抗体の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 2）を示す図表である。

【図 3】図 3 は、重鎖 C D R H 1 のアミノ酸配列（配列番号 3 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 2 6 ~ 3 3]）を示す図表である。

【図 4】図 4 は、重鎖 C D R H 2 のアミノ酸配列（配列番号 4 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 5 1 ~ 5 8]）を示す図表である。

【図 5】図 5 は、重鎖 C D R H 3 のアミノ酸配列（配列番号 5 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 9 7 ~ 1 0 9]）を示す図表である。

【図 6】図 6 は、軽鎖 C D R L 1 のアミノ酸配列（配列番号 6 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 2 7 ~ 3 2]）を示す図表である。

【図 7】図 7 は、軽鎖 C D R L 2 のアミノ酸配列（S A S）（配列番号 7 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 5 0 ~ 5 6]）を含むアミノ酸配列を示す図表である。

【図 8】図 8 は、軽鎖 C D R L 3 のアミノ酸配列（配列番号 8 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 8 9 ~ 9 7]）を示す図表である。

【図 9】図 9 は、重鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号 9 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 1 ~ 1 2 0]）を示す図表である。

【図 1 0】図 1 0 は、軽鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号 1 0 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 1 ~ 1 0 7]）を示す図表である。

【図 1 1】図 1 1 は、重鎖のアミノ酸配列（配列番号 1 1 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基

10

20

30

40

50

1 ~ 4 4 9]) を示す図表である。

【図 1 2 A - 1 2 B】図 1 2 A 及び 1 2 B は、高 H E R 2 発現を有する細胞株において、D S - 8 2 0 1 を A Z D 5 3 0 5 (A Z 1 4 1 7 0 0 4 9 ; P A R P 1 選択的阻害薬) と組み合わせるハイスループットスクリーンを用いて得られた組み合わせマトリックスを示す図表である。

【図 1 3 A - 1 3 B】図 1 3 A 及び 1 3 B は、低 H E R 2 発現を有する細胞株において、D S - 8 2 0 1 を A Z D 5 3 0 5 と組み合わせるハイスループットスクリーンを用いて得られた組み合わせマトリックスを示す図表である。

【図 1 4】図 1 4 は、A Z D 5 3 0 5 と組み合わせた D S - 8 2 0 1 で処理された細胞株における組み合わせ E m a x 及び L o e w e 相乗効果スコアを示す図表である。

【図 1 5 A - 1 5 B】図 1 5 A 及び 1 5 B は、低 H E R 2 発現又は高 H E R 2 発現を有する細胞株において、D S - 8 2 0 1 を A Z D 5 3 0 5 と組み合わせるための組み合わせマトリックスを示す図表である。

【図 1 6 A - 1 6 B】図 1 6 A 及び 1 6 B は、それぞれ、合成実施例 4 フォーム A の X 線回折パターン及び代表的な D S C トレースを示す。

【図 1 7】図 1 7 は、D S - 8 2 0 1 若しくは A Z D 5 3 0 5 単独での、又は A Z D 5 3 0 5 と組み合わせた D S - 8 2 0 1 でのインビボ治療についての腫瘍体積を示す図表である。点線は A Z D 5 3 0 5 投与期間の終了を示す。

【図 1 8 A - 1 8 C】図 1 8 A、1 8 B 及び 1 8 C は、低い又は高い H E R 2 発現を有する N S C L C 細胞株における D S - 8 2 0 1 を A Z D 5 3 0 5 と組み合わせるハイスループットスクリーンを用いて得られた組み合わせマトリックスを示す図表である。

【図 1 9 A - 1 9 C】図 1 9 A、1 9 B 及び 1 9 C は、H E R 2 変異体発現を有する尿路癌細胞株における D S - 8 2 0 1 を A Z D 5 3 0 5 と組み合わせるハイスループットスクリーンを用いて得られた組み合わせマトリックスを示す図表である。

【発明を実施するための形態】

【0 0 1 5】

本開示がより容易に理解され得るように、最初に特定の用語を定義する。追加の定義は、詳細な説明全体にわたり記載される。

【0 0 1 6】

本開示を詳細に説明する前に、本開示は特定の組成又は方法工程に限定されず、故に変更可能であることを理解されたい。本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、文脈上明確に指示されない限り、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」及び「その」は、複数の指示対象を含む。「1つの(a)」(又は「1つの(an)」)という用語並びに「1つ又は複数」及び「少なくとも1つ」という用語は、本明細書で互換的に使用され得る。

【0 0 1 7】

さらに、本明細書で使用される「及び/又は」は、他の特徴又は構成要素の有無に関わらず、2つの特定の特徴又は構成要素のそれぞれの特定の開示であると見なされるべきである。したがって、本明細書における「A及び/又はB」などの語句において使用される用語「及び/又は」は、「A及びB」、「A又はB」、「A」(単独)及び「B」(単独)を含むものとする。同様に、「及び/又は」という用語は、「A、B及び/又はC」などの語句で用いられる場合、以下の態様のそれぞれを包含することが意図される：A、B、及びC；A、B、又はC；A又はC；A又はB；B又はC；A及びC；A及びB；B及びC；A(単独)；B(単独)；並びにC(単独)。

【0 0 1 8】

別途定義されない限り、本明細書で使用される技術用語及び科学用語は全て、本開示が関連する技術分野の当業者により通常理解されるのと意味と同じ意味を有する。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei - Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and M

10

20

30

40

50

olecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 及び Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press が、当業者に、本開示で使用される用語の多くの一般辞書を提供する。

【0019】

単位、接頭辞、及び記号は、これらの国際単位系 (SI) で認められている形態で表記される。数値範囲には、その範囲を定義する数が含まれる。

【0020】

本明細書中で態様が「含む」という語と共に記載されるときは、常に「からなる」及び / 又は「から本質的になる」という用語で説明される、他の点では類似の態様も提供されることを理解されたい。

【0021】

用語「阻害する」、「遮断する」及び「抑制する」は、本明細書において同義的に使用され、生物学的活性の任意の統計学的に有意な減少 (活性の完全遮断を含む) を指す。例えば、「阻害」は、生物学的活性の約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 又は 100% の減少を指し得る。細胞増殖は、細胞分裂速度及び / 又は細胞集団内において細胞分裂を起こす細胞の割合及び / 又は終末分化又は細胞死に起因する細胞集団からの細胞損失率 (例えば、チミジン取込み) を計測する、当技術分野で認められている技法を用いてアッセイすることができる。

【0022】

用語「対象」は、ヒト、非ヒト霊長類、げっ歯類などが挙げられるが、これらに限定されない、特定の治療のレシピエントとなる任意の動物 (例えば、哺乳動物) を指す。典型的には、用語「対象」及び「患者」は、ヒト対象に関連して、本明細書において互換的に使用される。

【0023】

用語「医薬生成物」は、全ての活性成分を含有する組成物 (同時投与用) 又はそれぞれが活性成分の少なくとも 1 つを含有するが全ては含有しない個別の組成物の組み合わせ (組み合わせ調製物) (逐次的投与又は同時投与用) のいずれかとして活性成分の生物活性を可能にするような形態であり、且つ生成物が投与される対象に対して容認できないほどの毒性がある追加成分を含有しない、製剤を指す。このような生成物は、無菌であり得る。「同時投与」とは、活性成分が同時に投与されることを意味する。「逐次投与」とは、活性成分が、いずれかの順序で、個々の投与間に時間間隔をおいて、1 つずつ投与されることを意味する。時間間隔は、例えば、24 時間未満、好ましくは 6 時間未満、より好ましくは 2 時間未満であり得る。

【0024】

「治療すること」、若しくは「治療」、若しくは「治療する」又は「緩和すること」若しくは「緩和する」などの用語は、(1) 診断された病態又は疾患の症状を治癒し、減速させ、減少させ、且つ / 又はその進行を停止させる治療的措置と、(2) 標的とする病態又は疾患の発症を予防し、且つ / 又は減速させる予防的 (prophylactic) 又は予防的 (preventative) 措置と、の両方を指す。そのため、治療を必要とする者としては、既に疾患を有する者; 疾患を有する傾向がある者; 及び疾患を予防すべき者が挙げられる。いくつかの態様では、患者が、例えば、特定のタイプの癌の完全、部分的又は一時的寛解を示す場合、本開示の方法に従って対象の癌は、問題なく「治療」されている。

【0025】

用語「癌」、「腫瘍」、「癌性」及び「悪性」は、典型的には、無秩序な細胞成長を特徴とする哺乳動物における生理的状态を指すか又はそれを説明する。癌の例としては、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、消

10

20

30

40

50

化管間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮細胞癌腫、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮体部癌腫、腎臓癌、外陰部癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫及び黒色腫が挙げられるが、これらに限定されない。癌としては、血液悪性腫瘍、例えば、急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、慢性リンパ球性白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫並びに固形腫瘍、例えば乳癌、肺癌、神経芽細胞腫及び結腸癌が挙げられる。

【0026】

本明細書において使用される用語「細胞毒性剤」は、広く定義され、細胞の機能を阻害若しくは防止し、且つ/又は細胞の破壊(細胞死)を引き起こし、且つ/又は抗新生物/抗増殖性効果を発揮する物質を指す。例えば、細胞毒性剤は、新生腫瘍細胞の発生、成熟又は拡散を直接又は間接的に防止する。この用語は、細胞増殖抑制効果のみを引き起こし、単なる細胞毒性効果を引き起こさないような薬剤も含む。この用語は、下記に規定される化学療法剤並びに他のHER2アンタゴニスト、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害薬、プロテインキナーゼA阻害薬、サイトカインファミリーのメンバー、放射性同位体及び毒素、例えば細菌、真菌、植物又は動物起源の酵素学的に活性な毒素を含む。

10

【0027】

用語「化学療法剤」は、天然又は合成化合物を含む用語「細胞毒性剤」の部分集合である。

【0028】

本開示の方法又は使用によれば、本開示の化合物を患者に投与して癌に関する正の治療応答を促進することができる。癌治療に関する用語「正の治療応答」は、疾患に伴う症状の改善を指す。例えば、疾患の改善は、完全応答として特徴付けることができる。用語「完全寛解」は、任意の事前の試験結果を正規化して臨床的に検出可能な疾患が存在しないことを指す。代わりに、疾患における改善は、部分寛解であるとしても分類可能である。「正の治療応答」は、癌の進行及び/又は持続期間の低減又は阻害、癌の重症度の低減又は改善及び/又は本開示の化合物の投与から生じる1つ又は複数のその症状の改善を包含する。具体的な態様において、このような用語は、本開示の化合物の投与後の1、2若しくは3つ又はそれを超える結果を指す：

20

(1) 癌細胞集団の安定化、低減又は排除；

(2) 癌成長の安定化又は低減；

30

(3) 癌形成の低下；

(4) 原発性、局所性、及び/又は転移性の癌の根絶、除去、又は制御；

(5) 死亡率の低減；

(6) 無病、無再発、無進行及び/又は全生存の持続期間又は割合の増加；

(7) 応答率、応答持続性又は応答若しくは寛解する患者数の増加；

(8) 入院率の減少、

(9) 入院期間の短縮、

(10) 癌のサイズが維持されており、且つ増加しないか又は10%未満、好ましくは5%未満、好ましくは4%未満、好ましくは2%未満だけ増加すること、並びに

(11) 寛解患者数の増加。

40

(12) 他の場合に癌の治療に必要となるであろうアジュバント療法剤(例えば、化学療法剤又はホルモン療法剤)の数の減少。

【0029】

臨床奏効を、下記を使用して評価し得る：スクリーニング技術、例えば、PET、磁気共鳴イメージング(MRI)スキャン、X放射線イメージング、コンピュータ断層撮影(CT)スキャン、フローサイトメトリー若しくは蛍光活性化セルソーター(FACS)分析、組織学的検査、肉眼的所見、及び血液化学検査、例えば、限定されないが、ELISA、RIA、クロマトグラフィー、及び同類のものにより検出可能な変化。これらの正の治療奏効に加えて、治療を受けている対象は、疾患に伴う症状の改善の有益な効果を受け得る。

50

【0030】

アルキル基及びアルキル部分は、直鎖又は分岐鎖、例えば、 $C_1 \sim 8$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 4$ アルキル又は $C_5 \sim 6$ アルキルである。アルキル基の例は、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチル、 t -ブチル、 n -ペンチル、 n -ヘキシル、 n -ヘプチル及び n -オクチル、例えばメチル又は n -ヘキシルである。

【0031】

フルオロアルキル基は、1つ又は複数のH原子が1つ又は複数のフルオロ原子で置換されているアルキル基、例えば、 $C_1 \sim 8$ フルオロアルキル、 $C_1 \sim 6$ フルオロアルキル、 $C_1 \sim 4$ フルオロアルキル又は $C_5 \sim 6$ フルオロアルキルである。例としては、フルオロメチル(CH_2F-)、ジフルオロメチル(CHF_2-)、トリフルオロメチル(CF_3-)、2, 2, 2-トリフルオロエチル(CF_3CH_2-)、1, 1-ジフルオロエチル(CH_3CHF_2-)、2, 2-ジフルオロエチル(CHF_2CH_2-)及び2-フルオロエチル(CH_2FCH_2-)が挙げられる。

10

【0032】

ハロは、フルオロ、クロロ、プロモ、及びヨードを意味する。一実施形態では、ハロは、フルオロ又はクロロである。

【0033】

本明細書において使用される語句「有効量」は、治療すべき症状及び/又は病態を有意且つ正に変化させる(例えば、正の臨床応答を提供する)ために十分である化合物又は組成物の量を意味する。医薬生成物に使用する活性成分の有効量は、担当医の知識及び専門的技術内で、治療されている特定の病態、病態の重症度、治療期間、同時療法の性質、利用されている特定の活性成分、利用される特定の薬学的に許容できる賦形剤/キャリア及び同様の因子により様々であろう。具体的には、抗体-薬物コンジュゲートと組み合わせる癌の治療で使用される式(I)の化合物の有効量は、この組み合わせが、温血動物(例えばヒト)における症状を緩和するのに、癌の症状を緩和するのに、癌の進行を遅延させるのに、又は癌の症状を有する患者において悪化リスクを低減させるのに十分であるような量である。

20

【0034】

本明細書において、特に明記しない限り、本明細書で使用される「薬学的に許容される」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、又はその他の問題若しくは合併症なしに、ヒト及び動物の組織と接触して使用するのに好適で、妥当なリスク・ベネフィット比に見合う化合物、材料、組成物、及び/又は剤形を指す。

30

【0035】

式(I)の化合物は、安定な薬学的に許容可能な酸性又は塩基性塩を形成し得、そのような場合、塩としての化合物の投与が適切であり得る。酸付加塩の例としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アスコルビン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重炭酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、コリン、クエン酸塩、シクロヘキシルスルファミン酸塩、ジエチレンジアミン、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルタミン酸塩、グリコール酸塩、ヘミ硫酸塩、2-ヒドロキシエチルスルホン酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、メグルミン、2-ナフトレンスルホン酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、過硫酸塩、フェニル酢酸塩、リン酸塩、ニリン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、キナ酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、スルファミン酸塩、スルファニル酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、トシル酸塩(p -トルエンスルホン酸塩)、トリフルオロ酢酸塩及びウンデカン酸塩が挙げられる。無毒性の、生理学的に許容可能な塩が好ましいが、例えば、生成物の単離又は精製において、他の塩が有用であり得る。

40

【0036】

これらの塩は、慣用の手段により、例えば、生成物の遊離塩基形態を、その塩が不溶性

50

である溶媒又は媒体中で、又は水などの溶媒中で、1当量以上の適切な酸と反応させることによって形成され得、溶媒は、真空中で、又は凍結乾燥させること、又は好適なイオン交換樹脂で既存の塩の陰イオンを別の陰イオンと交換することにより、除去される。

【0037】

式(I)の化合物は2つ以上のキラル中心を有してもよく、当然のことながら、本出願は全ての個々の立体異性体、鏡像異性体及びジアステレオ異性体、並びにこれらの混合物を包含する。したがって、当然のことながら、式(I)の化合物が、1つ又は複数の不斉炭素原子によって、光学活性体又はラセミ体で存在することができる限り、本出願はその定義の中に、上記の活性を有するそのような任意の光学活性体又はラセミ体を含む。本出願は、本明細書に定義する活性を有するそのような立体異性体を全て包含する。

10

【0038】

したがって、本明細書全体にわたり、式(I)の化合物に言及する場合、当然のことながら、化合物という用語には、PARP1阻害薬である、ジアステレオ異性体、ジアステレオ異性体の混合物、及び鏡像異性体が含まれる。

【0039】

以下もまた当然のことながら、ある特定の式(I)の化合物及びその薬学的塩は、溶媒和形態及び非溶媒和形態、例えば、水和形態及び無水形態で存在することができる。当然のことながら、本明細書の化合物はそのような溶媒和形態を全て包含する。明瞭化のために、これは、化合物の遊離形態の溶媒和(例えば、水和)形態、及び化合物の塩の溶媒和(水和)形態の両方を含む。

20

【0040】

式(I)の化合物のいくつかは結晶性のあることがあり、2つ以上の結晶形を有し得る。本開示が、PARP1選択的阻害活性を有する、任意の結晶又は非晶質形態、又はそれらの混合物を包含することが理解されるべきである。結晶性材料は、例えば、X線粉末回折(以下、XRPD)分析及び示差走査熱量測定(DSC)のような従来技術を用いて分析され得ることが一般に知られている。

【0041】

本明細書に記載の式(I)は、その構成原子の全ての同位体を包含するものとする。例えば、H(又は水素)は、 ^1H 、 ^2H (D)、及び ^3H (T)などの水素のあらゆる同位体形態を含み；Cは、 ^{12}C 、 ^{13}C 、及び ^{14}C などの炭素のあらゆる同位体形態を含み；Oは、 ^{16}O 、 ^{17}O 及び ^{18}O などの酸素のあらゆる同位体形態を含み；Nは、 ^{13}N 、 ^{14}N 及び ^{15}N などの窒素のあらゆる同位体形態を含み；Fは、 ^{19}F 及び ^{18}F などのフッ素のあらゆる同位体形態を含む；などである。一態様では、式(I)の化合物は、その中に含まれる原子の同位体を、それらの天然存在度に相当する量で含む。しかしながら、ある特定の例では、通常はより少ない量で存在する特定の同位体の1つ又は複数の原子を富化するのが望ましい場合もある。例えば、 ^1H は、通常99.98%を超える存在量で存在するが、一態様では、本明細書に示されるいずれかの式の化合物は、Hが存在する1つ又は複数の位置で ^2H 又は ^3H が富化されてもよい。別の態様では、本明細書に示されるいずれかの式の化合物が、放射性同位体、例えば、 ^3H 及び ^{14}C に富んでいる場合、化合物は、薬物及び/又は基質組織分布アッセイで有用である場合がある。当然のことながら、本出願は全てのこのような同位体形態を包含する。

30

40

【0042】

実施形態の説明

下記で、本開示を実行するための好ましい態様を説明する。下記で説明されている実施形態は、本開示の典型的な実施形態の一例を説明するために示されているにすぎず、本開示の範囲を限定することは意図されていない。

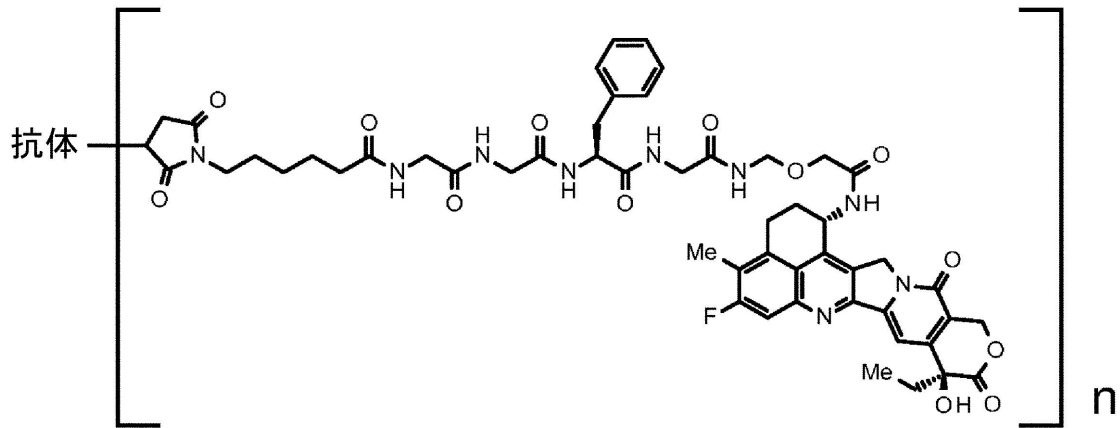
【0043】

1. 抗体-薬物コンジュゲート

本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲートは、以下の式：

50

【化 8】



10

【0047】

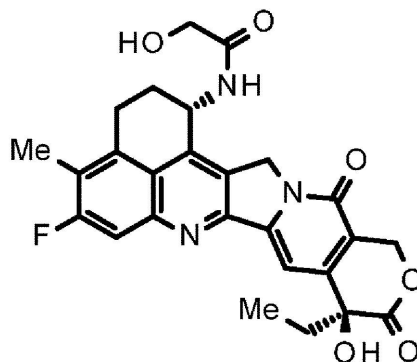
本明細書では、薬物 - リンカーは、チオエーテル結合を介して抗HER2抗体（「抗体 - 」）にコンジュゲートされる。nの意味は、コンジュゲートされた薬物分子の平均数（DAR；薬物 - 抗体比）と称されるものの意味と同じであり、抗体分子あたりでコンジュゲートされた薬物 - リンカーの単位の平均数を指す。

20

【0048】

癌細胞中に移行した後、本開示で用いられる抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートは、リンカー部分で切断され、以下の式によって表される化合物を放出する。

【化 9】



30

【0049】

この化合物は、本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲートの抗腫瘍活性の元供給源であると推定されており、トポイソメラーゼI阻害効果を有することが確認されている（Ogitani Y. et al., *Clinical Cancer Research*, 2016, Oct 15; 22(20): 5097 - 5108, Epub 2016 Mar 29）。

40

【0050】

本開示で用いられる抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートは、バイスタンダー効果を有することが知られている（Ogitani Y. et al., *Cancer Science* (2016) 107, 1039 - 1046）。バイスタンダー効果は、それにより、本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲートが、標的を発現する癌細胞中に内在化し、続いて、放出された化合物が、その周辺に存在して標的を発現しない癌細胞に対しても抗腫瘍効果を発揮する、プロセス全体を通して発揮される。この傍観者効果は、抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートが本開示に従いPARP1選択的阻害薬と組み合わせて使用される場合でさえも、優れた抗腫瘍効果として発揮される。

50

【 0 0 5 1 】

2 . 抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗体

本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗 H E R 2 抗体は、任意の種から誘導され得、これは、好ましくは、ヒト、ラット、マウス又はウサギから誘導される抗 H E R 2 抗体である。抗体がヒト種以外の種から誘導される場合、これは、好ましくは、周知の技術を用いてキメラ化又はヒト化される。抗 H E R 2 抗体は、ポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体であり得、好ましくはモノクローナル抗体である。

【 0 0 5 2 】

本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗体は、好ましくは、癌細胞を標的化することが可能な特性を有する抗 H E R 2 抗体であり、好ましくは、例えば癌細胞を認識する性質、癌細胞に結合する性質、癌細胞中に内在化する性質及び/又は癌細胞に対する細胞破壊活性を有する抗体である。

10

【 0 0 5 3 】

癌細胞に対する抗 H E R 2 抗体の結合活性は、フローサイトメトリーを用いて確認することができる。癌細胞中への抗体の内在化は、(1) 治療抗体に結合する二次抗体 (蛍光標識化) を用いる、蛍光顕微鏡下での細胞中に組み込まれた抗体の可視化アッセイ (*C e l l D e a t h a n d D i f f e r e n t i a t i o n* (2 0 0 8) 1 5 , 7 5 1 - 7 6 1)、(2) 治療抗体に結合する二次抗体 (蛍光標識化) を用いる、細胞中に組み込まれた蛍光強度を測定するアッセイ (*M o l e c u l a r B i o l o g y o f t h e C e l l* , *V o l . 1 5* , 5 2 6 8 - 5 2 8 2 , *D e c e m b e r 2 0 0 4*)、又は (3) 細胞に組み込まれると毒素が放出されて細胞成長を阻害する、治療抗体に結合する免疫毒素を用いた M a b - Z A P アッセイ (*B i o T e c h n i q u e s 2 8* : 1 6 2 - 1 6 5 , *J a n u a r y 2 0 0 0*) を用いて確認することができる。免疫毒素として、ジフテリア毒素触媒ドメイン及びタンパク質 G の組み換え複合体タンパク質が用いられ得る。

20

【 0 0 5 4 】

抗 H E R 2 抗体の抗腫瘍活性は、細胞成長に対する阻害活性を測定することによってインビトロで確認することができる。例えば、抗体の標的タンパク質として H E R 2 を過剰発現する癌細胞株を培養し、培養系に抗体を様々な濃度で添加して、病巣形成、コロニー形成及び球状体増殖に対する阻害活性を測定する。例えば、標的タンパク質を多く発現する癌細胞株を移植されたヌードマウスに抗体を投与し、癌細胞の変化を測定することにより、インビボで抗腫瘍活性を確認することができる。

30

【 0 0 5 5 】

抗 H E R 2 抗体 - 薬物コンジュゲートには、抗腫瘍効果を発揮する化合物が結合されているため、抗 H E R 2 抗体自体が抗腫瘍効果を有することは、好ましいが必須ではない。癌細胞に対する抗腫瘍化合物の細胞毒性を特異的且つ選択的に発揮させる目的では、抗 H E R 2 抗体が内在化して腫瘍細胞中に移行する性質を有することが重要であり、且つ好ましい。

【 0 0 5 6 】

本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗 H E R 2 抗体は、当技術分野で既知の手順によって得ることができる。例えば、本開示の抗体は、抗原性ポリペプチドで動物に免疫付与し、インビボで産生された抗体を回収して精製することを伴う、当技術分野で通常実施される方法を用いて得ることができる。抗原の由来はヒトに限定されず、マウス、ラットなどの非ヒトの動物に由来する抗原で動物に免疫付与することもできる。この場合、得られた異種抗原に結合する抗体とヒト抗原との交差反応性を試験して、ヒト疾患に適用可能な抗体をスクリーニングすることができる。

40

【 0 0 5 7 】

代わりに、当技術分野で既知の方法に従い、抗原に対する抗体を産生する抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合させ (例えば、*K o h l e r a n d M i l s t e i n* , *N a t u r e* (1 9 7 5) 2 5 6 , p . 4 9 5 - 4 9 7 ; 及び *K e n n e t* , *R . e d .* , *M o n*

50

oclonal Antibodies, p. 365 - 367, Plenum Press, N. Y. (1980)、ハイブリドーマを確立し、続いてここからモノクローナル抗体を得ることができる。

【0058】

抗原は、抗原タンパク質をコードする遺伝子を産生させるように宿主細胞を遺伝子操作することによって得ることができる。具体的には、抗原遺伝子を発現させることのできるベクターを調製し、これを宿主細胞に導入してこの遺伝子を発現させる。こうして発現した抗原は精製され得る。抗体は、上記の遺伝子操作された抗原発現細胞又は抗原を発現する細胞株で動物に免疫付与方法によっても得ることができる。

【0059】

本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗HER2抗体は、好ましくは、キメラ抗体又はヒト化抗体など、ヒトに対する異種抗原性を低下させることを目的として人工的修飾によって得られた組み換え抗体であるか、又は好ましくはヒトに由来する抗体、すなわちヒト抗体の遺伝子配列のみを有する抗体である。これらの抗体は、既知の方法を用いて産生することができる。

【0060】

キメラ抗体としては、抗体の可変領域及び定常領域が異なる種に由来する抗体、例えばマウス又はラット由来抗体の可変領域をヒト由来の定常領域に接合したキメラ抗体を例に挙げることができる(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851 - 6855, (1984))。

【0061】

ヒト化抗体としては、異種抗体の相補性決定領域(CDR)のみをヒト由来抗体に組み込むことによって得られる抗体(Nature (1986) 321, pp. 522 - 525)と、CDR移植法により、異種抗体のフレームワークのアミノ酸残基の一部及び異種抗体のCDR配列をヒト抗体に移植することによって得られた抗体(国際公開第90/07861号パンフレット)と、遺伝子変換突然変異誘発(gene conversion mutagenesis)ストラテジーを用いてヒト化した抗体(米国特許第5821337号明細書)とを例示することができる。

【0062】

ヒト抗体としては、ヒト抗体の重鎖及び軽鎖の遺伝子を含むヒト染色体断片を有するヒト抗体産生マウスを用いることによって生成された抗体(Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, p. 133 - 143; Kuroiwa, Y. et al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p. 3447 - 3448; Yoshida, H. et al., Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol. 10, p. 69 - 73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999; Tomizuka, K. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, p. 722 - 727等を参照されたい)を例示し得る。代替として、ファージディスプレイにより得られた抗体、ヒト抗体ライブラリから選択された抗体(Wormstone, I. M. et al., Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43(7), p. 2301 - 2308; Carmen, S. et al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1(2), p. 189 - 203; Siriwardena, D. et al., Ophthalmology (2002) 109(3), p. 427 - 431等を参照されたい)を例示し得る。

【0063】

本開示では、本開示で使用されている抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗HER2抗体の改変バリエーションも含まれる。この改変バリエーションは、本開示に係る抗体を化学的改変又は

10

20

30

40

50

生物学的改変に供することにより得られるバリエーションを指す。化学的改変バリエーションの例として、下記が挙げられる：アミノ酸骨格への化学的部位の連結を含むバリエーション、N連結型又はO連結型の炭水化物鎖への化学的部位の連結を含むバリエーション等。生物学的改変バリエーションの例として、下記が挙げられる：翻訳後改変（例えば、N連結型若しくはO連結型のグリコシル化、N末端若しくはC末端の処理、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、又はメチオニンの酸化）により得られるバリエーション、及び原核宿主細胞中で発現されることによりN末端にメチオニン残基が付加されているバリエーション。さらに、本開示に係る抗体又は抗原の検出又は単離を可能にするように標識された抗体（例えば、酵素標識抗体、蛍光標識抗体、及び親和性標識抗体）も、改変バリエーションの意味に含まれる。本開示に係る抗体のそのような改変バリエーションは、抗体の安定性及び血液中保持の改善、その抗原性の低減、抗体又は抗原の検出又は単離、及び同類のものに有用である。 10

【0064】

さらに、本開示に係る抗体に連結されているグリカンの改変（グリコシル化、脱フコシル化等）を調節することにより、抗体依存性細胞毒性活性を増強し得る。抗体のグリカンの改変を調節する技術として、国際公開第99/54342号パンフレット、同第00/61739号パンフレット、同第02/31140号パンフレット、同第2007/133855号パンフレット、同第2013/120066号パンフレット等で開示されているものが知られている。しかしながら、この技術は、これらに限定されない。本開示に係る抗HER2抗体では、グリカンの改変が調節されている抗体も含まれる。

【0065】

培養された哺乳動物細胞中で産生された抗体の重鎖のカルボキシル末端のリシン残基が欠失していることが既知であり（*Journal of Chromatography A*, 705:129-134 (1995)）、及び培養された哺乳動物細胞中で産生された抗体の重鎖のカルボキシル末端で2つのアミノ酸残基（グリシン及びリシン）が欠失しており、このカルボキシル末端に新たに位置するプロリン残基がアミド化されていることも既知である（*Analytical Biochemistry*, 360:75-83 (2007)）。しかしながら、重鎖のそのような欠失及び改変は、本抗体の抗原結合親和性及びエフェクター機能（補体の活性化、抗体依存性細胞毒性等）に影響を及ぼさない。したがって、本開示に係る抗HER2抗体では、そのような改変に供された抗体、及びこの抗体の機能的断片も含まれ、1つ又は2つのアミノ酸が重鎖のカルボキシル末端で欠失している欠失バリエーション、欠失バリエーションのアミド化により得られるバリエーション（例えば、カルボキシル末端のプロリン残基がアミド化されている重鎖）、及び同類のものも含まれる。本開示に係る抗HER2抗体の重鎖のカルボキシル末端で欠失を有する欠失バリエーションの種類は、抗原結合親和性及びエフェクター機能が保存されている限り、上記のバリエーションに限定されない。本開示に係る抗体を構成する2本の重鎖は、完全長の重鎖と、上記で説明されている欠失バリエーションとからなる群から選択される1種であってもよいし、又はこれらから選択される2種の組合わせであってもよい。各欠失バリエーションの量の比は、本開示に係る抗HER2抗体を産生する培養された哺乳動物細胞の種類、及び培養条件による影響を受ける可能性があるが、本開示に係る抗体の2本の重鎖の両方においてカルボキシル末端での1つのアミノ酸残基が欠失している抗体が、好ましいものとして例示され得る。 30 40

【0066】

本開示に係る抗HER2抗体のアイソタイプとして、例えば、IgG（IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）が例示され得、IgG1又はIgG2が、好ましいものとして例示され得る。

【0067】

本開示において、「抗HER2抗体」という用語は、HER2（ヒト上皮増殖因子受容体タイプ2；ErbB-2）に特異的に結合する抗体を指し、好ましくは、HER2への結合により、HER2発現細胞において内部移行活性を有する。

【0068】

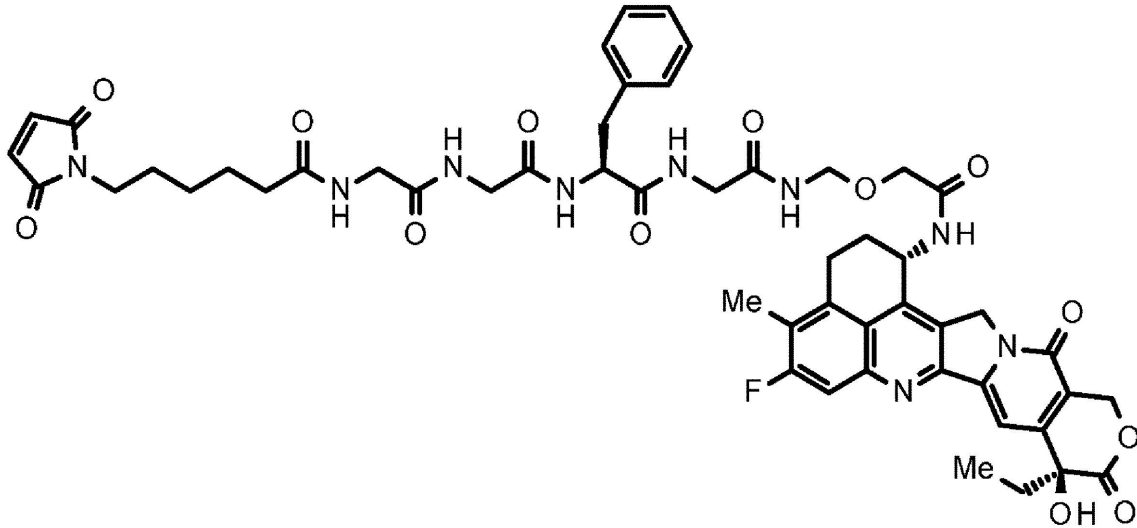
抗HER2抗体の例としては、トラスツズマブ（米国特許第5821337号明細書）及びペルツズマブ（国際公開第01/00245号パンフレット）が挙げられ、トラスツズマブは好ましい例であり得る。

【0069】

3. 抗体-薬物コンジュゲートの製造

本開示に係る抗HER2抗体-薬物コンジュゲートの製造での使用のための薬物-リンカー中間体は、下記式：

【化10】



10

20

によって表される。

【0070】

薬物-リンカー中間体は、化学名N-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサノイル]グリシルグリシル-L-フェニルアラニル-N-[(2-{[(1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-2,3,9,10,13,15-ヘキサヒドロ-1H,12H-ベンゾ[デ]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル]アミノ}-2-オキソエトキシ)メチル]グリシンアミドとして表され得、国際公開第2014/057687号パンフレット、同第2015/098099号パンフレット、同第2015/115091号パンフレット、同第2015/155998号パンフレット、同第2019/044947号パンフレットなどでの記載を参照して作製され得る。

30

【0071】

本開示で使用される抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、上記の薬物-リンカー中間体及びチオール基（スルフィドリル基とも呼ばれる）を有する抗HER2抗体を反応させることによって、作製され得る。

40

【0072】

スルフィドリル基を有する抗HER2抗体は、当技術分野で周知の方法により得られ得る（Hermanson, G. T, *Bioconjugate Techniques*, pp. 56-136, pp. 456-493, Academic Press (1996)）。例えば、抗体内の鎖間ジスルフィドごとにトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩（TCEP）などの還元剤の0.3~3モル当量を使用し、エチレンジアミンテトラ酢酸（EDTA）などのキレート剤を含有する緩衝液中で抗体と反応させることにより、抗体内に部分的に又は完全に還元される鎖間ジスルフィドがあるスルフィドリル基を有する抗HER2抗体が得られ得る。

【0073】

50

さらに、スルフィドリル基を有する抗HER2抗体あたりの薬物-リンカー中間体の2~20モル当量を使用することによって、2~8個の薬物分子が抗体分子ごとにコンジュゲートされる抗HER2抗体-薬物コンジュゲートが作製され得る。

【0074】

作製された抗体-薬物コンジュゲートの抗HER2抗体分子あたりのコンジュゲートされた薬物分子の平均数は、例えば、280nm及び370nmの2つの波長での抗体-薬物コンジュゲート及びその抱合反応前駆体に対するUV吸収の測定に基づいて計算する方法(UV法)、又は抗体-薬物コンジュゲートを還元剤で処置することにより得られた断片に対するHPLC測定を通じて定量に基づいて計算する方法(HPLC法)により決定され得る。

10

【0075】

抗HER2抗体と薬物-リンカー中間体とのコンジュゲーション及び抗体-薬物コンジュゲートの抗体分子あたりのコンジュゲートされた薬物分子の平均数の計算は、国際公開第2014/057687号パンフレット、同第2015/098099号パンフレット、同第2015/115091号パンフレット、同第2015/155998号パンフレット、同第2017/002776号パンフレット及び同第2018/212136号パンフレットなどの記述を参照して実施することができる。

【0076】

本開示において、「抗HER2抗体-薬物コンジュゲート」という用語は、本開示による抗体-薬物コンジュゲートにおける抗体が抗HER2抗体であるような抗体-薬物コンジュゲートを指す。

20

【0077】

抗HER2抗体は、好ましくは、配列番号1のアミノ酸残基26~33からなるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号1のアミノ酸残基51~58からなるアミノ酸配列からなるCDRH2及び配列番号1のアミノ酸残基97~109からなるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖と、配列番号2のアミノ酸残基27~32からなるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号2のアミノ酸残基50~52からなるアミノ酸配列からなるCDRL2及び配列番号2のアミノ酸残基89~97からなるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖と、を含む抗体、及びより好ましくは、配列番号1のアミノ酸残基1~120からなるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖と、配列番号2のアミノ酸残基1~107からなるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖と、を含む抗体、及びさらにより好ましくは、配列番号1により表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号2により表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む抗体又は、配列番号1のアミノ酸残基1~449からなる重鎖と、配列番号2の全てのアミノ酸残基1~214からなるアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む抗体である。

30

【0078】

抗HER2抗体-薬物コンジュゲートにおける抗体分子あたりのコンジュゲートされた薬物-リンカーの平均単位数は、好ましくは2~8、より好ましくは3~8、さらにより好ましくは7~8、さらにより好ましくは7.5~8及びさらにより好ましくは約8である。

40

【0079】

本開示で使用される抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、国際公開第2015/115091号パンフレットなどの記載を参照して作製され得る。

【0080】

好ましい実施形態では、抗HER2抗体-薬物コンジュゲートはトラスツズマブ・デルクステカン(DS-8201)である。

【0081】

4. PARP1選択的阻害薬

本開示では、「PARP1選択的阻害薬」という用語は、PARP2、PARP3、PARP5a、及びPARP6などの他のPARPファミリーメンバーを超えるPARP1

50

に対する選択性、有利には、PARP2を超えるPARP1に対する選択性を示すPARP阻害薬を指し、好ましくは、PARP2を超えるPARP1に対する少なくとも10倍の選択性、及びより好ましくは、PARP2を超えるPARP1に対する少なくとも100倍の選択性を指す。PARP1選択的阻害薬の好ましい例には、本明細書に開示されるものが含まれ得る。

【0082】

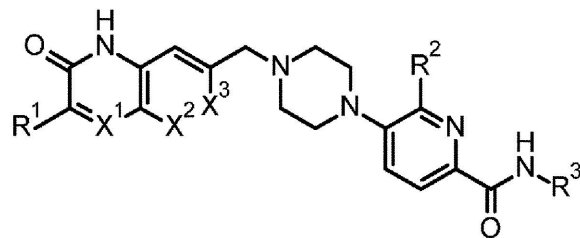
本開示に従って使用することができるPARP1選択的阻害薬の例には、式(I)のアザキノロン化合物が含まれる。本明細書に記載される式(I)のアザキノロン化合物は、PARP2、PARP3、PARP5a、及びPARP6などの他のPARPファミリーメンバーを超えるPARP1に対して驚くほど高い選択性を有する。有利なことに、本明細書に記載の式(I)の化合物は低HERG活性を有する。ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子(HERG)によりコードされる心臓イオンチャンネルの遮断が、薬物の発見及び開発におけるリスク因子であること、及びHERGの遮断が心不整脈などの安全性の問題を引き起こし得ることはよく知られている。

10

【0083】

したがって、本開示で使用されるPARP1選択的阻害薬の好ましい実施形態では、PARP1選択的阻害薬は、以下の式(I)：

【化11】



20

(I)

(式中、

30

X¹及びX²が、それぞれ独立して、N及びC(H)から選択され、
X³が、独立して、N及びC(R⁴) (ここで、R⁴はH又はフルオロである)から選択され、

R¹が、C₁~4アルキル又はC₁~4フルオロアルキルであり(好ましくは、エチルであり)、

R²が、独立して、H、ハロ、C₁~4アルキル、及びC₁~4フルオロアルキルから選択され、

R³が、H又はC₁~4アルキルである(好ましくは、C₁~4アルキルであり、より好ましくは、メチルである)によって表わされる化合物、

又はその薬学的に許容される塩である

40

(但し、

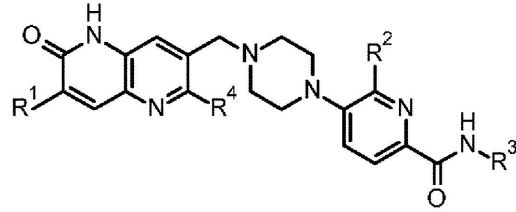
X¹がNであるとき、X²はC(H)であり、且つX³はC(R⁴)であり、
X²がNであるとき、X¹はC(H)であり、且つX³はC(R⁴)であり、
X³がNであるとき、X¹及びX²はいずれもC(H)である)。

【0084】

一実施形態では、本開示で使用されるPARP1選択的阻害薬は、式(Ia)の化合物であり：

50

【化 1 2】



(Ia)

10

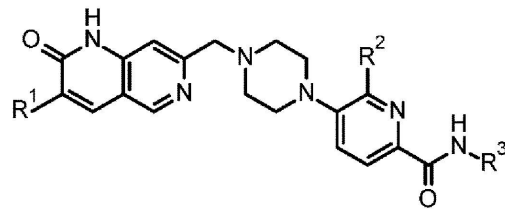
式中、

R^1 が $C_1 \sim 4$ アルキルであり、 R^2 が H、ハロ、 $C_1 \sim 4$ アルキル、及び $C_1 \sim 4$ フルオロアルキルから選択され（好ましくは、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、及びメチルから選択されるか、又は H 若しくはハロであり）、 R^3 が H 又は $C_1 \sim 4$ アルキルであり、 R^4 が H である。式 (Ia) の化合物において、好ましくは、 R^1 がエチルであり、 R^2 が H、クロロ及びフルオロから選択され、 R^3 がメチルであり、 R^4 が H である。

【0085】

別の実施形態では、本開示で使用される PARP1 選択的阻害薬は、式 (Ib) の化合物であり：

【化 1 3】



(Ib)

20

式中、

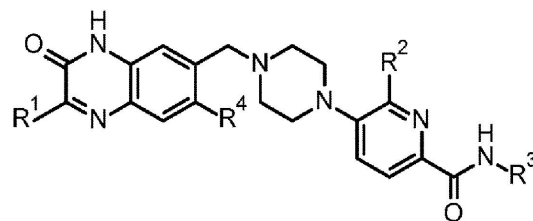
R^1 が $C_1 \sim 4$ アルキルであり、 R^2 が H 又はハロであり、 R^3 が H 又は $C_1 \sim 4$ アルキルである。式 (Ib) の化合物において、好ましくは R^1 がエチルであり、 R^2 が H、クロロ及びフルオロから選択され、 R^3 がメチルである。

30

【0086】

別の実施形態では、本開示で使用される PARP1 選択的阻害薬は、式 (Ic) の化合物であり：

【化 1 4】



(Ic)

40

式中、

R^1 が $C_1 \sim 4$ アルキル又は $C_1 \sim 4$ フルオロアルキルであり、 R^2 が、独立して、H、ハロ、 $C_1 \sim 4$ アルキル、及び $C_1 \sim 4$ フルオロアルキルから選択され、 R^3 が H 又は $C_1 \sim 4$ アルキルであり、 R^4 が H 又はフルオロである。

【0087】

別の実施形態では、PARP1 選択的阻害薬は、式 (Ic) の化合物であり、式中：

50

R¹が、独立して、エチル、n-プロピル、トリフルオロメチル、1,1-ジフルオロエチル、2,2-ジフルオロエチル、2-フルオロエチル、及び2,2,2-トリフルオロエチルから選択され；R²が、独立して、H、メチル、エチル、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、フルオロメチル、フルオロ、及びクロロから選択され；R³がH又はメチルであり、R⁴がHである。

【0088】

別の実施形態では、PARP1選択的阻害薬は、PARP2を超えるPARP1に対する選択性、好ましくは、PARP2を超えるPARP1に対する少なくとも10倍の選択性、及びより好ましくは、PARP2を超えるPARP1に対する少なくとも100倍の選択性を有する、式(I)の化合物、又は式(Ia)、(Ib)若しくは(Ic)の化合物である。

10

【0089】

他の実施形態では、本開示で使用されるPARP1選択的阻害薬は以下のものから選択される化合物：

5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

6-クロロ-5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

20

5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

6-クロロ-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

30

5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド、

6-エチル-5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド、

6-(ジフルオロメチル)-5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

40

5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N,6-ジメチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

6-クロロ-5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド、

N-メチル-5-[4-[[3-オキソ-2-(トリフルオロメチル)-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド、

50

6 - クロロ - N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (トリフルオロメチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド、

6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (トリフルオロメチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド、

N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド、

6 - クロロ - N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [(2 - エチル - 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [[2 - (1 , 1 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [[2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [[2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [[2 - (2 - フルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

6 - フルオロ - 5 - [4 - [[2 - (2 - フルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド、及び

6 - フルオロ - N - メチル - 5 - (4 - ((3 - オキソ - 2 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - イル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド、

又はその薬学的に許容される塩である。

【 0 0 9 0 】

別の実施形態では、本開示で使用される P A R P 1 選択的阻害薬は、以下のものから選択される化合物：

6 - (ジフルオロメチル) - 5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチルリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - 6 (トリフルオロメチル) ピリジン - 2 - カルボキサミド、

5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N , 6 - ジメチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、及び
N - エチル - 5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチルリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、

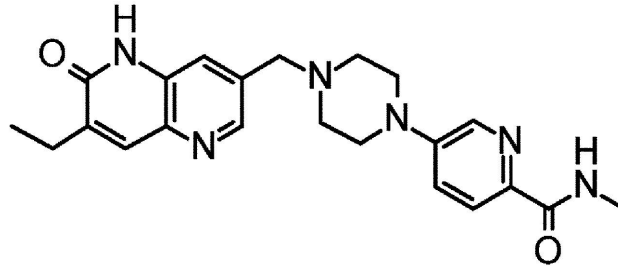
50

又はその薬学的に許容される塩である。

【0091】

好ましい実施形態では、本開示で使用される PARP1 選択的阻害薬は、以下の式によって表される化合物 AZD5305 (5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド)：

【化15】



10

又はその薬学的に許容される塩である。

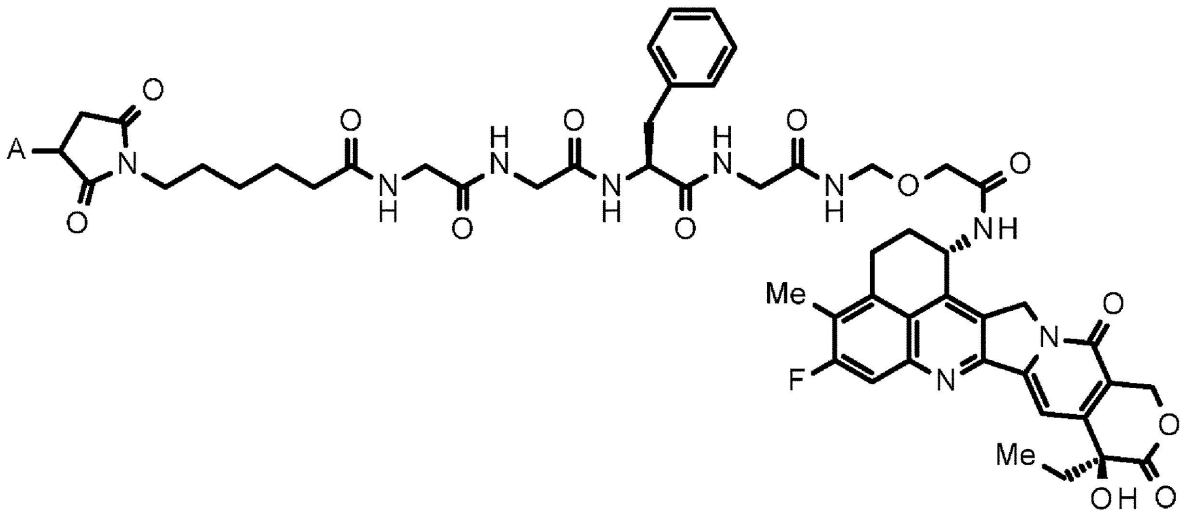
【0092】

5. 抗体-薬物コンジュゲート及び PARP1 選択的阻害薬の組み合わせ

20

本開示の第1の組み合わせ実施形態では、PARP1 選択的阻害薬と組み合わせられる抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、薬物-リンカーが、以下の式：

【化16】



30

(式中、Aは、抗体に対する接続位置を表す)

40

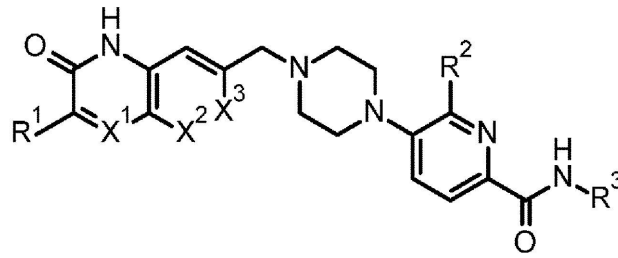
によって表される薬物-リンカーがチオエーテル結合を介して抗HER2抗体にコンジュゲートされている抗体-薬物コンジュゲートである。

【0093】

別の組み合わせ実施形態では、第1の組み合わせ実施形態に対して上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、以下の式(I)：

50

【化 17】



(I)

10

(式中、
 X^1 及び X^2 は、それぞれ独立して、N 及び C (H) から選択され、
 X^3 は、独立して、N 及び C (R^4) (ここで、 R^4 は H 又はフルオロである) から選択され、
 R^1 が、 C_{1-4} アルキル又は C_{1-4} フルオロアルキルであり、
 R^2 が、独立して、H、ハロ、 C_{1-4} アルキル、及び C_{1-4} フルオロアルキルから選択され、
 R^3 が、H 又は C_{1-4} アルキルである) によって表わされる化合物、
 又は、その薬学的に許容される塩である PARP1 選択的阻害薬と組み合わせられる (但し、
 X^1 が N であるとき、 X^2 は C (H) であり、且つ X^3 は C (R^4) であり、
 X^2 が N であるとき、 X^1 は C (H) であり、且つ X^3 は C (R^4) であり、
 X^3 が N であるとき、 X^1 及び X^2 はいずれも C (H) である)。

20

30

【0094】

別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、上記で定義されているようなPARP1選択的阻害薬と組み合わせられており、式(I)中、 R^3 は C_{1-4} アルキルである。

【0095】

別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、上記で定義されているようなPARP1選択的阻害薬と組み合わせられており、式(I)中、 R^3 はメチルである。

【0096】

別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、上記で定義されているようなPARP1選択的阻害薬と組み合わせられており、式(I)中、 R^1 はエチルである。

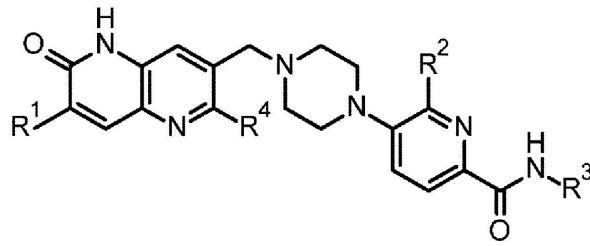
【0097】

別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、以下の式(Ia)：

40

50

【化 1 8】



(Ia)

10

(式中、
 R^1 が、 C_{1-4} アルキルであり、
 R^2 が、H、ハロ、 C_{1-4} アルキル、及び C_{1-4} フルオロアルキルから選択され、
 R^3 が、H又は C_{1-4} アルキルであり、
 R^4 が、Hである)によって表わされる化合物、
 又はその薬学的に許容される塩であるPARP1選択的阻害薬と組み合わせられる。

【0098】

別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、上記で定義されているようなPARP1選択的阻害薬と組み合わせられており、式(Ia)中、 R^2 はH又はハロである。

20

【0099】

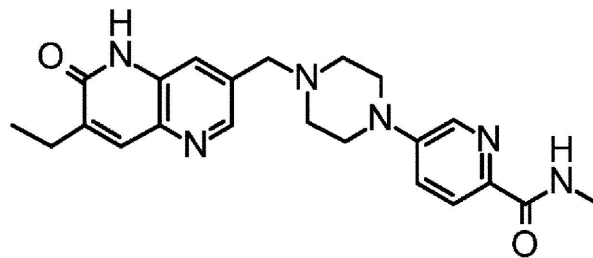
別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、上記で定義されているようなPARP1選択的阻害薬と組み合わせられており、式(Ia)中、 R^1 はエチルであり、 R^2 はH、クロロ及びフルオロから選択され、 R^3 はメチルである。

【0100】

別の組み合わせ実施形態では、上記で定義されているような抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、PARP1選択的阻害薬と組み合わせられており、PARP1選択的阻害薬が、以下の式：

30

【化 1 9】



40

によって表わされるAZD5305、又はその薬学的に許容される塩である。

【0101】

上記の組み合わせ実施形態のそれぞれの実施形態では、抗HER2抗体は、配列番号3によって表されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号4によって表されるアミノ酸配列からなるCDRH2及び配列番号5によって表されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖並びに配列番号6によって表されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号7のアミノ酸残基1~3からなるアミノ酸配列からなるCDRL2及び配列番号8によって表されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖を含む。上記の組み合わせ実施形態のそれぞれの別の実施形態では、抗HER2抗体は、配列番号9によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖及び配列番号10によって表されるアミ

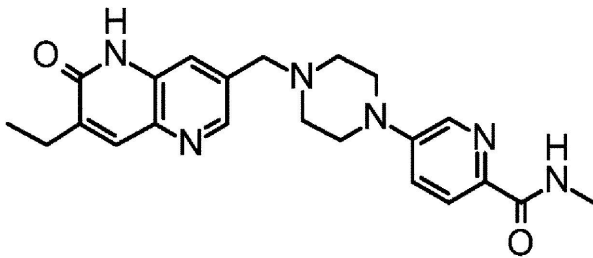
50

ノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖を含む。上記の組み合わせ実施形態のそれぞれの別の実施形態では、抗HER2抗体は、配列番号1によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号2によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む。上記の組み合わせ実施形態のそれぞれの別の実施形態では、抗HER2抗体は、配列番号11によって表されるアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号2によって表されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む。

【0102】

本開示の特に好ましい組み合わせ実施形態では、抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、トラスツズマブ・デルクスステカン(DS-8201)であり、PARP1選択的阻害薬は、次の式：

【化20】



によって表される化合物であり、これは、AZD5305としても特定される。

【0103】

6. 治療上での併用及び治療方法

医薬生成物及び治療用の使用及び方法を以下に記載するが、ここで本開示による抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬が組み合わせて投与される。

【0104】

本開示の医薬生成物及び治療用の使用及び方法は、抗HER2抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬が異なる処方物中に有効成分として個別に含有され、同時に又は異なる時間に投与されることを特徴とし得るか、又は抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬が単一の製剤中に有効成分として含有され、投与されることを特徴とし得る。

【0105】

本開示の医薬生成物及び治療的方法では、本開示で使用される単一のPARP1選択的阻害薬は、抗HER2抗体-薬物コンジュゲートと組み合わせて投与され得るか、又は2つ以上の異なるPARP1選択的阻害薬が抗体-薬物コンジュゲートと組み合わせて投与され得る。

【0106】

本開示の医薬生成物及び治療的方法は、癌を治療するために用いることができ、好ましくは、乳癌(トリプルネガティブ乳癌及びルミナル乳癌を含む)、胃癌(別名:胃腺癌)、結腸直腸癌(別名:結腸及び直腸癌であり、結腸癌及び直腸癌を含む)、肺癌(小細胞肺癌及び非小細胞肺癌を含む)、食道癌、頭頸部癌(唾液腺癌及び咽頭癌を含む)、食道胃接合部腺癌、胆道癌(胆管癌を含む)パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、胃腸間質腫瘍、子宮頸癌、扁平上皮細胞癌腫、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮体部癌腫、腎臓癌、外陰部癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性膠芽腫、骨肉腫、肉腫及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも1種の癌を治療するために用いることができ、より好ましくは、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌(好ましくは非小細胞肺癌)、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌及び腎臓癌からなる群から選択される少なくとも1種の癌を治療するために用いることができる。

【0107】

10

20

30

40

50

HER2 腫瘍マーカーの有無は、例えば、癌患者から腫瘍組織を採取して、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 試験片を調製し、試験片を、例えば免疫組織化学 (IHC) 法、フローサイトメーター若しくはウエスタンブロット法を用いる遺伝子産物 (タンパク質) に関する試験、又は例えばインサイチュハイブリダイゼーション (ISH) 法、定量 PCR 法 (q-PCR) 若しくはマイクロアレイ解析を用いる遺伝子転写に関する試験に供することにより、又は癌患者から無細胞循環腫瘍 DNA (ctDNA) を採取し、ctDNA を、次世代配列決定法 (NGS) などの方法を用いる試験に供することにより判定可能である。

【0108】

本開示の医薬生成物及び治療的方法は、HER2 過剰発現癌 (高度又は中程度) である場合もあり、又は HER2 低発現癌である場合もある HER2 発現癌に用いることができる。

【0109】

本開示では、用語「HER2 過剰発現癌」は、それが当業者によって HER2 過剰発現癌であると認識される限り特に限定されない。HER2 過剰発現癌の好ましい例としては、IHC 法において HER2 発現に関して 3+ のスコアを得た癌及び IHC 法において HER2 発現に関して 2+ のスコアを得、インサイチュハイブリダイゼーション法 (ISH) において HER2 発現に関して陽性であると判定された癌を挙げることができる。本開示のインサイチュハイブリダイゼーション法としては、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション法 (FISH) 及び二色インサイチュハイブリダイゼーション法 (DISH) が挙げられる。

【0110】

本開示では、用語「HER2 低発現癌」は、それが当業者によって HER2 低発現癌であると認識される限り特に限定されない。HER2 低発現癌の好ましい例としては、IHC 法において HER2 発現に関して 2+ のスコアを得、インサイチュハイブリダイゼーション法において HER2 発現に関して陰性であると判定された癌及び IHC 法において HER2 発現に関して 1+ のスコアを得た癌を挙げることができる。

【0111】

IHC 法によって HER2 発現の程度を採点するための方法又はインサイチュハイブリダイゼーション法によって HER2 発現の陽性又は陰性を判定するための方法は、その方法が当業者に認識されている限り特に限定されない。方法の例としては、4th edition of the guidelines for HER2 testing, breast cancer (Japanese Pathology Board for Optimal Use of HER2 for Breast Cancer 編) に記載される方法が挙げられ得る。

【0112】

癌 (特に、乳癌の処置に関する癌) は、HER2 過剰発現 (高若しくは中程度) 乳癌又は低発現乳癌、又はトリプルネガティブ乳癌であり得、並びに / 又は IHC 3+、IHC 2+、IHC 1+、若しくは IHC > 0 及び < 1+ の HER2 ステータススコアを有し得る。

【0113】

本開示の医薬生成物及び治療的方法を、好ましくは哺乳動物に使用し得るが、より好ましくはヒトに使用する。

【0114】

本開示の医薬生成物及び治療的方法の抗腫瘍効果を、癌細胞を被験動物に移植してモデルを調製し、本開示の医薬生成物及び治療的方法の適用による腫瘍量の減少又は延命効果を測定することにより確認し得る。そして次に、本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲート及び PARP1 選択的阻害薬の組み合わせた使用の効果は、本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲート及び PARP1 選択的阻害薬の単独投与での抗腫瘍効果を比較することによって、確認され得る。

10

20

30

40

50

【0115】

本開示の医薬生成物及び治療的方法の抗腫瘍効果は、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)、WHO評価法、Macdonald評価法、体重測定などの方法による評価法のいずれかを用いた臨床試験で確認することが可能であり、完全奏功 (CR)、部分的奏功 (PR)；進行疾患 (PD)、客観的奏効率 (ORR)、奏功期間 (DoR)、無進行生存率 (PFS)、全生存率 (OS) などの指標を基準に判定することが可能である。

【0116】

上記の方法を用いることにより、癌治療に関する既存の医薬生成物及び治療的方法に対する本開示の医薬生成物及び治療的方法の抗腫瘍効果の優位性を確認することが可能である。

10

【0117】

本開示の医薬生成物及び治療的方法は、癌細胞の成長を遅延させ、その増殖を阻害し、またさらには癌細胞を殺傷することが可能である。これらの効果は、癌患者が、癌によって引き起こされる症状から解放されることを可能にするか、又は癌患者の生活の質 (QOL) を改善し、癌患者の生命を持続させることによる治療効果をもたらすことができる。本開示の医薬生成物及び治療的方法が癌細胞の殺傷を達成しない場合でも、これらは、癌細胞の増殖を阻害又は制御することにより、より長期間の生存を達成すると同時に、癌患者のQOLをより高めることができる。

【0118】

本開示の医薬生成物は、全身療法として患者に適用することにより、且つ加えて癌組織に局所適用することにより、治療効果を発揮することが期待され得る。

20

【0119】

本開示の医薬生成物及び治療的方法は、別の態様において、電離放射線又は他の化学療法剤を用いた癌治療の補助剤としての使用を提供する。例えば、癌の治療において、治療は治療を必要とする対象に、治療有効量の医薬生成物を、電離放射線又は他の化学療法剤と同時に又は逐次的に投与することを含み得る。

【0120】

本開示の医薬生成物及び治療的方法は、外科手術と組み合わせたのアジュバント化学療法として用いることができる。本開示の医薬生成物は、外科手術前に腫瘍サイズを減少させる目的で投与され得る (術前アジュバント化学療法又はネオアジュバント療法と称される) か、又は外科手術後に腫瘍の再発を防止する目的で投与され得る (術後アジュバント化学療法又はアジュバント療法と称される)。

30

【0121】

更なる態様では、本開示の医薬生成物は、相同組換え (HR) 依存性DNA DSB修復活性が欠損している癌の治療に使用されてもよい。HR依存性DNA DSB修復経路は、相同機序によってDNAの二本鎖切断 (DSB) を修復し、連続したDNAヘリックスを再形成する (K. K. Khanna and S. P. Jackson, Nat. Genet. 27 (3): 247 - 254 (2001))。HR依存性DNA DSB修復経路の成分としては、ATM (NM_000051)、RAD51 (NM_002875)、RAD51L1 (NM_002877)、RAD51C (NM_002876)、RAD51L3 (NM_002878)、DMC1 (NM_007068)、XRCC2 (NM_005431)、XRCC3 (NM_005432)、RAD52 (NM_002879)、RAD54L (NM_003579)、RAD54B (NM_012415)、BRCA1 (NM_007295)、BRCA2 (NM_000059)、RAD50 (NM_005732)、MRE11A (NM_005590) 及びNBS1 (NM_002485) が挙げられるが、これらに限定されない。HR依存性DNA DSB修復経路に関する他のタンパク質としては、EMSYなどの調節因子が挙げられる (Hughes - Davies, et al., Cell, 115, pp 523 - 535)。HR成分はまた、Wood, et al., Science, 291, 1284 - 1289 (2

40

50

001)にも記載されている。HR依存性DNA DSB修復が欠損している癌は、正常細胞と比較して、その修復経路を通してDNA DSBを修復する能力が低下又は消失している1つ又は複数の癌細胞を含むか又はそれらからなる場合がある。即ち、HR依存性DNA DSB修復経路の活性は、1つ又は複数の癌細胞において低下又は消失し得る。HR依存性DNA DSB修復経路の1つ又は複数の成分の活性は、HR依存性DNA DSB修復が欠損している癌を有する個体の1つ又は複数の癌細胞において消失し得る。HR依存性DNA DSB修復経路の成分は当技術分野において十分に特徴付けられており(例えば、Wood, et al., Science, 291, 1284-1289(2001)を参照)、上記に列挙された成分を含む。

【0122】

いくつかの実施形態では、癌細胞はBRCA1及び/又はBRCA2欠損表現型を有し得る。すなわち、癌細胞において、BRCA1及び/又はBRCA2活性が低下又は消失している。この表現型を有する癌細胞は、BRCA1及び/又はBRCA2が欠損している可能性がある。即ち、BRCA1及び/又はBRCA2の発現及び/又は活性は、例えばコード核酸における変異又は多型によって、又は調節因子をコードする遺伝子(例えばBRCA2調節因子をコードするEMSY遺伝子)における増幅、変異又は多型によって、癌細胞において低下又は消失し得る(Hughes-Davies, et al., Cell, 115, 523-535)。BRCA1及びBRCA2は、その野生型対立遺伝子が、ヘテロ接合保因者の腫瘍において頻繁に失われる既知の腫瘍抑制因子である(Jasin M., Oncogene, 21(58), 8981-93(2002); Tutt, et al., Trends Mol Med., 8(12), 571-6, (2002))。BRCA1及び/又はBRCA2の変異と乳癌との関連は、当技術分野において十分に特徴付けられている(Radice, P. J., Exp Clin Cancer Res., 21(3 Suppl), 9-12(2002))。BRCA2結合因子をコードするEMSY遺伝子の増幅も、乳癌及び卵巣癌と関連することが知られている。BRCA1及び/又はBRCA2における変異の保因者はまた、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、血液癌、消化管癌及び肺癌を含むある特定の癌のリスクも高い。いくつかの実施形態では、個体は、BRCA1及び/若しくはBRCA2、又はその調節因子において、1つ又は複数の多様性(例えば、変異及び多型)についてヘテロ接合性である。BRCA1及びBRCA2における多様性の検出は当技術分野においてよく知られており、例えば、欧州特許第699754号明細書、同第705903号明細書、Neuhausen, S. L. and Ostrander, E. A., Genet. Test, 1, 75-83(1992); Chappnis, P. O. and Foulkes, W. O., Cancer Treat Res, 107, 29-59(2002); Janatova M., et al., Neoplasma, 50(4), 246-505(2003); Jancarkova, N., Ceska Gynekol., 68(1), 11-6(2003))に記載されている。BRCA2結合因子EMSYの増幅の決定は、Hughes-Davies, et al., Cell, 115, 523-535)に記載されている。

【0123】

癌に関連する変異及び多型は、バリエーション核酸配列の存在を検出することによって核酸レベルで、又はバリエーション(即ち、変異体又は対立遺伝子バリエーション)ポリペプチドの存在を検出することによってタンパク質レベルで、検出し得る。

【0124】

本開示の医薬生成物は、少なくとも1種の医薬的に好適な成分を含有して投与することが可能である。薬学的に適切な成分は、好適に、本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲート及びPARP1選択的阻害薬の投与量、又は投与濃度などに従い、一般に当技術分野で使用される処方添加物などから選択され、適用され得る。本開示で用いられる抗HER2抗体-薬物コンジュゲートは、例えば、ヒスチジン緩衝液などの緩衝液、スクロース及びトレハロースなどのピヒクル並びにポリソルベート80及び20などの界面活性剤を

10

20

30

40

50

含有する医薬生成物として投与することができる。本開示で用いられる抗体 - 薬物コンジュゲート含有する医薬生成物は、好ましくは、注射剤として用いられ得、より好ましくは水性注射剤又は凍結乾燥注射剤として用いられ得、さらにより好ましくは凍結乾燥注射剤として用いられ得る。本開示で用いられる抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲート含有する医薬生成物が水性注射剤である場合、水性注射剤は、好ましくは好適な希釈剤で希釈され、続いて静脈内注入剤として与えられ得る。希釈剤の例としては、デキストロース溶液及び生理食塩水を挙げることができ、好ましくは5%デキストロース溶液を例示することができる。本開示の医薬生成物が凍結乾燥注射剤である場合、注射のために予め水に溶解された必要量の凍結乾燥注射剤は、好ましくは好適な希釈剤で希釈され、続いて静脈内注入剤として与えられ得る。希釈剤の例としては、デキストロース溶液及び生理食塩水を挙げることができ、好ましくは5%デキストロース溶液を例示することができる。

10

【0125】

本開示の医薬生成物の投与に適用可能な投与経路の例としては、静脈内経路、皮内経路、皮下経路、筋肉内経路及び腹腔内経路を挙げることができ、静脈内経路が好ましい。

【0126】

本開示で用いられる抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートは、ヒトに、1~180日の間隔で投与することができ、好ましくは1週間、2週間、3週間又は4週間の間隔で投与することができ、より好ましくは3週間の間隔で投与することができる。本開示で用いられる抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートは、投与あたり約0.001~100mg/kgの用量で投与することができ、好ましくは投与あたり約0.8~12.4mg/kgの用量で投与することができる。例えば、抗HER2抗体 - 薬物コンジュゲートは、0.8mg/kg、1.6mg/kg、3.2mg/kg、5.4mg/kg、6.4mg/kg、7.4mg/kg又は8mg/kgの用量で3週間に1回投与することができ、好ましくは5.4mg/kg又は6.4mg/kgの用量で3週間に1回投与することができる。

20

【0127】

PARP1選択的阻害薬は、投与の任意の好適な経路によって、好適な用量で投与され得る。特定の病状の治療に必要用量のサイズは、治療される対象、投与経路及び治療対象の疾病の重症度に応じて必然的に変化する。投与経路及び投与レジメンに関する更なる情報は、Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990, Volume 5, Chapter 25.3を参照することができる。

30

【0128】

式(I)の化合物、又はその薬学的に許容される塩は、通常、活性成分又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒和物、又はそのような塩の溶媒和物を、薬学的に許容される剤形の中に含む医薬製剤の形態で、経口経路によって投与されることになる。治療されるべき障害及び患者に応じて、組成物は様々な用量で投与することができる。

40

【0129】

上記の式(I)の化合物の医薬製剤は、経口投与用に、特に錠剤又はカプセル剤の形態で、特に結腸を標的とした薬物放出を提供することを目的とした技術を用いて調製することができる(Patel, M.M. Expert Opin. Drug Deliv. 2011, 8(10), 1247-1258)。

【0130】

上述の式(I)の化合物の医薬製剤は、単位剤形で簡便に投与することができ、医薬の分野で周知の方法のいずれかによって、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985)に記載されているように調

50

製することができる。

【0131】

経口投与に好適な式(I)の化合物の医薬製剤は、1つ又は複数の生理学的に適合した担体及び/又は添加剤を含んでもよく、固体形態としても又は液体形態としてもよい。錠剤及びカプセル剤は、結合剤、充填剤、滑沢剤及び/又は界面活性剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウム)を用いて調製することができる。液体組成物は、懸濁剤、乳化剤及び/又は防腐剤などの従来の添加物を含有してもよい。液体組成物は、例えばゼラチンでカプセル化して、単位剤形にすることができる。固体の経口剤形としては、錠剤、ツーピース硬シェルカプセル剤、及び軟弾性ゼラチン(SEG)カプセル剤が挙げられる。このようなツーピース硬シェルカプセル剤は、例えば、式(I)の化合物をゼラチン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)シェルに充填することによって作製することができる。

10

【0132】

式(I)の化合物の乾燥シェル製剤は、通常、約40%w/w~60%w/w濃度のゼラチン、約20%~30%濃度の可塑剤(グリセリン、ソルビトール又はプロピレングリコールなど)及び約30%~40%濃度の水を含む。防腐剤、染料、乳白剤及び風味剤などの他の材料も存在してもよい。液体充填材には、(ミツロウ、水素添加ヒマシ油又はポリエチレングリコール4000などの懸濁化剤と共に)溶解、可溶化又は分散された固体薬物、又は鉱油、植物油、トリグリセリド、グリコール、ポリオール及び界面活性剤などのビヒクル又はビヒクルの組合せ中の液体薬物が含まれる。

20

【0133】

ヒトの治療処置における式(I)の化合物又はその薬学的に許容される塩の好適な1日用量は、約0.0001~100mg/kg体重である。経口製剤が好ましく、特に、当業者に公知の方法によって製剤化されて0.1mg~1000mgの範囲の用量の活性化化合物を提供することができる錠剤又はカプセル剤が好ましい。

【実施例】

【0134】

本開示を、以下に示す実施例を考慮しながら具体的に説明する。しかしながら、本開示は、これらに限定されない。さらに、これは、決して限定的に解釈されるべきではない。

【0135】

30

PARP1選択的阻害薬の合成実施例

PARP1選択的阻害薬の以下に記載される合成実施例1~32は、国際公開第2021/013735号パンフレットの実施例1~32に記載される通りである。

【0136】

一般的実験条件

¹H NMRスペクトルは、特に明記しない限り、Bruker 300MHz、400MHz又は500MHz分光計を27℃で使用して得た。化学シフトは百万分率(ppm、単位)で表し、溶媒の残留モノ¹Hアイソトポログを基準としている(CHCl₃: 7.24ppm; CH₂Cl₂: 5.32ppm; CD₃S(=O)CD₂H: 2.49ppm)。結合定数はヘルツ(Hz)の単位で与えられる。分裂パターンは見かけの多重度を表し、s(一重線)、d(二重線)、t(三重線)、q(四重線)、m(多重線)及びbr s(幅広い一重線)として指定される。LC-MSは、Waters SQD質量分析計を取り付けたWaters UPLC、又はShimadzu 2020質量分析計を備えたShimadzu LC-20AD LC-20XR LC-30ADを使用して行った。報告される分子イオンは、特に明記しない限り、[M+H]⁺に相当し; 複数の同位体パターンがある分子(Br、Clなど)では、報告される値は、特に明記しない限り、最低同位体質量で得られたものである。

40

【0137】

フラッシュクロマトグラフィーは、Biotage(商標)製SP1(商標)精製システム、ISCO製CombiFlash(登録商標)Rf、又はThermo Fish

50

er 製 Gilson システムで、順相 (normal phase) シリカ FLASH + (商標) (40 M、25 M 又は 12 M) 又は SNAP (商標) KP-Sil カートリッジ (340、100、50 又は 10)、Agela 製 Flash Column シリカ-C18 カラムを、C18 フラッシュカラムと共に使用する順相 (straight phase) フラッシュクロマトグラフィー、又は標準フラッシュクロマトグラフィーを使用して実行した。概して、使用した溶媒は全て、市販されている分析用のものとした。無水溶媒は、反应用到に常用されているものとした。実施例で使用した相分離器は、ISOLUTE (登録商標) Phase Separator カラムである。以下に命名した中間体及び実施例は、Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs) 製 ACD/Name 12.01 を使用して命名した。出発材料は、商業的供給源から得たか、又は文献経路で作製した。 10

【0138】

X線粉末回折 (XRPD) 分析

XRPD 分析は、Bruker AXS Inc (商標) (Madison, Wisconsin) から市販されている Bruker D8 回折計を使用して実行した。XRPD スペクトルは、シリコン単結晶ウェーハマウント (例えば、Bruker シリコンゼロバックグラウンド X 線回折試料ホルダー) に分析用の材料の試料 (およそ 10 mg) を載せ、顕微鏡スライドを用いて試料を薄層に広げることによって得た。試料を毎分 30 回転で回転させ (計数統計を改善するため)、1.5406 オングストローム (即ち、約 1.54 オングストローム) の波長で、40 kV 及び 40 mA で操作される銅製長微小焦点管によって生じる X 線を照射した。試料を、シータ-シータモードで 5 度 ~ 40 度 2 シータの範囲にわたって、0.02 度 2 シータ増分あたり 1 秒間曝露した (連続スキャンモード)。操作時間は、D8 で約 15 分であった。XRPD 値は、妥当な範囲で、例えば、 $\pm 0.2^\circ$ の範囲内で変わることがあり、その XRPD 強度は、基本的に同じ結晶形態で測定される場合、例えば、好ましい配向を含む種々の理由で変動し得る。XRPD の原理は、例えば、Giacovazzo, C. et al. (1995), Fundamentals of Crystallography, Oxford University Press; Jenkins, R. and Snyder, R. L. (1996), Introduction to X-Ray Powder Diffractometry, John Wiley & Sons, New York; 及び Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-ray Diffraction Procedures, John Wiley and Sons, New York などの刊行物に記載されている。 20 30

【0139】

DSC 分析

DSC 分析は、標準方法に従って調製した試料について、TA INSTRUMENTS (登録商標) (New Castle, Delaware) から入手可能な Q SERIES (商標) Q1000 DSC 熱量計を使用して実行した。試料 (およそ 2 mg) をアルミニウム試料パン中に秤量し、DSC に移した。機器を窒素により 50 mL / 分でパージし、10 / 分の動的加熱速度を使用して 22 ~ 300 の間でデータを収集した。熱データは、標準的なソフトウェア、例えば、TA INSTRUMENTS (登録商標) の Universal v. 4.5 A を使用して分析した。 40

【0140】

以下の略語を使用する: AcOH = 酢酸; aq = 水性; BAST = ビス (2-メトキシエチル) アミノサルファートリフルオリド; Boc₂O = 二炭酸ジ-tert-ブチル; Boc = t-ブチルオキシカルボニル; CDCl₃ = 重水素化クロロホルム; CD₃OD = 重水素化メタノール; CH₃NO₂ = ニトロメタン; DCE = 1, 2-ジクロロエタン; DCM = ジクロロメタン; DEA = ジエチルアミン; DEAD = アゾジカルボン酸ジエチル; デス・マーチンペルヨージナン = 1, 1, 1-トリス (アセチルオキシ) - 1, 1-ジヒドロ - 1, 2-ベンゾヨードキソール - 3 - (1H) - オン; DIPEA = N, N 50

- ジイソプロピルエチルアミン; DMAP = 2, 6 - ジメチルアミノピリジン; DMF = N, N - ジメチルホルムアミド; DMSO = ジメチルスルホキシド; DMSO - d₆ = 重水素化ジメチルスルホキシド; DPPA = ジフェニルホスホロアジデート; dppf = 1, 1' - ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン; DIAD = (E) - ジアゼン - 1, 2 - ジカルボン酸ジイソプロピル; DSC = 示差走査熱量測定; DTAD = (E) - ジアゼン - 1, 2 - ジカルボン酸ジ - tert - ブチル; ee = エナンチオマー過剰率; eq. = 当量; ESI = エレクトロスプレーイオン化; Et₂O = ジエチルエーテル EtOAc 又は EA = 酢酸エチル; EtOH = エタノール; FA = 脂肪酸; グラブス触媒(1, 3 - ジメチルイミダゾリン - 2 - イリデン)(トリシクロヘキシルホスフィン)ルテニウムジクロリド; h = 時間; HATU = (ジメチルアミノ) - N, N - ジメチル(3 - オキシド - 1H - [1, 2, 3]トリアゾロ[4, 5 - b]ピリジニル)メタンイミニウムヘキサフルオロホスファート; HCl = 塩酸; H₂O₂ = 過酸化水素; HP = 高圧; IPA = イソプロピルアルコール; LC = 液体クロマトグラフィー; LiClO₄ = リチウムペルクロラート; mmol = ミリモル; MCPBA = メタクロロ過安息香酸; MeOH = メタノール; min = 分; MeCN 又は CH₃CN = アセトニトリル; MeNO₂ = ニトロメタン; MS = 質量分析; NMP = N - メチル - 2 - ピロリドン; NMR = 核磁気共鳴; Pd/C = パラジウム / 炭素; Pd₂dba₃ = トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0); PdCl₂(dppf) = 1, 1' - ビス(ジ - tert - ブチルホスフィノ)フェロセンパラジウムジクロリド; PE = 石油エーテル; PPh₃ = トリフェニルホスフィン; rt = 室温; Rt 又は RT = 保持時間; Ruphos Pd G3 = (2 - ジシクロヘキシルホスフィノ - 2', 6' - ジイソプロポキシ - 1, 1' - ビフェニル)[2 - (2' - アミノ - 1, 1' - ビフェニル)]パラジウム(II)メタンスルホン酸塩; sat = 飽和; SFC = 超臨界流体クロマトグラフィー; T3P = 2, 4, 6 - トリプロピル - 1, 3, 5, 2, 4, 6 - トリオキサトリホスホリナン - 2, 4, 6 - トリオキシド; TBTU = 2 - (1H - ベンゾ[d][1, 2, 3]トリアゾール - 1 - イル) - 1, 1, 3, 3 - テトラメチルイソウロニウムテトラフルオロボラート; TFA = トリフルオロ酢酸; THF = テトラヒドロフラン; TLC = 薄層クロマトグラフィー; TMS = トリメチルシリル; キサントホス = 4, 5 - ビス(ジフェニルホスフィノ) - 9, 9 - ジメチルキサンテン; CBr₄ = 四臭化炭素; HCl = 塩酸; HBr = 臭化水素酸; Cs₂CO₃ = 炭酸セシウム; MgSO₄ = 硫酸マグネシウム; NaHCO₃ = 重炭酸ナトリウム; DDQ = 2, 3 - ジクロロ - 5, 6 - ジシアノ - 1, 4 - ベンゾキノン; SOCl₂ = 塩化チオニル; DIBAL - H = 水素化ジイソブチルアルミニウム; NH₄HCO₃ = 重炭酸アンモニウム; BINAP = 2, 2' - ビス(ジフェニルホスフィノ) - 1, 1' - ビナフチル。

10

20

30

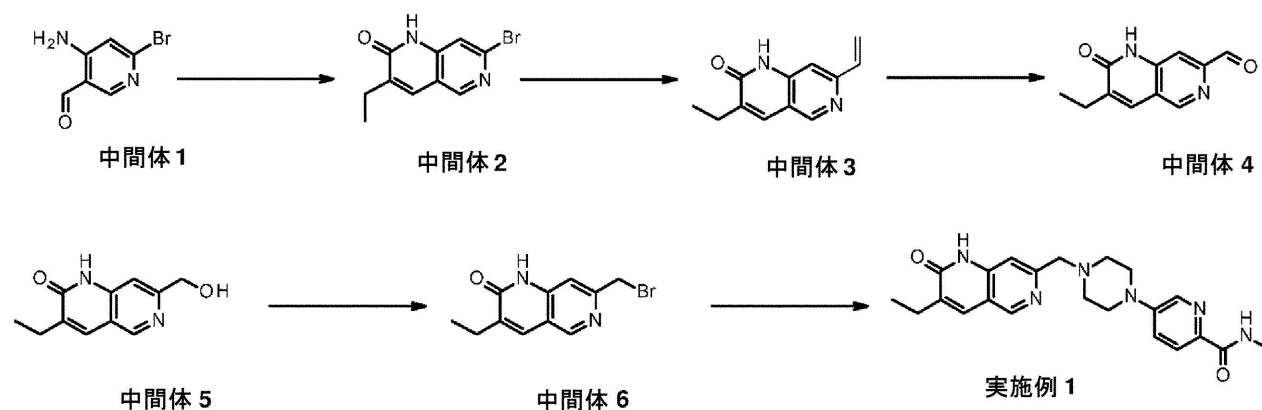
40

50

【0141】

出発材料及び中間体の合成

【化21】



中間体 2 : 7 - ブロモ - 3 - エチル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン
 ブチリルクロリド (0 . 1 4 3 m L 、 1 . 3 7 m m o l) を、 0 で、 4 - アミノ - 6 -
 ブロモ - ピリジン - 3 - カルバルデヒド (中間体 1 2 5 0 m g 、 1 . 2 4 m m o l) 、
 D I P E A (1 . 0 8 6 m L 、 6 . 2 2 m m o l) 及び D M A P (3 0 . 4 m g 、 0 . 2
 5 m m o l) の C H ₂ C l ₂ (5 m L) 攪拌溶液に滴下した。得られた溶液を r t で 4 時
 間攪拌した。 2 e q を超えるブチリルクロリドを添加し、反応をさらに 2 4 時間継続した
 。反応物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃
 縮して、粗生成物を得た。 1 . 5 m L の M e O H を添加し、固形物 (生成物) を濾過し、
 1 m L の M e O H で洗浄して、 7 - ブロモ - 3 - エチル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン -
 2 - オン (中間体 2 、 1 6 7 m g 、 5 3 . 1 %) を白色固体として得た。

10

¹H NMR (D M S O - d ₆) 1 . 1 7 (3 H , t) , 2 . 4 5 - 2 . 5 0 (2 H , m , 溶媒 D M S O ピークとオーバーラップ) , 7 . 3 5 (1 H , s) , 7 . 8 2 (1 H , s) , 8 . 6 3 (1 H , s) , 1 2 . 0 9 (1 H , b r s) ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 2 5 2 .

【 0 1 4 2 】

中間体 3 : 3 - エチル - 7 - ビニル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン
 P d C l ₂ (d p p f) (3 7 . 6 m g 、 0 . 0 5 m m o l) を、 1 , 4 - ジオキサン
 (4 m L) / 水 (1 . 3 3 3 m L) 中に 7 - ブロモ - 3 - エチル - 1 H - 1 , 6 - ナフチ
 リジン - 2 - オン (中間体 2 、 1 3 0 m g 、 0 . 5 1 m m o l) 、 4 , 4 , 5 , 5 - テト
 ラメチル - 2 - ビニル - 1 , 3 , 2 - ジオキサボラン (0 . 1 0 5 m L 、 0 . 6 2 m m o
 l) 及び K ₂ C O ₃ (2 1 3 m g 、 1 . 5 4 m m o l) を混合し攪拌した攪拌混合物に加
 え、得られた混合物を 9 0 で 1 時間攪拌した。反応混合物を水で希釈し、酢酸エチルで
 抽出した。有機層を合わせ、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して、粗生成物を得た。得
 られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 2 0 % M e O H
 (D C M 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、 3 - エチル - 7 - ビ
 ニル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 3 、 9 3 m g 、 9 0 %) を黄色固
 体として得た。

20

¹H NMR (D M S O - d ₆) 1 . 1 8 (3 H , t) , 2 . 5 3 (2 H , m , 溶媒 D M
 S O ピークとオーバーラップ) , 5 . 4 9 (1 H , d d) , 6 . 2 7 (1 H , d d) , 6
 . 8 4 (1 H , d d) , 7 . 1 5 (1 H , s) , 7 . 8 1 (1 H , s) , 8 . 7 8 (1 H
 , s) , 1 2 . 0 0 (1 H , b r s) ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 2 0 1 .

30

【 0 1 4 3 】

中間体 4 : 3 - エチル - 2 - オキソ - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 7 - カルバルデヒド
 3 - エチル - 7 - ビニル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 3 、 3 0 m
 g 、 0 . 1 5 m m o l) 、 2 , 6 - ルチジン (0 . 0 3 5 m L 、 0 . 3 0 m m o l) 及び
 過ヨウ素酸ナトリウム (1 2 8 m g 、 0 . 6 0 m m o l) の T H F (1 m L) / 水 (0 .
 2 0 0 m L) 溶液に、 H ₂ O 中の四酸化オスミウム (0 . 0 2 4 m L 、 3 . 0 0 μ m o l)
) を加え、 r t で終夜攪拌した。反応物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出し、濾液を濃縮
 乾固した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 1
 5 % M e O H (D C M 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、 3 - エチル
 - 2 - オキソ - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 7 - カルボアルデヒド (中間体 4 、 2 4 .
 0 0 m g 、 7 9 %) を淡黄色泡状物として得た。

40

¹H NMR (D M S O - d ₆) 1 . 2 0 (3 H , t) , 2 . 5 5 - 2 . 6 2 (2 H , m , 溶媒 D M S O ピークとオーバーラップ) , 7 . 7 3 (1 H , s) , 7 . 9 5 (1 H , s) , 9 . 0 3 (1 H , s) , 1 0 . 0 0 (1 H , s) , 1 2 . 3 2 (1 H , b r s) ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 2 0 3 .

【 0 1 4 4 】

中間体 5 : 3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 -
 オン

水素化ホウ素ナトリウム (6 1 . 4 m g 、 1 . 6 2 m m o l) を、 3 - エチル - 2 - オ

50

キソ - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 7 - カルバルデヒド (中間体 4 、 8 2 m g 、 0 . 4 1 m m o l) のメタノール (2 m L) 攪拌溶液に 0 でゆっくり添加し、得られた混合物を室温で 1 時間攪拌した。メタノールを真空下で除去し、得られた残渣をフラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 3 5 % M e O H (D C M 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 5 、 6 8 . 0 m g 、 8 2 %) を淡黄色固体として得た。

$^1\text{H NMR}$ (5 0 0 M H z , D M S O - d 6) 1 . 1 8 (3 H , t) , 2 . 5 2 - 2 . 5 5 (2 H , m , 溶媒 D M S O ピークとオーバーラップ) , 4 . 5 9 (2 H , b r s) , 5 . 5 2 (1 H , b r s) , 7 . 3 3 (1 H , s) , 7 . 8 0 (1 H , s) , 8 . 7 1 (1 H , s) , 1 2 . 0 1 (1 H , b r s) ; m/z (E S $^+$) [M + H] $^+$ = 2 0 5 .

【 0 1 4 5 】

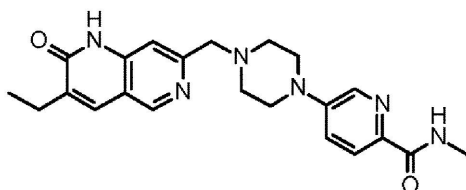
中間体 6 : 7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン C B r 4 (9 2 8 m g 、 2 . 8 0 m m o l) を、3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 5 、 3 8 1 m g 、 1 . 8 7 m m o l) 及びトリフェニルホスフィン (7 3 4 m g 、 2 . 8 0 m m o l) の C H 2 C l 2 (1 8 . 6 5 6 m l) 攪拌溶液に 0 で添加し、得られた溶液を 0 で 2 時間攪拌した。反応物を濃縮し、得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 1 5 % M e O H (D C M 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 6 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 6 、 3 8 6 m g 、 7 7 %) を白色固体として得た (トリフェニルホスフィンオキシド含有、分離困難) 。この化合物を、さらに精製することなく次の工程に供した。

m/z (E S $^+$) [M] $^+$ = 2 6 7 .

【 0 1 4 6 】

合成実施例 1 : 5 - [4 - [(3 - エチル - 2 - オキシ - 1 H - 1 , 6 - ナフチルリジン - 7 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

【 化 2 2 】



D I P E A (0 . 0 5 9 m L 、 0 . 3 4 m m o l) を、7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 6 - ナフチルリジン - 2 - オン (中間体 6 、 3 0 m g 、 0 . 1 1 m m o l) 及び N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、2 H C l (中間体 1 3 、 4 2 . 8 m g 、 0 . 1 5 m m o l) のアセトニトリル (1 m L) 攪拌溶液に、2 0 で添加した。得られた溶液を 7 0 で 2 時間攪拌した。溶媒を真空下で除去し、得られた粗物質を逆相クロマトグラフィー (R e d i S e p R f G o l d (登録商標) C 1 8 、 0 から 9 0 % アセトニトリル (水中) 、添加剤として 0 . 1 % N H 4 O H) によりさらに精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、5 - [4 - [(3 - エチル - 2 - オキシ - 1 H - 1 , 6 - ナフチルリジン - 7 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 1 、 2 3 . 6 0 m g 、 5 1 . 7 %) を淡黄色固体として得た。

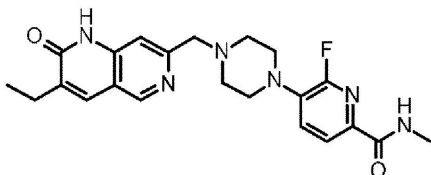
$^1\text{H NMR}$ (5 0 0 M H z , D M S O - d 6) 1 . 1 8 (3 H , b r t) , 2 . 5 4 (2 H , m , 溶媒 D M S O ピークとオーバーラップ) , 2 . 6 7 (4 H , b r s) , 2 . 7 9 (3 H , b r d) , 3 . 3 8 (4 H , b r s) , 3 . 7 5 (2 H , b r s)

, 7.34 (1H, s), 7.42 (1H, br dd), 7.77 - 7.88 (2H, m), 8.29 (1H, br d), 8.40 (1H, br d), 8.75 (1H, s), 11.60 - 12.11 (1H, m); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 407.

【0147】

合成実施例2：5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化23】



10

DIPEA (0.082 mL、0.47 mmol) を、7-(ブロモメチル)-3-エチル-1H-1,6-ナフチルリジン-2-オン (中間体6、25 mg、0.09 mmol) 及び6-フルオロ-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、HCl (中間体23、28.3 mg、0.10 mmol) のアセトニトリル (2 mL) 攪拌溶液に20 で加えた。得られた溶液を70 で2時間攪拌した。真空下で溶媒を除去した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から20% MeOH (DCM中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド (合成実施例2、17.00 mg、42.8%) を淡黄色固体として得た。

20

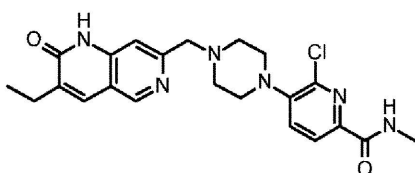
¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.18 (3H, t), 2.52 - 2.55 (2H, m, 溶媒DMSOピークとオーバーラップ), 2.64 (4H, br s), 2.77 (3H, d), 3.20 (4H, br s), 3.70 (2H, s), 7.32 (1H, s), 7.59 (1H, dd), 7.80 (1H, s), 7.86 (1H, d), 8.31 - 8.49 (1H, m), 8.73 (1H, s), 11.93 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.

30

【0148】

合成実施例3：6-クロロ-5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化24】



40

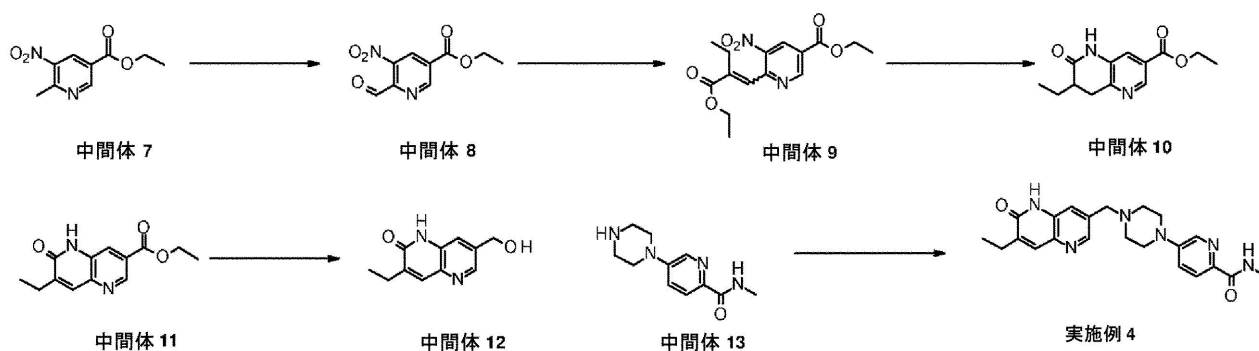
DIPEA (0.082 mL、0.47 mmol) を、7-(ブロモメチル)-3-エチル-1H-1,6-ナフチルリジン-2-オン (中間体6、25 mg、0.09 mmol) 及び6-クロロ-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体47、33.7 mg、0.10 mmol) のアセトニトリル (2 mL) 攪拌溶液に20 で加えた。得られた溶液を70 で2時間攪拌した。真空下で溶媒を除去した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から20% MeOH (DCM中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、6-クロロ-5-[4-[(3-エチル-2-オキソ-1H-1,6-ナフチルリジン-7-イル

50

)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例3、19.20mg、46.5%)を白色固体として得た。

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, DMSO-d₆) 1.18 (3H, t), 2.53 (2H, m, 溶媒DMSOピークとオーバーラップ), 2.66 (4H, br s), 2.80 (3H, d), 3.15 (4H, br s), 3.72 (2H, s), 7.33 (1H, s), 7.68 (1H, d), 7.81 (1H, s), 7.95 (1H, d), 8.43 (1H, br d), 8.74 (1H, s), 11.93 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.

【化25】



10

20

【0149】

中間体8: 6-ホルミル-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル

1,4-ジオキサン(50mL)中に6-メチル-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル(中間体7、10g、47.58mmol)及び二酸化セレン(7.92g、71.36mmol)を混合した混合物を110で20時間攪拌した。反応混合物を室温に冷却し、celiteのパッドに通して濾過し、酢酸エチルで洗浄した。濾液を合わせて濃縮し、得られた残渣をフラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から70%酢酸エチル(ヘキサン中)により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、6-ホルミル-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル(中間体8、9.70g、91%
30

30

【0150】

中間体9: 6-[(E)-2-エトキシカルボニルブタ-1-エニル]-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル(E/Z異性体混合物)

水素化ナトリウム(9.63g、240.89mmol)(鉱油中60%)の無水THF(100mL)攪拌溶液に、2-(ジエトキシホスホリル)ブタン酸エチル(60.8g、240.89mmol)を、添加漏斗を用いて0で滴下して、灰色の混合物を得た。得られた混合物を0で10分間攪拌し、10分間かけて室温まで加温し、40で5
40

分間攪拌した。反応混合物を-78に冷却し、次いで、この冷却した反応混合物に、6-ホルミル-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル(中間体8、22.5g、100.37mmol)を100mLのTHFに溶解した溶液をゆっくり添加した。混合物をsat. NH₄Cl溶液で反応停止させ、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機層をNa₂SO₄ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮して、粗生成物を得た。得られた残渣をフラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から50%酢酸エチル(ヘキサン中)により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、6-[(E)-2-エトキシカルボニルブタ-1-エニル]-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル(中間体9、24.30g、75%)を黄色油状物(E/Z異性体の1:1及び混合物)として得た。

40

50

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, クロロホルム-d) 1.13 (3H, t), 1.18 (3

H, t), 1.23 (3H, t), 1.37 (3H, t), 1.45 (6H, q), 2.57 (2H, qd), 2.66 (2H, q), 4.11 - 4.24 (2H, m), 4.32 (2H, q), 4.45 - 4.56 (4H, m), 7.08 (1H, s), 7.85 (1H, s), 8.86 (2H, dd), 9.26 (1H, d), 9.43 (1H, d); m/z (ES⁺) [M]⁺ = 322.

【0151】

中間体10: 7-エチル-6-オキソ-7,8-ジヒドロ-5H-1,5-ナフチリジン-3-カルボン酸エチル

エタノール(30mL)中に6-[(E)-2-エトキシカルボニルブタ-1-エニル]-5-ニトロ-ピリジン-3-カルボン酸エチル(E/Z異性体の1:1混合物)(中間体9、3.75g、11.63mmol)、Pd/C(1.857g、1.75mmol)(10%)を混合した混合物を脱気し、H₂(バルーン)で満たし、反応物をH₂雰囲気下、室温で終夜撹拌した。混合物をcelite床に通して濾過し、celite床をエタノールで洗浄した。濃縮後、得られた残渣に4M HCl(ジオキサン中)(15mL)を加え、混合物を室温で30分間撹拌した。混合物をエーテルで希釈し、固形物を濾別し、ジエチルエーテルで洗浄し、真空下で乾燥させて、7-エチル-6-オキソ-7,8-ジヒドロ-5H-1,5-ナフチリジン-3-カルボン酸エチル(中間体10、2.260g、78%)を白色固体として得た。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) 0.94(3H, t), 1.33(3H, t), 1.41 - 1.51(1H, m), 1.69 - 1.81(1H, m), 2.41 - 2.48(1H, m), 2.94(1H, dd), 3.20(1H, dd), 4.35(2H, t), 7.67(1H, d), 8.61(1H, d), 10.32(1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 249.

【0152】

中間体11: 7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-カルボン酸エチル

7-エチル-6-オキソ-7,8-ジヒドロ-5H-1,5-ナフチリジン-3-カルボン酸エチル(中間体10、2.26g、9.10mmol)を1,4-ジオキサン(40mL)に溶解し、DDQ(2.273g、10.01mmol)を加え、混合物を還流下で3時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、sat. NaHCO₃溶液を加え、残渣を室温で1時間撹拌した。固体を濾別し、水、続いて10mLのジエチルエーテルで洗浄した。得られた固体を真空下で乾燥させて、エチル7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-カルボン酸エチル(中間体11、1.738g、78%)を淡褐色固体として得た。

¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) 1.14 - 1.28(3H, m), 1.35(3H, t), 2.58(2H, q), 4.38(2H, q), 7.83(1H, s), 8.17(1H, s), 8.90(1H, s), 12.05(1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 247.

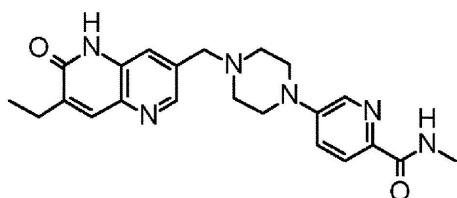
【0153】

中間体12: 3-エチル-7-(ヒドロキシメチル)-1H-1,5-ナフチリジン-2-オン

THF(29.2mL、58.47mmol)中2Mの水素化アルミニウムリチウムを、テトラヒドロフラン(150mL)中の7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-カルボン酸エチル(中間体11、7.2g、29.24mmol)に、窒素下45分間にわたって、0 で滴下した。得られた混合物を0 で1.5時間撹拌した。1M aq HCl(29mL)を滴下して反応混合物の反応を停止させた。反応混合物を濃縮し、固体を水(約150mL)及び1M HCl溶液29mLで希釈して、黄色懸濁液を得た。固体を濾過によって収集し、水、ジエチルエーテルで洗浄し、乾燥させて、粗生成物を黄色固体(何らかの無機塩によって汚染された)として得た。この固体をメタノール及びDCM(2:1)の混合物(400mL)に懸濁し、加熱還流した。固体を

濾別した。この固体をメタノール / D C M 混合物に再懸濁し、この手順を 5 回繰り返して、この混合物から大部分の生成物を得た。次いで、合わせた濾液を約 1 0 0 m l まで濃縮し、固体を濾過によって収集し、エーテルで洗浄し、真空下で乾燥させて、3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 1 2、4 . 3 5 g、7 2 . 8 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (5 0 0 M H z , D M S O - d 6) 1 . 1 8 (3 H , t) , 2 . 5 2 - 2 . 5 6 (2 H , m) , 4 . 6 1 (2 H , d) , 5 . 4 4 (1 H , t) , 7 . 6 1 (1 H , s) , 7 . 7 4 (1 H , s) , 8 . 3 7 (1 H , s) , 1 1 . 8 7 (1 H , b r s) ; m / z (E S +) [M + H] + = 2 0 5 . 3 . 【 0 1 5 4 】

合成実施例 4 : 5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチルリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド
【化 2 6 】



20

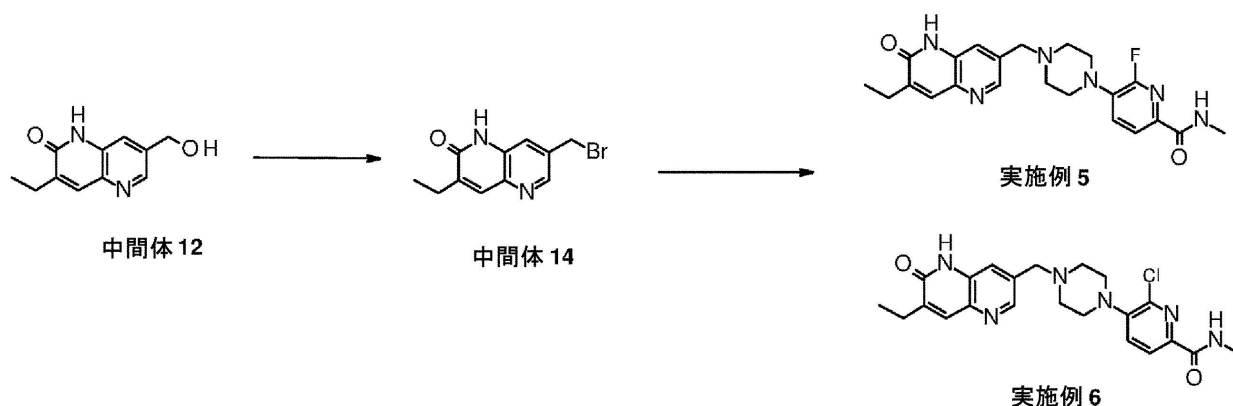
塩化チオニル (6 . 4 1 m L、8 8 . 1 4 m m o l) を、3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 , 5 - ナフチルリジン - 2 (1 H) - オン (中間体 1 2、3 g、1 4 . 6 9 m m o l) 及び N , N - ジメチルホルムアミド (0 . 1 1 4 m L、1 . 4 7 m m o l) の C H 2 C l 2 (6 0 m L) 懸濁液に 0 で滴下し、得られた溶液を室温で 6 時間攪拌した。この混合物を濃縮乾固して、粗 7 - (クロロメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 1 7) を得た。D I P E A (1 2 . 8 3 m L、7 3 . 4 5 m m o l) を、2 0 で、7 - (クロロメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 1 7、上記からの粗製物)、ヨウ化カリウム (0 . 4 8 8 g、2 . 9 4 m m o l) 及び N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、2 H C l (中間体 1 3、4 . 3 1 g、1 4 . 6 9 m m o l) のアセトニトリル (5 0 . 0 0 m L) 攪拌溶液に添加した。得られた溶液を 8 0 で 2 時間攪拌した。真空下で溶媒を除去した。粗製物質を水で希釈し、a q . N a H C O 3 溶液で塩基性化し、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して、粗生成物を得た。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 1 5 % M e O H (D C M 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチルリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 4、3 . 9 3 g、6 5 . 8 %) をオフホワイト色の部分的に結晶化した固体として得た。¹H NMR (5 0 0 M H z , D M S O - d 6) 1 . 1 9 (3 H , t) , 2 . 5 3 - 2 . 5 9 (6 H , m) , 2 . 7 9 (3 H , d) , 3 . 3 3 - 3 . 3 9 (4 H , m) , 3 . 6 6 (2 H , s) , 7 . 3 9 (1 H , d d) , 7 . 6 4 (1 H , s) , 7 . 7 6 (1 H , s) , 7 . 8 3 (1 H , d) , 8 . 2 7 (1 H , d) , 8 . 3 6 - 8 . 4 0 (1 H , m) , 8 . 4 1 (1 H , d) , 1 1 . 8 5 (1 H , s) ; m / z (E S +) [M] + = 4 0 6 .

30

40

50

【化 2 7】



10

【 0 1 5 5】

中間体 1 4 : 7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン

CBr₄ (2 1 9 m g , 0 . 6 6 m m o l) を、 3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 1 2 、 9 0 m g , 0 . 4 4 m m o l) 及びトリフェニルホスフィン (1 7 3 m g , 0 . 6 6 m m o l) の CH₂Cl₂ (4 m L) 攪拌溶液に 0 で添加した。得られた溶液を 0 で 2 時間攪拌した。反応物を真空下で濃縮し、得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 1 5 % MeOH (DCM 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 1 4 、 8 4 m g , 7 1 . 4 %) を得た (トリフェニルホスフィンオキシドを含有、分離困難) 。この化合物を、さらに精製することなく次の工程に供した。

20

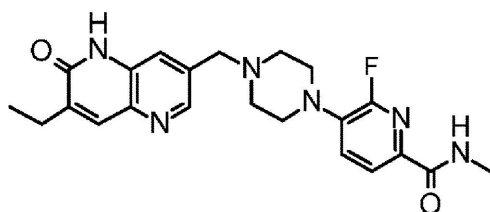
m / z (E S ⁺) [M] ⁺ = 2 6 7 .

【 0 1 5 6】

合成実施例 5 : 5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチルリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

30

【化 2 8】



40

DIPEA (0 . 0 8 2 m L , 0 . 4 7 m m o l) を、 7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 2 - オン (中間体 1 4 、 2 5 m g , 0 . 0 9 m m o l) 及び 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、 2 HCl (中間体 2 3 、 3 2 . 0 m g , 0 . 1 0 m m o l) のアセトニトリル (2 m L) 攪拌溶液に 2 0 で加えた。得られた溶液を 7 0 で 2 時間攪拌した。真空下で溶媒を除去した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 2 0 % MeOH (DCM 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチルリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 5 、 1 3 . 0 0 m g , 3 3 %) を淡黄色固体として得た。1 H NMR (5

50

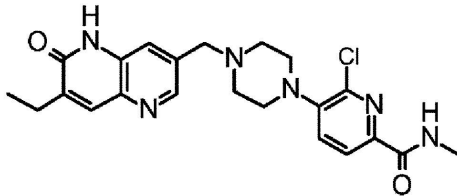
00 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.55 (2H, m, 溶媒 DMSO ピークとオーバーラップ), 2.58 (4H, br d), 2.77 (3H, d), 3.19 (4H, br s), 3.67 (2H, s), 7.57 (1H, dd), 7.63 (1H, s), 7.76 (1H, s), 7.85 (1H, d), 8.32 - 8.49 (2H, m), 11.85 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.

【0157】

合成実施例 6: 6-クロロ-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化29】

10

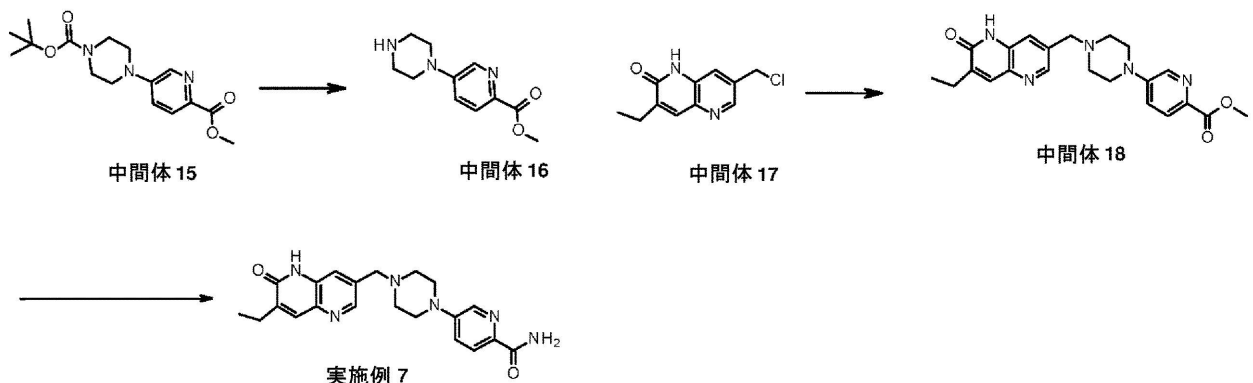


DIPEA (0.082 mL、0.47 mmol) を、7-(ブromoメチル)-3-エチル-1H-1,5-ナフチルリジン-2-オン (中間体 14、25 mg、0.09 mmol) 及び 6-クロロ-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド (中間体 48、26.2 mg、0.10 mmol) のアセトニトリル (2 mL) 攪拌溶液に 20 で加えた。得られた溶液を 70 で 2 時間攪拌した。真空下で溶媒を除去した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 20% MeOH (DCM 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮して、6-クロロ-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド (合成実施例 6、19.80 mg、48.0%) を淡黄色固体として得た。1H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.55 (2H, m, 溶媒 DMSO ピークとオーバーラップ), 2.58 - 2.65 (4H, m), 2.79 (3H, d), 3.13 (4H, br s), 3.68 (2H, s), 7.63 (1H, d), 7.67 (1H, d), 7.76 (1H, s), 7.94 (1H, d), 8.34 - 8.50 (2H, m), 11.85 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.

20

30

【化30】



40

【0158】

中間体 16: 5-ピペラジン-1-イルピリジン-2-カルボン酸メチル ジオキサン (4.67 mL、18.67 mmol) 中の HCl を、4-(6-メトキシカルボニル-3-ピリジル)ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (中間体 15

50

、600 mg、1.87 mmol)のMeOH(1 mL) 攪拌溶液に添加し、得られた溶液をrtで18時間攪拌した。溶媒を真空下で除去して、5-ピペラジン-1-イルピリジン-2-カルボン酸メチル、2 HCl(中間体16、543 mg、99%)を淡黄色固体として得た。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) 3.20 (4H, br s), 3.71 (4H, br s), 3.85 (3H, s), 7.58 (1H, br d), 7.99 (1H, br d), 8.43 (1H, br s), 9.73 (2H, br), 11.29 - 11.75 (1H, br); m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 222.

【0159】

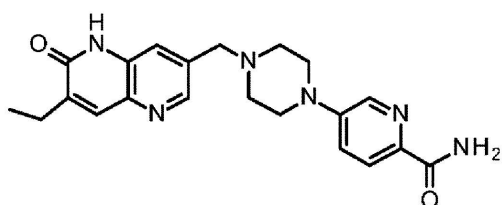
中間体18: 5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボン酸メチル 10

DIPEA(944 μ l、5.40 mmol)を、7-(クロロメチル)-3-エチル-1H-1,5-ナフチルリジン-2-オン、HCl(中間体17、200 mg、0.77 mmol)、ヨウ化ナトリウム(11.57 mg、0.08 mmol)及び5-ピペラジン-1-イルピリジン-2-カルボン酸メチル、2 HCl(中間体16、250 mg、0.85 mmol)のアセトニトリル(6774 μ l) 攪拌溶液に20 で加えた。得られた溶液を80 で3時間攪拌した。溶媒を真空下で除去し、0.4 mLの飽和重炭酸ナトリウム溶液及び1.5 mLのアセトニトリルを添加し、反応物を10分間攪拌した。固体を濾別し、2 mLの水、続いて1 mLのアセトニトリルで洗浄して、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボン酸メチル(中間体18、158 mg、50.2%)をオフホワイト色の固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) 1.19 (3H, br t), 2.54 - 2.61 (6H, m), 3.40 (4H, br s), 3.66 (2H, s), 3.81 (3H, s), 7.35 (1H, br dd), 7.62 (1H, s), 7.75 (1H, s), 7.88 (1H, br d), 8.28 - 8.47 (2H, m), 12.03 (1H, br); m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 408. 20

【0160】

合成実施例7: 5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド 30

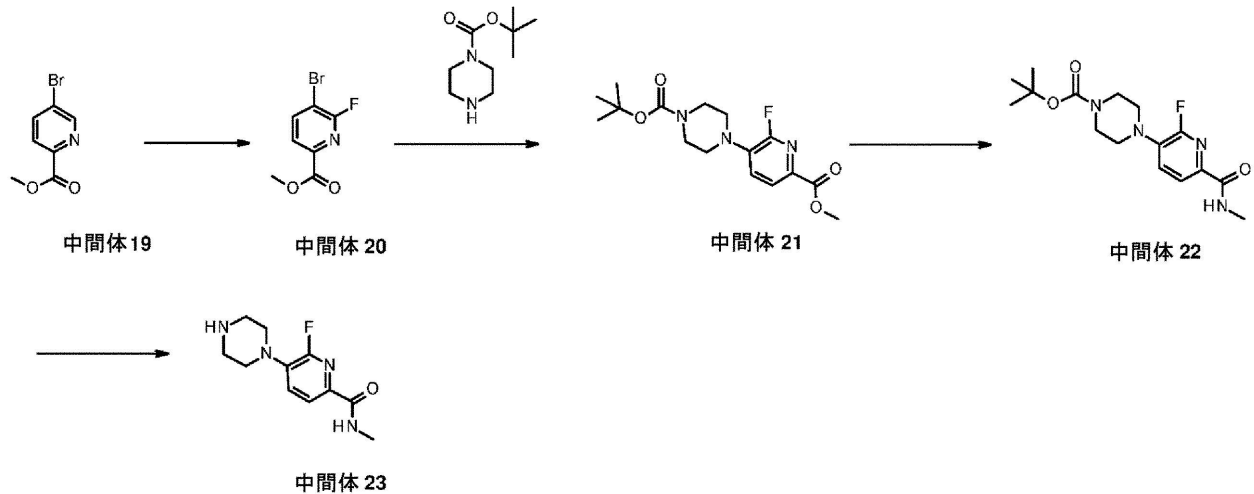
【化31】



メタノール(4 mL、28.00 mmol)中のアンモニアを、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボン酸メチル(中間体18、60 mg、0.15 mmol)に添加し、得られた溶液を50 で24時間加熱した(密閉チューブ)。反応物を室温に冷却し、固体を濾別し、2 mLのメタノールで洗浄して、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例7、88 mg、90%)を淡褐色固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) 1.19 (3H, t), 2.56 (6H, m, 溶媒DMSOピークとオーバーラップ), 3.35 (4H, br d), 3.66 (2H, s), 7.30 (1H, br s), 7.40 (1H, dd), 7.64 (1H, s), 7.76 (2H, s), 7.85 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.41 (1H, d), 11.61 - 11.98 (1H, m); m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 408. 40

] + = 3 9 3 .

【化 3 2】



10

【0 1 6 1】

中間体 2 0 : メチル 5 - ブロモ - 6 - フルオロ - ピリジン - 2 - カルボキシレート

20

オープンで乾燥したフラスコに、アセトニトリル (60 mL) 中の 5 - ブロモピリジン - 2 - カルボン酸メチル (中間体 1 9、6 g、27.77 mmol) を入れた。フッ化銀 (I I) (14.18 g、97.21 mmol) を加え、混合物を室温で終夜攪拌した。反応混合物を濾紙に通して濾過し、DCM で洗浄した。濾液を濃縮して、淡褐色固体を得た。残渣を DCM 及び sat. NH₄Cl 溶液の混合物中に懸濁させ、白色懸濁液を濾過した。有機層を分離し、水層を DCM (100 mL × 2) で抽出した。合わせた有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 25% EtOAc (ヘキサン中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、5 - ブロモ - 6 - フルオロ - ピリジン - 2 - カルボン酸メチル (中間体 2 0、5.98 g 収率 90%) を得た。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム - d) 4.01 (3H, s), 7.93 (1H, d), 8.15 (1H, t); m/z (ES⁺) [M]⁺ = 234.

30

【0 1 6 2】

中間体 2 1 : tert - ブチル 4 - (2 - フルオロ - 6 - メトキシカルボニル - 3 - ピリジル) ピペラジン - 1 - カルボキシレート

40

1, 4 ジオキサン (200 mL) 中にピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (13.11 g、70.41 mmol)、5 - ブロモ - 6 フルオロ - ピリジン - 2 - カルボン酸メチル (中間体 2 0、10.985 g、46.94 mmol)、RuphosPd - G3 (2.5 g、2.99 mmol) 及び Cs₂CO₃ (38 g、116.63 mmol) を混合した混合物を、N₂ 下、80 °C で終夜攪拌した。混合物を水及び酢酸エチルで希釈し、層を分離した。水層を DCM (100 mL × 2) で抽出した。合わせた有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 100% EtOAc (ヘキサン中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4 - (2 - フルオロ - 6 - メトキシカルボニル - 3 - ピリジル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 2 1、14.00 g、88%) を黄色固体として得た; ¹H NMR (500 MHz, クロロホルム - d) 1.51 (9H, s), 3.16 - 3.32 (4H, m), 3.58 - 3.72 (4H, m), 3.98 (3H, s), 7.29 - 7.34 (1H, m), 8.00 (1H, d); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 340.

【0 1 6 3】

50

中間体 22 : tert - ブチル 4 - [2 - フルオロ - 6 - (メチルカルバモイル) - 3 - ピリジル] ピペラジン - 1 - カルボキシレート

メチルアミン (120 mL、36.80 mmol、エタノール中 33 wt%) 中の 4 - (2 - フルオロ - 6 - メトキシカルボニル - 3 - ピリジル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 21、12.49 g、36.80 mmol) を rt で 24 時間 攪拌した。(密閉チューブ)。溶媒を減圧下で留去した。残渣を DCM 中に溶解させ、シリカゲル床で濾過し、酢酸エチルで洗浄した。濾液を濃縮し、真空下で乾燥させて、4 - [2 - フルオロ - 6 - (メチルカルバモイル) - 3 - ピリジル] ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 22、12.45 g、100%) を黄色固体として得た。1H NMR (500 MHz, DMSO - d6) 1.42 (9H, s), 2.77 (3H, d), 3.04 - 3.16 (4H, m), 3.43 - 3.56 (4H, m), 7.59 (1H, dd), 7.80 - 7.93 (1H, m), 8.41 (1H, q); m/z (ES+) [M + H] + = 340.

10

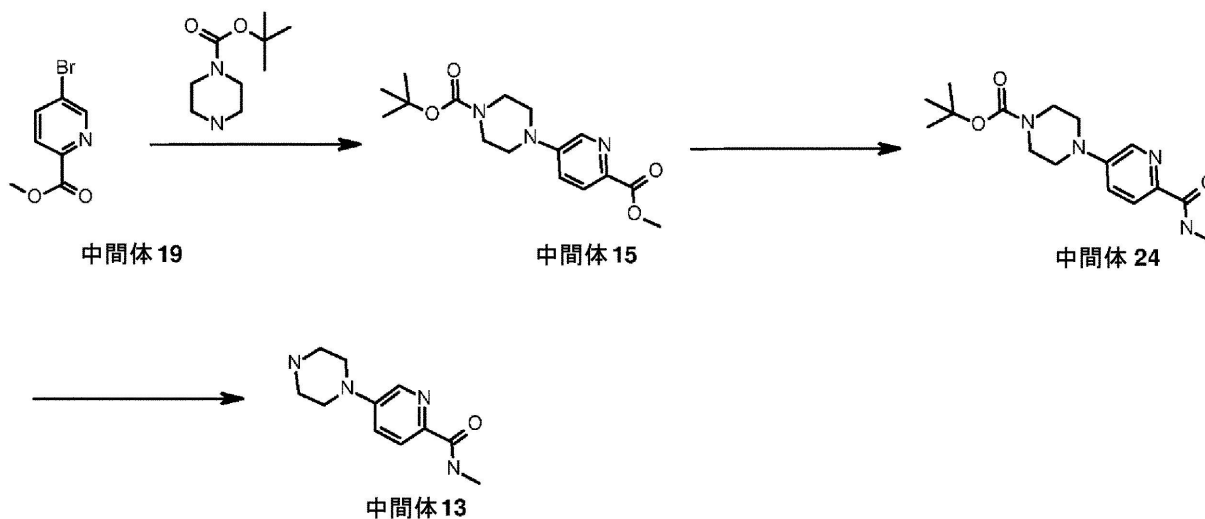
【 0164 】

中間体 23 : 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

HCl (ジオキサン中 4 M、100 mL、400.00 mmol) を、4 - [2 - フルオロ - 6 - (メチルカルバモイル) - 3 - ピリジル] ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 22、12.5 g、36.94 mmol) の 1, 4 - ジオキサン (50 mL) 溶液に 0 で添加した。反応物を 5 時間攪拌し、その間に温度を室温に温めて黄色懸濁液を得た。懸濁液をエーテルで希釈し、固体を濾別し、エーテルで洗浄した。この固体を真空下で乾燥させて、6 - フルオロ - N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、2HCl (中間体 23、11.42 g、99%) を淡黄色固体として得た。1H NMR (500 MHz, DMSO - d6) ppm 2.8 (d, J = 4.6 Hz, 3H) 3.3 (br s, 4H) 3.4 (br d, J = 4.4 Hz, 4H) 7.6 - 7.7 (m, 1H) 7.9 (d, J = 8.1 Hz, 1H) 8.4 (br d, J = 4.4 Hz, 1H) 9.0 - 9.3 (m, 2H); m/z (ES+) [M + H] + = 239

20

【 化 33 】



30

40

【 0165 】

中間体 15 : tert - ブチル 4 - (6 - メトキシカルボニル - 3 - ピリジル) ピペラジン - 1 - カルボキシレート

RuPhos Pd G3 (4.07 g、4.86 mmol) を、1, 4 - ジオキサン (200 mL) 中に 5 - プロモピリジン - 2 - カルボン酸メチル (中間体 19、30 g、

50

138.87 mmol)、ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチル(27.2 g、145.81 mmol)、Cs₂CO₃(90 g、277.73 mmol)を混合し脱気した混合物に添加し、この混合物をN₂雰囲気下、110 で6時間撹拌した。次いで、混合物を室温に冷却し、水で希釈し、酢酸エチル(150 ml × 3)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過した。この濾液に、3-(ジエチレントリアミノ)プロピル官能化シリカゲル(12 g、1.3 mmol/g 負荷)を添加し、混合物をrtで1時間撹拌した。混合物を濾過し、濾液を約100 mLに濃縮した。結晶性黄色固体を濾別し、エーテルで洗浄し、真空下で乾燥させて、tert-ブチル4-(6-メトキシカルボニル-3-ピリジル)ピペラジン-1-カルボキシレート(中間体15、26.36 g、82 mmol、59.1%)を黄色固体として得た。1H NMR(500 MHz, クロロホルム-d) 1.50(9H, s), 3.31-3.42(4H, m), 3.56-3.68(4H, m), 3.98(3H, s), 8.04(1H, d), 8.37(1H, d); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 322.

10

【0166】

中間体24: tert-ブチル4-[6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボキシレート

メチルアミン(100 ml、1155.26 mmol、水中40%)を、4-(6-メトキシカルボニル-3-ピリジル)ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチル(中間体15、36 g、112.02 mmol)のMeOH(100 ml)溶液に添加し、反応物を室温で4時間撹拌して、白色懸濁液を得た。混合物を濃縮し、残渣をsat. NH₄Cl溶液とDCMとに分配し、層を分離した。水性層をDCMで抽出し、有機層を合わせ、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮して、tert-ブチル4-[6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボキシレート(中間体24、35.9 g、100%)を黄色固体として得た。1H NMR(500 MHz, クロロホルム-d) 1.49(9H, s), 3.02(3H, d), 3.26-3.35(4H, m), 3.58-3.67(4H, m), 7.23(1H, dd), 7.81(1H, br d), 8.07(1H, d), 8.16(1H, d); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 321.

20

【0167】

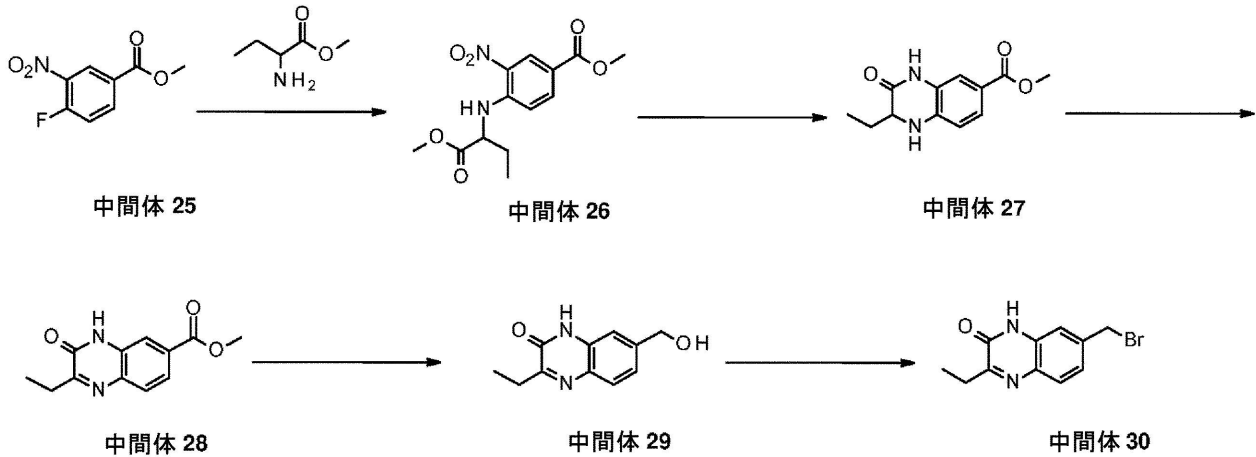
中間体13: カルボキシレートN-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド

HCl(ジオキサン中4M、150 ml、600.00 mmol)を、4-[6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチル(中間体24、35.9 g、112.05 mmol)のMeOH(50 ml)懸濁液に添加し、得られた橙色の懸濁液をrtで4時間撹拌した。約80 mlの溶媒を減圧下で除去し、混合物をエーテル及びヘキサン(200 ml、1/1)で希釈した。固体を濾過により回収し、ヘキサンで洗浄し、乾燥させ、真空下で乾燥させて、N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2HCl塩(中間体13、37.0 g、100%)を黄色固体として得た。1H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) 2.79(3H, d), 3.22(4H, br s), 3.53-3.67(4H, m), 7.51(1H, dd), 7.91(1H, d), 8.33(1H, d), 8.50(1H, br s), 9.19-9.49(2H, m); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 221

30

40

【化 3 4】



10

【0168】

中間体 26 : 4 - (1 - メトキシカルボニルプロピルアミノ) - 3 - ニトロ - 安息香酸メチル

炭酸水素ナトリウム (27.0 g、321.39 mmol) を、THF (100 mL) 中に 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 25、16 g、80.35 mmol) 及び 2 - アミノブタン酸メチル、HCl (14.81 g、96.42 mmol) を混合し攪拌した混合物に少しずつ添加した。反応混合物を室温で終夜攪拌した。反応物に水を加えて反応を停止させ、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機層を飽和 aq. NaHCO₃ 溶液で洗浄し、有機層を MgSO₄ で乾燥し、濃縮乾固して、4 - (1 - メトキシカルボニルプロピルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 26、22.86 g、96%) を鮮黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO - d₆) 0.91 (3H, t), 1.75 - 2.12 (2H, m), 3.75 (3H, s), 3.85 (3H, s), 4.63 - 4.82 (1H, m), 7.15 (1H, d), 8.00 (1H, dd), 8.52 - 8.76 (2H, m) .

20

【0169】

中間体 27 : 2 - エチル - 3 - オキソ - 2, 4 - ジヒドロ - 1H - キノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

Pd/C (4.15 g、3.90 mmol) を、4 - (1 - メトキシカルボニルプロピルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 26、23.1 g、77.97 mmol) の MeOH (300 mL) 攪拌溶液に少しずつ加え、得られたスラリーを H₂ 雰囲気下、室温で 30 時間攪拌した。真空下でメタノールを除去し、150 mL の DMF を添加し、混合物を 10 分間攪拌した。パラジウム触媒を celite で濾別し、50 mL の DMF で洗浄した (物質は、MeOH / DCM / EtOAc のような有機溶媒における溶解度が非常に低い) 。濾液を Genevac で濃縮して、2 - エチル - 3 - オキソ - 2, 4 - ジヒドロ - 1H - キノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 27、15.80 g、87%) を灰色固体として得た。物質を NMR によって分析し、精製せずに次の工程に供した。¹H NMR (500 MHz, DMSO - d₆) 0.91 (3H, t), 1.63 - 1.73 (2H, m), 3.75 (3H, s), 3.90 (1H, td), 6.71 (1H, d), 6.84 (1H, s), 7.33 (1H, d), 7.41 (1H, dd), 10.39 (1H, s); m/z (ES⁺) [M]⁺ = 235 .

30

40

【0170】

中間体 28 : 2 - エチル - 3 - オキソ - 4H - キノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

DDQ (15.87 g、69.92 mmol) を、2 - エチル - 3 - オキソ - 2, 4 - ジヒドロ - 1H - キノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 27、15.6 g、66.59 mmol) の 1, 4 - ジオキサン (150 mL) 懸濁液に添加した。反応混合物を

50

室温で終夜撹拌した。この混合物を飽和 a q NaHCO₃ 溶液 (約 500 ml) にゆっくり添加し、室温で 20 分間撹拌した。沈殿物を濾過し、水 (100 ml) で洗浄し、乾燥して、2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - カルボン酸メチルをオフホワイト色の固体 (中間体 28、11.40 g、73.7%) として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.23 (3H, t), 2.83 (2H, q), 3.89 (3H, s), 7.73 - 7.86 (2H, m), 7.89 (1H, d), 12.45 (1H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 233.

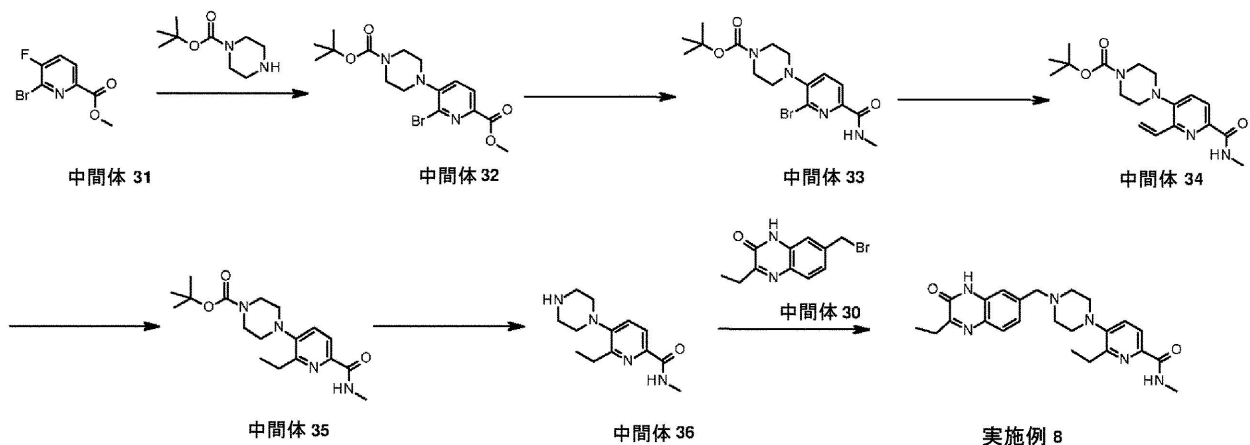
【0171】

中間体 29: 3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - キノキサリン - 2 - オン水素化アルミニウムリチウム、THF 中 2 M (49.1 ml、98.17 mmol) を、テトラヒドロフラン (350 ml) 中の 2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 28、11.4 g、49.09 mmol) のスラリーに、窒素雰囲気下、0 で 50 分間にわたって滴下した。得られた混合物を 0 で 1.5 時間撹拌した。反応混合物を 0 で 1 M a q HCl (300 ml) にゆっくり注いだ。反応混合物を酢酸エチル (約 300 ml x 2) で抽出し、続いて DCM/メタノール (5:1) (150 ml x 3) で抽出した。合わせた有機層を 300 ml に濃縮し、エーテル (200 ml) で希釈して懸濁液を得た。固体を濾過によって収集し、エーテルで洗浄し、真空下で乾燥して、3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - キノキサリン - 2 - オン (中間体 29、8.00 g、80%) を得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.22 (3H, t), 2.80 (2H, q), 4.59 (2H, s), 5.19 - 5.61 (1H, m), 7.19 (1H, dd), 7.28 (1H, s), 7.66 (1H, d), 12.28 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 205.

【0172】

中間体 30: 7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - キノキサリン - 2 - オン臭化水素 (60 ml、水中 48 重量%) を 3 - エチル - 7 - (ヒドロキシメチル) - 1 H - キノキサリン - 2 - オン (中間体 29、7.8 g、38.19 mmol) に添加し (透明な褐色溶液を生じる)、混合物を 80 で 8 時間撹拌し、反応混合物を室温に冷却し、氷水 150 ml に注ぎ、オフホワイト色の沈殿物を得た。固体を真空下で濾過し、水、続いてジエチルエーテルで洗浄し、乾燥させて、7 - (プロモメチル) - 3 - エチル - 1 H - キノキサリン - 2 - オンをベージュ色の固体 (中間体 30、11.10 g、84%) として純度 80% で得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.20 (3H, t), 2.79 (2H, q), 4.79 (2H, s), 7.27 - 7.38 (2H, m), 7.69 (1H, d), 12.34 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M]⁺ = 267.0.

【化 35】



10

20

30

40

50

【0173】

中間体32: *tert*-ブチル4-(2-ブロモ-6-メトキシカルボニル-3-ピリジル)ピペラジン-1-カルボキシレート

DMF (20 mL) 中にピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体31、2.57 g、13.80 mmol)、6-ブロモ-5-フルオロ-ピリジン-2-カルボン酸メチル (1.9 g、8.12 mmol) 及び炭酸カリウム (1.459 g、10.55 mmol) を混合した混合物を 110 で5時間攪拌し、LCMSは完全な変換を示した。混合物を *rt* に冷却し、DCM及び水で希釈し、層を分離した。水層をDCMで2回抽出し、合わせた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から50% EtOAc (ヘキサン中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4-(2-ブロモ-6-メトキシカルボニル-3-ピリジル)ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体32、2.200 g、67.7%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム-*d*) 1.50 (9H, *s*), 3.05-3.20 (4H, *m*), 3.58-3.72 (4H, *m*), 3.98 (3H, *s*), 7.31 (1H, *d*), 8.06 (1H, *d*); *m/z* (ES⁺) [M+H]⁺ = 400.

10

【0174】

中間体33: 4-[2-ブロモ-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル

密閉圧力容器に、4-(2-ブロモ-6-メトキシカルボニル-3-ピリジル)ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体32、2.2 g、5.50 mmol) 及びメチルアミン (22 mL、176.72 mmol) (エタノール中33 wt%) を投入し、混合物を 60 で2時間加熱し、LCMSは完全な変換を示した。混合物を濃縮し、得られた残渣をフラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から80% EtOAc (ヘキサン中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4-[2-ブロモ-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体33、2.200 g、100%) を白色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム-*d*) 1.50 (9H, *s*), 3.02 (3H, *d*), 3.05-3.14 (4H, *m*), 3.56-3.74 (4H, *m*), 7.36 (1H, *d*), 7.68 (1H, *br d*), 8.11 (1H, *d*); *m/z* (ES⁺) [M+H]⁺ = 399.

20

30

【0175】

中間体34: *tert*-ブチル4-[6-(メチルカルバモイル)-2-ビニル-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボキシレート

1,4-ジオキサン (5 mL) 中に4-[2-ブロモ-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体33、200 mg、0.50 mmol)、トリブチル(ビニル)スタナン (0.161 mL、0.55 mmol) 及び第2世代XPhos Pdサイクル (19.71 mg、0.03 mmol) を混合した混合物を、N₂下、100 で2.5時間攪拌し、LCMSは完全な変換を示した。混合物をDCMで希釈し、sat. NH₄Clで洗浄し、有機層を乾燥させ (無水Na₂SO₄)、濾過し、濃縮した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から80% EtOAc (ヘキサン中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4-[6-(メチルカルバモイル)-2-ビニル-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体34、174 mg、100%) を白色固体として得た。*m/z* (ES⁺) [M+H]⁺ = 347

40

【0176】

中間体35: 4-[2-エチル-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル

Pd/C (53.5 mg、0.05 mmol) (乾燥基準10 wt%、湿潤負荷) を、4-[6-(メチルカルバモイル)-2-ビニル-3-ピリジル]ピペラジン-1-カル

50

ボン酸 *tert*-ブチル (中間体 34、174 mg、0.50 mmol) の MeOH (6 mL) 溶液に添加した。フラスコを脱気し、H₂ (バルーン) で再び満たした。混合物を *rt* で終夜攪拌した。LCMS は、反応が完了していないことを示した。さらなる Pd/C (53.5 mg、0.05 mmol) を添加し、得られた混合物を、H₂ 雰囲気下、*rt* で 5 時間攪拌した。混合物を *celite* のパッドに通して濾過し、メタノールで洗浄し、濾液を濃縮乾固して、4-[2-エチル-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体 35、172 mg、98%) を無色残渣として得た。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム-*d*) 1.37 (3H, t), 1.51 (9H, s), 2.82-2.95 (6H, m), 3.05 (3H, d), 3.57-3.73 (4H, m), 7.39 (1H, d), 7.93-8.13 (2H, m); *m/z* (ES⁺) [M]⁺ = 348.

10

【0177】

中間体 36: 6-エチル-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド

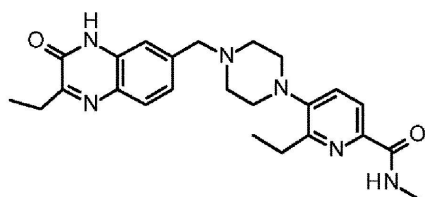
HCl (ジオキサン中 4M、8 mL、32.00 mmol) 中に 4-[2-エチル-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (中間体 35、172 mg、0.49 mmol) を混合した混合物を室温 *rt* で 1 時間攪拌して白色懸濁液を得た。混合物をエーテルで希釈し、固体を濾別し、真空下で乾燥して、6-エチル-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体 36、159 mg、100%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*6) 1.31 (3H, t), 2.74-2.86 (5H, m), 3.00-3.14 (4H, m), 3.24 (4H, br s), 7.57 (1H, d), 7.82 (1H, d), 8.43 (1H, br d), 9.20 (2H, br s); *m/z* (ES⁺) [M+H]⁺ = 249.

20

【0178】

合成実施例 8: 6-エチル-5-[4-[(2-フルオロ-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化 36】



30

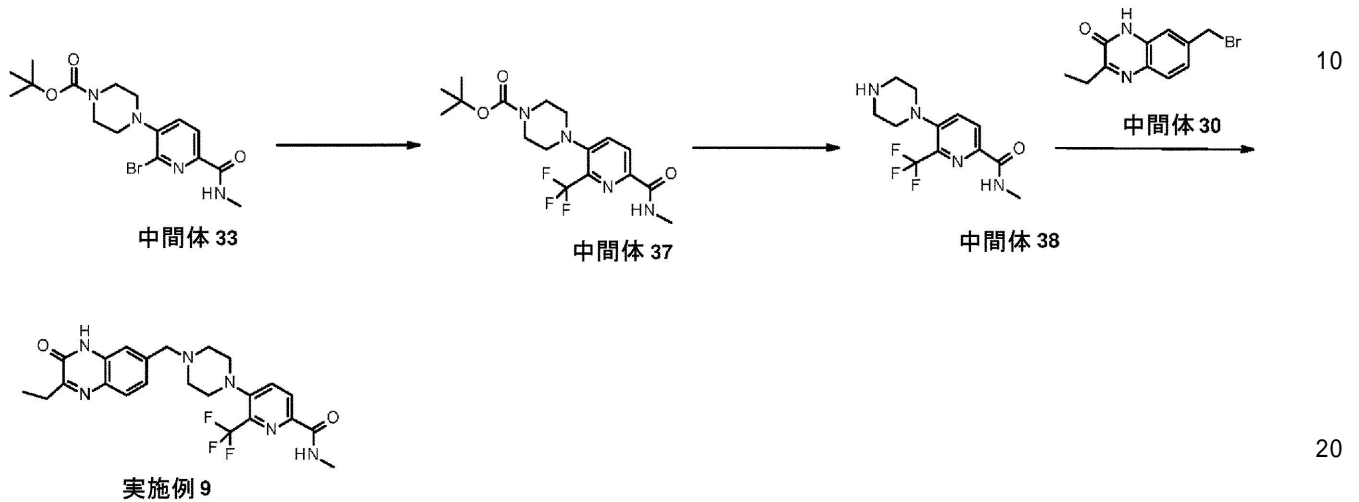
DIPEA (0.203 mL、1.17 mmol) を、6-エチル-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体 36、75 mg、0.23 mmol) 及び 7-(プロモメチル)-3-エチル-1H-キノキサリン-2-オン (中間体 30、69.3 mg、0.23 mmol) のアセトニトリル (3 mL) 懸濁液に加えた。得られた混合物を 60 °C で 3 時間攪拌したところ、LCMS は完全な変換を示した。混合物を *rt* に冷却し、濃縮し、残渣を Gilson 逆相カラムで精製した (0 から 95% ACN/水/0.1% TFA で溶出し、15 分間実行し、5~9 分間収集した)。生成物含有画分を濃縮し、次いで、残渣をメタノール及び DCM に溶解した。300 mg のテトラアルキルアンモニウムカーボナート、ポリマー結合 (40~90 メッシュ、2.5~3.5 mmol/g) 及び混合物を *rt* で 10 分間攪拌した。次いで、混合物を濾過し、メタノールで洗浄した。濾液を濃縮し、水/CAN 混合物に再溶解し、この混合物を凍結乾燥して、6-エチル-5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド (合成実施例 8、60.0 mg、59.1%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*6) 1.31 (3H, t), 2.74-2.86 (5H, m), 3.00-3.14 (4H, m), 3.24 (4H, br s), 7.57 (1H, d), 7.82 (1H, d), 8.43 (1H, br d), 9.20 (2H, br s); *m/z* (ES⁺) [M+H]⁺ = 249.

40

50

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.22 (3H, t), 1.30 (3H, t), 2.54 - 2.69 (2H, m), 2.72 - 2.86 (7H, m), 2.93 (4H, br s), 3.26 (2H, s), 3.64 (2H, s), 7.17 - 7.33 (2H, m), 7.52 (1H, d), 7.69 (1H, br d), 7.80 (1H, d), 8.40 (1H, br d), 12.25 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 435.

【化37】



【0179】

中間体 37 : 4 - [6 - (メチルカルバモイル) - 2 - (トリフルオロメチル) - 3 - ピリジル] ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル

DMF (2 mL) 中にフッ化銀 (I) (176 mg、1.39 mmol) を混合し十分に攪拌した混合物に、トリメチル (トリフルオロメチル) シラン (0.247 mL、1.67 mmol) を室温で添加した。この混合物を 20 分間攪拌し、続いて、銅粉末 (133 mg、2.09 mmol) を添加した。4 時間の攪拌後、反応混合物は青色に変わった (CuCF₃ 形成の指標)。4 - (2 - ブロモ - 6 - メトキシカルボニル - 3 - ピリジル) ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 33、150 mg、0.38 mmol) を混合物に添加し、得られた暗色混合物を 90 °C で 18 時間攪拌し、褐色懸濁液を得た。LCMS は十分な変換を示した。混合物を酢酸エチルで希釈し、固体を濾別した。濾液を水で洗浄し、続いて、ブラインで洗浄した。無水 Na₂SO₄ で有機層を乾燥させ、濾過し、濃縮した。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 70% EtOAc (ヘキサン中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4 - [6 - (メチルカルバモイル) - 2 - (トリフルオロメチル) - 3 - ピリジル] ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 37、146 mg、100%) を黄色残渣として得た。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム - d) 1.50 (9H, s), 2.93 - 3.03 (4H, m), 3.05 (3H, d), 3.55 - 3.69 (4H, m), 7.71 (1H, d), 7.81 (1H, br d), 8.33 (1H, d); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 389.

【0180】

中間体 38 : N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - 6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 2 - カルボキサミド

HCl (ジオキサン中 4 M、8 mL、32.00 mmol) 中に 4 - [6 - (メチルカルバモイル) - 2 - (トリフルオロメチル) - 3 - ピリジル] ピペラジン - 1 - カルボン酸 tert - ブチル (中間体 37、146 mg、0.38 mmol) を混合した混合物を room temperature で 2 時間攪拌した。LCMS は、完全な変換を示した。溶媒を容量 2 mL まで濃縮し

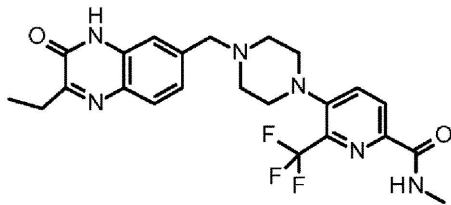
、混合物をエーテル/ヘキサン(15 ml、5/1)で希釈した。固体を濾別し、真空下で乾燥して、N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体 38、127 mg、94%)をピンク色の固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 2.83 (3H, d), 3.21 (8H, br s), 8.09 (1H, d), 8.23 (1H, d), 8.46 (1H, br d), 9.08 (2H, br d); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 289.

【0181】

合成実施例 9 : 5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド

10

【化38】



20

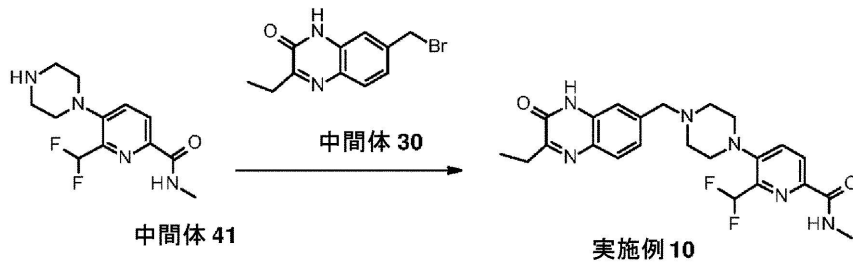
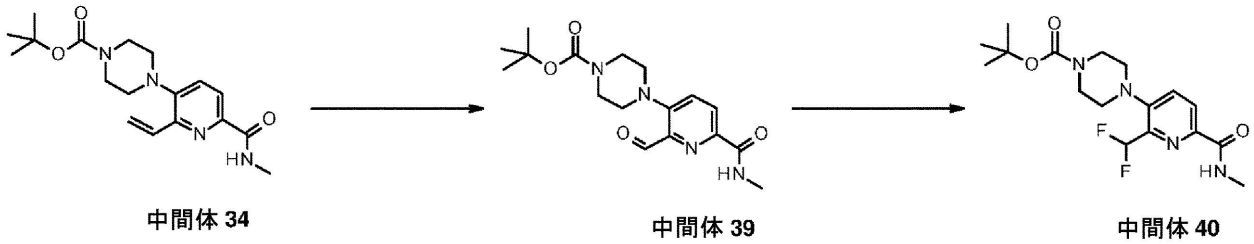
DIPEA (0.121 mL、0.69 mmol)を、N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体 38、50 mg、0.14 mmol)及び7-(プロモメチル)-3-エチルキノキサリン-2(1H)-オン(中間体 30、46.2 mg、0.14 mmol)のアセトニトリル(3 mL)懸濁液に添加し、混合物を60℃で3時間攪拌した。混合物をrtに冷却し、濃縮し、残渣をGilson逆相カラムで精製した(0から95% ACN/水/0.1% TFAで溶出した)。生成物含有画分を室温で濃縮した。次いで、残渣をメタノール及びDCMに溶解し、続いて、250 mgのテトラアルキルアンモニウムカーボナート、ポリマー結合(40~90メッシュ、2.5~3.5 mmol/g)を添加し、混合物を室温で10分間攪拌した。次いで、固体を濾別し、メタノールで洗浄し、濾液を濃縮して固体を得た。次いで、この固体を水/CH₃CNの混合物に再溶解し、凍結乾燥して、5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例 9、40.0 mg、60.9%)を白色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム-d) 1.40 (3H, t), 2.70 (4H, br s), 2.98-3.08 (5H, m), 3.12 (4H, br s), 3.72 (2H, br s), 7.29-7.32 (1H, m), 7.37 (1H, dd), 7.74 (1H, d), 7.79-7.88 (2H, m), 8.33 (1H, d), 11.06 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 475.

30

40

50

【化 3 9】



10

【 0 1 8 2】

中間体 3 9: *tert*-ブチル 4-[2-ホルミル-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボキシレート 20

H_2O 中の四酸化オスミウム(0.050 mL、6.35 μmol)を、4-[6-(メチルカルバモイル)-2-ビニル-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル(中間体 3 4、110 mg、0.32 mmol)、2,6-ルチジン(0.074 mL、0.64 mmol)及び過ヨウ素酸ナトリウム(272 mg、1.27 mmol)のTHF(5 mL)/水(1 mL)/*tert*-ブタノール(0.304 mL、3.18 mmol)溶液に添加し、この混合物を *rt*で終夜攪拌して黄色の懸濁液を得た。LCMS及びTLCは、完全な変換を示した。反応物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。濃縮後、得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から100% EtOAc(ヘキサン中)により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4-[2-ホルミル-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル(中間体 3 9、100 mg、90%)を黄色固体として得た。 1H NMR(500 MHz, クロロホルム-*d*) 1.50(9H, s), 3.07(3H, d), 3.14-3.29(4H, m), 3.66-3.79(4H, m), 7.49(1H, d), 7.86(1H, br d), 8.28(1H, d), 10.10(1H, s). m/z (ES^+) [$M+H$] $^+$ = 349. 30

【 0 1 8 3】

中間体 4 0: *tert*-ブチル 4-[2-(ジフルオロメチル)-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボキシレート 40

CH_2Cl_2 (2 mL)中の4-[2-ホルミル-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル(中間体 3 9、99 mg、0.28 mmol)を0 に冷却し、DAST(0.710 mL、0.71 mmol)(DCM中1 M)を添加し、得られた混合物を室温で3時間攪拌した。TLC及びLCMSは、完全な変換を示した。反応物をsat. $NaHCO_3$ 溶液の滴下で反応停止し、DCMで抽出した。合わせた有機物を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、濾過し、濃縮して、粗生成物を得た。得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から100% EtOAc(ヘキサン中)により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、4-[2-(ジフルオロメチル)-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル(中間体 4 0、94 mg、89%)をオフホワイト色の固体として得た。 1H NMR(500 MHz, クロロホルム-*d*) 1.51(9H, 50

s), 2.89 - 3.03 (4H, m), 3.06 (3H, d), 3.54 - 3.73 (4H, m), 6.82 - 7.16 (1H, m), 7.64 (1H, d), 7.94 (1H, br d), 8.29 (1H, d); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 371.

【0184】

中間体41: 6-(ジフルオロメチル)-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド

1, 4-ジオキサソ(6ml、24.00mmol)中4MのHCl中に4-[2-(ジフルオロメチル)-6-(メチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル(中間体40、92mg、0.25mmol)を混合した混合物をrtで1.5時間攪拌して橙色懸濁液を得、この混合物をエーテルで希釈し、濾過し、固体をメタノールに再溶解し、濃縮乾固して、6-(ジフルオロメチル)-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2HCl(中間体41、56.0mg、65.7%)を橙色固体として得た。1H NMR(500MHz, DMSO-d₆) 2.83(3H, d), 3.03 - 3.23(5H, m), 3.30(4H, br s), 7.06 - 7.49(1H, m), 7.92(1H, d), 8.13(1H, d), 8.43(1H, br d), 9.00(2H, br d); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 271.

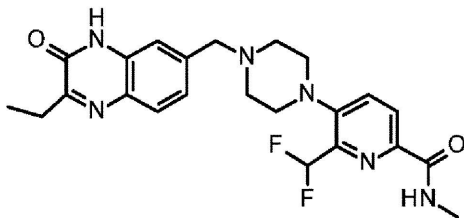
10

【0185】

合成実施例10: 6-(ジフルオロメチル)-5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

20

【化40】



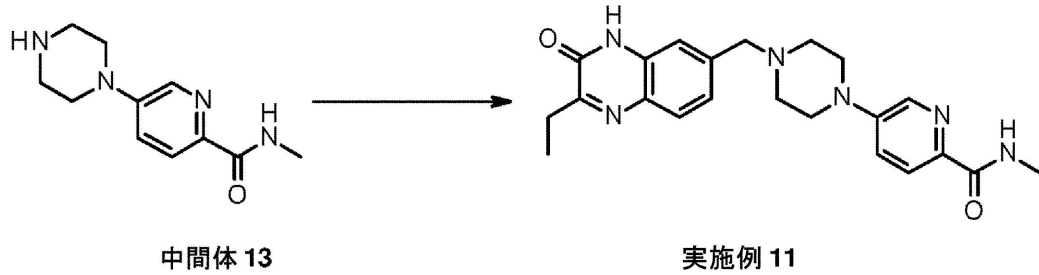
30

DIPEA(0.127mL、0.73mmol)を、6-(ジフルオロメチル)-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2HCl(中間体41、50mg、0.15mmol)及び7-(プロモメチル)-3-エチルキノキサリン-2(1H)-オン(中間体30、48.6mg、0.15mmol)のアセトニトリル(3mL)懸濁液に添加した。得られた混合物を60℃で3時間攪拌したところ、LCMSは完全な変換を示した。混合物を濃縮し、残渣をGilson逆相カラムで精製した(0から95%ACN/水/0.1%TFAで溶出した)。生成物含有画分を室温で濃縮した。次いで、残渣をメタノール及びDCMに溶解し、続いて、250mgのテトラアルキルアンモニウムカーボナートポリマー結合(40~90メッシュ、2.5~3.5mmol/g)を添加し、混合物を室温で10分間攪拌した。次いで、固体を濾別し、メタノールで洗浄し、濾液を濃縮して固体を得た。次いで、この固体を水/CH₃CNの混合物に再溶解し、凍結乾燥して、6-(ジフルオロメチル)-5-[4-[(2-エチル-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例10、50.0mg、75%)を黄色固体として得た。1H NMR(500MHz, クロロホルム-d) 1.40(3H, t), 2.72(4H, br s), 2.97 - 3.17(9H, m), 3.73(2H, s), 6.84 - 7.15(1H, m), 7.32(1H, s), 7.37(1H, d), 7.64(1H, d), 7.83(1H, d), 7.95(1H, br d), 8.29(1H, d), 11.32 - 11.62(1H, m); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 457.

40

50

【化 4 1】

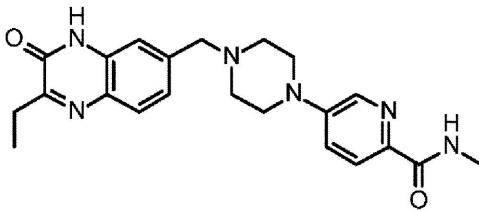


10

【 0 1 8 6】

合成実施例 11 : 5 - [4 - [(2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イ
ル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 4 2】



20

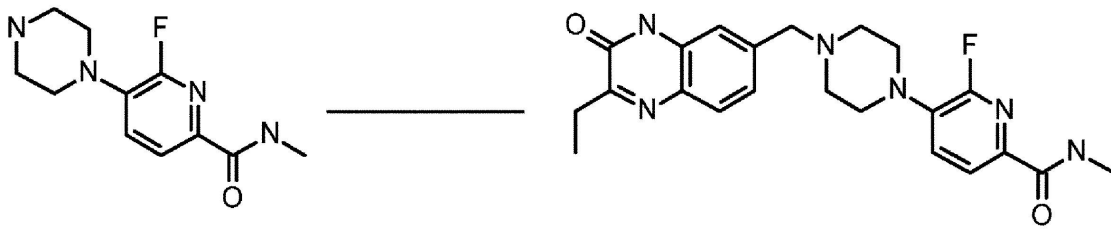
20 mL バイアルに、7 - (ブロモメチル) - 3 - エチルキノキサリン - 2 (1 H) - オ
ン (中間体 30、0.147 g、0.55 mmol) 及び N - メチル - 5 - ピペラジン -
1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド、2 HCl (中間体 13、0.161 g、0.
55 mmol) を加えた。バイアルを密封し、排気し、N₂ で再び満たした。アセトニト
リル (3 mL) 及び DIPEA (0.481 mL、2.75 mmol) をバイアルに加え
、70 に予熱した加熱ブロックに入れた。反応混合物を同温度で 2 時間攪拌し、室温に
冷却した。反応物の体積を真空下でその初期体積の 1 / 3 に減少させ、NaHCO₃ 水溶液 (2 mL) を添加した。反応混合物を 30 分間攪拌し、濾過し、固体を水 (50 mL)
で洗浄した。粗生成物を、0 から 30 % MeOH (DCM 中) を使用するフラッシュシリ
カクロマトグラフィーにより精製して、5 - [4 - [(2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H -
キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2
- カルボキサミド (合成実施例 11、93.0 mg、41.6 %) を淡黄色固体として得
た。¹H NMR (500 MHz, DMSO - d₆) 1.22 (3 H, t), 2.52 -
2.60 (4 H, m), 2.73 - 2.85 (5 H, m), 3.30 (4 H, m, 水ピー
クとオーバーラップ), 3.62 (2 H, s), 7.22 - 7.31 (2 H, m), 7.
39 (1 H, dd), 7.69 (1 H, d), 7.83 (1 H, d), 8.23 - 8.3
1 (1 H, m), 8.39 (1 H, br d), 12.13 - 12.36 (1 H, m);
m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 407.

30

40

50

【化 4 3】



中間体 23

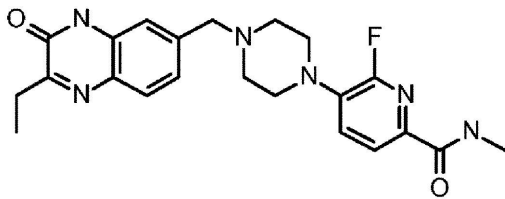
実施例 12

10

【 0 1 8 7】

合成実施例 12 : 5 - [4 - [(2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 4 4】



20

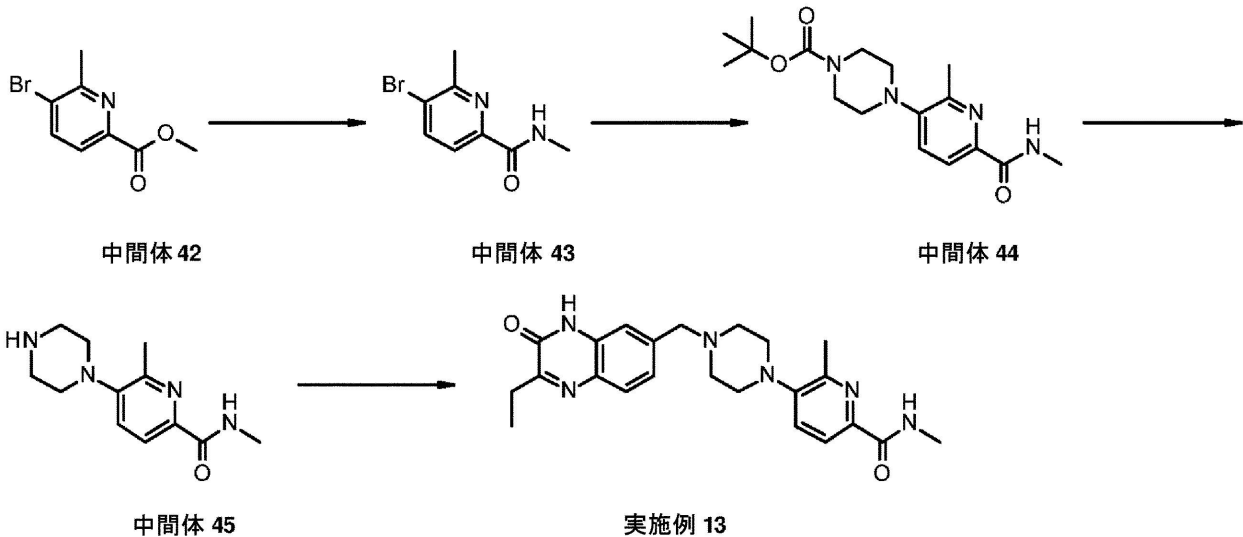
7 - (プロモメチル) - 3 - エチルキノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 30、150 mg、0.56 mmol) を、NMP (2 mL) 中の 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - ピペラジン - 1 - イル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (中間体 23、60 mg、0.25 mmol) 及び DIPEA (0.270 mL、1.55 mmol) に加えた。得られた混合物を 80 で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC により精製した (カラム : X Bridge Shield RP18 OBD カラム、5 μm、19 × 150 mm ; 移動相 A : 水 (10 MMOL / L NH₄HCO₃、0.1% NH₃ · H₂O)、移動相 B : ACN ; 流速 : 20 mL / 分 ; 勾配 : 8 分間で 28% B から 38% B へ ; 254 ; 220 nm ; RT : 8.02 分) により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固させて、5 - [4 - [(2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 12、9 mg、42.9%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 1.33 (3 H, t), 2.65 - 2.72 (4 H, m), 2.87 - 2.95 (5 H, m), 3.26 - 3.30 (4 H, m), 3.71 (2 H, s), 7.33 - 7.41 (2 H, m), 7.52 (1 H, d), 7.76 (1 H, d), 7.90 (1 H, dd); ¹⁹F NMR (376 MHz, CD₃OD) - 73.40 ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 425 .

30

40

50

【化 4 5】



10

【 0 1 8 8 】

中間体 43 : 5 - ブロモ - N , 6 - ジメチルピコリンアミド

メチルアミンの THF 中 2 M 溶液 (20 mL、40.00 mmol) を、メチル 5 - ブロモ - 6 - メチルピコリネート (中間体 42、2.0 g、8.69 mmol) に添加し、得られた混合物を 80 で 18 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水 (0.1% NH₄HCO₃) 中 5 ~ 80% MeOH の溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、5 - ブロモ - N , 6 - ジメチルピコリンアミド (中間体 43、1.5 g、75%) を浅黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 2.65 (3 H, s), 2.82 (3 H, d), 7.75 (1 H, d), 8.17 (1 H, d), 8.57 - 8.76 (1 H, m); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 229.

20

【 0 1 8 9 】

中間体 44 : tert - ブチル 4 - (2 - メチル - 6 - (メチルカルバモイル) ピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボキシレート

5 - ブロモ - N , 6 - ジメチルピコリンアミド (中間体 43、1.0 g、4.37 mmol) を、トルエン (20 mL) 中、tert - ブチルピペラジン - 1 - カルボキシレート (0.894 g、4.80 mmol)、BINAP (0.272 g、0.44 mmol)、Pd (OAc)₂ (0.098 g、0.44 mmol)、及び Cs₂CO₃ (3.56 g、10.91 mmol) に、窒素下で添加した。得られた混合物を 80 で 16 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水 (0.4% HCO₂H) 中 5 ~ 30% MeOH の溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、tert - ブチル 4 - (2 - メチル - 6 - (メチルカルバモイル) ピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボキシレート (中間体 44、1.2 g、82%) を褐色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 1.50 (9 H, s), 2.58 (3 H, s), 2.92 - 3.00 (7 H, m), 3.62 (4 H, m), 7.50 (1 H, d), 7.88 (1 H, d); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 335.

30

40

【 0 1 9 0 】

中間体 45 : N , 6 - ジメチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド

tert - ブチル 4 - (2 - メチル - 6 - (メチルカルバモイル) ピリジン - 3 - イル) ピペラジン - 1 - カルボキシレート (中間体 44、1.18 g、3.53 mmol) を、HCl の 1, 4 - ジオキサン中 4 M 溶液 (10 mL、329.15 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で 1 時間攪拌した。沈殿物を濾過により回収し、石油エーテル

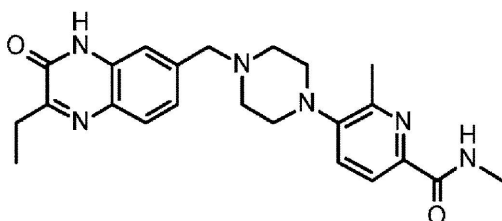
50

(5 mL × 2)、Et₂O (5 mL × 2) で洗浄し、真空下で乾燥させて、N, 6 - ジメチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 45、0.77 g、81%) を黄色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 2.86 (3H, s), 3.02 (3H, s), 3.42 - 3.54 (8H, m), 8.29 (2H, d); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 235.

【0191】

合成実施例 13: 5 - [4 - [(2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N, 6 - ジメチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 4 6】



10

7 - (ブロモメチル) - 3 - エチルキノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 30、100 mg、0.37 mmol) を、NMP (2 mL) 中の N, 6 - ジメチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 45、90 mg、0.33 mmol) 及び DIPEA (0.36 mL、2.05 mmol) に加えた。得られた混合物を 80 °C で 2 時間撹拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC (カラム: XBridge Prep OBD C18 カラム、30 × 150 mm、5 μm; 移動相 A: 水 (10 mmol/L NH₄HCO₃), 移動相 B: ACN; 流量: 60 mL/分; 勾配: 7 分間で 30% B から 40% B へ; 254; 220 nm; RT: 6.43 分) により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固させて、5 - [4 - [(2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N, 6 - ジメチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 13、68.7 mg、43.6%) をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 1.33 (3H, t), 2.55 (3H, s), 2.71 (4H, s), 2.87 - 2.99 (5H, m), 3.05 (4H, t), 3.73 (2H, s), 7.35 (1H, s), 7.38 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.77 (1H, d), 7.87 (1H, d); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 421.

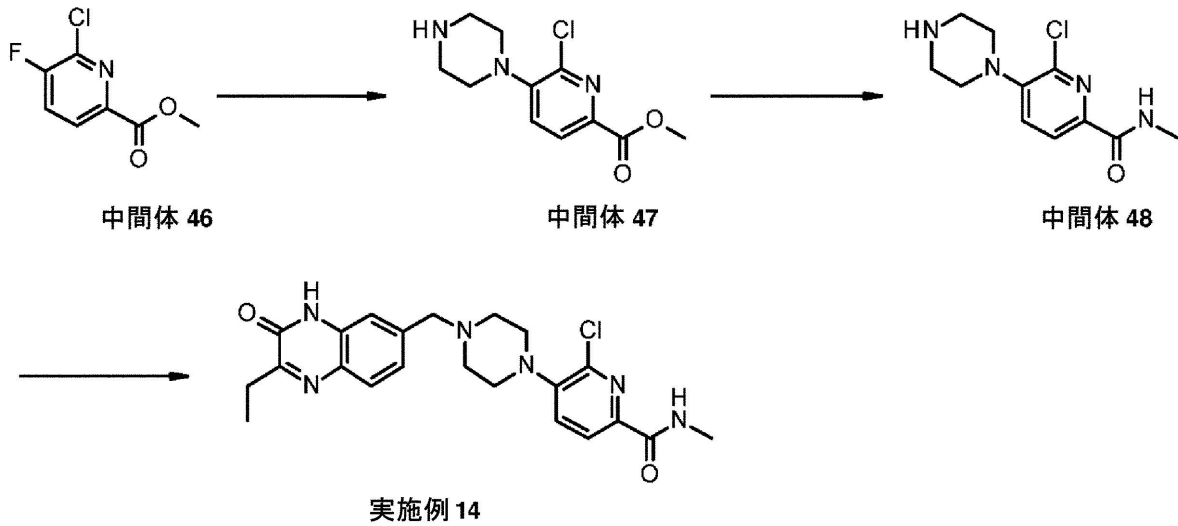
20

30

40

50

【化 4 7】



10

【 0 1 9 2】

中間体 47: メチル 6 - クロロ - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリネート

20

ピペラジン (1.0 g、11.61 mmol) を、MeCN (30 mL) 中メチル 6 - クロロ - 5 - フルオロピコリネート (中間体 46、1.0 g、5.28 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 で 18 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水 (0.1% NH₄HCO₃) 中 5 ~ 60% MeCN の溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、メチル 6 - クロロ - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリネート (中間体 47、1.28 g、95%) を赤色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 2.81 - 2.91 (4 H, m), 3.04 - 3.08 (4 H, m), 3.85 (3 H, s), 7.61 (1 H, d), 8.00 (1 H, d) (NH プロトンは示されず); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 256.

30

【 0 1 9 3】

中間体 48: 6 - クロロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド

メチルアミンの THF 中 2 M 溶液 (40 mL、80.00 mmol) を、メチル 6 - クロロ - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリネート (中間体 47、1.26 g、4.93 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 で 18 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水 (0.1% NH₄HCO₃) 中 5 ~ 60% MeCN の溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、6 - クロロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 48、1.12 g、89%) を浅黄色油状物として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO - d₆) 2.79 (3 H, d), 2.85 - 2.89 (4 H, m), 2.97 - 3.02 (4 H, m), 7.63 (1 H, d), 7.94 (1 H, d), 8.45 (1 H, q) (ピペラジン - NH プロトンは示されず); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 255.

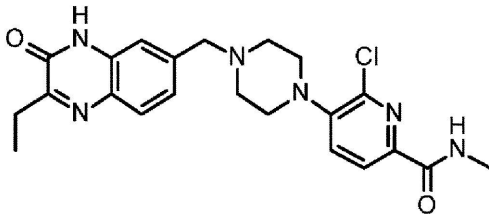
40

【 0 1 9 4】

合成実施例 14: 6 - クロロ - 5 - [4 - [(2 - フルオロ - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル)メチル]ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

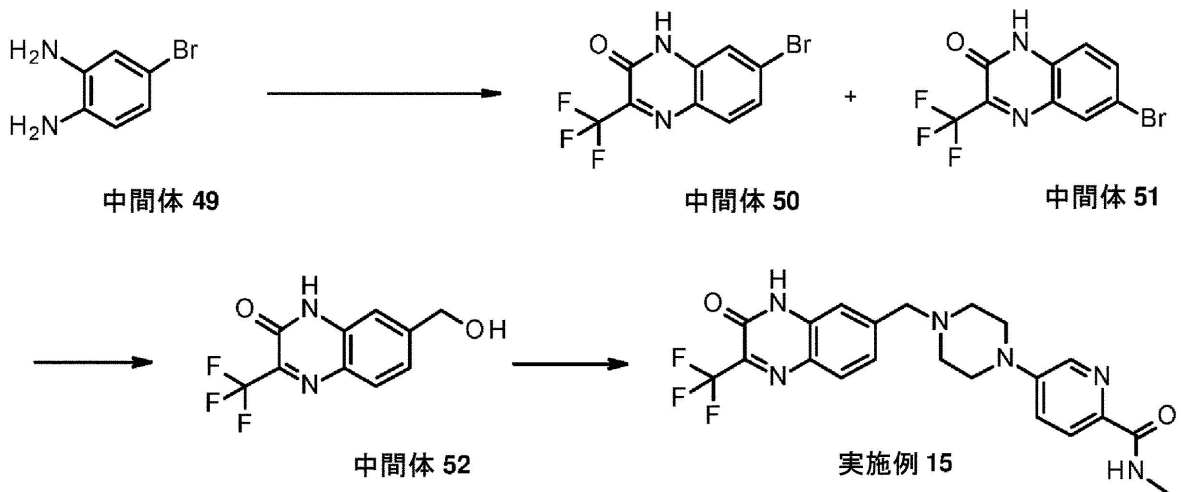
50

【化 4 8】



7 - (ブロモメチル) - 3 - エチルキノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 3 0、 2 0 10
 0 m g、 0 . 7 5 m m o l) を、 N M P (2 m L) 中 の 6 - クロロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 4 8、 1 0 0 m g、 0 . 3 9 m m o l)
 及び D I P E A (0 . 3 5 8 m L、 2 . 0 5 m m o l) に 添 加 し た。 得 ら れ た 混 合 物 を 8
 0 で 2 時 間 攪 拌 し た。 溶 媒 を 減 圧 下 で 留 去 し た。 粗 生 成 物 を、 分 取 H P L C (カ ラ ム :
 X B r i d g e P r e p O B D C 1 8 カ ラ ム、 3 0 × 1 5 0 m m、 5 μ m ; 移 動 相
 A : 水 (1 0 M M O L / L N H ₄ H C O ₃)、 移 動 相 B : A C N ; 流 量 : 6 0 m L / 分
 ; 勾 配 : 8 分 間 で 3 0 % B か ら 4 0 % B へ ; 2 5 4 ; 2 2 0 n m ; R T : 7 . 3 分) に よ
 り 精 製 し た。 所 望 の 化 合 物 を 含 有 す る 画 分 を 蒸 発 乾 固 さ せ て、 6 - クロロ - 5 - [4 - [20
 (2 - エチル - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 -
 イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合 成 実 施 例 1 4、 5 2 . 6 m g、 30
 . 4 %) を 白 色 固 体 と し て 得 た。 ¹H N M R (4 0 0 M H z , C D ₃ O D) 1 .
 3 3 (3 H , t) , 2 . 7 1 (4 H , s) , 2 . 8 7 - 2 . 9 6 (5 H , m) , 3 .
 2 3 (4 H , s) , 3 . 7 3 (2 H , s) , 7 . 3 3 - 7 . 4 1 (2 H , m) , 7 .
 6 2 (1 H , d) , 7 . 7 7 (1 H , d) , 8 . 0 0 (1 H , d) ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 4 4 1 .

【化 4 9】



【 0 1 9 5】

中間体 5 0 : 7 - ブロモ - 3 - (トリフルオロメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン
 4 - ブロモベンゼン - 1 , 2 - ジアミン (中間体 4 9、 0 . 9 g、 4 . 8 1 m m o l)
 を、 トルエン (1 0 m L) 中 の 3 , 3 , 3 - トリフルオロ - 2 - オキソプロパン酸メチル
 (0 . 9 g、 5 . 7 7 m m o l) に 添 加 し た。 得 ら れ た 混 合 物 を 1 0 0 で 6 0 分 間 攪 拌
 し た。 溶 媒 を 減 圧 下 で 留 去 し た。 粗 生 成 物 を フ ラ ッ シ ュ シ リ カ ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー に よ
 り、 石 油 エ ー テ ル 中 0 ~ 5 0 % E t O A c の 溶 離 液 勾 配 で 精 製 し た。 純 粋 な 画 分 を 蒸 発 乾 固
 し て、 7 - ブロモ - 3 - (トリフルオロメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン 及 び 6 40
 50

- ブロモ - 3 - (トリフルオロメチル)キノキサリン - 2 (1H) - オンの位置異性混合物 (中間体 50 + 中間体 51、1.28 g、45.4%) をオフホワイト色の固体として得た。位置異性体の混合物を単離し、¹H NMR スペクトルは解釈しなかった; m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 295。

【0196】

中間体 52: 7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (トリフルオロメチル)キノキサリン - 2 (1H) - オン

Pd(Ph₃P)₄ (0.3 g、0.26 mmol) を、1,4-ジオキサン (40 mL) 中に 7 - ブロモ - 3 - (トリフルオロメチル)キノキサリン - 2 (1H) - オン及び 6 - ブロモ - 3 - (トリフルオロメチル)キノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 50 + 中間体 51、1.2 g、2.05 mmol) 並びに (トリブチルスタニル)メタノール (1.2 g、3.74 mmol) を混合した混合物に添加した。得られた混合物を、窒素下にて 100 ° で 18 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を逆相クロマトグラフィー、溶離液勾配 5 から 50% MeOH (水 (0.1% HCO₂H) 中) により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (トリフルオロメチル)キノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 52、0.32 g、64.0%) をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO - d₆,) 4.63 (2H, d), 5.52 (1H, t), 7.30 (1H, dd), 7.38 (1H, d), 7.83 (1H, d), 13.05 (1H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 245。

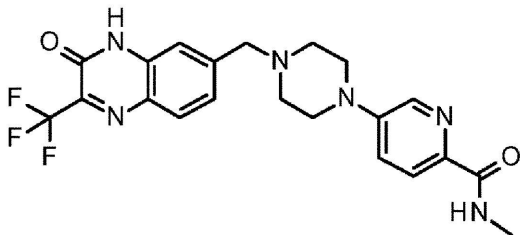
10

20

【0197】

合成実施例 15: N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (トリフルオロメチル) - 4H - キノキサリン - 6 - イル]メチル]ピペラジン - 1 - イル]ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 50】



30

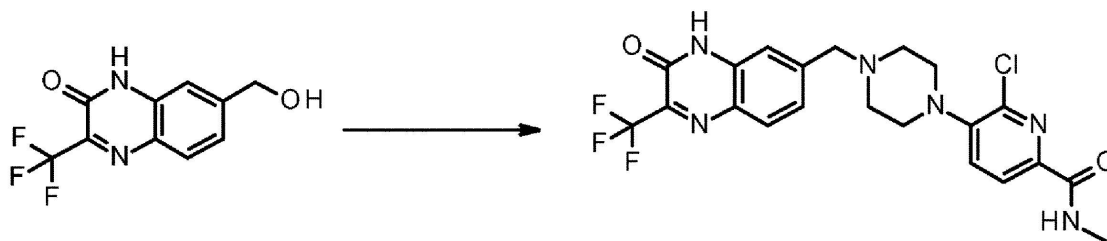
AcOH (3 mL、18.23 mmol) 中の 33% HBr 溶液を、7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (トリフルオロメチル)キノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 52、111 mg、0.45 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 ° で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。DIEA (0.5 mL、2.86 mmol) 及び N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル)ピコリンアミド (中間体 13、100 mg、0.45 mmol) を、NMP (3 mL) 中の上記混合物に添加した。得られた混合物を 80 ° で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC により精製した (カラム: XBridge Prep OBD C18 カラム、30 × 150 mm 5 μm; 移動相 A: 水 (10 mmol/L NH₄HCO₃)、移動相 B: ACN; 流量: 60 mL / 分; 勾配: 7 分間で 22 B から 32 B へ; 254; 220 nm; RT: 5.77 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (トリフルオロメチル) - 4H - キノキサリン - 6 - イル]メチル]ピペラジン - 1 - イル]ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 15、44.0 mg、21.71%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 2.55 - 2.62 (m, 4H), 2.78 (d, 3H), 3.34 - 3.38 (t, 4H), 3.69 (s, 2H), 7.34 - 7.44 (m, 3H), 7.80 - 7.91 (m, 2H), 8.27 (d, 1H), 8.36 - 8.41 (m, 1H), 12.97

40

50

(s, 1H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) -68.36; m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 447.

【化51】



中間体 52

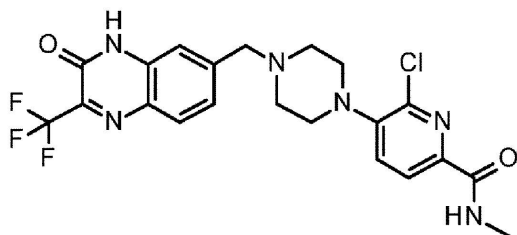
実施例 16

10

【0198】

合成実施例 16: 6-クロロ-N-メチル-5-[4-[[3-オキソ-2-(トリフルオロメチル)-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド

【化52】



20

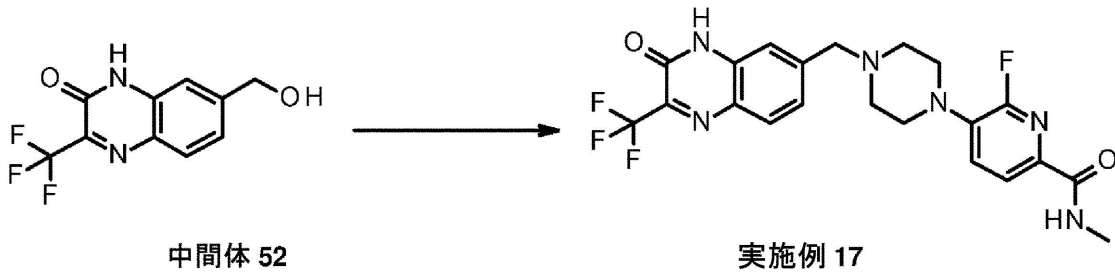
AcOH (3 mL, 18.23 mmol) 中の 33% HBr を、7-(ヒドロキシメチル)-3-(トリフルオロメチル)キノキサリン-2(1H)-オン(中間体 52、43.1 mg, 0.18 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 で 1 時間 攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。DIPEA (0.5 mL, 2.86 mmol) 及び 6-クロロ-N-メチル-5-(ピペラジン-1-イル)ピコリンアミド(中間体 48、45 mg, 0.18 mmol) を、NMP (5 mL) 中の上記混合物に添加した。得られた混合物を 80 で 1 時間 攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC により精製した(カラム: XBridge Prep OBD C18 カラム、30 x 150 mm 5 μm ; 移動相 A: 水 (10 MMOL/L NH_4HCO_3)、移動相 B: ACN; 流量: 60 mL/分; 勾配: 7 分間で 10 B から 50 B へ; 254; 220 nm; RT: 6.75 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して 6-クロロ-N-メチル-5-[4-[[3-オキソ-2-(トリフルオロメチル)-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例 16、22.00 mg, 25.9%) をオフホワイト色の固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 2.56 - 2.64 (s, 4H), 2.79 (d, 3H), 3.09 - 3.17 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 7.36 - 7.42 (m, 2H), 7.67 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 8.39 - 8.44 (m, 1H), 12.89 (s, 1H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO) -68.41; m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 481.

30

40

50

【化 5 3】

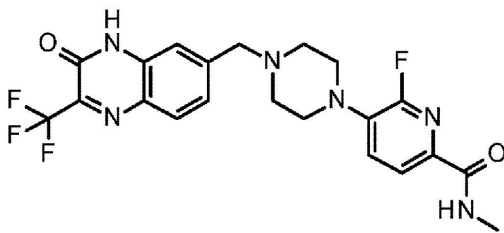


10

【 0 1 9 9】

合成実施例 17 : 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (トリフルオロメチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 5 4】



20

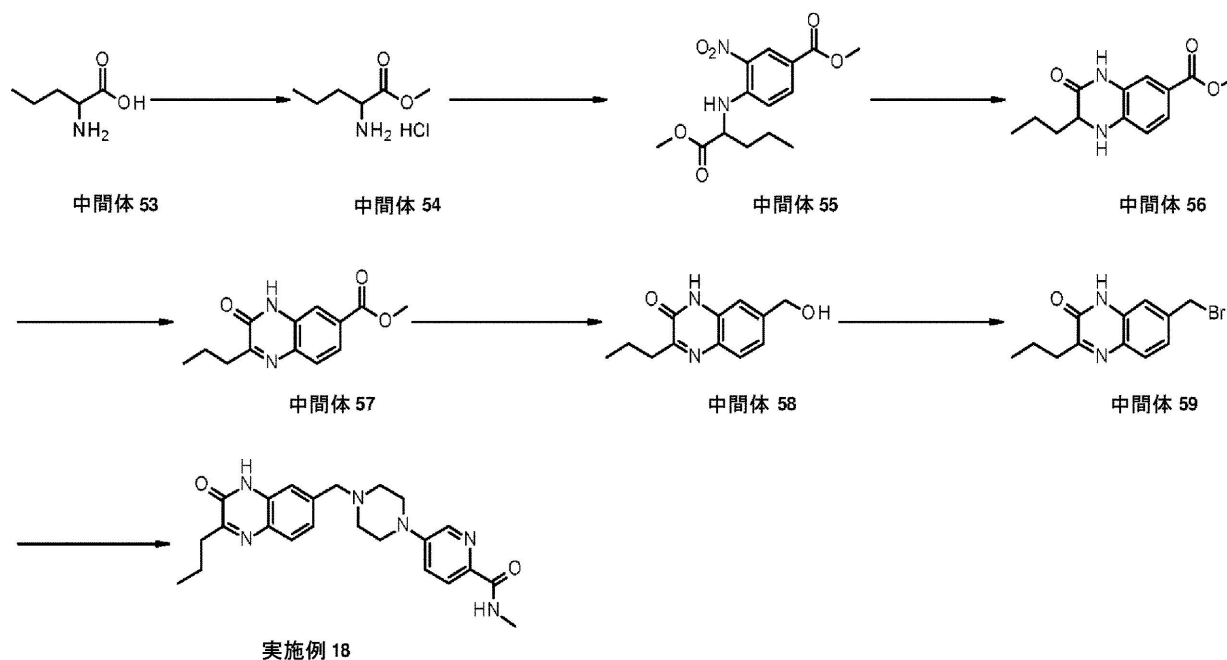
AcOH 中 33% の HBr (3 mL、55.25 mmol) を、7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (トリフルオロメチル) キノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 52、102 mg、0.42 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。6 - フルオロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 23、100 mg、0.42 mmol) 及び DIPEA (0.5 mL、2.86 mmol) を、NMP (5 mL) 中の上記混合物に添加した。得られた混合物を 80 で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC (カラム : XBridge Prep OBD C18 カラム、30 x 150 mm 5 μm ; 移動相 A : 水 (10 MMOL/L NH₄HCO₃)、移動相 B : ACN ; 流量 : 60 mL / 分 ; 勾配 : 8 分間で 15 B から 40 B へ ; 254 ; 220 nm ; RT : 7.2 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (トリフルオロメチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 17、66.0 mg、33.9%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 2.55 - 2.69 (m, 4H), 2.77 (d, 3H), 3.15 - 3.23 (m, 4H), 3.69 (s, 2H), 7.33 - 7.46 (m, 2H), 7.58 (dd, 1H), 7.78 - 7.93 (m, 2H), 8.37 - 8.42 (m, 1H), 12.99 (s, 1H); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) -68.36, -72.52; m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 465.

30

40

50

【化 5 5】



10

20

【0200】

中間体 54 : 2 - アミノペンタン酸メチル塩酸塩

S O C l₂ (17 m L、232.94 m m o l) を、0 で、M e O H (200 m L) 中の 2 - アミノペンタン酸 (中間体 53、10.0 g、85.36 m m o l) に滴下した。得られた混合物を室温で 18 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去して、2 - アミノペンタン酸メチル塩酸塩 (中間体 54 ; 15.78 g、110%) を白色固体として得た。¹ H N M R (D M S O - d₆, 400 M H z) 0.88 (3 H, t), 1.19 - 1.51 (2 H, m), 1.67 - 1.83 (2 H, m), 3.74 (3 H, s), 3.89 - 3.93 (1 H, m), 8.64 (3 H, s); m / z (E S +) [M + H]⁺ = 132.

30

【0201】

中間体 55 : 4 - (1 - メトキシ - 1 - オキソペンタン - 2 - イルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル

重炭酸ナトリウム (20.0 g、238.08 m m o l) を、T H F (160 m L) 中の 2 - アミノペンタン酸メチル塩酸塩 (中間体 54、15.57 g、92.88 m m o l) 及び 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (9.0 g、45.19 m m o l) に添加した。得られた混合物を室温で 18 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去した。反応混合物を E t O A c (150 m L) で希釈し、水 (100 m L × 1)、飽和 N a H C O₃ (100 m L × 1) 及び飽和ブライン (100 m L × 1) で順に洗浄した。有機層を N a₂ S O₄ で乾燥させ、濾過し、蒸発させて、4 - (1 - メトキシ - 1 - オキソペンタン - 2 - イルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 55、14.09 g、100%) を黄色油状物として得た。¹ H N M R (400 M H z, D M S O - d₆) 0.89 (3 H, t), 1.26 - 1.41 (2 H, m), 1.84 - 1.94 (2 H, m), 3.73 (3 H, s), 3.83 (3 H, s), 4.68 - 4.75 (1 H, m), 7.12 (1 H, d), 8.00 (1 H, d), 8.60 (1 H, d), 8.63 (1 H, d); m / z (E S +) [M + H]⁺ = 311.

40

【0202】

中間体 56 : 3 - オキソ - 2 - プロピル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

50

Pd(OH)₂/C(20wt%, 1.58g, 2.25mmol)を、MeOH(300mL)中の4-(1-メトキシ-1-オキソペンタン-2-イル)アミノ)-3-ニトロ安息香酸メチル(中間体55、14.05g, 45.28mmol)に添加した。得られた混合物をH₂下、室温で30時間撹拌した。反応混合物を濾過した。沈殿物をDMF(100mL)で洗浄し、濾液を蒸発乾固させて粗生成物を得た。粗生成物をDCM(10mL)で洗浄し、真空下で乾燥させて、3-オキソ-2-プロピル-1,2,3,4-テトラヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体56、9.12g, 81%)を白色固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 0.87(3H, t), 1.32 - 1.46(2H, m), 1.57 - 1.64(2H, m), 3.74(3H, s), 3.88 - 3.93(1H, m), 6.70(1H, d), 6.83(1H, d), 7.32(1H, d), 7.40(1H, dd), 10.38(1H, s); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 249.

10

【0203】

中間体57: 3-オキソ-2-プロピル-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル

DDQ(9.42g, 41.50mmol)を、1,4-ジオキサン(200mL)中の3-オキソ-2-プロピル-1,2,3,4-テトラヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体56、9.12g, 36.73mmol)に添加した。得られた混合物を室温で18時間撹拌した。反応混合物を飽和NaHCO₃(200mL)で希釈した。得られた混合物を室温で0.5時間撹拌した。沈殿物を濾過によって集め、水(1000mL)で洗浄し、真空下で乾燥させて、3-オキソ-2-プロピル-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体57、7.86g, 87%)をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 0.98(3H, t), 1.68 - 1.80(2H, m), 2.75 - 2.83(2H, m), 3.89(3H, s), 7.73 - 7.85(2H, m), 7.88(1H, d), 12.45(1H, s); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 247.

20

【0204】

中間体58: 7-(ヒドロキシメチル)-3-プロピルキノキサリン-2(1H)-オン
THF(100mL, 100.00mmol)中のDIBAL-Hの1M溶液を、0で、THF(200mL)中の3-オキソ-2-プロピル-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体57、7.81g, 31.71mmol)に滴下した。得られた混合物を室温で18時間撹拌した。反応混合物をMeOH(5ml)及び飽和酒石酸ナトリウムカリウム四水和物水溶液(20ml)で反応停止させ、有機層を蒸発させて、7-(ヒドロキシメチル)-3-プロピルキノキサリン-2(1H)-オン(中間体58, 1.2g, 17.34%)を白色固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 0.97(3H, t), 1.36 - 1.77(2H, m), 2.71 - 2.79(2H, m), 4.59(2H, s), 5.39(1H, s), 7.18(1H, dd), 7.27(1H, d), 7.65(1H, d), 12.30(1H, s); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 219.

30

【0205】

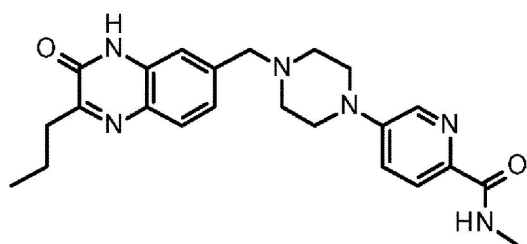
中間体59: 7-(プロモメチル)-3-プロピルキノキサリン-2(1H)-オン
AcOH(74.6μl, 1.37mmol)中の33%HBrを7-(ヒドロキシメチル)-3-プロピルキノキサリン-2(1H)-オン(中間体58、300mg, 1.37mmol)に添加した。得られた混合物を80で1時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去して、7-(プロモメチル)-3-プロピルキノキサリン-2(1H)-オン(中間体59、600mg, 155%)を褐色固体として得た(粗生成物は純粋ではなく、AcOH及び他の不純物を含む)。生成物をさらに精製せずに次の工程で使用した。¹H NMRスペクトルは明瞭ではなく、解釈しなかった; m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 282.

40

【0206】

50

合成実施例 18 : N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド
【化 5 6】



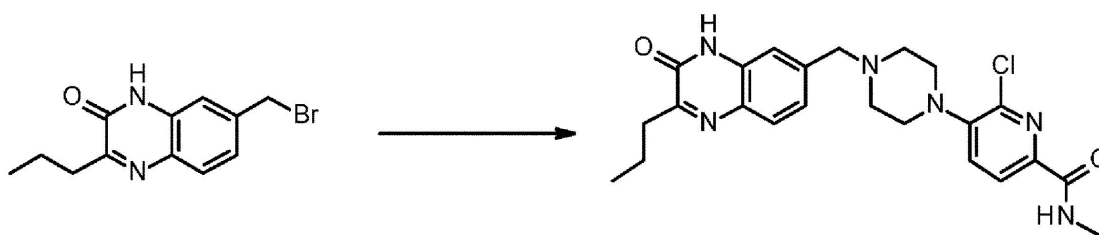
10

NMP (3 mL) 中の 7 - (ブロモメチル) - 3 - プロピルキノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 59、200 mg、0.71 mmol) 及び N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 13、80 mg、0.36 mmol) に、DIPEDA (200 μ L、1.15 mmol) を加えた。得られた混合物を 80 で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC (カラム : X Bridge Shield RP18 OBD カラム、19 \times 250 mm、10 μ m ; 移動相 A : 水 (10 mmol/L NH_4HCO_3 、0.1% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、移動相 B : ACN ; 流速 : 20 mL / 分 ; 勾配 : 7 分間で 38 B から 50 B へ ; 254 / 220 nm ; RT : 6.20) により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 18、71.0 mg、46.5%) を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 0.97 (3 H, t), 1.66 - 1.80 (2 H, m), 2.55 - 2.61 (4 H, m), 2.73 - 2.85 (5 H, m), 3.33 - 3.40 (4 H, m), 3.62 (2 H, s), 7.19 - 7.31 (2 H, m), 7.40 (1 H, dd), 7.68 (1 H, d), 7.83 (1 H, d), 8.27 (1 H, d), 8.35 - 8.45 (1 H, m), 12.26 (1 H, s); m/z (ES+) [M + H]⁺ = 421.

20

【化 5 7】

30



中間体 59

実施例 19

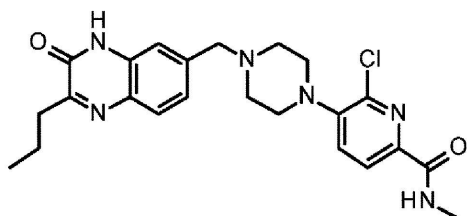
【 0 2 0 7 】

40

合成実施例 19 : 6 - クロロ - N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - ピリジン - 2 - カルボキサミド

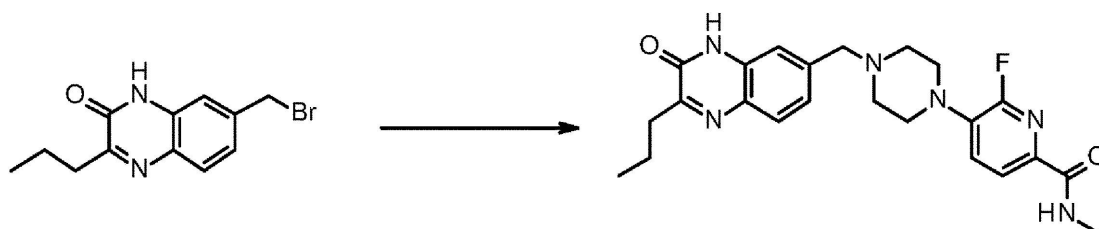
50

【化58】



NMP (3 mL) 中の 7 - (プロモメチル) - 3 - プロピルキノキサリン - 2 (1H) -
 オン (中間体 59、200 mg、0.71 mmol) 及び 6 - クロロ - N - メチル - 5 -
 (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 48、80 mg、0.31 mmol)
 に、DIPEA (200 μ L、1.15 mmol) を加えた。得られた混合物を 80 で
 1 時間撹拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 HPLC (カラム: X B r
 i d g e S h i e l d R P 1 8 O B D カラム、19 \times 250 mm、10 μ m; 移動
 相 A: 水 (0.1% HCO₂H)、移動相 B: ACN; 流速: 20 mL / 分; 勾配: 7 分
 間で 18 B から 30 B へ; 254 / 220 nm; RT: 5.93 により精製した。所望の
 化合物を含有する画分を蒸発乾固して、6 - クロロ - N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オ
 キソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル]
 - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 19、52.0 mg、36.4%) を白色
 固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 0.97 (3 H,
 t), 1.66 - 1.79 (2 H, m), 2.55 - 2.65 (4 H, m), 2.71
 - 2.85 (5 H, m), 3.06 - 3.12 (4 H, m), 3.64 (2 H, s),
 7.20 - 7.32 (2 H, m), 7.64 - 7.72 (2 H, m), 7.94 (1
 H, d), 8.40 - 8.50 (1 H, m), 12.27 (1 H, s); m/z (ES⁺)
 [M + H]⁺ = 455.

【化59】



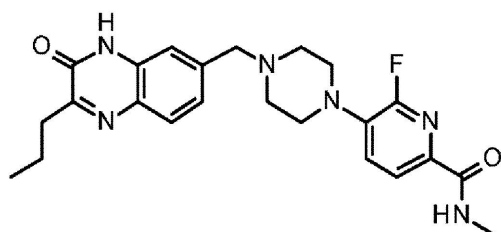
中間体 59

実施例 20

【0208】

合成実施例 20: 6 - フルオロ - 5 - [4 - [(3 - フルオロ - 2 - オキシ - 4 H - キノ
 キサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カ
 ルボキサミド

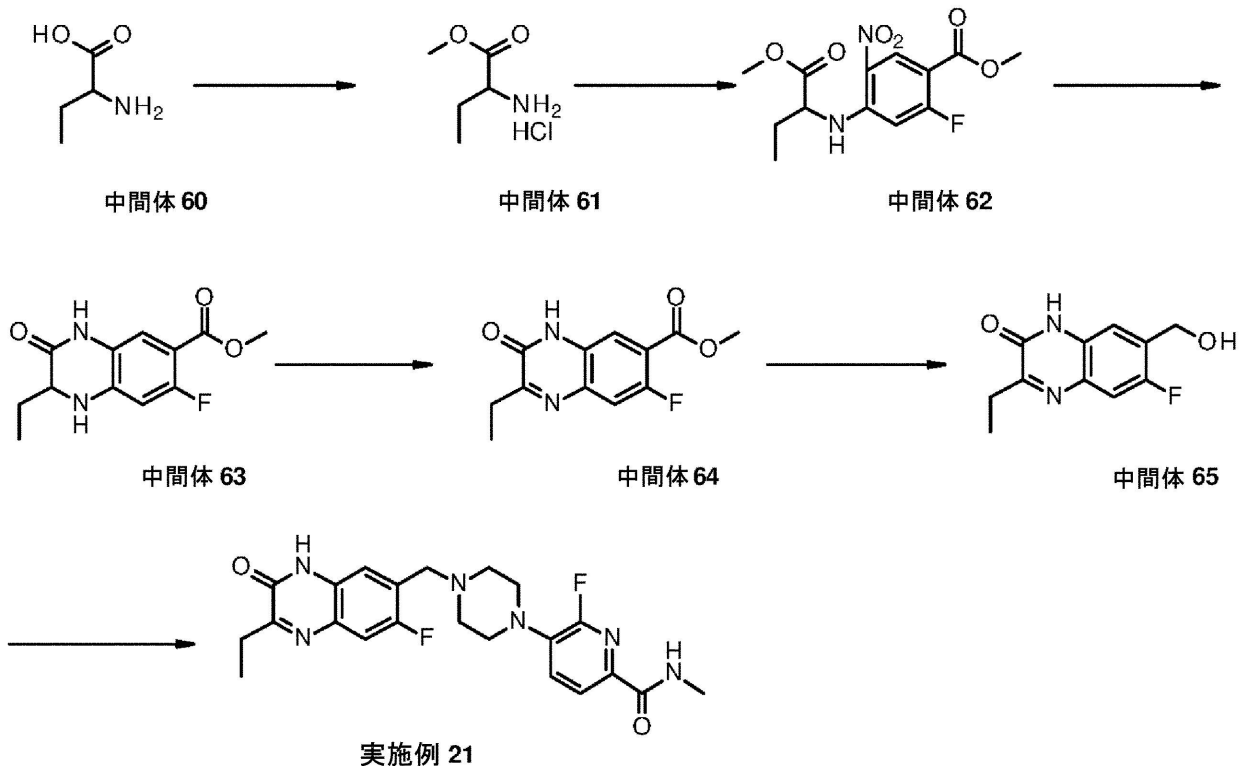
【化60】



DIPEA (500 μ L、2.86 mmol) を、NMP (3 mL) 中の 7 - (プロモメ

チル) - 3 - プロピルキノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 5 9 、 2 0 0 m g 、 0 . 7 1 m m o l) 及び 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド、 2 H C l (中間体 2 3 、 1 0 0 m g 、 0 . 3 2 m m o l) に添加した。得られた混合物を 8 0 で 1 時間 攪拌した。溶媒を減圧下で留去した。粗生成物を、分取 H P L C (カラム : S u n F i r e C 1 8 O B D 分取カラム、 1 0 0 、 5 μ m 、 1 9 m m × 2 5 0 m m ; 移動相 A : 水 (0 . 1 % H C O ₂ H) 、 移動相 B : A C N ; 流速 : 2 5 m L / 分 ; 勾配 : 1 3 分間で 1 0 B から 2 0 B へ ; 2 5 4 / 2 2 0 n m ; R T : 1 2 . 1 3 に より 精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [(3 - オキソ - 2 - プロピル - 4 H - キノキサリン - 6 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 2 0 、 7 1 . 0 m g 、 5 0 . 4 %) を白色固体として得た。¹H NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆) 0 . 9 7 (3 H , t) , 1 . 6 6 - 1 . 7 8 (2 H , m) , 2 . 5 4 - 2 . 6 0 (4 H , m) , 2 . 7 1 - 2 . 8 3 (5 H , m) , 3 . 1 4 - 3 . 2 5 (4 H , m) , 3 . 6 2 (2 H , s) , 7 . 1 9 - 7 . 3 3 (2 H , m) , 7 . 5 7 (1 H , d d) , 7 . 6 8 (1 H , d) , 7 . 8 5 (1 H , d d) , 8 . 3 7 - 5 . 4 3 (1 H , m) , 1 2 . 2 7 (1 H , s) ; ¹⁹F NMR (3 7 6 M H z , D M S O - d ₆) - 7 2 . 5 1 ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 4 3 9 .

【化 6 1】



20

30

40

【 0 2 0 9】

中間体 6 1 : 2 - アミノブタン酸メチル塩酸塩

S O C l ₂ (1 7 m L 、 2 3 2 . 9 4 m m o l) を、 0 で、 M e O H (1 0 0 m L) 中の 2 - アミノブタン酸 (中間体 6 0 、 1 0 . 0 g 、 9 6 . 9 7 m m o l) に滴下した。得られた混合物を室温で 1 8 時間 攪拌した。溶媒を減圧下で除去して、2 - アミノブタン酸メチル塩酸塩 (中間体 6 1 、 1 4 . 8 4 g 、 1 0 0 %) を白色固体として得た。¹H NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆) 0 . 9 1 (3 H , t) , 1 . 7 5 - 1 . 9 5 (2 H , m) , 3 . 7 3 (3 H , s) , 3 . 9 3 (1 H , t) , 8 . 7 2 (3 H , s) ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 1 1 8 .

【 0 2 1 0】

50

中間体 62 : 2 - フルオロ - 4 - (1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イルアミノ)
- 5 - ニトロ安息香酸メチル

DIPEA (4 . 02 mL、23 . 03 mmol) を、NMP (10 mL) 中の 2 , 4 -
ジフルオロ - 5 - ニトロ安息香酸メチル (1 . 0 g、4 . 61 mmol) 及び 2 - アミノ
ブタン酸メチル塩酸塩 (中間体 61、0 . 707 g、4 . 61 mmol) に加えた。得ら
れた混合物を rt で 5 時間攪拌した。粗生成物を逆相クロマトグラフィー、溶離液勾配 5
から 80 % MeOH (水 (0 . 1 % NH₄HCO₃) 中) により精製した。純粋な画分を
蒸発乾固して、2 - フルオロ - 4 - (1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イルアミノ)
- 5 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 62、1 . 2 g、83 %) を黒色固体として得た。
¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 0 . 88 (3 H, t), 1 . 78
- 2 . 03 (2 H, m), 3 . 75 (3 H, s), 3 . 83 (3 H, s), 4 . 73
- 4 . 80 (1 H, m), 7 . 06 (1 H, d), 8 . 66 - 8 . 72 (2 H, m) ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 315 .

10

【 0211 】

中間体 63 : 2 - エチル - 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

2 - フルオロ - 4 - ((1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 5 -
ニトロ安息香酸メチル (中間体 62、1 . 15 g、3 . 66 mmol) を、水素下で、M
eOH (300 mL) 及び酢酸エチル (50 mL) 中の 20 wt % Pd (OH)₂ (50
0 mg、0 . 71 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で 3 日間攪拌した。反応
は完了しなかった。反応混合物を濾過した。有機層を蒸発させて、粗生成物、2 - エチル
- 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボ
ン酸メチル (中間体 63、0 . 780 g、85 %) を褐色ガム状物として得た。この粗生
成物をさらに精製せずに直接次の工程で使用した。粗生成物は清浄ではなく、¹H NMR
スペクトルは解釈しなかった ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 253 .

20

【 0212 】

中間体 64 : 2 - エチル - 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリン -
6 - カルボン酸メチル

2 - エチル - 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン
- 6 - カルボン酸メチル (中間体 63、760 mg、3 . 01 mmol) を DCM (20
mL) 中の DDQ (821 mg、3 . 62 mmol) に添加した。得られた混合物を室温
で 2 時間攪拌した。反応は完了した。得られた混合物を減圧下で濃縮し、褐色固体を得た。
。 aq NaHCO₃ 飽和溶液 (10 mL) を固体に添加し、室温で 1 時間攪拌した。沈
殿物を濾過し、追加の aq NaHCO₃ 溶液 (10 mL x 5) ですすいだ。固体を真空
下で乾燥させて、2 - エチル - 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリ
ン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 64、750 mg、99 %) を褐色固体として得た。
¹H NMR (300 MHz, DMSO - d₆) 1 . 20 (3 H, t), 2 . 82 (2 H, q), 3 . 87 (3 H, s), 7 . 65 (1 H, d), 7 . 76 (1 H, d), 1
2 . 42 (1 H, s) ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 251 .

30

【 0213 】

中間体 65 : 3 - エチル - 6 - フルオロ - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン

THF (15 . 35 mL、15 . 35 mmol) 中の水素化ジイソブチルアルミニウムの 1 M 溶液を、THF (300 mL) 中の 2 - エチル - 7 - フルオロ - 3 - オキソ - 3 ,
4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 64、640 mg、2 . 56
mmol) に少しずつ加えた。得られた混合物を室温で 16 時間攪拌した。反応は完了した。
反応混合物を飽和酒石酸ナトリウムカリウム水溶液 (20 mL) 及び MeOH (10
mL) で 0 にて反応停止させた。得られた混合物を室温で 1 時間攪拌した。反応混合物
を濾過し、THF (50 mL x 3) で洗浄した。有機層を蒸発乾固して粗生成物を得た。
粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水 (0 . 4 % HCO₂H) 中 5 ~ 60 % Me

40

50

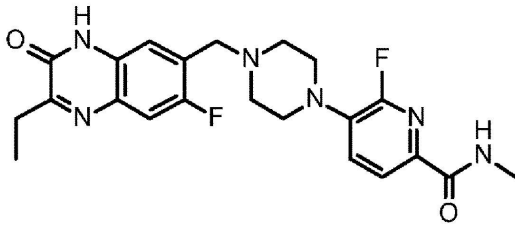
OHの溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、3-エチル-6-フルオロ-7-(ヒドロキシメチル)キノキサリン-2(1H)-オン(中間体65、110mg、19.37%)をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 1.21(3H, t), 2.80(2H, q), 4.63(2H, d), 5.49(1H, t), 7.41(1H, d), 7.49(1H, d), 12.36(1H, s); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 223.

【0214】

合成実施例21: 5-[4-[(2-エチル-7-フルオロ-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

10

【化62】



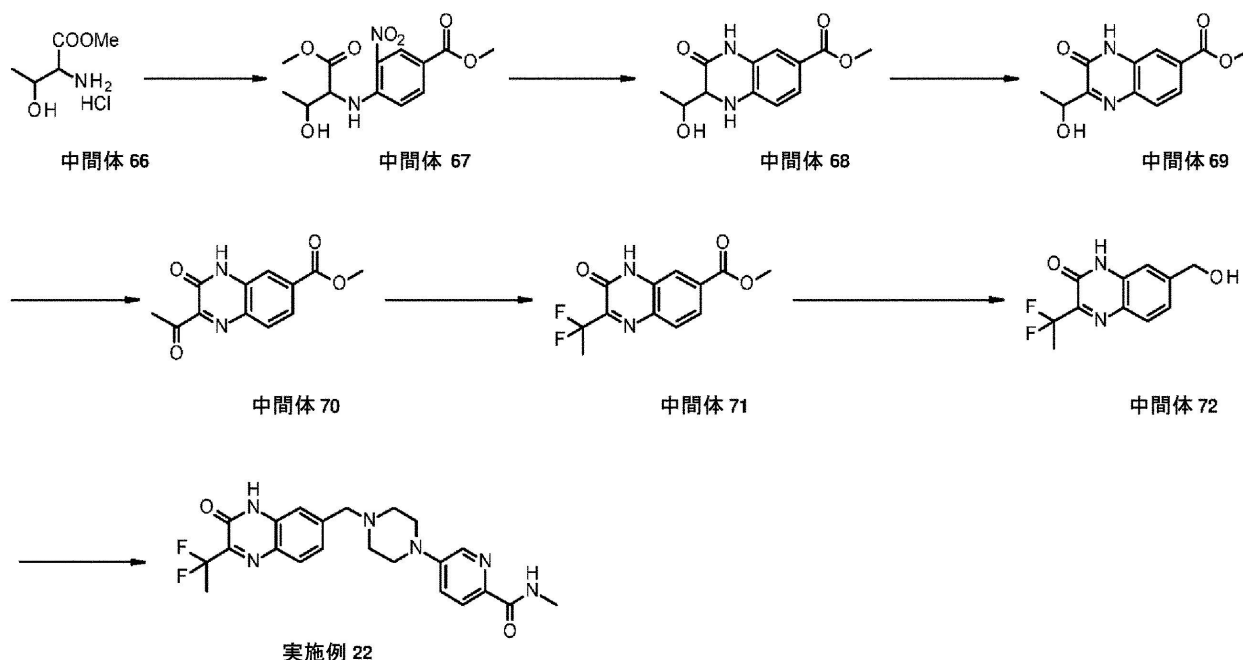
3-エチル-6-フルオロ-7-(ヒドロキシメチル)キノキサリン-2(1H)-オン(中間体65、50mg、0.23mmol)を、AcOH(2mL、12.15mmol)中の33% HBrに添加した。得られた混合物を80℃で2時間撹拌した。反応混合物を真空下で蒸発させて、7-(プロモメチル)-3-エチル-6-フルオロキノキサリン-2(1H)-オン(粗生成物)を得た。この生成物を、さらに精製せずに直接次の工程に使用した。NMP(2mL)中の7-(プロモメチル)-3-エチル-6-フルオロキノキサリン-2(1H)-オン及び6-フルオロ-N-メチル-5-(ピペラジン-1-イル)ピコリンアミド(中間体23、70mg、0.29mmol)にDIPEA(0.196mL、1.13mmol)を加えた。得られた混合物を80℃で2時間撹拌した。得られた混合物を分取HPLC(カラム: Sunfire分取C18カラム、30×150mm、5μm; 移動相A: 水(0.1% HCO₂H)、移動相B: ACN; 流速: 60mL/分; 勾配: 8分間で10Bから35Bへ; 254/220nm; RT: 7.37)により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、5-[4-[(2-エチル-7-フルオロ-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-6-フルオロ-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例21、55.0mg、53.7%)をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 1.21(3H, t), 2.61(4H, m), 2.73-2.85(5H, m), 3.18(4H, m), 3.68(2H, s), 7.38(1H, d), 7.51-7.61(2H, m), 7.84(1H, dd), 8.13(0.29H, s), 8.38(1H, m), 12.29(1H, s); ¹⁹F NMR(376MHz, DMSO-d₆) -72.53, -124.31; m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 443.

20

30

40

【化 6 3】



10

20

【 0 2 1 5】

中間体 67 : 4 - (3 - ヒドロキシ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル

DMF (20 mL) 中の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (2 . 0 g 、 10 . 04 mmol) 及び 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシブタン酸メチル塩酸塩 (中間体 66 、 2 . 04 g 、 12 . 05 mmol) に DIPEA (8 . 77 mL 、 50 . 22 mmol) を加えた。得られた混合物を rt で 16 時間攪拌した。反応混合物を EtOAc (100 mL) で希釈し、飽和 NaH₄Cl 水溶液 (100 mL × 1) 及びブライン (100 mL × 4) で順に洗浄した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、蒸発させて、所望の生成物、4 - ((3 - ヒドロキシ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 67 、 2 . 9 g 、 92 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz , DMSO - d₆) 1 . 15 - 1 . 27 (3 H , m) , 3 . 64 - 3 . 74 (3 H , m) , 3 . 83 (3 H , s) , 4 . 08 - 4 . 44 (1 H , m) , 4 . 61 - 4 . 72 (1 H , m) , 5 . 39 - 5 . 60 (1 H , m) , 7 . 03 - 7 . 15 (1 H , m) , 7 . 90 - 8 . 03 (1 H , m) , 8 . 62 - 8 . 69 (1 H , m) , 8 . 73 - 8 . 89 (1 H , m) ; m / z (ES +) [M + H] ⁺ = 313 .

30

【 0 2 1 6】

中間体 68 : 2 - (1 - ヒドロキシエチル) - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

20% Pd (OH)₂ / C (0 . 648 g 、 0 . 92 mmol) を、水素下で、MeOH (300 mL) 中の 4 - ((3 - ヒドロキシ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 67 、 2 . 88 g 、 9 . 22 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で 16 時間攪拌した。反応は完了した。反応混合物を celite に通して濾過した。有機層を蒸発させて、2 - (1 - ヒドロキシエチル) - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 68 、 2 . 290 g 、 99 %) を灰色固体として得た。¹H NMR (400 MHz , DMSO - d₆) 1 . 07 (3 H , m) , 2 . 81 (1 H , d) , 3 . 72 (1 H , m) , 3 . 74 (3 H , s) , 4 . 78 (1 H , d) , 6 . 70 - 6 . 86 (2 H , m) , 7 . 27 (1 H , d) , 7 . 37 (1 H , dd) , 10 . 38 (1 H , d) ;

40

50

$m/z (ES^+) [M+H]^+ = 251$.

【0217】

中間体69：2-(1-ヒドロキシエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル

DDQ (2.265 g、9.98 mmol)を、DCM (100 mL)中の2-(1-ヒドロキシエチル)-3-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体68、2.27 g、9.07 mmol)に添加した。得られた混合物を室温で1時間攪拌した。反応は完了した。反応混合物を減圧下で濃縮して、褐色固体を得た。aq NaHCO₃飽和溶液(100 mL)を固体に添加し、室温で1時間攪拌した。沈殿物を濾過し、追加のaq NaHCO₃溶液(30 mL x 3)ですすいだ。固体を真空下で乾燥させて、2-(1-ヒドロキシエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体69、2.24 g、99%)を灰色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 1.40 (3H, d), 3.88 (3H, s), 4.94 (1H, q), 7.69 (1H, dd), 7.77 (1H, d), 7.90 (1H, d) (2プロトンは図示せず); $m/z (ES^+) [M+H]^+ = 249$.

10

【0218】

中間体70：2-アセチル-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル

デス・マーチンペルヨージナン(2.56 g、6.04 mmol)を、DCM (30 mL)中の2-(1-ヒドロキシエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体69、1.0 g、4.03 mmol)に添加した。得られた混合物を室温で3時間攪拌した。反応混合物を蒸発させて、粗生成物を得た。粗生成物を逆相クロマトグラフィー、溶離液勾配5から30% MeCN (水(0.4% HCO₂H)中)により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、2-アセチル-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体70; 0.62 g、62.5%)を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 2.58 (3H, s), 3.91 (3H, s), 7.84 (1H, dd), 7.91 - 8.03 (2H, m), 12.86 (1H, s); $m/z (ES^+) [M+H]^+ = 247$.

20

【0219】

中間体71：2-(1,1-ジフルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル

BAST (1.35 mL、7.31 mmol)を、DCM (20 mL)中の2-アセチル-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体70、600 mg、2.44 mmol)に添加した。得られた混合物を室温で16時間攪拌した。反応混合物を蒸発させて粗生成物を得た。粗生成物を逆相クロマトグラフィー、溶離液勾配5から30% MeCN (水(0.4% HCO₂H)中)により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、2-(1,1-ジフルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体71、174 mg、26.6%)をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 2.07 (3H, t), 3.91 (3H, s), 7.84 (1H, dd), 7.92 - 7.99 (2H, m), 12.90 (1H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) -93.26; $m/z (ES^+) [M+H]^+ = 269$.

30

40

【0220】

中間体72：3-(1,1-ジフルオロエチル)-7-(ヒドロキシメチル)キノキサリン-2(1H)-オン

THF (2.39 mL, 2.39 mmol)中の1M水素化ジイソブチルアルミニウム溶液を、0 で、THF (50 mL)中の2-(1,1-ジフルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体71、160 mg、0.60 mmol)に添加した。得られた混合物を室温で16時間攪拌した。反応混合物

50

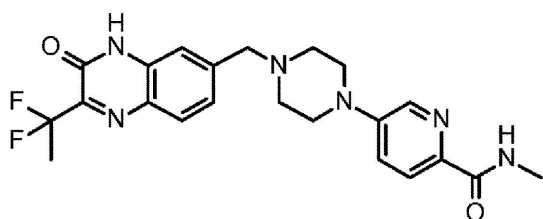
を飽和酒石酸ナトリウムカリウム水溶液 (3 mL) 及び MeOH (1 mL) で 0 ° にて反応停止させた。得られた混合物を 1 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、THF (10 mL × 3) で洗浄した。有機層を蒸発させて、粗生成物、3 - (1, 1 - ジフルオロエチル) - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 72、120 mg、84%) を得た。この生成物を、さらに精製せずに直接次の工程に使用した。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 2.06 (3 H, t), 4.63 (2 H, s), 5.47 (1 H, s), 7.26 (1 H, dd), 7.35 (1 H, d), 7.78 (1 H, d), 12.75 (1 H, br s); m/z (ES+) [M + H]⁺ = 241.

【0221】

10

合成実施例 22 : 5 - [4 - [[2 - (1, 1 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル]メチル]ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 64】



20

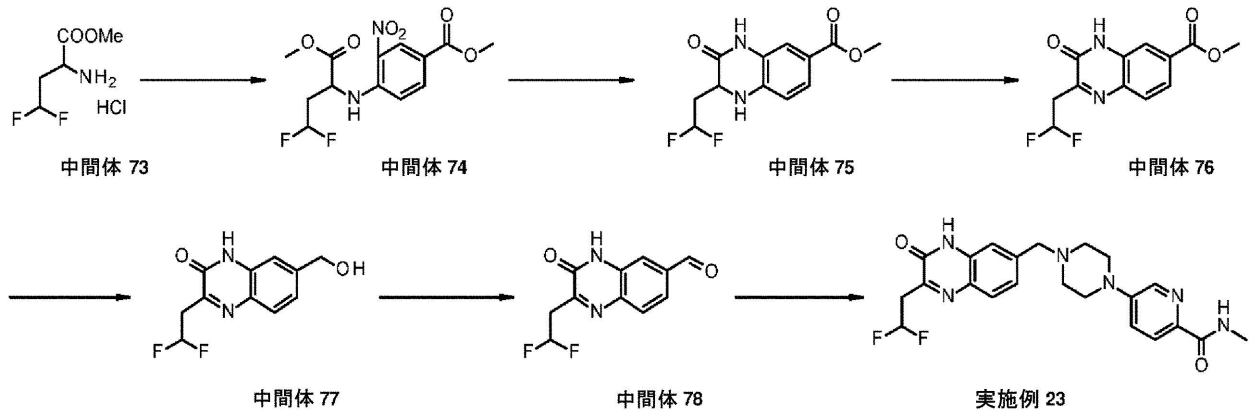
3 - (1, 1 - ジフルオロエチル) - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 72、60 mg、0.25 mmol) を、酢酸 (2 mL、12.15 mmol) 中の 33% HBr に添加した。得られた混合物を 80 ° で 2 時間攪拌した。反応混合物を真空下で蒸発させて、7 - (プロモメチル) - 3 - (1, 1 - ジフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (粗生成物) を得た。この生成物をさらに精製せずに直接次の工程で使用した。DIPEA (0.218 mL、1.25 mmol) を、NMP (3 mL) 中の 7 - (プロモメチル) - 3 - (1, 1 - ジフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (粗生成物) 及び N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 13、60 mg、0.27 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 ° で 1 時間攪拌した。反応混合物を濃縮し、分取 HPLC (カラム: XBridge Shield RP18 OBD カラム、30 × 150 mm、5 μm; 移動相 A: 水 (0.05% NH₃H₂O)、移動相 B: ACN; 流速: 60 mL/分; 勾配: 7 分間で 13 B から 33 B へ; 254; 220 nm; RT: 5.70 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、5 - [4 - [[2 - (1, 1 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル]メチル]ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 22、47.8 mg、43.2%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 2.06 (3 H, t), 2.52 - 2.62 (4 H, m), 2.78 (3 H, d), 3.30 - 3.40 (4 H, m), 3.67 (2 H, s), 7.32 - 7.42 (3 H, m), 7.80 - 7.86 (2 H, m), 8.27 (1 H, d), 8.34 - 8.42 (1 H, m), 12.70 (1 H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO - d₆) -92.74; m/z (ES+) [M + H]⁺ = 443.

30

40

50

【化 6 5】



10

【 0 2 2 2】

中間体 74 : 4 - (4 , 4 - ジフルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル

DMF (20 mL) 中の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (2 . 0 g 、 10 . 04 mmol) 及び 2 - アミノ - 4 , 4 - ジフルオロブタン酸メチル塩酸塩 (中間体 73 、 2 . 0 g 、 10 . 55 mmol) に DIPEA (8 . 77 mL 、 50 . 22 mmol) を加えた。得られた混合物を 40 で 8 時間攪拌した。反応混合物を EtOAc (100 mL) で希釈し、飽和 NaH₄Cl (100 mL × 1) 及びブライン (100 mL × 4) で順に洗浄した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、蒸発させて、所望の生成物、4 - ((4 , 4 - ジフルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 74 、 2 . 5 g 、 74 . 9 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (300 MHz , DMSO - d₆) 2 . 50 - 2 . 76 (2 H , m) , 3 . 71 (3 H , s) , 3 . 82 (3 H , s) , 4 . 95 (1 H , q) , 6 . 22 (1 H , tt) , 7 . 18 (1 H , d) , 7 . 99 (1 H , dd) , 8 . 63 (1 H , d) , 8 . 66 (1 H , d) ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 333 .

20

【 0 2 2 3】

中間体 75 : 2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

20% Pd(OH)₂/C (0 . 465 g 、 0 . 66 mmol) を、水素下で、MeOH (300 mL) 中の 4 - ((4 , 4 - ジフルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル (中間体 74 、 2 . 2 g 、 6 . 62 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で 16 時間攪拌した。反応混合物を celite に通して濾過した。濾液を蒸発させて、2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 75 、 1 . 64 g 、 92 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz , DMSO - d₆) 2 . 24 - 2 . 32 (2 H , m) , 3 . 76 (3 H , s) , 4 . 10 - 4 . 18 (1 H , m) , 6 . 27 (1 H , tt) , 6 . 73 (1 H , d) , 6 . 89 (1 H , s) , 7 . 37 (1 H , d) , 7 . 44 (1 H , dd) , 10 . 58 (1 H , s) ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 271 .

30

40

【 0 2 2 4】

中間体 76 : 2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

DDQ (1 . 478 g 、 6 . 51 mmol) を、DCM (100 mL) 中の 2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 75 、 1 . 6 g 、 5 . 92 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で 3 時間攪拌した。得られた混合物を減圧下で除去して、褐色固体を得た。

50

aq NaHCO₃ 飽和溶液 (100 mL) を固体に添加し、室温で1時間攪拌した。沈殿物を濾過し、追加の aq NaHCO₃ 溶液 (30 mL x 3) ですすいだ。固体を真空下で乾燥させて、2 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 76、1.58 g、99%) をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 3.46 (2 H, td), 3.90 (3 H, s), 6.57 (1 H, t), 7.79 - 7.92 (3 H, m), 12.68 (1 H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 269.

【0225】

中間体 77: 3 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン

THF (22.37 mL、22.37 mmol) 中の水素化ジイソブチルアルミニウムの 1 M 溶液を、0 で、THF (100 mL) 中の 2 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 76、1.0 g、3.73 mmol) に少しずつ加えた。得られた混合物を室温で16時間攪拌した。反応混合物を飽和酒石酸ナトリウムカリウム水溶液 (20 mL) 及び MeOH (10 mL) で 0 にて反応停止させた。得られた混合物を1時間攪拌した。反応混合物を濾過し、THF (30 mL x 3) で洗浄した。有機層を蒸発させて、3 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (0.72 g、80%) を赤色固体 (粗生成物) として得た。粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水 (0.4% HCO₂H) 中 5 ~ 60% MeOH の溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、3 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 77、500 mg、69.4%) を赤色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO - d₆) 3.42 (2 H, td), 4.61 (2 H, s), 5.42 (1 H, brs), 6.56 (1 H, tt), 7.23 (1 H, dd), 7.32 (1 H, d), 7.71 (1 H, d), 12.55 (1 H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 241.

【0226】

中間体 78: 2 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルバルデヒド

デス・マーチンペルヨージナン (530 mg、1.25 mmol) を、DCM (5 mL) 中の 3 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 7 - (ヒドロキシメチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 77、200 mg、0.83 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物を蒸発させて、粗生成物を得た。粗生成物を逆相クロマトグラフィー、溶離液勾配 5 から 30% MeCN (水 (0.4% HCO₂H) 中) により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、2 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルバルデヒド (中間体 78、160 mg、81%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 3.47 (2 H, td), 6.58 (1 H, tt), 7.77 - 7.85 (2 H, m), 7.90 - 7.98 (1 H, m), 10.09 (1 H, s), 12.79 (1 H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 239.

【0227】

合成実施例 23: 5 - [4 - [[2 - (2, 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル]メチル]ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

10

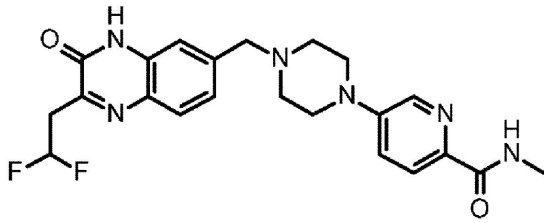
20

30

40

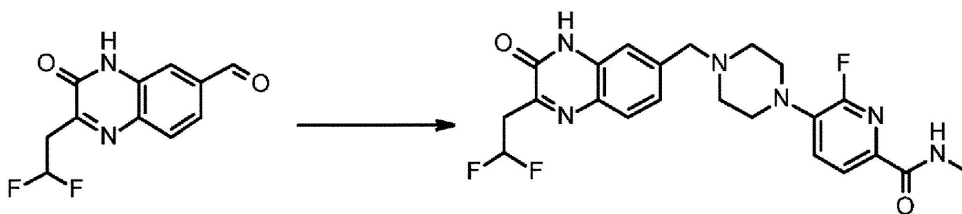
50

【化 6 6】



THF (2 mL) 中の 2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルバルデヒド (中間体 7 8 、 5 5 m g 、 0 . 2 3 m m o l) 及び N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 1 3 、 6 0 m g 、 0 . 2 3 m m o l) に、チタンイソプロポキシド (6 5 . 6 m g 、 0 . 2 3 m m o l) を加えた。得られた混合物を室温で 2 分間攪拌した。ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド (1 9 6 m g 、 0 . 9 2 m m o l) を添加した。得られた混合物を室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を MeOH (0 . 1 m L) で反応停止した。反応混合物を蒸発させて粗生成物を得、これを分取 HPLC (カラム : X B r i d g e S h i e l d R P 1 8 O B D カラム、3 0 × 1 5 0 m m 、 5 μ m ; 移動相 A : 水 (0 . 0 5 % N H ₃ H ₂ O) 、 移動相 B : A C N ; 流速 : 6 0 m L / 分 ; 勾配 : 7 分間で 1 3 B から 3 3 B へ ; 2 5 4 ; 2 2 0 n m ; R T : 5 . 7 0 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、5 - [4 - [[2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 2 3 、 8 . 7 6 m g 、 8 . 5 7 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆) 2 . 5 6 (4 H , m) , 2 . 7 8 (3 H , d) , 3 . 3 2 - 3 . 4 8 (6 H , m) , 3 . 6 4 (2 H , s) , 6 . 5 5 (1 H , t t) , 7 . 2 7 - 7 . 3 3 (2 H , m) , 7 . 3 9 (1 H , d d) , 7 . 7 3 (1 H , d) , 7 . 8 3 (1 H , d) , 8 . 2 6 (1 H , d) , 8 . 3 7 (1 H , m) , 1 2 . 4 9 (1 H , s) ; ¹⁹F NMR (3 7 6 M H z , D M S O - d ₆) - 1 1 4 . 2 9 ; m / z (E S ⁺) [M + H] ⁺ = 4 4 3 .

【化 6 7】



中間体 78

実施例 24

【 0 2 2 8】

合成実施例 2 4 : 5 - [4 - [[2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - y l] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド

10

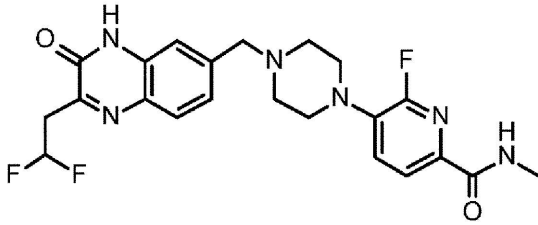
20

30

40

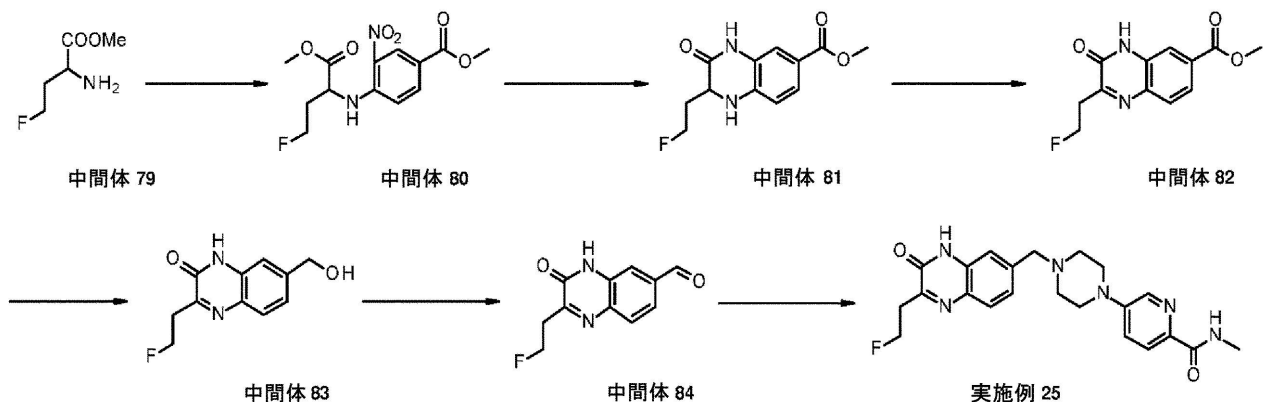
50

【化 6 8】



THF (2 mL) 中の 2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルバルデヒド (中間体 7 8 、 5 0 m g 、 0 . 2 1 m m o l) 及び 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 2 3 、 5 0 . 0 m g 、 0 . 2 1 m m o l) に、チタンイソプロポキシド (5 9 . 7 m g 、 0 . 2 1 m m o l) を加えた。得られた混合物を室温で 2 分間攪拌した。ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド (1 7 8 m g 、 0 . 8 4 m m o l) を添加した。得られた混合物を室温で 1 時間攪拌した。反応は完了した。反応混合物を MeOH (0 . 1 m L) で反応停止した。反応混合物を蒸発させて粗生成物を得た。この粗生成物を分取 HPLC (カラム : Sunfire 分取 C 1 8 カラム、3 0 x 1 5 0 、 5 μ m ; 移動相 A : 水 (0 . 1 % H C O 2 H) 、 移動相 B : A C N ; 流速 : 6 0 m L / 分 ; 勾配 : 7 分間で 2 B から 2 7 B ; 2 5 4 / 2 2 0 n m ; R T : 6 . 7 8 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、5 - [4 - [[2 - (2 , 2 - ジフルオロエチル) - 3 - オキソ - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] - 6 - フルオロ - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 2 4 、 2 1 . 7 2 m g 、 2 2 . 1 3 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d 6) 2 . 5 4 - 2 . 6 1 (4 H , m) , 2 . 7 6 (3 H , d) , 3 . 1 4 - 3 . 2 2 (4 H , m) , 3 . 4 1 (2 H , t d) , 3 . 6 4 (2 H , s) , 6 . 3 9 - 6 . 7 1 (1 H , m) , 7 . 2 6 - 7 . 3 3 (2 H , m) , 7 . 5 7 (1 H , d d) , 7 . 7 3 (1 H , d) , 7 . 8 2 - 7 . 8 6 (1 H , m) , 8 . 1 3 (0 . 1 6 H , s) , 8 . 3 7 (1 H , m) , 1 2 . 4 9 (1 H , s) ; ¹⁹F NMR (3 7 6 M H z , D M S O - d 6) - 7 2 . 5 2 , - 1 1 4 . 2 9 ; m / z (E S +) [M + H] + = 4 6 1 .

【化 6 9】



【 0 2 2 9】

中間体 8 0 : 4 - (4 - フルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イルアミノ) - 3 - ニトロ安息香酸メチル
DMF (2 0 m L) 中の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (2 . 0 g 、 1 0 . 0 4 m m o l) 及び 2 - アミノ - 4 - フルオロブタン酸メチル塩酸塩 (中間体 7 9 、 1 . 8 1 g 、 1 0 . 5 5 m m o l) に D I P E A (8 . 7 7 m L 、 5 0 . 2 2 m m o l) を加

えた。得られた混合物を40℃で8時間攪拌した。反応混合物をEtOAc(100mL)で希釈し、飽和NaH₄Cl(100mL×1)及びブライン(100mL×4)で順に洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、蒸発させて、所望の生成物、4-(4-フルオロ-1-メトキシ-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-ニトロ安息香酸メチル(中間体80、2.5g、79%)を黄色固体として得た。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) 2.25 - 2.35(1H, m), 2.35 - 2.45(1H, m), 3.71(3H, s), 3.82(3H, s), 4.36 - 4.58(1H, m), 4.56 - 4.74(1H, m), 4.84(1H, q), 7.14(1H, d), 7.99(1H, dd), 8.63(1H, d), 8.67(1H, d); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 315.

10

【0230】

中間体81: 2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル

20% Pd(OH)₂/C(0.547g、0.78mmol)を、水素下で、MeOH(300mL)中の4-(4-フルオロ-1-メトキシ-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-ニトロ安息香酸メチル(中間体80、2.45g、7.80mmol)に添加した。得られた混合物を室温で16時間攪拌した。反応は完了した。反応混合物をceliteに通して濾過した。濾液を蒸発させて、2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体81、1.9g、97%)を灰色固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 1.91 - 2.19(2H, m), 3.75(3H, s), 4.03(1H, m), 4.49 - 4.73(2H, m), 6.73(1H, d), 6.91(1H, d), 7.35(1H, d), 7.42(1H, dd), 10.46(1H, s); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 253.

20

【0231】

中間体82: 2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル

DDQ(1.83g、8.07mmol)を、DCM(100mL)中の2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体81、1.85g、7.33mmol)に添加した。得られた混合物を室温で3時間攪拌した。得られた混合物を減圧下で除去して、褐色固体を得た。aq. NaHCO₃飽和溶液(100mL)を固体に添加し、室温で1時間攪拌した。沈殿物を濾過し、追加のaq. NaHCO₃溶液(30mL×3)ですすいだ。固体を真空下で乾燥して、2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体82、1.8g、98%)を灰色固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 3.23(2H, dt), 3.89(3H, s), 4.90(2H, dt), 7.76 - 7.85(2H, m), 7.88(1H, d), 12.55(1H, s); m/z(ES⁺) [M+H]⁺ = 251.

30

【0232】

中間体83: 3-(2-フルオロエチル)-7-(ヒドロキシメチル)キノキサリン-2(1H)-オン

THF(15.99mL、15.99mmol)中の水素化ジイソブチルアルミニウムの1M溶液を、0℃で、THF(100mL)中の2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルボン酸メチル(中間体82、1.0g、4.00mmol)に少しずつ添加した。得られた混合物を室温で16時間攪拌した。反応混合物を飽和酒石酸ナトリウムカリウム水溶液(20mL)及びMeOH(10mL)で0℃にて反応停止させた。得られた混合物を1時間攪拌した。反応混合物を濾過し、THF(30mL×3)で洗浄した。有機層を蒸発させて粗生成物を得た。粗生成物を逆相クロマトグラフィーにより、水(0.4% HCO₂H)中5~60% MeOHの溶離液勾配で精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、3-(2-フルオロエチル)-7-(ヒドロ

40

50

キシメチル)キノキサリン-2(1H)-オン(中間体83、0.49g、55.2%)を褐色固体として得た。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) 3.20(2H, dt), 4.60(2H, d), 4.90(2H, dt), 5.41(1H, t), 7.21(1H, dd), 7.30(1H, d), 7.68(1H, d), 12.42(1H, s); m/z(ES+)[M+H]⁺ = 223.

【0233】

中間体84: 2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルバルデヒド

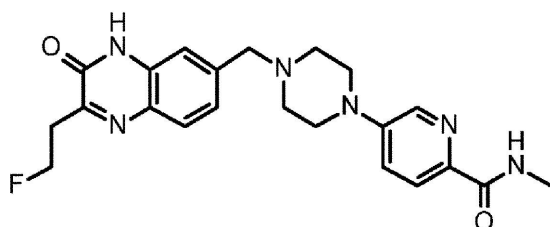
デス・マーチンペルヨージナン(229mg、0.54mmol)を、DCM(3mL)中の3-(2-フルオロエチル)-7-(ヒドロキシメチル)キノキサリン-2(1H)-オン(中間体83、100mg、0.45mmol)に添加した。得られた混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物を蒸発させて粗生成物を得た。粗生成物を逆相クロマトグラフィー、溶離液勾配5から30%MeCN(水(0.4% HCO₂H)中)により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルバルデヒド(中間体84、93mg、94%)を黄色固体として得た。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) 3.20-3.28(2H, m), 4.90(2H, dt), 7.74-7.80(2H, m), 7.91(1H, d), 10.06(1H, s), 12.66(1H, s); m/z(ES+)[M+H]⁺ = 221.

10

【0234】

合成実施例25: 5-[4-[[2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化70】



30

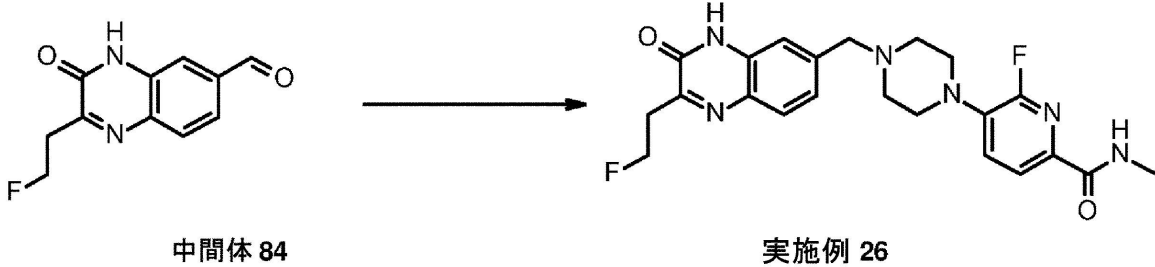
THF(3mL)中の2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルバルデヒド(中間体84、50mg、0.23mmol)及びN-メチル-5-(ピペラジン-1-イル)ピコリンアミド(中間体13、50.0mg、0.23mmol)に、チタンイソプロポキシド(64.5mg、0.23mmol)を加えた。得られた混合物を室温で2分間攪拌した。ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド(192mg、0.91mmol)を添加した。得られた混合物を室温で2時間攪拌した。これを別のバッチで繰り返し、精製のために2つのバッチを合わせた。合わせた反応混合物を分取HPLC(カラム: XBridge Prep OBD C18カラム、30×150mm、5μm; 移動相A: 水(10mmol/L NH₄HCO₃)、移動相B: ACN; 流量: 60mL/分; 勾配: 7分間で20Bから35Bへ; 254/210nm; RT: 6.38により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、5-[4-[[2-(2-フルオロメチル)-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例25、4.83mg、2.54%)を白色固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 2.53-2.59(4H, m), 2.78(3H, d), 3.17(1H, t), 3.23(1H, t), 3.32-3.38(4H, m), 3.63(2H, s), 4.83(1H, t), 4.95(1H, t), 7.25-7.32(2H, m), 7.39(1H, dd), 7.71(1H, d), 7.83(1H

40

50

, d), 8.26 (1H, d), 8.37 (1H, d), 12.36 (1H, s); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) -217.70; m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 425.

【化71】

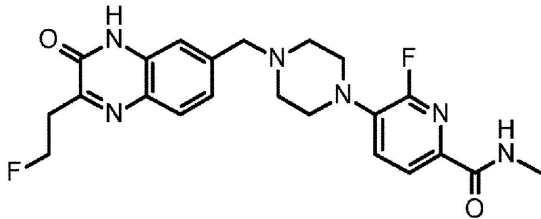


10

【0235】

合成実施例 26: 6-フルオロ-5-[4-[[2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化72】



20

THF (3 mL) 中の 2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-3,4-ジヒドロキノキサリン-6-カルバルデヒド (中間体 84、70 mg、0.32 mmol) 及び 6-フルオロ-N-メチル-5-(ピペラジン-1-イル)ピコリンアミド (中間体 23、76 mg、0.32 mmol) にチタンイソプロポキシド (90 mg、0.32 mmol) を加えた。得られた混合物を室温で2分間攪拌した。ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド (269 mg、1.27 mmol) を添加した。得られた混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物を MeOH (0.1 mL) で反応停止した。反応混合物を蒸発させて粗生成物を得た。この粗生成物を分取 HPLC (カラム: XBridge Prep OBD C18 カラム、30 x 150 mm、5 μm ; 移動相 A: 水 (10 mmol/L NH_4HCO_3)、移動相 B: ACN; 流量: 60 mL/分; 勾配: 8分間で 28 B から 35 B へ; 254/210 nm; RT: 7) により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、粗生成物を得た。粗生成物をさらに分取 HPLC (カラム: Xselect CSH OBD カラム 30 x 150 mm 5 μm , n; 移動相 A: 水 (0.1% HCO_2H)、移動相 B: ACN; 流速: 60 mL/分; 勾配: 7分間で 5 B から 20 B へ; 254; 220 nm; RT: 6.83) により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、6-フルオロ-5-[4-[[2-(2-フルオロエチル)-3-オキソ-4H-キノキサリン-6-イル]メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド (合成実施例 26、3.79 mg、2.65%) を黄色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 2.55 - 2.60 (4 H, m), 2.76 (3 H, d), 3.14 - 3.25 (6 H, m), 3.63 (2 H, s), 4.89 (2 H, dt), 7.24 - 7.31 (2 H, m), 7.57 (1 H, dd), 7.70 (1 H, d), 7.84 (1 H, d), 8.24 (0.174 H, s), 8.38 (1 H, d), 12.37 (1 H, s); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) -72.51, -217.71; (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 4

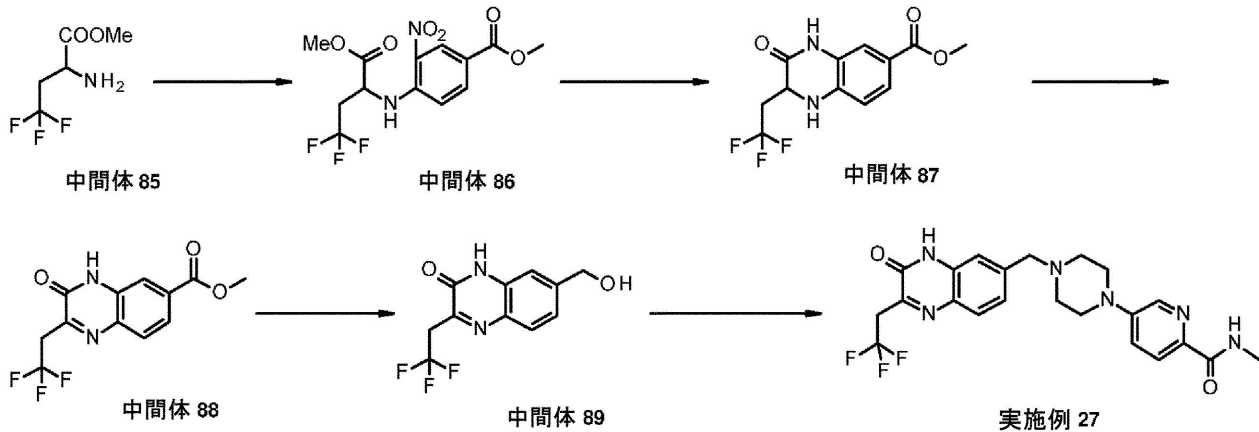
30

40

50

4 3 .

【化 7 3】



10

【 0 2 3 6】

中間体 86 : 3 - ニトロ - 4 - (4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イルアミノ) 安息香酸メチル

DMF (20 mL) 中の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (2 . 0 g 、 10 . 04 mmol) 及び 2 - アミノ - 4 , 4 , 4 - トリフルオロブタン酸メチル塩酸塩 (中間体 85 、 2 . 2 g 、 10 . 55 mmol) に DIPEA (8 . 77 mL 、 50 . 22 mmol) を加えた。得られた混合物を 50 で 10 時間攪拌した。反応混合物を EtOAc (100 mL) で希釈し、飽和 NaH₄Cl 水溶液 (100 mL × 1) 及びブライン (100 mL × 4) で順に洗浄した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥し、濾過し、蒸発させて、所望の生成物、3 - ニトロ - 4 - ((4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) 安息香酸メチル (中間体 86 、 3 . 0 g 、 85 %) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz , DMSO - d₆) 2 . 99 - 3 . 28 (2 H , m) , 3 . 73 (3 H , s) , 3 . 84 (3 H , s) , 5 . 18 (1 H , td) , 7 . 28 (1 H , d) , 8 . 01 (1 H , dd) , 8 . 65 (1 H , d) , 8 . 71 (1 H , d) ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 351 .

20

30

【 0 2 3 7】

中間体 87 : 3 - オキソ - 2 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

20% Pd(OH)₂/C (0 . 601 g 、 0 . 86 mmol) を、MeOH (300 mL) 中の 3 - ニトロ - 4 - ((4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) 安息香酸塩メチル (中間体 86 、 3 . 0 g 、 8 . 57 mmol) に水素下で添加した。得られた混合物を室温で 16 時間攪拌した。反応混合物を celite に通して濾過した。濾液を蒸発乾固して、3 - オキソ - 2 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 87 、 2 . 3 g 、 93 %) をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz , DMSO - d₆) 2 . 64 - 2 . 83 (2 H , m) , 3 . 76 (3 H , s) , 4 . 32 - 4 . 37 (1 H , m) , 6 . 78 (1 H , d) , 6 . 90 (1 H , d) , 7 . 37 (1 H , d) , 7 . 43 (1 H , dd) , 10 . 64 (1 H , s) ; m / z (ES⁺) [M + H]⁺ = 289 .

40

【 0 2 3 8】

中間体 88 : 3 - オキソ - 2 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) - 3 , 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル

DDQ (1 . 975 g 、 8 . 70 mmol) を、DCM (100 mL) 中の 3 - オキソ - 2 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロキノキサリン

50

ン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 87, 2.28 g, 7.91 mmol) に添加した。得られた混合物を室温で 3 時間攪拌した。得られた混合物を減圧下で除去して、褐色固体を得た。aq. NaHCO₃ 飽和溶液 (100 mL) を固体に添加し、室温で 1 時間攪拌した。沈殿物を濾過し、追加の aq. NaHCO₃ 溶液 (30 mL x 3) ですすいだ。固体を真空下で乾燥して、3 - オキソ - 2 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) - 3, 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 88, 2.2 g, 97%) を褐色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 3.88 - 3.98 (5H, m), 7.81 (1H, dd), 7.86 - 7.94 (2H, m), 12.75 (1H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 287.

【0239】

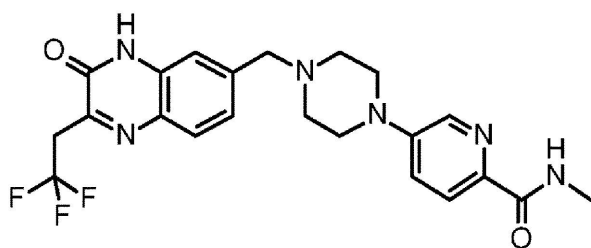
中間体 89: 7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1H) - オン

THF (20.96 mL, 20.96 mmol) 中の水素化ジイソブチルアルミニウムの 1 M 溶液を、0 °C で、THF (100 mL) 中の 3 - オキソ - 2 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) - 3, 4 - ジヒドロキノキサリン - 6 - カルボン酸メチル (中間体 88, 1.0 g, 3.49 mmol) に少しずつ加えた。得られた混合物を室温で 16 時間攪拌した。反応混合物を飽和酒石酸ナトリウムカリウム水溶液 (20 mL) 及び MeOH (10 mL) で 0 °C にて反応停止させた。得られた混合物を 1 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、THF (30 mL x 3) で洗浄した。有機層を蒸発させてオフホワイト色の固体を得、これをフラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 5 から 55% MeOH (水 (0.4% HCO₂H) 中) により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 89, 650 mg, 72.2%) を黄色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO - d₆) 3.88 (2H, q), 4.62 (2H, d), 5.45 (1H, t), 7.24 (1H, dd), 7.33 (1H, d), 7.73 (1H, d), 12.62 (1H, s); m/z (ES⁺) [M + H]⁺ = 259.

【0240】

合成実施例 27: N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) - 4H - キノキサリン - 6 - イル]メチル]ピペラジン - 1 - イル]ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 74】



7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1H) - オン (中間体 89, 50 mg, 0.19 mmol) を AcOH (2 mL, 12.15 mmol) 中の 33% HBr に添加した。得られた混合物を 80 °C で 2 時間攪拌した。反応混合物を真空下で蒸発させて、7 - (プロモメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1H) - オン (粗生成物) を得た。この生成物を、さらに精製せずに直接次の工程に使用した。DIPEA (0.169 mL, 0.97 mmol) を、NMP (2 mL) 中の 7 - (プロモメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1H) - オン (粗生成物) 及び N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 13, 50 mg, 0.23 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 °C で 1 時間攪拌した。反応混合物を濃縮し、分取 HPLC (カラム: Sunfire 分取 C18 カラム、30 x 150, 5 μm; 移動相 A: 水 (0.1

10

20

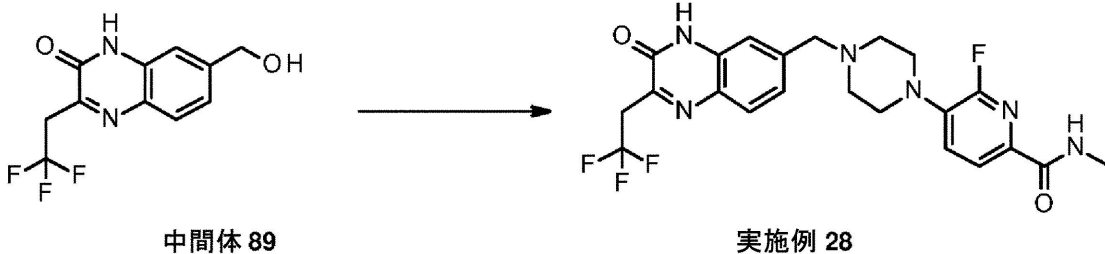
30

40

50

% HCO₂H)、移動相 B : ACN ; 流速 : 60 mL / 分 ; 勾配 : 7 分間で 10 B から 25 B へ ; 254 / 220 nm ; RT : 6.57 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 27、41.5 mg、46.6%) をオフホワイト色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 2.56 (4 H, m), 2.78 (3 H, d), 3.35 (4 H, m), 3.65 (2 H, s), 3.88 (2 H, q), 7.29 - 7.42 (3 H, m), 7.79 (2 H, m), 8.25 - 8.30 (1 H, m), 8.38 (1 H, m), 12.60 (1 H, br s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO - d₆) - 61.53 ; m / z (E S +) [M + H] + = 461 .

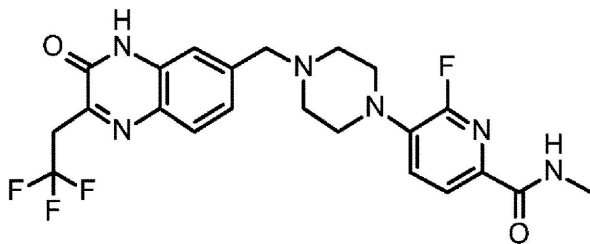
【化 7 5】



【 0 2 4 1 】

合成実施例 28 : 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド

【化 7 6】



7 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (中間体 89、60 mg、0.23 mmol) を AcOH (2 mL、12.15 mmol) 中の 33% HBr に添加した。得られた混合物を 80 で 2 時間攪拌した。反応混合物を真空下で蒸発させて、7 - (プロモメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (粗生成物) を得た。この生成物を、さらに精製せずに直接次の工程に使用した。DIPEA (0.203 mL、1.16 mmol) を、NMP (2 mL) 中の 7 - (プロモメチル) - 3 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) キノキサリン - 2 (1 H) - オン (粗生成物) 及び 6 - フルオロ - N - メチル - 5 - (ピペラジン - 1 - イル) ピコリンアミド (中間体 23、60 mg、0.25 mmol) に添加した。得られた混合物を 80 で 2 時間攪拌した。得られた混合物を分取 HPLC (カラム : Sunfire 分取 C18 カラム、30 x 150、5 μm ; 移動相 A : 水 (0.1% HCO₂H)、移動相 B : ACN ; 流速 : 60 mL / 分 ; 勾配 : 7 分間で 12 B から 30 B へ ; 254 / 220 nm ; RT : 6.25 により精製した。所望の化合物を含有する画分を蒸発乾固して、6 - フルオロ - N - メチル - 5 - [4 - [[3 - オキソ - 2 - (2, 2, 2 - トリフルオロエチル) - 4 H - キノキサリン - 6 - イル] メチル] ピペラジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - カルボキサミド (合成実施例 28、49.0 mg

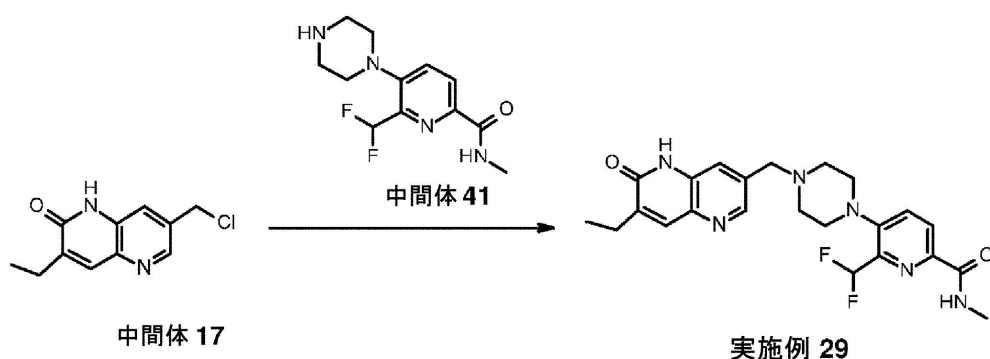
、43.3%)をオフホワイト色の固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 2.53 - 2.63 (4H, m), 2.76 (3H, d), 3.15 - 3.22 (4H, m), 3.65 (2H, s), 3.88 (2H, q), 7.28 - 7.35 (2H, m), 7.57 (1H, dd), 7.76 (1H, d), 7.84 (1H, dd), 8.17 (0.185H, s), 8.38 (1H, m), 12.57 (1H, s); $^{19}\text{F NMR}$ (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -61.54, -72.52; m/z (ES^+) $[\text{M} + \text{H}]^+ = 479$.

【0242】

合成実施例29: 6-(ジフルオロメチル)-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

10

【化77】



20

DIPEA (330 μl , 1.89 mmol)を、7-(クロロメチル)-3-エチル-1,5-ナフチルリジン-2(1H)-オン, HCl (中間体17、70 mg、0.27 mmol)、ヨウ化ナトリウム (4.05 mg、0.03 mmol) 及び6-(ジフルオロメチル)-N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、 2HCl (中間体41, 102 mg、0.30 mmol) のアセトニトリル (2.4 mL) 攪拌溶液に20 で加え、得られた溶液を50 で3時間攪拌した。溶媒を真空下で除去し、50 mLの水、続いて、3 mLのsat NaHCO_3 を添加した。混合物を酢酸エチルで抽出した。濃縮後、得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から30% MeOH (DCM 中)により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、6-(ジフルオロメチル)-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド (合成実施例29、52.0 mg、42%)を淡黄色固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1.19 (3H, t), 2.54 - 2.58 (2H, m), 2.63 (4H, br s), 2.84 (3H, d), 3.03 (4H, br t), 3.68 (2H, s), 7.14 (1H, t), 7.62 (1H, d), 7.76 (1H, s), 7.86 (1H, d), 8.10 (1H, d), 8.32 - 8.45 (2H, m), 11.86 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M} + \text{H}]^+ = 457$.

30

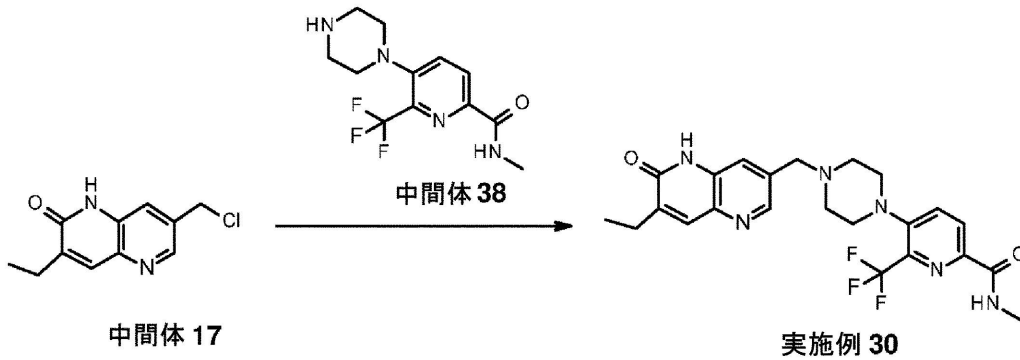
40

【0243】

合成実施例30: 5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド

50

【化 7 8】



10

DIPEA (330 μ l、1.89 mmol)を、7-(クロロメチル)-3-エチル-1,5-ナフチルリジン-2(1H)-オン、HCl (中間体 17、70 mg、0.27 mmol)、ヨウ化ナトリウム (4.05 mg、0.03 mmol) 及び N-メチル-5-ピペラジン-1-イル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体 38、107 mg、0.30 mmol) のアセトニトリル (2.4 mL) 攪拌溶液に 20 で加え、得られた溶液を 50 で 3 時間攪拌した。溶媒を真空下で除去し、50 mL の水、続いて、3 mL の sat NaHCO₃ を添加した。混合物を酢酸エチルで抽出した。濃縮後、得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配 0 から 30% MeOH (DCM 中) により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾固して、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボキサミド (合成実施例 30、58.0 mg、45%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.54-2.62 (6H, m), 2.83 (3H, d), 3.04 (4H, br t), 3.67 (2H, s), 7.62 (1H, d), 7.75 (1H, s), 8.04 (1H, d), 8.19 (1H, d), 8.31-8.48 (2H, m), 11.85 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 475.

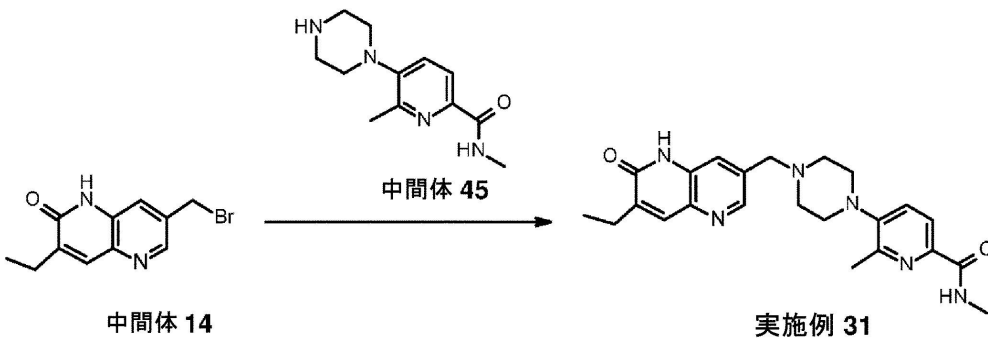
20

30

【0244】

合成実施例 31: 5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N,6-ジメチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化 7 9】



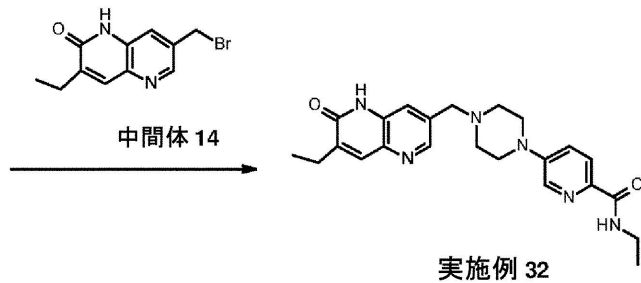
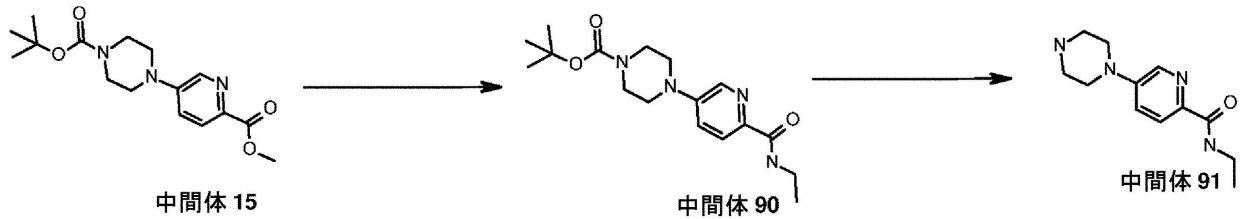
40

DIPEA (0.366 mL、2.10 mmol)を、7-(ブロモメチル)-3-エチル-1,5-ナフチルリジン-2(1H)-オン (中間体 14、80 mg、0.30 mmol) 及び N,6-ジメチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体 45、101 mg、0.33 mmol) のアセトニトリル (2 mL) 攪拌溶液に 20 で加え、得られた溶液を 70 で 3 時間攪拌した。溶媒を真空下で除去

50

し、50 mLの水、続いて、3 mLのsat NaHCO₃を添加した。混合物を酢酸エチルで抽出した。濃縮後、得られた残渣を、フラッシュシリカクロマトグラフィー、溶離液勾配0から30% MeOH (DCM中)により精製した。生成物画分を減圧下で濃縮乾燥して、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N,6-ジメチル-ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例31、36.0 mg、29%)を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.50 (3H, s), 2.54-2.57 (2H, m), 2.57-2.64 (4H, m), 2.81 (3H, d), 2.96 (4H, br s), 3.68 (2H, s), 7.49 (1H, d), 7.63 (1H, d), 7.76 (1H, s), 7.80 (1H, d), 8.35-8.47 (2H, m), 11.85 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 421.

【化80】



【0245】

中間体90: 4-[6-(エチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル

メタノール中のエタノールアミン(7M、7.78 mL、15.56 mmol)を、4-(6-(メトキシカルボニル)ピリジン-3-イル)ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル(中間体15、500 mg、1.56 mmol)の溶液に添加し、得られた溶液を50℃で18時間撹拌した。溶媒を真空下で除去し、試料をさらに乾燥させて、4-[6-(エチルカルバモイル)-3-ピリジル]ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル(中間体90、0.495 g、95%)を得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.11 (3H, t), 1.43 (9H, s), 3.27-3.32 (6H, m), 3.44-3.52 (4H, m), 7.42 (1H, dd), 7.85 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.44 (1H, br t).

【0246】

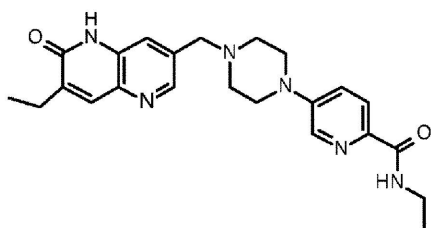
中間体91: N-エチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド

ジオキサン中のHCl(0.473 mL、15.58 mmol)を、4-(6-(エチルカルバモイル)ピリジン-3-イル)ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチル(中間体90、521 mg、1.56 mmol)のメタノール(10 mL)撹拌溶液にゆっくりと添加した。得られた溶液をrtで17時間撹拌した。反応物を濃縮し、固体を乾燥させて、N-エチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2HCl(中間体91、421 mg、88%)を得た; m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 235.

【0247】

合成実施例32：N-エチル-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド

【化81】



10

DIPEA (0.320 mL、1.83 mmol) を、7-(ブromoメチル)-3-エチル-1,5-ナフチリジン-2(1H)-オン(中間体14、70 mg、0.26 mmol) 及び N-エチル-5-ピペラジン-1-イル-ピリジン-2-カルボキサミド、2 HCl (中間体91、89 mg、0.29 mmol) のアセトニトリル(2 mL) 攪拌溶液に 20 で加え、得られた溶液を 70 で3時間攪拌した。溶媒を真空下で除去し、50 mL の水、続いて、3 mL の sat NaHCO₃ を添加した。混合物を酢酸エチルで抽出した。濃縮後、粗生成物を逆相クロマトグラフィー(カラム：Xbride C18)、溶離液勾配 20 から 50% MeCN (水(0.2% NH₄OH を含む)中)により精製した。純粋な画分を蒸発乾固して、N-エチル-5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]ピリジン-2-カルボキサミド(合成実施例32、28.0 mg、25%)を白色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.10 (3H, t), 1.19 (3H, t), 2.52 - 2.55 (2H, m), 2.55 - 2.59 (4H, m), 3.26 - 3.30 (2H, m), 3.34 (4H, br d), 3.66 (2H, s), 7.40 (1H, dd), 7.63 (1H, s), 7.76 (1H, s), 7.83 (1H, d), 8.27 (1H, d), 8.36 - 8.46 (2H, m), 11.74 - 11.94 (1H, m); m/z (ES⁺) [M]⁺ = 420.

20

30

【0248】

合成実施例4 - フォームA

合成実施例4では、メタノール/ジクロロメタン溶液を減圧下で蒸発させることにより、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミドを部分的に結晶化した固体として得た。このように得られた結晶性物質を結晶フォームAとして特徴付けた。

【0249】

結晶化度が低い場合には、20 mg の粗試料を 0.20 mL の水、メタノール、エタノール、アセトン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、酢酸エチル又は他の溶媒中に周囲温度又は 50 で1日、懸濁させることによって、結晶フォームAを得た。

40

【0250】

フォームAをXRPDにより分析し、その結果を図16Aに示し、以下の表に示す。

【0251】

50

【表 1】

フォーム A についての XRPD ピーク

角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$)	強度 (%)
8.3	100.0
12.4	30.9
19.4	26.5
20.4	25.8
26.3	19.2
21.2	17.4
20.8	14.8
22.8	14.1
16.8	14.0
10.2	13.2
18.4	10.8
11.4	9.9
28.1	8.4
18.0	8.4
25.2	8.2
24.9	6.7
16.5	6.4
17.3	5.3
22.1	4.0
29.3	3.3
24.3	2.7
30.3	2.5
38.2	2.0
33.9	1.4
14.2	1.4
13.7	1.4
33.0	1.3
36.5	1.2
39.2	1.2

10

20

30

40

【0252】

フォーム A は、CuK α 放射線を用いて測定される以下の 2 θ 値の少なくとも 1 つを示すことを特徴とする：8.3、12.4、及び 19.4 $^\circ$ 。

【0253】

フォーム A を熱技術により分析した。DSC 分析はフォーム A が 254 で開始し、255 でピークを有する融点を有することを示した。フォーム A の代表的な DSC トレースを図 16B に示す。

【0254】

生物学的アッセイ (PARP1 選択的阻害薬)

50

以下の試験手順を使用して、本明細書に記載のPARP1選択的阻害薬の阻害特性を決定することができる。

【0255】

PARP蛍光異方性結合アッセイ

組換え全長6HISタグ化PARP1タンパク質を、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで6nMに希釈し、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで希釈した2nM蛍光プローブの等量で4時間インキュベートした。プローブの最終DMSO濃度を1% (v/v) 未満に保持した。

【0256】

組換え全長PARP2タンパク質を、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで6nMに希釈し、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで希釈した2nM蛍光プローブの等量で4時間インキュベートした。プローブの最終DMSO濃度を1% (v/v) 未満に保持した。

【0257】

組換え全長PARP3タンパク質を、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで100nMに希釈し、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで希釈した6nM蛍光プローブの等量で4時間インキュベートした。プローブの最終DMSO濃度を1% (v/v) 未満に保持した。

【0258】

組換えPARP5a結合ドメインを、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで160nMに希釈し、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで希釈した6nM蛍光プローブの等量で4時間インキュベートした。プローブの最終DMSO濃度を1% (v/v) 未満に保持した。

【0259】

組換え全長GSTタグ化PARP6タンパク質を、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで160nMに希釈し、50mMトリスpH8、0.001% Triton X100、10mM MgCl₂、150mM NaClで希釈した6nM蛍光プローブの等量で4時間インキュベートした。プローブの最終DMSO濃度を1% (v/v) 未満に保持した。

【0260】

タンパク質に結合したときのプローブの蛍光異方性を、試験化合物又は溶媒対照の存在下でBMG Pherastar FS (著作権) を用いて測定し、異方性に対する効果を測定した。IC₅₀値を決定するために、異なる試験化合物濃度について阻害%値を計算し、4パラメーターロジスティックプロットにあてはめた。必要であれば、化合物K_iは、Anal. Biochem. 1980 Sep 1; 107(1): 220-39に定義されているMunson Rodbard式を使用してIC₅₀値から決定することができ、該当するPARPタンパク質に結合するプローブの既知のK_Dに基づいている。

【0261】

hERG電気生理学的アッセイ

安定にトランスフェクトされたCHO hKv11.1細胞からの電気生理学的記録(全てRTで行った)を、Nanion Syncropatch 768PEを用いて得た。試験化合物、ビヒクル又は陽性対照を、それぞれ異なる濃度で6つの化合物プレートを用いて添加して、細胞への累積投与を可能にする(10mM、3.167mM、1mM、0.3167mM、0.1mM、0.03167mM)。600 lの化合物を、90 μlの参照緩衝液(mMで、NaCl 80、KCl 4、CaCl 5、MgCl 1、NMDG Cl 60、D-グルコース水和物 5、HEPES 10(pH7.4

10

20

30

40

50

HCl、298mOsm)中に再懸濁し、最終化合物濃度を39.6 μ M、13.2 μ M、4.4 μ M、1.46 μ M、0.48 μ M、0.16 μ Mとする。各Nanion Syncropatch 768PEランについて、細胞外溶液(mMで、NaCl 80、KCl 4、CaCl 5、MgCl 1、NMDG Cl 60、D-グルコース水和物 5、HEPES 10(pH7.4 HCl、298mOsm)中)の存在下での各細胞中の電流振幅を、Syncropatch液体ハンドリングシステムを使用して行われる全ての液体添加で測定する。40 μ Lの外部溶液(mMで、HBPS、CaCl 22、MgCl 2 1(pH7.4、NaOH))を、384のウエルマルチホール培地耐性記録チップに加え、内部緩衝液(mMで、KF 130、KCl 20、MgCl 2 1、EGTA 10、HEPES 10、エスシン 25(全てSigma-Aldrich; pH7.2~7.30、10MのKOH、320mOsmを使用)をプレートの底面に灌流させる。約9に維持した20 μ Lの細胞をチップの各ウェルに1e6細胞/mlの密度で分注し、続いて20 μ Lのシールエンハンサー(mMで、NaCl 80、KCl 3、CaCl 10、HEPES 10、MgCl 1(pH7.4 NaOH))を分注する。洗浄工程を行い、40 μ Lの残留体積を残す。試験化合物の添加前に安定なベースラインを確立するために、40 μ Lの参照緩衝液を分注し、3分後に40 μ Lの除去工程を伴い、この工程を繰り返す。40 μ Lの化合物濃度1(0.16 μ M)を分注し、「リアルタイム」記録を行い、3分間曝露させ、その後、40 μ Lの除去を行う。この工程を、5つのさらなるそれに続く化合物プレートについて繰り返して、累積曲線分析を作製する。全てのデータはリークを差し引かれ、100msの遅延で-80mV 100msまで2パルスである。次いで、外向きK⁺電流は-90mVの保持電位から+60mVまでの電圧ステップによって誘発され、各パルスは15sのパルス間隔で2Hzの周波数で送達される。

【0262】

PARP増殖アッセイ(4日間化合物を投与)

DLD1及びBRCA2(-/-)DLD1細胞を、完全培地中に、それぞれ1.875E4細胞/ml及び6.25E4細胞/mlの密度に収穫し、Multidrop Combiを使用して384ウエルプレート(Greiner、Kremsmunster、Austria; 781090)に40 μ L/ウェルで播種し、次いで37、5%CO₂で終夜インキュベートした。翌日(1日目)、Multidrop Combiを使用して、sytox green(5 μ l、2 μ M)及びサポニン(10 μ l、0.25%ストック)を0日目のプレートに添加し、黒色接着蓋を使用してプレートを密封し、RTで3時間超インキュベートする。4x対物レンズを取り付けたCell Insight(Thermo Fisher)を使用して細胞を撮像した。Echo 555を使用して試験化合物を添加し、37、5%CO₂に維持されたインキュベーター内に置き、4日間インキュベートする。5日目に、sytox green(5 μ l、2 μ M)、次いで、サポニン(10 μ l、0.25%ストック)をプレートに添加し、黒色接着蓋を使用してプレートを密封し、RTで3時間超インキュベートする。4x耐物レンズを備えたCell Insightで全ての細胞を読み取る。増殖速度は、Genedataにおいて、0日目及び5日目のプレートについてCell Insightからの総細胞数出力を評価することによって決定する。

【0263】

【表 2】

合成 実施例 番号	PARP1 IC50 (μ M)	PARP2 IC50 (μ M)	PARP3 IC50 (μ M)	PARP5a IC50 (μ M)	PARP6 IC50 (μ M)	BRCA2 -/- DLD-1 (4日間 増殖)IC50 (μ M)	WT DLD-1 (4日間 増殖) IC50 (μ M)	hERG IC50 (μ M)
1	0.003	1.7	4	>100	34	0.010	>30	>40
2	0.004	0.88	9.9	20	14	0.008	>30	>40
3	0.005	1.3	12	>100	14	0.004	>30	22
4	0.004	>1.5	4.7	>100	19	>0.017	>30	>40
5	0.002	0.65	7.1	>100	23	0.006	>30	>40
6	0.003	0.84	9.3	>100	8.2	0.006	>30	>40
7	0.002	1.3	2.6	94	22	4.14		
8	0.003	11	55	93	18	0.011	>19	>40
9	0.009	22	>100	>100	47	0.010	17	>40
10	0.005	17	48	56	26	0.006	>30	>40
11	0.005	4	13	>100	22	0.184	>30	>40
12	0.004	1.6	19	89	11	0.008	>30	>40
13	0.007	8.5	30	>100	30	0.005	>26	>40
14	0.004	2.9	30	50	11	0.006	>30	>40
15	0.011	3.6	35	>100	80	0.090	>30	>40
16	0.007	3.3	74	61	31	0.018	>22	>40
17	0.007	1.7	96	>100	59	0.020	>30	>40
18	0.031	17	>100	>100	>29	4.90	>30	5.2
19	0.015	>100	>100	>100	>29	0.015	>30	21
20	0.014	28	>100	>100	>100	0.016	>24	38
21	0.004	9.5	>100	>100	33	0.016	>30	>40
22	0.006	1	2.6	26	16	0.012	>30	>40
23	0.004	4.4	60	60	>100		4.2	36
24	0.003	5.1	>100	93	>100	0.010	14	37
25	0.002	6	43	>100	>100		>25	>40
26	0.005	6.7	>100	>100	>100	0.005	23	>40
27	0.007	16	>100	71	>100	10.3	>10	26
28	0.006	14	>100	>29	>100	0.027	>30	>40
29	0.004	6.1	9.9	>100	14	0.007	>30	>40
30	0.003	7.6	4.5	>100	10	0.004	>30	>40
31	0.005	3.7	2.6	>100	28			>40
32	0.003	2.1	1.9	>100	10			>40

10

20

30

40

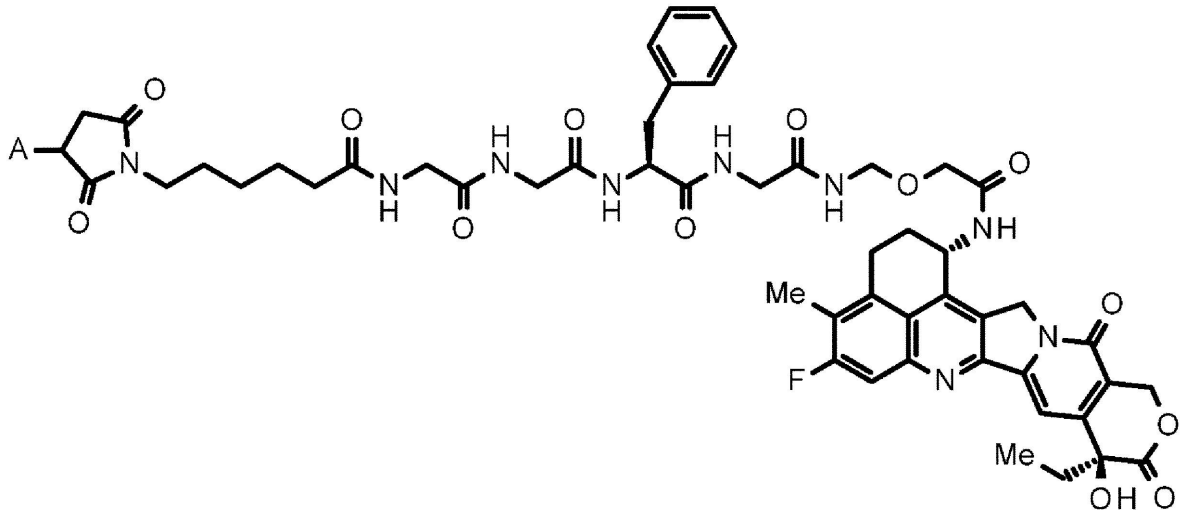
【0264】

実施例 1：抗体 - 薬物コンジュゲートの産生

国際公開第 2015/115091 号パンフレットに記載される産生方法に従い、且つ抗HER2抗体（配列番号 11 によって表されるアミノ酸配列（配列番号 1 のアミノ酸残基 1 ~ 449）からなる重鎖及び配列番号 2 の全アミノ酸残基 1 ~ 214 からなるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む抗体）を用いて、以下の式によって表される薬物リンカーが：

50

【化 8 2】



10

20

(式中、Aは、抗体に対する接続位置を表す)

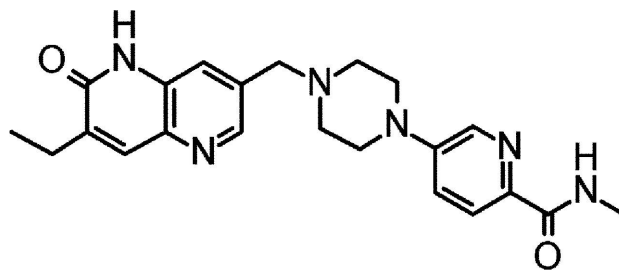
チオエーテル結合を介して抗HER2抗体にコンジュゲートされている、抗HER2抗体-薬物コンジュゲートを産生した(DS-8201:トラスツズマブ・デルクステカン)。抗体-薬物コンジュゲートのDARは7.7又は7.8である。

【0265】

実施例2: PARP1選択的阻害薬の産生

本明細書に記載される産生方法に従い、式(I)のPARP1選択的阻害薬を調製する。具体的には、5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド:

【化 8 3】



(AZD5305)

30

が、本明細書の合成実施例4(国際公開第2021/013735号パンフレットの実施例4)に従い、調製され得る。

【0266】

40

実施例3: 抗腫瘍試験

抗体-薬物コンジュゲートDS-8201(トラスツズマブ・デルクステカン(Enhertu(登録商標)))とPARP1選択的阻害薬AZD5305(5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチルリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド)との組み合わせ

方法:

ハイスループットの組み合わせスクリーンを実施し、ここでDS-8201とAZD5305(PARP1選択的阻害薬)との組み合わせを用いて、様々なHER2発現の27個の乳癌細胞株及び高HER2発現の1つの胃細胞株(表1)を治療した。

【0267】

50

【表 3】

表 1

細胞株	HER2 ステータス	癌型
NCI-N87	Amp (高)	胃癌
SKBR3	Amp (高)	乳癌
AU565	Amp (高)	乳癌
HCC1569	Amp (高)	乳癌
HCC1187	低	乳癌
HCC1954	Amp (高)	乳癌
KPL-4	Amp (高)	乳癌
HCC38	Amp (低)	乳癌
MCF7 (ER+)	Del (null)	乳癌
MDA-MB-157	低	乳癌
HCC1419	Amp (高)	乳癌
ZR-75-30	Amp (高)	乳癌
ZR-75-1 (ER+)	低	乳癌
HCC1395	低	乳癌
BT474 (ER+)	Amp (高)	乳癌
EFM-19 (ER+)	低	乳癌
HCC1937	null	乳癌
BT-549	Del(null)	乳癌
MDA-MB-453	低	乳癌
MDA-MB-361	Amp (低)	乳癌
CAL-51	低	乳癌
MDA-MB-468	Amp(低)	乳癌
T-47D (ER+)	低	乳癌
HCC1143	低	乳癌
JIMT1	Amp (低)	乳癌
CAMA1 (ER+)	低	乳癌
MDA-MB-231	低	乳癌
HCC70	低	乳癌

10

20

30

40

【0268】

スクリーンの表示値は、6×6用量応答マトリックスとして実施された7日間のCell Titer - Glo細胞生存度アッセイであった(DS-8201に対しては5ポイントの対数連続希釈、及びAZD5305に対しては半対数連続希釈)。最大濃度は、AZD5305については3µMであり、DS-8201については10µg/mlであった。加えて、トラスツズマブ及びエキサテカン(DNAトポイソメラーゼI阻害薬)もまた、AZD5305と並行してスクリーニングされ、効果的な組み合わせの作用機序のデコンボリューションを支援する。組み合わせ活性を、Emax及びLoewe相乗効果スコアの組み合わせに基づいて評価した。

50

【 0 2 6 9 】

結果：

結果を、HER2高細胞株（KPL4、NCI-N87、SKBR3、HCC1954、HCC1569、AU565）については、図12A及び12B並びに表2に示し、HER2低細胞株（MDA-MB-468、MDA-MB-157、HCC1187、T47D、HCC38）については、図13A及び13B並びに表3に示す。

【 0 2 7 0 】

図12A及び13Aは、測定された細胞生存度シグナルのマトリックスを示す。X軸は薬物A（DS-8201）を表し、Y軸は薬物B（AZD5305）を表す。ボックス内の値は、7日目における、DMSO対照と比較しての、薬物A+Bで処理された細胞の比を表す。全ての値は、0日目における細胞生存値に対して正規化される。0~100の値は、増殖阻害のパーセンテージを表し、100を超える値は細胞死を表す。

10

【 0 2 7 1 】

図12B及び13Bは、Loewe過剰マトリックスを示す。ボックス内の値は、Loewe加法性モデルにより算出された過剰値を表す。

【 0 2 7 2 】

表2及び表3は、HSA相乗効果スコア及びLoewe加法性スコアを示す。

【 0 2 7 3 】

【表4】

表2

細胞株	KPL4	NCI-N87	SKBR3	HCC1954	HCC1569	AU565
HSA 相乗効果スコア	68.2	70.95	20.33	9.9	38.6	32.77
Loewe 相乗効果スコア	68.2	70.95	20.33	9.9	38.6	32.77

20

30

【 0 2 7 4 】

【表5】

表3

細胞株	MDA-MB-468	MDA-MB-157	HCC1187	T47D	HCC38
HSA 相乗効果スコア	11.6	7.04	52.7	12.33	8.9
Loewe 相乗効果スコア	11.6	6.5	52.7	12.33	8.8

40

【 0 2 7 5 】

注：

Loewe用量相加性は、2つの化合物が同じ機序によって同じ分子標的に対して作用した場合、予期される応答を予測する。これは、化合物間のゼロ相互作用の推定に基づいて相加性を計算し、用量反応相関の性質に依存しない。

50

【0276】

HSA (最高単剤) [Berenbaum 1989] は、その対応する濃度における2つの単一化合物の効果のより高い方を定量化する。組み合わせた効果を、その組み合わせで用いられる濃度における各単剤の効果と比較する。最高単剤効果を超える過剰は、協同作用を示す。HSAは、化合物が同じ標的に作用することを必要としない。

【0277】

過剰マトリックス：濃度マトリックス中の各ウェルに関して、測定値又は適合値は、各濃度ペアに関して予測される非相乗値と比較される。この予測値は、選択されたモデルにより決定される。予測値と実測値との差違は、相乗作用又は拮抗作用を示し得、過剰マトリックスで示されている。過剰マトリックス値は、過剰量及び相乗効果スコアの組み合わせスコアにまとめられている。

10

【0278】

図14は、AZD5305と組み合わせられたDS-8201で処置された様々な細胞株における組み合わせEmax及びLoewe相乗効果スコアを示す。

【0279】

図12A及び12B並びに表2から分かる通り、AZD5305はDS-8201と相乗的に相互作用しており、また、HER2+乳癌及び胃癌細胞株中で細胞死を増加させた。図13A及び13B並びに表3から分かる通り、AZD5305はDS-8201と相乗的に相互作用しており、また、Emax (3 µMのAZD5305及び10 µg/mlのDS-8201)で、HER2低乳癌細胞株で細胞死を増加させた。図14から分かる通り、HER2低乳癌細胞株を含む11個の細胞株において、AZD5305と組み合わせられたDS-8201による処置は、高い組み合わせEmax (>100) 及び高いLoewe相乗効果スコア (>5) をもたらした。

20

【0280】

実施例4：抗腫瘍試験

抗体-薬物コンジュゲートDS-8201 (トラスツズマブ・デルクステカン (Enhertu (登録商標))) とPARP1選択的阻害薬AZD5305 (5-[4-[(7-エチル-6-オキソ-5H-1,5-ナフチリジン-3-イル)メチル]ピペラジン-1-イル]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド)との組み合わせ

方法：

30

このアッセイの期間中 (4~8日間) に線形増殖を可能にするのに最適な密度で、それらのそれぞれの条件で増殖させた細胞を、96ウェルプレートに蒔種した。播種の直後、200 µL/ウェルの総容積の指定された化合物を細胞に投与し、インキュベーター内に置いた。各組み合わせに対する6x8濃度応答マトリックスとして組み合わせを実施した。エンドポイントで、細胞を、室温の2% PFA中に20分間固定した。治療開始時点の細胞数を得るために、各実験で1つの追加のプレートを用いて、結合させた細胞の後ろに固定した。続いて、細胞をPBS中0.5%のTriton-X100中で10分間透過処理した。PBS洗浄後、細胞をRTのPBS中5%のFBS中で1時間ブロックし、4の5% FBS + 0.05% triton中で終夜、一次抗体と共にインキュベートした。PBS中で3回洗浄した後、細胞を、室温のHoechst 33258を含む5% FBS + 0.05% triton中で1時間、二次抗体と共にインキュベートした。PBS中で3回洗浄した後、10倍対物レンズ及び9フィールド/ウェルを備えるCellinsight機器で細胞を走査した。核Hoechst染色に基づく細胞数についてのColombusを使用して、画像を解析した。総細胞数/ウェルを使用して、溶媒コントロールと比較した各ウェルでの相対増殖を算出した。相乗効果スコアを算出するために、増殖阻害データを、CombeneFitソフトウェアを使用して解析した (DiVeroli, G.Y., et al., CombeneFit: an interactive platform for the analysis and visualization of drug combinations. *Bioinformatics*, 2016, 32(18): p. 2866-8)。

40

50

【 0 2 8 1 】

結果：

HER2 高細胞株 (K P L 4) 及び 2 つの HER2 低細胞株 (J I M T 1、M D A - M B - 4 6 8) についての結果を、図 1 5 A 及び 1 5 B に示す。

【 0 2 8 2 】

図 1 5 A は、細胞数マトリックスを示し、この中で Y 軸は薬物 A (D S - 8 2 0 1) を表し、X 軸は薬物 B (A Z D 5 3 0 5) を表す。ボックス内の値は、相対的総細胞 (核) 数を D M S O ビヒクル対照のパーセンテージとして表す。

【 0 2 8 3 】

図 1 5 B はマトリックスを示し、その中で Y 軸は薬物 A (D S - 8 2 0 1) を表し、X 軸は薬物 B (A Z D 5 3 0 5) を表し、ボックス内の値は算出された L o e w e 相乗効果スコアを表す。

【 0 2 8 4 】

実施例 3 及び 4 の結果は、インビトロでの高及び低い HER2 発現細胞株の両方で、A Z D 5 3 0 5 を用いた選択的 P A R 1 阻害は、D S - 8 2 0 1 の抗腫瘍効力を増強させることを示す。実施例 3 において、D S - 8 2 0 1 と組み合わせた A Z D 5 3 0 5 は、5 つの HER2 + 乳癌細胞株、1 つの HER2 + 胃癌細胞株 (図 1 2 A、1 2 B、1 4 並びに表 2) 及び 5 つの HER2 低乳癌細胞株 (図 1 3 A、1 3 B 及び 1 4、並びに表 3) において組み合わせの有益性を示した。実施例 4 において、D S - 8 2 0 1 と組み合わせた A Z D 5 3 0 5 は、HER2 - 高 (K P L 4) 及び HER2 - 低 (J I M T - 1、M D A - M B - 4 6 8) 細胞株で相乗的活性を示した (図 1 5 A 及び 1 5 B) 。

【 0 2 8 5 】

実施例 5：抗腫瘍試験 - インビボ

抗体 - 薬物コンジュゲート D S - 8 2 0 1 (トラスツズマブ・デルクステカン (E n h e r t u (登録商標))) と P A R P 1 選択的阻害薬 A Z D 5 3 0 5 (5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5 H - 1 , 5 - ナフチリジン - 3 - イル) メチル] ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド) との組み合わせ

方法：

5 ~ 8 週齢の雌のヌードマウス (C h a r l e s R i v e r) を使用し、7 日間の順化後に、この試験に参加させた。この雌のヌードマウスの脇腹に、 1×10^7 個の N C I - N 8 7 腫瘍細胞 (M a t r i g e l 中に 1 : 1) を皮下移植した。腫瘍が約 150 mm^3 に達した場合に、同様のサイズの腫瘍を、表 4 に示す処置群に無作為に割り当てた。

【 0 2 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 6】

表 4

処置	用量	投与の経路	投与スケジュール (28日)
ビヒクル	----	IV + PO	単回投与 + QD
DS-8201	3 mg/kg	IV	単回投与
DS-8201	1 mg/kg	IV	単回投与
AZD5305	1 mg/kg	PO	QD
DS-8201 + AZD5305	1 mg/kg又は 3mg/kg + 1 mg/kg	IV + PO	単回投与+ QD

PO: 経口(per os)投与

QD: 1日1回(quaque die)投与

10

【0287】

各動物に対する化合物の用量を、投薬日の個々の体重に基づいて計算した。DS-8201及びAZD5305は同じ日に投薬し、DS-8201は、AZD5305のPO投与から約1時間後に投与した。DS-8201を1日目に1mg/kg又は3mg/kgの単回用量として投与し、AZD5305を1mg/kgのQDで28日間投与した。投与期間は28日間であった。

20

【0288】

DS-8201の3mg/kg及び1mg/kgでの配合

DS-8201の投薬溶液を、DS-8201原液(20.1mg/ml)を25mMのヒスチジン緩衝液、9%スクロース(pH5.5)中に希釈して0.6mg/mlとすることにより、投与日に調製し、またそれぞれ3mg/kg及び1mg/kgの投与溶液の場合には0.2mg/mlにした。各投与溶液を、ピペットを使用して十分に混合した後、5ml/kgの投与量でのIV注射により投与した。

30

【0289】

AZD5305の1mg/kgでの配合

1mg/kgの投薬溶液を配合するために、濃度0.1mg/mlのAZD5305を調製し、PO投薬用に10ml/kgの投薬容量を得た。合計で49mlのビヒクルを必要とした。15µlの容量の1M HClを化合物に添加し、ボルテックスすることによって十分に混合した。1mlの容量の滅菌水をエッペンドルフチューブに添加し、ペレットペッセルを使用して化合物と十分に混合した。化合物を約5分間超音波処理し、次いで、内容物をガラス瓶に移した。1mlの容量の滅菌水を用いて、エッペンドルフチューブを濯ぎ、次いで、あらゆる残存する化合物もガラス瓶に移した。滅菌水の残量(37.2ml; 合計で総ビヒクル容量の80%)をガラス瓶に添加し、電磁攪拌器を用いて十分に混合した。投与溶液のpHを、pH3.74に調整し、次いで、残りのビヒクル(9.772mlの滅菌水)をガラス瓶に添加し、電磁攪拌機を使用して十分に混合した。投与溶液を遮光し、投与のために少量ずつを毎日取り出した。全ての残りの投与溶液を、最長7日間冷蔵庫で保管した。1mg/kgのAZD5305の最終投与マトリックスは、透明な溶液であった。

40

【0290】

測定

腫瘍増殖阻害(TGI)を以下の通りに算出した:

$$TGI\% = \{ 1 - (MTV \text{ 処置} / MTV \text{ 対照}) \} * 100$$

50

式中、MTV = 平均腫瘍体積。

【0291】

ビヒクル対照と比較して、最終測定日での ($\log(\text{相対腫瘍体積}) = \log(\text{最終体積} / \text{開始体積})$) の片側 t 検定を使用して、統計学的有意性を評価した。

【0292】

結果

DS-8201 若しくは AZD5305 単独による処置、又は AZD5305 と組み合わせた DS-8201 による処置についての腫瘍体積を、図 17 に示す。データは、処置群に関する経時的な腫瘍体積の変化を表す。図 17 中の点線は、投与期間の終了を表す。全用量及びスケジュールの情報に関しては、上記の表 4 を参照されたい。示される値は、平均 ± SEM であり；ビヒクルで治療したマウスは、初期に $n = 10$ であり、他のすべての治療群は $n = 8$ である。

10

【0293】

NCI-N87 異種移植片における、DS-8201 若しくは AZD5305 単独による処置、又は AZD5305 と組み合わせた DS-8201 による処置後の TGI 応答 (41 日目の TGI%) を、表 5 に示す。

【0294】

【表 7】

表 5

処置群	41 日目の TGI%	ビヒクルに対する p 値	有意性
DS-8201 3 mg/kg	62%	0.00071	***
DS-8201 1 mg/kg	25%	0.025	†ns
AZD5305 1 mg/kg	40%	<0.0001	†ns
DS-8201 1 mg/kg + AZD5305 1 mg/kg	55%	<0.0001	**
DS-8201 3 mg/kg + AZD5305 1 mg/kg	90%	<0.0001	****

20

30

†有意ではない

【0295】

3 mg/kg の DS-8201 での単剤療法は、治療後 41 日目で 62% の TGI 値を示した。1 mg/kg にて、DS-8201 は、処置後 41 日目に、25% という TGI を示した。AZD5305 単剤療法は、処置後 41 日目に、40% という TGI に達した。1 mg/kg における AZD5305 と DS-8201 との組み合わせ処置は、処置後 41 日目に、55% の TGI をもたらした。より高い 3 mg/kg 用量の DS-8201 と AZD5305 とを用いた組み合わせ療法は、治療後 41 日目で 90% の有意な TGI を達成し、いずれの対応する単剤療法よりも良好な応答を示した。

40

【0296】

処置群は、一般的に、忍容性が良好であり (> 15% の体重減少のために、2 匹の異常な動物の研究を中止)、全ての処置群の平均体重は、研究中に安定したままであった。

50

【 0 2 9 7 】

実施例 6 :

HER2 高、HER2 低、及びHER2 変異体発現細胞株におけるインビトロでの抗体 - 薬物コンジュゲートDS - 8201 (トラスツズマブ・デルクステカン (Enher tu (登録商標)))と、PARP1 選択的阻害薬AZD5305 (5 - [4 - [(7 - エチル - 6 - オキソ - 5H - 1, 5 - ナフチリジン - 3 - イル)メチル]ピペラジン - 1 - イル] - N - メチル - ピリジン - 2 - カルボキサミド)の組み合わせ投与

方法 :

ハイスループット組み合わせスクリーンを実行し、この中で様々なHER2 発現を有する4つの肺癌細胞株(表6)及びHER2 変異体癌細胞株(表7)を、DS - 8201とAZD5305との組み合わせを用いてスクリーニングした。

10

【 0 2 9 8 】

【表 8】

表6

細胞株	フローサイトメトリーによる細胞当たりのHER2 受容体	IHC Dako H2L H-スコア	癌型
HCC1171	146050±654	200	NSCLC 腺癌
NCIH1573	51090±165	100	NSCLC 腺癌
NCIH2170	2472499±21851	300	NSCLC 扁平上皮
Calu6	12935±200	0	NSCLC 腺癌

20

【 0 2 9 9 】

【表 9】

表7

細胞株	フローサイトメトリーによる細胞当たりのHER2 受容体	HER2 変異	癌型
5637	27497±14	p.S310F	尿路癌

30

【 0 3 0 0 】

スクリーンの表示値は、6×6用量応答マトリックスとして実施された7日間のCell Titer - Glo細胞生存度アッセイであった(DS - 8201及びAZD5305は、各組み合わせについて半対数連続希釈であった)。最大濃度は、AZD5305については3.33又は10µMであって、DS - 8201については100µg/mlであった。組み合わせ活性を、Emax及びLoewe相乗効果スコアの組み合わせに基づいて評価した。

40

【 0 3 0 1 】

結果 :

HER2 +、HER2 低、HER2 低/null NSCLC細胞株(HCC1171、NCIH1573、NCIH2170、Calu6)についての結果を、図18A、18B及び18C、並びに表8に示し、HER2 変異体細胞株(5637)についての結果を、図19A、19B及び19C、並びに表9に示す。

50

【0302】

図18A及び19Aは、測定された細胞生存度シグナルのマトリックスを示す。X軸は薬物A(DS-8201)を表し、Y軸は薬物B(AZD5305)を表す。ボックス内の値は、7日目における、DMSO対照と比較しての、薬物A+Bで処理された細胞の比を表す。全ての値は、0日目における細胞生存値に対して正規化される。0~100の値は、増殖阻害のパーセンテージを表し、100を超える値は細胞死を表す。

【0303】

図18B及び19Bは、Loewe過剰マトリックスを示す。ボックス内の値は、Loewe加法性モデルにより算出された過剰値を表す。

【0304】

図18C及び19Cは、HSA過剰マトリックスを示す。ボックス内の値は、HSA(最高単剤)モデルによって計算された過剰値を表す。

【0305】

表8及び表9は、HSA相乗効果スコア及びLoewe加法性スコアを示す。

【0306】

【表10】

表8

細胞株 (NSCLC)	HCC1171	NCIH1573	NCIH2170	Calu6
HSA 相乗効果スコア	6.2	6.14	33.99	10.55
Loewe 相乗効果スコア	6.2	5.4	33.99	10.55

【0307】

【表11】

表9

細胞株 (尿路癌)	5637
HSA 相乗効果スコア	11.2
Loewe 相乗効果スコア	11.2

【0308】

図18A、18B及び18C、並びに表8から分かる通り、AZD5305はDS-8201と相乗的に相互作用しており、また、HER2+細胞株NCIH2170では、Emax(0.125µMのAZD5305及び100µg/mlのDS-8201)で、HER2低細胞株HCC1171では、Emax(0.125µMのAZD5305及び100µg/mlのDS-8201)で、及びHER2低/null細胞株Calu6では、Emax(1.25µMのAZD5305及び100µg/mlのDS-8201)で細胞死を増加させた。単剤活性が不在であるか、又は低い場合であっても、組み合わせ活性が観察された。細胞株NCIH1573では相乗効果が観察されたが、細胞死はなかった。

【0309】

図19A、19B及び19C、並びに表9から分かる通り、AZD5305はDS-8201と相乗的に相互作用しており、また、HER2変異体細胞株5637では、Emax(1.25µMのAZD5305及び100µg/mlのDS-8201)で細胞死を

10

20

30

40

50

増加させた。組み合わせ活性は、A Z D 5 3 0 5 が単剤として活性でない場合であっても観察された。

【 0 3 1 0 】

上述の明細書は、当業者が実施形態を実施することを可能にするのに十分であると考えられる。上記の説明及び実施例は、特定の実施形態を詳細に説明し、本発明者らにより企図される最良の形式を記載する。しかしながら、上記の記載がどれほど詳細に文章で記述されていようと、実施形態は多くの方法で実行することが可能であり、特許請求の範囲がその任意の均等物を含むことは理解されたい。

【 0 3 1 1 】

配列表のフリーテキスト

配列番号 1 - 抗 H E R 2 抗体の重鎖のアミノ鎖配列

配列番号 2 - 抗 H E R 2 抗体の軽鎖のアミノ鎖配列

配列番号 3 - 重鎖 C D R H 1 のアミノ酸配列 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 2 6 ~ 3 3]

配列番号 4 - 重鎖 C D R H 2 のアミノ酸配列 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 5 1 ~ 5 8]

配列番号 5 - 重鎖 C D R H 3 のアミノ酸配列 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 9 7 ~ 1 0 9]

配列番号 6 - 軽鎖 C D R L 1 のアミノ酸配列 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 2 7 ~ 3 2]

配列番号 7 - 軽鎖 C D R L 2 のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列 (S A S) [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 5 0 ~ 5 6]

配列番号 8 - 軽鎖 C D R L 3 のアミノ酸配列 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 8 9 ~ 9 7]

配列番号 9 - 重鎖可変領域のアミノ酸配列 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 1 ~ 1 2 0]

配列番号 1 0 - 軽鎖可変領域のアミノ酸配列 [= 配列番号 2 のアミノ酸残基 1 ~ 1 0 7]

配列番号 1 1 - 重鎖のアミノ酸配列 [= 配列番号 1 のアミノ酸残基 1 ~ 4 4 9]

【 図 面 】

【 図 1 】

【 図 2 】

配列番号1-抗HER2抗体の重鎖のアミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVR
QAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT
CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号2-抗HER2抗体の軽鎖のアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQ
KPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQHYTTPTTFGQGTKEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【 図 3 】

配列番号3-重鎖CDRH1のアミノ酸配列
GFNIKDTY

【 図 4 】

配列番号4-重鎖CDRH2のアミノ酸配列
IYPTNGYT

10

【 図 5 】

配列番号5-重鎖CDRH3のアミノ酸配列
SRWGGDGFYAMDY

【 図 6 】

配列番号6-軽鎖CDRL1のアミノ酸配列
QDVNTA

20

【 図 7 】

配列番号7-軽鎖CDRL2のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列(SAS)
SASFLYS

【 図 8 】

配列番号8-軽鎖CDRL3のアミノ酸配列
QQHYTTPPT

30

40

50

【 9 】

配列番号9-重鎖可変領域のアミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQP...LVTVSS

【 10 】

配列番号10-軽鎖可変領域のアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASV...SLQPEDFATYYC...

10

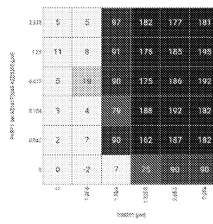
【 11 】

配列番号11-重鎖のアミノ酸配列

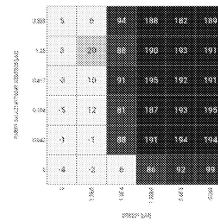
EVQLVESGGGLVQP...RWQQGNVFC...

【 12 A 】

KPL4(HER2高)

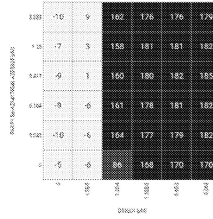


NCI-N87(HER2高)

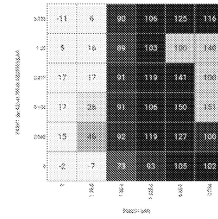


20

SKBR3(HER2高)

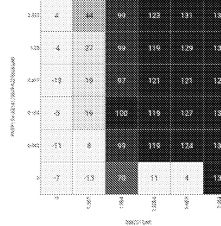


HCC1954(HER2高)

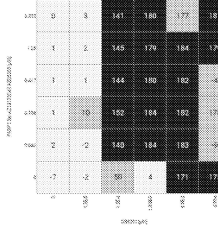


30

HCC1569(HER2高)



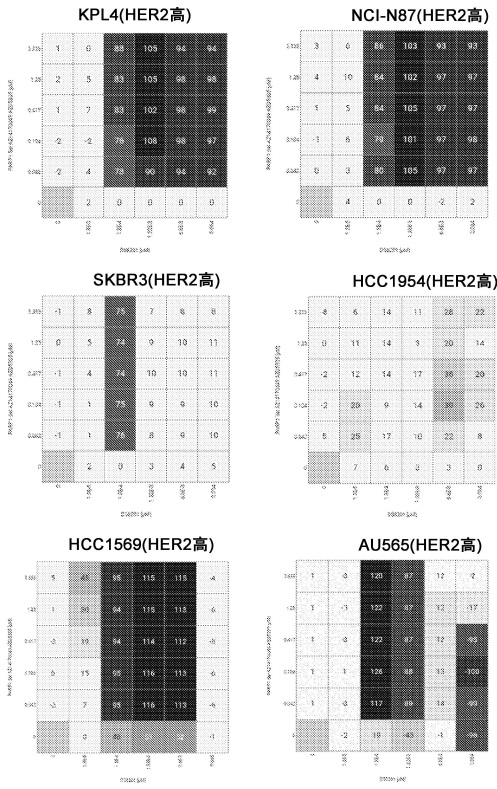
AU565(HER2高)



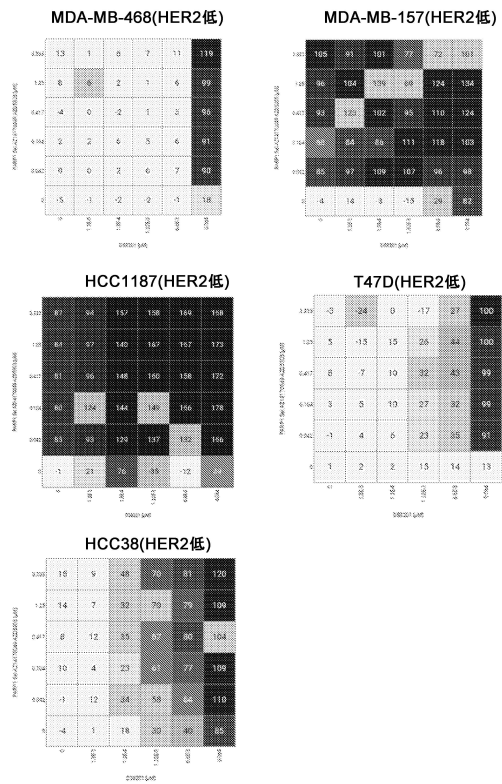
40

50

【 図 1 2 B 】



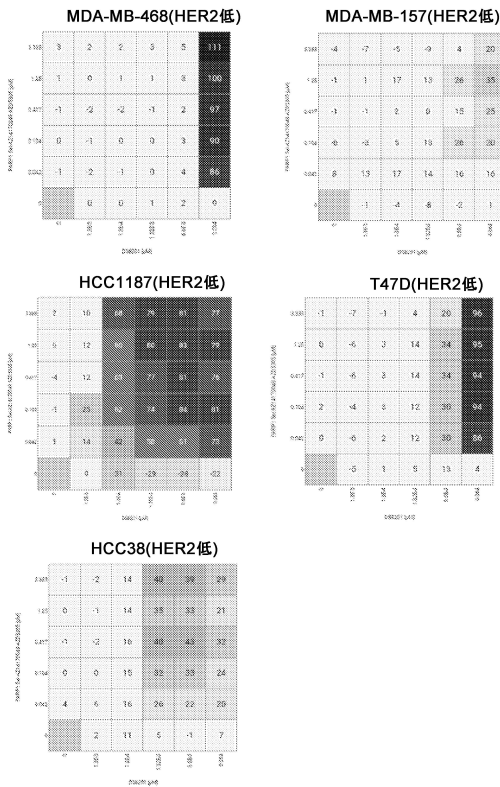
【 図 1 3 A 】



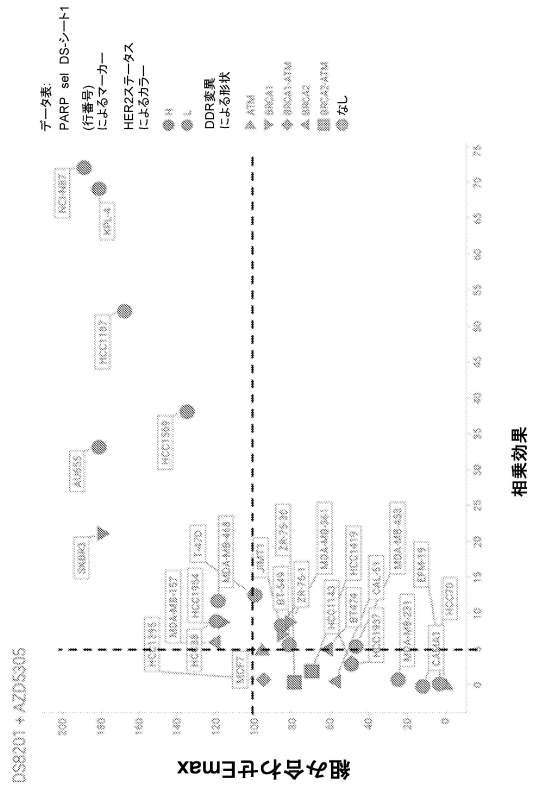
10

20

【 図 1 3 B 】



【 図 1 4 】

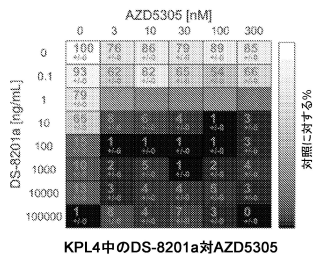


30

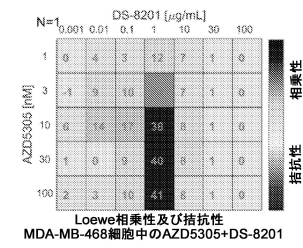
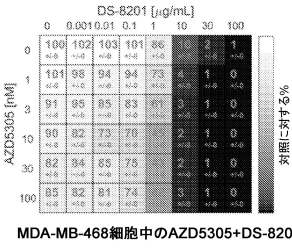
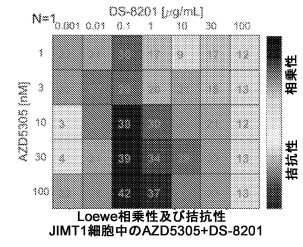
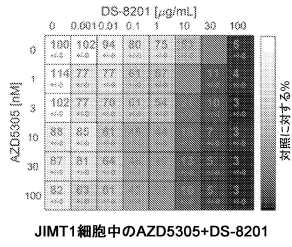
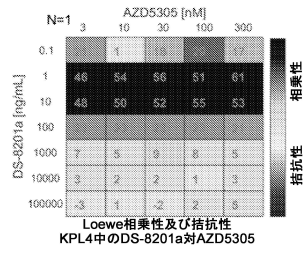
40

50

【 図 1 5 A 】



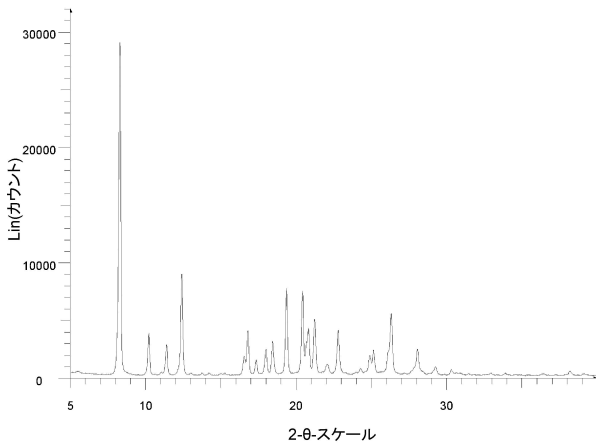
【 図 1 5 B 】



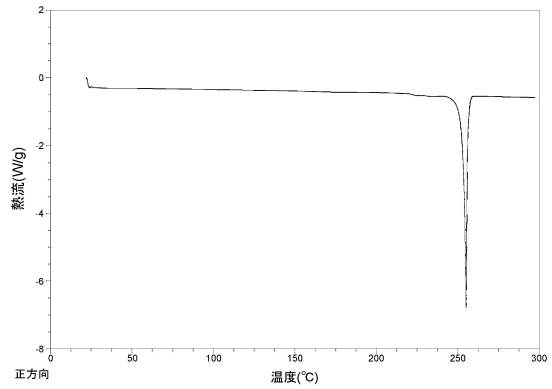
10

20

【 図 1 6 A 】



【 図 1 6 B 】

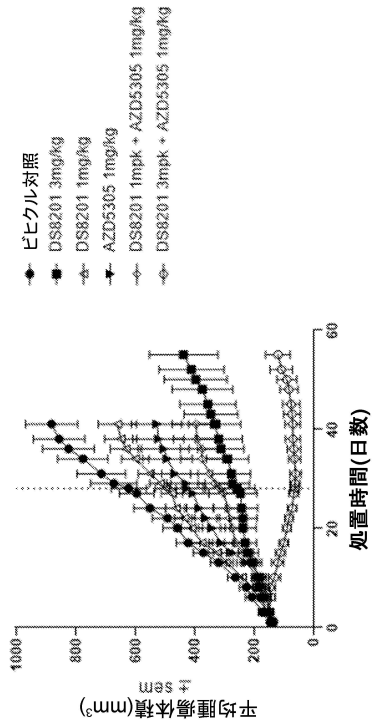


30

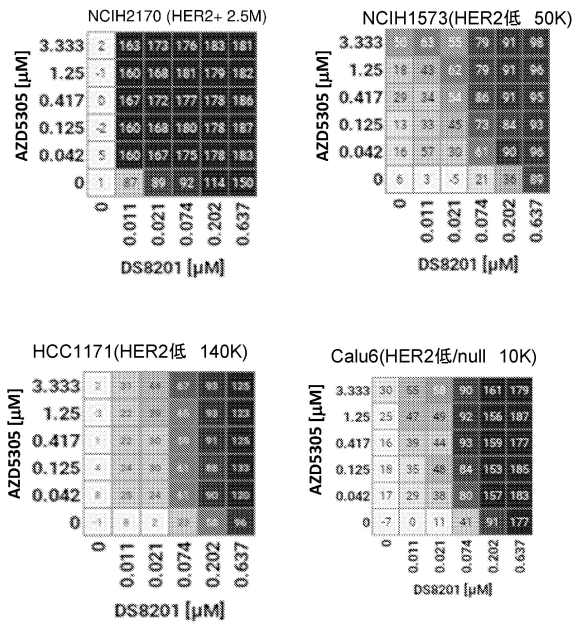
40

50

【 図 1 7 】



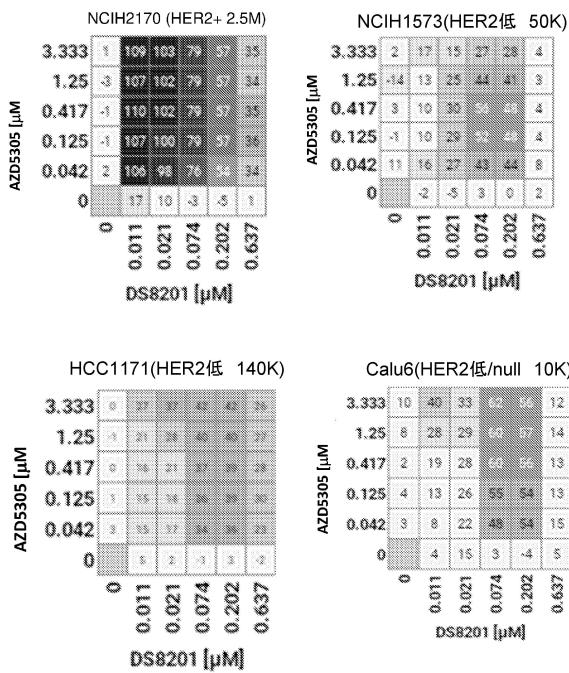
【 図 1 8 A 】



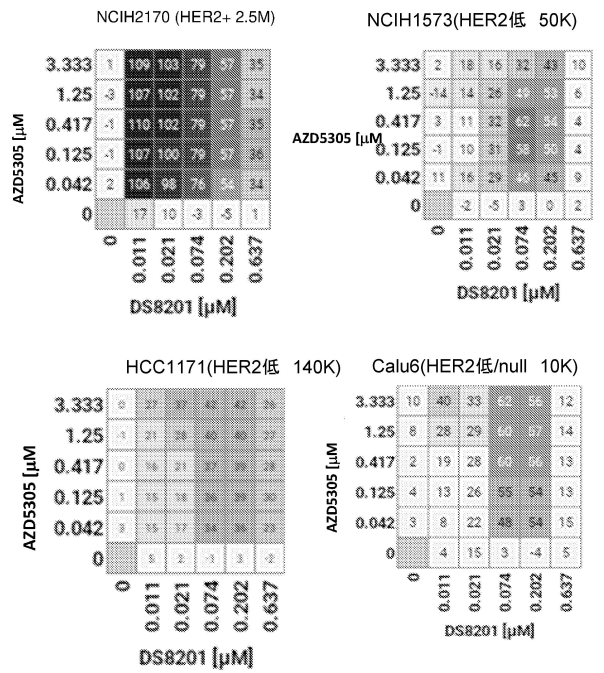
10

20

【 図 1 8 B 】



【 図 1 8 C 】



30

40

50

【 19 A - 19 C 】

19 A

10	17	56	79	99	128	115
3.333	-3	22	31	78	133	128
1.25	-2	17	55	83	130	135
0.417	3	6	47	95	136	145
0.125	8	31	38	64	110	115
0	9	-1	-7	23	68	112
	0	0.011	0.021	0.064	0.192	0.64
		DS8201 [μM]				

19 B

10	1	47	78	76	71	5
3.333	-4	13	43	65	73	12
1.25	-5	11	39	69	74	13
0.417	-3	3	27	72	79	17
0.125	-1	10	23	44	48	7
0		-3	-4	1	13	2
		0.011	0.021	0.064	0.192	0.64
		DS8201 [μM]				

19 C

10	1	47	78	76	71	5
3.333	-4	13	43	65	73	12
1.25	-5	11	39	69	74	13
0.417	-3	3	27	72	79	17
0.125	-1	10	23	44	48	7
0		-3	-4	1	13	2
		0.011	0.021	0.064	0.192	0.64
		DS8201 [μM]				

10

20

【 配列表 】

2023545096000001.app

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2021/059232

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K31/496	A61K31/498
	A61P35/02	C07D401/12
		C07D471/04
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C07D C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2017/274093 A1 (GOLDENBERG DAVID M [US] ET AL) 28 September 2017 (2017-09-28) claims 1, 2, 10, 20, 23, 29, 31 page 1, right-hand column, paragraph 1 abstract the whole document	1-89
Y	WO 2020/022363 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD [JP]) 30 January 2020 (2020-01-30) claims 1, 22-28 abstract the whole document	1-89
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
6 December 2021		23/12/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Langer, Oliver

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2021/059232
--

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y, P	WO 2021/013735 A1 (ASTRAZENECA AB [SE]) 28 January 2021 (2021-01-28) cited in the application example 4 table 2 claims 14,15 claims 1-13,16-37 abstract the whole document -----	1-89

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/059232

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. forming part of the international application as filed:

in the form of an Annex C/ST.25 text file.

on paper or in the form of an image file.

b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2021/059232

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2017274093	A1	28-09-2017	US 2016296633 A1	13-10-2016
			US 2017274093 A1	28-09-2017
			US 2019209703 A1	11-07-2019

WO 2020022363	A1	30-01-2020	AU 2019311557 A1	04-02-2021
			BR 112021001194 A2	27-04-2021
			CA 3107417 A1	30-01-2020
			CN 112566942 A	26-03-2021
			EP 3828206 A1	02-06-2021
			JP WO2020022363 A1	02-08-2021
			KR 20210038904 A	08-04-2021
			SG 11202100653Y A	25-02-2021
			TW 202019972 A	01-06-2020
			US 2021283269 A1	16-09-2021
			WO 2020022363 A1	30-01-2020

WO 2021013735	A1	28-01-2021	TW 202116750 A	01-05-2021
			US 2021040084 A1	11-02-2021
			UY 38793 A	26-02-2021
			WO 2021013735 A1	28-01-2021

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395	T
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
	C 0 7 K 16/30	

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,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. TRITON

- (74)代理人 100173185
弁理士 森田 裕
- (74)代理人 100162503
弁理士 今野 智介
- (74)代理人 100144794
弁理士 大木 信人
- (74)代理人 100204582
弁理士 大栗 由美
- (72)発明者 メッテタル 2世, ジェローム トーマス
アメリカ合衆国 1 9 8 5 0 - 5 4 3 7 デラウェア州, ウィルミントン, コンコード パイク 1 8 0 0, ピー・オー・ボックス 1 5 4 3 7, アストラゼネカ ファーマシューティカルズ エルピー内
- (72)発明者 アスタネ, アザデー チェラグチ バシ
イギリス国 シービー2 0 エーエー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, フランシス クリック アヴェニュー 1, ケンブリッジ バイオメディカル キャンパス, アストラゼネカ ユーケー リミテッド内
- (72)発明者 レオ, エリザベッタ
イギリス国 シービー2 0 エーエー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, フランシス クリック アヴェニュー 1, ケンブリッジ バイオメディカル キャンパス, アストラゼネカ ユーケー リミテッド内
- (72)発明者 ウォレス, ヤン
イギリス国 シービー2 0 エーエー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, フランシス クリック アヴェニュー 1, ケンブリッジ バイオメディカル キャンパス, アストラゼネカ ユーケー リミテッド内

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC27 EE41 EE59
4C085 AA26 BB01 CC23 EE03
4C086 AA01 AA02 CB09 GA08 GA12 MA02 MA04 NA05 ZB26 ZB27
ZC75
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA40 CA40 DA75 DA76 EA20

【要約の続き】

【選択図】なし