

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7320823号
(P7320823)

(45)発行日 令和5年8月4日(2023.8.4)

(24)登録日 令和5年7月27日(2023.7.27)

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 D 475/00 (2006.01)	C 0 7 D 475/00		C S P
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519		
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00		
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1	
請求項の数 6 (全79頁)			

(21)出願番号	特願2018-513714(P2018-513714)	(73)特許権者	522478732 シャンハイ イディエン ファーマシュー ティカル テクノロジー ディベロップメ ント カンパニー, リミテッド 中華人民共和国、シャンハイ、ミンハン ディストリクト、ズーハイ ロード ナン バー 1 8 3 5、ビルディング 1 2、1 エフ、ルーム 1 0 2
(86)(22)出願日	平成28年5月30日(2016.5.30)	(74)代理人	100102842 弁理士 葛和 清司
(65)公表番号	特表2018-516278(P2018-516278 A)	(72)発明者	リー, ホンリン 中華人民共和国 2 0 0 2 3 7 上海 ス ーファイ ディストリクト、メイロン ロー ド ナンバー 1 3 0
(43)公表日	平成30年6月21日(2018.6.21)	(72)発明者	スー, ユーファン
(86)国際出願番号	PCT/CN2016/083945		
(87)国際公開番号	WO2016/192609		
(87)国際公開日	平成28年12月8日(2016.12.8)		
審査請求日	令和1年5月28日(2019.5.28)		
審判番号	不服2021-7197(P2021-7197/J1)		
審判請求日	令和3年6月2日(2021.6.2)		
(31)優先権主張番号	201510289399.4		
(32)優先日	平成27年5月29日(2015.5.29)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		

最終頁に続く

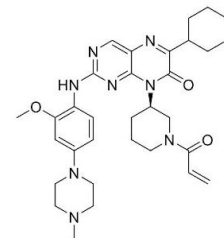
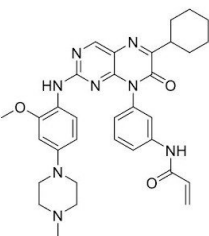
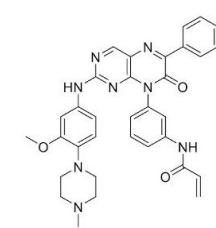
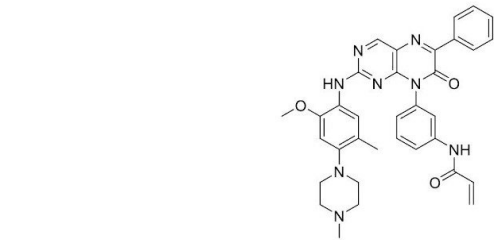
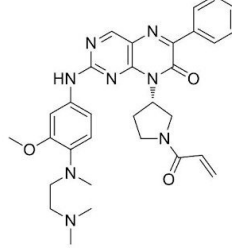
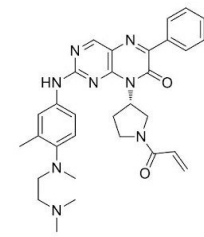
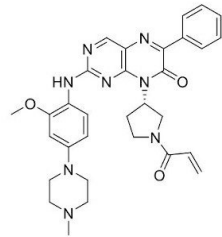
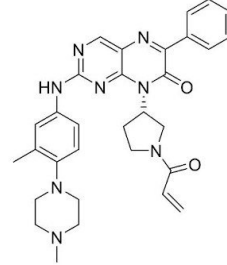
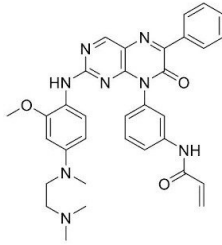
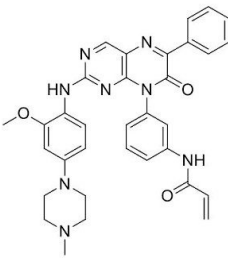
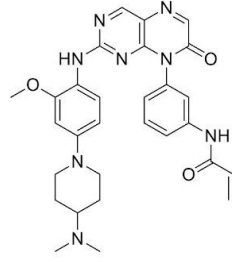
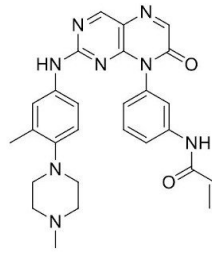
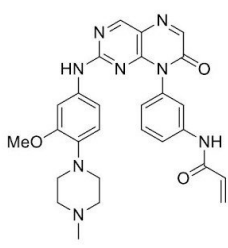
(54)【発明の名称】 プテリジノン誘導体のEGFR阻害剤としての使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の群から選ばれる化合物またはその薬学的に許容される塩。

【化 1】



10

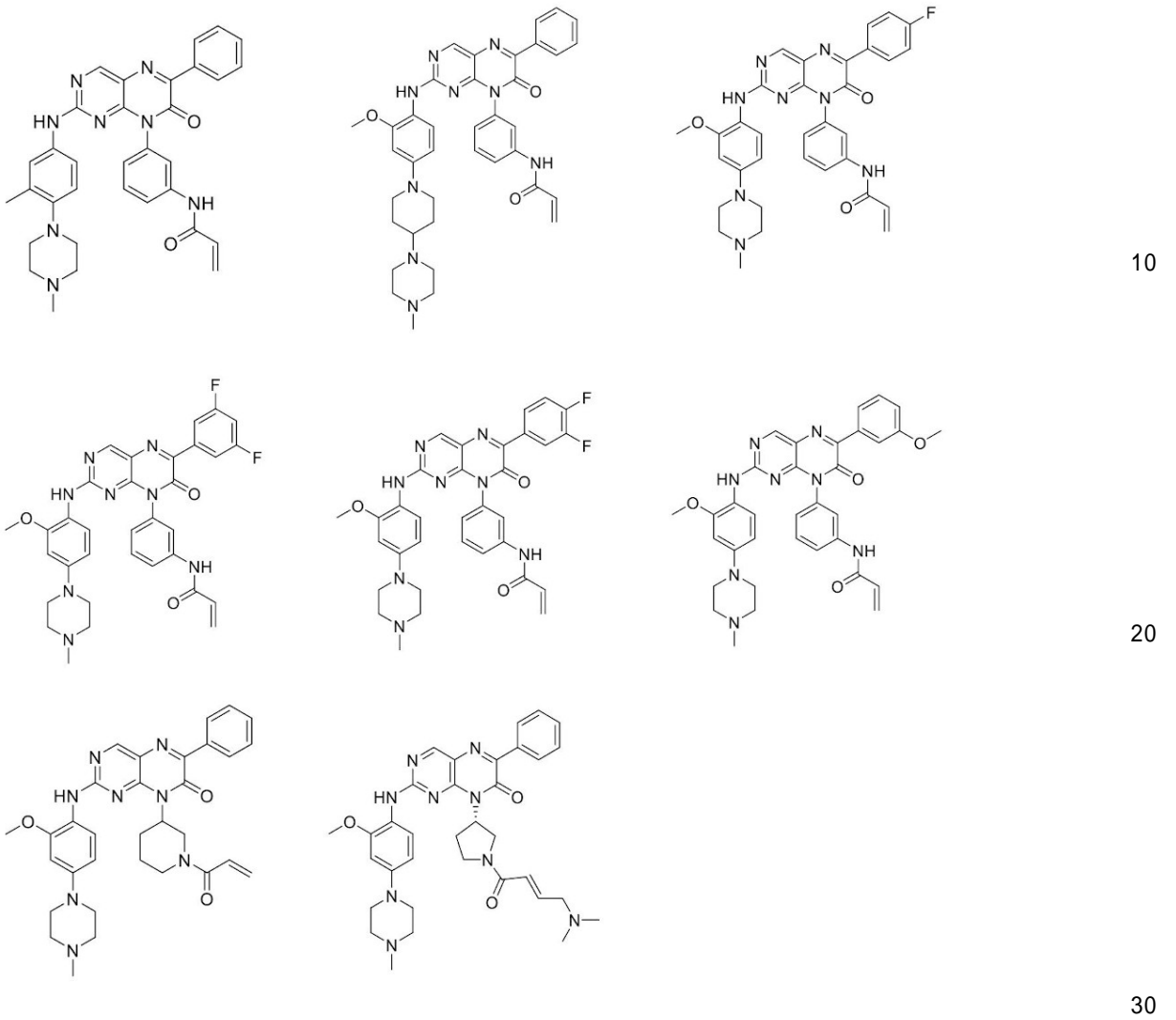
20

30

40

50

【化2】



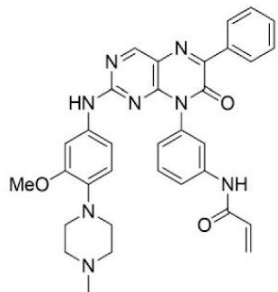
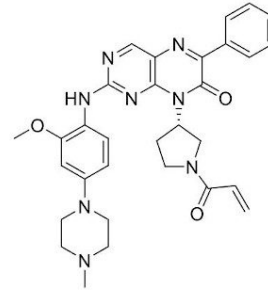
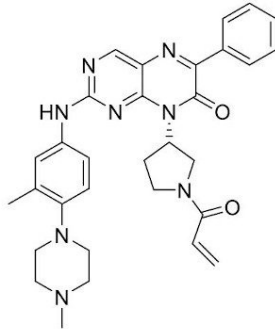
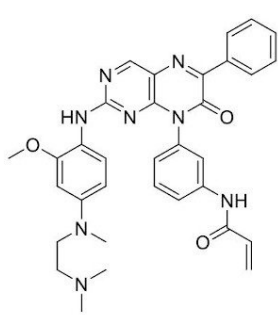
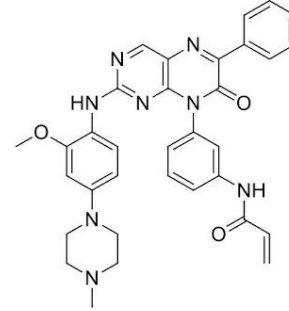
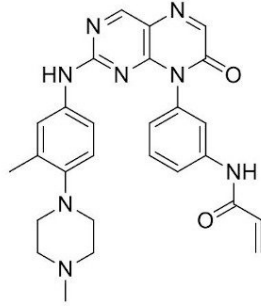
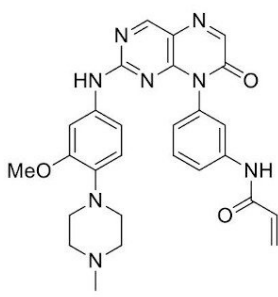
【請求項2】

以下の群から選ばれる化合物またはその薬学的に許容される塩。

40

50

【化3】



10

20

30

【請求項3】

請求項1または2に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む薬物組成物。

【請求項4】

EGFRを介する疾患を治療または予防する薬物の製造、あるいはEGFRを抑制する薬物の製造における請求項1または2に記載の化合物の使用。

【請求項5】

前記EGFRを介する疾患は癌であることを特徴とする請求項4に記載の使用。

【請求項6】

前記癌は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、乳癌、前立腺癌、神経膠細胞腫、卵巣癌、頭頸部扁平上皮癌、子宮頸癌、食道癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓腺癌、結腸癌、皮膚癌、白血病、リンパ腫、胃癌、多発性骨髄腫および固形腫瘍からなる群から選ばれることを特徴とする請求項5に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、薬物化学の分野に関し、具体的に、新規なプテリジノン誘導体、その合成方

40

50

法および上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ (epidermal growth factor receptor tyrosine kinase、EGFR) 阻害剤としてEGFRを介する疾患 (腫瘍) の治療におけるその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

癌は、悪性腫瘍とも呼ばれ、細胞の異常増殖および転移を特徴とする一種の疾患で、高発症率と高死亡率という特徴を有し、人類の健康を脅かし、死亡につながる悪性疾患の一つである。研究データによると、2008年に全世界で癌患者が1270万人で、中では死亡人数が700万人超と高かったという。また、全世界の20%の新規発症の腫瘍患者は中国で、24%の腫瘍による死亡患者は中国である。有効な予防対策、またはより優れた治療方案がなければ、2030年に、世界中で毎日2600万の新規癌症例が現れ、癌による死亡人数が1700万人に達すると予想される。既知の癌のうち、肺癌は現在世界中で発症率と死亡率が最も高い悪性腫瘍で、中でも、非小細胞肺癌 (NSCLC) は肺癌患者の80%以上を占める。世界保健機関 (WHO) の予測では、2025年まで、我が国で毎年の新規肺癌症例は100万超とされている。肺癌と診断されると、患者にはわずかな生存の見込みしかなく、5年生存率は15%未満である。

10

【0003】

20世紀80年代から、腫瘍分子生物学の研究の進展につれ、腫瘍の発生、進行の分子機序が段々明らかになってきた。多くの癌を誘発する要素のうち、癌細胞における遺伝子の突然変異による高発現の一部のタンパク質キナーゼはそのシグナル伝達経路の異常を引き起こす要因の一つである。プロテインチロシンキナーゼはシグナル伝達過程における重要な因子で、一連の細胞活動に関与し、細胞の生長、分化、増殖と密接に関連する。

20

【0004】

その触媒によってATPの γ -リン酸基が多くの重要なタンパク質のチロシン残基に転移され、フェノール性ヒドロキシ基がリン酸化することで、シグナルが伝達される。そのため、選択的なタンパク質キナーゼ阻害剤を發展させてこれらのシグナル経路の異常による疾患を遮断または調節することは、すでに抗腫瘍薬の開発の一つの有効な研究の策とされている。多くのチロシンキナーゼのうち、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ (epidermal growth factor receptor tyrosine kinase、EGFR) は不可欠な要員である。EGFRは1186個のアミノ酸からなり、分子量が170-kDaの膜貫通糖タンパク質をコードする。EGFRは、いくつかのシグナル伝達経路を仲介し、細胞外シグナルを細胞内に伝達し、正常細胞と腫瘍細胞の増殖、分化およびアポトーシスのいずれにも重要な調節作用を発揮する (Cell, 2000, 100, 113-127)。

30

【0005】

EGFRは、多くの正常上皮組織 (たとえば皮膚や毛嚢) の構成性発現成分で、大半の固形腫瘍において、EGFRが過発現または高発現することがある。たとえば、肺癌において、EGFRの発現率は40~80%に達する。そのため、選択的にEGFRを抑制してそれを介するシグナル伝達経路を干渉することで、肺癌を治療する目的が実現され、肺癌の標的治療に実行可能な道が開いた。

【0006】

40

臨床治療において、従来の放射線治療、化学治療と合わせ、EGFR標的薬物、たとえばゲフィチニブ (Iressa)、エルロチニブ (Tarceva) などを第一線の薬物とするのは、肺癌治療で非常に有効であると証明された。しかし、臨床実践から、非小細胞肺癌の患者の多くは、ゲフィチニブ (Gefitinib) またはエルロチニブ (Erlotinib) による治療を繰り返したら、6~12か月内で獲得性薬剤耐性が現れることが示された。中では、約50%のケースの薬物耐性は、EGFRキナーゼのドメインにおける一つのアミノ酸残基の突然変異 (790番目のトレオニン残基のメチオニンへの突然変異、T790M) に関係する (The New England Journal of Medicine, 2005, 352, 786-792)。

【0007】

T790M突然変異によって阻害剤とEGFRが結合する時に立体障害が生じるかEGFRとAT

50

Pの親和力が増加することで、このような可逆的な結合の競合阻害剤の抗癌効果が大幅に弱くなる。薬剤耐性の発生は患者の薬物に対する感受性を低下させるだけでなく、腫瘍患者のQOLも大幅に低下させる。T790M突然変異にによる薬物耐性を克服するために、一連の不可逆的なATP競合阻害剤（例えばCI-1033、HKI-272、PF00299804など）が既に臨床研究の段階に入っている。

【0008】

不可逆的阻害剤は、マイケル受容体の断片を含有し、EGFRのATP結合サイトの一つの保存アミノ酸残基（Cys797）と共有結合を形成することで、可逆的阻害剤よりも強いEGFR結合親和力が得られる。それにしても、このような薬物は野生型と突然変異型EGFRに対する選択性が劣るため、その最大耐量（MTD）が低く、臨床実験の効果は顕著ではない。また、一部の化合物は悪くない活性を有するが、その薬らしさが良くないため、これらの臨床応用が制限される。

10

【0009】

そのため、選択的にT790M突然変異を抑制し、臨床で薬剤耐性のEGFR標的薬物の研究・開発は重要な臨床上の意義と応用の将来性がある。

【発明の概要】

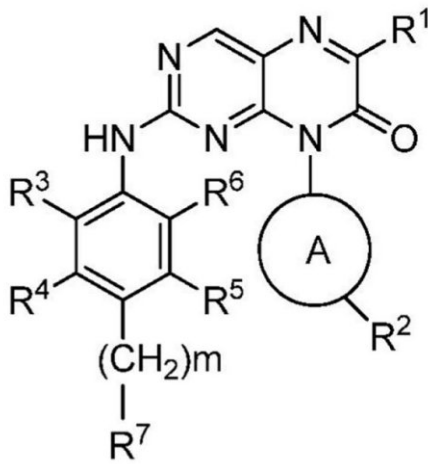
【0010】

本発明の目的は、選択的にEGFRのT790M突然変異を抑制することができ、かつ優れた薬らしさを有する、新規な構造のプテリジノン誘導体を提供することにある。

第一の側面で、本発明は式Iで表される化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

20

【化1】



30

（式中において、

R¹は独立に水素、置換または無置換のC₁-C₁₀アルキル基、C₂-C₆アルケニル基、C₂-C₆アルキニル基、任意に置換されてもよいC₃-C₈シクロアルキル基、置換または無置換のアリール基、置換または無置換のベンジル基、置換または無置換の複素環基、置換または無置換の芳香族複素環基から選ばれる。

40

Aは2価の基-(CR_aR_b)_n-A'-であるか存在しない。ここで、R_aおよびR_bは独立にH、C₁-3アルキル基、ハロゲンから選ばれ、nは0~3の整数である。

【0011】

A'はベンゼン環、5員または6員の複素環または6-C₈シクロアルキル基である。

R²は独立に水素、無置換のC₁-C₄アルキル基またはハロゲン置換のC₁-C₄アルキル基、ニトロ基、アミノ基、ハロゲン、C₁-C₆アルコキシ基、任意に置換されてもよいアシルオキシ基、任意に置換されてもよいアシルアミノ基、任意に置換されてもよいアシル基から選ばれる。ここで、A'がベンゼン環である場合、Rはメタ位置換である。

mは0~3の整数である。

【0012】

50

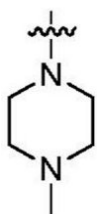
R^7 は独立に置換または無置換の NH_2 、置換または無置換の複素環基、置換または無置換の芳香族複素環基、置換または無置換の C_1-C_{10} アルキル基から選ばれる。

R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 は独立にH、ハロゲン、置換または無置換の C_1-C_6 (好ましくは C_1-C_3)アルコキシ基、置換または無置換の C_1-C_6 (好ましくは C_1-C_3)アルキル基、 NR_cR_d から選ばれる。ここで、 R_c および R_d はそれぞれ独立に C_1-C_3 アルキル基から選ばれる。

ここで、 R^1 がHでかつ m が0である場合、 R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 が同時にHであることはない。

R^1 がHで、 m が0で、 A' がベンゼン環でかつ \bar{R} が

【化1-1】



10

である場合、 R^3 および R^6 は一方がメトキシ基で、もう一方がHであることはない。))

【0013】

具体的な実施形態において、 R^1 は独立に水素、置換または無置換の C_1-C_{10} アルキル基(好ましくは C_1-C_6 アルキル基)、置換または無置換のフェニル基、置換または無置換のベンジル基、任意に置換されてもよい C_3-C_8 シクロアルキル基から選ばれ、

20

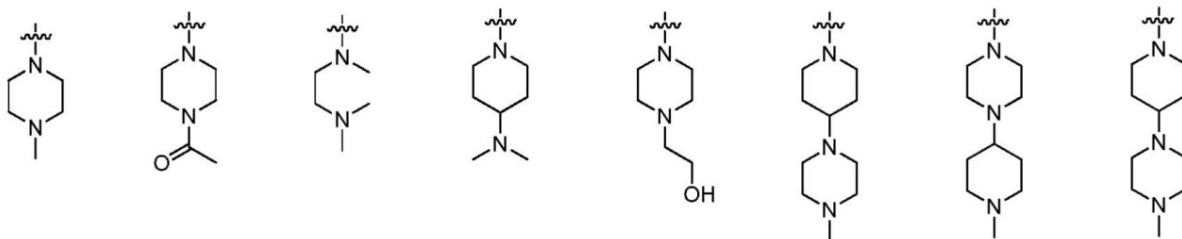
【0014】

A' はベンゼン環、5員または6員の窒素含有複素環で、

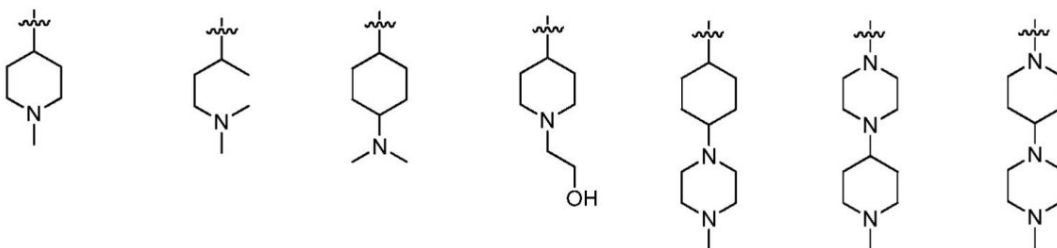
R^2 は独立に C_1-C_3 アルキル基、 C_2-C_4 アルケニル基で置換されたアシルアミノ基、置換または無置換の C_2-C_4 アルケニル基で置換されたアシル基から選ばれ、

R^7 は、

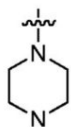
【化2】



30



40



から選ばれ、

R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 は独立にH、置換または無置換の C_1-C_6 (好ましくは C_1-C_3)アルコキシ基、置換または無置換の C_1-C_6 (好ましくは C_1-C_3)アルキル基から選ばれる。

【0015】

具体的な実施形態において、

50

R^1 は独立に水素、置換または無置換の C_1-C_6 アルキル基、あるいは置換または無置換のフェニル基から選ばれ、

$n=0$ で、

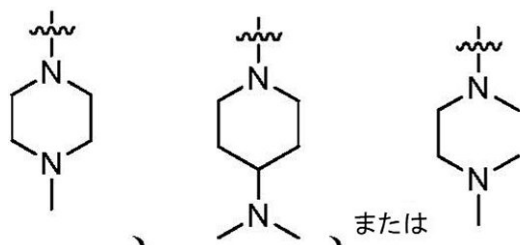
A' はベンゼン環、あるいは5員の窒素含有複素環で、

R^2 は独立に C_2-C_4 アルケニル基で置換されたアシルアミノ基、あるいは C_2-C_4 アルケニル基で置換されたアシル基から選ばれ、

m は0~2の整数で、

R^7 は、

【化3】



10

から選ばれ、

R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 は独立にH、置換または無置換の C_1-C_3 アルコキシ基、置換または無置換の C_1-C_3 アルキル基から選ばれる。

20

【0016】

第二の側面で、本発明は、

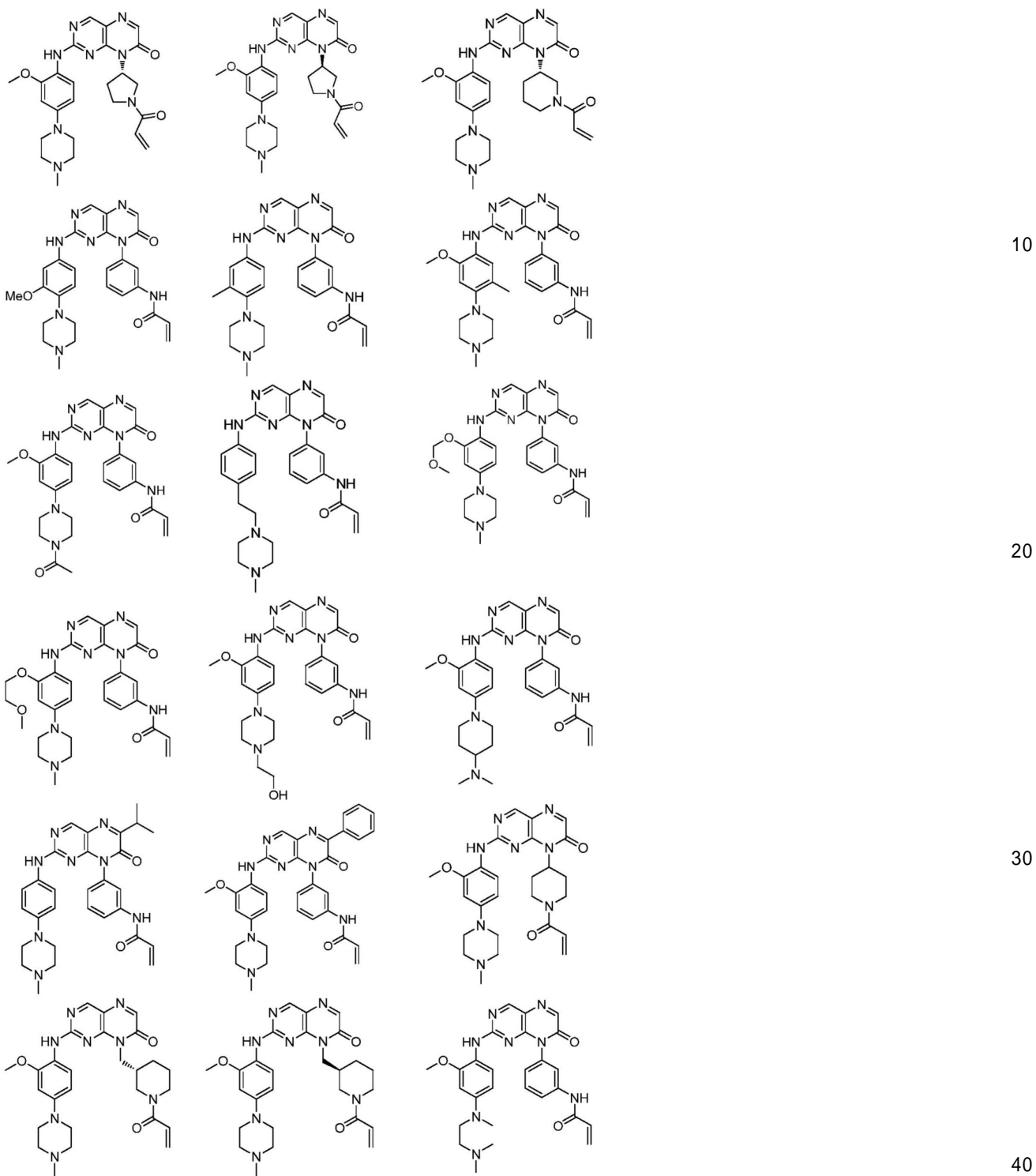
【0017】

30

40

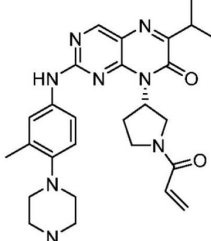
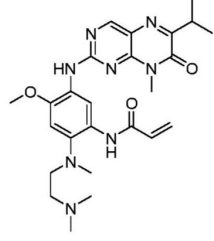
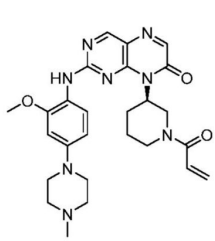
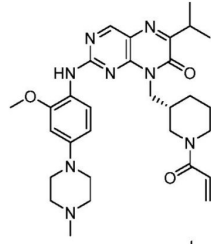
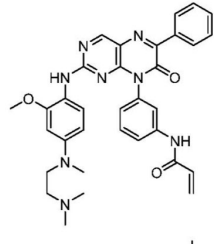
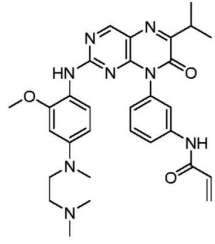
50

【化 4】

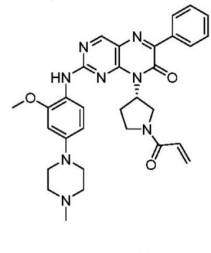
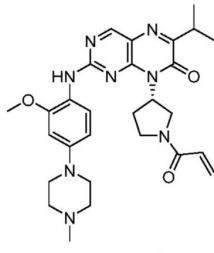
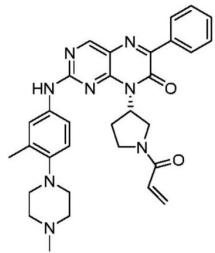


【 0 0 1 8 】

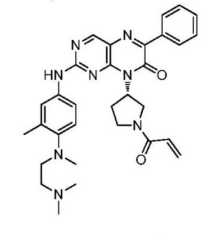
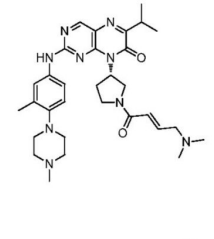
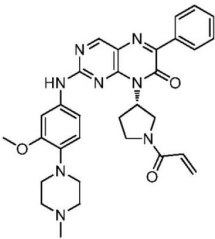
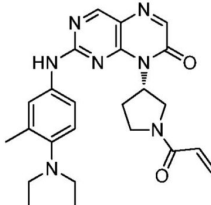
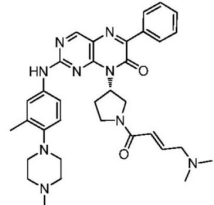
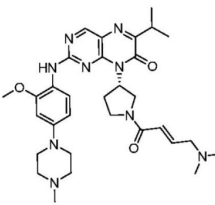
【化 5】



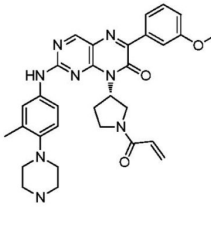
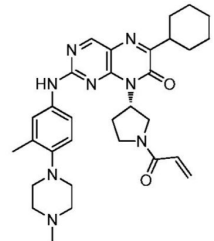
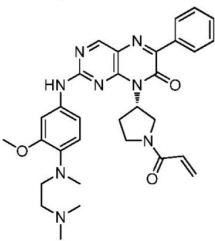
10



20



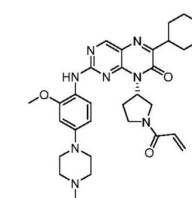
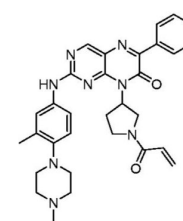
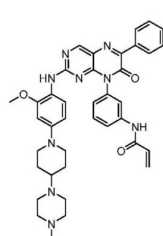
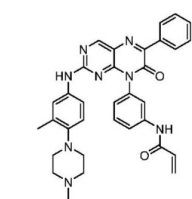
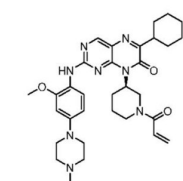
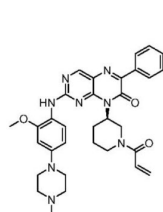
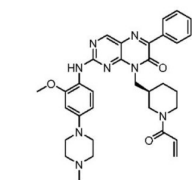
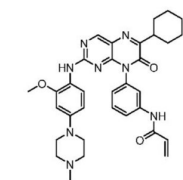
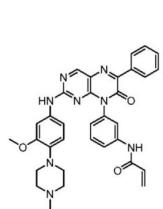
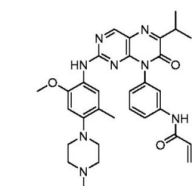
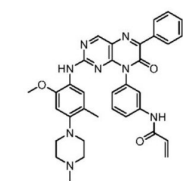
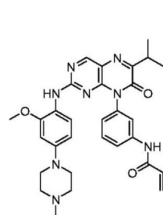
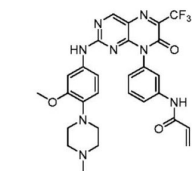
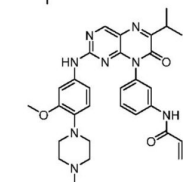
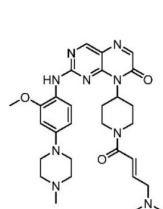
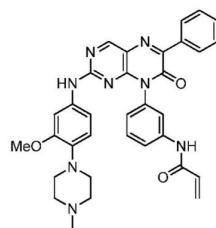
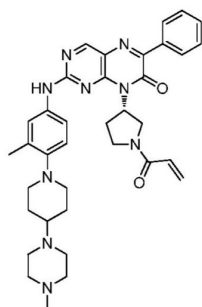
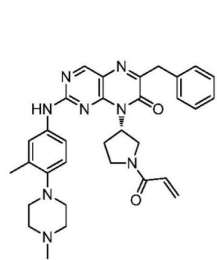
30



40

【 0 0 1 9 】

【化6】



【0020】

10

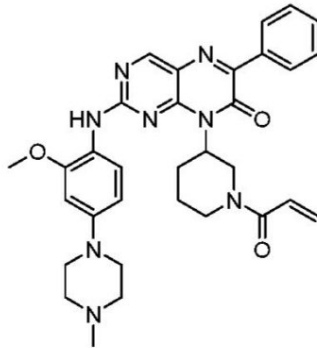
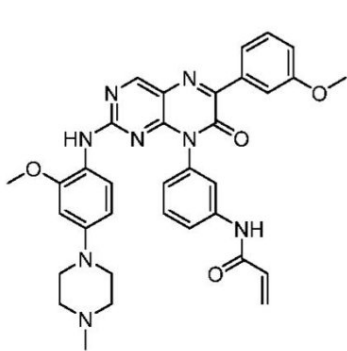
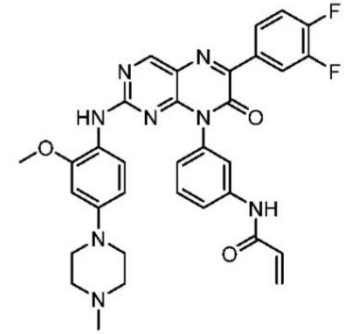
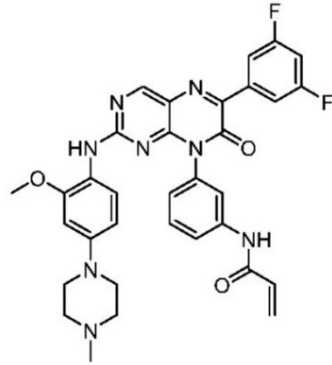
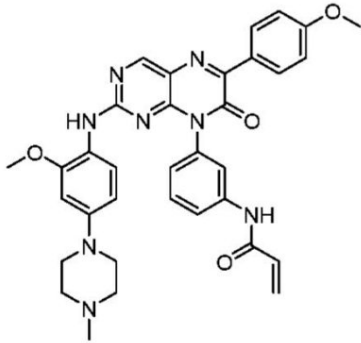
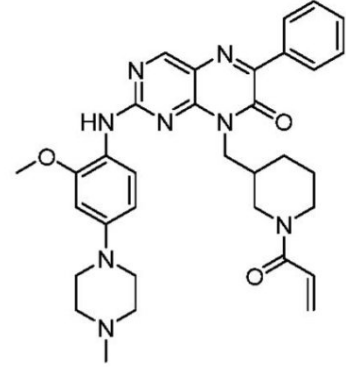
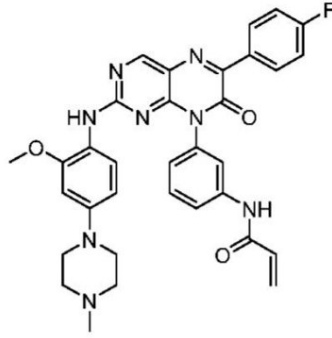
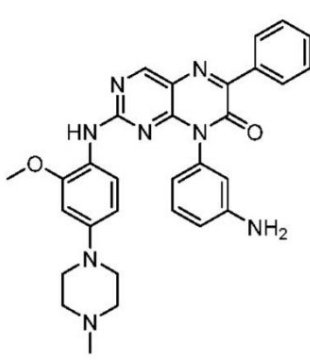
20

30

40

50

【化7】



からなる群から選ばれる化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0021】

第三の側面で、本発明は、

【0022】

10

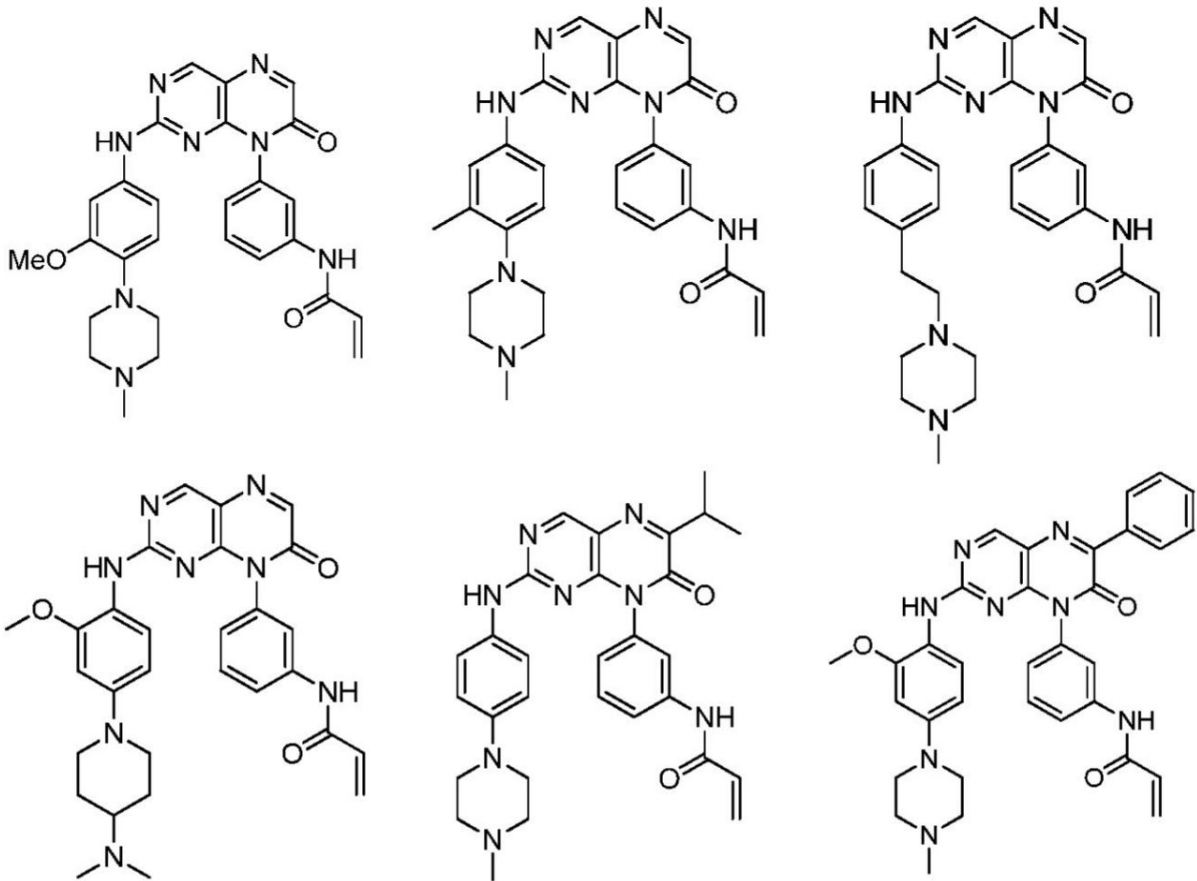
20

30

40

50

【化8】

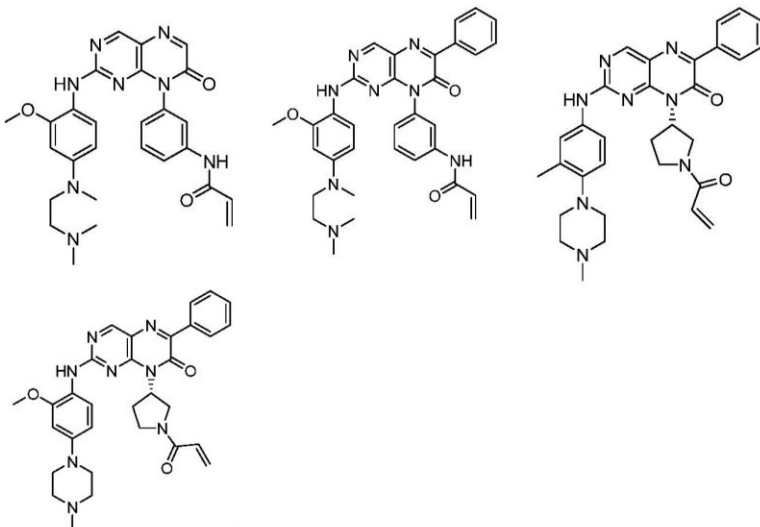


10

20

【0023】

【化9】



30

40

からなる群から選ばれる化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0024】

第四の側面では、本発明は、第一から第三の側面に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む薬物組成物を提供する。

好適な実施形態において、前記薬物組成物は経口投与の剤形に適し、錠剤、溶液剤、懸濁液、カプセル剤、顆粒剤、粉剤を含むが、これらに限定されない。

第五の側面では、本発明は、EGFRを介する疾患を治療または予防する薬物の製造、あるいはEGFRを抑制する薬物の製造における第一から第三の側面に記載の化合物の使用を提供

50

する。

【0025】

具体的な実施形態において、前記EGFRを介する疾患は癌である。

具体的な実施形態において、前記癌は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、乳癌、前立腺癌、神経膠細胞腫、卵巣癌、頭頸部扁平上皮癌、子宮頸癌、食道癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓腺癌、結腸癌、皮膚癌、白血病、リンパ腫、胃癌、多発性骨髄腫および固形腫瘍からなる群から選ばれる。

第六の側面では、本発明は、第一から第三の側面に記載の化合物によってEGFRを介する疾患を治療または予防する方法を提供する。

好適な実施形態において、前記EGFRを介する疾患は癌で、好ましくは、前記癌は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、乳癌、前立腺癌、神経膠細胞腫、卵巣癌、頭頸部扁平上皮癌、子宮頸癌、食道癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓腺癌、結腸癌、皮膚癌、白血病、リンパ腫、胃癌、多発性骨髄腫および固形腫瘍からなる群から選ばれる。

【0026】

もちろん、本発明の範囲内において、本発明の上記の各技術特徴および下記（たとえば実施例）の具体的に記述された各技術特徴は互いに組合せ、新しい、または好適な技術方案を構成できることが理解される。紙数に限りがあるため、ここで逐一説明しない。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】図1は一連の化合物の薬効学の評価を示す。H1975細胞移植腫瘍モデルヌードマウスの、14日間経口投与した後、化合物14がCO-1686よりも優れた薬物効果を示した。

【図2】図2は化合物14とCO-1686およびAZD9291の薬効学的比較を示す。化合物14 10mg/kgでCO-1686 50mg/kgよりも優れた薬物効果を示し、化合物14 25mg/kgへAZD9291 25mg/kgの薬物効果に相当し、いずれも腫瘍を有効に小さくさせ、かつ投与を止めて1か月観察を続けたところ、マウスは生存し、かつ腫瘍の再発がなかった。

【図3】図3は化合物14の野生型EGFRに対して優れた選択性を有することを示す。EGFR野生型A431細胞移植腫瘍モデルヌードマウスの25mg/kgの化合物14を14日間経口投与する場合、所見は同じ投与量のAZD9291に相当し、すなわち腫瘍体積を小さくさせず、腫瘍の大きさは基本的に変わらず、選択性は第二世代薬物であるアフアチニブよりも顕著に優れた。

【図4】図4は化合物14およびAZD9291の毒性評価を示す。

【図5 - 1】図5-1は腫瘍担持マウスの連続14日間の投与後の病理切片の分析を示す。

【図5 - 2】図5-2は腫瘍担持マウスの連続14日間の投与後の病理切片の分析を示す。

【0028】

具体的な実施形態

発明者は、幅広く深く研究したところ、意外に、優れた薬らしさを有し、かつ選択的にEGFRのT790M突然変異を抑制することができる、新規な構造のプテリジノン誘導体を見出した。これらの化合物はEGFR-T790M/L858Rキナーゼ抑制活性IC₅₀値とH1975細胞(非小細胞肺癌細胞、EGFR-T790M/L858R)の増殖に対する抑制のIC₅₀値がnMレベルに達し、かつ優れた溶解度を有する。これに基づき、本発明を完成させた。

【0029】

用語の定義

本明細書に記載された一部の基の定義は以下の通りである。

本明細書において、「アルキル基」とは、炭素鎖の長さが炭素原子1~10個の飽和の分岐鎖または直鎖のアルキル基で、好適なアルキル基は、長さが炭素原子2~8個、炭素原子1~6個、炭素原子1~4個、炭素原子1~3個の炭素原子の異なるアルキル基を含む。アルキル基の例は、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、ヘプチル基などを含む。アルキル基は、1個または複数個の置換基で置換され、例えばハロゲン又はハロアルキル基で置換されている。例えば、アルキル基は、1~4個のフッ素原子で置換されたアルキル基でもよく、或いはフルオロアルキル基で置換された

10

20

30

40

50

アルキル基でもよい。

【0030】

本明細書において、「シクロアルキル基」とは、3～10個、好ましくは3～8個の環炭素原子を含む飽和の環状アルキル基をいう。シクロアルキル基の例は、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基などを含むが、これらに限定されない。シクロアルキル基は、1個または複数個の置換基で置換され、たとえばハロゲンまたはハロアルキル基で置換されてもよい。たとえば、シクロアルキル基は、1～4個のフッ素原子で置換されてもよい。好適な実施形態において、本発明におけるシクロアルキル基はシクロヘキシル基である。

本明細書において、「アルコキシ基」とは、アルキル基で置換されたオキシ基である。好ましいアルコキシ基は、長さが炭素原子1～6個のアルコキシ基で、より好ましくは長さが炭素原子1～4個のアルコキシ基である。アルコキシ基の例は、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基などを含むが、これらに限定されない。具体的な実施形態において、アルコキシ基は置換のアルコキシ基、たとえばアルコキシ基で置換されたアルコキシ基でもよい。具体的な実施形態において、C₁-C₃アルコキシ基で置換されたC₁-C₃アルコキシ基が好ましい。

【0031】

本明細書において、「アルキニル基」とは、通常、少なくとも一つの二重結合を有する1価の炭化水素基で、通常2～8個の炭素原子、好ましくは2～6個の炭素原子、より好ましくは2～4個の炭素原子を含有し、直鎖でも分岐鎖でもよい。アルケニル基の例は、ビニル基、プロペニル基、イソプロペニル基、ブテニル基、イソブテニル基、ヘキセニル基などを含むが、これらに限定されない。

本明細書において、「ハロゲン」とはフッ素、塩素、臭素およびヨウ素をいう。

本明細書において、「アリール基」とは、6～14個の炭素原子を含有する単環、二環または三環の芳香族基で、フェニル基、ナフチル基、フェナントレニル基、アントラセニル基、インデニル基、フルオレニル基、テトラヒドロナフチル基、インダニル基などを含む。アリール基は、任意にハロゲン、C₁₋₄アルデヒド基、C₁₋₆アルキル基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基、ハロゲンで置換されたアルキル基（たとえばトリフルオロメチル基）、ハロゲン置換のアルコキシ基（たとえばトリフルオロメトキシ基）、カルボキシ基、C₁₋₄アルコキシ基、エトキシホルミル基、N(CH₃)およびC₁₋₄アシル基など、複素環基またはヘテロアリール基などから選ばれる1～5個（たとえば、1、2、3、4または5個）の置換基で置換されてもよい。

【0032】

本明細書で使用される「複素環基」は、O、S及びNから選ばれる1～3個のヘテロ原子を含有する5員または6員の複素環基を含むが、これらに限定されない。フリル基、チエニル基、ピロリル基、ピロリジニル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基、トリアゾリル基、オキサゾリル基、ピラニル基、ピリジニル基、ピリミジニル基、ピラジニル基、ペペリジニル基、モルホリル基などを含むが、これらに限定されない。

本明細書で使用される「芳香族複素環基」とは、5～14個の環原子を含有し、かつ環系に6個、10個または14個の電子を共有する。そして、含有される環原子は、炭素原子および酸素、窒素、硫黄から任意に選ばれる1～3個のヘテロ原子である。使用できる芳香族複素環基は、ペペラジニル基、モルホリル基、ペペリジニル基、ピロリジニル基、チエニル基、フリル基、ピラニル基、ピロリル基、イミダゾリル基、ピラゾリル基、ピリジニル基（2-ピリジニル基、3-ピリジニル基および4-ピリジニル基を含むが、これらに限定されない）、ピラジニル基、ピリミジニル基などを含む。

【0033】

芳香族複素環基は、任意にハロゲン、C₁₋₄アルデヒド基、C₁₋₆直鎖または分岐鎖アルキル基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基、ハロゲンで置換されたアルキル基（たとえばトリフルオロメチル基）、ハロゲン置換のアルコキシ基（たとえばトリフルオロメトキシ基）、カルボキシ基、C₁₋₄アルコキシ基、エトキシホル

10

20

30

40

50

ミル基、N(CH₃)およびC₁₋₄アシル基から選ばれる1~5個(たとえば、1、2、3、4または5個)の置換基で置換されてもよい。

本明細書において、「アシル基」とは、構造式が「-C(O)-R」の基をいう。ここで、Rは、アルキル基、アルケニル基およびアルキニル基から選ばれてもよい。前記Rは、任意に置換されてもよい。具体的な実施形態において、本明細書に記載の「アシル基」におけるRは任意に置換されてもよいアルケニル基で置換されている。好適な実施形態において、本明細書に記載の「アシル基」におけるRは任意に置換されてもよいC₂-C₄アルケニル基で置換されている。好適な実施形態において、本発明の「アシル基」は任意に置換されてもよいアルケニル基で置換されるホルミル基、たとえば、ビニル基で置換されたホルミル基、NR_xR_yで置換されたプロベニル基で置換されたホルミル基で、ここで、R_xおよびR_yは独立にアルキル基またはHから選ばれてもよい。

10

【0034】

本明細書において、「アシルアミノ基」とは、構造式が「-NH-C(O)-R」の基をいう。ここで、Rはアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、NR_xR_yで置換されたアルキル基、NR_xR_yで置換されたアルケニル基およびNR_xR_yで置換されたアルキニル基、ハロゲン置換のアルキル基、シアノ基で置換されたアルケニル基から選ばれてもよい。ここで、R_xおよびR_yは独立にアルキル基またはアルケニル基から選ばれてもよい。具体的な実施形態において、本明細書に記載の「アシルアミノ基」におけるRはアルケニル基で置換されている。好適な実施形態において、本明細書に記載の「アシルアミノ基」におけるRはC₂-C₄アルケニル基で置換されている。好適な実施形態において、本発明の「アシルアミノ基」はビニル基で置換されたホルミルアミノ基である。

20

【0035】

本明細書において、「任意に置換されてもよい」とは、修飾された置換基が任意にハロゲン、C₁₋₄アルデヒド基、C₁₋₆直鎖または分岐鎖アルキル基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基、ハロゲンで置換されたアルキル基(たとえばトリフルオロメチル基)、ハロゲン置換のアルコキシ基(たとえばトリフルオロメトキシ基)、カルボキシ基、C₁₋₄アルコキシ基、エトキシホルミル基、N(CH₃)およびC₁₋₄アシル基から選ばれる1~5個(たとえば、1、2、3、4または5個)の置換基で置換されてもよい。

【0036】

本発明の化合物

本発明者は一連のEGFR抑制活性を有する候補物質を合成した。得られた候補の化合物に対して構造の最適化を行い、一連の新規な構造の7(8H)-プテリジノン系化合物を設計して合成し、かつ構造を特徴付けた。この一連の化合物に対して生物活性および物理・化学的性質の測定を行い、優れた薬らしさを有し、かつ選択的にEGFRのT790M突然変異を抑制することができるいくつかの化合物を得た。中では、化合物ZW-39のEGFR-T790M/L858Rキナーゼに対する抑制活性のIC₅₀値は3.9 nMで、H1975細胞(非小細胞肺癌細胞、EGFR-T790M/L858R)の増殖に対する抑制のIC₅₀値は9 nMで、水中溶解度(20 mMリン酸塩緩衝液、pH 6.8)は1367 μg/mLに達する。

30

【0037】

発明者はさらなる研究を行ったところ、候補の化合物に対する評価は、その絶対活性だけでなく、その溶解度、すなわち、候補の化合物の薬らしさも考慮すべきであることに気づいた。全体的に候補の化合物を評価するため、本発明者は、創造的に候補の化合物の溶解度とEGFR-T790M/L858Rキナーゼ抑制活性IC₅₀値の比(比1)および候補の化合物の溶解度とH1975細胞の増殖に対する抑制のIC₅₀値の比(比2)を基準とし、同時に現在既にII期臨床試験に入った第三世代の選択的EGFR阻害剤であるAZD9291を陽性対照として使用することによって、一連の優れた候補の化合物を同定した。

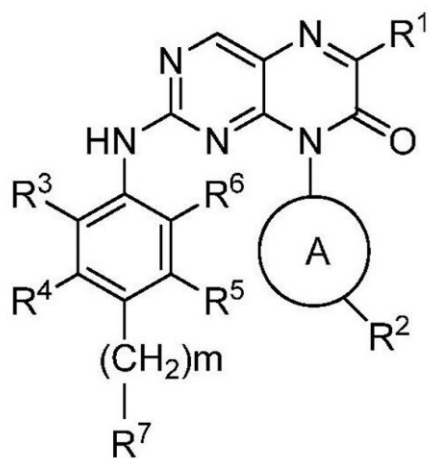
40

【0038】

具体的な実施形態において、本発明の化合物は一般式Iで表される化合物またはその薬学的に許容される塩である。

50

【化10-1】



I

(式中において、

R^1 は独立に水素、置換または無置換の C_1 - C_{10} アルキル基、 C_2 - C_6 アルケニル基、 C_2 - C_6 アルキニル基、任意に置換されてもよい C_3 - C_8 シクロアルキル基、置換または無置換のアリール基、置換または無置換のベンジル基、置換または無置換の複素環基、置換または無置換の芳香族複素環基から選ばれる。

【0039】

A は2価の基 $-(CR_aR_b)_n-A'$ -であるか存在しない。ここで、 R_a および R_b は独立に H 、 C_1 - 3 アルキル基、ハロゲンから選ばれ、 n は0~3の整数である。

A' はベンゼン環、5員または6員の複素環または 6 - C_8 シクロアルキル基である。

R^2 は独立に水素、無置換の C_1 - C_4 アルキル基またはハロゲン置換の C_1 - C_4 アルキル基、ニトロ基、アミノ基、ハロゲン、 C_1 - C_6 アルコキシ基、任意に置換されてもよいアシルオキシ基、任意に置換されてもよいアシルアミノ基、任意に置換されてもよいアシル基から選ばれる。ここで、 A' がベンゼン環である場合、 R はメタ位置置換である。

m は0~3の整数である。

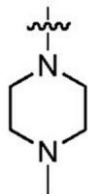
【0040】

R^7 は独立に置換または無置換の NH_2 、置換または無置換の複素環基、置換または無置換の芳香族複素環基、置換または無置換の C_1 - C_{10} アルキル基から選ばれる。

R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 は独立に H 、ハロゲン、置換または無置換の C_1 - C_6 (好ましくは C_1 - C_3)アルコキシ基、置換または無置換の C_1 - C_6 (好ましくは C_1 - C_3)アルキル基、 NR_cR_d から選ばれる。ここで、 R_c および R_d はそれぞれ独立に C_1 - C_3 アルキル基から選ばれる。

ここで、 R^1 が H でかつ m が0である場合、 R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 が同時に H であることはない。 R^1 が H で、 m が0で、 A' がベンゼン環でかつ R が

【化10-2】



である場合、 R^3 および R^6 は一方がメトキシ基で、もう一方が H であることはない。))

【0041】

好適な実施形態において、 R^1 は独立に水素、置換または無置換の C_1 - C_{10} アルキル基(好ましくは C_1 - C_6 アルキル基)、置換または無置換のフェニル基、置換または無置換のベンジル基、任意に置換されてもよい C_3 - C_8 シクロアルキル基から選ばれ、 A' はベンゼン環、5員または6員の窒素含有複素環である。

10

20

30

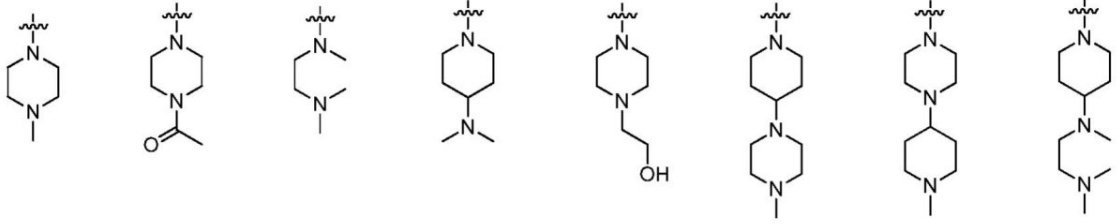
40

50

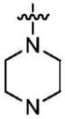
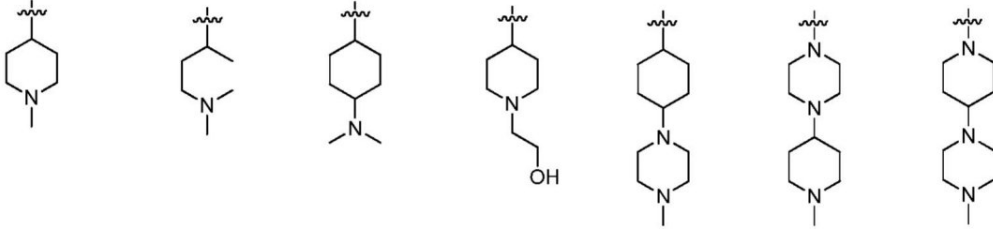
【 0 0 4 2 】

独立にC₁-C₃アルキル基、C₂-C₄アルケニル基で置換されたアシルアミノ基、置換または無置換のC₂-C₄アルケニル基で置換されたアシル基から選ばれ、R⁷は、

【 化 1 1 】



10



20

から選ばれる。

【 0 0 4 3 】

R³、R⁴、R⁵、R⁶は独立にH、置換または無置換のC₁-C₆(好ましくはC₁-C₃)アルコキシ基、置換または無置換のC₁-C₆(好ましくはC₁-C₃)アルキル基から選ばれる。

具体的な実施形態において、本発明は以下の化合物を提供する。

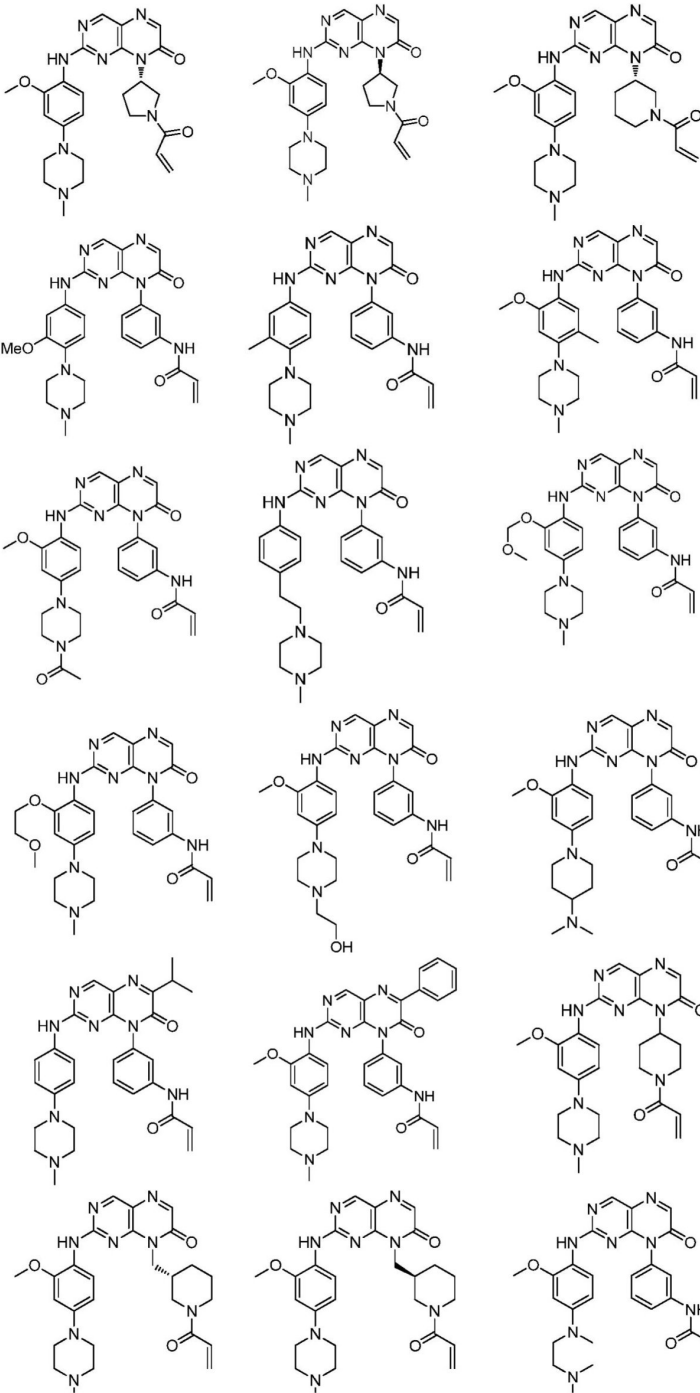
【 0 0 4 4 】

30

40

50

【化 1 2】



10

20

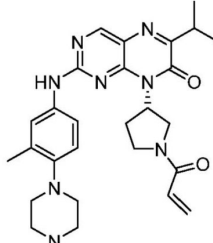
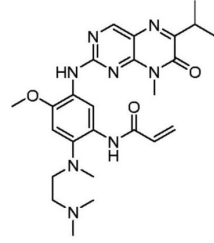
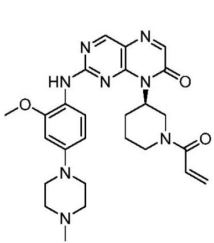
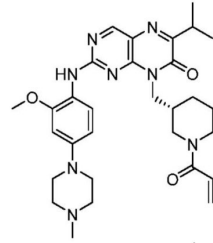
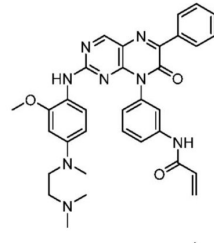
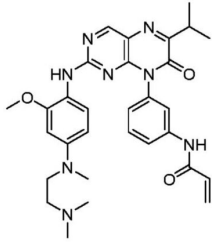
30

40

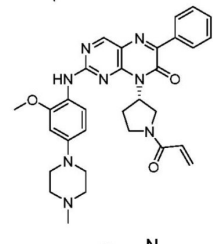
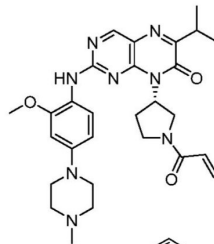
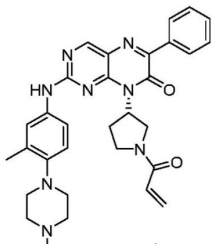
【 0 0 4 5】

50

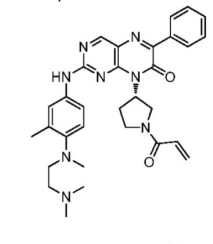
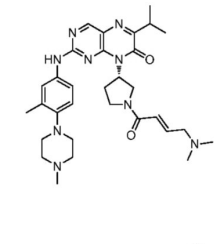
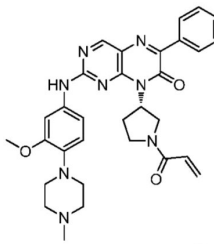
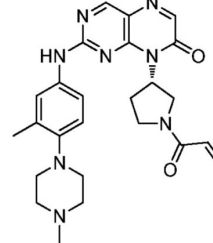
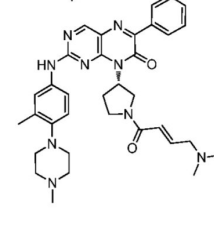
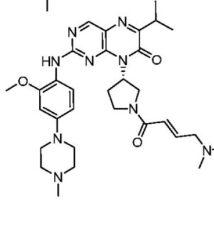
【化 1 3】



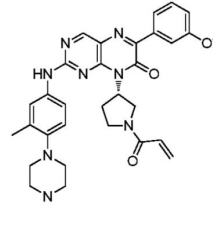
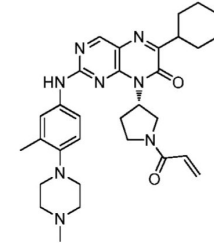
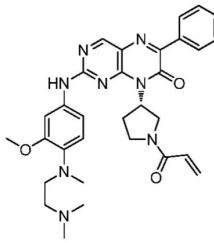
10



20



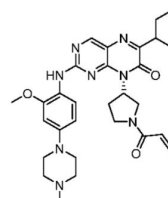
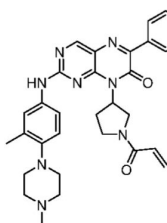
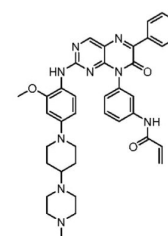
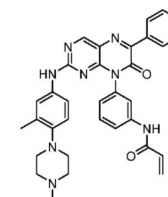
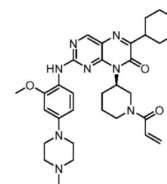
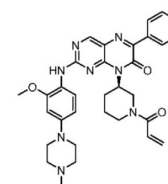
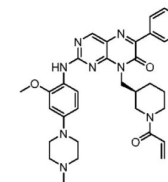
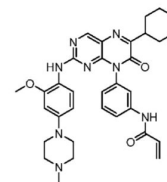
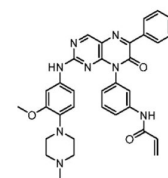
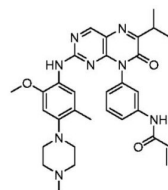
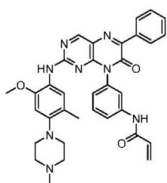
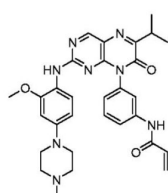
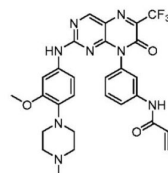
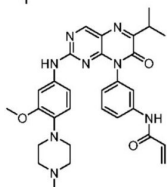
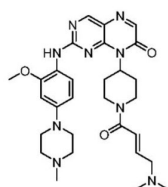
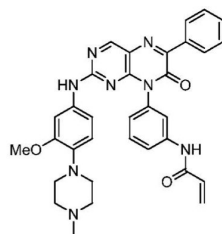
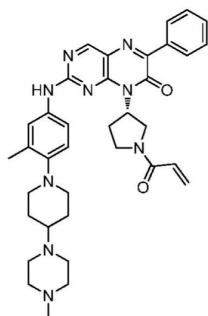
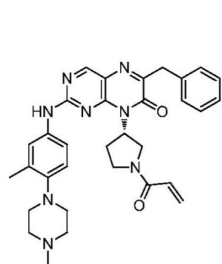
30



40

【 0 0 4 6 】

【化 1 4】



【 0 0 4 7】

10

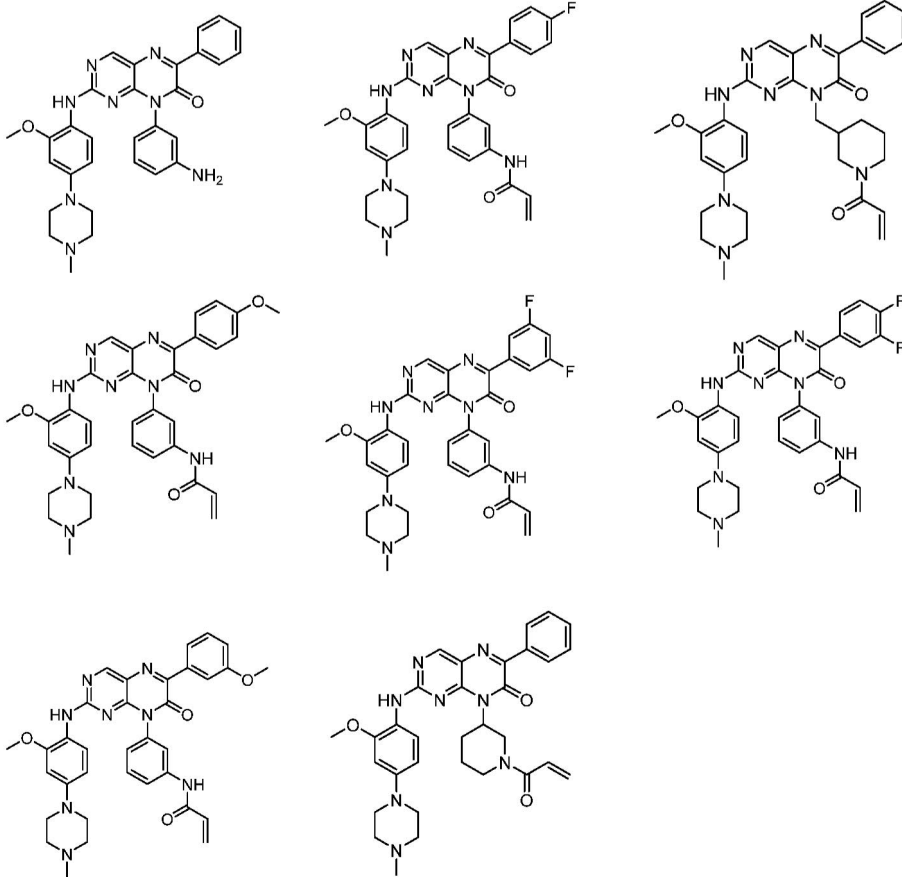
20

30

40

50

【化15】



10

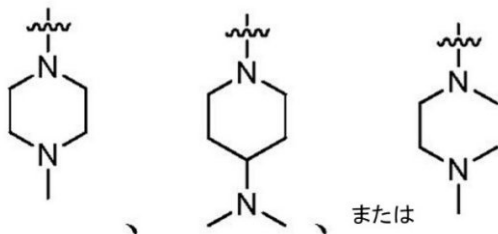
20

【0048】

さらに好適な実施形態において、 R^1 は独立に水素、置換または無置換の C_1 - C_6 アルキル基、あるいは置換または無置換のフェニル基から選ばれ、 $n=0$ で、 A' はベンゼン環、あるいは5員の窒素含有複素環で、 R^2 は独立に C_2 - C_4 アルケニル基で置換されたアシルアミノ基、あるいは C_2 - C_4 アルケニル基で置換されたアシル基から選ばれ、 m は0~2の整数で、 R^7 は、

30

【化16】



または

から選ばれる

【0049】

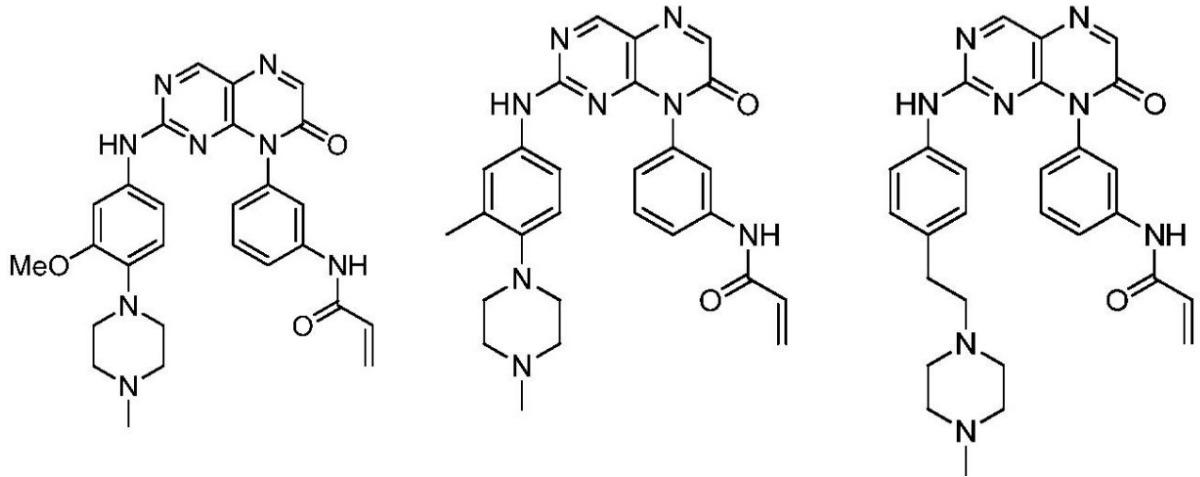
R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 は独立にH、置換または無置換の C_1 - C_3 アルコキシ基、置換または無置換の C_1 - C_3 アルキル基から選ばれる。

好適な実施形態において、本発明は以下の化合物を提供する。

40

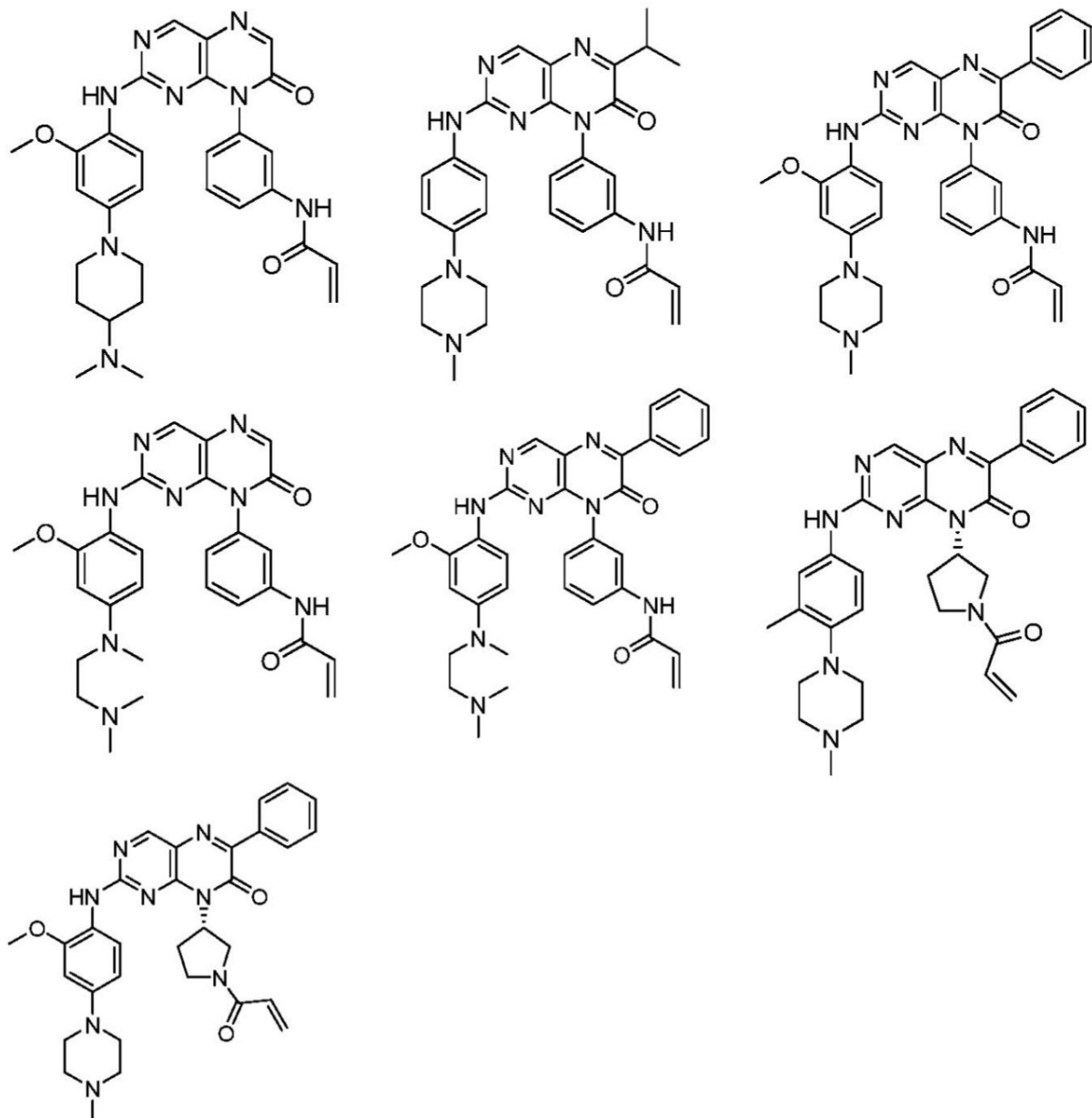
50

【化17】



10

【化18】



20

30

40

【0050】

上記化合物に基づき、本発明は、さらに治療有効量の本発明の式I化合物またはその薬学

50

的に許容される塩と、薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む薬物組成物を提供する。

本発明化合物の薬学的に許容される塩の例は、無機酸および有機酸の塩、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、マンデル酸塩及びシュウ酸塩、並びに塩基、例えばナトリウム、ヒドロキシ基、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン (TRIS、トロメタモール) 及びN-メチルグルコサミンで形成された無機塩基および有機塩基の塩を含むが、これらに限定されない。

【0051】

個人の必要によるが、本発明の薬物組成物におけるすべての活性成分の最適使用量は、本分野の技術者によって決めることができる。通常の場合は、本発明の化合物またはその薬学的に許容される塩は、哺乳動物に毎日経口投与し、薬物の量は約0.0025 ~ 50mg/kg 体重に準じる。最も好ましくは1kgあたりに約0.01 ~ 10mg経口投与する。例えば、1単位の経口投与量は、約0.01 ~ 50mg、最も好ましくは約0.1 ~ 10mgの本発明化合物を含む。1単位の投与量は、1回または数回投与し、毎日1錠または数錠で、1錠あたりに約0.1 ~ 50mg、好ましくは約0.25 ~ 10mgの本発明化合物またはその溶媒和物を含む。

【0052】

本発明の薬物組成物は、各種の投与経路に適する製剤形態に調製して腫瘍およびほかの疾患の治療に使用してもよく、腸管外、皮下、静脈、筋肉、腹腔内、経皮、口腔、鞘内、頭蓋内、鼻腔または外用経路によって投与する形態を含むが、これらに限定されない。投与量は、有効に一つまたは複数の病症を改善・解消する薬物の量である。特定の疾患の治療に対し、有効量は、疾患に関連する症状を改善、またはある方式で軽減する薬物の量である。このような薬物の量は、単一の製剤で使用しても、或いは有効な治療方案で投与してもよい。投与量は、疾患を完治できるかもしれないが、投与は通常疾患の症状を改善するためである。通常、必要な症状の改善を実現するために、投与を繰り返す必要がある。薬物の投与量は、患者の年齢、健康および体重、併用する治療の種類、治療の頻度、および必要な治療効果によって決まる。

【0053】

本発明の薬物製剤は、本発明化合物の治療効果が得られる限り、任意の哺乳動物に投与することができる。これらの哺乳動物の中でも、最も重要なのはヒトである。

本発明の化合物またはその薬物組成物は、上皮成長因子受容体キナーゼ (EGFR) を介する様々な疾患の治療に有用である。ここで、EGFRを介する疾患は様々な癌である。前記癌は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、乳癌、前立腺癌、神経膠細胞腫、卵巣癌、頭頸部扁平上皮癌、子宮頸癌、食道癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓腺癌、結腸癌、皮膚癌、白血病、リンパ腫、胃癌、多発性骨髄腫および固形腫瘍を含むが、これらに限定されない。

【0054】

本発明の薬物製剤は、既知の方法で製造することができる。たとえば、伝統の混合、造粒、製錠、溶解または冷凍乾燥の過程で製造される。経口投与製造を製造する場合、固形補助材と活性化化合物を合わせ、必要によって混合物を研磨してもよい。必要によって適量の補助材を入れた後、顆粒混合物を加工し、タブレット剤または錠剤コアを得る。

【0055】

適切な補助材は、特にフィラー、たとえば乳糖やショ糖のような糖類、マンニトールやソルビトール、セルロース製剤またはリン酸カルシウム塩、たとえばリン酸三カルシウムやリン酸水素カルシウム、および粘着剤、たとえばコーンスターチ、小麦澱粉、米澱粉、馬鈴薯澱粉を含む澱粉糊、ゼラチン、タラカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、またはポリビニルピロリドンである。必要があれば、崩壊剤、たとえば上記のデンプン、およびカルボキシメチルデンプン、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、或いはアルギン酸ナトリウムのようなアルギン酸またはその塩を入れてもよい。補助材は、特に流動調節剤および潤滑剤、たとえば、シリカ、タルク、マグネシウムステアリン酸カルシウム、ステアリン酸のようなス

10

20

30

40

50

テアリン酸塩類またはポリエチレングリコールである。必要があれば、錠剤コアに胃液に抵抗する適切なコーティングを与えてもよい。そのために、濃縮糖類溶液を使用してもよい。この溶液は、アラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコールおよび/または二酸化チタン、漆溶液および適切な有機溶媒または溶媒混合物を含有してもよい。胃液に抵抗するコーティングを製造するため、適切なセルロース溶液、たとえば酢酸フタル酸セルロースまたはフタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロースを使用してもよい。タブレットまたは錠剤コアのコーティングに染料または色素を入れてもよい。たとえば、活性成分の使用量の組合わせを識別または特徴付けるためである。

【0056】

そのため、本発明は、さらに、EGFRを介する疾患を治療する方法であって、必要な対象に本発明の化合物または本発明化合物を含む薬物組成物を投与することを含む方法を提供する。

10

投与方法は、本分野で周知の各種の投与方法を含むが、これらに限定されず、患者の実情によって決まる。これらの方法は、腸管外、皮下、静脈、筋肉、腹腔内、経皮、口腔、鞘内、頭蓋内、鼻腔または外用経路による投与を含むが、これらに限定されない。

また、本発明は、EGFRを介する疾患を治療する薬物の製造における本発明化合物の使用を含む。

【0057】

以下、具体的な実施例を合わせて本発明の技術方案をさらに説明するが、以下の実施例は本発明の制限にならず、本発明の原理および技術手段に基づいて使用される様々な施用方法は全部本発明の範囲に含まれる。以下の実施例において、具体的な条件が記載されていない実験方法は、通常、通常の方法、あるいはメーカーの薦めの条件で行われた。特に断らない限り、%と部は、重量で計算される。

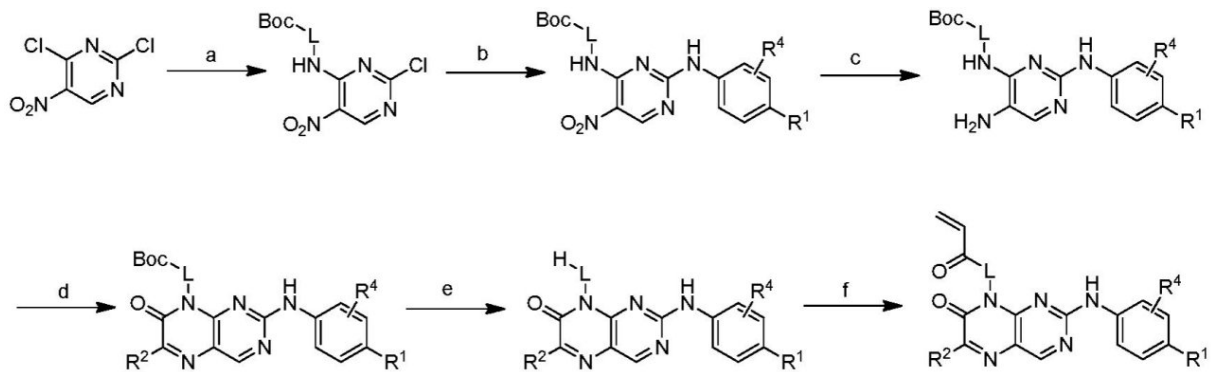
20

【0058】

材料および方法

本発明の7(8H)-プテリジノン系化合物の合成方法は以下の通りである。

【化19】



30

試薬および条件：(a) アミン、DIPEA、1,4-ジオキサン、r.t.、(b) ArNH₂、DIPEA、1,4-ジオキサン、r.t.、(c) Pd/C、H₂、EtOH、(d) R²COCOOEt、HOAc、EtOH、還流、(e) トリフルオロ酢酸、CH₂Cl₂、0 ~ r.t.、(f) 塩化アシル、Et₃N、CH₂Cl₂、0 ~ r.t.、あるいは塩化アシル、1-メチル-2-ピロリドン、CH₃CN、0 ~ r.t.。

40

上記製造過程において、R¹、R²、R³、R⁴の定義は上記の通りである。本分野の技術者は、実際の製造の要求に従い、本分野の通常の方法の各種の開始化合物を原料として、本発明の化合物を製造することができる。

【実施例】

【0059】

実施例1

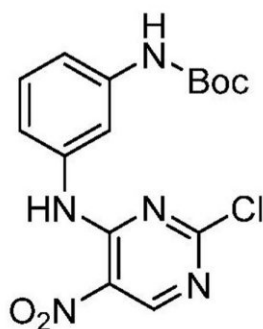
上記工程a~fの具体的な合成方法は以下の通りである。

(3-(2-クロロ-5-ニトロピリジン-4-イルアミノ)フェニル)カルバミン酸-t-ブチルの合

50

成

【化20】



10

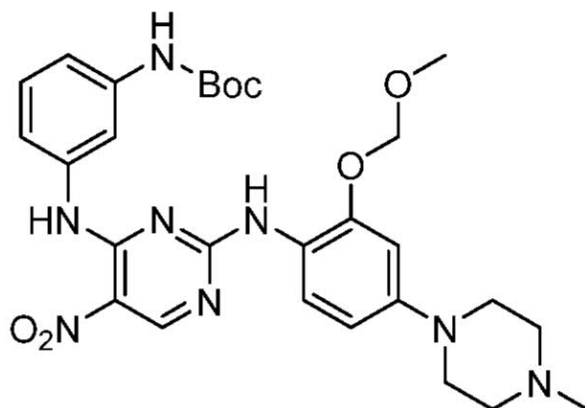
2,4-ジクロロ-5-ニトロピリミジン (3.80 g、19.59 mmol) を量って100 mLの丸底フラスコに置き、80 mLのジオキサソランを入れ、室温で攪拌し、さらに(3-アミノフェニル)カルバミン酸-t-ブチル (4 g、19.21 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (2.98 g、23.05 mmol) を取って20 mLの1,4-ジオキサソランに溶解させ、そして上記反応液に滴下し、滴下終了後、続いて室温で0.5時間攪拌し、原料が完全に転化するまでTLCによってモニタリングした。回転蒸発で溶媒を除去し、粗製品をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル = 10:1、v/v) によって分離し、(3-(2-クロロ-5-ニトロピリミジン-4-イルアミノ)フェニル)カルバミン酸-t-ブチルのオレンジ色固体5.9 gが得られ、収率は84%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.37(s, 1H), 9.48(s, 1H), 9.13(s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.31 (m, 2H), 7.15(m, 1H), 1.48(s, 9H)。

20

【0060】

(3-((2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-5-ニトロ-4-ピリミジニル)アミノ)フェニル)カルバミン酸-t-ブチルの合成

【化20-1】



30

3-(2-クロロ-5-ニトロピリミジン-4-イルアミノ)フェニルカルバミン酸-t-ブチル(902 mg、2.47 mmol)、2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチルピペラジン-1-イル)アニリン(775 mg、2.47 mmol)、DIPEA (956 mg、7.40 mmol)を量って100 mLの丸底フラスコに置き、50 mLのテトラヒドロフランを入れ、還流まで加熱し、一晩攪拌した。反応終了後、回転蒸発で溶媒を除去し、水を入れて希釈した後、酢酸エチルで抽出し(100 mL x 2)、有機相を飽和塩化アンモニウム溶液(50 mL x 2)、飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。回転蒸発で溶媒を除去し、粗製品をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン/メタノール = 30:1、v/v) によって精製し、(3-((2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-5-ニトロ-4-ピリミジニル)アミノ)フェニル)カルバミン酸-t-ブチルの赤オレンジ色固体945 mgが得られ、収率は66%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.25 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.42 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.23-7.

40

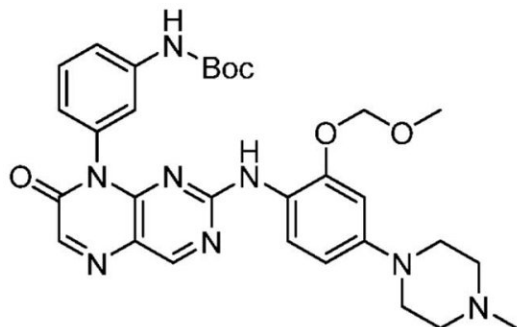
50

2.0 (m, 2H), 7.08 (t, J=8.0 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.43 (d, J=8.8 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.11 (br, 4H), 2.46 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)。

【0061】

(3-(2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)カルバミン酸-t-ブチルの合成

【化21】



10

(3-((2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-5-ニトロ-4-ピリミジニル)アミノ)フェニル)カルバミン酸-t-ブチル (940 mg、1.62 mmol) を量って400 mLの丸底フラスコに置き、120 mLのエタノール、100 mLのジクロロメタンおよび250 mgのパラジウム炭素(10%Pd)を入れ、水素を導入し、室温で8時間撹拌した。反応終了後、吸引ろ過し、ろ液を回転乾燥し、製品を精製せず、そのまま次の反応に使用した。

20

【0062】

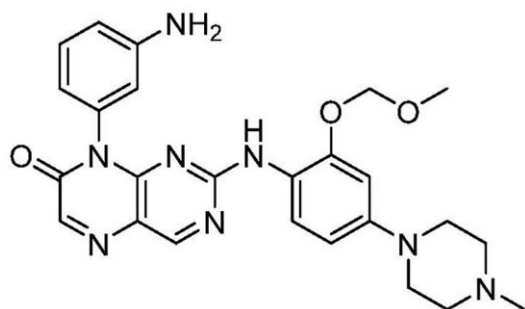
前の反応で得られた製品を50 mLの丸底フラスコに置き、1.45 mLの水酢酸、25 mLの無水エタノールを入れ、さらにグリオキシル酸エチル(50%トルエン溶液)(0.495 mL、2.43 mmol)を入れ、還流まで加熱して一晩撹拌した。反応終了後、回転蒸発で溶媒を除去し、15 mLのエタノールを入れて再結晶させ、固体が析出し、吸引ろ過し、ケーキをエタノール、アンモニア水、脱イオン水で洗浄し、乾燥し、(3-(2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)カルバミン酸-t-ブチルの赤オレンジ色固体452 mgが得られ、収率は47%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9.65 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.55 (br, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.52 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.43 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.36-7.33 (m, 1H), 6.97 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.65 (d, J=2.0 Hz, 1H), 6.16 (br, 1H), 5.17 (s, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.03 (br, 4H), 2.44 (t, J=3.6 Hz, 4H), 2.22 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)。

30

【0063】

8-(3-アミノフェニル)-2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジニルの合成

【化22】



40

(3-(2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)カルバミン酸-t-ブチル (452 mg、0.77 mmol) を量

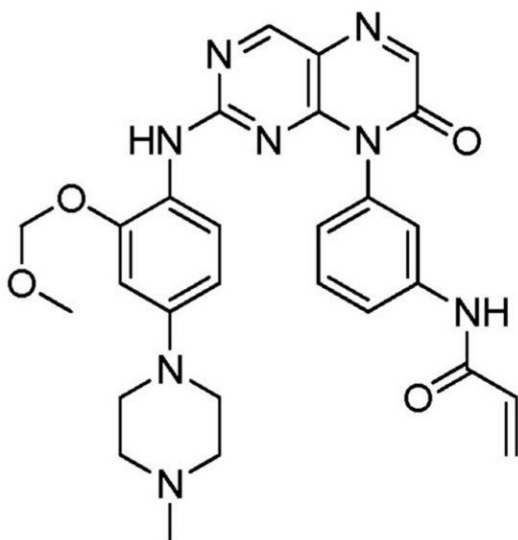
50

って25 mLの丸底フラスコに置き、7 mLのジクロロメタンを入れ、氷浴で攪拌しながら2 mLのトリフルオロ酢酸を入れた。その後、続いて氷浴で1時間攪拌し、室温で1時間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム溶液を入れて溶液がpH=9になるまで中和し、ろ液をジクロロメタンで抽出し、有機相を脱イオン水、飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄し、乾燥し、回転乾燥で溶媒を除去した。粗製品をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ジクロロメタン/メタノール=20:1、v/v）によって精製し、8-(3-アミノフェニル)-2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノンの赤オレンジ色固体132 mgが得られ、収率は35%であった。MS (ESI) m/z 489.2 [M + H]⁺

【0064】

N-(3-(2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミドの合成（化合物9）

【化23】



8-(3-アミノフェニル)-2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン（132 mg、0.270 mmol）を量って25 mLの丸底フラスコに置き、4 mLのN-メチルピロリドンを入れ、氷浴で攪拌した。別途にアクリロイルクロリド(25 μL、0.297 mmol)を2 mLのアセトニトリルに溶解させ、そして恒圧滴下漏斗で反応液に滴下した。滴下完了後、氷浴で1時間攪拌し、さらに室温で2時間攪拌した。

【0065】

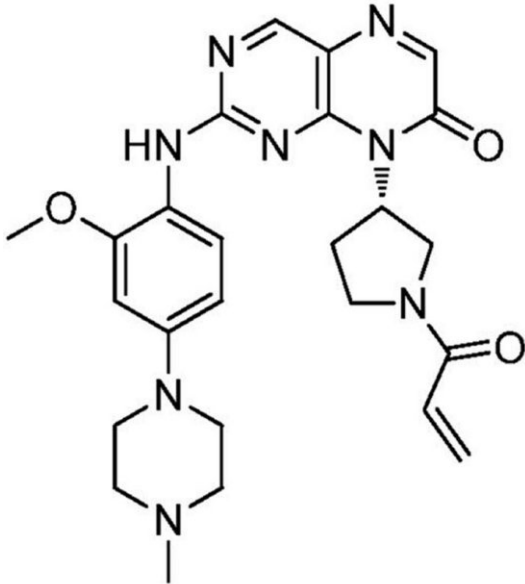
反応終了後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム溶液を入れ、続いて15分間攪拌し、水を入れて希釈した後酢酸エチルで抽出し、有機相を脱イオン水、飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄した。濃縮後シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ジクロロメタン/メタノール/アンモニア水=100:5:0.5、v/v）によって精製し、N-(3-(2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミドのオレンジ色固体101 mgが得られ、収率は69%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.40 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.53 (br, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.85 (d, J=6.4 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.53 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.34-7.33 (m, 1H), 7.10 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 16.8, 10.0 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 16.8, 1.6 Hz, 1H), 6.13-6.09 (m, 1H), 5.78 (dd, J = 10.0, 1.6 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.35 (s, 3H), 3.00 (br, 4H), 2.43 (t, J=4.4 Hz, 4H), 2.22 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₈H₃₁N₈O₄, 543.2468; found, 543.2476.

【0066】

以下の化合物の合成はいずれも上記合成工程と同様または類似の経路によって合成した。

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((2-メトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン（化合物1）

【化 2 4】



10

赤オレンジ色固体で、収率は40%であった。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8.96 (s, 1H), 8.73 (s, 0.5 H), 8.72 (s, 0.5H), 7.86 (s, 0.5 H), 7.84 (s, 0.5 H), 7.32 (m, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.43-6.42 (m, 1H), 6.16 (ddd, $J = 16.8, 10.0, 2.4$ Hz, 1H), 5.72 (dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz, 1H), 5.65 (dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz, 1H), 4.08 (t, $J = 10.2$ Hz, 0.5H), 3.88-3.82 (m, 0.5 H), 3.76 (s, 3H), 3.67-3.62 (m, 1H), 3.58-3.55 (m, 1H), 3.21-3.17 (m, 4H), 2.81-2.71 (m, 1H), 2.68-2.61 (m, 4H), 2.38 (s, 1.4H), 2.34 (s, 1.6H), 2.04-1.96 (m, 2H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_3$, 491.2519; found, 491.2520. HPLC純度: 95.7%、保持時間 = 9.43 min。

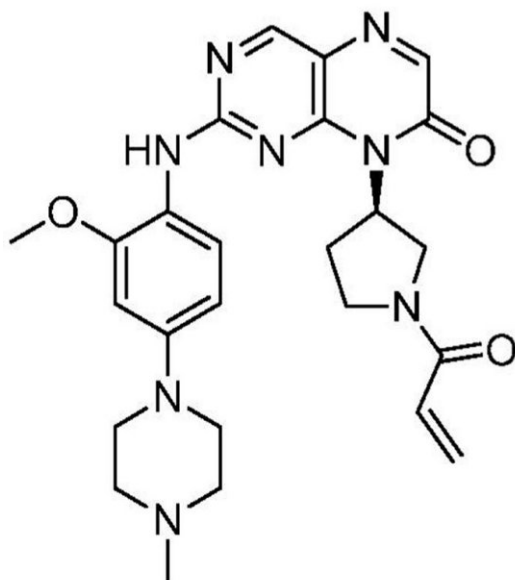
20

【0067】

(R)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((2-メトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ-7(8H)-プテリジノン (化合物2)

30

【化 2 5】



40

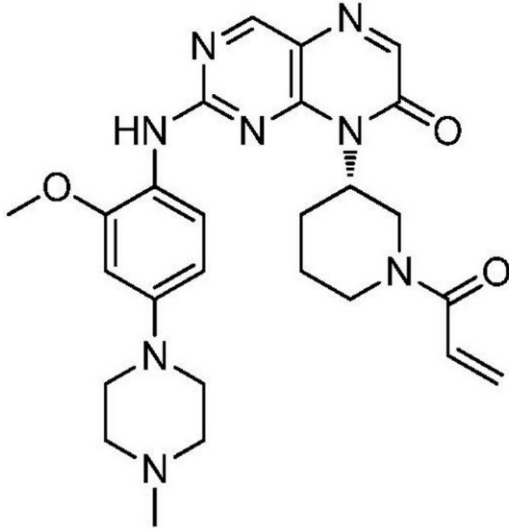
赤オレンジ色固体で、収率は40%であった。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8.94 (s, 1H), 8.72-8.71 (m, 1H), 7.86-7.84 (m, 1H), 7.33 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 6.42-6.40 (m, 1H), 6.16 (ddd, $J = 16.8, 10.4, 2.4$ Hz, 1H), 5.70 (dd, $J =$

50

10.4, 2.4 Hz, 1H), 5.65 (dd, $J = 10.4, 2.4$ Hz, 1H), 4.10 (t, $J = 10.2$ Hz, 0.5H), 3.88-3.83 (m, 0.6H), 3.76 (s, 3H), 3.67-3.62 (m, 1H), 3.58-3.55 (m, 1H), 3.15-3.10 (m, 4H), 2.82-2.64 (m, 1H), 2.45 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.06-1.96 (m, 1H). HRMS (ESI) (m/z): $[M + H]^+$ calcd for $C_{25}H_{31}N_8O_3$, 491.2519; found, 491.2473. 【0068】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピペリジニル)-2-((2-メトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物3)

【化26】



10

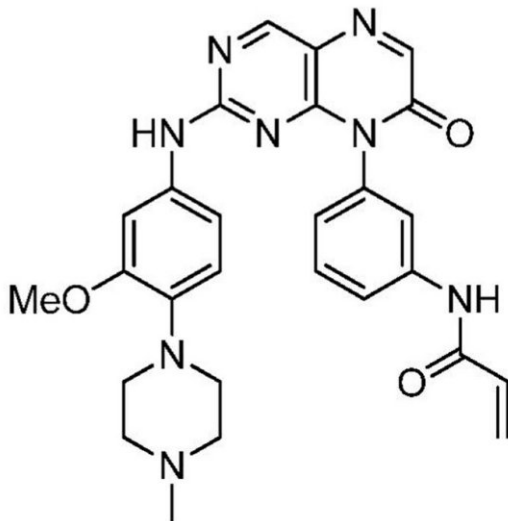
20

赤オレンジ色固体で、収率は38%であった。 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): 9.14 (br, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.22-7.21 (m, 1H), 6.80-6.62 (m, 2H), 6.48-6.47 (m, 1H), 6.15-6.08 (m, 1H), 5.71-5.60 (m, 1H), 4.82-4.76 (m, 0.6H), 4.34-4.24 (m, 1H), 3.95-3.92 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.14 (br, 4H), 2.46 (br, 4H), 1.64 (br, 2H), 1.34-1.30 (m, 1H). HRMS (ESI) (m/z): $[M + H]^+$ calcd for $C_{26}H_{33}N_8O_3$, 505.2676; found, 505.2676.

【0069】

N-(3-(2-((3-メトキシ-4-(メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物4)

【化27】



40

赤色固体で、収率は55%であった。 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): 10.41 (s, 1H), 10.00 (br, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.73 (

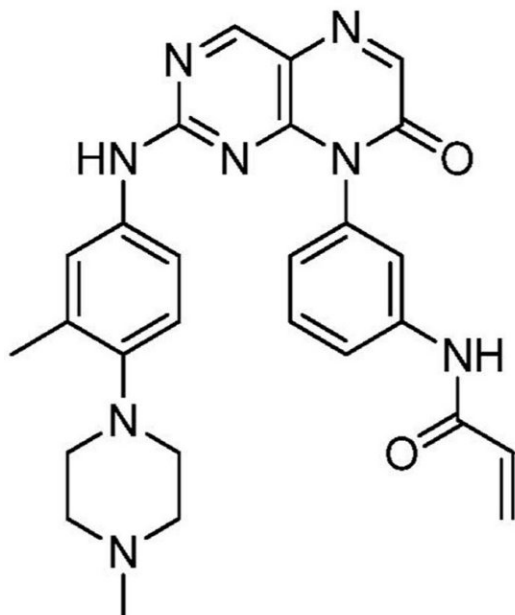
50

s, 1H), 7.54 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.04-6.95 (m, 2H), 6.48-6.42 (m, 2H), 6.27 (dd, J = 17.2, 2.0 Hz, 1H), 5.77 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 3.55 (s, 3H), 2.83 (br, 4H), 2.43 (br, 4H), 2.22 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z) : [M + H]⁺calcd for C₂₇H₂₉N₈O₃, 513.2363; found, 513.2362.

【0070】

N-(3-(2-((3-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド(化合物5)

【化28】



10

20

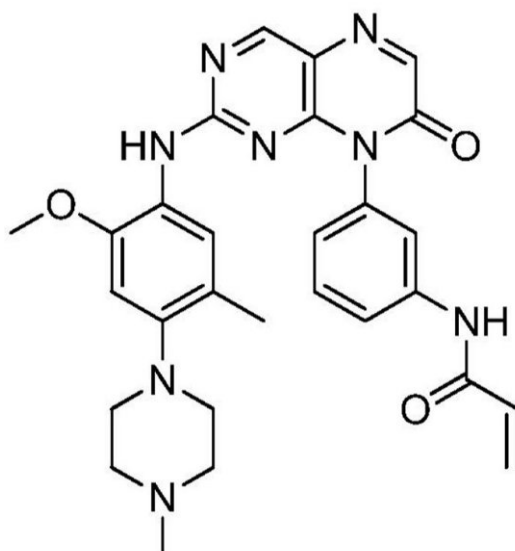
黄色固体で、収率は63%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.41 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.55 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.13-7.10 (m, 2H), 6.70-6.69 (m, 1H), 6.45 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.76 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 2.70 (br, 4H), 2.44 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.97 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₇H₂₉N₈O₂, 497.2413; found, 497.2428.

30

【0071】

N-(3-(2-((2-メトキシ-5-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド(化合物6)

【化29】



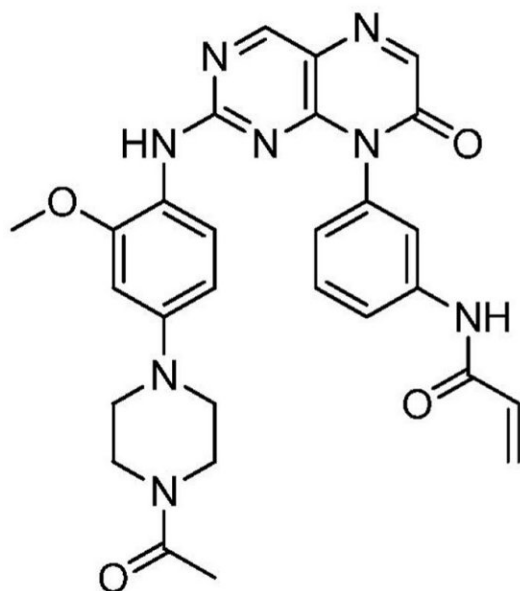
40

50

赤色固体で、収率は50%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.38 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.53 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.45 (dd, J = 16.8, 2.0 Hz, 1H), 6.25 (dd, J = 16.8, 2.0 Hz, 1H), 5.77-5.76 (m, 1H), 3.78 (s, 1H), 2.76 (br, 4H), 2.46 (br, 4H), 2.24 (s, 3H), 1.85 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₈H₃₁N₈O₃, 527.2519; found, 527.2518.
【0072】

N-(3-(2-((4-(4-アセチル-1-ピペラジニル)-2-メトキシフェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物7)

【化30】



赤色固体で、収率は50%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.36 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 7.52 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 17.0, 10.0 Hz, 1H), 6.09 (br, 1H), 5.77 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.58-3.54 (m, 4H), 3.06-3.00 (m, 4H), 2.05 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₈H₂₉N₈O₄, 541.2312; found, 541.2312.

【0073】

N-(3-(2-((4-(2-(4-メチル-1-ピペラジニル)エチル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物8)

10

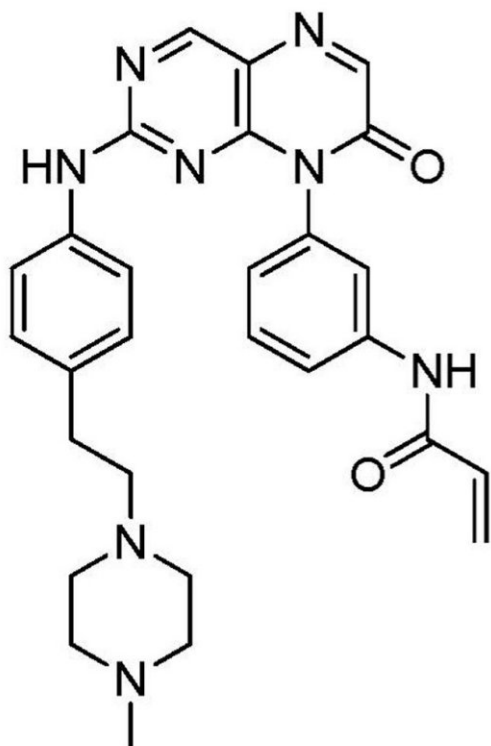
20

30

40

50

【化3 1】



10

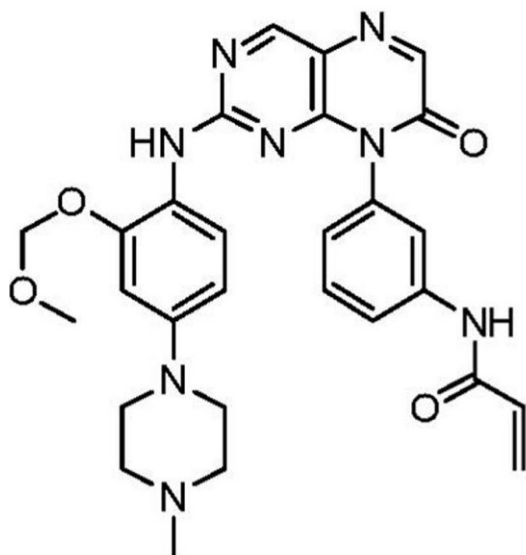
20

黄色固体で、収率は50%であった。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.41 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.57 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.31-7.30 (m, 2H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.86 (br, 2H), 6.45 (dd, $J = 16.8, 10.0$ Hz, 1H), 6.26 (dd, $J = 16.8, 2.0$ Hz, 1H), 5.77 (dd, $J = 10.0, 2.0$ Hz, 1H), 2.56 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.39-2.31 (m, 9H), 2.15 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_2$, 511.2570; found, 511.2571.

【0074】

N-(3-(2-((2-(メトキシメトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物9)

【化3 2】



40

オレンジ色固体で、収率は69%であった。mp 187.3-188.1 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz,

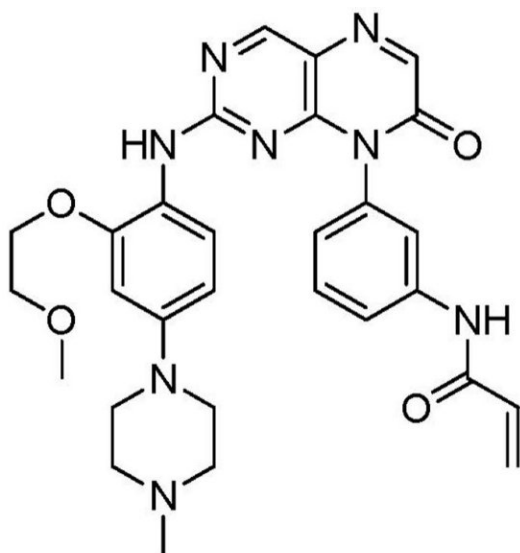
50

DMSO-d₆): 10.40 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.53 (br, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.85 (d, J=6.4 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.53 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.34-7.33 (m, 1H), 7.10 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 16.8, 10.0 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 16.8, 1.6 Hz, 1H), 6.13-6.09 (m, 1H), 5.78 (dd, J = 10.0, 1.6 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.35 (s, 3H), 3.00 (br, 4H), 2.43 (t, J=4.4 Hz, 4H), 2.22 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₈H₃₁N₈O₄, 543.2468; found, 543.2476.

【 0 0 7 5 】

N-(3-(2-((2-(メトキシエトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物10)

【化 3 3】



赤オレンジ色固体で、収率は61%であった。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.78 (s, 1H), 8.65-8.62 (m, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.41 (br, 3H), 6.93 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 6.44 (s, 1H), 6.33 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 6.10 (dd, J = 17.0, 10.4 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.10 (br, 2H), 3.69 (br, 2H), 3.43 (s, 3H), 3.08 (br, 4H), 2.54 (br, 4H), 2.34 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₉H₃₃N₈O₄, 557.2625; found, 557.2621.

【 0 0 7 6 】

N-(3-(2-((4-(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル)-2-メトキシフェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物11)

10

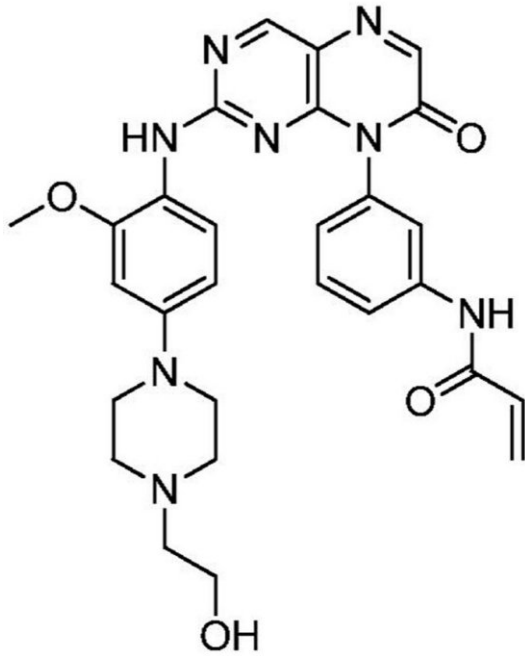
20

30

40

50

【化34】



10

オレンジ色固体で、収率は53%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.39 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.85 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.52 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.45 (dd, J = 16.8, 10.0 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 16.8, 2.0 Hz, 1H), 6.02 (br, 1H), 5.78 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 4.43 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.56-3.52 (m, 2H), 3.04 (br, 4H), 2.53 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.44 (t, J = 6.0 Hz, 1H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₉H₃₃N₈O₃, 543.2468; found, 543.2466.

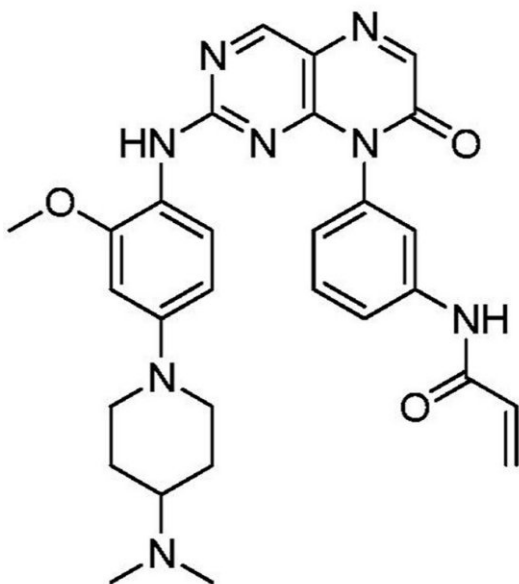
20

【0077】

N-(3-(2-((4-(2-(4-メチル-1-ピペラジニル)エチル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物12)

30

【化35】



40

赤色固体で、収率は50%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.41 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.88-7.87 (m, 1H), 7.70 (s, 1H), 7

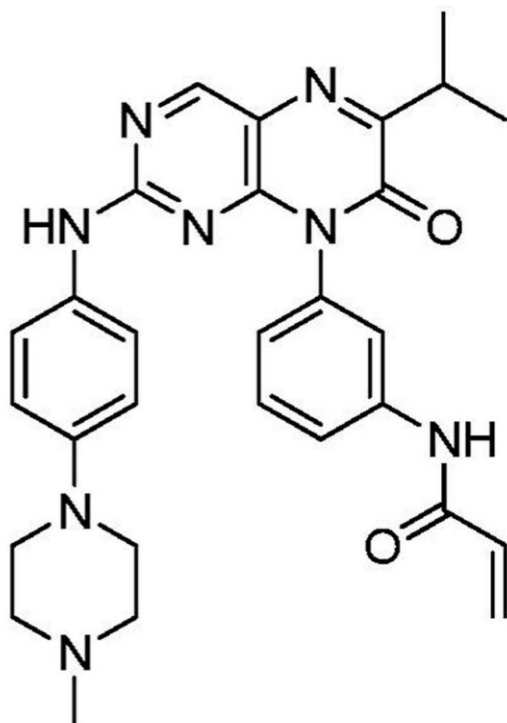
50

.52 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 17.2, 10.0 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 17.2, 2.0 Hz, 1H), 6.04 (br, 1H), 5.78 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.60-3.58 (m, 2H), 2.58 (t, J = 10.8 Hz, 2H), 2.20-2.18 (m, 7H), 1.82-1.79 (d, J = 12 Hz, 2H), 1.48-1.40 (m, 2H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₉H₃₃N₈O₃, 541.2676; found, 541.2674.

【 0 0 7 8 】

N-(3-(6-イソプロピル-2-((4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物13)

【化36】



赤色固体163 mgで、収率は75%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.42 (s, 1H), 9.85 (br, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.91 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.55 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.25 (s, 2H), 7.11 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.59-6.58 (m, 2H), 6.45 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.78 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.45-3.38 (m, 1H), 2.97 (br, 4H), 2.42 (br, 4H), 2.21 (s, 3H), 1.25 (d, J = 6.8 Hz, 6H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺calcd for C₂₉H₃₃N₈O₂, 525.2726; found, 525.2728.

【 0 0 7 9 】

N-(3-(2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-6-フェニル-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物14)

10

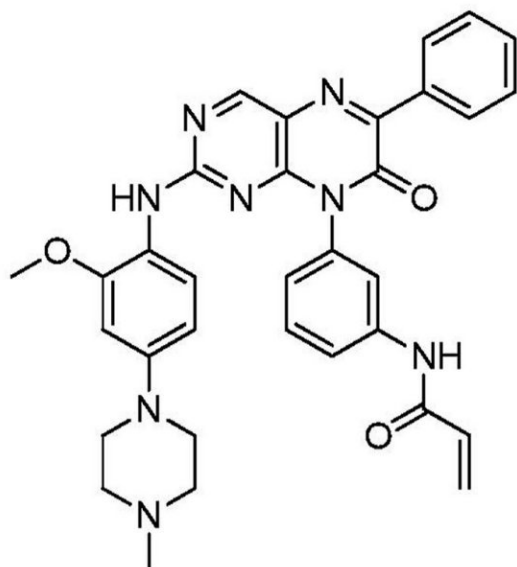
20

30

40

50

【化37】



10

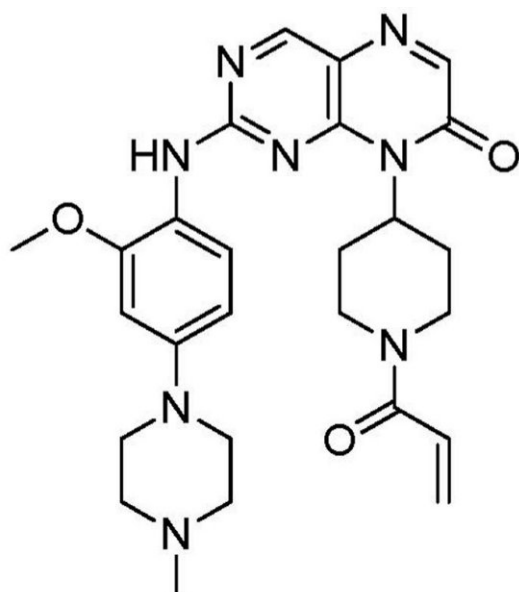
赤色固体で、収率は75%であった。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.41 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.21-8.19 (m, 2H), 7.89-7.88 (m, 1H), 7.75 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.54 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.50-7.48 (m, 3H), 7.35 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.17-7.14 (m, 1H), 6.54 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.46 (dd, $J = 17.0, 10.2$ Hz, 1H), 6.27 (dd, $J = 17.0, 2.0$ Hz, 1H), 6.05 (br, 1H), 5.78 (dd, $J = 10.2, 2.0$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.05 (br, 4H), 2.45 (br, 4H), 2.23 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{N}_8\text{O}_3$, 589.2676; found, 589.2676.

20

【0080】

8-(1-アクリル-4-ピペリジニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン(化合物15)

【化38】



30

40

オレンジ色固体で、収率は53%であった。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 8.83 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.53 (br, 1H), 6.85 (dd, $J = 17.2, 10.4$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.13 (dd, $J = 17.2, 2.4$ Hz, 1H), 5.70 (dd, $J = 10.4, 2.4$ Hz, 1H), 5.29 (br, 1H), 4.60 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 4.20 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.13 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.59-2.5

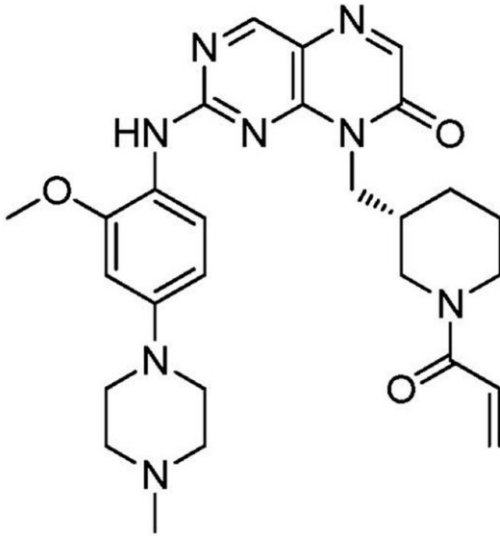
50

3 (m, 3H), 2.45 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.22 (s, 3H), 1.67 (d, $J = 10.0$ Hz, 2H), 1.23 (s, 1H).

【0081】

(R)-8-((1-アクリル-3-ピペリジニル)メチル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン(化合物16)

【化39】



10

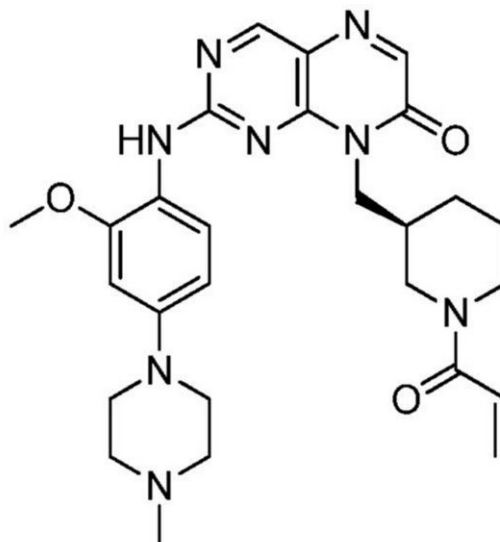
20

オレンジ色固体で、収率は61%であった。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 8.92 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.91-7.89 (m, 1H), 7.50-7.44 (m, 1H), 6.75 (dd, $J = 16.8, 10.4$ Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.56-6.51 (m, 1H), 6.02 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.64-5.54 (m, 1H), 4.13-4.10 (m, 1H), 3.94-3.83 (m, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.16 (br, 4H), 3.03-2.98 (m, 1H), 2.84-2.74 (m, 1H), 2.47 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 1.92-1.91 (m, 1H), 1.64-1.57 (m, 2H), 1.30-1.23 (m, 3H).

【0082】

(S)-8-((1-アクリル-3-ピペリジニル)メチル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン(化合物17)

【化40】



30

40

オレンジ色固体で、収率は54%であった。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 8.92 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.91-7.89 (m, 1H), 7.49-7.43 (m, 1H), 6.75 (dd, $J = 16.4, 10.4$ Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.56-6.51 (m, 1H), 6.02 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 5.64-5.54 (m, 1H), 4.13-4.08 (m, 1H), 3.94-3.86 (m, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.16 (br,

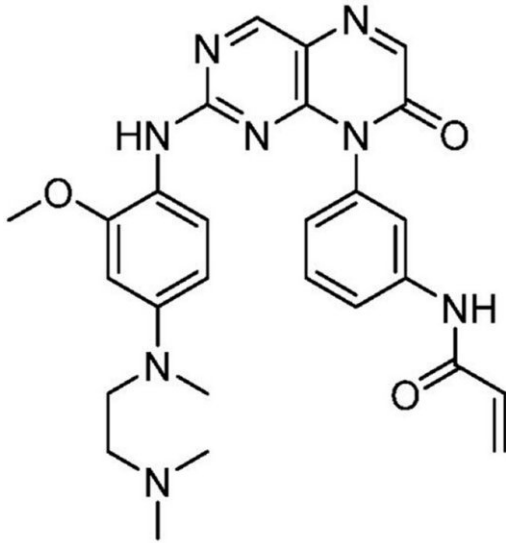
50

4H), 3.03-2.97 (m, 1H), 2.84-2.74 (m, 1H), 2.47 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 1.92 (br, 1H), 1.64-1.57 (m, 2H), 1.30-1.20 (m, 3H).

【0083】

N-(3-(2-((4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-2-メトキシフェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物18)

【化41】



10

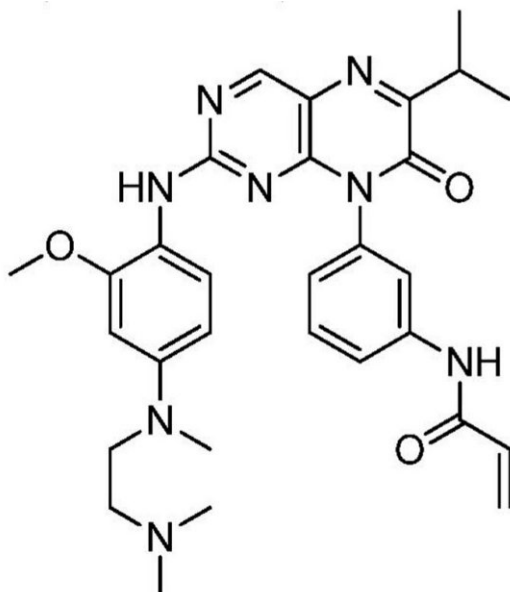
20

赤色固体で、収率は61%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.37 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.41 (br, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.84-7.83 (m, 1H), 7.69 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 7.51 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.26-7.19 (m, 1H), 7.09 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 16.8, 10.4 Hz, 1H), 6.29-6.24 (m, 2H), 5.77 (dd, J = 10.4, 2.0 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.35-2.33 (m, 2H), 2.19 (s, 6H).

【0084】

N-(3-(2-((4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-2-メトキシフェニル)アミノ)-6-イソプロピル-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物19)

【化42】



30

40

オレンジ色固体で、収率は62%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.37 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.84 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.51 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.26 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.45 (dd,

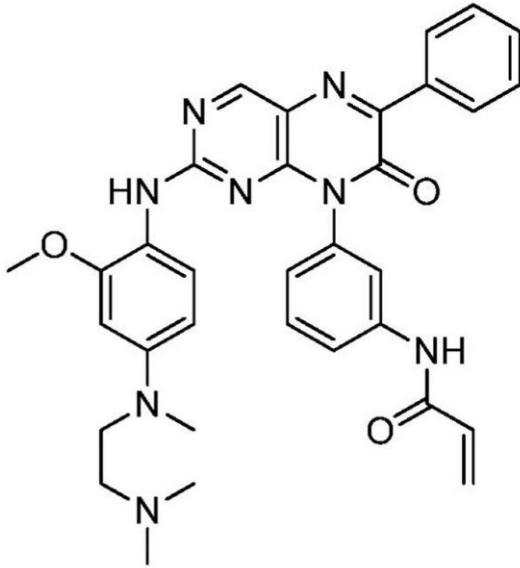
50

$J = 16.8, 10.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.29-6.24 (m, 2H), 5.87 (br, 1H), 5.76 (dd, $J = 10.4, 2.0 \text{ Hz}$, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.43-3.38 (m, 1H), 2.84 (s, 3H), 2.34 (t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.24 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 6H).

【 0 0 8 5 】

N-(3-(2-((4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-2-メトキシフェニル)アミノ)-7-オキソ-6-フェニル-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物20)

【化43】



10

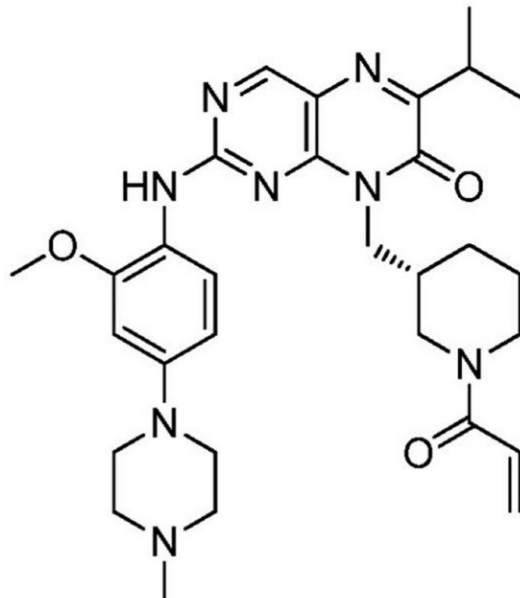
20

赤色固体で、収率は64%であった。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 10.39 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.38 (br, 1H), 8.21-8.18 (m, 2H), 7.87 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.53 (t, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.49-7.47 (m, 3H), 7.28 (br, 1H), 7.15 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.46 (dd, $J = 16.8, 10.0 \text{ Hz}$, 1H), 6.29-6.25 (m, 2H), 5.83 (br, 1H), 5.76 (dd, $J = 10.0, 2.0 \text{ Hz}$, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.35 (br, 2H), 2.85 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 5.6 \text{ Hz}$, 2H), 2.20 (s, 6H).

【 0 0 8 6 】

(R)-8-((1-アクリル-3-ピペリジニル)メチル)-6-イソプロピル-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物21)

【化44】



40

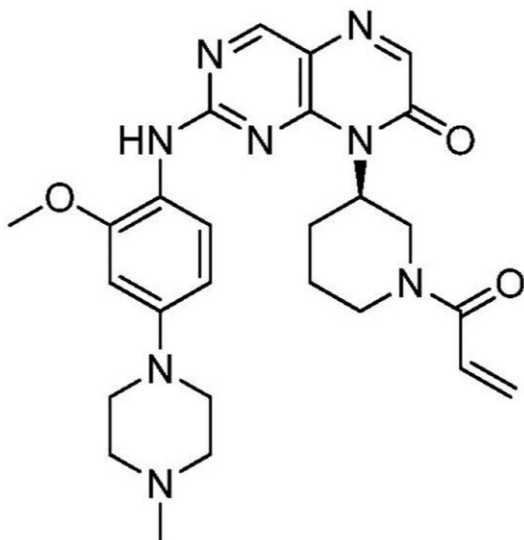
50

黄色固体で、収率は55%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.70(br, 2H), 7.57-7.52 (m, 1H), 6.76 (dd, J = 16.4, 10.4Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.57-6.51 (m, 1H), 6.05-5.98 (m, 1H), 5.64-5.53 (m, 1H), 4.15-3.96 (m, 3H), 3.90-3.87 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.16 (br, 4H), 3.04-2.75 (m, 2H), 2.47 (t, J = 3.6 Hz, 4H), 2.24 (s, 3H), 1.94 (br, 1H), 1.66-1.61 (m, 2H), 1.20 (d, J = 6.8 Hz, 6H).

【0087】

(R)-8-(1-アクリル-3-ピペリジニル)-2-((2-メトキシ)-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン(化合物22)

【化45】



10

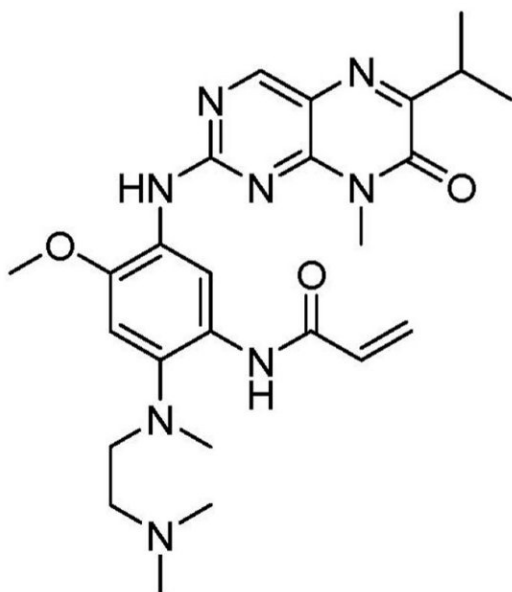
20

オレンジ色固体で、収率は46%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9.17 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.20 (br, 1H), 6.81 (br, 1H), 6.68-6.62 (m, 2H), 6.47 (br, 1H), 6.14-6.08 (m, 1H), 5.72-5.61 (m, 1H), 4.78-4.72 (m, 1H), 4.35-4.24 (m, 1H), 3.95-3.82 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.14 (br, 4H), 2.46 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.62 (br, 2H), 1.34-1.26 (m, 1H).

【0088】

N-(2-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-5-((6-イソプロピル-8-メチル)-7-オキソ-7,8-ジヒドロ-2-プテリジニル)アミノ)-4-メトキシフェニル)アクリルアミド(化合物23)

【化46】



40

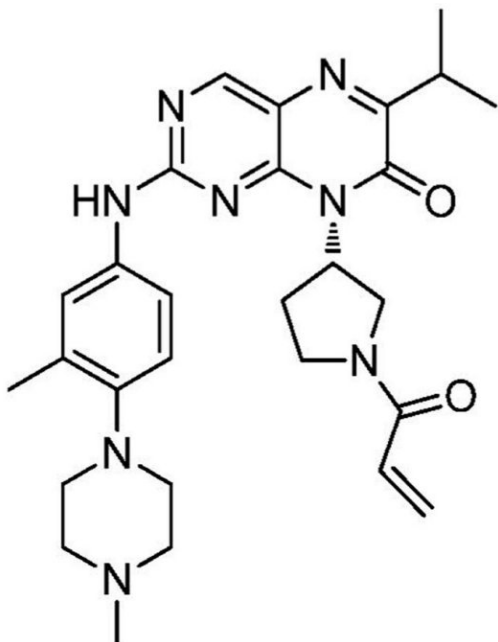
50

黄色固体で、収率は43%であった。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.08 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.42 (dd, $J = 16.4$, 10.0 Hz, 1H), 6.24 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 5.75 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 3.43-3.36 (m, 1H), 2.89 (br, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.35 (br, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.20 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H).

【0089】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-6-イソプロピル-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン(化合物24)

【化47】



10

20

黄色固体で、収率は81%であった。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 9.90 (s, 1H), 8.77 (s, 0.6H), 8.76 (s, 0.4H), 7.49-7.41 (m, 2H), 6.93 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.73-6.47 (m, 1H), 6.23-6.15 (m, 1H), 6.03-5.94 (m, 1H), 5.76-5.65 (m, 1H), 4.22 (t, $J = 8.8$ Hz, 0.6H), 4.02-3.86 (m, 1.7H), 3.83-3.65 (m, 1.7H), 3.47-3.40 (m, 1H), 2.92-2.85 (m, 1H), 2.78 (br, 4H), 2.46 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.14-2.07 (m, 1H), 1.20 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 517.3039; found, 517.3038.

30

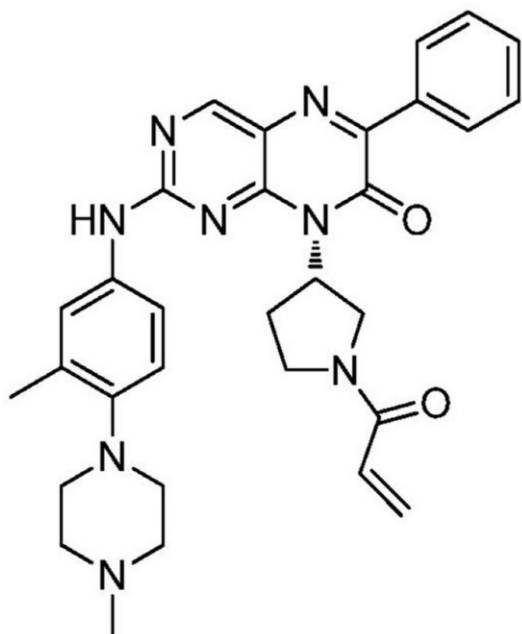
【0090】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン(化合物25)

40

50

【化 4 8】



10

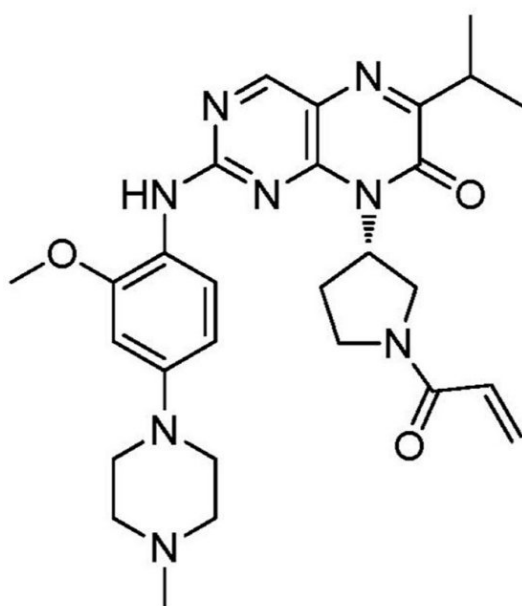
オレンジ色固体で、収率は77%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.09 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.13 (br, 2H), 7.52-7.49 (m, 5H), 6.98-6.96 (m, 1H), 6.74-6.48 (m, 1H), 6.23-6.15 (m, 1H), 6.13-6.02 (m, 1H), 5.73-5.65 (m, 1H), 4.28-4.24 (m, 0.5H), 4.12-3.90 (m, 1.7H), 3.85-3.67 (m, 1.8H), 3.52-3.44 (m, 1H), 2.94-2.89 (m, 1H), 2.82 (br, 4H), 2.28 (s, 3H), 2.22 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₁H₃₅N₈O₂ [M+H]⁺ 551.2883; found, 551.2880.

20

【 0 0 9 1】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-6-イソプロピル-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物26)

【化 4 9】



30

オレンジ色固体で、収率は54%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.71 (s, 1H), 8.69 (s, 0.5H), 8.68 (s, 0.5H), 7.39 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.41 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.17 (dd, J = 16.4 Hz, 10.8 Hz, 1H), 5.86-5.80 (m, 1H), 5.72-5.63 (m, 1H), 4.12 (t, J = 8.8 Hz, 0.6H), 3.91-3.86 (m, 0.6H), 3.77 (s, 3H), 3.69-

40

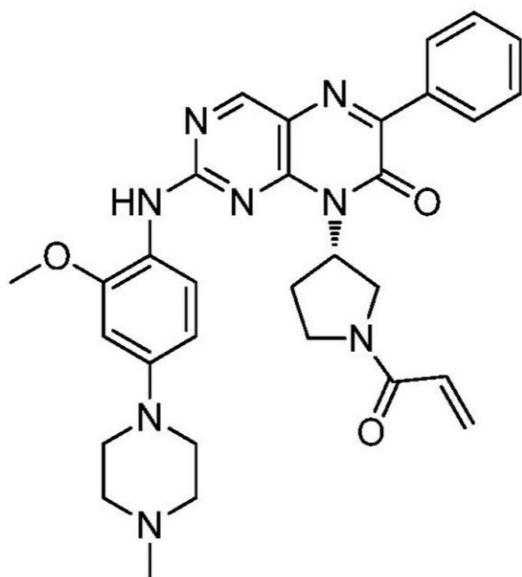
50

3.64(m, 1H), 3.59 (br, 1H), 3.40-3.38 (m, 0.8 H), 3.12(br, 4H), 2.81-2.70(m, 1H), 2.45 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.09-1.98(m, 1H), 1.18 (d, J = 6.4 Hz, 6H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for 533.2989; found, 533.2994.

【0092】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物27)

【化50】



10

20

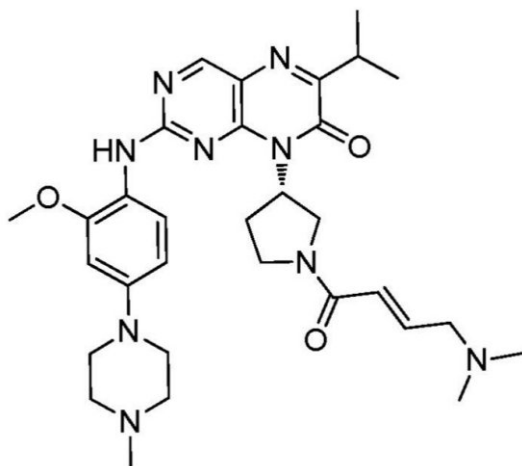
赤色固体で、収率は63%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.90 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.10 (br, 2H), 7.46 (br, 3H), 7.41-3.39 (m, 1H), 6.58-6.42 (m, 3H), 6.17(dd, J = 16.4 Hz, 10.4 Hz, 1H), 5.98-5.82 (m, 1H), 5.72-5.64 (m, 1H), 4.16 (t, J = 8.8 Hz, 0.6H), 3.95-3.90 (m, 0.6H), 3.78 (s, 3H), 3.71 (t, J = 9.6 Hz, 0.8H), 3.60 (br, 1H), 3.40-3.34 (m, 1H), 3.13 (br, 4H), 2.83-2.71 (m, 1H), 2.45 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.12-2.02 (m, 1H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₁H₃₅N₈O₃ [M+H]⁺ 567.2832; found, 567.2831.

30

【0093】

(S,E)-8-(1-(4-(ジメチルアミノ)-2-ブテノイル)-3-ピロリジニル)-6-イソプロピル-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物28)

【化51】



40

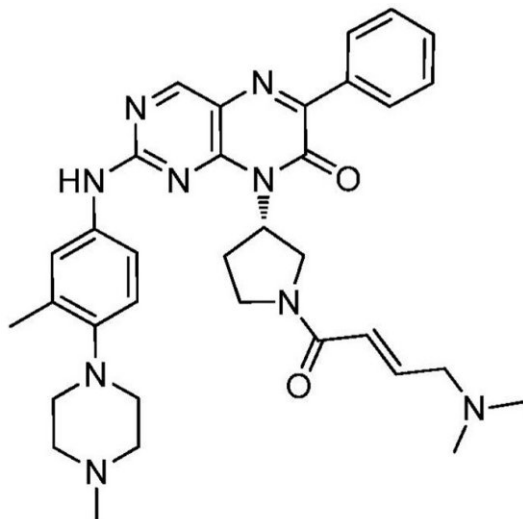
オレンジ色固体で、収率は89%であった。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.75 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.73 (s, 0.6H), 7.65 (s, 0.4H), 7.02-6.89 (m, 1H), 6.55-6.50

50

(m, 2H), 6.42-6.20 (m, 1H), 6.17-6.07 (m, 1H), 4.48-4.45 (m, 0.5H), 4.18-3.99 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.83 (t, J = 8.8 Hz, 0.8H), 3.76-3.69 (m, 0.6H), 3.65-3.56 (m, 0.7H), 3.52-3.44 (m, 1H), 3.22-3.18 (m, 4H), 3.15 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.04 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 2.62-2.60 (br, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.14-2.10 (m, 1H), 1.99 (s, 2H), 1.26 (t, J = 6.0 Hz, 6H).

【 0 0 9 4 】

(S,E)-8-(1-(4-(ジメチルアミノ)-2-ブテノイル)-3-ピロリジニル)-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物29)
【化52】



オレンジ色固体で、収率は82%であった。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.10 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.12 (s, 2H), 7.49 (br, 5H), 6.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.72-6.61 (m, 1H), 6.54-6.31 (m, 1H), 6.10-6.00 (m, 1H), 4.28-4.24 (m, 0.6H), 4.05-4.00 (m, 0.7H), 3.93-3.86 (m, 1.5H), 3.81-3.76 (m, 1.5H), 3.73-3.67 (m, 1H), 3.55 (br, 4H), 3.18 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 3.08 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 2.83 (br, 4H), 2.57 (s, 3H), 2.32 (s, 1.5H), 2.30 (s, 1.5H), 2.57 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.17 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₄H₄₂N₉O₂ [M+H]⁺ 608.3461; found, 608.3466.

【 0 0 9 5 】

(E)-8-(1-(4-(ジメチルアミノ)-2-ブテノイル)-4-ピペリジニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物30)

10

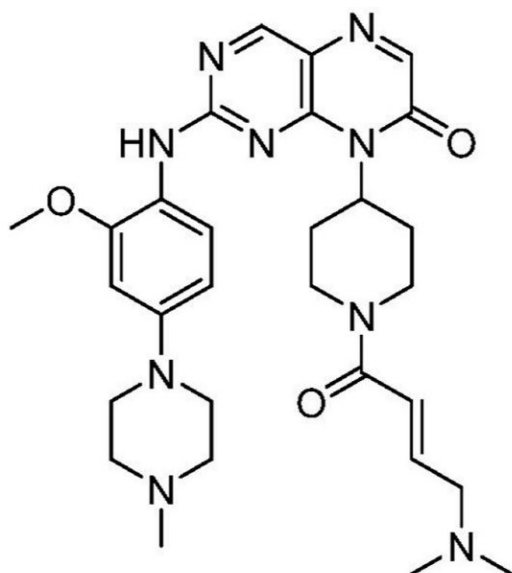
20

30

40

50

【化53】

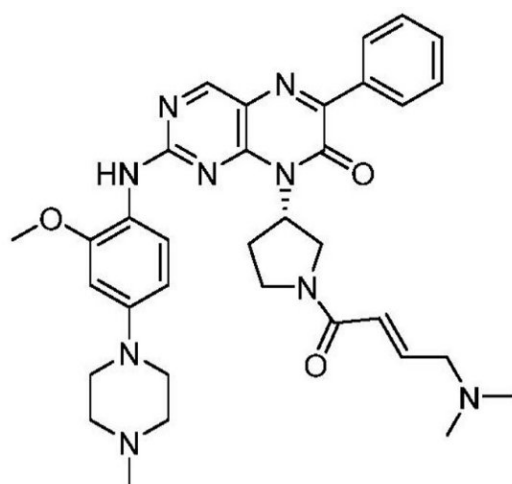


赤色固体 (収率 71%). mp 157.3-157.6 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 8.86 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.54 (br, 1H), 6.64-6.62 (m, 3H), 6.47 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.27 (br, 1H), 4.61-4.58 (m, 1H), 4.21-4.18 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.14 (br, 4H), 3.05-3.04 (br, 2H), 2.57 (br, 4H), 2.46 (t, $J = 4.0$ Hz, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.16 (s, 6H), 1.67 (br, 2H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{N}_9\text{O}_3$, 562.3254; found, 562.3259.

【0096】

(S,E)-8-(1-(4-(ジメチルアミノ)-2-ブテノイル)-3-ピロリジニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物31)

【化54】

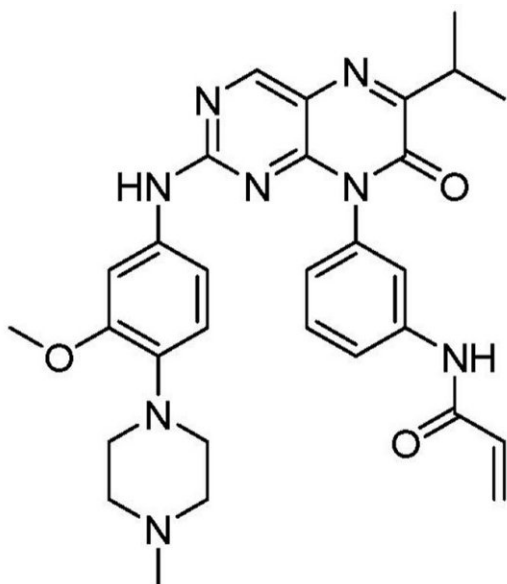


オレンジ色固体で、収率は89%であった。mp 253.1-254.0 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 9.92 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.80 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 8.12-8.11 (m, 2H), 7.31-7.67 (m, 1H), 7.47 (m, 3H), 7.42 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.71-6.62 (m, 1H), 6.59 (br, 1H), 6.46-6.42 (m, 1H), 4.19-4.10 (m, 2H), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.71 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H), 4.60-3.59 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.14 (br, 4H), 3.09-3.03 (m, 1H), 3.00 (d, $J = 5.6$, 1H), 2.87-2.74 (m, 1H), 2.47 (br, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.13 (s, 3H). HPLC純度: 98.1%, 保持時間 = 9.63 min. HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_9\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 624.3411; found, 624.3413.

【0097】

N-(3-(6-イソプロピル-2-((3-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物32)

【化55】



10

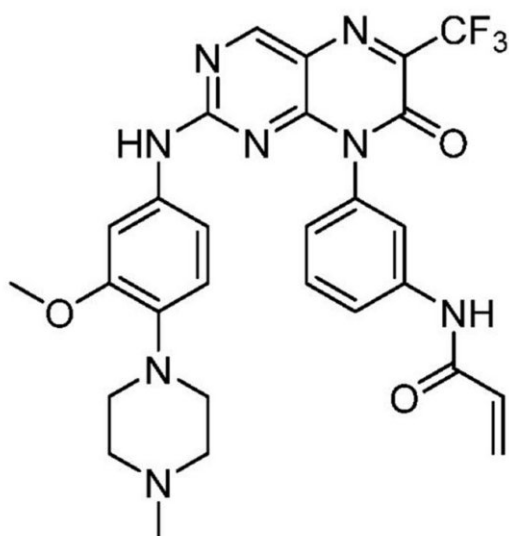
黄色固体 (収率 69%). mp 249.0-249.5 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 1 0.42 (s, 1H), 9.83 (br, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.53 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.04 (br, 1H), 6.96 (br, 1H), 6.49-6.42 (m, 2H), 6.26 (dd, $J = 16.8$ Hz, 2.0Hz, 1H), 5.77 (dd, $J = 10.0$ Hz, 2.0Hz, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.44-3.39 (m, 1H), 2.82 (br, 4H), 2.42 (br, 4H), 2.21 (s, 3H), 1.25 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_3$, 555.2832; found, 555.2838.

20

【0098】

N-(3-(2-((3-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-6-(トリフルオロメチル)-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物33)

【化56】



30

褐色固体 (収率 59%). mp 300 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.44 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.56 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.49-6.42 (m, 2H), 6.27 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.53 (s, 3H), 2.83 (br, 4H), 2.41 (br, 4H), 2.21 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M}$

40

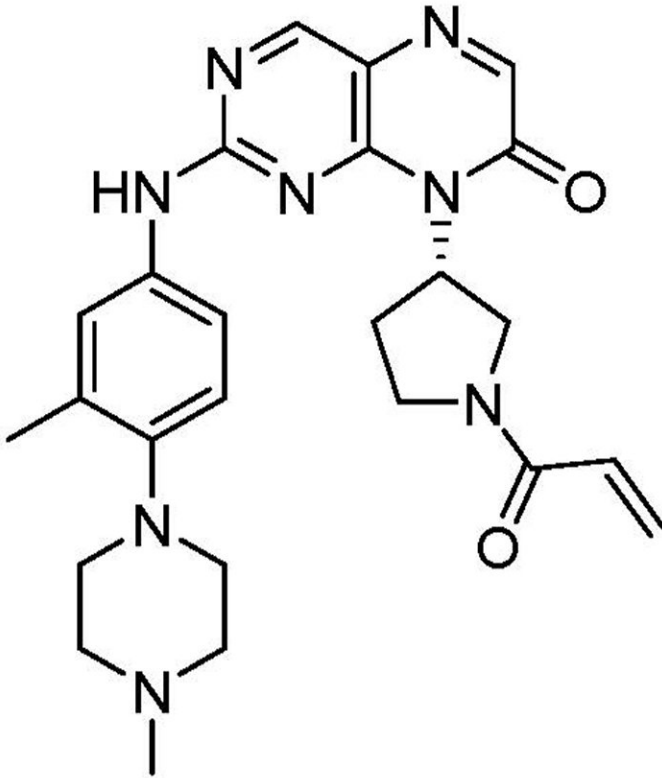
50

+H]⁺ calcd for C₂₈H₂₈N₈O₃F₃ , 581.2236 ; found, 581.2241.

【 0 0 9 9 】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物34)

【化57】



10

20

黄色固体 (収率 45%) . mp 215.5-215.7 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.08 (s, 1H), 8.81 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.47-7.42 (m, 2H), 6.93 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.72-6.46 (m, 1H), 6.22-6.6.14 (m, 1H), 5.98-5.88 (m, 1H), 5.75-5.64 (m, 1H), 4.20 (t, J = 8.8, 1H), 4.00-3.64 (m, 4H), 3.47-3.40 (m, 1H), 2.78 (br, 4H), 2.45 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.20 (br, 4H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₂₅H₃₁N₈O₂ , 475.2570 ; found, 475.2550.

30

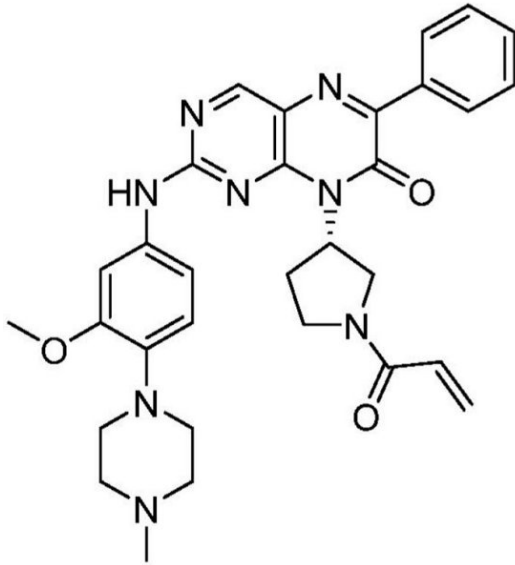
【 0 1 0 0 】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((3-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物35)

40

50

【化 5 8】

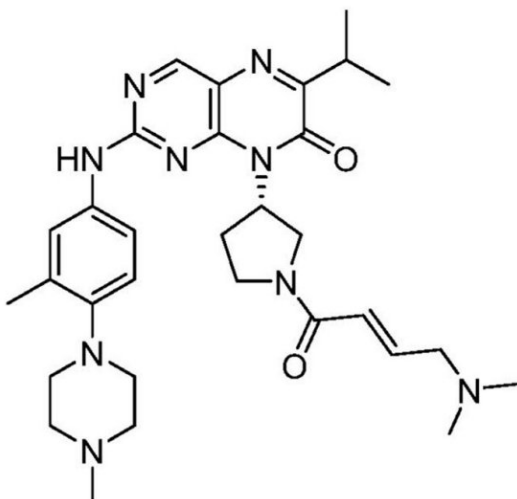


オレンジ色固体 (収率 40%) . mp 208.3-208.8 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 10.10 (s, 1H), 8.88 (d, $J = 3.2$, 1H), 8.13-8.12 (m, 2H), 7.48 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.34-7.27 (m, 2H), 6.81 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.74-6.48 (m, 1H), 6.23-6.15 (m, 1H), 6.12-6.04 (m, 1H), 5.76-5.65 (m, 1H), 4.25 (t, $J = 9.2$, 1H), 4.13-3.76 (m, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.74-3.67 (m, 1H), 3.51-3.44 (m, 1H), 2.91 (br, 4H), 2.44 (br, 4H), 2.21 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_3$, 567.2832; found, 567.2835.

【 0 1 0 1】

(S,E)-8-(1-(4-(ジメチルアミノ)-2-ブテノイル)-3-ピロリジニル)-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-イソプロピル-7(8H)-プテリジノン (化合物 36)

【化 5 9】



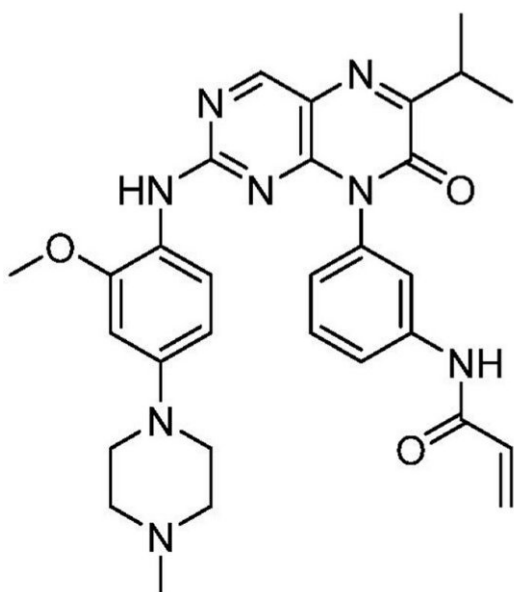
赤色固体 (収率 62%) . mp 159.9-160.7 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 9.94 (s, 1H), 8.77 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.49-7.40 (m, 2H), 6.94 (d, $J = 8.4$, 1H), 6.72-6.61 (m, 1H), 6.53 (d, $J = 15.2$ Hz, 0.5H), 6.34 (d, $J = 15.2$ Hz, 0.5H), 6.04-5.91 (m, 1H), 4.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.00-3.64 (m, 4H), 3.40-3.35 (m, 2H), 3.22 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 3.10 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 2.82 (br, 4H), 2.61 (br, 4H), 2.34 (d, 11.2 Hz, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.20 (br, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.20 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_9\text{O}_2$, 574.3618; found,

574.3584.

【0102】

N-(3-(6-イソプロピル-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物37)

【化60】



10

20

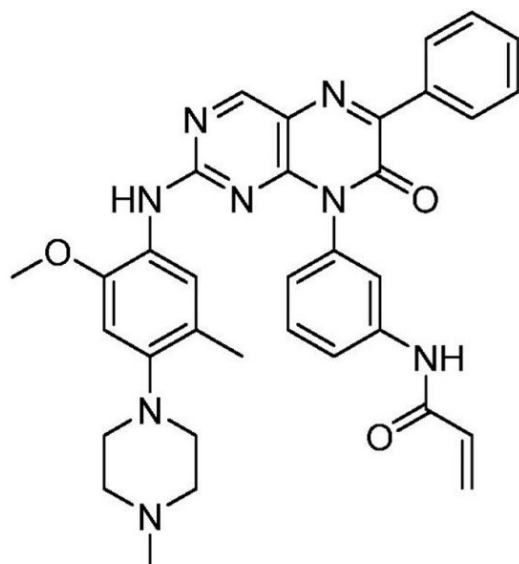
オレンジ色固体 (収率 65%) .mp 242.9-243.9 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.42 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.53 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.10 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 6.53 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H), 6.46 (dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 10.0Hz , 1H), 6.27 (dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 2.0Hz , 1H), 6.12-6.00 (m, 1H), 5.78 (dd, $J = 10.0\text{Hz}$, 2.0Hz), 3.76 (s, 3H), 3.44-3.41 (m, 1H), 3.04 (br, 4H), 2.43 (t, $J = 4.8\text{Hz}$, 4H), 2.22 (s, 3H), 1.25 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_3$, 555.2832; found, 555.2821.

30

【0103】

N-(3-(2-((2-メトキシ-5-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-6-フェニル-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物38)

【化61】



40

50

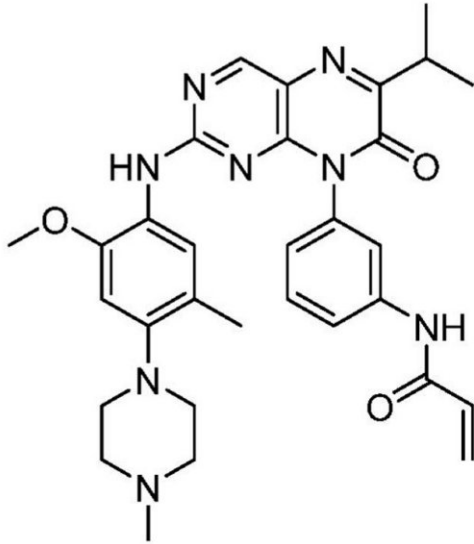
黄色固体 (収率 62%). mp 292.9-293.4 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.41 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.36 (br, 1H), 8.21-8.18 (m, 2H), 7.84 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.55 (t, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 7.50-7.48 (m, 3H), 7.33 (s, 1H), 7.16 (d, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.45 (dd, $J = 16.8\text{ Hz}, 10.0\text{ Hz}$, 1H), 6.26 (dd, $J = 16.8\text{ Hz}, 1.6\text{ Hz}$, 1H), 5.77 (dd, $J = 10.0\text{ Hz}, 1.6\text{ Hz}$, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.77 (br, 4H), 2.48 (br, 4H), 2.25 (s, 3H), 1.85 (br, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_3$, 603.2832; found, 603.2834.

【 0 1 0 4 】

N-(3-(6-イソプロピル-2-((2-メトキシ-5-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物39)

10

【化62】



20

オレンジ色固体 (収率 60%). mp 227.5-228.5 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.40 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.82 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.53 (t, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.11 (d, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.44 (dd, $J = 16.8\text{ Hz}, 10.0\text{ Hz}$, 1H), 6.25 (dd, $J = 16.8\text{ Hz}, 0.8\text{ Hz}$, 1H), 5.75 (d, $J = 10.0\text{ Hz}$, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.43-3.39 (m, 1H), 2.77 (br, 4H), 2.26 (s, 3H), 1.85 (br, 3H), 1.24 (d, $J = 6.8\text{ Hz}$, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_3$, 569.2989; found, 569.2989.

30

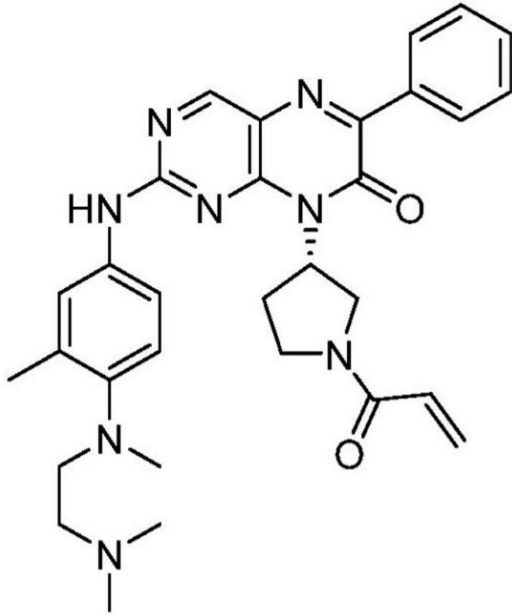
【 0 1 0 5 】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-3-メチルフェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物40)

40

50

【化 6 3】



10

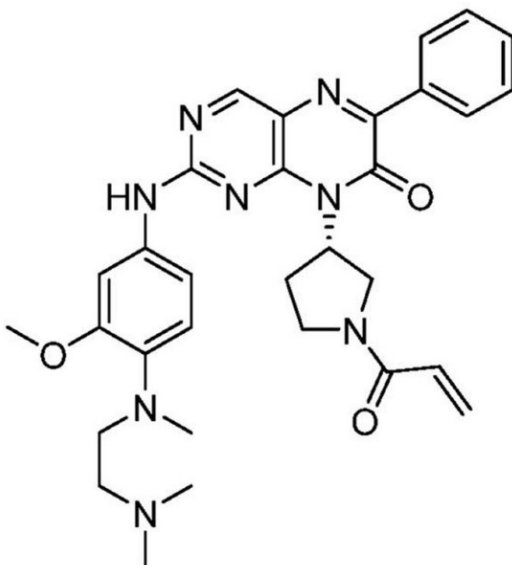
赤色固体 (収率 40%). mp 256.1-256.4 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 10.08 (s, 1H), 8.88 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 8.13-8.12 (m, 2H), 7.52-7.45 (m, 5H), 7.02 (dd, $J = 8.4\text{Hz}$, 5.6Hz, 1H), 6.74-6.49 (m, 1H), 6.23-6.15 (m, 1H), 6.12-6.02 (m, 1H), 5.75-5.65 (m, 1H), 4.28-4.23 (m, 1H), 4.15-4.12 (m, 1H), 3.94-3.68 (m, 3H), 3.52-3.44 (m, 1H), 2.90 (t, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.13 (br, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_2$, 553.3039; found, 553.3031.

20

【 0 1 0 6】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-2-((4-((2-(ジメチルアミノ)エチル)(メチル)アミノ)-3-メトキシフェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物 41)

【化 6 4】



30

深赤色固体 (収率 49%). mp 260.0-260.2 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 10.09 (s, 1H), 8.88 (d, $J = 2.8\text{Hz}$, 1H), 8.131 (br, 2H), 7.49-7.48 (m, 3H), 7.34-7.25 (m, 2H), 6.81 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 6.76-6.49 (m, 1H), 6.23-6.05 (m, 2H), 5.75-5.65 (m, 1H), 4.25 (t, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 4.06-3.82 (m, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.74-3.67 (m, 1H), 3.05 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.94-2.79 (m, 1H), 2.68 (s, 3H), 2.36

40

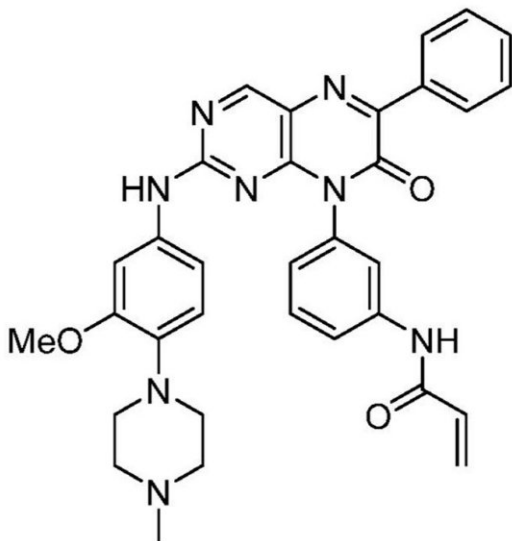
50

(t, J = 7.2Hz, 2H), 2.13 (s, 6H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₁H₃₇N₈O₃, 569.2989; found, 569.2988.

【 0 1 0 7 】

N-(3-(2-((3-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-6-フェニル-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物42)

【化65】



10

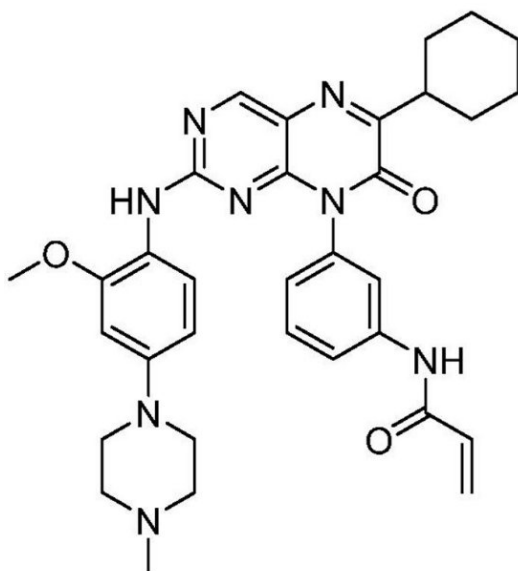
20

赤色固体 (収率 81%). mp 264.7-265.5 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 1 0.43 (s, 1H), 10.01 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.22-8.19 (m, 2H), 7.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.56 (t, J = 8.0Hz, 1H), 7.49 (t, J = 3.2Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.07 (br, 1H), 6.97 (br, 1H), 6.46 (dd, J = 16.8Hz, 10.0Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 16.8Hz, 1.6Hz, 1H), 5.77 (dd, J = 10.0Hz, J = 1.6Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 2.83 (br, 4H), 2.41 (br, 4H), 2.21 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₃H₃₃N₈O₃, 589.2676; found, 589.2642.

【 0 1 0 8 】

N-(3-(6-シクロヘキシル-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物43)

【化66】



40

黄色固体 (収率 82%). mp 268.9-269.4 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 1 0.40 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.85 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.69 (t, J = 1

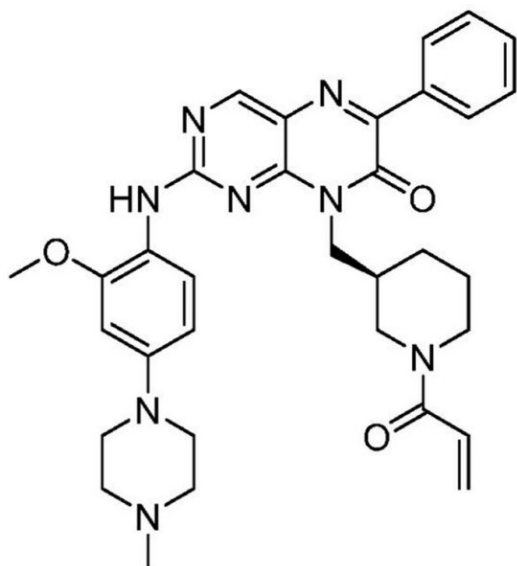
50

.6Hz, 1H), 7.52 (t, J = 8.0Hz, 1H), 7.33 (d, J = 9.2Hz, 1H), 7.10-7.08 (m, 1H), 6.53 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 16.8Hz, 10.0Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 16.8 Hz, 2.0Hz, 1H), 6.06 (br, 1H), 5.77 (dd, J = 10.0Hz, 2.0Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.03 (br, 4H), 2.43 (t, J = 4.8Hz, 4H), 2.22 (s, 3H), 3.41 (d, J = 12.0Hz, 2H), 1.82 (d, J = 12.0Hz, 2H), 1.72 (d, J = 12.0Hz, 2H), 1.53-1.23 (m, 6H)。HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₃H₃₉N₈O₃, 595.3145; found, 595.3141.

【0109】

(S)-8-((1-アクリル-3-ピペリジニル)メチル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン(化合物44)

【化67】



赤色固体(収率49%)。mp 208.3-209.3 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.88 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.18-8.16 (m, 2H), 7.59-7.52 (m, 1H), 7.47 (t, J = 3.2 Hz, 3H), 6.75 (dd, J = 16.4 Hz, 10.0 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.55 (dd, J = 17.2 Hz, 8.8 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 5.58 (dd, J = 32.8 Hz, 10.0 Hz, 1H), 4.19-4.06 (m, 3H), 3.89-3.83 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.17 (br, 4H), 3.05-2.55 (m, 2H), 2.48 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.00 (br, 1H), 1.66 (br, 2H), 1.26-1.23 (m, 2H)。HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₃H₃₉N₈O₃, 595.3145; found, 595.3157.

【0110】

(R)-8-(1-アクリル-3-ピペリジニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン(化合物45)

10

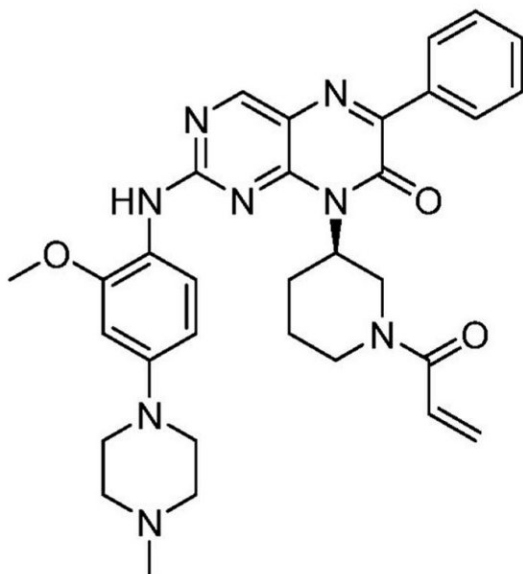
20

30

40

50

【化 6 8】

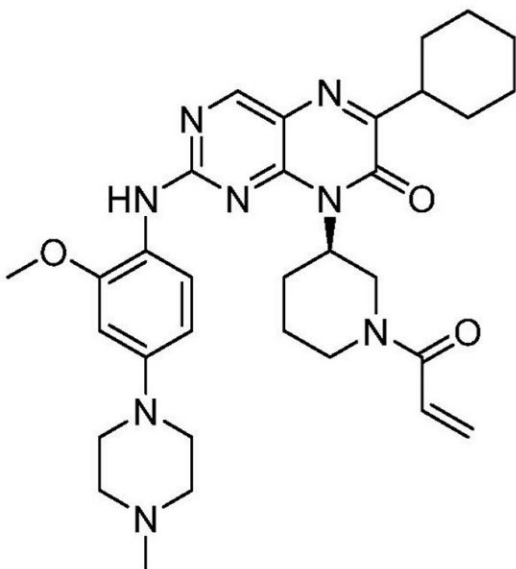


赤色固体 (収率 38%). mp 134.9-135.1 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 9.17 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.11-8.09 (m, 2H), 7.77-7.46 (m, 3H), 7.24 (br, 1H), 6.84-6.63 (m, 2H), 6.49 (s, 1H), 6.06-6.19 (m, 1H), 5.67 (dd, $J = 37, 2\text{Hz}$, 9.6 Hz, 1H), 5.00-4.27 (m, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.14 (s, 4H), 2.49 (s, 4H), 2.24 (s, 3H), 1.69 (br, 2H), 1.35 (br, 1H), 1.23 (s, 1H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_3$, 581.2989; found, 581.2972.

【 0 1 1 1】

(R)-8-(1-アクリル-3-ピペリジニル)-6-シクロヘキシル-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物46)

【化 6 9】



黄色固体 (収率 53%). mp 94.2-94.7 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8.96 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 7.23 (br, 1H), 6.83-6.61 (m, 2H), 6.47 (s, 1H), 6.15-6.08 (m, 1H), 5.66 (dd, $J = 36\text{Hz}$, 9.6Hz, 1H), 4.84 (br, 1H), 4.29 (br, 1H), 3.95 (br, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.13 (br, 4H), 2.46 (br, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.81-1.63 (m, 7H), 1.44-1.23 (m, 9H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{N}_8\text{O}_3$, 587.3458; found 587.3458.

【 0 1 1 2】

10

20

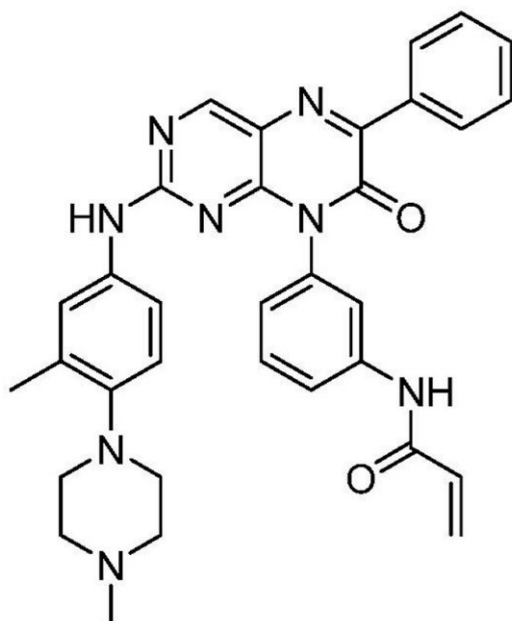
30

40

50

N-(3-(2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-6-フェニル-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物47)

【化70】



10

20

オレンジ色固体 (収率 68%). mp 265.0-265.2 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 10.43(s, 1H), 10.04(s, 1H), 8.92(s, 1H), 8.22-8.19(m, 2H), 7.89(d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.81(s, 1H), 7.57(t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.50-7.49(m, 3H), 7.25(s, 1H), 7.19(s, 1H), 7.17(s, 1H), 6.71(br, 1H), 6.46(dd, $J = 16.8$ Hz, 10.4 Hz, 1H), 6.26(dd, $J = 16.8$ Hz, 1.6 Hz, 1H), 5.77(dd, $J = 10.4$ Hz, 1.6 Hz, 1H), 2.7(br, 4H), 2.44(br, 4H), 2.23(s, 3H), 1.98(s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[M + H]^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{N}_8\text{O}_2$, 573.2726; found, 573.2729.

【0113】

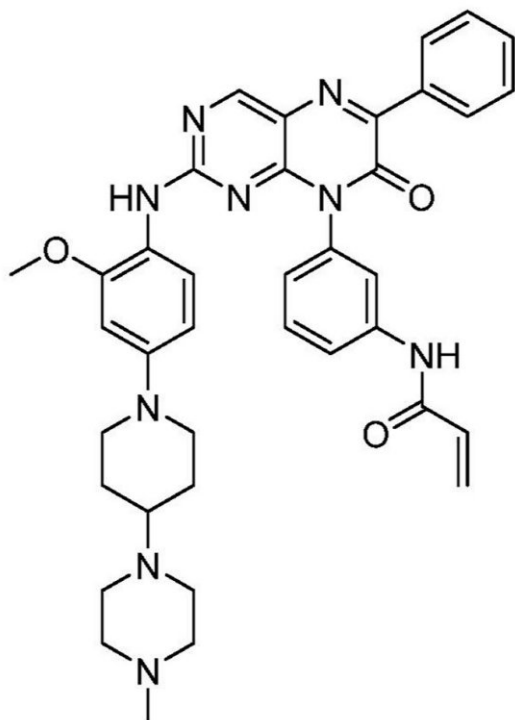
N-(3-(2-((2-メトキシ-4-(4-(4-メチル-1-ピペラジニル)ピペリジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-6-フェニル-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物48)

30

40

50

【化71】



10

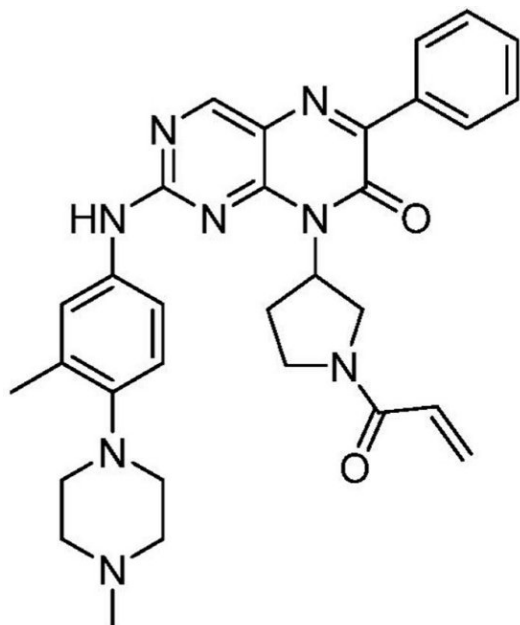
20

赤色固体 (収率 40%). mp 300 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.44(s, 1H), 8.86(s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.20-8.19(m, 2H), 7.90(br, 1H), 7.75(s, 1H), 7.54(t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.50-7.48(m, 3H), 7.33(d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 7.15(d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 6.52(br, 1H), 6.47(dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 10.0Hz, 1H), 6.27(dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 1.6Hz, 1H), 6.04(br, 1H), 5.78(dd, $J = 10.0\text{Hz}$, 1.6Hz), 3.77(s, 3H), 3.61(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 2.60-2.54(m, 5H), 2.39-2.30(m, 5H), 1.81(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 1.51-1.43(m, 2H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{N}_9\text{O}_3$, 672.3411; found, 672.3407.

【0114】

8-(1-アクリル-3-ピロリジンル)-2-((3-メチル-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物49)

【化72】



40

50

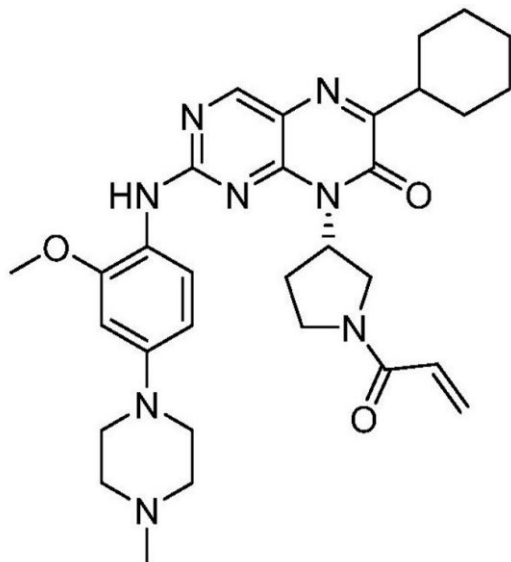
オレンジ色固体 (収率 65%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.08(s, 1H), 8.87(d, $J = 2.8\text{Hz}$, 1H), 8.13-8.11(m, 2H), 7.51-7.46(m, 5H), 6.97-6.93(m, 1H), 6.70(dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 10.4, 1H), 6.51(dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 10.4Hz, 1H), 6.23-6.15(m, 1H), 6.11-6.01(m, 1H), 5.75-5.65(m, 1H), 4.25(t, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 4.06-3.68(m, 3H), 3.52-3.45(m, 1H), 2.95-2.86(m, 1H), 2.79(br, 4H), 2.46(br, 4H), 2.23(s, 3H), 2.21(s, 3H), 2.17-2.12(m, 1H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_2$, 551.2883; found, 551.2883.

【 0 1 1 5 】

(S)-8-(1-アクリル-3-ピロリジニル)-6-シクロヘキシル-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7(8H)-プテリジノン (化合物50)

10

【化73】



20

オレンジ色固体 (収率 49%). mp 117.9-118.2 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 8.71(s, 1H), 8.66(d, $J = 3.6\text{Hz}$, 1H), 7.39(t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 6.63-6.59(m, 0.5H), 6.57(s, 1H), 6.49-6.45(m, 0.5H), 6.41(d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H), 6.20-6.13(m, 1H), 5.82(br, 1H), 5.73-5.63(m, 1H), 4.11(t, $J = 9.2\text{Hz}$, 0.5H), 3.87(dd, $J = 12.0\text{Hz}$, 8.8Hz, 0.5H), 3.69-3.58(m, 2H), 3.18-3.04(m, 5H), 2.80-2.65(m, 1H), 2.45(br, 4H), 2.23(s, 3H), 2.09 (br, 0.5H), 1.99(br, 0.5H), 1.81(t, $J = 11.2\text{Hz}$, 4H), 1.70(d, $J = 11.2\text{Hz}$, 1H), 1.45-1.16(m, 6H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_8\text{O}_3$, 573.3302; found, 573.3304.

30

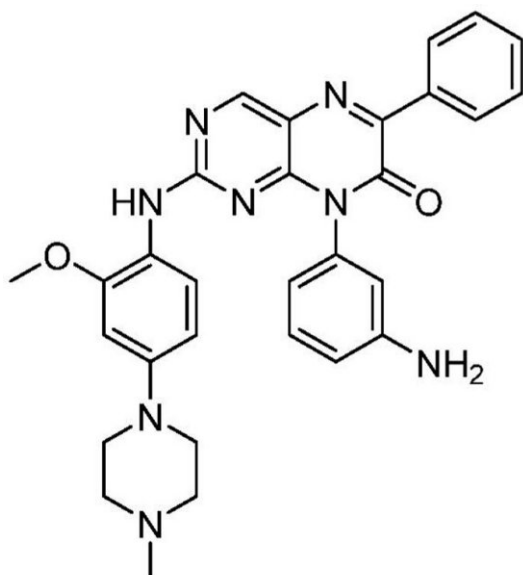
【 0 1 1 6 】

8-(3-アミノフェニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物51)

40

50

【化 7 4】



10

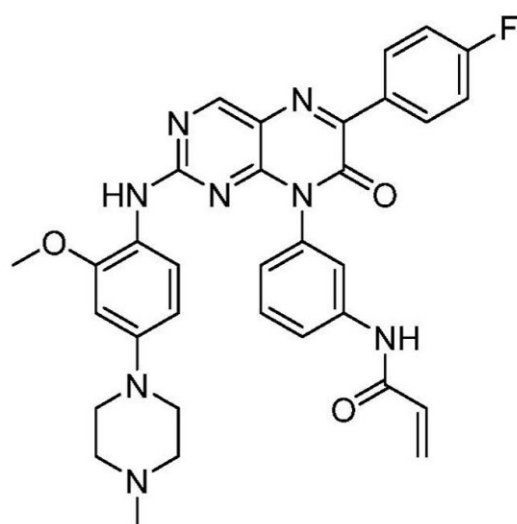
オレンジ色固体 (収率 84%). mp 235.5-235.7 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 8.84 (s, 1H), 8.39 (br, 1H), 8.19-8.17 (m, 2H), 7.49-7.47 (m, 4H), 7.21 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 6.72 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 6.571-6.56 (m, 2H), 6.52 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 6.19 (br, 1H), 5.34 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.08 (br, 4H), 2.45 (t, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 2.23 (s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_2$, 535.2570; found, 535.2569.

20

【 0 1 1 7】

N-(3-(6-(4-フルオロフェニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物52)

【化 7 5】



30

オレンジ色固体 (収率73%). mp 262.3-262.7 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 10.43(s, 1H), 8.87(s, 1H), 8.44(s, 1H), 8.29(dd, $J = 8.4\text{Hz}$, 6.0Hz , 1H), 7.89(br, 1H), 7.77(s, 1H), 7.55(t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.36-7.31(m, 3H), 7.15(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.54(s, 1H), 6.47(dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 10.0Hz , 1H), 6.28(dd, $J = 16.8\text{Hz}$, 1.6Hz , 1H), 6.04(br, 1H), 5.78(dd, $J = 10.0\text{Hz}$, 1.6Hz , 1H), 3.78(s, 3H), 3.05(br, 4H), 2.44(t, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 2.23(s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{O}_3\text{F}$, 607.2581; found, 607.2589.

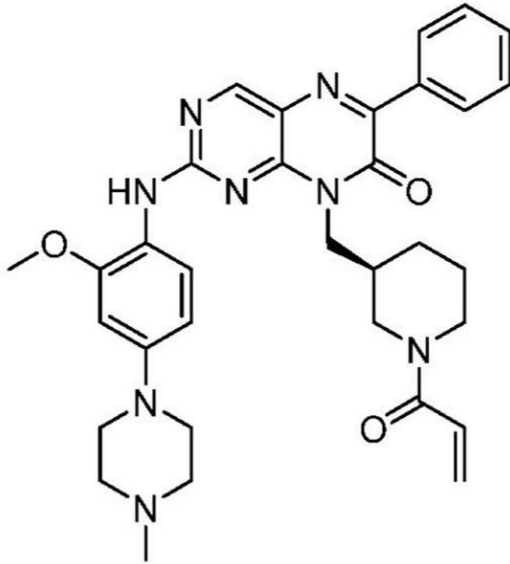
40

【 0 1 1 8】

50

(S)-8-((1-アクリル-3-ピペリジニル)メチル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物53)

【化76】



10

赤色固体で、収率は49%であった。mp 208.3-209.3 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.88 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.18-8.16 (m, 2H), 7.59-7.52 (m, 1H), 7.47 (t, J = 3.2Hz, 3H), 6.75 (dd, J = 16.4Hz, 10.0, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.55 (dd, J = 17.2Hz, 8.8Hz, 1H), 6.03 (d, J = 16.4Hz, 1H), 5.58 (m, 1H), 4.19-4.06 (m, 3H), 3.89-3.83 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.17 (br, 4H), 3.05-2.55 (m, 2H), 2.48 (t, J = 4.8Hz, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.00 (br, 1H), 1.66 (br, 2H), 1.26-1.23 (m, 2H). HPLC純度: 95.1%, 保持時間 = 15.82 min. HRMS (ESI) (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₃₃H₃₉N₈O₃ [M+H]⁺ 595.3145; found, 595.3157.

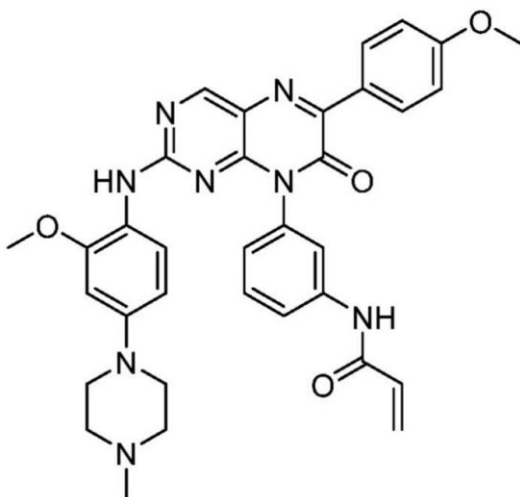
20

【0119】

N-(3-(2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-(4-メトキシフェニル)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物54)

30

【化77】



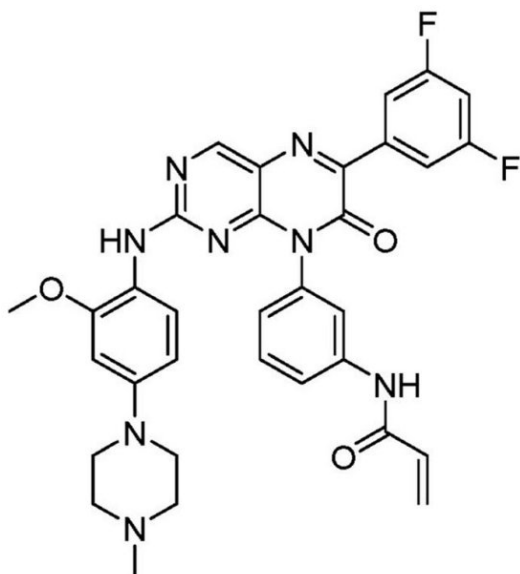
40

オレンジ色固体 (収率 65%). mp 296.5-297.3 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.43 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.26 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.89 (d, J = 7.2Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.55 (t, J = 8.0Hz, 1H), 7.36 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.15 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.05 (d, J = 9.2Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.47 (dd, J = 16.8Hz, 10.0Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 16.8Hz, 1.6Hz, 1H), 6.06 (br, 1H), 5.78 (d, J = 10.0Hz,

50

1.6Hz, 1H), 3.84(s, 3H), 3.78(s, 3H), 3.05(br, 4H), 2.44(br, 4H), 2.23(s, 3H).
HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₄H₃₅N₈O₄, 619.2781; found, 619.2780 .
【 0 1 2 0 】

N-(3-(6-(3,5-ジフルオロフェニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物55)
【化78】



10

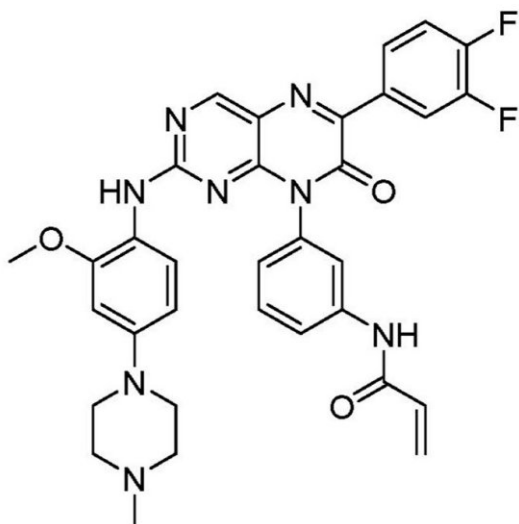
20

赤色固体 (収率 64%). mp 291.2-291.4 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.43(s, 1H), 8.92(s, 1H), 8.57(s, 1H), 7.96(d, J = 7.2Hz, 1H), 7.87(br, 1H), 7.77(s, 1H), 7.54(t, J = 8.0Hz, 1H), 7.43-7.39(m, 1H), 7.33(s, 1H), 7.14(d, J = 7.2Hz, 1H), 6.54(s, 1H), 6.47(dd, J = 16.8Hz, 10.0, 1H), 6.27(dd, J = 16.8Hz, 1.6Hz, 1H), 6.00(br, 1H), 5.78(dd, J = 10.0Hz, 1.6Hz, 1H), 3.77(s, 3H), 3.05(br, 4H), 2.43(br, 4H), 2.22(s, 3H). HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₃H₃₁N₈O₃F₂, 625.2487; found, 625.2482 .

【 0 1 2 1 】

30

N-(3-(6-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物56)
【化79】



40

オレンジ色固体 (収率 67%). Mp 300 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.43(s, 1H), 8.89(s, 1H), 8.50(br, 1H), 8.28-8.23(m, 1H), 8.15(br, 1H), 7.87(s,

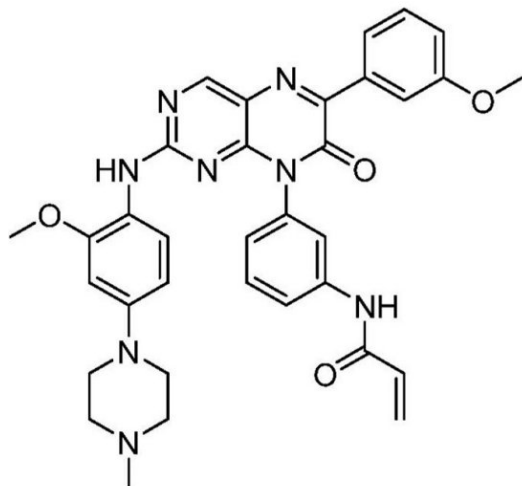
50

1H), 7.77(s, 1H), 7.61-7.52(m, 2H), 7.34(s, 1H), 7.14(d, J = 8.4Hz, 1H), 6.54(s, 1H), 6.47(dd, J = 16.8Hz, 10.0Hz, 1H), 6.27(dd, J = 16.8Hz, 1.6Hz, 1H), 6.02(br, 1H), 5.78(dd, J = 10.0Hz, 1.6Hz, 1H), 3.77(s, 3H), 3.05(br, 4H), 2.43(t, J = 4.4Hz, 4H), 2.22(s, 3H).HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₃H₃₁N₈O₃F₂, 625.2487; found, 625.2478.

【 0 1 2 2 】

N-(3-(2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-(3-メトキシフェニル)-7-オキソ-8(7H)-プテリジニル)フェニル)アクリルアミド (化合物57)

【化80】



10

20

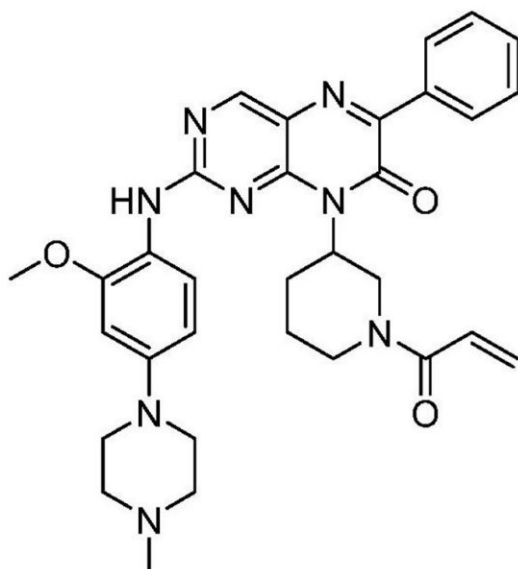
褐色固体 (収率 52%). Mp 300 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10.42(s, 1H), 8.88(s, 1H), 8.45(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.82-7.81(m, 2H), 7.76(s, 1H), 7.55(t, J = 8.0Hz, 1H), 7.41(t, J = 8.0Hz, 1H), 7.36-7.34(br, 1H), 7.16(d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.08(d, J = 8.4Hz, 1H), 6.54(s, 1H), 6.47(dd, J = 16.8Hz, 10.4Hz, 1H), 6.28(d, J = 17.2Hz, 1H), 6.04(br, 1H), 5.80(m, 1H), 3.82(s, 3H), 3.78(s, 3H), 3.05(br, 4H), 2.44(br, 4H), 2.23(s, 3H).HRMS (ESI) (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₃₄H₃₅N₈O₄, 619.2781; found, 619.2780 .

30

【 0 1 2 3 】

8-(1-アクリル-3-ピペリジニル)-2-((2-メトキシ-4-(4-メチル-1-ピペラジニル)フェニル)アミノ)-6-フェニル-7(8H)-プテリジノン (化合物58)

【化81】



40

50

オレンジ色固体 (収率 40%). mp $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 9.19 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.11-8.09 (m, 2H), 7.47-7.46 (m, 3H), 7.22 (br, 1H), 6.88-6.63 (m, 2H), 6.49 (br, 1H), 6.06-6.19 (m, 1H), 5.67 (dd, $J = 36.8\text{Hz}, 10\text{Hz}$, 1H), 4.91-3.99 (m, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.14 (br, 4H), 2.47 (br, 4H), 2.24 (s, 3H), 1.69 (br, 2H), 1.35 (br, 1H), 1.23 (s, 1H). HRMS (ESI) (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_3$, 581.2989; found, 581.2992.

【0124】

実施例2

生物活性測定部分：分子レベル（キナーゼ）活性測定：

EGFR-TKはアデノシン三リン酸（ATP）の一つのリン酸基のポロペプチド基質である poly (Glu, Tyr) $_4$: $_1$ への転移を触媒することができ、ポロペプチド基質にクマリン (coumarin) とフルオレセイン (fluorescein) の2つの蛍光基が標記された。蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) の方法に基づき、EGFR-TKはATPの反応を触媒することによって2つの蛍光基を接近させ、供与体 (クマリン、coumarin) は400 nMで励起され、一部のエネルギーが放出され、発光波長は445 nMで、もう一部のエネルギーがフルオレセインに移動し、発光波長は520 nMである。異なる化合物はEGFR-TKに対する抑制程度が異なるため、基質のリン酸化の程度が異なることで、酵素の触媒による基質のリン酸化の百分率の比を測定することによって、異なる化合物の抑制率を計算した。

【0125】

1. 実験手順：

384ウェルプレートに2.5 μL のテスト化合物、5 μL のキナーゼ/ペプチド基質混合物、2.5 μL ATP溶液を入れ、10 μL の反応系を30s振とうして均一に混合し、室温で1 hインキュベートした。5 μL の呈色溶液 (Development Solution) を入れ、15 μL の反応系を30s振とうして均一に混合し、室温で1 hインキュベートした。5 μL の停止試薬を入れ、合計体積20 μL の系を30s振とうして均一に混合し、マイクロプレートリーダーで蛍光シグナルの検出を行い、励起波長は400 nmで、発光波長はそれぞれ445 nmと520 nmであった。化合物の7つの濃度の勾配における抑制率を測定し、Origin 8.0フィット曲線で各化合物の IC_{50} 値を計算した。実験過程は陽性対照で反応系の実行性を検証し、毎回の実験は3つの平行テストを行った。

【0126】

2. 計算公式：

【数1】

$$\text{蛍光比} = \frac{\text{クマリン蛍光 (445nm)}}{\text{フルオレセイン蛍光 (520nm)}}$$

$$\text{リン酸化率 (\%)} = 1 - \frac{(\text{蛍光比} \times \text{F100\%}) - \text{C100\%}}{(\text{C0\%} - \text{C100\%}) + \text{蛍光比} \times (\text{F100\%} - \text{F0\%})}$$

$$\text{抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{サンプルのリン酸化率}}{\text{0\%抑制のリン酸化率}}\right) \times 100$$

体外酵素活性分析：野生型および各種の突然変異型 (T790M、L858R/T790M) EGFR はいずれもInvitrogenから購入された。すべての被験化合物は、 $5.1 \times 10^{-11} \text{ mol/L}$ ~ $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ の10段の濃度勾配とした。

【0127】

異なるキナーゼの濃度は、最適化実験によって決まり、対応する濃度はEGFR (PV3872、Invitrogen) 0.287 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、EGFR-T790M (PV4803、Invitrogen) 0.174 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、EGFR-L858R/T790M (PV4879、Invitrogen) 0.055 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ であった。化合物は、DMSOで $5.1 \times 10^{-9} \text{ M}$ から $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ に3倍希釈した。4 μL の化合物を96 μL の水に溶解させ、4xの化合物溶液を得た。40 μM のATPを1.33xキナーゼ緩衝液に溶解させ、キ

10

20

30

40

50

ナーゼ/ペプチド混合物は2xキナーゼ、4 μM のチロシン4ペプチドを含み、用意して使用に備えた。10 μL のキナーゼ反応は、2.5 μL の化合物溶液、5 μL キナーゼ/ペプチド混合物、2.5 μL のATP溶液を含んだ。

キナーゼ/ペプチド混合物の代わりに、5 μL のリン酸化ペプチド溶液を100%リン酸化対照として使用した。

【0128】

ATP溶液の代わりに2.5 μL の1.33xキナーゼ緩衝液を使用して100%抑制対照とし、化合物溶液の代わりに2.5 μL の4%DMSOを使用して0%抑制対照とした。プレート内で溶液を十分に混合した後、室温で1.5時間培養した。各ウェルに5 μL ずつ呈色溶液を入れた後、続いて室温で1時間培養し、未リン酸化ペプチドはこの期間内で分解された。最後に、5 μL の停止試薬を入れて反応を終わらせた。プレートをEnVision Multilabel Reader (Perkin Elmer)で測定した。実験データはGraphPad Prism version 4.0で計算した。各実験はいずれも3回以上繰り返した。

10

【0129】

実施例3

細胞活性測定部分(細胞増殖抑制活性)

細胞の増殖と生長に対する抑制の分析：H1975(非小細胞肺癌細胞、EGFR^{L858R/T790M})、A431(非小細胞肺癌細胞、EGFR野生型)はいずれもATCCから入手した。細胞の増殖活性はMTS分析法で評価した。細胞を処理条件に72時間晒し、各細胞系の各実験で使用される細胞数は吸光度値(490 nmにおける吸光度値が1.3~2.2)によって調整した。被験化合物は、6段の濃度勾配(0.1 nM - 10 μM)とし、各濃度値は少なくとも6組の平行対照を使用した。

20

【0130】

H1975、A431細胞は、相応する培地で培養し、回復した後少なくとも2代継代し、実験に使用した。対数期の細胞は、トリプターゼで作用し、且つ培地に再懸濁させた。H1975(各ウェル1000細胞)、A431(各ウェル2000細胞)は96ウェルプレートに接種し、体積が100 μL で、6組並行で7列とした。プレートを37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二酸化炭素のインキュベーターで一晩置いた。化合物をDMSOに溶解させ、濃度が1Lあたりに10 μM になるように調製した後、化合物の濃度を段階にそれぞれ1Lあたりに10 μM 、1 μM 、0.1 μM 、0.01 μM 、0.001 μM 、0.0001 μM とした。2 μL の化合物溶液を998 μL の培地に入れ、混合物を十分に混合した。100 μL の混合物を96ウェルプレートに入れた。

30

【0131】

化合物溶液の代わりに2 μL のDMSOを使用して0%抑制対照とした。68時間培養した後、20 μL MTT (5 mg/mL)を入れた。4時間後、上清を捨て150 μL のDMSOを入れた。10分間振とうした後、プレートのデータをSynergy HT (Bio Tek) (OD490)で読み取った。データはGraphPad Prism version 4.0で計算し、IC₅₀値は使用量反応曲線を使用した非線形回帰モデルによって調整して得た。

【0132】

水中溶解度の測定：被験化合物を約2 mg量って1.5 mLの遠心管に置き、1 mLのPBS緩衝液(20 mM、pH=6.8)を入れ、超音波で5分間処理し(化合物が完全に溶解したら、さらに2 mgの化合物をする)、一晩振とうした。懸濁液0.22 μm ; PVDFフィルターでろ過した後、メタノール(v = 50%)およびPBS(v = 50%)で適切な濃度に希釈し、紫外分光光度装置で吸光度値を測定した。精確に約3 mgの化合物を量り、メタノールを入れ、1 mg/mLの母液を調製した。

40

【0133】

上記母液で濃度がそれぞれ0.05、0.04、0.03、0.02、0.01 mg/mLの溶液を調製し、かつPBS溶液(v = 50%)を入れ、吸光度値を測定した。濃度c(mg/mL)を横座標とし、吸光度Aを縦座標とし、グラフを作り、かつ直線フィッティングし、標準曲線を得た(相関係数はいずれも0.998超)。標準曲線から化合物の水における溶解度を計算した。

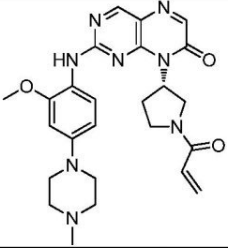
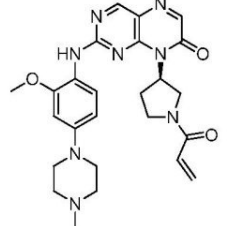
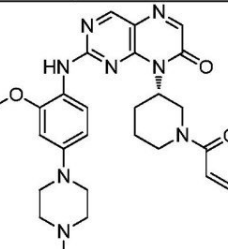
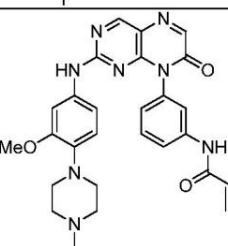
【0134】

50

測定結果は下記表1に示す。

【表 1】

表1、化合物のキナーゼレベルおよび選択性、細胞レベルおよび選択性と一部の溶解度

化合物 番号	化合物構造	EGFRキナーゼ抑制活性 (IC ₅₀ , nM)		細胞増殖抑制活性 (IC ₅₀ , μM)		溶解度 (pH 6.8, g/mL)
		WT	T790M/L858R	H1975	A431	
1		250.5	129.0	12.16	13.75	1279.4
2		>10uM	>10uM	18.25	89.61	11082
3		>10uM	>10uM	33.67	60.62	>11352
4		4.5	3.9	0.009	0.94	1367

10

20

30

【 0 1 3 5 】

40

50

【表 2】

5		2.4	0.6	0.006	0.82	122.4
6		105.8	14.8	0.46	1.69	51.8
7		45.2	9.5	0.197	20.52	<25
8		5.7	2.1	0.09	0.97	280.5
9		23.4	20.8	1.04	2.81	162.7
10		93.7	191.1	2.60	7.53	398.7

【 0 1 3 6 】

10

20

30

40

50

【表 3】

11		2.2	7.3	0.20	8.09	48.6
12		3.5	6.2	0.006	2.52	369.4
13		4.2	5.7	0.046	1.48	8.9
14		10.5	1.0	0.014	4.18	9.7
15		2296	2250	3.60	8.13	514
16		4704	>10000	>10	>10	956

10

20

30

40

【 0 1 3 7 】

50

【表 4】

17		2190	191	1.42	>10	957
18		47	1.0	0.06	1.66	208.2
19		174.2	14.1	1.16	3.41	90.7
20		15.0	1.3	0.040	6.0	7.4
21		2880	251	4.49	>10	72.2
22		>10000	6897	>10	>10	3232

10

20

30

40

【 0 1 3 8 】

50

【表 5】

23		1730	939	1.85	3.20	1689
24		700	576	2.49	3.1	2918
25		65.2	1.5	0.016	1.75	56.67
26		1302	559	3.23	9.5	10515
27		53.7	3.8	0.116	1.85	263.5
28		>10000	>10000	8.38	>10	3969

【 0 1 3 9 】

10

20

30

40

50

【表 6】

29		177	791	3.09	1.6	437.5
30		>1000	>1000	8.689	>10	> 10
31		522.3	9.0	2.155	>10	63.3
32		1.3	7.1	0.033	2.753	<10
33		33.0	1.3	0.230	3.682	24.5
34		86.7	895.9	0.831	>10	223.1
35		20.1	17.5	0.378	0.225	63.3

【 0 1 4 0 】

10

20

30

40

50

【表 7】

36		>1000	>1000	2.196	9.601	737
37		26.0	4.9	0.074	3.235	<10
38		2.8	0.6	0.165	2.345	<10
39		130.3	82.2	0.572	3.844	<10
40		>10000	73.1	1.052	1.377	>10
41		5346.8	38.6	1.186	1.263	>10
42		527.6	47.5	0.003	0.328	<10
43		7.7	0.6	0.112	0.433	<10

10

20

30

40

【 0 1 4 1 】

50

【表 8】

44		343.1	>1000	1.559	1.809	<10
45		>1000	>1000	1.775	4.276	<10
46		>10000	13.3	2.160	2.392	43.2
47		0.5	0.2	0.018	1.733	<10
48		361.6	20.8	0.031	0.640	<10
49		19.2	14.2	0.368	0.287	<10
50		2.7	86.9	1.244	1.112	719

【 0 1 4 2 】

10

20

30

40

50

【表 9】

51		16.6	250.6	5.338	2.060	<10
52		1.3	0.6	0.044	1.462	<10
53		9.6	74.2	0.479	0.593	<10
54		1.5	3.5	1.065	4.096	<10
55		6.6	6.1	0.262	1.299	<10
56		1.6	1.7	0.228	1.203	<10
57		2.8	1.8	0.225	1.369	<10

【 0 1 4 3 】

10

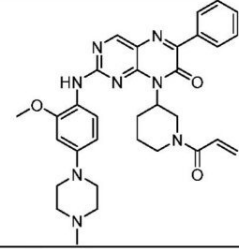
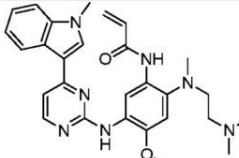
20

30

40

50

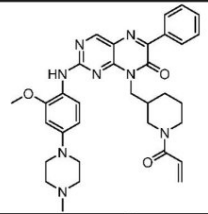
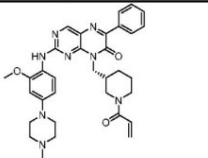
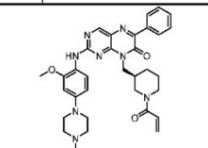
【表 1 0】

58						<10
AZD9291		236	12.1	0.016	1.9	3.50

AZD9291の溶解度の測定条件はpH 7.4であった(*J. Med. Chem.*, 2014, 57:8249-8267)。

【表 1 1】

化合物53(分割前後)チロシンキナーゼ活性抑制選別試験

化合物番号	化合物構造	チロシンキナーゼ活性に対する抑制のIC ₅₀ 平均値 (nM) ±SD値		腫瘍細胞生長活性に対する抑制のIC ₅₀ 平均値 (μM) ±SD値	
		EGFR	EGFR/T790M/L858R	A431	NCI-H1975
53		9.6	74.2	0.593	0.479
53-1 (R)		272.5±38.0	294.8±85.0	5.314±1.037	>10
53-2 (S)		8.0±0.8	15.2±2.3	>10	0.062±0.012

【0144】

実施例4

1、H1975細胞移植腫瘍試験：動物体内薬効学の評価

実験目的：連続14日間でH1975移植腫瘍BALB/cヌードマウスに被験物を経口(PO)投与し、経時的にヌードマウスの体重と腫瘍の大きさの変化を観察・記録し、かつヌードマウスの投与後生理活動の変化を観察することによって、被験物の抗腫瘍効果を考察した。

【0145】

1.1 H1975細胞の準備

H1975細胞は上海中科院薬物所から契約で譲り受けた。細胞培地条件は1640+10%FBS (Gibco) で、インキュベーターの条件は37 恒温、二酸化炭素のインキュベーターで、二酸化炭素濃度は5%で、細胞は2~3日おきに液置換して継代し、増幅培養し続けた。所要の細胞量になったら細胞移植を行い、移植前は細胞活力を90%以上に保ち、無血清1640を溶媒として細胞を懸濁させて使用に備え、懸濁液の細胞濃度は2000万/mlであった

【0146】

1.2 H1975移植腫瘍のモデル構築

オスBALB/cヌードマウス40匹で、4～5週齢で、体重17～23gで、上海必凱公司から購入され、動物部屋の環境に2～3日間馴染ませてから細胞接種を行った。ヌードマウスの前肢上側の毛細管の豊富な箇所から細胞懸濁液を皮下注射し、1匹あたりの細胞懸濁液注射量は0.1mLであった。

動物部屋の実験条件：

実験室温度：23±3

実験室湿度：30～60%

明暗各12時間に設置した。

2～3週間程度で移植腫瘍が見られるようになり、腫瘍の大きさが平均で300mm³に達したら群分けして投与した。

【0147】

1.3 被験物の調製

適量の被験物を量り、それぞれ14mLのDMSO-PEG400生理食塩水溶液（DMSO：PEG400：生理食塩水=1:30：69）に懸濁させ、下記表の配合量で調製し、超音波で十分に懸濁または溶解させ、そして分けて密封し、四度の冷蔵庫で保存して使用に備えた。

1.4 投与量と投与形態

0.1ml/25gの投与量で経口胃内投与を行い、毎日1回投与してマウスの状態と異常を観察し、毎週少なくとも2回腫瘍の長さ・幅および体重の変化を記録した。腫瘍の大きさの計算公式は、 $V=0.5 \times \text{長さ} \times \text{幅} \times \text{幅}$ である。

【0148】

図1は一連の化合物の薬効学の評価を示す。H1975細胞移植腫瘍モデルヌードマウスの、14日間経口投与した後、化合物14がCO-1686よりも優れた薬物効果を示した。

図2は化合物14とCO-1686およびAZD9291の薬効学的比較を示す。化合物14 10mg/kgでCO-1686 50mg/kgよりも優れた薬物効果を示し、化合物14 25mg/kgへAZD9291 25mg/kgの薬物効果に相当し、いずれも腫瘍を有効に小さくさせ、かつ投与を止めて1か月観察を続けたところ、マウスは生存し、かつ腫瘍の再発がなかった。

【0149】

2、A431細胞移植腫瘍試験

実験目的：連続14日間でA431移植腫瘍BALB/cヌードマウスに被験物を経口（PO）投与し、経時的にヌードマウスの体重と腫瘍の大きさの変化を観察・記録し、かつヌードマウスの投与後生理活動の変化を観察することによって、被験物の抗腫瘍効果を考察した。

【0150】

2.1 A431細胞の準備

A431細胞は実験室にあったもので、2015年10月にSTR実験で検証された。細胞培地条件は1640+10%FBS（Gibco）で、インキュベーターの条件は37℃恒温、二酸化炭素のインキュベーターで、二酸化炭素濃度は5%で、細胞は2～3日おきに液置換して継代し、増幅培養し続けた。所要の細胞量になったら細胞移植を行い、移植前は細胞活力を90%以上に保ち、無血清1640を溶媒として細胞を懸濁させて使用に備え、懸濁液の細胞濃度は2000万/mlであった。

【0151】

2.2 A431移植腫瘍のモデル構築

オスBALB/cヌードマウス40匹で、4～5週齢で、体重17～23gで、上海必凱公司から購入され、動物部屋の環境に2～3日間馴染ませてから細胞接種を行った。ヌードマウスの前肢上側の毛細管の豊富な箇所から細胞懸濁液を皮下注射し、1匹あたりの細胞懸濁液注射量は0.1mLであった。

動物部屋の実験条件：

実験室温度：23±3

10

20

30

40

50

実験室湿度：30～60%

明暗各12時間に設置した。

2～3週間程度で移植腫瘍が見られるようになり、腫瘍の大きさが平均で500mm³に達したら群分けして投与した。

【0152】

2.3 被験物の調製

適量の被験物を量り、それぞれ14mLのDMSO-PEG400生理食塩水溶液（DMSO：PEG400：生理食塩水=1:30：69）に懸濁させ、下記表の配合量で調製し、超音波で十分に懸濁または溶解させ、そして分けて密封し、四度の冷蔵庫で保存して使用に備えた。

【表12】

実験群	秤量グラム数 (mg)	実際濃度 (mg/ml)	投与量 (mg/kg)
1	0	0	0
2	17.5	1.25	5
3	35	2.5	10
4	87.5	6.25	25
5	175	12.5	50
6	350	25	100

10

20

【0153】

2.4 投与量と投与形態

0.1ml/25gの投与量で経口胃内投与を行い、毎日1回投与してマウスの状態と異常を観察し、毎週少なくとも2回腫瘍の長さ・幅および体重の変化を記録した。腫瘍の大きさの計算公式は、 $V=0.5 \times \text{長さ} \times \text{幅} \times \text{幅}$ である。

図3は化合物14の野生型EGFRに対して優れた選択性を有することを示す。EGFR野生型A431細胞移植腫瘍モデルヌードマウスの25mg/kgの化合物14を14日間経口投与する場合、所見は同じ投与量のAZD9291に相当し、すなわち腫瘍体積を小さくさせず、腫瘍の大きさは基本的に変わらず、選択性は第二世代薬物であるアファチニブよりも顕著に優れた。

30

【0154】

実施例4

1、化合物の急性毒性の評価：投与量の10倍およびそれ以上の投与量のAZD9291を選んでICRマウスの急性毒性実験を行った。それと比べ、100mg/kg、250mg/kg、500mg/kgのZW-W-33毒性は同じ投与量のAZD9291に相当し、体重減少がやや少なかった。

図4は化合物14およびAZD9291の毒性評価を示す。

2、腫瘍担持マウスの連続14日間の投与後の病理切片の分析を図5-1および図5-2に示す。

40

結論：長期間（14日間）連続で治療投与量で投与し、各器官・組織は顕著な病変がなく、毒性・副作用は同じ投与量の陽性薬AZD9291に相当する。

【0155】

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

50

【 図 面 】

【 図 1 】

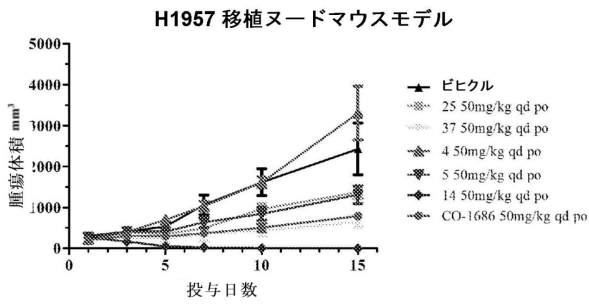


図 1

【 図 2 】

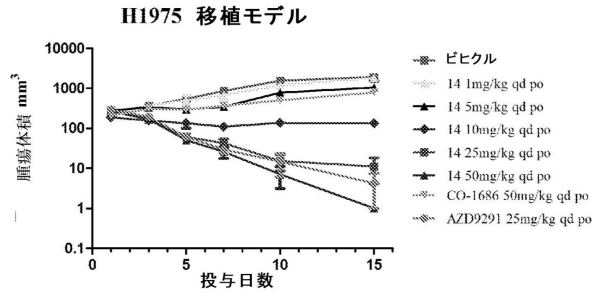


図 2

【 図 3 】

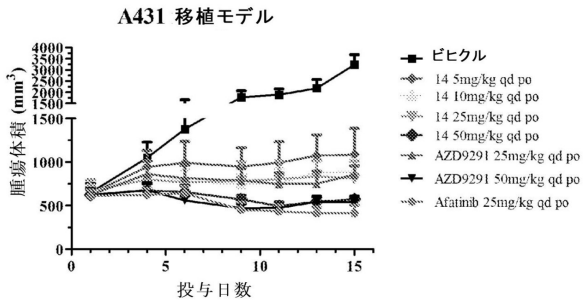


図 3

【 図 4 】

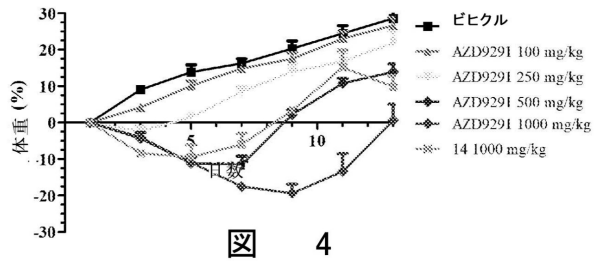
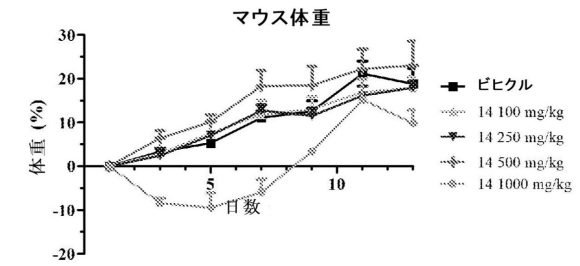


図 4

10

20

30

40

50

【 図 5 - 1 】

臓器	対照	化合物14 25mg/kg	AZD9291 25mg/kg
腸			
肺			
肝臓			
腫瘍			

図 5

【 図 5 - 2 】

脳			
腎臓			
心臓			

図 5(続き)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130
 (72)発明者 ツァオ, ツェンジャン
- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130
 (72)発明者 ツォウ, ウェイ
- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130
 (72)発明者 スー, ユーチョン
- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130
 (72)発明者 スァン, デヘン
- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130
 (72)発明者 ワン, シア
- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130
 (72)発明者 チェン, ツォウ
- 中華人民共和国 200237 上海 スーファイ ディストリクト、メイロン ロード ナンバー 130

合議体

審判長 木村 敏康

審判官 瀬良 聡機

審判官 野田 定文

- (56)参考文献 特表2003-509425(JP, A)
 特表2008-504281(JP, A)
 米国特許出願公開第2015/0126508(US, A1)
 米国特許出願公開第2014/0296216(US, A1)
 中国特許出願公開第103012399(CN, A)
 Wei Zhou ほか9名、Journal of Medicinal Chemistry、2013年、56、p.7821~7837
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
 C07D,A61K
 CAPLUS/REGISTRY STN