

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 8 月 30 日(30.08.2012)



(10) 国際公開番号

WO 2012/115226 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/496 (2006.01) C07D 409/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/054553
- (22) 国際出願日: 2012 年 2 月 24 日(24.02.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2011-037867 2011 年 2 月 24 日(24.02.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 協和
発酵キリン株式会社(Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.)
[JP/JP]; 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目
6 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): ▲徳 ▼田
淑美(TOKUDA, Yoshimi). 高橋 健(TAKAHASHI,
Takeshi). 渡部 康雄(WATANABE, Yasuo).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,

BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,
SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシ
ア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨー
ロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: THERAPEUTIC AGENT FOR CANCER

(54) 発明の名称: 癌治療剤

(57) Abstract: Provided is a therapeutic agent for cancer that is selected from among colon cancer, lung cancer, sarcoma and pancreatic cancer, said therapeutic agent comprising, as the active ingredient, (E)-N-{5-[4-(2-hydroxyacetyl)piperazin-1-ylmethyl]-2-[2-(1H-indazol-3-yl)vinyl]phenyl}-3-methylthiophene-2-carboxamide, a pharmacologically acceptable salt thereof or a hydrate of the same.

(57) 要約: (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物を有効成分として含有する、大腸癌、肺癌、サルコーマ(sarcoma)、および膵臓癌から選ばれる癌の治療剤を提供する。



WO 2012/115226 A1

明 細 書

発明の名称： 癌治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、インダゾール誘導体もしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物を有効成分として含有する癌治療剤に関する。

背景技術

[0002] I型インスリン様増殖因子受容体(type I insulin-like growth factor receptor、以下、IGF-1Rと表すこともある)は、インスリン受容体(insulin receptor)に構造が非常に類似した受容体型チロシンキナーゼであり、2個の細胞外 α サブユニットと2個の細胞膜貫通型 β サブユニットからなるヘテロ4量体である[エンボ・ジャーナル(EMBO Journal)、5巻、2503頁(1986年); アニュアル・レビュー・オブ・バイオケミストリー(Annual Review of Biochemistry)、69巻、373頁(2000年)]。そのリガンドであるI型またはII型のインスリン様増殖因子(insulin-like growth factor-1, 2)が、その α サブユニットに結合することにより、キナーゼドメインをもつ β サブユニットが活性化され、その結果、IGF-1Rが活性化される。

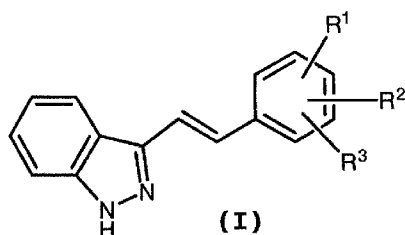
[0003] 多くの癌組織(例えば、肺癌、大腸癌、膵癌、乳癌、前立腺癌、肝癌、黒色腫、脳腫瘍、多発性骨髄腫、白血病等)で、IGF-1Rの発現の上昇または活性化がみられることが知られている[エンドクリン・レビューズ(Endocrine Reviews)、21巻、215頁(2000年); ネイチャー・レビューズ・キャンサー(Nature Reviews Cancer)、4巻、505頁(2004年)]。また、稀ではあるが、乳癌および黒色腫において、IGF-1Rが存在する染色体の増幅が知られている[ジーンズ・クロモソームズ・キャンサー(Genes Chromosomes Cancer)、11巻、63頁(1994年)]。

[0004] 故に、IGF-1Rは、癌治療の有効な標的と考えられ、IGF-1R阻害薬は様々な癌の治療薬として有用であると考えられる。

下記の式(I)で示されるインダゾール骨格を有し、IGF-1R阻害活性を有する

化合物が抗腫瘍剤として知られている(特許文献1)。

[0005] [化1]



[0006] [式中、R¹はシアノ、-NR⁴R⁵ (式中、R⁴は水素原子等を表し、R⁵は置換もしくは非置換の低級アルキル等を表す)等を表し、R²およびR³は同一または異なって、水素原子、ハロゲン、置換もしくは非置換の複素環基等を表す]

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：国際公開第2006/080450号パンフレット

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の目的は、インダゾール誘導体もしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物を有効成分として含有する大腸癌、肺癌、サルコーマ(sarcoma)、および膵臓癌から選ばれる癌の治療剤を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明は、以下の(1)～(8)に関する。

(1) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物を有効成分として含有する、大腸癌、肺癌、サルコーマ(sarcoma)、および膵臓癌から選ばれる癌の治療剤。

(2) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物が、(E)-N-{5-

[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩またはその水和物である(1)記載の癌の治療剤。

(3) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩またはその水和物が、(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩である(2)記載の癌の治療剤。

(4) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩が(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩である(3)記載の癌の治療剤。

[0010] (5) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有する大腸癌の治療剤。

(6) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有する肺癌の治療剤。

(7) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有するサルコーマ(sarcoma)の治療剤。

(8) (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(

1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキ
サミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有する膵臓癌の治療剤
。

[0011] なお、p-トルエンスルホン酸塩は、パラトルエンスルホン酸塩を意味し、
以下、トシル酸塩と表記することもある。

発明の効果

[0012] 本発明により、特定のインダゾール誘導体またはその薬理学的に許容され
る塩またはそれらの水和物、例えば、(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)
ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル
}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸
塩またはその水和物を有効成分として含有する大腸癌、肺癌、サルコーマ(sa
rcoma)、および膵臓癌から選ばれる癌の治療剤等が提供される。

図面の簡単な説明

[0013] [図1](E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-
(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボ
キサミドのp-トルエンスルホン酸塩の抗腫瘍効果を表す。縦軸(V/V₀)は、0日
目の腫瘍体積をV₀としたときの腫瘍体積変化を表し、横軸は投与開始日からの
日数を表す。○は陰性対照群(Control)、□を黒く塗りつぶしたものは化合物
(Ia)のトシル酸塩投与群を表す。 ** : P<0.01の有意差を表す((E)-N-{5-[4-
(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-
3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのp-トルエ
ンスルホン酸塩の投与群の陰性対照群比、Student's t-test) *** : P<0.001
の有意差を表す((E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメ
チル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエ
ン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩の投与群の陰性対照群比、St
udent's t-test)

発明を実施するための形態

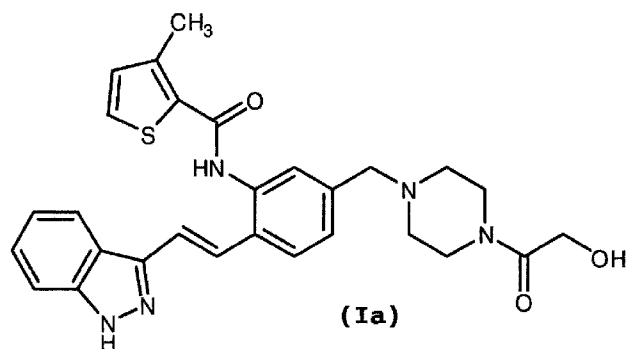
[0014] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H

-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはそれらの水和物は、公知の方法、例えば、国際公開第2006/080450号(W02006/080450)パンフレット記載の方法またはそれに準じた方法で得ることができる。

[0015] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのトシル酸塩は、W02006/080450記載の方法で得られる(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドを常法によりp-トルエンスルホン酸塩化(トシル酸塩化)することにより得ることができるが、後記の参考例に記載の方法でも得ることができる。

[0016] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドは、式(Ia)

[0017] [化2]



[0018] で表される化合物であり(以下、化合物(Ia)と表すこともある)、化合物(Ia)は強力なIGF-1R阻害作用を有することが報告されている(国際公開第2006/080450号パンフレット)。

(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドの薬理学的に許容される塩としては、例えば薬理学的に許容される酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、アミノ酸付加塩等が挙

げられる。酸付加塩としては塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩(トシル酸塩)等の有機酸塩が挙げられ、金属塩としてはナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、亜鉛塩等が挙げられ、アンモニウム塩としてはアンモニウム、テトラメチルアンモニウム等の塩が挙げられ、有機アミン付加塩としてはモルホリン、ピペリジン等の付加塩が挙げられ、アミノ酸付加塩としてはリジン、グリシン、フェニルアラニン等の付加塩が挙げられる。

[0019] 以下の試験例1~5においては、(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミド(化合物(Ia))のトシル酸塩を用いた。

試験例1: in vitroでのヒト大腸癌細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害試験

ヒト大腸癌細胞株HT-29株およびその緑色蛍光たんぱく質(Green Fluorescent Protein、以下、GFPと表す)発現株であるHT-29/GFP(Anticancer社より譲渡)に対する化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害50%を示す濃度の指標であるGI₅₀値を以下の方法で算出した。

[0020] HT-29株およびHT-29/GFPの培養には1 vol%または10 vol%非働化牛胎児血清(以下、FBSと表す)(Invitrogen)を含むMcCoy's 5A培地(Invitrogen)を用いた。

いずれの細胞株も5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて培養し増殖させた。96ウェルF底プレート(Nalge Nunc)に10 vol% FBS添加時は 1×10^3 個/well、1 vol% FBS添加時は 5×10^3 個/wellのHT-29株またはHT-29/GFPを播種し、5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて24時間培養した。ジメチルスルホキシド(以下、DMSOと表す)にて段階的に希釈して調製した化合物(Ia)のトシル酸塩を含む溶液をそれぞれ添加し(ウェル内でDMSOの終濃度は0.1 vol%)、再び5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて72時間培養した。細胞増殖試

薬WST-1(4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate、Roche Diagnostics)を添加し、2時間反応させ、ウェル中の生細胞数を反映する吸光度(450 nm)を測定した。

[0021] DMSOを添加して72時間培養した後に測定した吸光度をコントロールの吸光度とし、DMSOを添加した直後に測定した吸光度の値をブランクプレートの吸光度として、次の数式を用いて化合物(Ia)のトシル酸塩による各細胞の細胞増殖阻害率((%) [inhibition(%)])を算出した。なお、以下の数式中、化合物(Ia)は被検化合物と表す。

[0022] [数1]

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 - \frac{(\text{被検化合物添加72時間後の吸光度}) - (\text{ブランクプレートの吸光度})}{(\text{コントロールの吸光度}) - (\text{ブランクプレートの吸光度})} \times 100$$

[0023] 化合物(Ia)のトシル酸塩の濃度をX軸、各濃度での阻害率の平均値をY軸にプロットし、このプロットをXLfit4.1.1 (ID Business Solutions)のModel205にて近似し、50%の増殖阻害率を示す濃度としてGI₅₀値を算出した。各細胞における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値を表1に示した。化合物(Ia)のトシル酸塩はヒト大腸癌由来のHT-29株およびそのGFP発現株HT-29/GFPに対して、1% FBS存在下においていずれも45 nmol/L、10% FBS存在下において、それぞれ143および272 nmol/LのGI₅₀値を示したことから、化合物(Ia)のトシル酸塩は大腸癌細胞に対する増殖抑制作用を有することが示され、大腸癌の治療剤として有用であることが示唆された。

[0024] [表1]

表1：各ヒト大腸癌細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値

細胞名	GI ₅₀ 値(nmol/L)	
	10 vol% FBS	1 vol% FBS
HT-29	143	45
HT-29/GFP	272	45

[0025] 試験例2： in vitroでのヒト肺癌細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩に

による増殖阻害試験

ヒト肺癌細胞株NCI-H526、NCI-H727、NCI-H358およびCaLu-6株に対する化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害50%を示す濃度の指標であるGI₅₀値を以下の方法で算出した。

NCI-H526、NCI-H727およびNCI-H358の培養には1 vol%または10 vol% FBS(Invitrogen)、10 mmol/L HEPES(Invitrogen)、1 mmol/L ピルビン酸(Invitrogen)、および4.5 g/L グルコース(Sigma)を含むRoswell Park Memorial Institute's Medium(RPMI)1640培地(Invitrogen)を用いた。

[0026] CaLu-6の培養には1 vol%または10 vol% FBS、および0.1 mmol/L Non-Essential Amino Acids(Invitrogen)を含むModified Eagle Medium(MEM)培地(Invitrogen)を用いた。

いずれの細胞株も5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて培養し増殖させた。96ウェルF底プレートまたは96ウェルU底プレート(Nalge Nunc)にNCI-H526は 8×10^3 個/well、NCI-H727は 5×10^3 個/well、NCI-H358およびCaLu-6は 2×10^3 個/well(10% FBS、1% FBSとも)を播種し、5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて24時間培養した。DMSOにて段階的に希釈して調製した化合物(Ia)のトシル酸塩を含む溶液をそれぞれ添加し(ウェル内でDMSOの終濃度は0.1 vol%)、再び5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて72時間培養した。細胞増殖試薬WST-1(4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate、Roche Diagnostics)を添加し、2時間反応させ、ウェル中の生細胞数を反映する吸光度(450 nm)を測定した。

[0027] DMSOを添加して72時間培養した後に測定した吸光度をコントロールの吸光度とし、DMSOを添加した直後に測定した吸光度の値をblankプレートの吸光度として、次の数式を用いて化合物(Ia)のトシル酸塩による各細胞の細胞増殖阻害率((%) [inhibition(%)])を算出した。なお、以下の数式中、化合物(Ia)は被検化合物と表す。

[0028] [数2]

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 - \frac{(\text{被検化合物添加 72時間後の吸光度}) - (\text{blankプレートの 吸光度})}{(\text{コントロールの吸光度}) - (\text{blankプレートの 吸光度})} \times 100$$

[0029] 化合物(Ia)のトシル酸塩の濃度をX軸、各濃度での阻害率の平均値をY軸にプロットし、このプロットをXLfit4.1.1 (ID Business Solutions)のModel205にて近似し、50%の増殖阻害率を示す濃度としてGI₅₀値を算出した。各細胞における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値を表2に示した。化合物(Ia)のトシル酸塩はヒト肺癌由来のNCI-H526、NCI-H727、NCI-H358、およびCaLu-6に対して1 vol% FBS条件下でそれぞれ、9.4、34、32未満、および97 nmol/LのGI₅₀値を示した。さらに、10 vol% FBS条件下においても増殖抑制活性を示し、GI₅₀値はそれぞれ、190、46、150、および370 nmol/Lであったことから、化合物(Ia)のトシル酸塩は肺癌細胞に対する増殖抑制作用を有することが示され、肺癌治療剤として有用であることが示唆された。

[0030] [表2]

表2：各ヒト肺癌細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値

細胞名	GI ₅₀ 値(nmol/L)	
	10 vol% FBS	1 vol% FBS
NCI-H526	190	9.4
NCI-H727	46	34
NCI-H358	150	<32
CaLu-6	370	97

[0031] 試験例3：in vitroでのヒトサルコーマ(sarcoma)細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害試験

EWS/FLI-1 転座を有するヒトサルコーマ(sarcoma)細胞株であるTC-71、SK-ES-1、SK-N-MCおよびA-673、EWS/FLI-1 転座をもたないRDおよびRH-30に対する化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害50%を示す濃度の指標であるGI₅₀値を以下の方法で算出した。

[0032] TC-71の培養には1 vol%または10 vol% FBS(Invitrogen)を含むIscove's Modified Dulbecco's Medium(IMDM)培地(Invitrogen)を用いた。

SK-ES-1の培養には1 vol%または15 vol% FBSを含むMaCOY's 5A培地(Invitrogen)

ogen)を用いた。

SK-N-MCの培養には1 vol%または10 vol% FBSを含む10 mmol/L HEPES、1 mmol/L ピルビン酸、および4.5 g/L グルコースを含むRPMI1640培地を用いた。

[0033] A-673およびRDの培養には1 vol%または10 vol% FBS、および4.5 g/L グルコースを含むDulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)培地(Invitrogen)を用いた。

RH-30の培養には1 vol%または10 vol% FBSを含むRPMI1640培地(Invitrogen)を用いた。

いずれの細胞株も5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて培養し増殖させた。96ウェルF底プレート(Nalge Nunc)にTC-71は 5×10^2 個/well(10% FBS)または 2×10^3 個/well(1% FBS)、RDは 1×10^3 個/well(10 vol% FBS)または 2×10^3 個/well(1 vol% FBS)、A-673は 2×10^3 個/well(10 vol% FBS)または 5×10^3 個/well(1 vol% FBS)、SK-ES-1は 8×10^3 個/well(15 vol%、1 vol% FBSとも)、SK-N-MCは 8×10^3 個/well(10 vol% FBS、1 vol% FBSとも)、RH-30は 2×10^3 個/well(10% FBS、1% FBSとも)を播種し、5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて24時間培養した。DMSOにて段階的に希釈して調製した化合物(Ia)のトシル酸塩を含む溶液をそれぞれ添加し(ウェル内でDMSOの終濃度は0.1 vol%)、再び5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて72時間培養した。細胞増殖試薬WST-1(4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate、Roche Diagnostics)を添加し、2時間反応させ、ウェル中の生細胞数を反映する吸光度(450 nm)を測定した。

[0034] DMSOを添加して72時間培養した後に測定した吸光度をコントロールの吸光度とし、DMSOを添加した直後に測定した吸光度の値をblankプレートの吸光度として、次の数式を用いて化合物(Ia)のトシル酸塩による各細胞の細胞増殖阻害率((%) [inhibition(%)])を算出した。なお、以下の数式中、化合物(Ia)は被検化合物と表す。

[0035] [数3]

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 - \frac{(\text{被検化合物添加 72時間後の吸光度}) - (\text{blankプレートの 吸光度})}{(\text{コントロールの吸光度}) - (\text{blankプレートの 吸光度})} \times 100$$

[0036] 化合物(Ia)のトシル酸塩の濃度をX軸、各濃度での阻害率の平均値をY軸にプロットし、このプロットをXLfit4.1.1 (ID Business Solutions)のModel205にて近似し、50%の増殖阻害率を示す濃度としてGI₅₀値を算出した。各細胞における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値を表3に示した。化合物(Ia)のトシル酸塩はEWS/FLI-1 転座を有するヒトサルコーマ(sarcoma)由来のTC-71、SK-N-MCおよびA-673に対して、1 vol% FBS条件下でそれぞれ、3.2未満、3.2未満および20 nmol/LのGI₅₀値を示した。さらに、10 vol% FBS条件下においても増殖抑制活性を示し、GI₅₀値はそれぞれ、11、3.2未満および21 nmol/Lであった。SK-ES-1に対しては、10 vol% FBS条件下で10 nmol/LのGI₅₀値を示した。一方、EWS/FLI-1 転座をもたないRDおよびRH-30に対して、1 vol% FBS条件下でそれぞれ、22および30 nmol/LのGI₅₀値を示し、10 vol% FBS条件下においても、GI₅₀値はそれぞれ、220および130 nmol/Lであったことから、化合物(Ia)のトシル酸塩はサルコーマ(sarcoma)に対する増殖抑制作用を有することが示され、サルコーマ(sarcoma)治療剤として有用であることが示唆された。

[0037] [表3]

表3：各ヒトsarcoma細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値

細胞名	GI ₅₀ 値(nmol/L)	
	10 vol% FBS	1 vol% FBS
TC-71	11	<3.2
SK-ES-1	10	実施せず
SK-N-MC	<3.2	<3.2
A-673	21	20
RD	220	22
RH-30	130	30

[0038] 試験例4：in vitroでのヒト膀胱癌細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害試験

ヒト膀胱癌細胞株KP-3LおよびAsPC-1に対する化合物(Ia)のトシル酸塩による増殖阻害50%を示す濃度の指標であるGI₅₀値を以下の方法で算出した。

KP-3LおよびAsPC-1の培養には1 vol%または10 vol% FBS(Invitrogen)を含むRoswell Park Memorial Institute's Medium(RPMI) 1640培地(Invitrogen)を用いた。

[0039] いずれの細胞株も5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて培養し増殖させた。96ウェルF底プレート(Nalge Nunc)にKP-3Lは 2.5×10^3 個/well(10% FBS)または 5×10^3 個/well(1% FBS)、AsPC-1は 2×10^3 個/well(10 vol% FBS)または 4×10^3 個/well(1 vol% FBS)を播種し5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて24時間培養した。DMSOにて段階的に希釈して調製した化合物(Ia)のトシル酸塩を含む溶液をそれぞれ添加し(ウェル内でDMSOの終濃度は0.1 vol%)、再び5%炭酸ガスインキュベーター内で37 °Cにて72時間培養した。細胞増殖試薬WST-1(4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate、Roche Diagnostics)を添加し、2時間反応させ、ウェル中の生細胞数を反映する吸光度(450 nm)を測定した。

[0040] DMSOを添加して72時間培養した後に測定した吸光度をコントロールの吸光度とし、DMSOを添加した直後に測定した吸光度の値をブランクプレートの吸光度として、次の数式を用いて化合物(Ia)のトシル酸塩による各細胞の細胞増殖阻害率((%) [inhibition(%)])を算出した。なお、以下の数式中、化合物(Ia)は被検化合物と表す。

[0041] [数4]

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 - \frac{(\text{被検化合物添加 72時間後の吸光度}) - (\text{ブランクプレートの 吸光度})}{(\text{コントロールの吸光度}) - (\text{ブランクプレートの 吸光度})} \times 100$$

[0042] 化合物(Ia)のトシル酸塩の濃度をX軸、各濃度での阻害率の平均値をY軸にプロットし、このプロットをXLfit4.1.1 (ID Business Solutions)のModel205にて近似し、50%の増殖阻害率を示す濃度としてGI₅₀値を算出した。各細胞における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値を表4に示した。化合物(Ia)のトシル酸塩はヒト膵臓癌由来のKP-3LおよびAsPC-1に対して1 vol% FBS条件下でそれぞれ、150および9.0 nmol/LのGI₅₀値を示した。さらに、10 vol% FBS条件下に

においても増殖抑制活性を示し、GI₅₀値はそれぞれ、260および38 nmol/Lであったことから、化合物(Ia)のトシル酸塩は膵臓癌細胞の増殖抑制作用を有することが示され、膵臓癌治療剤として有用であることが示唆された。

[0043] [表4]

表4：各ヒト膵臓癌細胞株における化合物(Ia)のトシル酸塩のGI₅₀値

細胞名	GI ₅₀ 値(nmol/L)	
	10 vol% FBS	1 vol% FBS
KP-3L	260	150
AsPC-1	38	9.0

[0044] 試験例5： ヒト大腸癌細胞株HT-29/GFP移植マウスモデルにおける化合物(Ia)のトシル酸塩による抗腫瘍効果

ヒト大腸癌細胞株HT-29株のGFP発現株であるHT-29/GFPをマウスに移植した場合における化合物(Ia)のトシル酸塩による抗腫瘍効果を以下の方法で検討した。

HT-29/GFP(Anticancer社より譲渡)を、10 vol% FBS(Invitrogen)、100単位/mL ペニシリンGおよび100 μg/mLストレプトマイシン(Invitrogen)を含むMcCoy's 5A培地(Invitrogen)中、5%炭酸ガスインキュベーター内で37℃にて培養し増殖させた。

[0045] 移植前にバリカンを用いて雄性C.B-17/Icr-scid/scidJclマウス(日本クレア)の腹側部の毛を剃り、リン酸緩衝生理食塩液(PBS)中に懸濁したHT-29/GFP(6×10⁷ 個/mL)を剃毛した腹部の皮下に0.05 mL 移植した(3×10⁶ cells/0.05 mL/個体)。

移植6日後にノギスにて皮下で増殖した腫瘍の長径・短径を測定し、以下の式に従って腫瘍体積を求めた。

[0046] [数5]

$$\text{腫瘍体積} = \text{長径} \times \text{短径} \times \text{短径} \times 0.5$$

[0047] 平均腫瘍体積と平均体重が均一になるように1群10匹ずつ以下のような投与

群に分け、この日を投与試験開始0日として投与を開始した。

化合物(Ia)のトシル酸塩は0.5 w/v%メチルセルロース溶液(和光純薬社製)に4 mg/mLの濃度で懸濁させ、投与開始0から13日目まで連日1日1回、マウス体重1 gあたり0.01 mL(40 mg/kg)の用量で、経口ゾンデを用いて経口投与した。

[0048] A. 陰性対照群(Control) : 0.5 w/v%メチルセルロース溶液

B. 化合物(Ia)のトシル酸塩投与群 : 40 mg/kg(1日1回×14日間)

0日目以降、週に2回腫瘍体積の測定を行った。抗腫瘍効果の判定は各群の腫瘍体積の平均値を算出し、0日目の腫瘍体積を V_0 としたときの腫瘍体積変化(V/V_0)の比較で行った。経日測定した各群の V/V_0 を図1に示す。

[0049] 図1に示したように、化合物(Ia)のトシル酸塩投与により、陰性対照群に比べ、有意な抗腫瘍効果が認められた。

14日目の化合物(Ia)のトシル酸塩投与群の V/V_0 を陰性対照群の V/V_0 で除した値(T/C)は、14日目において0.637であった。

以上の結果より、化合物(Ia)のトシル酸塩は動物に移植した大腸癌細胞の増殖抑制作用を有することが示され、大腸癌治療剤として有用であることが示唆された。

[0050] 以上、試験例1～5の結果により、(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはそれらの水和物が、大腸癌、肺癌、サルコーマ(sarcoma)、および膵臓癌から選ばれる癌の治療剤等として有用であることが示唆された。

[0051] 化合物(Ia)もしくはその薬理学的に許容される塩またはそれらの水和物は、そのまま単独で投与することも可能であるが、通常各種の医薬製剤として提供するのが望ましい。また、それら医薬製剤は、動物または人に使用されるものである。

本発明に係わる医薬製剤は、活性成分として化合物(Ia)またはその薬理学的に許容される塩を単独で、または任意の他の治療のための有効成分との混

合物として含有することができる。また、それら医薬製剤は、活性成分を薬理的に許容される一種またはそれ以上の担体(例えば、希釈剤、溶剤、賦形剤等)と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られている任意の方法により製造される。

[0052] 投与経路としては、治療に際し最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口または、例えば静脈内等の非経口をあげることができる。

投与形態としては、例えば錠剤、注射剤等があげられる。

経口投与に適当な、例えば錠剤等は、乳糖等の賦形剤、澱粉等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤等を用いて製造できる。

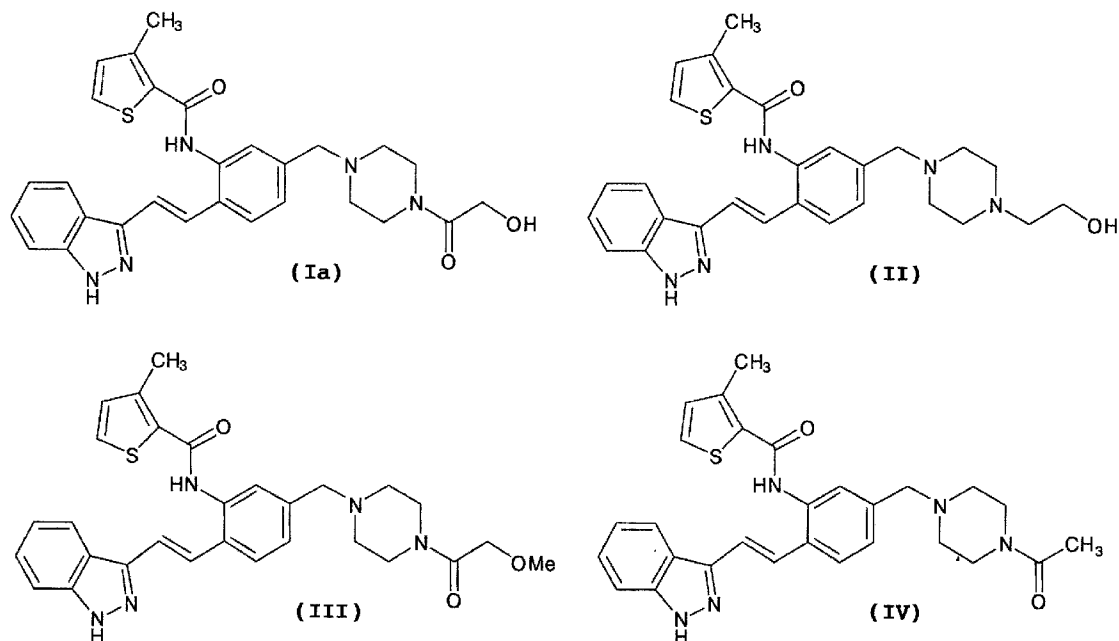
[0053] 非経口投与に適当な、例えば注射剤等は、塩溶液、ブドウ糖溶液または塩水とブドウ糖溶液の混合液等の希釈剤または溶剤等を用いて製造できる。

化合物(Ia)もしくはその薬理的に許容される塩またはそれらの水和物の投与量および投与回数は、投与形態、患者の年齢、体重、治療すべき症状の性質もしくは重篤度等により異なるが、通常経口の場合、成人一人あたり、0.01~1000 mg、好ましくは0.05~100 mgの範囲で、1日1回ないし数回投与する。静脈内投与等の非経口投与の場合、通常成人一人あたり0.001~1000 mg、好ましくは0.01~100 mgを1日1回ないし数回投与する。しかしながら、これら投与量および投与回数に関しては、前述の種々の条件により変動する。

[0054] 以下の比較例1においては、化合物(Ia)の他に、国際公開第2006/080450号パンフレット記載の以下の式(II)、(III)、(IV)で表される化合物(以下、化合物(II)、(III)、(IV)と表す)を用いた。

[0055]

[化3]



[0056] 比較例1： ヒト肝代謝固有クリアランスの算出試験

本試験にはプールヒト肝ミクロソーム(50人のドナー由来)を用いた。0.2 mg protein/mLのヒト肝ミクロソーム(Xenotech)、1 mmol/Lの β -NADPH(和光純薬工業)および1 μ mol/Lの試験化合物を含む溶液(DMSO 0.01 vol%およびアセトニトリル 0.5 vol%含有)を、37 $^{\circ}$ Cにて、30分間反応させた。2倍量のアセトニトリルを添加し、遠心分離(約3000 $\times$ g、5分間)した。得られた上清をLC/MSで分析した(測定A)。

[0057] また、ヒト肝ミクロソームの代わりに、同蛋白濃度のヒト血清アルブミン(シグマアルドリッチ)を用い、上記と同様の測定を行った(測定B)。

測定Bに対する測定Aの試験化合物のピーク面積比に100を乗じ、試験化合物の残存率(%)を算出した。反応0分における残存率(100%)および反応30分における残存率を自然対数変換し、反応時間に対してプロットして得られた傾きを消失速度定数(k_e)とした。この値を用い、以下の式によりヒト肝代謝固有クリアランス(CL_{int})を算出した。

[0058]

[数6]

$$CL_{int} (L/h/kg) = k_e (h^{-1}) \times \frac{1}{\text{肝Ms蛋白濃度 (mg protein/mL)}} \times \frac{\text{肝Ms蛋白量 (mg)}}{\text{肝重量 (g)}} \times \frac{\text{肝重量 (g)}}{\text{体重 (kg)}} \times \frac{1}{1000}$$

[0059] なお、上記式中、肝Ms蛋白量/肝重量は32.3 mg/g (Xenobiotica、18巻、849頁(1988年)記載の内容引用)、肝重量/体重は25.7 g/kg (Pharmaceutical Research、10巻、1093頁(1993年)記載の内容引用)を用いて計算した。

上記のようにして算出した、化合物(Ia)、(II)、(III)および(IV)の CL_{int} を表5に示した。この結果より、化合物(Ia)は、その化学構造が類似した他の化合物(II)～(IV)に比べ、 CL_{int} が低く、より代謝安定であることが示唆された。一般に、医薬の活性成分となる化合物には、毒性(副作用)が少なく、薬物動態が優れていることが求められる。従って、 CL_{int} が低い化合物(Ia)は、他の化合物(II)～(IV)に比べ、医薬の活性成分として優れていると考えられる。

[0060] [表5]

表5：各試験化合物のヒト肝代謝固有クリアランスの値

評価化合物	CL_{int} (L/h/kg)
化合物(Ia)	2.8
化合物(II)	6.1
化合物(III)	9.5
化合物(IV)	12.1

[0061] 以下、本発明を実施例および参考例によりさらに具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されることはない。

実施例 1

[0062] 錠剤(化合物(Ia))

常法により、次の組成からなる錠剤を調製する。化合物(Ia)、40 g、乳糖286.8 gおよび馬鈴薯澱粉60 gを混合し、これにヒドロキシプロピルセルロースの10%水溶液120 gを加える。得られた混合物を常法により練合し、造粒し

て乾燥させた後、整粒し打錠用顆粒とする。これにステアリン酸マグネシウム1.2 gを加えて混合し、径8 mmの杵をもった打錠機(菊水社製RT-15型)で打錠を行って、錠剤(1錠あたり活性成分20 mgを含有する)を得る。

処方	化合物(Ia)	20	mg
	乳糖	143.4	mg
	馬鈴薯澱粉	30	mg
	ヒドロキシプロピルセルロース	6	mg
	ステアリン酸マグネシウム	0.6	mg
		200	mg

実施例 2

[0063] 注射剤(化合物(Ia))

常法により、次の組成からなる注射剤を調製する。化合物(Ia)、1 gを注射用蒸留水に添加して混合し、さらに塩酸および水酸化ナトリウム水溶液を添加してpHを7に調整した後、注射用蒸留水で全量を1000 mLとする。得られた混合液をガラスバイアルに2 mLずつ無菌的に充填して、注射剤(1バイアルあたり活性成分2 mgを含有する)を得る。

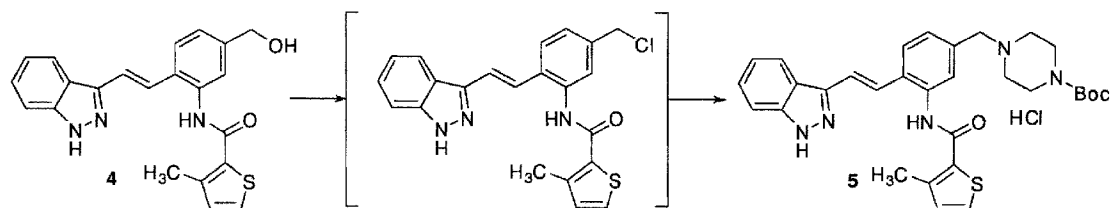
処方	化合物(Ia)	2	mg
	塩酸	適量	
	水酸化ナトリウム水溶液	適量	
	注射用蒸留水	適量	
		2.00	mL

参考例1

(E)-N-{2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]-5-[4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジ-1-イルメチル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミド・塩酸塩(化合物5)

[0064]

[化4]



[0065] 上記式中、-Bocは、tert-ブトキシカルボニル基($-\text{COC}(\text{CH}_3)_3$)を表す。

<工程 1>

W02006/080450の実施例108で得られる(E)-N-{5-ヒドロキシメチル-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミド(化合物4, 1.8 g, 4.6 mmol)をN,N-ジメチルホルムアミド(18 mL)に溶解し、塩化メタンスルホニル(0.68 mL, 8.8 mmol)を加えて室温にて4時間撹拌した。反応終了後、テトラヒドロフラン(90 mL)を加えて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(18 mL)と飽和食塩水(18 mL)にて有機層を洗浄した。有機層を減圧濃縮することで粗(E)-N-{5-クロロメチル-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミド(2.6g)を得た。

[0066] <工程 2>

工程 1 で得られた粗(E)-N-{5-クロロメチル-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミド(2.6 g)にN,N-ジメチルアセトアミド(18 mL)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.79 mL, 4.4 mmol)、および1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン(1.2 g, 6.6 mmol)を加えて80 °Cで2時間加熱還流した。反応終了後、室温まで冷却し、水(90 mL)を加えてから、酢酸エチル抽出(36 mL)を2回行った。有機層を飽和食塩水(10 mL)にて洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧濃縮した。得られた残渣にエタノール(72 mL)を加えて4 °Cに冷却後、濃塩酸(1.5 mL)を添加して2.5時間撹拌した。濾過して得られる固体を乾燥し、標記化合物5(2.1 g, 77%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 1.42 (s, 9H), 2.50 (s, 3H), 2.94-3.47 (m, 6H), 4.06 (m, 2H), 4.38 (brs, 2H), 7.07-7.14 (m, 2H), 7.39 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H)

), 7.50-7.70 (m, 6H), 8.03-8.08 (m, 2H), 10.0 (br, 1H), 13.2 (br, 1H).

ESI-MS (m/z); 558 [M+H]⁺

参考例2

(E)-N-{2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]-5-(ピペラジン-1-イルメチル)フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミド(化合物6)

[0067] [化5]



[0068] 上記式中、-Bocは、tert-ブトキシカルボニル基(-COC(CH₃)₃)を表す。

参考例1で得られる化合物5(4.0 g, 6.7 mmol)をメタノール(0.16 L)、水(32 mL)、および濃塩酸(8 mL)の混合液に加えて70 °Cで1.5時間撹拌した。反応溶液を4 °Cまで冷却し、4 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液(26 mL)をゆっくりと加えてpH11とした後に、減圧下にてメタノールを留去し、エタノール(40 mL)を加えて、水(40 mL)を滴下した。濾過して得られる固体を減圧乾燥し、標記化合物6(3.1 g, 定量的)を得た。

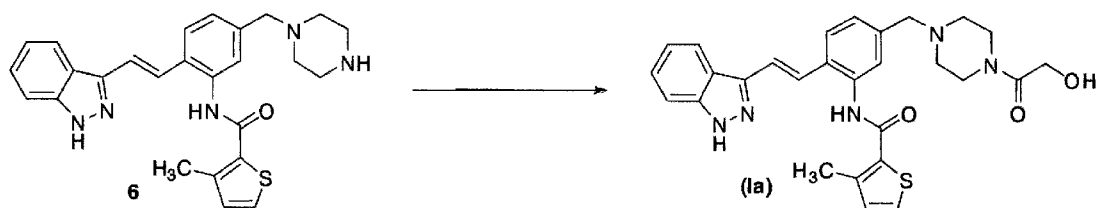
¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 2.32 (br, 4H), 2.50 (s, 3H), 2.68-2.72 (m, 4H), 3.45 (s, 2H), 7.05-7.09 (m, 2H), 7.24-7.39 (m, 3H), 7.47 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 9.85 (br, 1H), 13.2 (br, 1H).

参考例3

(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミド(化合物(Ia))の合成

[0069]

[化6]



[0070] 参考例2で得られる化合物6(500 mg, 1.09 mmol)のN,N-ジメチルアセトアミド(10 mL)溶液に塩化アセトキシアセチル(0.141 mL, 1.31 mmol, 1.1 当量)を加えて30分間攪拌した。水(60 mL)と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(80 mL)を加え、酢酸エチル(100 mL)で抽出し、有機層を飽和食塩水(100 mL)で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。

減圧濃縮して得られる残渣(化合物(Ia)粗成物)にメタノール(5.0 mL)、水(1.0 mL)、および炭酸カリウム(75 mg, 0.501 mmol)を加えて1時間攪拌した。水(5 mL)を加えてからエタノール(1.0 mL)を加え、更に水(10 mL)を滴下した。混合液を40 °Cに加熱後、4 °Cまで冷却して1時間攪拌後に濾過することにより白色固体として、化合物(Ia)[化合物(Ia)エタノール結晶化試料] (535 mg, 95%)を得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 2.40 (br, 4H), 2.51 (s, 3H), 3.49 (br, 4H), 3.54 (s, 2H), 4.07 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 4.54 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 7.05–7.11 (m, 2H), 7.27–7.39 (m, 3H), 7.48 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 7.51–7.58 (m, 1H), 7.61 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 9.87 (br, 1H), 13.1 (br, 1H).

[0071] 参考例4

(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミド・p-トルエンスルホン酸塩(化合物(Ia)のp-トルエンスルホン酸塩)

参考例3で得られた化合物(Ia)(100 mg, 0.194 mmol)にエタノール3 mLを加えて65 °Cに加熱し、得られた懸濁液にp-トルエンスルホン酸1.0 mol/L エタ

ノール溶液を430 μ L(0.427 mmol)加えた。得られた溶液を室温に冷却し、一晚攪拌後さらに冷蔵庫にて2時間以上攪拌を継続した。濾取により得られた結晶を、減圧下50 $^{\circ}$ Cにて乾燥し、化合物(Ia)のp-トルエンスルホン酸塩(104 mg, 収率77.9%)を得た。

^1H NMR (DMSO- d_6) δ (ppm): 2.21 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.80–4.50 (12H), 6.95–7.10 (m, 4H), 7.29–7.63 (m, 8H), 7.66 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.95–8.05 (m, 2H), 9.80(brs, 1H), 9.95 (s, 1H), 13.17 (brs, 1H);

元素分析: 計算値 $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}_2$ として: C, 61.12; H 5.42; N 10.18. 実測値: C, 60.91; H, 5.30; N, 10.16.

産業上の利用可能性

[0072] 本発明により、インダゾール誘導体もしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物を有効成分として含有する癌治療剤等を提供することができる。

請求の範囲

- [請求項1] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物を有効成分として含有する、大腸癌、肺癌、サルコーマ(sarcoma)、および膵臓癌から選ばれる癌の治療剤。
- [請求項2] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはその薬理学的に許容される塩またはその水和物が、(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩またはその水和物である請求項1記載の癌の治療剤。
- [請求項3] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩またはその水和物が、(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩である請求項2記載の癌の治療剤。
- [請求項4] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドもしくはそのp-トルエンスルホン酸塩が(E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩である請求項3記載の癌の治療剤。
- [請求項5] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフエン-

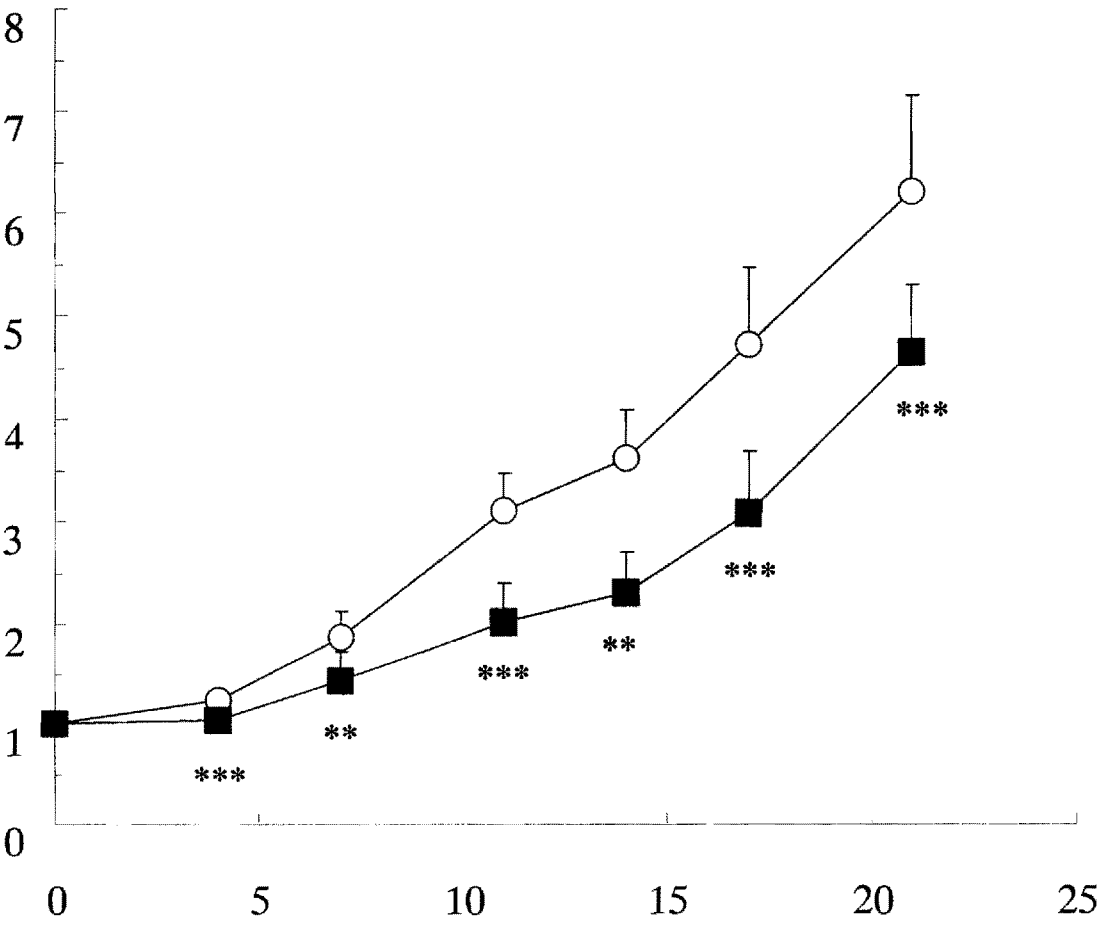
2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有する大腸癌の治療剤。

[請求項6] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有する肺癌の治療剤。

[請求項7] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有するサルコーマ(sarcoma)の治療剤。

[請求項8] (E)-N-{5-[4-(2-ヒドロキシアセチル)ピペラジン-1-イルメチル]-2-[2-(1H-インダゾール-3-イル)ビニル]フェニル}-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミドのp-トルエンスルホン酸塩を有効成分として含有する膵臓癌の治療剤。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/054553

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/496(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C07D409/12(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/496, A61P35/00, C07D409/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS, REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2006/080450 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 03 August 2006 (03.08.2006), entire text; particularly, table 10-4 & JP 2009-108069 A & US 2009/0054508 A1 & EP 1847532 A1	1-3 4-8
P, X	WO 2011/158931 A1 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.), 22 December 2011 (22.12.2011), entire text (Family: none)	1-8

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

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
21 March, 2012 (21.03.12)

Date of mailing of the international search report
03 April, 2012 (03.04.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/054553

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/001886 A1 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.), 03 January 2008 (03.01.2008), entire text & US 2009/0209537 A1 & EP 2036894 A1	1-8
A	WO 2008/001885 A1 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.), 03 January 2008 (03.01.2008), entire text & EP 2036893 A1	1-8
A	WO 2008/111441 A1 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.), 18 September 2008 (18.09.2008), entire text & US 2010/0104567 A1 & EP 2133095 A1	1-8

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/496 (2006.01)i, A61P35/00 (2006.01)i, C07D409/12 (2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/496, A61P35/00, C07D409/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS, REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	WO 2006/080450 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2006.08.03, 全文、特に表 1 O - 4 & JP 2009-108069 A & US 2009/0054508 A1 & EP 1847532 A1	1-3 4-8
P, X	WO 2011/158931 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2011.12.22, 全文 (ファミリーなし)	1-8
A	WO 2008/001886 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2008.01.03, 全文 & US 2009/0209537 A1 & EP 2036894 A1	1-8

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 1 . 0 3 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

0 3 . 0 4 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 直寛

4 C

4 0 4 1

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2008/001885 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2008.01.03, 全文 & EP 2036893 A1	1-8
A	WO 2008/111441 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2008.09.18, 全文 & US 2010/0104567 A1 & EP 2133095 A1	1-8