

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5719344号

(P5719344)

(45) 発行日 平成27年5月20日 (2015. 5. 20)

(24) 登録日 平成27年3月27日 (2015. 3. 27)

(51) Int. Cl. F I
C O 7 D 405/12 (2006. 01) C O 7 D 405/12
C O 7 D 407/12 (2006. 01) C O 7 D 407/12
C O 7 D 409/12 (2006. 01) C O 7 D 409/12
C O 7 D 413/12 (2006. 01) C O 7 D 413/12
C O 7 D 417/12 (2006. 01) C O 7 D 417/12

請求項の数 18 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-502229 (P2012-502229)
 (86) (22) 出願日 平成22年3月25日 (2010. 3. 25)
 (65) 公表番号 特表2012-521998 (P2012-521998A)
 (43) 公表日 平成24年9月20日 (2012. 9. 20)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2010/028610
 (87) 国際公開番号 W02010/111460
 (87) 国際公開日 平成22年9月30日 (2010. 9. 30)
 審査請求日 平成25年3月25日 (2013. 3. 25)
 (31) 優先権主張番号 61/255, 096
 (32) 優先日 平成21年10月27日 (2009. 10. 27)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/164, 256
 (32) 優先日 平成21年3月27日 (2009. 3. 27)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 511233669
 プロフエクタス・バイオサイエンシズ・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国メリーランド州21224
 ボルチモア・ベックリーストリート641
 1
 (74) 代理人 110000741
 特許業務法人小田島特許事務所
 (72) 発明者 ツアング, ジー
 アメリカ合衆国メリーランド州21224
 ボルチモア・ベックリーストリート641
 1

最終頁に続く

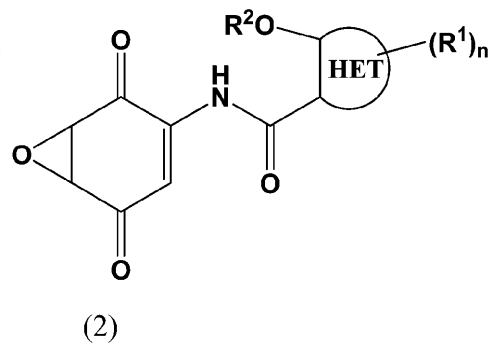
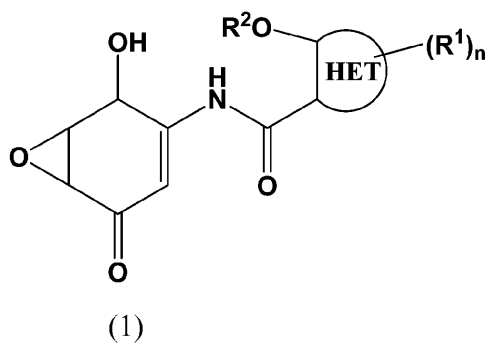
(54) 【発明の名称】 NF- κ B の阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (1) または式 (2)

【化 1】



10

〔式中、

HETは飽和もしくは不飽和の単一もしくは多一環の炭素環であり、ここで1もしくは複数の環の炭素原子がN、SもしくはOで置き換えられ；

各R¹は独立して水素；CF₃；フェニル；ハロ；(C1-C6)アルキル；(C1-C6)アルキル-OH；またはピペリジンであり；

R²はHまたはC1-C6アルキルであり；

20

n は 0 - 3 であり、
 ここで H E T については O R² 基とアミド部分との間にオルトの関係が存在する] の化合物またはその製薬学的塩。

【請求項 2】

R² が H である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

H E T がピリジルであり、そして n が 0 である請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

n が 0 または 1 である請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 5】

H E T が不飽和の 6 員環である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

H E T がピリジン、ピリダジン、ピリミジンおよびピラジンである請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

H E T が飽和の 6 員環である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 8】

H E T がピペリジンまたはモルホリンである請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 9】

H E T が 5 員環である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 10】

H E T がピラゾール、イソチアゾール、イソキサゾール、フランおよびチオフェンである請求項 9 に記載の化合物。

【請求項 11】

H E T が不飽和の多一環の炭素環である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 12】

H E T がキノキサリン、ナフチリジン、ピリドピリミジン、キノリンまたはイソキノリンである請求項 11 に記載の化合物。

【請求項 13】

H E T がベンゾオキサゾール、ベンゾチアゾール、インドールまたはベンゾイミダゾールである請求項 11 に記載の化合物。

【請求項 14】

(±) - 2 - ヒドロキシ - N - (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) ニコチンアミド；

(±) - 2 - ヒドロキシ - N - (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) キノリン - 3 - カルボキサミド；

(±) - 3 - ヒドロキシ - N - (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) ピコリンアミド；

(±) - 4 - ヒドロキシ - N - (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) ニコチンアミド；

(±) - 6 - クロロ - 4 - ヒドロキシ - キノリン - 3 - カルボン酸 - (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) アミド；

(±) - 4 - ヒドロキシ - 8 - トリフルオロメチル - キノリン - 3 - カルボン酸 (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) アミド；

(±) - 5 - クロロ - 2 - ヒドロキシ - N - (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) ニコチンアミド；

(±) - 4 - ヒドロキシ - 2 - フェニルピリミジン - 5 - カルボン酸 (2 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 7 - オキサ - ビシクロ [4. 1. 0] ヘプター - 3 - エン - 3 - イル) アミ

10

20

30

40

50

ド；

(±)－3－ヒドロキシ－キノキサリン－2－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－2－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）－6－メチル－ニコチンアミド；

(±)－4－ヒドロキシ－2－ピペリジン－1－イル－ピリミジン－5－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－3－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）ピコリンアミド、メシレート；

10

(±)－3－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）ピコリンアミドトリフルオロアセテート；

(±)－3－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）ピコリンアミドトシレート；

(±)－3－ヒドロキシ－キノリン－2－カルボン酸－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）－2－メトキシ－ニコチンアミド；

(±)－3－ヒドロキシ－キノリン－2－カルボン酸－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミドメシレート；

20

(±)－3－ヒドロキシ－キノリン－2－カルボン酸－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミドトリフルオロアセテート；

(±)－3－ヒドロキシ－キノリン－2－カルボン酸－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミドトシレート；

(±)－3－メトキシ－ピリジン－2－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）－2－メトキシ－ニコチンアミドトリフルオロアセテート；

30

(±)－3－メトキシ－ピリジン－2－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミドトリフルオロアセテート；

(±)－2－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）－6－トリフルオロメチル－ニコチンアミド；

(±)－4－ヒドロキシ－2－メチル－ピリミジン－5－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

40

(±)－2－メトキシ－キノリン－3－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－3－メトキシ－ピラジン－2－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－1－クロロ－4－ヒドロキシ－イソキノリン－3－カルボン酸（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）アミド；

(±)－N－（2, 5－ジオキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘプタ－3－エン－3－イル）－2－ヒドロキシキノリン－3－カルボキサミド；

(±)－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ〔4. 1. 0〕ヘ

50

プター-3-エン-3-イル)-8-メトキシキノリン-7-カルボキサミド;

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-2-メトキシニコチンアミド;

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-3-メトキシキノリン-2-カルボキサミド;

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-8-メトキシキノリン-7-カルボキサミド;

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-8-メトキシキノリン-7-カルボキサミドトリフルオロアセテート;

10

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-3-ヒドロキシイソニコチンアミド;

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-2-メトキシキノリン-3-カルボキサミド;

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-6-メトキシキノリン-3-カルボキサミド;

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ベンゾ[d]オキサゾール-5-カルボキサミド;

20

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ベンゾ[d]チアゾール-5-カルボキサミド;

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ピペリジン-2-カルボキサミド;

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド;

(±)-5-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ピリミジン-4-カルボキサミド;

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-1,8-ナフチリジン-3-カルボキサミド;

30

(±)-7-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ピリド[2,3-d]ピリミジン-6-カルボキサミド;

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)ピリダジン-3-カルボキサミド;

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-1H-ピラゾール-3-カルボキサミド;

40

4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)フラン-3-カルボキサミド;

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)チオフェン-3-カルボキサミド;

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)イソチアゾール-4-カルボキサミド;

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)イソキサゾール-4-カルボキサミド;

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-1H-インドール-5-カルボキサミド

50

；

(±)－6－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ
[4. 1. 0] ヘプター3－エン－3－イル）－1H－ベンゾ[d] イミダゾール－5－
カルボキサミド；および

(±)－2－ヒドロキシ－N－（2－ヒドロキシ－5－オキソ－7－オキサ－ビシクロ
[4. 1. 0] ヘプター3－エン－3－イル）モルホリン－3－カルボキサミド
からなる群から選択される化合物またはその製薬学的塩。

【請求項15】

請求項1ないし3のいずれか1項に記載の式(1)または式(2)の化合物、またはその製薬学的に許容され得る塩を、製薬学的に有効な希釈剤または担体と組み合わせて含んでなる製薬学的組成物。

10

【請求項16】

NF-κBの活性化の阻害に関連する哺乳動物の疾患を処置する薬剤の調製における請求項1ないし3のいずれか1項に記載の式(1)または式(2)の化合物またはそれらの製薬学的に許容され得る塩の使用であって、該薬剤が有効量の式(1)または式(2)の化合物またはその製薬学的に許容され得る塩を含んでなる上記使用。

【請求項17】

疾患が癌、炎症、自己免疫疾患、糖尿病および糖尿病合併症、感染、心血管疾患および虚血性再灌流障害からなる群から選択される請求項16に記載の使用。

【請求項18】

20

疾患が癌または糖尿病である請求項16または17に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

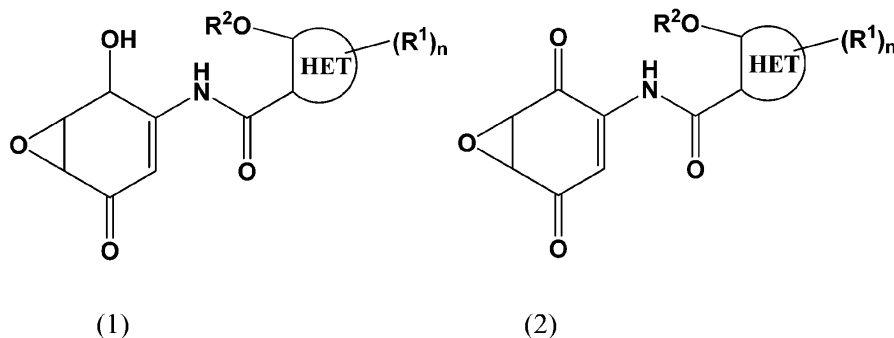
発明の分野

本発明は、癌、炎症、自己免疫疾患、糖尿病および糖尿病合併症、感染、心血管疾患および虚血性再灌流障害の処置のための式(1)および(2)

【0002】

【化1】

30



【0003】

の化合物、およびその製薬学的に許容され得る塩に関する。

40

【背景技術】

【0004】

発明の背景

NF-κB（活性化B細胞の核内因子κ-軽鎖エンハンサー）は、p65（RelA）、c-Rel、RelB、p50（NF-κB1）およびp52（NF-κB2）のヘテロ-またはホモ二量体からなる転写因子のファミリーである（非特許文献1）。NF-κBの古典的な、すなわち正規経路（canonical pathway）では、種々の細胞膜レセプターの刺激がIκB（インヒビタータンパク質）のリン酸化、ユビキチン化およびプロテアソーム分解を導き、これが転写を開始するp65/50ヘテロ二量体の

50

核内移行をもたらす。この正規経路は I κ B β キナーゼ、26Sプロテアソームまたは p65 の DNA への結合により効果的に遮断することができる。別の、すなわち非正規経路は、阻害的なアンキリン含有タンパク質 NF- κ B2 / p100 のタンパク質分解を介して調節されて p52 を放出し、これが典型的には RelB と二量体化する。さらに p52 / c-Rel および p52 / p65 を活性化する「ハイブリッド」経路が存在する。非正規または「ハイブリッド」経路は、I κ B β キナーゼまたはプロテアソーム阻害剤に感受性ではない。これらの経路は、RelB または c-Rel の DNA への結合と拮抗することにより最も効果的に阻害される。正規および非正規経路は、特有の遺伝子群の活性化を介して特異的な疾患の様々な局面と関連している。すなわち異なる疾患状況の下で正規または非正規経路のいずれか、または双方の選択的阻害は、元にある疾患状態を改善するために最も効果的な取り組みになると考えられる。

10

【0005】

NF- κ B 活性化は、癌、AIDS、糖尿病、心血管疾患、自己免疫疾患、ウイルス複製、敗血症性ショック、神経変性障害、毛細管拡張性運動失調 (AT)、関節炎、喘息、炎症性腸疾患、および他の炎症状態、アテローム硬化症、心臓疾患、喘息、異化障害、1 および 2 型糖尿病、老化、皮膚疾患、腎疾患、消化管疾患、肺炎、神経病理学的疾患、肺疾患、慢性閉塞性肺疾患、敗血症および無呼吸を含む広い様々な疾患と結び付けられた。NF- κ B の活性化は多くのヒト疾患に影響している。

【0006】

例えばグラム陰性細菌のリポ多糖 (LPS) による NF- κ B の活性化は、NF- κ B が多くのサイトカインおよび修飾酵素の転写を過剰に活性化し、これらの長期発現が心臓および肝臓のような生命維持に必須な臓器の機能に負の影響を及ぼす恐れがあるため、敗血症ショックの発症に寄与する可能性がある (非特許文献 2 ; 非特許文献 3)。

20

【0007】

さらに慢性のアルツハイマー病では、アミロイド β ペプチドが反応性の酸素中間体の生産を生じ、そして NF- κ B 部位を介する遺伝子発現を間接的に活性化する (非特許文献 4)。

【0008】

骨の破壊的糜爛または骨溶解は、関節リウマチ (RA)、歯周病および人工関節周囲の骨溶解のような炎症状態の主な合併症である。RA は約 1.0 % の米国の成人に影響を及ぼしている自己免疫疾患であり、その女性対男性の比は 2.5 対 1 である (非特許文献 5)。その顕著な特徴は主な病状を引き起こす進行性の関節破壊である。歯周病は高い有病率であり、そして世界人口の 90 % までもが罹患している可能性がある。これは成人が歯を失う主原因であることはよく知られている (非特許文献 6)。その有病率にもかかわらず、歯周の骨の侵食が起こるメカニズムはほとんど知られていないが、口中に存在する病原性微生物に対する宿主の反応がこのプロセスを誘発するようである。人工関節周囲の骨溶解は、固定が無くなるまで、外因性インプラントデバイスの回りの慢性の骨吸収により生じ、これは磨耗粉粒子に対する先天性の免疫応答の結果と考えられ (非特許文献 7)、後天性免疫系の成分によることはほとんどない (非特許文献 8)。

30

【0009】

これらの状態は明確な原因により開始され、そして択一的経路により進行するが、このような疾患の病理学的プロセスにおける重要な共通因子 (1 もしくは複数) は、炎症した組織の NF- κ B 経路の恒常的 (constitutive) 活性化により駆動される炎症性 (proinflammatory) サイトカインの過剰生産である。これらの状態で見られる骨の糜爛は、骨粗鬆症のようなホルモンにより調節される全身性の骨の病気とは異なり、ほとんど炎症した組織に局在している。このような疾患に多く見られるこれらの炎症した組織も、炎症誘発性サイトカイン、すなわち TNF- α 、IL-1 および IL-6 を生産し、これらは次に破骨細胞分化のシグナル伝達および骨再吸収活性に関与する。このように炎症性の骨溶解は、炎症している組織中で強化された破骨細胞の漸増および NF- κ B が駆動する炎症誘発性サイトカインにより刺激された活性化の産物である。

40

50

【0010】

炎症性腸疾患（IBD）は、胃腸管が関与する多くの慢性的な再発性炎症障害を包含する。IBDの2つの最も多い病状であるクローン病および潰瘍性大腸炎は、独特な組織病理学および免疫応答により識別することができる（非特許文献9；非特許文献10）。現行の処置の限られた効力および潜在的な副作用により、患者および医師はこれらの疾患の慢性的に再発する炎症的性質を管理するための新しい処置を切望している。

【0011】

クローン病および潰瘍性大腸炎になる厳密な原因は未知のままであるが、それらは一般に正常な管腔の微生物叢に対する粘膜免疫系の不適切な持続的活性化の結果と考えられている（非特許文献11）。その結果、存在するマクロファージ、樹状細胞およびT細胞は活性化され、そして主にNF-κB依存的ケモカインおよびサイトカインを分泌し始める。重要な炎症誘発性メディエーターのNF-κB媒介型過剰生産は、ヒトIBDおよび大腸炎の動物モデルの双方の開始および進行に寄与する（非特許文献12；非特許文献13）。特にIBD患者のマクロファージは、インターロイキン（IL）1、IL6および腫瘍壊死因子（TNFα）の生産増大を伴う高レベルのNF-κBのDNA結合活性を現す（非特許文献12）。さらにNF-κBはTヘルパー細胞1（Th1）およびTヘルパー細胞2（Th2）サイトカインの活性化に極めて重大な役割を果たし、これら双方が炎症を促進し、かつ維持するために必要である（非特許文献14）。IBDでNF-κBが果たす中心的役割から、この経路を標的とする処置を開発するために徹底的な努力がなされた。

【0012】

NF-κBは、胸部、卵巣、結腸、膵臓、甲状腺、前立腺、肺、頭および首、膀胱および皮膚の腫瘍に由来する多くの癌由来細胞株で恒常的に発現することが示された（非特許文献15）。これはまたB細胞リンパ腫、ホジキン病、T細胞リンパ腫、成人T細胞白血病、急性リンパ芽球性白血病、多発性ミエローマ、慢性リンパ性白血病、および急性骨髄性白血病についても見られた。NF-κBは防御応答の一部として正常な炎症の鍵となるメディエーターであるが、慢性炎症は癌、糖尿病および上に挙げた他の疾患の宿主を導く可能性がある。発癌プロセス、血管形成、侵襲、および腫瘍細胞の転移に重要な役割を媒介する数種の炎症誘発性遺伝子産物が同定された。中でもこれら遺伝子産物は、TNFおよびそのスーパーファミリーのメンバー、IL-1α、IL-1β、IL-6、IL-8、IL-18、ケモカイン、MMP-9、VEGF、COX-2および5-LOXである。これらすべての遺伝子の発現は、転写因子NF-κBにより主に調節されており、これはほとんどの腫瘍中で恒常的に活性であり、そして発癌物質（例えば喫煙）、腫瘍プロモーター、発癌性ウイルスタンパク質（HIV-tat、KHSV、EBV-LMP1、HTLV1-tax、HPV、HCVおよびHBV）、化学療法剤、およびガンマ線照射により誘導される（非特許文献16）。これらの考察はNF-κBを抑制する抗炎症剤が癌の防止および処置の両方に潜在能力を有するはずであることを意味している。

【0013】

インフルエンザウイルスタンパク質のヘモアグルチニンもNF-κBを活性化し、そしてこの活性化がサイトカインのウイルス誘導およびインフルエンザに関連する症状の幾つかに寄与する可能性がある（非特許文献17；非特許文献18）。

【0014】

アテローム硬化症に関連する低密度リポタンパク質からの酸化脂質がNF-κBを活性化し、これは次いで炎症性サイトカインのような他の遺伝子を活性化する（非特許文献19）。さらにアテローム硬化症に罹り易いマウスは、アテローム発生の食事を与えた場合に、脂質の過酸化産物の蓄積、炎症遺伝子の誘導およびNF-κB転写因子の活性化に関連する大動脈のアテローム硬化性損傷の形成に対する罹病性により、NF-κBの活性化を現す（非特許文献19）。アテローム硬化性に対する別の重要な要因は、NF-κBの活性化を介して血管平滑筋細胞の増殖を刺激するトロニンである（非特許文献20）。IKBリプレッサータンパク質（IKBα）の短縮形は、イオン化照射に対する過敏性の

原因となることが示され、そして恒常的レベルのNF-κB活性化を有する毛細管拡張性運動失調(AT)細胞においてDNA合成の調節が欠損している(非特許文献21)。このAT細胞に由来するIκBαの突然変異は、NF-κB経路の恒常的活性化を生じるリプレッサータンパク質を不活性化することが示された。これらすべての知見を鑑みて、NF-κBの異常な活性化または発現は明らかに広範な様々な病状と関連している。

【0015】

HIV-1の感染およびライフサイクルは、ヒト単核細胞中でNF-κB経路と強くつながっている。ウイルス感染は、T細胞の過剰刺激および最終的消耗(これはAIDSの特徴である)を生じるNF-κBの活性化を導く(非特許文献22を参照されたい)。例えばHIV-1の重要な受容体であるCCR5の発現は、NF-κBにより調節される(非特許文献23)。CCR5プロモーターの欠失分析では、3'-遠位NF-κB/AP-1部位の喪失が転写を>95%まで下げることが示した(非特許文献23)。これらの研究は、NF-κBの恒常的リプレッションがCCR5-受容体のメッセージに劇的な低下を引き起こすことを示唆している。HIV-1の侵入動力学(entry kinetics)は、標的T細胞表面上で発現したCCR5レベルにより影響を受けるので(非特許文献24; 非特許文献25; 非特許文献26)、CCR5のダウンモジュレーション(down modulating)は、ウイルスリザーバを生む感染細胞のプールの拡大を妨げる(constrain)ことができる。CXCR4発現もNF-κBにより影響を受けると報告され(非特許文献27)、NF-κB阻害剤が後期感染中に現れるX4-1向性の単離物に対して等しく効果的であることを示唆している。NF-κBは組み込まれたDNA-プロウイルスの転写に必要である(非特許文献28; 非特許文献29; 非特許文献30; 非特許文献31; 非特許文献32; 非特許文献33; 非特許文献34)。実際に、NF-κB活性化の欠損で、感染した患者からウイルスを排除するための主要な障害である潜伏性ウイルスを宿す細胞群の生成が導かれる(非特許文献35)。

【0016】

NF-κBは炎症刺激に応答して150以上の標的遺伝子の発現を促進する。これらの遺伝子にはインターロイキン-1、-2、-6および腫瘍壊死因子受容体(TNFR)(これらの受容体はアポトーシスを媒介し、そして炎症の調節物質として機能する)、ならびにイムノレセプター、細胞接着分子、およびシクロオキシゲナーゼ-1および誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)のような酵素をコードする遺伝子がある(非特許文献36; 非特許文献37)。またNF-κBはHCVおよびHIV-1のようなウイルス感染に関連する疾患の進行に重要な役割を果たす。

【0017】

NF-κBのファミリーのメンバーには、RelA/p65、RelB、c-Rel、p50/p105(NF-κB1)、およびp52/p100(NF-κB2)を含む(非特許文献38; 非特許文献39; 非特許文献40)。Relファミリーのメンバーは、NF-κBに調節される遺伝子のプロモータードメイン内に位置するシス結合要素に明確な特異性を持つホモダイマーもしくはヘテロダイマーのいずれかとして機能する(非特許文献41; 非特許文献42; 非特許文献43)。RelA/p65およびp50ヘテロダイマーからなる古典的なNF-κBは、NF-κBの最もよく研究された形態である(非特許文献44; 非特許文献38およびその中の文献)。細胞刺激の前に、古典的なNF-κBはIκBα阻害剤タンパク質に結合した不活性複合体として細胞質に存在する。細菌のリポ多糖、炎症性サイトカイン、またはHIV-1 Vprタンパク質のようなNF-κBインデューサーは、IκB-キナーゼ複合体(IKK)(これはIκBαをリン酸化する)を活性化することにより活性なNF-κBを細胞質の複合体から放出する(非特許文献45; 非特許文献46; 非特許文献47; 非特許文献48; 非特許文献49)。IκBのリン酸化は引き続きそれをユビキチン化し、そして26Sプロテオソームにより分解するしるしをつける。遊離のNF-κB二量体は核に移行し、ここでそれらはそれらの標的遺伝子の転写を刺激する。

【0018】

10

20

30

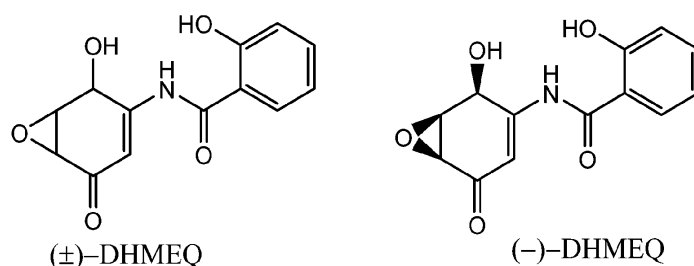
40

50

ラセミ型のデヒドロキシメチルエポキシキノマイシン (DHMEQ) の分子設計は、アミコラトプシス (Amycolatopsis) から単離された抗生物質であるエポキシキノマイシン C に基づいた (非特許文献 50)。DHMEQ はラセミ体として 2, 5-ジメトキシアニリンから 5 段階で合成された。キラルカラムでのエナンチオマーの分割で、(+) および (-) の両エナンチオマーが生じた。(+) エナンチオマーは、NF- κ B の阻害に (+) エナンチオマーよりも有力であることが示された (非特許文献 51)。DHMEQ は NF- κ B の核への移行を特異的に阻害することが示された (非特許文献 52)。具体的に DHMEQ は p65 および他の Rel 相同的タンパク質の特異的システイン残基を 1:1 の化学的当量比で共有的に修飾する (非特許文献 53)。NF- κ B 阻害剤として、DHMEQ は様々な動物の疾患モデルで徹底的に研究され、そして広い範囲の効力 10
が証明され、それらには充実性腫瘍、血液悪性疾患、関節炎、腸虚血およびアテローム硬化症の処置を含む (非特許文献 54)。このように DHMEQ は癌および炎症の処置に有用となり得る (非特許文献 55)。

【0019】

【化 2】



20

【0020】

NF- κ B の活性化が上記のような多くの悪性疾患に果たす役割の観点から、有効な低分子 NF- κ B 阻害剤の必要性が依然として存在している。

【0021】

NF- κ B 成分、p65 (RelA)、RelB および c-Rel の DNA への結合を直接阻害する幾つかの系列の低分子阻害剤が見いだされた。その結果、これらの化合物が NF- κ B の正規および非正規経路の両方を遮断できる。二重阻害は、正規経路のみに影響 30
する IKK β キナーゼ阻害剤とは異なる。この化合物の効力は、多発性硬化症および関節リウマチの動物モデルで試験され、そして結果を本明細書に記載する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0022】

【非特許文献 1】Dejardin E., The alternative NF-kappaB pathway from biochemistry to biology: pitfalls and promises for future drug development. *Biochem. Pharmacol.* 72:1161-1179 (2006)

【非特許文献 2】Arcaroli J, Silva E, Maloney JP, He Q, Svetkauskaite D, Murphy J R, Abraham E., Variant IRAK-1 haplotype is associated with increased nuclear factor- κ B activation and worse outcomes in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 173(12): 1335-1341, (2006) 40

【非特許文献 3】Niu J, Azfer A, Kolattukudy PE., Protection against lipopolysaccharide-induced myocardial dysfunction in mice by cardiac-specific expression of soluble Fas. *J Mol Cell Cardiol* 44(1): 160-169, (2008)

【非特許文献 4】Giri RK, Rajagopal V, Shahi S, Zlokovic BV, Kalra VK., Mechanism of amyloid peptide induced CCR5 expression in monocytes and its inhibition by siRNA for Egr-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 289(2): C264-276, (2005)

【非特許文献 5】Lawrence RC, Helmick CG, Arnett FC, Deyo RA, Felson DT, Giannini EH, Heyse SP, Hirsch R, Hochberg MC, Hunder GG, Liang MH, Pillemer SR, Steen VD 50

, Wolfe F., Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. *Arthritis Rheum* 41(5): 778-799, (1998)

【非特許文献 6】Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW., Periodontal diseases. *Lancet* 366(9499): 1809-1820, (2005)

【非特許文献 7】Harris WH., The problem is osteolysis. *Clin Orthop Relat Res*(311): 46-53, (1995)

【非特許文献 8】Goldring SR, Jasty M, Roelke MS, Rourke CM, Bringham FR, Harris WH., Formation of a synovial-like membrane at the bone-cement interface. Its role in bone resorption and implant loosening after total hip replacement. *Arthritis Rheum* 29(7): 836-842, (1986)

【非特許文献 9】Atreya I, Atreya R, Neurath MF., NF-kappaB in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 263(6): 591-596, (2008)

【非特許文献 10】Bouma G, Strober W., The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 3(7): 521-533, (2003)

【非特許文献 11】Tilg H, Moschen AR, Kaser A, Pines A, Dotan I., Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts. *Gut* 57(5): 684-694, (2008)

【非特許文献 12】Neurath MF, Fuss I, Schurmann G, Pettersson S, Arnold K, Muller-Lobeck H, Strober W, Herfarth C, Buschenfelde KH., Cytokine gene transcription by NF-kappa B family members in patients with inflammatory bowel disease. *Ann N Y Acad Sci* 859: 149-159, (1998)

【非特許文献 13】Wirtz S, Neurath MF., Mouse models of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 59(11): 1073-1083, (2007)

【非特許文献 14】Barnes PJ., Nuclear factor-kappa B. *Int J Biochem Cell Biol* 29(6): 867-870, (1997)

【非特許文献 15】Calzado MA, Bacher S, Schmitz ML., NF-kappaB inhibitors for the treatment of inflammatory diseases and cancer. *Curr Med Chem* 14(3): 367-376, (2007)

【非特許文献 16】Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G., Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochem Pharmacol* 72(11): 1605-1621, (2006)

【非特許文献 17】Flory E, Kunz M, Scheller C, Jassoy C, Stauber R, Rapp UR, Ludwig S., Influenza virus-induced NF-kappaB-dependent gene expression is mediated by overexpression of viral proteins and involves oxidative radicals and activation of IkappaB kinase. *J Biol Chem* 275(12): 8307-8314, (2000)

【非特許文献 18】Pahl HL, Baeuerle PA., Expression of influenza virus hemagglutinin activates transcription factor NF-kappa B. *J Virol* 69(3): 1480-1484, (1995)

【非特許文献 19】Liao F, Andalibi A, Qiao JH, Allayee H, Fogelman AM, Lusis AJ., Genetic evidence for a common pathway mediating oxidative stress, inflammatory gene induction, and aortic fatty streak formation in mice. *J Clin Invest* 94(2): 877-884, (1994)

【非特許文献 20】Maruyama I, Shigeta K, Miyahara H, Nakajima T, Shin H, Ide S, Kitajima I., Thrombin activates NF-kappa B through thrombin receptor and results in proliferation of vascular smooth muscle cells: role of thrombin in atherosclerosis and restenosis. *Ann N Y Acad Sci* 811: 429-436, (1997)

【非特許文献 21】Jung M, Zhang Y, Lee S, Dritschilo A., Correction of radiation sensitivity in ataxia telangiectasia cells by a truncated Ikappa B-alpha. *Science* 268(5217): 1619-1621, (1995)

【非特許文献 22】Argyropoulos C, Mouzaki A., Immunosuppressive drugs in HIV disease. *Curr Top Med Chem* 6(16): 1769-1789, (2006)

【非特許文献 23】Liu R, Zhao X, Gurney TA, Landau NR., Functional analysis of t

10

20

30

40

50

he proximal CCR5 promoter. *AIDS Res Hum Retroviruses* 14(17): 1509-1519, (1998)

【非特許文献 2 4】Ketas TJ, Kuhmann SE, Palmer A, Zurita J, He W, Ahuja SK, Klasse PJ, Moore JP., Cell surface expression of CCR5 and other host factors influence the inhibition of HIV-1 infection of human lymphocytes by CCR5 ligands. *Virology* 364(2):281-90, (2007)

【非特許文献 2 5】Platt EJ, Wehrly K, Kuhmann SE, Chesebro B, Kabat D., Effects of CCR5 and CD4 cell surface concentrations on infections by macrophagetropic isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 72(4): 2855-2864, (1998)

【非特許文献 2 6】Reeves JD, Gallo SA, Ahmad N, Miamidian JL, Harvey PE, Sharron M, Pohlmann S, Sfakianos JN, Derdeyn CA, Blumenthal R, Hunter E, Doms RW., Sensitivity of HIV-1 to entry inhibitors correlates with envelope/coreceptor affinity, receptor density, and fusion kinetics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(25): 16249-16254, (2002)

【非特許文献 2 7】Helbig G, Christopherson KW, 2nd, Bhat-Nakshatri P, Kumar S, Kishimoto H, Miller KD, Broxmeyer HE, Nakshatri H., NF-kappaB promotes breast cancer cell migration and metastasis by inducing the expression of the chemokine receptor CXCR4. *J Biol Chem* 278(24): 21631-21638, (2003)

【非特許文献 2 8】Baba M., Recent status of HIV-1 gene expression inhibitors. *Antiviral Res* 71(2-3): 301-306, (2006)

【非特許文献 2 9】Iordanskiy S, Iordanskaya T, Quivy V, Van Lint C, Bukrinsky M., B-oligomer of pertussis toxin inhibits HIV-1 LTR-driven transcription through suppression of NF-kappaB p65 subunit activity. *Virology* 302(1): 195-206, (2002)

【非特許文献 3 0】Mukerjee R, Sawaya BE, Khalili K, Amini S., Association of p65 and C/EBPbeta with HIV-1 LTR modulates transcription of the viral promoter. *J Cell Biochem* 100(5):1210-6, (2006)

【非特許文献 3 1】Palmieri C, Trimboli F, Puca A, Fiume G, Scala G, Quinto I., Inhibition of HIV-1 replication in primary human monocytes by the IkappaB-alphaS32/36A repressor of NF-kappaB. *Retrovirology* 1(1): 45, (2004)

【非特許文献 3 2】Rizzi C, Alfano M, Bugatti A, Camozzi M, Poli G, Rusnati M., Inhibition of intra- and extra-cellular Tat function and HIV expression by pertussis toxin B-oligomer. *Eur J Immunol* 34(2): 530-536, (2004)

【非特許文献 3 3】Sui Z, Sniderhan LF, Fan S, Kazmierczak K, Reisinger E, Kovacs AD, Potash MJ, Dewhurst S, Gelbard HA, Maggirwar SB., Human immunodeficiency virus-encoded Tat activates glycogen synthase kinase-3beta to antagonize nuclear factor-kappaB survival pathway in neurons. *Eur J Neurosci* 23(10): 2623-2634, (2006)

【非特許文献 3 4】Williams SA, Kwon H, Chen LF, Greene WC., Sustained Induction of NF-kappaB Is Required for Efficient Expression of Latent HIV-1. *J Virol* 81(11):6043-56, (2007)

【非特許文献 3 5】Williams SA, Chen LF, Kwon H, Ruiz-Jarabo CM, Verdin E, Greene WC., NF-kappaB p50 promotes HIV latency through HDAC recruitment and repression of transcriptional initiation. *Embo J* 25(1): 139-149, (2006)

【非特許文献 3 6】Karin M., Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* 441(7092): 431-436, (2006)

【非特許文献 3 7】Tergaonkar V., NFkappaB pathway: a good signaling paradigm and therapeutic target. *Int J Biochem Cell Biol* 38(10): 1647-1653, (2006)

【非特許文献 3 8】Hayden MS, Ghosh S., Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 18(18): 2195-2224, (2004)

【非特許文献 3 9】Hayden MS, West AP, Ghosh S., NF-kappaB and the immune response. *Oncogene* 25(51): 6758-6780, (2006a)

10

20

30

40

50

【非特許文献 4 0】Hayden MS, West AP, Ghosh S., SnapShot: NF-kappaB Signaling Pathways. *Cell* 127(6): 1286-1287, (2006b)

【非特許文献 4 1】Bosisio D, Marazzi I, Agresti A, Shimizu N, Bianchi ME, Natoli G., A hyper-dynamic equilibrium between promoter-bound and nucleoplasmic dimers controls NF-kappaB-dependent gene activity. *Embo J* 25(4): 798-810, (2006)

【非特許文献 4 2】Natoli G, Saccani S, Bosisio D, Marazzi I., Interactions of NF-kappaB with chromatin: the art of being at the right place at the right time. *Nat Immunol* 6(5): 439-445, (2005)

【非特許文献 4 3】Saccani S, Marazzi I, Beg AA, Natoli G., Degradation of promoter-bound p65/RelA is essential for the prompt termination of the nuclear factor kappaB response. *J Exp Med* 200(1): 107-113, (2004)

【非特許文献 4 4】Burststein E, Duckett CS., Dying for NF-kappaB? Control of cell death by transcriptional regulation of the apoptotic machinery. *Curr Opin Cell Biol* 15(6): 732-737, (2003)

【非特許文献 4 5】Greten FR, Karin M., The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. *Cancer Lett* 206(2): 193-199, (2004)

【非特許文献 4 6】Hacker H, Karin M., Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Sci STKE* 2006(357): re13, (2006)

【非特許文献 4 7】Israel A., The IKK complex: an integrator of all signals that activate NF-kappaB? *Trends Cell Biol* 10(4): 129-133, (2000)

【非特許文献 4 8】Karin M., How NF-kappaB is activated: the role of the IkappaB kinase (IKK) complex. *Oncogene* 18(49): 6867-6874, (1999)

【非特許文献 4 9】Scheidereit C., IkappaB kinase complexes: gateways to NF-kappaB activation and transcription. *Oncogene* 25(51): 6685-6705, (2006)

【非特許文献 5 0】Chaicharoenpong C, Kato K, Umezawa K., Synthesis and structure-activity relationship of dehydroxymethylepoxyquinomicin analogues as inhibitors of NF-kappaB functions. *Bioorg Med Chem* 10(12): 3933-3999, (2002)

【非特許文献 5 1】Umezawa K, Suzuki Y, Sugiyama C, Ohno O., Preparation and biological activities of optically active dehydroxymethylepoxyquinomicin, a novel NF-kB inhibitor. *Tetrahedron* 60:7061-7066, (2004)

【非特許文献 5 2】Ariga A, Namekawa J-i, Matsumoto N, Inoue J-i, Umezawa K., Inhibition of tumor necrosis factor α -induced nuclear translocation and activation of NF-kappaB by dehydroxymethylepoxyquinomicin. *J. Biol. Chem.* 277(27): 24625-24630, (2002)

【非特許文献 5 3】Yamamoto M, Horie R, Takeiri M, Kozawa I, Umezawa K., Inactivation of NF-kappaB components by covalent binding of (-)-dehydroxymethylepoxyquinomicin to specific cysteine residues. *J. Med Chem* 51(8):5780-5788, (2008)

【非特許文献 5 4】Watanabe et al., 2006

【非特許文献 5 5】Takeuchi T, Umezawa K, To-E S, Matsumoto N, Sawa T, Yoshioka T, Agata N, Hirano S-i, Isshiki K., Salicylamide derivatives. US Patent 6,566,394 B1, (2003)

【非特許文献 5 6】Cheng Y, Prusoff WH., Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction *Biochem. Pharmacol.* 22:3099-3108, (1973)

【非特許文献 5 7】Barbie DA, Tamayo P, Boehm JS et al., Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS-driven cancers require TBK1. *Nature* 462(7269): 108-112, (2009)

【非特許文献 5 8】Meylan E, Dooley AL, Feldser DM et al., Requirement for NF-kappaB signalling in a mouse model of lung adenocarcinoma. *Nature* 462(7269):104-107, (2009)

10

20

30

40

50

【非特許文献 59】 Gregersen PK, Amos CL, Lee At et al., REL, encoding a member of the NF-kappaB family of transcription factors, is a newly defined risk locus for rheumatoid arthritis. Nat Genet 41(7): 820-823, (2009)

【非特許文献 60】 Suzuki Y, Sugiyama C, Ohno O, Umezawa K., Preparation and biological activities of optically active dehydroxymethylepoxyquinomicin, a novel NF-kB inhibitor. Tetrahedron 60:7061-7066, (2004)

【発明の概要】

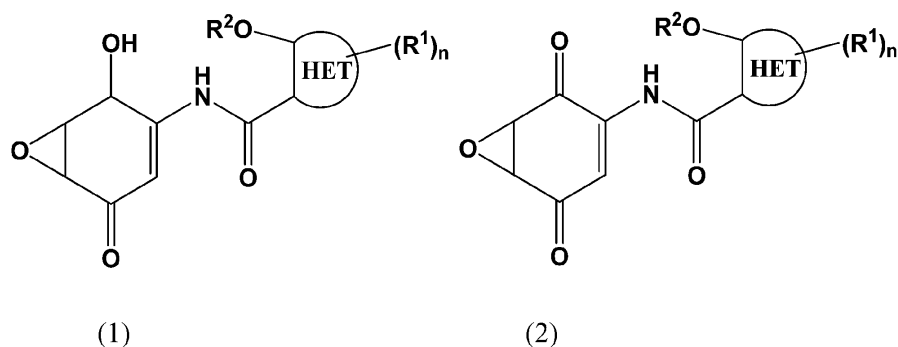
【0023】

発明の要約

本発明の一観点は、 式 (1) または式 (2)

【0024】

【化 3】



【0025】

の構造を有する化合物またはその製薬学的に許容され得る塩に関し、式中、HETは飽和もしくは不飽和の単一もしくは多一環の炭素環であり、ここで1もしくは複数の環の炭素原子がN、S、PもしくはOで置き換えられ；

各R¹は独立して水素；CF₃；場合によりシアノ、ハロ、ニトロ、ヒドロキシル、(C1-C6)アルキル、(C1-C6)アルキル-OH、(C1-C6)アルコキシ、COR³、NR⁴R⁵またはNHCO(C1-C6)アルキル)で置換されてもよいフェニル；シアノ；ハロ；ニトロ；ヒドロキシル；(C1-C6)アルキル；(C1-C6)アルキル-OH；(C1-C6)アルコキシ；(C1-C6)チオアルコキシ；フェノキシ；COR³；NR⁴R⁵；NHCO(C1-C6)アルキル；SO₂(C1-C6)アルキル；またはSO₂NR⁴R⁵であり；

R²はH、R⁶、COR⁶、CONHR⁶、COOR⁶、CH₂OCOR⁶、P(O)(OH)₂、P(O)(O(C1-C6)アルキル)₂、P(O)(OCH₂OCO(C1-C6)アルキル)₂、P(O)(OH)(OCH₂OCO(C1-C6)アルキル)、P(O)(OH)(OC1-C6)アルキル)、あるいはP(O)(OH)₂、P(O)(O(C1-C6)アルキル)₂、P(O)(OCH₂OCO(C1-C6)アルキル)₂、P(O)(OH)(OCH₂OCO(C1-C6)アルキル)、P(O)(OH)(OC1-C6)アルキル)またはP(O)(OH)(C1-C6)アルキル)の無機塩、またはグリコシル(ヘミアセタール形の炭水化物のヒドロキシル基の除去から生じる基)であり、

ここでR⁶はC1-C6アルキル、トリフルオロメチル、(C3-C6)シクロアルキル、シクロヘキシルメチルまたはフェニルであり、ここでフェニルはフッ素、塩素、臭素、ヒドロキシル、トリフルオロメチル、(C1-C4)アルキル、(C1-C4)アルコキシおよびフェニルメチルから選択される0~4個の基で置換され、ここでフェニルメチルはフェニル環で、フッ素、塩素、臭素、ヒドロキシル、トリフルオロメチル、(C1-C4)アルキル、(C1-C4)アルコキシ、2-、3-もしくは4-ピリジニルおよび2-、4-もしくは5-ピリミジニルから選択される0~4個の基で置換される。

【0026】

R³は独立してヒドロキシル、(C1-C6)アルコキシ、フェノキシまたは-NR⁴R⁵である。

【0027】

各R⁴およびR⁵は独立して水素、(C1-C6)アルキルまたは(C3-C6)シクロアルキルである。

【0028】

n = 0 - 3。

【0029】

HETについてはOR²基とアミド部分との間にオルトの関係が存在する(すなわちOR²およびC(=O)NH官能基はHET環上の隣接原子に結合している)。

10

【0030】

また本発明の一観点は、式(1)または式(2)の化合物、またはその製薬学的に許容され得る塩、および製薬学的に許容され得る担体を含んでなる製薬学的組成物に関する。

【0031】

また本発明の一観点は、さらに癌、炎症、自己免疫疾患、糖尿病および糖尿病合併症、感染、心血管疾患および虚血性再灌流障害を処置する方法に関し、この方法はそのような処置が必要なヒトのような哺乳動物に治療に有効な量の式(1)または式(2)の化合物、またはそれらの製薬学的に許容され得る塩を投与することを含んでなる。

【0032】

さらに本発明の一観点は、ヒトのような哺乳動物のNF-κB経路を介して直接的または間接的に遺伝子発現およびシグナル伝達を阻害する方法に関し、この方法はそのような処置が必要な哺乳動物に治療に有効な量の式(1)または式(2)の化合物、またはそれらの製薬学的に許容され得る塩を投与することを含んでなる。

20

【0033】

詳細な説明

定義

本発明を記載するために使用する用語は、本明細書中で以下の意味を有する。本発明の化合物および中間体は、IUPAC(International Union for Pure and Applied Chemistry)またはCAS(Chemical Abstracts Service)のいずれかの命名法に従い名付けることができる。

30

【0034】

本明細書中、種々の炭化水素含有部分の炭素原子含量は、その部分の炭素原子の最少および最大数を示す接頭辞により示すことができ、例えば接頭辞(Ca-Cb)アルキルは、整数“a”から“b”までの炭素原子を含むアルキル部分を指す。すなわち例えば(C1-C6)アルキルは1~6個の炭素原子を含むアルキル基を指す。用語「アルキル」は、水素原子置換基のみを含む炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖を現し、ここで炭素鎖は場合により1もしくは複数の二重もしくは三重結合、または二重結合および三重結合の組み合わせを含んでもよい。アルキル基の例には限定するわけではいが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、プロベニル、プロピニル、ヘキサジエニル等がある。

40

【0035】

用語「アルコキシ」は、直鎖もしくは分枝鎖の一価の飽和脂肪族鎖炭素原子鎖であり、ここで炭素原子の1つが酸素原子に置き換えられている。アルコキシ基の例には、限定するわけではいがメトキシ、エトキシおよびイソプロポキシがある。

【0036】

用語「シクロアルキル」は、飽和および場合により不飽和の単環式もしくは二環式配列の脂肪族鎖を指す。シクロアルキル基の例には、限定するわけではいが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロヘキセニルである。シクロアルキル基は、場合によりベンゼンのような芳香族炭化水素と縮合してインダニル等の縮合シクロアルキル基を形成することができる。

50

【0037】

用語「ハロ」は、クロロ、ブロモ、フルオロまたはヨードを指す。

【0038】

用語「置換された」とは、分子上の水素原子と異なる原子もしくは分子との交換を指す。水素原子と置き換わる原子もしくは分子を「置換基」と言う。

【0039】

用語「HET」は、飽和もしくは不飽和の単もしくは多環の炭素環を指し、ここで1もしくは複数の環の炭素原子がN、S、PまたはOで置き換えられる。用語「HET」は完全な飽和および不飽和環系、ならびに部分的に不飽和の環系を包含し、それらには複素環のすべての可能な異性体形を含むことを意図する（例えば、ピロリルには1H-ピロリルおよび2H-ピロリルを含む）。HETが単環式（例えば4-、5-もしくは6-員環）または二環式（例えば5/6、5/5、6/6系）の飽和複素環である例には、限定するわけではいが、テトラヒドロフラニル、ピロリジニル、テトラヒドロチエニル、ジヒドロオキサゾリル、ピペリジニル、ヘキサヒドロピリミジニル、ジオキサニル、モルホリニル、ジチアニル、チオモルホリニル、ピペラジニル等がある。HETが単環式、二環式もしくは三環式の部分飽和複素環である例には、限定するわけではいが、ピロリル、フラニル、チエニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、ピラゾリル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,5-チアジアゾリル、1,2,3-チアジアゾリル、1,2,3-オキサジアゾリル、1,2,5-オキサジアゾリル、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、ベンゾフラニル、イソベンゾフラニル、ベンゾチエニル、イソベンゾチエニル、インドリジニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾオキサゾリル、ベンズイミダゾリル、インダゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾピラゾリル、ベンズオキサジアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾトリアゾリル、キノリニル、イソキノリニル、シンノリニル、キノリジニル、フタラジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、ナフチリジニル、プテリジニル、ピロロピリジニル、チエノピリジニル、フラノピリジニル、イソチアゾロピリジニル、チアゾロピリジニル、イソキサゾロピリジニル、オキサゾロピリジニル、ピラゾロピリジニル、イミダゾピリジニル、ピロロピラジニル、チエノピラジニル、フラノピラジニル、イソチアゾロピラジニル、チアゾロピラジニル、イソキサゾロピラジニル、オキサゾロピラジニル、ピラゾロピラジニル、イミダゾピラジニル、ピロロピリミジニル、チエノピリミジニル、フラノピリミジニル、イソチアゾピリミジニル、チアゾロピリミジニル、イソキサゾロピリミジニル、オキサゾロピリミジニル、ピラゾロピリミジニル、イミダゾピリミジニル、ピロロピリダジニル、チエノピリダジニル、フラノピリダジニル、イソチアゾロピリダジニル、チアゾロピリダジニル、イソキサゾロピリダジニル、オキサゾロピリダジニル、ピラゾロピリダジニル、イミダゾピリダジニル、オキサジアゾロピリジニル、チアジアゾロピリジニル、トリアゾロピリジニル、オキサジアゾロピラジニル、チアジアゾロピラジニル、トリアゾロピラジニル、オキサジアゾロピリミジニル、チアジアゾロピリミジニル、トリアゾロピリミジニル、オキサジアゾロピリダジニル、チアジアゾロピリダジニル、トリアゾロピリダジニル、イソキサゾロトリアジニル、イソチアゾロトリアジニル、ピラゾロトリアジニル、オキサゾロトリアジニル、チアゾロトリアジニル、イミダゾトリアジニル、オキサジアゾロトリアジニル、チアジアゾロトリアジニル、トリアゾロトリアジニル、カルバゾリル等がある。

【0040】

「治療に有効な量」という句は、(i) 特定の疾患、状態または障害を処置または防止する、(ii) 特定の疾患、状態または障害の1もしくは複数の症状を弱め、改善し、または排除する、あるいは(iii) 特定の疾患、状態の1もしくは複数の症状の発生を防止または遅らせる化合物の量を指す。

10

20

30

40

50

【0041】

「製薬学的に許容され得る」とは、示した担体、賦形剤、希釈剤、補形剤（1もしくは複数）および／または塩が一般に化学的かつ／または物理的に製剤を構成する他の成分と適合性があり、しかもその受容体と生理学的に適合性があることを示す。

【0042】

用語「哺乳動物」は、分類学上哺乳動物のクラスのメンバーである個々の動物に関する。哺乳動物の例には、限定するわけではいが、ヒト、イヌ、ネコ、ウマおよび畜牛を含む。本発明では、好適な哺乳動物はヒトである。

【0043】

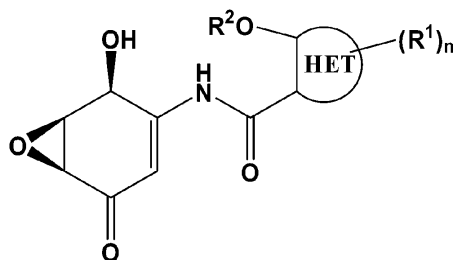
ラセミ化合物の2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)キノリン-3-カルボキサミドは本明細書で実施例2に記載され、そして本明細書を通して実施例2の化合物と呼ぶ。

【0044】

例示の態様では、本発明の化合物は式(3)に示す構造および立体化学を有する。

【0045】

【化4】



(3)

【0046】

この化合物は、当業者に周知の方法によりそれらのエナンチオマーに分割することができる。例には例えば結晶化により分離できるジアステレオマー塩の形成；例えば結晶化、ガス-液体もしくは液体クロマトグラフィーにより分離できるジアステレオマー誘導体もしくは錯体の形成；エナンチオマー特異的試薬、例えば酵素的エステル化を用いた1つのエナンチオマーの選択的反応；またはキラルな環境での例えばキラルな支持体上で、例えば結合したキラルなりガンドを含むシリカ、あるいはキラルな溶媒の存在下でのガス-液体もしくは液体クロマトグラフィーを含む。所望の立体異性体が上記の例示的分離手順の1つにより別の化学的物体に転換される場合、所望のエナンチオマー形を遊離するためにはさらなる工程が必要であると考えられる。あるいは特異的な立体異性体は、光学的に活性な出発材料を使用することにより、光学的に活性な試薬、基質、触媒または溶媒を使用した不斉合成により、あるいは1方の立体異性体をもう一方の立体異性体に不斉変換により転換することにより、合成することができる。

【0047】

化合物が1もしくは複数のさらなるステレオジェン中心を含む場合、当業者は本明細書で具体的に説明し、そして検討する化合物のすべてのジアステレオマーおよびジアステレオマー混合物が本発明の範囲に入ると理解するだろう。これらのジアステレオマーは当業者に周知な方法、例えば結晶化、ガス-液体もしくは液体クロマトグラフィーにより単離することができる。あるいは合成過程の中間体はラセミ混合物として存在することができ、そして当業者に周知な方法による分離、例えば結晶化により分離できるジアステレオマー塩の形成；例えば結晶化、ガス-液体もしくは液体クロマトグラフィーにより分離できるジアステレオマー誘導体もしくは錯体の形成；エナンチオマー特異的試薬、例えば酵素的エステル化を用いた1つのエナンチオマーの選択的反応；またはキラルな環境での例えばキラルな支持体上で、例えば結合したキラルなりガンドを含むシリカまたはキラルな溶

媒の存在下でのガス-液体もしくは液体クロマトグラフィーにかけられる。所望の立体異性体が上記の例示的分離手法の1つにより別の化学的物体に転換される場合、所望のエナンチオマー形を遊離するためにはさらなる工程が必要であると考えられる。あるいは特異的な立体異性体は、光学的に活性な出発材料を使用することにより、例えば光学的に活性な試薬、基質、触媒または溶媒を使用した不斉合成により、あるいは一方の立体異性体をもう一方の立体異性体に不斉変換により転換することにより、合成することができる。これらの方法は“Chiral Drugs”, Cynthia A. Challener (Editor), Wiley, 2002または“Chiral Drug Separation” by Bingyunh Li and Donald T. Haynia in “Encyclopedia of Chemical Processing” by Sunggyu Lee and Lee Lee (Editors), CRC Press, 2005のようなテキストにさらに詳細に記載されている。

10

【0048】

本発明の化合物およびその塩は、非溶媒化形態ならびに水、エタノール等のような製薬学的に許容され得る溶媒での溶媒化形態で存在できる。

【0049】

式(1)および式(2)の選択した化合物、およびそれらの塩および溶媒和物は、1より多くの結晶形で存在することができる。式(1)および式(2)により表される化合物の多形は本発明の一部を形成し、そして異なる条件下で式(1)および式(2)の化合物の結晶化により調製することができる。例には再結晶化のために異なる溶媒または溶媒混合物の使用；異なる温度での結晶化；および結晶化中、大変急速から大変遅い冷却の範囲の様々な冷却様式を含む。また多形は式(1)または式(2)の化合物を加熱または融解し、続いて漸次または急速冷却により得ることができる。多形の存在は、例えば固体状態のNMR分光法、IR分光法、示差操作熱量測定、粉末X線回折または他の類似技術により測定することができる。

20

【0050】

また本発明は、同位体で標識した化合物を含み、これは式(1)および(2)により記載される化合物と同一であるが、1もしくは複数の原子が通常、自然に見いだされる原子質量もしくは質量数とは異なる原子質量または質量数を有する原子により置き換えられている。本発明の化合物に取り込むことができる同位体の例には、それぞれ ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I , ^{129}I および ^{18}F のような水素、炭素、窒素、酸素、硫黄およびフッ素の同位体を含む。前記同位体および/または他の原子の他の同位体を含む本発明の化合物および化合物の製薬学的に許容され得る塩は、本発明の範囲内にある。特定の同位体で標識した本発明の化合物、例えば ^2H (ジューテリウム)のような同位体を取り込まれた化合物は、より高い代謝的安定性から治療上の利点、例えばインビボ半減期の上昇、または必要な投薬用量の減少を提供することができる、したがって幾つかの状況で好適となり得る。同位体で標識した本発明の式(1)および(2)の化合物、その塩および溶媒和物は一般に、同位体で標識していない試薬を容易に入手できる同位体で標識された試薬に代えて、以下のスキームおよび/または実施例に開示する手順を行うことにより調製することができる。

30

40

【0051】

本発明の化合物と関連して本明細書で使用する製薬学的に許容され得る塩には、該化合物の製薬学的に許容され得る無機および有機塩を含む。これらの塩は、化合物の最終的単離および精製中にその場で、あるいは化合物を適切な有機もしくは無機酸と別個に反応させ、そしてそのように形成された塩を単離することにより調製できる。代表的な塩には限定するわけではないが臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、亜硫酸塩、硝酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、蓚酸塩、ベシル酸塩、カンシル酸塩、パルミチン酸塩、マロン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリル酸塩、リンゴ酸塩、ホウ酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、ヘキサフルオロリン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トシル酸塩、ギ酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチル酸塩、メシ

50

ル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクトビオン酸塩およびラウリルスルホン酸塩等がある。また本発明の化合物は、有機および無機塩基から形成される製薬学的に許容され得る金属およびアミンカチオンとの塩を形成するために反応させることもできる。用語「製薬学的に許容され得る金属カチオン」とは、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム、鉄、亜鉛等から誘導される正に荷電した金属イオンを包含する。用語「製薬学的に許容され得るアミンカチオン」とは、そのようなカチオンを形成するために十分強力なアンモニアおよび有機窒素性塩基から誘導される正に荷電したイオンを包含する。本発明の化合物の製薬学的に許容され得る非毒性塩基付加塩に有用な塩基は、当業者によりその限界が容易に理解されるクラスを形成する（例えば Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66:1-19 (1977) を参照にされたい）。

10

【0052】

さらに本発明は、式 (I) の化合物のプロドラッグを含む。式 (I) の化合物のプロドラッグは、アミノ、ヒドロキシまたはカルボキシ基のような化合物の官能基質を用いて、通例の様式で形成することができる。用語「プロドラッグ」は、インビボで変換されて式 (I) または式 (II) の化合物、またはこの化合物の製薬学的に許容され得る塩または溶媒和物を生じる化合物を指す。変換は種々のメカニズムにより、例えば血中での加水分解を介して起こり得る。プロドラッグの使用に関する検討は、T. Higuchi and W. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A. C. S. Symposium Series, および in Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 により提供される。例えば本発明の化合物がアルコール官能基を含む場合、プロドラッグはアルコール基中の水素原子を COR⁶ のような基で置き換えることにより形成されてエステルプロドラッグを提供することができ；CONHR⁶ で置き換えてカルバメートプロドラッグを提供することができ；COOR⁶ で置き換えてカルボネートプロドラッグを提供することができ；CH₂OCOR⁶ で置き換えてアルキルカルボニルオキシメチルプロドラッグを提供することができ；P(O)(OH)₂ で置き換えてリン酸塩プロドラッグを提供することができ；P(O)(O(C1-C6)アルキル)₂ で置き換えてリン酸塩プロドラッグを提供することができ；P(O)(OCH₂OCO(C1-C6)アルキル)₂ で置き換えてリン酸塩プロドラッグを提供することができ；P(O)(OH)(OCH₂OCO(C1-C6)アルキル) で置き換えてリン酸塩プロドラッグを提供することができ；P(O)(OH)(OC1-C6)アルキル) で置き換えてリン酸塩プロドラッグを提供することができ；P(O)(OH)(C1-C6)アルキル) で置き換えてリン酸塩プロドラッグを提供することができ、ならびにリン酸塩およびリン酸塩プロドラッグの対応する無機塩、またはグリコシル（ヘミアセタール形の炭水化物のヒドロキシル基の除去から生じる基）を提供することができ、ここで R⁶ は C1-C6 アルキル、トリフルオロメチル、シクロプロピル、シクロヘキシル、シクロヘキシルメチル、フェニル、フェニル（フッ素、塩素、臭素、ヒドロキシル、トリフルオロメチル、(C1-C4) アルキル、(C1-C4) アルコキシ、フェニルメチルで置換されている）、フェニルメチル（フッ素、塩素、臭素、ヒドロキシル、トリフルオロメチル、(C1-C4) アルキル、(C1-C4) アルコキシ、2-, 3-, もしくは 4-ピリジニル、2-, 4-, もしくは 5-ピリミジニルで置換されている）を提供することができる。

20

30

40

【0053】

NF-κB 活性化の「下流」の事象の標的とすること、p65、RelB および c-Rel の DNA エンハンサー配列への結合を防ぐこと、および転写の活性化に注目が集まった。この取り組みは正規および非正規経路の両方を種々の化合物と一緒に、または別々に用いてモジュレートすることを可能とする。加えて、「下流」の NF-κB 阻害剤は、多くの「上流」の NF-κB 阻害剤で観察される副作用を回避することができる。Rel

50

ファミリーの新規かつ独占的 (p r o p i e t a r y) NF- κ B阻害剤を同定するための薬物スクリーニングの規範が確立された。適切なリード分子を同定するために3つの平行した取り組みがなされた：(1) p 65の結晶構造を使用した5,000,000化合物のイン-シリコ (i n - s i l i c o) スクリーニング、(2) 細胞に基づくスクリーニングを使用して、多様化された化合物ライブラリーの広い高処理量スクリーニング、および(3) p 65の既存の阻害剤を改善するための修飾。既知のp 65アンタゴニスト、例えば天然物質のパルテノライド (p a t h e n o l i d e) および合成分子デヒドロキシメチルエポキシキノマイシン (DHMEQ)と比較して、本発明の化合物はp 65 (R e l A)に対する効力に有意な改善を示す(図7を参照にされたい)。

【0054】

10

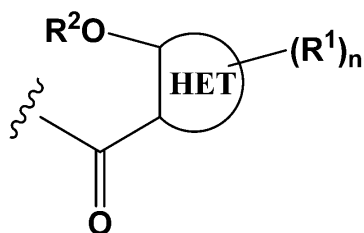
DHMEQまたはパルテノライドとは異なり、本発明の化合物はR e l B (図8参照) およびc-R e l も阻害することが見いだされた(表1)。すなわち化合物は正規および非正規経路の二重阻害剤、ならびに単一阻害剤である。

【0055】

一般に本発明の化合物は、反応スキーム1および2に概略する一般的合成法により調製され、ここでスキーム中に示される“R”は以下に示す部分であり

【0056】

【化5】



20

“R”

【0057】

そしてHETは本明細書に記載する通りである。

30

【0058】

反応スキーム1に関して、化合物2～5は公開されている文献の手順に従い調製することができる(例えばTaylor et al., Synthesis 1998, 775を参照にされたい)。2,5-ジメトキシアニリン1を、ジ-tert-ブチルジカーボネート (Boc₂O) およびトリエチルアミンを用いてメタノールまたはテトラヒドロフラン中で0℃から室温までの範囲の温度で処理することにより、保護されたアニリン誘導体2が得られた。ビス(アセトキシヨード)ベンゼンを用いてメタノール中、0℃での酸化によりケタール3が得られた。モノエポキシ化は、30%水性過酸化水素および水性水酸化ナトリウムもしくは炭酸カリウムのような塩基を使用して、水性テトラヒドロフラン中、0℃から室温の範囲の温度で行い4を生じた。Boc基の選択的除去は、4/1のジクロロメタン/トリフルオロ酢酸混合物を用いて、0℃から室温の範囲の温度で行い遊離アミン5が得られた。別法として、この脱保護は三弗化ホウ素-ジエチルエーテル錯体および活性化モレキュラーシーブを、ジクロロメタンのような溶媒中で室温で使用する

ことにより達成することができる。次いでアミン5は酸クロライド(RCl)と、リチウムtert-ブトキシド(LiO^tBu)のような塩基を無水テトラヒドロフランのような溶媒中で-78℃で使用してカップリングさせることによりケタール6が得られた。種々の酸クロライド(RCl)は対応するカルボン酸からストレート(neat)の塩化チオニル中で還流することにより調製された。ケタール6は、トリフルオロ酢酸のような酸性媒質中、ジクロロメタンのような溶媒中で0℃から室温の範囲の温度で脱保護することによりジケトン7が得られた。7の位置選択的還元は、わずかに過剰な穏やかな還元剤、例

40

50

例えばトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$) をメタノールのような溶媒中で 0°C から室温の範囲の温度で処理することにより達成された。

【0059】

反応スキーム 2 において別の合成経路を表す。2, 5-ジメトキシアニリン 1 を酸クロライド (RCl) およびピリジンのような塩基で、無水テトラヒドロフランのような溶媒中で 0°C から室温の範囲の温度で処理して 10 が得られた。ビス (アセトキシヨード) ベンゼンを用いて、メタノール中 0°C で酸化してケタール 11 が得られた。6 を得るためのモノエポキシ化は、30% 水性過酸化水素および水性水酸化ナトリウムのような塩基を使用して 0°C から室温の範囲の温度で達成された。ケタール 6 は、トリフルオロ酢酸のような酸性媒質中、ジクロロメタンのような溶媒中で 0°C から室温の範囲の温度で脱保護することによりジケトン 7 が得られた。8 を提供するための 7 の位置選択的還元は、わずかに過剰な穏やかな還元剤、例えばトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$) をメタノールのような溶媒中で 0°C から室温の範囲の温度で処理することにより達成された。

10

【0060】

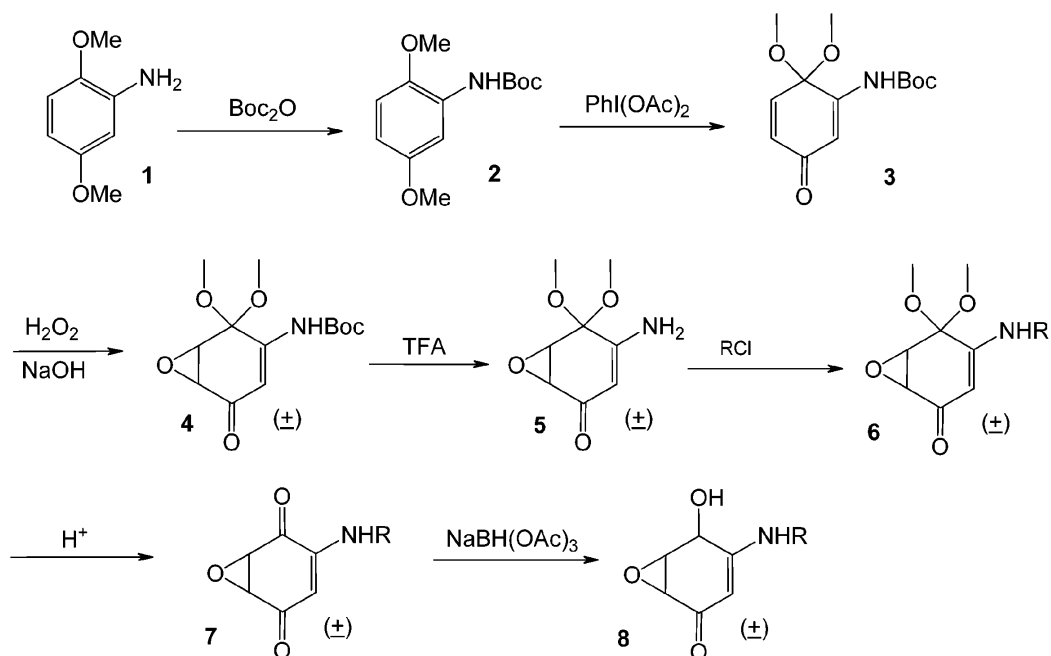
反応スキーム (2) に表す一般式 (7) のジケトン中間体も、 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 阻害剤として有意な活性を現すことが見いだされた。すなわち本明細書に記載する一般式 (2) のジケトン は本発明の一部と考える。

【0061】

【化 6】

20

反応スキーム 1



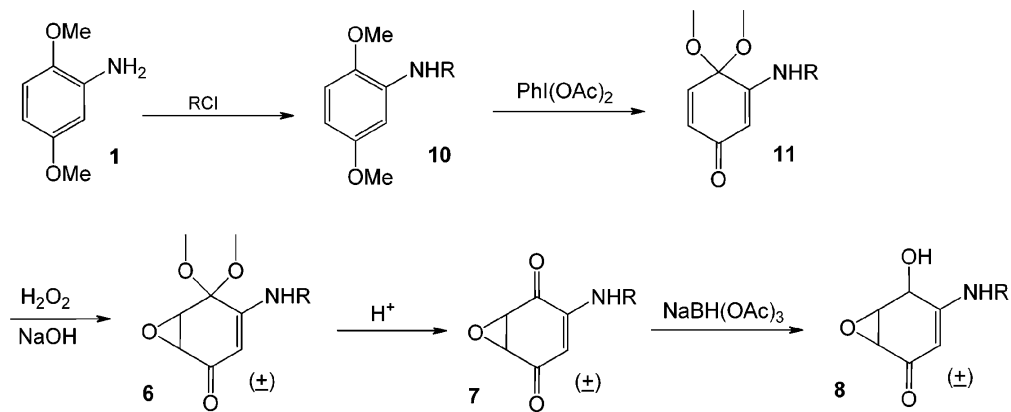
30

【0062】

40

【化 7】

反応スキーム2



10

【0063】

本発明の製薬学的組成物は、治療に有効な量の式(1)の化合物、またはその製薬学的に許容され得る塩、および製薬学的に許容され得る担体、賦形剤、希釈剤または補形剤を含んでなる。本発明の好適な製薬学的組成物は治療に有効な量の式(2)の化合物、またはその製薬学的に許容され得る塩、および製薬学的に許容され得る担体、賦形剤、希釈剤または補形剤を含んでなる。本発明の化合物および製薬学的に許容され得る担体、賦形剤または希釈剤を合わせるにより形成された製薬学的組成物は、次いで錠剤、粉剤、ロゼンジ、シロップ、注入用溶剤等のような様々な剤形で容易に投与される。これらの製薬学的組成物は所望により香料、結合剤、補形剤等のような追加成分を含むことができる。

20

【0064】

このように経口投与の目的で、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウムおよび／またはリン酸カルシウムのような種々の補形剤を含有する錠剤は、澱粉、アルギン酸および／または特定の珪酸塩複合体 (complex silicates) のような種々の崩壊剤と一緒に、ポリビニルピロリドン、シュクロース、ゼラチンおよび／またはアカシアなどの結合剤と共に使用することができる。さらにステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウムおよびタルクのような潤滑剤もしばしば製剤する目的に有用である。また類似の種類の実質組成物は、軟質および硬質充填ゼラチンカプセル中の充填剤として使用することができる。この目的に好適な材料には、ラクトースまたは乳糖および高分子量ポリエチレングリコールがある。経口投与にエリキシル剤の水懸濁液が望まれる場合、その中の活性な製薬学的製剤は種々の風味の甘味料、着色物質もしくは色素、および所望により乳化剤もしくは懸濁剤を、希釈剤、例えば水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリンおよび／またはそれらの混合物と共に合わせるすることができる。

30

【0065】

非経口投与には、ゴマまたは落花生油、水性プロピレングリコール、または滅菌水溶液中の本発明の化合物もしくは組成物の溶液を使用できる。そのような水溶液は必要に応じて適切に緩衝化され、そして液体の希釈物が最初に十分な生理食塩水またはグルコースで等張性とされる。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下および腹腔内投与に特に適している。これに関連して、使用する滅菌水性媒質は当業者に知られている標準的技術によりすべて容易に入手可能である。

40

【図面の簡単な説明】

【0066】

図面は記載する本発明の具体的態様を表し、ゆえに具体的説明のみを目的とする。したがって図面は本発明の範囲を限定することを意図していない。

【図1】 2種のNF-κB依存的レポーター遺伝子、ルシフェラーゼ (A) および緑色蛍光タンパク質 (GFP) (B) の実施例1の化合物によるHEK-293細胞中での濃度

50

依存的発現阻害を表す。

【図2】実施例1の化合物はhPBMCに対して細胞傷害効果をほとんどもたないことを示す。ヒト末梢血単核細胞(hPBMC)は実施例1もしくはDHMEQで処理され、そして生存可能な細胞の割合を薬剤処理から24時間後に評価した。グラフは3回の反復実験の平均±標準偏差を表す。

【図3】実施例1の化合物が、hPBMC中で可溶性IL-2R α 、NF- κ B調節型サイトカインのNF- κ B依存的発現に及ぼす効果を表す。グラフは2回の独立した実験の平均である。

【図4】実施例1の化合物が乳癌細胞中で炎症性サイトカイン、IL-6(A)およびIL-8(B)の分泌を用量依存的様式で阻害する能力を表す。具体的にはAおよびBは、実施例1の化合物が、20ng/mL TNF- α で刺激したMDA-MB-231細胞からIL-6およびIL-8の分泌に及ぼす効果を表す。細胞を示した濃度の実施例1の化合物で2時間処理し、次にTNF- α を加え、そして4時間インキュベーションを続行した。

【図5】実施例1の化合物が、LPSで刺激したマウスマクロファージ細胞中で炎症性サイトカイン、IL-6およびPGE₂の分泌を用量依存的様式で阻害する能力を表す。具体的にはAおよびBは、実施例1の化合物が、1 μ g/mLのLPSで刺激したRAW264.7細胞から可溶性PGE₂およびIL-6の分泌に及ぼす効果を表す。細胞を示した濃度の化合物1で2時間処理し、次にLPSを加え、そして4時間インキュベーションを続行した。

【図6】実施例1の化合物が、RelA/p65の細胞質から核への移行を用量依存的様式で遮断する能力を表す。具体的には実施例1の化合物は、細胞の細胞質に活性化RelA/p65の蓄積を引き起こす。HeK293細胞を、DHMEQまたは実施例1の化合物(示すように)で、TNF α (20ng/mL)と共に30分間処理した。インキュベーション後、細胞を抗-p65抗体(C-20)抗体(Santa Cruz Biotechnology, サンタクルズ, カリフォルニア州)で免疫染色し、そして核をDapiでカウンター染色した。像はAE31倒立顕微鏡を使用して、エピフルオレッセンス(epifluorescence)イルミネーター(Motic, Xiamen, 中国)およびProgres C3カメラ(JENOPTIK, イェーナ, ドイツ)を用いて撮った。p65および対応する核の個々の像は、最後の図にまとめた。対照処理細胞(DMSOのみ)は、TNF α 刺激でp65の核内蓄積を示す。TNF α により誘導されたp65の核内蓄積は、1~12 μ Mの実施例1の化合物で有意に遮断されたが、DHMEQには同じ効果を得るためにより高濃度が必要であった。

【図7】実施例2の化合物はp65(RelA)のDNAへの結合を、正規経路でDHMEQおよびパルテノライドよりも強く阻害することを示す。

【図8】実施例2の化合物はRelBのDNAへの結合を、非正規経路で阻害するが(IC₅₀~2 μ M)、DHMEQおよびパルテノライドは阻害しない(IC₅₀>20 μ M)ことを示す。

【図9】実施例2の化合物は、異種移植マウスでボルデゾミブ(PS-341)のようにRPMI8226腫瘍増殖を減少させたことを示す。PS-341(1mg/kg i.v. 日1, 4/週 x 4週)も実施例2の化合物(15mg/kg i.p. QD x 21)処置のいずれもこの実験では賦形剤処置に比べて統計的に有意な腫瘍の増殖阻害を達成しなかった(P>0.10)。

【図10】実施例2の化合物は、エタネルセプトのような抗炎症効力をコラーゲン誘導型の関節リウマチ(CIA)のマウスモデルで現したことを示す。実施例2の化合物(15mg/kg s.c. qd 21-35)およびエタネルセプト(50 μ g/マウス i.p. qd 21-35)処置群は、両方とも統計的に有意な抗炎症効果を達成した(賦形剤処置群に比べてP<0.05)。

【図11】実施例2の化合物(10 μ M)はヒトP450およびhERGと相互作用しない(<50%阻害)ことを示す。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0067】

実施例の態様では、製薬学的調製物は単位剤形である。そのような形態では、調製物は適切な量の有効成分を含有する単位用量に分割されている。単位剤形は包装された調製物であることができ、例えば包装された錠剤、カプセルおよびバイアルもしくはアンプル中の粉末であることができる。また単位剤形はカプセル、カシュエまたは錠剤自体であることもでき、あるいは適切な数の任意のこのような包装形態であることができる。

【0068】

特定量の有効成分を含む種々の製薬学的組成物の調製法は、当業者に知られている。例えば製薬学的組成物の調製法については、引用により全部、本明細書に編入する Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams & Wilkins, 21st ed. (2005) を参照にされたい。

10

【0069】

本発明の一つの態様では、本発明の化合物を少なくとも1種の追加の治療薬と合わせることができる。

【実施例1】

【0070】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)ニコチンアミド(8a)の調製。

20

【0071】

A. tert-ブチル 2, 5-ジメトキシフェニルカルバメート(2)の調製

氷浴中の2, 5-ジメトキシアニリン(50 g, 326ミリモル)の溶液(1 LのMeOH中)に、不活性窒素雰囲気下でトリエチルアミン(55 mL, 397ミリモル)、続いてBoc₂O(78 g, 359ミリモル)(150 mLのメタノール中)を滴下様式で加えた。反応混合物を一晩攪拌した。薄層クロマトグラフィーにより不完全と判断された後、さらにBoc₂O(22 g, 69ミリモル)およびトリエチルアミン(55 mL, 397ミリモル)を加え、そしてこの溶液を3日間攪拌した。メタノールを除去し、そして残渣を酢酸エチルに溶解し、これを希釈塩酸(2x)およびブラインですすいだ後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、続いて濾過し、そして溶媒を蒸発させて50 g(61%)のtert-ブチル 2, 5-ジメトキシフェニルカルバメート(2)を茶色い油として得た。¹H NMRは文献で報告された値と一致した(Synthesis 1998, 775)。

30

【0072】

B. tert-ブチル 6, 6-ジメトキシ-3-オキソシクロヘキサ-1, 4-ジエニルカルバメート(3)の調製

化合物2(29 g, 115ミリモル)のメタノール性溶液(700 mL)を氷浴中で冷却した後、さらにビス(アセトキシヨード)ベンゼン(62 g, 194ミリモル)を30分間にわたり6回に分けて加えた。溶液を氷浴中で2時間攪拌し、次いで室温とし、そして一晩攪拌した。反応混合物を酢酸エチル(1.5 L)で希釈し、そして水、希釈塩酸およびブラインですすいだ。水性相を酢酸エチルで1回逆抽出し、そして有機相を合わせた後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、続いて濾過し、そして溶媒を蒸発させた。生じた液体は、ヘプタン中の酢酸エチルの勾配(0~2%)を使用してシリカゲルで精製して、6.9 g(21%)(3)を黄-オレンジ色の固体を得た。材料は¹H NMRにより十分に純粋(約95%)であり、これは文献で報告された値と一致した(Synthesis 1998, 775)。

40

【0073】

C. tert-ブチル 2, 2-ジメトキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イルカルバメート(4)の調製

テトラヒドロフラン(93 mL)中の化合物3(3.4 g, 12.7モル)を、氷浴中

50

で冷却した。この攪拌溶液に、滴下様式で過酸化水素（30%水性，22 mL）および水性水酸化ナトリウム（1 M，61 mL）を、2つの別個の添加漏斗をクライゼンアダプターを利用して使用して直列で加えた。反応混合物は氷浴中で30分間、次いで室温で5時間攪拌した。フラスコを氷浴中で冷却し、そして過氧化物を二酸化マンガンを慎重にクエンチした。混合物をシリカゲルの小ベット上で濾過し、続いてシリカゲルを酢酸エチルですすいだ後、混合物をブラインで洗浄した。有機物を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、そして蒸発させた。生じた油をペンタンで処理してオフホワイト色の固体を沈殿させ、溶媒を蒸発させた後、2 g（56%）の化合物（4）を得た。¹H NMRは混合物中に20%の出発材料を示し、これは次の段階で容易に除去された（TFAで処理）。生成物の¹H NMRは文献で報告された値と一致した（Synthesis 1998, 775）。 10

【0074】

D. 4-アミノ-5, 5-ジメトキシ-7-オキサビシクロ[4. 1. 0]ヘプタ-3-エン-2-オン（5）の調製

化合物4（300 mg，1.1ミリモル）の溶液（6 mLの無水ジクロロメタン中）を、氷浴中で不活性窒素雰囲気下で攪拌した。この溶液にトリフルオロ酢酸（1.5 mL）を滴下し、そして溶液を室温とし、3時間攪拌した。薄層クロマトグラフィーにより完全と判断された後、溶媒を蒸発させ、そして残渣を酢酸エチルに溶解した。固体の重炭酸ナトリウム（2 g）を慎重に加え、そして溶液を10分間攪拌した。塩を濾過し、そして酢酸エチルですすいだ後、溶媒を蒸発させた。粗化合物はヘプタン中の酢酸エチルの勾配（0~100%）を使用してシリカゲルで精製した。100%酢酸エチルで溶出した生成物は、178 mg（91%）の化合物（5）を与えた。生成物の¹H NMRは文献で報告された値と一致した（Synthesis 1998, 775）。 20

【0075】

E. N-（2, 2-ジメトキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4. 1. 0]ヘプタ-3-エン-3-イル）-2-ヒドロキシニコチンアミド（6a）の調製

2-ヒドロキシニコチン酸（112 mg，0.81ミリモル）および塩化チオニル（650 mL，8.9ミリモル）の混合物を30分間、加熱還流した。室温に冷却した後、過剰な塩化チオニルを真空下で除去し、そして生じた酸クロライドを不活性な窒素雰囲気下で保存した。別に無水テトラヒドロフラン（4 mL）中にアミン5（100 mg，0.54ミリモル）を含有するフラスコを不活性な窒素雰囲気下で-78℃に冷却し、その後リチウムtert-ブトキシド（1 Mのテトラヒドロフラン中、540 mL，0.54ミリモル）を滴下した。この溶液を30分間攪拌した後、粗2-ヒドロキシニコチノイルクロライド（1 mLのテトラヒドロフラン中）を滴下した。反応混合物を-78℃で30分間攪拌し、次いで室温に温め、そして1時間攪拌した。液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）では、所望の、および過アシル化生成物の両方が示された。次いで反応混合物を酢酸エチルで希釈し、飽和塩化アンモニウム次いでブラインですすぎ、そして水性相を酢酸エチルで逆抽出し、続いてブラインで洗浄した。合わせた有機物を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濾過し、そして溶媒を蒸発させて169 mgの粗材料を得た。ヘプタン中の酢酸エチルの勾配（50~100%）を使用してシリカゲルでのクロマトグラフィーで、生成物と出発材料の56 mgの混合物、所望の生成物と過アシル化生成物の56 mgの混合物、および31 mgの主に過アシル化生成物が得られた（粗収率：99%）。所望の生成物/過アシル化材料の56 mgの混合物をメタノール（1.4 mL）および水（200 mL）に溶解した後、炭酸カリウム（9 mg，~1当量）を加えた。反応物は室温で2時間攪拌した後、薄層クロマトグラフィーにより完全であると判断された。溶液を酢酸エチルで希釈し、そしてブラインで洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、そして溶媒を蒸発させて50 mgの化合物6aを得た。この生成物の構造は¹H NMRにより確認された。NMR（CDCl₃）：δ 12.10（br. s，1H），10.60（br. s，1H），8.62（m，1H），7.55（m，1H），7.25（m，1H），6.60（m，1H），3.85（m，1H），3.70（s，3H） 40 50

, 3.50 (m, 1H), 3.40 (s, 3H) ppm.

【0076】

F. N-(2, 5-ジオキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-2-ヒドロキシニコチンアミド(7a)の調製

無水ジクロロメタン(2mL)中の6a(50mg, 0.16ミリモル)溶液に、ゆっくりとトリフルオロ酢酸(0.5mL)を室温に加えた。一晚攪拌した後、LC-MSは27%の出発材料が残っていることを示した。さらにトリフルオロ酢酸(0.5mL)を加え、そして反応混合物をさらに24時間攪拌し、この時点で完了と判断された。溶液を氷浴中で冷却し、そしてさらにジクロロメタン(10mL)で希釈した後、飽和重炭酸ナトリウム溶液を攪拌している混合物がアルカリ性になるまでゆっくりと加えた。次いで混合物を分配し、そして有機溶媒を取り出し、そしてブラインですすいだ。水性層を酢酸エチルで2回抽出し、そして有機層をブラインで洗浄した。すべての有機物をプールし、そして無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濾過し、そして溶媒を蒸発させて7aを明黄色の固体として得た(30mg, 71%)。LC-MSは80%純度を示し、そしてこの材料をさらに精製せずに次の工程で使用した。

【0077】

G. (±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)ニコチンアミド(8a)の調製

0℃に冷却したメタノール(4mL)中の化合物7a(30mg, 0.092ミリモル, 80%純度)溶液に、不活性窒素雰囲気下でトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(30mg, 0.142ミリモル)を1回に加えた。この溶液をこの温度で15分間攪拌した後、室温とした。さらに45分間攪拌した後、反応はTLCにより完了したと判断された。メタノールを約2mL容量まで蒸発させ、そしてフラスコを氷浴中で10分間冷却した。次いで沈殿を濾過し、そしてメタノールですすいだ(2 x 3mL)。高吸引下で乾燥した後、10mg(42%収率)の化合物8aが淡黄色の固体として単離された。この純度はHPLCにより95%であった(Restek Pinnacle II カラム、C18, 5μ, 250 x 4.6mm; 移動相: 水中5% アセトニトリルで5分、次いで20分間にわたり水中5~100%のアセトニトリル; 流速: 1.5mL/分; 検出器: 316nm(VWD))。生成物の構造は¹H NMRにより確認した。NMR(DMSO-d₆): δ 12.70 (br. s, 1H), 12.50 (br. s, 1H), 8.35 (m, 1H), 7.85 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.55 (m, 2H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例2】

【0078】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)キノリン-3-カルボキサミド(8b)。

【0079】

実施例1の方法を使用するが、工程Eの2-ヒドロキシキノリン-3-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸に代えて使用して、2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)キノリン-3-カルボキサミドを調製した。

【0080】

A. N-(2, 2-ジメトキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-2-ヒドロキシキノリン-3-カルボキサミド(6b)の調製

2-ヒドロキシキノリン-3-カルボン酸(528mg, 2.8ミリモル)を含む乾燥丸底フラスコに、塩化チオニル(4mL, 57ミリモル)を加えた。混合物を20分間、加熱還流した後、塩化チオニルをロータリーエバポレーターで蒸発させた。別のフラスコで、アミン5(430mg, 2.3ミリモル)を無水テトラヒドロフラン(17mL)に溶解し、そして不活性な窒素雰囲気下で-78℃に冷却した。冷却したアミン溶液に、リチウムtert-ブトキシド(1Mのテトラヒドロフラン中; 3mL, 3ミリモル)を加

え、続いて15分間攪拌した。次いで酸クロライドをテトラヒドロフラン(12 mL)中で懸濁し、そして冷却アミン溶液に直接加えた。反応混合物を一晩攪拌し、その間に室温になった。次いで反応物を酢酸エチルで希釈し、ブラインで洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、そして濃縮して550 mgの粗物質を得、これは10%のO-アロイル化生成物を含んだ(LC-MSにより定めたように)。固体は25 mgの炭酸カリウムを含有する8/1のメタノール/水(9 mL)中で1時間攪拌し、その後、酢酸エチルで希釈し、そして飽和重炭酸ナトリウム溶液およびブラインで洗浄した。酢酸エチルを無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、濾過し、そして濃縮して少量のエステルを含む固体を得た。次いで生成物は小さいシリカプラグで精製し、95/5のジクロロメタン/酢酸エチルで溶出して、530 mgの淡黄色の固体(64%収率)を得た。生成物の構造は¹H NMRにより確認した。NMR(CDC1₃): δ 12.30 (br. s, 1H), 10.60 (br. s, 1H), 9.00 (m, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.40 (m, 2H), 5.60 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.50 (m, 1H), 3.40 (s, 3H) ppm.

【0081】

B. N-(2, 5-ジオキソ-7-オキサビシクロ[4. 1. 0]ヘプター3-エン-3-イル)-2-ヒドロキシキノリン-3-カルボキサミド(7b)の調製

N-(2, 2-ジメトキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4. 1. 0]ヘプター3-エン-3-イル)-2-ヒドロキシキノリン-3-カルボキサミド(65 mg, 0.18ミリモル)を含有するフラスコに、トリフルオロ酢酸(15 mL)を1回に加えた。溶液を3時間攪拌した後、反応をLC-MSにより判断した。トリフルオロ酢酸を真空下で除去し、そして生成物を窒素ガスで乾燥して57 mg(100%)の表題生成物を得、これは約15%の副産物を含み、これは加水分解生成物であることが示唆された(アミドおよびエポキシドの両位置で; M⁺ 204)。この固体をさらに特性決定または精製することなく次の工程に使用した。

【0082】

C. (±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4. 1. 0]ヘプター3-エン-3-イル)キノリン-3-カルボキサミド(8b)の調製

上記で得た化合物を、2/1のテトラヒドロフラン/メタノール混合物(36 mL)に溶解し、そして0℃に冷却した。次いでトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウムを一回に加え、そして反応を室温とした。30分間攪拌した後、反応はLC-MSにより完了したと判断した。次いで溶媒を蒸発させ、そしてメタノール(5 mL)を加えた。混合物を簡単に超音波処理し、そして氷浴中で15分間冷却した。次いで固体を濾過し、そしてメタノールですすぎ(2 x 2 mL)、集め、高真空下で乾燥させて18 mg(78%)の生成物を得た。純度はHPLCにより94%であった(Restek Pinnacle II カラム, C18, 5 μ, 150 x 4.6 mm; 移動相: 水中5%アセトニトリルで5分間(0.1% TFA)、次いで20分間にわたり水中5~100%のアセトニトリル(0.1% トリフルオロ酢酸); 流速: 1.5 mL/分; 検出器: 316 nm (VWD))。生成物構造は¹H NMRにより確認した。NMR(DMSO-d₆): δ 12.70 (br. s, 1H), 12.50 (br. s, 1H), 9.00 (m, 1H), 8.00 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.65 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例3】

【0083】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4. 1. 0]ヘプター3-エン-3-イル)ピコリンアミド。¹H NMR. NMR(DMSO-d₆): δ 11.20 (br. s, 1H), 10.70 (br. s, 1H), 8.20 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 6.90 (m,

10

20

30

40

50

1 H), 6.80 (m, 1 H), 4.90 (m, 1 H), 3.85 (m, 1 H), 3.45 (m, 1 H) ppm.

【実施例4】

【0084】

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-ニコチンアミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 12.90 (br. s, 1 H), 8.50 (m, 1 H), 7.80 (m, 1 H), 6.90 (m, 1 H), 6.45 (m, 2 H), 4.75 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H) ppm.

【実施例5】

【0085】

(±)-6-クロロ-4-ヒドロキシキノリン-3-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 13.1 (br. s, 1 H), 12.50 (br. s, 1 H), 8.90 (m, 1 H), 8.20 (m, 1 H), 7.80 (m, 1 H), 7.75 (m, 1 H), 6.90 (m, 1 H), 6.60 (m, 1 H), 4.80 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H) ppm.

【実施例6】

【0086】

(±)-4-ヒドロキシ-8-トリフルオロメチルキノリン-3-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 12.30 (br. s, 1 H), 8.75 (m, 1 H), 8.60 (m, 1 H), 8.25 (m, 1 H), 7.70 (m, 1 H), 6.90 (m, 1 H), 6.60 (m, 1 H), 4.80 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H) ppm.

【実施例7】

【0087】

(±)-5-クロロ-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-ニコチンアミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 13.10 (br. s, 1 H), 12.65 (br. s, 1 H), 8.25 (m, 1 H), 8.20 (m, 1 H), 8.05 (m, 1 H), 6.90 (m, 1 H), 6.55 (m, 1 H), 4.80 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H) ppm.

【実施例8】

【0088】

(±)-4-ヒドロキシ-2-フェニルピリミジン-5-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 13.70 (br. s, 1 H), 12.00 (br. s, 1 H), 8.75 (m, 1 H), 8.20 (m, 2 H), 7.50 (m, 3 H), 6.90 (m, 1 H), 6.60 (m, 1 H), 4.80 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H) ppm.

【実施例9】

【0089】

(±)-3-ヒドロキシキノキサリン-2-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 13.00 (br. s, 1 H), 7.90 (m, 1 H), 7.70 (m, 1 H), 7.40 (m, 2 H), 6.90 (m, 1 H), 6.60 (m, 1 H), 4.80 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H) ppm.

【実施例10】

10

20

30

40

50

【0090】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-6-メチルニコチンアミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 12.60 (br. s, 1H), 12.20 (s, 1H), 8.25 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.40 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 2.35 (s, 3H) ppm.

【実施例11】

【0091】

(±)-4-ヒドロキシ-2-ピペリジン-1-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 8.50 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 6.50 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 3.80 (m, 4H), 3.40 (m, 1H), 1.6 (m, 6H) ppm.

【実施例12】

【0092】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)ピコリンアミド, メシレート。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 10.60 (br. s, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 5.00 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 2.20 (s, 3H) ppm.

【実施例13】

【0093】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)ピコリンアミドトリフルオロアセテート。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 11.10 (br. s, 1H), 10.60 (br. s), 8.30 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例14】

【0094】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)ピコリンアミド トシレート。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 10.60 (br. s, 1H), 8.20 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 6.80 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 2.2 (s, 3H) ppm.

【実施例15】

【0095】

(±)-3-ヒドロキシキノリン-2-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 10.90 (br. s, 1H), 10.80 (br. s, 1H), 7.90 (m, 3H), 7.60 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例16】

【0096】

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-2-メトキシニコチンアミド。¹H NMR. NMR

10

20

30

40

50

(DMSO- d_6) : δ 10.70 (br. s, 1H), 8.40 (m, 1H), 8.35 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例17】

【0097】

(±)-3-ヒドロキシキノリン-2-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド メシレート。¹H NMR. NMR (DMSO- d_6) : δ 10.90 (br. s, 1H), 10.80 (br. s, 1H), 7.90 (m, 3H), 7.60 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 2.30 (s, 3H) ppm.

10

【実施例18】

【0098】

(±)-3-ヒドロキシキノリン-2-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミドトリフルオロアセテート。¹H NMR. NMR (DMSO- d_6) : δ 10.90 (br. s, 1H), 10.80 (br. s, 1H), 7.90 (m, 3H), 7.60 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.50 (m, 1H) ppm.

20

【実施例19】

【0099】

(±)-3-ヒドロキシキノリン-2-カルボン酸-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド トシレート。¹H NMR. NMR (DMSO- d_6) : δ 10.90 (br. s, 1H), 10.80 (br. s, 1H), 7.90 (m, 3H), 7.60 (m, 2H), 7.40 (m, 2H), 7.1 (m, 2H), 6.80 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.50 (m, 1H), 2.2 (s, 3H) ppm.

【実施例20】

【0100】

(±)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。¹H NMR. NMR (DMSO- d_6) : δ 10.60 (br. s, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 5.70 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.90 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

30

【実施例21】

【0101】

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-2-メトキシニコチンアミドトリフルオロアセテート。¹H NMR. NMR (DMSO- d_6) : δ 10.70 (br. s, 1H), 8.40 (m, 1H), 8.35 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

40

【実施例22】

【0102】

(±)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサ-ビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド トリフルオロアセテート。¹H NMR. NMR (DMSO- d_6) : δ 10.40 (br. s, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 6.8

50

0 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例 23】

【0103】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4.1.0] ヘプタ-3-エン-3-イル)-6-トリフルオロメチルニコチンアミド。 ^1H NMR. NMR (DMSO- d_6): δ 11.80 (br. s, 1H), 8.50 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例 24】

【0104】

(±)-4-ヒドロキシ-2-メチルピリミジン-5-カルボン酸 (2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4.1.0] ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。 ^1H NMR. NMR (DMSO- d_6): δ 13.40 (br. s, 1H), 11.80 (br. s, 1H), 8.60 (s, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.60 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例 25】

【0105】

(±)-2-メトキシキノリン-3-カルボン酸 (2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4.1.0] ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。 ^1H NMR. NMR (DMSO- d_6): δ 10.80 (br. s, 1H), 9.00 (m, 1H), 8.10 (m, 1H), 7.80 (m, 2H), 7.50 (m, 1H), 6.90 (m, 2H), 4.90 (m, 1H), 4.20 (s, 3H), 3.90 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例 26】

【0106】

(±)-3-メトキシピラジン-2-カルボン酸 (2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4.1.0] ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。 ^1H NMR. NMR (DMSO- d_6): δ 10.30 (br. s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.35 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 6.70 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例 27】

【0107】

(±)-1-クロロ-4-ヒドロキシイソキノリン-3-カルボン酸 (2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4.1.0] ヘプタ-3-エン-3-イル)-アミド。 ^1H NMR. NMR (DMSO- d_6): δ 12.30 (br. s, 1H), 10.30 (br. s, 1H), 8.40 (m, 2H), 8.10 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例 28】

【0108】

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサビシクロ [4.1.0] ヘプタ-3-エン-3-イル)-2-ヒドロキシキノリン-3-カルボキサミド。 ^1H NMR. NMR (DMSO- d_6): δ 12.60 (br. s, 1H), 10.30 (br. s, 1H), 9.00 (m, 1H), 8.00 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.5 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.90 (m, 1H) ppm.

【実施例 29】

10

20

30

40

50

【0109】

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-8-メトキシキノリン-7-カルボキサミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 11.10 (br. s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.50 (m, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 4.35 (s, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例30】

【0110】

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-2-メトキシニコチンアミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 10.60 (br. s, 1H), 8.50 (m, 1H), 8.30 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.10 (s, 3H), 3.95 (m, 1H) ppm.

10

【実施例31】

【0111】

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-3-メトキシキノリン-2-カルボキサミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 10.60 (br. s, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.00 (m, 2H), 7.60 (m, 2H), 6.80 (m, 1H), 6.60 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.40 (m, 1H) ppm.

20

【実施例32】

【0112】

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-8-メトキシキノリン-7-カルボキサミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 11.20 (br. s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.50 (m, 1H), 8.10 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 4.40 (s, 3H), 4.20 (m, 1H), 4.00 (m, 1H) ppm.

30

【実施例33】

【0113】

(±)-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-8-メトキシキノリン-7-カルボキサミドトリフルオロアセテート。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 11.20 (br. s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.50 (m, 1H), 8.10 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 4.90 (s, 3H), 3.90 (m, 1H) ppm.

【実施例34】

【0114】

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-3-ヒドロキシニコチンアミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 8.30 (s, 1H), 8.00 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 4.20 (s, 1H), 4.00 (m, 1H) ppm.

40

【実施例35】

【0115】

(±)-N-(2,5-ジオキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター-3-エン-3-イル)-2-メトキシキノリン-3-カルボキサミド。¹H NMR. NMR (DMSO-d₆): δ 11.00 (br. s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.90 (m, 2H), 7.75 (m, 2H), 7.50 (m, 1H), 4.40 (s, 3H)

50

, 4.00 (s, 1H), 3.90 (m, 1H) ppm.

【実施例36】

【0116】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)-6-メトキシキノリン-3-カルボキサミド。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 12.50 (br. s, 1H), 8.90 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.40 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 6.60 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 3.80 (m, 4H), 3.40 (m, 1H) ppm.

【実施例37】

【0117】

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ベンゾ[d]オキサゾール-5-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで6-ヒドロキシベンゾ[d]オキサゾール-5-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ベンゾ[d]オキサゾール-5-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例38】

【0118】

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ベンゾ[d]チアゾール-5-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-5-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ベンゾ[d]チアゾール-5-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例39】

【0119】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ピペリジン-2-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで3-ヒドロキシピペリジン-2-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ピペリジン-2-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例40】

【0120】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで3-ヒドロキシピラジン-2-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例41】

【0121】

(±)-5-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ピリミジン-4-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで5-ヒドロキシピリミジン-4-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-5-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプター3-エン-3-イル)ピリミジ

10

20

30

40

50

ン-4-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例 4 2】

【0 1 2 2】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)-1, 8-ナフチリジン-3-カルボキサミド。実施例 1 の方法を採用するが、工程 E で 2-ヒドロキシ-1, 8-ナフチリジン-3-カルボン酸を 2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)-1, 8-ナフチリジン-3-カルボキサミドを調製することができる。

10

【実施例 4 3】

【0 1 2 3】

(±)-7-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)ピリド [2, 3-d] ピリミジン-6-カルボキサミド。実施例 1 の方法を採用するが、工程 E で 7-ヒドロキシピリド [2, 3-d] ピリミジン-6-カルボン酸を 2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-7-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)ピリド [2, 3-d] ピリミジン-6-カルボキサミドを調製することができる。

20

【実施例 4 4】

【0 1 2 4】

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)ピリダジン-3-カルボキサミド。実施例 1 の方法を採用するが、工程 E で 4-ヒドロキシピリダジン-3-カルボン酸を 2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)ピリダジン-3-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例 4 5】

【0 1 2 5】

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)-1H-ピラゾール-3-カルボキサミド。実施例 1 の方法を採用するが、工程 E で 4-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-3-カルボン酸を 2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)-1H-ピラゾール-3-カルボキサミドを調製することができる。

30

【実施例 4 6】

【0 1 2 6】

4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)フラン-3-カルボキサミド。実施例 1 の方法を採用するが、工程 E で 4-ヒドロキシフラン-3-カルボン酸を 2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)フラン-3-カルボキサミドを調製することができる。

40

【実施例 4 7】

【0 1 2 7】

(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)チオフェン-3-カルボキサミド。実施例 1 の方法を採用するが、工程 E で 4-ヒドロキシチオフェン-3-カルボン酸を 2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-4-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エン-3-イル)チオフェ

50

ン-3-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例48】

【0128】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)イソチアゾール-4-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで3-ヒドロキシイソチアゾール-4-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)イソチアゾール-4-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例49】

【0129】

(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)イソキサゾール-4-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで3-ヒドロキシイソキサゾール-4-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-3-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)イソキサゾール-4-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例50】

【0130】

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-1H-インドール-5-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで6-ヒドロキシ-1H-インドール-5-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-1H-インドール-5-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例51】

【0131】

(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで6-ヒドロキシ-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-6-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボキサミドを調製することができる。

【実施例52】

【0132】

(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)モルホリン-3-カルボキサミド。実施例1の方法を採用するが、工程Eで2-ヒドロキシモルホリン-3-カルボン酸を2-ヒドロキシニコチン酸の代わりに使用して、(±)-2-ヒドロキシ-N-(2-ヒドロキシ-5-オキソ-7-オキサビシクロ[4.1.0]ヘプタ-3-エン-3-イル)モルホリン-3-カルボキサミドを調製することができる。

【0133】

実施例1の化合物による細胞内でのNF-κBの阻害 2つのレポーター細胞アッセイを使用して、実施例1の化合物がNF-κBが駆動する転写を阻害する能力を測定した。第1アッセイは、3つのNF-κBプロモーター要素を含む安定に組み込まれたpNF-κB-lucレポータープラスミドを用いた293細胞に基づくアッセイであった。第2のアッセイは、4つのNF-κBプロモーター要素を含む安定に組み込まれたpTRH1-NF-κB-dsGFPレポーターを用いた293細胞に基づくアッセイであった。細胞を0、0.2、1、10、20および40 μMの実施例1の化合物で2時間処理

10

20

30

40

50

し、次いで 20 ng/ml の $\text{TNF-}\alpha$ で 18 時間誘導した。誘導後、発光または蛍光を、Beckman-Coulter 2300 プレートリーダーを使用して定量した。図 1 A および B はそれぞれ発光および蛍光データから作成した用量応答曲線を示す。実施例 1 の化合物は、ルシフェラーゼ遺伝子の発現を用量依存的様式で阻害することが観察され、 $16.2 \pm 1.1 \mu\text{M}$ の IC_{50} 中央値 (50% の阻害濃度) であった。また実施例 1 の化合物は、緑色蛍光タンパク質遺伝子の発現も用量依存的様式で阻害し、 $6.2 \pm 0.5 \mu\text{M}$ の IC_{50} 中央値であった。これらの値は 3 回の独立した実験士標準誤差から作成した中央値を表す。対照として、0.5% DMSO 処理および未処理細胞と比較して、実施例 1 の担体がルシフェラーゼの発現またはアッセイの読み取りに影響を及ぼさないことが確認された。DMSO 処理群でのアッセイからの出力にわずかな減少があったが、統計的に有意ではなかった。対照の結果として、薬剤処理したサンプルにおける活性の低下を DMSO 処理サンプルと比較した。

10

【0134】

実施例 1 の化合物の細胞傷害プロファイル 実施例 1 の化合物の細胞傷害性は、ヒト末梢血単核細胞 (hPBMCs) について測定された。図 2 を参照にされたい。活性アッセイの場合のように、hPBMCs を 0、0.2、1、10、20 および $40 \mu\text{M}$ の実施例 1 の化合物で 2 時間処理し、次いで 20 ng/ml の $\text{TNF-}\alpha$ で 48 時間誘導した。生存可能細胞数は、CellTiter-Glo 発光細胞生存能アッセイ (Promega (cat # G7573)) を使用して測定した。代表的な実験を図 2 に示す。グラフが示すように、実施例 1 の化合物を用いてこれらの細胞に対して検出できる毒性は、試験した $40 \mu\text{M}$ までほとんどなかった。対照的に、DHMEQ は $40 \mu\text{M}$ で 60% より高い細胞増殖の阻害を現した。0.5% の DMSO で処理した細胞は、未処理 hPBMCs に比べて検出できる細胞傷害効果を示さなかった。選択性指数 (selectivity index: 細胞傷害性 CC_{50} 対阻害性 IC_{50} の比) を実施例 1 の化合物に割り当てる。上記阻害および毒性実験で得られた結果に基づき、実施例 1 の化合物は DHMEQ に比べてより高い選択性を現した (すなわちより高い活性およびより低い細胞傷害性)。

20

【0135】

可溶性 IL-2R α は NF- κ B により転写的に調節される 図 3 は sIL-2R α の血清レベルが実施例 1 で処理した細胞により影響され得ることを示す。ヒト PBMCs を 0、0.2、1、10、20 および $40 \mu\text{M}$ の実施例 1 の化合物で処理すると同時に PHA-P で活性化した。細胞をさらに 3 日間培養し、そして培地をマーカーの評価のために回収した。図 3 は sIL-2R α が PHA-P の活性化により有意に誘導されたことを示す。さらにグラフでは、sIL-2R α が実施例 1 の化合物の添加に用量依存的様式で影響され、 $10 \mu\text{M}$ の実施例 1 の化合物で統計的に有意な効果が生じたことを示す。

30

【0136】

実施例 1 の化合物による IL-6 および IL-8 分泌の阻害 過去数年にわたり、乳癌に関する徹底的な研究で、HER2、エストロゲンレセプター (ER) の過剰発現、および p53、BRCA1 および BRCA2 を含む遺伝子の突然変異が、核内因子 κ B を含む複数の脈管形成性アポトーシス促進レギュレーターの誘導を介して乳癌の発症および進行に重要な役割を果たすという認識に至った。NF- κ B はしばしば、乳癌、膀胱癌、前立腺癌および黒色腫で恒常的に活性化される。多くの研究で NF- κ B の恒常的活性化が乳癌細胞株のホルモン非依存的増殖の進行に貢献することが示された。

40

【0137】

NF- κ B シグナル伝達経路は、IL-6 および IL-8 を恒常的に分泌することが示された MDA-MB-231 細胞で恒常的に活性化される一方、TNF- α の添加がさらにこの分泌を加速する (図 4 A および B を参照にされたい)。この実施例 1 の化合物は、MDA-MB-231 からの恒常的な IL-6 および IL-8 分泌を用量依存的様式で阻害することが観察された。たとえ細胞が TNF- α (20 ng/mL) で刺激された場合でも、 $20 \mu\text{M}$ の実施例 1 の化合物はこれらの細胞から IL-6 および IL-8 の分泌を完全に阻害した (図 4 A および B を参照)。

50

【0138】

マクロファージは免疫反応、アレルギーおよび炎症に重要な役割を果たす。過剰なマクロファージの活性化は、充実性腫瘍、糖尿病、およびアルツハイマー病およびパーキンソン病のような神経疾患を増す。ゆえに過剰なマクロファージの活性を抑制することはこれらの疾患に化学療法として有用となるはずである。細胞培養実験には、マウス細胞株RAW264.7がマクロファージのモデルとしてしばしば使用される。微生物およびリポ多糖(LPS)のようなその生産物に反応して、マクロファージはインターロイキン(IL)-1、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、および腫瘍壊死因子(TNF)- α を含む様々な炎症性サイトカインを、核内因子NF- κ Bの活性化を介して分泌し、ならびにNF- κ B-依存的誘導型NO合成酵素(iNOS)およびシクロオキシゲナーゼ2(COX-2)を発現する。NF- κ Bは細胞外シグナルにより主にマクロファージ内の様々なToll様受容体を介して活性化される。免疫系による微生物感染の検出および応答は、Toll様受容体(TLR)と呼ばれるパターン認識受容体のファミリーに依存する。これらの受容体は、グラム陽性および陰性細菌、DNAおよびRNAウイルス、菌・カビ、および原生動物に由来する分子を含む病原体に関連する分子パターン(PAMP)を認識するように進化的に保存されており、そしてそれらはかなりの標的特異性を表す。TLR4はグラム陰性細菌のLPSに対する効果的な宿主細胞応答に重要である。

10

【0139】

LPS刺激はプロスタグランジンE₂の原因である酵素COX-2の発現を誘導する。実施例1の化合物での前処理は、6~12時間で発現の強い阻害を生じた。このLPSが誘導するCOX-2発現の減少は、図5Aに示すように、下流のPGE₂合成の減少により示されるように用量依存的であった。

20

【0140】

炎症性サイトカインIL-6は、図5Bに示すように実施例1の化合物により用量依存的様式で阻害された。この阻害はMDA-MB-231乳癌細胞株におけるIL-6の阻害と合致する。

【0141】

RelA/p65の免疫染色 実施例1の化合物は細胞の細胞質内に活性化RelA/p65の蓄積を引き起こす。HeK293細胞をDHMEQまたは実施例1の化合物(示すような)でTNF α (20ng/ml)と共に30分間処理した。インキュベーション後、細胞を抗-p65抗体(C-20)抗体(Santa Cruz Biotechnology, サンタクルズ, カリフォルニア州)で免疫染色し、そして核はDapiを用いてカウンター染色した。像はAE31倒立顕微鏡を使用してエピフルオレッセンスイルミネーター(Motic, 厦門, 中国)およびProgres C3カメラ(JENOPTIK, イェーナ, ドイツ)を用いて撮影した。p65および対応する核の個々の像は、図面の最後にまとめた。対照処理細胞(DMSOのみ)は、TNF α 刺激でp65の核内蓄積を現した。TNF α により誘導されるp65の核内蓄積は、1~12 μ Mの実施例1の化合物により有意に遮断され、一方、DHMEQは同じ効果を達成するためにより高い濃度を要した。図6を参照にされたい。

30

40

【0142】

Trans AM NF- κ BファミリーDNA結合ELISA 薬剤化合物に暴露した活性化核抽出物または精製組換えNF- κ Bタンパク質からのNF- κ Bヘテロ二量体またはホモ二量体サブユニットの結合活性を、Trans AM NF- κ Bファミリー結合ELISA(Active Motif)により評価した。TNF α 活性化HelaまたはRaji細胞(Active Motif)由来の3~5 μ gの核抽出物、または20ngの精製組換えタンパク質(Active Motifからp65およびp50、Santa Cruzからのp52)を、室温で1時間、DTTを含まない完全溶解バッファー(Complete Lysis buffer)で希釈した20 μ Lの薬剤化合物とインキュベーションした。次いで処理したサンプルを、NF- κ Bコンセンサスオリ

50

ゴヌクレオチドでプレコートしたマイクロプレートウェル中の30 μ Lの完全結合バッファ（Complete Binding Buffer：DTTを含む）に移した。対照には、溶解バッファを含有するが抽出物もしくは組換えタンパク質を含まない非特異的結合（NSB）ウェル（バックグラウンド用）、DMSOのみで処理した核抽出物または組換えタンパク質（最大の結合用）、および抽出物／タンパク質に競合物として20 pmoleの遊離野生型NF- κ Bオリゴヌクレオチド、または特異性を証明するための対照として20 pmoleの遊離変異体NF- κ Bオリゴヌクレオチドを加えたウェルを含んだ。プレートを室温で1時間、ゆっくりと振盪しながらインキュベーションし、そして200 μ Lの1x洗浄バッファで3回洗浄した。プレートに結合したNF- κ B p65、p50、p52、RelBまたはc-Relサブユニットは、そのサブユニットに特異的な100 μ Lの1次抗体（1：1000に1x抗体バッファで希釈）で検出した。プレートを室温で1時間インキュベーションし、次いで200 μ Lの1x洗浄バッファで3回洗浄した。次に100 μ LのHRP結合ヤギ抗ウサギ抗体（1：1,000に1x抗体バッファで希釈）を各ウェルに加えた。プレートを室温で1時間インキュベーションし、次いで200 μ Lの1x洗浄バッファで4回洗浄した。100 μ Lの室温発色溶液を各ウェルに加えた。反応物は媒質が暗青色に発色するまで2～10分間現像し（使用した抽出物のロットまたは組換えタンパク質のロットのサブユニット活性に依存する）、次いで反応は100 μ Lの停止溶液で止めて黄色い色を生じた。吸収は450nmでBecton-Dickinson DTX 880 Multimode Detectorを使用して記録し、620nmの参照波長値を引いた。図7および8は実施例2、DHMEQおよびパルテノライドのRelAおよびRelBのNF- κ B部位への阻害効果を具体的に説明する。

10

20

【0143】

実施例1および2の化合物に加えて、表1は他の化合物が1) NF- κ Bが駆動するルシフェラーゼおよびGFPのHEK293細胞中での発現、2) IL-6およびPGE2のRAW264細胞からの放出、3) および3) RelA、RelB、c-Rel、p50およびp52のNF- κ B部位への結合を阻害するそれらの活性について列挙する。

【0144】

【表 1】

表1. NF- κ B駆動型レポーター遺伝子発現の阻害、サイトカイン放出の抑制、およびNF- κ B部位への Relタンパク質の結合の阻害における化合物の薬理学的活性。(N/D: 測定せず)

Cpd の Ex. #	293/NF κ B-luc EC50 (μ M)	NF- κ B/293/ GFP EC50 (μ M)	RAW 264.7 IL-6 放出 EC50 (μ M)	RAW 264.7 PGE2 放出 EC50 (μ M)	p65 の 結合 IC50 (μ M)	p50 の 結合 IC50(μ M) または 阻害% 5 μ M で	p52 の 結合 IC50(μ M) または 阻害% 5 μ M で	c-Rel の 結合 IC50(μ M) または 阻害% 5 μ M で	RelB の 結合 IC50(μ M) または 阻害% 5 μ M で
1	6.2	6.2	6.5	6.9	2.2	26	13	4.6	7.4
2	4.1	0.21	0.24	1.8	1.4	2.1	6	2.1	2
5	>38	>38	0.43	6.2	230	>481	>481	12%	0%
6	18	3.4	0.90	6.2	3.3	0%	7%	27%	13%
7	15	3.2	0.73	6.8	3.6	19%	16%	63%	32%
8	37	10	2.2	26.2	N/D	16%	17%	46%	21%
9	14	20	7.4	23.6	7.2	11%	22%	44%	22%
10	19	4.5	<0.24	1.1	2.8	6%	11%	54%	27%
3	15	3.4	1.4	N/D	12.4	>636	301	15%	0%
11	15	5.8	7.7	N/D	4.6	4%	9%	40%	18%
4	>51	40	>51	N/D	5	118	365	23%	21%
12	22	N/D	2.5	N/D	34.4	0%	14%	7%	6%
13	9.2	N/D	1.4	N/D	10.6	0%	0%	15%	10%
14	23	N/D	3.3	N/D	35.5	0%	6%	1%	9%
15	11	4.9	1	N/D	488	0%	0%	6%	0%
16	7.1	1.2	0.64	N/D	0.88	20	3.7	0.8	1.7
20	9.6	7.7	1.4	N/D	5.8	1%	18%	40%	29%
21	5.8	N/D	0.38	N/D	0.55	22	22	1.1	1.5
22	>34	N/D	>34	N/D	13.2	N/D	N/D	N/D	N/D
23	>40	>40	24.8	N/D	6.4	N/D	N/D	N/D	N/D
24	>48	>48	27.1	N/D	2.3	N/D	N/D	N/D	N/D
25	4.1	0.84	0.13	N/D	1.1	1.2	4.7	0.49	0.65
26	16	11	1.6	N/D	4.7	246	84	14	12
27	9.7	6.7	0.71	N/D	30	N/D	N/D	N/D	N/D
28	2.7	4.2	0.19	N/D	3	20	9.6	4.5	3.0
29	0.46	2.2	0.16	N/D	4.5	129	59	11	12
30	2.7	4.3	0.76	N/D	36	>608	>608	N/D	N/D
31	3.9	5.6	1.0	N/D	38	28	21	N/D	N/D
32	3.4	3.0	0.24	N/D	30	>514	>514	N/D	N/D
33	0.53	2.0	0.26	N/D	4.8	>378	>378	N/D	N/D
34	>51	39	42	N/D	12	90	96	N/D	N/D
35	3.1	5.3	0.44	N/D	50	148	81	N/D	N/D

【0145】

一連のインビトロ実験において、本発明のNF- κ B阻害剤は、サイトカインの放出および広いスペクトルの癌細胞株の増殖を防いだ。これらの化合物は、チトクロームP450の活性を阻害せず、またはhERGチャンネルを遮断しなかった。数種の化合物が齧歯類の疾患モデルで効力試験について評価された。我々は初めに、正規および非正規経路の両方で恒常的活性化の高い発生率を有する多発性骨髄腫において、この化合物のインビボ効力を得ようとした。ヒトRPMI8226多発性骨髄腫の異種移植片モデルでは、実施例2の化合物は、この適応症の最も重要な治療となると認められているPS-341（ボルテゾミブ、Velcade（商標））と同じレベルの腫瘍増殖の減少を達成した（図9を参照にされたい）。さらに実施例2の化合物は、PS-341よりもよく忍容（tolerated）された。しかし統計的分析では、PS-341も実施例2の処置も統計的に有意な腫瘍増殖阻害を達成しないことが明らかとなった（ $P > 0.05$ ）。

【0146】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1 (PARP-1) の阻害または p65 (RelA) のダウンレギュレーションは、癌細胞株に対する照射 (IR) - 誘導型の細胞傷害性を増強することができる。この実験では、新規な低分子 p65 (RelA) 阻害剤が、野生型のマウス胚性繊維芽細胞 (MEFs) または PARP-1^{-/-} または p65^{-/-} MEFs で放射線増感剤として評価された。クローン原性生存率アッセイ (clonogenic survival assay) において、p65^{-/-} MEFs は p65^{+/+} MEFs よりも IR に対して 2 倍以上感度が高いことが見いだされ、これは NF-κB の活性化が放射線耐性を付与することを示す。実施例 2 の化合物 (1.4 μM、非細胞傷害用量) とのインキュベーションで、p65^{+/+} MEFs を放射線増感した (IR 単独での 2.3 Gy に比べて、IR + 実施例 2 の化合物で 1.5 Gy の LD₅₀ 値)。実施例 2 の化合物は p65^{-/-} MEFs の放射線増感に更なる効果はなく、これは実施例 2 の化合物の薬理学的効果が p65 を介して媒介されることを示す。同様の放射線増感効果は、p65^{-/-} MEFs ではなく p65^{+/+} MEFs で p65 の発現レベルをダウンレギュレートする (>95% まで) RNA 干渉技術により観察された。次いで実施例 2 の化合物を、PARP-1^{+/+} または PARP-1^{-/-} MEFs で試験した。実施例 2 の化合物 (1.4 μM) 処理または p65 の siRNA ダウンレギュレーションのいずれかが PARP-1^{+/+} の放射線感受性を上げたが、IR に対して PARP-1^{-/-} MEFs は上げず、PARP-1 は NF-κB 経路の活性化の上流にあることを示唆している。MEFs では実施例 2 の化合物または p65 siRNA による NF-κB の阻害も確認された。NF-κB-依存的ルシフェラーゼ発現は、p65^{+/+} MEFs で 10 Gy の IR 後に 2.5-倍まで増加した。実施例 2 の化合物または p65 siRNA の処理で、ルシフェラーゼ遺伝子の転写は有意に減少した。同様に、IR は p65^{+/+} MEFs の核抽出物 NF-κB の DNA 結合活性を 2 倍まで増加し、これはこれらの細胞中で実施例 2 の化合物のインキュベーションまたは p65 siRNA 処理のいずれかで有意に減少した。この p65 阻害剤は、以前に PARP-1 阻害剤が可能であることが示されたようにインビトロでの放射線活性を増強できることを証明した。放射線増感剤として実施例 2 の化合物の潜在的有用性を完全に調査するためは、さらにインビボの実験が必要である。

【0147】

実験の別の目的は、酵素および放射性リガンド結合アッセイで、実施例 2 の化合物の活性を評価することであった。この実験で採用した方法は、信頼性および再現性を最大にするために科学文献から適合させた。参照標準は、得られた結果の有効性を確実にするために、各アッセイに絶対不可欠として行った。提示する場合、IC₅₀ 値は Math IQ e a (ID Business Solutions Ltd., 英国) を使用して、非線形最小二乗法回帰分析 (non-linear, least squares regression analysis) により決定した。阻害定数 (K_{3/4}) が提示される場合、K_{3/4} 値は試験化合物の観察された IC₅₀、このアッセイに使用した放射性リガンド濃度、およびリガンドの K¹ に関する歴史的値 (実験的に得られた値) を使用して、Cheng and Prusoff (非特許文献 56) の式を使用して算出した。提示される場合、競合的結合曲線の傾斜を定める Hill 係数 (n_{1/2}) は Math IQ e a を使用して算出した。1.0 からかなり異なる Hill 係数は、結合置換が単一結合部位で質量作用の法則には従わないことを示唆する可能性がある。IC₅₀、K_{3/4} および/または n_{1/2} データが平均の標準誤差 (SEM) 無しに提示される場合、データは定量的になるためには不十分である。必要に応じて、個々の応答がこの報告に対して補遺に提示される。結果は、50% より高い阻害は無かったので、予想される IC₅₀ および/または K_{3/4} 値無しで図 11 に示す。

【0148】

RNA 干渉スクリーニングでは、NF-κB の正規および非正規経路で p53 および ras 突然変異が合成致死性になると確認された (非特許文献 57; 非特許文献 58)。N

10

20

30

40

50

F- κ B部位に対してRelA (p65)、RelBおよびc-relの結合と拮抗する阻害剤を合成し、そしてこのように正規および非正規経路の両方を阻害する。1つのそのような例示化合物である実施例2の化合物は、野生型およびp65^{-/-}マウスの胚性繊維芽細胞(MEFs)で放射線増感剤として評価され、そしてp53欠失およびKRAS (G13D)変異体乳癌細胞株、MDA-MB-231で放射線増感剤および化学療法剤として評価された。クローン原性生存率アッセイで、照射(IR)に対してp65^{-/-}MEFsはp65^{+/+}MEFsよりも2倍以上感受性が高いことが分かり、これはNF- κ Bの活性化が放射線耐性を付与することを示す。実施例2の化合物(1.4 μ M、非細胞傷害濃度)とのインキュベーションで、p65^{+/+}MEFsは放射線増感された(IR単独での2.3 Gyに比べて、IR+実施例2の化合物で1.5 GyのLD₅₀値)。実施例2の化合物はp65^{-/-}MEFsの放射線増感には効果はなく、これは実施例2の化合物の放射線増感効果がp65を介して媒介されることを示した。同様の放射線増感効果は、RNA干渉技術を使用することにより、p65^{-/-}MEFsではなくp65^{+/+}MEFsでp65の発現レベルを95%より高くダウンレギュレートすることが観察された。MEFsで実施例2の化合物またはp65 siRNAによるNF- κ Bの阻害も確認された。NF- κ B-依存的ルシフェラーゼ発現は、p65^{+/+}MEFsで10 GyのIR後に2.5倍まで増加した。実施例2の化合物またはp65 siRNAの処理で、ルシフェラーゼ発現は有意に減少した。同様に、IRはp65^{+/+}MEFsの核抽出物NF- κ BのDNA結合活性を2倍まで増加し、この増加はこれらの細胞中で実施例2の化合物のインキュベーションまたはp65 siRNA処理のいずれかで有意に減少した。

【0149】

実施例2の化合物は、恒常的にNF- κ Bが活性化されているMDA-MB-231乳癌細胞でも実験した。最初に実施例2の化合物を単剤として乳癌細胞の増殖について試験した。実施例2の化合物に対する重要な細胞傷害性効果は、MDA-MB-231細胞に対して0.4 μ MのLD₅₀値で観察された。次いで実施例2の化合物の相乗的効果が、これら細胞で照射を用いて試験された。0.2 μ Mの実施例2の化合物とのインキュベーションで、1.5倍まで照射効果を有意に強化することが観察された(IRのみについての2.55 Gyと比較して、IR+実施例2の化合物については1.66 Gy IRのLD₅₀値)。これらの記載された実験は、NF- κ BのRel阻害剤が正規経路の遮断を介して放射線を強化できることを示す。またこれは、p53およびKRAS突然変異を持つ腫瘍細胞を、恐らく正規および非正規経路の両方の遮断を介して選択的に殺すことができる。

【0150】

最近の関節リウマチの全ゲノムに関する実験で、この疾患の新たに同定されたリスク因子としてc-RelをコードするREL座が同定された(非特許文献59)。c-RelはNF- κ Bの正規および非正規経路の両方を媒介するNF- κ Bファミリーの転写因子の一員である。c-Relが欠失した遺伝子を持つマウスは、コラーゲンが誘導する関節炎に耐性である。c-Rel、RelAおよびRelBのNF- κ B部位への結合を遮断する低分子量阻害剤が合成された。実施例2の化合物の抗炎症活性、コラーゲン誘導型関節炎のマウスモデルで、NF- κ Bの正規および非正規経路の両方の二重阻害剤。TNF α ブロッカーであるエタネルセプトを用いた実施例2の化合物の効果を、関節リウマチモデルと比較した。オスDBAマウスの尾にウシCII型コラーゲンを1日および21日に注射することにより関節炎を発症させた。動物群(n=10)を、1)偽操作、2)賦形剤(DMSO)、3)エタネルセプト(50 μ g/マウス、i.p. 21日~35日毎日)、4)実施例2の化合物(15 mg/kg、s.c. 21日~35日毎日)、5)実施例2の化合物(15 mg/kg、i.p. 21日~35日毎日)、6)実施例2の化合物(50 mg/kg、i.p. 21日~35日毎日)で処置した。関節炎指数スコアにより評価した時、実施例2の化合物の処置は、マウス後足の紅斑および浮腫を有意に減少し、これはエタネルセプトの処置に匹敵した(図10)。エタネルセプトおよび実施例2の

10

20

30

40

50

化合物の両方とも足の浮腫を減少させた（ $P < 0.01$ 対賦形剤群）。体重の減少における有意差は、実験したすべてのマウスで観察されなかった。35日目の関節の組織学的評価で、実施例2の化合物またはエタネルセプトを用いて処置したマウスの炎症に有意な減少が明らかとなった。ミエロペルオキシダーゼ活性の測定は、同時に実施例2の化合物またはエタネルセプト処置による顆粒球リソゾーム特異的酵素の減少を示した。結論として我々は、NF- κ BのRel阻害剤がマウスの炎症性関節炎の発症を防ぐことができるということを証明した。マウスの関節リウマチモデルにおいて、実施例2の化合物の抗炎症活性は、エタネルセプトの活性に匹敵した。実施例2の化合物の効力は、マウスに良く忍容される用量で達成された。

【0151】

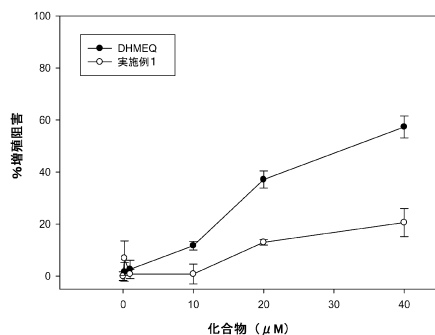
本発明のNF- κ B阻害剤は、大腸炎の動物モデルで抗炎症剤として、充実性腫瘍の放射線処置の放射線増感剤として、単独または種々の認可された癌薬剤と組み合わせた化学療法剤として試験されているところである。正規および非正規経路の二重阻害剤、および正規経路の単独阻害剤の両方が特性決定されているところである。

【0152】

さらに記載することなく、当業者はこれまでの記載および具体的実施例を使用して、本発明の化合物を作成および使用し、そして特許請求する方法を実施することができる。本発明は様々な具体的材料、手法および実施例を参照にして本明細書に記載され、そして具体的に説明されたが、本発明はその目的のために選択された材料および手法の特定の組み合わせに限定されないことを理解されたい。当業者には想定されるようなそのような詳細の多くの変更を包含することができる。本出願全体を通して引用するすべての特許、特許出願および他の文献は、それら全部を参照により本明細書に編入する。

【図2】

Figure 2



【図11】

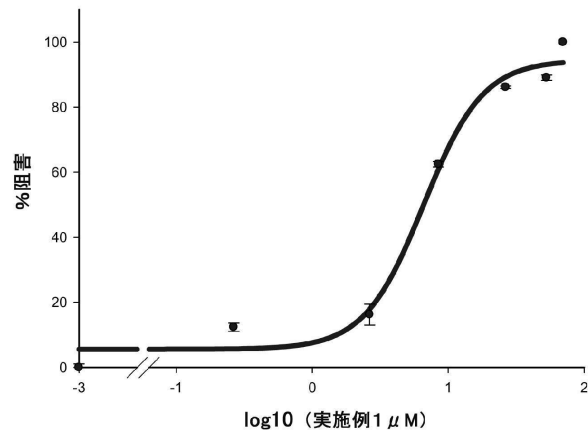
Figure 11

化合物	標的	種	n	濃度	阻害 (%)
実施例2	CYP450, 1A2	ヒト	2	10 uM	15
実施例2	CYP450, 2C19	ヒト	2	10 uM	9
実施例2	CYP450, 2C9	ヒト	2	10 uM	6
実施例2	CYP450, 2D6	ヒト	2	10 uM	12
実施例2	CYP450, 3A4	ヒト	2	10 uM	-5
実施例2	hERG K-チャンネル	ヒト	2	10 uM	0

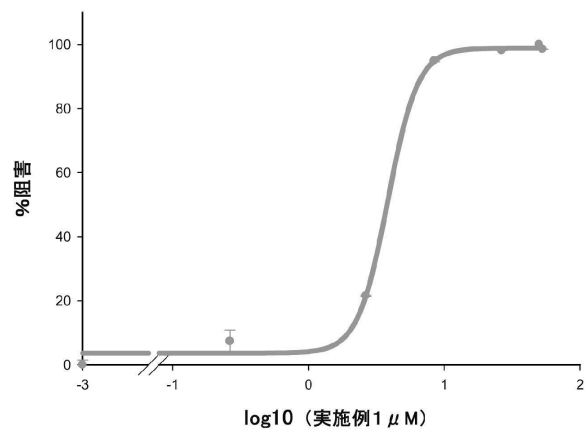
【図 1】

Figure 1

A.

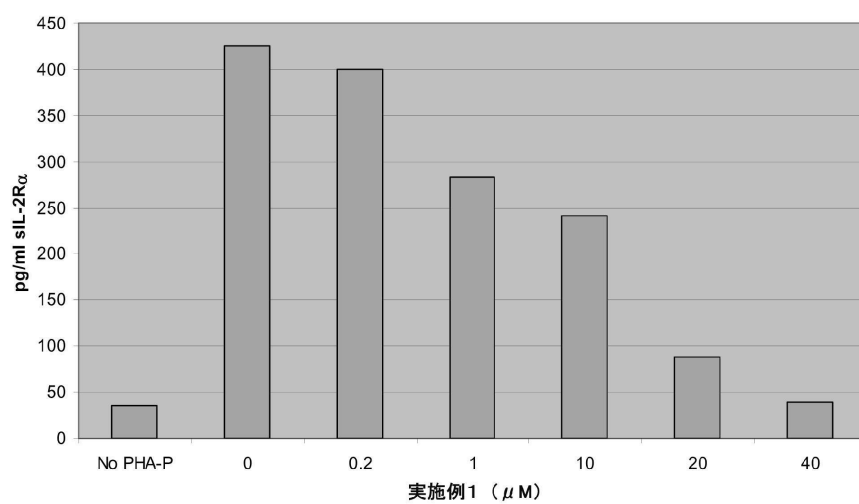


B



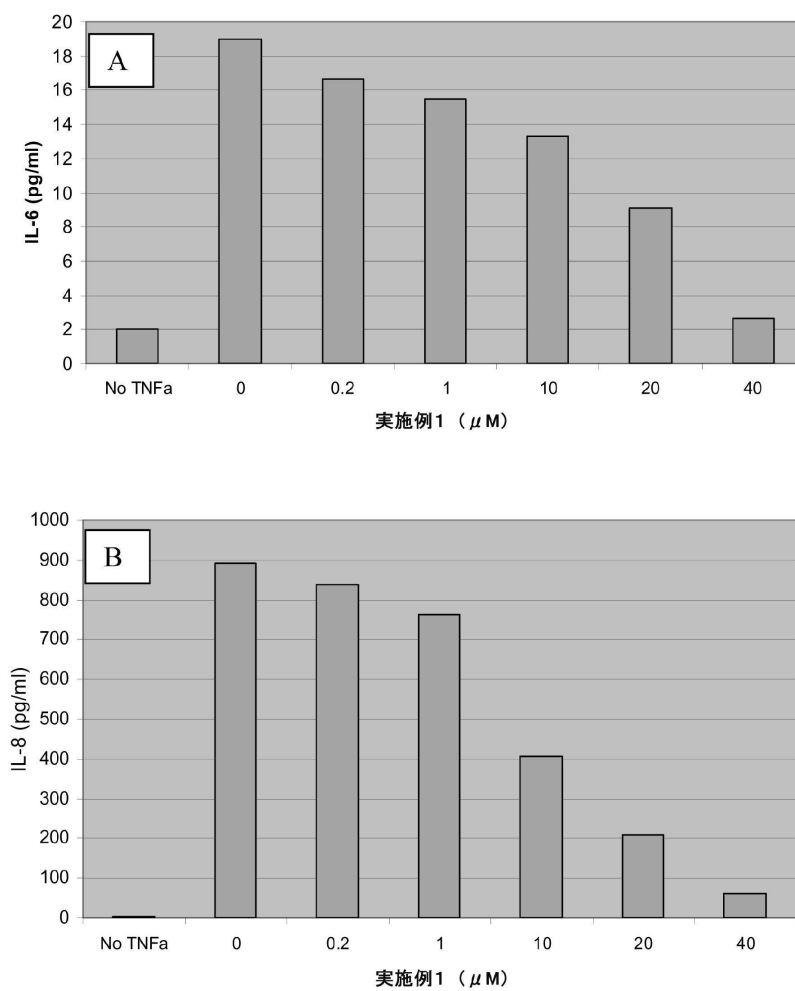
【図 3】

Figure 3



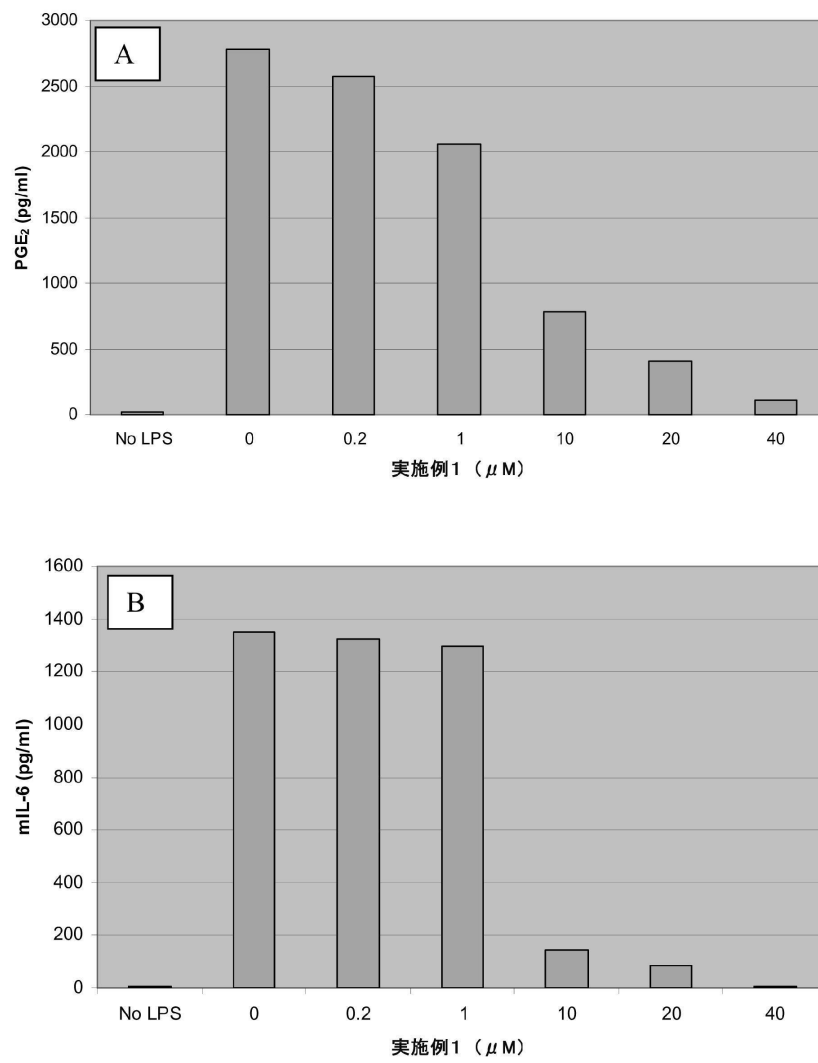
【図 4】

Figure 4



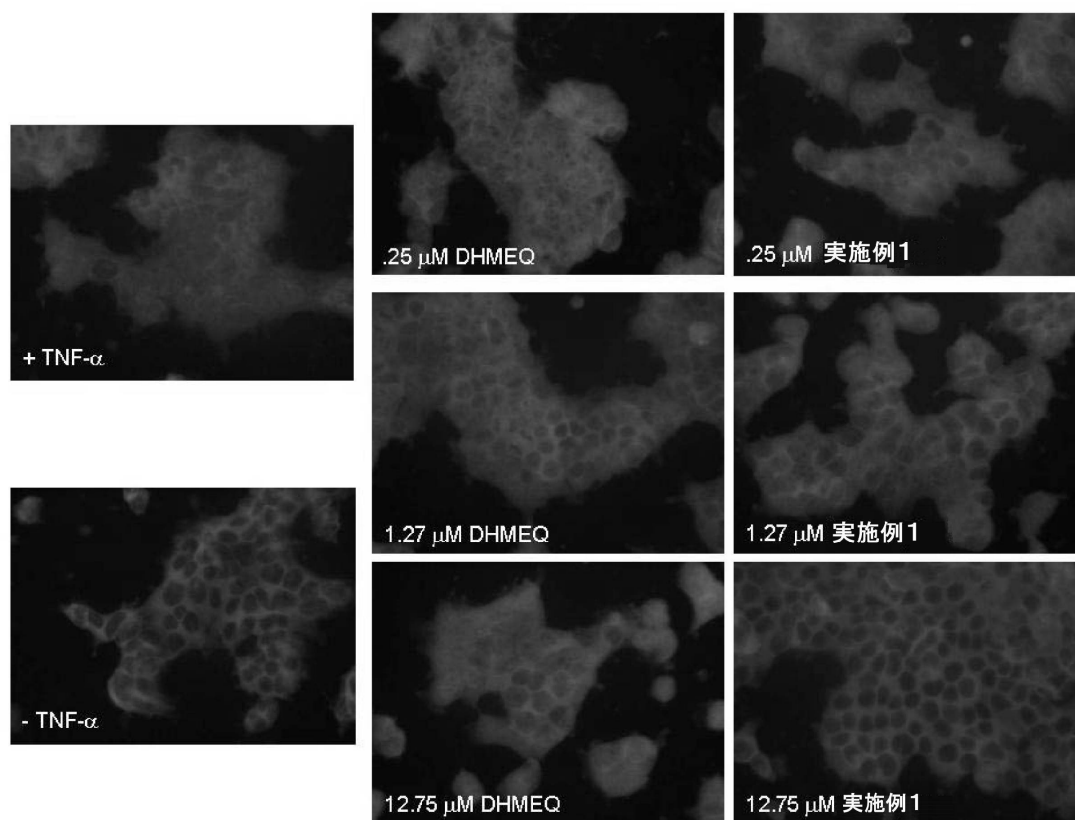
【図 5】

Figure 5



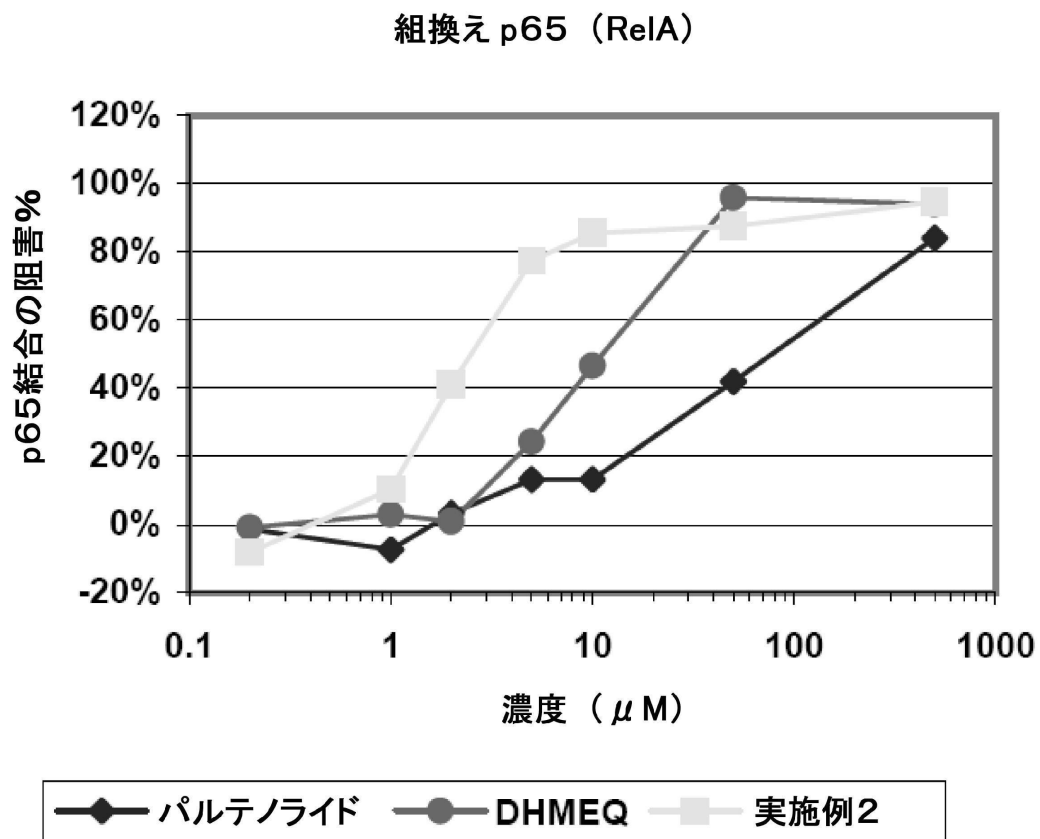
【図 6】

Figure 6



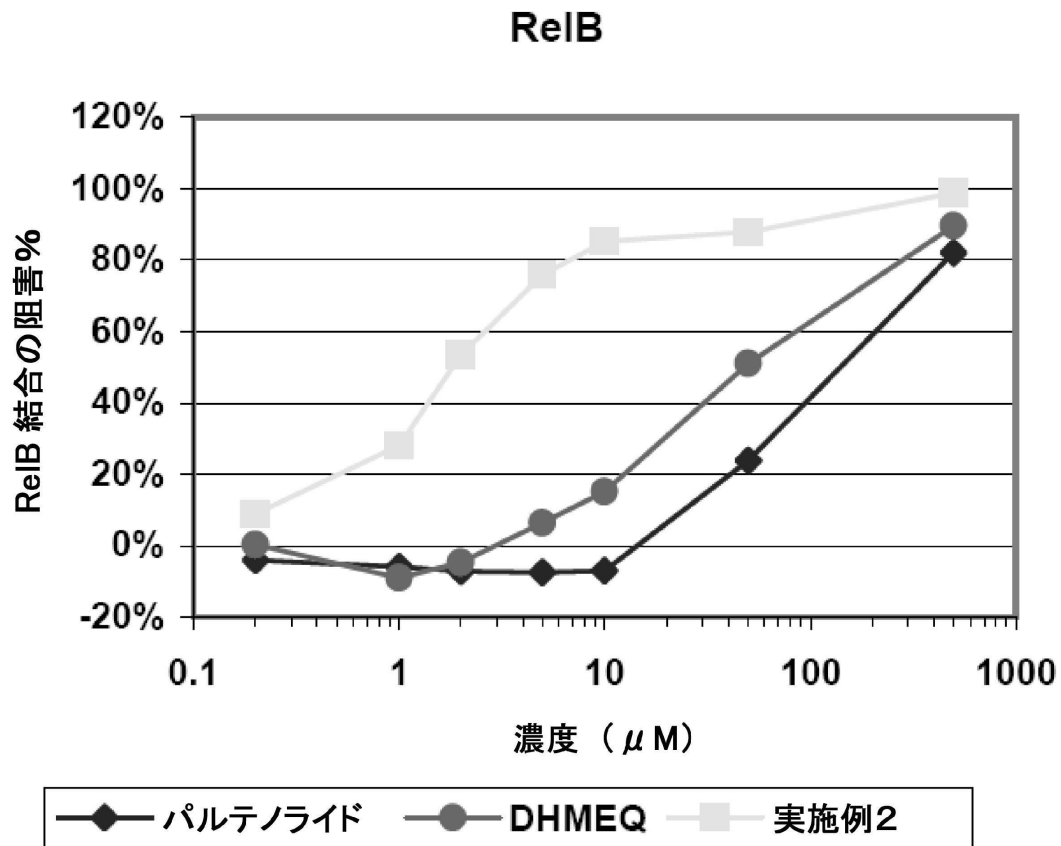
【図 7】

Figure 7



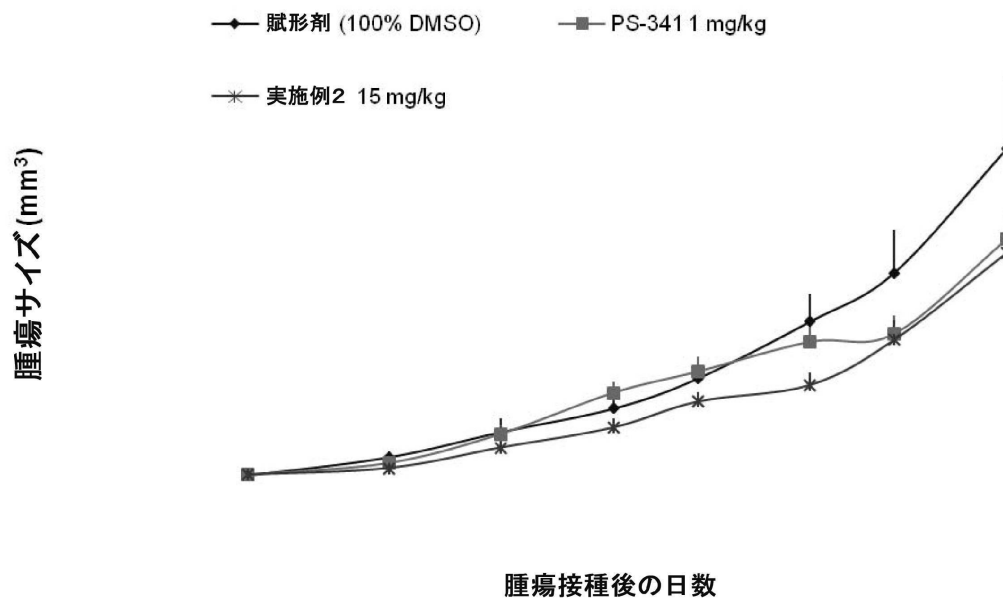
【図 8】

Figure 8



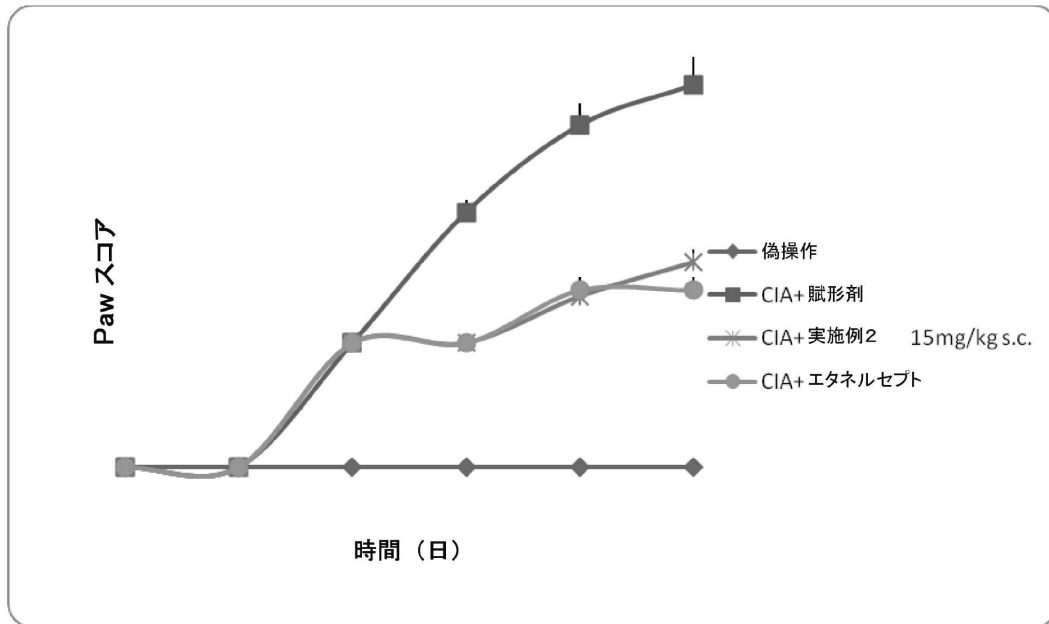
【図 9】

Figure 9



【図 10】

Figure 10



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

C 0 7 D 471/04 (2006.01)
 A 6 1 K 31/455 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4709 (2006.01)
 A 6 1 K 31/506 (2006.01)
 A 6 1 K 31/498 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4427 (2006.01)
 A 6 1 K 31/497 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4725 (2006.01)
 A 6 1 K 31/428 (2006.01)
 A 6 1 K 31/423 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4523 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4375 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4155 (2006.01)
 A 6 1 K 31/341 (2006.01)
 A 6 1 K 31/381 (2006.01)
 A 6 1 K 31/404 (2006.01)
 A 6 1 K 31/4184 (2006.01)
 A 6 1 K 31/501 (2006.01)
 A 6 1 K 31/5377 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)
 A 6 1 P 37/02 (2006.01)
 A 6 1 P 3/10 (2006.01)
 A 6 1 P 9/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/18 (2006.01)
 A 6 1 P 31/16 (2006.01)
 A 6 1 P 19/02 (2006.01)
 A 6 1 P 11/06 (2006.01)
 A 6 1 P 1/04 (2006.01)
 A 6 1 P 9/10 (2006.01)
 A 6 1 P 13/12 (2006.01)
 A 6 1 P 11/00 (2006.01)
 A 6 1 P 17/00 (2006.01)
 A 6 1 P 39/06 (2006.01)
 A 6 1 P 25/28 (2006.01)

F I

C 0 7 D 471/04 1 1 4 A
 C 0 7 D 471/04 1 1 8 Z
 A 6 1 K 31/455
 A 6 1 K 31/4709
 A 6 1 K 31/506
 A 6 1 K 31/498
 A 6 1 K 31/4427
 A 6 1 K 31/497
 A 6 1 K 31/4725
 A 6 1 K 31/428
 A 6 1 K 31/423
 A 6 1 K 31/4523
 A 6 1 K 31/4375
 A 6 1 K 31/4155
 A 6 1 K 31/341
 A 6 1 K 31/381
 A 6 1 K 31/404
 A 6 1 K 31/4184
 A 6 1 K 31/501
 A 6 1 K 31/5377
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 29/00
 A 6 1 P 37/02
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 9/00
 A 6 1 P 31/00
 A 6 1 P 31/18
 A 6 1 P 31/16
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 11/06
 A 6 1 P 1/04
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 11/00
 A 6 1 P 17/00
 A 6 1 P 39/06
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 29/00 1 0 1

(31)優先権主張番号 61/265,026

(32)優先日 平成21年11月30日(2009.11.30)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 スリスコビク, デイー, ロバート

アメリカ合衆国ミシガン州48118チエルシー・スイート202・ノースメインストリート300

(72)発明者 ダツカー, チャールズ・イー

アメリカ合衆国ペンシルベニア州17403ヨーク・イーストマーケットストリート1500

審査官 井上 典之

(56)参考文献 再公表特許第2001/012588 (JP, A1)

再公表特許第2004/072056 (JP, A1)

再公表特許第2004/002465 (JP, A1)

再公表特許第2003/103654 (JP, A1)

再公表特許第2002/049632 (JP, A1)

特表2004-514712 (JP, A)

CHAICHARONPONG, C., ET AL., "Synthesis and Structure-Activity Relationship of Dehydroxymethylepoxyquinomicin Analogues as Inhibitors of NF- κ B Functions", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, 英国, 2002年, VOL.10, N012, PP.3933-3939

SUZUKI, Y., ET AL., "Preparation and biological activities of optically active dehydroxymethylepoxyquinomicin, a novel NF- κ B inhibitor", TETRAHEDRON, 2004年, VOL.60, N 0.33, PP.7061-7066

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D

A61K 31/

Caplus/REGISTRY (STN)