(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7691716号
(P7691716)

(45)発行日　令和7年6月12日(2025.6.12)

(24)登録日　令和7年6月4日(2025.6.4)

(51)国際特許分類

C07C 275/42 (2006.01)	C07C	275/42	CSP
A61K 31/17 (2006.01)	A61K	31/17	
A61K 39/395 (2006.01)	A61K	39/395	M
A61K 45/00 (2006.01)	A61K	45/00	
A61P 9/00 (2006.01)	A61P	9/00	

FI

請求項の数　30　（全69頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-580355(P2022-580355)
(86)(22)出願日　令和3年6月25日(2021.6.25)
(65)公表番号　特表2023-532047(P2023-532047A)
(43)公表日　令和5年7月26日(2023.7.26)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/039195
(87)国際公開番号　WO2021/263171
(87)国際公開日　令和3年12月30日(2021.12.30)
審査請求日　令和6年6月24日(2024.6.24)
(31)優先権主張番号　63/044,407
(32)優先日　令和2年6月26日(2020.6.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　503060525
ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ ユニバーシティ オブ イリノイ
アメリカ合衆国イリノイ州 ６１８０１ アーバナ サウス ライト ストリート ５０６ ヘンリー アドミニストレーション ビルディング ３５２

(73)特許権者　521564478
ザ ジョージ ワシントン ユニバーシティ， ア コングレッショナリー チャーター ノット－フォー－プロフィット コーポレイション
アメリカ合衆国 ワシントン ディーシー ２００５２， エフ ストリート エヌダブリュー １９２２， ４ティーエイチ
最終頁に続く

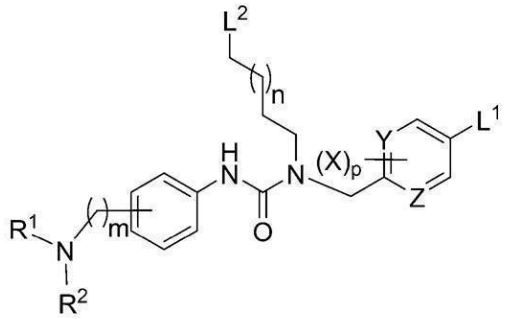
(54)【発明の名称】　選択的ヒストンデアセチラーゼ６阻害剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

式Ｉの化合物：

【化２３】



Ｉ、

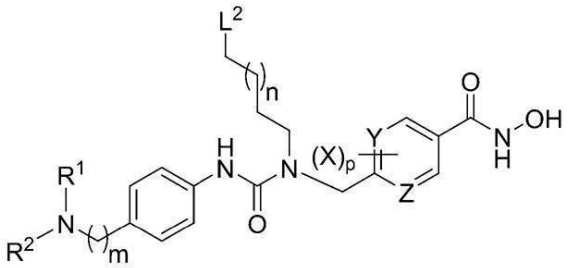
またはその医薬的に許容される塩であって、式中、

R^1及びR^2は、独立して、水素及びC_1－C_6アルキルからなる群から選択されるか、または、R^1とR^2が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、

L^1は、C（Ｏ）ＮＨＯＨであり、

L^2は、ＨまたはＯR^3であり、

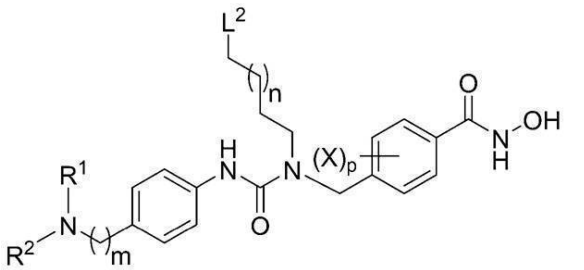
Ｒ^{3}は、水素、アセチル、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$ハロアルキル、Ｃ$_{3}$－Ｃ$_{6}$シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びＣ$_{5}$－Ｃ$_{6}$ヘテロシクリルからなる群から選択され、
各Ｘは、独立して、ハロゲンであり、
ｐは、０、１、２、または３であり、
Ｙ及びＺは、独立して、炭素及び窒素からなる群から選択され、
ｍは、１、２、３または４であり、
ｎは、０、１または２である、前記化合物、またはその医薬的に許容される塩。
【請求項２】
Ｒ^{1}、Ｒ^{2}及びＲ^{3}が、独立して、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$分岐アルキルである、請求項１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。
【請求項３】
Ｌ^{1}が、Ｃ（Ｏ）ＮＨＯＨである、請求項１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。
【請求項４】
式Ｉｂの請求項１に記載の化合物：
【化２４】



Ib

、

またはその医薬的に許容される塩。
【請求項５】
式Ｉｃの請求項１に記載の化合物：
【化２５】

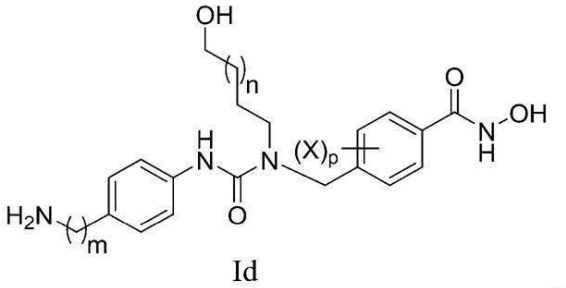


Ic

、

またはその医薬的に許容される塩。
【請求項６】
式Ｉｄの請求項１に記載の化合物：

【化２６】



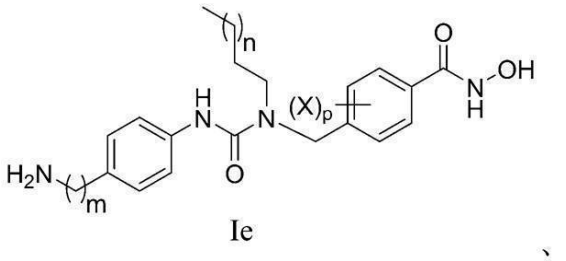
Id

またはその医薬的に許容される塩。

【請求項７】

式Ｉｅの請求項１に記載の化合物：

【化２７】



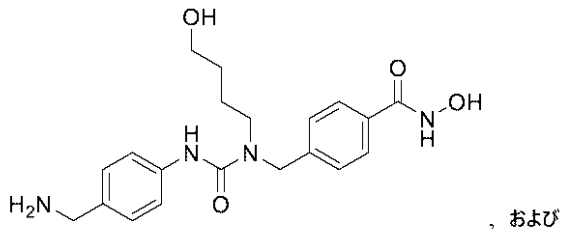
Ie

またはその医薬的に許容される塩。

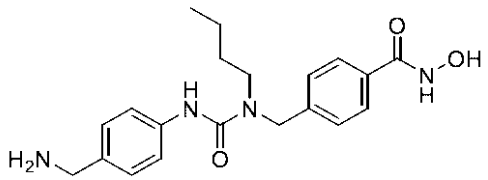
【請求項８】

以下からなる群から選択される、請求項１に記載の化合物：

【化２８】



、および



またはその医薬的に許容される塩。

【請求項９】

（ａ）請求項１～８のいずれか１項に記載の化合物、（ｂ）ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子、ならびに（ｃ）任意に賦形剤及び／または医薬的に許容される担体を含む組成物。

【請求項１０】

前記第二の治療因子が、がんの治療に有用な化学療法剤を含む、請求項９に記載の組成

物。
【請求項１１】
請求項１～８のいずれか１項に記載の化合物、及び医薬的に許容される担体または媒体を含む医薬組成物。
【請求項１２】
ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態を治療するための組成物であって、請求項１～８のいずれか１項に記載の化合物を含む、前記組成物。
【請求項１３】
前記ＨＤＡＣがＨＤＡＣ６である、請求項１２に記載の組成物。
【請求項１４】
前記組成物が、前記疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項１２に記載の組成物。
【請求項１５】
前記組成物及び前記第二の治療因子が、同時に投与される、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１６】
前記組成物及び前記第二の治療因子が、別々に投与される、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１７】
前記疾患または状態ががんである、請求項１２～１６のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１８】
前記疾患ががんであり、前記第二の治療因子が、化学療法剤、放射線、及び／または免疫療法のうちの１つ以上である、請求項１４～１７のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１９】
前記免疫療法が、抗ＰＤ１免疫療法を含む、請求項１８に記載の組成物。
【請求項２０】
前記抗ＰＤ１免疫療法が、ＰＤ－１抗体の投与を含む、請求項１９に記載の組成物。
【請求項２１】
前記ＰＤ－１抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ＳＴＩ－Ａ１０１４、またはピディリズマブである、請求項２０に記載の組成物。
【請求項２２】
前記第二の治療因子が放射線を含み、前記放射線が、任意に、放射線増感剤及び／または化学療法剤とともに与えられる、請求項１４～２１のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２３】
前記疾患または状態が、神経疾患、神経変性障害、末梢性ニューロパシー、または外傷性脳損傷である、請求項１２～２２のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２４】
前記疾患または状態が脳卒中である、請求項１２～２３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２５】
前記疾患または状態が炎症または自己免疫疾患である、請求項１２～２４のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２６】
前記組成物が、前記自己免疫疾患または前記炎症の治療に有用な第二の治療因子と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項２５に記載の組成物。
【請求項２７】
放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させる方法における使用のための組成物であって、前記組成物は請求項１～８のいずれか１項に記載の化合物を含み、前記方法は、前記細胞を前記化合物と、前記放射線療法及び／または前記化学療法に対する前記細胞の感受性を増加させるために十分な量で接触させることを含む、前記組成物。
【請求項２８】
請求項１～８のいずれか１項に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩、及び

前記化合物、またはその医薬的に許容される塩をそれを必要とする対象に投与するための使用説明書を含むキット。
【請求項２９】
前記対象が、がんを有する、請求項２８に記載のキット。
【請求項３０】
さらに、抗ＰＤ１抗体を含む、請求項２８に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
政府権益に関する記述
本発明は、国立衛生研究所から与えられた助成金番号５Ｒ０１　ＮＳ０７９１８３の下、政府の援助を受けてなされたものである。米国政府は、本発明においてある特定の権利を有する。
【０００２】
本開示は、ヒストンデアセチラーゼ（ＨＤＡＣ）阻害剤、例えば、選択的ＨＤＡＣ６阻害剤、１つ以上の該ＨＤＡＣ阻害剤を含む医薬組成物、がん細胞を１つ以上の該ＨＤＡＣ阻害剤と接触させることを含む、放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対する該細胞の感受性を増加させる方法、ならびにＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす状態及び疾患、例えば、がん、炎症、神経疾患、神経変性障害、脳卒中、外傷性脳損傷、同種移植片拒絶反応、自己免疫疾患、及びマラリアの治療を必要とする個体に対して、治療有効量の本ＨＤＡＣ阻害剤を投与することを含むその治療法に関する。
【背景技術】
【０００３】
酵素及び他のタンパク質の表面にあるリジン側鎖の可逆的アセチル化は、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ（ＨＡＴ）及びヒストンデアセチラーゼ（ＨＤＡＣ）によって制御されている。タンパク質のリジンアセチル化または脱アセチル化は、転写、細胞周期、及び細胞代謝等の多様な細胞プロセスの重要な調節経路として機能する（例えば、Ｚｈａｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２７：１０００－１００４（２０１０）、Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２７：１００４－１００７（２０１０）、またはＣｈｏｕｄｈａｒｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．１５：５３６－５５０，（２０１４）参照）。ＨＤＡＣは、がん治療、神経疾患、及び免疫障害における治療介入の効果的な標的と考えられている（例えば、Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂ．Ｐｅｒｓｐｅｃｔ．Ｍｅｄ．６（２０１６）、Ｅｃｋｓｃｈｌａｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｓｃｉ．１８：Ｅ１４１４（２０１７）、またはＦａｌｋｅｎｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．１３：６７３－６９１（２０１４）参照）。最新の１１の亜鉛イオン（Zn^{2+}）依存性ＨＤＡＣ（クラスＩ、ＩＩ、及びＩＶ）ならびに７つのニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD^{+}）依存性サーチュイン（ＳＩＲＴ）（クラスＩＩＩ）が特定されている。他のメンバーとは異なり、クラスＩＩｂサブグループのＨＤＡＣ６は、α－チューブリン、コルタクチン、ＨＳＰ－９０、及びＨＳＦ－１等、様々な非ヒストンタンパク質を好ましい基質として脱アセチル化する特有の能力を有する（例えば、Ｍａｔｔｈｉａｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｃｙｃｌｅ　７：７－１０（２００８）、またはＩｍａｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｓｃｉ．１０７：１５４３－１５４９（２０１６）参照）。３つのＨＤＡＣ６阻害剤（ＨＤＡＣ６ｉ）、Ｒｉｃｏｌｉｎｏｓｔａｔ（ＡＣＹ－１２１５）、Ｃｉｔａｒｉｎｏｓｔａｔ（ＡＣＹ－２４１）、及びＫＡ２５０７が、様々ながん型の臨床試験において、単剤療法または併用法のいずれかにより研究されており（例えば、Ｓｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｐａｔ．３０：１２１－１３６（２０２０）参照）、ＨＤＡＣ６ｉは、がん治療の有望なアプローチとして開発され、浮上している。
ＨＤＡＣ６の免疫調節特性により、それらががん免疫療法の新規治療薬と見なされてい

る。ＨＤＡＣ６は、腫瘍微小環境における免疫応答の主要制御因子である転写因子ＳＴＡＴ３と相互作用すること（例えば、Ｒｅｂｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒｓ（Ｂａｓｅｌ）１１：１２８０（２０１９）参照）、及びＳＴＡＴ３が媒介する遺伝子発現を調節することが報告されている（例えば、Ｃｈｅｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９３：２８５０－２８６２（２０１４）参照）。マクロファージ及び樹状細胞等の抗原提示細胞（ＡＰＣ）では、ＨＤＡＣ６の選択的阻害により、免疫抑制性サイトカインＩＬ－１０の産生が減少し、それによってＡＰＣの炎症誘発性状態が保持される（例えば、Ｃｈｅｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９３：２８５０－２８６２（２０１４）参照）。メラノーマ腫瘍細胞では、ＨＤＡＣ６の阻害は、ＳＴＡＴ３の動員及び活性化に影響を及ぼすことにより、免疫抑制分子ＰＤ－Ｌ１の発現の減少をもたらす（例えば、Ｌｉｅｎｌａｆ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．１０：７３５－７５０（２０１６）参照）。さらに、同系マウスメラノーママウスモデルを使用して、選択的ＨＤＡＣ６ｉとＰＤ－１抗体の併用療法が、単剤療法と比較して、腫瘍増殖に有意に改善された効果をもたらすことが実証され（例えば、Ｋｎｏｘ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．９：６１３６（２０１９）参照）、それにより、選択的ＨＤＡＣ６阻害剤の免疫調節能力が強調された。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００４】

【文献】Ｚｈａｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２７：１０００－１００４（２０１０）

【文献】Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２７：１００４－１００７（２０１０）

【文献】Ｃｈｏｕｄｈａｒｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．１５：５３６－５５０，（２０１４）

【文献】Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂ．Ｐｅｒｓｐｅｃｔ．Ｍｅｄ．６（２０１６）

【文献】Ｅｃｋｓｃｈｌａｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｓｃｉ．１８：Ｅ１４１４（２０１７）

【文献】Ｆａｌｋｅｎｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．１３：６７３－６９１（２０１４）

【文献】Ｍａｔｔｈｉａｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｃｙｃｌｅ　７：７－１０（２００８）

【文献】Ｉｍａｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｓｃｉ．１０７：１５４３－１５４９（２０１６）

【文献】Ｓｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｐａｔ．３０：１２１－１３６（２０２０）

【文献】Ｒｅｂｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒｓ（Ｂａｓｅｌ）１１：１２８０（２０１９）

【文献】Ｃｈｅｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９３：２８５０－２８６２（２０１４）

【文献】Ｌｉｅｎｌａｆ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．１０：７３５－７５０（２０１６）

【文献】Ｋｎｏｘ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．９：６１３６（２０１９）

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

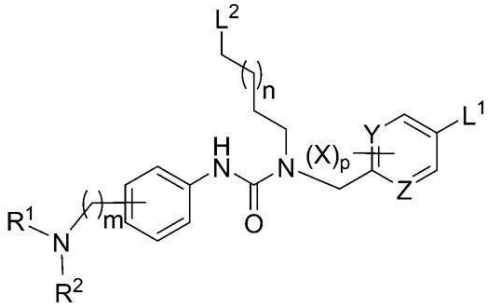
本開示は、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤（ＨＤＡＣＩ）、該ＨＤＡＣＩを含む医薬組成物、ならびにＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患及び状態、例えば、がん、神経疾患、精神疾患、神経変性障害、末梢性ニューロパシー、脳卒中、高血圧、炎症、外傷性脳損傷、関節リウマチ、同種移植片拒絶反応、敗血症、及び自己免疫疾患の治療を必要とする個体に対して、治療有効量のＨＤＡＣＩを投与することを含むその治療方法に関する。本

開示はまた、放射線療法及び／または化学療法に対するがん細胞の感受性を増加させる方法に関する。本開示はまた、これらのＨＤＡＣ阻害剤と他の薬物及び／または治療法と組み合わせた使用も可能にする。いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、他のＨＤＡＣアイソザイムよりも高い、ＨＤＡＣ６等のＨＤＡＣアイソザイムに対する選択性を示す。ある特定の実施形態では、本開示は、ＨＤＡＣ６を選択的に阻害するフェニルヒドロキサム酸に関する。他の実施形態では、本開示は、該阻害剤とがんの治療用の抗ＰＤ１免疫療法とを組み合わせた使用に関する。

【０００６】

いくつかの実施形態では、本開示は、構造式Ｉを有するヒストンデアセチラーゼ阻害剤（ＨＤＡＣＩ）に関する：

【化１】



I 、

式中、R^1及びR^2は、独立して、水素及びC_1－C_6アルキルからなる群から選択されるか、または、R^1とR^2が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、L^1は、CO_2H、Ｃ（Ｏ）NH_2、Ｃ（Ｏ）ＮＨＯＨ、または$B(OH)_2$であり、L^2は、ＨまたはＯR^3であり、R^3は、水素、アセチル、C_1－C_6アルキル、C_1－C_6ハロアルキル、C_3－C_6シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びC_5－C_6ヘテロシクリルからなる群から選択され、各Ｘは、独立して、水素またはハロゲンであり、ｐは、０、１、２、または３であり、Ｙ及びＺは、独立して、炭素及び窒素からなる群から選択され、ｍは、１、２、３または４であり、ｎは、０、１または２である。別の実施形態では、R^1、R^2及びR^3は、独立して、C_1－C_6分岐アルキルである。

【図面の簡単な説明】

【０００７】

【図１Ａ】０．１μＭ～１０μＭに増加する濃度のＳｕｐｒａｓｔａｔ（６ａ）で終夜処理したＷＭ１６４ヒトメラノーマ細胞の免疫ブロット分析を示す図である。分析は、Ａｃ－α－チューブリン及びＡｃ－Ｈ３について行った。全α－チューブリン及び全Ｈ３はローディング対照である。免疫ブロットは、データのロバスト性のために少なくとも２回繰り返し、最良の表現が示されている。

【０００８】

【図１Ｂ】０．１μＭ～１０μＭに増加する濃度の化合物６ｂで終夜処理したＷＭ１６４ヒトメラノーマ細胞の免疫ブロット分析を示す図である。分析は、Ａｃ－α－チューブリン及びＡｃ－Ｈ３について行った。全α－チューブリン及び全Ｈ３はローディング対照である。免疫ブロットは、データのロバスト性のために少なくとも２回繰り返し、最良の表現が示されている。

【０００９】

【図１Ｃ】０．１μＭ～１０μＭに増加する濃度の化合物６ｃで終夜処理したＷＭ１６４ヒトメラノーマ細胞の免疫ブロット分析を示す図である。分析は、Ａｃ－α－チューブリン及びＡｃ－Ｈ３について行った。全α－チューブリン及び全Ｈ３はローディング対照である。免疫ブロットは、データのロバスト性のために少なくとも２回繰り返し、最良の表

現が示されている。
【００１０】
【図１Ｄ】０．１μＭ～１０μＭに増加する濃度のＮｅｘｔＡで終夜処理したＷＭ１６４ヒトメラノーマ細胞の免疫ブロット分析を示す図である。分析は、Ａｃ－α－チューブリン及びＡｃ－Ｈ３について行った。全α－チューブリン及び全Ｈ３はローディング対照である。免疫ブロットは、データのロバスト性のために少なくとも２回繰り返し、最良の表現が示されている。
【００１１】
【図１Ｅ】０．１μＭ～１０μＭに増加する濃度のＳｕｐｒａｓｔａｔ（６ａ）、化合物６ｂ、化合物６ｃ、及びＮｅｘｔＡによるＡｃ－α－チューブリンバンドの濃度測定分析を示す棒グラフである。
【００１２】
【図１Ｆ】０．１μＭ～１０μＭに増加する濃度のＳｕｐｒａｓｔａｔ（６ａ）、化合物６ｂ、化合物６ｃ、及びＮｅｘｔＡによるＡｃ－Ｈ３バンドの濃度測定分析を示す棒グラフである。
【００１３】
【図２】増加する濃度のＳｕｐｒａｓｔａｔ（６ａ）、化合物６ｂ、化合物６ｃ、及びＮｅｘｔＡによる細胞傷害性アッセイを示す折れ線グラフである。
【００１４】
【図３Ａ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔでの処理後に、インターフェロン－ガンマ（２０ｎｇ／ｍＬ）及びＬＰＳ（１００ｎｇ／ｍＬ）に曝露された骨髄由来マクロファージにおいて定量的ＰＣＲによって測定されたＩＬ１０の遺伝子発現を示すボックスプロットグラフである。
【００１５】
【図３Ｂ】５μＭのＳｕｐｒａｓｔａｔまたはＮｅｘｔＡで前処理した後、ＩＬ－６（３０ｎｇ／ｍＬ）で２０分間処理したＷＭ１６４マウスメラノーマ細胞の免疫ブロット分析を示す図である。
【００１６】
【図４Ａ】増加する濃度のＳｕｐｒａｓｔａｔで処理したＲＡＷ２６４．７マクロファージの免疫ブロット分析を示す図である。媒体に対する倍率変化として定量化及び表されるバンド強度は、α－チューブリンのアセチル化に対するＳｕｐｒａｓｔａｔの用量依存効果を示す。
【００１７】
【図４Ｂ】増加する濃度のＳｕｐｒａｓｔａｔで処理したＲＡＷ２６４．７マクロファージの棒グラフである。
【００１８】
【図５Ａ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔ、抗ＰＤ１療法、または両方の組み合わせによる処理後のＣ５７ＢＬ／６マウス（ｎ＝１０）における累積腫瘍増殖率を示す折れ線グラフである。処理群の腫瘍増殖率を、ＰＢＳで処理した対照群と比較した。
【００１９】
【図５Ｂ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔ、抗ＰＤ１療法、または両方の組み合わせよる処理後の個々のマウスの腫瘍増殖率を示す４つのスパイダーグラフである。
【００２０】
【図６Ａ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したマクロファージ１細胞を示すボックスプロットグラフである。
【００２１】
【図６Ｂ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したマクロファージ２細胞を示すボックスプロットグラフである。
【００２２】

【図６Ｃ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したマクロファージ１／マクロファージ２細胞を示すボックスプロットグラフである。
【００２３】
【図６Ｄ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したＴ細胞（ＣＤ８＋、ＣＤ８　ＣＭ及びＣＤ８　ＥＭ）を示すボックスプロットグラフである。
【００２４】
【図６Ｅ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したＴ細胞（ＣＤ４＋、ＣＤ４　ＣＭ及びＣＤ４　ＥＭ）を示すボックスプロットグラフである。
【００２５】
【図６Ｆ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したＴ細胞（Ｔｒｅｇ）を示すグラフである。
【００２６】
【図６Ｇ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したＮＫ細胞を示すボックスプロットグラフである。
【００２７】
【図６Ｈ】Ｓｕｐｒａｓｔａｔまたは抗ＰＤ１療法または両方の組み合わせによる処理後、細胞表面マーカーで染色し、マルチカラーフローサイトメトリーで分析したＮＫＴ細胞を示すボックスプロットグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００２８】
本開示は、新規なＨＤＡＣ阻害剤（ＨＤＡＣＩ）、ならびに例えば、がん、炎症、外傷性脳損傷、神経変性障害、神経疾患、末梢性ニューロパシー、脳卒中、高血圧、自己免疫疾患、炎症性疾患、及びマラリアの治療処置におけるそれらの使用に関する。本ＨＤＡＣＩはまた、放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させる。いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、他のＨＤＡＣアイソザイムよりもＨＤＡＣ６を選択的に阻害する。
【００２９】
本開示は、好ましい実施形態に関連して説明される。しかしながら、本開示は、本開示の実施形態に限定されないことを理解されたい。本明細書における本開示の実施形態の説明を前提として、当業者によって様々な修正がなされ得ることが理解される。かかる修正は、以下の特許請求の範囲に包含される。
【００３０】
定義
本明細書で使用される以下の用語及び表現は、指示された意味を有する。
【００３１】
本明細書で使用される用語は、単一長音記号「－」または二重長音記号「＝」によって先行及び／または後続され、指定された置換基とその親部分の間の結合の結合次数を示す。単一長音記号は、単結合を示し、二重長音記号は、二重結合を示す。単一または二重長音記号がない場合は、置換基とその親部分との間に単結合が形成されていることが理解される。さらに、置換基は、長音記号によって別段の指示がされない限り、「左から右」に読まれることが意図される。例えば、C_1－C_6アルコキシカルボニルオキシ及び－ＯＣ（Ｏ）C_1－C_6アルキルは、同じ官能基を示し、同様に、アリールアルキル及び－アルキルアリールは、同じ官能基を示す。
【００３２】
「アセチル」は、式CH_3C（Ｏ）－の基を意味する。

【００３３】
「アルコキシ」は、酸素原子を介して親分子部分に付加された、本明細書で定義されるアルキル基を意味する。アルコキシの代表例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、２－プロポキシ、ブトキシ、ｔｅｒｔ－ブトキシ、ペンチルオキシ、及びヘキシルオキシが挙げられるがこれらに限定されない。
【００３４】
「アルキル」は、別段の指定がない限り、１～１０個の炭素原子を含む直鎖または分枝鎖炭化水素を意味する。アルキルの代表例としては、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル、３－メチルヘキシル、２，２－ジメチルペンチル、２，３－ジメチルペンチル、ｎ－ヘプチル、ｎ－オクチル、ｎ－ノニル、及びｎ－デシルが挙げられるがこれらに限定されない。「アルキル」基が、２つの他の部分の間の連結基である場合、それは直鎖でも分枝鎖でもよい。例としては、－CH_2－、－CH_2CH_2－、－CH_2CH_2CHC（CH_3）－、及び－CH_2CH（CH_2CH_3）CH_2－が挙げられるがこれらに限定されない。
【００３５】
「アリール」は、フェニル（すなわち、単環式アリール）、または少なくとも１つのフェニル環を含む二環式環系、もしくは芳香族二環式環系に炭素原子のみを含む芳香族二環式環を意味する。二環式アリールは、アズレニル、ナフチル等であり得る。該アリールは、アリール環系内に含まれる任意の炭素原子を介して親分子部分に結合される。ある特定の実施形態では、該アリール基は、フェニルまたはナフチルである。ある特定の実施形態では、該アリール基は、フェニルである。
【００３６】
本明細書で使用される、「シクロアルキル」は、単環式シクロアルキル環系を意味する。単環式環系は、３～６個の炭素原子を含む環式炭化水素基であり、かかる基は、飽和でも不飽和でもよいが、芳香族ではない。ある特定の実施形態では、シクロアルキル基は、完全に飽和している。単環式シクロアルキルの例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル及びシクロヘキセニルが挙げられる。
【００３７】
「ハロ」または「ハロゲン」は、－Ｃｌ、－Ｂｒ、－Ｉまたは－Ｆを意味する。
【００３８】
「ハロアルキル」は、本明細書で定義されるアルキル基を介して親分子部分に付加された、本明細書で定義される少なくとも１つのハロゲンを意味する。ハロアルキルの代表例としては、クロロメチル、２－フルオロエチル、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、及び２－クロロ－３－フルオロペンチルが挙げられるがこれらに限定されない。
【００３９】
「ヘテロアリール」は、単環式ヘテロアリールまたは少なくとも１つのヘテロ芳香環を含む二環式環系を意味する。該単環式ヘテロアリールは、５員環でも６員環でもよい。該５員環は、２つの二重結合ならびに１、２、３または４つの窒素原子、及び任意に１つの酸素または硫黄原子からなる。該６員環は、３つの二重結合及び１、２、３または４つの窒素原子からなる。該５員または６員のヘテロアリールは、該ヘテロアリール内に含まれる任意の炭素原子または任意の窒素原子を介して親分子部分に接続される。単環式ヘテロアリールの代表例としては、フリル、イミダゾリル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、オキサゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピラゾリル、ピロリル、テトラゾリル、チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル、トリアゾリル、及びトリアジニルが挙げられるがこれらに限定されない。該二環式ヘテロアリールは、フェニル、単環式シクロアルキル、単環式シクロアルケニル、単環式ヘテロシクリル、または単環式ヘテロアリールに縮合した単環式ヘテロアリールからなる。該二環式ヘテロアリール基の縮合シクロアルキルまたはヘテロシクリル部分は、任意に、独立

してオキソまたはチアである１つまたは２つの基で置換される。該二環式ヘテロアリールが、縮合シクロアルキル、シクロアルケニル、またはヘテロシクリル環を含む場合、該二環式ヘテロアリール基は、該二環式環系の単環式ヘテロアリール部分内に含まれる任意の炭素または窒素原子を介して親分子部分に接続される。該二環式ヘテロアリールが、フェニル環に縮合した単環式ヘテロアリールの場合、該二環式ヘテロアリール基は、該二環式環系内に含まれる任意の炭素原子または窒素原子を介して親分子部分に接続される。二環式ヘテロアリールの代表例としては、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾオキサチアジアゾリル、ベンゾチアゾリル、シンノリニル、５，６－ジヒドロキノリン－２－イル、５，６－ジヒドロイソキノリン－１－イル、フロピリジニル、インダゾリル、インドリル、イソキノリニル、ナフチリジニル、キノリニル、プリニル、５，６，７，８－テトラヒドロキノリン－２－イル、５，６，７，８－テトラヒドロキノリン－３－イル、５，６，７，８－テトラヒドロキノリン－４－イル、５，６，７，８－テトラヒドロイソキノリン－１－イル、チエノピリジニル、４，５，６，７－テトラヒドロベンゾ［ｃ］［１，２，５］オキサジアゾリル、及び６，７－ジヒドロベンゾ［ｃ］［１，２，５］オキサジアゾール－４（５Ｈ）－オンイルが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該縮合二環式ヘテロアリールは、フェニル環、５員もしくは６員の単環式シクロアルキル、５員もしくは６員の単環式シクロアルケニル、５員もしくは６員の単環式ヘテロシクリル、または５員もしくは６員の単環式ヘテロアリールのいずれかに縮合した５員または６員の単環式ヘテロアリール環であり、該縮合シクロアルキル、シクロアルケニル、及びヘテロシクリル基は、任意に、独立してオキソまたはチアである１つまたは２つの基で置換される。本開示のある特定の実施形態では、該ヘテロアリール基は、フリル、イミダゾリル、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピラゾリル、ピロリル、チアゾリル、チエニル、トリアゾリル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、インダゾリル、インドリル、キノリニル等である。

【００４０】

「ヘテロシクリル」は、少なくとも１つのＮ原子、ならびに任意に、Ｏ、Ｎ、及びＳからなる群から独立して選択される１つ以上のさらなるヘテロ原子を含む、単環式の５員または６員のヘテロ環式環を意味し、ここで、該環は、飽和または不飽和であるが、芳香族ではない。単環式ヘテロ環の代表例としては、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリニル、イソチアゾリジニル、モルホリニル、オキサジアゾリニル、オキサジアゾリジニル、オキサゾリニル、オキサゾリジニル、ピペラジニル、ピペリジニル、ピラニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、ピロリニル、ピロリジニル、チオピラニルが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該ヘテロシクリルは、イミダゾリニル、ピロリジニル、ピペリジニル、またはピペラジニルである。

【００４１】

本開示は、新規な式Ｉ、Ｉｂ、及びＩｃのＨＤＡＣＩ、ならびに例えば、がん、炎症、外傷性脳損傷、神経変性障害、神経疾患、末梢性ニューロパシー、脳卒中、高血圧、自己免疫疾患、炎症性疾患、及びマラリアの治療処置におけるそれらの使用に関する。本ＨＤＡＣＩはまた、放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させる。いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、他のＨＤＡＣアイソザイムよりもＨＤＡＣ６を選択的に阻害する。

【００４２】

「ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態」という用語は、ＨＤＡＣ及び／またはＨＤＡＣの作用が、例えば、その疾患または状態の発症、進行、発現にとって重要もしくは必要である状態、またはＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ＴＳＡ、ピバロリルオキシメチルブタン（ＡＮ－９、Ｐｉｖａｎｅｘ）、ＦＫ－２２８（デプシペプチド）、ＰＸＤ－１０１、ＮＶＰ－ＬＡＱ８２４、ＳＡＨＡ、ＭＳ－２７５、及びまたはＭＧＣＤ０１０３等）によって治療されることが既知の疾患もしくは状態に関連する。かかる状態の例としては、がん、乾癬、線維増殖性障害（例えば、肝線維症）、平滑筋増殖性障害（例えば、アテローム性動脈硬化症、再狭窄）、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病、パーキン

ソン病、ハンチントン舞踏病、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳変性症、レット症候群）、末梢性ニューロパシー（シャルコー・マリー・トゥース病、巨大軸索ニューロパシー（ＧＡＮ））、炎症性疾患（例えば、変形性関節症、関節リウマチ、大腸炎）、血管新生を伴う疾患（例えば、がん、関節リウマチ、乾癬、糖尿病性網膜症）、造血障害（例えば、貧血、鎌状赤血球貧血、サラセミア）、真菌感染症、寄生虫感染症（例えば、マラリア、トリパノソーマ症、蠕虫症、原虫感染症）、細菌感染症、ウイルス感染症、ならびに免疫調節によって治療可能な状態（例えば、多発性硬化症、自己免疫性糖尿病、狼瘡、アトピー性皮膚炎、アレルギー、喘息、アレルギー性鼻炎、炎症性腸疾患、及び移植片の生着を改善するため）が挙げられるがこれらに限定されない。当業者には、例えば、化合物の活性を評価するために都合に合わせて使用され得るアッセイによって、化合物が、任意の細胞型に対して、ＨＤＡＣが媒介する疾患または状態を治療するかどうかを容易に判断することが可能である。

【００４３】

「第二の治療因子」とは、本ＨＤＡＣＩとは異なる治療因子であり、目的の疾患または状態を治療することが既知の治療因子を指す。例えば、がんが目的の疾患または状態である場合、該第二の治療因子は、例えば、タキソールのような既知の化学療法薬、または放射線であり得る。

【００４４】

「ＨＤＡＣ」は、タンパク質、例えば、ヒストンのＮ末端のリジン残基のε－アミノ基からアセチル基を除去する酵素のファミリーを指す。該ＨＤＡＣは、ＨＤＡＣ１、ＨＤＡＣ２、ＨＤＡＣ３、ＨＤＡＣ４、ＨＤＡＣ５、ＨＤＡＣ６、ＨＤＡＣ７、ＨＤＡＣ８、ＨＤＡＣ９、ＨＤＡＣ１０、及びＨＤＡＣ１１を含めたヒトＨＤＡＣであり得る。該ＨＤＡＣは、原生動物または真菌源からも得ることができる。

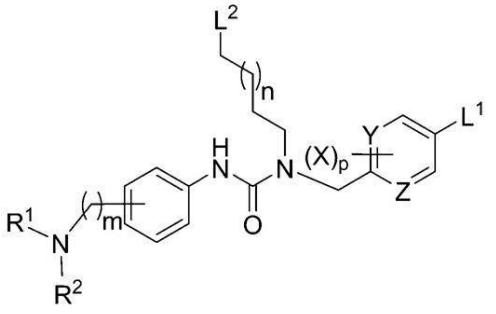
【００４５】

「治療する」、「治療すること」、「治療」等は、疾患もしくは状態及び／またはそれに伴う症状を排除すること、低減すること、緩和すること、逆転すること、及び／または改善することを指す。除外されるわけではないが、疾患または状態を治療することとは、急性もしくは慢性の徴候、症状及び／または不調の治療を含め、該疾患、状態、またはそれに伴う症状が完全に排除されることを必要としない。本明細書で使用される、「治療する」、「治療すること」、「治療」等の用語は、「予防的治療」を含む場合があり、これは、疾患もしくは状態を有していない、または該疾患もしくは状態を再発していないが、それを再発症するリスクがあるか、または再発症しやすい対象において、疾患もしくは状態の再発症の可能性、または以前に制御された疾患もしくは状態が再発する可能性を低下させることを指す。従って、「治療」には、再発予防または段階予防も含まれる。「治療する」という用語及び同義語は、治療有効量の本開示の化合物を、かかる治療を必要とする個体に投与することを企図する。治療は、例えば、症状を抑えるために対症療法的に行われる場合もある。これは、短期間で行われる場合もあれば、中期的に行われる場合もあり、例えば、維持療法の一環で長期的治療の場合もある。

【００４６】

「治療有効量」または「有効用量」という用語は、投与された場合に、目的の状態または疾患の治療を必要とする個体に対して、その治療のために活性成分（複数可）を効果的に送達するのに十分な該活性成分（複数可）の量を指す。がんまたは他の増殖障害の場合、該因子の治療有効量は、望ましくない細胞増殖を低減し（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止し）、がん細胞の数を低減し、腫瘍のサイズを縮小し、末梢器官へのがん細胞の浸潤を阻害し（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止し）、腫瘍の転移を阻害し（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止し）、腫瘍増殖をある程度阻害し、標的細胞におけるＨＤＡＣシグナル伝達を低減し、及び／または該がんに伴う症状の１つ以上をある程度緩和し得る。投与された化合物または組成物が既存のがん細胞の増殖を予防及び／またはそれを殺傷する限り、それは細胞増殖抑制性及び／または細胞傷害性であり得る。

【００４７】
「併用投与」、「組み合わせて投与する」、「同時投与」及び同様の表現は、治療を受ける対象に対して、２つ以上の因子が同時に投与されることを意味する。「同時に」とは、各因子が同時に、または異なる時点で任意の順序で順次投与されることを意味する。しかしながら、同時に投与されない場合、それらが所望の治療効果を与え、協調して作用することができるように、順に十分に短い期間に個体に投与されることを意味する。例えば、本ＨＤＡＣＩは、第二の治療因子として同時に、または異なる時点で任意の順序で順次投与され得る。本ＨＤＡＣＩ及び該第二の治療因子は、任意の適切な形態で、任意の適切な経路によって別々に投与することもできる。本ＨＤＡＣＩ及び該第二の治療因子が同時に投与されない場合、それらは、それを必要とする対象に対して任意の順序で投与され得ることが理解される。例えば、本ＨＤＡＣＩは、第二の治療因子の治療法（例えば、放射線療法）の投与前（例えば、５分、１５分、３０分、４５分、１時間、２時間、４時間、６時間、１２時間、２４時間、４８時間、７２時間、９６時間、１週、２週、３週、４週、５週、６週、８週、または１２週前）に、それと同時に、またはその後（例えば、５分、１５分、３０分、４５分、１時間、２時間、４時間、６時間、１２時間、２４時間、４８時間、７２時間、９６時間、１週、２週、３週、４週、５週、６週、８週、または１２週後）に、それを必要とする個体に対して投与され得る。様々な実施形態では、本ＨＤＡＣＩ及び該第二の治療因子は、１分間隔、１０分間隔、３０分間隔、１時間未満間隔、１時間間隔、１時間～２時間間隔、２時間～３時間間隔、３時間～４時間間隔、４時間～５時間間隔、５時間～６時間間隔、６時間～７時間間隔、７時間～８時間間隔、８時間～９時間間隔、９時間～１０時間間隔、１０時間～１１時間間隔、１１時間～１２時間間隔、２４時間以下の間隔または４８時間以下の間隔で投与される。一実施形態では、該併用療法の成分は、１分～２４時間間隔で投与される。
【００４８】
本開示を説明するという観点から（特に、特許請求の範囲の観点から）、用語「ａ」、「ａｎ」、「ｔｈｅ」及び同様の指示対象の使用は、別段の指示がない限り、単数形及び複数形の両方を網羅すると解釈される。本明細書における値の範囲の列挙は、本明細書において別段の指示がない限り、単に、該範囲内に収まる各々別個の値を個々に指す簡単な方法としての役割を果たし、各々別個の値及び部分的な範囲は、本明細書に個々に列挙されたものとして本明細書に組み込まれる。本明細書に提供するありとあらゆる例、または例となる言葉（例えば、「～等」及び「～のような」）の使用は、本開示をより良好に説明することを意図し、別段の主張がない限り、本開示の範囲を限定するものではない。本明細書のいかなる言葉も、本開示の実施にとって必須として任意の請求されていない要素を示すものと解釈されるべきではない。
【００４９】
いくつかの実施形態では、本開示は、式ＩのＨＤＡＣＩ、本ＨＤＡＣＩを含む組成物、及び該ＨＤＡＣＩの治療的使用に関する：
【化２】



I 、

式中、R^1及びR^2は、独立して、水素及びC_1－C_6アルキルからなる群から選択されるか、または、R^1とR^2が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、L^1は、CO_2H、C（O）NH_2、C（O）NHOH、または$B(OH)_2$であり、L^2は、HまたはOR^3であり、R^3は、水素、アセチル、C_1－C_6アルキル、C_1－C_6ハロアルキル、C_3－C_6シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びC_5－C_6ヘテロシクリルからなる群から選択され、各Xは、独立して、水素またはハロゲンであり、pは、０、１、２、または３であり、Y及びZは、独立して、炭素及び窒素からなる群から選択され、mは、１、２、３または４であり、nは、０、１または２である。別の実施形態では、R^1、R^2及びR^3は、独立して、C_1－C_6分岐アルキルである。

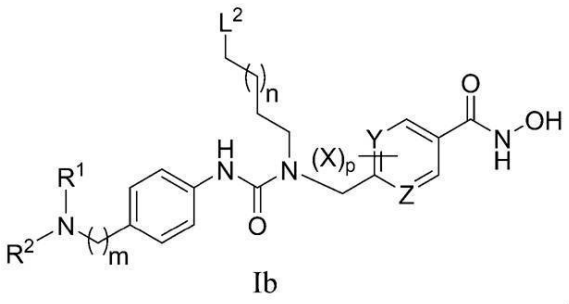
【００５０】

ある特定の実施形態では、L^1は、C（O）NHOHである。

【００５１】

他の実施形態では、本開示は、式ＩｂのＨＤＡＣＩ、本ＨＤＡＣＩを含む組成物、及び該ＨＤＡＣＩの治療的使用に関する：

【化３】



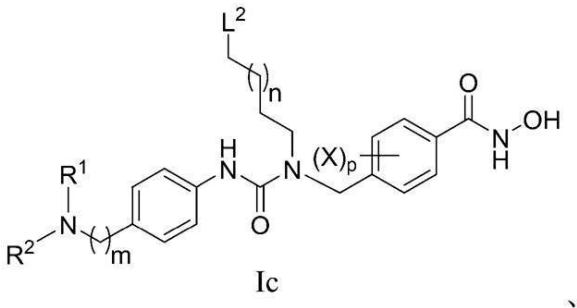
Ib

式中、R^1及びR^2は、独立して、水素及びC_1－C_6アルキルからなる群から選択されるか、または、R^1とR^2が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、
L^2は、HまたはOR^3であり、R^3は、水素、アセチル、C_1－C_6アルキル、C_1－C_6ハロアルキル、C_3－C_6シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びC_5－C_6ヘテロシクリルからなる群から選択され、各Xは、独立して、水素またはハロゲンであり、pは、０、１、２、または３であり、Y及びZは、炭素及び窒素からなる群から選択され、mは、１、２、３または４であり、nは、０、１または２である。別の実施形態では、R^1、R^2及びR^3は、独立して、C_1－C_6分岐アルキルである。

【００５２】

他の実施形態では、本開示は、式ＩｃのＨＤＡＣＩ、本ＨＤＡＣＩを含む組成物、及び該ＨＤＡＣＩの治療的使用に関する：

【化４】



Ic

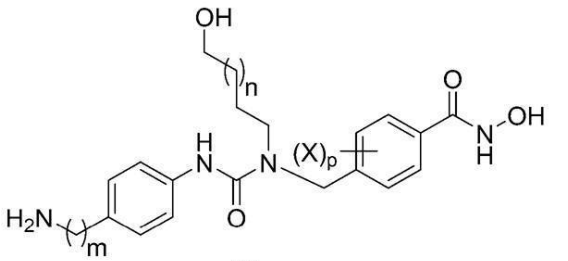
式中、R^1及びR^2は、独立して、水素及びC_1－C_6アルキルからなる群から選択される

か、または、R^1とR^2が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、L^2は、ＨまたはＯR^3であり、R^3は、水素、アセチル、C_1－C_6アルキル、C_1－C_6ハロアルキル、C_3－C_6シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びC_5－C_6ヘテロシクリルからなる群から選択され、各Ｘは、独立して、水素またはハロゲンであり、ｐは、０、１、２、または３であり、ｍは、１、２、３または４であり、ｎは、０、１または２である。別の実施形態では、R^1、R^2及びR^3は、独立して、C_1－C_6分岐アルキルである。

【００５３】

他の実施形態では、本開示は、式ＩｄのＨＤＡＣＩ、本ＨＤＡＣＩを含む組成物、及び該ＨＤＡＣＩの治療的使用に関する：

【化５】



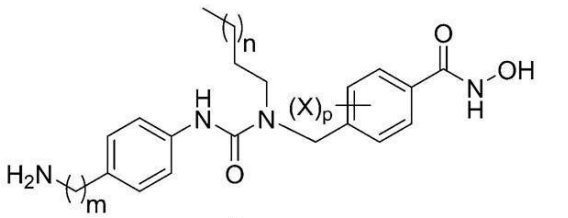
Id

式中、各Ｘは、独立して、水素またはハロゲンであり、ｍは、１、２、３または４であり、ｐは、０、１、２、または３であり、ｍは、１、２、３または４であり、ｎは、０、１または２である。

【００５４】

他の実施形態では、本開示は、式ＩｅのＨＤＡＣＩ、本ＨＤＡＣＩを含む組成物、及び該ＨＤＡＣＩの治療的使用に関する：

【化６】



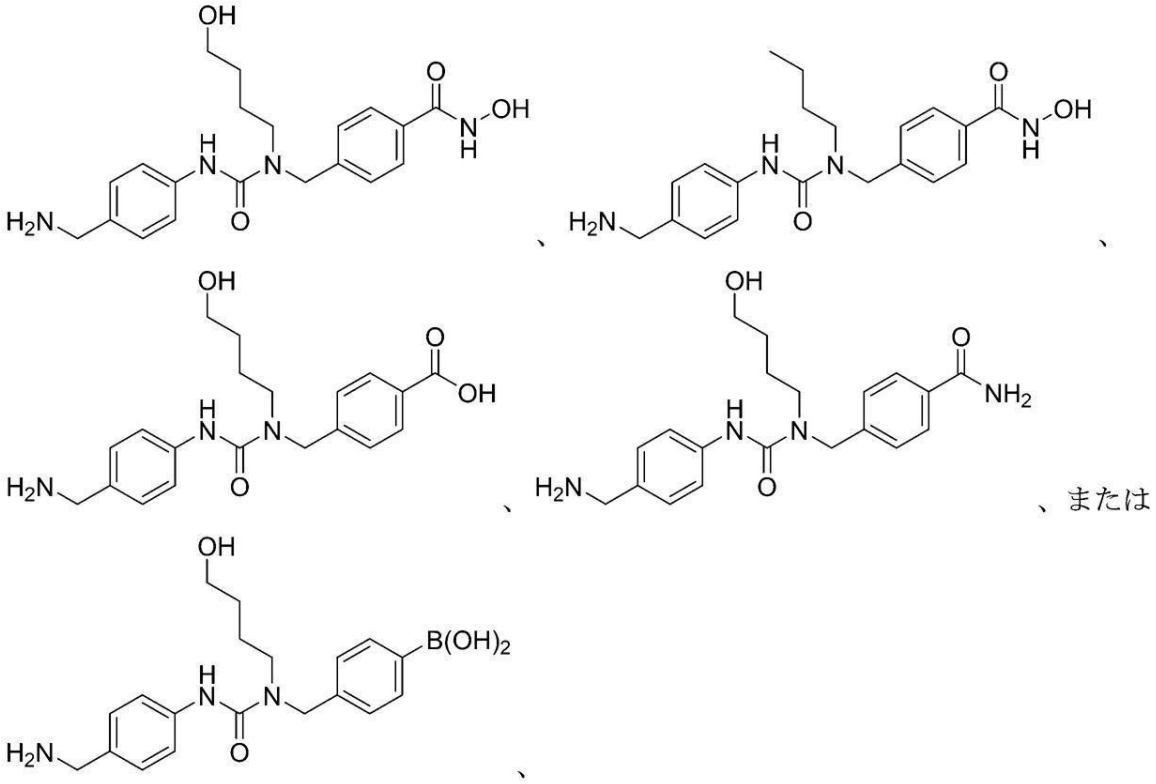
Ie

式中、各Ｘは、独立して、水素またはハロゲンであり、ｐは、０、１、２、または３であり、ｍは、１、２、３または４であり、ｎは、０、１または２である。

【００５５】

他の実施形態では、本開示は、以下のＨＤＡＣＩ

【化７】



これらのＨＤＡＣＩを含む組成物、及びこれらのＨＤＡＣＩの治療的使用に関する。

【００５６】

さらに、本ＨＤＡＣＩの塩、プロドラッグ、水和物、同位体標識、蛍光標識及び任意の他の治療上または診断上関連する誘導体も本開示に含まれ、本明細書に開示する方法で使用され得る。本開示はさらに、本化合物のすべての可能な立体異性体及び幾何異性体を含む。本開示は、ラセミ化合物及び光学活性異性体の両方を含む。本ＨＤＡＣＩが単一のエナンチオマーとして望まれる場合、それは、最終生成物の分割によって得られる場合もあれば、異性体的に純粋な出発物質から、もしくはキラル補助試薬の使用による立体特異的合成により得られる場合もある。例えば、Ｍａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ：Ａｓｙｍｍｅｔｒｙ　８：８８３－８８８（１９９７）を参照されたい。最終生成物、中間体、または出発物質の分割は、当技術分野で既知の任意の適切な方法によって達成され得る。さらに、本化合物の互変異性体が可能である状況では、本開示は、該化合物のすべての互変異性形態を含むことが意図される。

【００５７】

本化合物のプロドラッグもまた本開示に含まれる。化合物が製剤化及び／または投与に適した形態に誘導体化され、その後インビボで薬物として放出されるプロドラッグ法を、該化合物の物理化学的特性を一時的に（例えば、生物可逆的に）変更するために採用することが十分に確立されている（例えば、Ｂｕｎｄｇａａｒｄ，Ｅｄ．，“Ｄｅｓｉｇｎ　ｏｆ　Ｐｒｏｄｒｕｇｓ，”Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ａｍｓｔｅｒｄａｍ，（１９８５）、Ｓｉｌｖｅｒｍａｎ，“Ｔｈｅ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ｏｆ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｓｉｇｎ　ａｎｄ　Ｄｒｕｇ　Ａｃｔｉｏｎ，”Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ｃｈａｐｔｅｒ　８，（１９９２）、またはＨｉｌｌｇｒｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｄ．Ｒｅｓ．Ｒｅｖ．１５：８３（１９９５）参照）。ＨＤＡＣＩの特定のプロドラッグについては、参照により全体として本明細書に組み込まれるＷＯ２００８／０５５０６８に記載されている。

【００５８】

本開示の化合物は、塩として存在し得る。本ＨＤＡＣＩの医薬的に許容される塩が、多くの場合、本開示の方法に好ましい。本明細書で使用される、「医薬的に許容される塩」という用語は、本化合物の塩または双性イオン形態を指す。本化合物の塩は、該化合物の最終的な単離及び精製中に調製される場合もあれば、該化合物を適切なカチオンを有する酸と反応させることによって個別に調製される場合もある。本化合物の医薬的に許容される塩は、医薬的に許容される酸によって形成される酸付加塩であり得る。医薬的に許容される塩を形成するために使用され得る酸の例としては、無機酸、例えば、硝酸、ホウ酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸、及びリン酸、ならびに有機酸、例えば、シュウ酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、及びクエン酸が挙げられる。本開示の化合物の塩の非限定的な例としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、２－ヒドロキシエタンスルホン酸塩、リン酸塩、リン酸水素塩、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、ジグルコン酸塩、グリセロールリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、ギ酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、アスコルビン酸塩、イセチオン酸塩、サリチル酸塩、メタンスルホン酸塩、メシチレンスルホン酸塩、ナフチレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、トリクロロ酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、リン酸塩、グルタミン酸塩、重炭酸塩、パラトルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、グルコン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンジスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、及びｐ－トルエンスルホン酸塩が挙げられるがこれらに限定されない。さらに、本開示の化合物に存在する利用可能なアミノ基は、塩化、臭化、及びヨウ化メチル、エチル、プロピル、及びブチル、硫酸ジメチル、ジエチル、ジブチル、及びジアミル、塩化、臭化、及びヨウ化デシル、ラウリル、ミリスチル、及びステアリル、ならびに臭化ベンジル及びフェネチルで四級化され得る。上記に照らして、本明細書に現れる本開示の化合物への任意の言及は、本化合物及びその医薬的に許容される塩、水和物、またはプロドラッグを含むことが意図される。

【００５９】

本化合物はまた、治療的使用の方法において該化合物の有益な特性を促進する補助部分にコンジュゲートまたは連結され得る。かかるコンジュゲートは、目的の解剖学的部位または領域（例えば、腫瘍）への該化合物の送達を促進すること、標的細胞における該化合物の治療濃度の持続を可能にすること、該化合物の薬物動態学的及び薬力学的特性を変更すること、及び／または該化合物の治療指数もしくは安全性プロファイルを改善することができる。適切な補助部分としては、例えば、アミノ酸、オリゴペプチド、またはポリペプチド、例えば、モノクローナル抗体及び他の操作された抗体等の抗体、ならびに標的細胞または組織の受容体に対する天然または合成リガンドが挙げられる。他の適切な補助部分としては、該化合物の生体内分布及び／または標的細胞による取り込みを促進する脂肪酸または脂質部分が挙げられる（例えば、Ｂｒａｄｌｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．７：３２２９（２００１）参照）。

【００６０】

本開示の化合物は、ＨＤＡＣを阻害するとともに、様々な疾患及び状態の治療に有用である。いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態、例えば、がん、神経疾患、神経変性状態、末梢性ニューロパシー、自己免疫疾患、炎症性疾患及び状態、脳卒中、高血圧、外傷性脳損傷、自閉症、及びマラリアを治療する方法に使用される。該方法は、治療有効量の本ＨＤＡＣＩを、それを必要とする個体に投与することを含む。

【００６１】

本化合物は、ＨＤＡＣ６でのそれらの活性、及びＨＤＡＣ１と比較したＨＤＡＣ６に対するそれらの選択性について評価されている。選択的ＨＤＡＣ６阻害剤は、関節炎、自己免疫疾患、炎症性疾患、がん、レット症候群等の神経疾患、ＣＭＴ等の末梢性ニューロパシー、脳卒中、高血圧、及び酸化ストレスが原因因子またはその結果である疾患が挙げら

れるがこれらに限定されない様々な病状に関わることがすでに示された。選択的ＨＤＡＣ６阻害剤をラパマイシンと組み合わせて投与すると、腎臓異種移植片を有するマウスの寿命が延びることも示された。このモデルは、本化合物の免疫抑制特性を評価し、移植片拒絶反応のモデルとして機能させるために使用された。さらに、選択的ＨＤＡＣ６阻害剤が、酸化ストレスのラット一次皮質ニューロンモデルにおいて神経保護を付与することがすでに示された。これらの研究により、選択的ＨＤＡＣ６阻害剤が非毒性の神経保護剤であることが確認された。本化合物もまた選択的ＨＤＡＣ６剤であるため、同様に挙動する。本化合物は、それらの生理化学的特性をより薬物らしくするリガンド効率を示す。さらに、本化合物は、先のＨＤＡＣＩで観察される効力及び選択性を維持する。従って、本化合物は、ＨＤＡＣ６の特定の機能を同定するための医薬品候補及び研究ツールである。

【００６２】

従って、一実施形態では、本開示は、ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態に罹患した個体を治療する方法に関し、該方法は、治療有効量の請求項にかかるＨＤＡＣＩ化合物を、それを必要とする個体に投与することを含む。

【００６３】

本開示の方法は、本開示のＨＤＡＣＩの１つを、そのままの化合物としてまたは医薬組成物として投与することによって達成され得る。本開示の医薬組成物またはそのままのＨＤＡＣＩの投与は、目的の疾患または状態の発症中または発症後に行われ得る。通常、該医薬組成物は無菌であり、投与時に有害反応を引き起こす毒性、発がん性、または変異原性化合物を含まない。

【００６４】

いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子と組み合わせて投与され得る。該第二の治療因子は、本ＨＤＡＣＩとは異なる。該第二の治療因子は、当該個体が罹患している疾患または状態の治療に有用であることが既知の因子、例えば、薬物及びアジュバント、例えば、がんの治療に有用であることが既知の化学療法剤及び／または放射線から選択される。本ＨＤＡＣＩ及び該第二の治療因子は、一緒に、単一単位用量として投与される場合もあれば、別々に複数単位用量として投与される場合もあり、本ＨＤＡＣＩは、該第二の治療因子と同時に、その前に、またはその逆に投与される。本ＨＤＡＣＩの１回以上の投与及び／または該第二の治療因子の１回以上の投与が実施され得る。

【００６５】

該第二の治療因子は、その所望の治療効果を与える量で投与される。各第二の治療因子の有効投与量範囲は当技術分野で既知であり、該第二の治療因子は、かかる確立された範囲内で、それを必要とする個体に投与される。

【００６６】

従って、本開示は、ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態の治療において、かかる化合物を使用する組成物及び方法に関する。本開示はまた、本ＨＤＡＣＩ及びＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態の治療に有用な任意成分の第二の治療因子を含む医薬組成物に関する。さらに提供するのは、本ＨＤＡＣＩ及び、任意に、ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患及び状態の治療に有用な、別々にまたは一緒に包装された第二の治療因子、及びこれらの活性因子の使用に関する使用説明書を有する挿入物を含むキットである。

【００６７】

本開示の意義の範囲内で、「疾患」または「状態」という用語は、一般に、病的状態または機能であると見なされかつ徴候、症状、及び／または不調の形態で現れ得る混乱及び／または異常を意味する。以下に示すように、本ＨＤＡＣＩは、ＨＤＡＣの強力な阻害剤であり、ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患及び状態、例えば、がん、神経疾患、神経変性状態、外傷性脳損傷、脳卒中、炎症、自己免疫疾患、及び自閉症の治療に使用され得る。

【００６８】

一実施形態では、本開示は、がん細胞もしくは新生細胞を殺傷すること、がん細胞もしくは新生細胞の増殖を阻害すること、がん細胞もしくは新生細胞の複製を阻害すること、またはその症状を改善することが挙げられるがこれらに限定されない、がんを治療するための方法を提供し、該方法は、それを必要とする対象に対して、該がんを治療するために十分な量の本ＨＤＡＣＩまたはその医薬的に許容される塩を投与することを含む。さらに、該選択的ＨＤＡＣＩは、該がん細胞の殺傷を、ＰＤＩ受容体に関連する機構による免疫系の再活性化を通して促進することが可能であり得ることが知られている。本ＨＤＡＣＩは、唯一の抗がん剤として使用される場合もあれば、別の抗がん治療、例えば、放射線、化学療法、及び外科手術と組み合わせて使用される場合もある。

【００６９】

別の実施形態では、本開示は、放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させる方法を提供し、該方法は、該細胞を本ＨＤＡＣＩまたはその医薬的に許容される塩と、該放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対する該細胞の感受性を増加させるために十分な量で接触させることを含む。

【００７０】

さらなる実施形態では、本開示は、がんを治療する方法を提供し、該方法は、（ａ）それを必要とする個体に対して、ある量の本開示のＨＤＡＣＩ化合物を投与すること、及び（ｂ）該個体に対して、ある量の放射線療法、化学療法、またはその両方を実施することを含む。該投与量は、各々がんを治療するために有効である。別の実施形態では、該量は、がんを治療するために合わせて有効である。

【００７１】

本開示のこの併用療法は、様々ながんの治療に応じて様々な状況で使用され得る。特定の実施形態では、治療を必要とする個体は、以前にがんの治療を受けたことがある。かかる以前の治療としては、以前の化学療法、放射線療法、外科手術、または免疫療法、例えば、がんワクチンが挙げられるがこれらに限定されない。

【００７２】

別の実施形態では、該治療されるがんは、放射線療法及び／または化学療法に対する感受性が実証されているがんであるか、または放射線療法及び／または化学療法に反応することが既知のがんである。かかるがんとしては、非ホジキンリンパ腫、ホジキン病、ユーイング肉腫、精巣癌、前立腺癌、卵巣癌、膀胱癌、喉頭癌、子宮頸癌、鼻咽頭癌、乳癌、結腸癌、膵臓癌、頭頸部癌、食道癌、直腸癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、脳腫瘍、またはその他のＣＮＳ新生物が挙げられるがこれらに限定されない。

【００７３】

さらに別の実施形態では、該治療されるがんは、放射線療法及び／または化学療法に対する耐性が実証されているがんであるか、または放射線療法及び／または化学療法が無効であることが既知のがんである。がんは、該がん細胞の少なくともかなりの部分が治療に反応して殺傷されない場合、またはそれらの細胞分裂が停止されない場合、治療が無効である。かかる判断は、かかる文脈における「無効」の当技術分野での通義を使用して、がん細胞に対する治療の有効性をアッセイするための当技術分野で既知の任意の方法により、インビボまたはインビトロのいずれかでなされ得る。特定の実施形態では、がんは、がん細胞の数が有意に減少していないか、または増加している場合に難治性である。

【００７４】

本開示の化合物及び方法で治療され得る他のがんとしては、脳癌（膠芽細胞腫）及びメラノーマ等のがん及び転移、ならびに他の一般的な腫瘍が挙げられるがこれらに限定されない。

【００７５】

特定の実施形態では、上皮の良性に見える過形成または異形成病変である白板症、及び上皮内癌であるボーエン病は、予防的介入の望ましさを示す前がん性病変である。

【００７６】

別の実施形態では、線維嚢胞性疾患（嚢胞性過形成、乳腺異形成、及び腺症（良性上皮

過形成））は、予防的介入の望ましさを示す。

【００７７】

本開示の化合物及び方法の予防的使用は、がんに至る可能性があるいくつかのウイルス感染にも示唆される。例えば、ヒトパピローマウイルスは、子宮頸癌を引き起こす可能性があり（例えば、Ｈｅｒｎａｎｄｅｚ－Ａｖｉｌａ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｃｈｉｖｅｓ ｏｆ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２８：２６５－２７１（１９９７）参照）、エプスタイン・バーウイルス（ＥＢＶ）は、リンパ腫を引き起こす可能性があり（例えば、Ｈｅｒｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｐａｔｈｏｌ １９９（２）：１４０－５（２００３）参照）、Ｂ型またはＣ型肝炎ウイルスは、肝臓癌を引き起こす可能性があり（例えば、Ｅｌ－Ｓｅｒａｇ，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ ３５（５ Ｓｕｐｐｌ ２）：Ｓ７２－８（２００２）参照）、ヒトＴ細胞白血病ウイルス（ＨＴＬＶ）－Ｉは、Ｔ細胞白血病を引き起こす可能性があり（例えば、Ｍｏｒｔｒｅｕｘ ｅｔ ａｌ．，Ｌｅｕｋｅｍｉａ １７（１）：２６－３８（２００３）参照）、ヒトヘルペスウイルス－８感染は、カポジ肉腫を引き起こす可能性があり（例えば、Ｋａｄｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｉｎｖｅｓｔｉｇ Ｄｒｕｇｓ ３（１１）：１５７４－９（２００２）参照）、及びヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染は、免疫不全の結果としてのがんの発生に寄与する（例えば、Ｄａｌ Ｍａｓｏ ｅｔ ａｌ．，Ｌａｎｃｅｔ Ｏｎｃｏｌ ４（２）：１１０－９（２００３）参照）。

【００７８】

他の実施形態では、以下の悪性腫瘍の素因の１つ以上を示す対象が、本ＨＤＡＣＩの投与及び本開示の方法によって治療され得る：悪性腫瘍に関連する染色体転座（例えば、慢性骨髄性白血病のフィラデルフィア染色体、濾胞性リンパ腫のｔ（１４；１８）等）、家族性ポリポーシスまたはガードナー症候群（結腸癌の前兆の可能性）、良性単クローン性免疫グロブリン血症（多発性骨髄腫の前兆の可能性）、メンデル性（遺伝性）遺伝パターンを示すがんまたは前がん性疾患の患者の一親等（例えば、結腸の家族性ポリポーシス、ガードナー症候群、遺伝性外骨腫症、多内分泌腺腫症、アミロイド産生及び褐色細胞腫を伴う甲状腺髄様癌、ポイツ・ジェガース症候群、フォン・レックリングハウゼン神経線維腫症、網膜芽細胞腫、頸動脈球腫瘍、皮膚悪性黒色腫、眼内黒色腫、色素性乾皮症、毛細血管拡張性運動失調症、チェディアック・東症候群、白皮症、ファンコーニ再生不良性貧血、ならびにブルーム症候群；Ｒｏｂｂｉｎｓ ａｎｄ Ａｎｇｅｌｌ，Ｂａｓｉｃ Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２ｄ Ｅｄ．，Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ Ｃｏ．，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ｐｐ．１１２－１１３（１９７６））等を参照）、ならびに発がん性物質への曝露（例えば、喫煙、及びある特定の化学物質の吸入または接触）。

【００７９】

別の特定の実施形態では、本ＨＤＡＣＩ及び本開示の方法は、乳癌、結腸癌、卵巣癌、または子宮頸癌の進行を防止するためにヒト対象に投与される。

【００８０】

一実施形態では、本開示は、がんを治療する方法を提供し、該方法は、（ａ）それを必要とする個体に対して、ある量の本ＨＤＡＣＩを投与すること、及び（ｂ）該個体に対して、放射線療法、化学療法、外科手術または免疫療法、例えば、がんワクチンが挙げられるがこれらに限定されない１つ以上のさらなる抗がん治療法を実施することを含む。一実施形態では、ステップ（ａ）の投与は、ステップ（ｂ）の実施より前である。別の実施形態では、ステップ（ａ）の投与は、ステップ（ｂ）の実施の後である。さらに別の実施形態では、ステップ（ａ）の投与は、ステップ（ｂ）の実施と同時である。

【００８１】

一実施形態では、該さらなる抗がん治療法は、放射線療法及び／または化学療法である。別の実施形態では、該さらなる抗がん治療法は、外科手術である。

【００８２】

さらに別の実施形態では、該さらなる抗がん治療法は、免疫療法、例えば、がんワクチンである。

【００８３】
一実施形態では、該免疫療法は、抗ＰＤ１免疫療法を含む。別の実施形態では、該抗ＰＤ１免疫療法は、ＰＤ－１抗体の投与を含む。別の実施形態では、該ＰＤ－１抗体は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ＳＴＩ－Ａ１０１４、またはピディリズマブである。
【００８４】
一実施形態では、本ＨＤＡＣＩまたはその医薬的に許容される塩は、該さらなる抗がん治療法と併用して投与される。
【００８５】
別の実施形態では、該さらなる抗がん治療法は、放射線療法である。本開示の方法では、治療されるがん型に応じて、任意の放射線療法プロトコルが使用され得る。本開示の実施形態は、ガンマ線（10^{-20}～10^{-13}ｍ）、Ｘ線放射（10^{-12}～10^{-9}ｍ）、紫外光（１０ｎｍ～４００ｎｍ）、可視光（４００ｎｍ～７００ｎｍ）、赤外線（７００ｎｍ～１ｍｍ）、及びマイクロ波放射（１ｍｍ～３０ｃｍ）の電磁放射線を採用している。
【００８６】
例えば、限定するものではないが、Ｘ線放射を投与することができ、いくつかの実施形態では、高エネルギー超高圧（１ＭｅＶを超えるエネルギーの放射線）を深部腫瘍に対して使用することができ、電子線及び常用電圧Ｘ線放射を皮膚癌に使用することができる。ガンマ線放出放射性同位体、例えば、ラジウム、コバルト及び他の元素の放射性同位体も投与され得る。本開示に有用な例示的な放射線療法プロトコルとしては、複数の低線量放射線源が同時に複数の角度から組織容量に集束される定位法、腫瘍または他の標的組織に放射性インプラントを直接配置することを含む「内部放射線療法」、例えば、小線源治療、組織内照射、及び腔内照射、外科手術中に露出した標的組織に大量の外部放射が向けられる術中照射、ならびに高速の亜原子粒子を限局性がんの治療に使用することを含む粒子線治療が挙げられるがこれらに限定されない。
【００８７】
多くのがん治療プロトコルは現在、電磁放射線、例えば、Ｘ線によって活性化される放射線増感剤を使用している。Ｘ線活性化放射線増感剤の例としては、メトロニダゾール、ミソニダゾール、デスメチルミソニダゾール、ピモニダゾール、エタニダゾール、ニモラゾール、マイトマイシンＣ、ＲＳＵ１０６９、ＳＲ４２３３、ＥＯ９、ＲＢ６１４５、ニコチンアミド、５－ブロモデオキシウリジン（ＢＵｄＲ）、５－ヨードデオキシウリジン（ＩＵｄＲ）、ブロモデオキシシチジン、フルオロデオキシウリジン（ＦＵｄＲ）、ヒドロキシ尿素、シス－プラチン、ならびにそれらの治療上有効な類似体及び誘導体が挙げられるがこれらに限定されない。
【００８８】
がんの光線力学療法（ＰＤＴ）では、増感剤の放射線活性化剤として可視光を使用する。光力学的放射線増感剤の例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ヘマトポルフィリン誘導体、ＰＨＯＴＯＦＲＩＮ（登録商標）、ベンゾポルフィリン誘導体、ＮＰｅ６、スズエチオポルフィリン（ＳｎＥＴ２）、フェオホルビド－ａ、バクテリオクロロフィル－ａ、ナフタロシアニン、フタロシアニン、亜鉛フタロシアニン、ならびにそれらの治療上有効な類似体及び誘導体。
【００８９】
放射線増感剤は、本ＨＤＡＣＩに加えて、治療有効量の１つ以上の化合物とともに投与され得る。かかる化合物としては、標的細胞への放射線増感剤の取り込みを促進する化合物、該標的細胞への治療薬、栄養物、及び／または酸素の流れを制御する化合物、追加の放射線の有無にかかわらず腫瘍に作用する化学療法剤、またはがんもしくは他の疾患を治療するための他の治療上有効な化合物が挙げられるがこれらに限定されない。放射線増感剤とともに使用され得るさらなる治療薬の例としては、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、ロイコボリン、酸素、カルボゲン、赤血球輸血、パーフルオロカーボン（例えば、ＦＬＵＯＳＯＬＷ（登録商標）－ＤＡ）、２，３－ＤＰＧ、ＢＷ１２Ｃ、カルシウムチャネル遮断薬、ペントキシフィリン、血管新生阻害化合物、ヒドララジン、及びＬ－ＢＳＯが

挙げられるがこれらに限定されない。

【００９０】

一実施形態では、本ＨＤＡＣＩまたはその医薬的に許容される塩は、放射線療法及び／または化学療法の投与に先立って投与される。

【００９１】

別の実施形態では、本ＨＤＡＣＩまたはその医薬的に許容される塩は、放射線療法及び／または化学療法と併用して投与される。

【００９２】

本ＨＤＡＣＩとさらなる治療法は、相加的に作用する場合もあれば、相乗的に作用する場合もある（すなわち、本ＨＤＡＣＩまたはその医薬的に許容される塩とさらなる抗がん治療法の組み合わせは、各々が単独で投与された場合の相加効果よりも効果的である）。相乗的な組み合わせにより、がんを有する対象へのより低用量の本ＨＤＡＣＩ及び／またはさらなる治療法の使用及び／またはより低頻度の本ＨＤＡＣＩ及び／またはさらなる治療法の投与が可能になる。より低用量の本ＨＤＡＣＩ及び／またはさらなる治療法を使用すること、及び／または本開示の化合物及びさらなる治療法をより低頻度で投与することが可能になることで、がんの治療における本ＨＤＡＣＩ及び／または該さらなる治療法の有効性を低下させることなく投与に伴う毒性が低減され得る。さらに、相乗効果により、がん治療の有効性を改善すること及び／または単剤療法としての本ＨＤＡＣＩ及び／またはさらなる抗がん治療法の投与に伴う悪影響もしくは望ましくない副作用を低減することが可能である。

【００９３】

一実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、かかるＨＤＡＣＩががんの治療に単独で使用される場合に通常使用される用量で投与された場合に、放射線療法と相乗的に作用し得る。別の実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、かかるＨＤＡＣＩががんの治療のために単剤療法として使用される場合に通常使用される用量より少ない用量で投与された場合に、放射線療法と相乗的に作用し得る。

【００９４】

一実施形態では、放射線療法は、放射線療法ががんの治療のために単独療法として使用される場合に通常使用される線量で投与された場合に、本ＨＤＡＣＩと相乗的に作用し得る。別の実施形態では、放射線療法は、放射線療法ががんの治療のために単独療法として使用される場合に通常使用される線量より少ない線量で投与された場合に、本開示の化合物と相乗的に作用し得る。

【００９５】

放射線療法の効果に対してがん細胞を感作するためのＨＤＡＣ阻害剤としての該ＨＤＡＣＩの有効性は、当技術分野で既知の技術を使用して、処理後の生存をインビトロ及び／またはインビボで測定することにより判断され得る。一実施形態では、インビトロ測定に関しては、対数増殖期の細胞を既知の線量の放射線に曝露し、細胞の生存を観察することができる。照射した細胞を播種し、約１４～約２１日間培養し、コロニーを染色する。生存率は、未照射細胞の平板効率で除したコロニー数である。均等スケールでの吸収線量に対する対数スケールでの生存率をグラフにすることで生存曲線が生成される。生存曲線は一般に、線量が致死量以下である最初の肩領域の後、より高い放射線量で生存細胞の割合が指数関数的に減少することを示す。同様のプロトコルを、本開示の併用療法で使用される場合の化学物質に使用することができる。

【００９６】

腫瘍細胞の固有の放射線感受性及び環境の影響、例えば、低酸素症及び宿主免疫は、インビボ試験によってさらに評価され得る。増殖遅延アッセイが一般に使用される。このアッセイは、放射線に曝露された腫瘍が特定の体積まで再増殖するまでに必要な時間間隔を測定する。腫瘍の約５０％を制御するために必要な線量が、ＴＣＤ$_{50}$アッセイによって特定される。

【００９７】

インビボアッセイシステムは、通常、実験対象に移植可能な固形腫瘍システムを使用する。正常組織及び腫瘍の放射線生存パラメータは、当技術分野で既知のインビボ手法を使用してアッセイされ得る。

【００９８】

本開示は、有効量の本ＨＤＡＣＩを、一般に認められた方法である外科手術、放射線療法、及び化学療法とともに投与することを含むがんの治療方法を提供し、該一般に認められた方法としては、例えば、一般に認められた療法の有効性の相乗的な向上が達成される放射線療法の化学物質系での模倣を含む。治療の有効性は、臨床研究もしくはモデル系、例えば、マウスの腫瘍モデル、または細胞培養の感受性アッセイで測定され得る。

【００９９】

本開示は、有効性を改善する及び／または毒性を低減する併用療法を提供する。従って、一態様では、本開示は、放射線療法と併用する、本ＨＤＡＣＩの放射線増感剤としての使用に関する。

【０１００】

本開示の併用療法が、本ＨＤＡＣＩを１つ以上のさらなる抗がん剤とともに投与することを含む場合、本ＨＤＡＣＩ及び該さらなる抗がん剤は、個体に対して同時に投与される場合も連続して投与される場合もある。該薬剤は、周期的に投与される場合もある。サイクリング療法は、１つ以上の抗がん剤の一定期間の投与に続いて、１つ以上の異なる抗がん剤の一定期間の投与及びこの連続投与を繰り返すこと、すなわち、周期を含み、該投与される抗がん剤の１つ以上に対する耐性発現を低減し、該投与される抗がん剤の１つ以上の副作用を回避または低減し、及び／または該治療の有効性を改善する。

【０１０１】

さらなる抗がん剤を一連の期間にわたって投与してもよい。以下に記載するさらなる抗がん剤のいずれかまたは組み合わせが投与され得る。

【０１０２】

本開示は、がんの治療を必要とする個体に対して、本ＨＤＡＣＩ及び１つ以上のさらなる抗がん剤またはその医薬的に許容される塩を投与することを含む、がんの治療方法を含む。本ＨＤＡＣＩ及び該さらなる抗がん剤は、相加的に作用する場合もあれば、相乗的に作用する場合もある。適切な抗がん剤としては、ゲムシタビン、カペシタビン、メトトレキサート、タキソール、タキソテール等が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０３】

さらに、本開示は、化学療法または放射線療法が治療を受ける対象にとって過度に毒性があることが証明されているまたは証明され得る場合、例えば、許容できないまたは耐え難い副作用をもたらす場合の化学療法単独または放射線療法単独に対する代替としての本ＨＤＡＣＩを使用したがんの治療方法を提供する。治療を受けている個体は、任意に、許容されるまたは耐えられることが判明している治療に応じて、別の抗がん治療法、例えば、化学療法、外科手術、または免疫療法で治療され得る。

【０１０４】

本ＨＤＡＣＩはまた、インビトロまたはエクスビボ様式で、例えば、白血病及びリンパ腫が挙げられるがこれらに限定されないある特定のがんの治療のために使用することもでき、かかる治療は、自己幹細胞の移植を含む。これは、対象の自己造血幹細胞が採取してすべてのがん細胞を除去する多段階プロセスを含むことができ、該対象は、その後、該対象に残った骨髄細胞集団を根絶するために有効な量の本ＨＤＡＣＩを投与され、次いで該幹細胞の移植片が該対象に注入で戻される。その後、骨髄機能が回復し該対象が回復するまでの間、支持療法が行われる。

【０１０５】

がんを治療するための本方法はさらに、本ＨＤＡＣＩ及びさらなる治療因子またはその医薬的に許容される塩もしくは水和物の投与を含む。一実施形態では、本ＨＤＡＣＩを含む組成物は、本ＨＤＡＣＩを含む組成物と同じ組成物の一部である場合もあれば異なる組成物に含まれる場合もある１つ以上のさらなる治療因子（複数可）の投与と同時に投与さ

れる。別の実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、別の治療因子（複数可）の投与の前またはその後に投与される。

【０１０６】

がんを治療するための本方法では、該他の治療因子は、制吐薬であり得る。適切な制吐薬としては、メトクロプラミド、ドンペリドン、プロクロルペラジン、プロメタジン、クロルプロマジン、トリメトベンズアミド、オンダンセトロン、グラニセトロン、ヒドロキシジン、アセチルロイシンモノエタノールアミン、アリザプリド、アザセトロン、ベンズキナミド、ビエタナウチン、ブロモプリド、ブクリジン、クレボプリド、シクリジン、ジメンヒドリナート、ジフェニドール、ドラセトロン、メクリジン、メタラタール、メトピマジン、ナビロン、オキシペルンジル、ピパマジン、スコポラミン、スルピリド、テトラヒドロカンナビノール、チエチルペラジン、チオプロペラジン、及びトロピセトロンが挙げられるがこれらに限定されない。一実施形態では、該制吐薬は、グラニセトロンまたはオンダンセトロンである。別の実施形態では、該他の治療因子は、造血コロニー刺激因子であり得る。適切な造血コロニー刺激因子としては、フィルグラスチム、サルグラモスチム、モルグラモスチム、及びエポエチンアルファが挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０７】

さらに別の実施形態では、該他の治療因子は、オピオイドまたは非オピオイド鎮痛薬であり得る。適切なオピオイド鎮痛薬としては、モルヒネ、ヘロイン、ヒドロモルフォン、ヒドロコドン、オキシモルフォン、オキシコドン、メトポン、アポモルヒネ、ノルモルヒネ、エトルフィン、ブプレノルフィン、メペリジン、ロペラミド、アニレリジン、エトヘプタジン、ピミニジン（ｐｉｍｉｎｉｄｉｎｅ）、ベータプロジン、ジフェノキシレート、フェンタニル、スフェンタニル、アルフェンタニル、レミフェンタニル、レボルファノール、デキストロメトルファン、フェナゾシン、ペンタゾシン、シクラゾシン、メタドン、イソメタドン、及びプロポキシフェンが挙げられるがこれらに限定されない。適切な非オピオイド鎮痛薬としては、アスピリン、セレコキシブ、ロフェコキシブ、ジクロフェナク、ジフルニサル、エトドラク、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ケトプロフェン、インドメタシン、ケトロラク、メクロフェナム酸、メファナム酸、ナブメトン、ナプロキセン、ピロキシカム、及びスリンダクが挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０８】

さらに別の実施形態では、該他の治療因子は、抗不安薬であり得る。適切な抗不安薬としては、ブスピレン（ｂｕｓｐｉｒｅｎｅ）、ならびにベンゾジアゼピン、例えば、ジアゼパム、ロラゼパム、オキサゼパム、クロラゼプ酸、クロナゼパム、クロルジアゼポキシド及びアルプラゾラムが挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０９】

がんを治療し、がん細胞を放射線療法及び化学療法の細胞傷害効果に対して感作することに加えて、本ＨＤＡＣＩは、神経疾患、神経変性障害、及び外傷性脳損傷（ＴＢＩ）等の中枢神経系に対する疾患、状態、及び損傷を治療する方法に使用される。好ましい実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、血液脳関門を通過して個体の脳内のＨＤＡＣを阻害することができる。

【０１１０】

本ＨＤＡＣＩ化合物はまた、末梢性ニューロパシー、例えば、ＣＭＴのモデルに治療効果をもたらす。ＨＤＡＣ６阻害剤は、血液神経関門を通過し、遠位遺伝性運動性ニューロパシーの症状を示すトランスジェニックマウスで観察される表現型をレスキューすることが分かっている。症状のあるマウスにＨＤＡＣ６阻害剤を投与すると、アセチル化α－チューブリンのレベルが上昇し、適切なミトコンドリアの運動性及び軸索輸送が回復し、筋肉の再神経支配が増加した。他の末梢性ニューロパシーとしては、巨大軸索ニューロパシー及び様々な形態の単ニューロパシー、多発ニューロパシー、自律性ニューロパシー、及び神経炎が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１１１】

本ＨＤＡＣＩ化合物はまた、Ａβ上昇後の連想記憶喪失を改善する。この試験では、マウスに、トレーニングの１５分前に背側海馬に埋め込まれたカニューレを介してＡβ４２を注入した。試験化合物を、トレーニングの２時間前にｉｐ投与する（２５ｍｇ／ｋｇ）。恐怖学習を、２４時間後に評価した。

【０１１２】

トレーニングの２４時間後に行われた文脈的恐怖条件付けは、媒体注入マウスと比較して、Ａβ注入マウスにおいてフリーズの減少を示す。本化合物での処理により、Ａβ注入マウスにおいてはフリーズ反応の欠陥が改善され、媒体注入マウスには影響がない。試験化合物単独では、マウスの記憶能力に影響はない。さらに、化合物を１日２回２日間注射して、可視プラットフォーム試験を使用して評価される運動、感覚、または動機付けのスキルに処理の影響はなかった。これらの実験中、食物及び水分の摂取量の変化、体重減少、または移動及び探索行動の変化を含めた明白な毒性の徴候は観察されない。

【０１１３】

これらの結果は、本開示のＨＤＡＣＩが、Ａβ上昇後の連想記憶の障害に対して有益であることを示している。

【０１１４】

従って、本ＨＤＡＣＩは、神経疾患を治療するために有効な量の本ＨＤＡＣＩを投与することによって、または神経疾患を治療するために有効な量の本ＨＤＡＣＩを含む医薬組成物を投与することによって、神経疾患を治療するのに有用である。治療され得る神経疾患としては、ハンチントン病、狼瘡、統合失調症、多発性硬化症、筋ジストロフィー、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ＤＲＲＬＡ）、球脊髄性筋萎縮症（ＳＢＭＡ）、ならびに微細脊髄小脳失調症（ＳＣＡ１、ＳＣＡ２、ＳＣＡ３／ＭＪＤ（マチャド・ジョセフ病）、ＳＣＡ６、及びＳＣＡ７）、薬物誘発性運動障害、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、アルツハイマー病、レビー小体型認知症、皮質基底核変性症、ジストニア、ミオクローヌス、トゥーレット症候群、振戦、舞踏病、下肢静止不能症候群、パーキンソン病、パーキンソン症候群、不安、うつ病、精神病、躁うつ病、フリードライヒ運動失調症、脆弱Ｘ症候群、脊髄性筋ジストロフィー、レット症候群、ルビンシュタイン・テイビ症候群、ウィルソン病、多発梗塞状態、ＣＭＴ、ＧＡＮならびに他の末梢性ニューロパシーが挙げられるがこれらに限定されない。

【０１１５】

一実施形態では、該治療される神経疾患は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、脊髄性筋萎縮症、狼瘡、または統合失調症である。

【０１１６】

シャルコー・マリー・トゥース病（ＣＭＴ）は、米国で約２，５００人に１人が罹患する最も一般的な遺伝性神経疾患の１つである。ＣＭＴは、運動神経と感覚神経の両方に影響を与え、頻繁に躓いたり転倒したりする下垂足及び足を高く上げる歩行につながり得る。低分子量熱ショックタンパク質２７（ＨＳＰＢ１）の変異は、軸索ＣＭＴまたは遠位遺伝性運動性ニューロパシー（遠位ＨＭＮ）を引き起こす。変異ＨＳＰＢ１の発現により、アセチル化α－チューブリンレベルが低下し、重度の軸索輸送障害が誘発された。ＨＤＡＣ６ｉであるＴｕｂａｓｔａｔｉｎ　Ａによって引き起こされるヒストンデアセチラーゼ６（ＨＤＡＣ６）誘発性のα－チューブリンの脱アセチル化の薬理学的阻害は、ＨＳＰＢ１の変異によって誘発される軸索輸送の欠陥を修正し、症候性変異ＨＳＰＢ１マウスのＣＭＴ表現型をレスキューする。α－チューブリン脱アセチル化の病因的役割は、変異ＨＳＰＢ１誘発性ニューロパシーで実証されており、遺伝性軸索変性症の治療戦略としてＨＤＡＣ６阻害剤に貴重な視点を与える。本開示の化合物は、様々な細胞株において強力なＨＤＡＣ６アイソフォーム阻害、高いＨＤＡＣ６選択性、優れたα－チューブリンアセチル化を示す。

【０１１７】

従って、別の実施形態では、該神経疾患は、シャルコー・マリー・トゥース病である。

【０１１８】

本ＨＤＡＣＩはまた、ＣＮＳに対する状態、疾患、及び損傷を治療する方法において、第二の治療因子とともに使用することができる。かかる第二の治療因子は、状態、疾患、または損傷を治療するための当技術分野で既知の薬物であり、例えば、気分障害の治療におけるリチウム、安息香酸エストラジオール、及びハンチントン病の治療におけるニコチンアミドであるがこれらに限定されない。

【０１１９】

本ＨＤＡＣＩは、ＴＢＩの治療にも有用である。外傷性脳損傷（ＴＢＩ）は、米国で毎年約１４０万人に発生する深刻で複雑な損傷である。ＴＢＩは、アルツハイマー病等の神経変性障害を発症するリスク因子を含め、幅広い症状及び障害に関連している。

【０１２０】

ＴＢＩは、軸索損傷、細胞死、挫傷、及び炎症を含めた多くの病状を引き起こす。その炎症カスケードは、他の病状を悪化させる可能性がある炎症性サイトカイン及びミクログリアの活性化を特徴とする。ＴＢＩにおける炎症の役割は十分に確立されているが、ＴＢＩの治療に有効な抗炎症療法は現在のところない。

【０１２１】

いくつかの既知のＨＤＡＣ阻害剤は、急性及び慢性の神経変性損傷及び疾患、例えば、アルツハイマー病、虚血性脳卒中、多発性硬化症（ＭＳ）、ハンチントン病（ＨＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、脊髄性筋萎縮症（ＳＭＡ）、ならびに球脊髄性筋萎縮症（ＳＢＭＡ）の様々な細胞モデル及び動物モデルにおいて保護的であることが分かっている。実験的小児ＴＢＩに関する最近の研究により、海馬ＣＡ３ヒストンＨ３アセチル化の減少が損傷後数時間から数日続くことが報告された。これらの変化は、ＴＢＩに関連する確認された上流の興奮毒性及びストレスカスケードに起因していた。ＨＤＡＣＩには、非ヒストンタンパク質のアセチル化を介して作用する抗炎症作用があることも報告されている。ＨＤＡＣ６選択的阻害剤、４－ジメチルアミノ－Ｎ－［５－（２－メルカプトアセチルアミノ）ペンチル］ベンズアミド（ＤＭＡ－ＰＢ）は、ヒストンＨ３アセチル化を増加させ、ラットの外傷性脳損傷後のミクログリア炎症反応を減少させることができることが分かった。これにより、ＴＢＩに関連する神経炎症を阻害するための治療薬としてのＨＤＡＣＩの有用性が実証される。

【０１２２】

従って、本ＨＤＡＣＩは、炎症及び脳卒中の治療、ならびに自閉症及び自閉症スペクトラム障害の治療にも有用である。本ＨＤＡＣＩは、さらに、寄生虫感染症の治療に使用され得る（例えば、マラリア、トキソプラズマ症、トリパノソーマ症、蠕虫症、原虫感染症（Ａｎｄｒｅｗｓ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｐａｒａｓｉｔｏｌ．３０（６）：７６１－７６８（２０００）参照）。

【０１２３】

本ＨＤＡＣＩは造影剤としても使用することができる。いくつかの実施形態では、放射性標識、同位体標識、または蛍光標識ＨＤＡＣＩを提供することによって、該標識化合物は、ＨＤＡＣ、ＨＤＡＣを発現する組織、及び腫瘍を画像化することができる。本開示の標識ＨＤＡＣＩはまた、有効量の該標識化合物または該標識化合物を含む組成物の投与により、がんまたは他のＨＤＡＣ媒介疾患、例えば、脳卒中に罹患した患者を画像化することができる。好ましい実施形態では、該標識ＨＤＡＣＩは、陽電子放射線を放出することが可能であり、陽電子放出断層撮影法（ＰＥＴ）での使用に適している。典型的には、本開示の標識ＨＤＡＣＩは、高濃度のＨＤＡＣを発現する組織または標的の領域を特定するために使用される。標識ＨＤＡＣＩの蓄積の程度は、放射能放出を定量化するための既知の方法を使用して定量化され得る。さらに、該標識ＨＤＡＣＩは、インビトロでＨＤＡＣのアイソフォームまたはオルガネラの動きを追跡することが可能なフルオロフォアまたは同様のレポーターを含むことができる。

【０１２４】

画像検査法に有用な本ＨＤＡＣＩは、任意の標準的な放射線機器、例えば、ＰＥＴ、ＳＰＥＣＴ、ガンマカメラ、ＭＲＩ、及び同様の装置による検出に適した１つ以上の形態の

放射線を放出することが可能な１つ以上の放射性同位体を含む。好ましい同位体は、トリチウム（^{3}Ｈ）及び炭素（^{11}Ｃ）を含む。本開示の置換ＨＤＡＣＩはまた、画像検査法のためにフッ素の同位体（^{18}Ｆ）及びヨウ素の同位体（^{123}Ｉ）を含むこともできる。典型的には、本開示の標識ＨＤＡＣＩは、^{11}Ｃ標識を有するアルキル基、すなわち、^{11}Ｃ－メチル基、または^{18}Ｆ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、またはそれらの組み合わせで置換されたアルキル基を含む。

【０１２５】

蛍光標識した本開示のＨＤＡＣＩもまた、本開示の画像検査法において使用することができる。かかる化合物は、インビトロでのＨＤＡＣタンパク質の可視化を可能にするＦＩＴＣ、カルボシアニン部分または他のフルオロフォアを有する。

【０１２６】

該標識ＨＤＡＣＩ及び使用方法は、インビボ及びヒトにおいて用いることができ、また、インビトロ用途、例えば、体液及び細胞サンプルを使用する診断及び研究用途になり得る。本開示の標識ＨＤＡＣＩを使用する画像検査法は、米国を指定し、本明細書に全体として組み込まれるＷＯ０３／０６０５２３に論じられている。典型的には、該方法は、細胞または組織を、本開示の放射性標識、同位体標識、蛍光標識、またはタグ付き（ビオチンタグ付き等）化合物と接触させること、及び使用される視覚化方法に応じてＸ線、蛍光、または同様のタイプの画像を作製することを含む。すなわち、Ｘ線画像に関しては、約１～約３０ｍＣｉの放射性標識化合物を提供するために十分な量である。

【０１２７】

好ましい画像検査法としては、２：１の標的対バックグラウンド比の放射強度、またはより好ましくは、約５：１、約１０：１、もしくは約１５：１比の標的とバックグラウンドの放射強度を生成することが可能な本開示の標識ＨＤＡＣＩの使用が挙げられる。

【０１２８】

好ましい方法では、本開示の標識ＨＤＡＣＩは、体内の組織から迅速に排泄され、個体に投与された放射性標識化合物の放射線への長期曝露を防止する。通常、本開示の標識ＨＤＡＣＩは、約２４時間未満で体内から排出される。より好ましくは、標識ＨＤＡＣＩは、約１６時間、１２時間、８時間、６時間、４時間、２時間、９０分、または６０分未満で体内から排出される。通常、好ましい標識ＨＤＡＣＩは、約６０分～約１２０分で排出される。

【０１２９】

同位体標識及び蛍光標識された誘導体に加えて、本開示は、診断、治療または研究用の目的のＨＤＡＣアイソフォームに関連する生体分子を特定するためのタグ（ビオチン等）を含む誘導体の使用も具体化する。

【０１３０】

本ＨＤＡＣＩは、自己免疫疾患及び炎症の治療にも有用である。本開示の化合物は、移植片拒絶反応及び移植による拒絶反応を克服することにおいてならびに関節炎を治療することにおいて有用である。

【０１３１】

現代の移植プログラムの成功にもかかわらず、現在の治療法に伴う腎毒性、心血管疾患、糖尿病、及び高脂血症に加えて、移植後の悪性腫瘍及び慢性拒絶反応による移植片喪失の発生率が、最小限の免疫抑制での長期的な同種移植片の機能を達成するための努力を行わせている。同様に、クローン病及び潰瘍性大腸炎等の炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の発生率も増加している。動物実験により、フォークヘッド転写ファミリーのメンバーであるＦｏｘｐ３を発現する制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）が、自己反応性及びアロ反応性免疫を制限する鍵であることが示されている。さらに、共刺激遮断、免疫抑制、または他の戦略による誘導の後、Ｔｒｅｇは、有益な治療効果を達成するために、ナイーブ宿主に養子移入され得る。しかしながら、臨床試験では、移入後の抑制機能を維持する十分なＴｒｅｇを発達させる試みは失敗に終わった。マウスの試験では、ＨＤＡＣＩがＴｒｅｇの抑制機能を高めることによって少なくともかなりの部分で免疫応答を制限すること（Ｔａｏ　ｅｔ　ａｌ

．，Ｎａｔ　Ｍｅｄ　１３：１２９９－１３０７（２００７））、及びＨＤＡＣ６の選択的標的化がこの点で特に効果的であることが示される。

【０１３２】

臓器移植では、移植直後から拒絶反応が起こり始めるため、拒絶反応の治療よりも予防が最優先の検討課題である。患者がすでに問題を引き起こしている疾患を呈している自己免疫には、逆のことが当てはまる。それに応じて、低用量ＲＰＭ（ラパマイシン）で１４日間処理されたＨＤＡＣ６－／－マウスは、寛容誘導の徴候及び慢性拒絶反応の発生に対する抵抗性を示すかどうか、すなわち、臨床移植集団における長期的な移植片機能の継続的な大きな損失が評価される。寛容は、非選択的ＨＤＡＣＩとＲＰＭを使用した場合に生じるように、長期生存同種移植片を有するマウスが、その後第三者の心臓移植片を拒絶し、免疫抑制なしでさらなるドナーの同種移植片を受け入れるかどうかを調べることによって評価される。これらのインビボ試験は、ドナー細胞を投与したレシピエントのリンパ球を使用したＥＬＩＳＰＯＴ及びＭＬＲ活性の評価によって達成される。慢性拒絶反応に対する保護は、宿主抗ドナー体液性反応の分析、ならびに長期生存同種移植レシピエントにおける移植片移植動脈硬化症及び間質性線維症の分析によって評価される。

【０１３３】

ＨＤＡＣ６標的化の重要性は、臨床的に観察されるように、生化学的意義の読み出しを求めるさらなる移植モデルで評価される。従って、腎移植レシピエントでの標的化におけるＨＤＡＣ６の効果（ＢＵＮ、タンパク尿の監視）及び膵島同種移植片での標的化におけるＨＤＡＣ６の効果（血糖値の監視）が評価される。腎移植は、最も一般的に実施される臓器移植であり、腎臓は複数の機能、例えば、酸／塩基代謝、血圧、赤血球産生の調節を行うため、このモデルにおける有効性は、ＨＤＡＣ６の標的化の有用性を示す。同様に、膵島移植は、移植後、最初の１年または２年後に臨床膵島同種移植片が通常失われることを考えると、満たされていない主要なニーズである。維持ＣＮＩ療法なしで、膵島の生存を延長するための安全かつ毒性のない手段を有することは、重要な進展となる。移植研究は、ｆｌｏｘｅｄ　ＨＤＡＣ６を有するマウスの使用によっても強化される。例えば、既存のＦｏｘｐ３－Ｃｒｅマウスを使用して、ＴｒｅｇでのみＨＤＡＣ６を欠失する場合の効果が試験される。このアプローチは、例えば、Ｔ細胞（ＣＤ４－Ｃｒｅ）及び樹状細胞（ＣＤ１１ｃ－Ｃｒｅ）におけるＨＤＡＣ６の標的化に拡張され得る。タモキシフェン制御のＣｒｅを使用すると、移植の誘導と維持におけるＨＤＡＣ６の重要性（短期と維持のＨＤＡＣ６Ｉ療法に対する影響）は、タモキシフェンを投与し、移植後の様々な時期にＨＤＡＣ６の欠失を誘導することによって評価される。

【０１３４】

自己免疫の研究も行われている。この場合、既存の疾患の遮断が特に重要であり、ＨＤＡＣ６の標的化は、さらなる治療を必要とせずに有効である可能性がある（極めて侵攻性が強く、完全にＭＨＣが一致しない移植モデルでの短時間の低用量ＲＰＭの必要性とは対照的である）。大腸炎のマウスでの研究により、ＨＤＡＣ６－／－Ｔｒｅｇは、ＷＴ　Ｔｒｅｇよりも疾患の制御に効果的であること、及び大腸炎が発症した後に治療を開始した場合、ツバシンがマウスをレスキューすることができることが示された。これらの研究は、Ｔｒｅｇ（Ｆｏｘｐ３／Ｃｒｅ）か、Ｔ細胞（ＣＤ４＝Ｃｒｅ）か、ＤＣ（ＣＤ１１ｃ－Ｃｒｅ）でのＨＤＡＣ６の欠失が、大腸炎の発症及び重症度に特異的に影響を及ぼすかどうかを評価することによって拡張される。同様に、大腸炎の制御は、タモキシフェン制御のＣｒｅにより、大腸炎の発症後、様々な間隔でＨＤＡＣの６欠失を誘導することによって評価される。

【０１３５】

本化合物は、ＤＢＡ１／Ｊマウスのコラーゲン誘発関節炎モデルにおいて抗関節炎効力を示すと想定される。この試験では、ＤＢＡ１／Ｊマウス（オス、７～８週齢）を、１群あたり８匹で使用する。全身性関節炎は、２１日目にウシＩＩ型コラーゲン及びＣＦＡに加えてＩＦＡブースター注射で誘発される。本ＨＤＡＣＩは、２８日目に５０ｍｇ／ｋｇ及び１００ｍｇ／ｋｇで、２週間にわたり投与され、その効果は、平均関節炎スコア対処

理日数のデータから判断される。

【０１３６】

宿主とドナーの組織型を一致させて移植片拒絶反応を回避しようとする努力にもかかわらず、ほとんどの移植術では、免疫抑制療法が宿主におけるドナー臓器の生存にとって重要である。アザチオプリン、メトトレキサート、シクロホスファミド、ＦＫ－５０６、ラパマイシン、及びコルチコステロイドを含めた様々な免疫抑制剤が移植術に採用されている。

【０１３７】

本ＨＤＡＣＩは、体液性免疫及び細胞性免疫応答、例えば、同種移植片拒絶反応、遅発型過敏症、実験的アレルギー性脳脊髄炎、フロイントアジュバント関節炎及び移植片対宿主病を抑制する強力な免疫抑制剤である。本開示のＨＤＡＣＩは、臓器移植後の臓器拒絶反応の予防、関節リウマチの治療、乾癬の治療、ならびに他の自己免疫疾患、例えば、Ｉ型糖尿病、クローン病、狼瘡の治療に有用である。

【０１３８】

治療有効量の本ＨＤＡＣＩは、例えば、臓器拒絶反応または移植片対宿主病の予防、ならびに自己免疫及び炎症性疾患及び状態等の疾患及び状態の治療を含めた免疫抑制に使用され得る。自己免疫疾患及び炎症性疾患の例としては、橋本甲状腺炎、悪性貧血、アジソン病、乾癬、糖尿病、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、エリテマトーデス、多発性硬化症、重症筋無力症、ライター症候群、関節炎（関節リウマチ、慢性進行性関節炎、変形性関節炎）及びリウマチ性疾患、自己免疫性血液疾患（溶血性貧血、再生不良性貧血、真正赤血球性貧血及び特発性血小板減少症）、全身性エリテマトーデス、多発性軟骨炎、強皮症、ウェゲナー肉芽腫症、皮膚筋炎、慢性活動性肝炎、乾癬、スティーブン・ジョンソン症候群、特発性スプルー、自己免疫性炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）内分泌性眼障害、バセドウ病、サルコイドーシス、原発性胆汁性肝硬変、若年性糖尿病（Ｉ型糖尿病）、ブドウ膜炎（前部及び後部）、乾性角結膜炎及び春季カタル、間質性肺線維症、乾癬性関節炎、ならびに糸球体腎炎が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１３９】

本ＨＤＡＣＩは、単独で使用される場合もあれば、自己免疫疾患、炎症、移植、及び移植片の治療に有用であることが既知の第二の治療因子、例えば、シクロスポリン、ラパマイシン、メトトレキサート、シクロホスファミド、アザチオプリン、コルチコステロイド、及び当業者に既知の同様の薬剤と組み合わせて使用される場合もある。

【０１４０】

ＨＤＡＣ、例えば、ＨＤＡＣ６によって媒介されるさらなる疾患及び状態としては、喘息、心肥大、巨大軸索ニューロパシー、単ニューロパシー、単神経炎、多発ニューロパシー、自律性ニューロパシー、一般神経炎、及び一般ニューロパシーが挙げられるがこれらに限定されない。これらの疾患及び状態もまた、本開示の方法により治療され得る。

【０１４１】

本方法では、治療有効量の１つ以上の本開示のＨＤＡＣＩは、通常、薬務に従って製剤化され、それを必要とするヒトに対して投与される。かかる治療が示唆されるかどうかは、個々の症例に依存し、存在する徴候、症状、及び／または不調、徴候、症状及び／または不調を示すリスク、ならびに他の要因を考慮した医学的評価（診断）に従う。

【０１４２】

本ＨＤＡＣＩは、任意の適切な経路によって、例えば、経口、頬側、吸入、局所、舌下、直腸内、膣内、腰椎穿刺を通した大槽内もしくはくも膜下腔内、経尿道、経鼻、経皮（ｐｅｒｃｕｔａｎｅｏｕｓ）、すなわち、経皮（ｔｒａｎｓｄｅｒｍａｌ）、または非経口（静脈内、筋肉内、皮下、冠内、皮内、乳房内、腹腔内、関節内、くも膜下腔内、球後、肺内注射、及び／または部位での外科埋め込みを含む）投与によって投与され得る。非経口投与は、針及びシリンジを使用して、または高圧技術を使用して達成され得る。

【０１４３】

医薬組成物は、本ＨＤＡＣＩが、その意図された目的を達成するために有効な量で投与されるように十分な量で存在するものを含む。正確な製剤、投与経路、及び投与量は、診断された状態または疾患を考慮して個々の医師によって決定される。投与量及び間隔は、治療効果を維持するために十分な本ＨＤＡＣＩのレベルを提供するように個々に調整され得る。

【０１４４】

本ＨＤＡＣＩ化合物の毒性及び治療効果は、細胞培養物または実験動物において、例えば、$ＬＤ_{５０}$（当該集団の５０％が死に至る用量）及び$ＥＤ_{５０}$（当該集団の５０％に治療上有効な用量）を測定するための標準的な薬学的手順により決定され得る。毒性と治療効果との間の用量比が治療指数であり、これは、$ＬＤ_{５０}$と$ＥＤ_{５０}$との間の比として表される。高治療指数を示す化合物が好ましい。かかる手順から得られたデータは、ヒトで使用するための投与量範囲を策定する際に使用され得る。該投与量は、好ましくは、毒性がほとんどまたは全くない$ＥＤ_{５０}$を含む血中化合物濃度の範囲内にある。該投与量は、採用される剤形及び利用される投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。治療有効量の決定は、特に本明細書に提供する詳細な開示を考慮すれば、十分当業者の能力の範囲内である。

【０１４５】

治療での使用に必要な本ＨＤＡＣＩの治療有効量は、治療される状態の性質、活性が望まれる時間の長さ、ならびに当該患者の年齢及び状態によって変化し、最終的には担当医によって決定される。投与量及び間隔は、所望の治療効果を維持するために十分な本ＨＤＡＣＩの血漿レベルを提供するように個々に調整され得る。所望の用量は、単回用量で、または例えば、１日１回、２回、３回、４回、もしくはそれ以上の部分用量として適切な間隔で投与される複数回用量として、都合に合わせて投与され得る。多くの場合、複数回用量が望ましいか、または必要である。例えば、本ＨＤＡＣＩは、１日１回４日間隔で４回投与（ｑ４ｄ×４）、１日１回３日間隔で４回投与（ｑ３ｄ×４）、１日１回５日間隔で投与（ｑｄ×５）、週１回３週間投与（ｑｗｋ３）、５日間連日投与、２日間休み、及びさらに５日間連日投与（５／２／５）、または当該状況について適切であると判断される任意の投与計画の頻度で投与され得る。

【０１４６】

本ＨＤＡＣＩを含む組成物、またはそれを含む組成物の投与量は、体重で約１ｎｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇ、約１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇ、または約１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇであり得る。上記の投与量は、平均的な症例の例示的なものであるが、より高いまたはより低い投与量に値する個々の例が存在する可能性があり、それらは本開示の範囲内にある。実際には、医師が、個々の患者にとって最も適切であり、該患者の年齢、体重、及び反応によって変化し得る実際の投与計画を決定する。

【０１４７】

本開示の方法で使用される本ＨＤＡＣＩは、通常、１回あたり約０．００５～約５００ミリグラム、１回あたり約０．０５～約２５０ミリグラム、または１回あたり約０．５～約１００ミリグラムの量で投与される。例えば、本ＨＤＡＣＩは、１回あたり、０．００５～５００ミリグラムの間のすべての用量を含め、約０．００５、０．０５、０．５、５、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、または５００ミリグラムの量で投与され得る。

【０１４８】

本開示のＨＤＡＣＩは、通常、意図される投与経路及び標準的な薬務に関して選択される医薬担体と混合して投与される。本開示に従って使用するための医薬組成物は、本ＨＤＡＣＩの処理を容易にする賦形剤及び助剤を含む１つ以上の生理学的に許容される担体を使用して従来の方法で製剤化される。

【０１４９】

「担体」という用語は、本ＨＤＡＣＩとともに投与される希釈剤、アジュバント、または賦形剤を指す。かかる医薬担体は、液体、例えば、水、及び石油性、動物性、植物性ま

たは合成由来のものを含めた油、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油等であり得る。該担体は、食塩水、アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイドシリカ、尿素等であり得る。加えて、助剤、安定剤、増粘剤、滑沢剤、及び着色剤を使用することができる。該医薬的に許容される担体は、無菌である。本ＨＤＡＣＩが静脈内投与される場合には、水が好ましい担体である。例えば、注射剤用の液体担体として、食塩水溶液ならびにデキストロース及びグリセロール水溶液もまた採用され得る。適切な医薬担体はまた、賦形剤、例えば、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール等も含む。本組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはｐＨ緩衝剤を含むこともできる。

【０１５０】

これらの医薬組成物は、例えば、従来の混合、溶解、造粒、糖衣錠作製、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥プロセスによって製造され得る。適切な製剤は、選択される投与経路に依存する。治療有効量の本ＨＤＡＣＩが経口投与される場合、該組成物は、通常、錠剤、カプセル、粉末、溶液、またはエリキシルの形態である。錠剤形態で投与される場合、該組成物は、さらに、固体担体、例えば、ゼラチンまたはアジュバントを含むことができる。該錠剤、カプセル、及び粉末は、約０．０１％～約９５％、好ましくは、約１％～約５０％の本ＨＤＡＣＩを含む。液体形態で投与される場合、液体担体、例えば、水、石油、または動物もしくは植物由来の油を加えることができる。該組成物の液体形態は、さらに、生理食塩水、デキストロースまたは他のサッカリド溶液、またはグリコールを含むことができる。液体形態で投与される場合、該組成物は、約０．１重量％～約９０重量％、好ましくは、約１重量％～約５０重量％の本化合物を含む。

【０１５１】

治療有効量の本ＨＤＡＣＩが静脈内、皮膚、または皮下注射によって投与される場合、該組成物は、パイロジェンフリーの非経口的に許容される水溶液の形態である。ｐＨ、等張性、安定性等を十分に考慮して、かかる非経口的に許容される溶液を調製することは、当業者が備えている技能の範囲内である。静脈内、皮膚、または皮下注射のための好ましい組成物は、通常、等張媒体を含む。本ＨＤＡＣＩは、１０～３０分または数時間かけて他の液体とともに注入され得る。

【０１５２】

本ＨＤＡＣＩは、当技術分野で周知の医薬的に許容される担体と容易に混合され得る。かかる担体は、治療を受ける患者による経口摂取用の錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液等としての当該活性薬剤の製剤化を可能にする。経口使用のための医薬品は、本ＨＤＡＣＩを固体賦形剤に添加し、任意に得られた混合物を粉砕し、必要に応じて適切な助剤を添加した後、該混合物の顆粒を処理して錠剤または糖衣錠コアを得ることによって得られる。適切な賦形剤としては、例えば、充填剤及びセルロース調製物が挙げられる。必要に応じて、崩壊剤が添加され得る。

【０１５３】

本ＨＤＡＣＩは、注射による、例えば、ボーラス注射または持続注入による非経口投与用に製剤化され得る。注射用の製剤は、単位剤形で、例えば、アンプルにて、または複数回投与容器にて、保存剤を加えて提示され得る。該組成物は、油性または水性媒体の懸濁液、溶液、またはエマルション等の形態をとることができ、また、懸濁剤、安定剤、及び／または分散剤等の調合剤を含むことができる。

【０１５４】

非経口投与用の医薬組成物は、水溶性形態の活性薬剤の水溶液を含む。さらに、本ＨＤＡＣＩの懸濁液は、適切な油性注射懸濁液として調製され得る。適切な親油性溶媒または媒体としては、脂肪油または合成脂肪酸エステルが挙げられる。水性注射懸濁液は、当該懸濁液の粘度を増加させる物質を含み得る。任意に、該懸濁液はまた、該化合物の溶解性を高め、高濃度の溶液の調製を可能にする適切な安定剤または薬剤を含むこともできる。

代替的に、本組成物は、適切な媒体、例えば、滅菌パイロジェンフリー水で使用前に構成するための粉体形態であり得る。

【０１５５】

本ＨＤＡＣＩはまた、例えば、従来の坐剤基剤を含む坐剤または停留かん腸等の直腸組成物に製剤化され得る。先に記載した製剤に加えて、本ＨＤＡＣＩはまた、デポー製剤として製剤化され得る。かかる長時間作用性製剤は、埋め込み（例えば、皮下もしくは筋肉内）または筋肉内注射により投与され得る。従って、例えば、本ＨＤＡＣＩは、適切なポリマーもしくは疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルションとして）またはイオン交換樹脂とともに製剤化され得る。

【０１５６】

いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、経口、頬側、または舌下に、デンプンまたはラクトース等の賦形剤を含む錠剤の形態で投与される場合もあれば、カプセルまたは腔坐剤にて、単独でまたは賦形剤との混合物で投与される場合もあれば、香料または着色剤を含むエリキシルまたは懸濁液の形態で投与される場合もある。かかる液体製剤は、医薬的に許容される添加剤、例えば、懸濁剤とともに調製され得る。本ＨＤＡＣＩはまた、非経口的に、例えば、静脈内、筋肉内、皮下、または冠動脈内に注射され得る。非経口投与の場合、本ＨＤＡＣＩは、滅菌水溶液の形態での使用に最も適しており、これは、他の物質、例えば、塩または単糖類、例えば、マンニトールまたはグルコースを含んで該溶液を血液と等張にすることができる。

【０１５７】

さらなる実施形態として、本開示は、本開示の方法を実施するための使用を容易にする様式で包装された１つ以上の化合物または組成物を含むキットを含む。１つの単純な実施形態では、該キットは、密閉ボトルまたは容器等の容器に包装された、方法の実施に有用であると本明細書に記載されている化合物または組成物（例えば、本ＨＤＡＣＩ及び任意成分の第二の治療因子を含む組成物）を含み、本開示の方法を実施するための該化合物または組成物の使用を記載したラベルが、該容器に添付されるか、または該キットに含まれる。好ましくは、該化合物または組成物は、単位剤形に包装される。該キットは、さらに、意図される投与経路に従って該組成物を投与するために適した装置、例えば、シリンジ、ドリップバッグ、またはパッチを含むことができる。別の実施形態では、本化合物は凍結乾燥物である。この例では、該キットは、さらに、該凍結乾燥物の再構築に有用な溶液を含むさらなる容器を含み得る。

【０１５８】

以前のＨＤＡＣＩは、治療因子としてのそれらの開発を妨げる特性を有していた。本開示の重要な特徴に従って、本ＨＤＡＣＩを合成し、ＨＤＡＣの阻害剤として評価した。本化合物は、以前の化合物と比較して、ＨＤＡＣ６効力ならびにＨＤＡＣ１及びＨＤＡＣ８に対する選択性の増加を示し、ＢＥＩが改善されている。本化合物の改善された特性、例えば、ＢＥＩの増加及びＨＤＡＣ８での効力の低下は、本化合物が免疫抑制剤及び神経保護剤等であるがこれらに限定されない用途に有用であることを示している。例えば、本開示の化合物は、通常、ＨＤＡＣ６に対する結合親和性（IC_{50}）が１００μＭ未満、２５μＭ未満、１０μＭ未満、１μＭ未満、０．５μＭ未満、及び０．２μＭ未満である。

【０１５９】

合成方法及び手順

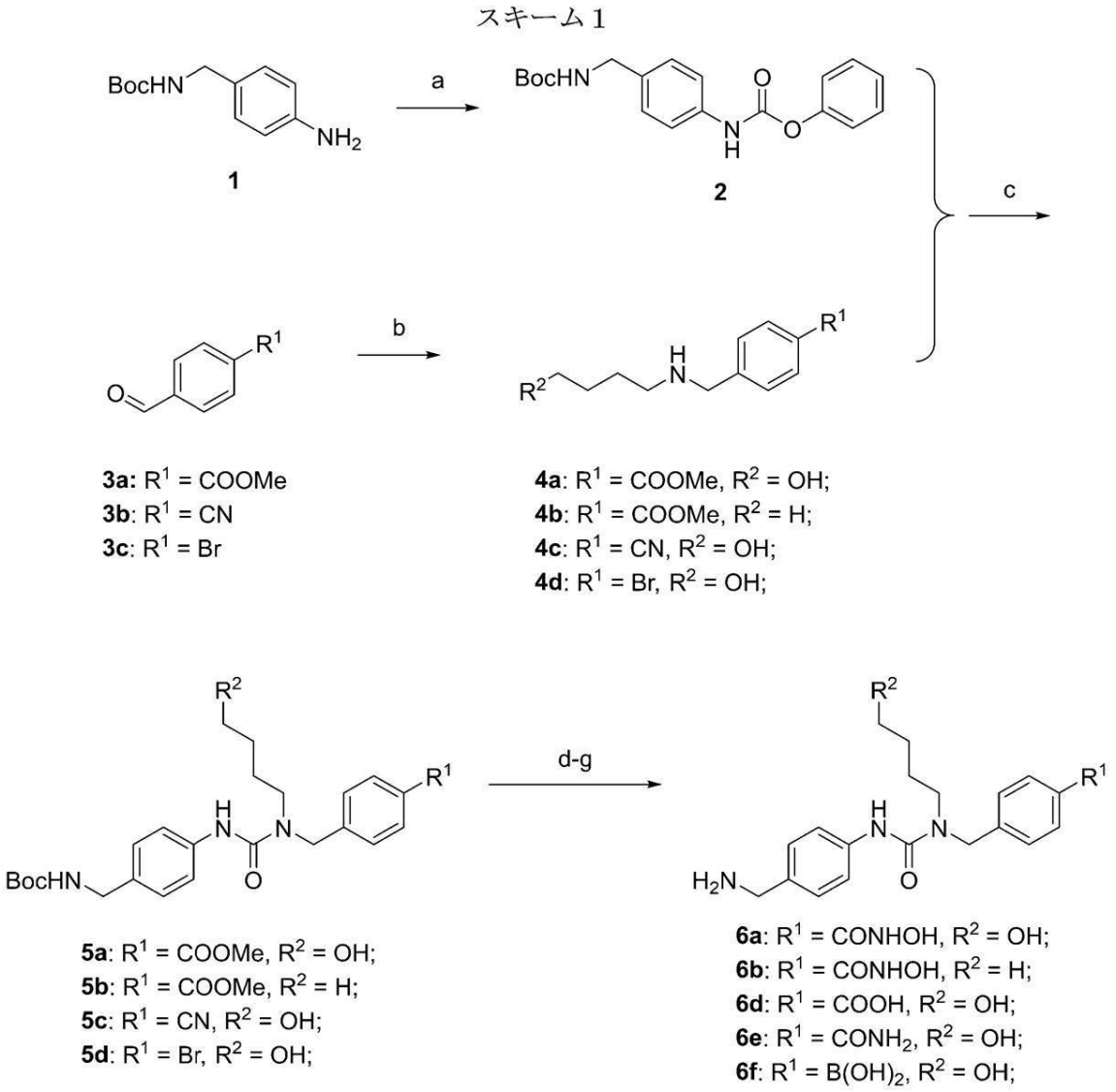
すべての出発物質及び溶媒は、試薬純度で商業的な供給業者から購入し、特に断りのない限り、さらに精製することなくそのまま使用した。水分敏感反応で媒体として使用される乾燥溶媒は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから無水グレードで購入し、アルゴン下で操作した。すべての反応は、不活性（アルゴン）雰囲気下、乾燥状態で行った。マイクロ波反応は、ＢｉｏｔａｇｅのＩｎｉｔｉａｔｏｒマイクロ波反応器で実行した。反応を、シリカゲル被覆ガラスプレート（ＴＬＣ ＬｕｘＰｌａｔｅ Ｓｉｌｉｃａ ｇｅｌ ６０ Ｆ２５４、Ｍｅｒｃｋ）での薄層クロマトグラフィーにより、２５４ｎｍで可視化して、及び／または適切な染料を使用して監視した。示されている場合、合成中間体は、適切な溶媒

混合物を使用して、ＣｏｍｂｉＦｌａｓｈ（登録商標）システムでの２３０～４００メッシュのシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。最終生成物は、Ｓｈｉｍａｄｚｕ分取液体クロマトグラフ［ＡＣＥ　５ＡＱ（１５０×２１．２ｍｍ）粒径５μｍを用いた分取ＨＰＬＣにより精製した。方法１：２５～１００％ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$、３０分、１００％ＭｅＯＨ、５分、１００～２５％ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$、４分。方法２：８～１００％ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$、３０分、１００％ＭｅＯＨ、５分、１００～８％ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$、４分。方法３：０％ＭｅＯＨ、５分、０～１００％ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$、２５分、１００％ＭｅＯＨ、５分、１００～０％ＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$、４分。流量＝１７ｍＬ／分］、２５４及び２８０ｎｍで監視。両方の溶媒に０．０５％ＴＦＡを添加した。^{1}Ｈ及び^{13}Ｃ　ＮＭＲスペクトルを、それぞれ、４００ＭＨｚ及び１００．６ＭＨｚで、ＢｒｕｋｅｒＤＰＸ－４００またはＡＶＡＮＣＥ－４００分光計で記録した。化学シフト（δスケール）は、ＴＭＳに対して１００万分の１（ｐｐｍ）で報告されている。^{1}Ｈ　ＮＭＲスペクトルは、次の順序で報告されている：プロトンの多重度及び数、シグナルは、ｓ（一重項）、ｄ（二重項）、ｄｄ（二重項の二重項）、ｔ（三重項）、ｍ（多重項）、ｂｓ（ブロードシグナル）。ＨＲＭＳスペクトルは、ＬＣＭＳ－ＩＴ－ＴＯＦ（Ｓｈｉｍａｄｚｕ）を備えたＥＳＩを使用して記録した。すべての最終化合物の純度は、分析用ＨＰＬＣによって測定した［ＡＣＥ　３ＡＱ　Ｃ１８カラム（１５０×４．６ｍｍ、粒径３μＭ）、０．０５％ＴＦＡを含む$Ｈ_2Ｏ$／０．０５％ＴＦＡを含むＭｅＯＨの勾配溶出系、流量＝１．０ｍＬ／分］。すべての化合物は、ＨＰＬＣ分析で測定して、９５％を超える純度で試験した。

【０１６０】

本開示の代表的なＨＤＡＣ６阻害剤であるＳｕｐｒａｓｔａｔの合成経路をスキーム１に示す。スキーム１によれば、一般的なカルバメート中間体２は、$Ｋ_2ＣＯ_3$／アセトン条件下、クロロギ酸フェニル及びアニリン１から。メチル４－ホルミルベンゾエート３ａを４－アミノ－１－ブタノールで急速に還元的にアミノ化し、中間体４ａを得た。続いて、ＴＥＡ／ＴＨＦ条件下、２と４ａ間の組み合わせ反応により、重要尿素前駆体５ａを得、これをさらに、塩基性条件下、ヒドロキシルアミン水溶液を使用し、Ｂｏｃ基を脱保護するためのＴＦＡ／ＴＨＦ条件を使用して、最終ヒドロキサム酸生成物６ａ（Ｓｕｐｒａｓｔａｔ）に変換した。次の生物学的実験でＳｕｐｒａｓｔａｔと一緒に評価するため、Ｓｕｐｒａｓｔａｔと同じ合成経路を使用して、アミノメチル基及び近位の尿素窒素に結合した元のブチル鎖を有する類似体６ｂも調製した。ヒドロキシルブチル側鎖を含む６ｃ（表１）の合成は、以前に報告されている（例えば、Ｂｅｒｇｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５５：９８９１－９８９９（２０１２）参照）。さらに、Ｓｕｐｒａｔｓｔａｔと同じキャップを含む非ヒドロキサム酸類似体６ｄ～ｆを調製し、評価して、さらなる水素結合相互作用がヒドロキサム酸ＺＢＧなしで活性を保持できるかどうかを、ケトン／アミド系クラスＩ　ＨＤＡＣＩに端を発して調査した（例えば、Ｋｏｙａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．７２：３９２８－３９３７（２０１２）、またはＯ’Ｄｏｎｎｅｌｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｒｅａｔ　Ｒｅｖ．５２：７１－８１（２０１７）参照）。カルボン酸類似体６ｄは、尿素エステル５ａから、塩基性条件下での加水分解及びＢｏｃ脱保護により直接得た。アミド類似体６ｅを合成するために、４－ホルミルベンゾニトリル３ｂに二段階の還元的アミノ化を行い、続いてカルバメート２と反応させて中間体尿素５ｃを生成した。塩基性条件下で過酸化水素水溶液で処理することにより、５ｃのニトリル基をさらにアミド基に変換し、上記の通り、Ｂｏｃ脱保護により最終生成物６ｅを得た。ボロン酸類似体６ｆへの合成経路は、４－ブロモベンズアルデヒド３ｃの還元的アミノ化から始め、中間体尿素５ｄを得るための上記と同じ手順を使用した尿素形成を続けた。前駆体５ｄを、ＫＯＡｃ／Ｐｄ（ｄｐｐｆ）$Ｃｌ_2$条件下、ビス（ピナコラート）ジボロンとカップリング反応させた。最後に、所望のボロン酸生成物６ｆを、それぞれ、$ＮａＩＯ_4$／$ＮＨ_4ＯＡｃ$及びＴＦＡ／ＴＨＦ下、ピナコールの脱保護及びＢｏｃ脱保護により得た。

【化８】



スキーム１　６ａ～ｂへの合成経路。試薬及び条件：（ａ）クロロギ酸フェニル、K_2CO_3、アセトン、室温、２時間、（ｂ）ｉ）４ａ、４ｃ、及び４ｄの場合、４－アミノ－１－ブタノール、４ｂの場合、ｎ－ブチルアミン、ＥｔＯＨ、還流、２時間、ｉｉ）$NaBH_4$、ＭｅＯＨ、０℃～室温、２時間、（ｃ）２、ＴＥＡ、ＴＨＦ、還流、２時間、（ｄ）６ａ及び６ｂの場合：ｉ）NH_2OH水溶液（５０％）、ＮａＯＨ、ＴＨＦ／ＭｅＯＨ、０℃、１５分、ｉｉ）ＴＦＡ、ＴＨＦ、室温、０．５時間、（ｅ）６ｄの場合：ｉ）１Ｎ　ＮａＯＨ、ＴＨＦ／ＭｅＯＨ、室温、終夜、ｉｉ）ＴＦＡ、ＴＨＦ、室温、０．５時間、（ｆ）６ｅの場合：ｉ）H_2O_2（３０％）、K_2CO_3、ＤＭＳＯ、室温、５時間、ｉｉ）ＴＦＡ、ＴＨＦ、室温、０．５時間、（ｇ）６ｆの場合：ｉ）B_2pin_2、ＫＯＡｃ、Ｐｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2、ＤＭＦ、８０℃、終夜、ｉｉ）$NaIO_4$、NH_4OAc、アセトン－H_2O、室温、終夜、ｉｉｉ）ＴＦＡ、ＴＨＦ、室温、０．５時間。

【０１６１】

ＨＤＡＣ阻害剤の使用

本開示のＨＤＡＣＩは、単独で使用される場合もあれば、自己免疫疾患、炎症、移植、及び移植片を含めた様々な疾患の治療に有用であることが既知の第二の治療因子、例えば、シクロスポリン、ラパマイシン、メトトレキサート、シクロホスファミド、アザチオプリン、コルチコステロイド、及び当業者に既知の同様の薬剤と組み合わせて使用される場

合もある。

【０１６２】

ＨＤＡＣ、及び例えば、ＨＤＡＣ６によって媒介されるさらなる疾患及び状態としては、喘息、心肥大、巨大軸索ニューロパシー、単ニューロパシー、単神経炎、多発ニューロパシー、自律性ニューロパシー、一般神経炎、及び一般ニューロパシーが挙げられるがこれらに限定されない。これらの疾患及び状態もまた、本開示の方法により治療され得る。

【０１６３】

本方法では、治療有効量の１つ以上の本開示のＨＤＡＣＩは、通常、薬務に従って製剤化され、それを必要とするヒトに対して投与される。かかる治療が示唆されるかどうかは、個々の症例に依存し、存在する徴候、症状、及び／または不調、徴候、症状及び／または不調を示すリスク、ならびに他の要因を考慮した医学的評価（診断）に従う。

【０１６４】

本ＨＤＡＣＩは、任意の適切な経路によって、例えば、経口、頬側、吸入、局所、舌下、直腸内、膣内、腰椎穿刺を通した大槽内もしくはくも膜下腔内、経尿道、経鼻、経皮（ｐｅｒｃｕｔａｎｅｏｕｓ）、すなわち、経皮（ｔｒａｎｓｄｅｒｍａｌ）、または非経口（静脈内、筋肉内、皮下、冠内、皮内、乳房内、腹腔内、関節内、くも膜下腔内、球後、肺内注射、及び／または部位での外科埋め込みを含む）投与によって投与され得る。非経口投与は、針及びシリンジを使用して、または高圧技術を使用して達成され得る。

【０１６５】

医薬組成物は、本ＨＤＡＣＩが、その意図された目的を達成するために有効な量で投与されるように十分な量で存在するものを含む。正確な製剤、投与経路、及び投与量は、診断された状態または疾患を考慮して個々の医師によって決定される。投与量及び間隔は、治療効果を維持するために十分な本ＨＤＡＣＩのレベルを提供するように個々に調整され得る。

【０１６６】

本ＨＤＡＣＩ化合物の毒性及び治療効果は、細胞培養物または実験動物において、例えば、ＬＤｓｏ（当該集団の５０％が死に至る用量）及びＥＤ$_{50}$（当該集団の５０％に治療上有効な用量）を測定するための標準的な薬学的手順により決定され得る。毒性と治療効果との間の用量比が治療指数であり、これは、ＬＤ$_{50}$とＥＤ$_{50}$との間の比として表される。高治療指数を示す化合物が好ましい。かかる手順から得られたデータは、ヒトで使用するための投与量範囲を策定する際に使用され得る。該投与量は、好ましくは、毒性がほとんどまたは全くないＥＤ５０を含む血中化合物濃度の範囲内にある。該投与量は、採用される剤形及び利用される投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。治療有効量の決定は、特に本明細書に提供する詳細な開示を考慮すれば、十分当業者の能力の範囲内である。

【０１６７】

治療での使用に必要な本ＨＤＡＣＩの治療有効量は、治療される状態の性質、活性が望まれる時間の長さ、ならびに当該患者の年齢及び状態によって変化し、最終的には担当医によって決定される。投与量及び間隔は、所望の治療効果を維持するために十分な本ＨＤＡＣＩの血漿レベルを提供するように個々に調整され得る。所望の用量は、単回用量で、または例えば、１日１回、２回、３回、４回、もしくはそれ以上の部分用量として適切な間隔で投与される複数回用量として、都合に合わせて投与され得る。多くの場合、複数回用量が望ましいか、または必要である。例えば、本ＨＤＡＣＩは、１日１回４日間隔で４回投与（ｑ４ｄ×４）、１日１回３日間隔で４回投与（ｑ３ｄ×４）、１日１回５日間隔で投与（ｑｄ×５）、週１回３週間投与（ｑｗｋ３）、５日間連日投与、２日間休み、及びさらに５日間連日投与（５／２／５）、または当該状況について適切であると判断される任意の投与計画の頻度で投与され得る。

【０１６８】

本ＨＤＡＣＩを含む組成物、またはそれを含む組成物の投与量は、体重で約１ｎｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇ、約１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇ、または約１ｍｇ／ｋｇ

～約５０ｍｇ／ｋｇであり得る。該組成物の投与量は、約１μｇ／ｋｇ、１０μｇ／ｋｇ～２００ｍｇ／ｋｇが挙げられるがこれらに限定されない任意の投与量でよい。上記の投与量は、平均的な症例の例示的なものであるが、より高いまたはより低い投与量に値する個々の例が存在する可能性があり、それらは本開示の範囲内にある。実際には、医師が、個々の患者にとって最も適切であり、該患者の年齢、体重、及び反応によって変化し得る実際の投与計画を決定する。

【０１６９】

本開示の方法で使用される本ＨＤＡＣＩは、通常、１回あたり約０．００５～約５００ミリグラム、１回あたり約０．０５～約２５０ミリグラム、または１回あたり約０．５～約１００ミリグラムの量で投与される。例えば、本ＨＤＡＣＩは、１回あたり、０．００５～５００ミリグラムの間のすべての用量を含め、約０．００５、０．０５、０．５、５、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、または５００ミリグラムの量で投与され得る。

【０１７０】

本開示のＨＤＡＣＩは、通常、意図される投与経路及び標準的な薬務に関して選択される医薬担体と混合して投与される。本開示に従って使用するための医薬組成物は、本ＨＤＡＣＩの処理を容易にする賦形剤及び助剤を含む１つ以上の生理学的に許容される担体を使用して従来の方法で製剤化される。

【０１７１】

「担体」という用語は、本ＨＤＡＣＩとともに投与される希釈剤、アジュバント、または賦形剤を指す。かかる医薬担体は、液体、例えば、水、及び石油性、動物性、植物性または合成由来のものを含めた油、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油等であり得る。該担体は、食塩水、アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイドシリカ、尿素等であり得る。加えて、助剤、安定剤、増粘剤、滑沢剤、及び着色剤を使用することができる。該医薬的に許容される担体は、無菌である。本ＨＤＡＣＩが静脈内投与される場合には、水が好ましい担体である。例えば、注射剤用の液体担体として、食塩水溶液ならびにデキストロース及びグリセロール水溶液もまた採用され得る。適切な医薬担体はまた、賦形剤、例えば、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール等も含む。本組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはｐＨ緩衝剤を含むこともできる。

【０１７２】

これらの医薬組成物は、例えば、従来の混合、溶解、造粒、糖衣錠作製、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥プロセスによって製造され得る。適切な製剤は、選択される投与経路に依存する。治療有効量の本ＨＤＡＣＩが経口投与される場合、該組成物は、通常、錠剤、カプセル、粉末、溶液、またはエリキシルの形態である。錠剤形態で投与される場合、該組成物は、さらに、固体担体、例えば、ゼラチンまたはアジュバントを含むことができる。該錠剤、カプセル、及び粉末は、約０．０１％～約９５％、好ましくは、約１％～約５０％の本ＨＤＡＣＩを含む。液体形態で投与される場合、液体担体、例えば、水、石油、または動物もしくは植物由来の油を加えることができる。該組成物の液体形態は、さらに、生理食塩水、デキストロースまたは他のサッカリド溶液、またはグリコールを含むことができる。液体形態で投与される場合、該組成物は、約０．１重量％～約９０重量％、好ましくは、約１重量％～約５０重量％の本化合物を含む。

【０１７３】

治療有効量の本ＨＤＡＣＩが静脈内、皮膚、または皮下注射によって投与される場合、該組成物は、パイロジェンフリーの非経口的に許容される水溶液の形態である。ｐＨ、等張性、安定性等を十分に考慮して、かかる非経口的に許容される溶液を調製することは、当業者が備えている技能の範囲内である。静脈内、皮膚、または皮下注射のための好ましい組成物は、通常、等張媒体を含む。本ＨＤＡＣＩは、１０～３０分または数時間かけて

他の液体とともに注入され得る。

【０１７４】

本ＨＤＡＣＩは、当技術分野で周知の医薬的に許容される担体と容易に混合され得る。かかる担体は、治療を受ける患者による経口摂取用の錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液等としての当該活性薬剤の製剤化を可能にする。経口使用のための医薬品は、本ＨＤＡＣＩを固体賦形剤に添加し、任意に得られた混合物を粉砕し、必要に応じて適切な助剤を添加した後、該混合物の顆粒を処理して錠剤または糖衣錠コアを得ることによって得られる。適切な賦形剤としては、例えば、充填剤及びセルロース調製物が挙げられる。必要に応じて、崩壊剤が添加され得る。

【０１７５】

本ＨＤＡＣＩは、注射による、例えば、ボーラス注射または持続注入による非経口投与用に製剤化され得る。注射用の製剤は、単位剤形で、例えば、アンプルにて、または複数回投与容器にて、保存剤を加えて提示され得る。該組成物は、油性または水性媒体の懸濁液、溶液、またはエマルション等の形態をとることができ、また、懸濁剤、安定剤、及び／または分散剤等の調合剤を含むことができる。

【０１７６】

非経口投与用の医薬組成物は、水溶性形態の活性薬剤の水溶液を含む。さらに、本ＨＤＡＣＩの懸濁液は、適切な油性注射懸濁液として調製され得る。適切な親油性溶媒または媒体としては、脂肪油または合成脂肪酸エステルが挙げられる。水性注射懸濁液は、当該懸濁液の粘度を増加させる物質を含み得る。

【０１７７】

任意に、該懸濁液はまた、該化合物の溶解性を高め、高濃度の溶液の調製を可能にする適切な安定剤または薬剤を含むこともできる。代替的に、本組成物は、適切な媒体、例えば、滅菌パイロジェンフリー水で使用前に構成するための粉体形態であり得る。

【０１７８】

本ＨＤＡＣＩはまた、例えば、従来の坐剤基剤を含む坐剤または停留かん腸等の直腸組成物に製剤化され得る。先に記載した製剤に加えて、本ＨＤＡＣＩはまた、デポー製剤として製剤化され得る。かかる長時間作用性製剤は、埋め込み（例えば、皮下もしくは筋肉内）または筋肉内注射により投与され得る。従って、例えば、本ＨＤＡＣＩは、適切なポリマーもしくは疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルションとして）またはイオン交換樹脂とともに製剤化され得る。

【０１７９】

いくつかの実施形態では、本ＨＤＡＣＩは、経口、頬側、または舌下に、デンプンまたはラクトース等の賦形剤を含む錠剤の形態で投与される場合もあれば、カプセルまたは腔坐剤にて、単独でまたは賦形剤との混合物で投与される場合もあれば、香料または着色剤を含むエリキシルまたは懸濁液の形態で投与される場合もある。かかる液体製剤は、医薬的に許容される添加剤、例えば、懸濁剤とともに調製され得る。本ＨＤＡＣＩはまた、非経口的に、例えば、静脈内、筋肉内、皮下、または冠動脈内に注射され得る。非経口投与の場合、本ＨＤＡＣＩは、滅菌水溶液の形態での使用に最も適しており、これは、他の物質、例えば、塩または単糖類、例えば、マンニトールまたはグルコースを含んで該溶液を血液と等張にすることができる。

【０１８０】

さらなる実施形態として、本開示は、本開示の方法を実施するための使用を容易にする様式で包装された１つ以上の化合物または組成物を含むキットを含む。１つの単純な実施形態では、該キットは、密閉ボトルまたは容器等の容器に包装された、方法の実施に有用であると本明細書に記載されている化合物または組成物（例えば、本ＨＤＡＣＩ及び任意成分の第二の治療因子を含む組成物）を含み、本開示の方法を実施するための該化合物または組成物の使用を記載したラベルが、該容器に添付されるか、または該キットに含まれる。好ましくは、該化合物または組成物は、単位剤形に包装される。該キットは、さらに、意図される投与経路に従って該組成物を投与するために適した装置、例えば、シリンジ

、ドリップバッグ、またはパッチを含むことができる。別の実施形態では、選択された化合物は、凍結乾燥物である。この例では、該キットは、さらに、該凍結乾燥物の再構築に有用な溶液を含むさらなる容器を含み得る。

【０１８１】

いくつかの従来のＨＤＡＣＩは、多くの場合、いくつかの既知のＨＤＡＣに対して活性を示すという事実のため、がん以外の疾患に対する治療因子としてのそれらの開発を妨げやすい特性を有する。従って、本開示の重要な特徴は、本開示の化合物がアイソフォーム選択性を示すという事実に関する。本化合物は、他のＨＤＡＣと比較して、ＨＤＡＣ６に対する阻害効力及び選択性の増加、例えば、クラスＩよりもクラスＩＩに対してより高い選択性を示す。本化合物の改善された特性は、これらの化合物が、免疫抑制剤及び神経保護剤、ならびにアルツハイマー病、うつ病、レット症候群、シャルコー・マリー・トゥース病、脳癌等であるがこれらに限定されない用途に有用であるはずであることを示す。例えば、本開示の化合物は、通常、ＨＤＡＣ６に対する結合親和性（IC_{50}）が１μＭ未満、場合によっては、１０ｎＭ未満である。

【０１８２】

いくつかの態様では、本開示は、以下の特定の実施形態を提供する。

【０１８３】

実施形態１．上記式Ｉの化合物、またはその医薬的に許容される塩であって、式中、R^1及びR^2は、独立して、水素及びC_1－C_6アルキルからなる群から選択されるか、または、R^1とR^2が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、L^1は、CO_2H、Ｃ（Ｏ）NH_2、Ｃ（Ｏ）ＮＨＯＨ、またはＢ（ＯＨ）$_2$であり、L^2は、ＨまたはＯR^3であり、R^3は、水素、アセチル、C_1－C_6アルキル、C_1－C_6ハロアルキル、C_3－C_6シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びC_5－C_6ヘテロシクリルからなる群から選択され、各Ｘは、独立して、水素またはハロゲンであり、ｐは、０、１、２、または３であり、Ｙ及びＺは、独立して、炭素及び窒素からなる群から選択され、ｍは、１、２、３または４であり、ｎは、０、１または２である、前記化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１８４】

実施形態２．R^1、R^2及びR^3が、独立して、C_1－C_6分岐アルキルである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１８５】

実施形態３．L^1が、Ｃ（Ｏ）ＮＨＯＨである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１８６】

実施形態４．前記化合物が、式Ｉｂである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１８７】

実施形態５．前記化合物が、式Ｉｃである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１８８】

実施形態６．前記化合物が、式Ｉｄである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１８９】

実施形態７．前記化合物が、式Ｉｅである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１９０】

実施形態８．前記化合物が、化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、または６ｆである、実施形態１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【０１９１】

実施形態９．（ａ）式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ

、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、（ｂ）ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子、ならびに（ｃ）任意に賦形剤及び／または医薬的に許容される担体を含む組成物。

【０１９２】

実施形態１０．前記第二の治療因子が、がんの治療に有用な化学療法剤を含む、実施形態９に記載の組成物。

【０１９３】

実施形態１１．式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、及び医薬的に許容される担体または媒体を含む医薬組成物。

【０１９４】

実施形態１２．ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす個体における疾患または状態の治療のための薬剤の製造のための式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物の使用。

【０１９５】

実施形態１３．前記ＨＤＡＣがＨＤＡＣ６である、実施形態１２に記載の使用。

【０１９６】

実施形態１４．さらに、前記疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子の治療有効量を投与することを含む、実施形態１２に記載の使用。

【０１９７】

実施形態１５．式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、及び前記第二の治療因子が同時に投与される、実施形態１２に記載の使用。

【０１９８】

実施形態１６．式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、及び前記第二の治療因子が別々に投与される、実施形態１２に記載の使用。

【０１９９】

実施形態１７．前記疾患または状態ががんである、実施形態１２～１６のいずれか１つに記載の使用。

【０２００】

実施形態１８．前記疾患ががんであり、前記第二の治療因子が、化学療法剤、放射線、及び免疫療法のうちの１つ以上である、実施形態１２～１７のいずれか１つに記載の使用。

【０２０１】

実施形態１９．前記免疫療法が、抗ＰＤ１免疫療法を含む、実施形態１８に記載の使用。

【０２０２】

実施形態２０．前記抗ＰＤ１免疫療法が、ＰＤ－１抗体の投与を含む、実施形態１９に記載の使用。

【０２０３】

実施形態２１．前記ＰＤ－１抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ＳＴＩ－Ａ１０１４、またはピディリズマブである、実施形態２０に記載の使用。

【０２０４】

実施形態２２．前記第二の治療因子が放射線を含み、前記放射線が、任意に、放射線増感剤及び／または治療因子とともに投与される、実施形態１４～２１のいずれか１つに記載の使用。

【０２０５】

実施形態２３．前記疾患または状態が、神経疾患、神経変性障害、末梢性ニューロパシー、または外傷性脳損傷である、実施形態１２～２２のいずれか１つに記載の使用。

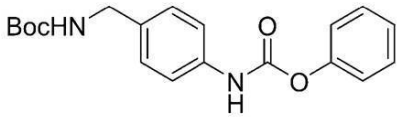
【０２０６】

実施形態２４．前記疾患または状態が脳卒中である、実施形態１２～２３のいずれか１

つに記載の使用。
【０２０７】
実施形態２５．前記疾患または状態が炎症または自己免疫疾患である、実施形態１２～２４のいずれか１つに記載の使用。
【０２０８】
実施形態２６．さらに、前記自己免疫疾患または前記炎症の治療に有用な第二の治療因子の治療有効量を投与することを含む、実施形態２５に記載の使用。
【０２０９】
実施形態２７．放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させるための式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物の使用。
【０２１０】
実施形態２８．式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、及び前記化合物、またはその医薬的に許容される塩をそれを必要とする対象に投与するための使用説明書を含むキット。
【０２１１】
実施形態２９．前記対象が、がんを有する、実施形態２８に記載のキット。
【０２１２】
実施形態３０．さらに、抗ＰＤ１抗体を含む、実施形態２９に記載のキット。
【０２１３】
実施形態３１．ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす個体における疾患または状態の治療に使用するための式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物。
【０２１４】
実施形態３２．前記ＨＤＡＣがＨＤＡＣ６である、実施形態３１に記載の使用のための化合物。
【０２１５】
実施形態３３．さらに、前記疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子の治療有効量を投与することを含む、実施形態３１に記載の使用のための化合物。
【０２１６】
実施形態３４．前記式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、及び前記第二の治療因子が同時に投与される、実施形態３１に記載の使用のための化合物。
【０２１７】
実施形態３５．前記式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物、及び前記第二の治療因子が別々に投与される、実施形態３１に記載の使用のための化合物。
【０２１８】
実施形態３６．前記疾患または状態ががんである、実施形態３１～３５のいずれか１つに記載の使用のための化合物。
【０２１９】
実施形態３７．前記疾患ががんであり、前記第二の治療因子が、化学療法剤、放射線、及び免疫療法のうちの１つ以上である、実施形態３１～３６のいずれか１つに記載の使用のための化合物。
【０２２０】
実施形態３８．前記免疫療法が、抗ＰＤ１免疫療法を含む、実施形態３７に記載の使用のための化合物。
【０２２１】
実施形態３９．前記抗ＰＤ１免疫療法が、ＰＤ－１抗体の投与を含む、実施形態３８に記載の使用のための化合物。

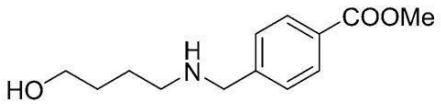
【０２２２】
実施形態４０．前記ＰＤ－１抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ＳＴＩ－Ａ１０１４、またはピディリズマブである、実施形態３９に記載の使用のための化合物。
【０２２３】
実施形態４１．前記第二の治療因子が放射線を含み、前記放射線が、任意に、放射線増感剤及び／または治療因子とともに投与される、実施形態３３～４０のいずれか１つに記載の使用のための化合物。
【０２２４】
実施形態４２．前記疾患または状態が、神経疾患、神経変性障害、末梢性ニューロパシー、または外傷性脳損傷である、実施形態３１～４１のいずれか１つに記載の使用のための化合物。
【０２２５】
実施形態４３．前記疾患または状態が脳卒中である、実施形態３１～４２のいずれか１つに記載の使用のための化合物。
【０２２６】
実施形態４４．前記疾患または状態が、炎症または自己免疫疾患である、実施形態３１～４３のいずれか１つに記載の使用のための化合物。
【０２２７】
実施形態４５．さらに、前記自己免疫疾患または前記炎症の治療に有用な第二の治療因子の治療有効量を投与することを含む、実施形態４４に記載の使用のための化合物。
【０２２８】
実施形態４６．放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させる使用のための式Ｉ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ、もしくはＩｅ、または化合物６ａ、６ｂ、６ｄ、６ｅ、もしくは６ｆのいずれか１つの化合物。
【０２２９】
上記は、以下の実施例を参照することによって、さらに良好に理解され得る。該実施例は、例示の目的で提示されるものであり、本開示の範囲を限定することを意図するものではない。
【実施例】
【０２３０】
一般情報
^{1}Ｈ及び^{13}Ｃ　ＮＭＲスペクトルは、特に指定のない限り、４００／１０１及び５００／１２６ＭＨｚのＢｒｕｋｅｒ分光計にて、内部標準として溶媒の残留ピークを使用して得た（化学シフト：ＣＤＣｌ$_{3}$、δ　７．２６／７７．１６及びＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$、２．５０／３９．５２）。多重度に関しては、以下の略語を使用した：ｓ＝一重項、ｄ＝二重項、ｔ＝三重項、ｑ＝四重項、ｍ＝多重項、及びｂｒ　ｓ＝ブロード一重項。ＴＬＣプレート（Ｍｅｒｃｋシリカゲル　６０　Ｆ$_{254}$、厚さ２５０μｍ）を使用して反応の進行を監視し、スポットをＵＶ（２５４ｎｍ）下で可視化した。高分解能質量分析（ＨＲＭＳ）は、Ｓｈｉｍａｄｚｕ　ＩＴ－ＴＯＦ機器にて、次の条件下で実行した：カラム、ＡＣＥ　３ＡＱ（５０×２．１ｍｍ、ｉｄ）、移動相、５～１００％アセトニトリル／水に０．１％のギ酸含有、流量０．５ｍＬ／分、４分間。フラッシュクロマトグラフィーは、シリカゲルカートリッジを備えたＣｏｍｂｉ－Ｆｌａｓｈ（登録商標）　Ｒｆシステム（Ｔｅｌｅｄｙｎｅ　ＩＳＣＯ）で行った。分取ＨＰＬＣをすべての最終化合物の精製に使用し、Ｓｈｉｍａｄｚｕ分取ＬＣを次の条件下で使用した：カラム、ＡＣＥ　５ＡＱ（１５０×２１．２ｍｍ、ｉｄ）、移動相：５～１００％アセトニトリル／水に０．０５％ＴＦＡ含有、流量１７ｍＬ／分で３０分間、２５４及び２８０ｎｍでＵＶ検出。分析用ＨＰＬＣは、Ａｇｉｌｅｎｔ　１２６０シリーズの機器にて、次の条件で行った：カラム、ＡＣＥ　３（１５０×４．６ｍｍ、ｉｄ）、移動相、５～１００％アセトニトリル／水に０．０５％ＴＦＡ含有、流量１．０ｍＬ／分で２５分間、２５４ｎｍでＵＶ検出。インビトロでの生物学的試験用のすべての試験化合物の純度は、９５％超であった。結晶学的研究及びインビボ試

験用のＳｕｐｒａｓｔａｔの純度は、９８％超であった。
【０２３１】
【化９】



2

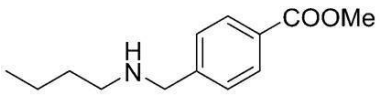
フェニル（４－（（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）メチル）フェニル）カルバメート（２）。ｔｅｒｔ－ブチル（４－アミノベンジル）カルバメート（１、５００ｍｇ、２．２５ｍｍｏｌ）及びK_2CO_3（３７３ｍｇ、２．７０ｍｍｏｌ）の撹拌アセトン（１５ｍＬ）溶液に、クロロギ酸フェニル（３５２ｍｇ、２．２５ｍｍｏｌ）を１０分かけて加えた。室温で２時間撹拌した後、過剰の固体を濾別した。その濾液を回収し、真空下濃縮した。その粗生成物を、フラッシュクロマトグラフィー（０～５０％ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）で精製し、２を淡黄色固体として得た（７００ｍｇ、収率：９１％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ ７．４１－７．３７（ｍ，４Ｈ），７．２５－７．１６（ｍ，６Ｈ），４．８６（ｓ，１Ｈ），４．２７（ｄ，Ｊ＝４．７Ｈｚ，２Ｈ），１．４６（ｓ，９Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ １５６．１，１５１．８，１５０．７，１３６．８，１３４．６，１２９．５（２Ｃ），１２８．４（２Ｃ），１２５．８，１２１．８（２Ｃ），１１９．１（２Ｃ），７９．７，４４．３，２８．５（３Ｃ）。
【０２３２】
【化１０】



4a

メチル４－（（（４－ヒドロキシブチル）アミノ）メチル）ベンゾエート（４ａ）。（ｉ）４－アミノ－１－ブタノール（０．２８ｍＬ、６．１０ｍｍｏｌ）及びメチル－４－ホルミルベンゾエート（３ａ、５００ｍｇ、３．０５ｍｍｏｌ）のＥｔＯＨ（２５ｍＬ）溶液を、２時間加熱還流した。室温まで冷却した後、得られた混合物を濃縮し、その粗生成物を次のステップに直接使用した。（ｉｉ）この粗生成物の撹拌ＭｅＯＨ（５０ｍＬ）溶液に、水素化ホウ素ナトリウム（１１６ｍｇ、３．１０ｍｍｏｌ）を０℃で１０分かけて加えた。得られた混合物を室温まで昇温させ、室温で２時間攪拌した。次に、この反応物を水でクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出した（１５ｍＬ×３）。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、真空下濃縮し、４ａを無色油として得た。この生成物をさらに精製することなく次のステップに直接使用した（６３０ｍｇ、収率：２段階で８７％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ ７．９８（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，２Ｈ），７．３６（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，２Ｈ），３．８８（ｓ，３Ｈ），３．８２（ｓ，２Ｈ），３．５８（ｔ，Ｊ＝５．０Ｈｚ，２Ｈ），３．０７（ｂｒ ｓ，２Ｈ，ＮＨ＋ＯＨ），２．６７（ｔ，Ｊ＝５．４Ｈｚ，２Ｈ），１．７１－１．５３（ｍ，４Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ １６７．０，１４４．６，１３０．０（２Ｃ），１２９．２，１２８．３（２Ｃ），６２．７，５３．６，５２．２，４９．４，３２．２，２８．４。
【０２３３】

【化１１】

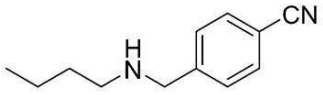


4b

メチル４－（（ブチルアミノ）メチル）ベンゾエート（４ｂ）を、ｎ－ブチルアミン（０．３１ｍＬ、６．１０ｍｍｏｌ）及びメチル－４－ホルミルベンゾエート（３ａ、５００ｍｇ、３．０５ｍｍｏｌ）から、４ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、無色油として得た（５００ｍｇ、収率：２段階で７４％。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ ７．９９（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，２Ｈ），７．３９（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，２Ｈ），３．９０（ｓ，３Ｈ），３．８４（ｓ，２Ｈ），２．７５－２．５１（ｍ，２Ｈ），１．５３－１．４５（ｍ，２Ｈ），１．３９－１．３０（ｍ，２Ｈ），０．９１（ｔ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，３Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ １６６．７，１４５．９，１２９．５（２Ｃ），１２８．５，１２７．７（２Ｃ），５３．５，５１．７，４９．０，３２．１，２０．３，１３．８。

【０２３４】

【化１２】

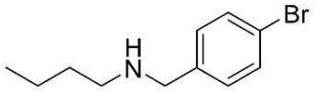


4c

４－（（（４－ヒドロキシブチル）アミノ）メチル）ベンゾニトリル（４ｃ）を、４－アミノ－１－ブタノール（０．１０ｍＬ、１．０ｍｍｏｌ）及び４－ホルミルベンゾニトリル（３ｂ、１３１ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）から、４ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、無色油として得た（１２０ｍｇ、収率：２段階で５９％）。

【０２３５】

【化１３】

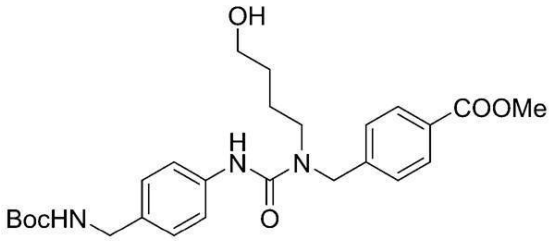


4c

４－（（４－ブロモベンジル）アミノ）ブタン－１－オール（４ｄ）を、４－アミノ－１－ブタノール（０．２７６ｍＬ、３ｍｍｏｌ）及び４－ブロモベンズアルデヒド（３ｃ、５５０ｍｇ、３ｍｍｏｌ）から、４ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、無色油として得た（０．５３ｇ、収率：２段階で６８％）。

【０２３６】

【化１４】



5a

メチル４－（（３－（４－（（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）メチル）フェニル）－１－（４－ヒドロキシブチル）－ウレイド）メチル）－ベンゾエート（５ａ）。４ａ（２８４ｍｇ、１．２ｍｍｏｌ）及び２（３５０ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）の撹拌ＴＨＦ（１０ｍＬ）溶液に、ＴＥＡ（０．２８ｍＬ、２．０ｍｍｏｌ）を加えた。得られた混合物を２時間加熱還流した。次に、この反応物を室温まで冷却し、水（１０ｍＬ）でクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出した（１０ｍＬ×３）。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、真空下濃縮した。その残渣をフラッシュクロマトグラフィー（０～５０％ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）で精製し、５ａを無色油として得た（４２０ｍｇ、収率：８７％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ ７．９４（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，２Ｈ），７．６５（ｂｒ ｓ，１Ｈ），７．２９（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，４Ｈ），７．０５（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，２Ｈ），５．１０（ｂｒ ｓ，１Ｈ），４．５６（ｓ，２Ｈ），４．１４（ｓ，２Ｈ），３．８７（ｓ，３Ｈ），３．６５（ｄ，Ｊ＝４．９Ｈｚ，２Ｈ），３．５３（ｂｒ ｓ，１Ｈ，－ＯＨ），３．３１（ｄ，Ｊ＝６．２Ｈｚ，２Ｈ），１．６４（ｓ，２Ｈ），１．５３－１．４５（ｍ，２Ｈ），１．４０（ｓ，９Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ １６７．０，１５６．２，１５６．１，１４３．７，１３８．７，１３３．２，１３０．０（２Ｃ），１２９．２，１２７．８（２Ｃ），１２７．３（２Ｃ），１２０．３（２Ｃ），７９．５，６２．５，５２．２，４９．９，４６．９，４４．１，２８．４（３Ｃ），２７．６，２５．４。

【０２３７】

【化１５】



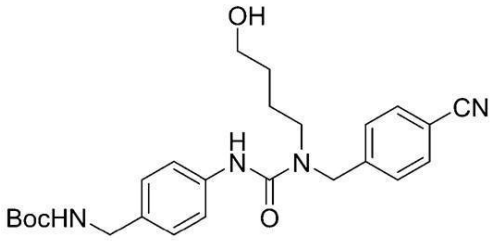
5b

メチル４－（（３－（４－（（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）メチル）フェニル）－１－ブチルウレイド）－メチル）ベンゾエート（５ｂ）を、４ｂ（２６５ｍｇ、１．２ｍｍｏｌ）及び２（３５０ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）から、５ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、無色油として得た（４００ｍｇ、収率：８５％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ ７．９８（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，２Ｈ），７．３３（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，２Ｈ），７．２４（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，２Ｈ），７．１２（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，２Ｈ），６．５２（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，１Ｈ），４．９２（ｓ，１Ｈ），４．６０（ｓ，２Ｈ），４．１９（ｄ，Ｊ＝５．１Ｈｚ，２Ｈ），３．８９

（ｓ，３Ｈ），３．４０－３．２３（ｍ，２Ｈ，－ＯＨ），１．９９（ｔ，Ｊ＝１０．２Ｈｚ，１Ｈ），１．５９（ｄｄ，Ｊ＝１４．７，７．２Ｈｚ，２Ｈ），１．４２（ｓ，９Ｈ），１．３２（ｄｄ，Ｊ＝１４．９，７．４Ｈｚ，２Ｈ），０．９１（ｔ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，３Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ １６６．９，１５６．０，１５５．５，１４３．３，１３８．２，１３３．７，１３０．２（２Ｃ），１２９．４，１２８．１（２Ｃ），１２７．１，１２０．３（２Ｃ），７９．４，５２．２，５０．４，４７．７，４４．２，３０．５，２８．５（３Ｃ），２０．２，１３．９。

【０２３８】

【化１６】

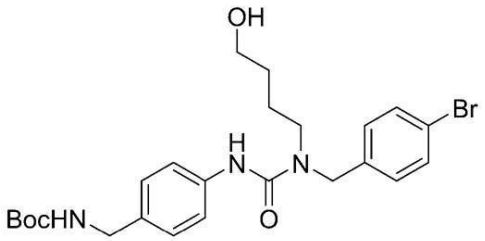


5c

メチルｔｅｒｔ－ブチル（４－（３－（４－シアノベンジル）－３－（４－ヒドロキシブチル）ウレイド）ベンジル）カルバメート（５ｃ）を、４ｃ（１２０ｍｇ、０．５８ｍｍｏｌ）及び２（２００ｍｇ、０．５８ｍｍｏｌ）から、５ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、無色油として得た（８０ｍｇ、収率：３０％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ ７．８０（ｓ，１Ｈ），７．５７（ｄ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，２Ｈ），７．４３－７．２９（ｍ，４Ｈ），７．０７（ｄ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，２Ｈ），５．０１（ｓ，１Ｈ），４．５８（ｓ，２Ｈ），４．１６（ｄ，Ｊ＝４．５Ｈｚ，２Ｈ），３．７２（ｓ，２Ｈ），３．３５－３．３２（ｍ，２Ｈ），３．２７（ｂｒ ｓ，１Ｈ），１．６９（ｓ，２Ｈ），１．５４（ｓ，２Ｈ），１．４２（ｓ，９Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ １５６．０，１５５．９，１４４．１，１３８．６，１３３．１，１３２．３（２Ｃ），１２８．０（２Ｃ），１２７．７（２Ｃ），１２０．１（２Ｃ），１１８．７，１１０．９，７９．４，６２．６，４９．８，４６．８，４４．１，２８．３（３Ｃ），２７．０，２５．５。

【０２３９】

【化１７】



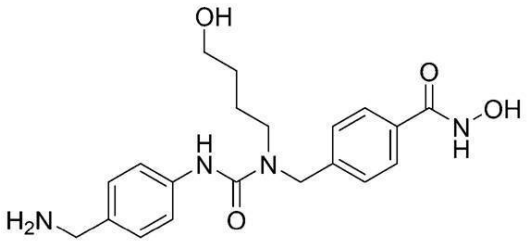
5d

ｔｅｒｔ－ブチル（４－（３－（４－ブロモベンジル）－３－（４－ヒドロキシブチル）ウレイド）ベンジル）カルバメート（５ｄ）を、４ｄ（５２０ｍｇ、２ｍｍｏｌ）及び２（６８０ｍｇ、２ｍｍｏｌ）から、５ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、無色油として得た（９６０ｍｇ、９５％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳ

Ｏ－ｄ$_6$）δ　８．３５（ｓ，１Ｈ），７．５２（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，２Ｈ），７．３７（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，２Ｈ），７．２９（ｂｒ．ｔ，１Ｈ），７．２２（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，２Ｈ），７．０８（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，２Ｈ），４．５２（ｓ，１Ｈ），４．４８（ｂｒ　ｔ，２Ｈ），４．０３（ｄ，Ｊ＝５．６Ｈｚ，２Ｈ），３．３９－３．３７（ｍ，２Ｈ），３．２９－３．２７（ｍ，２Ｈ），１．５８－１．４６（ｍ，２Ｈ），１．４５－１．３５（ｍ，２Ｈ），１．３６（ｓ，９Ｈ）。

【０２４０】

【化１８】

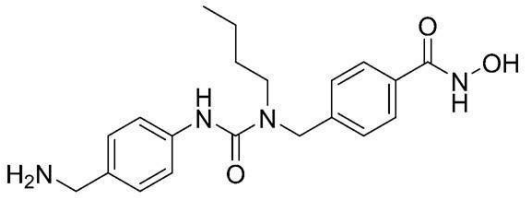


Suprastat **(6a)**

４－（（３－（４－（アミノメチル）フェニル）－１－（４－ヒドロキシブチル）ウレイド）メチル）－Ｎ－ヒドロキシベンズ－アミド（６ａ、Ｓｕｐｒａｓｔａｔ）。（ｉ）丸底フラスコ内で、ＮａＯＨ（６８ｍｇ、１．６９ｍｍｏｌ）を５０％ＮＨ$_2$ＯＨ水溶液（０．７ｍＬ、約５０当量）に０℃で溶解した。５ａ（２００ｍｇ、０．４３ｍｍｏｌ）の１：１　ＴＨＦ／ＭｅＯＨ（２／２ｍＬ）溶液を滴加し、室温まで昇温しながら３０分間撹拌を続けた。この溶液を２ＮのＨＣｌで中和し、ＥｔＯＡｃで抽出した（１０ｍＬ×３）。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、真空下濃縮した。この粗生成物をさらに精製することなく次のステップに直接使用した。（ｉｉ）この粗生成物をＴＨＦ（２ｍＬ）に溶解し、続いて室温でＴＦＡ（３ｍＬ）を加えた。得られた混合物を室温で０．５時間撹拌し、次いで過剰の溶媒を真空下除去した。その粗生成物を分取ＨＰＬＣで精製し、凍結乾燥して、６ａを白色粉末として得た（６２ｍｇ、ＴＦＡ塩、純度：９５％、収率：２段階で２９％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ　１１．１７（ｂｒ　ｓ，１Ｈ），８．５１（ｓ，１Ｈ），８．０７（ｂｒ　ｓ，３Ｈ，ＮＨ$_3^+$），７．７２（ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ，２Ｈ），７．５０（ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ，２Ｈ），７．３２（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，２Ｈ），７．３０（ｄ，Ｊ＝７．０Ｈｚ，２Ｈ），４．６１（ｓ，２Ｈ），３．９４（ｑ，Ｊ＝５．８Ｈｚ，３Ｈ），３．３９（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ），３．３３（ｔ，Ｊ＝７．４Ｈｚ，２Ｈ），１．５４（ｄｄｄ，Ｊ＝９．２，６．４，２．５Ｈｚ，２Ｈ），１．４１（ｄｔ，Ｊ＝８．７，６．５Ｈｚ，２Ｈ）。^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ　１６４．０，１５５．１，１４２．２，１４０．８，１３１．４，１２９．１（２Ｃ），１２７．０１（２Ｃ），１２６．９７（２Ｃ），１２６．９，１１９．７（２Ｃ），６０．６，４９．０，４６．３，４２．０，２９．４，２４．６。ＥＳＩ　ＨＲＭＳ　Ｃ$_{20}$Ｈ$_{25}$Ｎ$_4$Ｏ$_4$に対する計算値：［Ｍ－Ｈ］$^-$，ｍ／ｚ　３８５．１８８１；実測値：３８５．１８７１。

【０２４１】

【化１９】

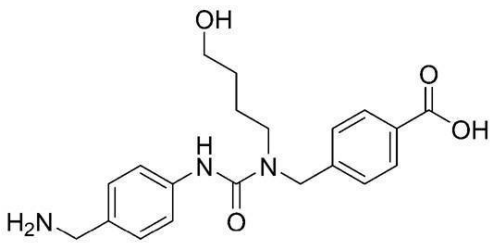


6b

４－（（３－（４－（アミノメチル）フェニル）－１－ブチルウレイド）メチル）－Ｎ－ヒドロキシベンズアミド（６ｂ）を、５ｂ（４２０ｍｇ、０．８７ｍｍｏｌ）から、６ａの合成に関する記載と同様の手順を使用して合成し、白色固体として得た（１６０ｍｇ、ＴＦＡ塩、純度：＞９９％、収率：２段階で７７％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ １１．１７（ｂｒ ｓ，１Ｈ），９．００（ｂｒ ｓ，１Ｈ），８．４８（ｓ，１Ｈ），８．０１（ｂｒ ｓ，３Ｈ，ＮＨ$_{3}^{+}$），７．７２（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，２Ｈ），７．５０（ｄ，Ｊ＝８．６Ｈｚ，２Ｈ），７．３２（ｄ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ），７．３０（ｄ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，２Ｈ），４．６１（ｓ，２Ｈ），３．９３（ｔ，Ｊ＝５．６Ｈｚ，２Ｈ），３．３０－３．２６（ｍ，２Ｈ，水のピークと重複），１．５３－１．４０（ｍ，２Ｈ），１．３１－１．１６（ｍ，２Ｈ），０．８６（ｔ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，３Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ １６４．０，１５５．１，１４２．２，１４０．８，１３１．４，１２９．１（２Ｃ），１２７．０，１２６．９（４Ｃ），１１９．８（２Ｃ），４９．０，４６．２，４２．０，２９．９，１９．４，１３．８。ＥＳＩ ＨＲＭＳ Ｃ$_{20}$Ｈ$_{25}$Ｎ$_{4}$Ｏ$_{3}$に対する計算値：［Ｍ－Ｈ］$^{-}$，ｍ／ｚ ３６９．１９３２；実測値：３６９．１９２３。

【０２４２】

【化２０】



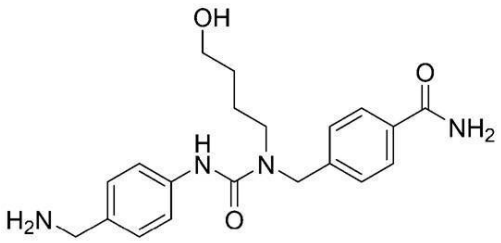
6d

４－（（３－（４－（アミノメチル）フェニル）－１－（４－ヒドロキシブチル）ウレイド）メチル）安息香酸（６ｄ）。５ａ（６２ｍｇ、０．１３ｍｍｏｌ）の撹拌ＴＨＦ／ＭｅＯＨ（１／１ｍＬ）溶液に、１ＮのＮａＯＨ溶液（１ｍＬ）を加えた。次いで得られた混合物を室温で終夜撹拌した。ＨＰＬＣで反応の終了を確認後、その反応物を２ＮのＨＣｌで酸性化し、ＴＨＦで抽出した（１５ｍＬ×３）。合わせた有機抽出物をＨ$_{2}$Ｏ及びブラインで洗浄し、Ｎａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥し、真空下濃縮した。この粗生成物をＴＨＦ（２ｍＬ）に溶解し、続いて室温でＴＦＡ（３ｍＬ）を加えた。得られた混合物を室温でさらに０．５時間撹拌し、次いで過剰の溶媒を真空下除去した。その粗生成物を分取ＨＰＬＣで精製し、凍結乾燥して、６ｄを白色粉末として得た（４０ｍｇ、ＴＦＡ塩、純度：９５％、収率：２段階で６３％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ １２．９２（ｂｒ ｓ，１Ｈ），８．５３（ｓ，１Ｈ），８．０７（ｂｒ ｓ，３Ｈ，ＮＨ$_{3}^{+}$）

，７．９１（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，２Ｈ），７．５１（ｄ，Ｊ＝８．６Ｈｚ，２Ｈ），７．３７（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，２Ｈ），７．３０（ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ，２Ｈ），４．６５（ｓ，２Ｈ），３．９４（ｑ，Ｊ＝５．６Ｈｚ，２Ｈ），３．３９（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ），３．３４（ｔ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，２Ｈ），１．５４（ｔｔ，Ｊ＝８．２，６．３Ｈｚ，２Ｈ），１．４５－１．３２（ｍ，２Ｈ）。^{13}Ｃ ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ １６７．２，１５５．２，１４４．２，１４０．８，１２９．５（２Ｃ），１２９．４，１２９．１（２Ｃ），１２７．１（２Ｃ），１２７．０，１１９．８（２Ｃ），６０．６，４９．１，４６．４，４２．０，２９．４，２４．６。ＥＳＩ ＨＲＭＳ Ｃ$_{20}$Ｈ$_{24}$Ｎ$_3$Ｏ$_4$に対する計算値：［Ｍ－Ｈ］$^-$，ｍ／ｚ ３７０．１７７２；実測値：３７０．１７６９。

【０２４３】

【化２１】

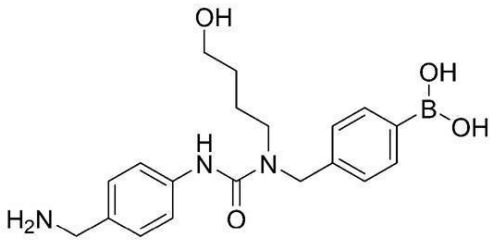


6e

４－（（３－（４－（アミノメチル）フェニル）－１－（４－ヒドロキシブチル）ウレイド）メチル）ベンズアミド（６ｅ）。５ｃ（８０ｍｇ、０．１８ｍｍｏｌ）の撹拌ＤＭＳＯ（２ｍＬ）溶液に、Ｋ$_2$ＣＯ$_3$（２．４ｍｇ、０．０１８ｍｍｏｌ）及びＨ$_2$Ｏ$_2$（３０％、０．２ｍＬ）を室温で加えた。得られた混合物を５時間撹拌した。反応の終了後、その溶液を水（５ｍＬ）でクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出した（１０ｍＬ×３）。有機層を分離し、ブラインで洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、真空下濃縮した。この粗生成物をＴＨＦ（２ｍＬ）に溶解し、続いて室温でＴＦＡ（３ｍＬ）を加えた。得られた混合物を室温で終夜撹拌し、次いで過剰の溶媒を真空下除去した。その粗生成物を分取ＨＰＬＣで精製し、凍結乾燥して、６ｅを白色粉末として得た（３０ｍｇ、ＴＦＡ塩、純度：９８％、収率：２段階で３５％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ ８．５１（ｓ，１Ｈ），８．０６（ｂｒ ｓ，３Ｈ，ＮＨ$_3^+$），７．９２（ｂｒ ｓ，１Ｈ），７．８４（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，２Ｈ），７．５１（ｄ，Ｊ＝８．６Ｈｚ，２Ｈ），７．３２－７．２９（ｍ，５Ｈ，ＣＯＮＨ$_2$の１つのプロトンは、フェニル環のシグナルと重複する），４．６２（ｓ，２Ｈ），３．９４（ｑ，Ｊ＝５．８Ｈｚ，３Ｈ），３．３９（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ），３．３３（ｔ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，２Ｈ），１．５４（ｄｄｄ，Ｊ＝１２．１，８．８，６．４Ｈｚ，２Ｈ），１．４５－１．３４（ｍ，２Ｈ）。^{13}ＣＮＭＲ（１２６ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）δ １６７．６，１５５．１，１４２．３，１４０．９，１３３．０，１２９．１（２Ｃ），１２９．０，１２７．６（２Ｃ），１２６．８（２Ｃ），１２６．７，１１９．７（２Ｃ），６０．６，４９．０，４２．０，２９．４，２４．６。ＥＳＩ ＨＲＭＳ Ｃ$_{20}$Ｈ$_{27}$Ｎ$_4$Ｏ$_3$に対する計算値：［Ｍ＋Ｈ］$^+$，ｍ／ｚ ３７１．２０７８；実測値：３７１．２０８７。

【０２４４】

【化２２】



6f

（４－（（３－（４－（アミノメチル）フェニル）－１－（４－ヒドロキシブチル）ウレイド）メチル）フェニル）ボロン酸（６ｆ）。（ｉ）５ｄ（５１０ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）、ビス（ピナコラート）ジボロン（２８０ｍｇ、１．１ｍｍｏｌ）、及び酢酸カリウム（２９０ｍｇ、３ｍｍｏｌ）の撹拌ＤＭＦ（５ｍＬ）溶液に、Ｐｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2をアルゴン雰囲気下、室温で加えた。８０℃で終夜撹拌した後、その反応物を室温まで冷却し、過剰の固体を濾別した。その濾液を回収し、飽和$NaHCO_3$水溶液（２０ｍＬ）でクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出した（２０ｍＬ×３）。合わせた有機層を１０％ＬｉＣｌ水溶液で洗浄し、ブライン（３０ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、真空下濃縮した。この粗生成物をフラッシュクロマトグラフィー（０～５０％ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）で精製し、ピナコールエステル中間体を褐色固体として得た（０．２５ｇ、収率：４４％）。（ｉｉ）このピナコールエステル中間体（２４０ｍｇ、０．４４ｍｍｏｌ）のアセトン／水（２：１、９ｍＬ）溶液に、$NaIO_4$（２８０ｍｇ、１．３２ｍｍｏｌ）及びNH_4OAc（１００ｍｇ、１．３２ｍｍｏｌ）を室温で加えた。室温で終夜撹拌した後、この反応混合物を水でクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出した（２０ｍＬ×３）。合わせた有機層をブライン（３０ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、真空下濃縮した。この粗生成物をさらに精製することなく次のステップに直接使用した。（ｉｉｉ）この粗生成物をＴＨＦ（１ｍＬ）に溶解し、続いて室温でＴＦＡ（１ｍＬ）を加えた。得られた混合物を室温で０．５時間撹拌し、次いで過剰の溶媒を真空下除去した。この粗生成物を分取ＨＰＬＣで精製し、凍結乾燥して、６ｆを白色粉末として得た（１９０ｍｇ、ＴＦＡ塩、純度：９９％、収率：３段階で３９％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）δ ８．４９（ｓ，１Ｈ），８．０６（ｂｒ ｓ，３Ｈ，NH_3^+），７．７４（ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，２Ｈ），７．５０（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，２Ｈ），７．３０（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，２Ｈ），７．２１（ｄ，Ｊ＝７．６Ｈｚ，２Ｈ），４．５７（ｓ，２Ｈ），３．９５（ｓ，２Ｈ），３．４８（ｔ，Ｊ＝５．７Ｈｚ，２Ｈ），３．３１（ｔ，Ｊ＝６．７Ｈｚ，２Ｈ），１．６１－１．５７（ｍ，２Ｈ），１．４６－１．４３（ｍ，２Ｈ）。ＥＳＩ ＨＲＭＳ $C_{19}H_{27}BN_3O_4$に対する計算値［Ｍ＋Ｈ］$^+$：ｍ／ｚ ３７２．２０８９，実測値：３７２．２０９８。

【０２４５】

ＨＤＡＣ１～９及び１１の発現及び精製

ヒトＨＤＡＣの大規模発現を、基本的に以前に記載された通りにＨＥＫ２９３／Ｔ１７細胞で行った（例えば、Ｆａｌｋｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ．１３，６７３－６９１（２０１４）、またはＭａｔｔｈｉａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ Ｃｙｃｌｅ ７：７－１０（２００８）参照）。簡潔には、一過性にトランスフェクトした細胞をトランスフェクションの３日後に回収し、その細胞ペレットを、プロテアーゼ阻害剤のカクテル（Ｒｏｃｈｅ，Ｂａｓｅｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を補充した溶解緩衝液（５０ｍＭ Ｔｒｉｓ、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、１０ｍＭ ＫＣｌ、２ｍＭ $MgCl_2$、１０％グリセロール、０．２％ＮＰ－４０、２単位／ｍＬベンゾナーゼ、ｐＨ８）に再懸濁した。細胞を氷上で超音波処理（３０Ｗ、３×２０秒）により

溶解し、その細胞溶解物を４００００×ｇで３０分間、４℃で遠心分離することにより清澄にした。組み換え融合ＨＤＡＣタンパク質を、Ｓｔｒｅｐ－Ｔａｃｔｉｎアフィニティークロマトグラフィー（ＩＢＡ，Ｇｏｅｔｔｉｎｇｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）により、５０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、１００ｍＭ ＮａＣｌ、５０ｍＭ ＫＣｌ、１０％グリセロール、及び３ｍＭデスチオビオチンを含む溶出緩衝液、ｐＨ７．５で精製した。精製したタンパク質を１ｍｇ／ｍＬに濃縮し、等分し、液体窒素で急速冷凍し、さらなる使用まで－８０℃で保存した。

【０２４６】

ＨＤＡＣ１～９及び１１に対する阻害活性の測定

表１のＩＣ$_{50}$値は、１０μＭのＡｃ－ＧＡＫ（Ａｃ）－ＡＭＣ（ＨＤＡＣ１、２、３、６）または１０μＭのＢｏｃ－Ｌｙｓ（ＴＦＡ）－ＡＭＣ（ＨＤＡＣ４、５、７、８、９、１１）を基質として、蛍光ベースのアッセイを使用して測定した（例えば、Ｉｍａｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｓｃｉ．１０７：１５４３－１５４９（２０１６）参照）。簡潔には、個々のＨＤＡＣを試験阻害剤の希釈系列（０～１００μＭ）とともに、３８４ウェルのプレートにて、合計体積４０μＬで３７℃にて１０分間、５０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、１４０ｍＭ ＮａＣｌ、１０ｍＭ ＫＣｌ、１ｍＭ ＴＣＥＰ、０．１％ＢＳＡを含むｐＨ７．４の反応緩衝液中でプレインキュベートした。脱アセチル化反応を、１０μＭの基質１０μＬをＨＤＡＣ／阻害剤混合物に加えることによって開始した。３７℃で３０分間のインキュベーション後、その反応を２５μＬのトリプシン溶液（４ｍｇ／ｍＬ）を加えることによって終了させた。トリプシンによる蛍光発生は、Ａｃ－ＧＡＫ（Ａｃ）－ＡＭＣ及びＢｏｃ－Ｌｙｓ（ＴＦＡ）－ＡＭＣ基質について、それぞれ、３７℃で１５分間及び６０分間行った。放出されたアミノメチルクマリンを、励起波長と発光波長をそれぞれ、３６５ｎｍと４４０ｎｍに設定したＣＬＡＲＩＯｓｔａｒ蛍光光度計を使用して定量化した。非線形回帰分析を採用し、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用してＩＣ$_{50}$値を計算した。阻害剤の３倍希釈系列を使用して、１４点のＩＣ$_{50}$曲線を作成した。使用した阻害剤濃度範囲：ＨＤＡＣ１～５、７～９、１１の場合は１００μＭ～０．０６３ｐＭ、及びＨＤＡＣ６の場合は３μＭ～１．８８ｐＭ。酵素または阻害剤を含まない反応を使用して、それぞれ、０％及び１００％のＨＤＡＣ活性を定義した。

【０２４７】

細胞培養及び抗体

ＳＭ１マウスメラノーマ細胞は、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ，Ｌｏｓ ＡｎｇｅｌｅｓのＤｒ．Ａ．Ｒｉｂａｓから入手した。ＷＭ１６４ヒトメラノーマ細胞は、ＡＴＣＣから入手した。これらの細胞をインキュベータにてＲＰＭＩ１６４０、１％ペニシリン－ストレプトマイシン、及び１０％ウシ胎児血清中、３７℃、５％ＣＯ$_2$で培養した。６ａ～ｃ及びＮｅｘｔＡを含むＨＤＡＣ阻害剤を、濃度０．１μＭ、０．５μＭ、１μＭ、２．５μＭ、５μＭ、及び１０μＭで加え、インキュベーションを終夜行った。ＳＴＡＴ３リン酸化アッセイでは、細胞をＨＤＡＣ６ｉ（５μＭ）を用いてまたは用いずに終夜前処理した後、組み換えヒトＩＬ－６（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）で２０分間処理した。ＰＢＳを対照として加えた。ＲＡＷ２６４．７マクロファージは、ＡＴＣＣから購入し、１０％ＦＢＳ、１％非必須アミノ酸、及び２－メルカプトエタノール（５０μＭ）を補充したＤＭＥＭ培地で培養した。ＲＡＷマクロファージを、１μＭ、５μＭ、及び１０μＭのＳｕｐｒａｓｔａｔで終夜処理した後、免疫ブロットアッセイ用の溶解物を収集した。細胞傷害性アッセイをＣｅｌｌＴｏｘ Ｇｒｅｅｎ（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｃａｔ＃Ｇ８７３１）を使用して、製造元の指示に従って行い、蛍光測定値をＳｐｅｃｔｒａｍａｘ ｉ３（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）マルチモードプレートリーダーで、波長ＥＸ ４８５ｎｍ及びＥＭ ５２０ｎｍにて得た。ＳＭ１細胞を様々な濃度の化合物で２４時間処理して細胞傷害性を測定した。

【０２４８】

免疫ブロット分析

細胞を回収し、プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉ

ｆｉｃ、７８４４０）を含むＲＩＰＡ緩衝液（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、８９９００）で、Ｂｉｏｒｕｐｔｏｒ（Ｄｉａｇｅｎｏｄｅ）での超音波処理により、高設定で３０秒オン及び３０秒オフの８サイクルで溶解した。タンパク質の発現を評価するために、全タンパク質サンプルをＳＤＳサンプルローディング緩衝液中で熱変性させ、１５～２０μｇのタンパク質を４～２０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、４５６－１０９３）で分析した。Ｔｒａｎｓ－Ｂｌｏｔ　Ｔｕｒｂｏ転写システム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ）を使用して、タンパク質を低蛍光ＰＶＤＦ膜（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、１７０４２７４）に転写した。これらの膜をＯｄｙｓｓｅｙブロッキング緩衝液（Ｌｉｃｏｒ、９２７－４００００）で１時間ブロックした後、４℃にて一次抗体とともにインキュベートした（１：１０００希釈）。これらの膜をＴＢＳＴ緩衝液で３回洗浄した後、室温にて近赤外フルオロフォア結合二次抗体（１：１００００希釈）とともに１時間インキュベートした。これらの膜を近赤外波長でＡｚｕｒｅ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｃ６００イメージャでスキャンした。画像を、Ｉｍａｇｅ　Ｓｔｕｄｉｏ（商標）Ｌｉｔｅソフトウェアで分析及び処理した。使用した抗体は、ＨＤＡＣ６（Ａｓｓａｙ　ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｃ０２６６）、α－チューブリン（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、３８７３）、アセチル－α－チューブリン（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、３９７１）、ヒストン３（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、３６３８Ｓ）、及びアセチル－ヒストン３（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、９６４９Ｓ）である。

【０２４９】

遺伝子発現の定量分析

全ＲＮＡを、ＱＩＡｚｏｌ（Ｑｉａｇｅｎ、７９３０６）の製造元の指示に従って細胞から単離した。ＲＮＡの定量化は、ＮａｎｏＤｒｏｐ　Ｏｎｅ分光光度計（ＮａｎｏＤｒｏｐ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して行った。２６０／２８０の吸光度比が１．９を超えるサンプルを、ｉＳｃｒｉｐｔ　ｃＤＮＡ合成キット（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、１７０８８９１）によるｃＤＮＡ合成に使用した。１μｇの全ＲＮＡから合成したｃＤＮＡを、ヌクレアーゼフリーの水で１：１０に希釈した。定量的ＰＣＲ分析を、ｉＱ　ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　Ｓｕｐｅｒｍｉｘ（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、１７０８８８２）を使用して、ＣＦＸ９６リアルタイムシステム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ）にて行った。遺伝子発現解析を$2^{-\Delta\Delta Ct}$法を使用して行い、標的ｍＲＮＡレベルをＧＡＰＤＨ発現に対して正規化した。サイクリング条件は、製造元の指示の通りに使用した。単一のＰＣＲ産物の増幅を、実施したすべての実験で融解曲線分析によって確認した。分析に使用したプライマーの配列は次のとおりである：

【０２５０】

マウス

マウスを含む動物実験は、Ｔｈｅ　Ｇｅｏｒｇｅ　Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　ＵｎｉｖｅｒｓｉｔｙのＩｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）によって承認されたプロトコル（＃Ａ３５４）に従って行った。４０匹のＣ５７ＢＬ／６雌マウスを、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ，Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ，ＵＳＡ）から購入した。インビボ試験は、腫瘍移植前にインビボでマウスからマウスへ最低５回継代した腫瘍細胞を用いて行った。マウスに、１００μＬのリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）（Ｃｏｒｎｉｎｇ、２１－０４０－ＣＶ）に懸濁した1.0×10^{6}個のインビボ継代メラノーマ細胞を皮下注射した。腫瘍移植後約５日で腫瘍が触知可能になった時点で、前治療群を開始した。ケージをランダムに異なる治療群に割り当て、マウスをＳｕｐｒａｓｔａｔ、抗ＰＤ１抗体または媒体対照で処理した。対照マウスには、媒体対照としての１００μＬのＰＢＳ、１５ｍｇ／ｋｇ用量の抗ＰＤ１抗体（ＢｉｏＸｃｅｌｌ、クローンＲＭＰ１－１４）、及び２５ｍｇ／ｋｇのＳｕｐｒａｓｔａｔを腹腔内注射した。対照群の腫瘍が本発明者らのＩＡＣＵＣプロトコルによる最大サイズに達するまで、マウスを週５日処理した。キャリパー測定を使用して１日おきに腫瘍体積を測定し、式$L\times W^{2}/2$を使用して計算した。すべての動物実験は、毒性を考慮して実施され、毒性の初期徴候を定期的に監視した。死亡率、

体重、及び摂餌量に重点を置いた。エンドポイントの死後評価では、肝毒性、脾腫、及び肺転移結節に関する肝臓等の臓器の全体的な目視検査を含めて、各状態について行った。

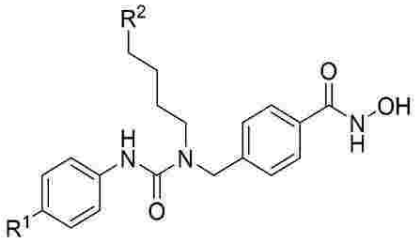
【０２５１】

６ａ～ｃのインビトロ評価

各追加の官能基が効力及びアイソフォーム選択性に与える影響を評価するために、ヒトＨＤＡＣ１～９及び１１に対する６ａ～ｃの効力をＮｅｘｔＡとともに、インビトロで最適化された条件下で（例えば、Ｏｓｋｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．６３：２９５－３０８（２０２０）参照）調べた。表１の結果は、６ａ及び６ｃがより強力で選択的なＨＤＡＣ６ｉであることを示唆しており（IC_{50}＝０．４及び０．５ｎＭ）、クラスＩアイソフォームであるＨＤＡＣ１～３及び８の少なくとも２９０倍の選択性、ならびにクラスＩＩａアイソフォームであるＨＤＡＣ４、５、７、及び９の１０００倍の選択性を有する。さらに、６ａ～ｃは、クラスＩＶアイソフォームであるＨＤＡＣ１１に対して５０μＭ以下では活性を示さなかった。ＨＤＡＣ６に関しては、０．２～０．４ｎＭの範囲の実験的IC_{50}値が、約０．６ｎＭ濃度の全長酵素を使用する本発明者らのアッセイの限界にあることに留意されたい（２８０ｎｍの吸光度測定により測定）。従って、Ｓｕｐｒａｓｔａｔ及び６ｃのIC_{50}値は、本発明者らのアッセイの限界に達しており、理論的にはこれら２つの阻害剤は、ここで報告されているよりもさらに高い効力を有する可能性がある。全体として、これらの阻害データは、ヒドロキシルブチル鎖は、アミノメチル基と比較して、ＨＤＡＣ６の酵素能力及び選択性を改善するためにより重要であることを示唆している。さらに、阻害剤６ａ～ｃへの極性アミノメチル及びヒドロキシルブチル基の組み込みにより、重原子数は増加するが、それらのｃｌｏｇＰ（ＳｗｉｓｓＡＤＭＥによって計算される）は、ＮｅｘｔＡと比較して減少し（表３）、これにより、脂溶性リガンド効率（ＬｉｐＥ）、特に６ａの有意な上昇（ＬｉｐＥ＝７．５７（６ａ）対６．１９（ＮｅｘＡ））がもたらされる一方、６ａ及び６ｂのリガンド効率はわずかに低い。まとめると、ＮｅｘｔＡ及び関連する類似体と比較して、ヒドロキシブチル部分とアミノメチル部分の両方を有するＳｕｐｒａｓｔａｔ（６ａ）は、ＨＤＡＣ６に対して改善された効力及びＨＤＡＣアイソフォームに対する優れた選択性を示したと同時に、その有意に減少したｃｌｏｇＰに起因して、最も高いＬｉｐＥ値も示す。一方、代替ＺＢＧとして、カルボン酸、アミド、及びボロン酸を含む非ヒドロキサム酸類似体６ｄ～ｆのＨＤＡＣ６に対する阻害効力は大幅に損なわれ（表２）、重大なヒドロキサム酸－Zn^{2+}配位なしでは、このキャップとＨＤＡＣ６のポケット間のさらなる水素結合相互作用は、ナノモルの効力を維持するために十分に強くないことが示され得る。

【表１】

表１
６ａ～ｃ及びＮｅｘｔＡのインビトロＨＤＡＣプロファイル[a]

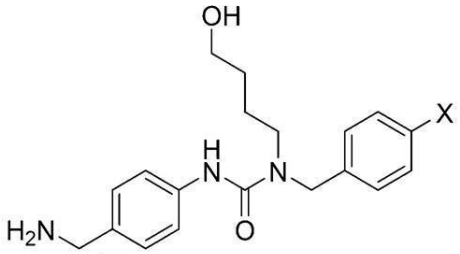


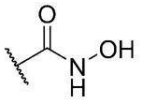
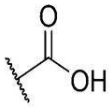
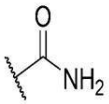
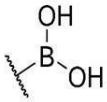
化合物	Suprastat (6a)		6b		6c[b]		NextA	
R^1 R^2	CH_2NH_2 OH		CH_2NH_2 H		H OH		H H	
アイソフォーム	$IC_{50,}$ nM	SI[c]	$IC_{50,}$ nM	SI	$IC_{50,}$ nM	SI	$IC_{50,}$ nM	SI
HDAC6	0.4 ± 0.0	1	0.9 ± 0.7	1	0.5 ± 0.4	1	1.6 ± 0.4	1
HDAC1	117 ± 10	293	80 ± 45	89	148 ± 9	296	151 ± 20	94
HDAC2	176 ± 21	440	281 ± 28	312	268 ± 16	536	276 ± 96	173
HDAC3	352 ± 2	880	443 ± 108	492	581 ± 18	1,160	1,420 ± 145	887
HDAC4	8,250 ± 1,350	20,600	23,100 ± 226	25,700	14,000 ± 1,380	27,900	14,800 ± 1,700	9,250
HDAC5	3,420 ± 373	8,550	10,100 ± 162	11,200	9,130 ± 119	18,300	6,620 ± 2,660	4,140
HDAC7	1,470 ± 56	3,680	9,000 ± 1,110	10,000	1,930 ± 70	3,870	2,430 ± 300	1,520
HDAC8	498 ± 58	1,250	614 ± 58	682	478 ± 97	956	988 ± 264	618
HDAC9	6,270 ± 177	15,700	17,300 ± 4,990	19,200	29,700 ± 4,190	59,50	2,000 ± 770	1,250
HDAC11	>50,000	-	>50,000	-	>50,000	-	10,600 ± 2,200	6,630

[a]IC_{50}値は、２つの実験の平均±SEMであり、各HDACアイソフォームに関する実験v_i/v_0値からの非線形回帰分析によって計算した。[b]6cは、元々化合物7bとして、Tavares et al., ACS Med. Chem. Lett. 8: 1031-1036 (2017)において公開された。[c]SI:他のHDACアイソフォームに対するHDAC6の選択性指数

【表２】

表２．
ＨＤＡＣ１及びＨＤＡＣ６に対するＮｅｘｔＡ及びその類似体６ｄ～ｆの阻害効力



化合物	X	HDAC6 (IC_{50}, nM)	HDAC1 (IC_{50}, nM)	HDAC1/6
Suprastat (6a)		0.4 ± 0.0	117 ± 10	293
6d		16,755	N.D.[g]	N.D.
6e		>30,000	N.D.	N.D.
6f		>30,000	N.D.	N.D.
Vorinostat	-	6.7 ± 1.0	31 ± 12	5

【０２５２】
最初のＡＤＭＥプロファイリングの一環として、試験化合物の安定性を、ＰＢＳ、人工胃液（ＳＧＦ）、ヒト血漿、及び肝臓ミクロソームで測定し、また、ヒト血漿中でタンパク質結合を測定した（表３）。全体的に、Ｓｕｐｒａｓｔａｔ（６ａ）の安定性は、ＰＢＳ中での２４時間超から、ラット肝臓ミクロソームでの半減期１７３分までに及び非常に良好である。予想される物理化学的特性と一致して、Ｓｕｐｒａｓｔａｔの血漿結合は非常に低く（血漿タンパク質結合画分は１．９％）、より脂溶性の親化合物ＮｅｘｔＡ（８９％）と比較して、インビボでの遊離薬物濃度の上昇に有益である一方、単一に修飾された誘導体６ｂ及び６ｃの血漿結合画分は、約５０％である。

【表３】

表３

６ａ～ｃ及びＮｅｘＡのリガンド効率及びインビトロＡＤＭＥプロファイリング

化合物	6a	6b	6c	NexA
clog $P_{o/w}$ [a]	1.23	2.21	1.82	2.61
LE[b]	0.47	0.47	0.50	0.49
LipE[c]	7.57	6.59	6.98	6.19
PBS安定性($t_{1/2}$, 時間)	>24	>24	>24	>24
SGF安定性($t_{1/2}$, 時間)	>5	>5	>5	>5
ヒト血漿安定性($t_{1/2}$, 時間)	>5	>5	>5	>5
ラット肝臓ミクロソーム($t_{1/2}$, 分)	177 ± 6	173 ± 71	198 ± 32	423 ± 104
ヒト血漿結合(%)	1.9 ± 3.5	47 ± 2.0	48 ± 0.9	89 ± 0.7

[a]clog $P_{o/w}$値は、SwissADME(http://www.swissadme.ch/)により計算した。[b]LE:リガンド効率 ＝1.4 × pIC50/重原子数。[c]LipE:脂溶性リガンド効率 ＝pIC_{50} - clog $P_{o/w}$。[d]データは、平均として標準誤差とともに示す。

【０２５３】

メラノーマ細胞における６ａ～ｃのインビトロ特性評価

細胞における６ａ～ｃの効力及びアイソフォーム選択性を評価するため、ＷＭ１６４ヒトメラノーマ細胞株を使用してインビトロ分析を行った。ＷＭ１６４細胞は、ＢＲＡＦＶ６００Ｅの変異体であり、メラノーマ患者に頻繁に見られる変異である（例えば、Ｄａｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．７：４２７１７（２０１７）参照）。ＷＭ１６４細胞を、濃度範囲がそれぞれ、０．１～１０μＭの６ａ～ｃ及びＮｅｘｔＡで処理した。アセチル化α－チューブリン（Ａｃ－α－チューブリン）のレベルを増加させるそれらの能力を、免疫ブロット分析によって測定し、対照比較した。図１Ａ～Ｄは、ＨＤＡＣ６ｉの濃度の増加に伴うＡｃ－α－チューブリンの増加を示すが、高さは様々である（図１Ｅ）。しかしながら、Ａｃ－α－チューブリンの増加は、高濃度では、アセチル化ヒストンＨ３（Ａｃ－Ｈ３）のレベルのわずかな増加とも関連していた（図１Ｆ）。Ｓｕｐｒａｓｔａｔでの処理により、０．１～１０μＭで最も高いＡｃ－α－チューブリンレベルがもたらされ、１０μＭでは他のＨＤＡＣ６ｉと比較して最も大きな上昇に至った。高濃度では、ＳｕｐｒａｓｔａｔでＡｃ－Ｈ３のレベルにわずかな上昇が認められたが、それは、他のＨＤＡＣ６ｉよりはるかに低かった。従って、このデータは、Ｓｕｐｒａｓｔａｔが高度に選択的で強力なＨＤＡＣ６阻害剤であることを示している。これらのα－チューブリン／ヒストンアセチル化実験の濃度範囲に基づいて、さらなる細胞傷害性アッセイをＳＭ１マウスメラノーマ細胞で行った。図２に示す結果は、ＮｅｘＡ及び６ｂが、濃度１０μＭで細胞傷害性を誘導し始めたのに対し、Ｓｕｐｒａｓｔａｔ及び６ｃは、２５μＭまで細胞傷害性がないことを実証した。

【０２５４】

Ｓｕｐｒａｓｔａｔの機能的特性評価

マクロファージ等の免疫細胞は、腫瘍微小環境の主要な細胞成分である。腫瘍関連マクロファージは、多くの場合、ＴＧＦβ及びＩＬ－１０等の抗炎症性サイトカインを分泌することによって腫瘍を促進する。ＨＤＡＣ６がＳＴＡＴ３と複合体を形成し、ＨＤＡＣ６の薬理学的阻害またはｓｈＲＮＡ媒介ノックダウンのいずれかが、抗原提示細胞におけるＩＬ１０プロモーター領域でのＳＴＡＴ３動員を減少させることがすでに証明された（例えば、Ｃｈｅｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９３：２８５０－２８６２（２０１４）参照）。これらの実験と一致して、図３Ａに示すように、マウスの骨髄由来マク

ロファージを５μＭのＳｕｐｒａｓｔａｔで処理すると、ｍＲＮＡ定量化で判断して、ＩＬ１０遺伝子の発現が媒体処理マクロファージと比較して減少した。ＩＬ１０の遺伝子発現は、参照遺伝子としてのβ－アクチン（ＡＣＴＢ）に対して正規化される。ＲＡＷ２６４．７マクロファージのＡｃ－α－チューブリンレベルの用量依存的な増加（図４）は、増加する濃度（１、５、及び１０μＭ）のＳｕｐｒａｓｔａｔで処理した場合に観察され、Ｓｕｐｒａｓｔａｔがマクロファージ及びメラノーマ細胞に同じように影響することを示している。さらに、図３Ｂに示すように、ＳｕｐｒａｓｔａｔまたはＮｅｘｔＡのいずれかで前処理した後、ＩＬ－６サイトカイン（３０ｎｇ／ｍＬ）に２０分間曝露したＷＭ１６４メラノーマ細胞から得られた溶解物の免疫ブロット分析の結果、ＩＬ－６単独と比較して、ＳＴＡＴ３のＹ７０５のリン酸化が減少した。この結果は、Ｓｕｐｒａｓｔａｔが、ＮｅｘｔＡと同様に、ＨＤＡＣ６とＳＴＡＴ３転写因子の相互作用に影響を与えることにより、免疫調節効果を媒介することを示す。

【０２５５】

免疫療法とのインビボ併用試験

免疫療法は、固形腫瘍の主要な治療法として浮上しているが、患者は多くの場合耐性を生じ、現在のところ、免疫療法の有効性を高めると同時に耐性を克服する併用療法が必要とされる（例えば、Ｏ’Ｄｏｎｎｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｅａｔ Ｒｅｖ．５２：７１－８１（２０１７）参照）。同系ＳＭ１マウスメラノーマモデルを使用して、ＮｅｘｔＡによる前処理がＣ５７ＢＬ／６マウスにおいて腫瘍サイズを有意に減少させることが以前に実証された。これらのマウスは有効な免疫系を有するため、抗ＰＤ１療法等の免疫チェックポイント阻害剤の試験が可能になる。ＮｅｘｔＡと抗ＰＤ１療法の組み合わせにより、単群療法と比較して腫瘍増殖が大幅に制御され、ＨＤＡＣ６の阻害が抗腫瘍免疫の増強に重要な役割を果たすことが示唆された。同様のアプローチに従って、ＳＭ１メラノーマ腫瘍を有するＣ５７ＢＬ／６マウスに、２５ｍｇ／ｋｇのＳｕｐｒａｓｔａｔを腹腔内（ＩＰ）に投与した後、抗ＰＤ１免疫チェックポイント遮断療法（１５ｍｇ／ｋｇ、ＩＰ）を開始した。この前処理法を行って、抗腫瘍免疫応答の誘発につながる方法で、腫瘍微小環境（ＴＭＥ）を予備調整した。図５Ａに示すように、対照（ＰＢＳ）群と比較して、Ｓｕｐｒａｓｔａｔを使用した単群療法は、腫瘍体積で示される腫瘍量を同様に減少させた。しかしながら、Ｓｕｐｒａｓｔａｔと抗ＰＤ１療法の間に有意差は認められなかった。それどころか、Ｓｕｐｒａｓｔａｔと抗ＰＤ１療法の組み合わせは、対照群及び単剤療法群と比較して腫瘍量の大幅な減少を示し、Ｓｕｐｒａｓｔａｔによる前処理が抗ＰＤ１療法に起因する抗腫瘍免疫応答を増強することが示唆された。図５Ｂは、それぞれの処理群における各マウスの腫瘍増殖を示している。これまでのデータは、Ｓｕｐｒａｓｔａｔがインビボで免疫調節効果を有し、抗ＰＤ１療法と組み合わせることで、抗腫瘍免疫応答を有意に高めることを示す。Ｓｕｐｒａｓｔａｔと抗ＰＤ１療法を組み合わせた群は、他の群と比較して、１４日目までに腫瘍増殖に対して増強された抑制効果を示したことが注目された。それに対して、ＮｅｘｔＡと抗ＰＤ１療法の組み合わせは、本発明者らの以前の試験において、単剤療法群と比較して、２０日目以降に明確な抗腫瘍効果を示し始め（例えば、Ｋｎｏｘ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．９：６１３６（２０１９）参照）、Ｓｕｐｒａｓｔａｔがより早い段階で免疫療法を促進することが可能であることが示唆された。

【０２５６】

Ｓｕｐｒａｓｔａｔの免疫調節特性

Ｓｕｐｒａｓｔａｔの免疫調節特性を理解するために、フローサイトメトリーによる包括的な免疫細胞表現型検査を行った。ＣＤ４５＋細胞のパーセンテージとしてのＦ４／８０＋ＣＤ８０＋Ｈ２＋抗腫瘍Ｍ１マクロファージの数は、すべての処理群で有意に変化しなかった（図６Ａ）。しかしながら、Ｓｕｐｒａｓｔａｔは、Ｆ４／８０＋ＣＤ２０６＋腫瘍誘発性Ｍ２マクロファージを有意に減少させ（図６Ｂ）、ひいては対照及び抗ＰＤ１群と比較して、Ｓｕｐｒａｓｔａｔ及び併用群において有意に高いＭ１／Ｍ２比によって示される抗腫瘍免疫応答へとバランスがシフトした（図６Ｃ）。興味深いことに、併用群

におけるＭ１／Ｍ２比の増大は、ＮｅｘｔＡによる本発明者らの以前の研究では認められなかった（例えば、Ｋｎｏｘ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．９：６１３６（２０１９）参照）。リンパ系細胞の分析により、対照群と比較して、すべての処理群において、ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞及びエフェクターメモリー細胞の有意な増加が示され（図６Ｄ）、倍率の増加は、すべての群で、ＮｅｘｔＡで行った以前の試験よりもはるかに大きかった。しかしながら、ＣＤ８＋セントラルメモリー（ＣＭ）細胞のパーセンテージではＳｕｐｒａｓｔａｔで処理した群で唯一の増加が認められ、それがＣＤ８Ｔ細胞のエフェクターメモリー機能を高め、長期の抗腫瘍免疫応答を可能にすることが示唆された。ＣＤ４＋Ｔ細胞の分析では、セントラルメモリー（ＣＭ）またはエフェクターメモリー（ＥＭ）機能に有意な変化は見られなかった（図６Ｅ）。免疫抑制性Ｔ－ｒｅｇ（図６Ｆ）では有意な変化は認められなかった。ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞のさらなる分析により、抗ＰＤ１群及び併用群で増加が示されたが、Ｓｕｐｒａｓｔａｔ群では好ましい傾向があり（図６Ｇ）、これは、ＮｅｘＡを使用した以前の併用試験では認められなかった（例えば、Ｋｎｏｘ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．９：６１３６（２０１９）参照）。ＮＫ　Ｔ細胞は、すべての処理群で対照群と比較して有意に減少し（図６Ｈ）、これは、ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞における有意な増加であると推測され得る。全体として、この免疫細胞の表現型検査により、Ｓｕｐｒａｓｔａｔが、親化合物であるＮｅｘｔＡと比較して、腫瘍誘発性Ｍ２マクロファージを減少させ、抗腫瘍ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞及びメモリー細胞の浸潤を増加させることにより、免疫調節特性を改善したこと、すなわち、インビボでの免疫調節効果の促進及び抗ＰＤ１療法との組み合わせで抗腫瘍免疫応答の改善に関与することが示された。

【０２５７】

結論

他の関連類似体と比較して、Ｓｕｐｒａｓｔａｔが示すのは、強力なＨＤＡＣ６活性、アイソフォーム選択性、及び、明らかなヒストンのアセチル化への影響ではなくアセチル化チューブリンのレベルを選択的に高める能力である。Ｓｕｐｒａｓｔａｔに追加された極性官能基は、その脂溶性を低下させ、それにより、リガンド効率及び血漿タンパク質結合が高くなると同時に、異なる媒体中での代謝安定性が維持される。ＰＤ－１抗体とのインビボでの併用試験では、Ｓｕｐｒａｓｔａｔがその免疫調節特性によって治療結果を大幅に改善することが明らかになった。

参考文献

１．Ｓ．Ｚｈａｏ，Ｗ．Ｘｕ，Ｗ．Ｊｉａｎｇ，Ｗ．Ｙｕ，Ｙ．Ｌｉｎ，Ｔ．Ｚｈａｎｇ，Ｊ．Ｙａｏ，Ｌ．Ｚｈｏｕ，Ｙ．Ｚｅｎｇ，Ｈ．Ｌｉ，Ｙ．Ｌｉ，Ｊ．Ｓｈｉ，Ｗ．Ａｎ，Ｓ．Ｍ．Ｈａｎｃｏｃｋ，Ｆ．Ｈｅ，Ｌ．Ｑｉｎ，Ｊ．Ｃｈｉｎ，Ｐ．Ｙａｎｇ，Ｘ．Ｃｈｅｎ，Ｑ．Ｌｅｉ，Ｙ．Ｘｉｏｎｇ　ａｎｄ　Ｋ．Ｌ．Ｇｕａｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１０，３２７，１０００－１００４．

２．Ｑ．Ｗａｎｇ，Ｙ．Ｚｈａｎｇ，Ｃ．Ｙａｎｇ，Ｈ．Ｘｉｏｎｇ，Ｙ．Ｌｉｎ，Ｊ．Ｙａｏ，Ｈ．Ｌｉ，Ｌ．Ｘｉｅ，Ｗ．Ｚｈａｏ，Ｙ．Ｙａｏ，Ｚ．Ｂ．Ｎｉｎｇ，Ｒ．Ｚｅｎｇ，Ｙ．Ｘｉｏｎｇ，Ｋ．Ｌ．Ｇｕａｎ，Ｓ．Ｚｈａｏ　ａｎｄ　Ｇ．Ｐ．Ｚｈａｏ，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１０，３２７，１００４－１００７．

３．Ｃ．Ｃｈｏｕｄｈａｒｙ，Ｂ．Ｔ．Ｗｅｉｎｅｒｔ，Ｙ．Ｎｉｓｈｉｄａ，Ｅ．Ｖｅｒｄｉｎ　ａｎｄ　Ｍ．Ｍａｎｎ，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．，２０１４，１５，５３６－５５０．

４．Ｙ．Ｌｉ　ａｎｄ　Ｅ．Ｓｅｔｏ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂ．　Ｐｅｒｓｐｅｃｔ．　Ｍｅｄ．，２０１６，６．

５．Ｔ．Ｅｃｋｓｃｈｌａｇｅｒ，Ｊ．Ｐｌｃｈ，Ｍ．Ｓｔｉｂｏｒｏｖａ　ａｎｄ　Ｊ．Ｈｒａｂｅｔａ，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｓｃｉ．，２０１７，１８，Ｅ１４１４．

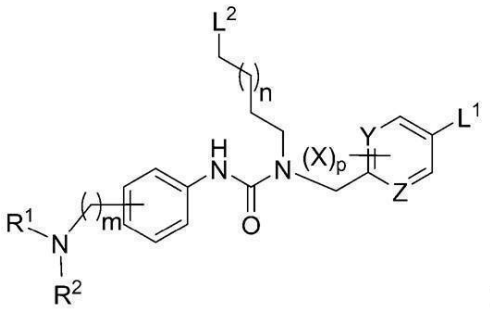
６．Ｋ．Ｊ．Ｆａｌｋｅｎｂｅｒｇ　ａｎｄ　Ｒ．Ｗ．Ｊｏｈｎｓｔｏｎｅ，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．，２０１４，１３，６７３－６９１．

７．Ｐ．Ｍａｔｔｈｉａｓ，Ｍ．Ｙｏｓｈｉｄａ　ａｎｄ　Ｓ．Ｋｈｏｃｈｂｉｎ，Ｃｅｌ

l Cycle, 2008, 7, 7-10.
8. Y. Imai, Y. Maru and J. Tanaka, Cancer Sci., 2016, 107, 1543-1549.
9. S. Shen and A. P. Kozikowski, Expert Opin. Ther. Pat., 2020, 30, 121-136.
10. C. Rebe and F. Ghiringhelli, Cancers (Basel), 2019, 11, 1280.
11. F. Cheng, M. Lienlaf, H. W. Wang, P. Perez-Villarroel, C. Lee, K. Woan, J. Rock-Klotz, E. Sahakian, D. Woods, J. Pinilla-Ibarz, J. Kalin, J. Tao, W. Hancock, A. Kozikowski, E. Seto, A. Villagra and E. M. Sotomayor, J. Immunol., 2014, 193, 2850-2862.
12. M. Lienlaf, P. Perez-Villarroel, T. Knox, M. Pabon, E. Sahakian, J. Powers, K. V. Woan, C. Lee, F. Cheng, S. Deng, K. S. M. Smalley, M. Montecino, A. Kozikowski, J. Pinilla-Ibarz, A. Sarnaik, E. Seto, J. Weber, E. M. Sotomayor, A. Villagra, Mol. Oncol., 2016, 10, 735-750.
13. T. Knox, E. Sahakian, D. Banik, M. Hadley, E. Palmer, S. Noonepalle, J. Kim, J. Powers, M. Gracia-Hernandez, V. Oliveira, F. Cheng, J. Chen, C. Barinka, J. Pinilla-Ibarz, N. H. Lee, A. Kozikowski and A. Villagra, Sci. Rep., 2019, 9, 6136.
14. K. V. Butler, J. Kalin, C. Brochier, G. Vistoli, B. Langley and A. P. Kozikowski, J. Am. Chem. Soc., 2010, 132, 10842-10846.
15. J. H. Kalin and J. A. Bergman, J. Med. Chem., 2013, 56, 6297-6313.
16. R. De Vreese and M. D'Hooghe, Eur. J. Med. Chem., 2017, 135, 174-195.
17. X. X. Wang, R. Z. Wan and Z. P. Liu, Eur. J. Med. Chem., 2018, 143, 1406-1418.
18. M. Faria Freitas, M. Cuendet and P. Bertrand, Expert Opin. Ther. Pat., 2018, 28, 365-381.
19. Y. Miyake, J. J. Keusch, L. Wang, M. Saito, D. Hess, X. Wang, B. J. Melancon, P. Helquist, H. Gut and P. Matthias, Nat. Chem. Biol., 2016, 12, 748-754.
20. N. J. Porter, A. Mahendran, R. Breslow and D. W. Christianson, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2017, 114, 13459-13464.
21. Y. Hai and D. W. Christianson, Nat. Chem. Biol., 2016, 12, 741-747.
22. N. J. Porter, J. D. Osko, D. Diedrich, T. Kurz, J. M. Hooker, F. K. Hansen and D. W. Christianson, J. Med. Chem., 2018, 61, 8054-8060.
23. S. Shen, M. Hadley, K. Ustinova, J. Pavlicek, T. Knox, S. Noonepalle, M. T. Tavares, C. A. Zim

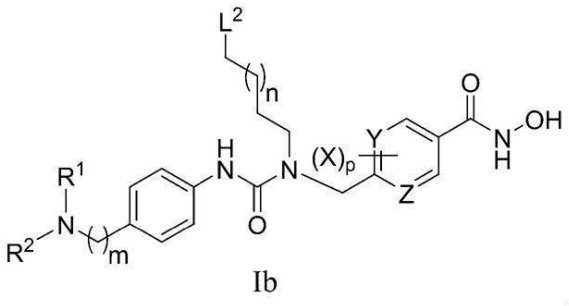
prich, G. Zhang, M. B. Robers, C. Barinka, A. P. Kozikowski and A. Villagra, J. Med. Chem., 2019, 62, 8557－8577.
24. K. Vogerl, N. Ong, J. Senger, D. Herp, K. Schmidtkunz, M. Marek, M. Muller, K. Bartel, T. B. Shaik, N. J. Porter, D. Robaa, D. W. Christianson, C. Romier, W. Sippl, M. Jung and F. Bracher, J. Med. Chem., 2019, 62, 1138－1166.
25. S. Shen, M. Svoboda, G. Zhang, M. A. Cavasin, L. Motlova, T. A. McKinsey, J. H. Eubanks, C. Barinka, and A. P. Kozikowski, ACS Med. Chem. Lett, DOI：10.1021／acsmedchemlett.9b00560.
26. J. D. Osko, N. J. Porter, P. A. Narayana Reddy, Y. C. Xiao, J. Rokka, M. Jung, J. M. Hooker, J. M. Salvino and D. W. Christianson, J. Med. Chem., 2020, 63, 295－308.
27. S. Bhatia, V. Krieger, M. Groll, J. D. Osko, N. Ressing, H. Ahlert, A. Borkhardt, T. Kurz, D. W. Christianson, J. Hauer and F. K. Hansen, J. Med. Chem., 2018, 61, 10299－10309.
28. J. D. Osko, D. W. Christianson, Bioorg. Med. Chem. Lett, 2020, 30, 127023.
29. J. A. Bergman, K. Woan, P. Perez－Villarroel, A. Villagra, E. M. Sotomayor and A. P. Kozikowski, J. Med. Chem., 2012, 55, 9891－9899.
30. K. V. Woan, M. Lienlaf, P. Perez－Villaroel, C. Lee, F. Cheng, T. Knox, D. M. Woods, K. Barrios, J. Powers, E. Sahakian, H. W. Wang, J. Canales, D. Marante, K. S. M. Smalley, J. Bergman, E. Seto, A. Kozikowski, J. Pinilla－Ibarz, A. Sarnaik, E. Celis, J. Weber, E. M. Sotomayor and A. Villagra, Mol. Oncol., 2015, 9, 1447－1457.
31. Y. Sixto－Lopez, M. Bello and J. Correa－Basurto, J. Biomol. Struct. Dyn., 2019, 37, 4701－4720.
32. M. T. Tavares, S. Shen, T. Knox, M. Hadley, Z. Kutil, C. Barinka, A. Villagra and A. P. Kozikowski, ACS Med. Chem. Lett., 2017, 8, 1031－1036.
33. A. Daina, O. Michielin and V. Zoete, Sci. Rep., 2017, 7, 42717.
34. A. L. Hopkins, C. R. Groom and A. Alex, Drug Discov. Today, 2004, 9, 430－431.
35. T. W. Johnson, R. A. Gallego and M. P. Edwards, J. Med. Chem., 2018, 61, 6401－6420.
36. R. C. Koya, S. Mok, N. Otte, K. J. Blacketor, B. Comin－Anduix, P. C. Tumeh, A. Minasyan, N. A. Graham, T. G. Graeber, T. Chodon and A. Ribas, Cancer Res., 2012, 72, 3928－3937.
37. J. S. O'Donnell, G. V. Long, R. A. Scolyer, M. W. Teng and M. J. Smyth, Cancer Treat Rev., 201

７，５２，７１－８１．
本発明は、例えば、以下の項目を提供する。
（項目１）
式Ｉの化合物：
【化２３】



Ｉ、

またはその医薬的に許容される塩であって、式中、
Ｒ[1]及びＲ[2]は、独立して、水素及びＣ[1]－Ｃ[6]アルキルからなる群から選択されるか、または、Ｒ[1]とＲ[2]が結合して、３～７員のヘテロシクリルを形成し、
Ｌ[1]は、ＣＯ[2]Ｈ、Ｃ（Ｏ）ＮＨ[2]、Ｃ（Ｏ）ＮＨＯＨ、またはＢ（ＯＨ）[2]であり、
Ｌ[2]は、ＨまたはＯＲ[3]であり、
Ｒ[3]は、水素、アセチル、Ｃ[1]－Ｃ[6]アルキル、Ｃ[1]－Ｃ[6]ハロアルキル、Ｃ[3]－Ｃ[6]シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びＣ[5]－Ｃ[6]ヘテロシクリルからなる群から選択され、
各Ｘは、独立して、水素またはハロゲンであり、
ｐは、０、１、２、または３であり、
Ｙ及びＺは、独立して、炭素及び窒素からなる群から選択され、
ｍは、１、２、３または４であり、
ｎは、０、１または２である、前記化合物、またはその医薬的に許容される塩。
（項目２）
Ｒ[1]、Ｒ[2]及びＲ[3]が、独立して、Ｃ[1]－Ｃ[6]分岐アルキルである、項目１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。
（項目３）
Ｌ[1]が、Ｃ（Ｏ）ＮＨＯＨである、項目１に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。
（項目４）
式Ｉｂの項目１に記載の化合物：
【化２４】

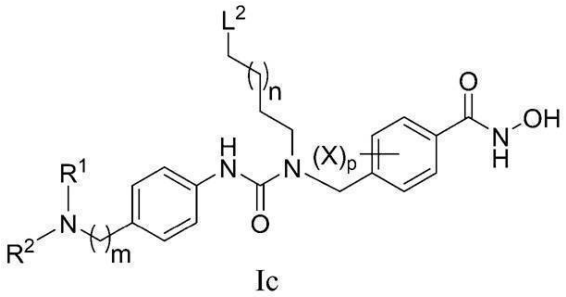


Ib

、

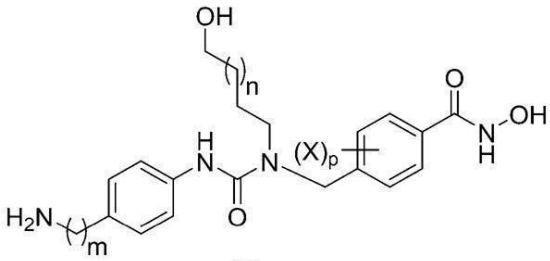
またはその医薬的に許容される塩。

（項目５）
式Ｉｃの項目１に記載の化合物：
【化２５】



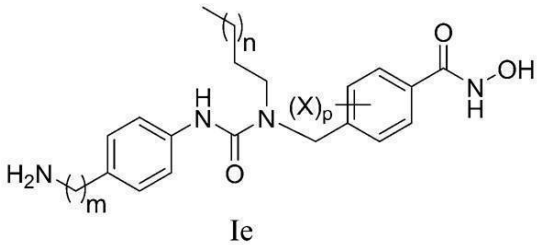
Ic

またはその医薬的に許容される塩。
（項目６）
式Ｉｄの項目１に記載の化合物：
【化２６】



Id

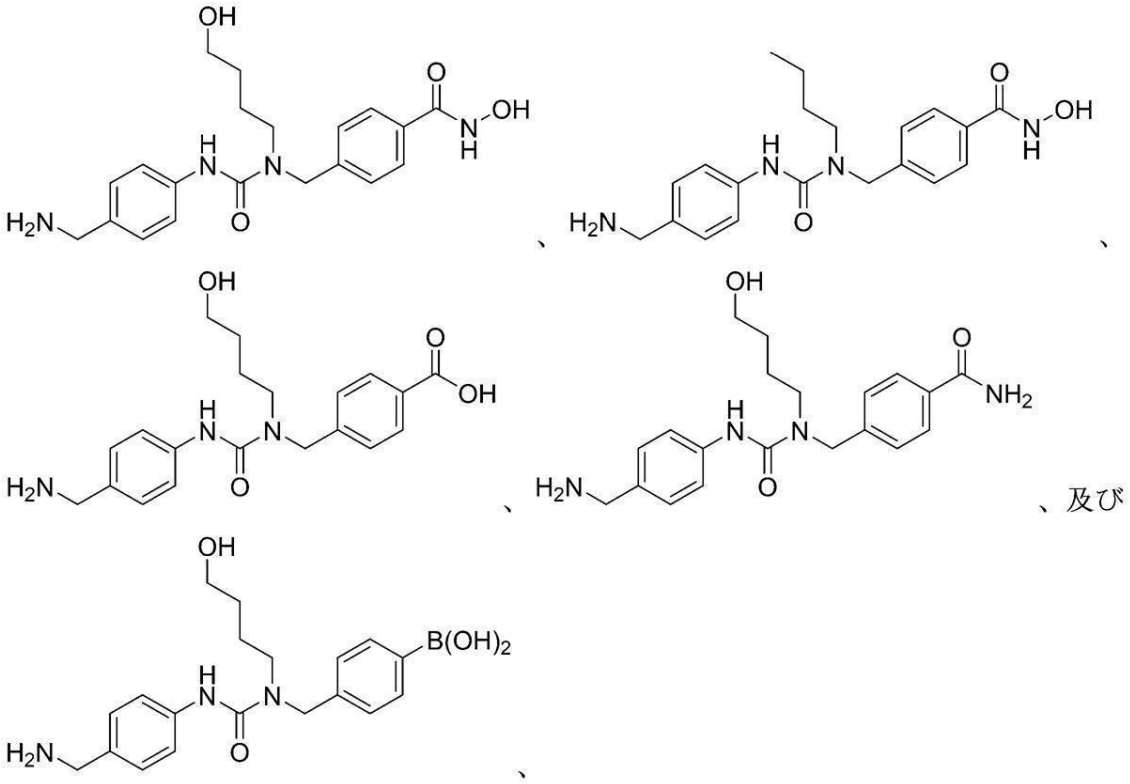
またはその医薬的に許容される塩。
（項目７）
式Ｉｅの項目１に記載の化合物：
【化２７】



Ie

またはその医薬的に許容される塩。
（項目８）
以下からなる群から選択される、項目１に記載の化合物：

【化２８】



またはその医薬的に許容される塩。

（項目９）

（ａ）項目１～８のいずれか１項に記載の化合物、（ｂ）ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子、ならびに（ｃ）任意に賦形剤及び／または医薬的に許容される担体を含む組成物。

（項目１０）

前記第二の治療因子が、がんの治療に有用な化学療法剤を含む、項目９に記載の組成物。

（項目１１）

項目１～８のいずれか１項に記載の化合物、及び医薬的に許容される担体または媒体を含む医薬組成物。

（項目１２）

ＨＤＡＣの阻害が効果をもたらす疾患または状態を治療する方法であって、項目１～８のいずれか１項に記載の化合物の治療有効量を、それを必要とする個体に投与することを含む、前記方法。

（項目１３）

前記ＨＤＡＣがＨＤＡＣ６である、項目１２に記載の方法。

（項目１４）

さらに、前記疾患または状態の治療に有用な第二の治療因子の治療有効量を投与することを含む、項目１２に記載の方法。

（項目１５）

前記化合物及び前記第二の治療因子が、同時に投与される、項目１４に記載の方法。

（項目１６）

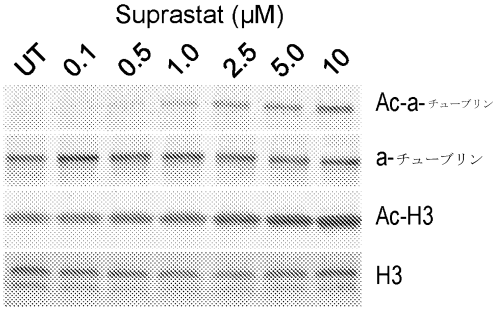
前記化合物及び前記第二の治療因子が、別々に投与される、項目１４に記載の方法。

（項目１７）

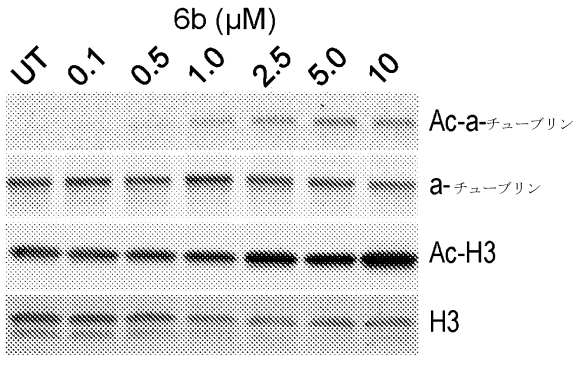
前記疾患または状態ががんである、項目１２～１６のいずれか１項に記載の方法。

（項目１８）

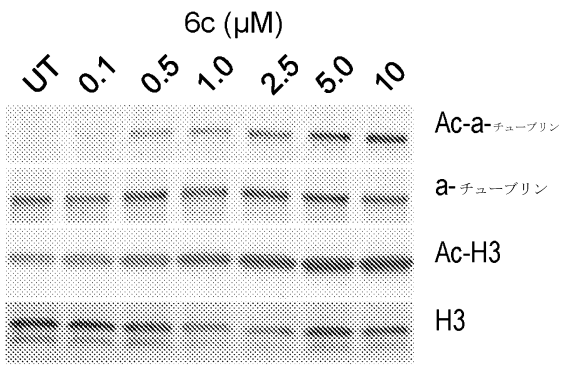
前記疾患ががんであり、前記第二の治療因子が、化学療法剤、放射線、及び／または免疫療法のうちの１つ以上である、項目１４～１７のいずれか１項に記載の方法。
（項目１９）
前記免疫療法が、抗ＰＤ１免疫療法を含む、項目１８に記載の方法。
（項目２０）
前記抗ＰＤ１免疫療法が、ＰＤ－１抗体の投与を含む、項目１９に記載の方法。
（項目２１）
前記ＰＤ－１抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ＳＴＩ－Ａ１０１４、またはピディリズマブである、項目２０に記載の方法。
（項目２２）
前記第二の治療因子が放射線を含み、前記放射線が、任意に、放射線増感剤及び／または治療因子とともに投与される、項目１４～２１のいずれか１項に記載の方法。
（項目２３）
前記疾患または状態が、神経疾患、神経変性障害、末梢性ニューロパシー、または外傷性脳損傷である、項目１２～２２のいずれか１項に記載の方法。
（項目２４）
前記疾患または状態が脳卒中である、項目１２～２３のいずれか１項に記載の方法。
（項目２５）
前記疾患または状態が炎症または自己免疫疾患である、項目１２～２４のいずれか１項に記載の方法。
（項目２６）
さらに、前記自己免疫疾患または前記炎症の治療に有用な第二の治療因子の治療有効量を投与することを含む、項目２５に記載の方法。
（項目２７）
放射線療法及び／または化学療法の細胞傷害効果に対するがん細胞の感受性を増加させる方法であって、前記細胞を項目１～８のいずれか１項に記載の化合物と、前記放射線療法及び／または前記化学療法に対する前記細胞の感受性を増加させるために十分な量で接触させることを含む、前記方法。
（項目２８）
項目１～８のいずれか１項に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩、及び前記化合物、またはその医薬的に許容される塩をそれを必要とする対象に投与するための使用説明書を含むキット。
（項目２９）
前記対象が、がんを有する、項目２８に記載のキット。
（項目３０）
さらに、抗ＰＤ１抗体を含む、項目２８に記載のキット。
【図面】
【図１Ａ】



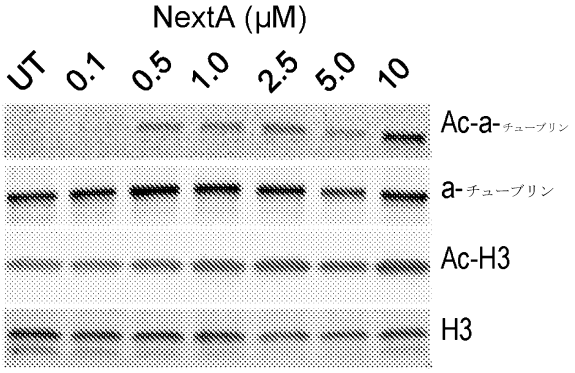
【図１Ｂ】



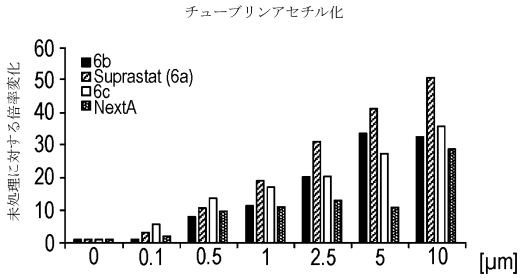
【図１Ｃ】



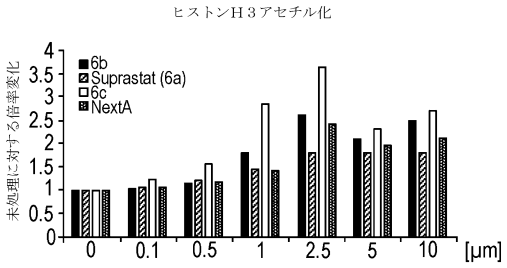
【図１Ｄ】



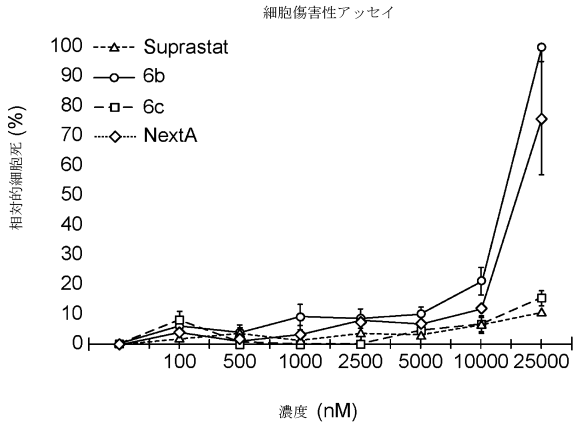
【図１Ｅ】



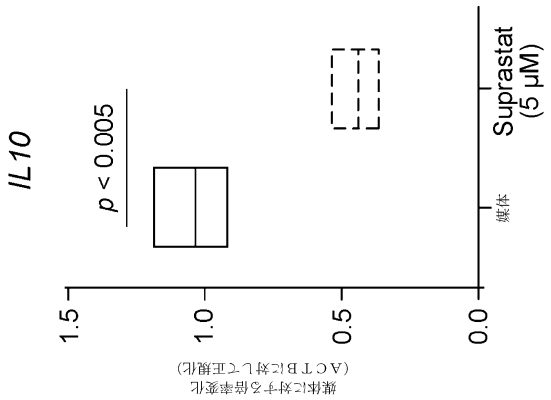
【図１Ｆ】



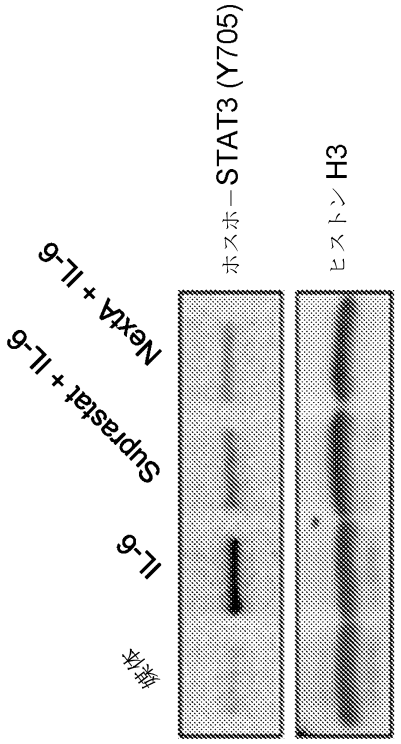
【図２】



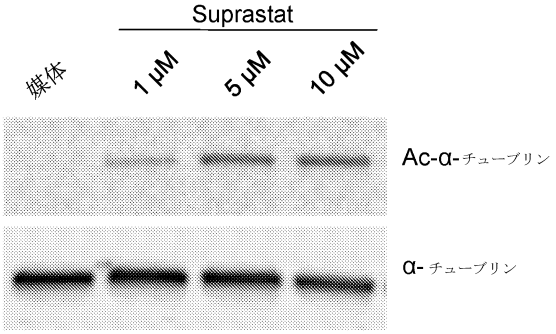
【図３Ａ】



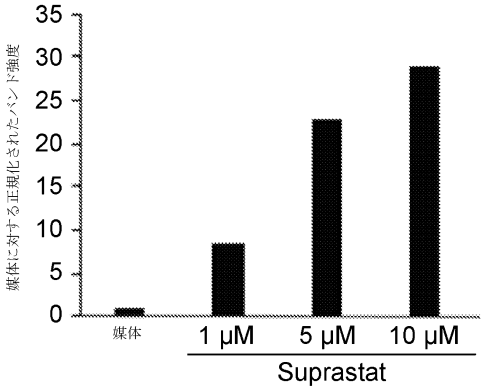
【図３Ｂ】



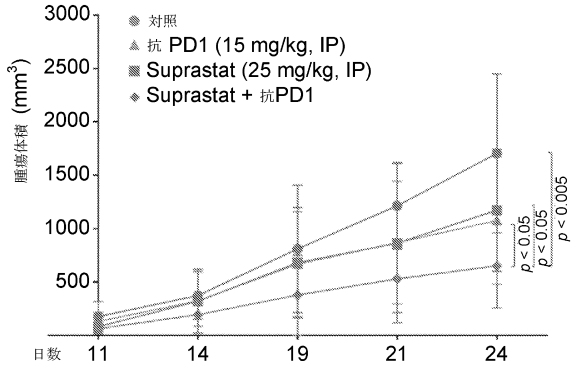
【図４Ａ】



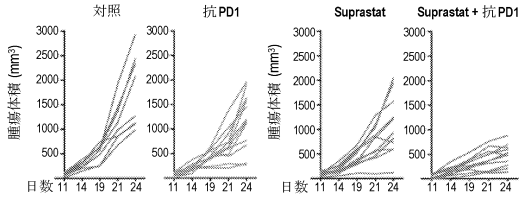
【図４Ｂ】



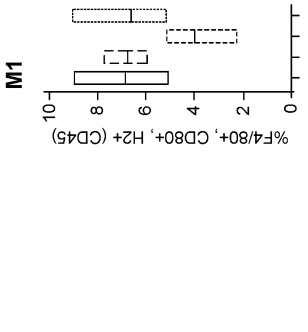
【図５Ａ】



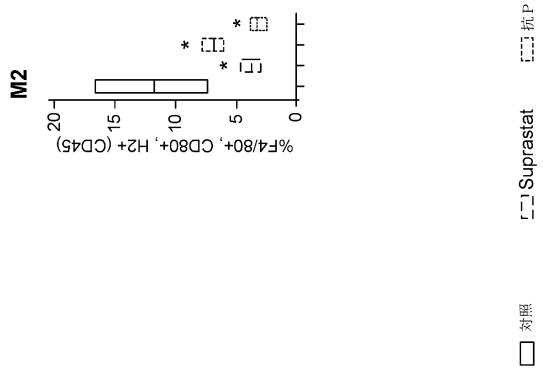
【図５Ｂ】



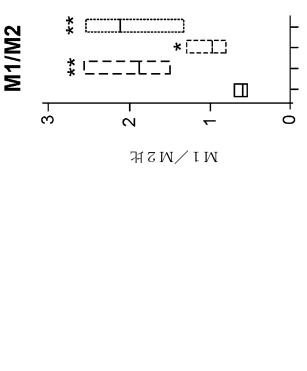
【図６Ａ】



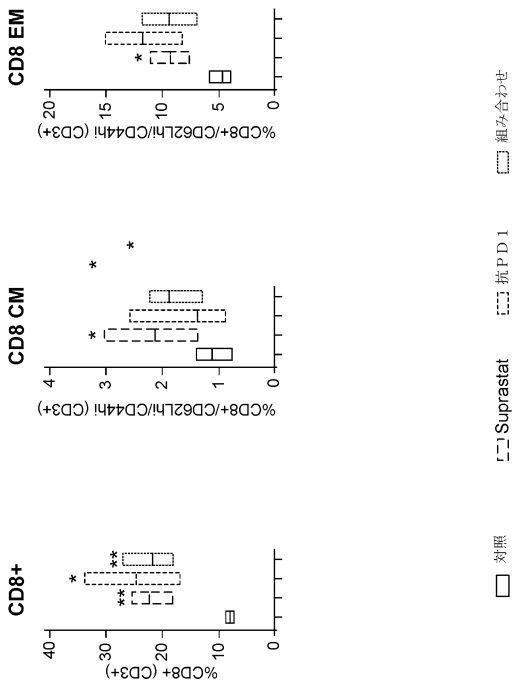
【図６Ｂ】



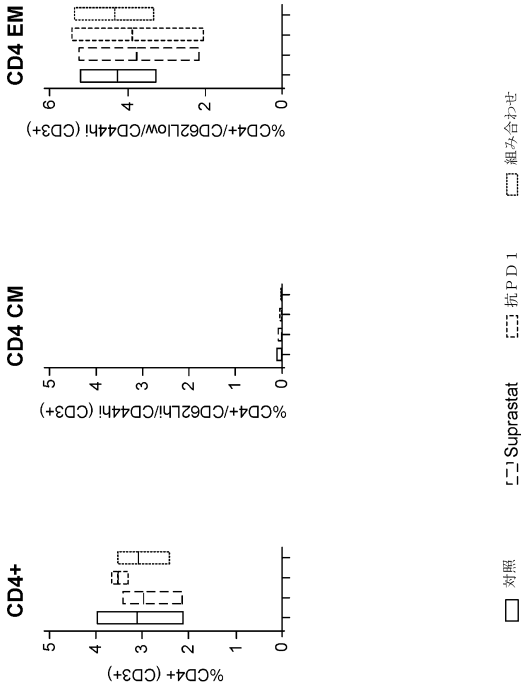
【図６Ｃ】



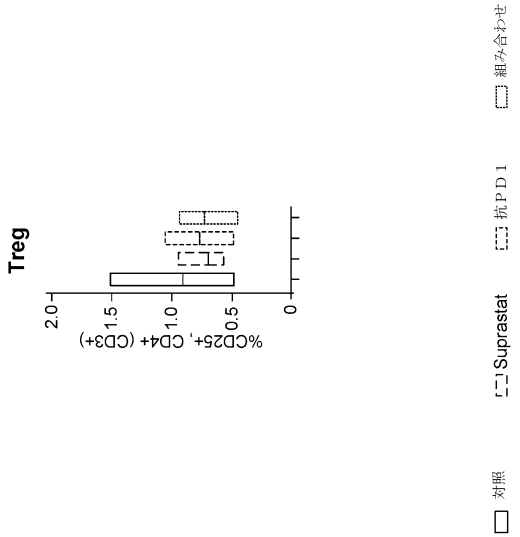
【図６Ｄ】



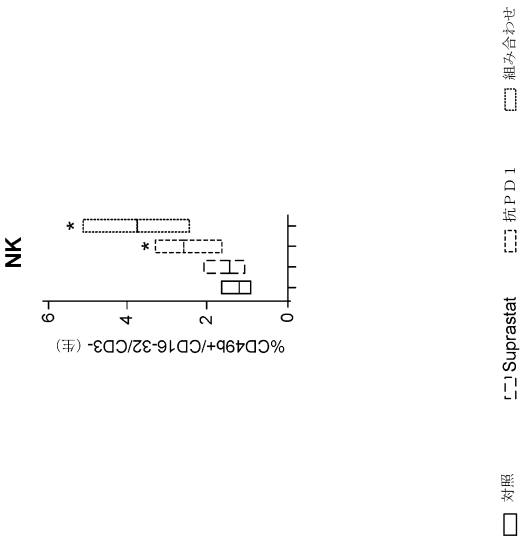
【図６Ｅ】



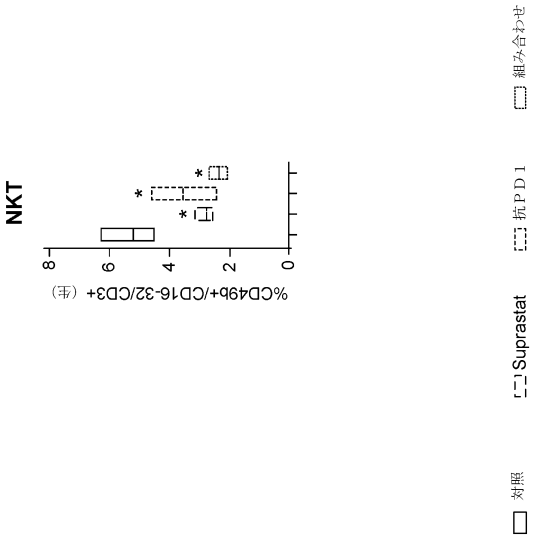
【図６Ｆ】



【図６Ｇ】



【図６Ｈ】



フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ａ６１Ｐ　9/10　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　17/02　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　29/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　37/02　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)

ＦＩ
Ａ６１Ｐ　9/10
Ａ６１Ｐ　17/02
Ａ６１Ｐ　25/00
Ａ６１Ｐ　29/00
Ａ６１Ｐ　35/00
Ａ６１Ｐ　37/02
Ａ６１Ｐ　43/00　１１１
Ａ６１Ｐ　43/00　１２１

フロア

(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
弁護士　山本 健策
(72)発明者　コジコウスキ， アラン
アメリカ合衆国 イリノイ ６０６１４， シカゴ， ノース リンカーン パーク ２０２０， アパートメント ３６エー
(72)発明者　シェン， シダ
アメリカ合衆国 イリノイ ６０６４２， シカゴ， ダブリュー． ヒューロン ストリート ９２５， アパートメント ６１４
(72)発明者　ビリャグラ， アレハンドロ
アメリカ合衆国 バージニア ２２０４３， フォールズ チャーチ， ブリタニー パーク コート ７６２１
審査官　安孫子 由美

(56)参考文献
国際公開第２０１５／０１７５４６（WO，Ａ１）
特表２０１５－５１０８８６（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２０２０／００２２９６６（ＵＳ，Ａ１）
Mauricio T. TAVARES et al.，“ Synthesis and Pharmacological Evaluation of Selective Histone Deacetylase 6 Inhibitors in Melanoma Models ”，ACS Medicinal Chemistry Letters，2017年09月11日，Vol.8，No.10，p.1031-1036，DOI:10.1021/acsmedchemlett.7b00223
Joel A. BERGMAN et al.，“ Selective Histone Deacetylase 6 Inhibitors Bearing Substituted Urea Linkers Inhibit Melanoma Cell Growth ”，Journal of Medicinal Chemistry，2012年10月23日，Vol.55，No.22，p.9891-9899，DOI:10.1021/jm301098e

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ０７Ｃ，Ａ６１Ｋ
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ（ＳＴＮ）