

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7423010号

(P7423010)

(45)発行日 令和6年1月29日(2024.1.29)

(24)登録日 令和6年1月19日(2024.1.19)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 213/38 (2006.01)

C 0 7 D 213/38

C S P

C 0 7 D 213/61 (2006.01)

C 0 7 D 213/61

C 0 7 D 295/096 (2006.01)

C 0 7 D 295/096

C 0 7 D 295/155 (2006.01)

C 0 7 D 295/155

A 6 1 K 31/495(2006.01)

A 6 1 K 31/495

請求項の数 21 (全66頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-507978(P2020-507978)

(86)(22)出願日 平成30年4月18日(2018.4.18)

(65)公表番号 特表2020-517745(P2020-517745
A)

(43)公表日 令和2年6月18日(2020.6.18)

(86)国際出願番号 PCT/SG2018/050194

(87)国際公開番号 WO2018/194520

(87)国際公開日 平成30年10月25日(2018.10.25)

審査請求日 令和3年4月19日(2021.4.19)

(31)優先権主張番号 1706162.3

(32)優先日 平成29年4月19日(2017.4.19)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(73)特許権者 507421865

ナショナル ユニヴァーシティ オブ シ
ンガポールシンガポール, シンガポール 1 1 9 0
7 7, ローワー ケント リッジ ロード
2 1

(73)特許権者 519374911

ユニヴァーシティ オブ マイソール
インド 5 7 0 0 0 6 マイソール マナ
サガンゴットリ

(73)特許権者 519374922

バンガロール ユニヴァーシティ
インド 5 6 0 0 0 1 バンガロール パ
レス ロード セントラル カレッジ キャ
ンパス

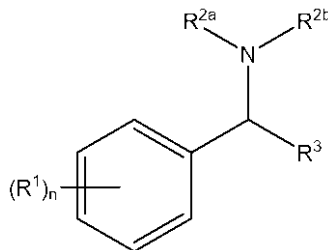
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 B C L - 2 関連死プロモーター (B A D) のリン酸化の小分子阻害剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 (I) の化合物 :



(I)

であって、 R^1 のそれぞれが、独立してハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $NR^{10}R^{11}$ 、 $C(O)R^{10}$ 、 $C(O)OR^{10}$ 、 $C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 $-O(C_{1-6}$ アルキル)、 $-O(C_{1-6}$ ハロアルキル)、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ アリール、又は $-O-$ ヘテロアリールであって、

R^{10} 及び R^{11} のそれぞれが、H、又はOH、ハロ、シアノ、 NH_2 、アリール若しくはヘテロアリールから選択される1以上の置換基により任意で置換される C_{1-6} アルキルから独立して選択され、

アルキル及びハロアルキル基 R^1 が、OH、シアノ、 $-S(O)_pNR^4R^5$ 、 $-C(O)$

) NR^4R^5 、アリール、ヘテロアリール、 $-\text{O}-$ アリール若しくは $-\text{O}-$ ヘテロアリール、アリールで任意で置換された $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ 、又は $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{ハロアルキル})$ から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

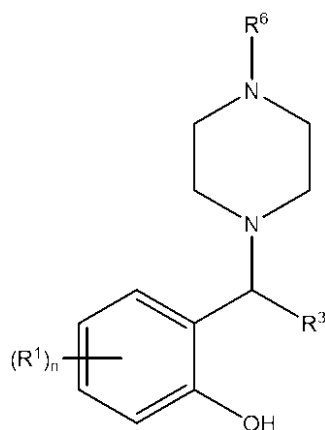
アリール又はヘテロアリール基 R^1 が、ハロ、 OH 、シアノ、ニトロ、 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{S}(\text{O})_p\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^4$ 、又は OH 、ハロ、アリール、ヘテロアリール、 $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ 、 $\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{ハロアルキル})$ 、 $-\text{O}-$ アリール若しくは $-\text{O}-$ ヘテロアリールから選択される1以上の置換基により任意で置換される $-\text{C}_{1-6}\text{アルキル}$ 若しくは $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

p が1又は2であり、

R^4 及び R^5 のそれぞれが、 H 若しくは $\text{C}_{1-4}\text{アルキル}$ から独立して選択され、又は R^4 及び R^5 が、それらが結合する窒素原子とともに O 、 N 及び S から選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する3員若しくは8員の複素環を形成してもよく、

n が0、1、2、3、又は4であり、

R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともに、ピペラジン4位で単一の R^6 置換基により置換されるピペラジン環を形成し、一般式(I)の前記化合物が一般式(II B)の化合物：



(II B)

であり、

R^6 が、フェニルであり、 R^6 は、ハロ、 OH 、シアノ、ニトロ、 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{S}(\text{O})_p\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^4$ 、又は OH 、ハロ、アリール、ヘテロアリール、 $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ 、 $\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{ハロアルキル})$ 、 $-\text{O}-$ アリール若しくは $-\text{O}-$ ヘテロアリールから選択される1以上の置換基により任意で置換される $-\text{C}_{1-6}\text{アルキル}$ 若しくは $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{アルキル})$ から選択される1以上の置換基により置換され、

R^4 及び R^5 が、上記で定義したとおりであり、

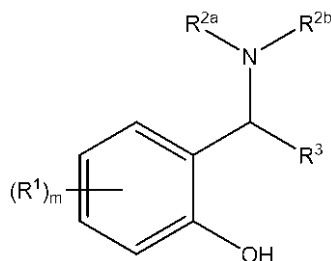
R^3 が、アリール又はヘテロアリールであり、それらがハロ、任意でアリールにより置換される $-\text{C}_{1-4}\text{アルキル}$ 、任意でアリールにより置換される $-\text{O}(\text{C}_{1-4}\text{アルキル})$ 、 $-\text{C}_{1-4}\text{ハロアルキル}$ 、 $-\text{O}(\text{C}_{1-4}\text{ハロアルキル})$ 、又は $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^9$ から選択される1以上の置換基 R^7 により任意で置換され、

R^8 及び R^9 のそれぞれが、独立して H 、 $\text{C}_{1-4}\text{アルキル}$ 若しくは $\text{C}_{3-6}\text{シクロアルキル}$ から選択され、又は R^8 及び R^9 が、それらが結合する窒素原子とともに O 、 N 及び S から選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよい、化合物、

又はその薬学的に許容される塩、その溶媒和化合物若しくは水和物、その重水素化若しくはトリチウム化した変異体、又はその立体異性体。

【請求項2】

一般式 (I A) の化合物 :



(I A)

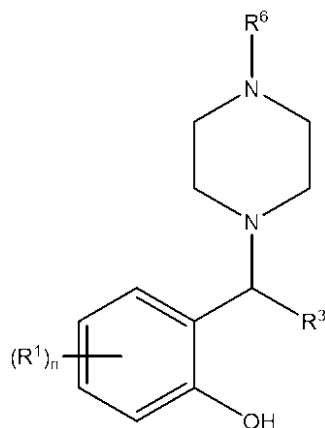
であって、 R^1 のそれぞれが、独立してハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、アリール又はヘテロアリールであり、アリール又はヘテロアリール基は、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $-S(O)_pNR^4R^5$ 、 $-C(O)NR^4R^5$ 、任意でアリールにより置換される $-C_{1-6}$ アルキル、 $-C_{1-6}$ ハロアルキル、任意でアリールにより置換される $-O(C_{1-6}$ アルキル)、又は $-O(C_{1-6}$ ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

p が0、1又は2であり、

R^4 及び R^5 のそれぞれが、独立してH若しくは C_{1-4} アルキルから選択され、又は R^4 及び R^5 が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよく、

m が0、1、2、3又は4であり、

R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともに、ピペラジン4位で単一の R^6 置換基により置換されるピペラジン環を形成し、一般式 (I A) の前記化合物が一般式 (I B) の化合物 :



(I B)

であり、

R^6 が、フェニルであり、 R^6 が、ハロ、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} ハロアルキル、 $-O(C_{1-4}$ アルキル)又は $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により置換され、

n が、 m であり、

R^3 が、アリール又はヘテロアリールであり、それらがハロ、任意でアリールにより置換される $-C_{1-4}$ アルキル、任意でアリールにより置換される $-O(C_{1-4}$ アルキル)、 $-C_{1-4}$ ハロアルキル、 $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)、又は $-C(O)NR^8R^9$ から選択される1以上の置換基 R^7 により任意で置換され、

R^8 及び R^9 のそれぞれが、独立してH、 C_{1-4} アルキル若しくは C_{3-6} シクロアルキルから選択され、又は R^8 及び R^9 が、それらが結合する窒素原子とともに、O、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形

10

20

30

40

50

成してもよい、化合物、

又はその薬学的に許容される塩、その溶媒和化合物若しくは水和物、その重水素化若しくはトリチウム化した変異体、又はその立体異性体。

【請求項 3】

n が 1 若しくは 2 であり、及び少なくとも 1 つの R¹ 基が OH である請求項 1 に記載の化合物、又は m が 0 若しくは 1 である請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

m が 0 以外であり、及び R¹ がハロ又は請求項 2 で定義されるように任意で置換されるアリール若しくはヘテロアリール基である、請求項 2 又は 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

R¹ が、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、-SO₂NH₂、-C(O)NR⁴R⁵、任意でアリールにより置換される-C₁₋₄アルキル、-C₁₋₄ハロアルキル、任意でアリールにより置換される-O(C₁₋₄アルキル)、又は-O(C₁₋₄ハロアルキル)により任意で置換されるアリール又はヘテロアリール基であり、R⁴及びR⁵が、それらが結合する窒素原子とともにピペリジン又はピロリジン環を形成する、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 6】

R¹ が、クロロ、フルオロ、メチル、エチル、トリフルオロメチル、ベンジル、メトキシ、エトキシ、ベンジルオキシ、トリフルオロメトキシ及びピペリジン-1-カルボニルにより任意で置換されるアリール又はヘテロアリール基である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

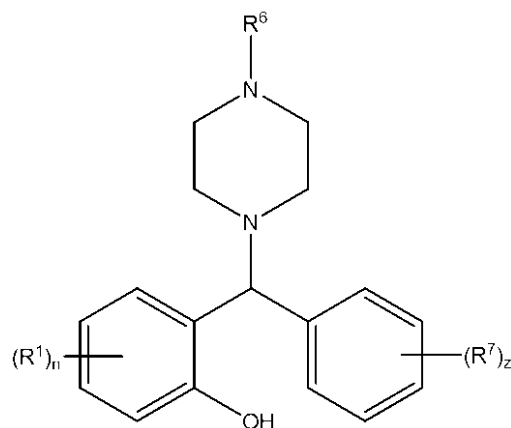
R⁶ が、ハロまたは C₁₋₄アルキルで置換されるフェニルである、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 8】

R⁶ が、クロロまたはメチルで置換されるフェニルである、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

R³ が、1 以上の置換基 R⁷ により任意で置換されるフェニルであり、一般式 (I) の前記化合物が一般式 (ID) の化合物：



(I D)

であり、

R¹、n、R^{2a}、R^{2b}及びR⁷が、一般式 (I) により定義されるとおりであり、及び z が 0 から 5 である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 10】

z が 0、1 又は 2 であり、R⁷ が存在せず (即ち、z が 0 である)、又は R⁷ がハロ、-C₁₋₄アルキル、ベンジル、-O(C₁₋₄アルキル)ベンジルオキシ、-C₁₋₄ハロアルキル、-O(C₁₋₄ハロアルキル)若しくは-C(O)NR⁸R⁹であって、R⁸及びR⁹が、それらが結合する窒素原子とともにピペリジニル環を形成し、又はR⁸がHであり、及びR⁹

がC₃₋₇シクロアルキルである、請求項9に記載の化合物。

【請求項11】

2 - ((2 - クロロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
メチル) フェノール (化合物 1) 、

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
メチル) フェノール (化合物 2) 、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル)
ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 3) 、

(4 - ((2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジニル) メ
チル) フェニル) (ピペリジン - 1 - イル) メタノン (化合物 4) 、

3 - ((5 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラ
ジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 5) 、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル)
ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 4 - クロロフェノール (化合物 6) 、

2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (o - トリル) メチ
ル) フェノール (化合物 8) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(2 - ヒドロキシフェニル) メチル) ベンズアミド (化合物 9 、 N P B) 、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフ
ェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 10) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化
合物 16) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 - ヒドロキシ - 2 ' - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベン
ズアミド (化合物 17) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 - ヒドロキシ - 3 ' - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベン
ズアミド (化合物 18) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 - ヒドロキシ - 4 ' - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベン
ズアミド (化合物 19) 、

3 - ((2 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 -
ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベン
ズアミド (化合物 20) 、

3 - ((3 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 -
ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベン
ズアミド (化合物 21) 、

3 - ((4 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 -
ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベン
ズアミド (化合物 22) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 ' - エチル - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベン
ズアミド (化合物 23) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 - ヒドロキシ - 4 ' - (ピペリジン - 1 - カルボニル) - [1 , 1 ' - ビフェニル]
- 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 24) 、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル)
(4 - ヒドロキシ - 4 ' - メトキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベ
ンズアミド (化合物 25) 、

10

20

30

40

50

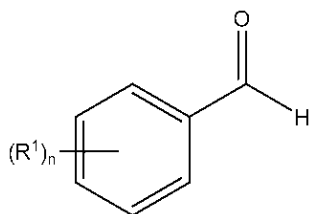
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 ' - エチル - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 6) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 ' - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 7) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (3 ' - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 8) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 ' - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 9) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - ニトロ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 0) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - スルファモイル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 1) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 2 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 2) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 3) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 4 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 4) 、
- 3 - ((2 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 5) 、
- 3 - ((3 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 6) 、
- 3 - ((4 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 7) 、
- 3 - ((2 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - 4 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 8) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((2 ' , 4 ' - ジクロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 9) 、
- 3 - ((4 ' - クロロ - 2 ' , 4 - ジヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 4 0) 、
- 3 - ((4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 4 1 、 N C K 1) 、
- 2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 2 、 N C K 2) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (3 - メトキシフェ

ニル)メチル)フェノール(化合物43、NCK3)、
 2-((4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(ナフタレン-1-イル)メチル)フェノール(化合物45、NCK5)、
 2-((4-(5,6-ジクロロシクロヘキサ-1,5-ジエン-1-イル)ピペラジン-1-イル)(2-フルオロ-3-メチルピリジン-4-イル)メチル)フェノール(化合物47、NCK7)、
 2-((4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(4-(トリフルオロメチル)フェニル)メチル)フェノール(化合物48、NCK8)、
 2-((6-クロロ-5-メチルピリジン-3-イル)(4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物49、NCK9)、
 2-((4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(ピリジン-3-イル)メチル)フェノール(化合物50、NCK10)、
 3-((4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(4-(ジエチルアミノ)-2-ヒドロキシフェニル)メチル)-N-シクロペンチルベンズアミド(化合物52、NCK16)、
 N-シクロペンチル-3-((4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(4-(ジエチルアミノ)-2-ヒドロキシフェニル)メチル)ベンズアミド(化合物53、NCK18)、
 N-シクロペンチル-3-((4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(2-ヒドロキシ-4,6-ジメトキシフェニル)メチル)ベンズアミド(化合物54、NCK19)、
 2-((4-クロロフェニル)(4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物55、NCK20)、
 2-((4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(6-メチルピリジン-3-イル)メチル)フェノール(化合物56、NCK21)、
 2-(o-トリル(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物57、SG1)、
 2-((4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)(4-(トリフルオロメチル)フェニル)メチル)フェノール(化合物58、SG2)、
 N-シクロペンチル-4-((2-ヒドロキシフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド(化合物59、SG3)、
 2-((4-クロロフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物60、SG4)、
 2-((3-メトキシフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物61、SG5)、
 2-((6-メチルピリジン-3-イル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物63、SG7)、から選択される、請求項1に記載の化合物、
 又はその薬学的に許容される塩、その溶媒和化合物若しくは水和物、その重水素化若しくはトリチウム化した変異体、又はその立体異性体。

【請求項12】

請求項1から11のいずれか一項に記載の化合物の調製方法であって、

i. 一般式(II)のアルデヒド:



(II)

10

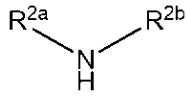
20

30

40

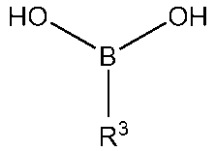
50

であって、 R^1 及び n が請求項1に定義したとおりであるアルデヒドを、
一般式(III)の化合物：



(III)

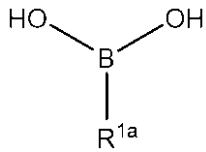
であって、 R^{2a} 及び R^{2b} が請求項1に定義したとおりである化合物、
及び一般式(IV)のボロン酸：



10

(IV)

であって、 R^3 が請求項1に定義したとおりであるボロン酸と反応させる工程、又は
ii. R^1 がハロゲンである一般式(I)の化合物を、一般式(V)の化合物：



20

(V)

と反応させる工程であって、 R^{1a} が、請求項1において R^1 について定義したとおりに任意で置換されるアリール又はヘテロアリールであり、

パラジウム触媒の存在下で鈴木カップリング反応を介して、 R^1 が R^{1a} である一般式(I)の化合物を得る工程、
のいずれかを含む調製方法。

【請求項13】

請求項1から11のいずれか一項に記載の化合物を含む、医学における使用のための医薬組成物。

30

【請求項14】

請求項1から11のいずれか一項に記載の化合物を含む、癌の治療における使用のための医薬組成物。

【請求項15】

癌の治療のための薬の調製における、請求項1から11のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項16】

癌を治療するための方法であって、前記方法が、そのような治療を必要とするヒト以外の患者に有効量の請求項1から11のいずれか一項に記載の化合物を投与する工程を含む、方法。

40

【請求項17】

前記癌が、BADリン酸化が存在する癌、例えば、乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、肝臓癌、結腸癌、前立腺癌、若しくは膵臓癌、又はBADがリン酸化されている任意の他の上皮由来の癌である、請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項18】

前記癌が、BADリン酸化が存在する癌、例えば、乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、肝臓癌、結腸癌、前立腺癌、若しくは膵臓癌、又はBADがリン酸化されている任意の他の上皮由来の癌である、請求項15に記載の使用。

【請求項19】

50

前記癌が、B A Dリン酸化が存在する癌、例えば、乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、肝臓癌、結腸癌、前立腺癌、若しくは膵臓癌、又はB A Dがリン酸化されている任意の他の上皮由来の癌である、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 から 1 1 のいずれか一項に記載の化合物及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 2 1】

腹腔内投与、肝門脈投与、静脈内投与、関節内投与、膵臓十二指腸動脈投与若しくは筋肉内投与、又はそれらの任意の組み合わせのために処方される、請求項 2 0 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、新規な化合物、及び特に癌細胞におけるB c l - 2 関連死プロモーターの阻害剤である化合物、癌の治療又は予防における使用のための化合物、並びに当該化合物を含む医薬組成物に関連する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

アポトーシス又はプログラム細胞死は、自己反応性免疫細胞、加齢細胞及び修復できないDNA損傷を有する細胞の排除に中心的に関与する制御機構である[1]。アポトーシスは、脊椎動物における2つの別個の機構 外因性及び内因性の経路により実行される[2]。内因性の経路は、低酸素条件下で、深刻なゲノム損傷、酸化ストレス又は成長因子の枯渇後に活性化される[3]。B C L - 2 ファミリータンパク質は、内因性アポトーシス経路の制御における中心的な役割を有する[4]。2 0 を超えるB C L - 2 ファミリーメンバーが同定され、かつ抗アポトーシス性の、アポトーシス促進性の、及びB H 3 - o n l y のタンパク質に大まかに分類されている。B C L - 2、B C L - x L 及びB C L - w は抗アポトーシス性であり、B A K 及びB A X はアポトーシス促進性であり、並びにB A D、B I M、P U M A、N O X A は優勢なアポトーシス促進性のB H 3 o n l y タンパク質である[5 - 7]。ゆえに、B C L - 2 ファミリーは、その間に維持される平衡を有するアポトーシス促進性及び抗アポトーシス性の機能の両方を供給し、かつアポトーシス促進性B H 3 o n l y タンパク質は、通常はホメオスタシスを確保するために抑制されている[8]。

【0 0 0 3】

アポトーシスの抑制は、不適当な細胞の生存並びに癌の発達及び/又は進行に貢献する[9 - 1 1]。ほとんどの悪性腫瘍において、抗アポトーシス性タンパク質の発現が増加し、アポトーシスに対する耐性の発達をもたらす。B c l - 2 関連死プロモーター(B A D)は、B c l - 2、B c l - x L 及びB c l - w との相互作用によるアポトーシスの制御における、重大な役割を果たす[1 2]。ヒトB A Dは、p 4 4 / 4 2 M A P キナーゼによりS e r 7 5 (同等のマウス残基はS e r 1 1 2 である)で、及びA K T / p 7 0 S 6 K によりS e r 9 9 (同等のマウス残基はS e r 1 3 6 である)で、リン酸化される[1 3]。両方のセリン残基は、アポトーシスを防ぐためにP i m ファミリーキナーゼによってもリン酸化される[1 4]。これらの両方の残基におけるB A Dのリン酸化は、h B A DをB C L - x L 又はB C L - 2 とヘテロ二量体化する能力の損失をもたらす[1 5]。リン酸化されたB A Dタンパク質は、1 4 - 3 - 3 タンパク質とヘテロ二量体化され、かつ細胞質中に隔離される[1 6]。アポトーシスの開始に際して、B A Dは脱リン酸化を受け、かつB C L - 2、B C L - x L 又はB C L - w とヘテロ二量体化し、これによりB A K 及びB A X にシトクロムCを細胞質に放出させ、これには後続の内因性アポトーシス経路の促進が伴う[1 7]。B A Dは、他のタンパク質及び細胞内での機能的相互作用を有することも報告されている。例えば、B A D発現はp 5 3 により制御され、かつp 5 3 とのB A D複合体はアポトーシスを促進する[1 8]。B a d はp 5 3 により転写的に

10

20

30

40

50

上方制御され、かつミトコンドリアでBad/p53複合体を形成してアポトーシスを誘発する[18]。臨床的には、BADの高発現は前立腺癌におけるグリソンスコアの高さと関連し[15]、かつBADのリン酸化は卵巣癌における低い全生存率を予報し[19]、シスプラチンに対する耐性と関連する[19]と報告されている。さらに、乳癌におけるCD44陽性の癌幹細胞(CSC)集団の80%を超えるリン酸化されたBADが観察され、かつBADのリン酸化がCSCの生存に不可欠であることが報告されている[20]。

【0004】

プログラム細胞死の多数の小分子モジュレーターが発達し、これらは種々のヒトの悪性腫瘍に対する治療上の使用のためにBCL-2ファミリータンパク質を標的としている[21-23]。現在まで、BADなどのBH3-onlyタンパク質の小分子モジュレーターは報告されていない。したがって、上流の事象に影響を与えることなくBADリン酸化を阻害することにより癌を管理するための、より優れた有効な化合物/治療法を開発する必要がある。

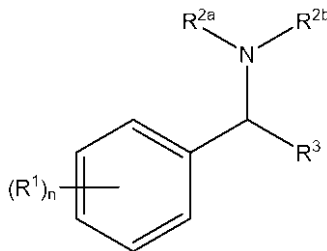
10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明においては、一般式(I)の化合物：



20

(I)

であって、 R^1 のそれぞれが、独立してハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $NR^{10}R^{11}$ 、 $C(O)R^{10}$ 、 $C(O)OR^{10}$ 、 $C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-S(O)_qNR^{10}R^{11}$ 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 $-O(C_{1-6}$ アルキル)、 $-O(C_{1-6}$ ハロアルキル)、アリーール、ヘテロアリーール、 $-O-$ アリーール、又は $-O-$ ヘテロアリーールであって、

30

R^{10} 及び R^{11} のそれぞれが、H又はOH、ハロ、シアノ、 NH_2 、アリーール若しくはヘテロアリーールから選択される1以上の置換基により任意で置換される C_{1-6} アルキルから独立して選択され、

アルキル及びハロアルキル基 R^1 が、OH、シアノ、 $-S(O)_pNR^4R^5$ 、 $-C(O)NR^4R^5$ 、アリーール、ヘテロアリーール、 $-O-$ アリーール若しくは $-O-$ ヘテロアリーール、アリーールで任意で置換された $-O(C_{1-6}$ アルキル)、又は $-O(C_{1-6}$ ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

アリーール又はヘテロアリーール基 R^1 が、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $-NR^4R^5$ 、 $-S(O)_pNR^4R^5$ 、 $-C(O)NR^4R^5$ 、 $-C(O)R^4$ 、 $-C(O)OR^4$ 、又はOH、ハロ、アリーール、ヘテロアリーール、 $-O(C_{1-6}$ アルキル)、 $O(C_{1-6}$ ハロアルキル)、 $-O-$ アリーール若しくは $-O-$ ヘテロアリーールから選択される1以上の置換基により任意で置換される $-C_{1-6}$ アルキル若しくは $-O(C_{1-6}$ アルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

40

pが1又は2であり、

R^4 及び R^5 のそれぞれが、H若しくは C_{1-4} アルキルから独立して選択され、又は R^4 及び R^5 が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する3員若しくは8員の複素環を形成してもよく、

nが0、1、2、3、4、又は5であり、

R^{2a} 及び R^{2b} が、各々独立してハロ、OH、アリーール又はヘテロアリーールから選択され

50

る 1 以上の置換基により任意で置換される C₁₋₆アルキルであり、又は、

R^{2a}及びR^{2b}が、それらが結合する窒素原子とともにO、N又はSから選択される 1 以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有する 5 員又は 6 員の複素環を形成し、及び 1 以上の置換基 R⁶により任意で置換され、

R⁶のそれぞれが、アリール、ヘテロアリール、-O-アリール、-O-ヘテロアリール、カルボシクリル、ヘテロシクリル、-O-カルボシクリル、-O-ヘテロシクリル、R¹²、OR¹²、C(O)R¹²、C(O)OR¹¹、C(O)NR¹¹R¹²、CN、OHから独立して選択され、

R¹¹及びR¹²のそれぞれが、独立してH若しくはC₁₋₄アルキルであり、1 以上のアリール又はヘテロアリール基により置換されてもよく、アリール及びヘテロアリール基は、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、-NR⁴R⁵、-S(O)_pNR⁴R⁵、-C(O)NR⁴R⁵、-C(O)R⁴、-C(O)OR⁴又はOH、ハロ、アリール、ヘテロアリール、-O(C₁₋₆アルキル)、O(C₁₋₆ハロアルキル)、-O-アリール若しくは-O-ヘテロアリールから選択される 1 以上の置換基により任意で置換される -C₁₋₆アルキル若しくは-O(C₁₋₆アルキル)から選択される 1 以上の置換基により置換され、

R⁴及びR⁵が、上記で定義したとおりであり、又はR¹¹及びR¹²が、それらが結合する窒素原子に結合して、N、O及びSから選択される 1 以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有する 3 員から 8 員の複素環を形成し、及びC₁₋₄アルキル、C₁₋₄ハロアルキル若しくはハロにより任意で置換されてもよく、

R³が、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル、又はヘテロシクリルであり、それらがハロ、任意でアリールにより置換されるC₁₋₄アルキル、任意でアリールにより置換される-O(C₁₋₄アルキル)、-C₁₋₄ハロアルキル、-O(C₁₋₄ハロアルキル)、又は-C(O)NR⁸R⁹から選択される 1 以上の置換基 R⁷により任意で置換され、

R⁸及びR⁹のそれぞれが、独立してH、C₁₋₄アルキル若しくはC₃₋₆シクロアルキルから選択され、又はR⁸及びR⁹が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される 1 以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する 5 員若しくは 6 員の複素環を形成してもよい、化合物、

又は薬学的に許容される塩、溶媒和化合物若しくはそれらの水和物又は全ての立体異性体を包含するその重水素化又はトリチウム化した変異体が提供される。

【0006】

一般式(I)の化合物は、その上流キナーゼに影響を与えることなく部位特異的BADリン酸化を阻害し、したがって多数の癌由来細胞のアポトーシスの促進に有用である。

本明細書においては、表現言語又必要な含意のために文脈が別途要求する場合を除き、単語「含む(comprises)」、又は「含む(comprises)」若しくは「含んでいる(comprising)」などの変形が包括的な意味で使用され、即ち、述べられた特性の存在を明示するが、本発明の種々の実施形態におけるさらなる特性の存在又は追加を排除しない。

本明細書においては、用語「C₁₋₆アルキル」は、1 個から 6 個の炭素原子を有する完全に飽和した直鎖又は分岐鎖の炭化水素鎖を指す。例には、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、t-ブチル、n-ヘキシルを包含される。

用語「C₁₋₄アルキル」は、同様の意味を有するが、1 個から 4 個の炭素原子を有するアルキル基を指す。

用語「C₁₋₆ハロアルキル」は、上記で定義したとおりのC₁₋₆アルキル基であり、1 以上の水素原子がハロ原子により置き換えられている。ハロアルキル基は、1 からペルハロ置換までの任意の数のハロ置換基を有し得る。例には、クロロメチル、トリフルオロメチル、1-プロモエチル、1,1,2,2-テトラフルオロエチルなどが包含される。

【0007】

用語「カルボシクリル」は、3 個から 7 個の炭素原子を有し、かつ任意で 1 以上の炭素-炭素二重結合を含有する、非芳香族炭化水素環を指す。例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル及びシクロヘプチルなどのC₃₋₇シクロアルキル

10

20

30

40

50

ル基、並びにシクロヘキセニルなどのシクロアルケニル基が包含される。

用語「ヘテロシクリル」は、5個から7個の炭素原子並びにN、O、及びSから選択される少なくとも1つの環ヘテロ原子を有する非芳香環を指す。例には、ピペラジニル、ピペリジニル、モルホリニル、ピロリジニル及びイミダゾリニルが包含される。

本明細書においては、「ハロ」はフルオロ、クロロ、ブロモ又はヨードを指す。

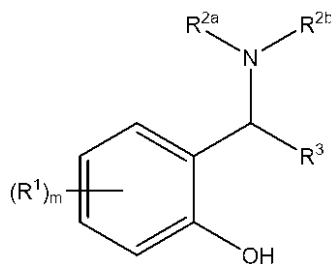
本明細書の文脈における用語「アリール」は、別途明示しない限り、5個から14個の環炭素原子を有し、かつ最大で3つの環を含有する芳香族特性を有する環系を指す。アリール基が1以上の環を含有する場合、すべての環が完全に芳香族特性である必要はない。芳香族部分の例は、ベンゼン、ナフタレン、インダン及びインデンである。

本明細書の文脈における用語「ヘテロアリール」は、(別途明示しない限り)5個から14個の環原子を有し、その少なくとも1つがN、O及びSから選択されるヘテロ原子であり、かつ最大で3つの環を含有する、芳香族特性を有する環系を指す。ヘテロアリール基が1以上の環を含有する場合、すべての環が完全に芳香族特性である必要はない。ヘテロアリール基の例には、ピリジン、ピリミジン、インドール、イソインドール、ベンゾフラン、ベンゾイミダゾール、ベンゾオキサゾール、ベンゾイソオキサゾール及びインドレンが包含される。

一般式(I)の化合物においては、nが好適には2又は3、例えば2である。少なくとも1つのR¹基は、OHであり得る。この場合、OH基は好適には -CH(R³)NR^{2a}R^{2b}基に近接する位置である。

【0008】

好適には、一般式(I)の化合物は、一般式(IA)の化合物：



(IA)

であって、R¹、R^{2a}、R^{2b}、及びR³が上記で定義したとおりであり、及びmが0、1、2、3又は4である。

好適には、一般式(I)及び(IA)の化合物において、

R¹のそれぞれが、独立してハロ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、アリール又はヘテロアリールであり、アリール又はヘテロアリール基は、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、-S(O)_pNR⁴R⁵、-C(O)NR⁴R⁵、任意でアリールにより置換される-C₁₋₆アルキル、-C₁₋₆ハロアルキル、任意でアリールにより置換される-O(C₁₋₆アルキル)、又は-O(C₁₋₆ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

pが0、1又は2であり、

R⁴及びR⁵のそれぞれが、独立してH若しくはC₁₋₄アルキルから選択され、又はR⁴及びR⁵が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよく、

R^{2a}及びR^{2b}が、各々独立してハロ、OH、アリール又はヘテロアリールから選択される1以上の置換基により任意で置換されるC₁₋₆アルキルであり、又は、

R^{2a}及びR^{2b}が、それらが結合する窒素原子とともにO、N又はSから選択される1以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有する5員又は6員の複素環を形成し、及び1以上の置換基R⁶により任意で置換され、

R⁶のそれぞれが、アリール、ヘテロアリール、-O-アリール、-O-ヘテロアリール、又は1以上のアリール若しくはヘテロアリール基により置換されるC₁₋₄アルキルから

10

20

30

40

50

独立して選択され、アリール及びヘテロアリール基が、ハロ、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} ハロアルキル、 $-O(C_{1-4}$ アルキル)又は $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により置換され、

R^3 が、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル又はヘテロシクリルであり、それらがハロ、任意でアリールにより置換される C_{1-4} アルキル、任意でアリールにより置換される $-O(C_{1-4}$ アルキル)、 $-C_{1-4}$ ハロアルキル、 $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)、又は $-C(O)NR^8R^9$ から選択される1以上の置換基 R^7 により任意で置換され、

R^8 及び R^9 のそれぞれが、独立してH、 C_{1-4} アルキル若しくは C_{3-6} シクロアルキルから選択され、又は R^8 及び R^9 が、それらが結合する窒素原子とともに、O、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよい、化合物、

又は薬学的に許容される塩、溶媒和化合物若しくはそれらの水和物又は全ての立体異性を包含するその重水素化又はトリチウム化した変異体である。

【0009】

一部の好適な一般式(1A)の化合物においては、 m は0であるため、 R^1 は存在しない。

他の好適な化合物においては、 m は1又は2であるが、より一般的には1である。

そのような場合には、 R^1 は好適にはハロ、特にクロロ又はフルオロであり、あるいは R^1 は任意で上記したように置換されるアリール又はヘテロアリール基である。より一般的には、 R^1 は、クロロ、フルオロ又は任意で上記したように置換されるアリールである。

R^1 がアリール又はヘテロアリール基である場合、それは好適にはフェニル環の4位である(炭素がOH基で置換されている場所が1位として指定される)。

アリール又はヘテロアリール基 R^1 のための好適な置換基は、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $-SO_2NH_2$ 、 $-C(O)NR^4R^5$ 、任意でアリールにより置換される $-C_{1-4}$ アルキル、 $-C_{1-4}$ ハロアルキル、任意でアリールにより置換される $-O(C_{1-4}$ アルキル)又は $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)を包含し、 R^4 及び R^5 が、それらが結合する窒素原子とともにピペリジン又はピロリジン環を形成する。

アリール又はヘテロアリール基 R^1 のためのより好適な置換基は、クロロ、フルオロ、メチル、エチル、トリフルオロメチル、ベンジル、メトキシ、エトキシ、ベンジルオキシ、トリフルオロメトキシ及びピペリジン-1-カルボニルを包含する。

本発明の一部の好適な化合物においては、 R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともに、O、N又はSから選択される1以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有し、かつ1以上の置換基 R^6 により任意で置換され、 R^6 が上記で定義したとおりである、5員若しくは6員の複素環を形成する。

より好適には、 R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともに、1以上の置換基 R^6 により任意で置換される6員の複素環を形成する。

【0010】

さらにより好適には、 R^{2a} 及び R^{2b} により形成される6員環はピペリジン環又はピペラジン環であり、最も好適にはピペラジン環である。 R^{2a} 及び R^{2b} がピペラジン環を形成する場合、それは1以上の上記で定義したとおりの置換基 R^6 により任意で置換され得るが、好適には単一の R^6 置換基によりピペラジン4位で置換され、一般式(I)の化合物が一般式(1B)の化合物:

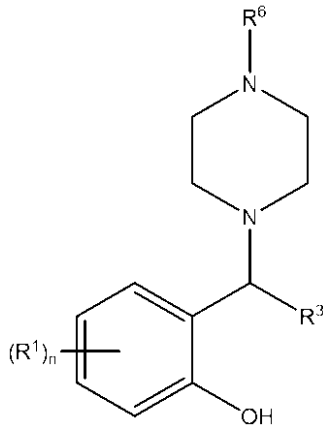
10

20

30

40

50



10

(I B)

であって、 R^1 、 n 、 R^3 及び R^6 が一般式 (I) 及び (I A) で定義したとおりである。

【 0 0 1 1 】

特に好適な置換基 R^6 は、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ アリール、 $-O-$ ヘテロアリール又は1又は2つのアリール若しくはヘテロアリール基により置換されるメチルを包含し、アリール及びヘテロアリール基は、ハロ、メチル、エチル、トリフルオロメチル、メトキシ、エトキシ若しくはトリフルオロメトキシから選択される1以上の置換基により置換される。

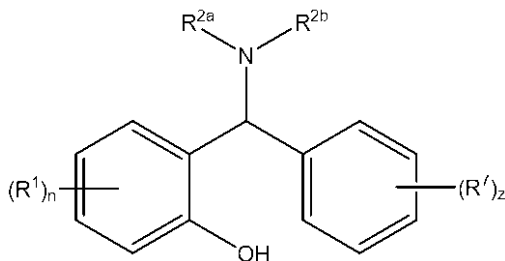
20

さらにより好適な置換基 R^6 は、フェニル、ヘテロアリール、 $-O-$ フェニル、 $-O-$ ヘテロアリール、ベンジル、 $-CH$ (フェニル) $_2$ 、 $-CH_2-$ ヘテロアリール及び $-CH$ (ヘテロアリール) $_2$ を包含し、ヘテロアリール基がピリジニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾオキサゾリル及びベンゾイソオキサゾリルから選択され、かつ上記の R^6 基のいずれもが上記したように置換されてもよいが、より好適にはハロ、メチル、エチル、及びトリフルオロメチルから選択される1以上の置換基により置換される。

【 0 0 1 2 】

一般式 (I) 及び (I A) のより好適な化合物においては、 R^3 は、上記で定義したとおりの1以上の置換基 R^7 により任意で置換されるアリール又はヘテロアリールである。最も好適には、 R^3 は、1以上の置換基 R^7 により任意で置換されるフェニルであり、一般式 (I) の化合物は一般式 (I C) の化合物：

30



40

(I C)

であって、 R^1 、 n 、 R^{2a} 、 R^{2b} 及び R^7 が上記で定義したとおりであり、及び z が0から5である。

【 0 0 1 3 】

より好適には、 z は0、1、2又は3であり、最も好適には0、1又は2である。

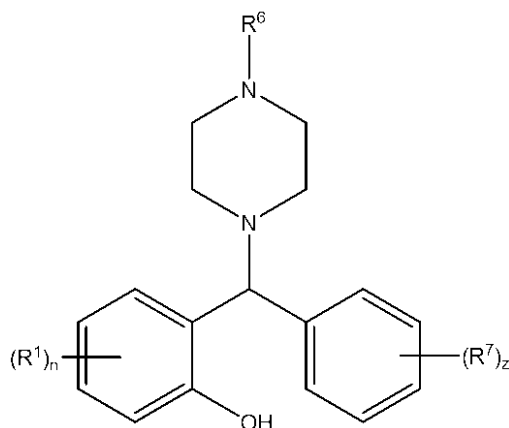
R^7 は上記で定義したとおりであるが、一部の好適な化合物においては、 R^7 は存在せず(即ち、 z は0である)、又は R^7 はハロ、 $-C_{1-4}$ アルキル、ベンジル、 $-O$ (C_{1-4} アルキル)ベンジルオキシ、 $-C_{1-4}$ ハロアルキル、 $-O$ (C_{1-4} ハロアルキル)若しくは $C(O)NR^8R^9$ であり、 R^8 及び R^9 が、それらが結合する窒素原子とともにピペリジニル環を形成し、又は R^8 がHでありかつ R^9 が C_{3-7} シクロアルキルである。

50

より好適には、 R^7 は存在せず、又は R^7 のそれぞれは独立してハロ、特にクロロ若しくはフルオロ、メチル、エチル、ベンジル、メトキシ、エトキシ、ベンジルオキシ、 $-C(O)-$ ピペリジニル又は $-C(O)NH-C_{3-7}$ シクロアルキルである。

【0014】

一部の特に好適な本発明の化合物は、一般式(I D)の化合物：



10

(I D)

であって、 R^1 、 n 、 R^6 、 R^7 及び z が、一般式(I)、(I A)、(I B)及び(I C)について上記で定義したとおりである。

20

【0015】

一般式(I)の化合物の例は、

2 - ((2 - クロロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 1)、

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 2)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 3)、

(4 - ((2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジニル) メチル) フェニル) (ピペリジン - 1 - イル) メタノン (化合物 4)、

30

3 - ((5 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 5)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 4 - クロロフェノール (化合物 6)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (6 - フルオロベンゾ [d] イソキサゾール - 3 - イル) ピペリジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 7)、

2 - ((4 - (2, 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (o - トリル) メチル) フェノール (化合物 8)、

40

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2, 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) ベンズアミド (化合物 9、NPB)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (2, 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 10)、

2 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (フェニル) メチル) フェノール (化合物 11)、

2 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (p - トリル) メチル) フェノール (化合物 12)、

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 13)、

50

2 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - エチルフェニル) メチル) フェノール (化合物 1 4) 、
 (4 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) フェニル) (ピペリジン - 1 - イル) メタノン (化合物 1 5) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 1 6) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 2 ' - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 1 7) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 1 8) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 4 ' - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 1 9) 、
 3 - ((2 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 2 0) 、
 3 - ((3 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 2 1) 、
 3 - ((4 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 2 2) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 ' - エチル - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 3) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 4 ' - (ピペリジン - 1 - カルボニル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 4) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 4 ' - メトキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 5) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 ' - エチル - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 6) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 ' - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 7) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (3 ' - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 8) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 ' - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 2 9) 、
 N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - ニトロ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 0) 、

10

20

30

40

50

- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - スルファモイル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 1) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 2 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 2) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 3) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 4 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 4) 、
- 3 - ((2 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 5) 、
- 3 - ((3 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 6) 、
- 3 - ((4 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 7) 、
- 3 - ((2 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - 4 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 8) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((2 ' , 4 ' - ジクロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 9) 、
- 3 - ((4 ' - クロロ - 2 ' , 4 - ジヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 4 0) 、
- 3 - ((4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 4 1 、 N C K 1) 、
- 2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 2 、 N C K 2) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (3 - メトキシフェニル) メチル) フェノール (化合物 4 3 、 N C K 3) 、
- 1 - (5 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) チオフェン - 2 - イル) エタノン (化合物 4 4 、 N C K 4) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (ナフタレン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 5 、 N C K 5) 、
- 5 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) フラン - 2 - カルバルデヒド (化合物 4 6 、 N C K 6) 、
- 2 - ((4 - (5 , 6 - ジクロロシクロヘキサ - 1 , 5 - ジエン - 1 - イル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - フルオロ - 3 - メチルピリジン - 4 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 7 、 N C K 7) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - (トリフルオロメチル) フェニル) メチル) フェノール (化合物 4 8 、 N C K 8) 、
- 2 - ((6 - クロロ - 5 - メチルピリジン - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 9 、 N C K 9) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (ピリジン - 3 - イ

ル)メチル)フェノール(化合物50、NCK10)、
 1-(5-(4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(2-ヒドロキシフェニル)メチル)チオフェン-2-イル)エタノン(化合物51、NCK14)、
 3-(4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(4-(ジエチルアミノ)-2-ヒドロキシフェニル)メチル)-N-シクロペンチルベンズアミド(化合物52、NCK16)、
 N-シクロペンチル-3-(4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(4-(ジエチルアミノ)-2-ヒドロキシフェニル)メチル)ベンズアミド(化合物53、NCK18)、
 N-シクロペンチル-3-(4-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(2-ヒドロキシ-4,6-ジメトキシフェニル)メチル)ベンズアミド(化合物54、NCK19)、
 2-(4-クロロフェニル)(4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物55、NCK20)、
 2-(4-(4-クロロフェニル)ピペラジン-1-イル)(6-メチルピリジン-3-イル)メチル)フェノール(化合物56、NCK21)、
 2-(o-トリル(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物57、SG1)、
 2-(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)(4-(トリフルオロメチル)フェニル)メチル)フェノール(化合物58、SG2)、
 N-シクロペンチル-4-(2-ヒドロキシフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド(化合物59、SG3)、
 2-(4-クロロフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物60、SG4)、
 2-(3-メトキシフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物61、SG5)、
 5-(2-ヒドロキシフェニル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フラン-2-カルバルデヒド(化合物62、SG6)、及び
 2-(6-メチルピリジン-3-イル)(4-(p-トリル)ピペラジン-1-イル)メチル)フェノール(化合物63、SG7)を包含する。

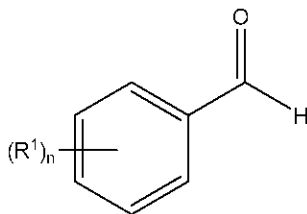
10

20

30

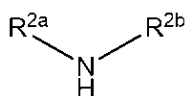
【0016】

一般式(I)の化合物は、一般式(II)のアルデヒド：



(II)

であって、R¹及びnが一般式(I)について定義したとおりであるアルデヒドを、
 一般式(III)の化合物：

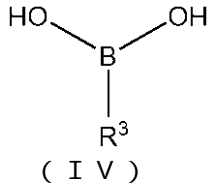


(III)

であって、R^{2a}及びR^{2b}が一般式(I)について定義したとおりである化合物、
 及び一般式(IV)のボロン酸：

40

50



であって、 R^3 が一般式 (I) について定義したとおりであるボロン酸と反応させる工程により調製することができる。

【 0 0 1 7 】

当該反応はペタシス反応であり、これは一般式 (I V) のボロン酸を潜在的な求核種として使用して、一般式 (I I) のサリチルアルデヒド誘導体と一般式 (I I I) のアミンと反応して新たな炭素 - 炭素結合を形成する、3成分ボロン酸マンニッヒ型反応である。ペタシス反応はイミニウム種の形成を介して進行し、イミニウム種はボロン酸と反応して第3級アミンを生成する。

10

好適な反応溶媒は、有機溶媒、例えばジオキサンなどの環状エーテルを包含する。

好適には、当該方法は：

i . 一般式 (I I) の化合物を一般式 (I I I) の化合物と反応させて、中間体イミニウム種を含む混合物を形成する工程、

i i . 工程 (i) の生成物を一般式 (I V) の化合物と反応させる工程、を包含する。

好適な工程 (i i) は、高温、例えば50 から100、例えば溶媒の還流温度で実行される。溶媒がジオキサンの場合、これは約85 から95 であり、典型的には約90 である。

20

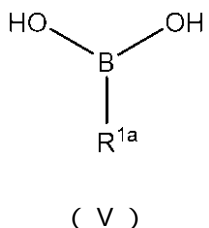
生成物を、酢酸エチルなどの第2の溶媒に抽出し、乾燥し、かつ以下の実施例に記載されるような標準的方法を用いて精製することができる。

一般式 (I I) 、 (I I I) 及び (V) の化合物は公知であり、かつ市販され又は公知の方法を用いて調製することができる。

【 0 0 1 8 】

一般式 (I) の化合物を、一般式 (I) の他の化合物から調製することも可能である。例えば、 R^1 がアリール又はヘテロアリールにより任意で置換される一般式 (I) の化合物を、 R^1 がハロゲンである一般式 (I) の化合物から、一般式 (V) の化合物：

30



との反応であって、 R^{1a} が一般式 (I) について定義したとおりに任意で置換されるアリール又はヘテロアリールである、反応により調製することができる。

当該反応は、パラジウム触媒による鈴木カップリング反応を使用して実行することができる。

40

一般式 (I V) の化合物は公知であり、かつ市販され又は公知の方法を用いて調製することができる。

【 0 0 1 9 】

一般式 (I) の化合物の調製方法は、本発明のさらなる態様を示す。

一般式 (I) の化合物は、Bcl - 2 関連死プロモーター (B A D) タンパク質を阻害し / 下方制御し / 抑制することができ、特に癌細胞におけるBcl - 2 関連死プロモーター (B A D) タンパク質のリン酸化を阻害し / 下方制御し / 抑制することができる。B A D の阻害 / 下方制御 / 抑制は、Akt / タンパク質キナーゼB (P K B) と呼ばれる上流のSer / Thr キナーゼに影響を与えることなく生じる。したがって、一般式 (I) の化合物は、B A D のリン酸化を優先的に阻害し / 下方制御し / 抑制する。

50

BADの阻害/下方制御は、Bcl-2/BADのタンパク質-タンパク質界面内の疎水性溝を占める一般式(I)の化合物によって実行される。さらに、一般式(I)の化合物は、ジクロロフェニル部分とともにヒトタンパク質のLeu-97、Trp-144、及びPhe-198の側鎖により形成される界面内の、追加の疎水性サイドポケットを占める。

式(I)の化合物は、BAD癌細胞、特に乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、肝臓癌、結腸癌、前立腺癌、又は膵臓癌細胞の、潜在性のある阻害剤/下方制御剤であり、かつBADのリン酸化の下方制御/阻害によりアポトーシスを誘発する。前記化合物は、癌細胞の細胞障害性を高め、かつ上流のキナーゼに影響を与えることなくBADのリン酸化の標的特異的な下方制御/阻害を実行する。

10

【0020】

一般式(I)の化合物は、MCF7細胞に対する抗癌活性によりスクリーニングされ、かつNPB(化合物9)が最も潜在性のある化合物であることが発見された。続いてNPBを、正常な不死化乳腺上皮細胞(MCF10A及びMCF12A)、正常な肝細胞(LO2)、乳癌(BT549、MDA-MB-231、MCF7、T47D、BT474)、子宮内膜癌(Ishikawa、Ecc-1、RL95-2、AN3)、卵巣癌(SK-OV-3、OVCAR-2、Caov-3、HEY C2、Ovca433)、肝臓癌(Hep3B、H2P、H2M)、結腸癌(HCT116、DLD-1、Caco-2)、前立腺癌(PC3、LNCaP、DU145)、及び膵臓癌(AsPC-1、BxPC-3)のパネルに対して評価した。NPBは試験した癌細胞株のすべてにおいてアポトーシスを有意に高め、かつNPBは正常な肝細胞及び不死化乳腺上皮細胞に対する実質的な活性を示さなかった。ラブラシアン修正(Laplacian-modified)単純ベイズ分類器を使用して、NPBを、NPBのヒトターゲットをBADタンパク質として予測する*in silico*解析にかける。

20

NPBは癌腫細胞の範囲におけるアポトーシス性細胞死を誘発するが、正常な(不死化された)上皮細胞には細胞障害性効果を有しないことが発見された。

アポトーシスを受けている細胞の特徴的な特性(hallmark features)は、ホスファチジルセリンの外在化、カスパーゼの活性化、及びゲノムDNAの断片化である。ある実施形態においては、NPBは、FITC-アネキシン-V及びヨウ化プロピジウムの染色を使用して、MCF7細胞に対するアポトーシスを示す。FITC-アネキシン-V染色は膜の完全性の損失を確認し、PI染色は後期アポトーシスイベントを示し、かつこれらの結果はカスパーゼ3/7活性に相関する。

30

【0021】

したがって、本発明のさらなる態様においては、医学における使用のための一般式(I)の化合物が提供される。

一般式(I)の化合物は、癌、好適には、BADリン酸化が存在する癌の治療に特に有用である。

したがって、さらなる態様においては、一般式(I)の化合物の癌の治療における使用が提供される。

さらに、癌の治療のための薬の調製における一般式(I)の化合物の使用が提供される。

40

癌を治療するための方法であって、当該方法が、そのような治療を必要とする患者に有効量の一般式(I)の化合物を投与する工程を含む方法もまた提供される。

当該化合物はBADリン酸化が存在する癌の治療に特に有用であり、例えば、癌は乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌、肝臓癌、結腸癌、前立腺癌、若しくは膵臓癌、又はBADがリン酸化されている任意の他の上皮由来の癌であり得る。

一般式(I)の化合物は、好適には医薬組成物として投与され、したがって本発明のさらなる態様においては、一般式(I)の化合物及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

薬学的に許容される賦形剤は、アジュバント、希釈剤、担体、造粒剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、甘味剤、流動化剤、抗付着剤、帯電防止剤、界面活性剤、抗酸化剤、ゴム、コ

50

ーティング剤、着色剤、香味剤、コーティング剤、可塑剤、防腐剤、懸濁剤、乳化剤、植物セルロース材料、球状化剤、他の従来公知の薬学的に許容される賦形剤、又はそれらの賦形剤の任意の組み合わせであり得る。

他の実施形態においては、本発明の医薬組成物は、腹腔内投与、肝門脈投与、静脈内投与、関節内投与、腓十二指腸動脈投与若しくは筋肉内投与、又はそれらの任意の組み合わせのために処方される。

ここで、実施例及び図面を参照して、本発明をより詳細に説明する。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1A】図1A及び図1Bは、化合物1の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。 10

【図1B】図1A及び図1Bは、化合物1の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図2】図2は、化合物2の ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図3A】図3A及び図3Bは、化合物3の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図3B】図3A及び図3Bは、化合物3の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図4A】図4A及び図4Bは、化合物4の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。 20

【図4B】図4A及び図4Bは、化合物4の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図5A】図5A及び図5Bは、化合物5の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図5B】図5A及び図5Bは、化合物5の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図6】図6は、化合物6の ^1H -NMRスペクトルを表す。

【図7A】図7A及び図7Bは、化合物7の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図7B】図7A及び図7Bは、化合物7の ^1H -NMR及び ^{13}C -NMRスペクトルを表す。 30

【図8】図8は、化合物8の ^{13}C -NMRスペクトルを表す。

【図9A】図9A及び図9Bは、化合物9の ^1H -NMR及びLCMSスペクトルを表す。

【図9B】図9A及び図9Bは、化合物9の ^1H -NMR及びLCMSスペクトルを表す。

【図10】図10は、化合物10の ^1H -NMRスペクトルを表す。

【図11】一連の癌腫細胞株におけるNPBのIC50値である。

【図12】NPBは癌腫細胞株の細胞生存率を抑え、かつアポトーシスを促進する。乳腺、子宮内膜、卵巣、肝臓、結腸、前立腺、及び膵臓の癌腫細胞株を包含する癌腫細胞の生存率に対する、NPB(5 μM)の効果。(A)細胞生存率、(B)カスパーゼ3/7活性、及び(C)細胞障害性を、方法論に記載されているようにApoTox-GloTM Triplex Assay Kitを使用して評価した。統計的有意性を、GraphPad Prism5を使用して、独立両側学生t検定により評価した。列は、3回の測定の平均を示す；バー、 \pm SD。** $P < 0.001$ 、* $P < 0.05$ 。注：RFU、相対蛍光単位；RLU、相対発光単位；#、非形質転換の不活化上皮細胞；MB-231、MDA-MB-231。 40

【図13】NPBはMCF7細胞におけるアポトーシス性細胞死を刺激する。(A)10 μM のNPBによる処理後にフローサイトメトリー解析を使用して測定した、MCF7細胞のアポトーシス性細胞死。アネキシンV-FITC染色をX軸に示し、PI染色をY軸に示す。左下の象限は生存細胞を示し、右下の象限は初期アポトーシス細胞を示し、左上の象限は壊死細胞を示し、右上の象限は後期アポトーシス細胞を表す。取得したアネキシ 50

ンV及びPIデータを、各象限において百分率(%)で示す。(B)10 μ MのNPBによる処理後にフローサイトメトリー解析を使用して測定した、MCF7細胞の細胞周期解析。(C)NPB又はDMSOへの暴露の後、3Dマトリゲル中で14日間培養した、MCF7細胞により生成された、施された(performed)コロニーのAlamarBlue(登録商標)生存率アッセイを使用した細胞生存率。NPB又はDMSOへの暴露の後、3Dマトリゲル中で培養した、MCF7細胞により生成されたカルセインAM染色コロニーの顕微鏡可視化(下)。(D)NPB又はDMSOへの暴露の後、軟寒天中で培養した、MCF7細胞により生成されたコロニーの、AlamarBlue(登録商標)生存率アッセイを使用した細胞生存率。(E)NPB又はDMSOへの暴露の後の、MCF7細胞により生成されたfociコロニーのクリスタルバイオレット染色。すべてのアッセイを、方法論に記載されているように実行した。統計的有意性を、GraphPad Prism5を使用して、独立両側スチューデントt検定により評価した。列は、3回の測定の平均を示す;バー、 \pm SD。** $P < 0.001$ 、* $P < 0.05$ 。

10

【図14】ケモインフォマティクス及び表面プラズモン共鳴(SPR)解析は、NPBのBADタンパク質に対する相互作用を予測する。(A)NPBのBADタンパク質サブユニットを伴うSPR解析により得られたセンサーグラム。BADタンパク質サブユニットを、CM5センサーチップの表面に固定した。様々な濃度(20~100 μ M)のNPBの溶液を注入して、時間(秒)の関数として記録された結果の結合応答(result binding responses)(RU)を生成した。結果を、BIAevaluation3.1を使用して解析した。(B)ウエスタンブロット(WB)解析を使用して、NPBによる処理後のMCF7細胞におけるBADのSer99リン酸化のレベルを評価した。(下)米国のNIHのImageJソフトウェア(<http://imagej.nih.gov/ij/>)を使用して、上記のBADリン酸化、BAD及び α -アクチンの用量応答からの、NPBの計算されたIC₅₀。(C)WB解析を使用して、NPBによる処理後のMCF7細胞中のBADの上流に関与する、多数のタンパク質のレベルを評価した。(D)WB解析を使用して、NPBによる処理後のMCF7細胞中の細胞生存及び細胞増殖に関与する、多数のタンパク質のレベルを評価した。WB解析については、方法論に記載されているように、可溶性全細胞抽出物をSDS-PAGEで泳動し、かつ免疫ブロットした。 α -アクチン(ACTB)を、細胞ライセートの入力コントロールとして使用した。検出されたタンパク質バンドのkDaでのサイズを、左側に示す。

20

30

【図15】NPBは、AKTのシグナル伝達から独立して、癌腫細胞株中のBADの(Ser99での)リン酸化を特異的に阻害する。(A)WB解析を使用して、乳腺、卵巣、膵臓、子宮内膜、肝細胞、結腸及び前立腺を包含する一連の癌腫細胞株における、(Ser75及びSer99で)リン酸化されたヒトBAD及びBADタンパク質のレベルを評価した。総BADを、細胞ライセートの入力コントロールとして使用した。(B)WB解析を使用して、MCF7、Caov-3、Ishikawa、及びAsPC-1細胞におけるpBAD(Ser99)及びpAKT(Ser473)、AKT及びBADのレベルを評価した。それぞれ5 μ MのAKT阻害剤(IV)及びNPBを使用して、細胞を処理した。AKT発現の枯渇を、方法論に記載されているように、AKT転写産物に向けられた小ヘアピン(sh)-RNA(1及び2)の一過的な遺伝子導入を使用して達成した。

40

α -アクチンを、細胞ライセートの入力コントロールとして使用した。WB解析については、方法論に記載されているように、可溶性全細胞抽出物をSDS-PAGEで泳動し、かつ免疫ブロットした。検出されたタンパク質バンドのkDaでのサイズを、左側に示す。注: # ; 非形質転換不死化細胞株。

【図16】siRNAを介したBAD発現の枯渇は、癌腫細胞株におけるNPBの効果を防げる。(A)WB解析を使用して、5 μ MのNPBで処理した後に、MCF7、BT474、Caov-3、Ishikawa、AsPC-1、及びDLD-1細胞におけるpBAD(Ser99)活性及びBADタンパク質のレベルを評価した。BAD発現の枯渇を、BAD転写産物に向けられた低分子干渉(si)-RNAの一過的な遺伝子導入を使用して達成した。材料及び方法に記載されて医療に、可溶性全細胞抽出物をSDS-PAGE

50

GEで泳動し、かつ免疫ブロットした。 - アクチンを、入力コントロールとして使用した。MCF7、BT474、Caov-3、Ishikawa、AsPC-1、及びDL D-1細胞におけるNPB(5 μ M)の効果。(B)細胞生存率及び(C)カスパーゼ3/7活性を、Apoptox-GloTMTriplex Assay Kitを使用して評価した。すべてのアッセイを、方法論に記載されているように実行した。統計的有意性を、GraphPad Prism5を使用して、独立両側スチューデントt検定により評価した(P<0.05を有意であるとみなした)。列は、3回の測定の平均を示す;バー、 \pm SD。**P<0.001、*P<0.05。注:RFU、相対蛍光単位;RLU、相対発光単位。

【図17】NPBは、乳癌のBAD Ser99のリン酸化を阻害し、かつ腫瘍の成長を阻害する。(A)材料及び方法に記載した、BALB/c-nu雌マウスの腫瘍体積の測定。動物(各グループn=5)をビヒクル、5mg/kgのNPB、又は20mg/kgのNPBにより処理し、かつ相対腫瘍量を記録した。実験期間中、動物質量を毎日測定した。(B)NPB治療レジメンの後に腫瘍を切除し、質量を測定した。代表的な切除腫瘍を、右側に示す。(C)p-BAD(Ser99)及びBADのレベルを決定するための腫瘍組織のWB。方法論に記載されているように、可溶性全細胞抽出物をSDS-PAGEで泳動し、かつ免疫ブロットした。 - アクチンを、入力コントロールとして使用した。検出されたタンパク質バンドのkDaでのサイズを、左側に示す。(D)リン酸化BAD、BAD、Ki67及びタネル染色の組織学的解析。腫瘍組織切片を、ヤギ抗pBAD(Ser136)ポリクローナル抗体(Santa Cruz Biotechnology)、マウス抗BADモノクローナル(Santa Cruz Biotechnology)及び抗Ki67抗体(Abcam、ab15580)で免疫標識し、かつヘマトキシリンで染色した。方法論に記載されているように、TUNEL Apoptosis Detection Kit(GenScript USA Inc.)を使用して、アポトーシスDNA断片化を検出した。統計的有意性を、GraphPad Prism5を使用して、独立両側スチューデントt検定により評価した(P<0.05を有意であるとみなした)。点は、3回の測定の平均を示す;バー、 \pm SD。**P<0.001、*P<0.05。

【図18】(A)ウエスタンブロット解析を使用して、NPB(10 μ M)による処理期間を長くした後、MCF7細胞のpBAD、BAD、pAKT、及びAKTのBAD Ser99リン酸化のレベルを評価した。方法論に記載されているように、可溶性全細胞抽出物をSDS-PAGEで泳動し、かつ免疫ブロットした。検出されたタンパク質バンドのkDaでのサイズを、左側に示す。(B)ウエスタンブロットアレイ(Proteome Profiler Human Phospho-Kinase Array Kit)を使用して、キナーゼ及びリン酸化基質を検出した。細胞ライセートの調製の前に、MCF7細胞をNPB(10 μ M)又はDMSOで、37 $^{\circ}$ Cで12時間処理した。Image Jソフトウェアを用いて平均ピクセル密度を解析し、これを以下に示す。

【図19】図19は、NCK5の¹H-NMRスペクトルを表す。

【図20】図20は、NCK16の¹H-NMRスペクトルを表す。

【図21】図21は、NCK18の¹H-NMRスペクトルを表す。

【図22A】図22A、図22B、図22C、図22D、及び図22Eは、癌腫細胞株におけるNPB構造ベースの類似体のIC₅₀値である。注:N/V、値なし。

【図22B】図22A、図22B、図22C、図22D、及び図22Eは、癌腫細胞株におけるNPB構造ベースの類似体のIC₅₀値である。注:N/V、値なし。

【図22C】図22A、図22B、図22C、図22D、及び図22Eは、癌腫細胞株におけるNPB構造ベースの類似体のIC₅₀値である。注:N/V、値なし。

【図22D】図22A、図22B、図22C、図22D、及び図22Eは、癌腫細胞株におけるNPB構造ベースの類似体のIC₅₀値である。注:N/V、値なし。

【図22E】図22A、図22B、図22C、図22D、及び図22Eは、癌腫細胞株におけるNPB構造ベースの類似体のIC₅₀値である。注:N/V、値なし。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0023】

本開示の実施例に到達するために利用した材料

細胞培養及び試薬

ヒトの不死化乳腺上皮細胞株であるMCF10A及びMCF12A、並びに不死化肝細胞表皮細胞株であるLO2を、American Type Culture Collection (ATCC、メリーランド州、ロックビル)から取得し、かつATCCの増殖指示(propagation instructions)の通りに培養した。MC細胞株であるMCF7、T47D、BT474、BT549、及びMDA-MB-231(MB-231と示す)、子宮内膜癌腫細胞株であるIshikawa、ECC1、RL95-2、及びAN3、肝細胞癌腫細胞株であるHep3B、H2P、及びH2M、結腸癌腫細胞株であるHCT116、DLD-1、及びCaco-2、並びに前立腺癌腫細胞株であるPC3、LNCaP、DU145を、American Type Culture Collection (ATCC、メリーランド州、ロックビル)から取得した。卵巣癌腫細胞株であるSK-OV-3、OVCAR-2、Caov-3、HEY C2、及びOvca433を、シンガポール国立大学(NUS)のThe Cancer Science Institute of SingaporeのRuby Huang博士の研究室から取得した。膵臓癌腫細胞株を、シンガポール国立大学(NUS)のThe Cancer Science Institute of SingaporeのH. Phillip Koeffler教授の研究室から取得した。すべての癌腫細胞株を、ATCCの増殖指示の通りに培養した。AKT阻害剤IVを、Calbiochem(米国、カリフォルニア州、サンディエゴ)から購入した。BADに向けられたstealth(sh)-RNA-BAD(shRNA-BAD1、5'-GCUCCGCACCAUGAGUGACGAGUUU-3'及びshRNA-BAD2、5'-AACUCGUCACUCAUCCUCCGGAGC3')を、Life Technologies(シンガポール)から購入した。AKTに向けられたshRNA(shRNA-AKT1、5'-CCGGCGCGTGACCATGAACGAGTTTCTCGAGAACTCGTTTCATGGTCACGCGTTTTTGG-3'及びshRNA2-AKT、5'-CCGGGGACTACCTGCACTCGGAGAACTCGAGTTTCTCCGAGTGCAGGTAGTCCTTTTTTGG-3')を、Life Technologies(シンガポール)から購入し、PLKO.1ベクター(Sigma、シンガポール)にクローニングした。細胞を、20nMのshRNA(AKT若しくはBAD)又は汎用ネガティブコントロール(Invitrogen、米国、カリフォルニア州、カールスバッド)とともに、24時間のFuGENE HD(Promega)を用いて一過的に遺伝子導入し、かつさらなるアッセイを実行した。アラニンアミノ基転移酵素(ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST)、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチンキナーゼ(CK)、血中尿素窒素(BUN)の市販キットを、インドのケーララ州のAGAPPE Diagnosticsから購入した。

【0024】

実施例1

式Iの化合物の合成及び特徴づけ

式Iの化合物の一般合成

ピペラジン(0.8mmol)及びサリチルアルデヒド(0.8mmol)をRBFに取り、ジオキサンを溶媒として使用して約10分間攪拌する。約10分間の後、アリアルボロン酸(0.8mmol)を混合物に追加し、ジオキサンを溶媒として用いて、約90分に維持したホットプレート上で約8時間の連続的な攪拌により還流させる。約8時間の後、酢酸エチル及び水を反応混合物に追加し、酢酸エチル層を、分液漏斗を用いて分離し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させる。酢酸エチルを蒸発させて生成物を得る。所望のフェノール化合物生成物を、カラムクロマトグラフィーを用いた分離により得る。

【0025】

10

20

30

40

50

化合物 1 から 1 5 及び 4 1 から 6 3 を得るために使用する特定の試薬が、以下の表 1 に提供される。

【表 1 - 1】

表 1

No	サリチルアルデヒド*	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

No	サリチルアルデヒド	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
8				
9				
10				
11				
12				
13				

10

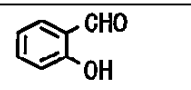
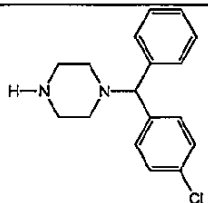
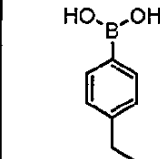
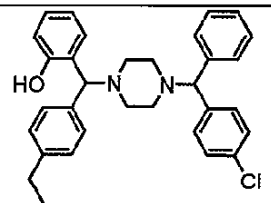
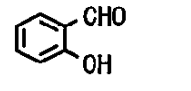
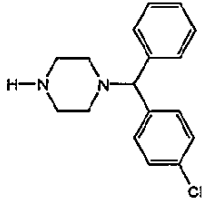
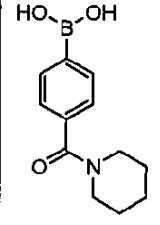
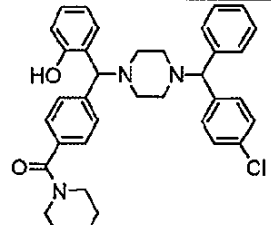
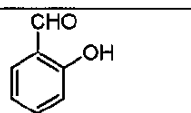
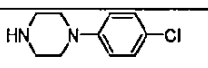
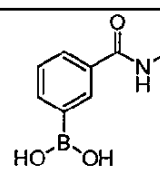
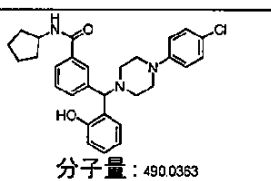
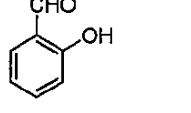
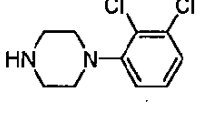
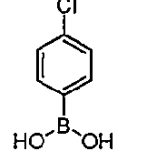
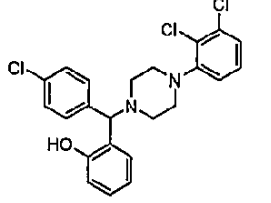
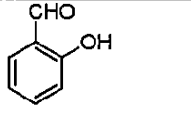
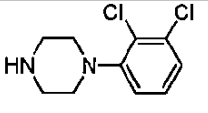
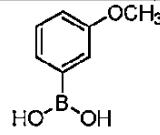
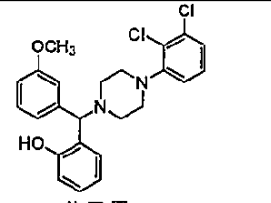
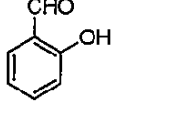
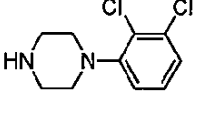
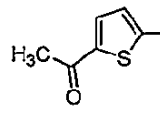
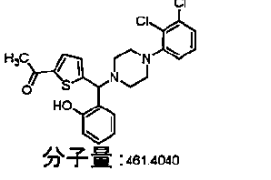
20

30

40

50

【表 1 - 3】

No	サリチルアルデヒド*	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
14				
15				
41				 分子量 : 490.0353
42				 分子量 : 447.7846
43				 分子量 : 443.3656
44				 分子量 : 461.4040

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

No	サリチルアルデヒド	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
45				 分子量 : 463.3983
46				 分子量 : 431.3118
47				 分子量 : 448.3606
48				 分子量 : 461.338
49				 分子量 : 462.7993
50				 分子量 : 414.3276

10

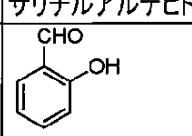
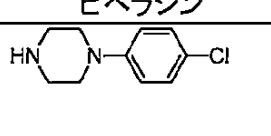
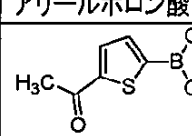
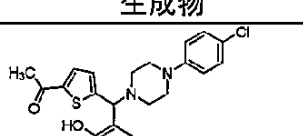
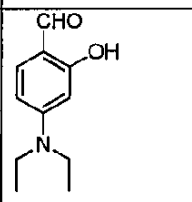
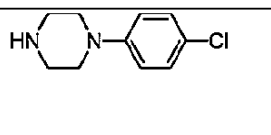
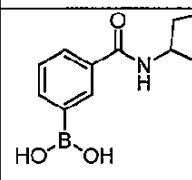
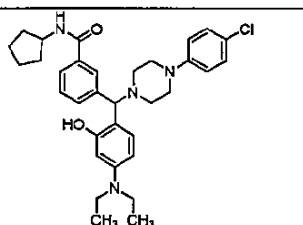
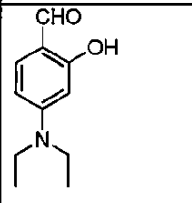
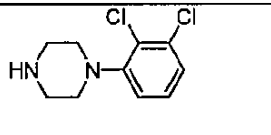
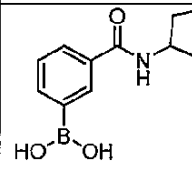
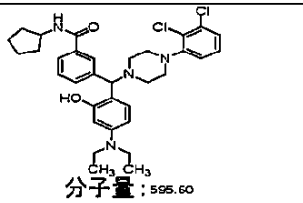
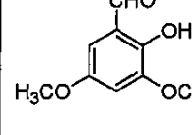
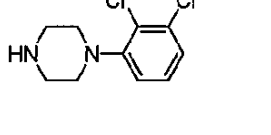
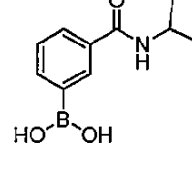
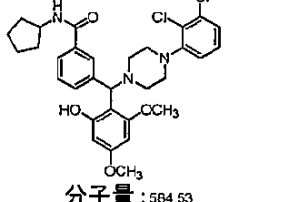
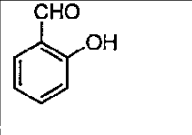
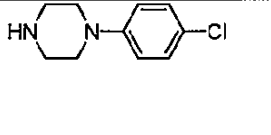
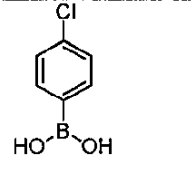
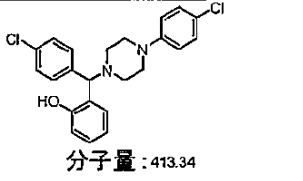
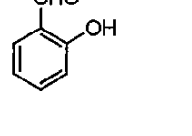
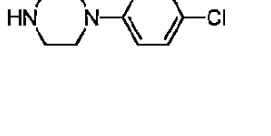
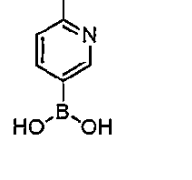
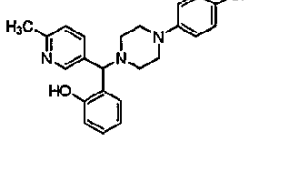
20

30

40

50

【表 1 - 5】

No	サリチルアルデヒド	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
51				 分子量 : 426.9589
52				 分子量 : 561.16
53				 分子量 : 595.60
54				 分子量 : 564.53
55				 分子量 : 413.34
56				

10

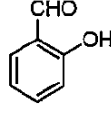
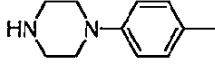
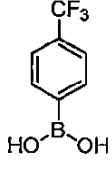
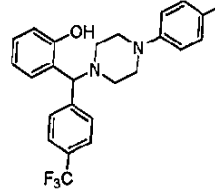
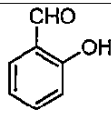
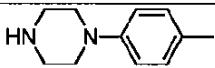
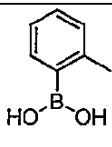
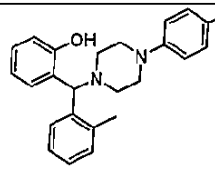
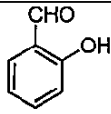
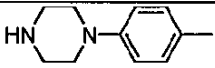
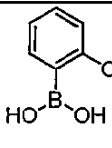
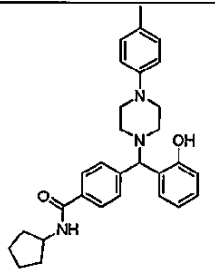
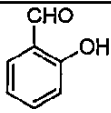
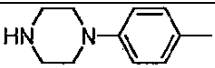
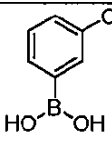
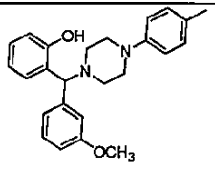
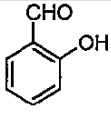
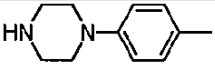
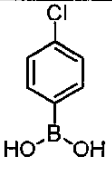
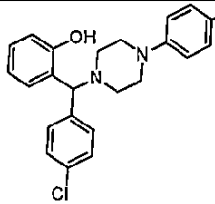
20

30

40

50

【表 1 - 6】

No	サリチルアルデヒド	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
58				 分子量 : 426.4740
57				 分子量 : 372.5026
59				
61				 分子量 : 388.5020
60				 分子量 : 392.9211

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

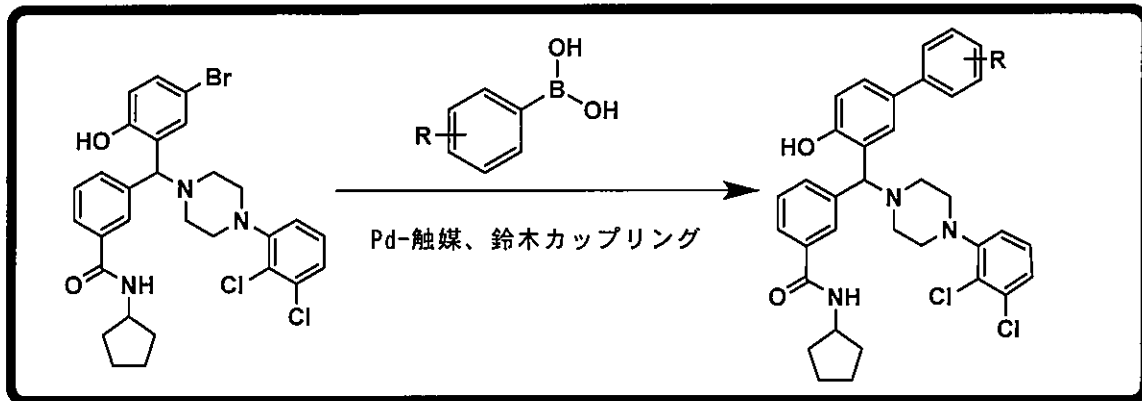
No	サリチルアルデヒド	ピペラジン	アリールボロン酸	生成物
62				
63				

10

【0026】

表 2 に示す化合物を、NPB 臭化物 (表 2 の第 1 欄を参照) をボロン酸とともに、概略図 1 に示すパラジウム触媒鈴木カップリング反応を用いて反応させることにより得た。概略図

20



30

【0027】

40

50

【表 2 - 1】

表 2

	NPB-Br	ボロン酸	生成物
16			
17			
18			

10

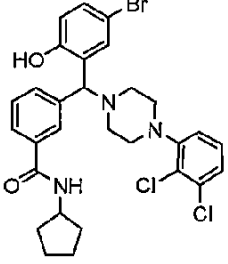
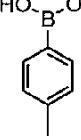
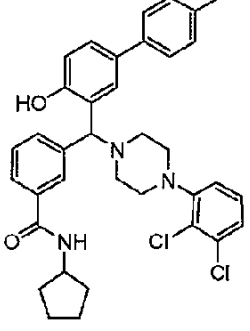
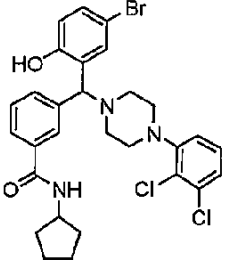
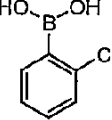
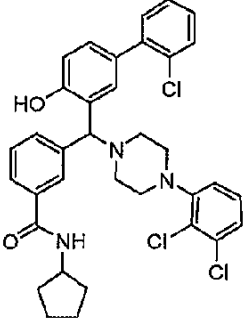
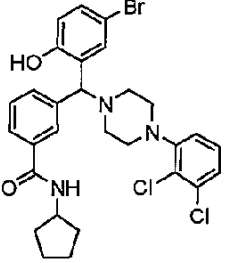
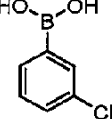
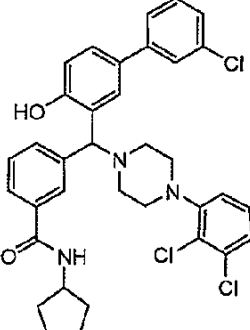
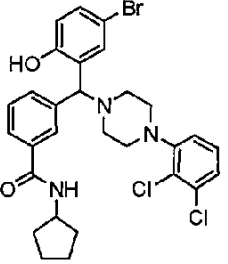
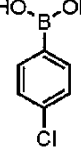
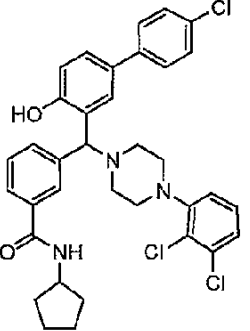
20

30

40

50

【表 2 - 2】

19			
20			
21			
22			

10

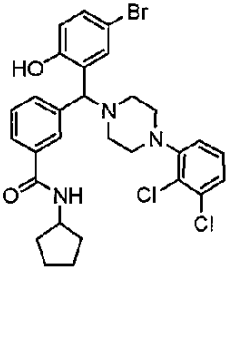
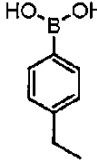
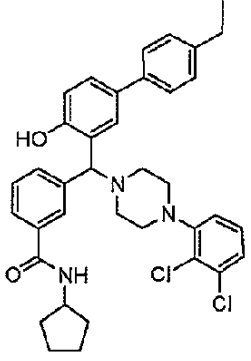
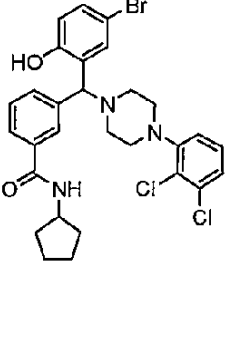
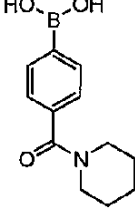
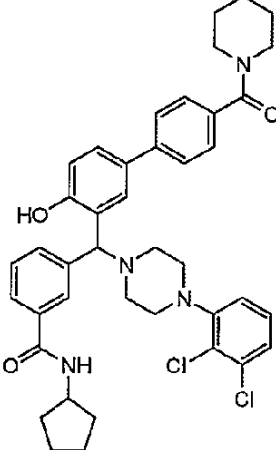
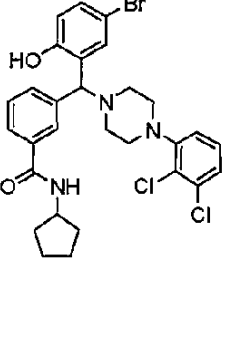
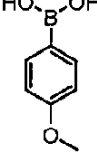
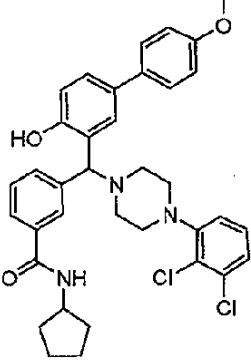
20

30

40

50

【表 2 - 3】

23			
24			
25			

10

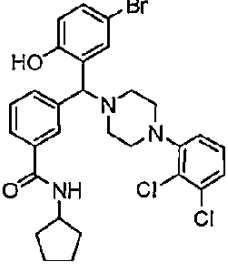
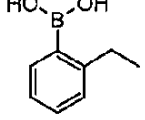
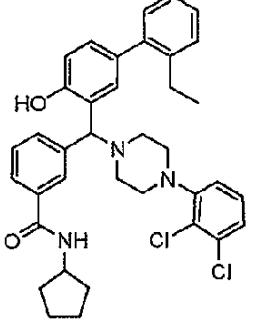
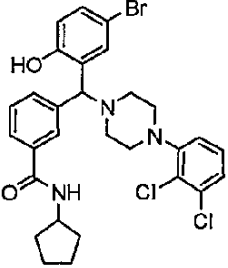
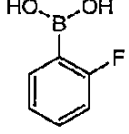
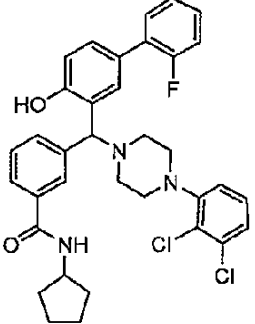
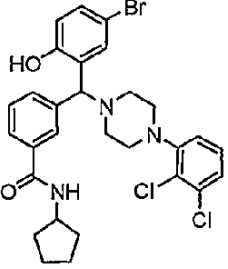
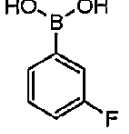
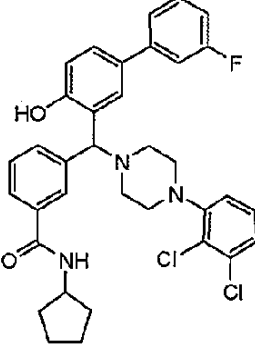
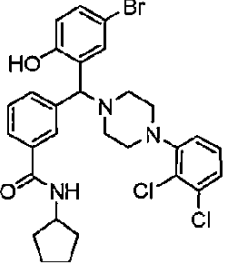
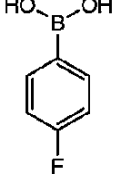
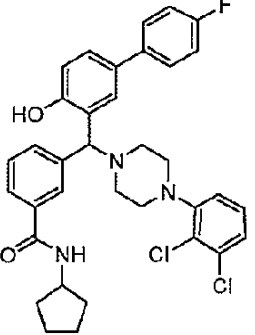
20

30

40

50

【表 2 - 4】

26			
27			
28			
29			

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

30			
31			
32			
33			

10

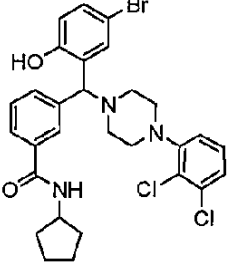
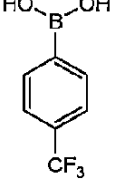
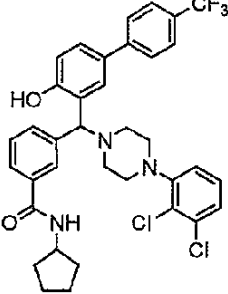
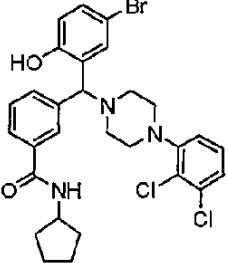
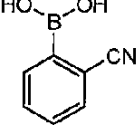
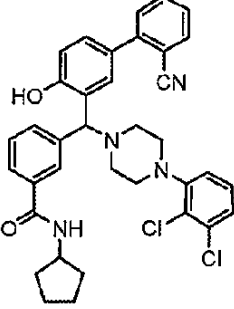
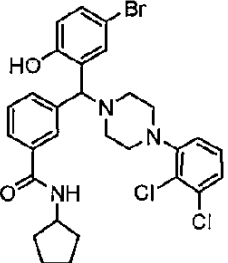
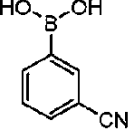
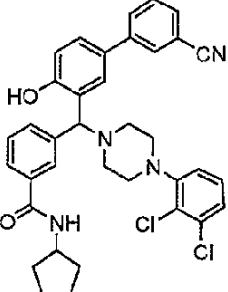
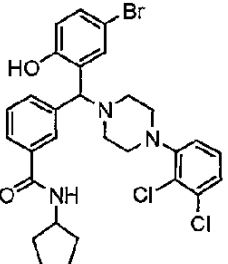
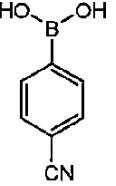
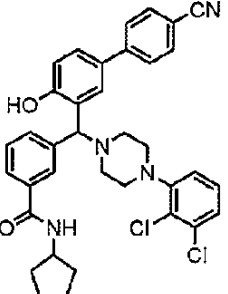
20

30

40

50

【表 2 - 6】

34			
35			
36			
37			

10

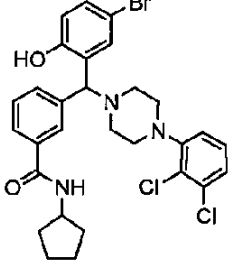
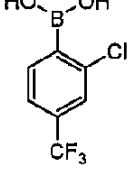
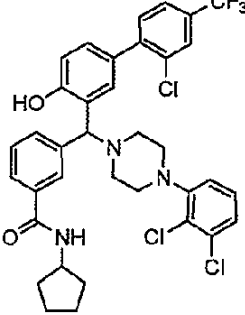
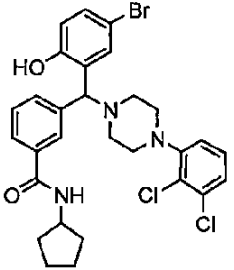
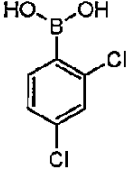
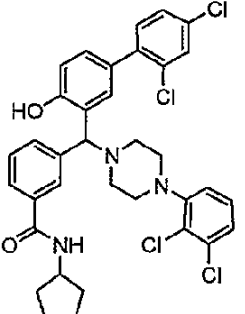
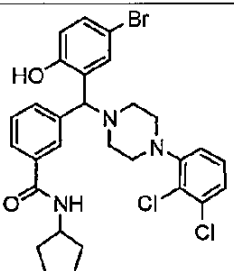
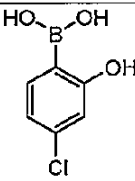
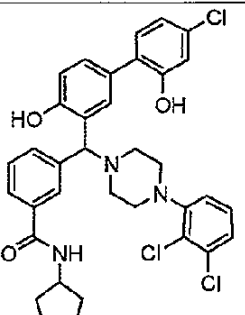
20

30

40

50

【表 2 - 7】

38			
39			
40			

10

20

30

【0028】

化合物 1 の特徴づけ

^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) : 3.691 (s, 3H), 5.303 (s, 1H, C-H), 1.184 - 3.691 (m, 8H - ピペラジンプトン), 7.597 - 7.615 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 7.341 - 7.323 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 7.060 - 7.189 (m, 4H - ArH), 6.555 - 6.815 (m, 5H - ArH), 6.956 - 6.974, (d, 1H, J = 7.2 Hz) 11.85 (s, 1H - OHbrdピーク); ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl₃) : 50.854, 55.521, 69.50, 114.45, 117.17, 118.44, 119.547, 122.05, 127.78, 128.83, 129.01, 129.19, 129.84, 129.93, 133.89, 145.11, 156.60; 融解点 120 - 124。(図 1)

40

化合物 2 の特徴づけ

^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) : 2.539 - 3.065 (m, 8H), 3.674 (s, 3H), 4.359 (s, 1H), 6.651 (m, 1H), 6.740 - 6.804 (m, 5H), 6.855 - 6.872 (d, 1H, J = 6.8 Hz), 7.086 (m, 1H), 7.165 (m, 2H), 7.280 (m, 1H), 7.361 (m, 1H); ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl₃) : 50.74, 51.76, 55.52, 75.86, 114.49, 117.24, 118.43, 119.62, 124.41, 126.58, 128.28, 128.54, 128.92, 129.2

50

0、130.28、134.66、141.63、145.07、154、156.18
；融解点85 - 89 。（図2）

【0029】

化合物3の特徴づけ

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 1.194 - 3.079 (m, 8H)、3.689 (s, 3H)、4.336 (s, 1H)、5.041 (s, 2H)、6.672 - 6.702 (m, 1H)、6.781 - 6.819 (m, 5H)、6.863 - 6.867 (m, 2H)、7.026 - 7.082 (m, 2H)、7.196 (m, 1H)、7.279 - 7.348 (m, 5H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : 50.770、55.52、71.26、75.36、114.46、115.46、117.16、118.42、119.54、124.82、127.34、128.14、128.62、128.76、129.14、145.04、156.14 ; 融解点72 - 76 。（図3）

10

化合物4の特徴づけ

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 1.183 - 2.469 (m, 10H)、2.557 - 3.684 (m, 8H)、3.684 (s, 3H)、4.412 (s, 1H)、6.631 (m, 2H)、6.745 - 6.813 (m, 4H)、7.059 - 7.095 (m, 1H)、7.191 - 7.216 (m, 1H)、7.261 - 7.269 (m, 2H)、7.351 - 7.409 (m, 2H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : 24.51、26.525、29.68、43.60、48.73、50.71、51.80、55.51、76.04、114.45、117.134、118.366、119.198、119.52、124.75、126.74、127.50、128.04、128.50、128.79、129.29、136.18、141.02、145、154、156.2、169.79 (C=O) ; 融解点78 - 82 。（図4）

20

【0030】

化合物5の特徴づけ

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 1.186 - 1.650 (m, 8H)、1.978 - 3.633 (m, 8H)、3.689 (s, 3H)、4.298 - 4.345 (m, 1H)、4.421 (s, 1H)、5.979 - 5.992 (s, 1H) 6.736 - 6.803 (m, 5H)、6.860 (m, 1H)、7.192 (s, 1H)、7.737 (s, 1H)、7.304 - 7.339 (m, 1H)、7.540 - 7.557 (m, 2H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : 23.79、33.18、50.67、51.83、55.51、67.06、75.06、114.46、118.45、118.58、124.02、126.11、126.42、128.72、128.87、129.39、139.39、144.89、154.19、154.95、166.68 ; 融解点102 - 106 。（図5）

30

化合物6の特徴づけ

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 1.179 - 3.620 (m, 8H)、3.676 (s, 3H)、4.261 (s, 1H)、5.029 (s, 2H)、6.716 - 6.791 (m, 5H)、6.823 (m, 1H)、6.862 - 6.882 (m, 1H)、6.973 - 7.015 (m, 2H)、7.110 - 7.139 (m, 1H)、7.243 - 7.258 (m, 2H)、7.280 - 7.317 (m, 1H)、7.331 - 7.350 (m, 2H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : 50.70、51.59、55.52、71.27、74.93、114.48、115.52、118.58、123.97、124.39、126.3、127.3、128.2、128.8、132.1、136.27、144.96、146.74、154.19、154.93 ; 融解点60 - 64 。（図6）

40

【0031】

化合物7の特徴づけ

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 2.648 - 3.820 (m, 8H) 4

50

. 245 (s, 1H)、5.009 (s, 1H)、5.651 (s, 2H)、7.276 (s, 1H)、7.436 - 7.485 (m, 3H)、7.606 - 7.682 (m, 3H)、7.797 (m, 2H)、7.876 - 7.954 (m, 5H)、8.185 (s, 1H); ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) : 30.972、50.76、67.60、71.79、75.85、98.16、100.9、104.9、113.16、115.97、117.65、119.96、122.84、125.4、127.8、128.6、129.1、129.6、133.2、136.8、157.06、160.87、164.51、165.86; 融解点 58 - 62 。 (図 7)

化合物 8 の特徴づけ

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) : 2.479 (s, 3H)、4.927 (s, 1H)、2.260 - 3.063 (m, 8H)、6.533 - 6.551 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz)、6.631 - 6.692 (m, 2H)、6.739 - 6.758 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz)、6.789 - 6.809 (d, 1H, $J = 8$ Hz)、6.864 (m, 3H)、7.092 - 7.183 (m, 1H)、7.281 - 7.297 (m, 1H)、7.537 - 7.552 (d, 1H, $J = 6$ Hz); ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) : 20.92、51.16、51.42、73.44、116.07、116.96、117.14、118.716、119.27、119.83、124.965、125.24、126.445、127.12、127.545、128.266、128.729、129.260、130.869、134.072、138.171、150.600、156.443; 融解点 108 - 112 。 (図 8)

【0032】

化合物 9 (NPB) の特徴づけ

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) : 1.183 - 1.647 (m, 8H)、2.019 - 3.067 (m, 8H)、4.509 (s, 1H)、4.312 - 4.327 (m, 1H, NH)、5.965 (s, 1H)、6.668 (m, 1H)、6.801 - 6.896 (m, 3H)、7.073 - 7.190 (m, 3H)、7.305 (m, 1H)、7.527 - 7.542 (m, 2H)、7.770 (s, 1H); ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) : 23.78、33.18、51.22、51.78、76.10、117.14、118.59、119.67、124.69、124.98、126.22、127.53、128.85、129.29、131.08、134.08、135.53、140.28、150.5、156.1、166.73; m/z ($M + 2$, 526.2, 527.2); 融解点 174 - 178 。 (図 9)

化合物 10 の特徴づけ

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) : 1.183 - 3.074 (m, 8H)、4.361 (s, 1H)、5.034 (s, 2H)、6.658 - 6.694 (t, 1H, $J = 7, 2$ Hz)、6.768 (m, 1H)、6.856 - 6.873 (m, 3H)、7.023 (m, 1H)、7.055 - 7.094 (m, 3H)、7.164 (m, 1H)、7.231 (m, 1H)、7.266 (m, 1H)、7.304 (m, 1H)、7.322 - 7.355 (m, 2H); ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) : 51.264、71.260、75.434、117.15、118.6、119.6、124.8、124.9、127.3、127.5、128.1、128.6、128.8、129.18、150.5、156.09; 融解点 75 - 80 。 (図 10)

【0033】

実施例 2

式 I の化合物は、一連の癌腫細胞の細胞生存率を低下させる

発癌性アッセイ

まず、Alamar Blue (登録商標) 細胞生存率アッセイを用いて、新規に合成した小分子化合物の MCF7 細胞 (ER + MC 細胞) に対する効果を調査した。一連の新規の小分子化合物の中で、NPB を、ビヒクル (DMSO) 処理細胞と比較して MCF7 細胞の生存率を低下させる有効な小分子化合物として同定した。化合物の中で、化合物 9

10

20

30

40

50

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) ベンズアミド (N P B) を、 6 . 5 μ M の I C ₅₀ で最も潜在性のある抗増殖性の化合物として同定した。次いで、 E R - 乳腺 (B T 5 4 9 、 M D A - M B - 2 3 1) 、 E R + 乳腺 (M C F 7 、 T 4 7 D 、 及び B T 4 7 4) 、 子宮内膜 (I s h i k a w a 、 E C C - 1 、 R L 9 5 - 2 、 及び A N 3) 、 卵巣 (S K - O V - 3 、 O V C A R - 2 、 C a o v - 3 、 H E Y C 2 、 及び O V C A 4 3 3) 、 肝細胞 (H e p 3 B 、 H 2 P 、 及び H 2 M) 、 結腸 (H C T 1 1 6 、 D L D - 1 、 及び C a c o - 2) 、 前立腺 (P C 3 、 L N C a P 、 及び D U 1 4 5) 並びに膵臓 (A s P C - 1 、 B x P C - 3) 癌腫に由来するものを包含する広範囲の癌腫細胞株における N P B の阻害濃度 5 0 % (I C ₅₀) を決定した。正常細胞のコントロールとして、不死化乳腺上皮細胞 (M C F 1 0 A 及び M C F 1 2 A) 、 並びに不死化肝細胞 (L O 2) もまた細胞株のパネルに包含した。癌腫細胞株における N P B の I C ₅₀ 値を、 図 1 1 に表にする。

10

【 0 0 3 4 】

実施例 3

N P B は、一連の癌腫細胞株におけるアポトーシス性細胞死を誘発する

さらに、N P B をいくつかの癌由来細胞株に対して評価し、製造元の指示に従って A p o T o x - G l o ^{T M} T r i p l e x A s s a y K i t 、 P r o m e g a (シンガポール) を使用して全ての細胞生存率、アポトーシス、及び細胞障害性に対する効果を決定する (図 1 2) 。手短に言えば、細胞を黒色の不透明な 9 6 ウェルプレート (C o r n i n g (登録商標) 、シンガポール) に播種する。細胞の一晚のインキュベーションの後、培地を指定の N P B 濃度に変更する。約 4 8 時間のインキュベーションの後、G F - A F C 基質及び b i s - A A F - R 1 1 0 基質の両方を含有する生存率 / 細胞障害性試薬を、供給元の提案に従って細胞に加える。約 3 7 での約 4 5 分間のインキュベーション後、蛍光用 T e c a n マイクロプレートリーダー (T e c a n 、シンガポール) を用いて、生存率については 4 0 0 n m 励起 / 5 0 5 n m 放射、細胞障害性については 4 8 5 n m 励起 / 5 2 0 n m 放射で蛍光を記録する。C a s p a s e - G l o 3 / 7 R e a g e n t をさらに細胞に加え、室温での約 2 5 分間のインキュベーション後、T e c a n マイクロプレートリーダーを使用して発光を記録する。生存細胞、細胞障害性細胞、及びアポトーシス性細胞の数を 3 回測定する。

20

【 0 0 3 5 】

アネキシン V 及びヨウ化プロピジウム (アネキシン V - P I) アポトーシスアッセイ

ホスファチジルセリン暴露及び細胞死を、A n n e x i n - V - F L U O S S t a i n i n g K i t (L i f e T e c h n o l o g i e s 、シンガポール) 及び P I 染色細胞を用いて F A C S 解析により評価する。手短に言えば、 1×10^5 M C F 細胞 / ウェル (1 9 0 μ L / ウェル) を 6 ウェルプレートに播種して異なる濃度の N P B とともに約 2 4 時間インキュベートし、D M S O 処理した試料をコントロールとして使用する。続いて細胞をアネキシン V 結合バッファー (1 0 m M H E P E S / N a O H 、p H 7 . 4 、1 4 0 m M N a C l 、2 . 5 m M C a C l ₂) で洗浄し、アネキシン V F I T C とともに暗所にて室温で約 3 0 分間染色し、次いで再度洗浄し、P I を含有するアネキシン V 結合バッファー中に再懸濁する。試料を、直ちに B D F A C S A r i a C e l l S o r t e r (B D B i o s c i e n c e s 、カリフォルニア州、サンロゼ) 上で解析する。

30

40

膜統合性の損失及び原形質膜の外側の小葉へのホスファチジルセリンの移行は、アポトーシスの初期段階のイベントであり、これは F I T C 結合アネキシン V 及びヨウ化プロピジウム染色を使用して検出することができる。F I T C - アネキシン V 及びヨウ化プロピジウムを使用して、N P B が M C F 7 細胞におけるアポトーシスを誘発することが観察される。N P B を用いた処理により、初期 (P I 陰性、F I T C - アネキシン V 陽性) 及び後期アポトーシス細胞 (P I 陽性、F I T C - アネキシン V 陽性) の両方の増加が、図 1 3 A に示すように、用量に依存した挙動で観察される。

【 0 0 3 6 】

実施例 4

50

N P Bの組み換えB A Dタンパク質との分子相互作用

最も有望な候補である、N P BのB A Dに対する結合親和性の分子相互作用を提供するため、N P Bを分析物として使用して、固定化B A Dサブユニットとともに表面プラズモン共鳴 (S P R) を実行した。本発明者らは、B A Dが *in vitro* でB A Dサブユニットに結合し得ることを了知している。ゆえに、B I Aコアシステムを使用して相互作用を解析した。組み換えB A DをC M 5 センサーチップ上に固定した。結合曲線及び解離曲線を決定するため、様々な濃度のN P BをB A Dでコーティングされたセンサーチップの表面に、個別に注入した。図 1 4 に示すオーバーレイしたセンサーグラムを、まとめて解析した。B A DのN P Bに対する直接的な結合が証明された (図 1 4 A)。N P BとB A Dの相互作用の動態パラメーターの計算により、結合親和性の $(1 . 4 \pm . 4) \times 1 0 ^ 3$ M⁻¹ S⁻¹の結合速度定数及び $(5 . 4 \pm 0 . 3 8) \times 1 0 ^ 3$ S⁻¹の解離速度定数が明らかになり、これは37 . 1 2 μ Mの解離平衡定数 (K d) をもたらした。これらの動態パラメーターは、B A DとN P B構造の相互作用に対する親和性のサポートを示す。

【 0 0 3 7 】

表面プラズモン共鳴解析

分子相互作用を、B I A core - 2 0 0 0 system (B I A core A B、スウェーデン、ウブサラ) を使用して、表面プラズモン共鳴に基づいて解析した。ヒト組み換えB A Dタンパク質 (カタログNo . M B S 1 4 3 0 1 2、MyBioSource、米国) を、製造元のプロトコルに記載されているようにセンサーチップ上に固定した。B A DとN P Bの相互作用を調査するため、泳動バッファ (H B S - E P、p H 7 . 4、B I A core A B) 中の様々な濃度のN P B (2 0 から1 0 0 μ M) を、B A D固定化センサーチップの表面に、製造元の指示に従って1 5 μ l / 分の流量で注入した。N P Bをそれぞれ結合及び解離のために2分間B A Dサブユニットと相互作用させ、その後、次の注入の前に2分間1 M N a C l を注入することにより、センサーチップを再生した。B I A評価ソフトウェア (B I A core A B) を使用すると、動態パラメーターは、物質移動を伴う1 : 1 結合モデルを使用した、結合及び解離速度定数 (k a 及びk d)、解離平衡定数 (K d) などであった。得られたセンサーグラムを、B I A評価ソフトウェアを使用してオーバーレイした。

【 0 0 3 8 】

実施例 5

N P BのB A Dリン酸化に対する効果は、S e r 9 9 (ヒト) に特異的である S e r - 7 5 (マウスB A Dセリン残基1 1 2) 及びS e r - 9 9 (マウスB A Dセリン残基1 3 6) の残基におけるh B A Dのリン酸化は、抗アポトーシスタンパク質のB C L - 2ファミリーの活性化の制御に重要である [1 5]。S e r - 7 5又はS e r - 9 9 (又はマウスb a dの対応する残基) のいずれかにおけるh B A Dのリン酸化は、h B A DのB C L - x L又はB C L - 2とのヘテロ二量体化する能力の損失をもたらす [1 5]。予想される標的をさらに確認するため、まずウエスタンブロット解析により、S e r 9 9におけるh B A Dのリン酸化に対するN P Bの効果解析した。N P BによるM C F細胞の処理により、総h B A Dタンパク質の有意な変化を伴うことなく、h B A D S e r 9 9のリン酸化の用量依存的減少がもたらされた (図 1 4 B)。N P BによるB A D S e r 9 9リン酸化の阻害について計算されたE C₅₀は、0 . 4 1 ± 0 . 2 1 μ Mであった。

次に、S e r 7 5及びS e r 9 9の両方におけるh B A Dのリン酸化に対するN P Bの効果、ウエスタンブロット解析により、7つの異なる癌タイプに由来する25の癌腫細胞株において解析した。N P Bが、すべての試験した癌腫細胞株においてS e r 9 9サイトでのB A Dのリン酸化を概ね阻害することが観察されたが、N P Bは同一の細胞においてS e r 7 5でのh B A Dのリン酸化への影響を表さず、これはN P Bがh B A DのS e r 9 9でのリン酸化を特異的に阻害したことを示している (図 1 5)。

【 0 0 3 9 】

s i - R N Aを介したB A D発現の枯渇は、癌腫細胞株におけるN P Bの効果逆戻りさせる。

10

20

30

40

50

BADタンパク質に向けられたNPBの機能的特異性を確認するために、6つの癌腫細胞株(MCF7、BT474、Caov-3、Ishikawa、AsPC-1及びDL1)におけるsi-RNAを介したBADの発現の枯渇の後の、NPB暴露の効果をさらに調査した。BAD転写産物に向けられたsiRNAによる異なる癌腫細胞の一過的な遺伝子導入は、ウエスタンブロット解析により観察されるように、コントロール細胞(スクランブルオリゴを遺伝子導入した)と比較して、BAD発現を減少させ、かつリン酸-Ser99BADのレベルもまた減少させた(図16A)。細胞生存率もアポトーシスも、以前に報告されたように[26]、siRNAを介したBADの枯渇によって有意に変化した。上記したように、コントロール遺伝子導入癌腫細胞株のNPB処理は、ビヒクル処理細胞と比較してBADリン酸化(Ser99)を減少させた。同時に、同一の癌腫細胞のNPBへの曝露は、ビヒクル暴露細胞と比較して細胞生存率を低下させ、かつカスパーゼ3/7活性を増加させた。対照的に、NPBは、BADの枯渇した発現を伴う癌腫細胞株における、細胞生存率にもカスパーゼ3/7活性にも影響しなかった(図16B及びC)。

【0040】

実施例6

NPBは、癌腫細胞株におけるAKTシグナル伝達から独立して、BADリン酸化を阻害する

上流のAKT Ser/Thrキナーゼは、Ser99におけるhBADのリン酸化を調節する[13]。したがって、ウエスタンブロット解析を使用して、NPBがAKTの活性の調節(Ser473のリン酸化によって示唆される)を介してhBAD(Ser99)のリン酸化を阻害しているか否かを決定した。4つの異なる癌腫細胞株(MCF7、Caov-3、Ishikawa、及びAsPC-1)の10 μ M NPBへの曝露の後の、pAKTのレベル又は総AKTタンパク質のレベルの変化は観察されなかった。しかしながら、すべてのNPB処理癌腫細胞株(MCF7、Caov-3、Ishikawa、及びAsPC-1)は、Ser99サイトでBADリン酸化の阻害を示し、かつ全体のBADタンパク質のレベルの変化を示さなかった(図15B)。さらに、AKT発現を標的とする2つの独立したshRNAを使用したAKTの枯渇後のBADリン酸化、又は異なる癌腫細胞株におけるポジティブコントロールとしてのAKT阻害剤IVによるAKT活性の阻害を調査した。癌腫細胞株におけるAKTの枯渇した発現は、コントロール細胞と比較してpAKT(Ser474)及びpBAD(Ser99)レベルの付随的な減少と関連していることが観察され、これはBAD Ser99リン酸化が試験したすべての癌由来細胞株に依存し、かつ他者により以前に公開された[13、15、27-29]とおりであることを示している。したがって、NPBは上流のキナーゼ(AKT)の活性に影響を与えることなく、Ser99におけるBADのリン酸化を特異的に阻害する[29]。これらの結果は、in silico標的予測及びSPRにより観察されたBADへのNPBの結合と合致している。ゆえに、NPBは、上流の(AKT)キナーゼから独立して、Ser99におけるBADのリン酸化を特異的に阻害する。

【0041】

実施例7

5から6週齢のBALB/c-nu雌マウスに17 β -エストラジオールペレット(Innovative Research of America)を0.72mg/ペレットで皮下移植し、首の首筋に60日間放出し、3日後にマウスに、100 μ lの細胞懸濁液(1 \times 10⁷細胞)で右わき腹に皮下注射した。カリパスを用いて腫瘍サイズを測定することにより、腫瘍の成長を監視した。移植の約12日後、毎日7日間、腹腔内注射により200 μ lのNPB(5%DMSO、50%PEG400及び45%水 pH5.0に溶解)を投与した治療により、マウスを無作為化し、かつ3つのグループ(各グループ、n=8)に分けた。マウスの最初のグループをビヒクルで処理し、2番目を5mg/kg用量のNPBで、3番目を20mg/kgのNPBで処理した。動物の体重と腫瘍体積を毎日測定した。完了後、腫瘍を切除し、写真を撮り、質量を測定し、かつ後の分析のために

液体窒素で固定又は保存した。組織学的解析を、以前に説明されたように実行した [3 0 - 3 2]。

【 0 0 4 2 】

M C の異種移植片 (M C F 7) における N P B の *i n v i v o* での効能を調査した。腫瘍が施された無作為にグループ化されたマウス (体積 $\sim 1 5 0 \text{ cm}^3$) に、 5 mg / kg 又は $2 0 \text{ mg / kg}$ のピヒクル又は N P B を腹腔内注射した。N P B で処理したマウスでは、ピヒクルで処理したそれらの対応物と比較して、腫瘍体積の有意な減少が観察された (図 1 7 A)。この期間中、動物の体重にはグループ間で有意差がなかった (図 1 7 A、下)。しかしながら、N P B 処理した動物の腫瘍質量は、ピヒクル処理したマウスと比較して用量依存的な挙動で減少した (図 1 7 B)。W B 解析を使用して、腫瘍組織における h B A D S e r 9 9 リン酸化レベルに対する N P B の効能をさらに解析した (図 1 7 C)。N P B 処理は、コントロール標本と比較して、腫瘍内の B A D (S e r 9 9) のリン酸化を有意に抑制した。N P B で処理した腫瘍とコントロール処理した腫瘍の間で、B A D タンパク質の合計レベルの変化は観察されなかった。

10

N P B で処理した動物から切除された腫瘍標本の組織学的分析は、ピヒクル処理した腫瘍と比較して有意に減少した p - B A D (S e r 9 9) を示す一方で (図 1 7 D)、B A D タンパク質はグループ間で有意に異ならなかった。N P B で処理した動物は、ピヒクル処理した動物と比較して、腫瘍で K i 6 7 陽性細胞の有意に減少した割合と、有意に増加した T U N E L 陽性を示した (図 1 7 D)。

【 0 0 4 3 】

20

実施例 8

N P B がキナーゼ活性の調節により h B A D S e r 9 9 リン酸化を減少させる可能性を解明するために、R & D S y s t e m s の H u m a n P h o s p h o - K i n a s e A n t i b o d y A r r a y K i t を使用して、様々なキナーゼに対する N P B の効果を評価した。同じ抽出物における h B A D S e r 9 9 リン酸化の N P B 阻害にもかかわらず、D M S O 暴露細胞と比較して、N P B に暴露した M C F 7 細胞においては、キナーゼ活性又はリン酸化基質の有意な変化は観察されなかった (図 1 8)。

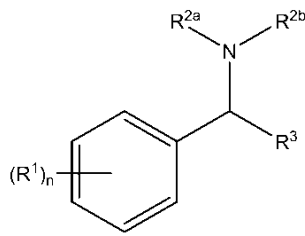
実施例 9

また、クレームした化学テンプレートに従って N P B の類似体をさらに生成し (図 1 9、2 0、2 1)、これは N P B よりも優れた薬物動態プロファイルを示し得る。I C 5 0 によって決定されるそれらの構造及び *i n v i t r o* での有効性を、図 2 2 に示す。

30

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

〔 1 〕 一般式 (I) の化合物：



40

(I)

であって、 R^1 のそれぞれが、独立してハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $NR^{10}R^{11}$ 、 $C(O)R^{10}$ 、 $C(O)OR^{10}$ 、 $C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-S(O)_qNR^{10}R^{11}$ 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 $-O(C_{1-6}$ アルキル)、 $-O(C_{1-6}$ ハロアルキル)、アリール、ヘテロアリール、 $-O-$ アリール、又は $-O-$ ヘテロアリールであって、

R^{10} 及び R^{11} のそれぞれが、H、又はOH、ハロ、シアノ、 NH_2 、アリール若しくはヘテロアリールから選択される1以上の置換基により任意で置換される C_{1-6} アルキルから独立して選択され、

アルキル及びハロアルキル基 R^1 が、OH、シアノ、 $-S(O)_pNR^4R^5$ 、 $-C(O)$

50

NR⁴R⁵、アリアル、ヘテロアリアル、-O-アリアル若しくは-O-ヘテロアリアル、アリアルで任意で置換された-O(C₁₋₆アルキル)、又は-O(C₁₋₆ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

アリアル又はヘテロアリアル基R¹が、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、-NR⁴R⁵、-S(O)_pNR⁴R⁵、-C(O)NR⁴R⁵、-C(O)R⁴、-C(O)OR⁴、又はOH、ハロ、アリアル、ヘテロアリアル、-O(C₁₋₆アルキル)、O(C₁₋₆ハロアルキル)、-O-アリアル若しくは-O-ヘテロアリアルから選択される1以上の置換基により任意で置換される-C₁₋₆アルキル若しくは-O(C₁₋₆アルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

pが1又は2であり、

R⁴及びR⁵のそれぞれが、H若しくはC₁₋₄アルキルから独立して選択され、又はR⁴及びR⁵が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する3員若しくは8員の複素環を形成してもよく、

nが0、1、2、3、4、又は5であり、

R^{2a}及びR^{2b}が、各々独立してハロ、OH、アリアル又はヘテロアリアルから選択される1以上の置換基により任意で置換されるC₁₋₆アルキルであり、又は、

R^{2a}及びR^{2b}が、それらが結合する窒素原子とともにO、N又はSから選択される1以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有する5員又は6員の複素環を形成し、及び1以上の置換基R⁶により任意で置換され、

R⁶のそれぞれが、アリアル、ヘテロアリアル、-O-アリアル、-O-ヘテロアリアル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、-O-カルボシクリル、-O-ヘテロシクリル、R¹²、OR¹²、C(O)R¹²、C(O)OR¹¹、C(O)NR¹¹R¹²、CN、OHから独立して選択され、

R¹¹及びR¹²のそれぞれが、独立してH若しくはC₁₋₄アルキルであり、1以上のアリアル又はヘテロアリアル基により置換されてもよく、アリアル及びヘテロアリアル基は、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、-NR⁴R⁵、-S(O)_pNR⁴R⁵、-C(O)NR⁴R⁵、-C(O)R⁴、-C(O)OR⁴又はOH、ハロ、アリアル、ヘテロアリアル、-O(C₁₋₆アルキル)、O(C₁₋₆ハロアルキル)、-O-アリアル若しくは-O-ヘテロアリアルから選択される1以上の置換基により任意で置換される-C₁₋₆アルキル若しくは-O(C₁₋₆アルキル)から選択される1以上の置換基により置換され、

R⁴及びR⁵が、上記で定義したとおりであり、又はR¹¹及びR¹²が、それらが結合する窒素原子に結合して、N、O及びSから選択される1以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有する3員から8員の複素環を形成し、及びC₁₋₄アルキル、C₁₋₄ハロアルキル若しくはハロにより任意で置換されてもよく、

R³が、アリアル、ヘテロアリアル、カルボシクリル、又はヘテロシクリルであり、それらがハロ、任意でアリアルにより置換されるC₁₋₄アルキル、任意でアリアルにより置換される-O(C₁₋₄アルキル)、-C₁₋₄ハロアルキル、-O(C₁₋₄ハロアルキル)、又は-C(O)NR⁸R⁹から選択される1以上の置換基R⁷により任意で置換され、

R⁸及びR⁹のそれぞれが、独立してH、C₁₋₄アルキル若しくはC₃₋₆シクロアルキルから選択され、又はR⁸及びR⁹が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよい、化合物、

又は薬学的に許容される塩、溶媒和化合物若しくはそれらの水和物又は全ての立体異性を包含するその重水素化又はトリチウム化した変異体。

〔2〕一般式一般式(IA)の化合物：

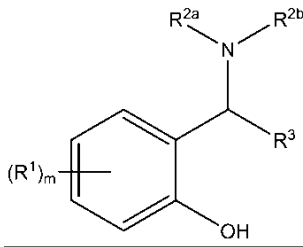
10

20

30

40

50



(I A)

であって、 R^1 のそれぞれが、独立してハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、アリーール又はヘテロアリーールであり、アリーール又はヘテロアリーール基は、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $-S(O)_pNR^4R^5$ 、 $-C(O)NR^4R^5$ 、任意でアリーールにより置換される $-C_{1-6}$ アルキル、 $-C_{1-6}$ ハロアルキル、任意でアリーールにより置換される $-O(C_{1-6}$ アルキル)、又は $-O(C_{1-6}$ ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により任意で置換され、

p が0、1又は2であり、

R^4 及び R^5 のそれぞれが、独立してH若しくは C_{1-4} アルキルから選択され、又は R^4 及び R^5 が、それらが結合する窒素原子とともにO、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよく、

m が0、1、2、3又は4であり、

R^{2a} 及び R^{2b} が、各々独立してハロ、OH、アリーール又はヘテロアリーールから選択される1以上の置換基により任意で置換される C_{1-6} アルキルであり、又は、

R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともにO、N又はSから選択される1以上のさらなるヘテロ原子を任意で含有する5員又は6員の複素環を形成し、及び1以上の置換基 R^6 により任意で置換され、

R^6 のそれぞれが、アリーール、ヘテロアリーール、 $-O$ -アリーール、 $-O$ -ヘテロアリーール、又は1以上のアリーール若しくはヘテロアリーール基により置換される C_{1-4} アルキルから独立して選択され、アリーール及びヘテロアリーール基が、ハロ、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} ハロアルキル、 $-O(C_{1-4}$ アルキル)又は $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)から選択される1以上の置換基により置換され、

R^3 が、アリーール、ヘテロアリーール、カルボシクリル又はヘテロシクリルであり、それらがハロ、任意でアリーールにより置換される C_{1-4} アルキル、任意でアリーールにより置換される $-O(C_{1-4}$ アルキル)、 $-C_{1-4}$ ハロアルキル、 $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)、又は $-C(O)NR^8R^9$ から選択される1以上の置換基 R^7 により任意で置換され、

R^8 及び R^9 のそれぞれが、独立してH、 C_{1-4} アルキル若しくは C_{3-6} シクロアルキルから選択され、又は R^8 及び R^9 が、それらが結合する窒素原子とともに、O、N及びSから選択される1以上の追加のヘテロ原子を任意で含有する5員若しくは6員の複素環を形成してもよい、化合物、

又は薬学的に許容される塩、溶媒和化合物若しくはそれらの水和物又は全ての立体異性体を包含するその重水素化又はトリチウム化した変異体。

〔3〕 n が1若しくは2であり、及び少なくとも1つの R^1 基がOHである前記〔1〕に記載の化合物、又は m が0若しくは1である前記〔2〕に記載の化合物。

〔4〕 m が0以外であり、及び R^1 がハロ又は前記〔2〕で定義されるように任意で置換されるアリーール若しくはヘテロアリーール基である、前記〔2〕又は〔3〕に記載の化合物。

〔5〕 R^1 が、ハロ、OH、シアノ、ニトロ、 $-SO_2NH_2$ 、 $-C(O)NR^4R^5$ 、任意でアリーールにより置換される $-C_{1-4}$ アルキル、 $-C_{1-4}$ ハロアルキル、任意でアリーール又は $-O(C_{1-4}$ ハロアルキル)により置換される $-O(C_{1-4}$ アルキル)により任意で置換されるアリーール又はヘテロアリーール基であり、 R^4 及び R^5 が、それらが結合する窒素原子とともにピペリジン又はピロリジン環を形成する、前記〔4〕に記載の化合物。

〔6〕 R^1 が、クロロ、フルオロ、メチル、エチル、トリフルオロメチル、ベンジル、メト

10

20

30

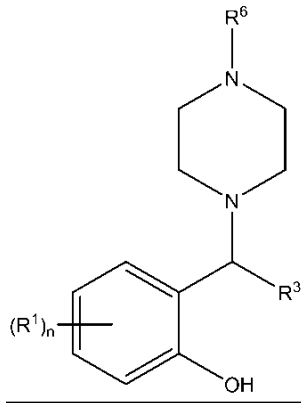
40

50

キシ、エトキシ、ベンジルオキシ、トリフルオロメトキシ及びピペリジン - 1 - カルボニルにより任意で置換されるアリール又はヘテロアリール基である、前記〔 5 〕に記載の化合物。

〔 7 〕 R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともに、1以上の置換基 R^6 により任意で置換される6員の複素環を形成する、前記〔 1 〕から〔 6 〕のいずれか一項に記載の化合物。

〔 8 〕 R^{2a} 及び R^{2b} が、それらが結合する窒素原子とともに、ピペラジン4位で単一の R^6 置換基により置換されるピペラジン環を形成し、一般式(I)の前記化合物が一般式(I B)の化合物：



10

(I B)

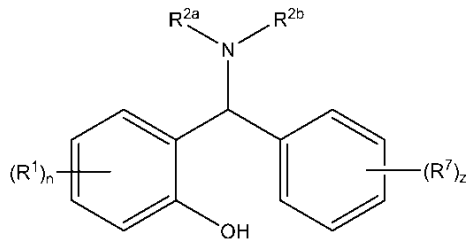
であり、

R^1 、 n 、 R^3 及び R^6 が、前記〔 2 〕で定義されるとおりである、前記〔 7 〕に記載の化合物。

〔 9 〕 R^6 が、フェニル、ヘテロアリール、- O - フェニル、- O - ヘテロアリール、ベンジル、- CH (フェニル) $_2$ 、- CH $_2$ -ヘテロアリール、及び- CH (ヘテロアリール) $_2$ であって、前記ヘテロアリール基が、ピリジニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾオキサゾリル、及びベンゾイソオキサゾリルから選択され、並びに上記の R^6 基が、前記〔 1 〕に定義されるように置換されていてもよい、前記〔 1 〕から〔 8 〕のいずれか一項に記載の化合物。

30

〔 10 〕 R^3 が、1以上の置換基 R^7 により任意で置換されるフェニルであり、一般式(I)の前記化合物が一般式(I C)の化合物：



40

(I C)

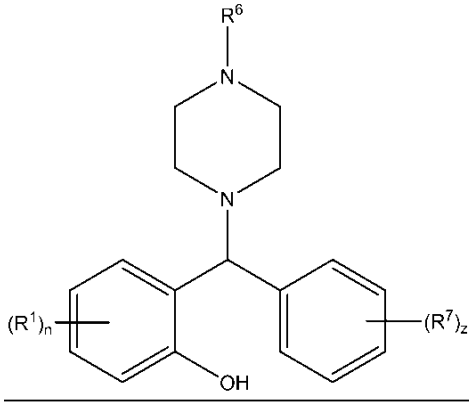
であり、

R^1 、 n 、 R^{2a} 、 R^{2b} 及び R^7 が、一般式(I)により定義されるとおりであり、及び z が0から5である、前記〔 1 〕から〔 9 〕のいずれか一項に記載の化合物。

〔 11 〕 z が0、1又は2であり、 R^7 が存在せず(即ち、 z が0である)、又は R^7 がハロ、- C $_{1-4}$ アルキル、ベンジル、- O (C $_{1-4}$ アルキル)ベンジルオキシ、- C $_{1-4}$ ハロアルキル、- O (C $_{1-4}$ ハロアルキル)若しくは- C (O) N R^8 R^9 であって、 R^8 及び R^9 が、それらが結合する窒素原子とともにピペリジニル環を形成し、又は R^8 がHであり、及び R^9 がC $_{3-7}$ シクロアルキルである、前記〔 10 〕に記載の化合物。

50

〔 1 2 〕 一般式 (I D) の化合物 :



10

(I D)

であり、

R¹、n、R⁶、R⁷及びzが、上記で定義したとおりである、前記〔 1 〕から〔 1 0 〕のいずれか一項に記載の化合物。

〔 1 3 〕

2 - ((2 - クロロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 1)、

20

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 2)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 3)、

(4 - ((2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジニル) メチル) フェニル) (ピペリジン - 1 - イル) メタノン (化合物 4)、

3 - ((5 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 5)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (4 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 4 - クロロフェノール (化合物 6)、

30

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (6 - フルオロベンゾ [d] イソオキサゾール - 3 - イル) ピペリジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 7)、

2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (o - トリル) メチル) フェノール (化合物 8)、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) ベンズアミド (化合物 9 、 N P B)、

2 - ((4 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロフェニル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 1 0)、

2 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (フェニル) メチル) フェノール (化合物 1 1)、

40

2 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (p - トリル) メチル) フェノール (化合物 1 2)、

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 1 3)、

2 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - エチルフェニル) メチル) フェノール (化合物 1 4)、

(4 - ((4 - ((4 - クロロフェニル) (フェニル) メチル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) フェニル) (ピペリジン - 1 - イル) メタノン (化合物 1 5)、

50

- ル)メチル)ベンズアミド(化合物32)、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 3 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 3) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - ヒドロキシ - 4 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 4) 、
- 3 - ((2 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 5) 、
- 3 - ((3 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 6) 、
- 3 - ((4 ' - シアノ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 7) 、
- 3 - ((2 ' - クロロ - 4 - ヒドロキシ - 4 ' - (トリフルオロメチル) - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 3 8) 、
- N - シクロペンチル - 3 - ((2 ' , 4 ' - ジクロロ - 4 - ヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 3 9) 、
- 3 - ((4 ' - クロロ - 2 ' , 4 - ジヒドロキシ - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 4 0) 、
- 3 - ((4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 4 1 、 NCK 1) 、
- 2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 2 、 NCK 2) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (3 - メトキシフェニル) メチル) フェノール (化合物 4 3 、 NCK 3) 、
- 1 - (5 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) チオフェン - 2 - イル) エタノン (化合物 4 4 、 NCK 4) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (ナフタレン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 5 、 NCK 5) 、
- 5 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) フラン - 2 - カルバルデヒド (化合物 4 6 、 NCK 6) 、
- 2 - ((4 - (5 , 6 - ジクロロシクロヘキサ - 1 , 5 - ジエン - 1 - イル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - フルオロ - 3 - メチルピリジン - 4 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 7 、 NCK 7) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - (トリフルオロメチル) フェニル) メチル) フェノール (化合物 4 8 、 NCK 8) 、
- 2 - ((6 - クロロ - 5 - メチルピリジン - 3 - イル) (4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 4 9 、 NCK 9) 、
- 2 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (ピリジン - 3 - イル) メチル) フェノール (化合物 5 0 、 NCK 1 0) 、
- 1 - (5 - ((4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシフェニル) メチル) チオフェン - 2 - イル) エタノン (化合物 5 1 、 NCK 1 4) 、
- 3 - ((4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - (ジエチルアミノ) - 2 - ヒドロキシフェニル) メチル) - N - シクロペンチルベンズアミド (化合物 5 2 、

10

20

30

40

50

N C K 1 6)、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - (ジエチルアミノ) - 2 - ヒドロキシフェニル) メチル) ベンズアミド (化合物 5 3 、 N C K 1 8)、

N - シクロペンチル - 3 - ((4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (2 - ヒドロキシ - 4 , 6 - ジメトキシフェニル) メチル) ベンズアミド (化合物 5 4 、 N C K 1 9)、

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 5 5 、 N C K 2 0)、

2 - ((4 - (4 - クロロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) (6 - メチルピリジン - 3 - イル) メチル) フェノール (化合物 5 6 、 N C K 2 1)、

2 - (o - トリル (4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 5 7 、 S G 1)、

2 - ((4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) (4 - (トリフルオロメチル) フェニル) メチル) フェノール (化合物 5 8 、 S G 2)、

N - シクロペンチル - 4 - ((2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) ベンズアミド (化合物 5 9 、 S G 3)、

2 - ((4 - クロロフェニル) (4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 6 0 、 S G 4)、

2 - ((3 - メトキシフェニル) (4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 6 1 、 S G 5)、

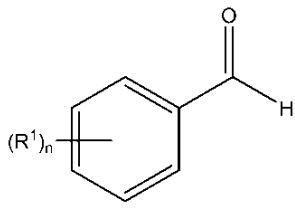
5 - ((2 - ヒドロキシフェニル) (4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フラン - 2 - カルバルデヒド (化合物 6 2 、 S G 6)、

2 - ((6 - メチルピリジン - 3 - イル) (4 - (p - トリル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) フェノール (化合物 6 3 、 S G 7)、 から 選択される、 前記 [1] に記載の化合物、

又は薬学的に許容される塩、 溶媒和化合物若しくはそれらの水和物又は全ての立体異性体を包含するその重水素化又はトリチウム化した変異体。

[1 4] 前記 [1] から [1 3] のいずれか一項に記載の化合物の調製方法であって、

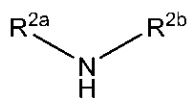
i . 一般式 (I I) のアルデヒド：



(I I)

であって、 R¹及び n が前記 [1] に定義したとおりであるアルデヒドを、

一般式 (I I I) の化合物：



(I I I)

であって、 R^{2a}及び R^{2b}が前記 [1] に定義したとおりである化合物、

及び一般式 (I V) のボロン酸：

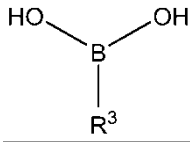
10

20

30

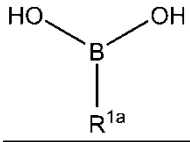
40

50



(I V)

であって、 R^3 が前記〔1〕に定義したとおりであるボロン酸と反応させる工程、又は
 ii. R^1 が八口である一般式 (I) の化合物を、一般式 (V) の化合物：



10

(V)

と反応させる工程であって、 R^{1a} が、前記〔1〕において R^1 について定義したとおりに
 任意で置換されるアリール又はヘテロアリールであり、

パラジウム触媒の存在下で鈴木カップリング反応を介して、 R^1 が R^{1a} である一般式 (I)
) の化合物を得る工程、
 のいずれかを含む調製方法。

〔15〕医学における使用のための、前記〔1〕から〔13〕のいずれか一項に記載の化
 合物。

20

〔16〕癌の治療における使用のための、前記〔1〕から〔13〕のいずれか一項に記載
 の化合物。

〔17〕癌の治療のための薬の調製における、前記〔1〕から〔13〕のいずれか一項に
 記載の化合物の使用。

〔18〕癌を治療するための方法であって、前記方法が、そのような治療を必要とする患
 者に有効量の前記〔1〕から〔13〕のいずれか一項に記載の化合物を投与する工程を含
 む、方法。

〔19〕前記癌が、BADリン酸化が存在する癌、例えば、乳癌、子宮内膜癌、卵巢癌、
 肝臓癌、結腸癌、前立腺癌、若しくは膵臓癌、又はBADがリン酸化されている任意の他
 の上皮由来の癌である、前記〔16〕から〔18〕のいずれか一項に記載の使用のための
 化合物、使用又は方法。

30

〔20〕前記〔1〕から〔13〕のいずれか一項に記載の化合物及び薬学的に許容される
 賦形剤を含む、医薬組成物。

〔21〕腹腔内投与、肝門脈投与、静脈内投与、関節内投与、膵十二指腸動脈投与若しく
 は筋肉内投与、又はそれらの任意の組み合わせのために処方される、前記〔20〕に記載
 の医薬組成物。

【0044】

40

50

1. Rakesh KS, Jagadish S, Vinayaka AC, Hemshekhar M, Paul M, Thushara RM, Sundaram MS, Swaroop TR, Mohan CD and Sadashiva MP. A New Ibuprofen Derivative Inhibits Platelet Aggregation and ROS Mediated Platelet Apoptosis. *PloS one*. 2014; 9(9):e107182.
2. Krautwald S, Ziegler E, Rolver L, Linkermann A, Keyser KA, Steen P, Wollert KC, Korf-Klingebiel M and Kunzendorf U. Effective blockage of both the extrinsic and intrinsic pathways of apoptosis in mice by TAT-crmA. *The Journal of biological chemistry*. 2010; 285(26):19997-20005. 10
3. Riedl SJ and Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004; 5(11):897-907.
4. Hardwick JM and Soane L. Multiple functions of BCL-2 family proteins. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013; 5(2).
5. Czabotar PE and Lessene G. Bcl-2 family proteins as therapeutic targets. *Current pharmaceutical design*. 2010; 16(28):3132-3148. 20
6. Anilkumar U and Prehn JH. Anti-apoptotic BCL-2 family proteins in acute neural injury. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2014; 8:281.
7. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science; 2008. Classic textbook now in its 5th Edition. 2010.
8. Hutt KJ. The role of BH3-only proteins in apoptosis within the ovary. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2015; 149(2):R81-r89.
9. Ambrosini G, Adida C and Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nature medicine*. 1997; 3(8):917-921. 30
10. Keerthy HK, Mohan CD, Siveen KS, Fuchs JE, Rangappa S, Sundaram MS, Li F, Girish KS, Sethi G and Bender A. Novel synthetic biscoumarins target tumor necrosis factor- α in hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*. 2014; 289(46):31879-31890.
11. Smith AJ, Karpova Y, D'Agostino R, Jr., Willingham M and Kulik G. Expression of the Bcl-2 protein BAD promotes prostate cancer growth. *PloS one*. 2009; 4(7):e6224. 40

12. Doerflinger M, Glab JA and Puthalakath H. BH3-only proteins: A 20-year stock-take. *The FEBS journal*. 2015.
13. Hayakawa J, Ohmichi M, Kurachi H, Kanda Y, Hisamoto K, Nishio Y, Adachi K, Tasaka K, Kanzaki T and Murata Y. Inhibition of BAD phosphorylation either at serine 112 via extracellular signal-regulated protein kinase cascade or at serine 136 via Akt cascade sensitizes human ovarian cancer cells to cisplatin. *Cancer research*. 2000; 60(21):5988-5994.
14. Macdonald A, Campbell DG, Toth R, McLauchlan H, Hastie CJ and Arthur JS. Pim kinases phosphorylate multiple sites on Bad and promote 14-3-3 binding and dissociation from Bcl-XL. *BMC cell biology*. 2006; 7:1. 10
15. Fang X, Yu S, Eder A, Mao M, Bast RC, Jr., Boyd D and Mills GB. Regulation of BAD phosphorylation at serine 112 by the Ras-mitogen-activated protein kinase pathway. *Oncogene*. 1999; 18(48):6635-6640.
16. Masters SC, Yang H, Datta SR, Greenberg ME and Fu H. 14-3-3 inhibits Bad-induced cell death through interaction with serine-136. *Molecular pharmacology*. 2001; 60(6):1325-1331.
17. Harada H, Becknell B, Wilm M, Mann M, Huang LJ-s, Taylor SS, Scott JD and Korsmeyer SJ. Phosphorylation and inactivation of BAD by mitochondria-anchored protein kinase A. *Molecular cell*. 1999; 3(4):413-422. 20
18. Jiang P, Du W, Heese K and Wu M. The Bad guy cooperates with good cop p53: Bad is transcriptionally up-regulated by p53 and forms a Bad/p53 complex at the mitochondria to induce apoptosis. *Molecular and cellular biology*. 2006; 26(23):9071-9082.
19. Marchion DC, Cottrill HM, Xiong Y, Chen N, Bicaku E, Fulp WJ, Bansal N, Chon HS, Stickles XB, Kamath SG, Hakam A, Li L, Su D, Moreno C, Judson PL, Berchuck A, et al. BAD phosphorylation determines ovarian cancer chemosensitivity and patient survival. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011; 17(19):6356-6366. 30
20. Sastry KSR, Al-Muftah MA, Li P, Al-Kowari MK, Wang E, Ismail Chouchane A, Kizhakayil D, Kulik G, Marincola FM, Haoudi A and Chouchane L. Targeting proapoptotic protein BAD inhibits survival and self-renewal of cancer stem cells. *Cell death and differentiation*. 2014; 21(12):1936-1949.
21. Anderson MA, Huang D and Roberts A. Targeting BCL2 for the treatment of lymphoid malignancies. *Seminars in hematology*. 2014; 51(3):219-227.
22. Oltersdorf T, Elmore SW, Shoemaker AR, Armstrong RC, Augeri DJ, Belli BA, Bruncko M, Deckwerth TL, Dinges J and Hajduk PJ. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature*. 2005; 435(7042):677-681. 40

23. Keerthy HK, Garg M, Mohan CD, Madan V, Kanojia D, Shobith R, Nanjundaswamy S, Mason DJ, Bender A and Rangappa KS. Synthesis and characterization of novel 2-amino-chromene-nitriles that target Bcl-2 in acute myeloid leukemia cell lines. *PLoS one*. 2014; 9(9):e107118.
24. Bruncko M, Oost TK, Belli BA, Ding H, Joseph MK, Kunzer A, Martineau D, McClellan WJ, Mitten M, Ng SC, Nimmer PM, Oltersdorf T, Park CM, Petros AM, Shoemaker AR, Song X, et al. Studies leading to potent, dual inhibitors of Bcl-2 and Bcl-xL. *Journal of medicinal chemistry*. 2007; 50(4):641-662. 10
25. Petros AM, Nettlesheim DG, Wang Y, Olejniczak ET, Meadows RP, Mack J, Swift K, Matayoshi ED, Zhang H, Thompson CB and Fesik SW. Rationale for Bcl-xL/Bad peptide complex formation from structure, mutagenesis, and biophysical studies. *Protein science : a publication of the Protein Society*. 2000; 9(12):2528-2534.
26. Boisvert-Adamo K and Aplin AE. Mutant B-RAF mediates resistance to anoikis via Bad and Bim. *Oncogene*. 2008; 27(23):3301-3312.
27. Seow HF, Yip WK, Loh HW, Ithnin H, Por P and Rohaizak M. Immunohistochemical detection of phospho-Akt, phospho-BAD, HER2 and oestrogen receptors alpha and beta in Malaysian breast cancer patients. *Pathology oncology research : POR*. 2010; 16(2):239-248. 20
28. Kanamori Y, Kigawa J, Itamochi H, Shimada M, Takahashi M, Kamazawa S, Sato S, Akeshima R and Terakawa N. Correlation between loss of PTEN expression and Akt phosphorylation in endometrial carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001; 7(4):892-895.
29. Datta SR, Brunet A and Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes & development*. 1999; 13(22):2905-2927.
30. Pandey V, Wu ZS, Zhang M, Li R, Zhang J, Zhu T, et al. Trefoil factor 3 promotes metastatic seeding and predicts poor survival outcome of patients with mammary carcinoma. *Breast Cancer Res*. 2014;16(5):429. 30
31. Wang XN, Wang SJ, Pandey V, Chen P, Li Q, Wu ZS, et al. Trefoil factor 3 as a novel biomarker to distinguish between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(20):e860.
32. You M, Chen Y, Chong Q, Wu M, Pandey V, Chen R, et al. Trefoil factor 3 mediation of oncogenicity and chemoresistance in hepatocellular carcinoma is AKT-BCL-2 dependent. *Oncotarget*. 2017. 40

【図面】

【図 1 A】

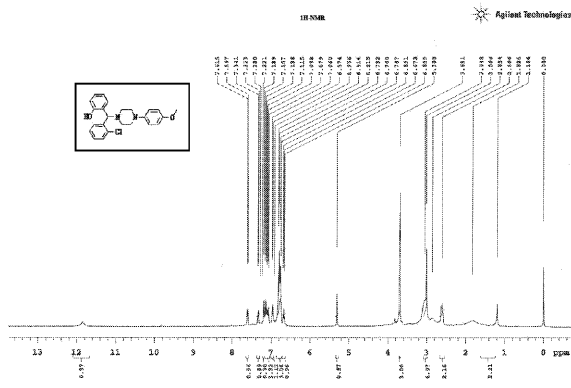


Figure 1A

【図 1 B】

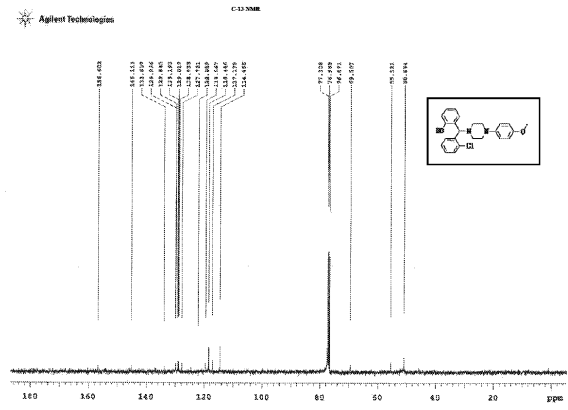


Figure 1B

10

【図 2】

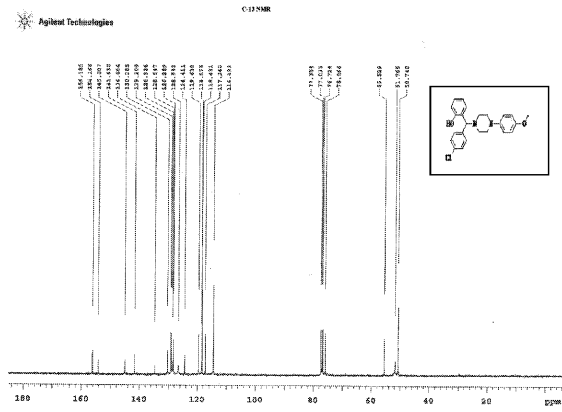


Figure 2

【図 3 A】

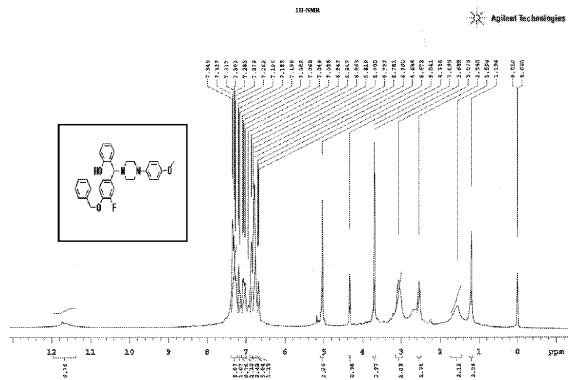


Figure 3A

20

30

40

50

【 3 B 】

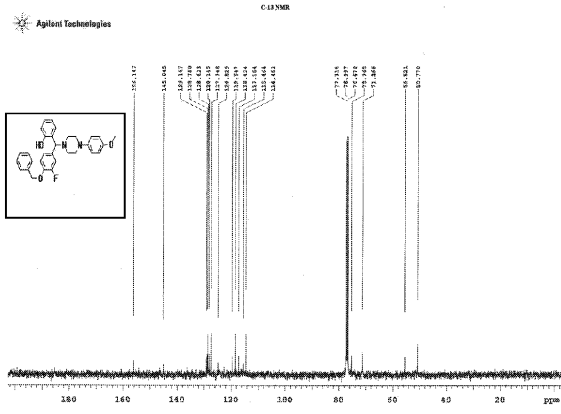


Figure 3B

【 4 A 】

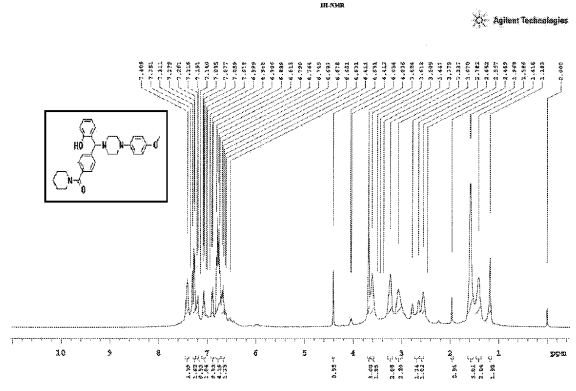


Figure 4A

10

【 4 B 】

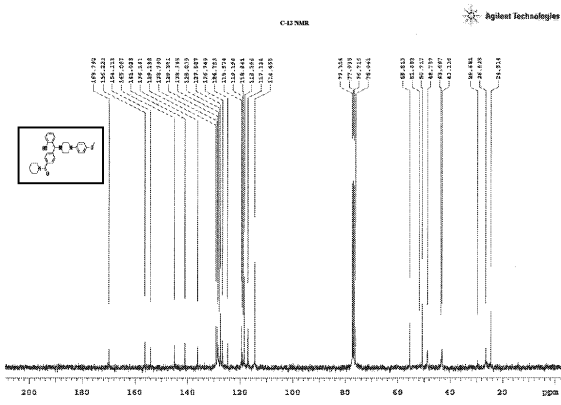


Figure 4B

【 5 A 】

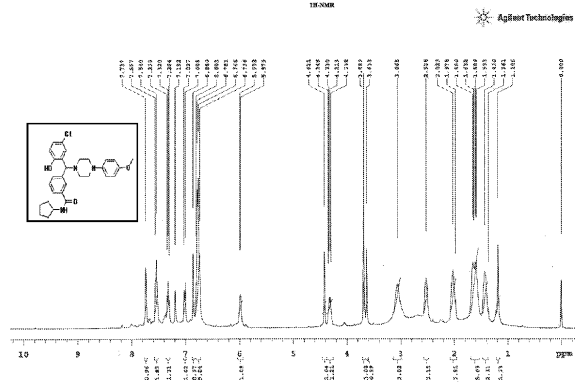


Figure 5A

20

30

40

50

【 5 B 】

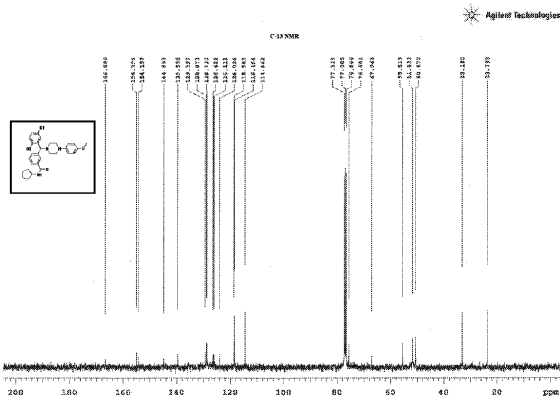


Figure 5B

【 6 】

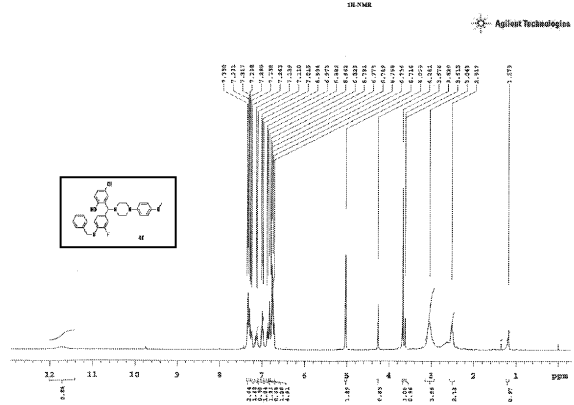


Figure 6

10

【 7 A 】

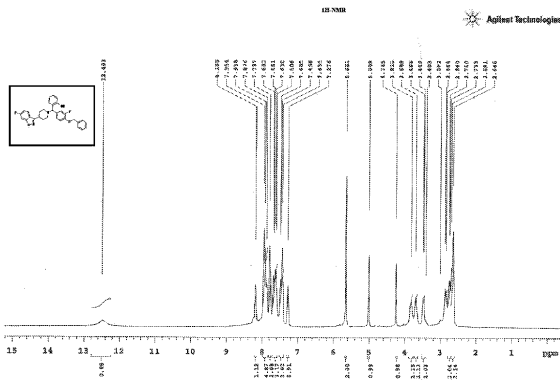


Figure 7A

【 7 B 】

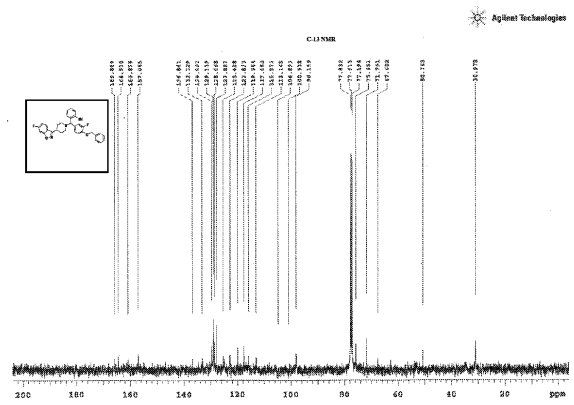


Figure 7B

20

30

40

50

【 図 8 】

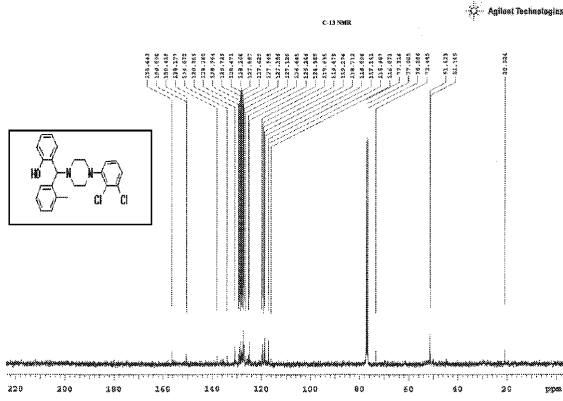
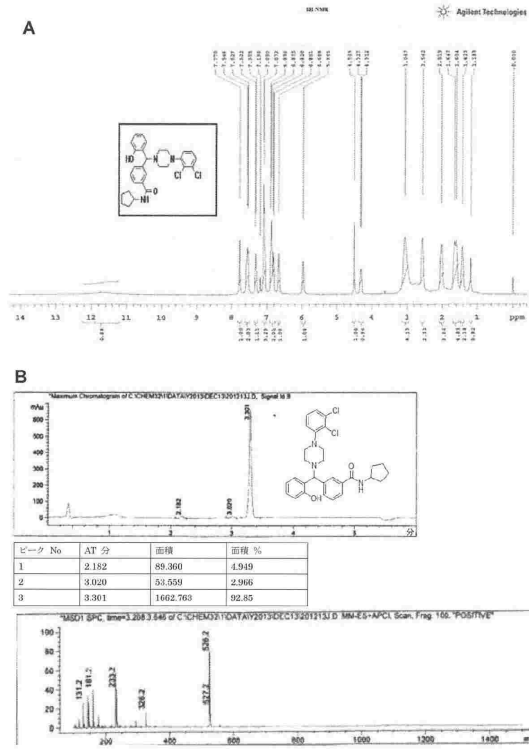


Figure 8

【 図 9 A - B 】

Figure 9



10

20

【 図 10 】

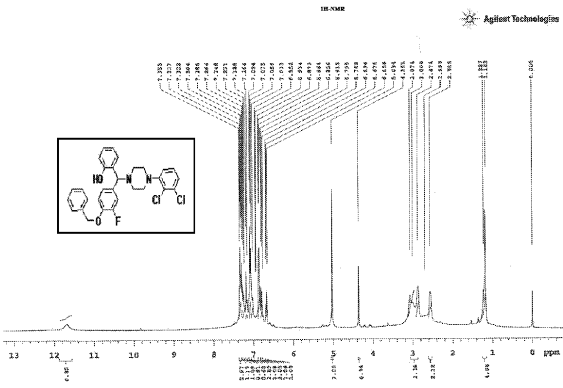


Figure 10

【 図 11 】

Figure 11

一連の癌腫細胞株におけるNPBのIC50値

細胞株のパネル	細胞	NPB (μM)	
		IC50 ^A	±SD
乳腺	*MCF10A	NV	NV
	*MCF12A	NV	NV
	MCF7	6.5	1.06
	T47D	7.24	1.91
	BT474	5.31	2.04
子宮内膜	BT549	4.88	1.31
	MDA-MB-231	6.94	1.86
	Ishikawa	7.51	2.08
	ECC1	2.61	0.97
	RL95-2	6.38	1.85
卵巣	AN3	11.37	2.61
	SK-OV-3	7.34	2.03
	OVCAR-2	4.21	1.74
	Caov-3	3.95	0.93
	HEY C2	6.82	1.94
肝細胞	Ovca433	9.79	2.48
	*LO2	NV	NV
	Hep3B	6.94	1.07
	H2P	4.18	0.83
	H2M	5.57	2.61
結腸	HCT116	7.29	2.02
	DLD-1	2.46	0.91
	Caco-2	3.08	0.76
前立腺	PC3	3.77	1.51
	LNCaP	8.02	3.3
	DU145	6.99	1.72
膵臓	AsPC-1	3.83	1.14
	BxPC-3	7.25	2.09

注：NV、値なし；#、正常細胞；
^AIC50値を、GraphPad Prism software (Version 5. 0) を使用して計算した。
 細胞生存率を、AlamarBlue (登録商標) 細胞生存率アッセイを使用して測定した。

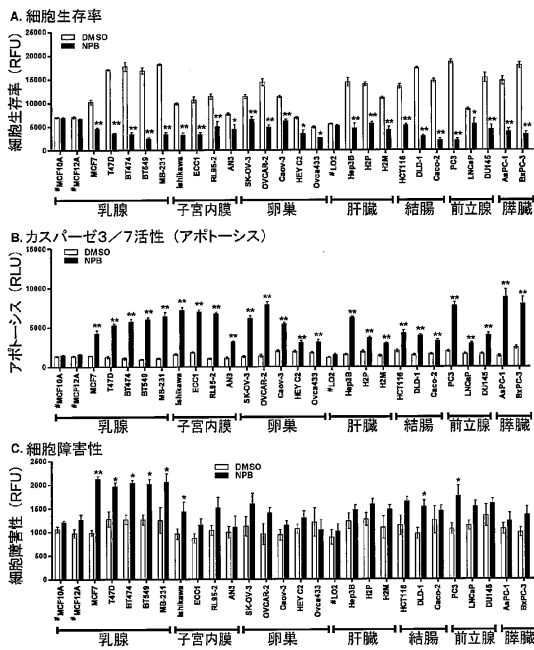
30

40

50

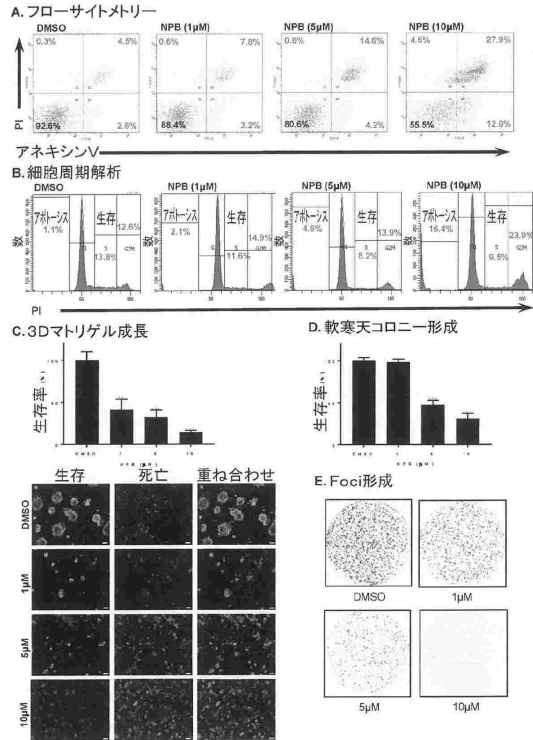
【図 1 2 A - C】

Figure 12



【図 1 3 A - E】

Figure 13:

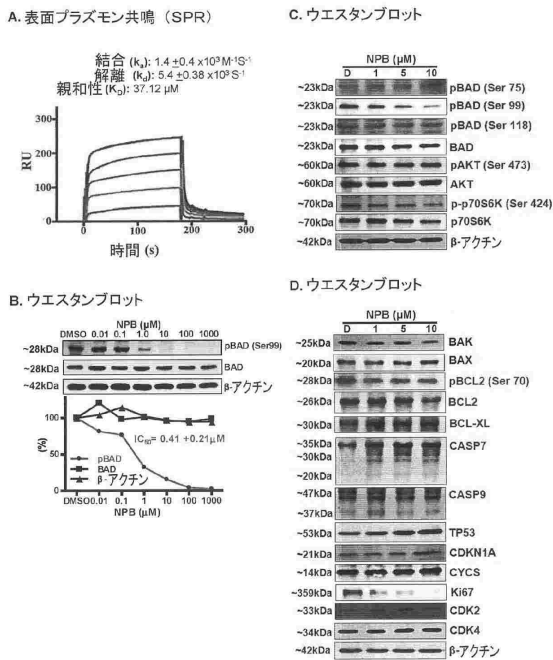


10

20

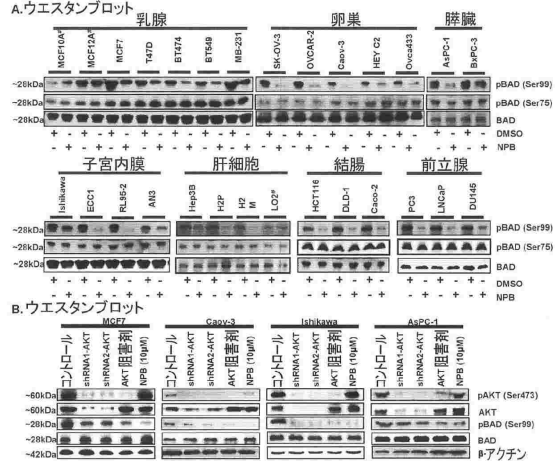
【図 1 4 A - D】

Figure 14:



【図 1 5 A - B】

Figure 15:



30

40

50

【 2 0 】

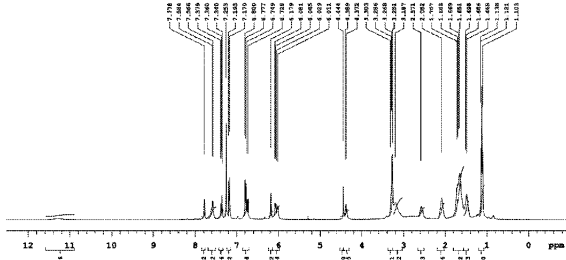


Figure 20

【 2 1 】

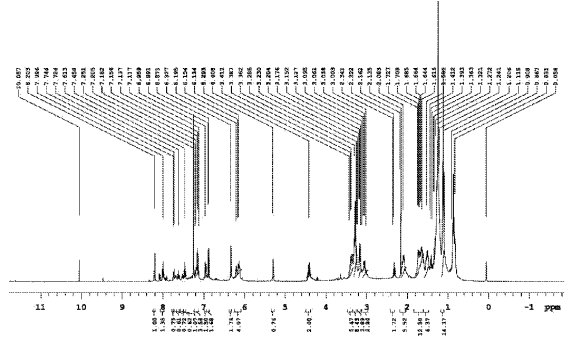


Figure 21

10

【 2 2 A 】

Figure 22

A

類似体	構造	MCF7	A2780
		IC ₅₀	IC ₅₀
NPB	 分子量: 523	9.52	5.33
NCK1	 分子量: 490.0283	NV	26.63
NCK2	 分子量: 447.7846	NV	19.74
NCK3	 分子量: 443.3855	NV	50.82
NCK4	 分子量: 461.4040	NV	NV

【 2 2 B 】

Figure 22

B

NCK5	 分子量: 463.3980	5.907	27.39
NCK6	 分子量: 431.3118	3.114	6.68
NCK7	 分子量: 448.3606	47.28	38.74
NCK8	 分子量: 481.338	59.52	23.66
NCK9	 分子量: 482.7993	NV	16.06

20

30

40

50

【 2 2 C 】

Figure 22

C

NCK10	 分子量: 414.3276	24.83	35.86
NCK14	 分子量: 426.9689	NV	23.26
NCK16	 分子量: 561.16	23.35	9.53
NCK18	 分子量: 695.60	20.93	2.97
NCK19	 分子量: 584.53	NV	48.02

【 2 2 D 】

Figure 22

D

NCK20	 分子量: 413.34	253.8	8.395
NCK21	 分子量: 413.34	20.91	21.90
SG2	 分子量: 426.4740	155.6	89.69
SG1	 分子量: 372.5026	NV	NV
SG3	 分子量: 469.6178	56.47	20.69

10

20

【 2 2 E 】

Figure 22

E

SG7	 分子量: 413.34	49.87	41.61
SG4、5、 及6	未試験		

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/496 (2006.01) A 6 1 K 31/496
 A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00

(74)代理人 100094569

弁理士 田中 伸一郎

(74)代理人 100103610

弁理士 吉 田 和彦

(74)代理人 100109070

弁理士 須田 洋之

(74)代理人 100119013

弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100123777

弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111796

弁理士 服部 博信

(74)代理人 100218578

弁理士 河井 愛美

(72)発明者 ロビー ピーター エドワード

シンガポール 1 1 9 0 7 7 シンガポール ローワー ケント リッジ ロード 2 1 ナショナル ユニヴァーシティ オブ シンガポール キャンサー サイエンス インスティテュート オブ シンガポール内

(72)発明者 バンディ ヴィジャイ クマール

シンガポール 1 1 9 0 7 7 シンガポール ローワー ケント リッジ ロード 2 1 ナショナル ユニヴァーシティ オブ シンガポール キャンサー サイエンス インスティテュート オブ シンガポール内

(72)発明者 カンチューガラコッパル サブゴウダ ランガッパ

インド 5 7 0 0 0 6 マイソール マナサガンゴットリ ユニヴァーシティ オブ マイソール デパートメント オブ スタディーズ イン ケミストリー内

(72)発明者 サルンディ バサッパ

インド 5 6 0 0 0 1 バンガロール パレス ロード セントラル カレッジ キャンパス バンガロール ユニヴァーシティ デパートメント オブ ケミストリー内

(72)発明者 チャクラバヴィ ダナンジャヤ モハン

インド 5 7 0 0 0 6 マイソール マナサガンゴットリ ユニヴァーシティ オブ マイソール デパートメント オブ スタディーズ イン ケミストリー内

(72)発明者 ランガッパ ショビス

インド 5 7 0 0 0 6 マイソール マナサガンゴットリ ユニヴァーシティ オブ マイソール デパートメント オブ スタディーズ イン ケミストリー内

(72)発明者 ヴェンカタチャライアー シュリニヴァーサ

インド 5 6 0 0 0 1 バンガロール パレス ロード セントラル カレッジ キャンパス バンガロール ユニヴァーシティ デパートメント オブ ケミストリー内

審査官 三須 大樹

(56)参考文献

特表 2 0 0 7 - 5 0 8 3 5 0 (J P , A)

特表 2 0 0 2 - 5 1 8 4 9 3 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 0 / 0 5 2 4 4 8 (W O , A 2)

米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 0 9 6 1 3 3 (U S , A 1)

特表 2 0 0 3 - 5 0 5 4 2 0 (J P , A)

特開 2 0 1 7 - 1 2 8 5 4 1 (J P , A)

Tabassum, S.; Govindaraju, S.; Pasha, M. A. , Sonochemistry - an innovative opportunity towards a one-pot three-component synthesis of novel pyridylpiperazine derivatives catalysed

- by meglumine in water , *New Journal of Chemistry* , 2017年 , 41(9) , , 3515-3523
- Hosseinzadeh, R.; Lasemi, Z.; Oloub, M.; Pooryousef, M. , A green protocol for the one-pot multicomponent Petasis boronic Mannich reaction using ball milling , *Journal of the Iranian Chemical Society* , 2017年 , 14(2) , , 347-355
- Erb, William; Albin, Mathieu; Rouden, Jacques; Blanchet, Jerome , Sequential One-Pot Access to Molecular Diversity through Aniline Aqueous Borylation , *Journal of Organic Chemistry* , 2014年 , 79(21) , , 10568-10580
- Schlienger, N.; Bryce, M. R.; Hansen, T. K. , The Boronic Mannich Reaction in a Solid-Phase Approach , *Tetrahedron* , 2000年 , 56(51) , , 10023-10030
- Yadav, J. S.; Reddy, B. V. Subba; Lakshmi, P. Naga , Ionic liquid-accelerated Petasis reaction. A green protocol for the synthesis of alkylaminophenols , *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* , 2007年 , 274(1-2) , , 101-104
- Tremblay-Morin, Jean-Philippe; Raeppe, Stephane; Gaudette, Frederic , Lewis acid-catalyzed Mannich type reactions with potassium organotrifluoroborates , *Tetrahedron Letters* , 2004年 , 45(17) , , 3471-3474
- Neto, Iris; Andrade, 他 , Multicomponent Petasis-borono Mannich Preparation of Alkylaminophenols and Antimicrobial Activity Studies , *ChemMedChem* , 2016年 , 11(18) , , 2015-2023
- Doan, Phuong; 他 , Synthesis and biological screening for cytotoxic activity of N-substituted indolines and morpholines , *European Journal of Medicinal Chemistry* , 2016年 , 120 , , 296-303
- El Kaim, Laurent; Grimaud, Laurence; Oble, Julie , New ortho-quinone methide formation: an application to three-component coupling of isocyanides, aldehydes and phenols , *Organic & Biomolecular Chemistry* , 2006年 , 4(18) , , 3410-3413
- D A T A B A S E REGISTRY o n STN , RN 1797320-83-2 REGISTRY Entered STN: 08 Jul 2015
- D A T A B A S E REGISTRY o n STN , RN 1088182-85-7 REGISTRY Entered STN: 22 Dec 2008
- He, Xinwei; Tao, Jiajia; Hu, Xiaoqian; Wang, Hui; Shang, Yongjia , FeCl₃-Mediated One-Pot Domino Reactions for the Synthesis of 9-Aryl/9-Arylethynyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-xanthene-1-ones from Propargylic Amines/Diaryl Amines and 1,3-Cyclohexanediones , *Journal of Organic Chemistry* , 2016年 , 81(5) , , 2062-2069
- Katritzky, Alan R.; 他 , Amino(hetero)arylmethylation of phenols with N-[amino(hetero)arylmethyl]benzotriazoles , *Journal of Organic Chemistry* , 1999年 , 64(16) , , 6071-6075
- Christov, Konstantin; Grubbs, Clinton J.; Shilkaitis, Anne; Juliana, M. Margaret; Lubet, Ronald A. , Short-term Modulation of Cell Proliferation and Apoptosis and Preventive/Therapeutic Efficacy of Various Agents in a Mammary Cancer Model , *Clinical Cancer Research* , 2007年 , 13(18, Pt. 1) , , 5488-5496
- Lin, Jiunn-Chang; Ho, Yuan-Soon; Lee, Jie-Jen; Liu, Chien-Liang; Yang, Tsen-Long; Wu, Chih-Hsiung , Induction of apoptosis and cell-cycle arrest in human colon cancer cells by meclizine , *Food and Chemical Toxicology* , 2007年 , 45(6) , , 935-944
- Richard, David J.; 他 , Hydroxyquinoline-derived compounds and analoguing of selective Mcl-1 inhibitors using a functional biomarker , *Bioorganic & Medicinal Chemistry* , 2013年 , 21(21) , , 6642-6649
- Thakran, Atul Kumar; Gupta, Sushil; Kumari, Shilpa; Mourya, Abhay Kumar; Alok, Shashi , Synthesis and pharmacological evaluation of 1-benzhydryl piperazine derivatives , *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* , 2012年 , 3(1) , , 213-217
- Karube, Kenosuke; 他 , Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate , *Cancer Letters (New York, NY, United States)* , 2013年 , 333(1) , , 47-55

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 D

A 6 1 K

A 6 1 P

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)