

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-513829

(P2019-513829A)

(43) 公表日 令和1年5月30日 (2019.5.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07D 207/416 (2006.01)	C O 7 D 207/416 C S P	4 C 0 6 9
C07D 207/452 (2006.01)	C O 7 D 207/452	4 C 0 8 6
C07D 209/48 (2006.01)	C O 7 D 209/48	4 C 2 0 4
A61K 31/402 (2006.01)	A 6 1 K 31/402	
A61K 31/4035 (2006.01)	A 6 1 K 31/4035	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 76 頁) 最終頁に続く

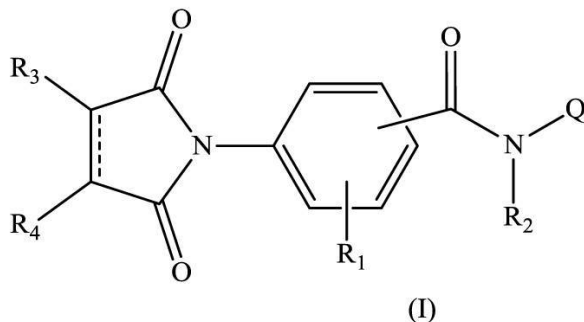
(21) 出願番号	特願2019-503603 (P2019-503603)	(71) 出願人	518356604
(86) (22) 出願日	平成29年4月10日 (2017.4.10)		3アール ヴァロ、エス. イー. シー.
(85) 翻訳文提出日	平成30年12月5日 (2018.12.5)		カナダ国 エイチ3シー 2ジー9 ケベック、モントリオール、リュ ビール、3
(86) 国際出願番号	PCT/CA2017/050432		55、ビューロー 503
(87) 国際公開番号	W02017/177316	(74) 代理人	110000855
(87) 国際公開日	平成29年10月19日 (2017.10.19)		特許業務法人浅村特許事務所
(31) 優先権主張番号	62/320,654	(72) 発明者	ベルベ、ジェルヴェ
(32) 優先日	平成28年4月11日 (2016.4.11)		カナダ国、ケベック、トロワ - リヴィエール、フォルティエ、ジ. - アッシュ、5330
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	レイエ - モレノ、カルロス
			カナダ国、ケベック、トロワ - リヴィエール、アルマン シャルボンノー 3575

最終頁に続く

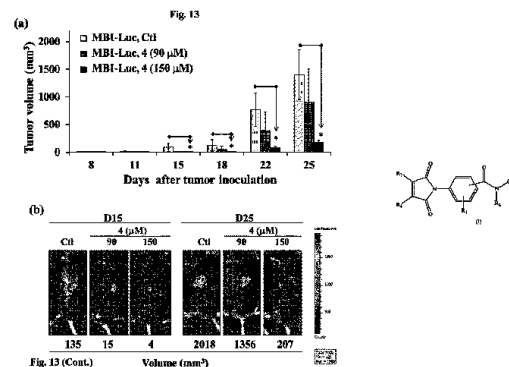
(54) 【発明の名称】 抗炎症剤、抗転移剤及び／又は抗癌剤として使用するためのアミノ安息香酸誘導体

(57) 【要約】

式 (I) の化合物が提供され、



式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び Q は、様々な異なる可能性を表すことができる。これらの化合物は、抗癌剤並びに抗炎症剤、抗増殖剤及び／又は抗転移剤として有用であり得る。

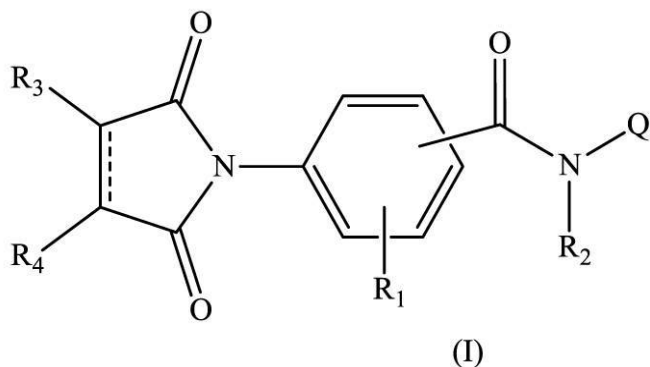


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の化合物

【化 1】



10

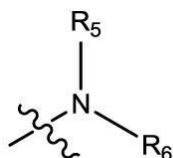
(式中、

 R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、 R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

20

 $Q_A =$

【化 2】

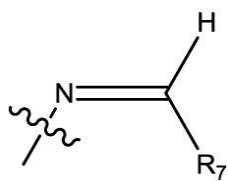


であり、

 $Q_B =$

30

【化 3】



であり、

【化 4】

40



は単結合又は二重結合であり、

 R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオ

50

フェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOc$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

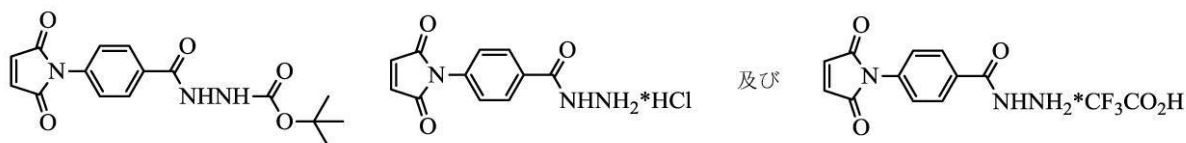
R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ

(前記化合物が下記式とは異なることを条件とする)。

【化 5】

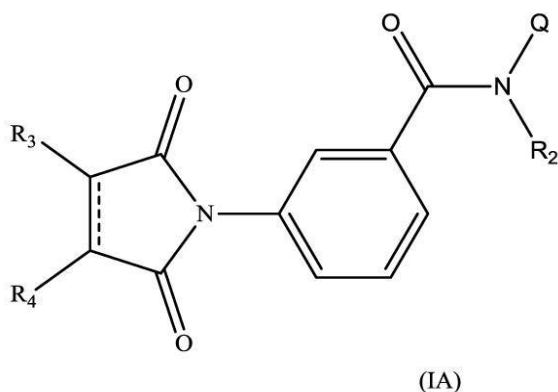


20

【請求項 2】

式 (IA) の化合物であって、

【化 6】



30

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び Q は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 1 に記載の化合物。

40

【請求項 3】

R_2 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

Q は Q_A であり、

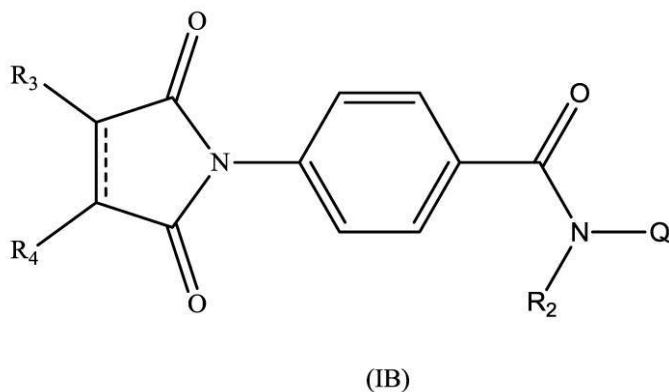
R_5 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

R_6 は、 BOc 、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

式 (IB) の化合物であって、

【化 7】



10

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び Q は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R_2 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

Q は Q_A であり、

R_5 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

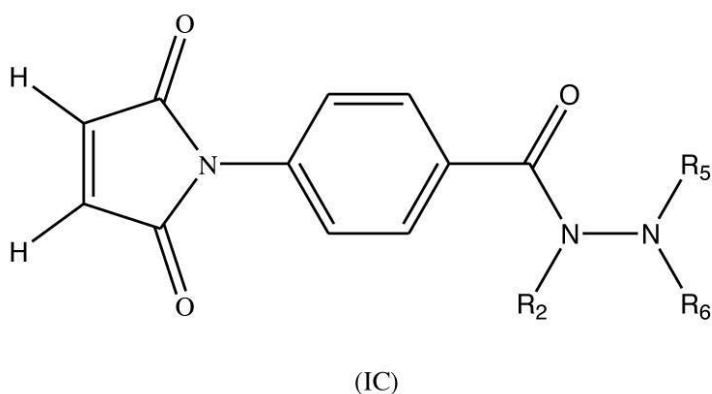
R_6 は、Boc、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である、
請求項 4 に記載の化合物。

20

【請求項 6】

式 (IC) の化合物であって、

【化 8】



30

式中、 R_2 、 R_5 及び R_6 は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

R_2 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

Q は Q_A であり、

R_5 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

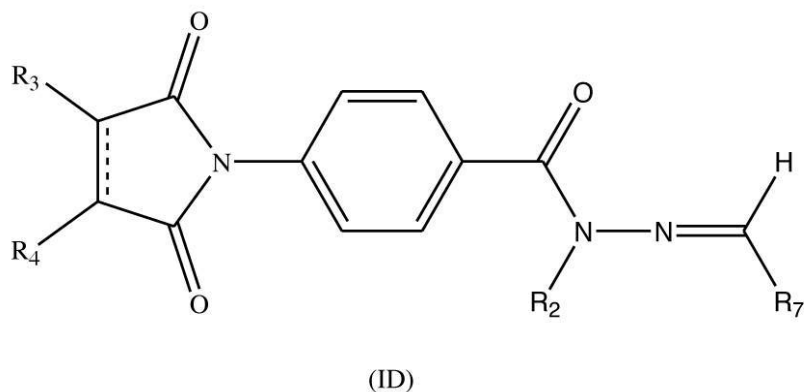
R_6 は、Boc、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である、
請求項 6 に記載の化合物。

40

【請求項 8】

式 (ID) の化合物であって、

【化 9】



10

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び R_7 は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

R_2 は、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

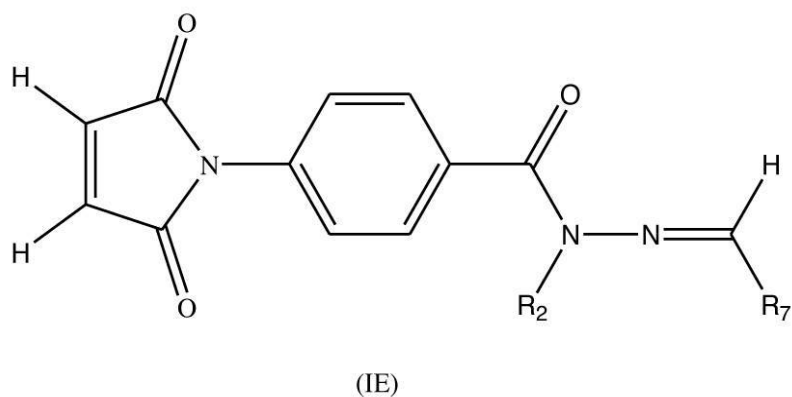
R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される非置換体である、請求項 8 に記載の化合物。

20

【請求項 10】

式 (IE) の化合物であって、

【化 10】



30

式中、 R_2 及び R_7 は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 11】

R_2 は、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

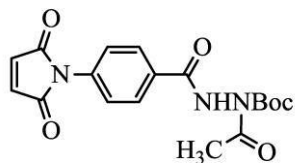
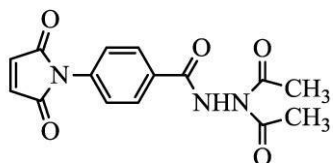
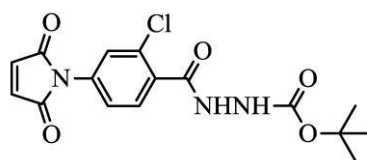
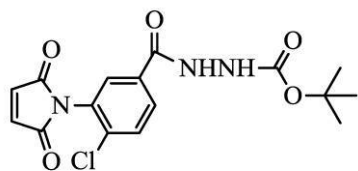
R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される非置換体である、請求項 10 に記載の化合物。

40

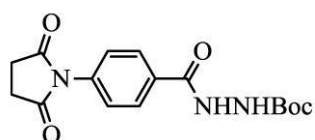
【請求項 12】

下記式から選択される請求項 1 に記載の化合物。

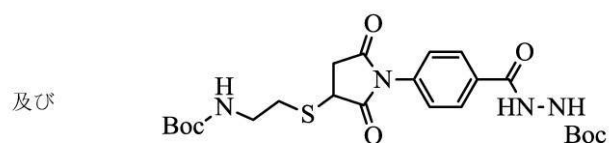
【化 1 1】



10



20

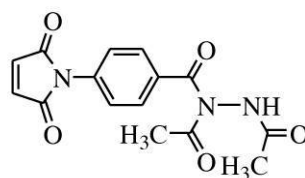
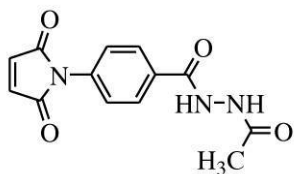
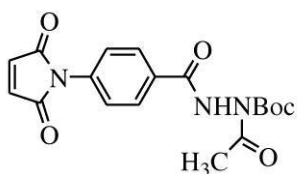
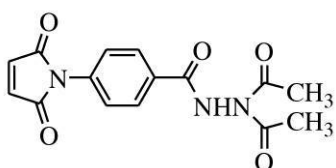


【請求項 1 3】

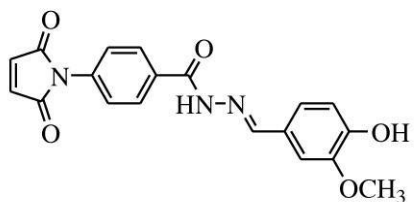
下記式から選択される請求項 1 に記載の化合物。

【化 1 2】

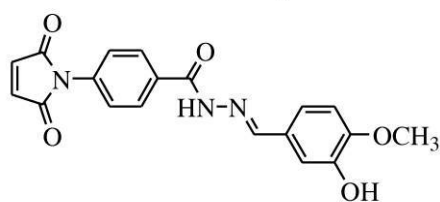
30



40



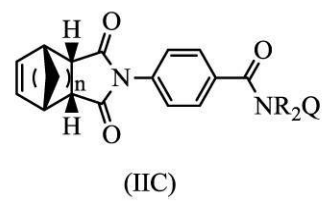
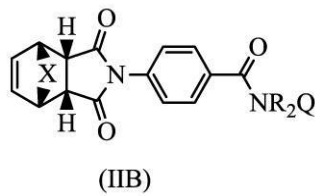
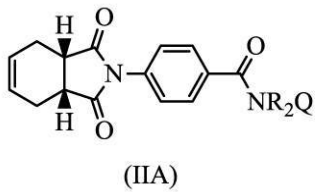
及び



【請求項 1 4】

式 (I I A) 、 (I I B) 又は (I I C) の化合物

【化 1 3】

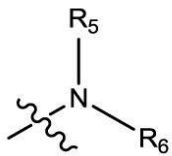


(式中、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

$Q_A =$

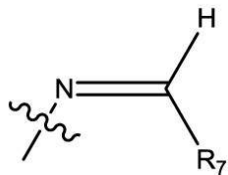
【化 1 4】



であり、

$Q_B =$

【化 1 5】



であり、

R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

X は、O、S 又は NR_2 であり、

n は、1、2 又は 3 であり、

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 1 5】

医薬品に使用するための請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 6】

10

20

30

40

50

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させるのに使用するための請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項17】

乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を治療するのに使用するための請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項18】

抗癌剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項19】

抗炎症剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項20】

抗転移剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項21】

抗増殖剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項22】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を治療するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項23】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させるための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

20

【請求項24】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の癌細胞増殖を阻害するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項25】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の癌腫瘍の増殖及び/又は癌腫瘍の大きさを阻害するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

30

【請求項26】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の癌腫瘍の転移を低減及び/又は予防するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項27】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を治療するための薬剤の製造における請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項28】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させるための薬剤の製造における請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

40

【請求項29】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の癌細胞増殖を阻害するための薬剤の製造における請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項30】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の癌腫瘍の増殖及び/又は癌腫瘍の大きさを阻害するための薬剤の製造における請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

50

【請求項 3 1】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の癌腫瘍の転移を低減及び/又は予防するための薬剤の製造における請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項 3 2】

抗癌剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項 3 3】

抗炎症剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項 3 4】

抗転移剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項 3 5】

抗増殖剤として使用するための請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の使用。

【請求項 3 6】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される癌又は少なくとも1つの癌を治療する方法であって、前記方法が、それを必要とする対象に、請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む方法。

【請求項 3 7】

対象が癌を発症するリスクを低下させる方法又は対象が少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させる方法であって、前記癌が、例えば、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択され、前記方法が、前記対象に、請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む方法。

【請求項 3 8】

癌細胞増殖を阻害する方法であって、前記方法が、それを必要とする対象に、請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む方法。

【請求項 3 9】

癌細胞増殖が、未治療の対象と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%阻害される請求項38に記載の方法。

【請求項 4 0】

癌細胞増殖を阻害する方法であって、前記方法が、癌細胞と、請求項1～14のいずれか一項で定義した少なくとも1つの化合物の有効量とを接触させることを含む方法。

【請求項 4 1】

細胞の相対的なSTAT1活性化が、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低下する請求項40に記載の方法。

【請求項 4 2】

細胞の相対的なSTAT3活性化が、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低下する請求項40又は41に記載の方法。

【請求項 4 3】

細胞のCD40発現が、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%減少する請求項40～42のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

10

20

30

40

50

細胞の M H C - I I 発現が、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 % 又は約 8 0 % 減少する請求項 4 0 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

細胞の N O 産生が、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 % 又は約 8 0 % 低下する請求項 4 0 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

細胞の T N F / N F B 及び / 又は I L 6 / S T A T 3 シグナル伝達経路が、未処理の細胞と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 % 又は約 8 0 % 低減する請求項 4 0 ~ 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 4 7】

細胞の L P S 活性化 N F B シグナル伝達経路が、未処理の細胞と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 % 又は約 8 0 % 低減する請求項 4 0 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

癌腫瘍の増殖及び / 又は癌腫瘍の大きさを阻害する方法であって、前記方法が、それを必要とする対象に、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項で定義した少なくとも 1 つの化合物の有効量を投与することを含む方法。

【請求項 4 9】

20

腫瘍の増殖及び / 又は腫瘍の大きさが、未治療の対象と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 % 又は約 9 0 % 低減する請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

癌腫瘍の転移を低減及び / 又は予防する方法であって、前記方法が、それを必要とする対象に、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項で定義した少なくとも 1 つの化合物の有効量を投与することを含む方法。

【請求項 5 1】

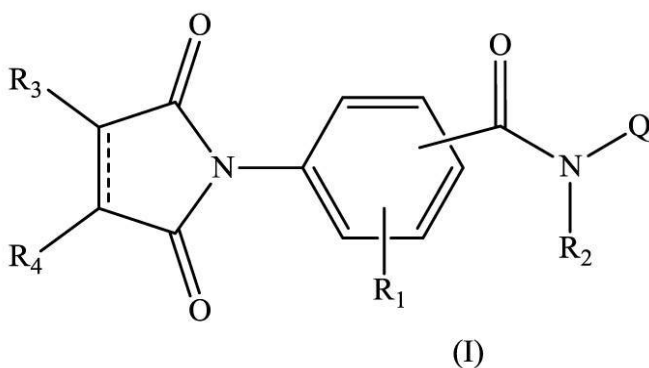
腫瘍転移の数が、未治療の対象と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 % 又は約 9 0 % 減少する請求項 5 0 に記載の方法。

30

【請求項 5 2】

式 (I) の化合物

【化 1 6】



40

(式中、

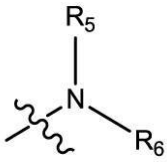
R₁ は、H、アルキル又はハロゲンであり、

R₂ は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

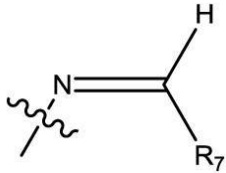
Q は、Q_A 又は Q_B であり、

50

Q_A =
【化 17】



であり、
Q_B =
【化 18】



であり、
【化 19】



10

20

は単結合又は二重結合であり、

R₅ は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R₆ は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R₇ は、C₁ - C₈ アルキル、C₃ - C₈ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

30

R₃ 及び R₄ は、独立して、H、-SR₈ 及び -NR₉R₁₀ から選択されるか、

R₃ 及び R₄ は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R₈ は、H、C₁ - C₈ アルキル、-(CH₂)_nNHBoc 又は -(CH₂)_nNH₂ であり (式中、n = 1 ~ 6 である)、

R₉ は、H 又は C₁ - C₈ アルキルであり、

R₁₀ は、H、C₁ - C₈ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

40

式中、R₂、R₅、R₆ 及び R₇ は、置換されている場合、-OR₉、-F、-Cl、-Br、-I、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、-NO₂、C₁ - C₈ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグであって、

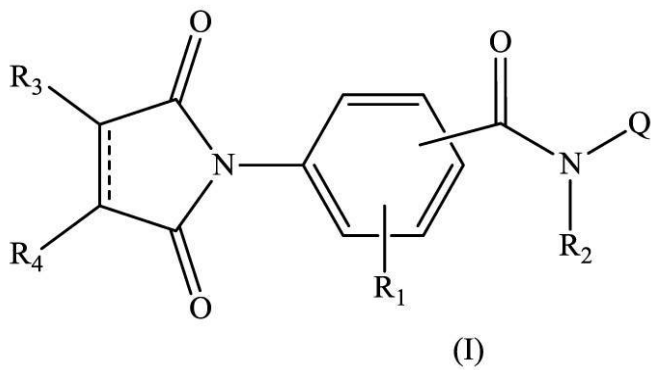
メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも 1 つの癌を治療するのに使用するための式 (I) の化合物又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 53】

50

式 (I) の化合物

【化 2 0】



10

(式中、

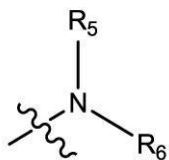
R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、

R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

$Q_A =$

【化 2 1】

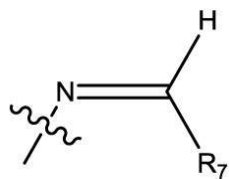


20

であり、

$Q_B =$

【化 2 2】



30

であり、

【化 2 3】



40

は単結合又は二重結合であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は

50

非置換体であり、

R_3 及び R_4 は、独立して、 H 、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、 N 、 S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、 H 、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOc$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、 H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、 H 、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグであって、

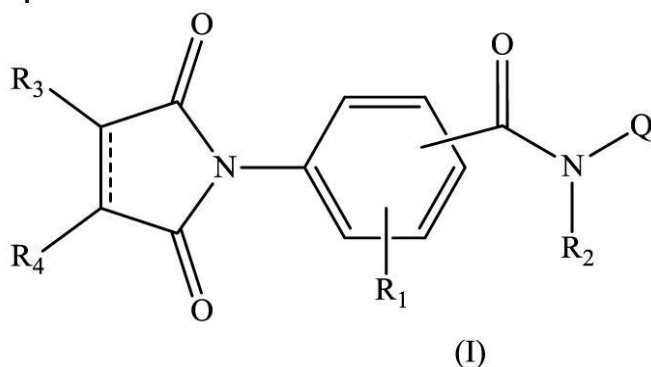
癌細胞増殖を阻害するのに使用され、

癌が、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される、式 (I) の化合物又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 54】

式 (I) の化合物

【化 24】



(式中、

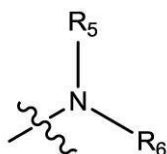
R_1 は、 H 、アルキル又はハロゲンであり、

R_2 は、 H 、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

$Q_A =$

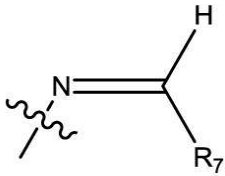
【化 25】



であり、

$Q_B =$

【化 2 6】



であり、

【化 2 7】



10

は単結合又は二重結合であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

20

R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOC$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

30

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグであって、

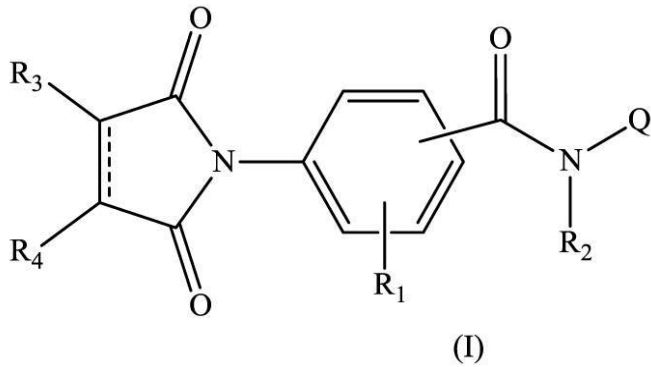
癌腫瘍の増殖及び / 又は癌腫瘍の大きさを阻害するのに使用され、癌が、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される、式 (I) の化合物又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

40

【請求項 55】

式 (I) の化合物

【化 2 8】

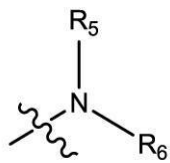


10

(式中、

 R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、 R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、Q は、 Q_A 又は Q_B であり、 $Q_A =$

【化 2 9】

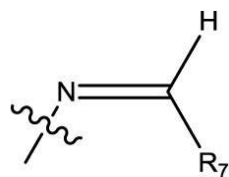


20

であり、

 $Q_B =$

【化 3 0】



30

であり、

【化 3 1】



40

は単結合又は二重結合であり、

 R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

50

R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、
 R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合によ

り含む 5 ~ 7 員環を形成し、
 R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOc$ 又は $-(CH_2)_nNH$

$_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、
 R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリ
 ル又はベンゾイルであり、

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、
 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO$
 $_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選
 択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

10

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩
 、溶媒和物もしくはプロドラッグであって、

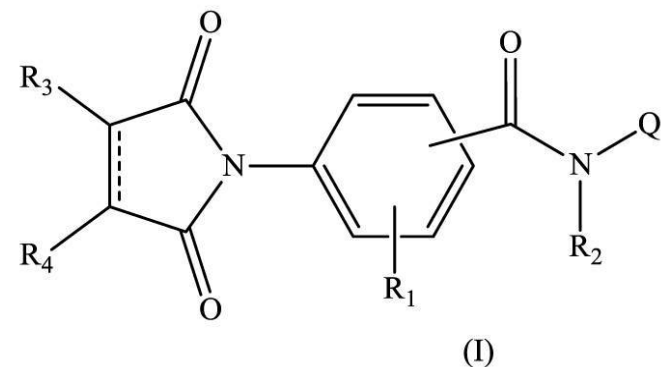
癌腫瘍の転移を低減及び / 又は予防するのに使用され、癌が、メラノーマ、乳癌、子宮
 癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される式 (I) の化合物又はそれらの鏡像異性
 体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロ
 ドラッグ。

【請求項 56】

メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される癌又は少なく
 とも 1 つの癌を治療する方法であって、前記方法が、それを必要とする対象に、式 (I)
 の少なくとも 1 つの化合物

20

【化 32】



30

(式中、

R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、

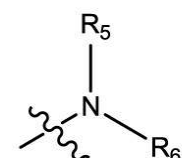
R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルか
 ら選択される置換体もしくは非置換体であり、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

$Q_A =$

40

【化 33】

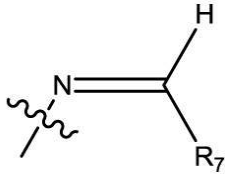


であり、

$Q_B =$

50

【化 3 4】



であり、

【化 3 5】



10

は単結合又は二重結合であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

20

R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOC$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

30

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

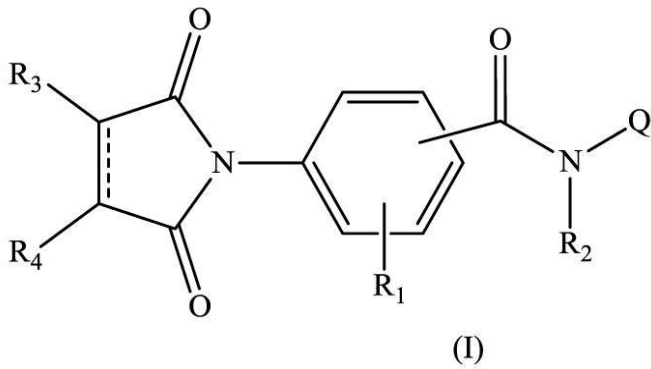
又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの有効量を投与することを含む方法。

【請求項 57】

癌細胞増殖を阻害する方法であって、癌が、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択され、前記方法が、それを必要とする対象に、式 (I) の少なくとも 1 つの化合物

40

【化 3 6】

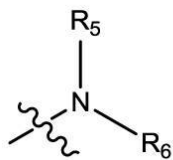


10

(式中、

 R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、 R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、Q は、 Q_A 又は Q_B であり、 $Q_A =$

【化 3 7】

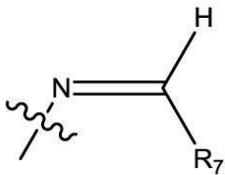


20

であり、

 $Q_B =$

【化 3 8】



30

であり、

【化 3 9】



40

は単結合又は二重結合であり、

 R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、 R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

50

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOc$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

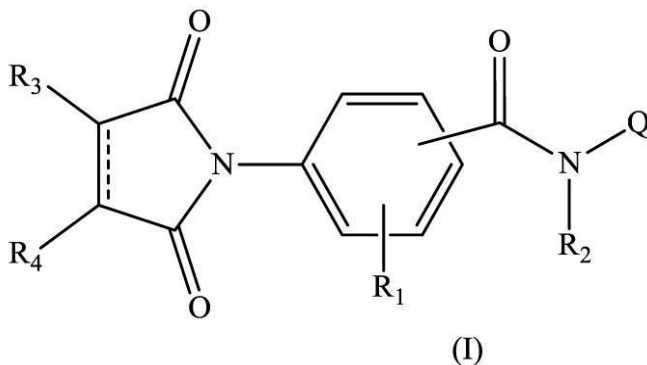
式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの有効量を投与することを含む方法。

【請求項 58】

癌腫瘍の増殖及び / 又は癌腫瘍の大きさを阻害する方法であって、癌が、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択され、前記方法が、それを必要とする対象に、式 (I) の少なくとも 1 つの化合物

【化 40】



(式中、

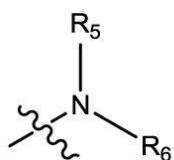
R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、

R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

$Q_A =$

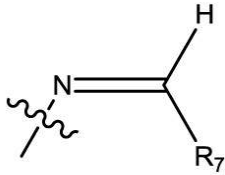
【化 41】



であり、

$Q_B =$

【化 4 2】



であり、

【化 4 3】



10

は単結合又は二重結合であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

20

R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOC$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり（式中、 $n = 1 \sim 6$ である）、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

30

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される）、

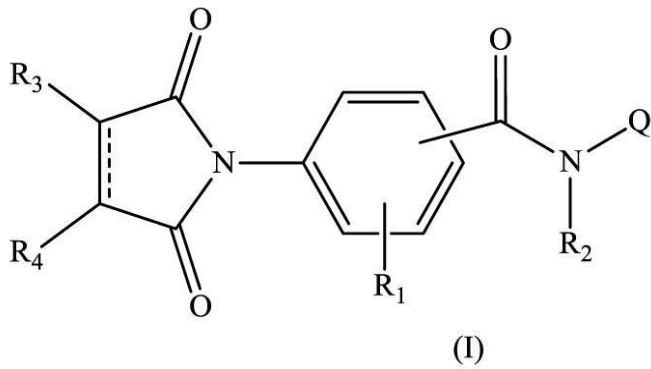
又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの有効量を投与することを含む方法。

【請求項 59】

癌腫瘍の転移を低減及び / 又は予防する方法であって、癌が、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択され、前記方法が、それを必要とする対象に、式 (I) の少なくとも 1 つの化合物

40

【化 4 4】

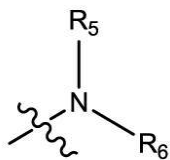


10

(式中、

 R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、 R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、Q は、 Q_A 又は Q_B であり、 $Q_A =$

【化 4 5】

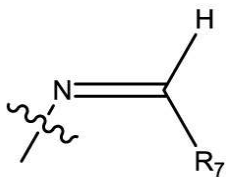


20

であり、

 $Q_B =$

【化 4 6】



30

であり、

【化 4 7】



40

は単結合又は二重結合であり、

 R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、 R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、 R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

50

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBo c$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

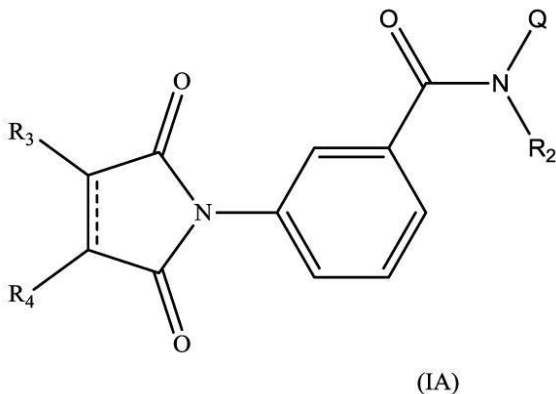
10

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの有効量を投与することを含む方法。

【請求項 60】

化合物が、式 (IA) の化合物であり、

【化 48】



20

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び Q は、請求項 52 ~ 55 のいずれか一項で定義した通りである、請求項 52 ~ 55 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 56 ~ 59 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 61】

請求項 60 に記載の化合物又は方法であって、

R_2 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

Q は Q_A であり、

R_5 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

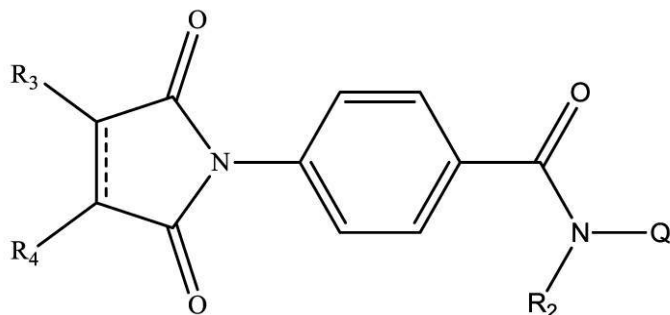
R_6 は、 $Bo c$ 、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である、化合物又は方法。

【請求項 62】

化合物が、式 (IB) の化合物であり、

40

【化 4 9】



(IB)

10

式中、R₂、R₃、R₄及びQは、請求項1で定義した通りである、請求項52～55のいずれか一項に記載の化合物又は請求項56～59のいずれか一項に記載の方法。

【請求項63】

請求項62に記載の化合物又は方法であって、

R₂は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

QはQ_Aであり、

R₅は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

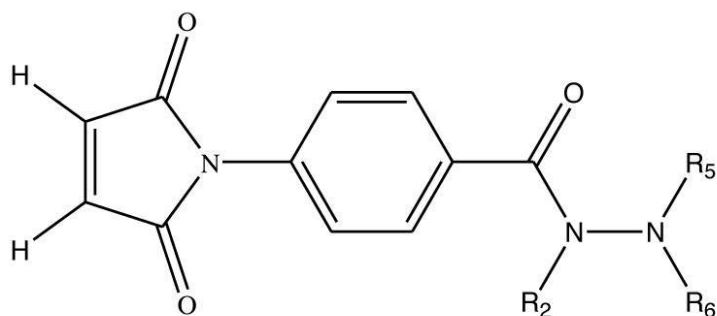
20

R₆は、Boc、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である、化合物又は方法。

【請求項64】

化合物が、式(IC)の化合物であり、

【化 5 0】



(IC)

30

式中、R₂、R₅及びR₆は、請求項1で定義した通りである、請求項52～55のいずれか一項に記載の化合物又は請求項56～59のいずれか一項に記載の方法。

【請求項65】

40

請求項64に記載の化合物又は方法であって、

R₂は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

QはQ_Aであり、

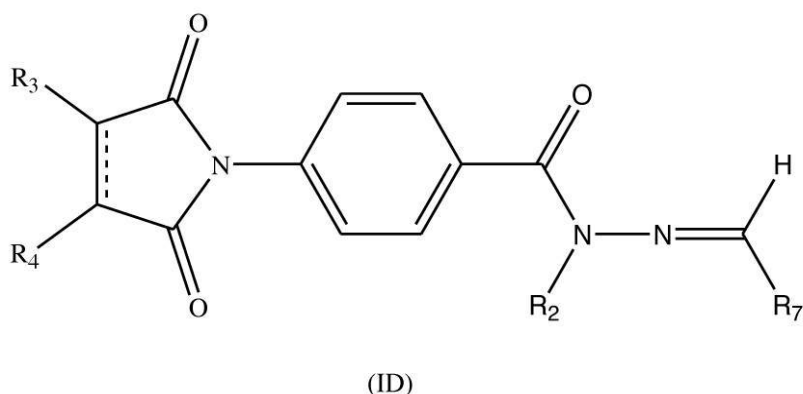
R₅は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

R₆は、Boc、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である、化合物又は方法。

【請求項66】

化合物が、式(ID)の化合物であり、

【化 5 1】



10

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び R_7 は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 5 2 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 5 6 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 7】

請求項 6 6 に記載の化合物又は方法であって、

R_2 は、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

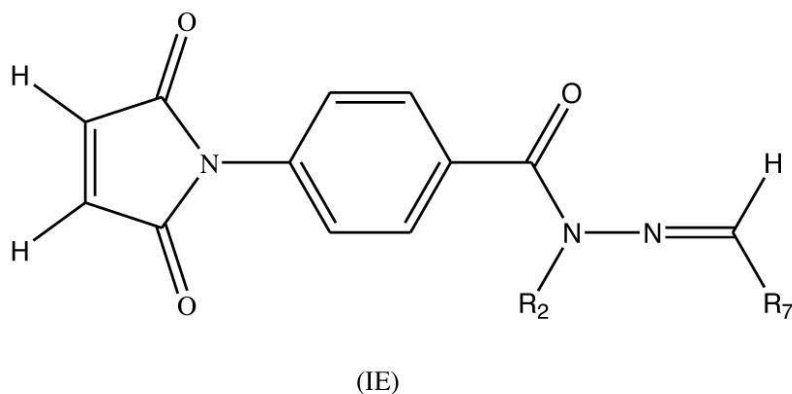
R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される非置換体である、化合物又は方法。

20

【請求項 6 8】

化合物が、式 (IE) の化合物であり、

【化 5 2】



30

式中、 R_2 及び R_7 は、請求項 1 で定義した通りである、請求項 5 2 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 5 6 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 6 9】

請求項 6 8 に記載の化合物又は方法であって、

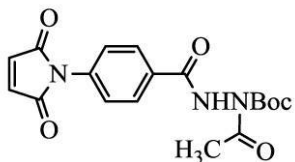
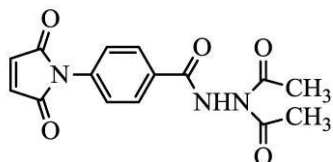
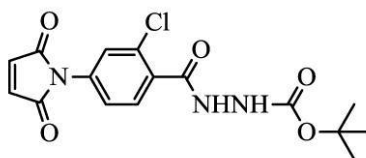
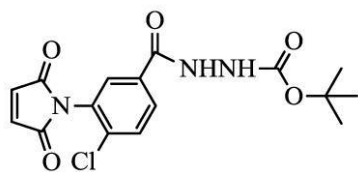
R_2 は、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される非置換体である、化合物又は方法。

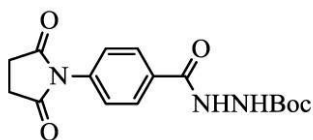
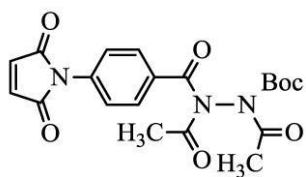
【請求項 7 0】

化合物が、下記式から選択される請求項 5 2 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 5 6 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

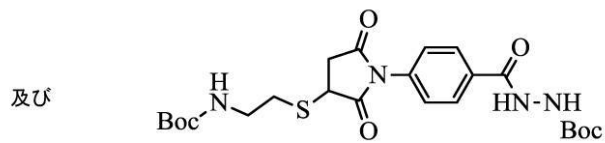
【化 5 3】



10



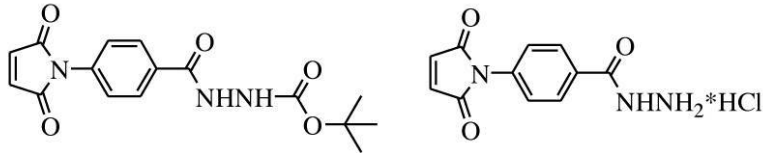
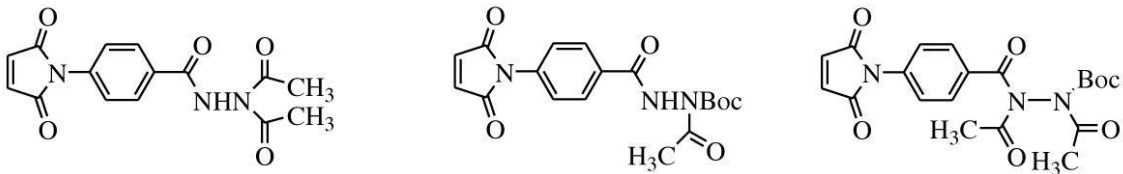
20



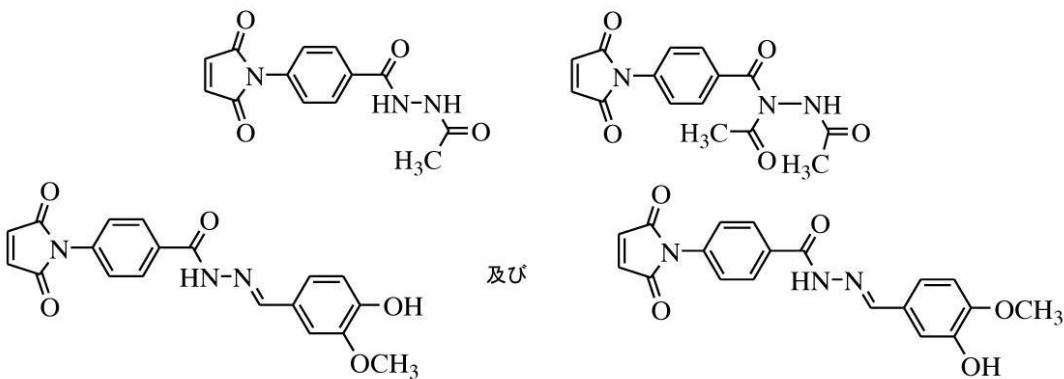
【請求項 7 1】

化合物が、下記式から選択される請求項 5 2 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 5 6 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【化 5 4】



10



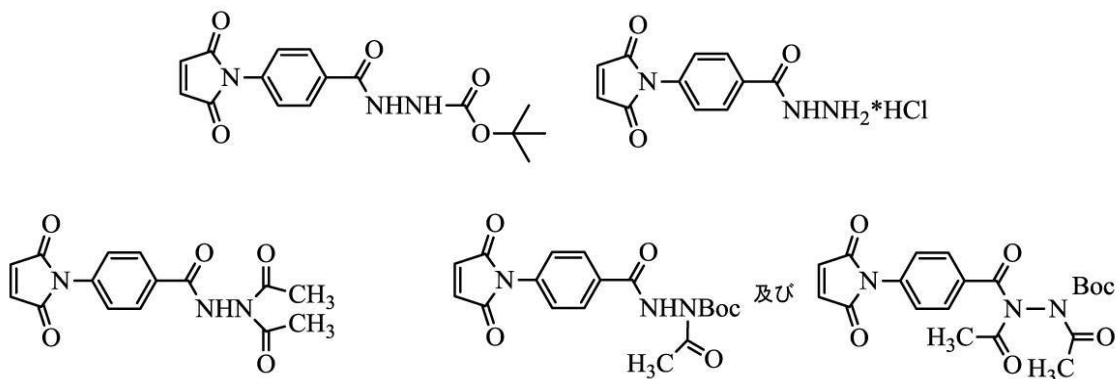
20

【請求項 7 2】

化合物が、下記式から選択される請求項 5 2 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 5 6 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

30

【化 5 5】



40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年4月11日に出願された米国仮特許出願第62/320,654

50

号の優先権を主張し、その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 0 0 2 】

本開示は、活性剤の分野に関する。さらに詳細には、本開示は、抗炎症剤、抗転移剤、抗増殖剤及び抗癌剤に関する。本開示は、これらの薬剤を用いて癌を治療するための方法にも関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 3 】

癌の治療にはいくつかの方法がある¹。最も一般的なものは、手術、化学療法、放射線療法、標的療法、免疫療法である^{1 ~ 6}。その他の処置は、幹細胞移植、光線力学療法及び極低温療法に基づく¹。今日では、レーザーが限局性癌の手術中の有用なツールとなっている。これらの方法の多くは非常に効果的である。しかし、ほとんどの場合、重大な副作用が現れる^{7、8}。したがって、代替的な治療法を発見する必要がある。特に、多様な領域（開始、増殖、転移など）で同時に癌を攻撃することができる化合物及び治療プロトコールは非常に重要である。

10

20

【 0 0 0 4 】

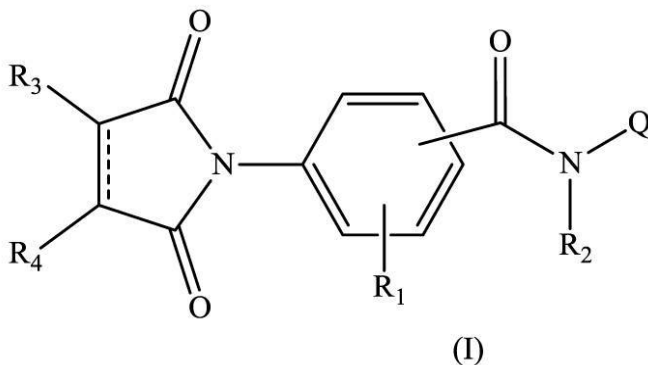
尿路上皮膀胱癌（UBC）は、北アメリカの癌全体のうち第5位に挙げられる悪性腫瘍である。検出可能な腫瘍のほとんどは、最初は筋層非浸潤性であり、一般的には外科的切除によって治療可能であるが、その27 ~ 30%は高い組織学的悪性度及び筋層浸潤を特徴とする致死的な表現型を示す。最近の試験ではまた、UBCの膀胱内治療応答が、主要な炎症細胞（主にマクロファージ）の浸潤及び主要な炎症性メディエーター（サイトカインTNF及びIL6並びに転写因子NF- κ B及びSTAT3を含む）の活性化の影響を受けるという十分な証拠が提供された。UBCの増殖、転移、及び細胞死に対する抵抗性における炎症性メディエーターの重要な機能を考慮すると、炎症性メディエーターが、免疫療法及び化学療法剤の有効性を改善するための潜在的な薬物標的である可能性がある。

【 発明の概要 】

【 0 0 0 5 】

一態様によれば、式（I）の化合物

【 化 1 】



30

40

（式中、

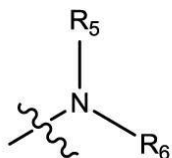
R_1 は、H、アルキル又はハロゲンであり、

R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、

$Q_A =$

【化 2】

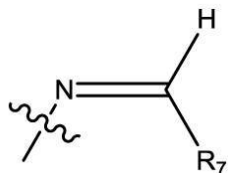


であり、

$Q_B =$

10

【化 3】



であり、

【化 4】

20



は単結合又は二重結合であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

30

R_3 及び R_4 は、独立して、H、 $-SR_8$ 及び $-NR_9R_{10}$ から選択されるか、

R_3 及び R_4 は、互いに接合して、N、S 及び O から選択されるヘテロ原子を場合により含む 5 ~ 7 員環を形成し、

R_8 は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $-(CH_2)_nNHBOC$ 又は $-(CH_2)_nNH_2$ であり (式中、 $n = 1 \sim 6$ である)、

R_9 は、H 又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

R_{10} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル又はベンゾイルであり、

40

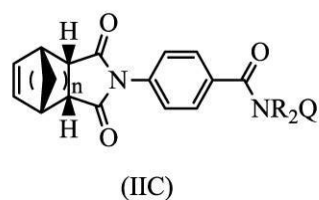
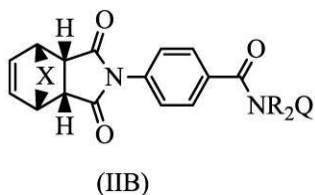
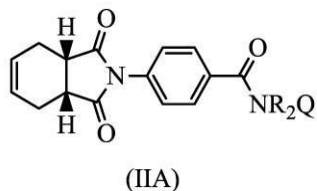
式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも 1 個の置換基で置換される)、

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグが含まれる。

【0006】

別の態様によれば、式 (IIA)、(IIB) もしくは (IIC) の化合物

【化 5】

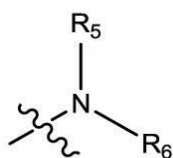


(式 中、

Q は、 Q_A 又は Q_B であり、 $Q_A =$

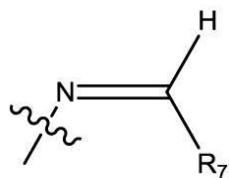
10

【化 6】

 $Q_B =$

【化 7】

20



R_2 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_5 は、H、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

30

R_6 は、H、Boc、又はアセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル及びベンゾイルから選択される置換体もしくは非置換体であり、

R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される置換体又は非置換体であり、

R_9 は、H又は $C_1 - C_8$ アルキルであり、

X は、O、S又は NR_2 であり、

n は、1、2又は3であり、

式中、 R_2 、 R_5 、 R_6 及び R_7 は、置換されている場合、 $-OR_9$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、アセチル、プロピオリル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、 $-NO_2$ 、 $C_1 - C_8$ アルキル、メトキシカルボニル - 又はアルキルオキシカルボニル - から選択される少なくとも1個の置換基で置換される)、

40

又はそれらの鏡像異性体、ジアステレオ異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくはプロドラッグが提供される。

【0007】

別の態様によれば、薬学的に許容される担体及び本開示の少なくとも1つの化合物を含む組成物が含まれる。

【0008】

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択

50

される癌又は少なくとも1つの癌を治療する方法が含まれ、該方法は、それを必要とする対象に、本開示の少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。

【0009】

別の態様によれば、対象が癌を発症するリスクを低下させる方法又は対象が少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させる方法が含まれ、癌は、例えば、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され、該方法は、対象に本開示の少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。

【0010】

別の態様によれば、癌細胞増殖を阻害する方法が含まれ、該方法は、それを必要とする対象に、本開示の少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

10

【0011】

別の態様によれば、癌細胞増殖を阻害する方法が含まれ、該方法は、癌細胞と、本開示の少なくとも1つの化合物の有効量とを接触させることを含む。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

【0012】

別の態様によれば、癌腫瘍の増殖及び/又は癌腫瘍の大きさを阻害する方法が含まれ、該方法は、それを必要とする対象に、本開示の少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

20

【0013】

別の態様によれば、癌腫瘍の転移を低減及び/又は予防する方法が含まれ、該方法は、それを必要とする対象に、本開示の少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

【0014】

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択される癌又は少なくとも1つの癌を治療するために、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。

【0015】

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択される癌又は少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させるために、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。

30

【0016】

別の態様によれば、癌細胞増殖を阻害するために、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

【0017】

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択される少なくとも1つの癌腫瘍の増殖及び/又は癌腫瘍の大きさを阻害するために、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。

40

【0018】

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択される少なくとも1つの癌の癌腫瘍の転移を低減及び/又は予防するために、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。

【0019】

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択される癌又は少なくとも1つの癌を治療するための薬剤の製造に、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。

【0020】

50

別の態様によれば、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択される癌又は少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させるための薬剤の製造に、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。

【0021】

別の態様によれば、癌細胞増殖を阻害するための薬剤の製造に、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

【0022】

別の態様によれば、癌腫瘍の増殖及び/又は癌腫瘍の大きさを阻害するための薬剤の製造に、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

10

【0023】

別の態様によれば、癌腫瘍の転移を低減及び/又は予防するための薬剤の製造に、本開示の少なくとも1つの化合物を使用することが含まれる。例えば、癌は、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌及びメラノーマから選択され得る。

【0024】

以下の図面は、特定の実施形態の例を非限定的に示す。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】図1は、ビヒクル(DMSO)又は化合物4及び5(ともに0、10及び50 μ M)を用いて30分間前処理し、即時($t = 0$)又は50 U/mLのIFN γ もしくは25 ng/mLのIL6のいずれかによる30分間の活性化後に洗浄及び回収したヒトマクロファージ(M ϕ)のリン酸化STAT1及びSTAT3の発現レベルを決定するためのウェスタンブロット分析を示す画像(a)及びグラフ分析(b)を示す。各サンプルの濃度測定分析から、リン酸化されたタンパク質/リン酸化されていないタンパク質の比を計算して、pSTAT1又はpSTAT3の相対活性化を評価した。化合物4及び5は、IFN γ 誘発性のSTAT1活性化及びIL6誘発性のSTAT3活性化を効率的に阻害した。 $* p < 0.05$ 及び $** p < 0.01$ は処理間の有意差を示す。

20

【図2】図2は、未処理並びに化合物4(10 μ M)及び5(25 μ M)を用いて前処理した休止型(resting)ヒトマクロファージ及びIFN γ 活性化ヒトマクロファージのMHC-II及びCD40表面抗原の発現レベルを決定するためのフローサイトメトリ分析を示す画像(a)及びグラフ分析(b)を示す。化合物4及び5は、IFN γ 誘発性のCD40及びMHC-II発現を効率的に阻害した。 $* p < 0.05$ 及び $** p < 0.01$ は処理間の有意差を示す。

30

【図3】図3は、ビヒクル(DMSO)又は化合物4(10 μ M)及び5(25 μ M)を用いて3時間培養し、ビヒクル(PBS)又は25 ng/mLのIL6により48時間活性化させたヒトマクロファージ単層の運動性を決定するためのスクラッチ創傷治癒アッセイを示す画像(a)及びグラフ分析(b)を示す。スクラッチの画像は、蛍光顕微鏡によって $t = 0$ 時間及び $t = 48$ 時間に取得した。それぞれの異なる処理に対して5つの領域を無作為に取得した。観察はいずれも5倍で実施した。細胞運動性は、 $t = 0$ 時間の運動性細胞に対する $t = 48$ 時間の運動性細胞の対照のパーセント(%) (percent (%) of control)として表した。化合物4及び5は、IFN γ 誘発性のSTAT1活性化及びIL6誘発性のSTAT3活性化を効率的に阻害した。 $* p < 0.05$ 及び $** p < 0.01$ は処理間の有意差を示す。

40

【図4】図4は、ビヒクル(DMSO)並びに誘導体4及び5による前処理に続くIFN γ 及びTNFによる炎症誘発性刺激後のマクロファージ様J774A.1細胞におけるNO産生のグラフ表示である。化合物4及び5は、IFN γ /TNFを併用した場合に誘発されるNO合成を効率的に阻害した。 $* p < 0.05$ 及び $** p < 0.01$ は処理間の有意差を示す。

【図5】図5は、ビヒクル(DMSO)並びに誘導体4及び5による前処理に続くIFN γ

50

及びTNFによる炎症誘発性刺激後の齧歯類UBC細胞株MB49-IによるNO産生のグラフ表示である。10及び50 μ Mの化合物4及び5は、IFN/TNFを併用した場合に誘発されるNO合成を効率的に阻害した。 $*p < 0.05$ 及び $**p < 0.01$ は処理間の有意差を示す。

【図6】図6は、ビヒクル(DMSO)並びに異なる濃度の抗炎症性誘導体4及び5による前処理に続くIFN及びTNFによる炎症誘発性刺激後の齧歯類UBC細胞株MB49-Iにみる相対的な細胞生存率のグラフ表示である。化合物4及び5は、低用量(10、25及び37.5 μ M)では、MB49-I細胞に対するIFN+TNF併用の抗増殖活性にほとんど又は全く影響を及ぼさなかった。 $*p < 0.05$ は、IFN+TNF併用及び化合物4又は5による処理と、IFN+TNF併用のみによる処理との間の有意差を示す。

【図7】図7は、異なる濃度(0、10、15、20、30及び50 μ M)でビヒクル(DMSO)又は化合物4のいずれかをを用いた処理(3時間)後24時間のMB49及びMB49-I細胞株にみる相対的な細胞生存率を示す。細胞生存率に対する化合物4の負の効果は、UBC MB49又はMB49-I細胞の細胞死の増加に起因するのではなく、むしろ細胞増殖の停止によるものであろう。 $*p < 0.05$ は、対照(化合物4なし)と比較した有意差を示す。

【図8】図8は、(a)化合物4が10 μ Mの低用量で、齧歯類UBC MB49-I細胞のTNF/NF κ B及びIL6/STAT3シグナル伝達経路を効率的に阻害したウェスタンブロット分析と、(b)50 μ Mの化合物4が、NF κ B活性化を効率的に阻害したルシフェラーゼアッセイとを示す。CMVプロモーター、及びNF κ B転写応答エレメントのタンデム反復の制御下で、MB49-I細胞に、ホタルルシフェラーゼレポーター遺伝子をコードするNF κ B応答性ルシフェラーゼ構築物をトランスフェクトした。 $*p < 0.01$ は、対照と比較した有意差を示す。

【図9】図9は、(a)化合物4が、M1誘発性のヒトUBC T24細胞浸潤(Bodyチャンバー内のマトリゲル)を効率的に阻害した微小浸潤アッセイと、(b)30 μ Mの化合物4が、ヒトUBC T24細胞のIL6誘発性の運動性を効率的に阻害した(スクラッチアッセイ)運動性アッセイとを示す。 $*p < 0.05$ は、対照(M1 DMSO)と比較した有意差を示す。

【図10】図10は、30 μ Mの化合物4が、高度に浸潤性のヒト乳癌細胞株であるMDA-MB-241細胞の浸潤活性を効率的に阻害し、化合物4の抗浸潤効果が細胞特異的ではないことを実証する3Dスフェロイドベースの腫瘍浸潤アッセイの細胞分析を示す。 $*p < 0.01$ は、0日目と比較した有意差を示す。

【図11】図11は、3週間にわたり、C57BL/6Jマウス($n = 4$)に、異なる濃度(0、90、150及び300 μ M)で化合物4を一時的に腹腔内(i.p.)注入した急性毒性試験を示す。処理は、正常な発達及び生存率(a)並びに臓器重量(b)及びヘマトクリット(c)に明白な影響を及ぼさない。

【図12】図12は、3週間にわたり、異なる濃度(0、90、150及び300 μ M)で化合物4を定期的に腹腔内注入した処理終了時のC57BL/6Jマウスの肝組織学的分析を示す画像を示す。処理は、高用量であっても、肝細胞障害、炎症、線維症及び脂肪肝などの肝機能障害の特徴を誘発しない(ヘマトキシリン及びエオシン、100倍及び400倍)。これらの結果は、抗炎症処理由来の毒性の証拠を示さず、これらのマウスでは、化合物4の300 μ Mまでの濃度で耐容性が良好であったことを示した。

【図13】図13は、右側腹部に異所移植したMB49-I腫瘍を有するC57BL/6J雄マウス($n = 6$)に、異なる濃度(0、90及び150 μ M)で化合物4を一時的に腹腔内注入した場合の効果を示すインビボ標的化試験を示す。150 μ Mでの処理は、マウスに皮下移植されたMB49-I細胞の腫瘍進行に有意に影響を及ぼす。対照と比較して $*p < 0.01$ 。

【図14】図14は、異所移植したMB49-I腫瘍を有するC57BL/6J雄マウス($n = 6$)に、異なる濃度(0、90及び150 μ M)で化合物4を一時的に腹腔内注入

10

20

30

40

50

した場合の抗転移効果を示す。150 μ Mでの処理は、皮下移植されたMB49-I腫瘍の大きさ(a)及び肺転移の数(b)を有意に減少させる。肺標本の組織学的検査は、対照マウスの肺では、MB49-I腫瘍細胞浸潤が多巣性の線維化病変を誘発したが(矢印によって示される)、150 μ Mの化合物4を用いて処理されたマウスの肺では、転移病巣及び十分に胞状化した(well-alveolized)正常組織は認められなかったことを実証した。対照と比較して* $p < 0.01$ 。

【図15】図15は、膀胱に同所移植されたMB49-I腫瘍を有するC57BL/6J雌マウス(n=6)に、化合物4を一時的に腹腔内注入した場合の効果を示すインビボ標的化試験を示す。(a)週齢をマッチさせた正常マウスから得られた膀胱と、対照(Ctl)腫瘍移植マウス及び処理された腫瘍移植マウスから試験終了時(腫瘍移植後16日目)に外科的に回収された膀胱との画像を示す。(b)2週間にわたり週2回150 μ Mの化合物4を腹腔内注入したところ、筋層浸潤性MB49-I腫瘍の発現が完全に消失したことを示すグラフ表示(n=6)。対照と比較して* $p < 0.05$ 。

【図16】図16は、MB49及びMB49-I細胞によるiNOSタンパク質(a)及びNO分子(b)の産生に対する炎症誘発性IL6及びTNFの調節効果を示す。これらの結果は、筋層非浸潤性UBC MB49細胞が、TNFに应答して高浸潤性MB49-I細胞よりも低値のiNOS及びNOを産生するが、IL6には应答しないことを示した。これらの結果は、炎症経路TNF/NF κ Bを介したNO産生が、インビボでMB49-I腫瘍進行にとって許容される環境を提供し得るという考えを強く裏付ける。対照と比較して* $p < 0.01$ 。

【図17】図17は、shRNAによる基礎的及びTNF誘発性のiNOS発現(a)並びにNO産生(b)の喪失が、C57BL/6J雌マウスの膀胱に異所移植されたルシフェラーゼ発現MB49-I腫瘍の進行(c)に影響を及ぼすことを示すインビボ試験を示す。これらの結果は、C57BL/6Jマウスでは、MB49-I腫瘍の進行が、機能的なiNOS/NO系の存在にほぼ確実に大きく左右されることを強く示唆する。対照と比較して* $p < 0.01$ 。

【図18】図18は、右側腹部に異所移植した筋層非浸潤性MB49腫瘍を有するC57BL/6J雄マウス(n=6)に、異なる濃度(0、90及び150 μ M)で化合物4を一時的に腹腔内注入した場合の効果を示すインビボ標的化試験を示す。90及び150 μ Mでの処理は、皮下移植されたMB49腫瘍の大きさを有意に減少させる。これらの結果は、化合物4が、非常に低値のiNOSタンパク質及びNO分子を産生するUBC腫瘍の進行を停止させるのにきわめて有効であることを示した。対照と比較して* $p < 0.001$ 。

【図19】図19は、C57BL/6J雄マウスに異所移植したMB49腫瘍のインビボ処理標的化後の腹腔マクロファージに対する化合物4の抗炎症効果を示す。90及び150 μ Mでの処理は、腹腔マクロファージのNO産生(a)並びに尿素合成及び放出(b)を有意に減少させる。試験終了時(腫瘍移植後26日目)に腹腔マクロファージを回収した。炎症誘発性M1マクロファージへの分極化は、iNOS活性によるNO産生を特徴とし、アルギナーゼ-1活性による尿素合成は、抗炎症M2マクロファージへの分極化に関連する。これらの結果は、化合物4を用いた膀胱腫瘍のインビボ処理標的化が、正常な腸管マクロファージに通常観察されるプロセスである「炎症性アネルギー」状態の誘導をほぼ確実に介して、マウスのマクロファージ分極化に直接影響を及ぼすことを強く示唆する。* $p < 0.05$ 及び ** $p < 0.01$ は、処理間の有意差を示す。

【図20】図20は、化合物4の抗炎症活性に関する構造-機能関係試験を示す。(a)化合物4及び12の化学構造。(b)ビヒクル(DMSO)並びに化合物4(30 μ M)及び異なる濃度(10、20、37.5及び50 μ M)の化合物12を用いて前処理した後のMB49-I細胞のLPS/IFN誘発性のNO産生のグラフ表示。化合物12は、高濃度であってもLPS/IFN誘発性のNO合成に影響を及ぼさない。これらの結果は、分子の左部分の複素環の二重結合が、マクロファージ及び腫瘍細胞によるNO産生に対する化合物4の阻害効果にとって重要であることを示した。* $p < 0.01$ は、陽性

10

20

30

40

50

対照 (DMSO + LPS / IFN) と比較した有意差を示す。

【図 2 1】図 2 1 は、MB 4 9 - I 細胞の NO 産生に対する化合物 4、8、1 0 及び 1 1 の比較効果を示す。(a) 化合物 4、8、1 0 及び 1 1 の化学構造。(b) ビヒクル (DMSO) 並びに 2 0 及び 3 7 . 5 μ M の化合物 4、8、1 0 及び 1 1 を用いて前処理した後の MB 4 9 - I 細胞の IFN / LPS 誘発性の NO 産生のグラフ表示。これらの結果は、同じ濃度 (2 0 及び 3 7 . 5 μ M) では、化合物 8 の方が化合物 4 よりも NO 産生を阻害するのに有効であることを示した。* $p < 0 . 0 5$ 及び ** $p < 0 . 0 1$ は処理間の有意差を示す。

【図 2 2】図 2 2 は、ビヒクル (DMSO) 又は化合物 4、8、1 0 及び 1 1 (2 0 及び 3 7 . 5 μ M) を用いて 9 0 分間前処理し、5 n g / m L の IFN による 1 5 分間の活性化後に洗浄及び回収した齧歯類マクロファージ (RAW 2 6 4 . 7 細胞) のリン酸化 STAT 1 の発現レベルを決定するためのウェスタンブロット分析を示す画像 (a) 及びグラフ分析 (b) を示す。各サンプルの濃度測定分析から p - STAT 1 / STAT 1 の比を計算して、転写因子 STAT 1 の相対活性化を評価した。これらの結果は、RAW 2 6 4 . 7 細胞の IFN 活性化 STAT 1 シグナル伝達経路を阻害するのに、化合物 8 が他の化合物よりも有効であることを示した。* $p < 0 . 0 5$ 及び ** $p < 0 . 0 1$ は処理間の有意差を示す。

【図 2 3】図 2 3 は、ビヒクル (DMSO) 又は化合物 4、8、1 0 及び 1 1 (2 0 及び 3 7 . 5 μ M) を用いて 9 0 分間前処理し、1 0 0 n g / m L の LPS による 1 5 分間の活性化後に洗浄及び回収した齧歯類マクロファージ (RAW 2 6 4 . 7 細胞) のリン酸化 I κ B の発現レベルを決定するためのウェスタンブロット分析を示す画像 (a) 及びグラフ分析 (b) を示す。各サンプルの濃度測定分析から p - I κ B / I κ B の比を計算して、転写因子 NF κ B の負の調節因子である I κ B タンパク質の相対不活性化を評価した。これらの結果は、RAW 2 6 4 . 7 細胞の LPS 活性化 NF κ B シグナル伝達経路を阻害するのに、化合物がいずれも有効であることを示した。* $p < 0 . 0 5$ 及び ** $p < 0 . 0 1$ は処理間の有意差を示す。

【図 2 4】図 2 4 は、齧歯類 UBC MB 4 9 - I 細胞 (a)、齧歯類マクロファージ RAW 2 6 4 . 7 細胞 (b) 及びヒトマクロファージ THP - 1 細胞 (c) の細胞生存率に対する化合物 4 及び 8 の比較効果を示す画像及びグラフ分析を示す。ビヒクル (DMSO) 並びに異なる濃度の化合物 4 及び 8 を用いて細胞を 9 0 分間前処理し、次いで、2 4 時間のインキュベーション後に洗浄及び計数して、生細胞の数を評価した。これらの結果は、化合物 8 の細胞毒性効果が化合物 4 よりも低いことを実証した。* $p < 0 . 0 5$ は、処理間の有意差を示す。

【図 2 5】図 2 5 は、C 5 7 B 1 / 6 J 雄マウスに異所移植した MB 4 9 - I 腫瘍の進行に対する化合物 4 及び 8 の比較抗癌活性を示す。インビボ標的化試験は、同じ濃度 (1 5 0 μ M) では、筋層浸潤性 MB 4 9 - I 腫瘍 (n = 6) の腫瘍体積を減少させるのに、化合物 4 よりも、1 8 日間に化合物 8 を一時的に腹腔内注入する方が有効であることを示した。試験終了時 (腫瘍移植後 2 0 日目) に腫瘍を外科的に回収した。これらの結果は、化合物 8 の方が化合物 4 よりも高浸潤性 MB 4 9 - I 腫瘍の進行を阻害するのに有効であることを示した。* $p < 0 . 0 5$ 及び ** $p < 0 . 0 1$ は、処理間の有意差を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 2 6】

本開示は、インビトロ及びインビボで抗炎症、抗転移、抗増殖及び抗癌特性を示す小さなアミノ安息香酸誘導体の発見に関する。本開示は、容易に入手できるオルト、メタ及びパラ安息香酸からこれらの誘導体を作製するための合成方法並びにいくつかのタイプの癌の治療のためのそれらの生物学的適用を記載する。さらに、本開示は、これらの化合物を含む様々な医薬組成物に関する。本開示の化合物及び医薬組成物は、様々なタイプの癌に対して抗癌活性を有することが示されている。さらに、本開示は、癌に対する新規の治療法を提供する。これらの化合物の独特な生物学的特性は、乳癌、前立腺癌、卵巣癌及び膀胱癌を含むがこれらに限定されない癌に対して抗癌活性を有する化合物を提供するために

、有利に使用され得る。

【0027】

用語、本開示の化合物の「治療有効量」、「有効量」又は「十分量」とは、哺乳動物、例えばヒトを含む対象に投与された場合に、臨床結果を含む有益な又は望ましい結果をもたらすのに十分な量であり、そのような「有効量」又はその同義語は、それが適用される状況に応じて決まる。例えば、癌を治療する状況では、例えば、化合物を投与することなく得られる応答と比較して、癌のそのような治療を達成するのに十分な化合物の量である。有効量に相当する本開示の所与の化合物の量は、様々な因子、例えば、所与の薬物又は化合物、医薬製剤、投与経路、疾患又は障害のタイプ、治療される対象又は宿主の固有性などに応じて変化するが、それにもかかわらず、当業者によって常套的に決定され得る。また、本明細書で使用される場合、本開示の化合物の「治療有効量」、「有効量」又は「十分量」とは、対照と比較して、対象の癌を（例えば、臨床症状又は癌細胞の量により決定されるように）阻害、抑制又は低減する量である。

10

【0028】

本明細書で使用される場合、用語「対象」は、ヒトを含む動物界の全構成員を含む。一実施形態によれば、対象はヒトである。

【0029】

本明細書で使用される場合、用語「アルキル」は、1～n個の炭素原子を含む直鎖及び／又は分岐鎖の飽和アルキル基を意味し、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、s-ブチル、イソブチル、t-ブチル、2,2-ジメチルブチル、n-ペンチル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、4-メチルペンチル、n-ヘキシルなどを（nの固有性に応じて）含み、ここでnは基中の炭素原子の最大数である。

20

【0030】

本明細書で使用される場合、「天然に存在するアミノ酸のアルキル成分」という表現は、アミノ酸のカルボニル基の炭素とアミノ酸の窒素原子との間に含まれる天然に存在するアミノ酸の部分を目指す。

【0031】

本明細書で使用される場合、「本開示の化合物」という表現は、本開示に提示される式I、IA、IB、IC、ID、IE、IIA、IIB及びIICの化合物、その異性体、例えば、立体異性体（例えば、ラセミ混合物を含む鏡像異性体、ジアステレオ異性体）もしくは互変異性体、又はこれらの化合物の薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物及び／又はプロドラッグ、これらの後者の化合物の異性体もしくはこれらの後者の化合物のラセミ混合物を指す。「本開示の化合物」という表現はまた、本段落で言及した様々な化合物又は変異体の混合物を指す。

30

【0032】

本明細書で使用される場合、用語「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブロモ及びヨードを含む。

【0033】

本開示が、本明細書に記載される化合物の異性体、ラセミ混合物、薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物及びプロドラッグ並びにそのような化合物のうち2つ以上を含む混合物を含むことは明らかである。

40

【0034】

本開示の化合物は、少なくとも1つの不斉中心を有してもよい。本明細書の化合物が2つ以上の不斉中心を有する場合、それらはジアステレオマーとして存在してもよい。そのような異性体及び任意の割合のそれらの混合物のいずれもが、本開示の範囲内に包含されることが理解されるべきである。本開示の化合物の立体化学は、本明細書に列挙されるいずれかの所与の化合物に規定される通りであり得るが、本開示のそのような化合物はまた、代替の立体化学を有するある量（例えば、30%未満、20%未満、10%未満又は5%未満）の本発明の化合物を含んでもよい。

【0035】

50

例えば「好適な対アニオン」又は「好適な反応条件」などの「好適な」という用語は、特定の基又は条件の選択が、実施される特定の合成操作と、分子の固有性とに応じて決まり得るが、この選択が、当業者の技能の範囲内に十分に入り得ることを意味する。本明細書に記載されるプロセス工程はいずれも、示される製品を提供するのに適した条件下で実施されるべきである。当業者であれば、例えば、反応溶媒、反応時間、反応温度、反応圧力、反応物質比、及び反応を無水又は不活性雰囲気下で実施すべきかどうかなどのあらゆる反応条件は、所望の生成物の収率を最適化するために変化し得、それを行うのは当業者の技能の範囲内であることを理解するであろう。

【0036】

「薬学的に許容される」という表現は、動物又はヒトなどの対象の治療に適合することを意味する。

10

【0037】

「薬学的に許容される塩」という表現は、動物又はヒトなどの対象の治療に適しているか、それに適合する酸付加塩又は塩基付加塩を意味する。

【0038】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される酸付加塩」という表現は、本開示のいずれかの化合物の任意の非毒性の有機塩もしくは無機塩又はその中間体のいずれかを意味する。好適な塩を形成する無機酸の例には、塩酸、臭化水素酸、硫酸及びリン酸、並びに金属塩、例えば、オルトリン酸一水素ナトリウム (sodium monohydrogen orthophosphate) 及び硫酸水素カリウムが挙げられる。好適な塩を形成する有機酸の例には、モノ、ジ及びトリカルボン酸、例えば、グリコール酸、乳酸、ピルビン酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、マレイン酸、安息香酸、フェニル酢酸、桂皮酸及びサリチル酸、並びにスルホン酸、例えばパラトルエンスルホン酸及びメタンスルホン酸が挙げられる。モノ又はジ酸塩のいずれかが形成され得、そのような塩は、水和、溶媒和又は実質的に無水形態で存在してもよい。一般に、本開示の化合物の酸付加塩は、水及び様々な親水性有機溶媒に比較的可溶性であり、一般に、それらの遊離塩基形態よりも高い融点を示す。適切な塩の選択は、当業者に公知である。他の薬学的に許容されない塩、例えば、シュウ酸塩は、例えば、本開示の化合物の単離、実験室での使用、又はその後の薬学的に許容される酸付加塩への変換に使用されてもよい。本開示の実施形態では、薬学的に許容される酸付加塩は、塩酸塩である。

20

30

【0039】

本明細書で使用される場合、用語「薬学的に許容される塩基付加塩」は、本開示のいずれかの酸化合物の任意の非毒性の有機もしくは無機塩基付加塩又はその中間体のいずれかを意味する。塩基付加塩を形成してもよい本開示の酸性化合物には、例えばRがCO₂Hであるものが挙げられる。好適な塩を形成する無機塩基の例には、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム又は水酸化バリウムが挙げられる。好適な塩を形成する有機塩基の例には、脂肪族、脂環式又は芳香族有機アミン、例えばメチルアミン、トリメチルアミン及びピコリン又はアンモニアが挙げられる。適切な塩の選択は、当業者に公知である。他の薬学的に許容されない塩基付加塩は、例えば、本開示の化合物の単離、実験室での使用、又はその後の薬学的に許容される酸付加塩への変換に使用されてもよい。

40

【0040】

所望の化合物塩の形成は、標準的な技術を用いて達成される。例えば、好適な溶媒中で酸又は塩基を用いて中性化合物を処理し、濾過、抽出又は他の好適な方法によって、形成された塩を単離する。

【0041】

本明細書で使用される場合、用語「溶媒和物」は、好適な溶媒の分子が結晶格子に組み込まれている本開示の化合物を意味する。好適な溶媒は、投与される投与量で生理学的に許容可能である。好適な溶媒の例は、エタノール、水などである。水が溶媒である場合、

50

その分子は「水和物」と呼ばれる。本開示の化合物の溶媒和物の形成は、化合物及び溶媒和物に応じて変化する。一般に、溶媒和物は、適切な溶媒に化合物を溶解させ、冷却するか逆溶剤を用いて溶媒和物を単離することによって形成される。溶媒和物は、典型的には周囲条件下で乾燥又は共沸させる。

【0042】

本開示の化合物は、プロドラッグを含む。一般に、このようなプロドラッグは、それが概念的に由来する化合物にインビボで容易に変換可能な、これらの化合物の官能性誘導体である。本開示の化合物のプロドラッグは、利用可能なヒドロキシ又はアミノ基によって形成された従来のエステルであってよい。例えば、本開示の化合物中の利用可能なOH又は窒素は、塩基の存在下、場合により不活性溶媒（例えばピリジン中の酸塩化物）中で活性化酸を用いてアシル化されてもよい。プロドラッグとして利用されているいくつかの一般的なエステルは、フェニルエステル、脂肪族（ $C_8 - C_{24}$ ）エステル、アシルオキシメチルエステル、カルバメート及びアミノ酸エステルである。特定の例では、本開示の化合物のプロドラッグは、化合物中のヒドロキシ基のうち1つ以上が、インビボでヒドロキシ基に変換され得る基としてマスクされているものである。好適なプロドラッグの選択及び調製のための従来の手順は、例えば、H. Bundgaard, Elsevierにより編集された「Design of Prodrugs」（1985）に記載されている。

10

【0043】

本開示の化合物は、放射性標識された形態、例えば、構造 2H 、 3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 内に組み込むことによって標識された化合物、又は放射性ハロゲン、例えば ^{125}I を含む。本開示の化合物の放射性標識化合物は、当業界で公知の標準的な方法を用いて調製されてもよい。

20

【0044】

本明細書で使用される場合、当業界で十分に理解されるように、「治療（treatment）」又は「治療する（treating）」は、臨床結果を含む有益な又は望ましい結果を得るための手法である。有益な又は望ましい臨床結果には、限定するものではないが、検出可能であるか検出不可能であるかにかかわらず、1つ以上の症状又は病態の緩和又は改善、疾患の程度の低下、疾患の状態の安定化（すなわち悪化しない）、疾患の広がりやの予防、疾患の進行の遅延又は遅滞、疾患の状態の改善又は緩和、及び（部分的又は全体的であるかにかかわらず）寛解が含まれ得る。「治療」又は「治療する」はまた、治療を受けていない場合に予測される生存期間と比較して、生存期間を延ばすことを意味し得る。

30

【0045】

疾患又は障害を「緩和する」とは、障害を治療しない場合と比較して、障害又は疾患状態の程度及び/又は望ましくない臨床症状が軽減され、及び/又は進行の時間的経過が遅くなるか、延びることを意味する。

【0046】

本開示の範囲を理解する上で、本明細書で使用される場合、用語「含む（comprising）」及びその派生語は、記載された特徴、要素、構成要素、群、整数及び/又は工程の存在を特定する非限定的な用語であることが意図されているが、他の記載されていない特徴、要素、構成要素、群、整数及び/又は工程の存在を排除するものではない。前述のものは、「含む（including）」、「有する（having）」及びそれらの派生語などの類似の意味を有する単語にも適用される。最後に、本明細書で使用される場合、「実質的に（substantially）」、「約（about）」及び「約（approximately）」などの程度に関する用語は、最終結果が大きく変化しないように、修飾された用語の妥当な逸脱量を意味する。程度に関するこれらの用語は、この逸脱が修飾する単語の意味を否定し得ない場合には、修飾された用語の少なくとも±5%の逸脱を含むと解釈されるべきである。

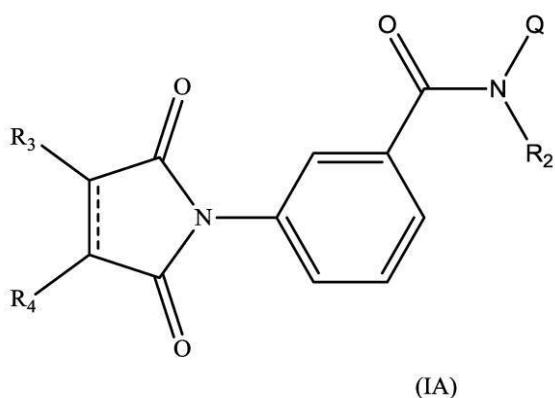
40

【0047】

50

本開示の一実施形態では、式 (I A) の化合物が含まれる。

【化 8】



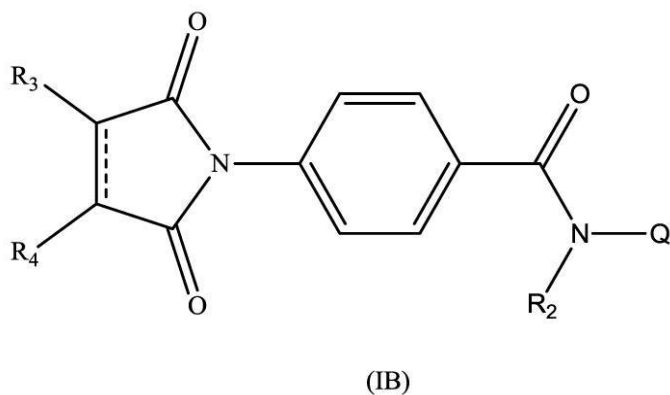
10

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び Q は先に定義した通りである。

【 0 0 4 8 】

本開示の別の実施形態では、式 (I B) の化合物が含まれる。

【化 9】



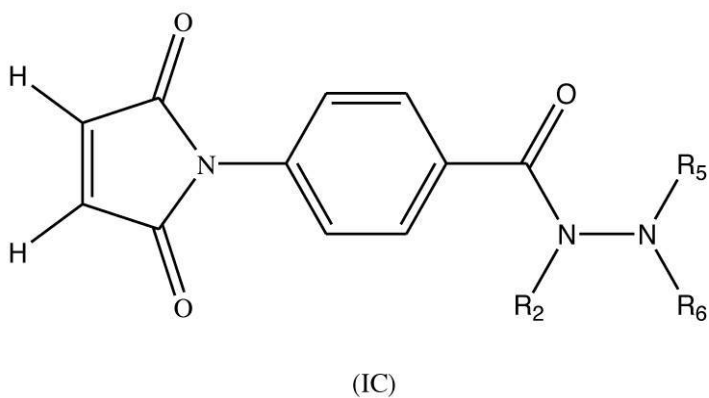
20

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び Q は先に定義した通りである。

【 0 0 4 9 】

本開示のさらなる実施形態では、式 (I C) の化合物が含まれる。

【化 1 0】



40

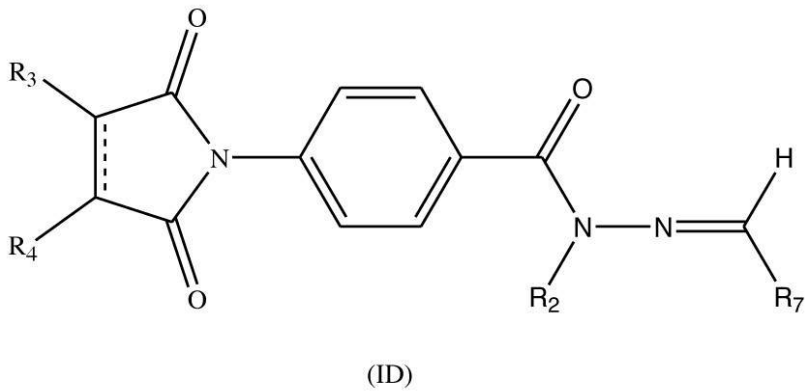
式中、 R_2 、 R_5 及び R_6 は先に定義した通りである。

【 0 0 5 0 】

本開示のなおさらなる実施形態では、式 (I D) の化合物が含まれる。

50

【化 1 1】



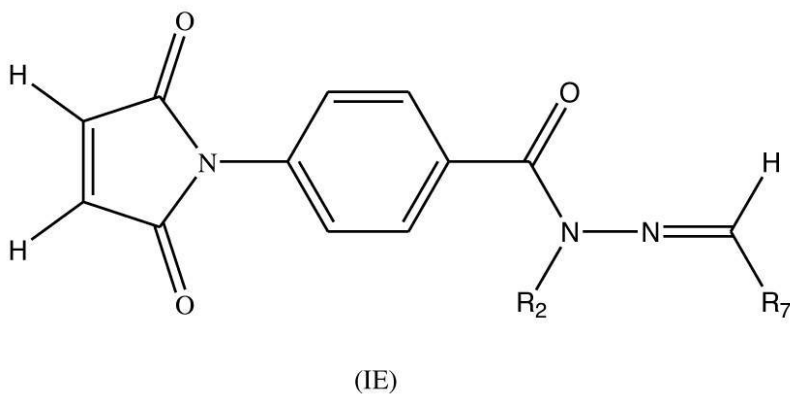
10

式中、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び R_7 は先に定義した通りである。

【0051】

本開示のなおさらなる実施形態では、式 (IE) の化合物が含まれる。

【化 1 2】



20

式中、 R_2 及び R_7 は先に定義した通りである。

30

【0052】

本開示のなおさらなる実施形態では、

R_2 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

Q は Q_A であり、

R_5 は、H、アセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

R_6 は、Boc、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体である。

【0053】

本開示のなおさらなる実施形態では、

R_2 は、H、又はアセチル及びプロピオリルから選択される非置換体であり、

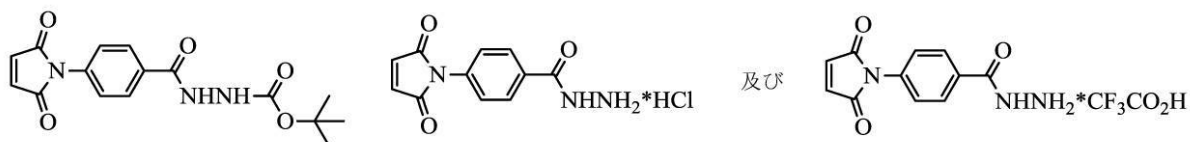
R_7 は、 $C_1 - C_8$ アルキル、 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、フェニル、フラニル、チオフェニル、ピリジニル、ナフチル、キノリル及びイソキノリルから選択される非置換体である。

40

【0054】

例えば、本開示のさらなる実施形態では、式 I の化合物は、化合物が下記式とは異なることを条件として、先に定義した通りである。

【化 1 3】



【0055】

しかし、一実施形態によれば、上記の3つの除外された化合物は、前述の様々な使用及び方法の範囲から除外されない。

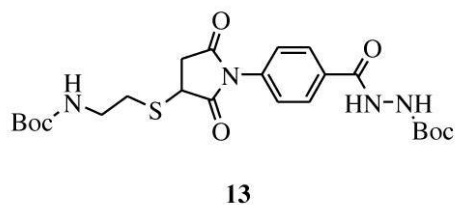
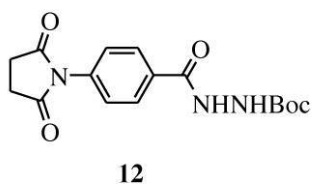
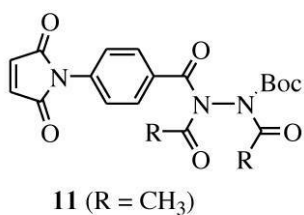
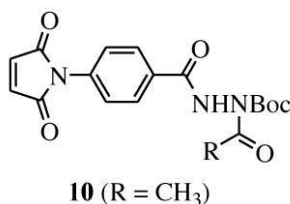
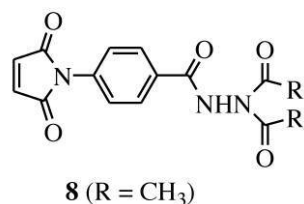
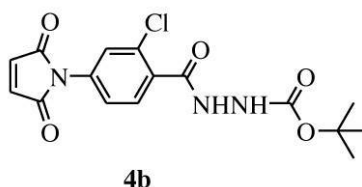
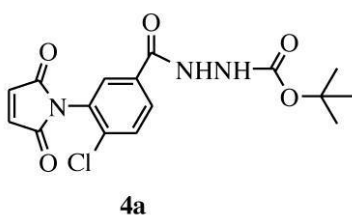
【0056】

別の実施形態によれば、上記の3つの除外された化合物は、前述の様々な使用及び方法の範囲から除外される。

【0057】

本開示のなおさらなる実施形態では、下記式の化合物が含まれる。

【化 1 4】



【0058】

例えば、化合物は、下記式から選択され得る。

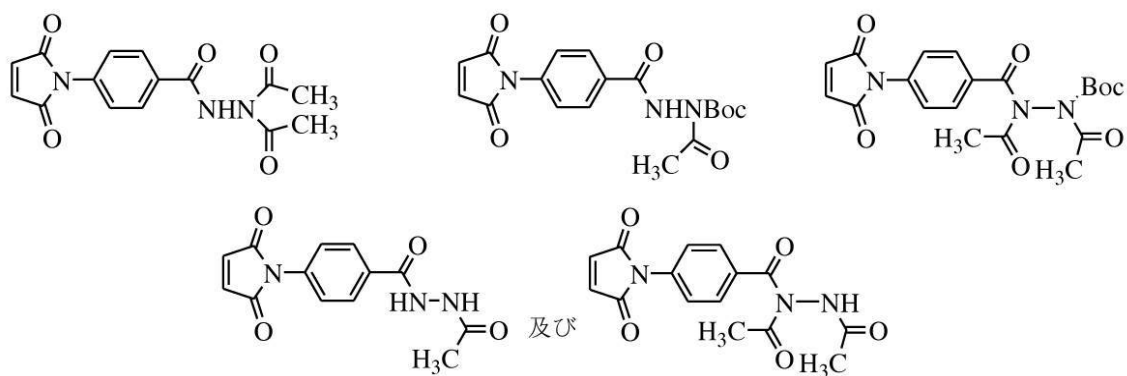
10

20

30

40

【化 1 5】

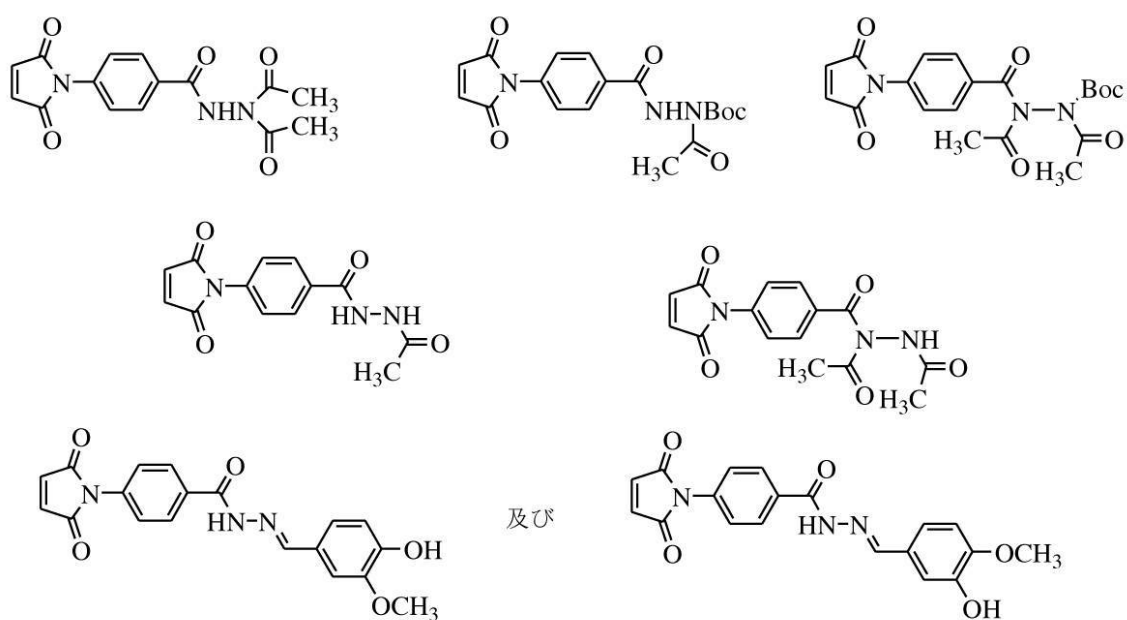


10

【 0 0 5 9】

例えば、化合物は、下記式から選択され得る。

【化 1 6】



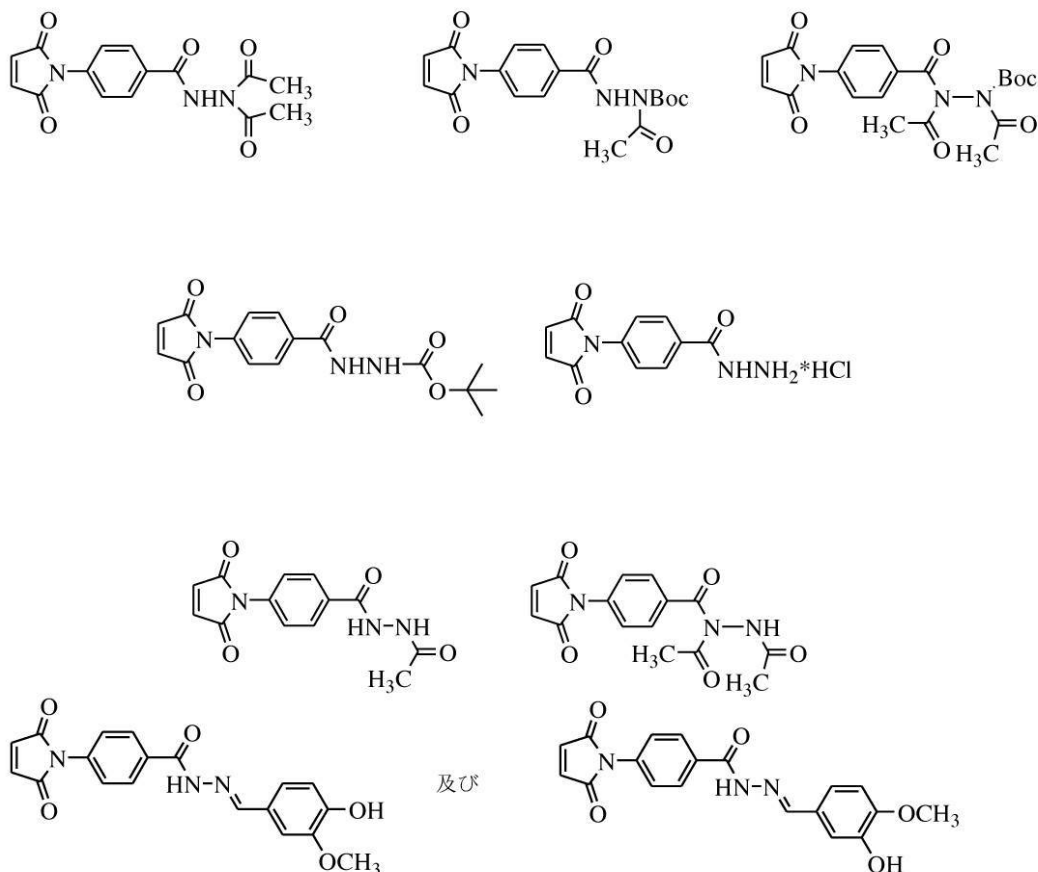
20

30

【 0 0 6 0】

例えば、化合物は、下記式から選択され得る。

【化 17】



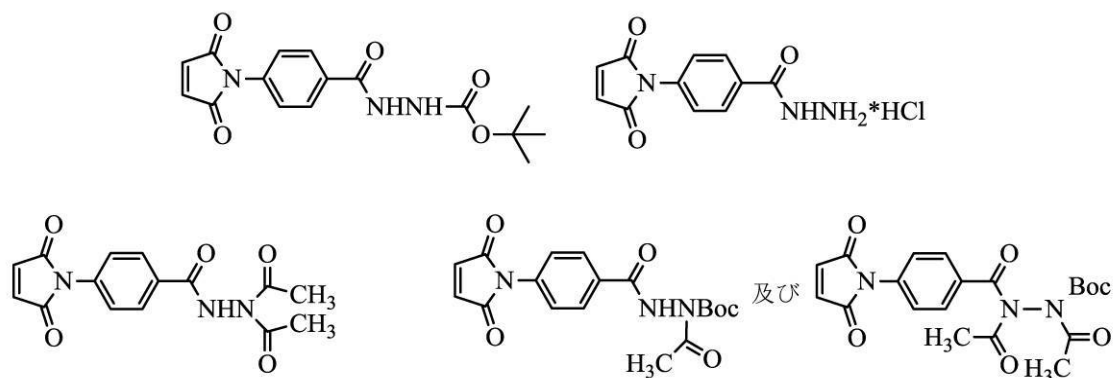
10

20

【0061】

例えば、化合物は、下記式から選択され得る。

【化 18】



30

【0062】

40

スキーム 1 ~ 4 は、本開示の化合物の調製に使用される合成経路の例を示す。各工程の反応条件はスキームに直接示されている。

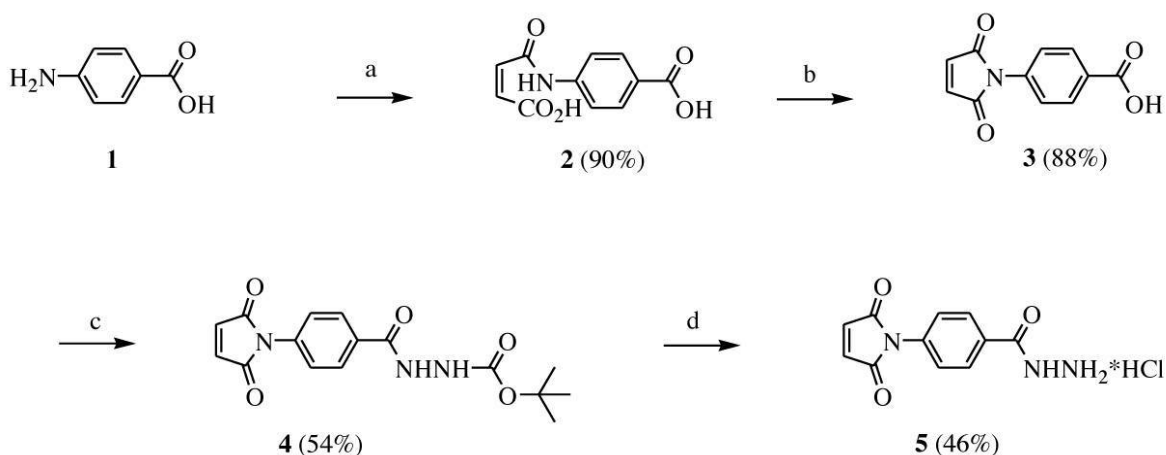
【0063】

出発物質としてパラアミノ安息香酸 (1) を使用して、3 段階の反応順序で誘導体 4 を製造した (スキーム 1) ^{9 ~ 11}。まずパラアミノ安息香酸 (1 又は PABA) と、無水マレイン酸 (MA) の乾燥アセトン溶液とを反応させて、収率 90% で二酸 (2) を得た。無水酢酸及び酢酸ナトリウムを用いて、マレイミドを形成する環化を達成して、混合無水物中間体の水による加水分解後に収率 89% で化合物 3 を得た。最後に、ピリジンの存在下で、イソ-ブチルクロロホルメートによる酸 3 の活性化を行った後、tert-ブチルカルバゼートを用いた処理により収率 54% で所望の抗炎症性誘導体 4 を得た。塩酸の

50

エーテル溶液を用いて 4 を脱保護して、再結晶後に収率 46 % で塩酸塩 5 を得た。例 1 は、化合物 4 及び 5 の調製を示す。この反応順序を使用して、非置換又は置換のオルト、メタ及びパラ安息香酸出発物質から出発する他の誘導体を生成することができる。したがって、この手法は、それぞれ例 2 及び 3 に示される N' - [3 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 4 - クロロ - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 tert - ブチルエステル (4 a) 及び N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 2 - クロロ - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 tert - ブチルエステル (4 b) の合成をもたらす。

【化 19】



10

20

試薬及び条件: a) 無水マレイン酸 (MA)、乾燥アセトン、メタノール、22°C、1時間、b) 1) Ac₂O、AcONa、50°C、2時間、2) H₂O、70°C、2時間、c) 1) イソブチルクロロホルメート、Et₃N、CH₂Cl₂、0°C、1時間及び22°C、1時間、2) tert-ブチルカルバゼート、CH₂Cl₂、22°C、12時間、d) HCl、ジオキサン、22°C、5時間。

スキーム1

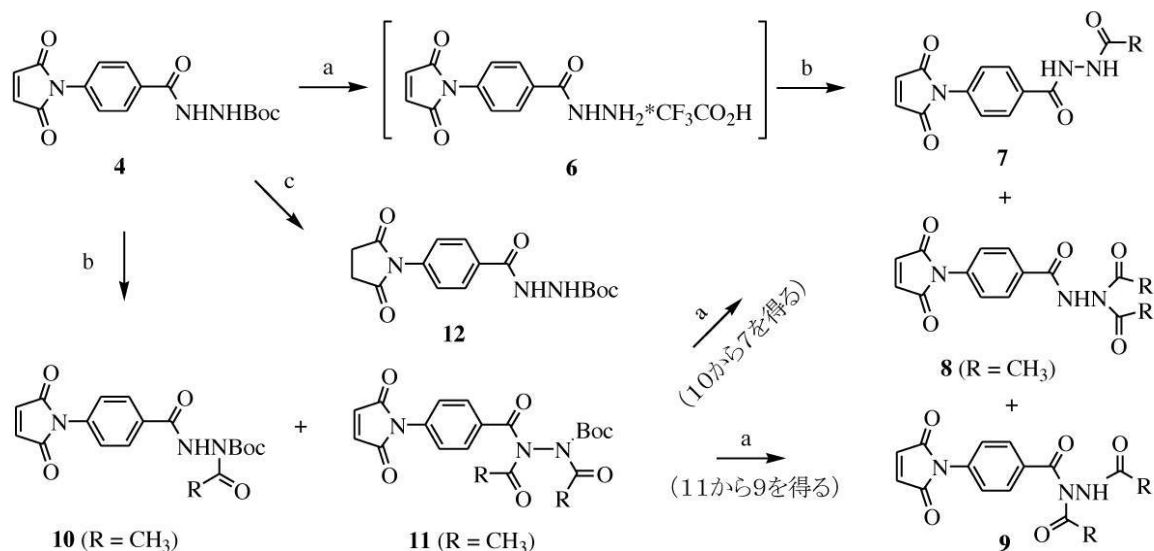
30

【0064】

誘導体 4 をさらに変換すると、抗炎症、抗転移、抗増殖及び抗癌活性を有する新規化合物をもたらすことができる (スキーム 2)。しかし、4 の接触水素化は、その抗炎症活性を失った化合物 12 をもたらした (例 4 参照)。さもなければ、トリフルオロ酢酸のジクロロメタン溶液により処理して、化合物 4 をトリフルオロ酢酸塩 6 に変換する。粗物質 6 と、塩化アセチル又は無水酢酸 (又は任意の関連する無水物又は酸塩化物) とを反応させて、誘導体 8 を得ることができる。注目すべきは、例 5 では、誘導体 7 及び 9 が生成される可能性が高かったが、単離されなかったことである。あるいは、関連する無水物又は酸塩化物により化合物 4 をアシル化して、化合物 10 及び 11 を得ることができる。興味深いことに、塩化アセチルを使用すると化合物 4 がジアセチル化誘導体 11 (R = CH₃) に効率的に変換され、無水酢酸による反応の主生成物は、モノアセチル化誘導体 10 (R = CH₃) であった。誘導体 10 を脱保護して 7 を得ることができ、誘導体 11 は誘導体 9 をもたらすことができる。2 段階の順序を介して、化合物 7 及び 9 を 4 から効率的に生成することが可能である。

40

【化 2 0】



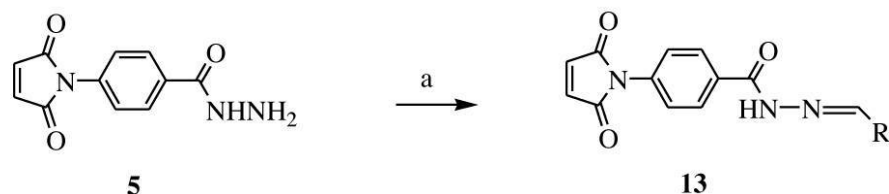
試薬及び条件: a) TFA, CH₂Cl₂, 22°C, 0.5時間, b) 関連する無水物又は酸塩化物, EtOAc, 22°C, 30分~2時間, c) H₂, Pd/C, CH₃OH, 22°C, 3時間。

スキーム2

【0065】

スキーム3は、Tahaら¹²によって記載された手順に従って、アルキルヒドラゾン又はアリールヒドラゾン誘導体(13)をもたらす方法を提示する。したがって、ブタノール(又は他の溶媒)中で還流しながら酸性条件下で、関連するアルデヒド(アルキルアルデヒド(直鎖又は分岐)、ベンズアルデヒドもしくは置換ベンズアルデヒド又は他のアリールアルデヒド)により化合物5を処理して、一般構造13の所望の誘導体を得ることができる。

【化 2 1】



R=アルキル又は芳香族(非置換又は置換)

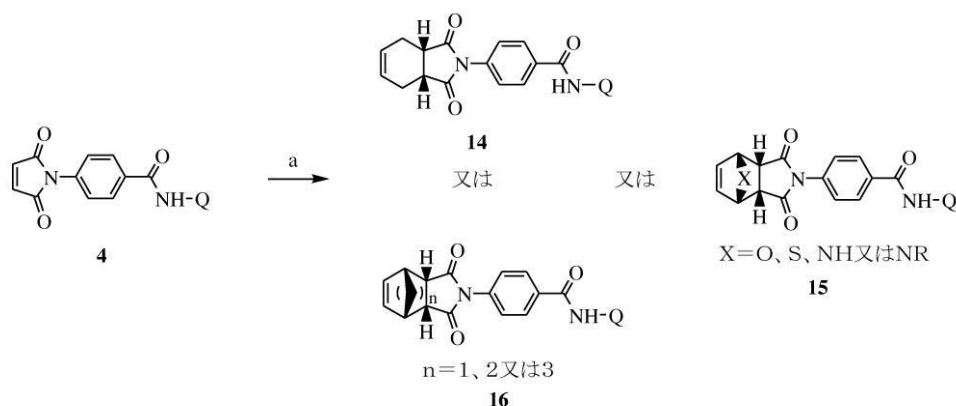
試薬及び条件: a) RCHO, H⁺, ブタノール、還流、1~5時間。

スキーム3

【0066】

スキーム4では、誘導体4(又は本明細書に記載の任意の他のマレイミド)と、適切なジエン(ブタジエン(非置換又は置換)、シクロペンタジエン、シクロヘキサジエン、シクロヘプタジエン、フラン、チオフェン、ピロール、N-アルキルピロール)とを反応させて、所望の環状付加物(ディールス・アルダー生成物)、例えば、14、15及び16を得ることができる。この反応は、圧力の有無を問わず例10に記載したように、純粋な試薬(ジエン及びジエノフィル)をそのまま又は溶液中で加熱することによって実施することができる。

【化 2 2】



10

関連するジエン=ブタジエン(非置換又は置換)、シクロペンタジエン、シクロヘキサジエン、フラン、チオフェン、ピロール、N-アルキルピロール。

試薬及び条件:a) 関連するジエン、トルエン、 Δ 、3時間。

スキーム4

【0067】

20

当業者によって理解され得るように、上記の合成スキームは、本出願に記載され特許請求される化合物が合成され得るあらゆる手段の包括的な列挙であることを意図するものではない。また、本開示の化合物を調製するために、追加の方法を使用することができ得る。

【0068】

本開示の化合物は、適切な官能性を付加して選択的な生物学的特性を増強することによって、修飾されてもよい。そのような修飾は、当業界で公知であり、所定の生物学的系(例えば、血液、リンパ系、中枢神経系)への生物学的浸透を増加させ、経口アベイラビリティを高め、溶解性を高めて注入による投与を可能にし、代謝を変化させ、排泄率を変化させるものを含む。

30

【0069】

本開示の化合物は、1つ以上の不斉炭素原子を含んでもよく、したがって、ラセミ化合物及びラセミ混合物、単一の鏡像異性体、ジアステレオマー混合物及び個々のジアステレオ異性体として存在してもよい。これらの化合物のそのような異性体のいずれもが、本開示に明示的に含まれる。各不斉炭素は、R又はS立体配置であってよい。

【0070】

本明細書に開示されている小さなアミノ安息香酸誘導体は、抗炎症、抗転移、抗増殖及び/又は抗癌特性並びに好都合な毒性プロファイルを示し、例えばヒトの例えば悪性腫瘍、例えば筋層浸潤性及び表在型UBC腫瘍の治療に使用し得ることが判明している。

【0071】

本明細書に提供される態様は、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される癌又は少なくとも1つの癌を治療する方法であって、該方法は、それを必要とする対象に、本明細書に定義される少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。

40

【0072】

別の態様は、対象が癌を発症するリスクを低下させる方法又は対象が少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させる方法であって、癌は、例えば、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択され、該方法は、対象に本明細書に定義される少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。

【0073】

50

さらに別の態様は、癌細胞増殖を阻害する方法であって、該方法は、それを必要とする対象に、本明細書に定義される少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。

【0074】

例えば、癌細胞増殖は、未治療の対象と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%阻害される。

【0075】

別の態様は、腫瘍の増殖及び/又は腫瘍の大きさを阻害する方法であって、該方法は、それを必要とする対象に、本明細書に定義される少なくとも1つの化合物の有効量を投与することを含む。

【0076】

例えば、腫瘍の大きさは、重量及び/又は体積単位で測定される。

【0077】

例えば、腫瘍の増殖及び/又は腫瘍の大きさは、未治療の対象と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%又は約90%低減する。

【0078】

例えば、それを必要とする対象に、本明細書に開示される少なくとも1つの化合物の有効量を投与すると、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌の進行までの時間が増大する。

【0079】

例えば、本明細書に開示される化合物は、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を発症するリスクを低下させるのに使用するためのものである。

【0080】

例えば、化合物は、メラノーマ、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌及び膀胱癌から選択される少なくとも1つの癌を治療するのに使用するためのものである。

【0081】

例えば、化合物は抗癌剤として使用するためのものである。

【0082】

例えば、化合物は、抗炎症剤として使用するためのものである。

【0083】

例えば、化合物は、抗転移剤として使用するためのものである。

【0084】

本明細書に記載されるように、マクロファージ及びUBC細胞に対して、いくつかの化合物、すなわち誘導体4、5、8、10、11及び12の抗炎症、抗転移及び/又は抗癌特性を試験した。

【0085】

本明細書に示されるように、本明細書に開示される化合物は、抗炎症特性を示す。

【0086】

図1～図10を参照して、化合物4及び5を用いて試験したヒトマクロファージ及びUBC細胞のインビトロ試験を実施して、炎症誘発性サイトカインに対する化合物の抗炎症特性を検討した。図1に示すように、前処理したヒトマクロファージでは、IFN誘発性のSTAT1活性化及びIL6誘発性のSTAT3活性化が低下した。同様に、図2に示すように、化合物4及び5が、IFN誘発性のCD40及びMHC-I発現を減少させるのに有効であることが見出された。また、図3を参照すると、スクラッチ創傷治癒アッセイを実施し、化合物4及び5が、ヒトマクロファージのIFN誘発性のSTAT1活性化及びIL6誘発性のSTAT3活性化を阻害するのに有効であることが見出された。

【0087】

提供される態様は、癌細胞の抗炎症特性を低下させる方法であって、該方法は、癌細胞

10

20

30

40

50

と、本明細書に定義される少なくとも1つの化合物とを接触させることを含む。

【0088】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞の相対的なS T A T 1活性化は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低下する。

【0089】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞の相対的なS T A T 3活性化は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低下する。

【0090】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞のC D 4 0発現は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%減少する。

【0091】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞のM H C - I I発現は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%減少する。

【0092】

ここで図4及び図5を参照すると、炎症シグナル、I F N / T N F によって刺激された齧歯類マクロファージ様細胞の一酸化窒素(N O)産生を測定することにより、化合物4及び5の抗炎症活性を評価した。化合物4及び5は、I F N / T N F 誘発性のN O産生を低下させるのに有効であることが見出された。

【0093】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞のN O産生は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低下する。

【0094】

図6及び図7を参照すると、化合物4及び5は、I F N / T N F によって刺激されたU B C細胞では、抗増殖特性を有することが実証された。

【0095】

提供される態様は、癌細胞の抗増殖特性を誘発する方法であって、該方法は、癌細胞と、本明細書に定義される少なくとも1つの化合物とを接触させることを含む。

【0096】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞の生存率は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低下する。

【0097】

例えば、癌細胞増殖は、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%阻害される。

【0098】

ここで図8を参照すると、化合物4が、齧歯類U B C細胞のT N F / N F B及びI L 6 / S T A T 3シグナル伝達経路を阻害することが示された。また、図9に示すように、ヒトU B C細胞に対して化合物4を試験し、化合物4がI L 6誘発性の運動性を阻害することが示された。同様に、図10を参照すると、抗浸潤特性を示す化合物4によってヒト乳癌細胞株を処理して、化合物4が細胞特異的でないことを実証した。

【0099】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞のT N F / N F B及び/又はI L 6 / S T A T 3シグナル伝達経路は、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%又は約80%低減する。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 0 】

例えば、本明細書に開示される化合物を用いた細胞の浸潤性は、未処理の癌細胞と比較して、少なくとも約 10 %、約 20 %、約 30 %、約 40 %、約 50 %、約 60 %、約 70 % 又は約 80 % 低減する。

【 0 1 0 1 】

また、インビボ試験を実施して、UBC の異所性及び同所性齧歯類モデルを用いて、化合物 4 の抗癌、抗増殖及び抗転移活性を評価した。

【 0 1 0 2 】

図 1 1 に示すように、マウスを用いた急性毒性試験は、化合物 4 による治療が、正常な発達及び生存率並びに臓器重量及びヘマトクリットに対して明らかな影響を示さず、マウスに対する耐容性が示唆されたことを実証した。同様に、図 1 2 を参照すると、様々な濃度の化合物 4 によって治療されたマウスに対する肝組織学的分析では、化合物 4 に関連する毒性の証拠は見出されなかった。

10

【 0 1 0 3 】

例えば、本明細書に開示される化合物によって治療された対象は、同等の未治療の対象と類似した体重を有する。本明細書で使用される場合、「類似した体重」は、体重減少の 10 %、9 %、8 %、7 %、6 %、5 %、4 %、3 %、2 % 又は 1 % 以下の差を意味する。

【 0 1 0 4 】

例えば、本明細書に開示される化合物によって治療された対象は、同等の未治療の対象と類似したヘマトクリットを有する。本明細書で使用される場合、「類似したヘマトクリット」は、ヘマトクリット値の 5 %、4 %、3 %、2 % 又は 1 % 以下の差を意味する。

20

【 0 1 0 5 】

本明細書で実証されるように、本明細書に開示される化合物は、抗増殖及び抗転移活性を示す。

【 0 1 0 6 】

図 1 3 及び図 1 4 を参照すると、UBC 腫瘍を異所移植され、化合物 4 によって治療された雄マウスでは、未治療のマウスと比較して、腫瘍増殖及び転移の数に有意な減少が認められた。また、図 1 5 に示すように、同所移植された尿路上皮膀胱癌腫瘍を有する雌マウスでは、化合物 4 の抗増殖特性が認められた。さらに詳細には、治療の 2 週間後に腫瘍進行が停止した。同様に、図 1 8 に示すように、尿路上皮膀胱癌腫瘍を異所移植され、化合物 4 によって治療されたマウスでは、腫瘍の大きさに有意な減少が認められた。

30

【 0 1 0 7 】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処置された腫瘍では、未処置の腫瘍と比較して、体積及び / 又は腫瘍増殖が少なくとも約 10 %、約 20 %、約 30 %、約 40 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 % 又は約 90 % 低減する。

【 0 1 0 8 】

別の態様は、腫瘍転移を低減及び / 又は予防する方法であって、該方法は、それを必要とする対象に、本明細書に開示される少なくとも 1 つの化合物の有効量を投与することを含む。

40

【 0 1 0 9 】

例えば、腫瘍転移の数は、未治療の対象と比較して、少なくとも約 10 %、約 20 %、約 30 %、約 40 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 % 又は約 90 % 減少する。

【 0 1 1 0 】

図 1 9 を参照すると、化合物 4 の抗炎症特性のインビボ齧歯類試験をさらに実施し、腹腔マクロファージに、NO 産生及び尿素合成の有意な減少が認められた。

【 0 1 1 1 】

化合物 4 の誘導体はまた、抗炎症、抗癌、抗増殖及び抗転移特性を示すことが見出された。マクロファージ及び UBC 細胞に対して、化合物 4 の誘導体、化合物 8、10 及び 11 の追加のインビトロ及びインビボ試験を実施した。

50

【 0 1 1 2 】

図 2 1 は、これらの化合物が NO 産生を阻害するのに有効であることを示す。化合物はまた、マクロファージ細胞の IFN 活性化 STAT 1 シグナル伝達経路及び LPS 活性化 NF B シグナル伝達経路を阻害するのに有効であった (図 2 2 及び図 2 3)。

【 0 1 1 3 】

例えば、本明細書に開示される化合物によって処理された細胞の LPS 活性化 NF B シグナル伝達経路は、未処理の細胞と比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 % 又は約 8 0 % 低減する。

【 0 1 1 4 】

図 2 5 を参照すると、化合物 4 及び 8 が、雄マウスに異所移植された UBC 腫瘍に対し 10 て抗増殖活性を有することが見出された。

【 0 1 1 5 】

例えば、化合物は化合物 4 である。

【 0 1 1 6 】

例えば、化合物は化合物 8 である。

【 0 1 1 7 】

例えば、化合物は化合物 1 0 である。

【 0 1 1 8 】

例えば、化合物は化合物 1 1 である。

【 0 1 1 9 】

例えば、対象は哺乳動物である。例えば、対象はヒトである。 20

【 0 1 2 0 】

例えば、細胞はインビトロである。

【 0 1 2 1 】

例えば、細胞はインビボである。

【 0 1 2 2 】

例えば、細胞は癌細胞である。

【 0 1 2 3 】

例えば、癌は、メラノーマ、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌又は膀胱癌である。

【 0 1 2 4 】

例えば、膀胱癌は、表在型 UBC 又は筋層浸潤性 UBC である。 30

【 0 1 2 5 】

例えば、腫瘍は、メラノーマ腫瘍、子宮腫瘍、卵巣腫瘍、前立腺腫瘍又は膀胱腫瘍である。

【 0 1 2 6 】

例えば、膀胱腫瘍は、表在型 UBC 腫瘍又は筋層浸潤性 UBC 腫瘍である。

【 0 1 2 7 】

例えば、本明細書に開示される方法は、表在型 UBC が筋層浸潤性 UBC 腫瘍に進行するのを提示するのに有効である。

【 0 1 2 8 】

本開示では、以下の略語が使用される。 40

略語 意味

Ac₂O 無水酢酸

AcONa 酢酸ナトリウム

CH₂Cl₂ ジクロロメタン

Boc t - ブチルオキシカルボニル

Et₂O ジエチルエーテル

EtOAc 酢酸エチル

Et₃N トリエチルアミン

h 時間 50

H C l 塩酸
 i . p . 腹腔内
 m メタ
 M A 無水マレイン酸
 M e O H メタノール
 m i n 分
 m m o l ミリモル
 M T T 3 - (4 , 5 - ジメチルチアゾール - 2 - イル) - 2 , 5 - ジフェニルテトラ
 ゾリウムプロミド
 N M R 核磁気共鳴
 o オルト
 p パラ
 P h e フェニル
 s . c . 皮下
 T L C 薄層クロマトグラフィー
 T F A トリフルオロ酢酸
 U B C 尿路上皮膀胱癌

10

【 0 1 2 9 】

例

この項では、本明細書で提示されているいくつかの化合物の合成についても記載する。これらの例は、決して本開示の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

20

【 0 1 3 0 】

材料及び方法 - 化学

不活性雰囲気下で無水反応を実施し、装置を組み立て、乾燥窒素下で冷却した。特に明記しない限り、出発物質、反応物質及び溶媒は商業的に入手し、そのまま使用するか、標準的な方法により精製し、乾燥させた^{1 3}。有機溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、減圧下でロータリーエバポレーターを用いて蒸発させた。反応はいずれも、UV 蛍光、又はヨウ素による染色によってモニターした。市販の T L C プレートは S i g m a T 6 1 4 5 (ポリエステルシリカゲル 6 0 、 0 . 2 5 m m) であった。フラッシュカラムクロマトグラフィーは、M e r c k グレード 6 0 シリカゲル、2 3 0 ~ 4 0 0 メッシュを用いて、S t i l l らの方法に従って実施した^{1 4}。クロマトグラフィーに使用した溶媒はいずれも、使用前に蒸留しておいた。

30

【 0 1 3 1 】

N i c o l e t I m p a c t 4 2 0 F T - I R を用いて赤外スペクトルを記録した。A g i l e n t t e c h n o l o g y の機器、M S モデル 6 2 1 0 を使用して質量スペクトルアッセイを得た。正モード (E S I +) を用いた E S I (エレクトロスプレーイオン化) を用いた T O F (飛行時間) によって、高分解能質量スペクトル (H R M S) を得た。 (P l a t e f o r m e a n a l y t i q u e p o u r m o l e c u l e s o r g a n i q u e s d e l ' U n i v e r s i t e d u Q u e b e c a M o n t r e a l) .

40

【 0 1 3 2 】

V a r i a n 2 0 0 M H z N M R 装置を用いて、核磁気共鳴 (N M R) スペクトルを記録した。テトラメチルシラン又はクロロホルムを内部標準として用いてデータを取得するために (¹ H - N M R では T M S 、 0 . 0 p p m 、 ^{1 3} C - N M R では C D C l ₃ 7 7 . 0 p p m) 、重水素化クロロホルム (C D C l ₃) 、重水素化アセトン (アセトン - d ₆) 又は重水素化ジメチルスルホキシド (D M S O - d ₆) にサンプルを溶解した。化学シフト () は百万分率 (p p m) で表し、結合定数 (J) はヘルツ (H z) で表す。以下の略語により多重度を記述する：シングレットは s 、ダブレットは d 、ダブレットのダブレットは d d 、トリプレットは t 、トリプレットのダブレットは d t 、カルテットは q 、カルテットのダブレットは d q 、マルチプレットは m 、複数のマルチプレット

50

は # m、ブロードシグナルは b r。

【 0 1 3 3 】

スキーム 1、2、3 又は 4 に要約した手順を用いて、関連するアミノ安息香酸誘導体から以下の化合物を調製した。

【 0 1 3 4 】

例 1 N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 t e r t - ブチルエステル (4)、その塩酸塩 (5) 及びそのトリフルオロ酢酸塩 (6) の調製

工程 A 4 - (3 - カルボキシ - アクリロイルアミノ) - 安息香酸 (2) の合成

4 - アミノ安息香酸 (1、5 . 3 4 g、3 8 . 9 3 m m o l) を乾燥アセトン (1 2 m L) に溶解し、メタノール (1 m L) を加えた。乾燥アセトンに溶解した無水マレイン酸 (1 . 0 5 当量) を第 1 の溶液に加えた。反応混合物を 2 時間攪拌し、二酸 2 の完全な沈殿のための十分な時間を与えた。沈殿物を濾過し、アセトン (2 x 2 m L) で 2 回洗浄し、デシケーター内で一晚乾燥させた。粗二酸 2 (9 . 1 6 g、9 0 %) は、次の工程でさらに精製することなく使用するのに十分純粋であった。

10

【 数 1 】

IR (v, cm⁻¹): 3500-2500 (CO₂H), 1686 cm⁻¹ (C=O); ¹H NMR (DMSO-d₆, δ ppm): 12.79 (br s, 2 H, 2 x CO₂H), 10.58 (s, 1H, NH), 7.89 and 7.71 (2 x d, J=8.6 Hz, 4H, aromatic), 6.48 and 6.30 (2 x d, J=12.2 Hz, 2H, maleimide); ¹³C NMR (DMSO-d₆, δ ppm): 167.4, 167.3, 164.1, 143.2, 132.1, 130.9 (2), 130.6, 126.0, 119.2 (2); ESI+ HRMS: (M+H)⁺ calculated for C₁₁H₁₀NO₅ = 236.0553; found = 236.0558.

20

【 0 1 3 5 】

工程 B 4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 安息香酸 (3) の合成

二酸 2 (2 . 0 1 g、8 . 5 4 m m o l) を無水酢酸 (4 . 0 m L、3 6 . 2 8 m m o l) 及び無水酢酸ナトリウム (3 5 0 m g、4 . 2 7 m m o l) で処理し、混合物を 5 0 で 2 時間加熱した。その後、溶液を蒸発乾固させ、7 0 の水を入れて 2 時間攪拌した。得られた沈殿物を濾過し、デシケーター内で一晚乾燥させて 1 . 6 5 g (8 9 %) のマレイミド 4 を得た。この誘導体のスペクトルデータは、文献に報告されているものと一致する^{9、11}。

30

【 数 2 】

IR (v, cm⁻¹): 3475-2600 (CO₂H), 1715 (C=O), 1704 (C=O); ¹H NMR (acetone-d₆, δ ppm): 8.14 and 7.57 (2 x d, J=8.6 Hz, 4H, aromatic), 7.08 (s, 2H, maleimide); ¹³C NMR (acetone-d₆, δ ppm): 169.3 (2), 166.2, 136.2, 134.7 (2), 130.1 (2), 129.3, 125.8 (2); ESI+ HRMS: (M+H)⁺ calculated for C₁₁H₈NO₄ = 218.0448; found = 218.0447.

40

【 0 1 3 6 】

工程 C N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 t e r t - ブチルエステル (4) の合成

誘導体 4 は、L a u ら及び H a m e l l i n - M o r r i s s e t t e ら^{9 ~ 11}によっても記載されているように、W i l l n e r ら¹⁵によって報告された改変された手順を用いて合成した。分子 3 (2 1 1 m g、0 . 9 7 m m o l) の冷却懸濁液 (0) の塩化メチレン溶液 (4 . 5 m L) をトリエチルアミン (1 9 0 μ L、1 . 3 6 m m o l) 及びイソブチルクロロホルメート (1 7 5 μ L、1 . 3 4 m m o l) で処理した。混合物を 0 で 1 時間、室温 (2 2) で約 1 時間攪拌した。その後、塩化メチレン (0 . 8 m L)

50

に溶解した *tert*-ブチルカルバゼート (128 mg、0.97 mmol) を混合物に滴下し、22 でさらに12時間撹拌した。反応混合物を酢酸エチル (55 mL) 及び塩化メチレン (20 mL) で希釈し、飽和 NaHCO₃ (2 × 50 mL) で2回、0.1 N HCl (2 × 50 mL) で2回、飽和 NaCl (2 × 50 mL) で2回、最後に H₂O (50 mL) で洗浄した。有機相を乾燥させ (MgSO₄)、蒸発させて、粗誘導体4を得た。ヘキサン/アセトン (3/2) の混合物を用いるフラッシュクロマトグラフィーにより生成物を精製して、173 mg (54%) の4を得た。この誘導体のスペクトルデータは、文献に報告されているものと一致する¹⁰。

【数3】

IR (ν, cm⁻¹): 3360-3240 (NH), 3087 (C=C), 2988 (CH, aliphatic), 1733 (C=O), 1706 (C=O); ¹H NMR (acetone-d₆, δ ppm): 9.05 (s, 1H, NH), 8.02 and 7.53 (2 x d, J=8.6 Hz, 4H, aromatic), 7.07 (s, 2H, maleimide), 2.84 (br s, 1H, NH), 1.45 (s, 9H, 3 x CH₃); ¹³C NMR (acetone-d₆, δ ppm): 169.3 (2), 166.0, 155.7, 135.1, 134.6 (2), 131.6, 127.9 (2), 125.9 (2), 79.6, 27.5 (3); ESI+ HRMS: (M+Na)+ calculated for C₁₆H₁₇N₃NaO₅ = 354.1060; found = 354.1072; (M -2-methylpropene +H)+ calculated for C₁₂H₁₁N₃O₅ = 276.0620; found = 276.0627.

10

【0137】

工程D 4 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 安息香酸ヒドラジド塩酸塩 (又は4 - マレイミド安息香酸ヒドラジド塩酸塩) (5) の合成

マレイミド酢酸 (*tert*-ブチルオキシカルボニル) ヒドラジドを塩酸によって開裂させるために、Heindelらによって報告されている同様の手順を用いて4の加水分解を行って、マレイミド酢酸ヒドラジド塩酸塩を形成した¹⁶。乾燥ジオキサン (30 mL) に溶解した4 (2.41 g、7.27 mmol) の溶液に、塩酸の溶液 (60 mL、ジエチルエーテル中1.0 M、60 mmol) を加えた。混合物を室温で5時間撹拌した。その後、150 mLのヘキサンを加えて、塩酸塩5の沈殿を完了させた。沈殿した粗生成物を濾過し、ヘキサンで洗浄し、メタノール/イソプロピルアルコール/ヘキサン (8/3/10) の混合物を用いて2回再結晶させて、1.7 g (46%) の所望の物質を得た。IR (, cm⁻¹) : 3200 - 2500 (CO₂H), 3269 (NH), 1702 (C=O), 1693 (C=O);

20

30

【数4】

¹H NMR (DMSO-d₆, δ ppm): 8.06 and 7.52 (2 x d, J=8.8 Hz, 4H, aromatic), 7.21 (s, 2H, maleimide); ¹³C NMR (DMSO-d₆, δ ppm): 170.0 (2), 165.6, 135.9, 135.4 (2), 129.6, 129.0 (2), 126.8 (2); ESI+ HRMS: (M+H)+ calculated for C₁₁H₁₀N₃O₃ = 232.0717; found = 232.0717 and ESI+ HRMS: (M+H)+ calculated for C₁₁H₁₁ClN₃O₃ = 268.0483; found = 268.0483.

40

【0138】

工程E 4 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 安息香酸ヒドラジドトリフルオロ酢酸塩 (6) の合成

トリフルオロ酢酸 (0.5 mL) に溶解した4 (106 mg、0.32 mmol) の溶液を0 で30分間撹拌した。その後、22、真空下で過剰のトリフルオロ酢酸を除去し、化合物6を定量的に得た。

【数 5】

IR (ν , cm^{-1}): 3500-2500 (CO_2H), 3277 (NH), 1710 ($\text{C}=\text{O}$); ^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 11.62 (br s, 1H, $\text{NHNH}_3^+\text{CF}_3\text{CO}_2^-$), 8.63 (br s, NH_3^+), 8.01 and 7.56 (2 x d, $J=8.5$ Hz, 4H, aromatic), 7.24 (s, 2H, maleimide); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 169.6 (2), 165.4, 135.5, 135.0 (2), 129.4, 128.4 (2), 126.5 (2).

例 2 N' - [3 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 4 - クロロ - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 tert - ブチルエステル (4 a) の調製

10

上記の例 1 の工程 A ~ C の手順に従い、4 - アミノ安息香酸誘導体の代わりに 3 - アミノ - 4 - クロロ安息香酸を出発物質として使用して、4 a を効率的に調製した。

【0139】

工程 A 3 - (シス - 3 - カルボキシ - アクリロイルアミノ) - 4 - クロロ安息香酸 (2 a) の合成

2 a のスペクトルデータ :

【数 6】

IR (ν , cm^{-1}): 3500-2500 (CO_2H), 3310 (NH), 1696 ($\text{C}=\text{O}$); ^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 13.08 (s, 2H, 2 x CO_2H), 10.13 (s, 1H, NH), 8.37 (s, 1H, aromatic) 7.72 and 7.61 (2 x d, 2H, $J = 10.0$ Hz, aromatic), 6.59 and 6.34 (2 x d, 2H, $J = 12.0$ Hz, maleimide); ^{13}C MNR (DMSO- d_6 , δ ppm): 167.5, 166.7, 164.1, 135.0, 131.6, 131.2 (2), 130.4 (2), 127.2 (2).

20

【0140】

工程 B 3 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 4 - クロロ安息香酸 (3 a) の合成

3 a のスペクトルデータ :

30

【数 7】

IR (ν , cm^{-1}): 3300-2500 (CO_2H), 3490 (amine), 1674 ($\text{C}=\text{O}$). ^1H NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 8.1 (m, 2H, aromatic), 7.76 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, aromatic), 7.14 (s, 2H, maleimide) ^{13}C NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 168.7 (2), 165.0, 143.0, 137.84, 134.9 (2), 132.3, 131.6, 130.6, 130.2.

【0141】

工程 C N' - [3 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 4 - クロロ - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 tert - ブチルエステル (4 a) の合成

40

4 a のスペクトルデータ :

【数 8】

IR (ν , cm^{-1}): 3494 (amine), 3090 (C=C), 2974 (aliphatic), 1717 (C=O). ^1H NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 9.71 (s, 1H, NH), 8.05 (dd, 1H, $J = 8.2$ Hz and $J = 1.8$ Hz, aromatic) 7.95 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, aromatic), 7.75 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz, aromatic), 7.11 (s, 2H, maleimide), 2.91 (s, 1H, NH), 1.43 (s, 9H, 3 x CH_3); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 169.5 (2), 166.0, 156.5, 135.0 (2), 134.0 (2), 130.0, 130.7, 129.0 (2), 80.0, 28.1(3).

10

例 3 N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 2 - クロロ - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 t e r t - ブチルエステル (4 b) の調製

上記の例 1 の工程 A ~ C の手順に従い、4 - アミノ安息香酸誘導体の代わりに 4 - アミノ - 2 - クロロ安息香酸を出発物質として使用して、4 b を効率的に調製した。

【 0 1 4 2 】

工程 A 4 - (シス - 3 - カルボキシ - アクリロイルアミノ) - 2 - クロロ安息香酸 (2 b) の合成

2 b のスペクトルデータ :

【数 9】

20

IR (ν , cm^{-1}): 3500-2500 (CO_2H), 3262 (NH), 1689 (C=O); ^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 13.8 (s, 2H, 2 x CO_2H), 10.7 (s, 1H, NH), 7.85 (m, 2H, aromatic) 7.55 (dd, 1H, $J = 10.0$ Hz and $J = 2.0$ Hz, aromatic), 6.45 and 6.31 (2 x d, 2H, $J = 12.0$ Hz, maleimide); ^{13}C MNR (DMSO- d_6 , δ ppm): 168.0, 166.0, 164.0, 143.0, 136.5, 135.0, 132.0, 131.5, 126.0, 121.5, 119.2.

【 0 1 4 3 】

工程 B 3 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 4 - クロロ安息香酸 (3 b) の合成

30

3 b のスペクトルデータ :

【数 10】

IR (ν , cm^{-1}): 3300-2500 (CO_2H), 3470 (amine), 1723 (C=O). ^1H NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 7.90 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz, aromatic), 7.67 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, aromatic), 7.50 (dd, 1H, $J = 8.3$ Hz and $J = 2.0$ Hz, aromatic) 7.11 (s, 2H, maleimide); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 168.0 (2), 165.0, 138.0, 136.0 (2), 135.0, 132.0, 128.0, 124.0, 118.0.

【 0 1 4 4 】

40

工程 C N' - [3 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 4 - クロロ - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 t e r t - ブチルエステル (4 b) の合成

4 b のスペクトルデータ :

【数 1 1】

IR (ν , cm^{-1}): 3473 (amine), 3090 (C=C), 2984 (aliphatic), 1708 (C=O). ^1H NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 9.03 (s, 1H, NH), 7.65(d, 1H, $J = 8.0$ Hz, aromatic) 7.59 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, aromatic), 7.45 (dd, 1H, $J = 8.2$ and $J = 1.8$ Hz aromatic), 7.08 (s, 2H, maleimide), 2.96 (s, 1H, NH), 1.47 (s, 9H, 3 x CH_3); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 169.0 (2), 166.0, 156.0, 135.0 (2), 134.6, 133.0, 131.0, 127.9(2), 125.9, 80.0, 27.5 (3).

【0 1 4 5】

10

例 4 N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - ピロリジン - 1 - イル) - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 *tert* - ブチルエステル (1 2) の調製

マレイミド 4 (1 0 3 m g 、 0 . 3 1 m m o l) をメタノール (1 m L) に溶解し、 5 % Pd / C (1 4 m g) を加えた。 3 0 秒間かけて、混合物中に若干の水素ガスをバブリングした。水素雰囲気下で懸濁液を 3 時間激しく攪拌した。注目すべきは、さらに大きな規模では、さらに長い時間を要することである。その後、溶離液としてヘキサン / アセトン (3 / 2) の混合物を用いて、懸濁液をシリカで濾過して、 8 7 m g (8 4 %) の 1 2 を得た。

【数 1 2】

20

IR (ν , cm^{-1}): 3400-3100 (NH), 2981 (CH), 1703 (C=O); ^1H NMR (acetone- d_6 , δ ppm) : 9.54 (br s, 1H, NH), 8.00 and 7.45 (2 x d, $J=8.6$ Hz, 4H, aromatic), 1.45 (s, 9H, 3 x CH_3); ^{13}C MNR (acetone- d_6 , δ ppm) 176.2 (2), 165.9, 155.7, 136.1, 132.4, 127.8 (2), 126.7 (2), 79.6, 28.2, 27.5; ESI+ HRMS: (M+H)+ calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5 = 334.1397$; found = 334.1391 and ESI+ HRMS: (M+H - C_4H_9) + calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_5 = 278.0771$; found = 278.0769.

【0 1 4 6】

30

例 5 4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 安息香酸 N' - ジアセチル - ヒドラジド (8 、 R = CH_3) の調製

ジクロロメタン (1 0 m L) に溶解した粗製 6 (4 4 4 m g 、 1 . 2 8 m m o l) の溶液に、トリエチルアミン (1 . 0 7 m L 、 7 8 0 m g 、 7 . 7 m m o l) 及び無水酢酸 (0 . 6 1 m L 、 6 5 9 m g 、 6 . 4 m m o l) を加えた。混合物を 2 2 で約 3 0 分間攪拌した。その後、抽出漏斗に直接入れて酢酸エチル (7 5 m L) で有機相を希釈した。 5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液 (5 0 m L) 、 1 0 % 塩化ナトリウム水溶液 (5 0 m L) 、最後に水 (5 0 m L) で有機相を連続的に洗浄した。無水硫酸マグネシウムを用いて有機相を乾燥させ、濾過し、蒸発させて粗物質 (1 1 1 m g) とした。ヘキサン / アセトン (7 / 3) の混合物を用いるフラッシュカラムクロマトグラフィーにより生成物を精製して、 7 5 m g (1 8 %) の所望の物質 (8 、 R = CH_3) を得た。注目すべきは、様々な無水物又は塩化アルカロイルを使用して、この特定の誘導体のアナログを生成することができることである。

40

【数 1 3】

IR (ν , cm^{-1}): 3200 (NH), 1702 (C=O), 1662 (C=O); ^1H NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 10.15 (br s, 1H, NH), 8.09 and 7.61 (2 x d, $J = 8.6$ Hz, 4H, aromatic), 7.10 (s, 2H, maleimide), 2.41 (s, 6H, 2 x CH_3); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , δ ppm): 171.1 (2), 169.3 (2), 166.0, 135.8, 134.7 (2), 130.8, 128.2 (2), 126.1 (2), 24.2 (2). ESI+ HRMS: (M+H)+ calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_5 = 316.0928$; found = 316.0945 and ESI+ HRMS: (M+H -Ac)+ calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4 = 275.08252$; found = 275.0856.

10

【0 1 4 7】

例 6 N - アセチル - N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 tert - ブチルエステル (1 0 、 R = CH_3) の調製

ジクロロメタン (3 mL) に溶解した 4 (1 0 0 mg 、 0 . 3 0 mmol) の溶液に、トリエチルアミン (2 5 2 μL 、 1 8 3 mg 、 1 . 8 1 mmol) 及び無水酢酸 (7 1 μL 、 7 6 . 7 mg 、 0 . 7 5 mmol) を加えた。混合物を 2 2 で約 3 0 分間撹拌した。その後、抽出漏斗に直接入れて酢酸エチル (2 5 mL) で有機相を希釈した。5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 0 mL) 、 1 0 % 塩化ナトリウム水溶液 (1 0 mL) 、最後に水 (2 0 mL) で有機相を連続的に洗浄した。無水硫酸マグネシウムを用いて有機相を乾燥させ、濾過し、蒸発させて粗物質 (1 2 3 mg) とした。ヘキサン / アセトン (4 / 1) の混合物を用いるフラッシュカラムクロマトグラフィーにより生成物を精製して、2 2 mg (2 0 %) の所望の物質 (1 0 、 R = CH_3) を得た。反応時間が長くなれば (2 時間) 、所望の物質の収率がさらに高くなることに注目すべきである。しかし、若干のジアセチル化生成物 (1 1) も副生成物として存在する。

20

【数 1 4】

IR (ν , cm^{-1}): 3286 (NH), 1753 (C=O), 1711 (C=O), 1652 (C=O); ^1H NMR (CDCl_3 , δ ppm): 8.28 (br s, 1H, NH), 7.90 and 7.50 (2 x d, $J = 8.6$ Hz, 4H, aromatic), 6.89 (s, 2H, maleimide), 2.61 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 9H, 3 x CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , δ ppm): 170.5, 168.9 (2), 165.2, 151.0, 135.0, 134.4 (2), 130.9, 128.3 (2), 125.7 (2), 84.8, 27.8 (3), 25.5; ESI+ HRMS: (M+Na)+ calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_6 = 396.1166$; found = 396.1165 and ESI+ HRMS: (M+H -tert-Boc)+ calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4 = 274.0822$; found = 274.0824.

30

【0 1 4 8】

例 7 N , N' - ジアセチル - N' - [4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - ベンゾイル] - ヒドラジンカルボン酸 tert - ブチルエステル (1 1 、 R = CH_3) の調製

ジクロロメタン (3 mL) に溶解した 4 (1 0 0 mg 、 0 . 3 0 mmol) の溶液に、トリエチルアミン (2 5 2 μL 、 1 8 3 mg 、 1 . 8 1 mmol) 及び塩化アセチル (5 4 μL 、 6 0 mg 、 0 . 7 5 mmol) を加えた。混合物を 2 2 で約 2 時間撹拌した。その後、抽出漏斗に直接入れて酢酸エチル (2 5 mL) で有機相を希釈した。5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 0 mL) 、 1 0 % 塩化ナトリウム水溶液 (1 0 mL) 、最後に水 (2 0 mL) で有機相を連続的に洗浄した。無水硫酸マグネシウムを用いて有機相を乾燥させ、濾過し、蒸発させて粗物質 (1 1 8 mg) とした。ヘキサン / アセトン (4 / 1) の混合物を用いるフラッシュカラムクロマトグラフィーにより生成物を精製して、1 0 0 mg (8 0 %) の所望の物質 (1 1 、 R = CH_3) を得た。

40

【数 1 5】

IR (ν , cm^{-1}): 3193 (NH), 1701 (C=O), 1660 (C=O); ^1H NMR (CDCl_3 , δ ppm): 7.68 and 7.50 (2 x d, $J = 8.6$ Hz, 4H, aromatic), 6.89 (s, 2H, maleimide), 2.49 and 2.48 (2 x s, 6H, 2 x CH_3), 1.50 (s, 9H, 3 x CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , δ ppm): 170.2, 169.9 (2), 168.8 (2), 150.2, 134.6, 134.4 (2), 132.9, 128.2 (2), 125.0 (2), 85.9, 27.8 (3), 25.4, 24.6; ESI+ HRMS: (M+Na)+ calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_7 = 438.1272$; found = 438.1281 and ESI+ HRMS: (M+H -Ac and -*tert*-Boc)+ calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4 = 274.0822$; found = 274.0833.

10

【0 1 4 9】

例 8 N' - { 4 - [3 - (2 - *tert* - ブトキシカルボニルアミノ - エチルスルファニル) - 2 , 5 - ジオキソ - ピロリジン - 1 - イル] - ベンゾイル } - ヒドラジンカルボン酸 *tert* - ブチルエステル (1 3) の調製

メタノール (3 mL) に溶解した 4 (1 1 5 mg 、 0 . 3 4 mmol) の溶液に、 2 - (Boc - アミノ) エタンチオール (7 0 μL 、 7 3 mg 、 0 . 4 1 mmol) を加えた。混合物を 22 で 2 時間、 50 で 1 時間攪拌した。抽出漏斗に直接入れて酢酸エチル (3 0 mL) で有機相を希釈し、 5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液 (2 x 1 0 mL) 及び水 (2 x 2 0 mL) で連続的に洗浄した。無水硫酸マグネシウムを用いて有機相を乾燥させ、濾過し、蒸発させて粗物質 (1 9 1 mg) とした。ヘキサン / アセトン (3 / 2) の混合物を用いるフラッシュカラムクロマトグラフィーにより生成物を精製して、 1 0 7 mg (6 1 %) の所望の物質 1 5 を得た。

20

【数 1 6】

IR (ν , cm^{-1}): 3300 (NH), 1707 (C=O), 1680 (C=O); ^1H NMR (CDCl_3 , δ ppm): 8.80 (br s, 1H, NH), 7.86 and 7.34 (2 x d, $J = 8.2$ Hz, 4H, aromatic), 6.90 (br s, 1H, NH), 5.07 (br s, 1H, NH), 3.98 (1H, m, -CHS-) 2.6-3.6 (several m, 6H, 3 x $-\text{CH}_2-$), 1.50 and 1.45 (2 x s, 18H, 2 x 3 x CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , δ ppm): 175.4, 173.2, 165.8, 155.9 (2), 134.8, 131.7, 128.2 (2), 126.4 (2), 82.1, 79.7, 39.4, 38.9, 36.1, 32.7, 28.4 (3), 28.2 (3); ESI+ HRMS: (M+Na)+ calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{NaO}_7\text{S} = 531.1884$; found = 531.1881.

30

【0 1 5 0】

例 9 一般構造 1 3 の誘導体の調製のための一般的手順 (スキーム 3 参照)

T a h a ら ^{1 2} によって記載された手順に従って、ブタノール (又は他の溶媒) 中で還流しながら酸性条件下で、関連するアルデヒド (アルキルアルデヒド (直鎖又は分岐) 、ベンズアルデヒド又は置換ベンズアルデヒド) により化合物 5 を処理して、所望のアルキルヒドラゾン又はベンゾイルヒドラゾン誘導体を得ることができる。

【0 1 5 1】

例 1 0 誘導体 1 4 、 1 5 又は 1 6 の調製のための一般的手順 (スキーム 4 参照)

40

誘導体 4 (又は本明細書に記載の任意の他のマレイミド) と、適切なジエン (ブタジエン (非置換又は置換) 、シクロペンタジエン、シクロヘキサジエン、シクロヘプタジエン、フラン、チオフエン、ピロール、N - アルキルピロール) とを反応させて、所望の環状付加物 (ディールス・アルダー生成物) 、例えば、 1 4 、 1 5 及び 1 6 を得ることができる。この反応は、圧力の有無を問わず、純粋な試薬 (ジエン及びジエノフィル) をそのまま又は溶液中で加熱することによって実施することができる。

【0 1 5 2】

例 1 1 R = 4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシベンゼンを有するヒドラゾン 1 3 の調製のための具体的な手順 (スキーム 3 参照)

例 1 、工程 E に記載のように、以下の量を用いて、中間体 4 - (2 , 5 - ジオキソ - 2

50

、5 - ジヒドロ - ピロール - 1 - イル) - 安息香酸ヒドラジドトリフルオロ酢酸塩 (6) を調製した: 誘導体 4 (100 mg、0.303 mmol)、トリフルオロ酢酸 250 μ L、ジクロロメタン (1 mL)。中間体 6 をジクロロメタン (2 mL) に溶解し、4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシベンズアルデヒド (パニリン、46.1 mg、0.303 mmol) 及び炭酸水素ナトリウム (25.4 mg、0.303 mmol) を用いて処理した。ジクロロメタン (2 ~ 3 mL) を使用して、反応容器の壁に付着したアルデヒドを溶解させた。反応物を室温で 12 時間撹拌した。その後、酢酸エチル (50 mL) を含む分液漏斗に反応混合物を移した。炭酸水素ナトリウムの 3 % 水溶液 (2 x 20 mL) 及び水 (3 x 15 mL) で有機相を 2 回洗浄した。無水硫酸マグネシウムを用いて有機相を乾燥させ、濾過し、蒸発させて粗ヒドラゾン 13、R = 4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシベンゼン (79 mg、71 %) とした。生成物は薄層クロマトグラフィーにより均一であった。

【数 17】

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 11.71 (br s, 1H, NH), 9.54 (br s, 1H, OH), 8.32 (br s, 1H, -CH=N-), 7.97 and 7.49 (2 x d, J = 8.2 Hz, 4H, aromatic), 7.32 (br s, 1H, aromatic), 7.21 (s, 2H, maleimide), 7.09 (br d, J = 7.8 Hz, 1H, aromatic) 6.83 (d, J = 8.2 Hz, 1H, aromatic), 3.82 (s, 3H, OCH₃).

【0153】

パニリンの代わりにイソ - パニリンを用いて、R = 4 - メトキシ - 3 - ヒドロキシベンゼンを有するヒドラゾン 13 を得た:

【数 18】

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 11.71 (br s, 1H, NH), 9.30 (br s, 1H, OH), 8.29 (br s, 1H, -CH=N-), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 2H, aromatic), 7.49 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatic), 7.27 (d, J = 1.5 Hz, 1H, aromatic), 7.22 (s, 2H, maleimide), 7.04 (dd, J = 1.6 and 8.2 Hz, 1H, aromatic) 6.96 (d, J = 8.2 Hz, 1H, aromatic), 3.80 (s, 3H, OCH₃).

【0154】

材料及び方法 - 生物学

インビトロ試験 (誘導体 4、5、8、10、11 及び 12 等について)

細胞培養 - 一般: ヒト単球細胞株 THP 1、齧歯類マクロファージ様細胞株 J 774 A . 1 及び RAW 264 . 7 並びに齧歯類 UBC 細胞株 MB 49 及び MB 49 - I を用いて、生物学的アッセイを実施した。10 % 熱不活性化ウシ胎仔血清 (FBS) が補充され、1 mM のピルビン酸ナトリウム、10 mM の 4 - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - 1 - エタンスルホン酸 (HEPES) 及び 50 μ g / mL のゲンタマイシンを含有する (10 % FBS RPMI - 1640 と呼ばれる) RPMI 培地中で細胞を維持した。5 % CO₂ を含有する水分飽和雰囲気中、37 °C で細胞を維持した。

THP 1 細胞、RAW 264 . 7 細胞及び J 774 A . 1 細胞は、様々な炎症性メディエーターに応答する単球及びマクロファージの機能及び分化を検討するのに最も広く使用されている細胞株である¹⁷、¹⁸。未分化の THP 1 細胞は、健康なドナー又は糖尿病及びアテローム性動脈硬化症などの炎症性疾患を有するドナーから単離された初代単球 / マクロファージに似ている¹⁹。ホルボールエステルを用いて処理すると、THP 1 細胞は、いくつかの点で天然の単球由来マクロファージを模倣するマクロファージ様細胞に分化する²⁰。先に記載したように、50 nM のホルボール 12 - ミリステート 13 - アセテート中で緑色蛍光タンパク質発現 (GFP) - THP 1 細胞を 18 時間培養して、単球からマクロファージへの分化を誘導した²¹ ~ ²³。細胞株 RAW 264 . 7 及び J 774 A . 1 は、Dr Tatiana Scorza (Universite du Qu

e b e c a M o n t r e a l , C a n a d a) によって提供された。これらの細胞株は、I F N 、T N F 、細菌感染、及びリポ多糖 (L P S) などの細菌産物に応答して大量の N O を産生するマクロファージ様細胞モデルである^{1 7}。細胞株 M B 4 9 - I は、M B 4 9 原発腫瘍の連続したインビボ継代によって開発された高度に浸潤性で腫瘍原性の U B C 細胞モデルである^{2 4}。

【 0 1 5 5 】

細胞シグナル伝達試験：1 0、2 5 又は 5 0 μ M のビヒクル (D M S O)、化合物 4 及び 5 を用いて、T H P 1 由来ヒトマクロファージ (7 5 0 \times 1 0³ 細胞 / m L) 及び M B 4 9 - I 細胞 (5 0 0 \times 1 0³ 細胞 / m L) を 3 0 分間前処理した。次いで、即時 (t = 0 分) 又は 5 0 U / m L の I F N 、2 5 n g / m L の I L 6 もしくは 1 0 n g / m L の T N F による 3 0 分間の活性化後に洗浄及び回収した。細胞溶解物を調製し、記載のようにイムノブロッティングにより分析した^{2 1 ~ 2 3、2 5}。要約すると、還元条件下で S D S - P A G E によりタンパク質サンプルを分離し、P V D F 膜に転写した。まず、ホスホ - S T A T 1 (p S T A T 1)、p S T A T 3 又は p - I B (いずれも 1 : 2 0 0 0) に対して、ウサギポリクローナル抗体を用いて 4 で一晩プロットをブローブした。次いで H R P 結合ヤギ抗ウサギ I g G 抗体 (1 : 3 0 0 0) とともに、プロットを室温で 1 時間インキュベートした。同じプロットをストリップし、次いで抗 S T A T 1 抗体又は抗 S T A T 3 抗体 (いずれも 1 : 1 0 0 0) を用いてブローブした。いずれの場合も、強化化学発光検出キット (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を用いて、ブローブされた分子を視覚化した。

【 0 1 5 6 】

ルシフェラーゼアッセイ。T N F に応答する N F B の転写活性を評価するために、C M V プロモーター、及び N F B 転写応答エレメントのタンデム反復の制御下で、単層 (2 4 ウェルプレートで 7 . 5 \times 1 0⁴ 細胞 / ウェル) で培養した M B 4 9 - I 細胞に、ホタルルシフェラーゼレポーター遺伝子の転写を可能にする発現ベクターを一時的にトランスフェクトした。ルシフェラーゼ遺伝子は、A T P、酸素及び M g⁺⁺ の存在下で D - ルシフェリンを酸化する 6 1 k D a の酵素をコードし、放出された光を測定することによって定量することができる蛍光産物を生じる。O p t i - M E M 還元血清培地及び L i p o f e c t a m i n e 2 0 0 0 (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を用いてトランスフェクションを実施した。次いで、ビヒクル (D M S O) 及び化合物 4 (1 0 μ M 又は 3 0 μ M) を用いて M B 4 9 - I 細胞を 3 0 分間前処理した。次いで、1 0 n g / m L 又は 5 0 n g / m L の T N F による活性化の 2 4 時間後に洗浄及び回収した。細胞溶解物と、ルシフェラーゼアッセイ試薬 (ルシフェリン、補酵素 A、A T P 及び M g²⁺ の混合物) とを混合し、ルミノメーターを用いて、生成された光を測定した。

【 0 1 5 7 】

表面抗原発現分析。膜受容体発現を検討するために、D M S O 又は化合物 4 及び 5 を用いて、T H P 1 由来ヒトマクロファージ (7 5 0 \times 1 0⁴ 細胞 / m L) を 3 時間前処理し、次いで未処理 (対照) のまま放置するか、5 0 U / m L の I F N を用いて 4 8 時間処理した。記載のようにフローサイトメトリーによって、M H C - I I 及び C D 4 0 の発現レベルを評価した^{2 1 ~ 2 3}。

【 0 1 5 8 】

運動性アッセイ。記載のように、I L 6 誘発性のマクロファージ細胞移動に対する化合物 4 及び 5 の効果を検討するために、インビトロスクラッチ創傷治癒アッセイを実施した^{2 6}。要約すると、2 4 ウェル組織培養プレートに T H P 1 由来ヒトマクロファージ (7 5 0 \times 1 0³ 細胞 / m L) を播種して、単層として約 7 0 ~ 8 0 % コンフルエントに到達させた。細胞単層を一方向に直線状に掻き取って、p 2 0 0 ピペットチップを用いて「スクラッチ」を作成した。画像取得中に同じ領域を得るために、第 1 の創傷ラインに垂直に別の直線をスクラッチして、各ウェルに十字を作成した。細胞破片を除去し、1 m L のハックス緩衝液で細胞を 1 回洗浄することにより、スクラッチの縁を平滑化した。ビヒクル (D M S O) 又は化合物 4 (1 0 μ M) 及び 5 (2 5 μ M) を用いて細胞単層を 3 時間前

処理し、次いで未処理（対照）のまま放置するか、 25 ng/mL のIL6を用いて48時間処理した。十字を基準点として使用して、倒立型蛍光顕微鏡下にプレートを置き、 $t = 0$ 時間及び $t = 48$ 時間にスクラッチの画像を取得した。Javaベースの画像処理プログラムImageJ (National Institutes of Health)を用いて運動性細胞の数を決定し、初期創傷 ($t = 0$ 時間)内の運動性細胞に対する $t = 48$ 時間の運動性細胞の対照のパーセント (%)として相対的な細胞運動性を表した。

【0159】

微小浸潤アッセイ。改変Boydenチャンバー (HTS Transwell System)内の人工基底膜を通過するヒトUBC T24細胞移動率の評価によって、浸潤を測定した。要約すると、膜は、 $0.4 \mu\text{m}$ の孔径を有するポリカーボネートフィルターから構成され、無血清培地で1:2 (v/v)に希釈したマトリゲル (BD Biosciences)を氷上で膜にコーティングした。チャンバーの上部ウェルのマトリゲルコートにT24細胞 (50×10^3 細胞)を播種したのに対して、下部ウェルに分極化M1マクロファージ (50×10^3 細胞)を播種した。 $0.4 \mu\text{m}$ の孔径を有するポリカーボネートフィルターは、細胞が下部ウェルの底に移動するには余りにも小さい。このように、48時間のインキュベーション期間後に、マトリゲルコートに浸潤しない細胞を除去し、Hoescht 33258色素を用いて、ポリカーボネートフィルターに移動した細胞を染色し、蛍光顕微鏡により視覚化し、計数した。

【0160】

3Dスフェロイドベースの腫瘍浸潤アッセイの細胞分析。製造者の指示 (Corning)に従って、細胞の調製及びスフェロイドの形成を実施した。要約すると、MDA-MB-231細胞を採取し、10%血清を補充した(完全)培養培地で 5×10^4 細胞/mLの濃度に希釈した。次いで、適切な96ウェルスフェロイド形成プレートに、 $100 \mu\text{L}$ の細胞懸濁液をピペティングし、 37°C /5% CO_2 で静置した。24時間毎にスフェロイド形成をモニターした。典型的な細胞凝集期間は48時間であった。スフェロイド形成完了時に、 $70 \mu\text{L}$ の完全培地を各ウェルから除去し、 $70 \mu\text{L}$ の無血清培地と交換した。これを毎日繰り返し、48時間の血清飢餓期間を生じさせた。その後、マトリゲルマトリックス ($100 \mu\text{L}$)を各ウェルに加えた。スイングバケット遠心分離機を用いて、 $300 \times g$ で5分間プレートを遠心分離した。次いで、 37°C /5% CO_2 インキュベーターにプレートを1時間かけて移して、ゲル形成を開始させた。1時間のゲル形成インキュベーション期間の後、適切なウェルにDMSO又は化合物4を60分かけて加えた。前処理後、培地を除去し、完全培地と交換し、その後、4日間毎日培地を交換した。0日目及び4日目の明視野画像を用いて、類腫瘍 (tumoroid)から離れて細胞外基質中に広がる浸潤性突起 (浸潤突起 (invadopodia))を測定した。これらの突起の役割は、マトリゲルマトリックスの分解であり、したがって浸潤プロセスを助ける。これらの突起を識別し、ImageJソフトウェア (National Institutes of Health)を使用して、それらの面積及び外周を適切に定量した。

【0161】

化学的方法によるNO及び尿素産生の評価。示されているように、MB49-I細胞及びJ774A.1細胞 (25×10^3 細胞/ウェル)を増殖させ、様々な抗炎症性誘導体、前駆体及び単官能誘導体を用いて3時間前処理した。その後、10%FBS RPMI-1640で細胞を2回洗浄し、次いでサイトカインINF及びTNFを用いて24時間活性化させて、NOを産生させた。NO産生は、前述のGriess試薬法を用いて測定した²⁷。この方法は、生理的条件下でNOの自発酸化によって形成された亜硝酸イオン (NO_2^-)の検出を含む。製造手順 (Life Technologies、#G-7921)に従って、等量のスルファニル酸及びN-(1-ナフチル)エチレンジアミンと一緒に混合してGriess試薬を形成する。 NO_2^- の存在下で、スルファニル酸をジアゾニウム塩に変換し、これをN-(1-ナフチル)エチレンジアミンとカップリングさせて、 548 nm で分光光度計 (BioTek、synergy HT)によって測定されるピンク色の着色を生じさせる。同様に、市販のキットを用いて、アルギナーゼ-

1 活性による尿素合成を測定した。

【0162】

MTTアッセイによる細胞増殖の評価。以前に記載されたように、抗増殖活性を評価するために、細胞生存率/増殖MTTアッセイを実施した^{21~23、25、28}。要約すると、100 μ Lの10% FBS RPMI - 1640を用いて96ウェルプレートにMB49-I細胞(5 \times 10³ 細胞/ウェル)を播種し、37、5% CO₂ 下で24時間培養した。0、10、25、37.5及び50 μ Mのビヒクル(DMSO)又は誘導体1及び1Aを用いて細胞を3時間前処理し、INF 及びTNF の非存在下又は存在下で24時間インキュベートした。培養期間の終了時に、5 mg/mLのメチルチアゾリルジフェニル-テトラゾリウムブロミド(MTT)溶液10 μ Lを各ウェルに加えた。MTT試薬を用いて3時間インキュベートした後、100 μ LのMTT可溶化緩衝液(10 mM HCl中10% SDS)を加え、細胞インキュベーター内にプレートを一晩静置してから吸光度を測定した。Microplate Reader Manager (Bio-Rad Laboratories製)を用いて、580 nmで光学密度を読み取った。

10

【0163】

統計分析。いずれの生物学的アッセイについても、3つの独立した実験から得られたデータを平均 \pm SDとして提示した。一方向ANOVA、続いてPrismソフトウェア、バージョン3.03(GraphPad, San Diego, CA)を用いたBonferroniポストテストによってデータを分析した。0.05のp値は統計的有意性を示すと考えた。

20

【0164】

インビボ試験(誘導体4及び8について)

異所性UBCモデル。実験のために、それぞれ体重15~18 gの雄のC57BL/6Jマウス(6~8週齢)を使用した(Charles Riverによって供給された)。室温で21に維持した12:12時間の明:暗サイクルの下、食餌及び水は自由に摂取させてマウスを飼育した。マウスの右側腹部に、MB49細胞、MB49-I細胞及びiNOS欠損MB49-I細胞(100 μ LのPBS中5 \times 10⁴)を皮下(s.c.)注入した。皮下腫瘍の増殖率をモニターした。24~28日間にわたり3日毎にデジタルキャリパーを使用し、IVISイメージングシステムを用いて15日目及び25日目にルシフェリン発光を測定することにより、腫瘍の大きさを測定した。盲検の観察者が腫瘍の長さ、幅とを測定した。腫瘍の体積は、式:長さ \times 幅 \times 0.52から計算し、ここで、長さ及び幅とは、互いに直交する方向でキャリパーを用いて測定した腫瘍直径とした。約10 mm³の腫瘍の大きさで、マウスを異なる群に分けた。対照群には治療としてPBSを投与した。示されているように、18~20日間にわたり3~4日毎に、異なる用量(90、150又は300 μ M)で化合物4又は8を腹腔内(i.p.)注入することにより、他の群を治療した^{24、27}。

30

【0165】

同所性UBCモデル。それぞれ体重15~18 gの雌のC57BL/6Jマウス(6~8週齢)を麻酔し、尿道を通して膀胱内腔に24ゲージのテフロンカテーテルを導入した。腫瘍移植に向けて膀胱を準備するために、電気焼灼によって膀胱壁に点状の病変を誘導した。次いで、100 μ LのPBS中の1 \times 10⁵のMB49-I細胞を膀胱に注入した。必要であれば、対照マウスを電気焼灼し、PBSを膀胱に注入した。細胞懸濁液を含むシリンジをカテーテル内に20分間維持して、膀胱壁に細胞を付着させた^{24、27}。

40

【0166】

統計分析。Prismソフトウェア、バージョン3.03(GraphPad, San Diego, CA)を用いて、Mann-Whitney検定を用いて腫瘍増殖を比較した。0.05のp値は統計的有意性を示すと考えた。

インビトロ及びインビボ実験の結果を図1~図25に示す。

【0167】

引用文献

50

1. LaFond, R. In *Cancer: The outlaw cell*, 3rd Ed., ACS publication, Washington, DC, 384 pages (2012)
2. Alderton GK. The tumor microenvironment drives metastasis, *Nat. Rev. Cancer* 16, 199 (2016)
3. Steeg PS. Targeting metastasis, *Nat. Rev. Cancer* 16, 201-218 (2016)
4. Baumann M, Krause M, Overgaard J, Debus J, Bentzen SM, Daartz J, Richter C, Zips D, Bortfeld T. Radiation oncology in the era of precision medicine, *Nat. Rev. Cancer* 16, 234-249 (2016) 10
5. Vanneman M, Dranoff G. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment, *Nat. Rev. Cancer* 12, 237-251 (2012)
6. Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat. Rev. Cancer* 12, 278-287 (2012) 20
7. Phillips AP, Mentha JW. US Patent 3,046,301 (October 29, 1959); Deglin JH, Vallerand AH. In *Guide des médicaments*, ERPI, pp. 424-427 (1995)
8. Remers, WA. Antineoplastic agents, In *Wilson and Gisvold's Textbook of organic Medicinal and pharmaceutical chemistry*, 9th Ed., Delgado JN, Remers, WA. J.B. Eds, Lippincott, New York, Chapter 8, 321-322 (1989)
9. Lau A, Berube G, Ford CHJ. Conjugation of doxorubicin to monoclonal anti-carcinoembryonic antigen antibody via novel thiol-directed cross-linking reagents, *Bioorg. Med. Chem.*, 3, 1299-1304 (1995) 30
10. Lau A, Berube G, Ford CHJ, Gallant M. Novel doxorubicin-monoclonal anti-carcinoembryonic antigen antibody immunoconjugate activity *in vitro*, *Bioorg. Med. Chem.*, 3, 1305-1312 (1995)
11. Hamelin-Morrisette J, Cloutier S, Girouard J, Belgorosky D, Eiján A-M, Legault J, Reyes-Moreno C, and Bérubé G. Identification of an anti-inflammatory derivative with anti-cancer potential: The impact of each of its structural components on inflammatory responses in macrophages and bladder cancer cells, *Eur. J. Med. Chem.*, 96, 259-269 (2015) 40
12. Taha M, Ismail NH Lalani S, Fatmi MQ, Atia-tul-Wahab, Siddiqui S, Khan KM, Imran S, Choudhary MI. Synthesis of novel inhibitors of α -glucosidase based on the benzothiazole skeleton containing benzohydrazide moiety and their molecular docking studies, *Eur. J. Med. Chem.*, 92, 387-400 (2015)

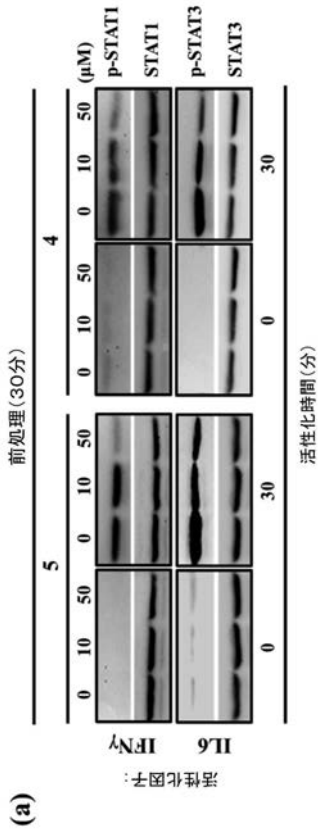
13. Perrin DD, Armarego CF. In *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed., Pergamon Press, Oxford, New York (1988)
14. Still WC, Kahn M, Mitra A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution, *J. Org. Chem.*, 43, 2923-2925 (1978)
15. Willner D, Trail PA, Hofstead SJ, King HD, Lasch SJ, Braslawsky GR, Greenfield RS, Kaneko T, Firestone RA. (6-Maleimidocaproyl)hydrazide of doxorubicin. A new derivative for the preparation of immunoconjugates of doxorubicin, *Bioconjug. Chem.*, 4, 521-527 (1993) 10
16. Heindel ND, Zhao HR, Egolf RA, Chang CH, Schray KJ, Emrich JG, McLaughlin JP, Woo DV, A novel heterobifunctional linker for formyl to thiol coupling, *Bioconjug. Chem.*, 2, 427-430 (1991)
17. Lemaire S, Minget-Leclercq MP, Tulkens PM, Van Bambeke F. Study of macrophage functions in murine J774 cells and human activated THP-1 cells exposed to oritavancin, a lipoglycopeptide with high cellular accumulation, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58 2059-2066 (2014) 20
18. Auwerx J, The human leukemia cell line, THP-1: A multifaceted model for the study of monocyte-macrophage differentiation, *Experientia*, 47, 22-31 (1991)
19. Qin Z, The use of THP-1 cells as a model for mimicking the function and regulation of monocytes and macrophages in the vasculature, *Atherosclerosis*, 221, 2-11 (2012)
20. Daigneault M, Preston JA, Marriott HM, Whyte MK, Dockrell DH. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages, *PloS one*, 5, 0008668 (2010) 30
21. Dufresne M, Dumas G, Asselin E, Carrier C, Pouliot M, Reyes-Moreno C, Pro-inflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages differentially modulate cell survival and invasion of human bladder carcinoma T24 cells, *Mol. Immunol.*, 48, 1556-1567 (2011)
22. Dumas G, Dufresne M, Asselin E, Girouard J, Carrier C, Reyes-Moreno C. CD40 pathway activation reveals dual function for macrophages in human endometrial cancer cell survival and invasion, *Cancer Immunol. Immunother.*, 62, 273-283,(2013) 40
23. Dallagi A, Girouard J, Hamelin-Morrisette J, Dadzie R, Laurent L, Vaillancourt C, Lafond J, Carrier C, Reyes-Moreno C. The activating effect of IFN-gamma on monocytes/macrophages is regulated by the LIF-trophoblast-IL-10 axis via Stat1 inhibition and Stat3 activation, *Cell. Mol. Immunol.*, 12, 326-341 (2015).

24. Fabris VT, Lodillinsky C, Pampena MB, Belgorosky D, Lanari C, Eijan AM. Cytogenetic characterization of the murine bladder cancer model MB49 and the derived invasive line MB49-I, *Cancer Genet.*, 205, 168-176 (2012).
25. Leduc, Bourassa V, Asselin E, Leclerc P, Lafond, Reyes-Moreno C. Leukemia Inhibitory Factor Regulates Differentiation of Trophoblast-Like BeWo Cells Through the Activation of JAK/STAT and MAPK3/1 MAP Kinase-Signaling Pathways, *Biol. Reprod.*, 86, 54, 1-10 (2012)
26. Menon MB, Ronkina N, Schwermann J, Kotlyarov A, Gaestel M. Fluorescence-based quantitative scratch wound healing assay demonstrating the role of MAPKAPK-2/3 in fibroblast migration, *Cell. Motil. Cytoskeleton*, 66, 1041-1047 (2009) 10
27. Belgorosky D, Langle Y, Prack Mc Cormick B, Colombo L, Sandes E, Eijan A.M. Inhibition of nitric oxide is a good therapeutic target for bladder tumors that express iNOS, *Nitric Oxide*, 36, 11-18 (2014)
28. Carmichael J, Degraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JD. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of radiosensitivity. *Cancer Res.*, 47, 943-946 (1987) 20

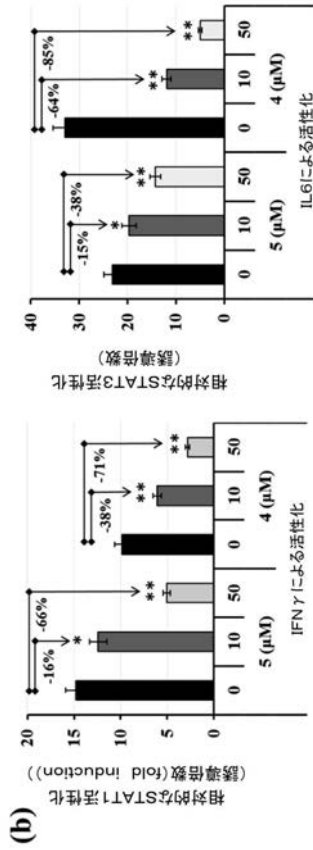
【 0 1 7 0 】

本開示は特定の例に関して記載されている。この説明は、その範囲を限定するのではなく、本開示の理解を助けることを意図したものである。本明細書に記載された本開示の範囲から逸脱することなく、本開示に様々な変更を加えることができ、そのような変更は本明細書によって包含されることが意図されていることは、当業者には明らかであろう。

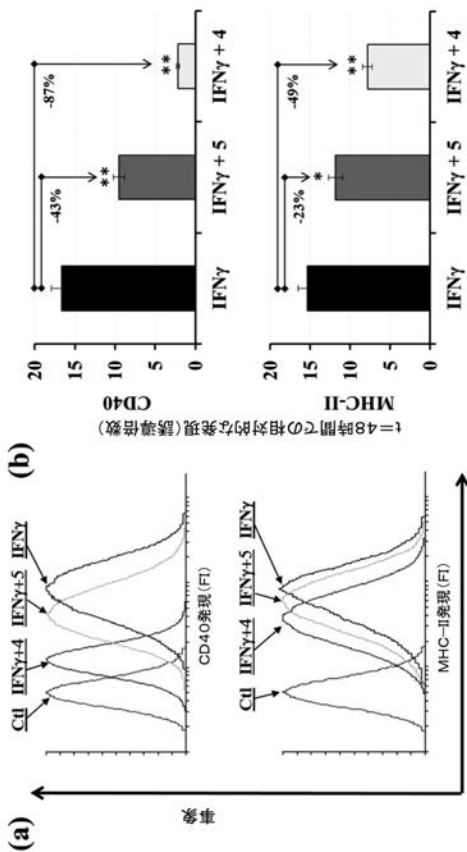
【図 1 - 1】



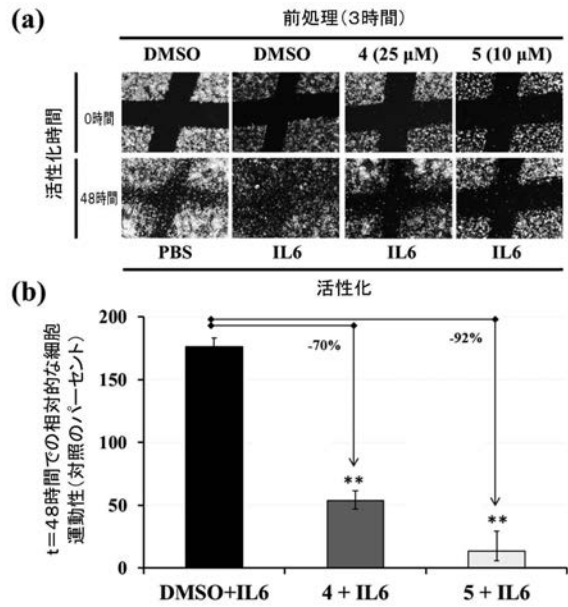
【図 1 - 2】



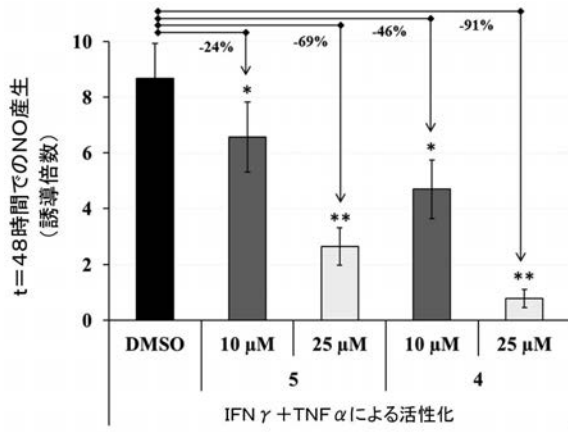
【図 2】



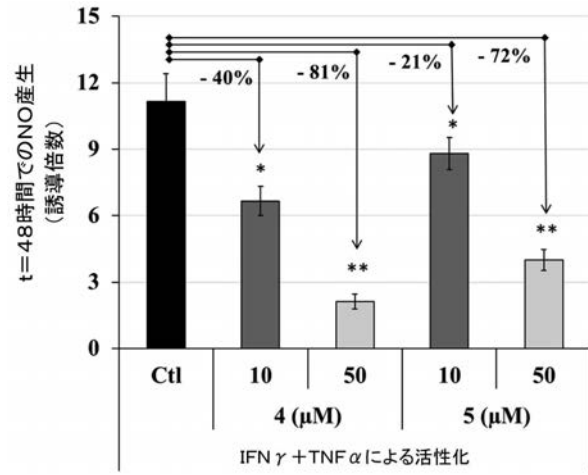
【図 3】



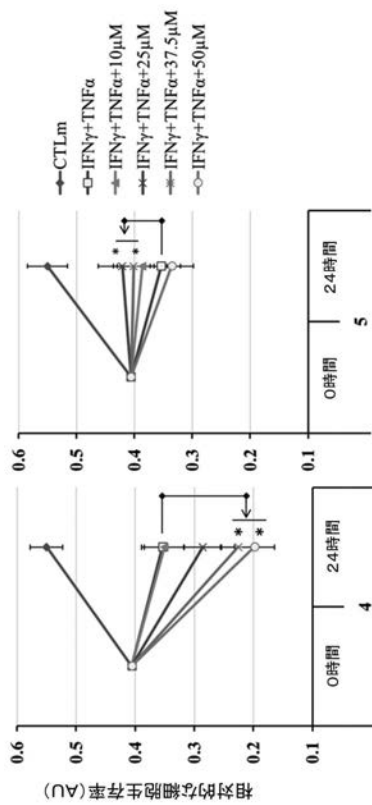
【図4】



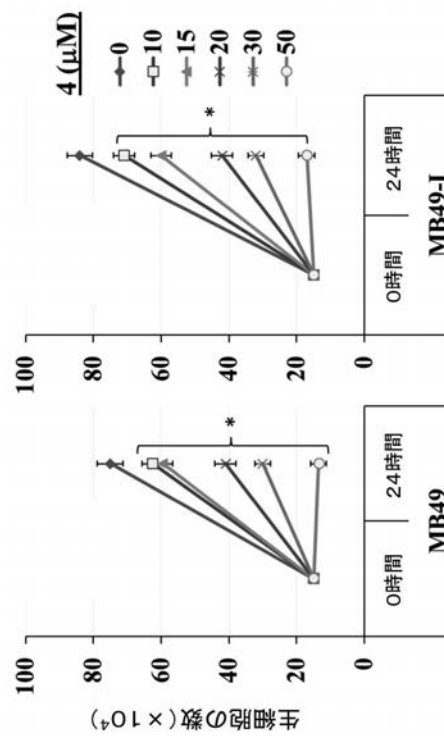
【図5】



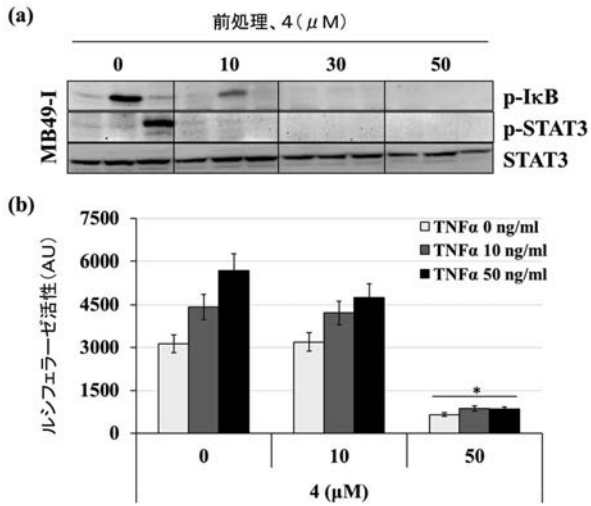
【図6】



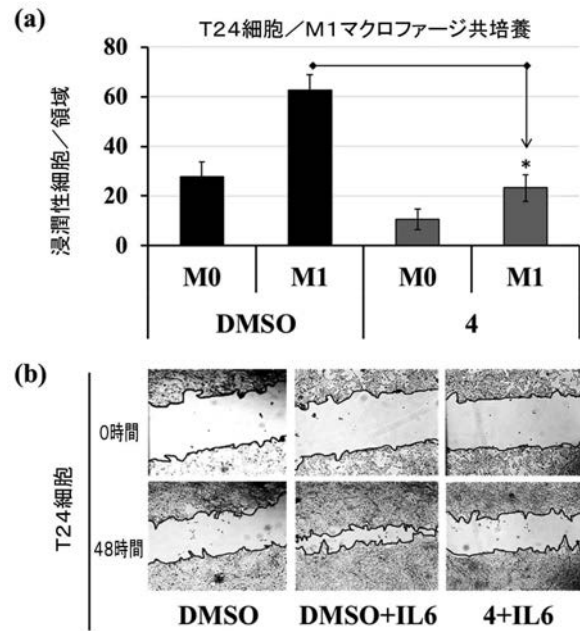
【図7】



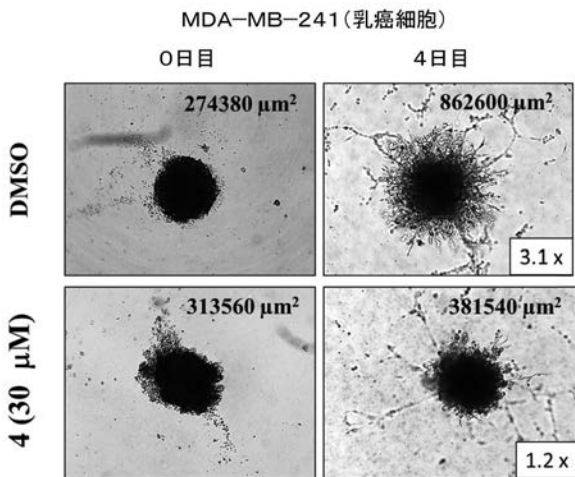
【図 8】



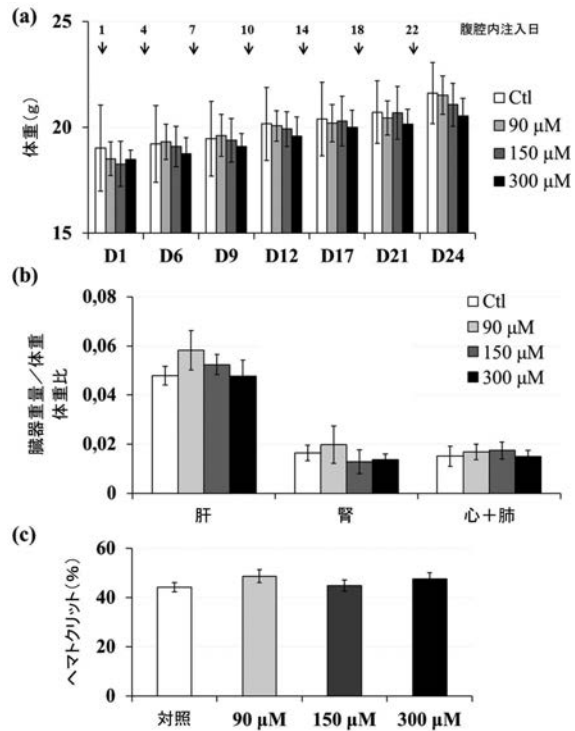
【図 9】



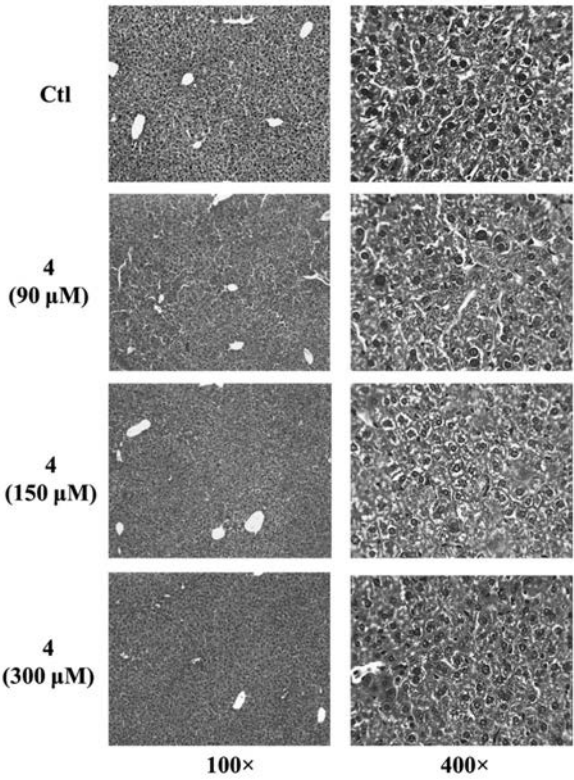
【図 10】



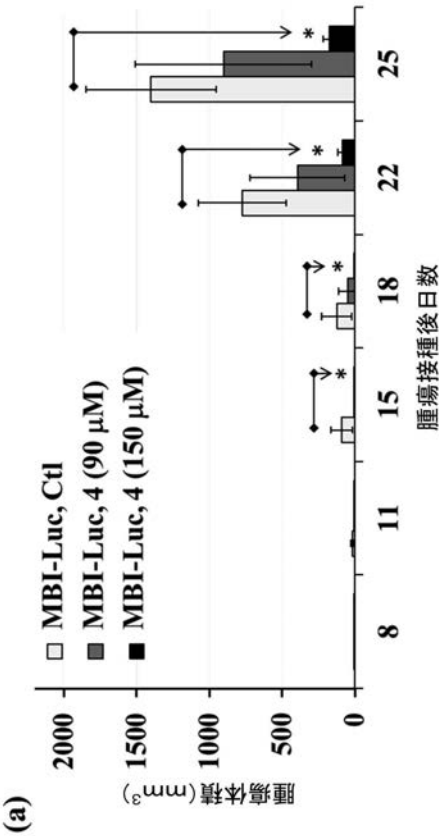
【図 11】



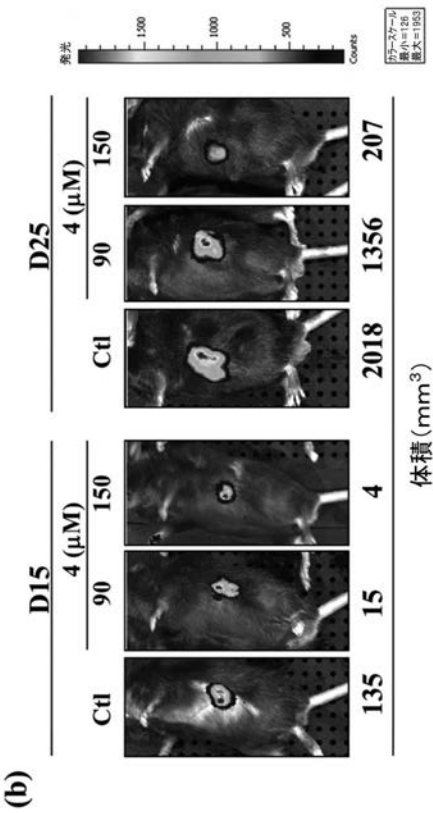
【 図 1 2 】



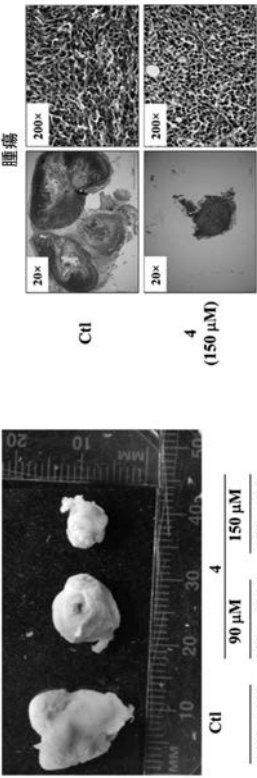
【 図 1 3 - 1 】



【 図 1 3 - 2 】



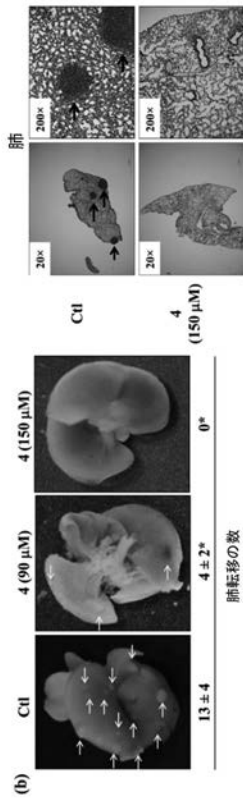
【 図 1 4 - 1 】



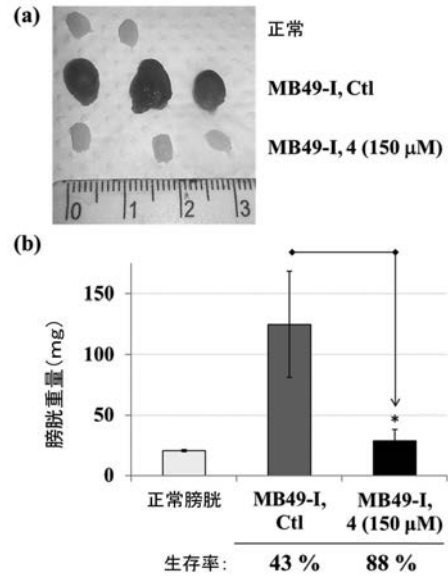
(a)

(b)

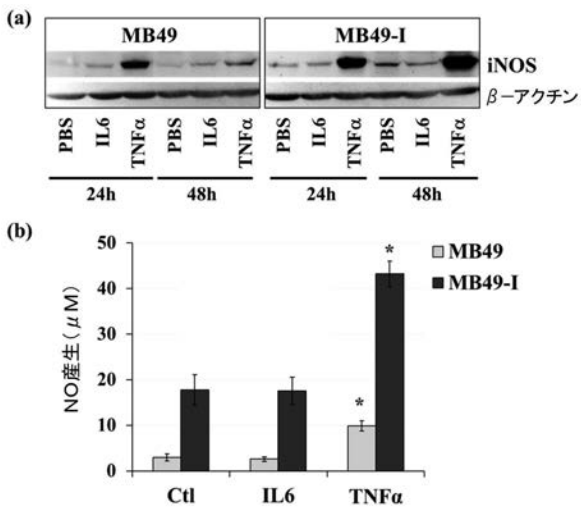
【図 14 - 2】



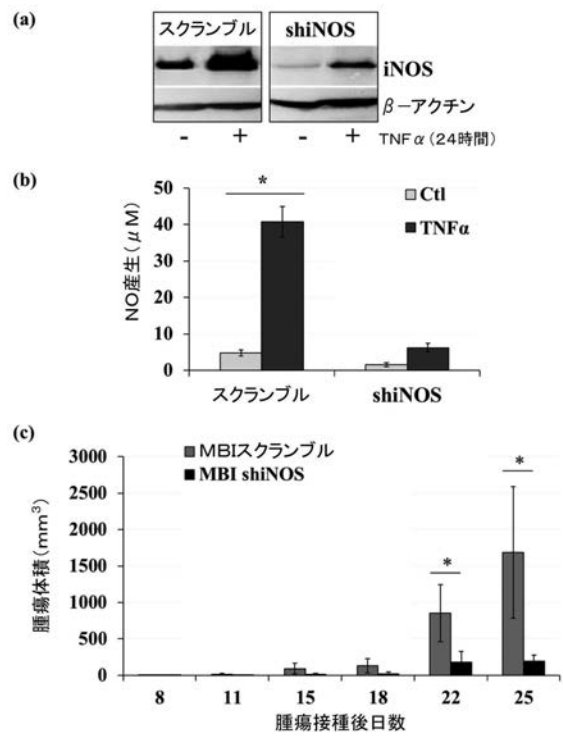
【図 15】



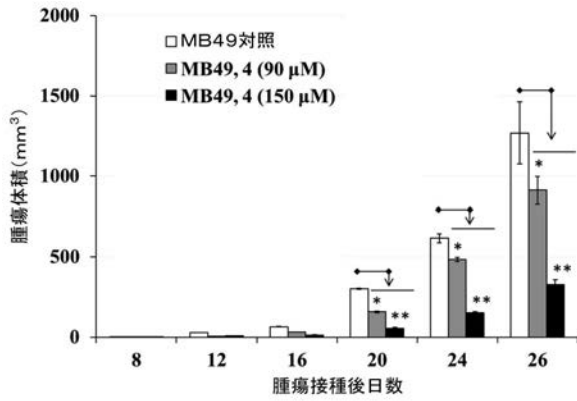
【図 16】



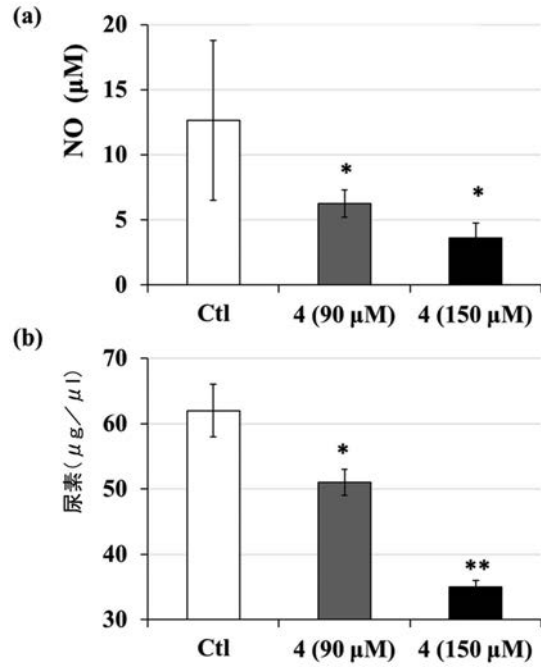
【図 17】



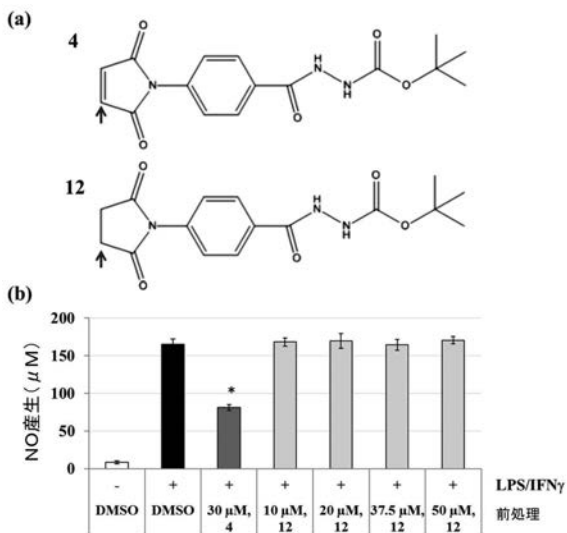
【図 18】



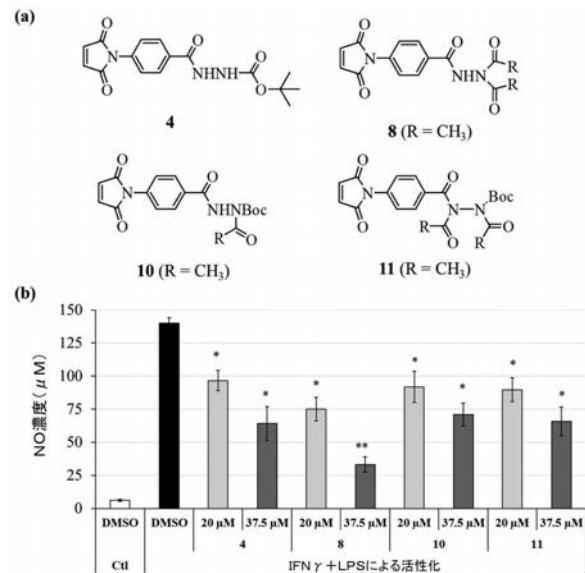
【図 19】



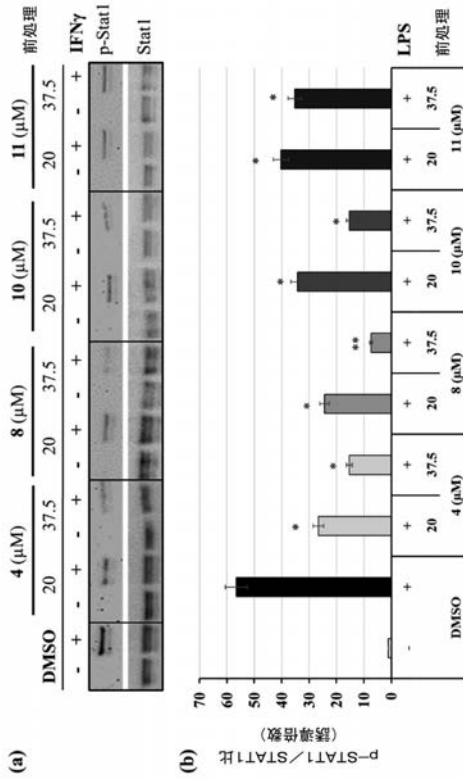
【図 20】



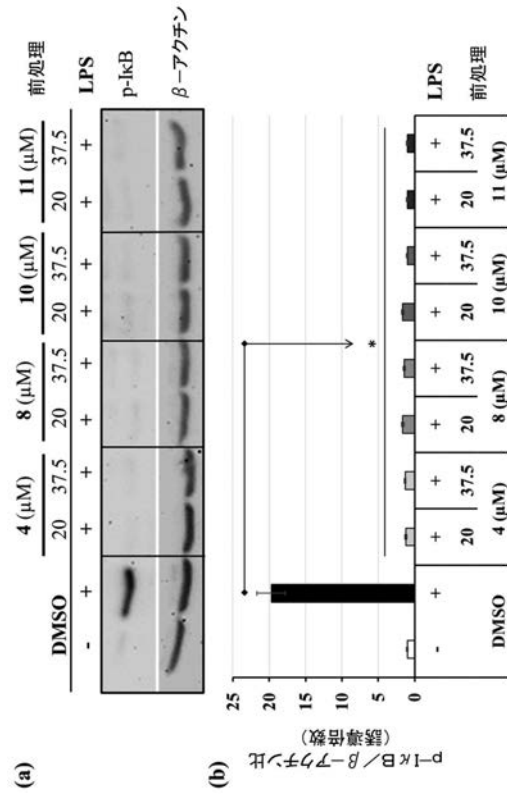
【図 21】



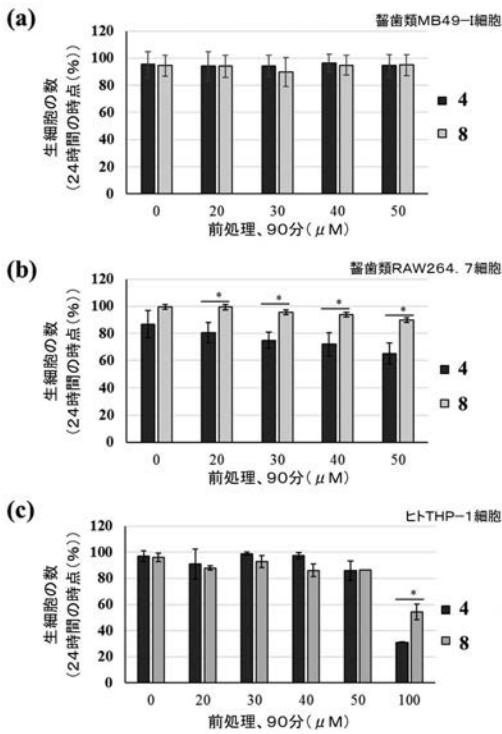
【図 2 2】



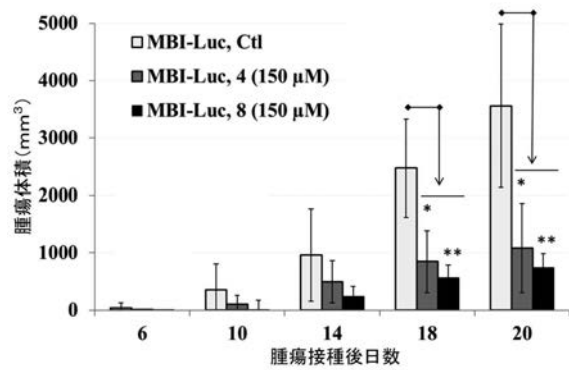
【図 2 3】



【図 2 4】



【図 2 5】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2017/050432
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>C07D 207/452</i> (2006.01), <i>A61K 31/4035</i> (2006.01), <i>A61P 35/00</i> (2006.01), <i>A61P 35/04</i> (2006.01), <i>C07D 207/456</i> (2006.01), <i>C07D 209/48</i> (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC (2006.01): <i>C07D 207/452</i> , <i>A61K 31/4035</i> , <i>A61P 35/00</i> , <i>A61P 35/04</i> , <i>C07D 207/456</i> , <i>C07D 209/48</i>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) STN CAPlus (keywords = hydrazine, hydrazide, carbazate, cancer, amino benzoyl), STN CAPlus structural search, Canadian Patent Database (IPC + keywords)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CA 2,586,080 (NEAMATI et al.) 31 August 2006 (31-08-2006) *Abstract & Table 5, Compound SC29 & SC30*	1-7, 15-35, 52-55
X	MOHAMED et al., <i>Poly. Deg. Stab.</i> , 26 June 2016 Vol. 128, pp. 46-54. *Scheme 1, Derivatives 1-4*	1-5
X	BERUBE et al., <i>E. J. Med. Chem.</i> , 13 April 2015 , Vol. 96, pp. 259-268. *Scheme 1, Compounds 1 & 1A*	52-55
X	BHAT et al., <i>J. Med. Chem.</i> , 10 October 2015 , Vol. 58, pp. 8850-8867. *Scheme 1, Compounds 1-10P*	1-5, 8-9, 15
X	MANE et al., <i>Poly. Chem.</i> , 2014 , Vol. 5, pp. 2725-2735. *Scheme 1, Compound 3*	1-5, 14
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 21 June 2017 (21-06-2017)		Date of mailing of the international search report 29 June 2017 (29-06-2017)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 819-953-2476		Authorized officer Tung Siu (819) 639-9361

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/CA2017/050432
Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)	
<p>This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <input checked="" type="checkbox"/> Claim Nos.: 36-51 and 56-72 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: Claims 36-51 and 56-72 are directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, which the International Searching Authority is not required to search under PCT Rule 39.1(iv). However, this Authority has carried out a search based on the alleged effect or purpose/use of the product defined in claims 36-51 and 56-72. 2. <input type="checkbox"/> Claim Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: 3. <input type="checkbox"/> Claim Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). 	
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
<p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. 2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees. 3. <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos.: 4. <input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos.: <p>Remark on Protest</p> <p><input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</p> <p><input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.</p> <p><input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
PCT/CA2017/050432

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	AL-AZZAWI et al. <i>Int. J. Res. Pharm. Chem.</i> , 2014 , Vol. 4(4), pp. 755-762. *Scheme 1, Table 1, Compounds 3, 9, & 11*	1-5, 15
X	DESAI et al., <i>J. Chem. Pharm. Res.</i> , 2014 , Vol. 6(6), pp. 2624-2627. *Scheme I compounds 1 & 2a-2**	1-5, 8-9, 15
X	FAHMY et al. <i>Molecules</i> , 2012 , Vol. 17, pp. 7927-7940. *Scheme 1, compound BMPH*	1-7, 15
X	TASLER et al., <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> , 2005 , Vol. 15, pp. 2876-2880, *Fig. 2, Compound C6*	1-5, 14-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family membersInternational application No.
PCT/CA2017/050432

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
CA2586080A1	31 August 2006 (31-08-2006)	AU2005327921A1	31 August 2006 (31-08-2006)
		CN101090631A	19 December 2007 (19-12-2007)
		EP1816913A1	15 August 2007 (15-08-2007)
		JP2008518964A	05 June 2008 (05-06-2008)
		US2006142294A1	29 June 2006 (29-06-2006)
		US7947682B2	24 May 2011 (24-05-2011)
		US2006235034A1	19 October 2006 (19-10-2006)
		US2009093489A1	09 April 2009 (09-04-2009)
		US2010120781A1	13 May 2010 (13-05-2010)
		US2011034472A1	10 February 2011 (10-02-2011)
		US2011275646A1	10 November 2011 (10-11-2011)
		WO2006091246A1	31 August 2006 (31-08-2006)

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . テフロン

F ターム(参考) 4C069 AC31 AD08 BB08 BB51 BC12
 4C086 AA01 AA02 AA03 BC08 BC11 MA01 MA04 NA14 ZB21 ZB26
 4C204 CB04 DB30 EB03 FB24 GB01