

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4674045号
(P4674045)

(45) 発行日 平成23年4月20日 (2011. 4. 20)

(24) 登録日 平成23年1月28日 (2011. 1. 28)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 401/04 (2006. 01)

A 6 1 K 31/506 (2006. 01)

A 6 1 K 31/5377 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

C O 7 D 401/04 C S P

A 6 1 K 31/506

A 6 1 K 31/5377

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 11 (全 58 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-574655 (P2003-574655)
 (86) (22) 出願日 平成15年3月11日 (2003. 3. 11)
 (65) 公表番号 特表2005-526766 (P2005-526766A)
 (43) 公表日 平成17年9月8日 (2005. 9. 8)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2003/002510
 (87) 国際公開番号 W02003/076438
 (87) 国際公開日 平成15年9月18日 (2003. 9. 18)
 審査請求日 平成17年11月29日 (2005. 11. 29)
 (31) 優先権主張番号 60/363, 799
 (32) 優先日 平成14年3月13日 (2002. 3. 13)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 PCT/EP02/14833
 (32) 優先日 平成14年12月23日 (2002. 12. 23)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

前置審査

(73) 特許権者 390033008
 ジヤンセン・ファーマシューチカ・ナーム
 ローゼ・フエンノートシャツプ
 JANSSEN PHARMACEUTI
 CA NAAMLOZE VENNOOT
 SCHAP
 ベルギー・ビー-2340-ビールセ・ト
 ウルンホウトセベーク30
 (74) 代理人 110000741
 特許業務法人小田島特許事務所
 (72) 発明者 バン・エメレン, クリストフ
 ベルギー・ビー-2340-ビールセ・トウ
 ルンホウトセベーク30・ジヤンセン・フ
 アーマシューチカ・ナームローゼ・フエン
 ノートシャツプ

最終頁に続く

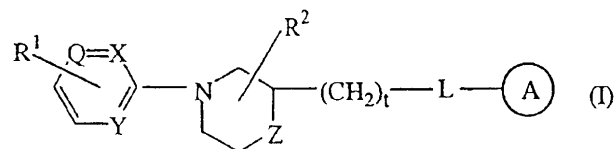
(54) 【発明の名称】 ヒストンデアセチラーゼの新規な阻害剤としてのピペラジニル、ピペリジニルおよびモルホ
 リニル誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I)

【化 1】



〔式中、

t は、0 または 1 であり、そして t が 0 の時には直接結合を意図し、

Q は、CH または R¹ 基が結合する場合には炭素であり、

X は、窒素であり、

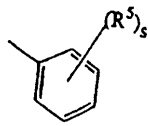
Y は、窒素または CH または R¹ 基が結合する場合には炭素であり、Z は、-NH-、-O- または -CH₂- であり、R¹ は、-C(O)NH(OH) であり、R² は、水素、ヒドロキシ、C₁₋₆ アルキルまたはアリール C₁₋₆ アルキルであり、-L- は、-NHC(O)- または -NH SO₂- から選択される二価の基であり、

【化 5】

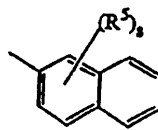


は、

【化 6】



(a-1)



(a-20)

10

から選択される基であり、ここで、

各 s は、独立して、0 または 1 であり、各 R^5 は、独立して、水素またはフェニルから選択される]

で表される化合物、または該化合物の N-オキサイド、薬学的に受け入れられる付加塩もしくは立体化学異性体。

【請求項 2】

 t が 0 である、

請求項 1 記載の化合物。

20

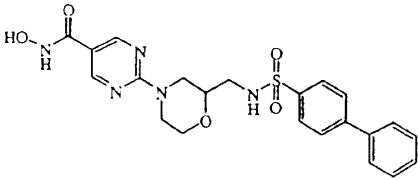
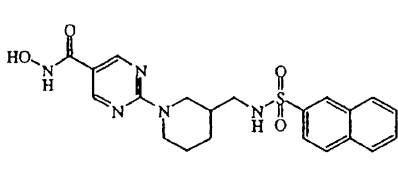
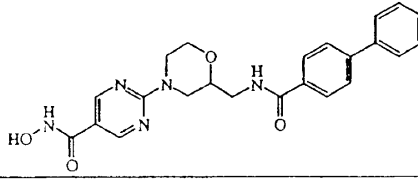
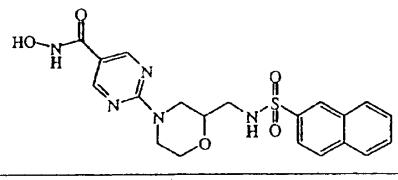
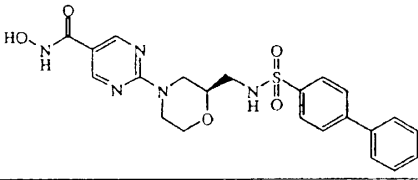
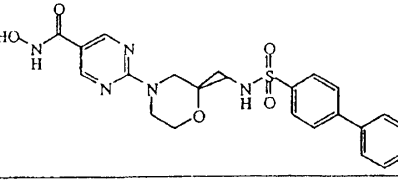
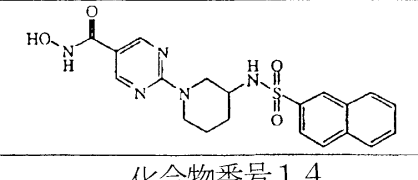
【請求項 3】

 t が 1 である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

下記表に示される化合物番号 4、化合物番号 10、化合物番号 8、化合物番号 6、化合物番号 1、化合物番号 12 および化合物番号 14

【表 1】

	
化合物番号 4	化合物番号 10
	
化合物番号 8	化合物番号 6
	
化合物番号 1	化合物番号 12
	
化合物番号 14	

から選択される請求項 1 記載の化合物。

【請求項 5】

薬剤的に受け入れられる担体および請求項 1 から 4 のいずれかに記載の化合物を活性材料として治療有効量で含有して成る薬剤組成物。

【請求項 6】

請求項 5 記載の薬剤組成物を製造する方法であって、薬学的に受け入れられる担体と請求項 1 から 4 のいずれかに記載の化合物を密に混合することを特徴とする、上記方法。

【請求項 7】

薬剤として使用するための請求項 1 から 4 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 8】

増殖性疾患治療用薬剤を製造するための請求項 1 から 4 のいずれかに記載化合物の使用。

【請求項 9】

請求項 1 記載の化合物を製造する方法であって、

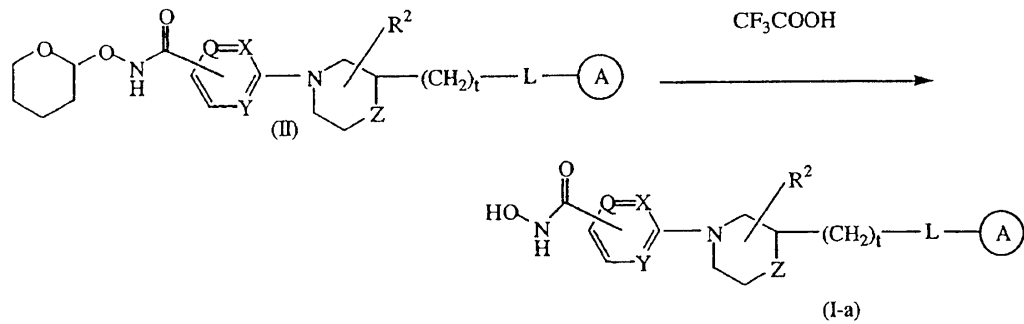
10

20

30

40

【化 1 4】



10

式 (I I) で表される中間体とトリフルオロ酢酸を反応させて式 (I - a) [式中、Q、X、Y、Z、L、R²、t および

【化 5】



は、それぞれ、請求項 1 における式 (I) の定義と同義である」で表されるヒドロキサム酸を生じさせることを特徴とする、上記方法。

【請求項 1 0】

20

生物学的サンプルにおける HDAC を検出または同定するための試験キットであって、有効成分として標識を付けた請求項 1 記載の化合物を含んで成る、上記キット。

【請求項 1 1】

抗癌剤と請求項 1 から 4 のいずれかに記載の化合物の併用剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) の酵素活性を抑制する化合物に関する。本発明は、更に、それらを製造する方法、それらを含有させた組成物ばかりでなく、それらを HDAC の阻害でインビトロおよびインビボの両方で用いること、そして薬剤、例えば増殖状態、例えば癌および乾癬などを防止する薬剤として用いることにも関する。

30

【背景技術】

【0 0 0 2】

あらゆる真核細胞において、クロマチンのゲノム DNA とヒストンが結合してヌクレオソームを形成している。各ヌクレオソームは各ヒストン H2A、H2B、H3 および H4 の 2 個のコピーで構成されている蛋白質オクタマー (octamer) を含有する。DNA がそのような蛋白質中心部の回りに巻き付いていてヒストンの塩基性アミノ酸と DNA の負に帯電しているホスフェート基が相互作用している。そのような中心ヒストンの最も一般的な翻訳後修飾は、保存されている高度に塩基性の N-末端リシン残基が有する ε-アミノ基の可逆的アセチル化である。ヒストンのアセチル化の定常状態は、競合するヒストンアセチルトランスフェラーゼ 1 種または 2 種以上とヒストンデアセチラーゼ (本明細書で「HDAC」と呼ぶ) 1 種または 2 種以上の間の動的平衡で決まる。長年に渡って、ヒストンのアセチル化および脱アセチルは転写調節に関係しているとされていた。いろいろなヒストンアセチルトランスフェラーゼおよびヒストンデアセチラーゼをコード化する遺伝子のクローン化が最近行われ、それによって、ヒストンアセチル化と転写調節の間の関係を説明することが可能になった。ヒストンの可逆的アセチル化が起こると結果としてクロマチンのリモデリングがもたらされる可能性があり、このように、それは遺伝子転写の調節機構として働く可能性がある。一般的には、ヒストンが過度にアセチル化されると遺伝子発現が助長される一方でヒストンの脱アセチルは転写抑制と相互に関係している。ヒストンアセチルトランスフェラーゼは転写共活性化因子 (transcription

40

50

al coactivators)として働くことが分かった一方でヒストンデアセチラーゼは転写抑制経路に属することが分かった。

【0003】

正常な細胞増殖にはヒストンのアセチル化と脱アセチルの間の動的平衡が必須である。ヒストンデアセチラーゼを阻害すると結果として細胞周期制止、細胞分化、アポトーシスそして形質転換した表現型の逆転がもたらされる。従って、HDAC阻害剤は細胞増殖性疾患または状態の治療で大きな治療効力を持ち得る（非特許文献1）。

【0004】

ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤の研究によって、実際にそのような酵素は細胞の増殖および分化で重要な役割を果たしていることが分かってきている。阻害剤であるトリコスタチンA（Trichostatin A）（TSA）はG1およびG2段階の両方で細胞周期制止をもたらし、いろいろな細胞系の形質転換した表現型を逆転させ、そしてフレンド白血病細胞などの分化を誘発する。TSA（およびスベロイルアニリドヒドロキサム酸SAHA）は細胞増殖を抑制し、最終分化を誘発しかつマウスにおける腫瘍の発生を抑制すると報告された（非特許文献2）。

【0005】

トリコスタチンAはまた線維症、例えば肝臓線維症および肝硬変などの治療で用いるにも有用であると報告された（特許文献1）。

【0006】

とりわけ一般式 $Cy-L^1-Ar-Y^1-C(O)-NH-Z$ で表されるヒストンデアセチラーゼ阻害剤が特許文献2に開示されており、細胞増殖性疾患および状態を治療する組成物および方法が提供されている。

【0007】

式 $Cy^2-Cy^1-X-Y^1-W$ および $Cy-S(O)_2-NH-Y^3-W$ で表されるヒストンデアセチラーゼ阻害剤が特許文献3に開示されており、更に、細胞増殖性疾患および状態を治療する組成物および方法も提供されている。

【0008】

解決しようとする課題は、高い酵素活性を有しかつまた有利な特性、例えば細胞活性および向上した生利用度、好適には経口生利用度なども示しかつ副作用がほとんどか全くないヒストンデアセチラーゼ阻害剤を提供することにある。

【特許文献1】1998年3月11日付けで公開されたGeerts他のヨーロッパ特許出願公開第0 827 742号

【特許文献2】2001年5月31日付けで公開された特許出願WO 01/38322

【特許文献3】2001年9月27日付けで公開された特許出願WO 01/70675

【非特許文献1】Marks他、Nature Reviews、Cancer 1:194-202、2001

【非特許文献2】Finnin他、Nature、401:188-193、1999

【発明の開示】

【0009】

本発明の新規な化合物はこの上に記述した問題を解決するものである。本化合物は構造の点で従来技術とは異なる。

【0010】

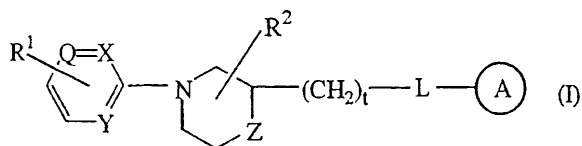
本発明の化合物はヒストンデアセチラーゼをインビトロで阻害する優れた酵素活性を示す。本化合物は細胞活性に関して有利な特性を有しかつG1およびG2両方のチェックポイントにおける細胞周期進行の抑制に関して特異的特性[p21誘導能力]を有する。本発明の化合物は良好な代謝安定性および高い生利用度を示し、より詳細には、経口生利用度を示す。

【0011】

本発明は、式(I)

【0012】

【化 1】



【0013】

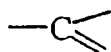
〔式中、

t は、0、1、2、3 または 4 であり、そして t が 0 の時には直接結合を意図し、
各 Q は、窒素または

10

【0014】

【化 2】



【0015】

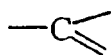
であり、

各 X は、窒素または

【0016】

20

【化 3】



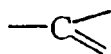
【0017】

であり、

各 Y は、窒素または

【0018】

【化 4】



30

【0019】

であり、

各 Z は、 —NH— 、 —O— または $\text{—CH}_2\text{—}$ であり、

R^1 は、 —C(O)NR^3R^4 、 —NHC(O)R^7 、 —C(O)—C_{1-6} アルカンジ
イル SR^7 、 $\text{—NR}^8C(O)N(OH)R^7$ 、 $\text{—NR}^8C(O)C}_{1-6}$ アルカンジ
イル SR^7 、 $\text{—NR}^8C(O)C=N(OH)R^7$ または別の Zn-キレート基であり、こ
こで、

R^3 および R^4 は、各々独立して、水素、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、アミノ C_{1-6} アルキルまたはアミノアリールから選択され、

40

R^7 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルカルボニル、アリール C_{1-6} アル
キル、 C_{1-6} アルキルピラジニル、ピリジノン、ピロリジノンまたはメチルイミダゾリ
ルであり、

R^8 は、水素または C_{1-6} アルキルであり、

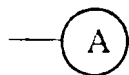
R^2 は、水素、ヒドロキシ、アミノ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキル、
 C_{1-6} アルキルオキシ、アリール C_{1-6} アルキル、アミノカルボニル、ヒドロキシカ
ルボニル、アミノ C_{1-6} アルキル、アミノカルボニル C_{1-6} アルキル、ヒドロキシカ
ルボニル C_{1-6} アルキル、ヒドロキシアミノカルボニル、 C_{1-6} アルキルオキシカル
ボニル、 C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキルまたはジ (C_{1-6} アルキル) アミノ

50

C_{1-6} アルキルであり、
 $-L-$ は、 $-NR^9C(O)-$ 、 $-NR^9SO_2-$ または $-NR^9CH_2-$ から選択される二価の基であり、ここで、 R^9 は、水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{3-10} シクロアルキル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アルキルまたはジ(C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルであり、

【0020】

【化5】

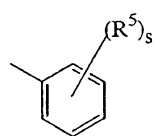


【0021】

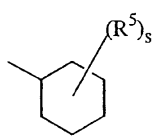
は、

【0022】

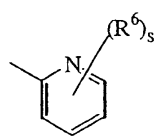
【化 6】



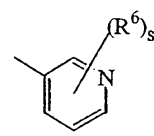
(a-1)



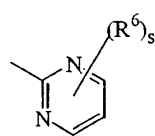
(a-2)



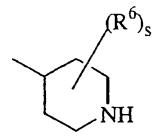
(a-3)



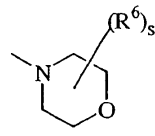
(a-4)



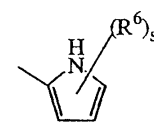
(a-5)



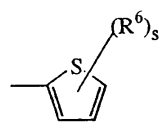
(a-6)



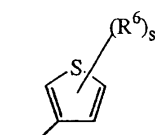
(a-7)



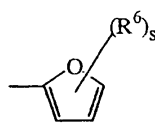
(a-8)



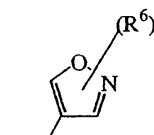
(a-9)



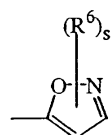
(a-10)



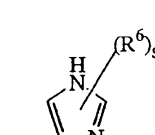
(a-11)



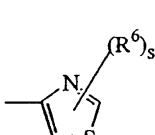
(a-12)



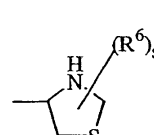
(a-13)



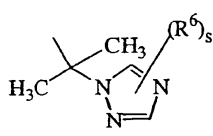
(a-14)



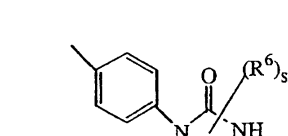
(a-15)



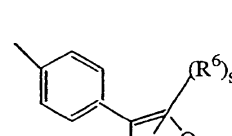
(a-16)



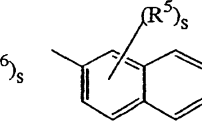
(a-17)



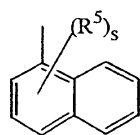
(a-18)



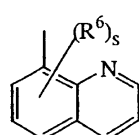
(a-19)



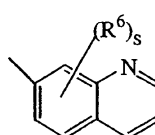
(a-20)



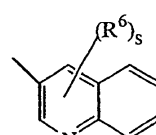
(a-21)



(a-22)



(a-23)



(a-24)

【 0 0 2 3 】

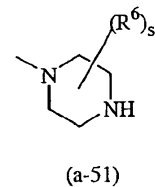
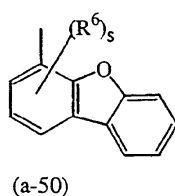
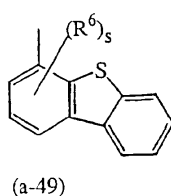
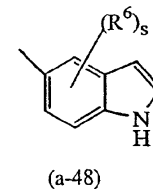
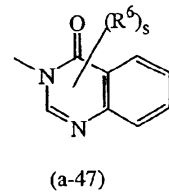
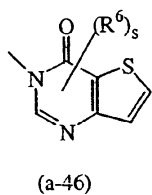
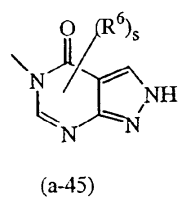
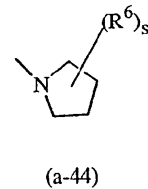
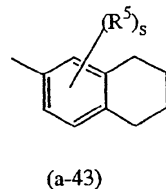
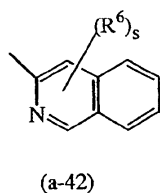
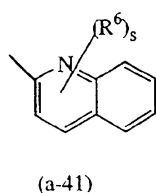
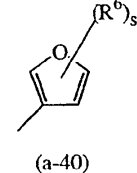
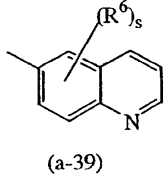
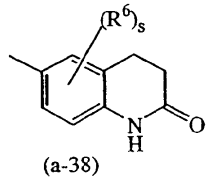
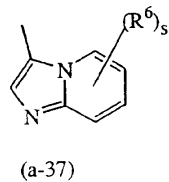
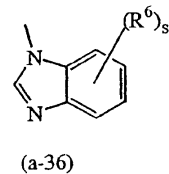
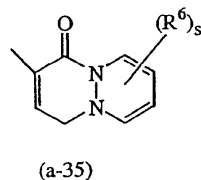
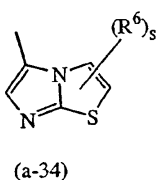
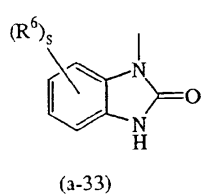
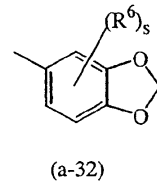
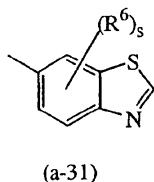
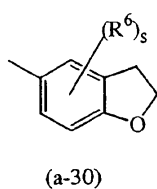
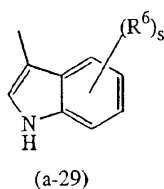
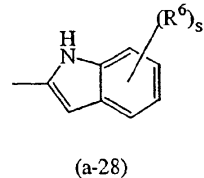
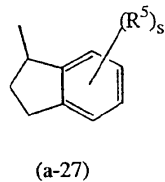
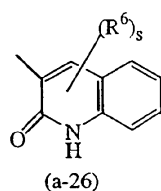
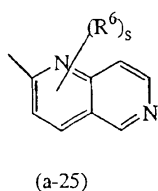
10

20

30

40

【化 7】



【0024】

から選択される基であり、ここで、

各 s は、独立して、0、1、2、3、4 または 5 であり、

各 R^5 および R^6 は、独立して、水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロ C_{1-6} アルキル；トリハロ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキル；アリールおよび C_{3-10} シクロアルキルで置換されている C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルカルボニル； C_{1-6}

10

20

30

40

50

- 6 アルキルオキシカルボニル; C_{1-6} アルキルスルホニル; シアノ C_{1-6} アルキル;
 ヒドロキシ C_{1-6} アルキル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキルオキシ; ヒドロキシ C_{1-6}
 アルキルアミノ; アミノ C_{1-6} アルキルオキシ; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノカル
 ボニル; ジ (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) アミノ; (アリール) (C_{1-6} アルキル)
 アミノ; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルオキシ; ジ (C_{1-6} アルキル)
 アミノ C_{1-6} アルキルアミノ; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルアミ
 ノ C_{1-6} アルキル; アリールスルホニル; アリールスルホニルアミノ; アリールオキシ
 ; アリールオキシ C_{1-6} アルキル; アリール C_{2-6} アルケンジイル; ジ (C_{1-6} アル
 キル) アミノ; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル; ジ (C_{1-6} アルキ
 ル) アミノ (C_{1-6} アルキル) アミノ; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ (C_{1-6} アル
 キル) アミノ C_{1-6} アルキル; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル (C_{1-6}
 アルキル) アミノ; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル (C_{1-6} アル
 キル) アミノ C_{1-6} アルキル; アミノスルホニルアミノ (C_{1-6} アルキル) アミノ、
 アミノスルホニルアミノ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル; ジ (C_{1-6} アル
 キル) アミノスルホニルアミノ (C_{1-6} アルキル) アミノ; ジ (C_{1-6} アルキル)
 アミノスルホニルアミノ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル; シアノ; チオフ
 ェニル; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6}
 アルキル、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルピ
 ペラジニル C_{1-6} アルキル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキ
 ル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキル
 、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アル
 キルオキシピペリジニル、 C_{1-6} アルキルオキシピペリジニル C_{1-6} アルキル、モ
 ルホリニル C_{1-6} アルキル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル (C_{1-6} アルキル) アミノ
 C_{1-6} アルキルまたはジ (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルで置
 換されているチオフェニル; フラニル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキルで置換されているフ
 ラニル; ベンゾフラニル; イミダゾリル; オキサゾリル; アリールおよび C_{1-6} アルキ
 ルで置換されているオキサゾリル; C_{1-6} アルキルトリアゾリル; テトラゾリル; ピロ
 リジニル; ピロリル; ピペリジニル C_{1-6} アルキルオキシ; モルホリニル; C_{1-6} アル
 キルモルホリニル; モルホリニル C_{1-6} アルキルオキシ; モルホリニル C_{1-6} アル
 キル; モルホリニル C_{1-6} アルキルアミノ; モルホリニル C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6}
 アルキル; ピペラジニル; C_{1-6} アルキルピペラジニル; C_{1-6} アルキルピペラ
 ジニル C_{1-6} アルキルオキシ; ピペラジニル C_{1-6} アルキル; ナフタレニルスルホニ
 ルピペラジニル; ナフタレニルスルホニルピペリジニル; ナフタレニルスルホニル; C_{1-6}
 アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキル; C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アル
 キルアミノ; C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキル
 ; C_{1-6} アルキルピペラジニルスルホニル; アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6} アル
 キルオキシ; アミノスルホニルピペラジニル; アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6}
 アルキル; ジ (C_{1-6} アルキル) アミノスルホニルピペラジニル; ジ (C_{1-6} アルキ
 ル) アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6} アルキル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペ
 ラジニル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキル; C_{1-6} アルキ
 ルオキシピペリジニル; C_{1-6} アルキルオキシピペリジニル C_{1-6} アルキル; ピペリ
 ジニルアミノ C_{1-6} アルキルアミノ; ピペリジニルアミノ C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6}
 アルキル; (C_{1-6} アルキルピペリジニル) (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) アミ
 ノ C_{1-6} アルキルアミノ; (C_{1-6} アルキルピペリジニル) (ヒドロキシ C_{1-6} アル
 キル) アミノ C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキル
 オキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アル
 キルピペラジニル C_{1-6} アルキル; (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) (C_{1-6} アルキ
 ル) アミノ; (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アル
 キル; ヒドロキシ C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキル; ジ (ヒドロキシ C_{1-6} アル
 キル) アミノ C_{1-6} アルキル; ピロリジニル C_{1-6} アルキル; ピロリジニル C_{1-6}

10

20

30

40

50

C_6 アルキルオキシ；ピラゾリル；チオピラゾリル； C_{1-6} アルキルまたはトリハロ C_{1-6} アルキルから選択される 2 個の置換基で置換されているピラゾリル；ピリジニル； C_{1-6} アルキルオキシ、アリールオキシまたはアリールで置換されているピリジニル；ピリミジニル；テトラヒドロピリミジニルピペラジニル；テトラヒドロピリミジニルピペラジニル C_{1-6} アルキル；キノリニル；インドール；フェニル；ハロ、アミノ、ニトロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキル、トリフルオロメチル、トリフルオロメチルオキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルオキシ、 C_{1-4} アルキルスルホニル、 C_{1-4} アルキルオキシ C_{1-4} アルキルオキシ、 C_{1-4} アルキルオキシカルボニル、アミノ C_{1-4} アルキルオキシ、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキルオキシ、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノカルボニル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキルアミノ C_{1-4} アルキル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ (C_{1-4} アルキル) アミノ、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル (C_{1-4} アルキル) アミノ、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル、アミノスルホニルアミノ (C_{1-4} アルキル) アミノ、アミノスルホニルアミノ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノスルホニルアミノ (C_{1-4} アルキル) アミノ、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノスルホニルアミノ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル、シアノ、ピペリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、ピロリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、アミノスルホニルピペラジニル、アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルキルオキシピペリジニル、 C_{1-4} アルキルオキシピペリジニル C_{1-4} アルキル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルオキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、(ヒドロキシ C_{1-4} アルキル) (C_{1-4} アルキル) アミノ、(ヒドロキシ C_{1-4} アルキル) (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル、ジ (ヒドロキシ C_{1-4} アルキル) アミノ、ジ (ヒドロキシ C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキル、フラニル、 $-CH=CH-CH=CH-$ で置換されているフラニル、ピロリジニル C_{1-4} アルキル、ピロリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、モルホリニル、モルホリニル C_{1-4} アルキルオキシ、モルホリニル C_{1-4} アルキル、モルホリニル C_{1-4} アルキルアミノ、モルホリニル C_{1-4} アルキルアミノ C_{1-4} アルキル、ピペラジニル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキルオキシ、ピペラジニル C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキルアミノ、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキルアミノ C_{1-6} アルキル、テトラヒドロピリミジニルピペラジニル、テトラヒドロピリミジニルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ピペリジニルアミノ C_{1-4} アルキルアミノ、ピペリジニルアミノ C_{1-4} アルキルアミノ C_{1-4} アルキル、(C_{1-4} アルキルピペリジニル) (ヒドロキシ C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキルアミノ、(C_{1-4} アルキルピペリジニル) (ヒドロキシ C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキルアミノ C_{1-4} アルキル、ピリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルアミノ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルアミノ C_{1-4} アルキル、ジ (C_{1-4} アルキル) アミノ C_{1-4} アルキルアミノ、アミノチアジアゾリル、アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキルオキシまたはチオフェニル C_{1-4} アルキルアミノから独立して選択される 1、2 または 3 個の置換基で置換されているフェニルから選択され、各 R^5 および R^6 は窒素上に水素の代わりに位置していてもよく、この上に示したアリールはフェニル、または各々がハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシ、トリフルオロメチル、シアノまたはヒドロキシカルボニルから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されているフェニルである]

10

20

30

40

50

で表される化合物、これのN-オキサイド形態、薬学的に受け入れられる付加塩および立体化学異性体形態に関する。

【0025】

ヒストンデアセチラーゼと相互作用してその活性を抑制、より特別にはその酵素活性を抑制する能力を有する化合物を示す目的で用語「ヒストンデアセチラーゼ阻害剤」または「ヒストンデアセチラーゼの阻害剤」を用いる。ヒストンデアセチラーゼの酵素活性を抑制するは、ヒストンデアセチラーゼがヒストンからアセチル基を除去する能力を低下させることを意味する。そのような阻害は好適には特異的である、即ちヒストンデアセチラーゼがヒストンからアセチル基を除去する能力を低下させるのはヒストンデアセチラーゼ阻害剤の濃度が他のある種の無関係な生物学的影響をもたらすに要する阻害剤濃度よりも低い濃度の時である。

10

【0026】

この上で行った定義で用いかつ本明細書の以下で用いる如き「ハロ」はフルオロ、クロロ、プロモおよびヨードの総称であり、 C_{1-4} アルキルは炭素原子数が1から4の直鎖および分枝鎖飽和炭化水素基、例えばメチル、エチル、プロピル、ブチル、1-メチルエチル、2-メチルプロピルなどを定義するものであり、 C_{1-6} アルキルには C_{1-4} アルキルおよび炭素原子数が5から6の高級同族体、例えばペンチル、2-メチルブチル、ヘキシル、2-メチルペンチルなどが含まれ、 C_{1-6} アルカンジイルは、炭素原子数が1から6の二価の直鎖および分枝鎖飽和炭化水素基、例えばメチレン、1, 2-エタンジイル、1, 3-プロパンジイル、1, 4-ブタンジイル、1, 5-ペンタンジイル、1, 6-ヘキサンジイルおよびこれらの分枝異性体、例えば2-メチルペンタンジイル、3-メチルペンタンジイル、2, 2-ジメチルブタンジイル、2, 3-ジメチルブタンジイルなどを定義するものであり、トリハロ C_{1-6} アルキルは、同一もしくは異なるハロ置換基を3個含有する C_{1-6} アルキル、例えばトリフルオロメチルなどを定義するものであり、 C_{2-6} アルケルジイルは、二重結合を1個含有する炭素原子数が2から6の二価の直鎖および分枝鎖炭化水素基、例えばエテンジイル、2-プロペンジイル、3-ブテンジイル、2-ペンテンジイル、3-ペンテンジイル、3-メチル-2-ブテンジイルなどを定義するものであり、アミノアリールは、アミノで置換されているアリールを定義するものであり、そして C_{3-10} シクロアルキルには、炭素数が3から10の環状炭化水素基、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロオクチルなどが含まれる。

20

30

【0027】

用語「別のZnキレート基」は、酵素結合部位に存在する可能性のあるZnイオンと相互作用し得る基を指す。

【0028】

薬学的に受け入れられる付加塩は薬学的に受け入れられる酸付加塩および薬学的に受け入れられる塩基付加塩を包含する。本明細書の上に述べた如き薬学的に受け入れられる酸付加塩は、これに、式(I)で表される化合物が形成し得る無毒の治療活性酸付加塩形態を包含させることを意味する。前記式(I)で表される化合物が塩基特性を有する場合、この塩基形態を適切な酸で処理することで薬学的に受け入れられる酸付加塩に変化させることができる。適切な酸には、例えば無機酸、例えばハロゲン化水素酸、例えば塩酸または臭化水素酸など、硫酸、硝酸、燐酸など、または有機酸、例えば酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、ヒドロキシ酢酸、乳酸、ピルビン酸、しゅう酸、マロン酸、こはく酸(即ちブタン二酸)、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、シクラミン酸、サリチル酸、p-アミノ-サリチル酸、パモ酸(pamoic acid)などが含まれる。

40

【0029】

前記式(I)で表される化合物が酸性特性を有する場合、この酸形態を適切な有機もしくは無機塩基で処理することで薬学的に受け入れられる塩基付加塩に変化させることがで

50

きる。適切な塩基塩形態には、例えばアンモニウム塩、アルカリおよびアルカリ土類金属の塩、例えばリチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム塩など、有機塩基との塩、例えばベンザチン、N-メチル-D-グルカミン、ヒドラバミン塩など、そしてアミノ酸、例えばアルギニン、リシンなどとの塩が含まれる。

【0030】

用語「酸もしくは塩基付加塩」には、また、前記式(I)で表される化合物が形成し得る水化物および溶媒付加形態も含まれる。そのような形態の例は、例えば水化物、アルコールなどである。

【0031】

本明細書で用いる如き用語「式(I)で表される化合物の立体化学異性体形態」は、前記式(I)で表される化合物が持ち得る同じ配列の結合で結合している同じ原子で構成されているが交換不能な異なる三次元構造を有する可能なあらゆる化合物を定義するものである。特に明記も指示もしない限り、ある化合物の化学的表示は、この化合物が取り得る可能なあらゆる立体化学異性体形態の混合物を包含する。前記混合物は前記化合物の基本的な分子構造を有するあらゆるジアステレオマーおよび／またはエナンチオマーを含有している可能性がある。前記式(I)で表される化合物のあらゆる立体化学異性体形態(純粋な形態または互いの混合物の両方とも)を本発明の範囲内に包含させることを意図する。

10

【0032】

前記式(I)で表される化合物のN-オキサイド形態は、これに、1個または数個の窒素原子が酸化されていわゆるN-オキサイド、特にペリジン、ピペラジンまたはピラジニルの窒素の1個以上がN-オキサイド化を受けてN-オキサイドになっている式(I)で表される化合物を包含させることを意味する。

20

【0033】

前記式(I)で表される化合物の数種はまた互変異性形態でも存在し得る。そのような形態を前記式に明瞭には示さなかったが、それらを本発明の範囲内に包含させることを意図する。

【0034】

用語「式(I)で表される化合物」を本明細書の以下で用いる場合にはいつでも、それにまた薬学的に受け入れられる付加塩およびあらゆる立体異性体形態を包含させることを意味する。

30

【0035】

本明細書で用いる如き用語「ヒストンデアセチラーゼ」および「HDAC」は、ヒストンのN末端に位置するリシン残基が有するε-アミノ基からアセチル基を除去する系列の酵素の中のいずれか1種を指すことを意図する。本文で特に明記しない限り、用語「ヒストン」は、いずれかの種のヒストン蛋白質(H1、H2A、H2B、H3、H4およびH5を包含)のいずれかを指すことを意味する。ヒトHDAC蛋白質または遺伝子産物には、これらに限定するものでないが、HDAC-1、HDAC-2、HDAC-3、HDAC-4、HDAC-5、HDAC-6、HDAC-7、HDAC-8、HDAC-9およびHDAC-10が含まれる。このヒストンデアセチラーゼはまた原生動物または菌・カビ源に由来するものであってもよい。

40

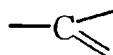
【0036】

興味を持たれる化合物の1番目の群は、下記の制限:

- a) tが0または1であり、
- b) 各Qが

【0037】

【化8】



【0038】

であり、

c) 各Xが窒素であり、

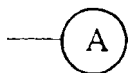
d) R^1 が $-C(O)NH(OH)$ であり、e) R^2 が水素、ヒドロキシ、 $C_1 - 6$ アルキルまたはアリール $C_1 - 6$ アルキルであり、f) $-L-$ が $-NHC(O)-$ または $-NH SO_2-$ から選択される二価の基であり、

g)

【0039】

【化9】

10



【0040】

が $(a-1)$ または $(a-20)$ から選択される基であり、

h) 各sが独立して0または1であり、

i) 各 R^5 が独立して水素またはフェニルから選択される、

の中の1つ以上が当てはまる前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

【0041】

20

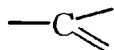
興味を持たれる化合物の2番目の群は、下記の制限：

a) tが1であり、

b) 各Qが

【0042】

【化10】



【0043】

であり、

30

c) 各Xが窒素であり、

d) 各Yが窒素であり、

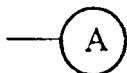
e) 各Zが $-O-$ または $-CH_2-$ であり、f) R^1 が $-C(O)NH(OH)$ であり、g) R^2 が水素であり、h) $-L-$ が $-NHC(O)-$ または $-NH SO_2-$ から選択される二価の基であり、

i)

【0044】

【化11】

40



【0045】

が $(a-1)$ または $(a-20)$ から選択される基であり、

j) 各sが独立して0または1であり、

k) 各 R^5 が独立して水素またはフェニルから選択される、

の中の1つ以上が当てはまる前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

【0046】

興味を持たれる化合物の3番目の群は、 R^1 が $-C(O)NH(OH)$ である前記式 (

50

I) で表される化合物で構成される群である。

【0047】

興味の持たれる化合物の4番目の群は、 R^1 が $-C(O)NH(OH)$ でありそして R^2 が水素である前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

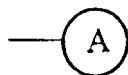
【0048】

興味の持たれる化合物の5番目の群は、下記の制限：

- a) t が 0 であり、
- b) R^1 が $-C(O)NR^3R^4$ 、 $-C(O)-C_{1-6}$ アルカンジイル SR^7 、 $-NR^8C(O)N(OH)R^7$ 、 $-NR^8C(O)C_{1-6}$ アルカンジイル SR^7 、 $-NR^8C(O)C=N(OH)R^7$ または別の Zn-キレート基であり、ここで、 R^3 および R^4 が各々独立して水素、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキルまたはアミノ C_{1-6} アルキルから選択され、
- c) R^2 が水素、ヒドロキシ、アミノ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシ、アリール C_{1-6} アルキル、アミノカルボニル、アミノ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキルまたはジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルであり、
- d) $-L-$ が $-NHC(O)-$ または $-NH SO_2-$ から選択される二価の基であり、
- e)

【0049】

【化12】



【0050】

が (a-1)、(a-3)、(a-4)、(a-5)、(a-6)、(a-7)、(a-8)、(a-9)、(a-10)、(a-11)、(a-12)、(a-13)、(a-14)、(a-15)、(a-16)、(a-17)、(a-18)、(a-19)、(a-20)、(a-21)、(a-22)、(a-23)、(a-24)、(a-25)、(a-26)、(a-28)、(a-29)、(a-30)、(a-31)、(a-32)、(a-33)、(a-34)、(a-35)、(a-36)、(a-37)、(a-38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-44)、(a-45)、(a-46)、(a-47)、(a-48) または (a-51) から選択される基であり、

- f) 各 s が独立して 0、1、2、3 または 4 であり、
- g) R^5 が水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロ C_{1-6} アルキル；トリハロ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルカルボニル； C_{1-6} アルキルオキシカルボニル； C_{1-6} アルキルスルホニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキル；アリールオキシ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ；シアノ；チオフェニル；フラニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルで置換されているフラニル；ベンゾフラニル；イミダゾリル；オキサゾリル；アリールおよび C_{1-6} アルキルで置換されているオキサゾリル； C_{1-6} アルキルトリアゾリル；テトラゾリル；ピロリジニル；ピロリル；モルホリニル； C_{1-6} アルキルモルホリニル；ピペラジニル； C_{1-6} アルキルピペラジニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル； C_{1-6} アルキルオキシピペラジニル；ピラゾリル； C_{1-6} アルキルまたはトリハロ C_{1-6} アルキルから選択される 1 または 2 個の置換基で置換されているピラゾリル；ピリジニル； C_{1-6} アルキルオキシ、アリールオキシまたはアリールで置換されているピリジニル；ピリミジニル；キノリニル；インドール；フェニル；またはハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシまたはトリフルオロメチルから独立して選択される 1 または 2 個の置換基で置換されているフェニルであり、

h) R^6 が水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロ C_{1-6} アルキル；トリハロ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルカルボニル； C_{1-6} アルキルオキシカルボニル； C_{1-6} アルキルスルホニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキル；アリールオキシ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ；シアノ；ピリジニル；フェニル；またはハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシまたはトリフルオロメチルから独立して選択される 1 または 2 個の置換基で置換されているフェニルである、

の中の 1 つ以上が当てはまる前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

【0051】

興味を持たれる化合物の 6 番目の群は、下記の制限：

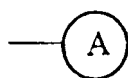
10

a) R^3 および R^4 が各々独立して水素、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、アミノ C_{1-6} アルキルまたはアミノアリールから選択され、

b)

【0052】

【化 13】



【0053】

20

が (a-1)、(a-2)、(a-3)、(a-4)、(a-5)、(a-6)、(a-7)、(a-8)、(a-9)、(a-10)、(a-11)、(a-12)、(a-13)、(a-14)、(a-15)、(a-16)、(a-17)、(a-18)、(a-19)、(a-20)、(a-21)、(a-22)、(a-23)、(a-24)、(a-25)、(a-26)、(a-27)、(a-28)、(a-29)、(a-30)、(a-31)、(a-32)、(a-33)、(a-34)、(a-35)、(a-36)、(a-37)、(a-38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-43) または (a-44) から選択される基であり、

c) 各 R^5 および R^6 が独立して水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロ C_{1-6} アルキル；トリハロ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルカルボニル； C_{1-6} アルキルスルホニル；シアノ C_{1-6} アルキル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルオキシ；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルアミノ；アミノ C_{1-6} アルキルオキシ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノカルボニル；ジ (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) アミノ；アリール (C_{1-6} アルキル) アミノ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルオキシ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルアミノ；アリールスルホニル；アリールスルホニルアミノ；アリールオキシ；アリール C_{2-6} アルケンジイル；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル；シアノ；チオフェニル；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキルまたはジ (ヒドロキシ C_{1-6} アルキル) アミノ C_{1-6} アルキルで置換されているチオフェニル；フラニル；イミダゾリル； C_{1-6} アルキルトリアゾリル；テトラゾリル；ピロリジニル；ピペリジニル C_{1-6} アルキルオキシ；モルホリニル； C_{1-6} アルキルモルホリニル；モルホリニル C_{1-6} アルキルオキシ；モルホリニル C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルピペラジニル； C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルピペラジニルスルホニル；アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6} アルキルオキシ；アミノスルホニルピペラジニル；アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6} アルキル；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノスルホニルピペラジ

30

40

50

ニル；ジ（ C_{1-6} アルキル）アミノスルホニルピペラジニル C_{1-6} アルキル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシピペリジニル； C_{1-6} アルキルオキシピペリジニル C_{1-6} アルキル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルオキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル C_{1-6} アルキル；（ヒドロキシ C_{1-6} アルキル）（ C_{1-6} アルキル）アミノ；（ヒドロキシ C_{1-6} アルキル）（ C_{1-6} アルキル）アミノ C_{1-6} アルキル；ピロリジニル C_{1-6} アルキルオキシ；ピラゾリル；チオピラゾリル； C_{1-6} アルキルまたはトリハロ C_{1-6} アルキルから選択される 2 個の置換基で置換されているピラゾリル；ピリジニル； C_{1-6} アルキルオキシまたはアリールで置換されているピリジニル；ピリミジニル；キノリニル；インドール；フェニル；ハロ、アミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキル、トリフルオロメチル、トリフルオロメチルオキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルオキシ、 C_{1-4} アルキルオキシ C_{1-4} アルキルオキシ、アミノ C_{1-4} アルキルオキシ、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキルオキシ、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノ、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキル、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキル（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキル、ピペリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、ピロリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、アミノスルホニルピペラジニル、アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノスルホニルピペラジニル、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルキルオキシピペリジニル、 C_{1-4} アルキルオキシピペリジニル C_{1-4} アルキル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルオキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルオキシ C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、（ヒドロキシ C_{1-4} アルキル）（ C_{1-4} アルキル）アミノ、（ヒドロキシ C_{1-4} アルキル）（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキル、ピロリジニル C_{1-4} アルキルオキシ、モルホリニル C_{1-4} アルキルオキシ、モルホリニル C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキルオキシ、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルアミノ、ジ（ヒドロキシ C_{1-4} アルキル）アミノ、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキルアミノ、アミノチアジアゾリル、アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキルオキシまたはチオフェニル C_{1-4} アルキルアミノから独立して選択される 1、2 または 3 個の置換基で置換されているフェニルから選択される、
 の中の 1 つ以上が当てはまる前記式（I）で表される化合物で構成される群である。

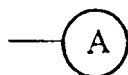
【0054】

好適な化合物の群は、

R^3 および R^4 が各々独立して水素、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、アミノ C_{1-6} アルキルまたはアミノアリールから選択され、

【0055】

【化14】



【0056】

が（a-1）、（a-2）、（a-3）、（a-4）、（a-5）、（a-6）、（a-7）、（a-8）、（a-9）、（a-10）、（a-11）、（a-12）、（a-13）、（a-14）、（a-15）、（a-16）、（a-17）、（a-18）、（a-19）、（a-20）、（a-21）、（a-22）、（a-23）、（a-24）、（a-25）、（a-26）、（a-27）、（a-28）、（a-29）、（a-30）、（a-31）、（a-32）、（a-33）、（a-34）、（a-35）、（a-

10

20

30

40

50

36)、(a-37)、(a-38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-43)または(a-44)から選択される基であり、

各R⁵およびR⁶が独立して水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロC₁₋₆アルキル；トリハロC₁₋₆アルキルオキシ；C₁₋₆アルキル；C₁₋₆アルキルオキシ；C₁₋₆アルキルオキシC₁₋₆アルキルオキシ；C₁₋₆アルキルカルボニル；C₁₋₆アルキルスルホニル；シアノC₁₋₆アルキル；ヒドロキシC₁₋₆アルキル；ヒドロキシC₁₋₆アルキルオキシ；ヒドロキシC₁₋₆アルキルアミノ；アミノC₁₋₆アルキルオキシ；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノカルボニル；ジ(ヒドロキシC₁₋₆アルキル)アミノ；アリール(C₁₋₆アルキル)アミノ；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキルオキシ；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキルアミノ；アリールスルホニル；アリールスルホニルアミノ；アリールオキシ；アリールC₂₋₆アルケンジイル；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノ；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル；シアノ；チオフェニル；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル、ジ(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキルピペラジニルC₁₋₆アルキルまたはジ(ヒドロキシC₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキルで置換されているチオフェニル；フラニル；イミダゾリル；C₁₋₆アルキルトリアゾリル；テトラゾリル；ピロリジニル；ピペリジニルC₁₋₆アルキルオキシ；モルホリニル；C₁₋₆アルキルモルホリニル；モルホリニルC₁₋₆アルキルオキシ；モルホリニルC₁₋₆アルキル；C₁₋₆アルキルピペラジニル；C₁₋₆アルキルピペラジニルC₁₋₆アルキルオキシ；C₁₋₆アルキルピペラジニルC₁₋₆アルキル；C₁₋₆アルキルピペラジニルスルホニル；アミノスルホニルピペラジニルC₁₋₆アルキルオキシ；アミノスルホニルピペラジニル；アミノスルホニルピペラジニルC₁₋₆アルキル；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノスルホニルピペラジニル；ジ(C₁₋₆アルキル)アミノスルホニルピペラジニルC₁₋₆アルキル；ヒドロキシC₁₋₆アルキルピペラジニル；ヒドロキシC₁₋₆アルキルピペラジニルC₁₋₆アルキル；C₁₋₆アルキルオキシピペリジニル；C₁₋₆アルキルオキシピペリジニルC₁₋₆アルキル；ヒドロキシC₁₋₆アルキルオキシC₁₋₆アルキルピペラジニル；ヒドロキシC₁₋₆アルキルオキシC₁₋₆アルキルピペラジニルC₁₋₆アルキル；(ヒドロキシC₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)アミノ；(ヒドロキシC₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)アミノC₁₋₆アルキル；ピロリジニルC₁₋₆アルキルオキシ；ピラゾリル；チオピラゾリル；C₁₋₆アルキルまたはトリハロC₁₋₆アルキルから選択される2個の置換基で置換されているピラゾリル；ピリジニル；C₁₋₆アルキルオキシまたはアリールで置換されているピリジニル；ピリミジニル；キノリニル；インドール；フェニル；ハロ、アミノ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキルオキシ、ヒドロキシC₁₋₄アルキル、トリフルオロメチル、トリフルオロメチルオキシ、ヒドロキシC₁₋₄アルキルオキシ、C₁₋₄アルキルオキシC₁₋₄アルキルオキシ、アミノC₁₋₄アルキルオキシ、ジ(C₁₋₄アルキル)アミノC₁₋₄アルキルオキシ、ジ(C₁₋₄アルキル)アミノ、ジ(C₁₋₄アルキル)アミノC₁₋₄アルキル、ジ(C₁₋₄アルキル)アミノC₁₋₄アルキル(C₁₋₄アルキル)アミノC₁₋₄アルキル、ピペリジニルC₁₋₄アルキルオキシ、ピロリジニルC₁₋₄アルキルオキシ、アミノスルホニルピペラジニル、アミノスルホニルピペラジニルC₁₋₄アルキル、ジ(C₁₋₄アルキル)アミノスルホニルピペラジニル、ジ(C₁₋₄アルキル)アミノスルホニルピペラジニルC₁₋₄アルキル、ヒドロキシC₁₋₄アルキルピペラジニル、ヒドロキシC₁₋₄アルキルピペラジニルC₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルキルオキシピペリジニル、C₁₋₄アルキルオキシピペリジニルC₁₋₄アルキル、ヒドロキシC₁₋₄アルキルオキシC₁₋₄アルキルピペラジニル、ヒドロキシC₁₋₄アルキルオキシC₁₋₄アルキルピペラジニルC₁₋₄アルキル、(ヒドロキシC₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)アミノ、(ヒドロキシC₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)アミノC₁₋₄アルキル、ピロリジニルC₁₋₄アルキルオキシ、モルホリニルC₁₋₄アルキルオキシ、モルホリニルC

10

20

30

40

50

C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキルオキシ、 C_{1-4} アルキルピペラジニル C_{1-4} アルキル、ヒドロキシ C_{1-4} アルキルアミノ、ジ（ヒドロキシ C_{1-4} アルキル）アミノ、ジ（ C_{1-4} アルキル）アミノ C_{1-4} アルキルアミノ、アミノチアジアゾリル、アミノスルホニルピペラジニル C_{1-4} アルキルオキシまたはチオフェニル C_{1-4} アルキルアミノから独立して選択される 1、2 または 3 個の置換基で置換されているフェニルから選択される、前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

【0057】

好適な化合物のさらなる群は、

t が 0 であり、

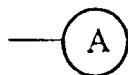
R^1 が $-C(O)NR^3R^4$ 、 $-C(O)-C_{1-6}$ アルカンジイル SR^7 、 $-NR^8C(O)N(OH)R^7$ 、 $-NR^8C(O)C_{1-6}$ アルカンジイル SR^7 、 $-NR^8C(O)C=N(OH)R^7$ または別の Zn -キレート基であり、ここで、 R^3 および R^4 が各々独立して水素、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキルまたはアミノ C_{1-6} アルキルから選択され、

R^2 が水素、ヒドロキシ、アミノ、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシ、アリール C_{1-6} アルキル、アミノカルボニル、アミノ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキルまたはジ（ C_{1-6} アルキル）アミノ C_{1-6} アルキルであり、

$-L-$ が $-NHC(O)-$ または $-NH SO_2-$ から選択される二価の基であり、

【0058】

【化15】



【0059】

が (a-1)、(a-3)、(a-4)、(a-5)、(a-6)、(a-7)、(a-8)、(a-9)、(a-10)、(a-11)、(a-12)、(a-13)、(a-14)、(a-15)、(a-16)、(a-17)、(a-18)、(a-19)、(a-20)、(a-21)、(a-22)、(a-23)、(a-24)、(a-25)、(a-26)、(a-28)、(a-29)、(a-30)、(a-31)、(a-32)、(a-33)、(a-34)、(a-35)、(a-36)、(a-37)、(a-38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-44)、(a-45)、(a-46)、(a-47)、(a-48) または (a-51) から選択される基であり、

各 s が独立して 0、1、2、3 または 4 であり、

R^5 が水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロ C_{1-6} アルキル；トリハロ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルカルボニル； C_{1-6} アルキルオキシカルボニル； C_{1-6} アルキルスルホニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキル；アリールオキシ；ジ（ C_{1-6} アルキル）アミノ；シアノ；チオフェニル；フラニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルで置換されているフラニル；ベンゾフラニル；イミダゾリル；オキサゾリル；アリールおよび C_{1-6} アルキルで置換されているオキサゾリル； C_{1-6} アルキルトリアゾリル；テトラゾリル；ピロリジニル；ピロリル；モルホリニル； C_{1-6} アルキルモルホリニル；ピペラジニル； C_{1-6} アルキルピペラジニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキルピペラジニル； C_{1-6} アルキルオキシピペリジニル；ピラゾリル； C_{1-6} アルキルまたはトリハロ C_{1-6} アルキルから選択される 1 または 2 個の置換基で置換されているピラゾリル；ピリジニル； C_{1-6} アルキルオキシまたはアリールで置換されているピリジニル；ピリミジニル；キノリニル；インドール；フェニル；またはハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシまたはトリフル

10

20

30

40

50

オロメチルから独立して選択される 1 または 2 個の置換基で置換されているフェニルであり、そして

R^6 が水素；ハロ；ヒドロキシ；アミノ；ニトロ；トリハロ C_{1-6} アルキル；トリハロ C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキル； C_{1-6} アルキルオキシ； C_{1-6} アルキルカルボニル； C_{1-6} アルキルオキシカルボニル； C_{1-6} アルキルスルホニル；ヒドロキシ C_{1-6} アルキル；アリールオキシ；ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ；シアノ；ピリジニル；フェニル；またはハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルオキシまたはトリフルオロメチルから独立して選択される 1 または 2 個の置換基で置換されているフェニルである、

前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

10

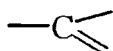
【0060】

好適な化合物の別の群は、

t が 0 または 1 であり、各 Q が

【0061】

【化16】



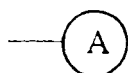
【0062】

であり、各 X が窒素であり、 R^1 が $-C(O)NH(OH)$ であり、 R^2 が水素、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキルまたはアリール C_{1-6} アルキルであり、 $-L-$ が $-NHC(O)-$ または $-NHSO_2-$ から選択される二価の基であり、

20

【0063】

【化17】



【0064】

が $(a-1)$ または $(a-20)$ から選択される基であり、各 s が独立して 0 または 1 であり、そして各 R^5 が独立して水素またはフェニルから選択される前記式 (I) で表される化合物で構成される群である。

30

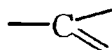
【0065】

より好適な化合物の群は、

t が 1 であり、各 Q が

【0066】

【化18】



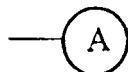
40

【0067】

であり、各 X が窒素であり、各 Y が窒素であり、各 Z が $-O-$ または $-CH_2-$ であり、 R^1 が $-C(O)NH(OH)$ であり、 R^2 が水素であり、 $-L-$ が $-NHC(O)-$ または $-NHSO_2-$ から選択される二価の基であり、

【0068】

【化19】



50

【0069】

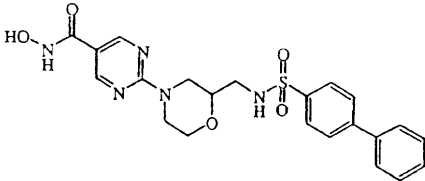
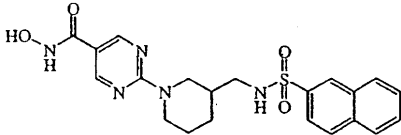
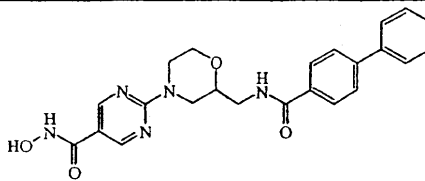
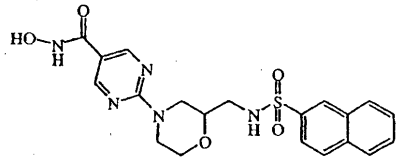
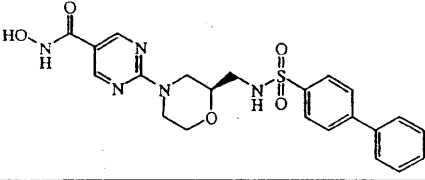
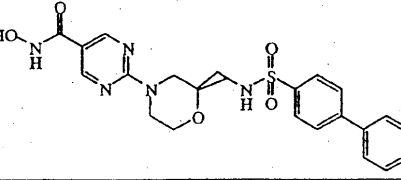
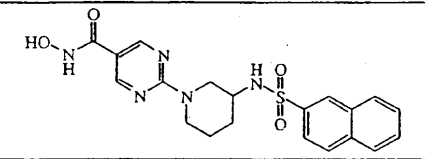
が(a-1)または(a-20)から選択される基であり、各sが独立して0または1であり、そして各R⁵が独立して水素またはフェニルから選択される前記式(I)で表される化合物で構成される群である。

【0070】

最も好適な化合物は化合物番号4、番号10、番号8、番号6、番号1、番号12および番号14である。

【0071】

【表1】

	
Co. No. 4	Co. No. 10
	
Co. No. 8	Co. No. 6
	
(B); Co. No. 1	(A); Co. No. 12
	
Co. No. 14	

【0072】

前記式(I)で表される化合物およびこれらの薬学的に受け入れられる塩およびN-オキサイドおよび立体化学異性化形態の調製は通常様式で実施可能である。例として下記の一般的合成ルートを含める：

a) 式(II)で表される中間体と適切な酸、例えばトリフルオロ酢酸などを反応させることで式(I) [式中、R¹は-C(O)NH(OH)である]で表されるヒドロキサム酸 [この化合物を式(I-a)で表される化合物と呼ぶ]を生じさせることができる。前記反応を適切な溶媒、例えばメタノールなど中で実施する。

【0073】

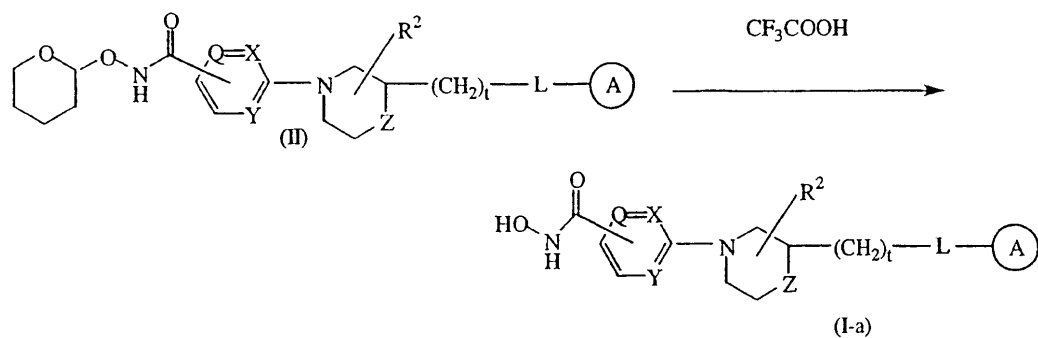
10

20

30

40

【化 2 0】



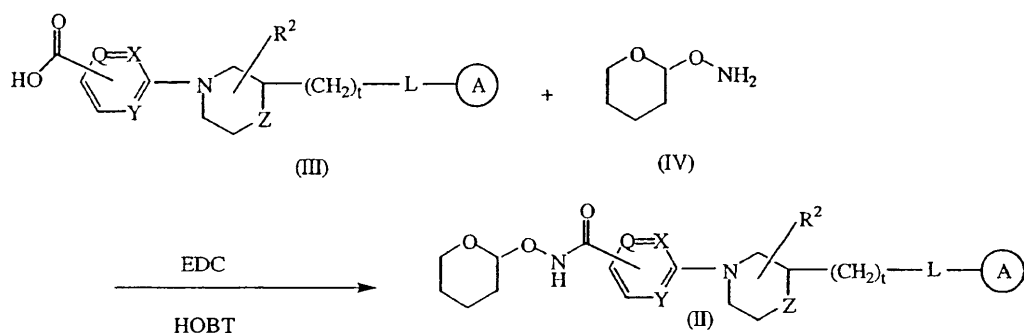
10

【0074】

b) 式 (I I I) で表される中間体と式 (I V) で表される中間体を適切な反応体、例えば一塩酸 N' - (エチルカルボニミドイル) - N, N - ジメチル - 1, 3 - プロパンジアミン (EDC) および 1 - ヒドロキシ - 1 H - ベンゾトリアゾール (HOBT) などの存在下で反応させることで式 (I I) で表される中間体を生じさせることができる。この反応は適切な溶媒、例えば DCM と THF の混合物など中で実施可能である。

【0075】

【化 2 1】



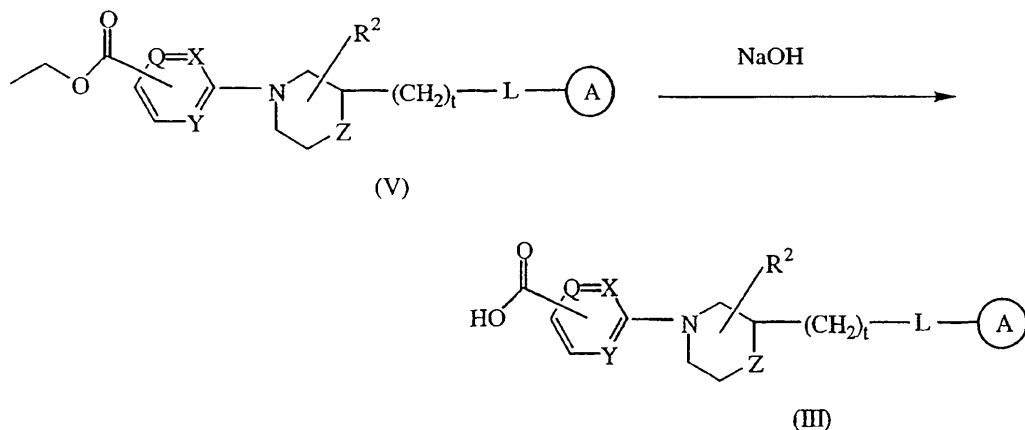
20

【0076】

c) 式 (V) で表される中間体と適切な塩基、例えば NaOH などを適切な溶媒、例えばエタノールなどの存在下で反応させることで式 (I I I) で表される中間体を生じさせることができる。

【0077】

【化 2 2】



40

【0078】

また、固相合成技術を用いて前記式 (I) で表される化合物の調製を便利に実施することも可能である。固相合成は、一般に、合成時にある中間体を重合体である支持体と反応

50

させることを伴う。次に、そのように重合体に担持させた中間体を多数の合成段階を通してそれが担持されたままにしてもよい。各段階後、その樹脂を濾過した後、それをいろいろな溶媒で数回洗浄することで不純物を除去する。各段階毎にその樹脂を分離して次の段階でいろいろな中間体と反応させることで多種多様な化合物を合成することができる。この手順の最終段階後に前記樹脂を反応体または工程で処理して、その樹脂をサンプルから開裂させる。固相化学で用いられる技術のより詳細な説明が例えば「The Combinatorial Index」(B. Bunin, Academic Press)およびNovabiochem's 1999 Catalogue & Peptide Synthesis Handbook (Novabiochem AG、スイス)(両方とも引用することによって本明細書に組み入れられる)などに記述されている。

10

【0079】

前記式(I)で表される化合物および中間体の数種はこれらの構造の中に立体幾何中心(stereogenic centre)を少なくとも1つ有する。そのような立体幾何中心はRまたはS形態で存在し得る。

【0080】

本明細書の上に記述した方法で生じさせた如き前記式(I)で表される化合物はエナンチオマーのラセミ混合物であり得、これは本技術分野で公知の分割手順に従って互いに分離可能である。式(I)のラセミ化合物を適切なキラリティーを持つ酸と反応させて相当するジアステレオマー塩形態に変化させてもよい。その後、例えば選択的もしくは分別結晶化などで前記ジアステレオマー塩形態を分離した後、アルカリを用いてエナンチオマーをそれから遊離させる。エナンチオマー形態の式(I)で表される化合物を分離する別の様式は、キラル固定相を用いた液クロの使用を伴う。また、適切な出発材料の相当する高純度の立体化学異性体形態を用いて前記高純度の立体化学異性体形態を生じさせることも可能であるが、但しその反応が立体特異的に起こることを条件とする。特定の立体異性体が望まれる場合、好適には、立体特異的製造方法を用いて前記化合物の合成を行うことになるであろう。そのような方法では有利にエナンチオマー的に高純度の出発材料を用いることになるであろう。

20

【0081】

前記式(I)で表される化合物、これらの薬学的に受け入れられる酸付加塩および立体異性体形態は、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害効果を有する点で価値有る薬理学的特性を有する。

30

【0082】

本発明は細胞(形質転換した細胞を包含)の異常な増殖を抑制する方法を提供し、ここでは、本発明の化合物を有効量で投与することで抑制を行う。細胞の異常な増殖は、正常な規則的機構から独立した細胞の増殖を指す(例えば接触抑制の損失)。これには、癌細胞の増殖制止、分化停止および/または癌アポトーシスをもたらすことによる直接的および腫瘍の血管新生を抑制することによる間接的の両方で腫瘍の増殖を抑制することが含まれる。

【0083】

本発明は、また、腫瘍の治療を必要としている被験体、例えば哺乳動物(より特別にはヒト)などに本発明の化合物を有効量で投与することで腫瘍の増殖を抑制する方法も提供する。特に、本発明は、本発明の化合物を有効量で投与することで腫瘍の増殖を抑制する方法を提供する。抑制可能な腫瘍の例は、これらに限定するものでないが、肺癌[例えば腺癌、そして非小細胞肺癌を包含]、膵臓癌(例えば膵臓癌、例えば外分泌膵臓癌など)、結腸癌(例えば結腸直腸癌、例えば結腸腺癌および結腸腺腫など)、前立腺癌[進行した疾患(advanced disease)、リンパ系の造血腫瘍(例えば急性リンパ性白血病、B細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫)を包含]、脊髄性白血病[例えば急性脊髄性白血病(AML)]、甲状腺小胞癌、脊髄形成異常症候群(MDS)、間葉が源の腫瘍(例えば線維肉腫および横紋筋肉腫)、黒色腫、奇形癌、神経芽腫、神経膠腫、皮膚の良性腫瘍[例えば角化棘細胞腫(keratoacanthomas)]、乳癌(例え

40

50

ば進んだ乳癌)、腎臓癌、卵巣癌、膀胱癌および表皮癌である。

【0084】

本発明に従う化合物を他の治療目的で用いることも可能であり、例えば下記が可能である：

- a) 癌を治療する目的で腫瘍に照射を受けさせる前、受けさせている間または受けさせた後に本発明に従う化合物を投与することで腫瘍を放射線療法に対して増感させる、
- b) 関節症および骨病理学的状態、例えば慢性関節リウマチ、変形性関節症、若年性関節炎、通風、多発性関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎および全身性エリトマトーデスなどの治療、
- c) 平滑筋細胞増殖（血管増殖障害、アテローム性動脈硬化症および再狭窄を包含）の抑制、
- d) 炎症状態および皮膚状態、例えば潰瘍性大腸炎、クローン病、アレルギー性鼻炎、宿主対移植片病、結膜炎、喘息、ARDS、ベーチェット病、移植拒絶、ウチカリア（*uticaria*）、アレルギー性皮膚炎、円形脱毛症、強皮症、発疹、湿疹、皮膚筋炎、アクネ、糖尿病、全身性エリトマトーデス、川崎病、多発性硬化症、気腫、のう胞性線維症および慢性気管支炎などの治療、
- e) 子宮内膜症、子宮類線維症、機能障害子宮出血および子宮内膜過形成の治療、
- f) 眼の血管新生〔レチナールおよび絨毛膜様管に影響を与える血管病（*vasculopathy*）を包含〕の治療、
- g) 心臓機能不全の治療、
- h) 免疫抑制状態の防止、例えばHIV感染の治療など、
- i) 腎臓機能不全の治療、
- j) 内分泌障害の抑制、
- k) 糖新生不全の防止、
- l) 神経病、例えばパーキンソン病など、または認識障害をもたらす神経病、例えばアルツハイマー病またはポリグルタミン関連ニューロン病などの治療、
- m) 神経節病、例えば筋委縮性側索硬化症などの防止、
- n) 脊髄筋萎縮症の治療、
- o) 遺伝子の発現を増強することで治療され得る他の病理学的状態の治療
- p) 遺伝子治療の強化。

【0085】

従って、本発明は、前記式（I）で表される化合物を上記した状態の中の1種以上を治療する薬剤として用いるばかりでなく前記式（I）で表される化合物をそのような薬剤の製造で用いることも開示する。

【0086】

前記式（I）で表される化合物、これらの薬学的に受け入れられる酸付加塩および立体異性体形態は、生物学的サンプルに入っているHDACを検出または同定する目的で使用可能である点で価値有る診断特性を持ち得、これは、標識を付けておいた化合物とHDA Cの間で起こる複合体形成を検出または測定することを含んで成る。

【0087】

このような検出または同定方法では、標識剤、例えば放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などで標識を付けておいた化合物を用いることができる。放射性同位元素の例には ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^3H および ^{14}C が含まれる。通常は、検出可能な反応に触媒作用を及ぼす適切な基質と酵素を接合させることで酵素を検出可能にする。その例には、例えばベーターガラクトシダーゼ、ベーターグルコシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ペルオキシダーゼおよびマレートデヒドロゲナーゼ、好適には西洋わさびペルオキシダーゼが含まれる。発光物質には、例えばルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、エクオリンおよびルシフェラーゼが含まれる。

【0088】

生物学的サンプルは体の組織および体液であると定義することができる。体液の例は脳

脊髄液、血液、血漿、血清、尿、痰、唾液などである。

【0089】

本主題化合物は有用な薬理学的特性を有することを鑑み、投与の目的でいろいろな薬剤形態に調合可能である。

【0090】

本発明の薬剤組成物を調製する時、塩基もしくは酸付加塩形態の個々の化合物を活性材料として有効量で薬学的に受け入れられる担体と一緒に密な混合物として組み合わせるが、前記担体を取り得る形態は投与に望まれる調剤の形態に応じて幅広く多様である。望ましくは、本薬剤組成物を好適には経口、直腸、経皮または非経口注入投与に適した単位投薬形態にする。例えば、本組成物を経口投薬形態で調製する時には、通常の薬剤媒体のい

10

【0091】

投与の容易さが理由で錠剤およびカプセルが最も有利な経口投薬単位形態に相当し、この場合には明らかに固体状の薬剤担体を用いる。非経口用組成物の場合の担体は、一般に、少なくとも大部分が無菌水を含んで成るが、例えば溶解性を補助する目的で他の材料を含有させることも可能である。例えば、注射可能な溶液を調製することも可能であり、この場合の担体には食塩水溶液、グルコース溶液または食塩水溶液とグルコース溶液の混合物が含まれる。また、注射可能な懸濁液を調製することも可能であり、この場合には、適切な液状担体、懸濁剤などを用いてもよい。経皮投与に適した組成物の場合、その担体

20

場合により浸透増強剤および／または適切な湿潤剤を含めてもよく、それを場合により僅かな比率のいずれかの性質の適切な添加剤と一緒に組み合わせてもよいが、そのような添加剤は皮膚に有害な影響を有意な度合で引き起こさない添加剤である。前記添加剤は皮膚への投与を容易にしそして／または所望組成物の調製に役立つ可能性がある。本組成物はいろいろな様式で投与可能であり、例えば経皮パッチ、スポットオン (spot-on) または軟膏などとして投与可能である。

【0092】

投与が容易でありかつ投薬が均一であることから上述した薬剤組成物を投薬単位形態に調合するのが特に有利である。本明細書および本明細書の請求の範囲で用いる如き投薬単位形態は、各単位が所望の治療効果がもたらされるように計算して前以て決めておいた量の活性材料を必要な薬剤担体と一緒に含有する単位投薬として用いるに適した物理的に個々別々の単位を指す。そのような投薬単位形態の例は錠剤 (刻み目付きまたは被覆錠剤を包含)、カプセル、ピル、粉末パッケージ、ウェハース、注射可能溶液または懸濁液、茶サジ一杯、テーブルスプーン一杯など、そしてそれらを複数に分離させた物 (segregated multiples) である。

30

【0093】

本分野の技術者は、本明細書の以下に示す試験結果から有効な量を容易に決定することができるであろう。治療有効量は一般に体重1kg当たり0.005mgから100mg、特に体重1kg当たり0.005mgから10mgであろうと考えている。1日全体に渡って必要な用量を2分割、3分割、4分割またはそれ以上に分割した副次用量 (subdoses) として適切な間隔で投与する方が適切である可能性もある。前記副次用量を単位投薬形態として調合することも可能であり、例えば単位投薬形態当たりの活性材料含有量が0.5から500mg、特に10mgから500mgになるように調合することも可能である。

40

【0094】

本発明の別の面として、HDAC阻害剤と別の抗癌剤の組み合わせを特に薬剤、より具体的には癌および関連病を治療するための薬剤として用いることを意図する。

【0095】

50

この上に示した状態を治療する時、本発明の化合物を有利には他の1種以上の薬剤、より詳細には他の抗癌剤と組み合わせて用いてもよい。抗癌剤の例は下記である：

- ー 白金配位化合物、例えばシスプラチン (cisplatin)、カルボプラチン (carboplatin) またはオキサリプラチン (oxalyplatin)；
- ー タキサン化合物、例えばパクリタキセル (paclitaxel) またはドセタキセル (docetaxel)；
- ー トポイソメラーゼ I 阻害剤、例えばカンプトテシン化合物、例えばイリノテカン (irinotecan) またはトポテカン (topotecan)；
- ー トポイソメラーゼ II 阻害剤、例えば抗腫瘍性ポドフィロトキシン誘導体、例えばエトポシド (etoposide) またはテニポシド (teniposide)；
- ー 抗腫瘍性ビンカアルカロイド、例えばビンブラスチン (vinblastine)、ビンクリスチン (vincristine) またはビノレルビン (vinorelbine)；
- ー 抗腫瘍性ヌクレオシド誘導体、例えば5-フルオロウラシル、ゲンシタビン (gemcitabine) またはカペシタビン (capecitabine)；
- ー アルキル化剤、例えば窒素マスタードまたはニトロソ尿素、例えばシクロホスファミド、クロラムブシル (chlorambucil)、カルムスチン (carmustine) またはロムスチン (lomustine)；
- ー 抗腫瘍性アントラシクリン誘導体、例えばダウノルビシン (daunorubicin)、ドキシソルビシン (doxorubicin)、イダルビシン (idarubicin) またはミトキサントロン (mitoxantrone)；
- ー HER2 抗体、例えばトラスツズマブ (trastuzumab)；
- ー エストロゲン受容体拮抗薬または選択的エストロゲン受容体調節剤、例えばタモキシフェン (tamoxifen)、トレミフェン (toremifene)、ドロロキシフェン (droloxifene)、ファスロデックス (faslodex) またはラロキシフェン (raloxifene)；
- ー アロマトマーゼ阻害剤、例えばエキセメスタン (exemestane)、アナストロゾール (anastrozole)、レトラゾール (letrozole) およびボロゾール (vorozole)；
- ー 分化剤、例えばレチノイド、ビタミンDおよびレチン酸代謝遮断剤 (RAMBA)、例えばアクタン (accutane)；
- ー DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤、例えばアザシチジン (azacytidine)；
- ー キナーゼ阻害剤、例えばフラボペリドール (flavoperidol)、イマチニブメシレート (imatinib mesylate) またはゲフィチニブ (gefitinib)；
- ー ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；または
- ー 他のHDAC阻害剤。

【0096】

本明細書では、用語「白金配位化合物」を、イオン形態の白金を与える腫瘍細胞増殖抑制性白金配位化合物のいずれかを指す目的で用いる。

【0097】

用語「タキサン化合物」は、タキサン環系を有する種類の化合物を指し、これは特定のいちい木種 (Taxus) から抽出された抽出液に関係しているか或はそれから誘導される。

【0098】

用語「トポイソメラーゼ阻害剤」は、真核細胞におけるDNAトポロジーを変える能力を有する酵素を示す目的で用いる。それらは重要な細胞機能および細胞増殖にとって重要である。真核細胞には2種類のトポイソメラーゼ、即ちタイプIおよびタイプIIが存在する。トポイソメラーゼIは分子量が約100,000の単量体酵素である。この酵素は

DNAと結合して過渡的短鎖破壊を誘発し、二重螺旋を巻き戻し（即ち、それを解き）そしてその後に前記破壊部を再密封し（reseals）た後、そのDNA鎖から解離する。トポイソメラーゼIIも同様な作用機構を有するが、これは、DNA鎖破壊の誘導またはフリーラジカルの生成を伴う。

【0099】

用語「カンプトテシン化合物」は、親のカンプトテシン化合物に関係しているか或はそれから誘導された化合物を示す目的で用い、前記化合物は、中国の木であるカンプトテシン・アクミナタ（*Camptothecin acuminata*）およびインドの木であるノタポジテス・フォエチダ（*Nothapodytes foetida*）から得られる水に不溶なアルカロイドである。

10

【0100】

用語「ボドフィロトキシン化合物」は、親のボドフィロトキシンに関係しているか或はそれから誘導された化合物を示す目的で用い、それはマンドレーク植物から抽出されたものである。

【0101】

用語「抗腫瘍性ビンカアルカロイド」は、つるにちそう植物（*Vinca rosea*）の抽出液に関係しているか或はそれから誘導された化合物を示す目的で用いる。

【0102】

用語「アルキル化剤」は、生物学的に重要な巨大分子、例えばDNAなどにアルキル基を生理学的条件下で寄与する能力を有する共通の特徴を有する多様な群の化学品を包含する。より重要な作用剤、例えば窒素マスタードおよびニトロソ尿素などの中で最も重要な作用剤の場合の活性アルキル化部分は、インビボで複雑な減成反応（これらのいくつかは酵素による）が起こることで生じる。アルキル化剤が示す最も重要な薬理学的作用は、細胞増殖、特にDNA合成および細胞の分割に関係した基本的機構を乱す作用である。そのようなアルキル化剤は急速に増殖する組織の中で果たすDNAの機能および一体性を妨害する能力を有するが、このことが、それらの治療用途および毒性の多くの基礎になっている。

20

【0103】

用語「抗腫瘍性アントラシクリン誘導体」は、菌・カビである *Streptomyces peucetici* var. *caesius* から得られる抗生物質およびこれらの誘導体を包含し、これらは、グリコシド結合によって結合している通常ではない糖であるダウノサミンを伴うテトラシクリン環構造を有することを特徴とする。

30

【0104】

特定の患者ではヒト表皮成長因子受容体2蛋白質（HER2）が原発性乳癌の中で増幅することと臨床的予後が劣ることが相互に関係していることが分かっている。トラストズマブは、ヒトに適応させた高純度の組換え型DNA誘導モノクローナルIgG1カップ抗体であり、これはHER2受容体の細胞外ドメインと高い親和性と特異性を伴って結合する。

【0105】

数多くの乳癌はエストロゲン受容体を有し、このような腫瘍の増殖はエストロゲンによって刺激される可能性がある。用語「エストロゲン受容体拮抗薬」および「選択的エストロゲン受容体調節剤」は、エストロゲン受容体（ER）と結合するエストラジールを競合的に抑制するものを示す目的で用いる。選択的エストロゲン受容体調節剤は、ERと結合すると、その受容体が有する三次元形状の変化を誘発し、それによって、それがDNA上のエストロゲン反応要素（ERE）と結合するのが抑制される。

40

【0106】

閉経後の女性の場合、循環するエストロゲンの主な源は副腎および卵巣のアンドロゲン（アンドロステジオンおよびテストステロン）が抹消組織の中でアロマターゼ酵素によってエストロゲン（エストロンおよびエストラジール）に変化することに由来する。アロマターゼを阻害するか或は不活性にすることでエストロゲンを剥奪することは、ホルモ

50

ン依存乳癌にかかっているある閉経後患者にとって有効かつ選択的治療である。

【0107】

本明細書では、用語「抗エストロゲン剤」をこれにエストロゲン受容体拮抗薬および選択的エストロゲン受容体調節剤ばかりでなくまたこの上で考察した如きアロマターゼ阻害剤も包含させる目的で用いる。

【0108】

用語「分化剤」に、細胞増殖をいろいろな様式で抑制しかつ分化を誘発し得る化合物を包含させる。ビタミンDおよびレチノイドは幅広く多様な正常および悪性型の細胞の増殖および分化の調節で重要な役割を果たすことが知られている。レチン酸代謝遮断剤（RAMBA）は、シトクロムP450が介在するレチン酸異化を抑制することによって内因性レチン酸の濃度を高くする。

10

【0109】

ヒト新形成における最も一般的な異常はとりわけDNAメチル化の変化である。選択した遺伝子のプロモーターの中で過剰なメチル化が起こると一般にそれに伴って関係する遺伝子の不活性化が起こる。用語「DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤」は、DNAメチルトランスフェラーゼを薬理的に抑制しかつ腫瘍抑制遺伝子発現を再活性化することを通して作用する化合物を示す目的で用いる。

【0110】

用語「キナーゼ阻害剤」は、細胞周期進展およびプログラムされた細胞死（アポトーシス）に關与するキナーゼの効力のある阻害剤を包含する。

20

【0111】

用語「ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤」は、ラス（Ras）および他の細胞内蛋白質のファルネシル化を防止するように考案された化合物を示す目的で用いる。それらは悪性細胞の増殖および生存に対して効果を示すことが分かっている。

【0112】

用語「他のHDAC阻害剤」は、これらに限定するものでないが、
— 短鎖脂肪酸、例えばブチレート、4-フェニルブチレートまたはバルプロイックアシッド（valproic acid）；
— ヒドロキサム酸、例えばスベロイルアニリドヒドロキサム酸（SAHA）、ピアリールヒドロキサメートA-161906、二環状アリール-N-ヒドロキシカルボキサミド、ピロキサミド、CG-152、PXD-101、スルホンアミドヒドロキサム酸、LAQ-824、トリコスタチンA（TSA）、オキサムフラチン（oxamflatin）、スクリプタイド（scriptaid）、m-カルボキシ桂皮酸ビスヒドロキサム酸またはトラボキシニン-ヒドロキサム酸類似物；
— 環状テトラペプチド、例えばトラボキシニン（trapoxin）、アピジシン（apidicin）またはデプシペプチド；
— ベンズアミド、例えばMS-275またはCI-994；または
— デプデシン（depudecin）；
を包含する。

30

【0113】

癌を治療する時、この上に記述したように、本発明に従う化合物を照射と協力させて患者に投与してもよい。照射はイオン化放射線、特にガンマ放射線、特に直線加速器または放射性核種（今日通常用いられる）が発するガンマ放射線を意味する。放射性核種による腫瘍の照射は外部または内部であってもよい。

40

【0114】

本発明は、また、本発明に従うHDAC阻害剤と抗癌剤の本発明に従う組み合わせにも関する。

【0115】

本発明は、また、医学治療、例えば腫瘍細胞の増殖を抑制するための本発明に従う組み合わせにも関する。

50

【0116】

本発明は、また、腫瘍細胞の増殖を抑制するための本発明に従う組み合わせにも関する。

【0117】

本発明は、また、ヒト被験体における腫瘍細胞の増殖を抑制する方法にも関し、この方法は、前記被験体に本発明に従う組み合わせを有効量で投与することを含んで成る。

【0118】

本発明は、更に、本発明に従う組み合わせを有効量で投与することで細胞（形質転換した細胞を包含）の異常な増殖を抑制する方法も提供する。

【0119】

本H D A C阻害剤と他の薬剤は同時（例えば個別または単一組成物として）またはいずれかの順で逐次的に投与可能である。後者の場合、その2種類の化合物を有利または相乗効果の達成を確保するに十分な量および様式で充分な期間投与する。本組み合わせの各成分に好適な方法および投与順そして個々の投薬量および管理は投与すべき本H D A C阻害剤および他の個々の薬剤、それらを投与する経路、治療すべき個々の腫瘍および治療すべき個々の宿主に依存するであろうことは理解されるであろう。本分野の技術者は本明細書に挙げた情報を考慮に入れて通常の方法を用いることで最適な方法および投与順および投薬量および管理を容易に決定することができるであろう。

【0120】

前記白金配位化合物を有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり1から500mg (mg/m^2)、例えば50から400mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、シスプラチンの場合には約75mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてカルボプラチンの場合には約300mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0121】

前記タキサン化合物を有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり50から400mg (mg/m^2)、例えば75から250mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、パクリタキセルの場合には約175から250mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてドセタキセルの場合には約75から150mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0122】

前記カンプトテシン化合物を有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり0.1から400mg (mg/m^2)、例えば1から300mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、イリノテカンの場合には約100から350mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてトポテカンの場合には約1から2mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0123】

前記抗腫瘍性ポドフィロトキシン誘導体を有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり30から300mg (mg/m^2)、例えば50から250mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、エトポシドの場合には約35から100mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてテニポシドの場合には約50から250mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0124】

前記抗腫瘍性ビンカアルカロイドを有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり2から30mg (mg/m^2)の投薬量で投与し、詳細には、ビンブラスチンの場合には約3から12mg/ m^2 の投薬量で投与し、ビンクリスチンの場合には約1から2mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてビノレルビンの場合には約10から30mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0125】

前記抗腫瘍性ヌクレオシド誘導体を有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり200から2500mg (mg/m^2)、例えば700から1500mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、5-FUの場合には200から500mg/ m^2 の投薬量で投与し、ゲムシタビンの場合には約800から1200mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてカペシタビンの場合には約1000から2500mg/ m^2 の投薬量で投与する。

10

20

30

40

50

【0126】

前記アルキル化剤、例えば窒素マスタードまたはニトロソ尿素などを有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり100から500mg (mg/m^2)、例えば120から200mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、シクロホスファミドの場合にはそれを約100から500mg/ m^2 の投薬量で投与し、クロラムブシルの場合には約0.1から0.2mg/ m^2 の投薬量で投与し、カルムスチンの場合には約150から200mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてロムスチンの場合には約100から150mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0127】

前記抗腫瘍性アントラシクリン誘導体を有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり10から75mg (mg/m^2)、例えば15から60mg/ m^2 の投薬量で投与し、詳細には、ドキソルビシンの場合には約40から75mg/ m^2 の投薬量で投与し、ダウノルビシンの場合には約25から45mg/ m^2 の投薬量で投与し、そしてイダルビシンの場合には約10から15mg/ m^2 の投薬量で投与する。

10

【0128】

トラスツズマブを有利には治療過程毎に体の表面積1平方メートル当たり1から5mg (mg/m^2)、特に2から4mg/ m^2 の投薬量で投与する。

【0129】

抗エストロゲン剤を個々の作用剤および治療すべき状態に応じて有利には1日当たり約1から100mgの投薬量で投与する。タモキシフェンを有利には経口で5から50mg、好適には10から20mgの投薬量で日に2回投与し、この治療を治療効果が達成されかつ維持されるに十分な期間継続する。トレミフェンを有利には経口で約60mgの投薬量で日に1回投与し、この治療を治療効果が達成されかつ維持されるに十分な期間継続する。アナストロゾールを有利には経口で約1mgの投薬量で日に1回投与する。ドロキシフェンを有利には経口で約20-100mgの投薬量で日に1回投与する。ラロキシフェンを有利には経口で約60mgの投薬量で日に1回投与する。エキセメスタンを経口で約25mgの投薬量で日に1回投与する。

20

【0130】

前記投薬量を治療過程当たり例えば1回、2回またはそれ以上投与してもよく、これを例えば7日、14日、21日または28日毎に繰り返してもよい。

30

【0131】

本発明に従う組み合わせに含める成分、即ち本HDAC阻害剤と他の薬剤は、これらが有効な薬理学的特性を有することを考慮して、いろいろな投与目的の薬剤形態に調合可能である。前記成分を個別の薬剤組成物として個別に調合してもよい或は両方の成分を含有する単一の薬剤組成物として調合してもよい。

【0132】

従って、本発明は、また、本HDAC阻害剤と他の薬剤を1種以上の薬学的担体と一緒に含んで成る薬剤組成物にも関する。

【0133】

本発明は、また、本発明に従うHDAC阻害剤と抗癌剤を1種以上の薬学的担体と一緒に含んで成る薬剤組成物の形態の本発明に従う組み合わせにも関する。

40

【0134】

本発明は、更に、腫瘍細胞の増殖を抑制する薬剤組成物を製造する時に本発明に従う組み合わせを用いることにも関する。

【0135】

本発明は、更に、癌に苦しんでいる患者を治療する時に同時、個別または逐次的に用いるに適した組み合わせ調剤として本発明に従うHDAC阻害剤を1番目の活性材料として含有しかつ抗癌剤を2番目の活性材料として含有する製品にも関する。

【実施例】

【0136】

50

実験部分

以下の実施例は説明の目的で示すものである。

【0137】

本明細書では以降、「DCM」はジクロロメタンを意味し、「DMF」はジメチルホルムアミドを意味し、「EtOAc」は酢酸エチルを意味し、「iPrOH」はイソプロピルを意味し、「MeOH」はメタノールを意味し、「EtOH」はエタノールを意味し、「TEA」はトリエチルアミンを意味し、「TFA」はトリフルオロ酢酸を意味し、「THF」はテトラヒドロフランを意味し、「BSA」はウシ血清アルブミンを意味し、「DMSO」はジメチルスルホキシドを意味し、そして「Hepes」は4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジン-エタンスルホン酸を意味する。

10

【0138】

$[\alpha]_D^{20}$ は、ナトリウムのD線の波長の光を用いて20℃の温度で測定した旋光を示す。旋光測定で用いた溶液の濃度および溶媒を実測値の後方に記述する。

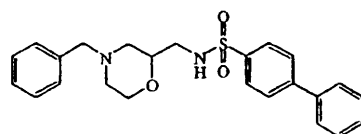
A. 中間体の調製

実施例 A 1

a)

【0139】

【化23】



中間体1

20

【0140】

の調製

4-(フェニルメチル)-2-モルホリンメタンアミン(0.0145モル)とTEA(0.023モル)をDCM(50ml)に入れることで生じさせた0℃の溶液に、塩化[1,1'-ビフェニル]-4-スルホン(0.016モル)をDCM(50ml)に入

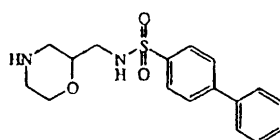
30

入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を室温にもって行った後、一晚攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、DCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥(MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物(6g)をジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が128℃の中間体1を3.1g(62%)得た。

b)

【0141】

【化24】



中間体2

40

【0142】

の調製

中間体1(0.0071モル)とPd/C(0.5g)をMeOH(50ml)と酢酸(5ml)に入れることで生じさせた混合物に水添を3バールの圧力下室温で5日間受けさせた後、セライトで濾過した。セライトをDCM/MeOHで洗浄した。その濾液に蒸

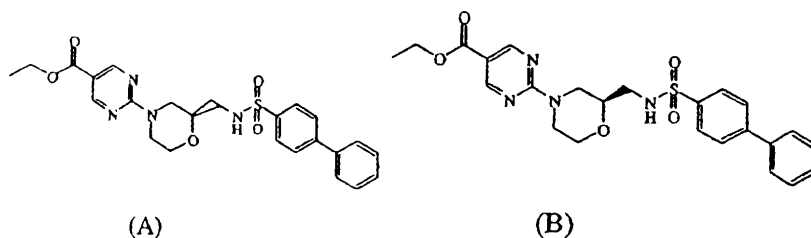
50

発を受けさせた。その残留物（3 g）をジエチルエーテルで取り上げた。その沈澱物を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄した後、乾燥させることで、融点が151℃の中間体2を2.6 g（100%）得た。

c)

【0143】

【化25】



中間体3

中間体4

【0144】

の調製

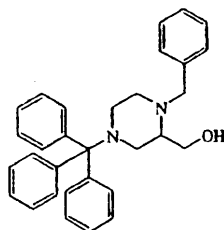
中間体2（0.0069モル）をTHF（30ml）に入れることで生じさせた0℃の混合物にN₂流下で60%の水素化ナトリウム（0.014モル）を分割して加えた。この混合物を0℃で1時間攪拌した。2-（メチルスルホニル）-5-ピリミジンカルボン酸エチルエステル（0.009モル）をTHF（20ml）に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を室温で4時間攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、EtOAcで抽出した。その有機層を水で洗浄し、乾燥（MgSO₄）させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物（3 g）をシリカゲル（15-40 μm）使用カラムクロマトグラフィー（溶離剤：DCM/MeOHが95/5）で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させた。その残留物（0.6 g）をシリカゲル〔キラルパック（chiralpak）〕使用カラムクロマトグラフィー（溶離剤：CH₃CNが100）で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、 $[\alpha]_D^{20} = -32.6$ （c=0.00485 DMF）の中間体3（A）を0.255 g（8%）と $[\alpha]_D^{20} = +33.8$ （c=0.005 DMF）の中間体4（B）を0.25 g（8%）得た。

実施例A2

a)

【0145】

【化26】



中間体5

【0146】

の調製

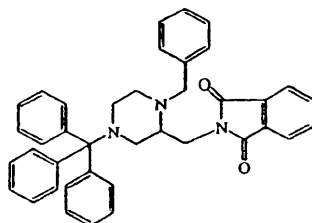
5℃のTHF（40ml）にN₂流下でテトラヒドロアルミン酸（1-）リチウム（0.04モル）を分割して加えた。1-ベンジル-4-トリフェニルメチルピペラジン-2-カルボン酸エチルエステル（0.01モル）をTHF（40ml）に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を2時間攪拌し、EtOAc/水の中に注ぎ出した

後、セライトで濾過した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO_4) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させることで、中間体5を4.05 g得た。この生成物を次の反応段階で直接用いた。

b)

【0147】

【化27】



中間体6

10

【0148】

の調製

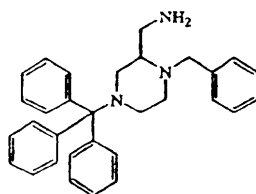
中間体5 (0.0064 mol) と1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオン (0.0097 mol) とトリフェニルホスフィン (0.0097 mol) をTHF (50 ml) に入れることで生じさせた5℃の溶液に N_2 流下でジアゼンジカルボン酸ビス(1-メチルエチル)エステル (0.0097 mol) をTHF (10 ml) に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を室温で6時間攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、EtOAcで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO_4) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (11 g) をシリカゲル (15-40 μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/EtOAcが99/1) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、融点が100℃の中間体6を2.8 g (75%) 得た。

20

c)

【0149】

【化28】



中間体7

30

【0150】

の調製

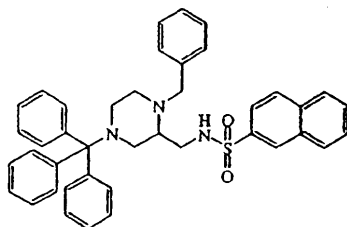
中間体6 (0.0025 mol) をEtOH (25 ml) に入れることで生じさせた溶液に一臭化水素酸ヒドラジン (0.005 mol) を加えた。この混合物を攪拌しながら4時間還流させた後、室温に冷却した。溶媒を蒸発させた。その残留物をNaClで取り上げた後、EtOAc/DCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO_4) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させることで、中間体7を3.55 g得た。この生成物を次の反応段階で直接用いた。

40

d)

【0151】

【化 2 9】



中間体8

【0152】

10

の調製

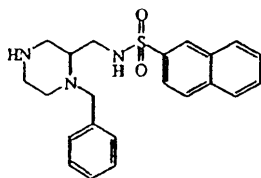
中間体7 (0.0025モル)と塩化2-ナフタレンスルホニル (0.0027モル)とTEA (0.004モル)をDCM (20ml)に入れることで生じさせた混合物を室温で一晩攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、DCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (3.8g)をシリカゲル (15-40 μm)使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/EtOAc が98/2)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (0.8g)をジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が219℃の中間体8を0.693g (41%)得た。

e)

20

【0153】

【化 3 0】



中間体9

【0154】

30

の調製

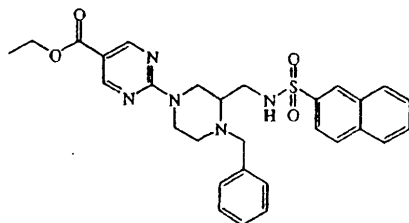
中間体8 (0.0009モル)を12NのHCl (0.6ml)と2-プロパノン (18ml)に入れることで生じさせた混合物を室温で4時間攪拌した。溶媒を蒸発させた。その残留物を水で取り上げた。その水層をジエチルエーテルで洗浄し、炭酸カリウムで塩基性にした後、EtOAcで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (0.5g)をジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させた。その残留物 (0.38g)を水/EtOAcで取り上げた。その有機層に蒸発を受けさせた。その残留物をジエチルエーテルで取り上げた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が210℃の中間体9を0.044g (48%)得た。

f)

40

【0155】

【化 3 1】



中間体10

10

【0 1 5 6】

の調製

中間体 9 (0.002 モル) と炭酸カリウム (0.007 モル) をアセトニトリル (50 ml) に入れることで生じさせた室温の溶液に 2-(メチルスルホニル)-5-ピリジンカルボン酸エチルエステル (0.0029 モル) を加えた。この混合物を室温で 3 時間攪拌した後、80℃で一晩攪拌し、室温に冷却し、氷水の中に注ぎ出した後、EtOAc で抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (2 g) をシリカゲル (15-40 μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOH が 99/1) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、中間体 10 を 0.76 g (48%) 得た。

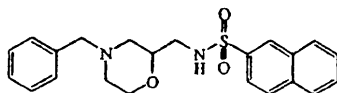
20

実施例 A 3

a)

【0 1 5 7】

【化 3 2】



中間体11

30

【0 1 5 8】

の調製

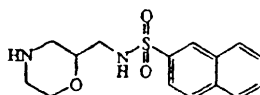
4-(フェニルメチル)-2-モルホリンメタンアミン (0.015 モル) と TEA (0.024 モル) を DCM (50 ml) に入れることで生じさせた 0℃の溶液に N₂ 流下で塩化 2-ナフタレンスルホニル (0.016 モル) を DCM (50 ml) に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を室温で一晩攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、DCM で抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させることで、中間体 11 を 6 g (100%) 得た。この生成物を次の反応段階で直接用いた。

40

b)

【0 1 5 9】

【化 3 3】



中間体12

50

【0160】

の調製

中間体11 (0.014モル) を1, 2-ジクロロエタン (48ml) に入れることで生じさせた室温の混合物に、カルボノクロリジックアシッド (carbonochloridic acid) の1-クロロエチルエステル (0.016モル) を1, 2-ジクロロエタン (2ml) に入れることで生じさせた溶液を加えた。この混合物を室温で45分間に続いて80℃で3時間攪拌した。MeOH (100ml) を加えた。この混合物を80℃で4時間攪拌し、水の中に注ぎ出した後、EtOAcで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (3.5g) をシリカゲル (15-40 μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOH/NH₄OHが92/8/0.5) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (0.38g、9%) をジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が140℃の中間体12を0.21g得た。

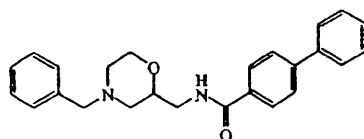
10

実施例A4

a)

【0161】

【化34】



中間体13

20

【0162】

の調製

4-(フェニルメチル)-2-モルホリンメタンアミン (0.0145モル) とTEA (0.023モル) をDCM (50ml) に入れることで生じさせた0℃の溶液に、塩化[1, 1'-ビフェニル]-4-カルボニル (0.016モル) をDCM (50ml) に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を室温で12時間攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、DCMで抽出した。その有機層を10%の炭酸カリウムで洗浄し、分離し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (6.2g) をCH₃CN/ジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させた。その母層に蒸発を受けさせた。その残留物 (3.3g) をシリカゲル (15-40 μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOH/NH₄OHが98/2/0.1) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで1.5g (27%) 得た。一部 (0.39g) をCH₃CN/ジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が133℃の中間体13を0.12g得た。

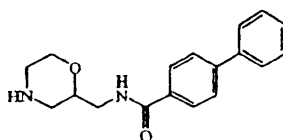
30

40

b)

【0163】

【化35】



中間体14

50

【0164】

の調製

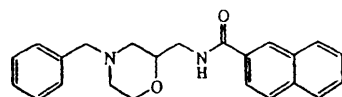
中間体13 (0.006モル) を1, 2-ジクロロエタン (35ml) に入れることで生じさせた室温の混合物にカルボノクロリジックアシッドの1-クロロエチルエステル (0.0066モル) を加えた。この混合物を室温で45分間に続いて80℃で3時間攪拌した。MeOH (60ml) を加えた。この混合物を80℃で8日間攪拌した後、室温に冷却した。溶媒を蒸発させた。EtOAcを加えた。その沈澱物を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄した後、乾燥させることで、融点が280℃の中間体14を1.8g (100%) 得た。

実施例 A 5

a)

【0165】

【化36】



中間体15

【0166】

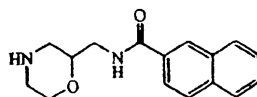
の調製

4-(フェニルメチル)-2-ホルリンメタンアミン (0.015モル) とTEA (0.026モル) をDCM (60ml) に入れることで生じさせた0℃の混合物に、塩化2-ナフタレンカルボニル (0.017モル) をDCM (60ml) に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を一晩かけて室温にもって行った後、氷水の中に注ぎ出した。その有機層を分離し、10%の炭酸カリウムで洗浄し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物をジエチルエーテル/DIPEから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が104℃の中間体15を4.6g (85%) 得た。

b)

【0167】

【化37】



中間体16

【0168】

の調製

中間体15 (0.0109モル) とPd/C (2g) をMeOH (80ml) と酢酸 (8ml) に入れることで生じさせた混合物に水添を3バールの圧力下室温で4日間受けさせた後、セライトで濾過した。セライトをMeOH/DCMで洗浄した。その濾液に蒸発を受けさせた。その残留物 (7.2g) をシリカゲル (15-40μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOH/NH₄OHが97/3/0.1) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで中間体16を0.8g得た。

実施例 A 6

a)

10

20

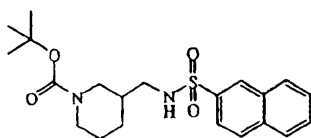
30

40

50

【0169】

【化38】



中間体17

【0170】

10

の調製

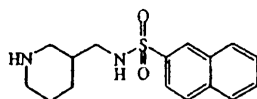
3-(アミノメチル)-1-ピペリジンカルボン酸1, 1-ジメチルエチルエステル(0.01モル)とTEA(0.014モル)をDCM(15ml)に入れることで生じさせた5℃の混合物に、塩化2-ナフタレンスルホニル(0.011モル)をDCM(5ml)に入れることで生じさせた溶液を加えた。この混合物を20℃で18時間攪拌した。10%の炭酸カリウムを加えた。その有機層を分離し、乾燥(MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させることで、中間体17を4.6g(>100%)得た。

b)

【0171】

20

【化39】



中間体18

【0172】

30

の調製

中間体17(0.0089モル)を5NのHCl/iPrOH(40ml)に入れることで生じさせた混合物を50℃で15分間攪拌した後、NH₄OHで酸性にした。溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させた。その残留物をDCMで取り上げた後、濾過した。その濾液を乾燥(MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させることで、中間体18を2.9g(>100%)得た。

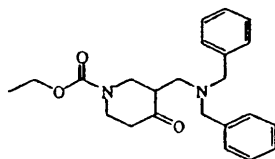
実施例A7

a)

【0173】

【化40】

40



中間体19

【0174】

の調製

N-(フェニルメチル)-ベンゼンメタンアミン(1モル)をジエチルエーテルに溶解させた後、6NのHCl/2-プロパノールを用いて塩酸塩(1:1)に変化させた。そ

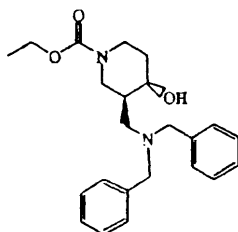
50

の沈澱物を濾別した後、乾燥させることで234 g得て、これを4-オキソ-1-ピペリジンカルボン酸エチルエステルおよび $(CH_2O)_n$ (30 g)と一緒に酢酸 (1600 ml)に入れた。この混合物を60-65℃で110分間攪拌した後、室温に冷却して、氷/水/ NH_4OH の中に注ぎ出した。その結果として生じた白色の油状沈澱物をジエチルエーテルで抽出した。その有機層を分離して水で洗浄し、乾燥 ($MgSO_4$) させ、濾過した後、溶媒を室温で蒸発させることで、中間体19を436 g得た。

b)

【0175】

【化41】



(トランス)
中間体20

10

【0176】

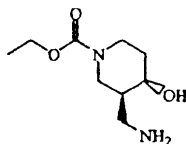
の調製

中間体19 (最大で0.55モル、粗残留物)をEtOH (1500 ml)に入れて攪拌した。ヒドロホウ酸ナトリウムの一部を分割して加えると結果として発熱反応が起こることで温度が30℃にまで上昇した。従って、その反応混合物を氷水浴で冷却し、そして反応温度を±16℃に保持しながら更にヒドロホウ酸ナトリウム (全体で1.5モル)を加えた。この反応混合物を±16℃で1時間攪拌した。この混合物に蒸発による濃縮を初期体積の半分になるまで受けさせた。その濃縮液を冷却した。水を加えた。この混合物にさらなる濃縮をエタノールが全部蒸発するまで受けさせた (ひどく発泡)。その水性濃縮液を冷却した後、ジエチルエーテルで抽出した。その有機層を分離し、水で洗浄し、乾燥 ($MgSO_4$) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その油状残留物をDIP Eに溶解させた後、HCl / 2-プロパノールで処理した。結果として、粘性のある沈澱物が生じた。溶媒を蒸発させた。その残留物を温アセトニトリルに入れて懸濁させた後、冷却して、その沈澱物を濾過で除去した。その濾液に蒸発を受けさせた。その残留物を水に溶解させ、 NH_4OH でアルカリ性にした後、ジエチルエーテルで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 ($MgSO_4$) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (267 g)をHPLC (溶離剤: トルエン/エタノールが98.5/1.5)で分離した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させた。その画分の1つをアセトニトリルから結晶化させ、濾別した後、乾燥させることで、中間体20 (トランス)を107 g得た。

c)

【0177】

【化42】



(トランス)
中間体21

20

30

40

50

【0178】

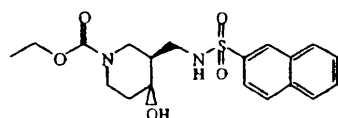
の調製

中間体20 (0.01モル)とPd/C (1.5g)をEtOH (200ml)に入れることで生じさせた混合物に水添を3バールの压力下50℃で一晩受けさせた後、セライトで濾過した。その濾液に蒸発を乾燥状態になるまで受けさせることで、中間体21を2.1g (>100%)得た。

d)

【0179】

【化43】



(トランス)
中間体22

10

【0180】

の調製

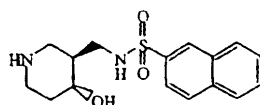
中間体21 (0.0049モル)とTEA (0.0069モル)をDCM (10ml)に入れることで生じさせた5℃の混合物にN₂流下で塩化2-ナフタレンスルホニル (0.0054モル)をDCM (2ml)に入れることで生じさせた溶液を加えた。この混合物を室温で18時間攪拌した。10%の炭酸カリウムを加えた。この混合物をDCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させることで、中間体22 (トランス)を2g (100%)得た。

20

e)

【0181】

【化44】



(トランス)
中間体23

30

【0182】

の調製

中間体22 (0.0043モル)を6NのHCl (20ml)に入れることで生じさせた混合物を攪拌しながら24時間還流させた。溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させた。その残留物を3NのNaOHで塩基性にした。EtOAcを加えた。この混合物を室温で一晩攪拌した。その沈澱物を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄した後、乾燥させることで、中間体23 (トランス)を1.37g (97%)得た。

40

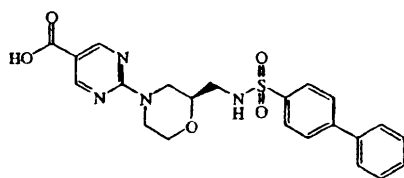
B. 最終化合物の調製

実施例B1

a)

【0183】

【化 4 5】



.Na
(B)
中間体24

10

【0184】

の調製

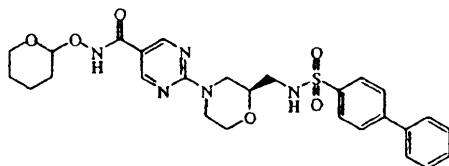
中間体4 (0.0004モル)とNaOH (0.0008モル)をEtOH (10ml)に入れることで生じさせた混合物を80℃で48時間攪拌した後、室温に冷却した。その沈澱物を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄した後、乾燥させることで、中間体24 (B) Naを0.188g (90%)得た。

b)

【0185】

【化 4 6】

20



(B)
中間体25

30

【0186】

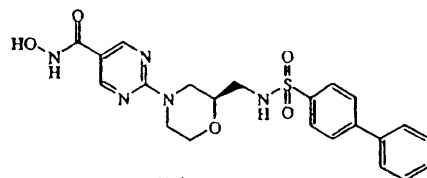
の調製

中間体24 (0.0003モル)とO-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-ヒドロキシルアミン (0.0005モル)をDCM (10ml)に入れることで生じさせた室温の混合物に、一塩酸N'-(エチルアルボニミドイル)-N,N-ジメチル-1,3-プロパンジアミン (0.0005モル)をDCM (5ml)に入れることで生じさせた溶液に続いて1-ヒドロキシ-1H-ベンゾトリアゾール (0.0005モル)をTHF (5ml)に入れることで生じさせた溶液を加えた。この混合物を室温で一晩攪拌し、水の中に注ぎ出した後、DCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥(MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (0.29g)をシリカゲル (10μm) 40

c)

【0187】

【化 4 7】

(B)
化合物1

【0188】

10

の調製

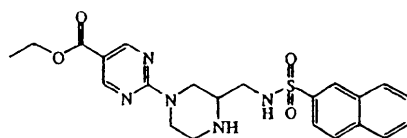
中間体25 (B) (0.0002モル)をTFA (1ml)とMeOH (15ml)に入れることで生じさせた混合物を室温で4日間攪拌した。その沈澱物を濾別した後、乾燥させた。その残留物 (0.08g)をMeOH/CH₃CNで取り上げた。その沈澱物を濾過し、MeOHに続いてジエチルエーテルで洗浄した後、乾燥させることで、 $[\alpha]_D^{20} = +32.85$ ($c = 0.0047$, DMF)で融点が164℃の化合物1 (B)を0.046g得た。

実施例B2

【0189】

【化 4 8】

20



中間体26

【0190】

の調製

30

中間体10 (0.0088モル)と10%Pd/C (1.3g)を酢酸 (2ml)とEtOH (200ml)に入れることで生じさせた混合物を3バールの圧力下室温で9日間攪拌した後、セライトで濾過した。その濾液に蒸発を乾燥状態になるまで受けさせた。その混合物をセライトで濾過した。その濾液に蒸発を乾燥状態になるまで受けさせた。その残留物をDCMで取り上げた。その有機層を10%の炭酸カリウムで洗浄し、乾燥 (MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (2.7g)をシリカゲル (15-40μm)使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: トルエン/iPrOH/NH₄OHが90/10/0.2)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、中間体26を0.29g (8%)得た。

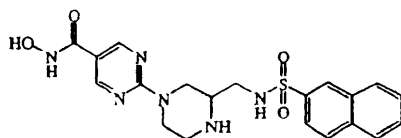
【0191】

40

中間体26に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が243℃の化合物2を0.065g (51%)得た。

【0192】

【化 4 9】



化合物2

【0193】

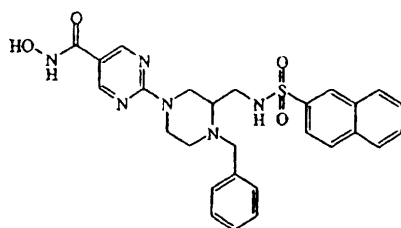
実施例 B 3

10

中間体 10 に処理を実施例 [B 1] に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が 135℃の化合物 3 を 0.26 g (100%) 得た。

【0194】

【化 5 0】



化合物3

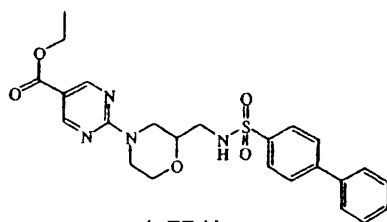
20

【0195】

実施例 B 4

【0196】

【化 5 1】



中間体27

30

【0197】

の調製

中間体 2 (0.0039 モル) を THF (15 ml) に入れることで生じさせた 0℃の混合物に N_2 流下で 60% の水素化ナトリウム (0.0059 モル) を加えた。この混合物を 0℃で 1 時間攪拌した。2-(メチルスルホニル)-5-ピリミジンカルボン酸エチルエステル (0.0051 モル) を THF (10 ml) に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を 0℃で 2 時間攪拌した後、2 時間かけて室温にもって行き、氷水の中に注ぎ出した後、EtOAc で抽出した。その有機層を分離し、乾燥 ($MgSO_4$) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (2 g) をシリカゲル (15-40 μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOH/ NH_4OH が 97/3/0.1) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させた。その残留物をジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が 170℃の中間体 27 を 0.075 g 得た。

40

【0198】

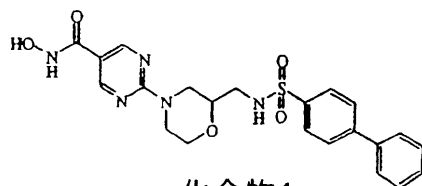
中間体 27 に処理を実施例 [B 1] に記述した様式と類似した様式で受けさせることで

50

融点が163℃の化合物4を0.236g(64%)得た。

【0199】

【化52】



化合物4

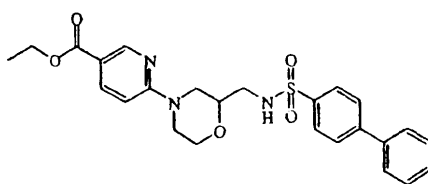
10

【0200】

実施例B5

【0201】

【化53】



中間体28

20

【0202】

の調製

中間体2(0.0036モル)と6-クロロ-3-ピリジンカルボン酸エチルエステル(0.0047モル)をDMF(20ml)に入れることで生じさせた0℃の混合物にN₂流下で60%の水素化ナトリウム(0.0043モル)を分割して加えた。この混合物を90℃で12時間攪拌した後、室温に冷却して、氷水の中に注ぎ出した。EtOAcを加えた。この混合物をEtOAcで抽出した。その有機層を水で洗浄し、乾燥(MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物(1.7g)をシリカゲル(15-40μm)使用カラムクロマトグラフィー(溶離剤:DCM/EtOAcが85/15に続いてDCM/MeOH/NH₄OHが97/3/0.1)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させた。その残留物(0.42g)をジエチルエーテルから結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が186℃の中間体28を0.36g(22%)得た。

30

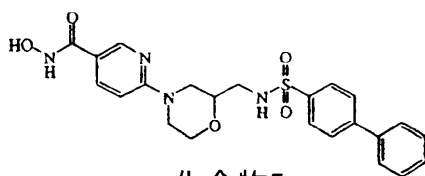
【0203】

中間体28に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が210℃の化合物5を0.155g(62%)得た。

【0204】

【化54】

40



化合物5

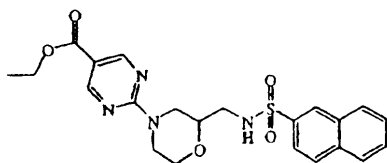
【0205】

実施例B6

50

【0206】

【化55】



中間体29

10

【0207】

の調製

中間体12 (0.0016モル)をTHF (10ml)に入れることで生じさせた0℃の混合物にN₂流下で水素化ナトリウム (0.0032モル)を加えた。この混合物を室温で1時間攪拌した。2-(メチルスルホニル)-5-ピリミジンカルボン酸エチルエステル (0.0019モル)をTHF (10ml)に入れることで生じさせた溶液を0℃で滴下した。この混合物を室温で2時間攪拌した。氷とEtOAcを加えた。この混合物をEtOAcで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (0.75g)をシリカゲル (15-40μm)使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOHが99/1)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、中間体29を0.22g (73%)得た。

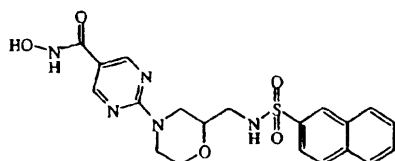
20

【0208】

中間体29に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が179℃の化合物6を0.055g (50%)得た。

【0209】

【化56】



化合物6

30

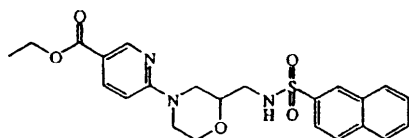
【0210】

実施例B7

【0211】

【化57】

40



中間体30

【0212】

の調製

中間体12 (0.0026モル)をDMF (20ml)に入れることで生じさせた0℃

50

の混合物に N_2 流下で60%の水素化ナトリウム(0.0052モル)を加えた。この混合物を0℃で1時間攪拌した。6-クロロ-3-ピリジンカルボン酸エチルエステル(0.0034モル)をDMF(10ml)に入れることで生じさせた溶液を0℃で滴下した。この混合物を室温にもって行った後、90℃で12時間攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、DCMで抽出した。その有機層を水で洗浄し、乾燥($MgSO_4$)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物(1.4g)をシリカゲル(15-40 μm)使用カラムクロマトグラフィー(溶離剤:シクロヘキサン/ $EtOAc$ が60/40)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、中間体30を0.5g(42%)得た。

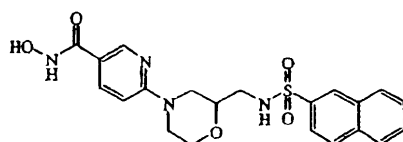
【0213】

10

中間体30に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が157℃の化合物7を0.23g(66%)得た。

【0214】

【化58】



化合物7

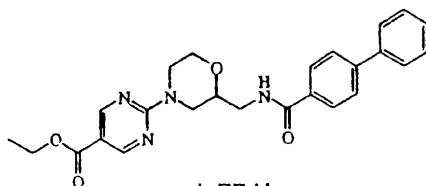
20

【0215】

実施例B8

【0216】

【化59】



中間体31

30

【0217】

の調製

中間体14(0.003モル)と2-(メチルスルホニル)-5-ピリミジンカルボン酸エチルエステル(0.004モル)と炭酸カリウム(0.0061モル)をアセトニトリル(30ml)に入れることで生じさせた混合物を室温で12時間攪拌し、水の中に注ぎ出した後、 $EtOAc$ で抽出した。その有機層を分離し、水で洗浄し、乾燥($MgSO_4$)させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物(1.4g)を CH_3CN / $EtOAc$ から結晶化させた。その沈澱物を濾別した後、乾燥させることで、融点が184℃の中間体31を1.1g(79%)得た。

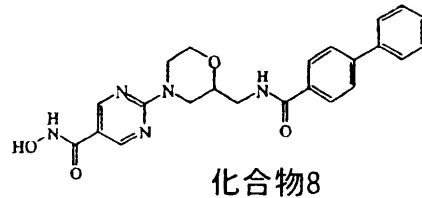
40

【0218】

中間体31に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が290℃の化合物8を0.156g(47%)得た。

【0219】

【化 6 0】



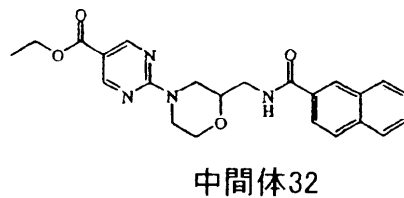
【0 2 2 0】

10

実施例 B 9

【0 2 2 1】

【化 6 1】



20

【0 2 2 2】

の調製

中間体 1 6 (0.0022 モル) を THF (15 ml) に入れることで生じさせた 0℃ の混合物に N₂ 流下で水素化ナトリウム (0.0044 モル) を加えた。この混合物を 0℃ で 1 時間攪拌した。2-(メチルスルホニル)-5-ピリミジンカルボン酸エチルエステル (0.0029 モル) を THF (5 ml) に入れることで生じさせた溶液を滴下した。この混合物を室温で 4 時間攪拌し、氷水の中に注ぎ出した後、EtOAc で抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過した後、溶媒を蒸発させた。その残留物 (1 g) をシリカゲル (15-40 μm) 使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCM/MeOH/NH₄OH が 97/3/0.1) で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、中間体 3 2 を 0.58 g (90%) 得た。

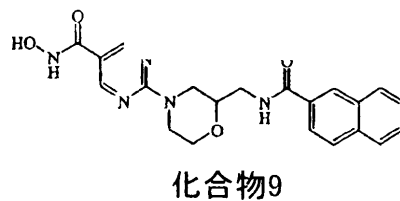
30

【0 2 2 3】

中間体 3 2 に処理を実施例 [B 1] に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が 246℃ の化合物 9 を 0.091 g (50%) 得た。

【0 2 2 4】

【化 6 2】



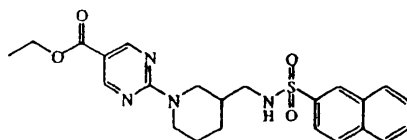
40

【0 2 2 5】

実施例 B 1 0

【0 2 2 6】

【化 6 3】



中間体33

【0 2 2 7】

10

の調製

中間体18 (0.0032モル)をTHF (10ml)に入れることで生じさせた5℃の混合物にN₂流下で油中60%の水素化ナトリウム (0.0042モル)を分割して加えた。この混合物を30分間攪拌した。2-(メチルスルホニル)-5-ピリミジンカルボン酸エチルエステル (0.0039モル)をTHF (2ml)に入れることで生じさせた溶液を加えた。この混合物を室温で18時間攪拌した。10%の炭酸カリウムを加えた。この混合物をDCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥 (MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させた。その残留物 (1.6g)をシリカゲル (15-40μm)使用カラムクロマトグラフィー (溶離剤: DCMが100からDCM/MeOHが98/2)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、中

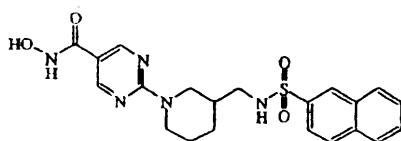
20

【0 2 2 8】

中間体33に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が210℃の化合物10を0.19g (50%)得た。

【0 2 2 9】

【化 6 4】



化合物10

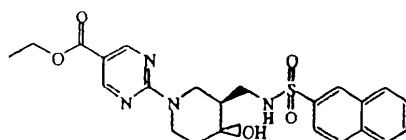
30

【0 2 3 0】

実施例B11

【0 2 3 1】

【化 6 5】

トランス
中間体34

40

【0 2 3 2】

の調製

中間体23 (0.004モル)をTHF (10ml)に入れることで生じさせた5℃の混合物にN₂流下で水素化ナトリウム (0.0102モル)を分割して加えた。この混合

50

物を1時間攪拌した。2-(メチルスルホニル)-5-ピリジンカルボン酸エチルエステル(0.0053モル)をTHF(5ml)に入れることで生じさせた溶液を加えた。この混合物を室温で24時間攪拌した。10%の炭酸カリウムを加えた。この混合物をDCMで抽出した。その有機層を分離し、乾燥(MgSO₄)させ、濾過した後、溶媒を乾燥状態になるまで蒸発させた。その残留物(1.1g)をシリカゲル(15-40μm)使用カラムクロマトグラフィー(溶離剤:DCM/MeOH/NH₄OHが95/5/0.1)で精製した。高純度画分を集めた後、溶媒を蒸発させることで、融点が189℃の中間体34を0.17g(9%)得た。

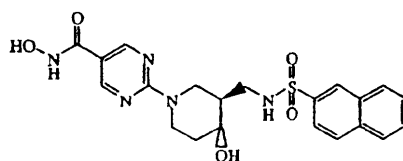
【0233】

中間体34に処理を実施例[B1]に記述した様式と類似した様式で受けさせることで融点が176℃の化合物11(トランス)を0.194g(68%)得た。

10

【0234】

【化66】



トランス
化合物11

20

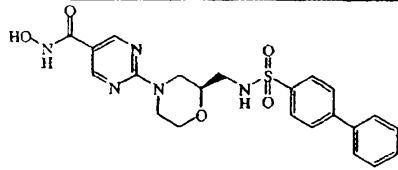
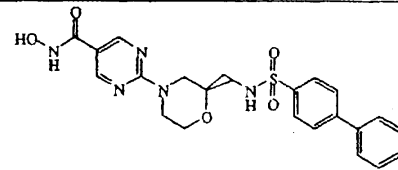
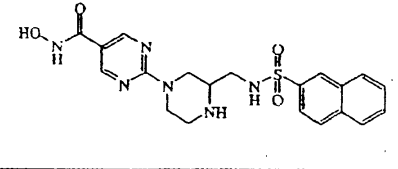
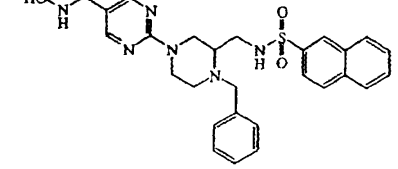
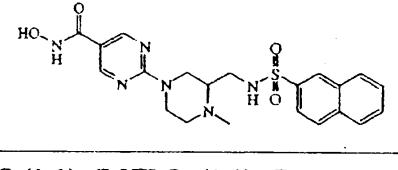
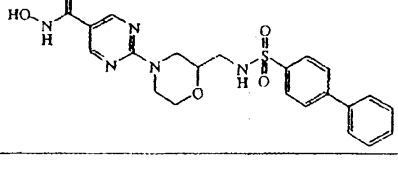
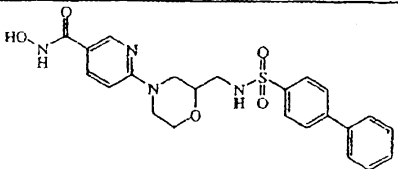
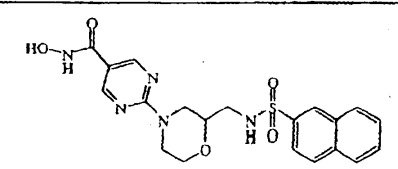
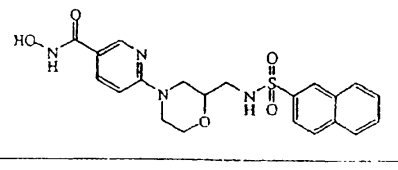
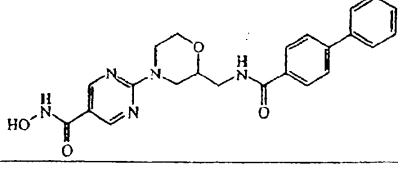
【0235】

表F-1に、この上に示した実施例の中の1つに従って調製した化合物を挙げる。この表では下記の省略形を用いた:・C₂H₃F₃O₂はトリフルオロ酢酸塩を表し、そしてCo.No.は化合物番号を表し、Ex.[Bn⁰]は、Bn⁰実施例に記述した方法と同じ方法を指す。いくつかの化合物では融点(mp.)で特徴付けを行った。

【0236】

【表 2】

表F-1

	
(B); Co. No. 1; Ex. [B1]; mp. 164°C	(A); Co. No. 12; Ex. [B1]; mp. 175°C
	
Co. No. 2; Ex. [B2]; mp. 243°C	Co. No. 3; Ex. [B3]; mp. 135°C
	
H ₂ O (1:1) .C ₂ H ₅ F ₃ O ₂ (1:1); Co. No. 13; Ex. [B3]	Co. No. 4; Ex. [B4]; mp. 163°C
	
Co. No. 5; Ex. [B5]; mp. 210°C	Co. No. 6; Ex. [B6]; mp. 179°C
	
Co. No. 7; Ex. [B7]; mp. 157°C	Co. No. 8; Ex. [B8]; mp. 290°C

【 0 2 3 7 】

【表 3】

Co. No. 9; Ex. [B9]; mp. 246°C	Co. No. 10; Ex. [B10]; mp. 210°C
Co. No. 14; Ex. [B10]; mp. 150°C	TRANS; Co. No. 11; Ex. [B11]; mp. 176°C

10

【0238】

C. 薬理学的実施例：

ヒストンデアセチラーゼのインビトロ阻害検定（実施例 C. 1 を参照）では、前記式（I）で表される化合物を用いることで得られる HDAC 酵素活性抑制を測定する。

【0239】

20

比色検定を用いて、前記式（I）で表される化合物が A2780 腫瘍細胞に対して示す細胞活性を細胞の毒性または生存度に関して測定した（Mosmann Tim、Journal of Immunological Methods 65：55-63、1983）（実施例 C. 2 を参照）。

【0240】

水性媒体中の動的溶解性（kinetic solubility）では、ある化合物が希釈時に水溶液の中に留まる能力を測定する（実施例 C. 3 を参照）。

【0241】

DMSO ストック溶液を単一の水性緩衝溶媒（buffer solvent）で逐次的に 3 段階希釈する。希釈毎に濁度を比濁計で測定する。

30

【0242】

薬剤の代謝は、脂質に溶解する生体異物または生体内存在（endobiotic）化合物が酵素によって（a）水溶性で排出性（excretable）で極性のある代謝産物 1 種または 2 種以上に変化することを意味する。薬剤の代謝をもたらす主要な器官は肝臓である。しばしば、代謝産物の方が親薬剤よりも活性が低いか或は不活性である。しかしながら、ある代謝産物は高い活性または毒性効果を示す可能性がある。従って、薬剤代謝には「無毒化」および「毒化」過程の両方が含まれ得る。有機体が薬剤および化学品を処理する能力を決定する主要な酵素系の 1 つの代表はシトクロム P450 モノオキシゲナーゼであり、これらは NADPH 依存酵素である。ヒト細胞下組織を用いてある化合物が示す代謝安定性をインビトロで測定することができる（実施例 C. 4 を参照）。ここでは、当該化合物をミクロソームと一緒に 15 分間インキュベートした後に代謝を受けた薬剤の % として当該化合物の代謝安定性を表す。この化合物の量を LC-MS 分析で測定した。

40

【0243】

腫瘍サプレッサー p53 は DNA 損傷に反応して数多くの遺伝子を転写的に活性にする。そのような遺伝子には WAF1/CIP1 遺伝子が含まれる。正常な細胞では WAF1 遺伝子の 21 kDa 産物がサイクリンとサイクリン依存キナーゼ（CDK）と増殖する細胞核抗原（PCNA）を伴う複合体として存在するが、形質転換した細胞には存せず、それは CDK 活性の普遍的抑制剤であると見られる。p21 WAF1 が CDK と結合してそれを阻害すると、1 つの結果として、CDK 依存燐酸化が防止され、従って Rb 蛋白質

50

(これは細胞周期進展に必須である) が不活性になる。従って、p 2 1 W A F 1 が H D A C 阻害剤との細胞接触に反応して誘導されることは、G 1 および G 2 チェックポイントの両方において細胞周期進展の抑制を示す効力のある特異的指標である。

【 0 2 4 4 】

p 2 1 W A F 1 酵素結合免疫測定法 (O n c o g e n e の W A F 1 E L I S A) を用いて、当該化合物が p 2 1 W A F 1 を誘導する能力を有するか否かを測定した。p 2 1 W A F 1 検定は、マウスモノクローナルとウサギポリクローナル抗体の両方を用いる「サンドイッチ」酵素免疫検定である。ヒト W A F 1 蛋白質に特異的なウサギポリクローナル抗体をキットに備わっているプラスチック製ウエルの表面に固定した。検定を受けさせるべきサンプルに p 2 1 W A F 1 がいくらかでも存在すると、これは捕捉用抗体と結合するであろう。また、ビオチニル化検出体 (b i o t i n y l a t e d d e t e c t o r) であるモノクローナル抗体もヒト p 2 1 W A F 1 蛋白質を認識し、前記捕捉用抗体がいくらか保持している p 2 1 W A F 1 と結合するであろう。その検出体である抗体は逆に西洋わさびペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンによって拘束される。その西洋わさびペルオキシダーゼは、色原基質であるテトラメチルベンジジンが無色の溶液から青色の溶液 (または停止用反応体を添加した後に黄色) に変化する変換に触媒作用を及ぼし、その変換の強度は前記プレートと結合した p 2 1 W A F 1 蛋白質の量に比例する。その着色した反応生成物を分光光度計で量化する。p 2 1 W A F 1 (提供された凍結乾燥品) の既知濃度を用いて標準曲線を作成することで量化を達成する (実施例 C. 5 を参照)。

実施例 C. 1 : ヒストンデアセチラーゼのインビトロ阻害検定 :

H e L a 核抽出液 (供給業者 : B i o m o l) を $60 \mu\text{g}/\text{ml}$ の量で $2 \times 10^{-8} \text{ M}$ の放射能標識付きペプチド基質と一緒にインキュベートした。H D A C 活性測定用基質として合成ペプチド、即ちヒストン H 4 のアミノ酸 1 4 - 2 1 を用いた。6 - アミノカプロン酸であるスパーサーを用いて前記基質の NH_2 末端部にビオチニル化を受けさせそして C O O H 末端部をアミド基で保護する、具体的には、リシン 1 6 の所を $[^3\text{H}]$ アセチル化する。H e p e s を 25 mM とスクロースを 1 M と B S A を $0.1 \text{ mg}/\text{ml}$ と T r i t o n X - 1 0 0 を 0.01% 含有する緩衝液 (p H 7. 4) に基質であるビオチン (6 - アミノカプロン酸) G l y - A l a - ($[^3\text{H}]$ - アセチル - L y s - A r g - H i s - A r g - L y s - V a l - NH_2) を加えた。30 分後、H C l と酢酸を添加 (それぞれの最終濃度が 0.035 mM および 3.8 mM になるように) することで脱アセチル反応を停止させた。反応停止後、遊離 ^3H - アセテートを酢酸エチルで抽出した。混合および遠心分離を行った後、 β - カウンターを用いて、一定分量の上方 (有機) 相が示す放射能を計数した。各実験毎に対照 (化合物なしに H e L a 核抽出液と D M S O を含有)、ブランクインキュベーション (D M S O は入れたが、H e L a 核抽出液も化合物も入っていない) およびサンプル (化合物を D M S O に溶解させて入れかつ H e L a 核抽出液も入れた) に試験を並行して受けさせた。1 番目として、化合物に試験を 10^{-5} M の濃度で受けさせた。この化合物が 10^{-5} M の時に活性を示した場合には、その化合物に試験を 10^{-5} M から 10^{-12} M の濃度で受けさせて濃度応答曲線を作成した。各試験毎に対照の値およびサンプルの値の両方からブランクの値を差し引いた。対照サンプルは基質が脱アセチルを 100% 受けることに相当していた。各サンプル毎に放射能を対照の平均値のパーセントとして表した。適宜、段階的データ (g r a d e d d a t a) に関してプロビット解析を用いることで IC_{50} 値 (代謝産物の量を対照の 50% にまで下げるに必要な薬剤の濃度) を計算した。本明細書では、試験化合物が示す効果を pIC_{50} (IC_{50} 値の負 $\log$ 値) として表す。試験を受けさせたあらゆる化合物が示した pIC_{50} 値は ≥ 7 であった (表 F - 2 を参照)。

実施例 C. 2 : A 2 7 8 0 細胞に対する抗増殖活性の測定

試験を受けさせるあらゆる化合物を D M S O に溶解させた後、培養培地でさらなる希釈を行った。細胞増殖検定では、最終 D M S O 濃度が 0.1% (体積/体積) を超えないようにした。対照には化合物を含有させないで A 2 7 8 0 細胞と D M S O を含有させ、そしてブランクには細胞を含有させないで D M S O を含有させた。M T T を P B S に $5 \text{ mg}/$

ml 溶解させた。0.1 M のグリシンと 0.1 M の NaCl で構成させて NaOH (1 N) で pH が 10.5 になるように緩衝させたグリシン緩衝液を調製した (あらゆる試薬を Merck から入手した)。

【0245】

ヒト A2780 卵巣癌細胞 [Dr. T. C. Hamilton (Fox Chase Cancer Centre、ペンシルバニア、米国) から親切に贈られたもの] を RPMI 1640 培地 (L-グルタミンを 2 mM、ゲンタマイシンを 50 μ g/ml および ウシ胎児血清を 10% 補充) の中で培養した。細胞を常規通り CO₂ が 5% の湿った状態の 雰囲気下 37℃ で単層培養物として保持した。トリプシン/EDTA 溶液を用いて細胞に 継代を 1:40 のスプリット比 (split ratio) で週に一度受けさせた。あらゆる培地および補充物を Life Technologies から入手した。Gen-Probe Mycoplasma Tissue Culture キット (供給業者: BioMerieux) を用いて測定した時、細胞はマイコプラズマで汚染されていなかった。細胞を 96 ウェルの NUNC (商標) 培養プレート (供給業者: Life Technologies) に種付けして、そのプラスチックに一晩接着させた。平板培養で用いた密度はウェル 1 個当たり 1500 個の細胞であり、それを全体積が 200 μ l の培地の中に入れた。細胞が前記プレートに接着した後、培地を交換して薬剤および/または溶媒を最終体積が 200 μ l になるように加えた。4 日間のインキュベーション後、培地を 200 μ l の新鮮な培地と交換し、そして MTT が基になった検定を用いて細胞の密度と生存度を評価した。各ウェルに MTT 溶液を 25 μ l 加えた後、細胞を 37℃ で更に 2 時間インキュベートした。次に、その培地を注意深く吸引した後、グリシン緩衝液を 25 μ l に続いて DMSO を 100 μ l 添加することで、青色の MTT-ホルマザン産物を溶解させた。そのマイクロテストプレート (microtest plates) をマイクロプレート振とう機の上に置いて 10 分間振とうした後、96 ウェルの Emax 分光光度計 (供給業者: Sopachem) を用いて 540 nm の所の吸光度を測定した。1 つの実験の中の各実験条件の結果は 3 回繰り返したウェルの平均である。最初に選別を行う目的で、化合物に試験を固定した単一濃度である 10^{-6} M の濃度で受けさせた。化合物が活性を示した場合には、実験を繰り返して完全な濃度-反応曲線を確立した。各実験毎に对照 (薬剤含有なし) およびブランク (細胞も薬剤も含有しない) のインキュベーションを並行して行った。あらゆる对照値およびサンプル値からブランク値を差し引いた。各サンプル毎に平均細胞増殖値 (絶対単位で表す) を对照が示した平均細胞増殖値のパーセントとして表した。適宜、段階的データに関してプロビット解析を用いることで IC₅₀ 値 (細胞増殖を对照の 50% にまで下げるに必要な薬剤の濃度) を計算した (Finney, D. J., Probit Analyses, 第 2 版、10 章、Graded Responses, Cambridge University Press、ケンブリッジ、1962)。本明細書では、試験化合物が示す効果を pIC₅₀ (IC₅₀ 値の負 log 値) として表す。試験を受けさせた大部分の化合物が 10^{-6} M の試験濃度の時に細胞活性を示し、12 個の化合物が示した pIC₅₀ 値は ≥ 5 であった (表 F-2 を参照)。

実施例 C. 3: 水性媒体中の動的溶解性

1 番目の希釈段階で、100 μ l の磷酸塩クエン酸塩緩衝液 (pH 7.4) に、DMSO (5 mM) に溶解させておいた活性化合物の濃ストック溶液を 10 μ l 添加して混合した。2 番目の希釈段階で、前記 1 番目の希釈段階の一定分量 (20 μ l) を更に 100 μ l の磷酸塩クエン酸塩緩衝液 (pH 7.4) に入れて分散させて混合した。最後に、3 番目の希釈段階で、前記 2 番目の希釈段階のサンプル (20 μ l) を更に 100 μ l の磷酸塩クエン酸塩緩衝液 (pH 7.4) に入れて希釈して混合した。あらゆる希釈を 96 ウェルプレートを用いて実施した。最後の希釈段階後直ちに、前記逐次的 3 希釈段階の濁度を比濁計で測定した。偶発的誤差を排除する目的で希釈を各化合物毎に三重に実施した。濁度測定値を基にして 3 等級に分ける等級付けを実施する。高い溶解性を示した化合物に 3 の等級を与え、この化合物は 1 番目の希釈で透明である。中間的な溶解性を示した化合物に 2 の等級を与えた。このような化合物は 1 番目の希釈で不透明であるが、2 番目の希

釈では透明である。溶解性が低い化合物には1の等級を与え、このような化合物は1番目および2番目の希釈の両方とも不透明である。11個の化合物が示す溶解度を測定した。6個の化合物が3の等級を示し、2個の化合物が2の等級を示し、そして3個の化合物が1の等級を示した(表F-2を参照)。

実施例C. 4: 代謝安定性

Gorrod他(Xenobiotica 5:453-462、1975)に従い、組織を機械的に均一にした後に遠心分離を行うことで、細胞内組織標本(sub-cellular tissue preparations)を作成した。肝臓の組織を氷で冷却しておいた0.1MのTris-HCl(pH7.4)緩衝液で濯ぐことで余分な血液を洗い流した。次に、組織を吸い取り紙で乾燥させ、重量を測定した後、外科用ハサミを用いて粗く細断した。テフロン製乳棒が備わっているPotter-S(Braun、イタリア)またはSorvall Omni-Mixホモジェナイザーのいずれかを用いて、前記組織片を氷で冷却しておいた3倍体積の0.1M燐酸塩緩衝液(pH7.4)に入れて7x10秒間均一にした。両方の場合とも、均一化過程を行っている間、その容器を氷の中／上に保持した。

【0246】

Sorvall遠心分離機またはBeckman Ultracentrifugeを用いて、均一にした組織に9000xgの遠心分離を4℃で20分間受けさせた。その結果として得た上澄み液を-80℃で貯蔵し、これに「S9」の表示を付ける。

【0247】

このS9画分にBeckman超遠心分離機を用いたさらなる遠心分離を100,000xgで60分間(4℃)受けさせてもよい。その結果として得た上澄み液を注意深く吸引し、一定分量に分けて、「シトゾル(cytosol)」の標識を付けた。そのペレットを0.1Mの燐酸塩緩衝液(pH7.4)に元々の組織重量0.5g当たり1mlの最終体積になるように入れて再懸濁させ、それに「ミクロソーム」の表示を付けた。

【0248】

あらゆる細胞内画分を一定分量に分け、直ちに液体窒素で凍結させて、使用するまで-80℃で貯蔵した。

【0249】

サンプルに試験を受けさせる時、インキュベーション用混合物にPBS(0.1M)、化合物(5μM)、ミクロソーム(1mg/ml)およびNADPH生成系(0.8mMのグルコース-6-ホスフェート、0.8mMの塩化マグネシウムおよび0.8単位のグルコース-6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ)を含有させた。対照サンプルには同じ材料を含有させたが、ミクロソームの代わりに熱で不活性(95℃で10分間)にしておいたミクロソームを用いた。この対照サンプルに入れた化合物の回収率は常に100%であった。

【0250】

これらの混合物を37℃で5分間予備インキュベートした。時間点ゼロ(t=0)の時にNADPを0.8mM添加することで反応を開始させ、そしてサンプルを15分間(t=15)インキュベートした。DMSOを2倍体積添加することで反応を停止させた。次に、これらのサンプルに遠心分離を900xgで10分間受けさせた後、その上澄み液を室温で貯蔵したが、これに分析を受けさせるまでの時間が24時間より長くないようにした。あらゆるインキュベーションを二重に実施した。LC-MS分析を用いて前記上澄み液の分析を実施した。Xterra MS C18(50x4.6mm、5μm、Waters、米国)を用いてサンプルの溶離を実施した。Alliance 2790(供給業者:Waters、米国)HPLC装置を用いた。緩衝液A[H₂O/アセトニトリル(95/5)中25mMの酢酸アンモニウム(pH5.2)]、アセトニトリルである溶媒B、溶媒Cであるメタノールを2.4ml/分の流量で用いて溶離を実施した。用いた勾配は、有機相濃度0%から線形様式で5分間でBが50%でCが50%になりそして1分間でBが100%になるような勾配であり、そして有機相濃度を更に1.5分間に

渡って固定濃度に保持した。サンプルの全注入体積を $25\ \mu\text{l}$ にした。

【0251】

E S I 源が備わっている Q u a t t r o (供給業者: M i c r o m a s s、マンチェスター、英国) トリプル四重極マススペクトロメーター (t r i p l e q u a d r u p o l e m a s s s p e c t r o m e t e r) を検出器として用いた。前記源およびデソルベーション (d e s o l v a t i o n) の温度をそれぞれ 120 および 135°C に設定し、窒素をネブライザーおよび乾燥用ガスとして用いた。データをポジティブスキャンモード (単一イオン反応) で取得した。コーン電圧 (c o n e v o l t a g e) を 10V に設定しそしてドエル (d w e l l) 時間を 1 秒にした。

【0252】

代謝安定性を、インキュベーションを活性ミクロソーム (E (a c t)) の存在下で 15 分間行った後の当該化合物の代謝%として表した {代謝% = $100\% - [(t = 15$ の時の E (a c t) の全イオン電流 (T I C) $\div t = 0$ の時の E (a c t) の T I C) $\times 100]$ }。ある化合物が示した代謝パーセントが 20% 未満の場合、そのような化合物は高い代謝安定性を示すと定義した。ある化合物が 20 から 70% の代謝を示した場合、そのような化合物は中間的に安定であると定義し、そしてある化合物が示した代謝パーセントが 70% を超える場合、そのような化合物は代謝安定性が低いと定義した。代謝安定性選別を実施する時には常に 3 種類の基準化合物を含めた。代謝安定性が低い (代謝% = 73%) 化合物としてベラパミル (v e r a p a m i l) を含めた。代謝安定性が中程度 (代謝% = 45%) の化合物としてシサプリド (c i s a p r i d e) を含め、そして代謝安定性が中程度から高い (25% の代謝) 化合物としてプロパノールを含めた。代謝安定性検定を有効にする目的でそのような基準化合物を用いた。

【0253】

10 個の化合物に試験を受けさせた。 6 個の化合物が示した代謝パーセントは 20% 未満であり、そして 4 個の化合物が示した代謝パーセントは 20 から 70% の範囲であった。

実施例 C. 5: p 2 1 誘導能力

ヒト A 2 7 8 0 卵巣癌細胞の中に発現する p 2 1 蛋白質のレベルを測定する目的で下記のプロトコルを適用した。A 2 7 8 0 細胞 ($180\ \mu\text{l}$ 当たり 20000 個の細胞) を 96 個マイクロウエルのプレートに入れておいた R P M I 1 6 4 0 培地 (L - グルタミンを 2mM 、ゲンタマイシンを $50\ \mu\text{g}/\text{ml}$ およびウシ胎児血清を 10% 補充) に種付けした。この細胞を溶解させる 24 時間前に化合物を 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} および 10^{-8}M の最終濃度で加えた。試験を受けさせるあらゆる化合物を D M S O に溶解させた後、培養培地を用いてさらなる希釈を行った。当該化合物を添加して 24 時間後に上澄み液を細胞から除去した。細胞を氷で冷却しておいた $200\ \mu\text{l}$ の P B S で洗浄した。これらのウェルに吸引を受けさせた後、溶解用緩衝液 (l y s i s b u f f e r) [T r i s $\cdot$ H C l (p H 7. 6) が 50mM で N a C l が 150mM で N o n i d e t p 4 0 が 1% でグリセロールが 10%] を $30\ \mu\text{l}$ 加えた。これらのプレートを -70°C で一晩インキュベートした。

【0254】

フォイルパウチ (f o i l p o u c h) からマイクロタイターウェルを適切な数で取り出して、空のウェルホルダー (w e l l h o l d e r) の中に入れた。洗浄用緩衝液 [$20\times$ のプレート洗浄用濃縮液: クロロアセトアミド含有量が 2% の P B S と界面活性剤の 20 倍濃縮溶液 (100ml)] の作業溶液 (w o r k i n g s o l u t i o n) ($1\times$) を調製した。蒸留 H_2O を用いて凍結乾燥 p 2 1 W A F 標準を再構築した後、サンプル用希釈液 (前記キットに備わっている) で更に希釈した。

【0255】

それらをサンプル用希釈液の中で $1:4$ に希釈することでサンプルの調製を行った。サンプル ($100\ \mu\text{l}$) および p 2 1 W A F 1 標準 ($100\ \mu\text{l}$) をピペットで適切なウェルに入れた後、室温で 2 時間インキュベートした。これらのウェルを $1\times$ の洗浄用緩衝液

で3回洗浄した後、ピペットを用いて各ウェルに検出体である抗体試薬（ビオチニル化モノクローナルp21WAF1抗体の溶液）を100 μ l入れた。これらのウェルを室温で1時間インキュベートした後、1xの洗浄用緩衝液で3回洗浄した。400xの接合体（ペルオキシダーゼとストレプトアビジンの接合体：400倍濃縮溶液）を希釈した後、前記ウェルに、その1x溶液を100 μ l加えた。これらのウェルを室温で30分間インキュベートした後、1xの洗浄用緩衝液で3回そして蒸留H₂Oで1回洗浄した。これらのウェルに基質溶液（色原基質）（100 μ l）を加えた後、これらのウェルを暗所に置いて室温で30分間インキュベートした。各ウェルに停止用溶液をこの上で加えた基質溶液と同じ順で加えた。プレート用分光光度読み器を450/595nmの2波長で用いて各ウェルが示す吸光度を測定した。

10

【0256】

各実験毎に対照（薬剤含有なし）およびブランク（細胞も薬剤も含有していない）のインキュベーションを並行して行った。あらゆる対照値およびサンプル値からブランク値を差し引いた。各サンプル毎にp21WAF1誘導値（吸光度単位で表す）を対照の中に存在するp21WAF1の値のパーセントとして表した。誘導パーセントが130%より高い時、これを有意な誘導として定義した。この検定では11個の化合物に試験を受けさせた。それらの全部が有意な誘導を示した。

【0257】

表F-2： 表F-2に化合物に実施例C. 1、C. 2およびC. 3に従う試験を受けさせた時の結果を挙げる。

20

【0258】

【表4】

化合物 番号	酵素活性 pIC50	細胞活性 pIC50	溶解度 等級
1	7.723	6.232	2
2	8.059	5.691	1
3	7.647	5.62	1
4	8.097	6.248	1
5	7.549	5.689	
6	7.421	6.384	3
7	7.323	5.69	3
8	7.487	7.438	3
9	7.609	<5	3
10	7.65	5.966	3
11	7.553	<5	3
12	7.528	6.01	2
13	7.361	5.773	
14		6.614	

30

40

【0259】

D. 組成物実施例：膜被覆錠剤

錠剤中心部の調製

式（I）で表される化合物が100gでラクトースが570gで澱粉が200gの混合物を十分に混合した後、5gのドデシル硫酸ナトリウムと10gのポリビニルピロリドン

50

を約 200 ml の水に入れることで生じさせた溶液で湿らせる。この湿らせた粉末混合物をふるいにかけて、乾燥させた後、再びふるいにかける。次に、微結晶性セルロースを 100 g および水添植物油を 15 g 加える。その全体を十分に混合した後、圧縮して錠剤にすることで、各々が式 (I) で表される化合物を 10 mg 含有する錠剤を 10,000 個得る。

被覆

10 g のメチルセルロースを 75 ml の変性エタノールに入れることで生じさせた溶液に、5 g のエチルセルロースを 150 ml のジクロロメタンに入れることで生じさせた溶液を加える。次に、75 ml のジクロロメタンおよび 2.5 ml の 1, 2, 3-プロパントリオールを加える。10 g のポリエチレングリコールを溶融させて 75 ml のジクロロメタンに溶解させる。後者の溶液を前者に加え、オクタデカン酸マグネシウムを 2.5 g、ポリビニルピロリドン 5 g および濃カラー懸濁液 (concentrated colour suspension) を 30 ml 加えた後、その全体を均一にする。被覆装置を用いて、そのようにして得た混合物で前記錠剤中心部を覆った。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
<i>C O 7 D 403/04</i>	<i>(2006.01)</i>	C O 7 D 403/04	
<i>C O 7 D 413/04</i>	<i>(2006.01)</i>	C O 7 D 413/04	
<i>G O 1 N 33/573</i>	<i>(2006.01)</i>	G O 1 N 33/573	A

審査官 中西 聡

(56)参考文献 特開昭63-264467 (JP, A)
特開平05-078316 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D 401/00-421/14
A61K 31/33-31/80
A61P 1/00-43/00
G01N 33/48-33/98
REGISTRY (STN)
CAplus (STN)
MARPAT (STN)