

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4599501号
(P4599501)

(45) 発行日 平成22年12月15日 (2010.12.15)

(24) 登録日 平成22年10月8日 (2010.10.8)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/444 (2006.01)	A 6 1 K 31/444
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
C O 7 D 471/04 (2006.01)	C O 7 D 471/04 1 O 3 A

請求項の数 5 (全 38 頁)

(21) 出願番号	特願2003-541836 (P2003-541836)	(73) 特許権者	500287639
(86) (22) 出願日	平成14年11月6日 (2002.11.6)		ミレニアム・ファーマシューティカルズ・
(65) 公表番号	特表2005-529842 (P2005-529842A)		インコーポレイテッド
(43) 公表日	平成17年10月6日 (2005.10.6)		MILLENNIUM PHARMACE
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/035645		UTICALS, INC.
(87) 国際公開番号	W02003/039545		アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
(87) 国際公開日	平成15年5月15日 (2003.5.15)		1 3 9, ケンブリッジ, ランズタウン
審査請求日	平成17年10月24日 (2005.10.24)		ストリート 4 O
(31) 優先権主張番号	60/344, 911	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成13年11月7日 (2001.11.7)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
前置審査			弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
			最終頁に続く

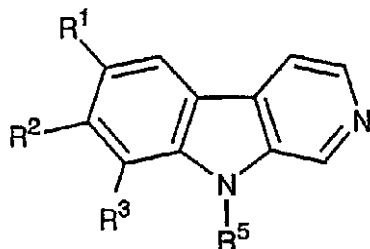
(54) 【発明の名称】 多発性骨髄腫および他の癌の処置における I κ B のインヒビターとしてのカルボリン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

癌細胞増殖を阻害するための薬学的組成物であって、該薬学的組成物は、式 (II) の I
B キナーゼのインヒビター：

【化 2】



(II)

またはその立体異性体もしくは生理学的に許容性の塩を含有し、ここで：

R¹ は、クロロであり；— R² は、水素原子または — O — C₁ — アルキルであり；R³ は、— NH (R¹⁸) であって、ここで、R¹⁸ は、— C (O) — ピリジルであり、ここで、ピリジルは、非置換であるかまたは
— C₁ — アルキルで 1 置換されており；そしてR⁵ は、水素原子であり、

該癌細胞が、多発性骨髄腫細胞である、
薬学的組成物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の薬学的組成物であって、前記 I B キナーゼのインヒビターが N - (6 - クロロ - 9 H - - カルボリン - 8 - イル) - ニコチンアミドまたはその立体異性体もしくはは生理学的に許容性の塩である、薬学的組成物。

【請求項 3】

請求項 1 ~ 2 のいずれか一項に記載の薬学的組成物であって、前記癌細胞が動物中に存在する、薬学的組成物。

【請求項 4】

請求項 3 に記載の薬学的組成物であって、前記動物が哺乳動物である、薬学的組成物。

【請求項 5】

多発性骨髄腫を処置するための薬学的組成物であって、該薬学的組成物は、N - (6 - クロロ - 9 H - - カルボリン - 8 - イル) - ニコチンアミドまたはその立体異性体もしくはは生理学的に許容性の塩を含有する、薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の背景)

(発明の分野)

本発明は、癌の処置に関する。特に、本発明は、癌細胞の増殖を阻害するため、および癌 (多発性骨髄腫を含む) の処置のためのインヒビター I B キナーゼの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

転写因子 NF - B は、Rel タンパク質ファミリーのメンバーであり、そして代表的に、p50 および p65 サブユニットから構成されるヘテロダイマーである。NF - B は、細胞質に構成的に存在し、そしてインヒビターの I B ファミリーのうちの 1 つと会合することによって不活性化される。Palombella ら (WO 95 / 25533) は、ユビキチンプロテアソーム経路が NF - B 活性の調節において本質的な役割を果たし、p50 への p105 のプロセッシングおよびインヒビタータンパク質 I B の分解の両方を担うことを教示する。Chen ら (Cell 84 : 853 (1996)) は、分解前に、I B が、マルチサブユニット I B キナーゼ複合体 (IKK) によってセリン残基 32 と 36 で選択的にリン酸化されることを教示する。一旦、リン酸化されると、I B は、26S プロテアソームによるユビキチン化および分解のための標的にされ、核内への NF - B の移行を可能にする。ここで、NF - B は、標的遺伝子のプロモーターにおける特異的 DNA 配列に結合し、そしてその転写を刺激する。

【0003】

Ritzeler ら (WO 01 / 68648) は、I B キナーゼ阻害活性を有する一連の - カルボリン化合物を開示する。Rinehart ら (米国特許第 4 , 631 , 149 号) は、抗ウイルス剤、抗菌剤、および抗腫瘍剤として有用な - カルボリン化合物を開示する。

【0004】

NF - B の調節制御下における遺伝子のタンパク質産物としては、サイトカイン、ケモカイン、細胞接着分子、および細胞増殖および制御を媒介するタンパク質が挙げられる。重要なことに、これらの炎症促進性タンパク質 (proinflammatory protein) の多くはまた、オートクライン様式またはパラクライン様式のいずれかで作用し得、さらに NF - B 活性化を刺激する。さらに、NF - B は、正常細胞および悪性細胞の増殖において重要な役割を果たす。Baldwin (J . Clin . Invest . , 107 : 241 (2001)) は、NF - B がサイクリン D 転写 (Rb の過剰リ

10

20

30

40

50

ン酸化、G 1 期～S 期への移行、およびアポトーシスの阻害に関連する)を上方調節することによって細胞増殖を促進することを教示する。Bargouら(J. Clin. Invest., 100:2961(1997))は、NF- κ Bが、ホジキン病において構成的に活性化され、そしてNF- κ Bの阻害は、これらのリンパ腫細胞の増殖をブロックすることを教示する。さらに、Mayoら(Science 178:1812(1997))は、I κ Bのスーパーリプレッサー(super-repressor)の発現を介するNF- κ Bの阻害が、H-Rasの原癌遺伝子対立遺伝子を発現する細胞においてアポトーシスを誘導することを教示する。

【0005】

Readら(Immunity 2:493-506(1995))は、NF- κ Bのプロテアソーム媒介型活性化が、細胞接着分子(例えば、E-セレクトイン、ICAM-1、およびVCAM-1)の発現を必要とすることを教示する。Zetter(Seminars in Cancer Biology 4:219-229(1993))は、細胞接着分子が、脈管構造へのおよび脈管構造から体内の離れた組織部位への、腫瘍細胞の接着および溢出を指向することによって、インビボでの腫瘍転移および脈管形成に関与することを教示する。さらに、BegおよびBaltimore(Science 274:782(1996))は、NF- κ Bが抗アポトーシス制御因子であり、そしてNF- κ B活性化の阻害が、細胞を環境ストレスおよび細胞傷害性因子により感受性にすることを教示する。

【0006】

多発性骨髄腫は、形質細胞のB細胞悪性疾患である。これは、2番目に一般的な血液悪性疾患(非ホジキンリンパ腫が最も一般的である)を代表する。米国における1年の発病率は、100,000人あたり約4人であり、そして北欧での発病率は米国と等しい。Greenleeら(CA Cancer J Clin 50:7-33(2000))は、1年あたり約13,600症例の多発性骨髄腫が診断され、この疾患に起因して1年あたり約11,200人が死亡している(全ての癌による死の約2%を示す)ことを開示する。多発性骨髄腫は、1991年～1995年の期間に、男性および女性の両方における死亡率の増加(それぞれ、5.6%および3.8%増加)を示すわずか3種類の癌のうちの1つである。

【0007】

多発性骨髄腫は、リンパ節において生じる形質細胞のクローナルな増殖から生じ、そしてこれらの細胞が局在しかつ増殖する骨髄に「ホーミング(homing)」する。この疾患は、骨髄細胞腫瘍、および患者特異的なインタクトなモノクローナル免疫グロブリンの重鎖および/または軽鎖(パラプロテインまたはMタンパク質)の過剰産生によって特徴付けられる。形質細胞腫瘍は、骨髄腫患者の約53%において免疫グロブリンG(IgG)および約25%において免疫グロブリンA(IgA)を産生し;これらのIgGおよびIgA患者の40%はまた、ベンスジョーンズ蛋白尿を有する。軽鎖骨髄腫は、患者の15～20%において見出され;これらの形質細胞は、遊離のモノクローナルな軽鎖(またはベンスジョーンズタンパク質)のみを分泌し、そして血清M成分は、通常電気泳動上には存在しない。免疫グロブリンD(IgD)骨髄腫は、症例の約1%を占める。免疫グロブリンE(IgE)骨髄腫のほんの少数の症例が報告されている。容易に検出可能な、血液および/または尿中のパラタンパク質の産生は、これらの患者の大部分における腫瘍組織量についての便利なマーカーである。

【0008】

多発性骨髄腫は、首尾良く処置されない場合、感染に対する抵抗を低下させること、および重要な骨格の崩壊(骨の疼痛、病理学的骨折、および高カルシウム血症)、貧血、腎不全、および頻度は低いものの、神経学的合併症、および過粘稠症候群)を引き起こすことによって、発病率および最終死亡率の進行を導く。Andersonら(Semin. Hematol. 36:3(1999))は、患者が細胞傷害性化学療法および/またはステロイドに最初は応答し得るが、患者らは最終的に耐性疾患に罹患することを教示する

10

20

30

40

50

。この癌は治癒しにくい。R a j eおよびA n d e r s o n (N e w E n g J M e d 341:1606-1609(1999))は、多発性骨髄腫を有する患者の5年生存率が、40年以上も29%のままであることを記載する。

【0009】

V i d r i a l e s M BおよびA n d e r s o n K C (M o l e c . M e d . T o d a y 2(1):425-431(1996))は、骨髄における骨髄腫瘍細胞体積の増大(骨髄の微小環境に由来する影響をとみなう)、ならびに悪性疾患細胞および骨髄間質細胞によるサイトカインの産生に関する複雑な制御が存在することを示唆する。I L - 6は、骨髄腫細胞について重大な増殖因子であり、そしてまた、骨髄腫細胞におけるアポトーシスを阻害する。C h a u h a n r a (B l o o d , 87:1104(1996))は、骨髄腫細胞の骨髄間質細胞(B M S C)への接着が、N F - B依存性の、I L - 6転写の上方調節を誘導し、さらに骨髄腫の細胞増殖を永続化する。さらに、H i d e s h i m a r a (O n c o g e n e 20:4519(2001))は、多発性骨髄腫細胞がT N F (B M S CにおいてN F - Bの活性化を誘導する)を分泌し、それによってB M S CにおいてI L - 6の転写および分泌を直接上方調節することを教示する。この参考文献はまた、T N F 誘導N F - B活性化が、M M細胞およびB M S Cの両方におけるI C A M - 1 (C D 54) およびV C A M - 1 (C D 106) の発現の上方調節を生じ、M M - B M S C結合の増加を生じることを教示する。これらの参考文献によって示唆される多発性骨髄腫におけるN F - Bの役割と一致して、F e i n m a n R r a (B l o o d 93:3044(1999))は、上昇したレベルのN F - B活性は、再発の多発性骨髄腫において見出されることを教示する。

10

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

従って、癌(多発性骨髄腫を含む)の処置にとって有効な、N F - Bのインヒビターを同定する必要性が存在している。

【課題を解決するための手段】

【0011】

(発明の簡単な要旨)

本発明者らは、I Bキナーゼ(I K K)の特異的インヒビターが、癌細胞増殖を阻害し、N F - B媒介性の、癌細胞における接着分子発現の上方調節を阻害し、そして細胞間接着を阻害することを発見した。さらに、I K Kの阻害は、薬物誘導性アポトーシスに対するI L - 6の保護的効果をブロックする。

30

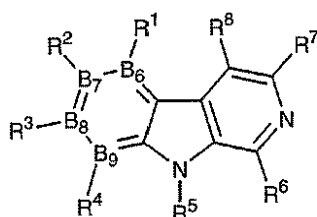
【0012】

従って、第一の局面において、本発明は、癌細胞増殖を阻害するための方法を提供し、この方法は、癌細胞と本明細書中に記載されるようなI Bキナーゼインヒビターとを接触させる工程を包含する。第一の実施形態において、このI Bキナーゼインヒビターは、式(I)

【0013】

【化5】

40



(I)

【0014】

の化合物またはその立体異性体もしくは生理学的に許容性の塩であり、ここで：

B₆、B₇、B₈、およびB₉は、炭素原子および窒素原子からなる群から独立して選

50

扱され、ここで、合計 2 つ以下の B_6 、 B_7 、 B_8 、および B_9 は、窒素原子であり；そして

ケース a) において：

置換基 R^1 、 R^2 および R^3 は、互いに独立して、以下の 1.1. ~ 1.18. のいずれかである：

1.1. 水素原子、

1.2. ハロゲン、

1.3. -CN、

1.4. -COOH、

1.5. -NO₂、

1.6. -NH₂、

1.7. -O-(C₁ ~ C₁₀)-アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるか、または以下からなる群より独立して選択される置換基によって 1 置換 ~ 5 置換されている、-O-(C₁ ~ C₁₀)-アルキル：

1.7.1 非置換であるかまたはハロゲンもしくは -O-(C₁ ~ C₄)-アルキルによって 1 置換 ~ 5 置換されている、フェニル

1.7.2 ハロゲン、

1.7.3 -NH₂、

1.7.4 -OH、

1.7.5 R^{16} が、水素原子または -(C₁ ~ C₁₀)-アルキルである、-COOR¹⁶、

1.7.6 -NO₂、

1.7.7 -S(O)_y-R¹⁴ であって、ここで、y は、0、1 または 2 であり、 R^{14} は、-(C₁ ~ C₁₀)-アルキル、フェニル（これは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている）、アミノまたは -N(R¹³)₂ であり、

ここで、各 R^{13} は、独立して、水素原子、フェニル、-(C₁ ~ C₁₀)-アルキル、-C(O)-(C₁ ~ C₇)-アルキル、-C(O)-フェニル、-C(O)-NH-(C₁ ~ C₇)-アルキル、-C(O)-O-フェニル、-C(O)-NH-フェニル、-C(O)-O-(C₁ ~ C₇)-アルキル、または -S(O)_y-R¹⁴ であり、ここで、 R^{14} および y は、上で定義された通りであり、そしてここで、アルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義された基から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されているか、あるいは、

これら 2 つの R^{13} 基は、これらが結合する窒素原子と一緒に 5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成する、-S(O)_y-R¹⁴、

1.7.8 -O-フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている、-O-フェニル、

1.7.9 ラジカルであって、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキソラン、イミダゾリン、イソキサゾリジン、2-イソキサゾリン、イソチアゾリジン、2-イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリン、からなる群から選択される、ラジカル、

1.7.10 -(C₃ ~ C₇)-シクロアルキルまたは、

1.7.11 =O、

1.8. -N(R¹³)₂ であって、ここで、 R^{13} は、上記の 1.7.7 に定義された通りである、-N(R¹³)₂、

1.9. -NH-C(O)-R¹⁵ であって、ここで、 R^{15} は、

1.9.1 ラジカルであって、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン

10

20

30

40

50

、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソキサゾリジン、2-イソキサゾリン、イソチアゾリジン、2-イソチアゾリン、チオフェンおよびチオモルホリンからなる群から選択され、

ここで、このラジカルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~3置換されている、ラジカル、

1.9.2 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基および $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル(アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている)からなる群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

1.9.3 $-(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキル、

1.9.4 $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記1.7.7で定義される通りである、 $-N(R^{13})_2$ 、あるいは

1.9.5 フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~3置換されているか、またはこのフェニルラジカルの2つの置換基は、共にジオキサラン環を形成する、フェニル、

である、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、

1.10. $-S(O)_y-R^{14}$ であって、ここで、 R^{14} およびyは、上記の1.7.7に定義された通りである、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、

1.11. $-C(O)-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、フェニルまたは $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-C(O)-R^{12}$ 、

1.12. $-C(O)-O-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、上記の1.11に定義された通りである、 $-C(O)-O-R^{12}$ 、

1.13. $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

1.14. $-O-(C_1 \sim C_6)-アルキル-O-(C_1 \sim C_6)-アルキル$ 、

1.15. $-O-(C_0 \sim C_4)-アルキル-(C_3 \sim C_7)-シクロアルキル$ 、

1.16. $-(C_1 \sim C_4)-アルキル-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の1.7.7に定義された通りである、 $-(C_1 \sim C_4)-アルキル-N(R^{13})_2$ 、

1.17. $-CF_3$ 、あるいは、

1.18. $-CF_2-CF_3$ であり；

R^4 は、以下の1.~14.のいずれかである：

1. $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

2. $-CF_3$ 、

3. $-CF_2-CF_3$ 、

4. $-CN$ 、

10

20

30

40

50

5. $-S(O)_y - R^{14}$ であって、ここで、 R^{14} および y は、上記の 1.7.7 に定義された通りである、 $-S(O)_y - R^{14}$ 、

6. $-NH_2$ 、

7. $-O-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは互いに独立して以下で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル：

7.1 フェニルであって、このフェニルは、非置換であるかまたはハロゲンもしくは $-O-(C_1 \sim C_4)$ - アルキルで 1 置換 ~ 5 置換されている、フェニル、

7.2 ハロゲン、

7.3 $-NH_2$ 、

7.4 $-OH$ 、

7.5 $-COOR^{16}$ であって、ここで、 R^{16} は、水素原子または $-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキルである、 $-COOR^{16}$ 、

7.6 $-NO_2$ 、

7.7 $-S(O)_y - R^{14}$ であって、ここで、 y は、0、1 または 2 であり、 R^{14} は、 $-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、フェニル（このフェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている）、アミノ、および $-N(R^{13})_2$ であり、

ここで、各 R^{13} は、独立して、水素原子、フェニル、 $-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)$ - アルキル、 $-C(O)$ - フェニル、 $-C(O)-NH$ $-(C_1 \sim C_7)$ - アルキル、 $-C(O)-O$ - フェニル、 $-C(O)-NH$ - フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_7)$ - アルキル、または $-S(O)_y - R^{14}$ であり、ここで、 R^{14} および y は、上で定義された通りであり、そしてここで、アルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義された基から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されているか、あるいは、

これら 2 つの R^{13} 基は、これらが結合する窒素原子と一緒にあって 5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成する、 $-S(O)_y - R^{14}$ 、

7.8 $-O$ - フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-O$ - フェニル、

7.9 ラジカルであって、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソキサゾリジン、チオフェン、2 - イソキサゾリン、イソチアゾリジン、2 - イソチアゾリンおよびチオモルホリンからなる群から選択される、ラジカル、

7.10 $-(C_3 \sim C_7)$ - シクロアルキルまたは、

7.11 $=O$ 、

8. $-N(R^{17})_2$ であって、ここで、各 R^{17} は、独立して、水素原子、フェニル、 $-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)$ - アルキル、 $-C(O)$ - フェニル、 $-C(O)-NH$ $-(C_1 \sim C_7)$ - アルキル、 $-C(O)-O$ - フェニル、 $-C(O)-NH$ - フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_7)$ - アルキル、または $-S(O)_y - R^{14}$ であり、ここで、 R^{14} および y は、上で定義された通りであり、そしてアルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義された基から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されているか、あるいは、該 2 つの R^{17} 基は、これらが結合する窒素原子と一緒にあって 5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成する、 $-N(R^{17})_2$ 、

9. $-NH-C(O)-R^{15}$ であって、ここで、 R^{15} は、

9.1 ラジカルであって、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソキサゾリジン、2 - イソキサゾリン、イソチア

10

20

30

40

50

ゾリジン、2-イソチアゾリン、チオフェンおよびチオモルホリンからなる群から選択され、

ここで、該ラジカルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されている、ラジカル、

9.2 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル（アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている）からなる群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル

10

9.3 $-(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキル、

9.4 $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の 1.7.7 で定義された通りであるが、ただし、 $-N(R^{13})_2$ は $-NH_2$ ではない、 $-N(R^{13})_2$ 、あるいは

9.5 フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されているか、または該フェニルラジカルの 2 つの置換基は、共にジオキソラン環を形成する、フェニル、

20

である、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、

10. $-C(O)-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、フェニルまたは $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-C(O)-R^{12}$

11. $-C(O)-O-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、上記 10. で定義された通りである、 $-C(O)-O-R^{12}$ 、

30

12. $-O-(C_1 \sim C_6)$ -アルキル- $O-(C_1 \sim C_6)$ -アルキル、

13. $-O-(C_0 \sim C_4)$ -アルキル- $-(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキル、あるいは、

14. $-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル- $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記 1.7.7 に定義された通りである、 $-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル- $-N(R^{13})_2$ ；

R^5 は、以下の 1. ~ 16. のいずれかである：

1. 水素原子、

2. $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.4 で定義される群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

40

3. $-C(O)-R^9$ であって、ここで、 R^9 は、 $-NH_2$ 、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル（このアルキルは、非置換であるかまたは 7.1 ~ 7.4 で定義された基から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている）または $-N(R^{13})_2$ であり、ここで、 R^{13} は、上記の 1.7.7 で定義した通りである、 $-C(O)-R^9$ 、あるいは

4. $-S(O)_2-R^9$ であって、ここで、 R^9 は、上記の 3. で定義した通りであるか；あるいは、

R^4 と R^5 とは、それらが結合する原子と一緒にあって、複素環を形成するか；あるいは

50

R^3 と R^5 とは、それらが結合する原子と一緒にあって、環内にさらなる酸素原子を含有する複素環を形成し；そして

R^6 、 R^7 および R^8 は、互いに独立して水素原子またはメチルである；あるいはケース b) において：

置換基 R^1 、 R^2 および R^4 は、互いに独立して、上記ケース a) における 1.1 ~ 1.18 に定義した通りであり；

R^3 は、以下の 1. ~ 1.6. のいずれかであり：

1. - CF_3 、

2. - $CF_2 - CF_3$ 、

3. - CN 、

4. - $COOH$ 、

5. - NO_2 、

6. - NH_2 、

7. - $O - (C_1 \sim C_{10})$ - アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは互いに独立して、以下によって 1 置換 ~ 5 置換されている、- $O - (C_1 \sim C_{10})$ - アルキル：

7.1 フェニルであって、フェニルは、非置換であるかまたはハロゲンもしくは - $O - (C_1 \sim C_4)$ - アルキルによって 1 置換 ~ 5 置換されている、フェニル、

7.2 ハロゲン、

7.3 - NH_2 、

7.4 - OH 、

7.5 - $COOR^{1.6}$ であって、ここで、 $R^{1.6}$ は、水素原子または - $(C_1 \sim C_{10})$ - アルキルである、- $COOR^{1.6}$ 、

7.6 - NO_2 、

7.7 - $S(O)_y - R^{1.4}$ であって、ここで、 y は、0、1 または 2 であり、そして $R^{1.4}$ は、- $(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、フェニル（このフェニルは、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義されている置換基からなる群より独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている）、アミノおよび - $N(R^{1.3})_2$ であり、

ここで、各 $R^{1.3}$ は、独立して、水素原子、フェニル、- $(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、- $C(O) - (C_1 \sim C_7)$ - アルキル、- $C(O) -$ フェニル、- $C(O) - NH - (C_1 \sim C_7)$ - アルキル、- $C(O) - O -$ フェニル、- $C(O) - NH -$ フェニル、- $C(O) - O - (C_1 \sim C_7)$ - アルキル、または - $S(O)_y - R^{1.4}$ であり、ここで、 $R^{1.4}$ および y は、上で定義された通りであり、そして、ここで、アルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義された基から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されているか、あるいは

これら 2 つの $R^{1.3}$ 基は、これらが結合する窒素原子と一緒にあって 5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成する、- $S(O)_y - R^{1.4}$ 、

7.8 - $O -$ フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義された置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 5 置換されている、- $O -$ フェニル

7.9 ラジカルであって、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソキサゾリジン、2 - イソキサゾリン、イソチアゾリジン、2 - イソチアゾリン、チオフェンおよびチオモルホリンからなる群から選択される、ラジカル、

7.10 - $(C_3 \sim C_7)$ - シクロアルキルまたは、

7.11 = O 、

8. - $N(R^{1.3})_2$ であって、ここで、 $R^{1.3}$ は、上記の 1.7.7 に定義された通りである、- $N(R^{1.3})_2$ 、

9. - $NH - C(O) - R^{1.5}$ であって、ここで、 $R^{1.5}$ は、

10

20

30

40

50

9.1 ラジカルであって、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキソラン、イミダゾリン、イソキサゾリジン、2-イソキサゾリン、イソチアゾリジン、2-イソチアゾリン、チオフエンおよびチオモルホリンからなる群から選択され、

ここで、このラジカルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~3置換されている、ラジカル、

10

9.2 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基および $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル(アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている)からなる群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

9.3 $-(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキル、

9.4 $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の1.7.7で定義される通りである、 $-N(R^{13})_2$ 、あるいは

9.5 フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~3置換されているか、またはこのフェニルラジカルの2つの置換基は、共にジオキソラン環を形成する、フェニル、

20

である、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、

10. $-S(O)_y-R^{14}$ であって、ここで、 R^{14} および y は、上記の1.7.7に定義された通りである、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、

11. $-C(O)-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、フェニルまたは $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-C(O)-R^{12}$ 、

30

12. $-C(O)-O-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、上記の11.に定義された通りである、 $-C(O)-O-R^{12}$ 、

13. $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1~1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で1置換~5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

14. $-O-(C_1 \sim C_6)$ -アルキル- $O-(C_1 \sim C_6)$ -アルキル、

15. $-O-(C_0 \sim C_4)$ -アルキル- $(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキル、あるいは

40

16. $-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル- $N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の1.7.7に定義された通りである、 $-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル- $N(R^{13})_2$;

R^5 は、上記のケースa)における R^5 の通りであり;そして

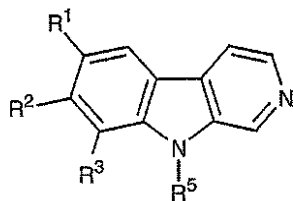
R^6 、 R^7 および R^8 は、互いに独立して水素原子またはメチルである。

【0015】

第二の実施形態において、I Bキナーゼインヒビターは、式(II)

【0016】

【化 6】



(II)

【0017】

の化合物またはその立体異性体もしくは生理学的に許容性の塩であって、ここで：

R^1 および R^2 は、互いに独立して、水素原子、ハロゲン、シアノ、アミノ、 $-O-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル、ニトロ、 $-CF_3$ 、 $-CF_2-CF_3$ 、 $-S(O)_y-R^{14}$ または $-N(R^{18})_2$ であって、ここで、

y は、1 または 2 であり；

R^{14} は、アミノ、 $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、またはフェニルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは式 (I) について 1.7.1 ~ 1.7.11 において定義された置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されており；

各 R^{18} は、独立して、水素原子、 $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、 $-C(O)$ -フェニル、 $-C(O)$ -ピリジル、 $-C(O)-NH-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル、 $-C(O)-O$ -フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_4)$ -アルキルまたは $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであり、ここで、ピリジルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 に定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ アルキルからなる群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されており、そしてここで、アルキルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されているか；または、

これら 2 つの R^{18} 基は、それらが結合する窒素原子と一緒にあって、5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成し；

R^3 は、シアノ、アミノ、 $-O-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル、ニトロ、 $-CF_3$ 、 $-CF_2-CF_3$ 、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、または $-N(R^{18})_2$ であって、ここで、

y は、1 または 2 であり；

R^{14} は、アミノ、 $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、またはフェニルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されており；

各 R^{18} は、独立して、水素原子、 $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、 $-C(O)$ -フェニル、 $-C(O)$ -ピリジル、 $-C(O)-NH-(C_1 \sim C_4)$ -アルキル、 $-C(O)-O$ -フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_4)$ -アルキルまたは $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであり、ここで、ピリジルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 に定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ アルキルからなる群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されており、そしてここで、アルキルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されているか；または、

これら 2 つの R^{18} 基は、それらが結合する窒素原子と一緒にあって、5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成し；そして

R^5 は、水素原子、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-C(O)-R^9$ 、または $-S$ (

10

20

30

40

50

O) $_2 - R^9$ であって、ここで、

R^9 は、 $-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ - アルキル、またはフェニルであり；

アルキルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.4 で定義された置換基の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されており；そして

フェニルは、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義された置換基および $-N(R^{18})_2$ の群から独立して選択される置換基で 1 置換 ~ 3 置換されており、ここで、 R^{18} は、上で定義された通りである。

【0018】

10

第二の局面において、本発明は、癌を処置するための方法を提供し、この方法は、本発明の第一の局面に記載されるような I B キナーゼインヒビターを、癌を有する患者に投与する工程を包含する。いくつかの実施形態において、この癌は、多発性骨髄腫である。

【0019】

(発明の詳細な説明)

本発明は、癌細胞増殖を阻害するための方法に関する。特に、本発明は、本明細書中に記載されるような I B キナーゼインヒビターを癌細胞に投与することによる、癌細胞増殖を阻害するための方法を提供する。本発明はさらに、癌細胞を有する患者に I B キナーゼインヒビターを投与することによる、癌を処置するための方法を提供する。

【0020】

20

本明細書中で言及される発行された特許および刊行された科学文献は、当業者に入手可能な知見を確立する。本明細書中で引用される全ての特許、特許出願および参考文献は、これらの各々が具体的かつ個々に参考として援用されることが示されるのと同じ程度まで、本明細書によって参考として援用される。不一致の場合、本開示が優先である。

【0021】

第一の局面において、本発明は、I B キナーゼ (IKK) インヒビターを癌細胞に投与することによる、癌細胞増殖を阻害するための方法を提供する。好ましくは、このような阻害は特異的である。すなわち、IKK インヒビターは、別の無関係の生物学的影響を生じるのに必要なインヒビターの濃度よりも低い濃度で、IKK が I B をリン酸化する能力を低減させる。好ましくは、IKK 阻害活性に必要なインヒビター濃度は、無関係の生物学的影響を生じるのに必要な濃度よりも、少なくとも 1/2 低く、より好ましくは少なくとも 1/5 低く、なおより好ましくは少なくとも 1/10 低く、そして最も好ましくは少なくとも 1/20 低い。IKK 阻害活性に必要なインヒビター濃度は、実施例に記載されるアッセイを含む、IKK 活性を測定するための任意の適切なアッセイによって決定され得る。無関係の生物学的影響を生じるのに必要なインヒビター濃度は、酵素アッセイ、レセプター結合アッセイおよび/または薬理学的アッセイのパネルにインヒビターを供することによって、決定され得る。

30

【0022】

いくつかの好ましい IKK インヒビターは、Rizeler ら、WO 01/68648 (その全教示は、その全体が本明細書により参考として援用される) に記載される化合物を含む - カルボリン化合物であり、この特許文献中に開示される全ての化合物、式および合成手順を含む。

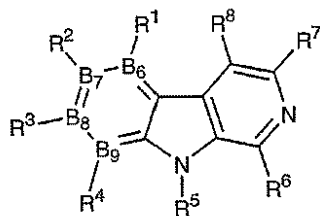
40

【0023】

従って、いくつかの実施形態において、本発明のこの局面による方法は、癌細胞と式 (I) の I B キナーゼインヒビター：

【0024】

【化 7】



(I)

【 0 0 2 5 】

またはその立体異性体もしくは薬学的に許容性の塩とを接触させる工程を包含し、ここで

10

：
B₆、B₇、B₈、およびB₉は、炭素原子および窒素原子からなる群から独立して選択され、ここで、合計で2つ以下のB₆、B₇、B₈、およびB₉は、窒素原子であり；そして

ケース a) において：

置換基、R¹、R²およびR³は、互いに独立して、以下の1.1. ~ 1.18. である：

1.1. 水素原子、

1.2. ハロゲン、

1.3. -CN、

20

1.4. -COOH、

1.5. -NO₂、

1.6. -NH₂、

1.7. -O-(C₁ ~ C₁₀)-アルキルであって、ここで、このアルキルは、非置換であるかまたは以下：

1.7.1 フェニルであって、このフェニルは、非置換であるかまたはハロゲンもしくは-O-(C₁ ~ C₄)-アルキルによって1置換 ~ 5置換されている、フェニル

1.7.2 ハロゲン、

1.7.3 -NH₂、

1.7.4 -OH、

30

1.7.5 -COOR¹⁶であって、ここで、R¹⁶は、水素原子または-(C₁ ~ C₁₀)-アルキルである、-COOR¹⁶、

1.7.6 -NO₂、

1.7.7 -S(O)_y-R¹⁴であって、ここで、yは、0、1または2であり、R¹⁴は、-(C₁ ~ C₁₀)-アルキル、フェニル（このフェニルは、非置換であるかまたは1.7.1 ~ 1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換 ~ 5置換されている）、アミノ、または-N(R¹³)₂であり、ここで、各R¹³は、独立して、水素原子、フェニル、-(C₁ ~ C₁₀)-アルキル、-C(O)-(C₁ ~ C₇)-アルキル、-C(O)-フェニル、-C(O)-NH-(C₁ ~ C₇)-アルキル、-C(O)-O-フェニル、-C(O)-NH-フェニル、-C(O)-O-(C₁ ~ C₇)-アルキル、または-S(O)_y-R¹⁴であり、ここで、R¹⁴およびyは、上で定義された通りであり、そしてここで、アルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは1.7.1 ~ 1.7.11で定義された基から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換 ~ 5置換されているか、あるいは、

40

これらの2つのR¹³基は、これらが結合する窒素原子と一緒に5 ~ 7個の環原子を有する複素環を形成する、-S(O)_y-R¹⁴、

1.7.8 -O-フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは1.7.1 ~ 1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換 ~ 5置換されている、-O-フェニル、

50

1.7.9 ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキソラン、イミダゾリン、イソオキサゾリジン、2-イソオキサゾリン、イソチアゾリジン、2-イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリンからなる群から選択される、ラジカル、

1.7.10 $-(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキルまたは、

1.7.11 $=O$ 、

からなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されている、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

1.8. $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の1.7.7に定義された通りである、 $-N(R^{13})_2$ 、

1.9. $-NH-C(O)-R^{15}$ であって、ここで、 R^{15} は、

1.9.1 ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキソラン、イミダゾリン、イソオキサゾリジン、2-イソオキサゾリン、イソチアゾリジン、2-イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリン、からなる群から選択されるラジカルであって、ここで、このラジカルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～3置換されている、ラジカル、

1.9.2 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基および $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル（このアルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されている）からなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、

1.9.3 $-(C_3 \sim C_7)$ -シクロアルキル、

1.9.4 $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の1.7.7で定義される通りである、 $-N(R^{13})_2$ 、あるいは

1.9.5 フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、および $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～3置換されているか、またはフェニルラジカルの2つの置換基は、共にジオキサラン環を形成する、フェニル、である、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、

1.10. $-S(O)_y-R^{14}$ であって、ここで、 R^{14} および y は、上記の1.7.7に定義された通りである、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、

1.11. $-C(O)-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、フェニルまたは $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されている、 $-C(O)-R^{12}$ 、

1.12. $-C(O)-O-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、上記の1.11.に定義された通りである、 $-C(O)-O-R^{12}$ 、

1.13. $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1.7.1～1.7.11で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で1置換～5置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -ア

10

20

30

40

50

ルキル、

1. 14. $-O-(C_1 \sim C_6)-$ アルキル $-O-(C_1 \sim C_6)-$ アルキル、
 1. 15. $-O-(C_0 \sim C_4)-$ アルキル $-(C_3 \sim C_7)-$ シクロアルキル、
 1. 16. $-(C_1 \sim C_4)-$ アルキル $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の 1. 7. 7 に定義された通りである、 $-(C_1 \sim C_4)-$ アルキル $-N(R^{13})_2$ 、

1. 17. $-CF_3$ 、あるいは、

1. 18. $-CF_2-CF_3$;

R^4 は、以下の 1. ~ 14. である :

1. $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1. 7. 1 ~ 1. 7. 11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル

10

2. $-CF_3$ 、

3. $-CF_2-CF_3$ 、

4. $-CN$ 、

5. $-S(O)_y-R^{14}$ であって、ここで、 R^{14} および y は、上記の 1. 7. 7 に定義された通りである、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、

6. $-NH_2$ 、

7. $O-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは互いに独立して以下 :

20

7. 1 フェニルであって、このフェニルは、非置換であるかまたはハロゲンもしくは $-O-(C_1 \sim C_4)-$ アルキルで 1 置換 ~ 5 置換されている、フェニル、

7. 2 ハロゲン、

7. 3 $-NH_2$ 、

7. 4 $-OH$ 、

7. 5 $-COOR^{16}$ であって、ここで、 R^{16} は、水素原子または $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルである、 $-COOR^{16}$ 、

7. 6 $-NO_2$ 、

7. 7 $-S(O)_y-R^{14}$ であって、ここで、 y は、0、1 または 2 であり、 R^{14} は、 $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル、フェニル (このフェニルは、非置換であるかまたは上記の 1. 7. 1 ~ 1. 7. 11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている)、アミノ、および $-N(R^{13})_2$ であり、ここで、各 R^{13} は、独立して、水素原子、フェニル、 $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、 $-C(O)-$ フェニル、 $-C(O)-NH-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、 $-C(O)-O-$ フェニル、 $-C(O)-NH-$ フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、または $-S(O)_y-R^{14}$ であり、ここで、 R^{14} および y は、上で定義された通りであり、そしてここで、アルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは 1. 7. 1 ~ 1. 7. 11 で定義された基から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されているか、あるいは、

30

これらの 2 つの R^{13} 基は、これらが結合する窒素原子と一緒にあって 5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成する、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、

7. 8 $-O-$ フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1. 7. 1 ~ 1. 7. 11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-O-$ フェニル、

7. 9 ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサゾリン、イミダゾリン、イソオキサゾリン、チオフェン、2 - イソオキサゾリン、イソチアゾリジン、2 - イソチアゾリン、およびチオモルホリンからなる群から選択される、ラジカ

50

ル、

7. 1 0 - (C₃ ~ C₇) - シクロアルキルまたは、

7. 1 1 = O、

によって互いに独立して1置換~5置換されている、O - (C₁ ~ C₁₀) - アルキル、

8. - N(R^{1 7})₂であって、ここで、各R^{1 7}は、独立して、水素原子、フェニル、- (C₁ ~ C₁₀) - アルキル、- C(O) - (C₁ ~ C₇) - アルキル、- C(O) - フェニル、- C(O) - NH - (C₁ ~ C₇) - アルキル、- C(O) - O - フェニル、- C(O) - NH - フェニル、- C(O) - O - (C₁ ~ C₇) - アルキル、または - S(O)_y - R^{1 4}であり、ここで、R^{1 4}およびyは、上で定義された通りであり、そしてアルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義された基から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~5置換されているか、あるいは、これらの2つのR^{1 7}基は、これらが結合する窒素原子と一緒に5~7個の環原子を有する複素環を形成する、- N(R^{1 7})₂、

9. - NH - C(O) - R^{1 5}であって、ここで、R^{1 5}は、

9. 1 ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサゾリン、イミダゾリン、イソオキサゾリン、2 - イソオキサゾリン、イソチアゾリン、2 - イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリンからなる群から選択されるラジカルであって、ここで、このラジカルは、非置換であるかまたは上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基、- CF₃、ベンジル、および- (C₁ ~ C₁₀) - アルキルからなる群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基の群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~3置換されている、ラジカル、

9. 2 - (C₁ ~ C₁₀) - アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基および- O - (C₁ ~ C₁₀) - アルキル(このアルキルは、非置換であるかまたは上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基の群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~5置換されている)からなる群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~5置換されている、- (C₁ ~ C₁₀) - アルキル

9. 3 - (C₃ ~ C₇) - シクロアルキル、

9. 4 - N(R^{1 3})₂であって、ここで、R^{1 3}は、上記の1. 7. 7で定義された通りであるが、ただし、- N(R^{1 3})₂は- NH₂ではない、- N(R^{1 3})₂、あるいは

9. 5 フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基、- O - (C₁ ~ C₁₀) - アルキル、- CN、- CF₃、および- (C₁ ~ C₁₀) - アルキルからなる群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~5置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基の群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~3置換されているか、またはフェニルラジカルの2つの置換基は、共にジオキサラン環を形成する、フェニル、である、- NH - C(O) - R^{1 5}、

10. - C(O) - R^{1 2}であって、ここで、R^{1 2}は、フェニルまたは- (C₁ ~ C₇) - アルキルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、上記の1. 7. 1 ~ 1. 7. 1 1で定義される置換基の群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~5置換されている、- C(O) - R^{1 2}

11. - C(O) - O - R^{1 2}であって、ここで、R^{1 2}は、上記10. で定義された通りである、- C(O) - O - R^{1 2}、

12. - O - (C₁ ~ C₆) - アルキル - O - (C₁ ~ C₆) - アルキル、

13. - O - (C₀ ~ C₄) - アルキル - (C₃ ~ C₇) - シクロアルキル、あるいは

10

20

30

40

50

は、

1.4. $-(C_1 \sim C_4) - \text{アルキル} - N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記 1.7.7 に定義された通りである、 $-(C_1 \sim C_4) - \text{アルキル} - N(R^{13})_2$;

R^5 は、以下の 1. ~ 4. である :

1. 水素原子、

2. $-(C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ であって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.4 で定義される群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ 、

3. $-C(O) - R^9$ であって、ここで、 R^9 は、 $-NH_2$ 、 $-(C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ (このアルキルは、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.4 で定義された基から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている) または $-N(R^{13})_2$ であり、ここで、 R^{13} は、上記の 1.7.7 で定義した通りである、 $-C(O) - R^9$ 、

4. $-S(O)_2 - R^9$ であって、ここで、 R^9 は、上記の 3. で定義した通りであるか ; あるいは、

R^4 と R^5 は、それらが結合する原子と一緒にあって、複素環を形成するか ; あるいは

R^3 と R^5 は、それらが結合する原子と一緒にあって、環内にさらなる酸素原子を含有する複素環を形成し ; そして

R^6 、 R^7 および R^8 は、互いに独立して水素原子またはメチルである ; あるいは

ケース b) において :

置換基 R^1 、 R^2 および R^4 は、互いに独立して、上記ケース a) における 1.1 ~ 1.18 に定義した通りであり ;

R^3 は、以下であり :

1. $-CF_3$ 、

2. $-CF_2 - CF_3$ 、

3. $-CN$ 、

4. $-COOH$ 、

5. $-NO_2$ 、

6. $-NH_2$ 、

7. $-O - (C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ であって、ここで、このアルキルは、非置換であるかまたは以下 :

7.1 フェニルであって、このフェニルは、非置換であるかまたはハロゲンもしくは $-O - (C_1 \sim C_4) - \text{アルキル}$ によって 1 置換 ~ 5 置換されている、フェニル

7.2 ハロゲン、

7.3 $-NH_2$ 、

7.4 $-OH$ 、

7.5 $-COOR^{16}$ であって、ここで、 R^{16} は、水素原子または $-(C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ である、 $-COOR^{16}$ 、

7.6 $-NO_2$ 、

7.7 $-S(O)_y - R^{14}$ であって、ここで、 y は、0、1 または 2 であり、そして R^{14} は、 $-(C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ 、フェニル (このフェニルは、非置換であるかまたは 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義されている置換基からなる群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている)、アミノおよび $-N(R^{13})_2$ であり、

ここで、各 R^{13} は、独立して、水素原子、フェニル、 $-(C_1 \sim C_{10}) - \text{アルキル}$ 、 $-C(O) - (C_1 \sim C_7) - \text{アルキル}$ 、 $-C(O) - \text{フェニル}$ 、 $-C(O) - NH - (C_1 \sim C_7) - \text{アルキル}$ 、 $-C(O) - O - \text{フェニル}$ 、 $-C(O) - NH - \text{フェニル}$ 、 $-C(O) - O - (C_1 \sim C_7) - \text{アルキル}$ 、または $-S(O)_y - R^{14}$ であり、ここで、 R^{14} および y は、上で定義された通りであり、そして、ここで、アルキルまたはフェ

10

20

30

40

50

ニルは、各場合において、非置換であるかまたは 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義された基から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 5 置換されているか、あるいは

これらの 2 つの R^{13} 基は、これらに結合する窒素原子と一緒にあって 5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成する、 $-S(O)_y - R^{14}$ 、

7 . 8 $-O-$ フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義された置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-O-$ フェニル

7 . 9 ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソオキサゾリジン、2 - イソオキサゾリン、イソチアゾリジン、2 - イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリンからなる群から選択される、ラジカル、

7 . 10 $-(C_3 \sim C_7)-$ シクロアルキルまたは、

7 . 11 $=O$ 、

によって互いに独立して 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-O-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル、

8 . $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の 1 . 7 . 7 に定義された通りである、 $-N(R^{13})_2$ 、

9 . $-NH-C(O)-R^{15}$ であって、ここで、 R^{15} は、

9 . 1 ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソオキサゾリジン、2 - イソオキサゾリン、イソチアゾリジン、2 - イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリンからなる群から選択されるラジカルであって、ここで、このラジカルは、非置換であるかまたは上記の 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルからなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 5 置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 3 置換されている、ラジカル、

9 . 2 $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義される置換基および $-O-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル（このアルキルは、非置換であるかまたは上記の 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 5 置換されている）からなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 5 置換されている、 $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル、

9 . 3 $-(C_3 \sim C_7)-$ シクロアルキル、

9 . 4 $-N(R^{13})_2$ であって、ここで、 R^{13} は、上記の 1 . 7 . 7 で定義される通りである、 $-N(R^{13})_2$ 、あるいは

9 . 5 フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義される置換基、 $-O-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキル、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、および $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルからなる群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 5 置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の 1 . 7 . 1 ~ 1 . 7 . 1 1 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基（単数または複数）で 1 置換 ~ 3 置換されているか、またはフェニルラジカルの 2 つの置換基は、共にジオキサラン環を形成する、フェニル、

である、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、

10 . $-S(O)_y - R^{14}$ であって、ここで、 R^{14} および y は、上記の 1 . 7 . 7 に定義された通りである、 $-S(O)_y - R^{14}$ 、

11 . $-C(O)-R^{12}$ であって、ここで、 R^{12} は、フェニルまたは $-(C_1 \sim$

10

20

30

40

50

C₇) - アルキルであり、ここで、アルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている、- C(O) - R^{1 2}、

12. - C(O) - O - R^{1 2} であって、ここで、R^{1 2} は、上記の 1.1. に定義された通りである、- C(O) - O - R^{1 2}、

13. - (C₁ ~ C₁₀) - アルキルであって、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されている、- (C₁ ~ C₁₀) - アルキル、

14. - O - (C₁ ~ C₆) - アルキル - O - (C₁ ~ C₆) - アルキル、

15. - O - (C₀ ~ C₄) - アルキル - (C₃ ~ C₇) - シクロアルキル、または

16. - (C₁ ~ C₄) - アルキル - N(R^{1 3})₂ であって、ここで、R^{1 3} は、上記の 1.7.7 に定義された通りである、- (C₁ ~ C₄) - アルキル - N(R^{1 3})₂ ;

R⁵ は、上記のケース a) における R⁵ として定義される通りであり ; そして

R⁶、R⁷ および R⁸ は、互いに独立して水素原子またはメチルである。

【0026】

いくつかの実施形態において、式 (I) の I K K のインヒビターは、ケース a) の化合物であり、ここで :

B₆、B₇、B₈、および B₉ は、それぞれ炭素原子であり ; そして

R⁴ は、- NH - C(O) - R^{1 5} であって、ここで、R^{1 5} は、上記の 9.1 ~ 9.5 に定義される通りである。

【0027】

いくつかの好ましい実施形態において、R^{1 5} は、

ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサゾリン、イソオキサゾリン、2 - イソオキサゾリン、イソチアゾリジン、2 - イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリンからなる群から選択されるラジカルであって、ここで、このラジカルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、- CF₃、ベンジル、および - (C₁ ~ C₁₀) - アルキルからなる群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されている、ラジカル ; または

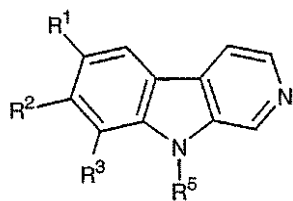
フェニルであって、ここで、フェニルは、非置換であるかまたは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、- O - (C₁ ~ C₁₀) - アルキル、- CN、- CF₃、および - (C₁ ~ C₁₀) - アルキルからなる群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 5 置換されており、ここで、アルキルは、非置換であるかもしくは上記の 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されているか、またはフェニルラジカルの 2 つの置換基は、共にジオキサラン環を形成する、フェニル、

【0028】

いくつかの実施形態において、本発明のこの局面による方法は、癌細胞と式 (II) の I B キナーゼインヒビター :

【0029】

【化 8】



(II)

【 0 0 3 0 】

またはその立体異性体もしくは薬学的に許容性の塩とを接触させる工程を包含し、ここで

10

：
 R^1 および R^2 は、互いに独立して、水素原子、ハロゲン、シアノ、アミノ、 $-O-(C_1 \sim C_4)-$ アルキル、ニトロ、 $-CF_3$ 、 $-CF_2-CF_3$ 、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、または $-N(R^{18})_2$ であって、ここで、

y は、1 または 2 であり；

R^{14} は、アミノ、 $-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、またはフェニルであり、ここで、これらのアルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基からなる群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されており；

各 R^{18} は、独立して、水素原子、 $-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、 $-C(O)-$ フェニル、 $-C(O)-$ ピリジル、 $-C(O)-NH-(C_1 \sim C_4)-$ アルキル、 $-C(O)-O-$ フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_4)-$ アルキルまたは $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルであり、ここで、ピリジルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ アルキルからなる群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されており、そしてここで、アルキルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されているか；または、

20

これらの 2 つの R^{18} 基は、それらが結合する窒素原子と一緒にあって、5 ~ 7 個の環

30

原子を有する複素環を形成し；
 R^3 は、シアノ、アミノ、 $-O-(C_1 \sim C_4)-$ アルキル、ニトロ、 $-CF_3$ 、 $-CF_2-CF_3$ 、 $-S(O)_y-R^{14}$ 、または $-N(R^{18})_2$ であって、ここで、
 y は、1 または 2 であり；

R^{14} は、アミノ、 $-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、またはフェニルであり、ここで、このアルキルまたはフェニルは、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されており；

各 R^{18} は、独立して、水素原子、 $-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_7)-$ アルキル、 $-C(O)-$ フェニル、 $-C(O)-$ ピリジル、 $-C(O)-NH-(C_1 \sim C_4)-$ アルキル、 $-C(O)-O-$ フェニル、 $-C(O)-O-(C_1 \sim C_4)-$ アルキルまたは $-(C_1 \sim C_{10})-$ アルキルであり、ここで、ピリジルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基、 $-CF_3$ 、ベンジル、および $-(C_1 \sim C_{10})$ アルキルからなる群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されており、そしてここで、アルキルは、各場合において、非置換であるかまたは式 (I) の化合物について 1.7.1 ~ 1.7.11 で定義される置換基の群から独立して選択される置換基 (単数または複数) で 1 置換 ~ 3 置換されているか；または、

40

これらの 2 つの R^{18} 基は、それらが結合する窒素原子と一緒にあって、5 ~ 7 個の環原子を有する複素環を形成し；そして

50

R^5 は、水素原子、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-C(O)-R^9$ 、または $-S(O)_2-R^9$ であって、ここで、

R^9 は、 $-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_{10})$ -アルキル、またはフェニルであり；

アルキルは、各場合において、非置換であるかまたは式(I)の化合物について1.7.1~1.7.4で定義された置換基の群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~3置換されており；そして

フェニルは、非置換であるかまたは式(I)の化合物について1.7.1~1.7.11で定義された置換基の群および $-N(R^{18})_2$ から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~3置換されており、ここで、 R^{18} は、上で定義された通りである。

10

【0031】

いくつかの実施形態において、IKKインヒビターは、上記のような式(II)の化合物であり、ここで：

R^1 は、ブromo、 $-CF_3$ またはクロロであり；

R^2 は、水素原子または $O-(C_1 \sim C_2)$ -アルキルであり；

R^3 は、 $-N(R^{18})_2$ であって、ここで、各 R^{18} は、独立して、水素原子、 $-N-C(O)$ -ピリジル、 $-C(O)$ -フェニル、 $-(C_1 \sim C_7)$ -アルキル、 $-C(O)-(C_1 \sim C_4)$ -アルキルまたは $-C(O)-O-(C_1 \sim C_4)$ -アルキルであって、ここで、アルキルまたはフェニルは、各場合において、非置換であるかまたはハロゲンおよび $-O-(C_1 \sim C_2)$ -アルキルからなる群から独立して選択される置換基(単数または複数)で1置換~3置換され；そして

20

R^5 は、水素原子、メチルまたは $-S(O)_2-CH_3$ である。

【0032】

種々の他の実施形態において、IKKインヒビターは、式(II)の化合物であり、ここで：

R^1 はクロロであり、 R^3 は、 $-H-C(O)-CH_2-O-CH_3$ であり、そして R^2 および R^5 は、それぞれ水素原子であるか；または

R^1 は、クロロであり、 R^3 は、 $-N-C(O)$ -ピリジルであって、ここで、ピリジルは、非置換であるかまたはクロロで置換されており、 R^2 は、水素原子または $-O-CH_3$ であり、そして R^5 は、水素原子であるか；または

30

R^1 は、クロロであり、 R^3 は、 $-N-C(O)$ -フェニルであって、ここでフェニルは、フルオロによって1置換または2置換されており、そして R^2 および R^5 は、それぞれ水素原子である。

【0033】

いくつかの特に好ましい実施形態において、IKKインヒビターが、 $N-(6\text{-クロロ}-9\text{H-カルボリン}-8\text{-イル})$ -ニコチンアミド(そのビスメチルスルホン酸塩、ピストリフルオロ酢酸塩およびビス塩酸塩を含む)、 $N-(6\text{-クロロ}-9\text{H-カルボリン}-8\text{-イル})$ -3,4-ジフルオロ-ベンズアミド(その塩酸塩を含む)、 $N-(6\text{-クロロ}-7\text{-メトキシ}-9\text{H-カルボリン}-8\text{-イル})$ -ニコチンアミド(そのピストリフルオロ酢酸塩およびビス塩酸塩を含む)、ならびに6-クロロ- $N-(6\text{-クロロ}-9\text{H-カルボリン}-8\text{-イル})$ -ニコチンアミドからなる群より選択される。

40

【0034】

1つの特に好ましい実施形態において、本発明のこの局面に従う方法は、癌細胞を、 $N-(6\text{-クロロ}-9\text{H-カルボリン}-8\text{-イル})$ -ニコチンアミドまたはその立体異性体もしくはは生理学的に許容可能な塩と接触させる工程を包含する。

【0035】

式(I)または式(II)のIKKキナーゼインヒビターは、好ましくは、Rizelerら、WO 01/68648に記載されるように合成される。塩形成可能である式(I)または式(II)の化合物の生理学的に許容可能な塩(その立体異性体形態を含む)

50

の調製は、当該分野で公知の方法に従って実行され得る。塩基性試薬（例えば、水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩、アルコキシド、およびアンモニウム）または有機塩基（例えば、トリメチルアミン、もしくはトリエチルアミン、エタノールアミンまたはトリエタノールアミン）あるいは塩基性アミノ酸（例えば、リジン、オルニチンまたはアルギニン）を用いると、そのカルボン酸は、安定なアルカリ金属アンモニウム塩、安定なアルカリ土類金属アンモニウム塩、または必要に応じて置換されたアンモニウム塩を形成する。式 I の化合物が塩基性基を含む場合、安定な酸付加塩もまた、強酸を使用して調製され得る。このために、無機酸および有機酸の両方（例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、メタン硫酸、ベンゼンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、4 - プロモベンゼンスルホン酸、シクロヘキシルアミドスルホン酸、トリフルオロメチルスルホン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、またはトリフルオロ酢酸）が、適切である。

10

【0036】

用語「アルキル」とは、それ自体でかまたは別の置換基上の一部として、他のように示されない限りは、1 ~ 10 個の炭素原子を有する直鎖もしくは分枝鎖の炭化水素ラジカル（例えば、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、tertiary - ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、ノニル、オクチル、デカニル、あるいは、3 ~ 7 個の単離原子を有するシクロアルキル（例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロヘキシル、またはシクロヘプチル））を意味する。

【0037】

用語「アルコキシ」とは、それ自体でかまたは別の置換基上の一部として、他のように示されない限りは、- O - アルキルまたは - O - 置換アルキルを意味する。

20

【0038】

用語「5 ~ 7 個の環原子を有する複素環」とは、1、2、または3 個のヘテロ原子を環構成員として含む、5 ~ 7 個の環構成員を有する単環式飽和系のラジカルを指す。ヘテロ原子の例は、N、O および S である。5 ~ 7 個の環原子を有するそのような複素環の例としては、ピロリジン、テトラヒドロピリジン、ピペリジン、ピペラジン、イミダゾリン、ピラゾリジン、フラン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、オキサラン、イミダゾリン、イソキサゾリン、2 - イソキサゾリン、イソチアゾリン、2 - イソチアゾリン、チオフェン、およびチオモルホリンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0039】

他のように示されない限り、用語「アリール」とは、単独でかまたは別の置換基の一部であるかに関わらず、1 つの原子を除去することにより芳香族分子から誘導された有機ラジカルを指す。そのようなアリール基の非限定的例としては、フェニル、ピリジル、チアゾリル、モルホリニル、およびナフチルが挙げられる。

30

【0040】

用語「置換アルキル」とは、ハロゲン基、ニトロ基、スルホ基、アミノ基、置換アミノ基、カルボキシ基、アルコキシ基、- O - アリール基、- O - 置換アリール基、およびヒドロキシル基のうちの1 つ以上のラジカルによって、1 つ以上の位置で置換されている、アルキルラジカルを意味する。

【0041】

用語「置換アリール」とは、ハロゲン基、アルキル基、置換アルキル基、ニトロ基、スルホ基、アミノ基、アルコキシ基、アリール基、置換アリール基、またはヒドロキシル基のうちの1 つ以上のラジカルによって、1 つ以上の位置で置換されているアリールラジカルを意味し、1 ~ 3 個の基によって1 ~ 3 個の位置で置換されているアリールラジカルが好ましい。

40

【0042】

用語「置換アミノ」とは、 $-N(R^{1-3})_2$ を指し、ここで、 R^{1-3} は、各存在において、水素原子、スルホ、アルキル、アリール、 $-C(O)-$ アルキル、 $C(O)-NH-$ アリール、 $-C(O)-O-$ アリール、 $-C(O)-O-$ アルキル、または $C(O)-O-$ アリールからなる群より独立して選択され、各アルキルまたはアリールは、独立して置

50

換され得る。

【0043】

用語「スルホ」とは、 $-S(O)_y-R^{14}$ を指し、ここで、 R^{14} は、アルキル、アリール、置換アリール、置換アルキル、アミノ、または置換アミノであり、 y は、0、1または2である。

【0044】

用語「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素を意味するものとして理解される。

【0045】

用語「 $-(C_1 \sim C_n)-$ アルキル」とは、その炭素鎖が直鎖状または分枝状であり、かつ1個～ n 個の炭素原子を含む、炭化水素ラジカルを意味するものとして理解される。

10

【0046】

本発明の目的のために、用語「癌細胞」とは、異常に増殖する任意の細胞を指し、その細胞としては、膵臓癌細胞、結腸癌細胞、乳癌細胞、前立腺癌細胞、腎臓癌細胞、肺癌細胞、卵巣癌細胞、胃癌細胞、食道癌細胞、肝細胞癌細胞、または頭部および頸部の癌細胞、黒色腫細胞、白血病細胞、および多発性骨髄腫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、この癌細胞は、細胞培養物（初代培養物および不死化細胞株を含む）中で増殖される。他のいくつかの実施形態において、この癌細胞は、動物（好ましくは、哺乳動物）中にある。本明細書中で使用される場合、用語「哺乳動物」は、ラット、マウス、イヌ、ブタ、ウサギ、非ヒト霊長類、およびヒトを包含するが、これらに限定されない。

20

【0047】

第2の局面において、本発明は、癌を処置するための方法を提供し、この方法は、癌を有する患者に、I Bキナーゼインヒビターを投与する工程を包含する。本発明のこの局面における使用のために好ましいI Bキナーゼインヒビターは、本発明の第1の局面における使用のために記載されるI Bキナーゼインヒビターである。

【0048】

本明細書中で使用される場合、用語「癌」とは、制御されていない異常な増殖を患者身体中の細胞がしている状態を意味するために、使用される。異常な細胞は、固形腫瘍を形成するように増殖し得るし、または多数の細胞を形成するように増殖し得る（例えば、白血病）。好ましくは、本発明の癌は、転移性である。癌は、制御されていない異常な細胞増殖であると規定されているので、この用語は、正常な細胞増殖（例えば、幹細胞または精母細胞の増殖）を包含しない。

30

【0049】

いくつかの実施形態において、その癌患者は、血液学的悪性腫瘍を有する。血液学的悪性腫瘍の非限定的例としては、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ芽球性白血病（CLL）、ホジキン病（HD）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、多発性骨髄腫（MM）、マクログロブリン血症（Waldstrom's）、脊髄形成異常症候群（MDS）（過剰な芽細胞を伴う不応性貧血（RAEB）および形質転換におけるRAEB（RAEB-T）を含む）、ならびに骨髄増殖性症候群が挙げられる。他のいくつかの実施形態において、その癌患者は、前立腺癌、結腸癌、乳癌、前立腺癌（アンドロゲン依存性前立腺癌およびアンドロゲン非依存性前立腺癌を含む）、腎臓癌、肺癌、卵巣癌、胃癌、食道癌、肝細胞癌、または頭部および頸部の癌または黒色腫に罹患している。他のいくつかの実施形態において、その癌患者は、脳腫瘍、骨腫瘍、または軟組織肉腫に罹患している。

40

【0050】

このI Bキナーゼインヒビターは、薬学的に受容可能な任意の経路（非経口経路（静脈内経路、皮下経路、および筋肉内経路を含む）、経口経路、舌下経路、皮内経路、局所経路、経鼻経路、気管内経路、直腸内経路、眼内経路および腔内経路を含むが、これらに限定されない）によって、投与され得る。約70kg重量である成体患者の処置のために

50

、式 (I) または式 (I I) に従う化合物の効力に依存して、一日用量約 2 0 m g ~ 1 0 0 0 m g の活性化化合物 (好ましくは約 1 0 0 m g ~ 5 0 0 m g) が、示される。しかし、特定の条件下で、より高い一日用量または低い一日用量さえ、適切であり得る。この一日用量の投与は、個々の用量単位の形態または多数のより少ない投与単位の形態の単回投与、および特定の間隔での分割した用量の複数回投与の両方が、実行され得る。

【 0 0 5 1 】

単一治療レジメンおよび併用療法レジメンの両方が、本発明の範囲内に企図される。本発明の目的のために、用語「単一治療」とは、別の抗腫瘍剤と同時に処置することのない、I Bキナーゼインヒビターを用いる処置を指す。本発明の目的のために、用語「併用療法」とは、I Bキナーゼインヒビターと別の抗腫瘍剤とを用いる同時治療を指す。用語「同時」とは、同時処置、連続的処置、および交互の処置を包含することが意図される。

10

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態において、その抗腫瘍剤は、細胞傷害性化学療法、放射線療法または免疫療法からなる群より選択される。I Bキナーゼインヒビターと組み合わせて使用するために適切な細胞傷害性薬剤の非限定的例としては、ゲムシタビン、イリノテカン、5 - フルオロウリシル、タキサン (例えば、タキソールまたはタキソテル)、白金剤 (例えば、シスプラチンまたはカルボプラチン)、アントラサイクリン (例えば、ドキシソルピシン、ミトキサントロン、および D o x i l ^{T M})、アルキル化剤 (例えば、メルファランおよびシクロホスファミド)、フルダラビンおよびデキサメタゾンが挙げられる。

20

【 0 0 5 3 】

他のいくつかの実施形態において、このI Bキナーゼインヒビターは、NF - Bの活性を阻害する別の薬剤 (プロテアソームインヒビターが挙げられるが、これに限定されない) とともに投与される。I Bキナーゼインヒビターと組み合わせて使用するために適切なプロテアソームインヒビターの例としては、A d a m s ら、米国特許第 5 , 7 8 0 , 4 5 4 号 (1 9 9 8)、同第 6 , 0 6 6 , 7 3 0 号 (2 0 0 0) および同第 6 . 0 8 3 , 9 0 3 号 (2 0 0 0) に開示されるインヒビターが、挙げられるがこれらに限定されない。このような一つのプロテアソームインヒビターは、N - ピラジンカルボニル - L - フェニルアラニン - L - ロイシンボロン酸である。

【 0 0 5 4 】

30

以下の実施例は、本発明の特定の好ましい実施形態をさらに例示するために示され、本発明の範囲を限定することは意図されない。

【 実施例 】

【 0 0 5 5 】

(実施例 1 : 材料および方法)

(MM由来細胞株および親MM細胞)

D e x 感受性 (M M . 1 S) ヒトMM細胞株を、スティーブン・ローゼン博士 (N o r t h w e s t e r n U n i v e r s i t y , C h i c a g o , I L) より親切にも提供された。R P M I 8 2 2 6 細胞およびU 2 6 6 ヒトMM細胞を、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n (R o c k v i l l e , M D) から得た。すべてのMM細胞株を、1 0 % ウシ胎仔血清 (F B S , S i g m a C h e m i c a l C o . , S t . L o u i s , M O)、2 μ M L - グルタミン、1 0 0 U / m L ペニシリン (P e n) および 1 0 0 μ g / m L ストレプトマイシン (S t r e p) (G I B C O , G r a n d I s l a n d , N Y) を含む R P M I - 1 6 4 0 中で培養した。親MM細胞を、R o s e t t e S e p 分離システム (S t e m C e l l T e c h n o l o g i e s , V a n c o u v e r , C a n a d a) を使用して、親BM吸引液から精製した。MM細胞の純度を、P E 結合体化抗CD 1 3 8 抗体 (B e c k t o n D i c k i n s o n C o .) を使用するフローサイトメトリーによって確認した。

40

【 0 0 5 6 】

(B M S C 培養物)

50

B M検体を、MMに罹患している患者から得た。F i c o l l - H i p a q u e 密度沈降により分離した単核球 (M N C) を使用して、以前に記載されたように (U c h i y a m a ら、B l o o d 82 : 3712 ~ 3720 (1993))、長期B M培養物を樹立した。接着細胞単層が発達したときに、細胞を、0 . 25 % トリプシンと0 . 02 % E D T A とを含むハンクス緩衝化生理食塩水溶液 (H B S S) 中で収集し、洗浄し、そして遠心分離によって収集した。

【0057】

(インヒビター)

プロテアソームインヒビターP S - 341およびI B キナーゼ (I K K) インヒビター化合物1 (M i l l e n n i u m P h a r m a c e u t i c a l s , C a m b r i d g e , M A) を、D M S O 中に溶解し、そして使用するまで - 20 にて保存した。P S - 341および化合物1を、使用する直前に培養媒地中に希釈した。P S - 341および化合物1コントロール培地は、< 0 . 1 % のD M S O を含んだ。M A P K キナーゼ (M E K) インヒビターであるP D 98059を、C e l l S i g n a l i n g (B e r v e r l y , M A) から購入した。

【0058】

(D N A 合成)

増殖を、以前に記載されたように (H i d e s h i m a ら、B l o o d 96 : 2943 (2000)) して測定した。MM細胞 (3×10^4 細胞 / ウェル) を、培地、P S - 341、化合物1、および / またはD e x もしくは組換えヒトI L - 6 (G e n e t i c s I n s t i t u t e , C a m b r i d g e , M A) の存在下で、96ウェル培養プレート (C o s t a r , C a m b r i d g e , M A) 中で、37 にて48時間インキュベートした。D N A 合成を、[3 H] - チミジン ([3 H] - T d R 、 N E N P r o d u c t s , B o s t o n , M A) 取り込みによって測定した。細胞を、[3 H] T d R (0 . 5 μ C i / ウェル) を用いて、48時間培養のうちの最後の8時間の間パルスした。すべての実験は、三連で行った。

【0059】

(増殖障害アッセイ)

MM増殖に対するP S - 341および化合物1の増殖効果を、細胞の3 - (4 , 5 - ジメチルチアゾール - 2 - イル) - 2 , 5 - ジフェニル臭化四ナトリウム (M T T) 色素吸収を測定することによって、アッセイした。48時間培養物からの細胞を、各ウェルに対して5 m g / m L のM T T 10 μ L を用いて、48時間培養の最後の4時間パルスし、その後、0 . 04 N H C l を含む100 μ L イソプロパノールを用いてパルスした。吸光度を、分光計 (M o l e c u l a r D e v i c e s C o r p . , S u n n y v a l e C A) を使用して570 n m で測定した。

【0060】

(イムノブロットング)

MM細胞を、P S - 341または化合物1とともに培養し、収集し、洗浄し、溶解緩衝液 (50 m M T r i s - H C l (p H 7 . 4) 、150 m M N a C l 、1 % N P - 40、5 m M E D T A 、5 m M N a F 、2 m M N a ₃ V O ₄ 、1 m M P M S F 、5 μ g / m L ロイペプチン、および5 μ g / m L アプロチニン) を用いて溶解した。ホスホ - I B 、I B 、ホスホ - M A P K 、ホスホ - S T A T 3 、E P K 2 または - チュープリンの検出のために、細胞溶解物を、S D S - P A G E に供し、P V D F 膜 (B i o - R a d L a b o r a t o r i e s , H e r c u l e s , C A) に移し、そして抗ホスホ - I B A b 、抗I B A b 、抗ホスホ - M A P K A b 、または抗ホスホS T A T 3 A b (C e l l S i g n a l i n g , B e v e r l y , M A) および抗 - チュープリン (S i g m a) A b を用いて免疫プロットした。

【0061】

(電気泳動移動度シフトアッセイ)

電気泳動移動度シフトアッセイ (E M S A) を、以前の研究 (H i d e s h i m a ら、

10

20

30

40

50

Oncogene 20:4519 (2001); Hideshimaら、Cancer Res. 61:3071 (2001)におけるように実行した。簡単に述べると、MM.1S細胞を、PS-341 (5 μ M、1時間)および化合物1 (10 μ M、90分間)とともにブレインキュベートし、その後、TNF (5 ng/mL)を用いて10分間または20分間刺激した。その後、細胞をペレットにし、400 μ Lの低張度溶解緩衝液 (20 mM HEPES (pH 7.9)、10 mM KCl、1 mM EDTA、0.2 % Triton X-100、1 mM Na₃VO₄、5 mM NaF、1 mM PMSF、5 μ g/mLロイペプチン、5 μ g/mLアプロチニン)中に再懸濁し、氷上に20分間維持した。4にて遠心分離 (14000 gで5分間)した後、核ペレットを、100 μ L高張度溶解緩衝液 (20 mM HEPES (pH 7.9)、400 mM NaCl、1 mM EDTA、1 mM Na₃VO₄、5 mM NaF、1 mM PMSF、5 μ g/mLロイペプチン、5 μ g/mLアプロチニン)を用いて氷上で20分間抽出した。4にて遠心分離 (14000 gで5分間)した後、その上清を核抽出物として収集した。二本鎖NF- κ Bコンセンサスオリゴヌクレオチドプローブ (5' - GGGGACTT TCCC - 3' ; Santa Cruz Biotech.)を、[³²P]ATP (50 μ Ci、222 TBq/mM; NEN, Boston, MA)を用いて末端標識した。1 ngのオリゴヌクレオチドおよび5 μ gの核タンパク質を含む結合反応を、全容量10 μ Lの結合緩衝液 (10 mM Tris-HCl (pH 7.5)、50 mM NaCl、1 mM MgCl₂、0.5 mM EDTA、0.5 mM DTT、4 % グリセロール (v/v)、および0.5 μ gポリ (dI-dC) (Pharmacia, Peapack, NJ)中に、室温で20分間実行した。スーパーシフト分析のために、1 μ gの抗p65 NF- κ B Abを、この反応を混合する5分間前に添加し、その直後に、放射性標識プローブを添加した。そのサンプルを、4 % ポリアクリルアミドゲル上にローディングし、Whatman紙 (Whatman International, Maidstone, U.K.)に移し、そしてオートラジオグラフィーによって可視化した。

【0062】

(フローサイトメトリー分析)

細胞周期分析に関して、化合物1 (10 μ M)、Dex (1 μ M)、IL-6 (20 ng/mL)、またはコントロール培地中で24~48時間にわたって培養したMM細胞を収集し、リン酸緩衝化生理食塩水 (PBS)で洗浄し、70 % エタノールで固定し、そして10 μ g/mLのRNase (Roche Diagnostics Corp., Indianapolis, IN)で処理した。次いで、細胞をヨウ化プロピジウム (PI, Sigma) (5 μ g/mL)で染色した。ICAM-1発現の検出に関しては、化合物1 (10 μ M)の存在下または不存在下でTNF (5 ng/mL)中で培養したMM細胞を収集し、PBSで洗浄し、そしてマウスIgGアイソタイプコントロールまたはFITC結合体化マウス抗ヒトCD54 Abを用いて染色した。細胞周期プロファイルおよびICAM-1発現の両方を、Epics (Coulter Immunology, Hialeah, FL)フローサイトメーターを、先の研究 (Hideshimaら, Oncogene 20:4519 (2001))においての通りに用いて決定した。

【0063】

(BM中のパラクリンMM細胞増殖に対する化合物1の影響)

BMSCに付着性のMM細胞中の増殖刺激およびシグナル伝達を評価するために、 3×10^4 個のMM.1S細胞を、化合物1の存在下または不存在下で、BMSCコーティング96ウェルプレート中で48時間にわたって培養した。DNA合成を、上記の通りに測定した。Duoset ELISA (R & D System)を用いて、化合物1の存在下または不存在下での、MM.1S細胞を伴うかまたは伴わない、BMSCの48時間培養物の上清中のIL-6を測定した。

【0064】

(統計分析)

コントロール培養物に対して薬物処理培養物中で観察された差の統計学的有意性を、S

10

20

30

40

50

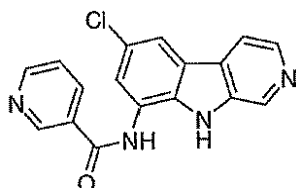
t u d e n t t 検定を用いて決定した。最小レベルの有意性は、 $P < 0.05$ であった。

【0065】

(実施例2：N-(6-クロロ-9H-β-カルボリン-8-イル)-ニコチンアミド(化合物1)の合成)

【0066】

【化9】



10

【0067】

水(89 mL)および1 M HCl水溶液(29.8 mL、29.8 mmol)中のノルハルマン(norharman)(2.0 g、11.9 mmol)の溶液に、N-クロロスクシンイミド(3.17 g、23.8 mmol)を滴下した。得られた溶液をRTで6時間にわたって、次いで0 ~ 5 °Cにて12時間にわたって攪拌した。この反応物を水(100 mL)で希釈し、そして固体 K_2CO_3 (4.3 g)で慎重に塩基性化した。RTにて1時間にわたって攪拌した後、この生成物を収集し、そして水で洗浄した。粗製生成物をクロロホルム中で1時間にわたって還流し、そして15 °Cまで冷却した後濾過して、2.05 gの7-クロロ-β-カルボリンを得た。

20

【0068】

濃硝酸(20 mL)中の7-クロロ-β-カルボリン(500 mg、2.48 mmol)の混合物を、RTにて22時間攪拌した。この反応混合物を、冷たい(3 ~ 5 °C)水(50 mL)中に慎重に注ぎ、そして2時間攪拌した後、沈澱物を収集した。固体を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(50 mL)中に懸濁し、そしてRTにて12時間攪拌した。生成物を濾過し、そして水で洗浄して、550 mgの7-クロロ-9-ニトロ-β-カルボリンを提供した。

【0069】

65 ~ 70 °CのEtOH(14 mL)中の7-クロロ-9-ニトロ-β-カルボリン(548 mg、2.22 mmol)の懸濁物に、塩化スズ二水和物(2.5 g、11.1 mmol)を添加した。その後、6 M HCl水溶液(14 mL)を滴下した。この混合物を70 ~ 80 °Cで3.5時間にわたって攪拌し、次いで飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(150 mL)およびEtOAc(100 mL)中にゆっくりと分配した。水相を抽出(2回)し、そして合わせた有機溶液を乾燥(ブライン; Na_2SO_4)し、そして濃縮して484 mgの9-アミノ-7-クロロ-β-カルボリンを得た。

30

【0070】

ピリジン(150 mL)中の9-アミノ-7-クロロ-β-カルボリン(2.75 g、12.7 mmol)の冷(3 ~ 5 °C)溶液に、ニコチニルクロリドヒドロクロリド(2.82 g、15.8 mmol)を添加した。この反応物をRTまで温め、そして20時間攪拌した後、この反応物を水(100 mL)および1 M NaOH(25 mL)で希釈した。RTにて1時間にわたって攪拌した後、この混合物を水(200 mL)中に注いだ。この混合物を1時間にわたって静置し、そして生成物を濾過し、水で洗浄し、RTにて減圧下で乾燥した後、3.80 gの表題化合物を提供した。

40

【0071】

(実施例3：化合物1は、I-Bキナーゼ活性を阻害する)

(I-Bキナーゼ複合体の単離)

I-Bキナーゼ複合体を、10 mLのHeLa S3細胞抽出物S100画分を40 mLの50 mM HEPES(pH 7.5)で最初に希釈することによって調製した。次い

50

で、40%硫酸アンモニウムを添加し、そして氷上で30分間インキュベートした。沈澱したペレットを5mLのSEC緩衝液(50mM HEPES(pH7.5)、1mM DTT、0.5mM EDTA、10mM 2-グリセロホスフェート)に再溶解し、20,000×gにて15分間遠心分離により明澄化し、そして0.22μmフィルターユニットによって濾過した。サンプルを、SEC緩衝液で平衡化した。320mL Superose-6 FPLCカラム(Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden)にローディングし、2mL/分の流速で4で操作した。670kDa分子量マーカーにまたがる画分を活性化のためにプールした。

【0072】

10

(I Bキナーゼ複合体の活性化)

キナーゼ含有プールを、37で45分間にわたる100nM MEKK1、250μM MgATP、10mM MgCl₂、5mM DTT、10mM 2-グリセロホスフェート、および2.5μM Microcystin-LRを用いたインキュベーションによって活性化した。活性化酵素を、将来の使用のために、-80で保存した。

【0073】

(I Bキナーゼ活性のアッセイ)

96ウェルプレート1ウェルあたり、2μL DMSO中の種々の濃度の化合物を、アッセイ緩衝液(50mM HEPES(pH7.5)、5mM DTT、10mM MgCl₂、10mM 2-グリセロホスフェート、2.5μM Microcystin-LR)で[25:1]希釈した活性化酵素43μLとともに25にて30分間にわたってプレインキュベートした。200μMストック溶液の5μLのペプチド基質(ビオチン-(CH₂)₆-DRHDSGLDSMKD-CONH₂)を各ウェルに添加し、そして1時間にわたってインキュベートし、その後、150μLの50mM HEPES(pH7.5)、0.1% BSA、50mM EDTA+[1:200]抗体を用いてクエンチングした。1ウェルあたりの100μLのクエンチングしたキナーゼ反応サンプルおよびホスホ-ペプチド-較正標準物(ビオチン-(CH₂)₆-DRHDS[PO₃]GLDSMKD-CONH₂、アッセイ緩衝液中の連続希釈した)を、Protein-Aプレート(Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA)に移し、そして攪拌しながら2時間にわたってインキュベートした。PBSでの3回の洗浄後、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)と結合体化したストレプトアビジン(0.5μg/mLを100μL)を、50mM HEPES/0.1% BSAで希釈し、30分間添加した。PBSでの5回の洗浄後、100μLのTMB基質(Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, USA)を添加し、そして100μLの0.18M H₂SO₄を添加することによって発色を停止させた。吸光度のシグナルを、450nmにて記録した。較正曲線標準を、4パラメーター用量応答式を用いて線形回帰によって当てはめた。この標準曲線に基づいて、候補薬学的因子の阻害活性を決定するために、キナーゼ活性のレベルを算出した。阻害化合物1は、このアッセイにおいて0.052μMのIC₅₀を示す。

20

30

【0074】

40

(実施例4:化合物1は、MM.1S細胞および患者MM細胞におけるI-Bリン酸化を阻害する)

化合物1によるI-Bリン酸化の阻害を、TNFによって誘発される、MM.1S細胞および患者MM細胞においてアッセイした。図1Aにおいて見られるように、I-Bのセリンリン酸化および分解は、DMSOコントロール培地中の細胞のTNF処理の5分後および10分後に有意に誘導され、一方、I-Bのリン酸化および分解は、MM.1S細胞の化合物1前処理によって完全にブロックされた。化合物1の用量依存性効果を研究するために、MM.1S細胞を1.25μM~40μMの化合物1で90分間前処理し、次いでTNF(5ng/mL)によって刺激した。図1Bにおいて見られ得るように、I-Bのリン酸化は、5μM以上の化合物1によって完全に阻害された。MM.

50

1 S細胞においてのように、化合物1はまた、患者MM細胞においてTNFによって誘発されるI Bのリン酸化および分解を阻害した(図1C)。これらの結果は、I Bのリン酸化および分解に対する化合物1の時間依存性でかつ用量依存性の阻害効果を実証する。

【0075】

(実施例5: 化合物1は、MM. 1 S細胞におけるNF- B活性化を阻害する)

NF- B活性化は、I Bのリン酸化、ユビキチン付加、および分解を必要とするので、本発明者らは次に、EMSAによって評価した場合に、化合物1がNF- B活性化を阻害し得るか否かを調べた。DMSOコントロール培地または化合物1(10 μMにて90分間)のいずれかで前処理したMM. 1 S細胞を、TNF(0~20分間にわたって5 ng/mL)によって刺激した。図2において見られ得るように、NF- B活性化は、化合物1での前処理によって完全に阻害された。PS-341は、依然に報告されたように、NF- B活性化の阻害についてのポジティブコントロールとして役立った(Hideshimaら, Oncogene 20:4519(2001); Hideshimaら, Cancer Res. 61:3071(2001))。

【0076】

(実施例6: 化合物1は、MM細胞株の生存率を低下させる)

MM細胞に対する化合物1の直接的影響を研究するために、[3H]-TdR取り込みを、化合物1(1.5 μM~50 μM)の存在下で48時間にわたって培養したMM. 1 S細胞株、U266細胞株およびRPMI 8226細胞株において測定した。20%~50%の増殖阻害が、12.5 μMを超える用量の化合物1にて観察された(図3A)。対照的に、PS-341は、0.02~0.005のIC50にて試験した全ての細胞株における[3H]-TdR取り込みを完全に阻害した(図3B)。これらの結果は、NF- B活性化の完全遮断は、MM細胞株中のDNA合成の50%を超える阻害を達成できないこと、およびPS-341による完全阻害が、別のシグナル伝達経路(例えば、p42/44 MAPK(Ogataら, J. Immunol. 159:2212(1997)))の阻害によって媒介されることを示す。

【0077】

PI染色によって評価した細胞周期プロファイルもまた、これらのMM細胞株において調べた。興味深いことに、化合物1は、U266細胞においてG1増殖休止を誘導したが、アポトーシスを誘導しなかった(図4)。同様の結果が、RPMI 8226細胞において観察された(データは示さず)。これらのデータは、NF- B遮断がMM細胞においてG1増殖休止を誘導することを示す。

【0078】

(実施例7: 化合物1は、MM. 1 S細胞におけるp42/44 MAPKのリン酸化にもSTAT3のリン酸化にも影響を与えない)

図5において見られ得るように、IL-6は、MM. 1 S細胞におけるp42/44 MAPKおよびSTAT3の両方のリン酸化を誘導し、そしてこのMEK1インヒビターであるPD98059は、p42/44 MAPKリン酸化を選択的に阻害する。PS-341はまた、p42/44 MAPKリン酸化を阻害する; しかし、化合物1は、p42/44 MAPKのリン酸化またはSTAT3のリン酸化のいずれをも阻害しない。IL-6によって誘発されたAktのリン酸化はまた、化合物1の前処理によって影響されなかった(データは示さず)。これらの結果は、IL-6によって誘発される、MM. 1 S細胞における他の公知のシグナル伝達経路に影響を与えずに、化合物1がNF- Bを特異的にブロックすることを示す。

【0079】

(実施例8: Dexは、MM. 1 S細胞においてI Bタンパク質をアップレギュレートし、そしてNF- B活性化に対する化合物1の阻害効果を増強する)

MM. 1 S細胞をDex(1 μMにて0~36時間)の存在下で培養し、そしてI Bタンパク質の発現を、ウェスタンブロッティングによって評価した。図6Aにおいて見

10

20

30

40

50

られ得るように、Dexは、I B 発現を有意に誘導し、そしてIL-6は、I B のDex誘導性アップレギュレーションを部分的にブロックした。NF- κ B活性化を次に、IL-6を伴うかまたは伴わない、Dexの存在下で調べた。MM.1S細胞におけるNF- κ BのTNF 誘導性活性化は、Dexでの前処理によって取り消される(図6B)。化合物1はまた、MM.1S細胞における、TNF によって誘発されるNF- κ B活性化を用量依存様式で阻害し、そしてDexでの前処理は、化合物1の阻害効果を増強する(図6C)。これらの結果は、Dexが、関連したG1増殖休止およびアポトーシスを伴って、I B のアップレギュレーションを介してNF- κ B活性化を阻害することを示唆する。

【0080】

10

MM.1S細胞におけるI B のTNF 誘導性リン酸化に対するDex、化合物1、PS-341および/またはIL-6の効果を次に調べた。図7において見られ得るように、Dex、PS-341および/またはIL-6は、I B のTNF 誘導性リン酸化を阻害しない；さらに、PS-341は、プロテオソーム活性の阻害およびI B の蓄積に起因して、I B のリン酸化を増強する。対照的に、化合物1は、IL-6の存在下または不存在下では、I B のリン酸化を阻害する。Dexは、I B のTNF 誘導性分解を阻害し、一方、IL-6は、この効果をブロックする。PS-341および化合物1の両方とも、IL-6の存在下または不存在下で、I B の分解を阻害する。

【0081】

20

(実施例9：MMにおけるDexおよび/またはIL-6の存在下での化合物1の増殖阻害効果)

図8Aにおいて見られ得るように、Dexは、MM.1S細胞のIL-6誘導性増殖を阻害したが、化合物1は、その効果を増強しなかった。重要なことに、MM.1S細胞における構成的DNA合成およびIL-6誘導性DNA合成は両方とも、用量依存性様式で、化合物1の存在下で取り消された(図8B)。さらに、Dex誘導性増殖阻害に対するIL-6の増殖効果もまた、化合物1によって取り消された(図8C)。これらのデータは、IL-6による細胞増殖および細胞生存の促進が、少なくとも部分的に、NF- κ Bシグナル伝達系路を介して媒介されることを示唆する。

【0082】

30

サリドマイド(Tha1)およびその免疫調節誘導体(IMiD3)は以前に、MM.1S細胞増殖を阻害することおよびIL-6がこのIMiD効果を取り消すことが報告されている(Hideshimaら、Blood 96:2943(2000))。それゆえ、Tha1およびIMiD3で処理したMM.1S細胞のDNA合成に対する化合物1の影響を、IL-6の存在下または非存在下で研究した。図9において見られ得るように、IMiD3は、MM.1S細胞におけるDNA合成を用量依存性様式(0.25 μ M~1 μ M)で有意($p < 0.001$)に阻害した。IL-6(20ng/mL)は、IMiD3の影響を克服した；しかし、重要なことには、化合物1は、IMiD3に対するIL-6の阻害効果を中和した。これらの研究は、NF- κ B遮断が、Tha1/IMiDに対する耐性を克服し得ることを示唆する。

40

【0083】

(実施例10：化合物1は、MM細胞に対するTNF 誘導性ICAM-1発現を阻害する)

TNF は、BMSCおよびMM細胞の両方に対するICAM-1発現およびVCAM-1発現を誘導することが示されており、そしてプロテアソームインヒビターであるPS-341は、これらの分子の誘導をブロックする(Hideshimaら、Cancer Res. 61:3071(2001))。PS-341は特異的NF- κ Bインヒビターではないので、ICAM-1およびVCAM-1のTNF 誘導性アップレギュレーションがNF- κ Bによって媒介されると、これらの研究から結論することはできない。しかし、図10において見られ得るように、化合物1はまた、MM.1S細胞およびRPM

50

I 8 2 2 6 細胞に対する I C A M - 1 発現の T N F 誘導性アップレギュレーションを阻害する。この結果は、T N F による I C A M - 1 のアップレギュレーションが N F - B の活性化によって媒介されることを強く示唆する。

【 0 0 8 4 】

(実施例 1 1 : T N F および化合物 1 は、M M . 1 S 細胞におけるアポトーシスを誘発する)

T N F は、M M . 1 S 細胞において、中程度の増殖を誘導するが、アポトーシスを誘導しない (H i d e s h i m a ら , O n c o g e n e 2 0 : 4 5 1 9 (2 0 0 1)) 。 N F - B 活性化が化合物 1 によってブロックされた場合に、T N F が M M . 1 S 細胞におけるアポトーシスを誘導するという仮定を試験するために、M M . 1 S 細胞を、化合物 1 の存在下または非存在下で、T N F とともに培養した。図 1 1 において見られ得るように、T N F 処理は、M T T アッセイによって評価した M M . 1 S 細胞の生存率に影響を与えない ; しかし、化合物 1 の存在下では、この細胞の生存率は、有意 ($p < 0 . 0 0 1$) に減少した。例えば、T N F ($1 \text{ ng} / \text{mL}$) は、 $10 \mu \text{M}$ 化合物 1 の存在下で M M . 1 S 細胞の 6 0 % 増殖阻害を誘導した。M M . 1 S の生存率に対するこの影響はまた、トリパンブルー排除によって確認される (データは示さず) 。これらの研究は、N F - B が、T N F 誘導性アポトーシスに対する M M . 1 S 細胞の保護を媒介することを示唆する。

【 0 0 8 5 】

(実施例 1 2 : パラクリン M M 細胞増殖および I L - 6 分泌に対する化合物 1 の影響)

I L - 6 転写および I L - 6 分泌、ならびに B M 環境における関連のパラクリン M M 細胞増殖を調節する際の N F - B 活性化の役割を研究するために、M M . 1 S 細胞を、B M S C とともに、または B M S C を伴わずに、化合物 1 の存在下または非存在下で培養した。図 1 2 A において見られ得るように、化合物 1 は、B M S C における I L - 6 の構成的分泌を用量依存性様式でブロックする。重要なことに、B M S C に対する M M . 1 S 細胞の接着は、I L - 6 分泌の増加 (1 . 6 倍、 $p < 0 . 0 1$) を誘発し、そして化合物 1 はまた、この応答を用量依存様式でブロックする。B M S C に対する M M . 1 S 細胞の接着はまた、M M . 1 S 細胞増殖の増加 (1 . 9 倍) を誘発し、そして化合物 1 は同様に、この増強を用量依存様式で阻害する (図 1 2 B) 。これらのデータは、M M 細胞接着によって誘発される B M S C からの I L - 6 分泌の誘導が、N F - B によって媒介される (C h a u h a n ら , B l o o d 8 7 : 1 1 0 4 (1 9 9 6)) という仮説を確認し、そして化合物 1 がこの効果を取り消し得ることを示す。

【 0 0 8 6 】

(等価物)

上記の発明は、明確さおよび理解を目的として幾分詳細に記載されてきたが、本開示を読むことにより、形態および詳細の種々の変更が、本発明および添付の特許請求の範囲の真の範囲から逸脱することなくなされ得ることが当業者によって理解される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 8 7 】

【 図 1 】 図 1 は I B のリン酸化および分解に対する、化合物 1 の影響を示すイムノブロットである。(A) M M . 1 S 細胞を、化合物 1 で前処理し ($10 \mu \text{M}$ で 9 0 分間) 、次いで T N F 刺激した ($5 \text{ ng} / \text{mL}$ で 0 ~ 2 0 分間) 。(B) M M . 1 S 細胞を、0 . 1 2 5 ~ $40 \mu \text{M}$ の化合物 1 で 9 0 分間前処理し、その後、T N F 刺激した ($5 \text{ ng} / \text{mL}$ で 5 分間) 。(C) 患者の M M 細胞を、化合物 1 で前処理し ($10 \mu \text{M}$ で 9 0 分間) 、次いで T N F 刺激した ($5 \text{ ng} / \text{mL}$ で 0 ~ 1 0 分間) 。細胞を溶解し、電気泳動し、次いで抗ホスホ I B A b および抗 I B A b でイムノブロットした。これらの結果は、化合物 1 が、T N F によって誘発される I B のリン酸化および分解をブロックすることを示す。

【 図 2 】 図 2 は、N F - B の活性化に対する化合物 1 の影響の、電気泳動移動度シフトアッセイ (E M S A) 分析の結果を示す。M M . 1 S 細胞を、化合物 1 で前処理し (1 0

10

20

30

40

50

μM で90分間)、次いでTNF 刺激した(5 ng/mLで0~20分間)。この細胞の核抽出物を、EMSAに供した。PS-341は、Hideshimaら、Cancer Res. 61:3071(2001)に記載されるように、NF- κ B活性化の阻害についてのポジティブコントロールとして作用した。これらの結果は、化合物1が、TNF によって誘発されるNF- κ B活性化をブロックすることを示す。

【図3】図3は、多発性骨髄腫(MM)細胞株におけるDNA合成に対する、化合物1(A)およびPS-341(B)の影響を決定するためのアッセイのグラフ表示である。MM.1S(黒丸)細胞、U266(黒三角)細胞およびRPMI8226(黒四角)細胞を、化合物1(1.5~5.0 μM)またはPS-341(0.00001~10 μM)の存在下で、48時間培養した。DNA合成を、 $[^3\text{H}]$ -TdR取り込みによって評価した。

10

【図4】図4は、細胞周期プロファイルに対する化合物1の影響を示す。U266細胞を、化合物1の存在下で培養し(10 μM で24時間、36時間および48時間)、回収し、PIで染色し、そしてフローサイトメトリーによって細胞周期プロファイルについて分析した。これらの結果は、化合物1が、G1増殖停止を誘導したことを示す。

【図5】図5は、p42/44 MAPKまたはSTAT3のリン酸化に対する化合物1の影響を示すイムノプロットである。MM.1S細胞を、化合物1(10 μM で90分間)またはPS-341(5 μM で60分間)で前処理し、次いでIL-6(50 ng/mLで5分間)刺激した。これらの細胞を回収し、溶解し、電気泳動し、そして抗ホスホSTAT3 Ab、抗ホスホp42/44 MAPK Abおよび抗p42/44 MAPK Abでイムノプロットした。これらの結果は、化合物1が、MM.1S細胞においてp42/44 MAPKのリン酸化にもSTAT3のリン酸化にも影響を与えないことを示す。

20

【図6】図6は、I κ Bタンパク質発現およびNF- κ B活性化に対するデキサメタゾン(Dex)の影響を示す。(A)MM.1S細胞を、IL-6の存在下または非存在下で、Dexの存在下で培養した(1 μM で0~36時間)。これらの細胞を、回収し、溶解し、電気泳動し、そして抗ホスホI κ B Abでイムノプロットした。(B)MM.1S細胞を、DMSOコントロールまたはDexのいずれかと共に培養し(1 μM で18時間)、TNF(5 ng/mL)またはIL-6(50 ng/mL)で刺激し、そして核抽出物をEMSAに供して、NF- κ B活性化を評価した。(C)MM.1S細胞を、DMSOコントロールまたはDexのいずれかをを用いて前処理し(1 μM で18時間)、次いで化合物1の存在下でインキュベートした(2.5~10 μM で90分間)。これらの細胞を回収し、そして核抽出物をEMSAに供して、NF- κ B活性化を評価した。

30

【図7】図7は、TNF 誘導性のI κ Bリン酸化に対する、Dex、化合物1、PS-341および/またはIL-6の影響を示すイムノプロットである。MM.1S細胞を、Dex(1 μM で18時間)、IL-6(50 ng/mLで18時間)、PS-341(5 μM で60分間)または化合物1(10 μM で90分間)の存在下で培養し、次いで、TNF によって刺激した(5 ng/mLで5分間)。これらの細胞を、回収し、溶解し、電気泳動し、次いで抗ホスホI κ B Abおよび抗I κ B Abでイムノプロットした。これらの結果は、IL-6が、TNF によって誘発されるI κ Bのリン酸化に影響を与えないことを示す。

40

【図8】図8は、細胞増殖に対する化合物1の影響のグラフ表示である。(A)MM.1S細胞を、DMSOコントロール(白四角)、または1.5 μM

【化10】

(E)

、3 μM

【化11】

(N)

50

、 6 μ M

【化 1 2】

(III)

、 1 2 . 5 μ M

【化 1 3】

(IV)

、 2 5 μ M

【化 1 4】

(E)

および 5 0 μ M (黒四角) の化合物 1 と共に、 0 . 0 1 μ M および 0 . 1 μ M の Dex の
非存在下または存在下で、 4 8 時間培養した。(B) MM . 1 S 細胞を、 DMSO コント
ロール (白四角)、または 1 . 5 μ M

10

【化 1 5】

(F)

、 3 μ M

【化 1 6】

(G)

、 6 μ M

【化 1 7】

(H)

または 1 2 . 5 μ M (黒四角) の化合物 1 と共に、 0 . 5 ng / mL、 5 ng / mL およ
び 5 0 ng / mL の IL - 6 の非存在下または存在下で、 4 8 時間培養した。(C) MM
. 1 S 細胞を、 DMSO コントロール (白四角)、または 0 . 4 μ M

20

【化 1 8】

(I)

、 2 μ M

【化 1 9】

(J)

または 1 0 μ M (黒四角) の化合物 1 と共に、 Dex (0 . 1 μ M) および / または IL
- 6 (5 0 ng / mL) の存在下で、 4 8 時間培養した。 DNA 合成を、 [³ H] - TdR
取り込みによって評価した。これらの結果は、化合物 1 が、増殖を阻害し、そして Dex
誘導性の増殖阻害に対する IL - 6 の保護効果をブロックすることを示す。

30

【図 9】図 9 は、 IL - 6 の存在下または非存在下での、免疫調節性誘導体 IMiD3 で
処理した細胞における細胞増殖に対する、化合物 1 の影響のグラフ表示である。(A) M
M . 1 S 細胞を、 DMSO コントロール (白四角) または 2 5 μ M

【化 2 0】

(K)

、 5 0 μ M

【化 2 1】

(L)

または 1 0 0 μ M (黒四角) のサリドマイド (Thal) と共に、化合物 1 (1 0 μ M)
の存在下または非存在下で、かつ IL - 6 (5 0 ng / mL) 有りまたは無しで、 4 8 時
間培養した。(B) MM . 1 S 細胞を、 DMSO コントロール (白四角) または 0 . 2 5
 μ M

40

【化 2 2】

(M)

、 0 . 5 μ M

50

【化 2 3】

(☒)

または $1 \mu\text{M}$ (黒四角) の IMiD3 と共に、化合物 1 ($10 \mu\text{M}$) の存在下または非存在下で、かつ IL-6 (50 ng/mL) 有りまたは無しで、48 時間培養した。DNA 合成を、 $[^3\text{H}]$ -TdR 取り込みによって評価した。これらの結果は、化合物 1 が、 IMiD3 に対する IL-6 の保護効果に打ち勝つことを示す。

【図 10】図 10 は、MM 細胞上での TNF 誘導性の ICAM-1 発現に対する、化合物 1 の影響を示す。MM.1S 細胞および RPMI8226 細胞を、 DMSO コントロール (太線)、 TNF (5 ng/mL) 単独 (細線) または $\text{TNF} +$ 化合物 1 () と共に 24 時間培養した。これらの細胞を回収し、アイソトープコントロール (破線) または FITC 結合体抗 ICAM-1 Ab で染色し、そしてフローサイトメトリーを用いて分析した。これらの結果は、化合物 1 が、MM 細胞上での TNF 誘導性の ICAM-1 発現を阻害することを示す。

10

【図 11】図 11 は、 TNF が、化合物 1 で処理した MM.1S 細胞においてアポトーシスを誘導することを示す。MM.1S 細胞を、 0.2 ng/mL および 1 ng/mL の TNF と共に、化合物 1 の非存在下 (白四角) または $2.5 \mu\text{M}$

【化 2 4】

(☒)

、 $5 \mu\text{M}$

【化 2 5】

20

(☒)

、 $10 \mu\text{M}$ (黒四角) の化合物 1 の存在下で、48 時間培養した。細胞生存率を、MTT アッセイによって評価した。

【図 12】図 12 は、化合物 1 が、パラクリン MM 細胞増殖および MM 細胞の接着によって誘発される BMSC における IL-6 分泌を阻害することを示す。BMSC、BMSC + MM.1S 細胞または MM.1S 細胞単独を、 DMSO コントロール (白四角) または $0.4 \mu\text{M}$

【化 2 6】

(☒)

30

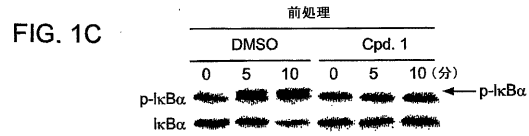
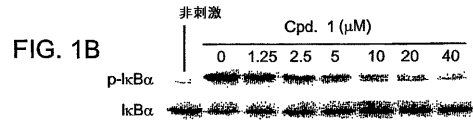
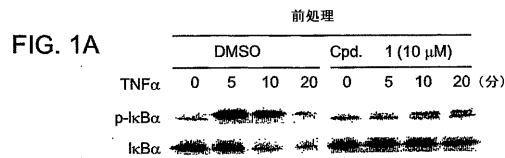
、 $2 \mu\text{M}$

【化 2 7】

(☒)

または $10 \mu\text{M}$ (黒四角) の化合物 1 の存在下で、48 時間培養した。(A) IL-6 レベルを、ELISA によって培養物上清中で測定し、そして (B) DNA 合成を、 $[^3\text{H}]$ -TdR 取り込みによって評価した。

【図 1】



【図 2】

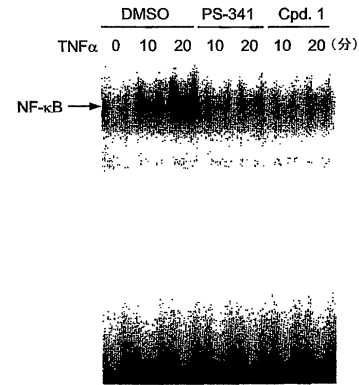
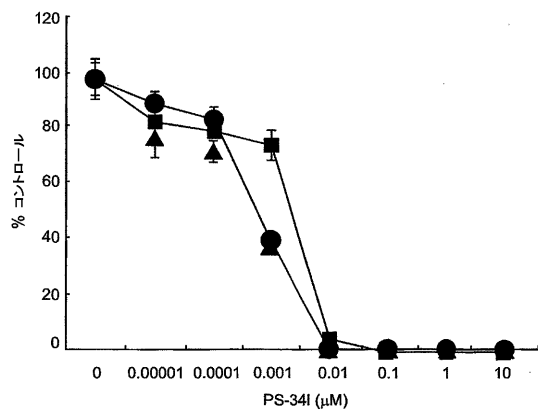
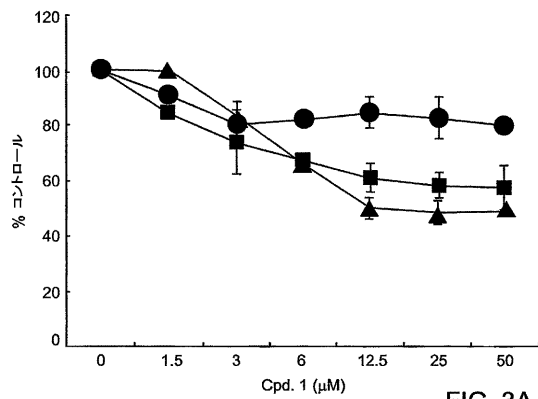
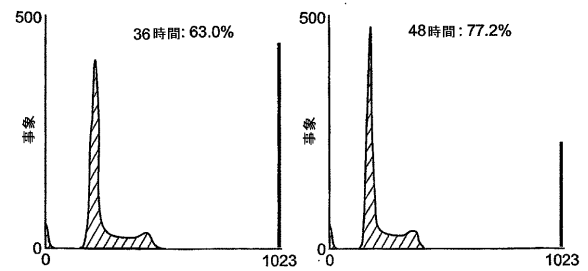
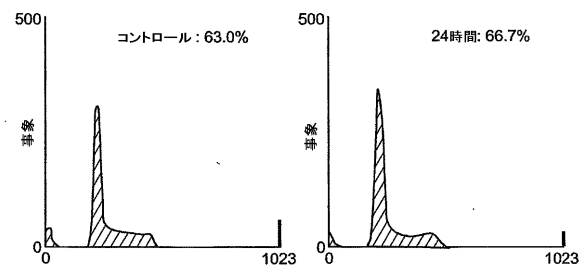


FIG. 2

【図 3】



【図 4】



【図 5】

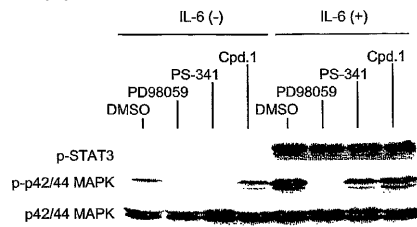


FIG. 5

【図 6】

FIG. 6A

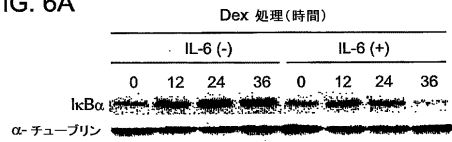


FIG. 6B

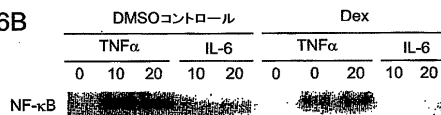
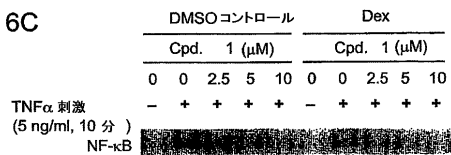


FIG. 6C



【図 8】

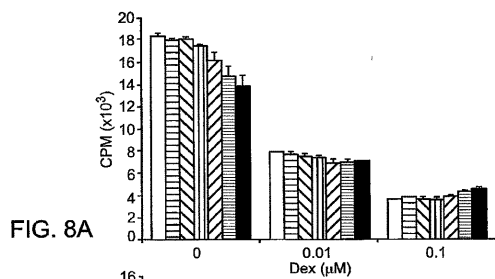


FIG. 8A

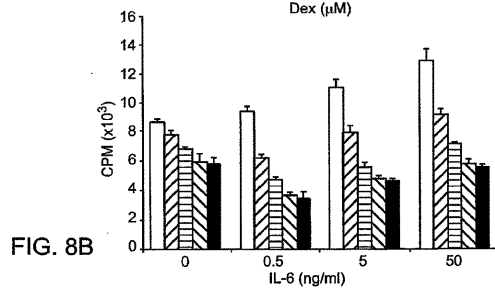


FIG. 8B

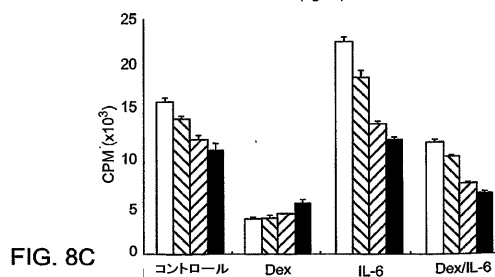


FIG. 8C

【図 7】

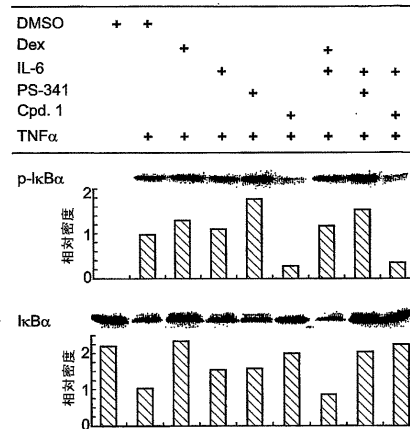


FIG. 7

【図 9 A】

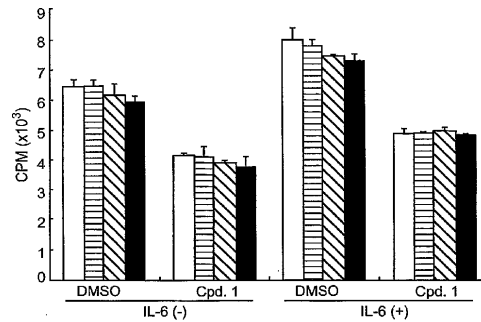
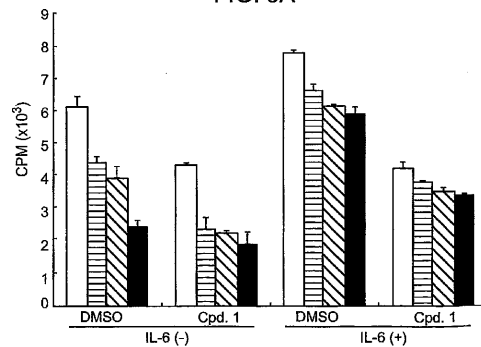


FIG. 9A



【図 10】

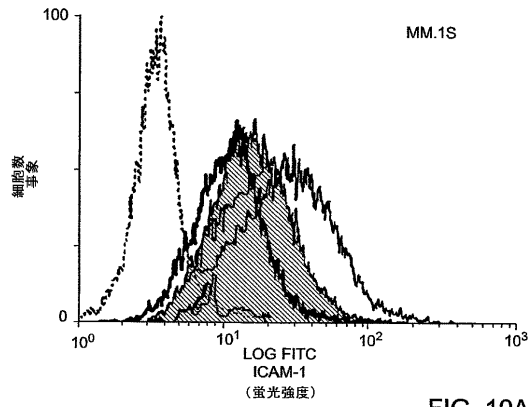


FIG. 10A

【図 11】

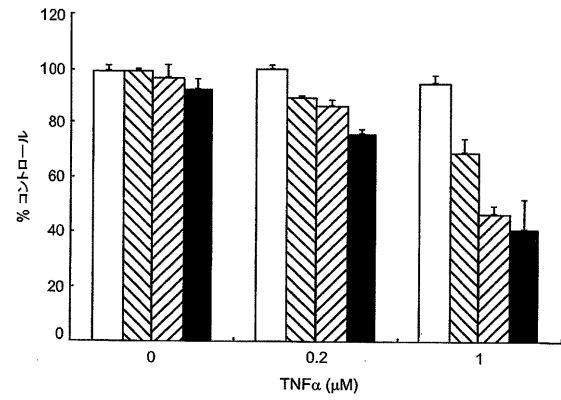


FIG. 11

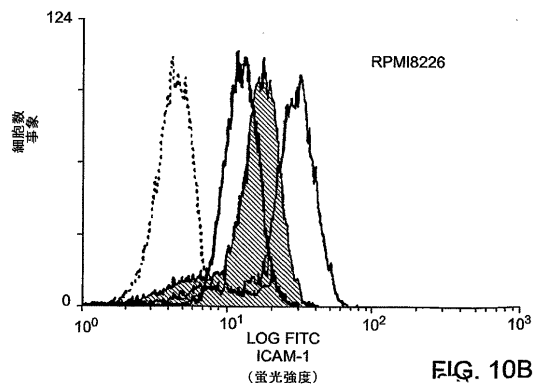


FIG. 10B

【図 12 A】

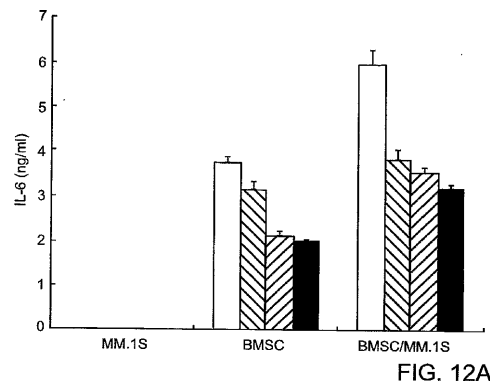
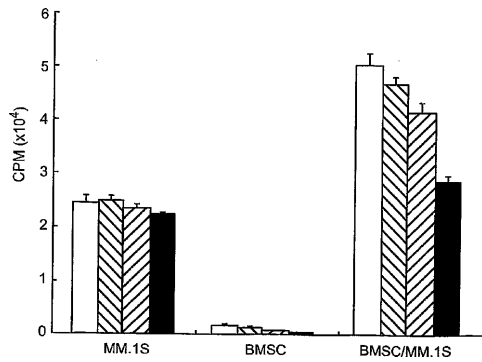


FIG. 12A



フロントページの続き

- (72)発明者 アダムス, ジュリアン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02116, ボストン, ボイルストン 673, ピー
エイチ
- (72)発明者 アンダーソン, ケネス
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02482, ウェレスリー, ウェストン ロード 26
4

審査官 早川 裕之

- (56)参考文献 国際公開第01/068648(WO, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

A61K 31/444
A61P 35/00
A61P 43/00
C07D 471/04
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)