

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3621102号  
(P3621102)

(45) 発行日 平成17年2月16日(2005.2.16)

(24) 登録日 平成16年11月26日(2004.11.26)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

C O 7 D 239/60

C O 7 D 239/60

A 6 1 K 31/505

A 6 1 K 31/505

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 33/00

A 6 1 P 33/00

請求項の数 13 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-513211  
 (86) (22) 出願日 平成6年9月30日(1994.9.30)  
 (65) 公表番号 特表平9-507054  
 (43) 公表日 平成9年7月15日(1997.7.15)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US1994/011173  
 (87) 国際公開番号 W01995/012400  
 (87) 国際公開日 平成7年5月11日(1995.5.11)  
 審査請求日 平成13年9月12日(2001.9.12)  
 (31) 優先権主張番号 08/146,838  
 (32) 優先日 平成5年11月2日(1993.11.2)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

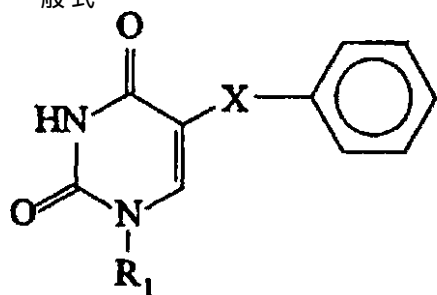
(73) 特許権者  
 エル クーニ, マームード エイチ.  
 アメリカ合衆国 35213-1832  
 アラバマ, マウント ブルック, ラウンド  
 フォレスト ドライブ 4632  
 (73) 特許権者  
 ナーギーブ, ファードス エヌ. エム.  
 アメリカ合衆国 35213-1832  
 アラバマ, マウント ブルック, ラウンド  
 フォレスト ドライブ 4632  
 (73) 特許権者  
 シナージ, レイモンド エフ.  
 アメリカ合衆国 30033 ジョージア  
 , アトランタ, リージェンシー ウォーク  
 ドライブ 1524  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規な酵素阻害剤、その合成及び使用方法

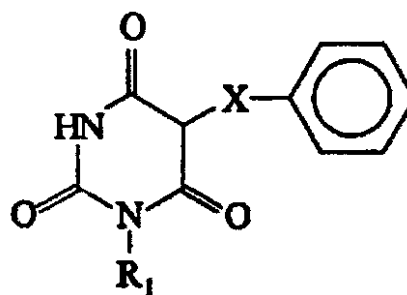
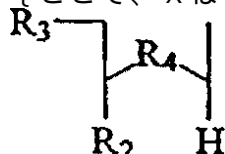
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

一般式



又は

{ここで、XはS又はSeであり、R<sub>1</sub>はH又は一般式(ここで、R<sub>2</sub>はH、CH<sub>2</sub>OH又はCH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>であり、R<sub>3</sub>はOH、NH<sub>2</sub>又はOCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Hであり、R<sub>4</sub>はO、S又はCH<sub>2</sub>である)

を有するアシクロ末端である。}

によって表わされる化合物。

## 【請求項 2】

5 - (フェニルセレニル) ウラシル (PSU) である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 3】

1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ) メチル] - 5 - (フェニルセレニル) ウラシル (PSAU) である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 4】

1 - (エトキシメチル) - 5 - (フェニルセレニル) ウラシルである請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 5】

5 - (フェニルチオ) ウラシル (PTU) である請求の範囲 1 記載の化合物。

10

## 【請求項 6】

1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ) メチル] - 5 - (フェニルチオ) ウラシル (PTAU) である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 7】

5 - (フェニルセレニル) バルビツル酸である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 8】

1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ) メチル] - 5 - (フェニルセレニル) バルビツル酸である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 9】

1 - (エトキシメチル) - 5 - (フェニルセレニル) バルビツル酸である請求の範囲 1 記載の化合物。

20

## 【請求項 10】

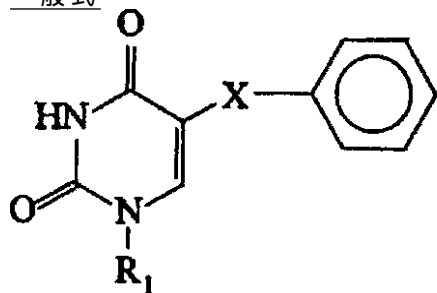
5 - (フェニルチオ) バルビツル酸である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 11】

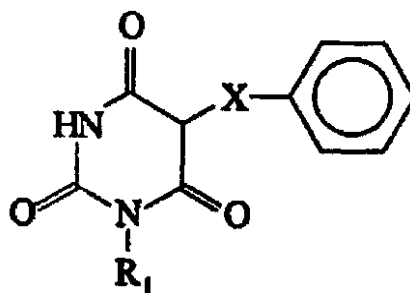
1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ) メチル] - 5 - (フェニルチオ) バルビツル酸である請求の範囲 1 記載の化合物。

## 【請求項 12】

一般式

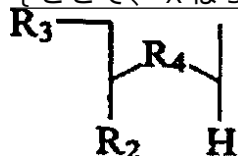


又は



30

{ここで、X は S 又は Se であり、R<sub>1</sub> は H 又は一般式



40

(ここで、R<sub>2</sub> は H、CH<sub>2</sub>OH 又は CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> であり、R<sub>3</sub> は OH、NH<sub>2</sub> 又は OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H であり、R<sub>4</sub> は O、S 又は CH<sub>2</sub> である)

を有するアシクロ末端である。}

によって表わされる化合物よりなるジヒドロウラシルデヒドロゲナーゼ (DHUDアーゼ) 又はウリジンホスホリラーゼ (UrdPアーゼ) の阻害剤。

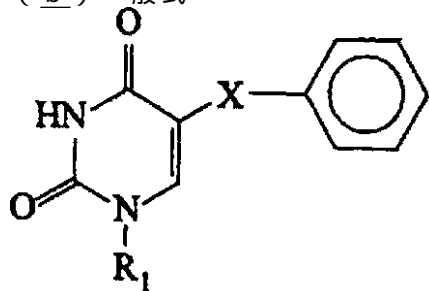
## 【請求項 13】

下記の成分

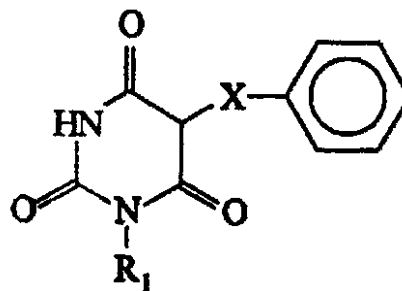
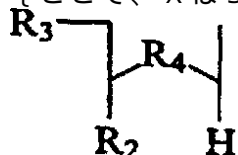
(a) ウイルス、癌、菌類、寄生生物又は細菌複製を破壊させるのに有効な量の化学療法剤、

50

(b) 一般式



又は

{ ここで、X は S 又は Se であり、 $R_1$  は H 又は一般式(ここで、 $R_2$  は H、 $CH_2OH$  又は  $CH_2NH_2$  であり、 $R_3$  は OH、 $NH_2$  又は  $OCOCH_2CH_2CO_2H$  であり、 $R_4$  は O、S 又は  $CH_2$  である)

を有するアシクロ末端である。}

によって表わされる化合物よりなる DHUDアーゼ又は UrdPアーゼの阻害剤、及び

(c) 製薬上許容できるキャリアー

を含み、しかして該化学療法剤の効能が増大され又はその毒性が低下される製薬組成物。

【発明の詳細な説明】

## 発明の背景

本発明は、新規な酵素阻害化合物、それらの合成並びに病理学的及び生理学的状態の治療への用途に関する。

ピリミジン類似体及びピリミジンヌクレオシドは、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症の化学療法剤として広く使用されている。癌の化学療法に使用される大部分のピリミジン類似体は、何らかの抗癌活性が発現される前にヌクレオシド5'-モノホスフェートのレベルまで転化さなければならない。しかし、それらのほとんど全ては、細胞内への移送を容易にさせるためにヌクレオシド又は塩基として投与される。投与された化合物は、患者の体内の種々の酵素によって異化作用及び不活性化作用を受ける。例えば、ピリミジンは、酵素のウリジンホスホリラーゼ (UrdPアーゼ) 及びジヒドロウラシルデヒドロゲナーゼ (DHUDアーゼ) によって分解される。その結果、種々の悪性疾患を治療し又はウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するための化学療法を規制するプログラム (以下、化学療法プログラムという) を設計し又は選択するときには、同化 (活性化) の経路と異化 (不活性化) の経路との間のバランスを考慮しなければならない。

最近までは、ピリミジン類似体についての代謝の研究の大部分は同化について集中しており、異化についてはほとんど注意が向けられていなかった。ピリミジン塩基及びヌクレオシド類似体は、患者の体内においてヌクレオシド5'-モノホスフェートに同化されるか又は - アミノ酸に異化され得る。ヌクレオシドから塩基への異化は、ヌクレオシドホスホリラーゼによって進行する。次いで、得られた塩基は、DHUDアーゼ、ジヒドロピリミジナーゼ及び - ウレイドプロピオナーゼによって接触される一連の三つの反応によってそれぞれの - アミノ酸に転化され得る。ウオスターナック、Pharmac. Ther., 8:629 - 651 (1981); ナギユイ他、Cancer Res., 45:5405 - 5412 (1985)。シチジン、シトシン及びそれらの類似体は、それらが異化され得る前に脱アミンされなければならない。

化学療法のためのターゲットとして DHUDアーゼが重要であることは、いくつかの最近の研究によって立証された。例えば、一定速度で 5 - フルオルウラシル (5 - FUra) の連続輸液を受ける患者は治療中に有意に変動する 5 - FUra の血漿中濃度を有することがわかった。この変動に続いて、DHUDアーゼの活性について観察されるものとは逆である日周期リズムが生じた。ハリス他、Biochem. Pharmac., 37:4759 - 4762 (1988); ハリス他、Cancer Res., 49:6610 - 6614 (1989); E. ブチ他、Cancer Res., 48:1676 - 1679 (1988); ナギユイ

10

20

30

40

50

ブ他、Biochem.Pharmac.,45:667 - 673 (1993)。即ち、5 - FUraの高い血漿中濃度は低いDHUDアーゼの活性と関連しており、またその逆も同様であった。また、DHUDアーゼ活性の日周期リズムと5 - FUra及び5 - フルオル - 2' - デオキシウリジン (5 - FdUrd) の効能日周期リズムとの間の有意の相関関係も報告された。E.ブチ他、Cancer Res.,48:1676 - 1679 (1988) ; ホンレメリング他、Advances in Chronobiology,Part B,357 - 373 (1987)。

従って、化学療法に対してはDHUDアーゼ活性のレベルとフルオルピリミジン類のバイオアベイラビリティ及び効能との間には強い関連性が存在することは明らかである。癌の化学療法におけるDHUDアーゼの重要性は、DHUDアーゼの阻害剤についての研究によってさらに強調される。この研究では、阻害剤は血漿中の5 - FUraの濃度及び半減期を増大させ且つ5 - FUraのインビトロ及びインビボでの化学療法的効能を劇的に高めることがわかった。それにもかかわらず、DHUDアーゼの既知の阻害剤と5 - FUraとの同時投与は、このような既知の阻害剤と関連するいくつかの欠点のために一般的ではなかった。この既知の阻害剤は5 - FUraの抗腫瘍活性を高めたが、代替基質としても働き、相当な宿主毒性を生じた。クーパー他、Cancer Res.,32:390 - 397 (1972) ; ジェントリー他、Cancer Res.,31 - 909 - 912 (1971)。また、DHUDアーゼの阻害は、神経学的障害を伴うことが知られているこの酵素の遺伝子欠損を模擬するであろうと思われた。バッケレン他、Clinica Chimica Acta,140:246 - 247 (1984) ; タッチマン他、N.Engl.J.Med.,313:245 - 249 (1985) ; ディアシオ他、J.Clin.Invest.,81:47 - 51 (1988) ; ワドマン他、Adv.Exp.Med.,165A:109 - 114 (1984)。最後に、腫瘍はDHUDアーゼ活性を欠いているか又はこの活性を非常にわずかしき有していないことが一般的に信じられていた。シャウドリー他、Cancer Res.,18:318 - 328 (1958) ; ハイデルベルガー他、Cancer Res.,30:1549 - 1569 (1970) ; ムツケルジェー、J.Biol.Chem.,235:433 - 437 (1960)。

従って、現在知られている阻害剤は、化学療法プログラムのためにDHUDアーゼ阻害剤の見込みがあり得るにもかかわらず、それらをこのような治療に使用することを思い止まらせるいくつかの欠点を証明した。

また、UrdPアーゼ阻害剤は、臨床的に有用な属性を持っていることが知られている。例えば、UrdPアーゼ阻害剤は、癌の化学療法における種々のウラシル及びウリジン誘導体の選択性及び効能を増大させることが提案された。米国特許第5,077,280号 (ソマンドッシ他) は、UrdPアーゼ阻害剤が3' - アジド - 3' - デオキシチミジン (AZT) のような抗ウイルス剤の毒性を減少させるための救済剤として使用できることを開示している。理想的なUrdPアーゼ阻害剤は、効能があり、特異的であり且つ毒性がないものである。さらに、有用なUrdPアーゼ阻害剤は、生理学的pH範囲内に緩衝された水溶液に容易に溶解できるものでなければならない。

前述のように、5 - FUraのようなハロゲン化ピリミジンの塩基及び5 - FdUrdのようなハロゲン化ピリミジンヌクレオシドは、癌の治療における化学療法剤として使用された。これらの化合物は迅速な分解を受けるために、化合物の効能は低下する。また、これらの化学療法剤の異化代謝産物 (例えば、2 - フルオル - アラニン) は患者の健康な細胞に対して毒性であると思われる。

例えば、ハロゲン化ピリミジンヌクレオシドは、ウリジンと同じ異化の経路を共有することが知られている。多くの腫瘍細胞には官能性チミジンホスホリラーゼはほとんど存在しないので、腫瘍細胞における異化の経路の第一段階は主としてUrdPアーゼに頼っている。腫瘍細胞におけるこの酵素の阻害は、腫瘍組織における化学療法剤の異化作用を阻害し、これによってその有効性を増大させるように働く。健康な宿主組織においては、ハロゲン化ピリミジンヌクレオシドは、依然として、チミジンホスホリラーゼの作用によってそれらのピリミジン対応物に異化され得る。

同様に、5 - FUraのようなハロゲン化ピリミジン塩基は、RNA及びDNA中に取り込むために細胞のピリミジン類及びそれらのヌクレオチドと競争することができる。しかし、UrdPアーゼ阻害剤は、宿主の健康な細胞を救済するために血漿中ウリジン濃度 (モンクス他、Biochem.Pharmac.,32:2003 - 2009 (1983) ; ダルノウスキー他、Cancer Res.,45:5364 - 5368 (1985)) 及びウリジンのアベイラビリティを増大させる。また、血漿中ウリジン濃度の

10

20

30

40

50

増大は組織内にウリジンヌクレオチドが溜まるのを高める。しかして、増大した細胞内ウリジン濃度は、宿主細胞内のハロゲン化化合物の毒性を減少させることができる。さらに、ホスホリラーゼ阻害剤の添加が宿主細胞がウリジンを救済する能力を選択的に増大させることが示された。ダルノウスキー他、Cancer Res., 45:5364 - 5368 (1985)。この組織によるウリジン利用の特異的な向上は、5 - フルオルウリシルを使用する化学療法プログラムにとって特に重要である。

UrdPアーゼ阻害剤の別の利用は、それを種々の抗ウイルス剤の宿主毒性に対する保護に使用することにある。例えば、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) に感染している患者及び (又は) 後天性免疫不全症候群 (AIDS) に感染している患者の抗ウイルス療法は、典型的に、AZTのような抗ウイルス性ピリミジンヌクレオシドの投与を伴っていた。このような抗ウイルス剤は、HIVの逆トランスクリプターゼ酵素を阻害させてウイルスの細胞障害作用を減少させるように機能する。

AZTのような抗ウイルス性ピリミジンヌクレオシドの有用性は、未感染の細胞に対するAZT又はその異化代謝産物、例えば3' - アミノ - 3' - デオキシチミジン (AMT) の毒性作用によって制限されていた。クレトン他、Molec.Pharmac., 39:258 - 266 (1991)。このような化合物の持続した投与は、骨髄の生長抑制や重い貧血を含めて重大な副作用を生じさせる。しかして、AZTの薬量及び療法の期間はこのような合併症のために制限される。

現在、ウリジン及び若干の程度までであるがシチジンが、感染細胞におけるAZTの抗ウイルス活性に影響を及ぼすことなく、ヒト骨髄原種細胞におけるAZTの毒性作用を一変させ得ることが知られている。ソマドッシ他、Antimicrob.Agents Chemother., 32:997 - 1000 (1988)。ウリジンのこの救済作用は、一般的には有益であるが、体の迅速なウリジン異化作用のためにいくつかの欠点を有する。従って、高い薬量が要求され、しかしてウリジンの高い薬量は静脈炎や発熱反応を含めてひどい毒性副作用を生じさせる恐れがある。

AZT又は類似の化合物とUrdPアーゼ阻害剤を併用する抗ウイルス療法が米国特許第5,077,280号 (ソマドッシ他) に示唆された。このような治療は、有害になるような高い薬量のウリジンの投与を要求することなく未感染の細胞を救済するのに十分に有効なレベルのウリジンを血漿中に保持させるためにUrdPアーゼ阻害剤を利用する。

さらに、多くの合成UrdPアーゼ阻害剤が報告された。ニエズウイスキー他、Biochem.Pharmac., 31:1857 (1982) ; ナギユイブ他、Biochem.Pharmac., 36:2195 (1987) ; ナギユイブ他、Biochem.Pharmac., 46:1273 - 1283 (1993) ; 米国特許第4,613,604号 (シュー他) 及び米国特許第5,141,943号 (ナギユイブ他) を参照。このようなUrdPアーゼ阻害剤には各種の置換アシクロウリジン及び5 - ベンジルバルビツレート誘導体が含まれる。

置換アシクロウリジンはUrdPアーゼの良好な阻害剤であるが、水溶解度が制限される傾向があり、合成するのが困難であり、高価である。水溶解度は、実際の化学療法及び感染の治療にとっては、生理学的pH範囲で静脈内投与を可能にさせ且つ投与すべき理想の容積の処方可能にさせるために必須である。不幸にして、いくつかのアシクロウリジン、例えばベンジルアシクロウリジン及びその誘導体は、室温で水に約1mMまでしか可溶ではない。しかして、生理学的に有用な薬量を投与するには、これらの化合物を過大な容積に希釈する必要がある。また、5 - ベンジルバルビツレート誘導体は有用なUrdPアーゼ阻害剤であるが、ベンジルアシクロウリジン誘導体よりも可溶性であって望ましいことがわかった。

また、血漿中ウリジンレベルを維持し又は増大させることはいくつかの病理学的及び生理学的な状態を治療するのに有用である。例えば、ウリジンは、ウサギの心臓組織において心筋の動作、グルコースの取り組み、グリコーゲンの合成及びATPの分解を増大させることがわかった。また、血漿中ウリジンレベルの変動は、筋肉の動作及び心筋の収縮性に重要な関係を有する。さらに、ウリジンレベルは、中枢神経系の機能において重要である。例えば、細胞内及び血漿中ウリジンレベルの抑制は、脳血管性障害や痙攣、癲癇、パーキンソン氏病、アルツハイマー病及び老人性痴呆症を含めてCNS障害の治療に重要な関係を有するものと思われる。また、ウリジンは、肝臓の損傷や肝炎の治療に非常に有用である (ナギユイブ他、Biochem.Pharmac., 46:1273 - 1283 (1993) 及び前述した文献を参照)。

10

20

30

40

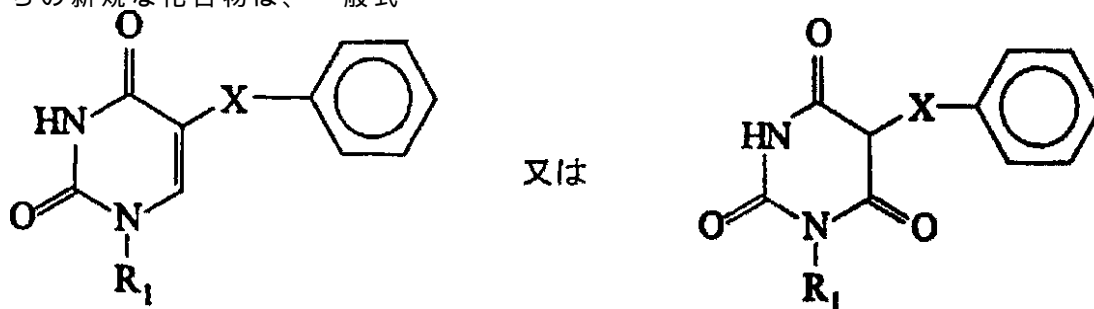
50

従って、ある種の化学療法剤を迅速に分解させる酵素或いは過剰のウラシル又はウリジン異化作用の一因となる酵素を阻害させることが望ましいことは明らかである。特に、DHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤は、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症に対する治療プログラムと大きな関連性がある。さらに、血漿中ウリジンレベルの抑制及び維持は、多くの疾病及び病理学的状態を治療しかつ防止するにあたって重要である。また、UrdPアーゼ阻害剤は、有効血漿中ウリジン濃度を増大させるのに使用することができる。その結果、新規で改良された酵素阻害化合物、特にDHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤に対する要望が存在する。

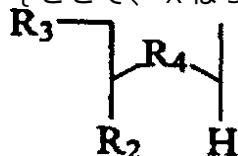
従って、本発明の目的は、DHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤として有用な新規な化合物を提供することである。本発明の他の目的は、正常な細胞及び未感染の細胞に対する化学療法剤の毒性を減少させるために化学療法プログラムによって使用することができる。DHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤を提供することである。本発明のさらに他の目的は、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症の治療において化学療法プログラムの効能を増大させる方法を提供することである。さらに他の目的は、このような治療と関連する不都合な患者の情動を減少させながらある種の化学療法プログラムの効能を増大させることである。本発明のさらに他の目的は、このようなDHUDアーゼ及びUrdPアーゼの新規な阻害剤を合成する方法を提供することである。また、本発明の目的は、血漿中ウリジン濃度を増大させるのに有用であり且つ種々の生理学的及び病理学的状態を治療するのに有効である方法及び組成物を提供することである。本発明のさらに他の目的は、ピリミジン異化作用の固有の障害の症状を治療し及び（又は）予防するための方法を提供することである。これらの目的及びその他の目的は、以下の説明から明らかとなる。

#### 発明の概要

本発明は、DHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤として有効な新規な化合物に関する。これらの新規な化合物は、一般式



{ここで、XはS又はSeであり、R<sub>1</sub>はH又は一般式



(ここで、R<sub>2</sub>はH、CH<sub>2</sub>OH又はCH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>であり、R<sub>3</sub>はOH、NH<sub>2</sub>又はOCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Hであり、R<sub>4</sub>はO、S又はCH<sub>2</sub>である)

を有するアシクロ末端である。}

によって表わされる。

DHUDアーゼを阻害する本発明の新規な化合物としては、5 - (フェニルセレニル)ウラシル (PSU)、5 - (フェニルチオ)ウラシル (PTU)、5 - (フェニルセレニル)バルビツル酸及び5 - (フェニルチオ)バルビツル酸が含まれる。

UrdPアーゼを阻害する本発明の好ましい化合物としては、アシクロ末端を有する前記の一般式の化合物が含まれる。このような化合物として、1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルセレニル)ウラシル (PSAU)、1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルチオ)ウラシル (PTAU)、1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルセレニル)バルビツル酸及び1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルチオ)バルビツル酸が挙げられる。

別の具体例として、本発明は、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するのに有効な量の化学療法剤、例えばピリミジン類と、有効な量の本発明の新規なDHUDアーゼ又はUrdPアーゼの阻害剤と、製薬上許容できるキャリアーを含む製薬組成物に関する。ここで、化学療法剤は、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するのに普通に作用されており且つ患者の体内においてDHUDアーゼ又はUrdPアーゼによって分解を受ける任意のものであってよい。このような化学療法剤の例としては、ピリミジン化合物、例えば3'-アジド-3'-デオキシチミジン、3'-フルオル-3'-デオキシチミジン、2',3'-ジデオキシシチジン-2'-エン、3'-デオキシチミジン-2'-エン、3'-アジド-2',3'-ジデオキシウリジン、2',3'-ジデオキシ-5-フルオル-3'-チアシチジン、2',3'-ジデオキシ-3'-チアシチジン、5-フルオル-2',3'-ジデオキシシチジン、5-フルオルウラシル、5-フルオル-2'-デオキシウリジン並びにこれらのヘテロ二量体及びこれらのエナンチオマーが挙げられる。また、化学療法剤は、ピリミジン核塩基類似体のプロドラッグであってよく、1-(2-テトラヒドロフリル)-5-フルオルウラシル(TEGAFUR)、5-フルオルシトシン、5'-デオキシ-5-フルオルウリジン及び1-エトキシメチル-5-フルオルウラシルが含まれる。また、化学療法剤は、大阪の大鵬薬品(株)から商品名UFTとして市販されているプロドラッグでよい。これは、1-(2-テトラヒドロフリル)-5-フルオルウラシルとウラシルの混合物である。

さらに他の具体例では、本発明は、化学療法剤の投与から生じ得るいかなる毒性からも正常な又は未感染の細胞を保護し及び(又は)救済しながら化学療法剤を投与する方法を包含する。さらに、化学療法剤の効能を向上させるための方法が提供される。本発明の方法は、化学療法剤を投与し、前記のタイプのDHUDアーゼ又はUrdPアーゼ阻害化合物を同時に投与し又は逐次的に投与することからなる。DHUDアーゼ又はUrdPアーゼの活性の阻害によってこれらの酵素による化学療法剤の分解が防止され又は遅延される。この化学療法剤の分解の防止又は遅延は、化学療法剤の毒性となり得る異化代謝産物のレベルを低下させることになる。しかして、これらの方法は、化学療法剤の高い濃度及び(又は)長い半減期を助成し、従って治療プログラムの効能を増大させる。また、追加の利益は、化学療法剤のどんな毒性副作用も最少限になるということである。

また、本発明の酵素阻害化合物の使用は、化学療法剤により誘発される毒性から健康な細胞を保護し及び(又は)救済するように助成できる天然ピリミジン類、例えばウリジンの血漿中レベルを増大させるのに有効である。また、これらの化合物を投与して天然ピリミジン類の血漿中濃度を増大させることは、このようなピリミジン類の投与に応答する病理学的及び生理学的状態を治療するのに有効であろう。これらの治療に応答するこの種の障害には、CNS障害、パーキンソン氏病、アルツハイマー病、老人性痴呆症、睡眠障害、筋肉機能障害、肺障害、糖尿病、心不全及び心筋梗塞、肝臓病及び肝臓損傷などが含まれる。

本発明で開示する新規な化合物に他に、いくつかの既知の化合物がUrdPアーゼ阻害剤として有効であることが発見された。このような化合物のUrdPアーゼ阻害活性はこれまで知られていなかった。

また、本発明は、新規な酵素阻害化合物、例えば5-(フェニルセレニル)ウラシル及び5-(フェニルチオ)ウラシルの合成を意図する。

#### 発明の詳細な説明

本発明は、酵素のジヒドロウラシルデヒドロゲナーゼ(DHUDアーゼ)又はウリジンホスホリラーゼ(UrdPアーゼ)の活性を阻害させるのに有効な新規な化合物に関する。これらの化合物は、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するために、DHUDアーゼ又はUrdPアーゼにより分解される化学療法剤の投与を伴う化学療法プログラムと併用して使用することができる。本発明の化合物は、DHUDアーゼ又はUrdPアーゼの活性を阻害させることによって、DHUDアーゼ又はUrdPアーゼによる化学療法剤の分解を遅延させ又は防止させるのに有効である。このために化学療法剤の濃度及び半減期が増大し、しかして化学療法剤の効能が増大することになる。さらに、化学療法剤の分解を遅延させ又は防止させることによって、化学療法剤の毒性の恐れが高い異化代謝産物のレベルが相当に低下し、

10

20

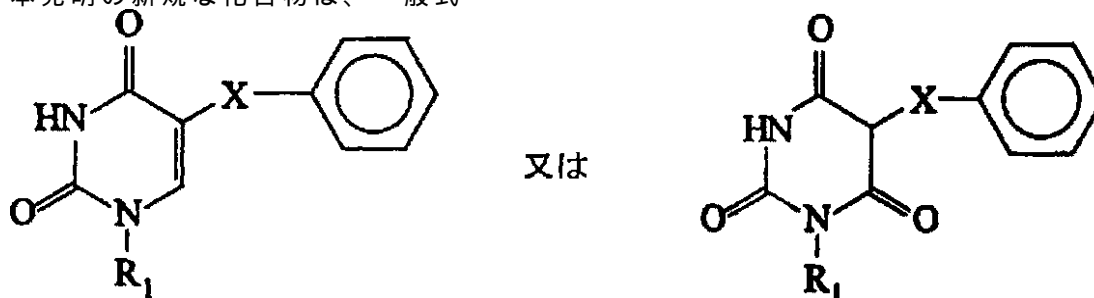
30

40

50

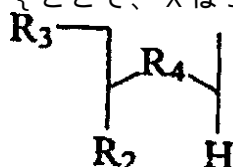
多くの化学療法剤と関連する毒性副作用が低下される。また、本発明のDHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤は、天然ピリミジン類（例えば、ウリジン、シチジン、ウラシル及びチミジン）の細胞内レベルを増大させることができ、ピリミジン類及びそれらのヌクレオチドの投与が有効であることが知られている病理学的及び生理学的障害を治療するのに使用することができる。

本発明の新規な化合物は、一般式



10

{ ここで、XはS又はSeであり、 $R_1$ はH又は一般式



20

(ここで、 $R_2$ はH、 $\text{CH}_2\text{OH}$ 又は $\text{CH}_2\text{NH}_2$ であり、 $R_3$ はOH、 $\text{NH}_2$ 又は $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ であり、 $R_4$ はO、S又は $\text{CH}_2$ である)

を有するアシクロ末端である。}

によって表わされる。

DHUDアーゼを阻害するのに有効である上記の一般式を有する好ましい化合物の例としては、5 - (フェニルセレニル)ウラシル (PSU)、5 - (フェニルチオ)ウラシル (PTU)、5 - (フェニルセレニル)バルビツル酸及び5 - (フェニルチオ)バルビツル酸が含まれる。

UrdPアーゼの阻害剤として有効である上記の一般式を有する好ましい化合物の例としては、5 - (フェニルセレニル)アシクロウリジン類及び5 - (フェニルチオ)アシクロウリジン類、例えばそれぞれ1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルセレニル)ウラシル (PSAU) 及び1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルチオ)ウラシル (PTAU) が含まれる。上記の一般式を有するその他の好ましいUrdPアーゼの阻害剤の例としては、1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルセレニル)バルビツル酸及び1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルチオ)バルビツル酸が挙げられる。

30

上記の一般式によって表される新規な化合物の他に、以前から知られた化合物がUrdPアーゼを阻害することが発見された。このような化合物として、5 - (フェニルセレニル)ウリジン、5 - (フェニルセレニル) - 2' - デオキシウリジン、1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 6 - (フェニルセレニル)ウリジン、5 - (フェニルチオ)ウリジン、5 - (フェニルチオ - 2' - デオキシウリジン)及び1 - [(2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 6 - (フェニルチオ)ウリジンが含まれる。

40

上記したように、多くの有用な化学療法剤は、DHUDアーゼ及びUrdPアーゼのような酵素によって迅速に異化される。これらの化学療法剤の迅速な分解は、このような療法剤の半減期が短くなるのでそれらの使用を伴う治療の効能を明らかに低下させる。また、これらの化合物の迅速な分解は、多くの場合に宿主組織に対して毒性となり得る異化代謝産物を生じさせる。本発明は、本発明の新規な化合物及びその他の酵素阻害化合物を種々の化学療法剤と同時に投与し又は逐次的に投与することによって化学療法プログラムの有効性を高め得ることを認識するものである。本発明の化合物は、酵素であるDHUDアーゼ又はUrdPアーゼを阻害させることによって、化学療法剤を長期間にわたって患者に利用できるように

50



し且つ毒性の可能性のある異化代謝産物の生成を最少限にし又は防止させるのに有効である。

本発明の酵素阻害化合物は、癌やウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するのに有効な広範な種類の化学療法剤と併用することができる。これらの化合物は、一般に、ピリミジン化合物、例えばピリミジン核塩基、ピリミジンヌクレオシド及びこのような化合物のプロドラッグである。当業者ならば、その効能を本発明の酵素阻害化合物によって高めることができる多くの化学療法剤を容易に認識できるであろう。

その有効性を本発明の酵素阻害剤によって高めることができるピリミジン塩基及びピリミジンヌクレオシドの例としては、3' - アジド - 3' - デオキシチミジン、3' - フルオル - 3' - デオキシチミジン、2',3' - ジデオキシシチジン - 2' - エン、3' - デオキシチミジン - 2' - エン、3' - アジド - 2',3' - ジデオキシウリジン、2',3' - ジデオキシ - 5 - フルオル - 3' - チアシチジン、2',3' - ジデオキシ - 3' - チアシチジン、5 - フルオル - 2',3' - ジデオキシシチジン、5 - フルオルウラシル、5 - フルオル - 2' - デオキシウリジン並びにこれらのヘテロ二量体及びこれらのエナンチオマーが挙げられる。また、本発明の酵素阻害剤によって高めることができるその他のピリミジン塩基及びピリミジンヌクレオシドには、ピリミジン核塩基類似体のプロドラッグがある。このようなプロドラッグの例は、1 - (2 - テトラヒドロフリル) - 5 - フルオルウラシル、5 - フルオルシトシン、5' - デオキシ - 5 - フルオルウリジン及び1 - エトキシメチル - 5 - フルオルウラシルである。その他の好適なプロドラッグは、大阪の大鵬薬品(株)から商品名UFTとして市販されているものである。これは、1 - (2 - テトラヒドロフリル) - 5 - フルオルウラシルとウラシルの混合物である。

また、本発明の酵素阻害化合物は患者に投与され且つ移植された細菌又は菌類遺伝子を介して細胞内で利用できる細菌又は菌類酵素によって有用な化学療法剤(例えば、5 - フルオルウラシル)に脱アミンすることができる5 - フルオルシトシンのようなプロドラッグと共に使用できることが注目される。

特に、DHUDアーゼ阻害剤は、種々のピリミジン核塩基類似体(例えば、5 - FUra)又はピリミジン核塩基類似体のプロドラッグ(例えば、1 - (2 - テトラヒドロフリル) - 5 - フルオルウラシル、5 - フルオルシトシン、5' - デオキシ - 5 - フルオルウリジン及び1 - エトキシメチル - 5 - フルオルウラシル)の異化作用を防止し又は遅延させるのに有効である。また、このような阻害剤は、5 - FUra及びそのプロドラッグ(例えば、フルオル - アラニン及びその胆汁酸抱合体)の毒性異化代謝産物から生じる毒性(心臓毒、神経毒、肝臓毒及び胆汁鬱滞)を予防し又は最少限にさせる。また、DHUDアーゼ阻害剤は、アラニン及びその異化代謝産物の産生の増大により生じるピリミジン塩基異化作用の遺伝した障害の症状を予防し治療するのに有効であろう。このような障害には、高アラニン血症、高カルノシン尿症及びアラニン尿症がある。

また、UrdPアーゼ阻害剤は、特に、癌を治療するのに又はウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するのに使用される化学療法剤の毒性を防止し又は最少限にさせるため血漿中ウリジンレベルを増大させるのに有用である。この血漿中ウリジンレベルの増大は有用である。何故ならば、ピリミジン核塩基及びピリミジンヌクレオシドのような多くの化学療法剤の投与と関連する毒性から正常な又は未感染の宿主細胞を予防し又は救済するためには適当な血漿中ウリジンレベルが有効であるからである。また、UrdPアーゼ阻害剤は、血漿中ウリジンレベル及び(又は)その他の天然ピリミジンの血漿中レベルを増大させるために単独で使用する事ができる。或いは、それらは、ウリジンのような天然ピリミジン類の血漿中レベルを増大させるために、ウリジン、シチジン、ウリジン又はシチジンのプロドラッグ、ウリジン又はシチジンヌクレオシドのプロドラッグと併用することができる。さらに、UrdPアーゼ阻害剤は、種々の抗癌化学療法剤並びにウイルス、菌類、細菌及び寄生生物感染症を治療するのに使用される化学療法剤のUrdPアーゼによる分解を防止し又は遅延させる。さらに、UrdPアーゼ阻害剤は、画像化能力を高めるための放射線感受性薬の分解を防止し又は遅延させることができる。

本発明の他の観点からみれば、前記したタイプのDHUDアーゼ及びUrdPアーゼの阻害剤は、

それ自体で、ウリジン、シチジン、ウラシル及びチミジンのような天然ピリミジンのレベルを増大させるのに有用である。このような処置は、ピリミジン類（例えば、シチジン、ウリジン及びそれらのヌクレオチド）の投与が有用である病理学的及び生理学的障害を治療するのに有効である。このような障害には、CNS障害、パーキンソン氏病、アルツハイマー病、老人性痴呆症、睡眠障害、筋肉機能障害、肺障害、糖尿病、心不全及び心筋梗塞、肝臓病及び肝臓損傷などが含まれる。このような障害を治療するための血漿中ウリジンレベルの増大に関するさらなる詳細は、同時継続中の米国特許出願第106,225号（1993年8月13日）に包含されている。その内容をここで引用することにより本明細書に含めるものとする。

米国特許第5,077,280号及び同5,141,943号（その内容をここで引用することにより本明細書に含めるものとする）は、その他のUrdPアーゼ阻害剤の種々の用途を記載している。これらの特許に記載されたUrdPアーゼ阻害剤の用途は、本明細書に記載するUrdPアーゼ阻害剤にも適用することができる。

本発明の酵素阻害化合物は、アシクロウリジン及びベンジルバルビツレートのような既知の酵素阻害剤よりも脂肪親和性であることがわかった。その結果、これらの化合物の有益な酵素阻害効果は、体内のピリミジン異化作用の主要部位である肝臓に一層迅速に向けることができる。また、これらの化合物の脂肪親和性はそれらを患者の体内に長時間にわたって活性のまま留めさせることができる。

化学療法剤の好ましい薬量は、当業者には周知である。好ましい薬量は、患者の年齢、体重及び健康並びに治療すべき疾病を含めて多くの因子に依存して変わる。化学療法剤の効力とその潜在的な毒性が、特定の化学療法剤の薬量に影響する別の因子である。例えば、AZTはAIDSを治療するのに使用される。この薬剤は、1日当たり体重1kg当たり約10mg～約100mgの間の量で投与したときにウイルスの複製を阻害させるのに有効である。このような薬量単位は、合計で約0.7～約7gの化合物が体重約70kgの患者に24時間投与されるように使用されるものである。例えば、ピリミジンヌクレオシドAZTを投与するための現在認められているプロトコルの一つは、1日当たり3回200mgのAZTを投与することを要求する。その他のピリミジン核塩基及びピリミジンヌクレオシドの好ましい治療用薬量は、当業者には周知である。

上記したタイプの化学療法剤は、本発明の酵素阻害化合物と同時に投与し又は逐次的に投与することができる。本発明の好ましい酵素阻害化合物の好ましい薬量は、約5～500mg/kg/日の範囲内にある。好ましい薬量は約200mg/kg/日である。当業者ならば、所定の患者に投与すべき化学療法剤の薬量とその患者に投与される酵素阻害化合物の効能によって影響され得ることを十分に理解するであろう。

上記した併用療法の薬量プログラムは、明らかに、最適な治療応答を提供するように調節することができる。例えば、いくつかに分けた薬量を毎日投与し或いは薬量を治療状況の緊急性により指示されたときに相応的に減少させることができる。

本発明により提供される決定的な実際の利点は、活性化化合物が任意の便利な方法で、例えば経口、静脈内、筋肉内、皮下経路で又は局所輸液によって投与できることである。

製薬組成物は、所望の化学療法剤を上で開示したタイプの所望のDHUDアーゼ又はUrdPアーゼの阻害剤と混合することにより調製することができる。

上で開示した活性化化合物は、例えば、不活性希釈剤又は同化性可食性キャリアーと共に経口投与することができる。また、それは硬質又は軟質外殻のゼラチンカプセル内に封入することができ、又は錠剤に圧縮し、又は食品中に直接配合することができる。経口投与による治療のためには、活性化化合物は補助剤と混合し、摂取可能な錠剤、口内錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウエハースなどの形態で 사용할ことができる。このような製薬上有用な組成物中の活性化化合物の量は、好適な薬量が得られるようなものである。

錠剤、トローチ、ピル、カプセルなどの形態の製薬組成物は、下記の物質も含有することができる。例えば、トラガントゴム、アカシアゴム、コーンスターチ又はゼラチンのような結合剤、例えばりん酸カルシウムのような補助剤、例えばコーンスターチ、ジャガイモ

10

20

30

40

50

澱粉、アルギン酸などのような崩壊剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような滑剤、例えば蔗糖、ラクトース又はサッカリンのような甘味剤、例えばペパーミントオイル、ウインターグリーンオイルのような香料又はチェリーフレーバーなどである。薬量単位の形態がカプセルであるときは、そらは、上記のタイプの物質の他に、液状キャリアを含有することができる。種々のその他の物質も被覆として又は薬量単位の物理的形態を変えるために存在できる。例えば、錠剤、ピル又はカプセルは、シェラック、糖又はその両方で被覆することができる。シロップ又はエリキシルは、活性化合物、甘味剤としての蔗糖、保存剤としてのメチル及びプロピルパラベン、染料及びチェリー又はオレンジフレーバーのような香料を含有することができる。もちろん、任意の薬量単位の形態を調製するのに使用されるどんな物質も、使用される量において製薬上純粋であり且つ実質上非毒性であるべきである。さらに、活性化合物は、除放性の製剤及び処方物に配合することができる。

10

また、活性化合物は、非経口的に又は腹腔内経路で投与される製薬組成物の形態で調製することができる。遊離の塩基又は製薬上許容できる塩類としての化合物の溶液は、界面活性剤、例えばヒドロキシプロピルセルロースを適当に混合した水中で調製することができる。また、分散液は、グリセリン、液状ポリエチレングリコール、これらの混合物中で、さらにオイル中で調製することができる。通常の貯蔵及び使用条件下では、これらの製剤は、微生物の増殖を抑制するために保存剤を含有する。

注射用に好適な製薬形態には、無菌の水溶液又は分散液並びに無菌の水溶液又は分散液を即座に調製するための無菌の粉末が含まれる。好適な注射用製薬形態は無菌でなければならない、また易注射性が存在する程度に流体状でなければならない。さらに、これらは、調製及び貯蔵条件下で安定でなければならないし、また細菌や菌類のような微生物の汚染作用に対して保存されなければならない。キャリアーは、例えば、水、エタノール、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールや植物油を含有する溶媒又は分散媒であってよい。適切な流動性は、例えば、分散液の場合には所要の粒度を維持することによって、また界面活性剤を使用することによって保持することができる。微生物の作用を防止するために種々の抗細菌剤及び抗菌剤（例えば、パラベン、クロルブタノール、ソルビン酸、チメロサルなど）を使用することができる。多くの場合に、等張剤、例えば糖類又は塩化ナトリウムを含有することが好ましい。注射用組成物の持続した吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えばアルミニウムモノステアレート及びゼラチンを組成物中に使用することによってもたすことができる。

20

30

無菌の注射用溶液は、活性化合物を所要量で適当な溶媒中に上で列挙した種々のその他の成分と共に配合し、要すれば次いで

## 過渡

滅菌を行うことにより調製することができる。分散液は、一般に、基本分散媒及び前記したタイプの所要の追加成分を含有する無菌のビヒクルに種々の無菌の活性成分を配合することによって調製することができる。無菌の注射用溶液を調製するのに使用される無菌の粉末は、真空乾燥及び凍結乾燥によって調製することができる。

用語“製薬上許容できるキャリアー”とは、本明細書で使用するときは、任意の全ての溶媒、分散媒、被覆、抗細菌剤、抗菌剤、等張剤、吸収遅延剤などを包含するものとする。製薬上許容できる製剤のためにこれらの媒体及び剤を使用することは当業者には周知のことである。

40

5 - (フェニルセレニル)ウラシル (PSU)、5 - (フェニルチオ)ウラシル (PTU) 及びそれらの誘導体は、多段合成方法に従って製造することができる。好ましい出発化合物は5 - ブロムウラシルであって、これを過剰の $\text{POCl}_3$ と反応させて2,4 - ジクロル - 5 - ブロムピリジンを生成させる。この化合物を好ましくはトルエン中で室温でナトリウムベンジレートで処理すると、5 - ブロム - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジンが生成する。この5 - ピリミジン誘導体を乾燥THF中で - 80 以下で $n\text{-BuLi}$  (1.1当量) によりリチウム化するとC - 5リチウム化合物が得られる。この化合物は、ジフェニルジセレニド (PSUを得るため) 又はジフェニルスルフィド (PTUを得るため) とほぼ - 75 で約1/2

50

時間反応させることができる。反応混合物を氷酢酸AcOHにより急冷し、次いでシリカゲルでクロマトグラフィーすると、相当する5 - ヘテラフェニル - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジンが70 ~ 75%の収率で得られる。保護基のベンジル基は乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中で室温で沃化トリメチルシリル(2,4当量)に暴露すると容易に解裂され、所望の5 - (ヘテラフェニル)ウラシル、PSU又はPTUを78 ~ 80%の収率で与える。

5 - フェニルセレニル非環式ヌクレオシドは、乾燥ピリジン中で室温以上の温度で、好ましくは約60 °で塩化フェニルセレニルを非環式ヌクレオシドに直接親電子付加させることによって具合よく製造することができる。このような合成法は、シナジ他によりJ. Med. Chem., 29:1293 - 1295 (1986)に記載されている。その開示はここで引用することにより本明細書に含めるものとする。白色結晶化合物として得られる親電子付加の生成物は、クロマトグラフィーによって容易に精製される。

10

#### 実施例

これらの化合物の合成並びにそれらの酵素阻害剤としての有用性を以下の実施例において詳細に説明する。

#### 例 1

5 - (フェニルセレニル) - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジンの合成

5 - ブロム - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジン(742mg、2ミリモル)を乾燥THF(10mL)に溶解してなる溶液に - 80 °でn - BuLi(1.6M、1.5mL、2.4ミリモル)を窒素雰囲気下に攪拌しながら滴下した。混合物を15分間攪拌した後、THF(10mL)に溶解したジフェニルジセレニド(1.25g、4ミリモル)を添加し、温度を - 70 °以下に保持した。その温度で1時間後に、反応混合物を氷酢酸AcOH(0.5mL)により急冷し、溶液を室温まで加温した。溶液を真空乾燥により濃縮し、残留物を、溶離剤としてヘキサン:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(6:4)を使用するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して白色固体を得た。これをEtOHから結晶化して5 - (フェニルセレニル) - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジンの白色針状物(778mg、87%)を得た。Mp = 66 ~ 68 °。

20

<sup>1</sup>H - NMR(CDCl<sub>3</sub>): 5.38及び5.42(2s, 4H, CH<sub>2</sub>); 7.23 - 7.49(m, 15H, 2Ph及びSePh); 8.26(s, 1H, 6 - H)

分析(C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Se): C、H及びNの存在

#### 例 2

5 - フェニルセレニルウラシル(PSU)の合成

30

5 - (フェニルセレニル) - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジン(447mg、1ミリモル)を乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(10mL)に溶解してなる溶液に室温で無水条件下で沃化トリメチルシリル(520mg、2.6ミリモル)を添加した。黄色溶液を1時間攪拌した。過剰の沃化トリメチルシリルを分解し、反応中に生成した中間体トリメチルシリルエーテルをMeOHを添加して加水分解した。沈殿を

濾過

し、固体をEtOHから結晶化して純PSU(210mg、78%)を得た。Mp = 249 ~ 251 °。

<sup>1</sup>H - NMR(DMSO - d<sub>6</sub>): 7.16 - 7.37(m, 5H, SePh); 7.93(s, 1H, 6 - H); 11.28及び11.39(2s, 2H, 2NH, D<sub>2</sub>O交換可能)

分析(C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Se): C、H及びNの存在

40

#### 例 3

5 - (フェニルチオ) - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジンの合成

例2に記載のようにして5 - ブロム - 2,4 - ビス(ベンジルオキシ)ピリミジン(742mg、2ミリモル)を順次にn - BuLi(1.6M、15mL、2.4ミリモル)及びジフェニルジスルフィド(872mg、4ミリモル)と反応させて標記の化合物(630mg、79%)を得た。Mp = 61 ~ 63 °。

<sup>1</sup>H - NMR(CDCl<sub>3</sub>): 5.41及び5.45(2s, 4H, CH<sub>2</sub>); 7.06 - 7.48(m, 15H, 2Ph及びSPh); 8.37(s, 1H, 6 - H)

分析(C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S): C、H及びNの存在

#### 例 4

50

## 5 - (フェニルチオ)ウラシル (PTU) の合成

例 2 に記載のようにして 5 - (フェニルチオ) - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジン (400mg、1 ミリモル) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15mL) 中で沃化トリメチルシリル (520mg、2.6 ミリモル) と反応させて 5 - フェニルチオウラシル (160mg、72%) を得た。Mp = 269 ~ 271 (文献<sup>37</sup>、Mp = 272 )。

$^1\text{H}$  - NMR (DMSO -  $d_6$ ) : 7.04 - 7.25 (m, 5H, SPh) ; 7.86 (s, 1H, 6 - H) ; 11.32 及び 11.41 (2s, 2H, 2NH,  $\text{D}_2\text{O}$  交換可能)

## 例 5

## 6 - (フェニルセレニル) - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジンの合成

例 3 に記載のようにして 6 - ブロム - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジン (742mg、2 ミリモル) を順次に n - BuLi (1.6M、15mL、2.4 ミリモル) 及びジフェニルジセレニド (1.25g、4 ミリモル) と反応させて標記の化合物 (590mg、66%) を得た。Mp = 97 ~ 99

$^1\text{H}$  - NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.28 及び 5.39 (2s, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 6.00 (s, 1H, 5 - H) ; 7.26 - 7.74 (m, 15H, 2Ph 及び SePh)

分析 ( $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Se}$ ) : C、H 及び N の存在

## 例 6

## 6 - (フェニルセレニル)ウラシルの合成

例 2 に記載のようにして 6 - (フェニルセレニル) - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジン (447mg、1 ミリモル) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15mL) 中で沃化トリメチルシリル (520mg、2.6 ミリモル) と反応させて所望の化合物 (215mg、80%) を得た。Mp = 238 ~ 240

$^1\text{H}$  - NMR (DMSO -  $d_6$ ) : 4.66 (s, 1H, 5 - H) ; 7.43 - 7.70 (m, 5H, SePh) ; 11.16 及び 11.28 (2s, 2H, 2N,  $\text{D}_2\text{O}$  交換可能)

分析 ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{Se}$ ) : C、H 及び N の存在

## 例 7

## 6 - (フェニルチオ) - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジンの合成

例 3 に記載のようにして 6 - ブロム - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジン (742mg、2 ミリモル) を順次に n - BuLi (1.6M、15mL、2.4 ミリモル) 及びジフェニルジスルフィド (872mg、4 ミリモル) と反応させて標記の化合物 (610mg、76%) を得た。Mp = 102 ~ 104

$^1\text{H}$  - NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.32 及び 5.40 (2s, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 5.83 (s, 1H, 5 - H) ; 7.28 - 7.60 (m, 15H, 2Ph 及び SPh)

分析 ( $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ) : C、H 及び N の存在

## 例 8

## 6 - (フェニルチオ)ウラシルの合成

例 2 に記載のようにして 6 - (フェニルチオ) - 2,4 - ビス (ベンジルオキシ) ピリミジン (400mg、1 ミリモル) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15mL) 中で沃化トリメチルシリル (520mg、2.6 ミリモル) と反応させて 6 - (フェニルチオ)ウラシル (190mg、86%) を得た。Mp = 266 ~ 267

$^1\text{H}$  - NMR (DMSO -  $d_6$ ) : 7.04 - 7.25 (m, 5H, SPh) ; 7.86 (s, 1H, 6 - H) ; 11.32 及び 11.41 (2s, 2H, 2NH,  $\text{D}_2\text{O}$  交換可能)

分析 ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ) : C、H 及び N の存在

## 例 9

## 1 - [ (2 - ヒドロキシエトキシ)メチル] - 5 - (フェニルセレニル)ウラシル (PSAU) の合成

塩化フェニルセレニル (1.14g、6 ミリモル) を乾燥ピリジン (15mL) に溶解し、次いで 1 - [ (2 - ヒドロキシエトキシ)メチル]ウラシル (1.0g、5.37 ミリモル) を添加した。反応混合物を 60 で 24 時間攪拌した。混合物を室温まで冷却し、次いで真空下に濃縮してピリジンを除去した。残留物をベンゼン (2 x 10mL)、次いで無水 EtOH (10mL) と共沸させた。残留物をシリカゲルカラムに吸着させ、まず  $\text{CHCl}_3$  により溶離して残留ジフェニ

10

20

30

40

50

ルジセレニドを除去した。次いで、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  (95:5) により溶離して生成物を得た。TL C純画分を集め、濃縮した。固体残留物を無水EtOHから再結晶して所望の化合物を白色結晶固体 (1.4g、76%) として得た。Mp = 118 ~ 120 。

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ) : 1.60 (s, 1H, OH,  $\text{D}_2\text{O}$ 変換可能) ; 3.68 - 3.74 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ) ; 5.17 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ) ; 7.26 - 7.57 (m, 6H, SePh及びC - 6H) ; 8.37 (s, 1H, NH,  $\text{D}_2\text{O}$ 交換可能) 分析 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{Se}$ ) : C、H 及び N の存在

#### 例 10

1 - (エトキシメチル) - 5 - (フェニルセレニル) ウラシルの合成

例 9 に記載のように、ピリジン (25mL) 中で塩化フェニルセレニル (1.15g、6 ミリモル) を 1 - (エトキシメチル) ウラシル (850mg、5 ミリモル) と反応させて標記の化合物 (1.20g、74%) を得た。

Mp = 143 ~ 145 。

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.20 (t, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ) ; 3.57 (q, 2H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ) ; 5.08 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ) ; 7.22 - 7.53 (m, 5H, SePh及びC - 6H) ; 8.94 (s, 1H, NH,  $\text{D}_2\text{O}$ 交換可能)

分析 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{Se}$ ) : C、H 及び N の存在

本発明の新規な酵素阻害化合物並びにその他の有用な酵素阻害化合物をこれらがDHUDアーゼ及びUrdPアーゼを阻害する能力について評価した。さらに、これら化合物の宿主組織に対する毒性も評価した。行った試験並びに得られたデータを以下の例において検討し、表に示す。

#### 例 11

マウスの肝臓を体重が20 ~ 24gの雌のスイスアルピノ (CD - 1) マウス (チャールズ・リバー・ラボラトリーズ社、ボストン、MA) から得た。マウスを頸部脱臼によって犠牲にし、肝臓を切除し、秤量し、細断し、氷冷 (3:1、v/w) 緩衝液 [20mMの燐酸カリウム、pH8.0、1mMのジチオトレイト (DTT)、1mMのEDTA] 中でポリトロンホモジナイザー (ブリンクマン・インスツルメント社、ウエストバリー、NJ) を使用してホモジネートした。ホモジネート物を105,000 × Gで4 で1時間遠心分離した。上層液 (シトゾル) を集め、酵素源として使用した。

以下に記載の全ての試験は、酵素活性が時間及び酵素濃度に関して比例するような条件で37 で実施した。各阻害剤について、5 個の濃度を8 ~ 900  $\mu\text{M}$ の範囲で使用した。反応は抽出物を添加して開始させ、水浴内で2分間沸騰させ、次いで冷蔵することにより停止させた。沈殿したたんぱく質を遠心分離によって除去した。基質をTLCによって上層液中の生成物から分離し、スポットの放射能をベルトホールDLB - 2821自動TLC - 線形分析器を使用して%基準で決定した。

ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼ (dThdPアーゼ及びUrdPアーゼ)

前記したようにそれぞれのヌクレオシドからの核塩基の生成を追跡することによってヌクレオシドの解裂を同位体を使用して測定した。反応混合物は、50  $\mu\text{L}$  の最終容積中に20mMの燐酸カリウム (pH8)、1mMのEDTA、1mMのDTT、1mMの [2 -  $^{14}\text{C}$ ] ウリジン又は [2 -  $^{14}\text{C}$ ] チミジン (56Ci/モル) 及び25  $\mu\text{L}$  のシトゾルを含有した。インキュベーションは30分間後に停止した。ウリジン及びチミジンを、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}$  (90:5:5 v/v/v) により展開させるシリカゲルTLCプレート上でそれぞれの核塩基から分離した。Rf値はウリジンで0.07、ウラシルで0.43、チミジンで0.14、チミンで0.62であった。

DHUDアーゼ

この酵素の活性を前記のように [6 -  $^{14}\text{C}$ ] ウラシルからのジヒドロウラシル、カルバミル - アラニン及び - アラニンの生成を追跡することによって測定した。反応混合物は、50  $\mu\text{L}$  の最終容積中に20mMの燐酸カリウム (pH8)、1.0mMのEDTA、2mMのDTT、5mMの  $\text{MgCl}_2$ 、25  $\mu\text{M}$  の [6 -  $^{14}\text{C}$ ] ウラシル (56Ci/モル)、100  $\mu\text{M}$  のNADPH及び25  $\mu\text{L}$  のシトゾルを含有した。インキュベーションは15分間後に停止した。ウラシル、ジヒドロウラシル、カルバミル - アラニン及び - アラニンを、n - BuOH:H<sub>2</sub>O:アンモニア (90:45:15 v/v/v) 混合物の上部相に展開させるセルロースTLCプレート上で分離した。Rf値は、ジヒドロウラシルで0.46、ウラシルで0.23、 - アラニン及びカルバミル - アラニンで

10

20

30

40

50

0.09であった。DHUDアーゼ活性は、生成物のジヒドロウラシル、カルバミル - - アラニン及び - アラニンの合計として決定された。

#### 速度論的研究

ウリジン（1mM）及び50～900nMの範囲の5個の異なった阻害剤濃度を使用して見掛 $K_i$ 値の決定及びその有意差検定を行った。見掛 $K_i$ 値は、最小二乗法による当てはめを用いるコンピュータプログラムによってデータのディクソンのプロット（ $1/v$ 対 $[I]$ ）から評価した。見掛 $K_i$ 値は、次の方程式

$$\text{見掛 } K_i = K_{is} (1 + [S]/K_m) / 1 + ([S]/K_m) (K_{is}/K_{ii})$$

（ここで、 $K_{is}$ 及び $K_{ii}$ は、ラインウィーバー・パークのプロット対 $[I]$ のそれぞれの勾配及びインターセプトの再プロットから概算される阻害定数である）

によって $K_i$ 値と関係する。ある化合物がウリジンに関して競争的阻害剤であるならば、 $K_{ii} = K_{is}$  及び $K_{is} = K_i$ である。従って、見掛 $K_i = K_i (1 + [S]/K_m)$ である。しかして、ウリジンについて66 $\mu$ Mの $K_m$ 値を有するマウスの肝臓からのUrdPアーゼについては、1mMのウリジン濃度で測定される競争的阻害剤の見掛 $K_i$ 値はそれぞれの $K_i$ 値よりもほぼ16倍高い。しかし、本発明者はこの研究で使用した化合物について阻害のタイプ（競争的か、非競争的か又は競争的でないか）を特定しなかったし、またそれらが酵素に対して基質であるかどうかについては特定しなかったことを付言する。

たんぱく質の濃度は、標準物質としてウシ - グロブリンを使用するブラッドフォードの方法により分光学的に決定した。

得られたデータを下記の表1及び2に示す。

表1 マウスの肝臓から単離した酵素による種々の

#### 化合物の見掛阻害定数

阻 害 剤	酵 素（見 掛 $K_i$ , $\mu$ M $\pm$ S.D.）	
	UrdP7-ゼ	DHUD7-ゼ
5-フェニルセレンルウラシル (PSU)	205 $\pm$ 35	4.8 $\pm$ 0.6
5-(フェニルセレンル)ウリジン	4.0 $\pm$ 0.2	—
5-(フェニルセレンル)-2'-デオキシウリジン	5.5 $\pm$ 0.6	—
PSAU	3.8 $\pm$ 0.8	*
1-エトキシメチル-5-フェニルセレンルウラシル	313 $\pm$ 32	*
5-フェニルチオウラシル (PTU)	744 $\pm$ 85	5.4 $\pm$ 0.6
6-(フェニルセレンル)アシクロウリジン	19.3 $\pm$ 1.5	—
6-(フェニルセレンル)アシクロ-5-FUrd	35.0 $\pm$ 5.6	—
5-ベンジルアシクロウリジン (BAU)	3.1 $\pm$ 0.22	—

表 2 種々の種からの肝臓ウリジンホスホリラーゼ  
に対する PSAU の阻害定数 ( $K_{is}$ )

阻 害 剤	マウス 肝臓	ヒト肝臓	サル肝臓
BAU	420 ± 40	1190 ± 200	333 ± 49
PSAU	163 ± 9	340 ± 19	128 ± 14

$K_{is}$  (nMで表わす) ± 概算の標準誤差は、20mMの無機燐酸塩、30 ~ 700  $\mu$  のウリジン及び50 ~ 900nMの範囲の阻害剤濃度で測定した。

#### 例12

CD - 1 マウスにおける 1 - [ ( 2 - ヒドロキシエトキシ ) メチル ] - 5 - ( フェニルセリニル ) ウラシル ( PSAU ) の薬理学的速度

PSAUを雌のCD - 1 マウスに腹腔内注射した。種々の時間間隔で250  $\mu$  Lの全血を3匹のマウスの眼窩洞からヘパリン処理ナテルソンピペットによって集め、氷の上に置いた。次いで、全血を5分間遠心分離して血漿を分離し、これをHPLCによる分析のための準備まで - 20 の冷蔵庫に保持した。

薬理学的速度パラメーターは、SIPHAR/ベースプログラムを使用して分画モデルに独立の方法によって評価した。AUCは、データの指数関数当てはめのウェイト付けした非線形最小二乗法回帰によって生じる終端配置の勾配 ( $K$ ) を使用して時間の無限大に外挿し、二乗した計算濃度の逆数として設定したウェイト付けした二乗係数を用いて、台形則によって決定した。0.693/ $K$ からウリジンの除去半減期を計算した。全血漿クリアランス値 ( $CL$ ) は、薬量をAUC及びマウスの体重で割って計算された。ピーク血漿濃度 ( $C_{max}$ ) 値及びピーク血漿濃度に達するまでの時間 ( $T_{max}$ ) 値を実験値から求めた。ウリジンの肝臓クリアランス値 ( $CL_R$ ) は薬量をAUCで割って計算された。得られたデータを下記の表3に示す。

表 3 CD - 1 マウスにおける PSAU の薬理学的  
速度

PSAUの 薬量	$C_{max}$	AUC	CL	$Apt_{1/2}$	$ApV_d$	MRT
30mg/kg	100.0	96.91	0.310	0.7	0.331	1.282
60 mg/kg	210.0	349.00	0.173	1.4	0.356	2.275

$C_{max}$  はピーク血漿濃度 ( $\mu$  M) であり、AUCは曲線下の面積 ( $\mu$  mol  $\times$  hr/ml) であり、CLは全血漿クリアランス値 (ml/hr/kg) であり、 $Apt_{1/2}$  は除去半減期 (hr) であり、 $V_d$  は分配容積 (L/kg) であり、MRTは平均滞留時間 (hr) である。

#### 例13

CD - 1 マウスにおける血漿ウリジンの薬理学的速度に対するPSAUの効果

PSAUを雌のCD - 1 マウスに腹腔内注射した。種々の時間間隔で250  $\mu$  Lの全血を3匹のマウスの眼窩洞からヘパリン処理ナテルソンピペットによって集め、氷の上に置いた。次い



で、全血を5分間遠心分離して血漿を分離し、これをHPLCによる分析のための準備まで - 20 の冷蔵庫に保持した。例12に記載の操作に従って薬理学的速度を分析し、得られたデータを下記の表4に示す。

表 4

PSAUの 薬量	正常 濃度	C <sub>max</sub>	T <sub>max</sub>	AUC	CL	Apt <sub>1/2</sub>	ApV <sub>d</sub>	MRT
30 mg/kg	2.58	8.1	1.2	74.95	0.408	5.3	3.032	8.045
60 mg/kg	3.07	14.6	2.5	113.12	0.601	7.2	4.029	11.068

10

#### 材料

融点は、エレクトロサーマルIA8100デジタル融点測定装置で決定したが、補正しなかった。<sup>1</sup>N - NMRスペクトルは、ジェネラル・エレクトリックQE - 300 (300MHz) 分光計上に記録した。実験は、シリカゲルと蛍光指示薬を予備被覆したコダッククロマトグラムシート上で行うTLC分析を使用してモニターしたが、シリカゲルを使用するカラムクロマトグラフィー (60~200メッシュ、フィシャー・サイエンティフィック社、フェアローン、NJ) を生成物の精製のために使用した。テトラヒドロフラン (THF) はナトリウムベンゾフェノン塩から新たに蒸留した。LDA (2.0M)、n - BuLi (1.6M)、ジフェニルジセレニド、ジフェニルジスルフィド及び沃化トリメチルシリル並びにその他の化学薬品は、アルドリッチ・ケミカル社 (ミルウォーキー、WI) から購入した。微量分析は、アトランチック・マイクロラブズ社 (アトランタ、GA) において行った。[2 - <sup>14</sup>C] ウリジン (56Ci/モル)、[2 - <sup>14</sup>C] チミジン (56Ci/モル) 及び [6 - <sup>14</sup>C] ウラシル (56Ci/モル) はモラベク・バイオケミカルズ社 (ブレア、CA) から、[6 - <sup>14</sup>C] オロテート (46.9Ci/モル) はニューイングランド・ヌクッレアー・リサーチ・プロダクツ、ジュボン社 (ボストン、MA) から、シリカゲルG/W<sub>254</sub> ポリグラム、ポリエチレンイミンセルローズ300PEI/UV<sub>254</sub> 及びセルローズCEL300UVポリグラム薄層クロマトグラフィープレートはブリックマン社 (ウエストバリー、NJ) から、たんぱく質検定キットはバイオラッド・ラボラトリーズ社 (リッチモンド、CA) から得た。その他の化学薬品の全部は、シグマ社 (セントルイス、MO) から得た。

20

30

種々の変更、付加及び置換が本発明の範囲から出ることなく可能であることは明らかである。例えば、本発明はその他の化学療法剤又は生物学的応答を変更させる薬剤と組合せて使用できることが認められる。例えば、本発明の併用療法は、骨髄刺激因子、例えば顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM - CFSS)、その他のコロニー刺激因子、エリスロポイエチン (EPO) 及び造血活性を刺激するその他の化合物の投与と組合せて使用することができる。(GM - CFSS活性の詳細な検討については、ハンマー他、Antimicrobial Agents and Chemotherapy 31:1046 - 1050 (1987) を参照されたい。同様に、本発明の併用療法は、免疫系を刺激する努力と、例えばインターフェロン (例えば、 $\alpha$  - インターフェロン) 又はその他のリンホカインの投与と組合せて実施することができる。

40

前記した参考文献の全ては、ここで引用することによって本明細書に含めるものとする。

---

フロントページの続き
(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

F I

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

(74)代理人

弁理士 倉内 基弘

(74)代理人

弁理士 風間 弘志

(72)発明者 エル クーニ, マームード エイチ.

アメリカ合衆国 3 5 2 1 3 1 8 3 2 アラバマ, マウント ブルック, ラウンド フォレスト  
ドライブ 4 6 3 2

(72)発明者 ナーギーブ, ファードス エヌ. エム.

アメリカ合衆国 3 5 2 1 3 1 8 3 2 アラバマ, マウント ブルック, ラウンド フォレスト  
ドライブ 4 6 3 2

(72)発明者 シナージ, レイモンド エフ.

アメリカ合衆国 3 0 0 3 3 ジョージア, アトランタ, リージェンシー ウォーク ドライブ  
1 5 2 4

審査官 内藤 伸一