

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3981407号
(P3981407)

(45) 発行日 平成19年9月26日(2007.9.26)

(24) 登録日 平成19年7月6日(2007.7.6)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 473/04 (2006.01)

C O 7 D 473/04

C O 7 D 473/06 (2006.01)

C O 7 D 473/06

C O 7 D 473/18 (2006.01)

C O 7 D 473/18

C O 7 D 473/40 (2006.01)

C O 7 D 473/40

A 6 1 K 31/52 (2006.01)

A 6 1 K 31/52

請求項の数 13 (全 36 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-506694
 (86) (22) 出願日 平成7年7月31日(1995.7.31)
 (65) 公表番号 特表平10-508288
 (43) 公表日 平成10年8月18日(1998.8.18)
 (86) 国際出願番号 PCT/US1995/009702
 (87) 国際公開番号 W01996/004281
 (87) 国際公開日 平成8年2月15日(1996.2.15)
 審査請求日 平成14年5月21日(2002.5.21)
 (31) 優先権主張番号 283,953
 (32) 優先日 平成6年8月1日(1994.8.1)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者

アメリカ合衆国
 アメリカ合衆国、メリーランド州 208
 92-9902、ベセスダ、ナショナル
 インスティテューツ オヴ ヘルス、オフ
 イス オヴ テクノロジー トランスファ
 ー、ボックス オーティーティー (番地な
 し)

(73) 特許権者

アーチ デヴェロップメント コーポレー
 ション
 アメリカ合衆国、イリノイ州 60637
 、シカゴ、イースト フィフティーエイト
 ストリート、1101、ザ ユニヴァー
 シティ オヴ シカゴ

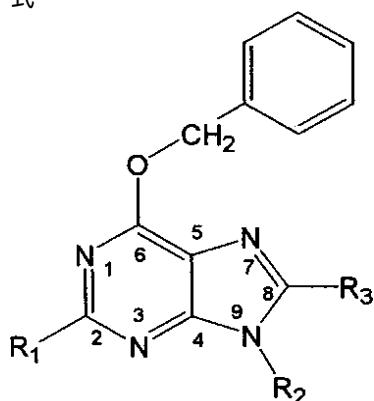
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 置換されたO▲上6▼ーベンジルグアニン

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式



〔式中、 R_1 はアミノ、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノおよび $C_1 - C_4$ アシルアミノからなる群より選ばれる置換基、 R_2 は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノアルキル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、 $C_1 - C_4$ カルバモイルアルキル、 $C_1 - C_4$ ピバロイルアルキル、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシカルボニルアルキル、リボース、2

’ - デオキシリボース、 $C_1 - C_4$ カルボキシアルキルの共役酸の形態およびナトリウム塩としての $C_1 - C_4$ カルボキシアルキルのカルボキシレートアニオンからなる群より選ばれる置換基、ならびに R_3 はハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、チオール、 $C_1 - C_4$ アルキルチオ、トリフルオロメチルチオ、 $C_1 - C_4$ チオアシル、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、トリフルオロメトキシ、メタンスルホニルオキシ、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、 $C_1 - C_4$ アシルオキシ、アミノ、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノ、トリフルオロメチルアミノ、ジトリフルオロメチルアミノ、アミノメタンスルホニル、アミノ $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、アミノトリフルオロメチルカルボニル、ホルミルアミノ、ニトロ、ニトロソ、 $C_1 - C_4$ アルキルジアゾ、 $C_5 - C_6$ アリールジアゾ、トリフルオロメチル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、シアノ、 $C_1 - C_4$ アルキルオキシカルボニル、 $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、フェニル、フェニルカルボニル、ホルミル、 $C_1 - C_4$ アルコキシメチル、フェノキシメチル、 $C_2 - C_4$ ビニル、 $C_2 - C_4$ エチニルおよび SO_nR' (n は0、1、2または3であり、 R' は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、アミノまたはフェニルである) からなる群より選ばれる置換基である。) で表される化合物。

10

【請求項2】

R_1 がアミノ、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノおよび $C_1 - C_4$ アルキルカルボニルアミノからなる群より選ばれ、 R_2 が水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキルおよび $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキルからなる群より選ばれ、ならびに R_3 がアミノ、ハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、ヒドロキシおよびトリフルオロメチルからなる群より選ばれる請求の範囲第1項記載の化合物。

20

【請求項3】

R_1 がアミノ、ヒドロキシ、メチルアミノ、ジメチルアミノおよびアセチルアミノからなる群より選ばれ、 R_2 が水素原子、メチルおよびピバロイルオキシメチルからなる群より選ばれ、ならびに R_3 がアミノ、ブロモ、メチル、ヒドロキシおよびトリフルオロメチルからなる群より選ばれる請求の範囲第2項記載の化合物。

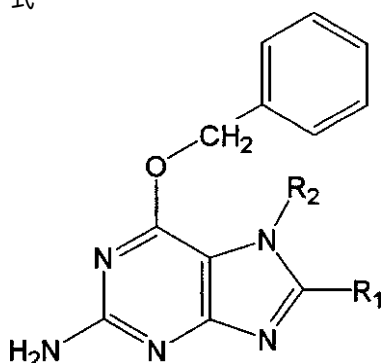
【請求項4】

該化合物が8 - アミノ - O^6 - ベンジルグアニン、8 - メチル - O^6 - ベンジルグアニン、8 - ヒドロキシ - O^6 - ベンジルグアニン、8 - ブロモ - O^6 - ベンジルグアニン、8 - トリフルオロメチル - O^6 - ベンジルグアニン、 O^6 - ベンジル尿酸、 N^2 - アセチル - O^6 - ベンジル - 8 - オキソグアニン、 O^6 - ベンジル - 8 - トリフルオロメチル - 9 - メチルグアニン、 O^6 - ベンジル - 8 - ブロモ - 9 - メチルグアニンおよび O^6 - ベンジル - 8 - ブロモ - 9 - (ピバロイルオキシメチル) グアニンからなる群より選ばれる請求の範囲第3項記載の化合物。

30

【請求項5】

式



40

(式中、 R_1 はハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、ハロ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルオキシカルボニル $C_1 - C_4$ アルキル、カルボキシ $C_1 - C_4$ アルキル、シアノ $C_1 - C_4$ アルキル、アミノカルボニル $C_1 - C_4$ アルキル、ヒドロキシ $C_1 - C_4$ アルキルおよび $C_1 - C_4$ アルキルオキシ $C_1 - C_4$ アルキル

50

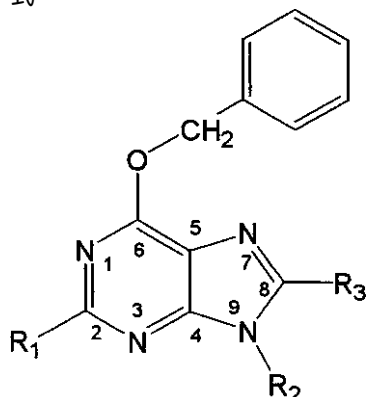
からなる群より選ばれ、 R_2 は $C_1 - C_4$ アルキル、ハロ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルオキシカルボニル $C_1 - C_4$ アルキル、カルボキシ $C_1 - C_4$ アルキル、シアノ $C_1 - C_4$ アルキル、アミノカルボニル $C_1 - C_4$ アルキル、ヒドロキシ $C_1 - C_4$ アルキルおよび $C_1 - C_4$ アルキルオキシ $C_1 - C_4$ アルキルからなる群より選ばれる。)で表される化合物。

【請求項6】

O^6 -ベンジル-8-プロモ-7-(ピバロイルオキシメチル)グアニン。

【請求項7】

式



10

20

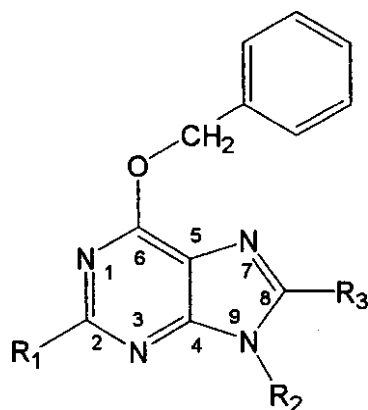
〔式中、 R_1 はヒドロキシ、 R_2 は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノアルキル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、 $C_1 - C_4$ カルバモイルアルキル、 $C_1 - C_4$ ピバロイルアルキル、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシカルボニルアルキル、リボース、2'-デオキシリボース、 $C_1 - C_4$ カルボキシアルキルの共役酸の形態およびナトリウム塩としての $C_1 - C_4$ カルボキシアルキルのカルボキシレートアニオンからなる群より選ばれる置換基、ならびに R_3 は水素原子、ハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、チオール、 $C_1 - C_4$ アルキルチオ、トリフルオロメチルチオ、 $C_1 - C_4$ チオアシル、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、トリフルオロメトキシ、メタンスルホニルオキシ、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、 $C_1 - C_4$ アシルオキシ、アミノ、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノ、トリフルオロメチルアミノ、ジトリフルオロメチルアミノ、アミノメタンスルホニル、アミノ $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、アミノトリフルオロメチルカルボニル、ホルミルアミノ、ニトロ、ニトロソ、 $C_1 - C_4$ アルキルジアゾ、 $C_5 - C_6$ アリールジアゾ、トリフルオロメチル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、シアノ、 $C_1 - C_4$ アルキルオキシカルボニル、 $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、フェニル、フェニルカルボニル、ホルミル、 $C_1 - C_4$ アルコキシメチル、フェノキシメチル、 $C_2 - C_4$ ビニル、 $C_2 - C_4$ エチニルおよび SO_nR' (n は0、1、2または3であり、 R' は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、アミノまたはフェニルである)からなる群より選ばれる置換基である。〕で表される化合物。

30

40

【請求項8】

式



10

〔式中、 R_1 はアミノ、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ アシルアミノおよび $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノからなる群より選ばれる置換基、 R_2 は $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノアルキル、 $C_1 - C_4$ カルバモイルアルキル、 $C_1 - C_4$ ピバロイルアルキル、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシカルボニルアルキル、リボースおよび2'-デオキシリボースからなる群より選ばれる置換基、ならびに R_3 はハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、チオール、 $C_1 - C_4$ アルキルチオ、トリフルオロメチルチオ、 $C_1 - C_4$ チオアシル、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、トリフルオロメトキシ、メタンスルホニルオキシ、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、 $C_1 - C_4$ アシルオキシ、アミノ、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノ、トリフルオロメチルアミノ、ジトリフルオロメチルアミノ、アミノメタンスルホニル、アミノ $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、アミノトリフルオロメチルカルボニル、ホルミルアミノ、ニトロ、ニトロソ、 $C_1 - C_4$ アルキルジアゾ、 $C_5 - C_6$ アリールジアゾ、トリフルオロメチル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、シアノ、 $C_1 - C_4$ アルキルオキシカルボニル、 $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、フェニル、フェニルカルボニル、ホルミル、 $C_1 - C_4$ アルコキシメチル、フェノキシメチル、 $C_2 - C_4$ ビニル、 $C_2 - C_4$ エチニルおよび SO_nR' (n は0、1、2または3であり、 R' は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、アミノまたはフェニルである)からなる群より選ばれる置換基である。〕で表される化合物。

20

30

【請求項 9】

O^6 - ベンジルキサンチン。

【請求項 10】

医薬上許容される担体および請求の範囲第1～9項のいずれかに記載の少なくとも1つの化合物を含有する医薬組成物。

【請求項 11】

医薬上許容される担体がポリエチレングリコールを含有する請求の範囲第10項記載の医薬組成物。

【請求項 12】

請求の範囲第1～9項のいずれかに記載の化合物、およびグアニンの O^6 - 位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤を含有する医薬組成物。

40

【請求項 13】

請求の範囲第1～9項のいずれかに記載の化合物を含有する、グアニンの O^6 - 位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤による哺乳動物における腫瘍細胞の化学療法治療の増強用医薬。

【発明の詳細な説明】

発明の技術分野

本発明は、置換された O^6 - ベンジルグアニン、 O^6 - ベンジル - 8 - アザグアニン、および6(4) - ベンジルオキシピリミジン、かかる化合物を含有する医薬組成物、ならびにかかる化合物の使用方法に関する。本発明の化合物は、特に、ヒトDNA修復蛋白 O^6 -

50

アルキルグアニン - DNA アルキルトランスフェラーゼの不活性化に有用である。

発明の背景

O⁶-ベンジルグアニンによるヒトDNA修復蛋白O⁶-アルキルグアニン-DNA アルキルトランスフェラーゼ (AGT) の不活性化は、化学療法薬 (その作用機作がDNAグアニン残基のO⁶-位の改変を含むもの) に対するヒト腫瘍細胞および腫瘍異種移植片の細胞毒性反応の劇的な増強をもたらす (Dolan et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 5368-5372 (1990); Dolan et al., Cancer Res., 51, 3367-3372 (1991); Dolan et al., Cancer Commun., 2, 371-377 (1990); Mitchell et al., Cancer Res., 52, 1171-1175 (1992); Friedman et al., J. Natl. Cancer Inst., 84, 1926-1931 (1992); Felker et al., Cancer Chem. Pharmacol., 32, 471-476 (1993); Dolan et al., Cancer Chem. Pharmacol., 32, 221-225 (1993); Dolan et al., Biochem. Pharmacol., 46, 285-290 (1993))。多数のO⁶-ベンジルグアニン類縁体のAGT不活性化活性が、置換基のタイプとそれら置換基がAGT-不活性化活性を著しく低下させることなくO⁶-ベンジルグアニンに結合できる位置とに関する情報を得る目的で比較されている (Moschel et al., J. Med. Chem., 35, 4486-4491 (1992); Chae et al., J. Med. Chem., 37, 342-347 (1994))。これらの研究から、O⁶-ベンジルグアニンと同等の活性あるいはそれより幾らか弱い活性をもつ種々の類縁体が製造されたが、これらの類縁体の中でO⁶-ベンジルグアニンよりよいものはなかった。

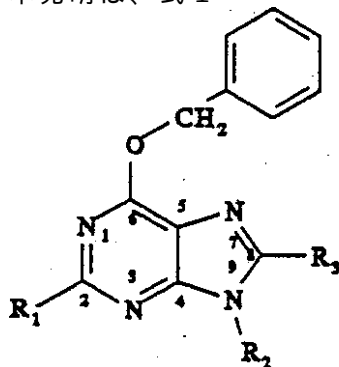
このように、グアニンのO⁶-位で細胞毒性の損傷 (cytotoxic lesions) を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤を用いる哺乳動物における腫瘍細胞の化学療法治療を増強することができるさらに別の化合物が必要とされている。本発明は、このような化合物ならびに関連する医薬組成物および治療方法を提供する。これらの目的および本発明のその他の目的ならびに有益な点は、さらなる発明的特徴と同様に、ここに記載する発明の説明から明らかとなるだろう。

発明の簡単な要旨

本発明は、有効なAGT不活性化剤であることが見出された7-および8-置換O⁶-ベンジルグアニン誘導体、7,8-ジ置換O⁶-ベンジルグアニン誘導体、7,9-ジ置換O⁶-ベンジルグアニン誘導体、8-アザ-O⁶-ベンジルグアニン誘導体、および4(6)-置換2-アミノ-5-ニトロ-6(4)-ベンジルオキシピリミジンおよび2-アミノ-5-ニトロソ-6(4)-ベンジルオキシピリミジン誘導体、ならびにかかる誘導体を医薬的に許容される担体と共に含有する医薬組成物を提供する。本発明はさらに、前記誘導体の1つ、2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-s-トリアジン、5-置換2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン、または8-アザ-O⁶-ベンジルグアニンの有効量を哺乳動物に投与すること、およびグアニンのO⁶-位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤の有効量を該哺乳動物に投与することによる、グアニンのO⁶-位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤を用いる哺乳動物における腫瘍細胞の化学療法治療を増強する方法を提供する。

好適な実施態様の説明

本発明は、式I



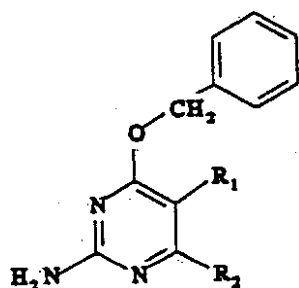
(I)

〔式中、R₁はアミノ、ヒドロキシ、C₁-C₄アルキルアミノ、C₁-C₄ジアルキルアミノおよびC₁-C₄アシルアミノからなる群より選ばれる置換基 (しかし、後記で詳述する

ように、この2位は他の置換基で置換することができる)、 R_2 は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノアルキル、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノアルキル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、 $C_1 - C_4$ カルバモイルアルキル、 $C_1 - C_4$ ピバロイルアルキル、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシカルボニルアルキル、リボース、2'-デオキシリボース、 $C_1 - C_4$ カルボキシアルキルの共役酸の形態およびナトリウム塩としての $C_1 - C_4$ カルボキシアルキルのカルボキシレートアニオンからなる群より選ばれる置換基(しかし、後記で詳述するように、この N^9 位は他の置換基で置換することができる)、ならびに R_3 は水素原子、ハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、チオール、 $C_1 - C_4$ アルキルチオ、トリフルオロメチルチオ、 $C_1 - C_4$ チオアシル、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、トリフルオロメトキシ、メタンスルホニルオキシ、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、 $C_1 - C_4$ アシルオキシ、アミノ、 $C_1 - C_4$ アミノアルキル、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノ、トリフルオロメチルアミノ、ジトリフルオロメチルアミノ、アミノメタンスルホニル、 $C_1 - C_4$ アミノアシル、アミノトリフルオロメチルカルボニル、ホルミルアミノ、ニトロ、ニトロソ、 $C_1 - C_4$ アルキルジアゾ、 $C_5 - C_6$ アリアルジアゾ、トリフルオロメチル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、ハロメチル、 $C_1 - C_4$ シアノアルキル、シアノメチル、シアノ、 $C_1 - C_4$ アルキルオキシカルボニル、 $C_1 - C_4$ アルキルカルボニル、フェニル、フェニルカルボニル、ホルミル、 $C_1 - C_4$ アルコキシメチル、フェノキシメチル、 $C_2 - C_4$ ビニル、 $C_2 - C_4$ エチニルおよび SO_n R' (n は0、1、2または3であり、 R' は水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキル、アミノまたはフェニルである)からなる群より選ばれる置換基である。但し、 R_2 および R_3 の両方が水素原子である時、 R_1 はアミノではなく、 R_2 がリボースまたは2'-デオキシリボースで、 R_3 が水素原子である時、 R_1 はアミノまたはメチルアミノではない。)で表される化合物を提供する。本明細書では置換基を、その置換基の結合位置から最も遠い基から最初に命名するように定義している。例示すると、 $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキルはピバロイルオキシメチルを含む。

上記式で表される適当な化合物には、 R_1 がアミノ、ヒドロキシ、 $C_1 - C_4$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_4$ ジアルキルアミノおよび $C_1 - C_4$ アルキルカルボニルアミノからなる群より選ばれ、 R_2 が水素原子、 $C_1 - C_4$ アルキルおよび $C_1 - C_6$ アルキルカルボニルオキシ $C_1 - C_4$ アルキルからなる群より選ばれ、ならびに R_3 がアミノ、ハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、ヒドロキシおよびトリフルオロメチルからなる群より選ばれる化合物が含まれる。他の適当な化合物には、 R_1 がアミノ、ヒドロキシ、メチルアミノ、ジメチルアミノおよびアセチルアミノからなる群より選ばれ、 R_2 が水素原子、メチルおよびピバロイルオキシメチルからなる群より選ばれ、ならびに R_3 がアミノ、ブロモ、メチル、ヒドロキシおよびトリフルオロメチルからなる群より選ばれる化合物が含まれる。適当な化合物の例には、8-アミノ- O^6 -ベンジルグアニン、8-メチル- O^6 -ベンジルグアニン、8-ヒドロキシ- O^6 -ベンジルグアニン、8-ブロモ- O^6 -ベンジルグアニン、8-トリフルオロメチル- O^6 -ベンジルグアニン、 O^6 -ベンジルキサンチン、 O^6 -ベンジル尿酸、 N^2 -アセチル- O^6 -ベンジル-8-オキソグアニン、 O^6 -ベンジル- N^2 -メチルグアニン、 O^6 -ベンジル- N^2 、 N^2 -ジメチルグアニン、 O^6 -ベンジル-8-トリフルオロメチル-9-メチルグアニン、 O^6 -ベンジル-8-ブロモ-9-メチルグアニンおよび O^6 -ベンジル-8-ブロモ-9-(ピバロイルオキシメチル)グアニンが含まれる。

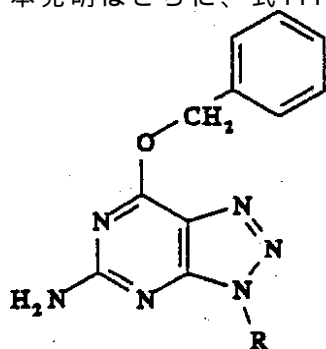
本発明はまた、式II



(II)

〔式中、 R_1 は NO_2 または NO であり、 R_2 は水素原子、ハロゲン、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ ヒドロキシアルキル、チオール、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルチオ、トリフルオロメチルチオ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ チオアシル、ヒドロキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルオキシ、トリフルオロメトキシ、メタンスルホニルオキシ、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アシルオキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アミノアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルアミノ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ ジアルキルアミノ、トリフルオロメチルアミノ、ジトリフルオロメチルアミノ、アミノメタンスルホニル、アミノ $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルカルボニル、アミノトリフルオロメチルカルボニル、ホルミルアミノ、ニトロ、ニトロソ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルジアゾ、 $\text{C}_5 - \text{C}_6$ アリールジアゾ、トリフルオロメチル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ ハロアルキル、シアノメチル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ シアノアルキル、シアノ、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルオキシカルボニル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルカルボニル、フェニル、フェニルカルボニル、ホルミル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルコキシメチル、フェノキシメチル、 $\text{C}_2 - \text{C}_4$ ビニル、 $\text{C}_2 - \text{C}_4$ エチニルおよび $\text{SO}_n\text{R}'$ (n は0、1、2または3であり、 R' は水素原子、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、アミノまたはフェニルである) からなる群より選ばれる置換基である。〕で表される化合物を提供する。適当な化合物には、 R_1 が NO_2 であり、 R_2 が水素原子または $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルである化合物が含まれる。適当な化合物の例には、2 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジンおよび2 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 6 - メチル - 5 - ニトロピリミジンが含まれる。

本発明はさらに、式III



(III)

〔式中、 R は $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルオキシカルボニル $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、カルボキシ $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、シアノ $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、アミノカルボニル $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキル、ヒドロキシ $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルおよび $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルオキシ $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルからなる群より選ばれる。〕で表される化合物を提供する。上記式で表される適当な化合物には、 R が $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルおよび $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルカルボニルオキシ $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルからなる群より選ばれる化合物が含まれる。適当な化合物の例には、8 - アザ - O^6 - ベンジル - 9 - メチルグアニンおよび8 - アザ - O^6 - ベンジル - 9 - (ピパロイルオキシメチル) グアニンが含まれる。

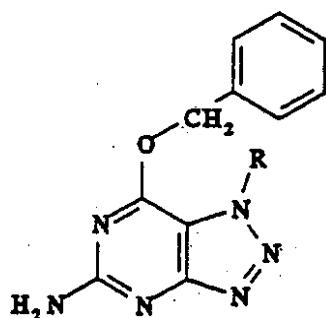
本発明はさらに、式IV

10

20

30

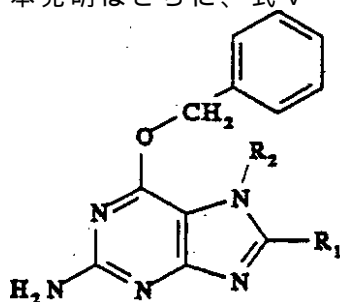
40



(IV)

(式中、RはC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₆アルキルカルボニルオキシC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₄アルキルオキシカルボニルC₁ - C₄アルキル、カルボキシC₁ - C₄アルキル、シアノC₁ - C₄アルキル、アミノカルボニルC₁ - C₄アルキル、ヒドロキシC₁ - C₄アルキルおよびC₁ - C₄アルキルオキシC₁ - C₄アルキルからなる群より選ばれる。)で表される化合物を提供する。適当な化合物には、RがC₁ - C₆アルキルカルボニルオキシC₁ - C₄アルキルである化合物が含まれる。適当な化合物の例は8 - アザ - O⁶ - ベンジル - 7 - (ピバロイルオキシメチル)グアニンである。

本発明はさらに、式V



(V)

(式中、R₁は水素原子、ハロゲン、C₁ - C₄アルキル、ハロC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₆アルキルカルボニルオキシC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₄アルキルオキシカルボニルC₁ - C₄アルキル、カルボキシC₁ - C₄アルキル、シアノC₁ - C₄アルキル、アミノカルボニルC₁ - C₄アルキル、ヒドロキシC₁ - C₄アルキルおよびC₁ - C₄アルキルオキシC₁ - C₄アルキルからなる群より選ばれ、R₂はC₁ - C₄アルキル、ハロC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₆アルキルカルボニルオキシC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₄アルキルオキシカルボニルC₁ - C₄アルキル、カルボキシC₁ - C₄アルキル、シアノC₁ - C₄アルキル、アミノカルボニルC₁ - C₄アルキル、ヒドロキシC₁ - C₄アルキルおよびC₁ - C₄アルキルオキシC₁ - C₄アルキルからなる群より選ばれる。但し、R₁が水素原子の時、R₂はハロC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₄アルキルオキシC₁ - C₄アルキル、C₁ - C₆アルキルカルボニルオキシC₁ - C₄アルキル、C₃ - C₄アルキルオキシカルボニルC₁ - C₄アルキル、カルボキシC₂ - C₄アルキル、シアノC₂ - C₄アルキル、アミノカルボニルC₂ - C₄アルキルおよびヒドロキシC₁ - C₃アルキルからなる群より選ばれる。)で表される化合物を提供する。適当な化合物には、R₁が水素原子またはハロゲンであり、R₂がC₁ - C₆アルキルカルボニルオキシC₁ - C₄アルキルである化合物が含まれる。適当な化合物の例には、O⁶ - ベンジル - 8 - ブロモ - 7 - (ピバロイルオキシメチル)グアニンおよびO⁶ - ベンジル - 7 - (ピバロイルオキシメチル)グアニンが含まれる。

本発明はさらに、本発明のO⁶ - 置換化合物の1つまたはそれ以上を含有する医薬組成物によって一般的に投与される治療方法を提供する。特に、本発明は、グアニンのO⁶ - 位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤を用いる哺乳動物における腫瘍細胞の化学療法治療を増強する方法であって、該方法は、前述の式I - Vの本発明化合物の1つまたはそれ以上の有効量を哺乳動物に投与すること、およびグアニンのO⁶ - 位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤の有効量を該哺乳動物に投与することを含む方法を提供する。本発明はまた、グアニンのO⁶ - 位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤を用いる哺乳動物における腫瘍細胞の化学療法治療を増強する方法であって、該方法は、

10

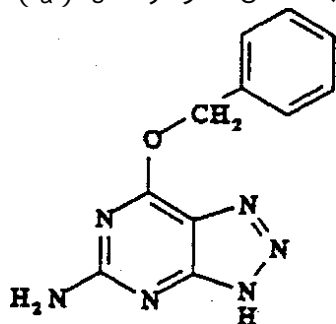
20

30

40

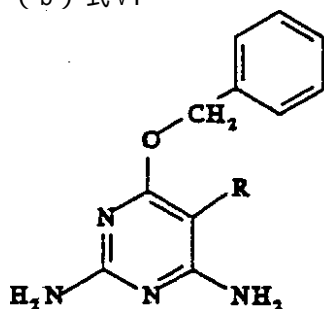
50

(i) 哺乳動物に

(a) 8 - アザ - O⁶ - ベンジルグアニン

10

(b) 式VI



(VI)

20

〔式中、Rは水素原子、ハロゲン、C₁ - C₄アルキル、C₁ - C₄ヒドロキシアルキル、チオール、C₁ - C₄アルキルチオ、トリフルオロメチルチオ、C₁ - C₄チオアシル、ヒドロキシ、C₁ - C₄アルコキシ、トリフルオロメトキシ、メタンスルホニルオキシ、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、C₁ - C₄アシルオキシ、アミノ、C₁ - C₄アミノアルキル、C₁ - C₄アルキルアミノ、C₁ - C₄ジアルキルアミノ、トリフルオロメチルアミノ、ジトリフルオロメチルアミノ、アミノメタンスルホニル、アミノC₁ - C₄アルキルカルボニル、アミノトリフルオロメチルカルボニル、ホルミルアミノ、ニトロ、ニトロソ、C₁ - C₄アルキルジアゾ、C₅ - C₆アリアルジアゾ、トリフルオロメチル、C₁ - C₄ハロアルキル、ハロメチル、シアノメチル、C₁ - C₄シアノアルキル、シアノ、C₁ - C₄アルキルオキシカルボニル、C₁ - C₄アルキルカルボニル、フェニル、フェニルカルボニル、ホルミル、C₁ - C₄アルコキシメチル、フェノキシメチル、C₂ - C₄ビニル、C₂ - C₄エチニルおよびSO_nR' (nは0、1、2または3であり、R'は水素原子、C₁ - C₄アルキル、アミノまたはフェニルである) からなる群より選ばれる置換基である。〕で表される化合物、または

30

(c) 2, 4 - ジアミノ - O⁶ - ベンジル - s - トリアジンの有効量を投与すること、および

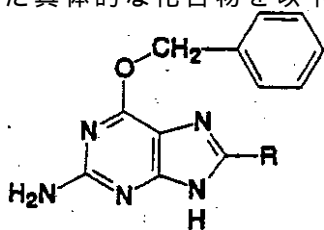
(ii) グアニンのO⁶ - 位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤の有効量を該哺乳動物に投与することを含む方法を包含する。

幾つかのO⁶ - 置換化合物を、ヒトDNA修復蛋白、O⁶ - アルキルグアニン - DNA アルキルトランスフェラーゼ (AGT, アルキルトランスフェラーゼ) を不活性化する能力について試験した。2つのクラスの化合物が、O⁶ - ベンジルグアニン (原型の低分子量不活性化剤) に比べて、ヒトHT29結腸腫瘍細胞抽出物中のAGT不活性化について非常に優れていることが確認された。これらは、8 - 位に電子求引性基を有する8 - 置換O⁶ - ベンジルグアニン、および5 - 位に電子求引性基を有する5 - 置換 2, 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジンであった。後者の誘導体はまた、無傷HT29結腸腫瘍細胞内のAGT不活性化についても、O⁶ - ベンジルグアニンに比べてより有効であった。どちらのタイプの化合物も、培地で培養した結腸癌細胞、乳癌細胞および前立腺癌細胞の1, 3 - ビス (2 - クロロエチル) - 1 - ニトロソ尿素 (BCNU) による細胞殺傷を増大させることについて、O⁶ - ベンジルグアニンと同等あるいはそれより有効であった。8 - 位に電子求引性置換基を有する8 - 置換O⁶ - ベンジルグアニン誘導体、および

40

50

5 - 位に電子求引性置換基を有する 5 - 置換 2, 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジンが望ましくない毒性を示さなければ、それらは、抗腫瘍剤（その作用機作が DNA グuanin 残基の O⁶ - 位の改変を含むもの）の有効性を増強するための化学療法補助剤として、O⁶ - ベンジルグuanin より優れているはずである。AGT 不活性化活性を試験した具体的な化合物を以下に図示する。

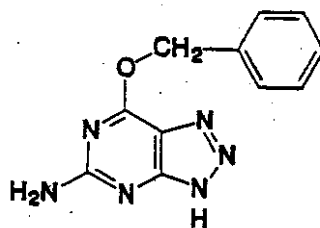


1a-e

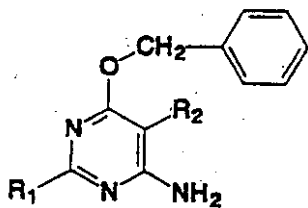
1a, R=NH₂1b, R=CH₃

1c, R=OH

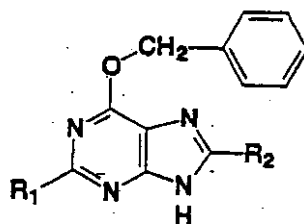
1d, R=Br

1e, R=CF₃

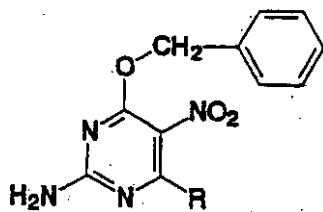
2



3a-f

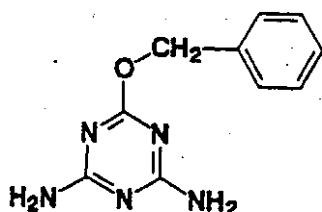
3a, R₁=H; R₂=NO₂3b, R₁=NH₂; R₂=H3c, R₁=NH₂; R₂=NH₂3d, R₁=NH₂; R₂=NO3e, R₁=NH₂; R₂=NO₂3f, R₁=NH₂; R₂=Br

4a-f

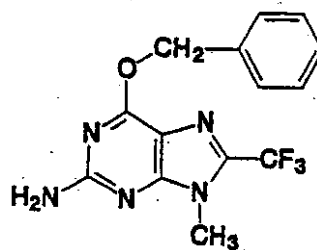
4a, R₁=HO; R₂=H4b, R₁=HO; R₂=OH4c, R₁=F; R₂=H4d, R₁=CH₃CONH; R₂=OH4e, R₁=CH₃NH; R₂=H4f, R₁=(CH₃)₂N; R₂=H

5a,b

5a, R=H

5b, R=CH₃

6



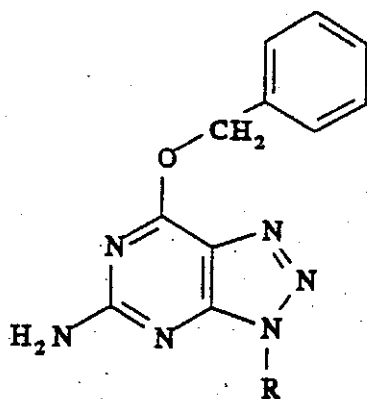
7

10

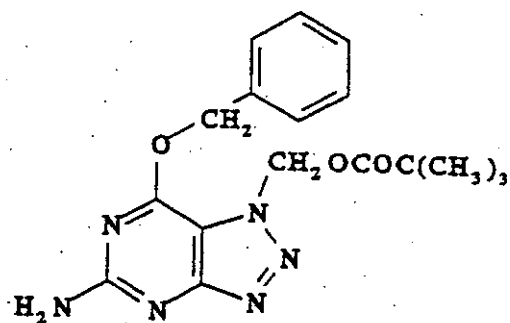
20

30

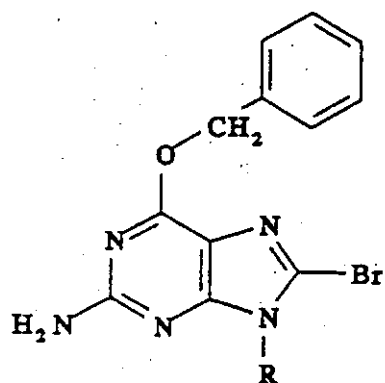
40



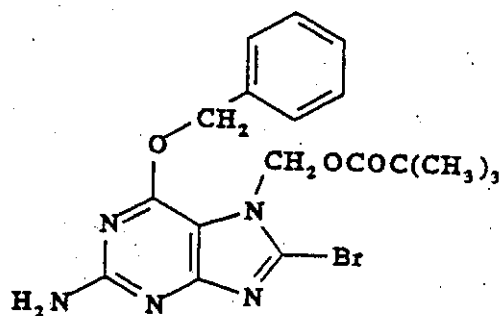
8a-b

8a, R = CH₃8b, R = CH₂OCOC(CH₃)₃

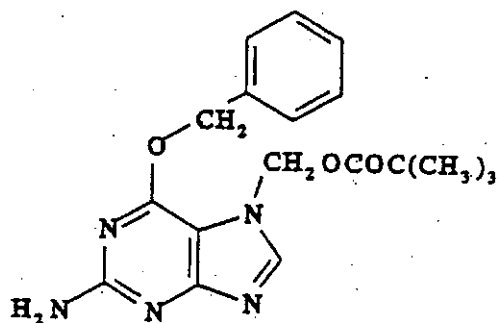
9



10a-b

10a, R = CH₃10b, R = CH₂OCOC(CH₃)₃

11



12

8 - 置換 O⁶ - ベンジルグアニン誘導体、8 - アミノ - O⁶ - ベンジルグアニン (1 a) および O⁶ - ベンジル - 8 - メチルグアニン (1 b) の製造は、それぞれ 2, 8 - ジアミノ - 6 - クロロプリンおよび 2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - メチルプリンを、ベンジルアルコール中でナトリウムベンジルオキシドと処理することにより行った。O⁶ - ベンジル - 8 - オキソグアニン (O⁶ - ベンジル - 7, 8 - ジヒドロ - 8 - オキソグアニン, 1 c) は、1, 1' - カルボニルジイミダゾールを 2, 4, 5 - トリアミノ - 6 - ベンジルオキ

10

20

30

40

50

シビリミジンと反応させることにより製造した (Pfleiderer et al., Chem. Ber., 94, 12-18, (1961))。便宜上、この化合物は 8 - ヒドロキシ互変異性体の形で図示するが、溶液中で 7 - 窒素原子に水素が結合した 8 - ケト体で存在している可能性が最も高い。O⁶ - ベンジル - 8 - プロモグアニン (1 d) は、O⁶ - ベンジルグアニンの臭素化により製造した。O⁶ - ベンジル - 8 - トリフルオロメチルグアニン (1 e) は、2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - トリフルオロメチルプリンをベンジルアルコール中でナトリウムベンジルオキシドと反応させることにより製造した。8 - アザ - O⁶ - ベンジルグアニン (2) は、2, 4, 5 - トリアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジンの亜硝酸処理を経て製造した。化合物 2 は、以前に別のルートにより製造されている (Shealy et al., J. Org. Chem., 27, 4518-4523 (1962))。

ピリミジン誘導体 (3 a - f) に関して、4 - アミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン (3 a) は、4 - アミノ - 6 - クロロ - 5 - ニトロピリミジン (Boon et al., J. Chem. Soc., 96-102 (1951)) をベンジルアルコール中でナトリウムベンジルオキシドで処理することにより製造した。誘導体 3 b - d は、Pfleiderer et al. (Chem. Ber., 94, 12-18 (1961)) の方法により製造した。2, 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン (3 e) および 2, 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - プロモピリミジン (3 f) は、以前に Kosary et al. (Acta Pharm. Hung., 49, 241-247 (1989)) により製造された。

プリン類、O⁶ - ベンジルキサンチン (4 a) および O⁶ - ベンジル尿酸 (4 b) は、それぞれ O⁶ - ベンジルグアニンおよび O⁶ - ベンジル - 8 - オキソグアニンの亜硝酸脱アミノ化により製造した。N² - アセチル - O⁶ - ベンジル - 8 - オキソグアニン (N² - アセチル - O⁶ - ベンジル - 7, 8 - ジヒドロ - 8 - オキソグアニン) (4 d) は、O⁶ - ベンジル - 8 - オキソグアニン (1 c) のアセチル化を経て製造した。O⁶ - ベンジル - 2 - フルオロヒポキサンチン (4 c) は、以前に Robins and Robins (J. Org. Chem., 34, 2160-2163, (1969)) により製造された。この物質をメチルアミンおよびジメチルアミンで処理して、O⁶ - ベンジル - N² - メチルグアニン (4 e) および O⁶ - ベンジル - N², N² - ジメチルグアニン (4 f) がそれぞれ生成する。

化合物 5 a (2 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン) および 5 b (2 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 6 - メチル - 5 - ニトロピリミジン) は、2 - アミノ - 4 - クロロ - 5 - ニトロピリミジンおよび 2 - アミノ - 4 - クロロ - 6 - メチル - 5 - ニトロピリミジン (Boon et al., J. Chem. Soc., 96-102 (1951)) をそれぞれ、ベンジルアルコール中でナトリウムベンジルオキシドで処理することにより製造した。化合物 6 (2, 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - s - トリアジン) は、以前に同様の条件下 (Wakabayashi et al., Nippon Dojo-Hirryogaku Zasshi, 41, 193-200 (1970)) で製造された。O⁶ - ベンジル - 8 - トリフルオロメチル - 9 - メチルグアニン (7) は、1 e のアニオンを N, N - ジメチルホルムアミド中でヨウ化メチルで処理することにより製造した。

化合物 8 a は、メチル化剤としてヨウ化メチルを用い、8 - アザ - O⁶ - ベンジルグアニンのナトリウム塩をメチル化することにより製造した。化合物 8 b および 9 は、8 - アザ - O⁶ - ベンジルグアニンのナトリウム塩とピバル酸クロロメチルとの反応により製造した。化合物 10 a は O⁶ - ベンジル - 9 - メチルグアニンの直接臭素化により製造した。化合物 10 b および 11 は、O⁶ - ベンジル - 8 - プロモグアニンのナトリウム塩とピバル酸クロロメチルとの反応により製造した。化合物 12 は、O⁶ - ベンジルグアニンのナトリウム塩とピバル酸クロロメチルとの反応により製造した。

これらの化合物の、HT 29 ヒト結腸腫瘍細胞抽出物における、および無傷 HT 29 細胞における AGT 蛋白を不活性化する能力を表 1 および 2 にまとめて示す。データは、30 分間インキュベーションしたときの細胞非含有抽出物中で、あるいは 4 時間インキュベーションしたときの細胞内で 50 % 不活性化するのに必要な化合物の用量を示す。

表 1. 6-ベンジルオキシプリン、6 (4)-ベンジルオキシピリミジン、および 6-ベンジルオキシ-s-トリアジン誘導体の A G T-不活性化活性

化合物	E D ₅₀ (μM) ^a		
	HT29細胞 非含有 抽出物中	HT29 細胞内	
2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5- ニトロソピリミジン (3d)	0.06	0.02	10
2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン (3e)	0.06	0.02	
8-アザ-0 ⁶ -ベンジルグアニン (2)	0.07	0.06	
0 ⁶ -ベンジル-8-ブロモグアニン (1d)	0.08	0.06	
0 ⁶ -ベンジルグアニン	0.2	0.05	
0 ⁶ -ベンジル-8-メチル-グアニン (1b)	0.3	0.1	
0 ⁶ -ベンジル-8-オキソグアニン (1c)	0.3	0.15	20
0 ⁶ -ベンジル-8-トリフルオロメチルグアニン (1e)	0.4	0.25	
2,4,5-トリアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン (3c)	0.4	0.3	
2-アミノ-4-ベンジルオキシ-6-メチル-5- ニトロピリミジン (5b)	0.4	0.06	
2-アミノ-4-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン (5a)	0.4	0.05	
8-アミノ-0 ⁶ -ベンジルグアニン (1a)	0.7	.2	
2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ブロモピリミジン (3f)	2	0.8	30
2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-s-トリアジン (6)	4	1.0	
2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン (3b)	15	5	
0 ⁶ -ベンジル尿酸 (4b)	25	45	
4-アミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン (3a)	28	8	
0 ⁶ -ベンジル-2-フルオロヒポキサンチン (4c)	48	12	
0 ⁶ -ベンジルキサンチン (4a)	60	35	
N ² -アセチル-0 ⁶ -ベンジル-8-オキソグアニン (4d)	65	11	40
0 ⁶ -ベンジル-N ² -メチルグアニン (4e)	160	60	
0 ⁶ -ベンジル-N ² ,N ² -ジメチルグアニン (4f)	200	110	

^a 30分間インキュベーションしたときの細胞非含有抽出物中で、あるいは4時間インキュベーションしたときの細胞内で50%不活性化するのに必要な有効用量。0⁶-ベンジルグアニンの値はMoschel et al., J. Med. Chem., 35, 4486-4491 (1992)からである。

これらの一連の化合物の中で、 O^6 -ベンジル- N^2 -メチル-および O^6 -ベンジル- N^2 , N^2 -ジメチルグアニン(4 e および 4 f) が、それぞれ、HT 29 細胞抽出物における AGT の不活性化の ED_{50} 値、 $160 \mu M$ および $200 \mu M$ を示し、最も活性の低い薬剤であった。比較のために、 O^6 -ベンジルグアニンが示す ED_{50} 値は $0.2 \mu M$ (表 1) であった。他の 2 - および / または 8 - 置換 6 - ベンジルオキシプリン、 N^2 -アセチル- O^6 -ベンジル-8-オキソグアニン(4 d)、 O^6 -ベンジルキサンチン(4 a)、 O^6 -ベンジル-2-フルオロヒポキサンチン(4 c) および O^6 -ベンジル尿酸(4 b) は、置換ピリミジン、4-アミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン(3 a) および 2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン(3 b) と共に、65 から $15 \mu M$ の範囲の中間の ED_{50} 値を示す、より活性が増大した AGT 不活性化剤のグループを構成する。2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-s-トリアジン(6) および 2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-プロモピリミジン(3 f) は 3 b よりかなり活性が高く、2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン誘導体の 5 位の電子求引性基が、効果的な AGT 不活性化にプラスに寄与することを示している。これはさらに、強い電子求引性基であるニトロソおよびニトロ置換基をそれぞれ有する、2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロソピリミジン(3 d) および 2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン(3 e) により示される非常に高い活性により強調される。これら 2 つの誘導体は、現在まで試験した中で最も高い活性の AGT 不活性化剤である。2-アミノ-4-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン(5 a) が 3 a に比べてかなり高い活性であることは、6(4)-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン誘導体の高活性には 2-アミノ基が重要であることを示す。4(6)位にさらにアルキル基を有する(例えば、5 b におけるように)ことが、活性を 5 a より著しく増強することはないが、4(6)位のアミノ基は活性を著しく増強する。このように、AGT 活性は実質上、 $5a = 5b < 3d = 3e$ の順で増大する。これらの考察を考慮すると、2, 4, 5-トリアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン(3 c) の活性は例外的と考えられ、現在のところ、その相対的に高い活性の理由は明らかでない。また、ピリミジン類 5 a および 5 b が細胞内でかなり活性であることは重要である。これは、それらの化合物の対応する HT 29 細胞抽出物中での活性からは、全く予測されない。

全ての O^6 -ベンジルグアニン類縁体 1 a - d は、4 a - f の一連のプリン類に比べてよりいっそう活性であり、1 a - d 中での活性の相違も電子求引性基の導入による増強を反映している。このように、活性は 8-アミノ- O^6 -ベンジルグアニン(1 a) $< O^6$ -ベンジル-8-オキソグアニン(1 c) $< O^6$ -ベンジル-8-メチルグアニン(1 b) $< O^6$ -ベンジル-8-プロモグアニン(1 d) < 8 -アザ- O^6 -ベンジルグアニン(2) の順で増大した。実際、誘導体 1 d および 2 は、細胞非含有抽出物中でピリミジン類 3 d および 3 e と実質的に同等の活性であるが、1 d および 2 は、それらの細胞非含有抽出物中での活性から予測されるよりも、細胞内では幾らか活性が低い。

表 2 に挙げた化合物もまた細胞非含有抽出物中および細胞内における AGT 不活性化活性を有していた。7、8 a および 10 a の細胞内での活性は、細胞非含有抽出物中でのそれらの活性に比べて著しく高い。このように、誘導体 1 d、1 e および 2 の場合、細胞非含有抽出物中 / 無傷細胞内の ED_{50} 値の比はそれぞれ 1.6、1.6、1.1 である(表 1)。この比は、対応のメチル化誘導体 10 a、7 および 8 a の場合、それぞれ 7.2、6.3、6.3 まで増大する。細胞内におけるメチル化誘導体のより高い活性は、これらの化合物がプリン環系のイミダゾール部分に容易に解離可能な水素を有しておらず、そのために中性分子として容易に細胞内に入ることができるという事実によると考えられる。

表2. 7, 8-および8, 9-ジ置換O⁶-ベンジルグアニン誘導体および関連化合物のAGT-不活性化活性

化合物	ED ₅₀ 値 (μ M) ^a		
	HT29細胞 非含有 抽出物中	HT29 細胞内	
O ⁶ -ベンジルグアニン	0.2	0.05	10
O ⁶ -ベンジル-8-トリフルオロメチル-9- メチルグアニン (7)	2.5	0.4	
8-アザ-O ⁶ -ベンジル-9-メチルグアニン (8a)	0.5	0.08	20
8-アザ-O ⁶ -ベンジル-9- (ピバロイルオキシメチル) グアニン (8b)	0.28 ^b	0.23	
8-アザ-O ⁶ -ベンジル-7- (ピバロイルオキシメチル) グアニン (9)	0.11 ^c	0.16	30
O ⁶ -ベンジル-8-ブromo-9-メチルグアニン (10a)	1.9	0.25	
O ⁶ -ベンジル-8-ブromo-9- (ピバロイルオキシメチル) グアニン (10b)	0.08 ^d	0.05	
O ⁶ -ベンジル-7-(ピバロイルオキシメチル) グアニン (12)	9 ^e	0.3	
O ⁶ -ベンジル-9-(ピバロイルオキシメチル) グアニン	3.1 ^{f, g}	0.3	
O ⁶ -ベンジル-9-メチルグアニン	2.6 ^g	0.4	

^a 30分間インキュベーションしたときの細胞非含有抽出物中で、あるいは4時間インキュベーションしたときの細胞内で50%不活性化するのに必要な用量。

^b 精製ヒトAGTでED₅₀=4。^c 精製ヒトAGTでED₅₀=2。^d 精製ヒトAGTでED₅₀>100。^e 精製ヒトAGTでED₅₀>>100。^f 精製ヒトAGTでED₅₀=95。^g Chae et al., J. Med. Chem., 37, 342-347 (1994)からのデータ。

BCNU (40 μ M) によるヒトHT29結腸癌細胞、DU-145前立腺癌細胞、およびMCF-71乳癌細胞の殺傷を増強する能力を1a-d、2、および3c-eの濃度を増加させながら試験した結果を、それぞれ表3、4、および5に示す。データは、Dolan et al. (Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 87, 5368-5372 (1990)) に記載されているように、AGT不活性化剤単独に曝した後、またはBCNUに曝す2時間前にAGT不活性化剤に曝した後、結果として生じる細胞コロニー数を反映する。O⁶-ベンジルグアニンについてのデータを比較のために入れた。10 μ M濃度のところ示すように、1aを除いた全ての8-置換プリン類が、BCNU (40 μ M) の細胞毒性の増強にO⁶-ベンジルグアニンと同程度の効果を有する。このような処理は実質的に全ての腫瘍細胞を死滅させる。改変された8-置換O⁶-ベンジルグアニン単独、またはBCNU単独による細胞の処理は、細胞コロニー数に対し著しい効果がなかった。乳癌細胞以外の全てにおいて1aの

10

20

30

40

50

活性が比較的低いことは、1 a が他のタイプの腫瘍細胞内に輸送されにくいこと、あるいは1 a が効力のないA G T不活性化剤に速やかに代謝変換されることを反映しているのかもしれない。1 a がB C N U細胞毒性の増強に有効でないことは、1 a が結腸腫瘍細胞内で相対的にA G T不活性化能が低いこと(表1)と対応する。

試験したピリミジン類の場合、2, 4, 5 - トリアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジン(3 c)が8 - 置換O⁶ - ベンジルグアニン誘導体と同等の活性であり、O⁶ - ベンジルグアニン自身はB C N U毒性を増強するが、ニトロソ - およびニトロピリミジン誘導体(3 d および 3 e)は4倍低用量で同様の活性であった。

表 3. A G T不活性化剤と組み合わせた B C N Uによる HT-29結腸癌細胞の殺傷

不活性化剤	不活性化剤 濃度 (μ M)	B C N U (μ M)	細胞1000個 当たりの コロニー形成	
なし		なし	435 \pm 63	
なし		40	442 \pm 34	
0 ⁶ - ベンジルグアニン	10	なし	431 \pm 33	10
	10	40	13 \pm 6	
	2.5	40	38 \pm 15	
	1	40	277 \pm 25	
8-アザ-0 ⁶ -ベンジルグアニン (2)	10	なし	537 \pm 48	
	10	40	2 \pm 1	
	1	40	423 \pm 42	
0 ⁶ - ベンジル-8- プロモグアニン (1d)	10	なし	401 \pm 22	
	10	40	1 \pm 0	20
	1	40	299 \pm 30	
0 ⁶ - ベンジル-8- オキソグアニン (1c)	10	なし	401 \pm 22	
	10	40	<1	
	1	40	221 \pm 15	
0 ⁶ - ベンジル-8- メチルグアニン (1b)	10	なし	513 \pm 76	
	10	40	<1	
	1	40	230 \pm 51	
0 ⁶ - ベンジル-8- アミノグアニン (1a)	10	なし	504 \pm 30	
	10	40	430 \pm 41	30
	1	40	475 \pm 26	
2,4,5-トリアミノ-6- ベンジルオキシピリミジン (3c)	10	なし	453 \pm 59	
	10	40	3 \pm 1	
	1	40	487 \pm 32	
2,4-ジアミノ-6- ベンジルオキシ-5- ニトロソピリミジン (3d)	2.5	なし	528 \pm 64	
	2.5	40	<1	
	1	40	19 \pm 4	
2,4-ジアミノ-6- ベンジルオキシ-5- ニトロピリミジン (3e)	2.5	なし	438 \pm 25	40
	2.5	40	<1	
	1	40	45 \pm 4	

表4. A G T不活性化剤と組み合わせたBCNUによるDU-145前立腺癌細胞の殺傷

不活性化剤	不活性化剤 濃度 (μ M)	BCNU (μ M)	細胞1000個 当たりの コロニー形成	
なし		なし	453 \pm 81	
なし		40	394 \pm 76	
0 ⁶ - ベンジルグアニン	10	なし	462 \pm 68	10
	10	40	28 \pm 5	
	1	40	299 \pm 18	
8-アザ-0 ⁶ -ベンジルグアニン (2)	10	なし	452 \pm 72	
	10	40	28 \pm 5	
	1	40	248 \pm 21	
0 ⁶ - ベンジル-8- プロモグアニン (1d)	10	なし	493 \pm 90	
	10	40	16 \pm 3	
	1	40	267 \pm 39	
0 ⁶ - ベンジル-8- オキソグアニン (1c)	10	なし	379 \pm 34	20
	10	40	34 \pm 3	
	1	40	329 \pm 43	
0 ⁶ - ベンジル-8- メチルグアニン (1b)	10	なし	357 \pm 43	
	10	40	50 \pm 7	
	1	40	306 \pm 157	
0 ⁶ - ベンジル-8- アミノグアニン (1a)	10	なし	380 \pm 36	
	10	40	435 \pm 70	
	1	40	295 \pm 45	
2,4,5-トリアミノ-6- ベンジルオキシピリミジン (3c)	10	なし	429 \pm 101	30
	10	40	57 \pm 7	
	1	40	378 \pm 60	
2,4-ジアミノ-6- ベンジルオキシ-5- ニトロソピリミジン (3d)	2.5	なし	403 \pm 35	40
	2.5	40	7 \pm 3	
	1	40	25 \pm 4	
	0.25	40	192 \pm 17	
	2.5	なし	407 \pm 80	
2,4-ジアミノ-6- ベンジルオキシ-5- ニトロピリミジン (3e)	2.5	40	9 \pm 2	
	1	40	59 \pm 6	
	0.25	40	129 \pm 26	

表5. A G T不活性化剤と組み合わせたB C N UによるMCF-71乳癌細胞の殺傷

不活性化剤	不活性化剤 濃度 (μ M)	B C N U (μ M)	細胞1000個 当たりの コロニー形成	
なし		なし	426 \pm 78	
なし		40	364 \pm 60	
0 ⁶ - ベンジルグアニン	10	なし	455 \pm 63	10
	10	40	4 \pm 2	
	2.5	40	12 \pm 6	
8-アザ-0 ⁶ -ベンジルグアニン (2)	10	なし	483 \pm 27	
	10	40	2 \pm 1	
0 ⁶ - ベンジル-8- ブロモグアニン (1d)	10	なし	380 \pm 109	
	10	40	3 \pm 1	
	2.5	40	4 \pm 3	
0 ⁶ - ベンジル-8- オキソグアニン (1c)	10	なし	522 \pm 78	20
	10	40	4 \pm 2	
0 ⁶ - ベンジル-8- メチルグアニン (1b)	10	なし	376 \pm 76	
	10	40	2 \pm 1	
0 ⁶ - ベンジル-8- アミノグアニン (1a)	10	なし	432 \pm 36	
	10	40	95 \pm 8	
2,4,5-トリアミノ-6- ベンジルオキシピリミジン (3c)	10	なし	448 \pm 55	
	10	40	12 \pm 4	
2,4-ジアミノ-6- ベンジルオキシ- 5-ニトロソピリミジン (3d)	2.5	なし	447 \pm 87	30
	2.5	40	2 \pm 1	
2,4-ジアミノ-6- ベンジルオキシ- 5-ニトロピリミジン (3e)	2.5	なし	314 \pm 49	
	2.5	40	2 \pm 1	

ヒトアルキルトランスフェラーゼは、O⁶-ベンジルグアニンおよび上記した種々の化合物による不活性化に対して非常に感受性が高いが、O⁶-ベンジルグアニンに耐性である幾つかの変異体が生じている (Crone and Pegg, Cancer Res., 53, 4750-4753 (1993))。この耐性は、おそらくアルキルトランスフェラーゼの活性部位を取り囲む空間が減少し、これがO⁶-ベンジルグアニンへの接近を制限していることによると考えられる。これらの変異体は、アルキルトランスフェラーゼの1個または2個のアミノ酸の変換を起こす、アルキルトランスフェラーゼDNA-コーディング配列のたった1個の塩基変換により生じる (Crone and Pegg, Cancer Res., 53, 4750-4753 (1993))。従って、表6に示すように、140番目のプロリン残基のアラニンへの変換 (蛋白P140A) または156番目のグリシン残基のアラニンへの変換 (蛋白G156A) は、O⁶-ベンジルグアニンに対する耐性をそれぞれ20倍および240倍に増大させる。138番目のプロリン残基の代わりにアルギニンを、140番目のプロリン残基の代わりにアルギニンを含有するアルキルトランスフェラーゼ (蛋白P138A / P140A) は、O⁶-ベンジルグアニンによる不活性化に対する耐性が88倍である。このような耐性変異体は、O⁶-ベンジルグアニンとアルキル化剤の併用処置により生じる淘汰圧 (selective pressure) 下において腫瘍中に生じる、あるいは淘汰されて残る可能性がある。より強力な阻害剤および/または

10

20

30

40

50

、変異体アルキルトランスフェラーゼの活性部位の空間によりフィットしやすい、より小さいサイズの阻害剤が、この耐性の克服を有利に行うために使用されうる。

表6. O^6 -ベンジルグアニンまたは2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロソピリミジンによる変異体アルキルトランスフェラーゼ蛋白の阻害

蛋白	ED ₅₀ 値 (μ M) ^a	
	O^6 -ベンジルグアニン	2,4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロソピリミジン
コントロール	0.25	0.05
P140A	5	0.1
P138A/P140A	22	0.3
G156A	60	1

^a 30分間で活性の50%を不活性化するのに必要な濃度

表6に示すように、2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロソピリミジン(3d)は、変異体アルキルトランスフェラーゼの不活性化が O^6 -ベンジルグアニンの50から60倍高かった。従って、5 μ Mより高い細胞内濃度にする2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ニトロソピリミジンの用量が、このような耐性アルキルトランスフェラーゼを不活性化するのに有効だろう。このような不活性化を達成するために、 O^6 -ベンジルグアニンは200 μ Mより高い濃度が必要であると考えられ、これは現在の処方に含まれているこの化合物によって達成しうる濃度よりはるかに高い。しかしながら、 O^6 -ベンジルグアニンより著しく活性の高い8-置換 O^6 -ベンジルグアニン誘導体は、それらの誘導体が要求される細胞内濃度を達成しうるならば変異体アルキルトランスフェラーゼの不活性化に有用となりうる。変異体アルキルトランスフェラーゼ不活性化についてのこれらのデータおよび前に示されたデータは、5-位に電子求引性基を有するピリミジン誘導体ならびに8-位に電子求引性基を有する置換 O^6 -ベンジルグアニン誘導体が、薬剤(その作用機作が、BCNUの作用機作と同様にDNAグアニン残基の O^6 -位の改変を含むもの)を用いる化学療法において補助剤として使用するのに、 O^6 -ベンジルグアニンよりも優れていることを示す。

電子求引性の8-置換基(例えば、 NO_2)を有する他の8-置換 O^6 -ベンジルグアニン誘導体が容易に入手できる。例えば、 O^6 -ベンジル-8-ニトログアニンは以下のようにして製造できる。8-ニトログアニン(Jones and Robins, J. Am. Chem. Soc., **82**, 3773-3779 (1960))を塩化ホスホリルで処理して2-アミノ-6-クロロ-8-ニトロプリンを製造し、これをベンジルアルコール中でナトリウムベンジルオキシドと処理すると所望の O^6 -ベンジル-8-ニトログアニンが得られるだろう。

さらに、ハロゲン基またはニトロ基以外の電子求引性基(例えば、ホルミル基またはシアノ基)を有する2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシピリミジン誘導体も容易に入手できる。公知化合物、2, 4-ジアミノ-5-ホルミル-6-ヒドロキシピリミジン(Delia and Otteman, Heterocycles, **20**, 1805-1809 (1983))を塩化ホスホリルで処理して2, 4-ジアミノ-6-クロロ-5-ホルミルピリミジン中間体を得ることができ、これをベンジルアルコール中でナトリウムベンジルオキシドと処理すると2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ホルミルピリミジンを得る。このホルミルピリミジンをヒドロキシアミンで処理することにより、2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-シアノピリミジンを得る。多数の5-置換6(4)-ベンジルオキシピリミジンまたは8-置換 O^6

- ベンジルグアニン誘導体を製造することが、複素環芳香族化合物の合成の分野の当業者に可能である (D.J.Brown, "The Pyrimidines," in The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 16, A. Weissberger, Ed., Wiley Interscience, New York, 1962; D.J.Brown, "The Pyrimidines," Supplement I, in The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 16, A. Weissberger and E.C.Taylor, Eds., Wiley Interscience, New York, 1970; J.H.Lister, "Fused Pyrimidines Part II Purines," in The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 24, Part II, A. Weissberger and E.C.Taylor, Eds., Wiley Interscience, New York, 1971)。

多くの 9 - 置換 O^6 - ベンジルグアニン誘導体が優れた A G T 不活性化特性を示すので (Moschel et al., J. Med. Chem., 35, 4486-4491 (1992); Chae et al., J. Med. Chem., 37, 342-347 (1994))、8, 9 - ジ置換類縁体が同様に活性であると予測される。これらの化合物は以下のようにして容易に製造できる。8 - 置換 O^6 - ベンジルグアニン類 (例えば、1 a - e) のアニオン、または 8 - アザ - O^6 - ベンジルグアニン (2) のアニオンを、既に報告されている化合物の範囲のいずれ (Moschel et al., J. Med. Chem., 35, 4486-4491 (1992); Chae et al., J. Med. Chem., 37, 342-347 (1994)) とでも反応させて、異性体である 7, 8 - および 8, 9 - ジ置換 O^6 - ベンジルグアニン誘導体の混合物を得る。所望の 8, 9 - ジ置換誘導体は、既に報告されているシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって単離および精製することができる (Moschel et al., J. Med. Chem., 35, 4486-4491 (1992); Chae et al., J. Med. Chem., 37, 342-347 (1994))。化合物 7 は化合物 1 e のアニオンを N, N - ジメチルホルムアミド中でヨウ化メチルで処理することにより製造した。化合物 8 - 12 は同様の手法を用いて製造した。

本発明の O^6 - 置換化合物は、特定の癌の化学療法治療を増強する目的で、哺乳動物に対しどんな適当な方法によっても投与されうる。特定の化合物を投与するのに二以上の経路を用いてもよいが経路によっては別の経路よりも迅速かつ効果的な反応が得られる。従って、ここに記載した方法は単に例示であり、それらに限定されるものではない。

一般に、上記説明したような本発明の O^6 - 置換化合物は、個々の癌患者に医薬組成物の形で投与されるだろう。化学療法を受けている、または受けようとしている者に O^6 - 置換化合物による治療を独立して、または適宜、他の治療と組み合わせて行うことができる。治療的適用においては、組成物は、A G T 活性の有効な低下を誘導し、それにより前記化学療法治療の細胞毒性を高めるのに十分な量で患者に投与される。これを達成するのに適した量は「治療有効投与量」と定義され、また「A G T 不活性化有効量」とも定義される。治療的または予防的使用に有効な量は、例えば、治療すべき疾患の段階および重篤度、年齢、体重、および患者の健康の普通の状態、および処方する医師の判断に応じて変わりうるだろう。投与量はまた、選択された O^6 - 置換化合物、投与方法、投与の時期と頻度、および特定の O^6 - 置換化合物の投与に伴うかもしれない好ましくない副作用の存在、性質および程度、ならびに所望の生理学的作用に応じても決定されるだろう。種々の疾患状態で多回投与 (おそらく、投与の各回または様々な回に一連の異なる A G T 不活性化剤および/または化学療法剤を使用する投与) を伴う長期の治療を必要とするかもしれないことが当業者には理解されるだろう。

本発明の O^6 - 置換化合物と組み合わせて有効に投与される適当な化学療法剤としては、クロロエチル化剤およびメチル化剤のようなアルキル化剤が挙げられる。かかる薬剤は、Wasserman et al., Cancer, 36, pp. 1258-1268 (1975) および Physicians' Desk Reference, 48th ed., Edward R. Barnhart publisher (1994) に記載された慣用の手法を用いて投与されうる。例えば、1, 3 - ビス (2 - クロロエチル) - 1 - ニトロソ尿素 (カルムスチンまたは B C N U、Bristol-Myers, Evansville, IN) は、6 週間毎に約 150 から 200 mg / m² の投与量で静脈内投与されうる。別のアルキル化剤、1 - (2 - クロロエチル) - 3 - シクロヘキシル - 1 - ニトロソ尿素 (ロムスチンまたは C C N U、Bristol-Myers) は、6 週間毎に約 130 mg / m² の投与量で経口投与されうる。他のアルキル化剤は、熟練した医療従事者に知られている適当な投与経路を介して適当な投与量で投与されうる。

適当な投与量および投薬プログラムは、通常の知識を有する当業者に知られている慣用の投与量範囲決定手法により決定することができる。一般に、化合物の最適投与量より少ない、少量の投与量で治療を開始する。その後、その状況下で最適の効果に達するまで投与量を少しずつ増加する。本発明の方法は、通例、患者の体重 1 kg 当たり、前記化合物の 1 つまたはそれ以上の約 0.1 μ g から約 50 mg を投与することを含むだろう。70 kg の患者の場合、 O^6 -置換化合物の約 10 μ g から約 200 mg の投与量がより一般的に用いられ、癌特異性抗原または患者の腫瘍負荷に関連する測定可能なパラメーターを測定することにより決定されるような患者の生理的反応に応じて、おそらく、続いてさらに少ない投与量である O^6 -置換化合物の約 1 μ g から約 1 mg の投与量で数週間から数カ月 にわたり投与される。

10

本発明の化合物および組成物は、通常、重篤な疾患状態、即ち、命が脅かされるあるいは実質的に命が脅かされるような状況で用いられることを留意しなければならない。このような場合、異物を最小限にすること、および O^6 -置換化合物の比較的非毒性の性質を考慮して、治療する医師は、これらの O^6 -置換化合物をかなり過剰に投与することが可能であり、また望ましいと考えるかもしれない。

本化合物の一回または多回投与は、治療する医師により選択された投与量レベルおよびパターンで実施することができる。どんな場合でも、化学療法の細胞毒性効果を有効に増強するのに十分な量の本発明の AGT 不活性化化合物が医薬製剤中に含まれているべきである。

治療処置用の医薬組成物は、非経口、局部、経口または局所投与用であり、通常、医薬的に許容される担体と、AGT 蛋白の活性を低下させる、好ましくは防止するのに十分な量の有効成分を含有する。担体は通常使われているものであれば何でもよく、溶解度および化合物との反応性がないことのような化学物理的な事柄、ならびに投与経路によってのみ限定される。

20

本発明の医薬組成物で使用される医薬的に許容される酸付加塩の例としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、リン酸、メタリン酸、硝酸および硫酸のような無機酸、および酒石酸、酢酸、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、フマル酸、安息香酸、グリコール酸、グルコン酸、コハク酸、p-トルエンスルホン酸およびアリールスルホン酸のような有機酸が挙げられる。

ここで説明する医薬的に許容される賦形剤、例えば、ビヒクル、補助剤、担体または希釈剤は当業者によく知られており、一般に容易に入手可能なものである。好ましくは、医薬的に許容される担体は活性化合物に対して化学的に不活性なもので、かつ使用条件下で有害な副作用または毒性を有していないものである。このような医薬的に許容される賦形剤としては、好ましくは、食塩水 (0.9% 食塩水)、クレモフォール EL (Cremophor EL) (これはヒマシ油とエチレンオキシドの誘導体であり、Sigma Chemical Co., St. Louis, MO から入手できる) (例、5% クレモフォール EL / 5% エタノール / 90% 食塩水、10% クレモフォール EL / 90% 食塩水、または 50% クレモフォール EL / 50% エタノール)、プロピレングリコール (例、40% プロピレングリコール / 10% エタノール / 50% 水)、ポリエチレングリコール (例、40% PEG 400 / 60% 食塩水)、およびアルコール (例、40% t-ブタノール / 60% 水) が挙げられる。本発明に関連して使用される最も好ましい医薬賦形剤は、PEG 400 のようなポリエチレングリコールであり、特に 40% PEG 400 / 60% 水または食塩水を含有する組成物である。

30

賦形剤の選択は、一部は選択された特定の O^6 -置換化合物、および組成物の投与に用いられる特定の手法により決定されるだろう。従って、本発明の医薬組成物の適当な製剤にはさまざまな種類がある。

40

以下の経口、エアロゾル、非経口、皮下、静脈内、動脈内、筋肉内、腹腔内、直腸内、および腔内投与用の製剤は単に例示であり、それらに限定されるものではない。

医薬組成物は、非経口的に、例えば、静脈内、動脈内、皮下、経皮、または筋肉内投与することができる。従って、本発明は、非経口投与に適当した許容される担体に溶解または懸濁した O^6 -置換化合物の溶液 (水性および非水性の等張無菌注射溶液を含む) を含有

50

する非経口投与用組成物を提供する。

全般的に、非経口投与組成物の有効な医薬担体に必要な要件は通常の知識を有する当業者によく知られている。Pharmaceutics and Pharmacy Practice, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, PA, Banker and Chalmers, eds., pp.238-250 (1982); ASHP Handbook on Injectable Drugs, Toissel, 4th ed., pp.622-630 (1986) 参照。このような溶液剤は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および当該製剤を投与対象者の血液と等張にする溶質を含有してよく、また、この製剤には、懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤および保存剤を含有してもよい水性および非水性の無菌懸濁液も含まれる。本化合物は、無菌の液体または液体の混合物〔水、食塩水、デキストロースおよび関連する糖の水溶液、アルコール（エタノール、イソプロパノール、またはヘキサデシルアルコールなど）、グリコール（プロピレングリコールまたはポリエチレングリコールなど）、ジメチルスルホキシド、グリセロールケタール（2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールなど）、エーテル（ポリ（エチレングリコール）400など）、油、脂肪酸、脂肪酸エステルまたはグリセリド、またはアセチル化脂肪酸グリセリドを含む〕のような医薬担体に、医薬的に許容される界面活性剤（石鹸または洗剤（detergent）など）、懸濁化剤（ペクチン、カルボマー（carbomer）、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、またはカルボキシメチルセルロースなど）、または乳化剤および他の医薬補助剤を添加した、または添加していない生理的に許容される希釈剤中に含ませて投与してもよい。

非経口投与製剤に用いられる油としては、鉱油、動物油、植物油または合成油が挙げられる。このような製剤に用いられる油の具体的な例としては、ピーナッツ油、大豆油、ゴマ油、綿実油、コーン油、オリーブ油、ワセリンおよび鉱油が挙げられる。非経口投与製剤に用いられる適当な脂肪酸としては、オレイン酸、ステアリン酸およびイソステアリン酸が挙げられる。オレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピルが適当な脂肪酸エステルの例である。

非経口投与製剤に用いられる適当な石鹸としては、脂肪酸アルカリ金属塩、アンモニウム塩およびトリエタノールアミン塩が挙げられ、適当な洗剤としては、(a) 例えば、ハロゲン化ジメチルジアルキルアンモニウムおよびハロゲン化アルキルピリジニウムのようなカチオン性洗剤、(b) 例えば、アルキル、アリアルおよびオレフィンスルホネート、アルキル、オレフィン、エーテルおよびモノグリセリドスルフェート、およびスルホスクシネートのようなアニオン性洗剤、(c) 例えば、脂肪族アミノオキシド、脂肪酸アルカノールアミドおよびポリオキシエチレンポリプロピレン共重合体のような非イオン性洗剤、(d) 例えば、アルキル - アミノプロピオネートおよび2-アルキル - イミダゾリン第四級アンモニウム塩のような両性洗剤、および(e) それらの混合物が挙げられる。

非経口投与製剤は、通常、溶液中に約0.5重量%から約25重量%の有効成分を含有するだろう。保存剤および緩衝剤を用いてもよい。注射部位での刺激を最小限にするまたは除くために、このような組成物は1つまたはそれ以上の親水性 - 親油性バランス（HLB）が約12から約17の非イオン性界面活性剤を含有してもよい。かかる製剤中の界面活性剤の量は、通常、約5重量%から約15重量%の範囲である。適当な界面活性剤としては、モノオレイン酸ソルビタンのようなポリエチレンソルビタン脂肪酸エステルおよびプロピレンオキシドとプロピレングリコールの縮合によって形成される、疎水性ベース（hydrophobic base）とエチレンオキシドの高分子量付加物が挙げられる。非経口投与製剤は、単位投与量または多回投与量を封入したアンプルおよびバイアルのような容器中に入れて提供することができ、また、使用の直前に、例えば、注射用水のような無菌液体賦形剤を加えるだけでよいような凍結乾燥条件下に貯蔵することができる。用時調製の注射溶液および懸濁液は、前記のような無菌の散剤、顆粒および錠剤から調製することができる。局所投与製剤（経皮的薬物放出に有用な製剤を含む）は当業者によく知られており、皮膚に適用するものが本発明において適している。

経口投与に適した製剤は、本発明のO⁶-置換化合物の幾つかのペプチジルおよび/または炭水化物特性、ならびにもしかかる化合物を胃腸管の消化分泌液から保護することなく経口投与すればおそらく分解することについて特別に考慮する必要がある。このような製

10

20

30

40

50

剤は、(a)有効量の本化合物が希釈液(例えば、水、食塩水またはオレンジ果汁)に溶解したような液体溶液；(b)それぞれ所定量の有効成分を固体または顆粒として含有するカプセル、薬袋(sachet)、錠剤、舐剤(lozenge)およびトローチ；(c)散剤；(d)適当な液体中の懸濁剤；および(e)適当な乳剤で構成される。液状製剤は、水およびアルコール(例えば、エタノール、ベンジルアルコールおよびポリエチレンアルコール)のような希釈剤を、医薬的に許容される界面活性剤、懸濁化剤または乳化剤を添加するか、または添加することなく含有してもよい。カプセルの形態は通常の硬または軟カプセルゼラチンタイプのいずれでもよく、例えば、界面活性剤、滑沢剤および不活性賦形剤(例えば、ラクトース、スクロース、リン酸カルシウムおよびコーンスターチなど)を含有するものであってもよい。錠剤の形態としては、ラクトース、スクロース、マンニトール、コーンスターチ、ポテトスターチ、アルギン酸、微結晶セルロース、アラビアゴム、ゼラチン、グアーゴム(guar gum)、コロイド状二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸およびその他の賦形剤、着色剤、希釈剤、緩衝剤、崩壊剤、湿潤剤、保存剤、香料ならびに薬理学的に適合性の賦形剤の1つまたはそれ以上を含んでもよい。舐剤(lozenge)の形態は、有効成分を香料(通常はスクロースおよびアラビアゴムまたはトラガカント)の中に含有してよく、この製剤には、有効成分を不活性基剤(ゼラチンおよびグリセリンなど)、またはスクロースおよびアラビアゴムの中に含有する香錠(pastille)、有効成分に加え当該分野で公知の賦形剤を含有する乳剤、ゲル剤などが含まれる。

本発明の O^6 -置換化合物は、単独でまたは他の適当な成分と組み合わせて、エアロゾル剤に製剤化して吸入により投与することもできる。本化合物は好ましくは、界面活性剤および噴射剤と共に微細に分散された形態で供給される。有効化合物の割合は、通常0.01重量%~20重量%、好ましくは1重量%~10重量%である。界面活性剤は、勿論、非毒性でなければならず、好ましくは噴射剤に可溶性のものである。このような界面活性剤の代表的な例は、6から22の炭素原子を有する脂肪酸(カプロン酸、オクタン酸、ラウリル酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、オレステリン酸(olesteric acid)およびオレイン酸など)の脂肪族多価アルコールまたはその環状無水物とのエステルまたは部分エステルである。混合グリセリドまたは天然グリセリドのような混合エステルを使用してもよい。界面活性剤は、組成物中に0.1重量%~20重量%、好ましくは0.25重量%~5重量%含まれていてもよい。組成物の残りは、通常、噴射剤である。所望により、例えば、鼻内投与のためのレシチンのような担体が含まれていてもよい。これらのエアロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの許容される加圧した噴射剤に含ませることができる。これらはまた、ネブライザーまたはアトマイザーのような加圧していない製剤の医薬として製剤化してもよい。このようなスプレー製剤は粘膜にスプレーするために使用されうる。

さらに、本発明の方法で用いられる化合物およびポリマーは、乳化基剤または水性基剤のような種々の基剤と混合することにより坐剤に製剤化してもよい。腔内投与用の適当な製剤は、有効成分に加え当該分野で適当なものとして知られる担体を含有するペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、泡沫剤(フォーム)またはスプレー剤の剤形としてもよい。

医薬製剤中の本発明の O^6 -置換化合物の濃度は広範な範囲であってよく、即ち、約1重量%より少ない量から、通常約10重量%または少なくとも約10重量%、20%ないしは50%またはそれより多い量まで多くしてもよく、選択された特定の投与方式に従って、主として液体容量、粘度などによって選択されるだろう。

従って、代表的な静脈内注入用医薬組成物は、無菌リンゲル液250mlおよび O^6 -置換化合物100mgを含有させることにより調製できた。非経口投与可能な化合物を調製する実際の方法は当業者に公知または明らかであり、例えば、Remington's Pharmaceutical Science(17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985)に詳細に記載されている。

10

20

30

40

50

当業者には、上記の医薬組成物に加えて、本発明の方法の O^6 -置換化合物をシクロデキストリン包接複合体のような包接複合体またはリポソームとして製剤化してもよいことが理解されるだろう。リポソームは、リンパ組織または癌性肝細胞のような特定の組織を化合物の標的とするのに役立つ。リポソームはまた、 O^6 -置換化合物の半減期を延ばすために使用することができる。本発明で有用なリポソームとしては、乳剤、泡沫剤（フォーム）、ミセル、不溶性単層（insoluble monolayers）、液晶（liquid crystals）、リン脂質分散剤、ラメラ層（lamellar layers）などが挙げられる。これらの製剤において、送達されるべき O^6 -置換化合物は単独でまたは適当な化学療法剤と共にリポソームの一部として取り込まれる。従って、リポソームは所望の本発明の O^6 -置換化合物で充填され、例えば、肝細胞のような特定の組織タイプの部位に導かれ、そこでリポソームが選択された化学療法増強組成物を送達する。本発明で用いられるリポソームは、通常、中性および陰性に荷電したリン脂質およびステロール（コレステロールなど）を含む標準的な小胞形成性脂質から形成される。脂質は、通常、例えばリポソームの大きさおよび血流中でのリポソームの安定性を考慮してそれに従って選択される。リポソームの調製には種々の方法が利用でき、例えば、Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9, 467 (1980)、および米国特許第4,235,871号、同第4,501,728号、同第4,837,028号、同第5,019,369号に記載された方法が利用できる。特定の組織タイプの細胞を標的とするために、リポソームに組み入れるべきリガンドとしては、例えば、標的とする組織タイプの細胞表面決定基に特異的な抗体またはその断片が挙げられる。 O^6 -置換化合物を含有するリポソーム懸濁液は静脈内投与、局所投与、局部投与などの経路で、投与方式、送達される O^6 -置換化合物、治療する疾患の段階などに応じて種々の投与量で投与することができる。

本発明の O^6 -置換化合物の有効性を特定のタイプの癌細胞（例えば、結腸癌細胞、前立腺癌細胞および乳癌細胞）に関して実証したが、グアニンの O^6 -位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤で治療可能な、どんなタイプの癌の治療にも本発明は適用可能である。このような癌には、例えば、結腸腫瘍、前立腺腫瘍、脳腫瘍、リンパ腫、白血病、乳腫瘍、卵巣腫瘍、肺腫瘍、ウィルムス腫瘍、横紋筋肉腫、多発性骨髄腫、胃腫瘍、軟組織肉腫、ホジキン病および非ホジキンリンパ腫が含まれる。

同様に、本発明の O^6 -置換化合物の作用様式を考慮すると、このような化合物は、グアニンの O^6 -位で細胞毒性の損傷を引き起こす抗腫瘍性アルキル化剤のどんなタイプのものとも組み合わせ使用することができる。このような抗腫瘍性アルキル化剤には、例えば、クロロエチル化剤（例、クロロエチルニトロソ尿素類およびクロロエチルトリアジン類）およびストレプトゾトシン、プロカルバジン、ダカルバジンおよびテモゾロミドのようなモノ官能基性アルキル化剤が含まれる。

クロロエチル化剤の中で最も頻繁に使用される化学療法薬は、1-(2-クロロエチル)-3-シクロヘキシル-1-ニトロソ尿素（CCNU、ロムスチン）、1,3-ビス(2-クロロエチル)-1-ニトロソ尿素（BCNU、カルムスチン）、1-(2-クロロエチル)-3-(4-メチルシクロヘキシル)-1-ニトロソ尿素（MeCCNU、セムスチン）および1-(2-クロロエチル)-3-(4-アミノ-2-メチル-5-ピリミジニル)メチル-1-ニトロソ尿素（ACNU）である。これらの薬剤は、臨床的に中枢神経系の腫瘍、多発性骨髄腫、黒色腫、リンパ腫、胃腸管腫瘍およびその他の充実性腫瘍（solid tumor）に対して使用されている（Colvin and Chabner, Alkylating Agents. In: Cancer Chemotherapy: Principles and Practice, Chabner and Collins, eds., Lippincott, Philadelphia, pp. 276-313 (1990); McCormick and McElhinney, Eur. J. Cancer, 26, 207-221 (1990)）。最近開発されたより副作用の少ないクロロエチル化剤は、1-(2-クロロエチル)-3-(2-ヒドロキシエチル)-1-ニトロソ尿素（HECNU）、2-クロロエチル-メチルスルホニルメタンスルホナート（クロメソン、Clomesone）および1-[N-(2-クロロエチル)-N-ニトロソウレイド]エチルホスホン酸ジエチルエステル（フォテムスチン、Fotemustine）である（Colvin and Chabner, Alkylating Agents. In: Cancer Chemotherapy: Principles and Practice, Chabner and Collins, eds., Lippincott, Philadelphia, pp. 276-313 (1990); McCormick and McElhinney, Eur. J. Cancer, 26, 207-221

10

20

30

40

50

(1990)))。メチル化化学療法剤には、ストレプトゾトシン (2 - デオキシ - 2 - (3 - メチル - 3 - ニトロソウレイド) - D - グルコピラノース)、プロカルバジン (N - (1 - メチルエチル) - 4 - [(2 - メチルヒドラジノ) メチル] ベンズアミド)、ダカルバジンまたは D T I C (5 - (3 , 3 - ジメチル - 1 - トリアゼニル) - 1 H - イミダゾール - 4 - カルボキサミド)、およびテモゾロミド (8 - カルバモイル - 3 - メチルイミダゾ [5 , 1 - d] - 1 , 2 , 3 , 5 - テトラジン - 4 - (3 H) - オン) が含まれる。テモゾロミドは悪性黒色腫、脳腫瘍および菌状息肉腫に対して活性である。ストレプトゾトシンは脾臓腫瘍に対して有効である。プロカルバジンはホジキン病および脳腫瘍の治療に用いられ、D T I C は黒色腫およびリンパ腫の治療に用いられる (Colvin and Chabner , Alkylating Agents. In: Cancer Chemotherapy: Principles and Practice, Chabner and Collins eds., Lippincott, Philadelphia, pp. 276-313 (1990) ; Longo, Semin. Concol., 17, 716-735 (1990))。

10

以下に説明する実施例は、前述の化合物の合成を記載している。これらの実施例に説明されている方法および物質に関して、¹H - NMR スペクトルは、Sun 2/110 data stations を備えた Varian VXR 500S spectrometer または Advanced data system にインターフェースで接続した Varian XL 200 instrument で記録した。試料は内部標準としてテトラメチルシランを用い DMSO - d₆ に溶解した。EI 質量スペクトルは VG 2035 data system にインターフェースで接続した reversed geometry VG Micromass ZAB-2F spectrometer から得た。元素分析は、ガルブレイス・ラボラトリー・インコーポレイテッド (Galbraith Laboratories, Inc., Knoxville, TN.) で行った。

20

試薬および溶媒の大部分は、Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, WI. 製であった。8 - アザ - O⁶ - ベンジルグアニン (2) (Shealy et al., J. Org. Chem., 27, 4518-4523 (1962))、2 , 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジン (3 b) (Pfeleiderer and Lohrmann, Chem. Ber., 94, 12-18 (1961))、2 , 4 , 5 - トリアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジン (3 c) (Pfeleiderer and Lohrmann, Chem. Ber., 94, 12-18 (1961))、2 , 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロソピリミジン (3 d) (Pfeleiderer and Lohrmann, Chem. Ber., 94, 12-18 (1961))、2 , 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン (3 e) (Kosary et al., Acta Pharm. Hung., 49, 241-247 (1989))、2 , 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - プロモピリミジン (3 f) (Kosary et al., Acta Pharm. Hung., 49, 241-247 (1989))、4 - アミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン (3 a) および O⁶ - ベンジル - 2 - フルオロヒポキサンチン (4 c) (Robins and Robins, J. Org. Chem., 34, 2160-2163 (1969)) は以前に製造されている。これらの化合物のうちのいくつかについては、以前示されていなかった分光学的データに加えて別の合成方法を以下に記載する。AGT 不活性化の研究は Moschel et al., J. Med. Chem., 35, 4486-4491 (1992) に記載の通りに行った。BCNU と組み合わせた様々な AGT 不活性化剤に関する細胞殺傷実験は、Dolan et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 5368-5372 (1990)) に記載の通りに行った。細胞は BCNU に曝す前に AGT 不活性化剤で 2 時間処理した。

30

実施例 1 : 2 , 8 - ジアミノ - 6 - クロロプリン

8 - アミノグアニン (Fischer, Z. Physiol. Chem., 60, 69 (1909) ; Beaman et al., in Zorba ch and Tipson, Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry, Vol. 1, pp41-43, John Wiley & Sons, New York, 1968) (3 . 0 g , 18 . 1 mmol) の塩化ホスホリル (90 mL) および N , N - ジエチルアニリン (3 mL) 中の懸濁液を 30 分間還流し、過剰の塩化ホスホリルを減圧下にて留去した。得られた溶液に氷 (20 g) を徐々に添加し、濃水酸化ナトリウム水溶液で pH を 6 に調整した。黄色固体が生成し、これを濾取し、水洗し、乾燥することにより緑色固体を得た。活性炭処理と共に水から結晶化させることにより、2 , 8 - ジアミノ - 6 - クロロプリンを白色固体として得た。収量, 2.11g (63%) ; 融点 > 275 (分解) ; ¹H NMR 6.09 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能) , 6.71 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能) ; MS (EI) 計算値 m/z C₅H₅N₆³⁵Cl 184.0264, 測定値 184.0266 ; 計算値 m/z C₅H₅N₆³⁷Cl 186.0235, 測定値 186.0237.

40

50

実施例 2 : 8 - アミノ - O⁶ - ベンジルグアニン (1 a)

2 , 8 - ジアミノ - 6 - クロロプリン (0 . 9 g , 4 . 9 m m o l) をナトリウム (0 . 2 2 g , 1 0 m m o l) のベンジルアルコール (9 . 0 m L) 溶液に添加した。この溶液を 1 3 0 の油浴中で 5 時間加熱し、1 0 分間常に攪拌しながら水 (1 0 0 m L) に注いだ。不溶の固体を濾過により除去し、濾液を氷酢酸で中和した。溶液をメタノール (1 0 0 m L) と混合し、この水性メタノール溶液の半分を、1 m L / 分でメタノール / 水 (1 : 1) で溶出させる 3 × 8 0 c m のセファデックス (Sephadex) LH-20 カラムに充填した。カラム溶出液を 2 8 0 n m で連続してモニターし、画分 (1 0 m L ずつ) を回収した。メタノール / 水中の反応混合物の残りを同一の条件下で別にクロマトグラフィー処理した。所望の生成物は画分 1 0 0 - 1 3 0 中に溶出した。両方のクロマトグラフィーで得た溜まった画分 1 0 0 - 1 3 0 から、溶媒を留去することにより分析的に純粋な 1 a を得た。収量, 0.26g (21%); 融点 269-271 (分解); UV (pH1) λ_{max} 241nm ($\epsilon=0.699 \times 10^4$), 300 (1.109×10^4); (pH6.9) 250 (sh) (0.447×10^4), 292 (1.027×10^4); (pH13) 255 (sh) (0.355×10^4), 295 (0.932×10^4); ¹H NMR 5.41 (s, 2H, ArCH₂), 5.70 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 6.18 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 7.25-7.55 (m, 5H, ArH), 11.1 (br s, 1H, NH, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₂H₁₂N₆O 256.1072, 測定値 256.1059; 元素分析 (C₁₂H₁₂N₆O) C, H, N.

10

実施例 3 : 2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - メチルプリン

8 - メチルグアニン (Daves et al., J. Am. Chem. Soc., 82, 2633-2640 (1960)) (1 . 0 g , 6 . 1 m m o l) の塩化ホスホリル (3 0 m L) および N , N - ジエチルアニリン (1 m L) 中の懸濁液を 3 時間還流した。過剰の塩化ホスホリルを減圧下にて留去した。得られた褐色油を氷水に溶解し、濃水酸化ナトリウム水溶液で中和した。溶媒留去後、残渣の固体を 7 0 m L の水に懸濁した。不溶の固体を濾過し、濾液を 1 m L / 分でメタノール / 水 (1 : 1) で溶出させる 3 × 8 0 c m のセファデックス LH-20 カラムに充填した。カラム溶出液を 2 8 0 n m で連続してモニターし、画分 (1 0 m L ずつ) を回収した。溜まった画分 5 0 - 6 0 を溶媒留去することにより、2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - メチルプリンを粗製の固体として得た。活性炭処理と共にエタノール / 水から結晶化させることにより、2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - メチルプリンを白色固体として得た。収量, 0.57g (51%); 融点 > 265 (分解); ¹H NMR 2.39 (s, 3H, CH₃), 6.62 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 12.56 (s, 1H, NH, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₆H₆N₅³⁵Cl 183.0312, 測定値 183.0309; 計算値 m/z C₆H₆N₅³⁷Cl 185.0283, 測定値 185.0286.

20

30

実施例 4 : O⁶ - ベンジル - 8 - メチルグアニン (1 b)

ナトリウム (0 . 1 g , 4 . 4 m m o l) を 4 . 1 m L のベンジルアルコール中で、全てのナトリウムが反応するまで攪拌した。2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - メチルプリン (0 . 4 1 g , 2 . 2 m m o l) を添加し、反応混合物を 1 3 0 の油浴中で 5 時間加熱した。室温まで冷却した後、過剰のベンジルアルコールを除去するためにエーテル 4 0 m L を添加した。生成した粘着性のある沈殿を濾取し、水 (5 0 m L) に溶解した。この黄色溶液の pH を氷酢酸で 5 - 6 に調整した。この溶液をメタノール (5 0 m L) と混合し、1 m L / 分でメタノール / 水 (1 : 1) で溶出させる 3 × 8 0 c m のセファデックス LH-20 カラムに充填した。カラム溶出液を 2 8 0 n m で連続してモニターし、画分 (1 0 m L ずつ) を回収した。溜まった画分 7 8 - 9 3 を溶媒留去することにより、分析的に純粋な 1 b を得た。収量, 0.25g (44%); 融点 214-216 ; UV (pH1) λ_{max} 238nm (sh) ($\epsilon=0.648 \times 10^4$), 290 (1.136×10^4); (pH6.9) 242 (0.758×10^4), 284 (0.897×10^4); (pH13) 240 (sh) (0.495×10^4), 286 (0.932×10^4); ¹H NMR 2.33 (s, 3H, CH₃), 5.46 (s, 2H, ArCH₂), 6.17 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 7.34-7.51 (m, 5H, ArH), 12.18 (br s, 1H, NH, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₃H₁₃N₅O 255.1120, 測定値 255.1125; 元素分析 (C₁₃H₁₃N₅O . 1/4 H₂O) C, H, N.

40

実施例 5 : O⁶ - ベンジル - 8 - オキシグアニン (1 c)

2 , 4 , 5 - トリアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジン (Pflleiderer et al., Chem. Ber., 94, 12-18 (1961)) (1 . 8 5 g , 8 m m o l) および 1 , 1' - カルボニルジイミダ

50

ゾール (1 . 3 0 g , 8 m m o l) をアルゴン下で、無水 N , N - ジメチルホルムアミド (5 m L) に溶解した。この溶液を一晩室温にて攪拌し、水 (2 0 0 m L) と混合することにより白色固体が沈殿した。この固体を濾取し、2 N 水酸化ナトリウム水溶液 2 5 0 m L に溶解した。不溶の物質を濾過により除去し、濾液を氷酢酸で中和することにより白色固体が沈殿した。この固体を濾取し、水洗し、5 0 % 水性エタノールから再結晶することにより、分析的に純粋な 1 c を得た。収量, 1.63g (79%); 融点 256-257 (分解); UV (pH 1) max 243nm ($\epsilon=0.717 \times 10^4$), 306 (1.499×10^4); (pH6.9) 243 (0.915×10^4), 290 (1.108×10^4); (pH13) 249 (sh) (0.443×10^4), 293 (1.368×10^4); ^1H NMR 5.41 (s, 2H, ArC H₂), 6.13 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 7.33-7.51 (m, 5H, ArH), 10.46 (s, 1H, D₂O で交換可能), 11.04 (s, 1H, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₂H₁₁N₅O₂: 257.0912. 測定値: 257.0914. 元素分析 (C₁₂H₁₁N₅O₂ · 1/2H₂O) C, N, H.

実施例 6 : O⁶ - ベンジル - 8 - プロモグアニン (1 d)

O⁶ - ベンジルグアニン (1 . 2 0 5 g , 5 . 0 m m o l) の無水 DMF (1 0 m L) 溶液に、臭素 (0 . 2 6 m L , 5 . 1 m m o l) をアルゴン下にて、徐々に添加した。得られた深緑色溶液を一晩室温にて攪拌した。この溶液を水 (7 0 m L) と混合すると、粗生成物が沈殿した。この生成物を濾取し、5 0 % 水性メタノール (1 0 0 m L) に溶解した。この溶液を 1 m L / 分でメタノール / 水 (1 : 1) で溶出させる 3 × 8 0 c m のセファデックス LH-20 カラムに充填した。カラム溶出液を 2 8 0 n m で連続してモニターし、画分 (1 0 m L ずつ) を回収した。所望の生成物は画分 1 1 0 - 1 9 0 中に溶出した。溜まった画分 1 1 0 - 1 9 0 から溶媒を留去することにより、1 d を淡黄色固体として得た。エタノール / 水 (1 : 1) から結晶化させることにより、分析的に純粋な 1 d を得た。収量, 0.166g (10%); 融点 135-137 (分解); UV (pH1) max 236nm (sh) ($\epsilon=0.517 \times 10^4$), 294 (1.429×10^4); (pH6.9) 244 (0.666×10^4), 287 (1.043×10^4); (pH13) 245 (sh) (0.544×10^4), 289 (1.030×10^4); ^1H NMR 5.45 (s, 2H, ArCH₂), 6.35 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 7.34-7.52 (m, 5H, ArH), 13.08 (bs, 1H, NH, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₂H₁₀N₅O⁷⁹Br 319.0068, 測定値 319.0069; 計算値 m/z C₁₂H₁₀N₅O⁸¹Br 321.0048, 測定値 321.0048; 元素分析 (C₁₂H₁₀N₅OBr₃/2H₂O) C, H, N, Br.

実施例 7 : 8 - アザ - O⁶ - ベンジルグアニン (2)

アセトン (5 m L) 中で 2 , 4 , 5 - トリアミノ - 6 - ベンジルオキシピリミジン (0 . 2 3 1 g , 1 . 0 m m o l) および亜硝酸ナトリウム (0 . 0 6 9 g , 1 . 0 m m o l) の混合物に氷酢酸 (1 m L) を添加した。得られた混合物を室温にて 2 時間攪拌した。この溶液を攪拌しながら水 (1 0 0 m L) に注ぐことにより、粗製の固体が沈殿した。固体を濾取し、風乾した。活性炭処理と共にエタノール / 水 (1 : 1) から結晶化させることにより、2 を白色固体として得た。収量, 105mg (43%); 融点 191-192 (192-193 ; Shealy et.al., J.Org.Chem., 27, 4518-4523 (1962)); ^1H NMR 5.56 (s, 2H, ArCH₂), 7.00 (s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 7.41-7.58 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値 m/z C₁₁H₁₀N₆O 242.0916, 測定値 242.0924.

実施例 8 : 4 - アミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン (3 a)

4 - アミノ - 6 - クロロ - 5 - ニトロピリミジン (Boon et al., J.Chem.Soc., 96-102 (1951)) (1 . 5 g , 8 . 6 m m o l) を、ナトリウム (0 . 2 3 g , 9 . 9 m m o l) のベンジルアルコール (1 4 m L) 溶液に添加した。この溶液を 1 3 0 の油浴中で 3 . 5 時間加熱し、ベンゼン (5 0 m L) に注いだ。黄色固体を濾取し、ベンゼンで洗浄した。ベンゼン / エーテルから結晶化させることにより、3 a の分析的に純粋な試料を得た。収量, 0.71g (34%); 融点 149-150 ; UV (pH1) max 284nm ($\epsilon=0.368 \times 10^4$), 333 (0.488×10^4); (pH6.9) 284 (0.329×10^4), 336 (0.470×10^4); (pH13) 290 (0.344×10^4), 333 (0.494×10^4); ^1H NMR 5.50 (s, 2H, ArCH₂), 7.33-7.49 (m, 5H, ArH), 8.12-8.24 (br d, 2H, NH_a and NH_b, D₂O で交換可能), 8.24 (s, 1H, H-2); MS (EI) 計算値 m/z C₁₁H₁₀N₄O₃ 246.0752, 測定値 246.0751; 元素分析 (C₁₁H₁₀N₄O₃) C, H, N.

実施例 9 : 2 , 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - 5 - ニトロピリミジン (3 e) 2 , 4 - ジアミノ - 6 - クロロ - 5 - ニトロピリミジン (O'Brien et al., J.Med.Chem., 9, 573

10

20

30

40

50

-575 (1966) (1.0 g, 5.28 mmol) をナトリウム (0.14 g, 6.08 mmol) のベンジルアルコール (9 mL) 溶液に添加した。この溶液を 160 の油浴中で 3.5 時間加熱し、溶媒を減圧下にて留去することにより黄色固体が得られた。この固体を水洗し、風乾した。ベンゼン/エーテルから結晶化させることにより、淡黄色系状固体を得た。収量, 0.69g (50%); 融点 194-195 (171; Kosary et al., Acta. Pham. Hung., 49, 241-247 (1989)); UV (pH1) λ_{\max} 236nm (sh) ($\epsilon=1.452 \times 10^4$), 264 (0.522×10^4), 321 (1.294×10^4); (pH6.9) 242 (sh) (0.965×10^4), 337 (1.493×10^4); (pH13) 242 (sh) (0.952×10^4), 338 (1.479×10^4); ^1H NMR 5.43 (s, 2H, ArCH₂), 7.26 (br s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能), 7.33-7.51 (m, 5H, ArH), 7.93 (br s, 2H, NH₂, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₁H₁₁N₅O₃ 261.0861, 測定値 261.0866; 元素分析 (C₁₁H₁₁N₅O₃) .

10

実施例 10: O⁶-ベンジルキサンチン (4a)

O⁶-ベンジルグアニン (0.83 g, 3.4 mmol) のアセトン (15 mL) 懸濁液を、15 mL の水に亜硝酸ナトリウム (5 g) を溶解した溶液に注いだ。酢酸 (8 mL) をこの懸濁液に攪拌しながら添加した。懸濁液に固体を溶解するために必要な最小量のアセトンを添加した。得られた淡黄緑色溶液を 3 時間攪拌した。生成した淡緑色沈殿を濾取し、水 (200 mL) で洗浄した。風乾した固体をエタノール/水 (1:1) から再結晶することにより、4a の分析的に純粋な試料を得た。収量, 0.43g (52%); 融点 145-147 (分解); UV (pH1) λ_{\max} 270nm ($\epsilon=0.749 \times 10^4$); (pH6.9) 286 (1.143×10^4); (pH13) 290 (0.914×10^4); ^1H NMR 5.49 (s, 2H, ArCH₂), 7.36-7.54 (m, 5H, ArH), 8.02 (s, 1H, H-8), 11.8 (br s, 1H, NH, D₂O で交換可能), 13.2 (br s, 1H, NH, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₂H₁₀N₄O₂ 242.0803, 測定値 242.0828; 元素分析 (C₁₂H₁₀N₄O₂·H₂O) C, H, N.

20

実施例 11: O⁶-ベンジル尿酸 (4b)

水 (5 mL) に溶解した亜硝酸ナトリウム (1.5 g, 43 mmol) を、O⁶-ベンジル-8-オキソグアニン (1c) (0.257 g, 1.0 mmol) のアセトン (5 mL) 懸濁液に添加した。氷酢酸 (3 mL) をこの懸濁液に攪拌しながら添加した。室温にて 3 時間攪拌後、明黄色沈殿が生成した。懸濁液を水 (150 mL) と混合し、不溶の固体を濾過して除いた。飽和炭酸ナトリウム水溶液を濾液に添加し、pH を約 5 に調整した。黄色沈殿 (130 mg) を回収し、水洗した。この固体を 50% 水性エタノールから結晶化させることにより、4b の分析的に純粋な試料を得た。収量, 75mg (29%); 融点 >230; UV (pH1) λ_{\max} 236nm (sh) ($\epsilon=0.972 \times 10^4$), 299 (1.427×10^4); (pH6.9) 240 (sh) (0.821×10^4), 304 (2.134×10^4); (pH13) 245 (sh) (0.846×10^4), 297 (1.861×10^4); ^1H NMR 5.43 (s, 2H, ArCH₂), 7.35-7.51 (m, 5H, ArH), 10.76 (s, 1H, NH, D₂O で交換可能), 11.23 (s, 1H, NH, D₂O で交換可能), 11.39 (s, 1H, NH, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₂H₁₀N₄O₃ 258.0752, 測定値 258.0753; 元素分析 (C₁₂H₁₀N₄O₃·5/2H₂O) C, H, N.

30

実施例 12: ジアセチル-O⁶-ベンジル-8-オキソグアニン

無水酢酸 (2 mL) を O⁶-ベンジル-8-オキソグアニン (1c) (0.257 g, 1.0 mmol) の乾燥トルエン (10 mL) 懸濁液に添加した。懸濁液を 24 時間激しく還流し、室温まで冷却した。4 にて 4 時間保存した後、得られた沈殿を濾取し、ベンゼンで洗浄し、風乾することにより、ジアセチル化された生成物の分析的に純粋な試料を得た。収量, 0.287g (84%); 融点 272-274 (分解); UV (100%MeOH) λ_{\max} 275nm ($\epsilon=1.313 \times 10^4$); (pH1) 275 (1.143×10^4); (pH6.9) 238 (0.995×10^4), 276 (1.115×10^4); (pH13) 285 (2.138×10^4); ^1H NMR 2.18 (s, 3H, CH₃), 2.57 (s, 3H, CH₃), 5.51 (s, 2H, ArCH₂), 7.30-7.57 (m, 5H, ArH), 10.41 (s, 1H, D₂O で交換可能), 12.30 (s, 1H, D₂O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z C₁₆H₁₅N₅O₄: 341.1123. 測定値: 341.1130. 元素分析 (C₁₆H₁₅N₅O₄) C, N, H.

40

実施例 13: N²-アセチル-O⁶-ベンジル-8-オキソグアニン (4d)

ジアセチル-O⁶-ベンジル-8-オキソグアニン (85 mg, 0.25 mmol) をメタノール (10 mL) および水酸化アンモニウム (28%, 5 mL) に溶解し、1 時間放置した。透明な溶液が濁り、放置しておくで沈殿が生成した。沈殿を濾取し、水洗し、乾燥することにより 4d の分析的に純粋な試料を得た。収量, 48mg (65%); 融点 335-337 (分解); UV (pH1) λ_{\max} 276nm ($\epsilon=1.723 \times 10^4$), 303 (sh) (0.679×10^4); (pH6.9) 276 (

50

1.379×10^4); (pH13) 284 (1.683×10^4); $^1\text{H NMR}$ 2.15 (s, 3H, CH_3), 5.49 (s, 2H, ArCH_2), 7.30-7.55 (m, 5H, ArH), 10.21 (s, 1H, D_2O で交換可能), 10.99 (s, 1H, D_2O で交換可能), 11.60 (s, 1H, D_2O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_3$: 299.1018. 測定値: 299.1023. 元素分析 ($\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_3$) C, N, H.

実施例 14: O^6 -ベンジル-2-フルオロヒポキサンチン (4c)

O^6 -ベンジルグアニン (1.21 g, 5 mmol) - 20 にて、100 mL の 48% フルオロホウ酸に添加した。亜硝酸ナトリウム (1.23 g, 35 mmol) を水 (5 mL) に溶解し、この亜硝酸ナトリウム水溶液 2.5 mL を前記の冷フルオロホウ酸溶液に徐々に添加した。得られた混合物を -15 以下にて、1時間攪拌した。さらにフルオロホウ酸 (25 mL) を添加し、続いて亜硝酸ナトリウム水溶液 2.5 mL をさらに添加した。さらに、-15 未満で1時間攪拌後、再びフルオロホウ酸 (25 mL) を添加し、攪拌を1時間続けた。得られた溶液を -20 にて、飽和炭酸ナトリウム水溶液で中和し、放置して室温に戻した。生成した白色沈殿を濾取し、水洗し、真空乾燥することにより粗製の 4c を得た。収量, 0.52g, 43%. 分析サンプルは 1 mL / 分でメタノール/水 (1:1) で溶出するセファデックス LH-20 カラム (3 x 80 cm) 上でのクロマトグラフィーにより調製した。所望の 4c は画分 66 - 77 中に溶出した: 融点 182-183 (184-185; Robins and Robins, J. Org. Chem., 34, 2160-2163 (1969)); UV (pH1) m_{\max} 256 nm ($=1.117 \times 10^4$); (pH6.9) 257 (1.078×10^4); (pH13) 264 (1.063×10^4); $^1\text{H NMR}$ 5.60 (s, 2H, ArCH_2), 7.37-7.57 (m, 5H, ArH), 8.40 (s, 1H, H-8), 13.60 (s, 1H, NH, D_2O で交換可能), $^{19}\text{F NMR}$ 23.54 (トリフルオロ酢酸標準から低磁場側); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}$ 244.0760, 測定値 244.0756; 元素分析 ($\text{C}_{12}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O} \cdot 2/3\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

実施例 15: O^6 -ベンジル- N^2 -メチルグアニン (4e)

フルオロホウ酸 (48%, 30 mL) をドライアイス-アセトン浴で -20 まで冷却した。 O^6 -ベンジルグアニン (0.362 g, 1.5 mmol) を攪拌しながら添加した。亜硝酸ナトリウム (0.369 g, 10.5 mmol) を水 (1 mL) に溶解し、この溶液 0.5 mL を前記の冷フルオロホウ酸溶液に徐々に添加した。得られた溶液を -15 以下にて、1時間攪拌した。さらにフルオロホウ酸 (5 mL) を添加し、続いて亜硝酸ナトリウム水溶液 0.5 mL をさらに添加した。-15 以下で1時間攪拌後、再びフルオロホウ酸 (5 mL) を添加し、攪拌をさらに1時間続けた。それから、メチルアミン (40% 水溶液、60 mL) を -20 で添加し、得られた塩基性溶液を室温にて2日間攪拌した。溶媒を減圧下にて留去することにより、白色固体を得た。この固体を、10分間攪拌しながら水 50 mL に懸濁させた。不溶の物質を濾取し水洗した。この固体を 28% アンモニア水溶液 1.2 mL を添加した 40 mL メタノール/水 (1:1) に溶解した。この溶液を 1 mL / 分でメタノール/水/アンモニア水 (30:70:3) で溶出させる 3 x 80 cm のセファデックス LH-20 カラムに充填した。カラム溶出液を 280 nm で連続してモニターし、画分 (10 mL ずつ) を回収した。溜まった画分 106 - 127 を溶媒留去することにより、4e の分析的に純粋な試料を得た。収量, 85mg (22%); 融点 189-190; UV (pH1)、 m_{\max} 238 nm (sh) ($=0.665 \times 10^4$), 297 (0.904×10^4); (pH6.9) 246 (0.898×10^4), 290 (0.676×10^4); (pH13) 240 (sh) (0.615×10^4), 294 (0.674×10^4); $^1\text{H NMR}$ 2.30 (d, 3H, CH_3), 5.50 (s, 2H, ArCH_2), 6.75 (m, 1H, MeNH , D_2O で交換可能), 7.31-7.53 (m, 5H, ArH), 7.82 (s, 1H, H-8), 12.53 (s, 1H, NH, D_2O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$ 255.1120, 測定値 255.1107; 元素分析 ($\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

実施例 16: O^6 -ベンジル- N^2 , N^2 -ジメチルグアニン (4f)

フルオロホウ酸 (48%, 40 mL) をドライアイス-アセトン浴で -20 まで冷却した。 O^6 -ベンジルグアニン (0.482 g, 2.0 mmol) を攪拌しながら添加した。亜硝酸ナトリウム (0.492 g, 14.0 mmol) を水 (2 mL) に溶解し、この溶液 1 mL を前記の冷フルオロホウ酸溶液に徐々に添加した。得られた溶液を -15 以下にて、1時間攪拌した。さらにフルオロホウ酸 (10 mL) を添加し、続いて 1 mL の亜硝酸ナトリウム水溶液をさらに添加した。-15 以下で1時間攪拌後、さらにフルオロホウ酸 (10 mL) を添加し、攪拌を1時間続けた。それから、ジメチルアミン (40

10

20

30

40

50

%水溶液、60 mL)を-20℃で前記溶液に添加し、得られた混合物を放置して室温に戻した。懸濁液が透明溶液になり、10分以内に沈殿が生成した。室温で一晩放置後、沈殿を濾取し水洗した。この固体を50%水性エタノールから結晶化させることにより、4fの分析的に純粋な試料を得た。収量,0.25g(46%);融点220-221℃(分解);UV(pH1) λ_{\max} 248nm(sh) ($\epsilon=0.512 \times 10^4$), 303 (0.908×10^4); (pH6.9) 251 (1.152×10^4), 299 (0.686×10^4); (pH13) 248(sh) (0.766×10^4), 299 (0.710×10^4); ^1H NMR 3.12(s, 6H, CH₃), 5.54(s, 2H, ArCH₂), 7.36-7.51(m, 5H, ArH), 7.84(s, 1H, H-8), 12.56(s, 1H, NH, D₂Oで交換可能); MS(EI) 計算値m/z C₁₄H₁₅N₅O 269.1276, 測定値269.1254; 元素分析(C₁₄H₁₅N₅O) C, H, N.

実施例17: 2, 4-ジアミノ-6-ベンジルオキシ-5-ブロモピリミジン(3f) 10
2, 4-ジアミノ-5-ブロモ-6-クロロピリミジン(Phillips et al., J.Org.Chem., 29, 1488-1490 (1963)) (2.3g, 10 mmol)をアルゴン下にて、ナトリウム(0.29g, 12.5 mmol)のベンジルアルコール(10 mL)溶液に添加した。この溶液を130℃の油浴中で3時間加熱し、ベンジルアルコールを減圧下にて留去することにより、白色固体を得た。この固体を水洗し、風乾した。50%水性エタノールから結晶化させることにより、3fの白色針状結晶を得た。収量,2.32g(76%);融点165-166℃(文献値136℃; Kosary et al., Acta Pharm.Hung., 49, 241-247 (1989)); UV(pH1) λ_{\max} 236nm ($\epsilon=0.873 \times 10^4$), 291 (1.388×10^4); (pH6.9) 236 (0.850×10^4), 277 (0.835×10^4); (pH13) 234 (0.869×10^4), 277 (0.827×10^4); ^1H NMR 5.30(s, 2H, ArCH₂), 6.15(s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 6.32(s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 7.31-7.45(m, 5H, ArH); MS(EI) 20
) 計算値m/z C₁₁H₁₁N₄O⁷⁹Br 294.0115, 測定値294.0127; 計算値m/z C₁₁H₁₁N₄O⁸¹Br 296.0094, 測定値296.0083; 元素分析(C₁₁H₁₁N₄OBr) C, H, N.

実施例18: 2-アミノ-4-クロロ-5-ニトロピリミジン
2-アミノ-4-ヒドロキシ-5-ニトロピリミジン(5.0g, 32.1 mmol)の塩化ホスホリル(100 mL)懸濁液を一晩還流し、過剰の塩化ホスホリルを減圧下にて留去した。残渣を氷浴中で氷(100g)と混合し、混合物を濃炭酸ナトリウム水溶液で中和した。黄色沈殿を濾取し、水洗した。収量,1.39g(25%);融点191-194℃(分解); ^1H NMR 8.45(br s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 9.03(s, 1H, H-6); MS(EI) 計算値m/z C₄H₃N₄O₂³⁵Cl 173.9944, 測定値173.9934; 計算値m/z C₄H₃N₄O₂³⁷Cl 175.9915, 測定値175.9916.

実施例19: 2-アミノ-4-ベンジルオキシ-5-ニトロピリミジン(5a) 30
2-アミノ-4-クロロ-5-ニトロピリミジン(0.70g, 4.0 mmol)をアルゴン下にて、ナトリウム(0.12g, 5.2 mmol)のベンジルアルコール(8 mL)溶液に添加した。この溶液を130℃の油浴中で3時間加熱し、ベンジルアルコールの約半分を減圧下にて留去した。10分間常に攪拌しながら残渣を水(50 mL)に注いだ。氷酢酸で中和後、生成した褐色沈殿を濾取し、水洗した。この固体をベンゼンから結晶化させることにより、5aを金色結晶性固体として得た。収量,126mg(13%);融点164-167℃; UV(pH1) λ_{\max} 262nm ($\epsilon=0.879 \times 10^4$), 295(sh) (0.571×10^4); (pH6.9) 235(sh) (0.448×10^4), 273 (0.360×10^4), 326 (1.085×10^4); (pH13) 273 (0.404×10^4), 327 (1.055×10^4); ^1H NMR 5.51(s, 2H, ArCH₂), 7.35-7.54(m, 5H, ArH), 8.05(d, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 8.92(s, 1H, H-6); MS(EI) 計算値m/z C₁₁H₁₀N₄O₃ 246.0752, 測定値246.07 40
58; 元素分析(C₁₁H₁₀N₄O₃) C, H, N.

実施例20: 2-アミノ-4-ベンジルオキシ-6-メチル-5-ニトロピリミジン(5b)
2-アミノ-4-クロロ-6-メチル-5-ニトロピリミジン(Boon et al., J.Chem.Soc., 96-102 (1951)) (1.24g, 6.58 mmol)をアルゴン下にて、ナトリウム(0.21g, 9.13 mmol)のベンジルアルコール(14 mL)溶液に添加した。この溶液を135℃の油浴中で3.5時間加熱し、10分間常に攪拌しながら水(70 mL)に注いだ。氷酢酸で中和後、生成した黄色沈殿を濾取し、水洗した。この固体をベンゼンから結晶化させることにより、5bを明黄色結晶性固体として得た。収量,0.57g(33%);融点159-160℃; UV(pH1) λ_{\max} 268nm ($\epsilon=0.783 \times 10^4$), 345(sh) (0.104×10^4); (pH 50

6.9) 282 (0.564×10^4), 345 (sh) (0.338×10^4); (pH13) 282 (0.549×10^4), 345 (sh) (0.332×10^4); $^1\text{H NMR}$ 2.35 (s, 3H, CH_3), 5.44. (s, 2H, ArCH_2), 7.34-7.46 (m, 5H, ArH), 7.64 (b s, 2H, NH_2 , D_2O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3$ 260.0908, 測定値 260.0913; 元素分析 ($\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3$) C, H, N.

実施例 2 1: 2, 4 - ジアミノ - 6 - ベンジルオキシ - s - トリアジン (6)

2, 4 - ジアミノ - 6 - クロロ - s - トリアジン (2.25 g, 15.0 mmol) をアルゴン下にて、ナトリウム (0.43 g, 18.8 mmol) のベンジルアルコール (30 mL) 溶液に添加した。この懸濁液を 130 の油浴中で 3.5 時間加熱した。過剰のベンジルアルコールを真空下で除去し、得られた固体をベンゼンを用いて回収し、水 (100 mL) で洗浄した。収量, 1.83g (56%); 融点 184-185 (文献値 186-188; Wakabayashi et al., Nippon Dojo-Hiryogaku Zasshi, 41, 193-200 (1970)); UV (pH1) m_{\max} 233nm (sh) ($=0.589 \times 10^4$); (pH6.9) 238 (sh) (0.111×10^4); (pH13) 240 (sh) (0.073×10^4); $^1\text{H NMR}$ 5.25 (s, 2H, ArCH_2), 6.63 (s, 4H, NH_2 , D_2O で交換可能), 7.30-7.42 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}$ 217.0963, 測定値 217.0955.

実施例 2 2: 2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - トリフルオロメチルプリン

8 - トリフルオロメチルグアニン (Pfleiderer and Shanshal, Liebigs Ann.Chem., 726, 201-215 (1969)) (2.0 g, 9.1 mmol) の塩化ホスホリル (20 mL) 懸濁液を 3 時間還流した。過剰の塩化ホスホリルを減圧下にて留去した。得られた残渣を氷水 (100 g) と混合し、濃水酸化ナトリウム水溶液で pH を 3 - 4 に調整した。得られた溶液をメタノール (100 mL) と混合し、この水性メタノールの約半分 (すなわち 100 mL) を 1 mL / 分でメタノール / 水 (1:1) で溶出させる 3×80 cm のセファデックス LH-20 カラムに充填した。カラム溶出液を 280 nm で連続してモニターし、画分 (10 mL ずつ) を回収した。メタノール / 水中の反応混合物の残りを同一の条件下で別にクロマトグラフィー処理した。所望の生成物は画分 73 - 85 中に溶出した。両方のクロマトグラフィーで得た溜まった画分 73 - 85 から、溶媒を留去することにより分析的に純粋な 2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - トリフルオロメチルプリンを得た。収量, 0.94g (43%); 融点 >225 (分解); UV (pH1) m_{\max} 245nm ($=0.501 \times 10^4$), 314 (0.746×10^4); (pH6.9) 270 (0.265×10^4), 315 (0.612×10^4); (pH13) 272 (0.269×10^4), 314 (0.612×10^4); $^1\text{H NMR}$ 7.19 (s, 2H, NH_2 , D_2O で交換可能), 14.25 (br s, 1H, NH , D_2O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_5\text{F}_3^{35}\text{Cl}$ 237.0029, 測定値 237.0011; 計算値 m/z $\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_5\text{F}_3^{37}\text{Cl}$ 239.0000, 測定値 238.9987; 元素分析 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_5\text{F}_3\text{Cl}$) C, H, N, F, Cl.

実施例 2 3: O^6 - ベンジル - 8 - トリフルオロメチルグアニン (1e)

ナトリウム (0.10 g, 4.3 mmol) を 5 mL のベンジルアルコール中で、全てのナトリウムが反応するまで攪拌した。2 - アミノ - 6 - クロロ - 8 - トリフルオロメチルプリン (0.475 g, 2.0 mmol) を添加し、反応混合物を 135 の油浴中で 3.5 時間加熱した。ベンジルアルコールを減圧蒸留により除去することにより、褐色油を得た。この油を水 (50 mL) に溶解し、氷酢酸で酸性化することにより、淡黄色沈殿を得た。この沈殿を濾取し、水洗した。粗生成物を 2.5×3.5 cm のシリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425 メッシュ, 60) に充填した。溶出を 5% エタノール (クロロホルム溶液) で行うことにより、分析的に純粋な O^6 - ベンジル - 8 - トリフルオロメチルグアニン (1e) を得た。収量, 0.42g (67%); 融点 214-216 (分解); UV (pH1) m_{\max} 291nm ($=1.229 \times 10^4$); (pH6.9) 244 (0.470×10^4), 289 (1.023×10^4); (pH13) 247 (sh) (0.393×10^4), 290 (0.923×10^4); $^1\text{H NMR}$ 5.51 (s, 2H, ArCH_2), 6.82 (s, 2H, NH_2 , D_2O で交換可能), 7.38-7.55 (m, 5H, ArH), 13.75 (br s, 1H, NH , D_2O で交換可能); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_5\text{OF}_3$ 309.0837, 測定値 309.0827; 元素分析 ($\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_5\text{OF}_3$) C, H, N, F.

実施例 2 4: O^6 - ベンジル - 8 - トリフルオロメチル - 9 - メチルグアニン (7)

O^6 - ベンジル - 8 - トリフルオロメチルグアニン (1e) (200 mg, 0.65 mmol) に、アルゴン下で 1.0 M のナトリウムエトキシドのエタノール溶液 0.66 mL を添加した。この溶液を 10 分間攪拌し、エタノールを真空下にて除去した。残った固体を無水 DMF (1.5 mL) に溶解し、ヨウ化メチル (49 μL , 0.78 mmol) を

10

20

30

40

50

溶液に添加した。この溶液を室温にて1時間攪拌し、さらにDMF 1.5 mLを添加した。この溶液を室温にて一晩攪拌した。溶媒を減圧下にて留去した。粗製の固体を2.5 × 3.5 cmのシリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) に充填した。溶出をクロロホルム/ヘキサン (3:1) で行うことにより、分析的に純粋なO⁶-ベンジル-8-トリフルオロメチル-9-メチルグアニン (7) を得た。収量, 95mg (45%); 融点86-89; UV (pH1) λ_{\max} 244nm ($\epsilon=0.581 \times 10^4$), 286 (1.274×10^4); (pH6.9) 252 (0.608×10^4), 288 (1.022×10^4); (pH13) 252 (0.618×10^4), 288 (1.038×10^4); ¹H NMR 3.70 (s, 3H, CH₃), 5.51 (s, 2H, ArCH₂), 6.91 (s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 7.38-7.54 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値m/z C₁₄H₁₂N₅OF₃ 323.0994, 測定値323.0978; 元素分析 (C₁₄H₁₂N₅OF₃) C, H, N, F.

10

実施例 25: 8-アザ-O⁶-ベンジル-9-メチルグアニン (8a)

8-アザ-O⁶-ベンジルグアニン (0.484 g, 2.0 mmol) を0.5 Mのナトリウムエトキシドのエタノール溶液4 mLと混合し、30分間攪拌した。エタノールを減圧下にて留去した。残渣を無水DMF (6 mL) に溶解し、ヨウ化メチル (0.15 mL, 2.4 mmol) を添加した。透明な溶液が10分以内で濁り、得られた混合物を室温にて一晩攪拌した。DMFを減圧下にて留去することにより、褐色固体を得た。この固体をクロロホルムに溶解し、シリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) に充填した。生成物8aをクロロホルムで溶出した。収量, 138mg (27%); 融点178-179; UV (pH1) λ_{\max} 243nm (sh) ($\epsilon=0.556 \times 10^4$), 284 (1.112×10^4); (pH6.9) 243 (0.553×10^4), 290 (0.998×10^4); (pH13) 242 (0.549×10^4), 290 (1.010×10^4); ¹H NMR 3.96 (s, 3H, CH₃), 5.57 (s, 2H, ArCH₂), 7.18 (s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 7.38-7.57 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値m/z C₁₂H₁₂N₆O 256.1072, 測定値256.1086; 元素分析 (C₁₂H₁₂N₆O) C, H, N.

20

実施例 26: 8-アザ-O⁶-ベンジル-9-(ピバロイルオキシメチル)グアニン (8b) および8-アザ-O⁶-ベンジル-7-(ピバロイルオキシメチル)グアニン (9)

8-アザ-O⁶-ベンジルグアニン (0.484 g, 2.0 mmol) を0.5 Mのナトリウムエトキシドのエタノール溶液4 mLと混合し、30分間攪拌した。エタノールを減圧下にて留去した。残渣を無水DMF (6 mL) に溶解し、ピバル酸クロロメチル (0.3 mL, 2.1 mmol) を添加した。透明な溶液を室温にて8時間攪拌した。DMFを減圧下にて留去することにより、褐色固体を得た。この固体をクロロホルムに溶解し、シリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) に充填した。9-異性体 (8b) をカラムからクロロホルム/ヘキサン (4:1) で溶出し、続いて7-異性体 (9) をクロロホルムで溶出した。8-アザ-O⁶-ベンジル-9-(ピバロイルオキシメチル)グアニン (8b): 収量, 405mg (57%); 融点119-120; UV (pH1) λ_{\max} 246nm ($\epsilon=0.494 \times 10^4$), 286 (0.878×10^4); (pH6.9) 247 (0.472×10^4), 288 (0.819×10^4); (pH13) (8-アザ-O⁶-ベンジルグアニンに分解する); ¹H NMR 1.10 (s, 9H, C(CH₃)₃), 5.50 (s, 2H, ArCH₂), 6.31 (s, 2H, CH₂), 7.38 (s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 7.40-7.54 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値m/z C₁₇H₂₀N₆O₃ 356.1596, 測定値356.1578; 元素分析 (C₁₇H₂₀N₆O₃ · 1/5H₂O) C, H, N. 8-アザ-O⁶-ベンジル-7-(ピバロイルオキシメチル)グアニン (9): 収量, 103mg (15%); 融点153-154; UV (pH1) λ_{\max} 244nm ($\epsilon=0.820 \times 10^4$), 294 (1.249×10^4); (pH6.9) 250 (sh) (0.296×10^4), 313 (0.503×10^4); (pH13) (8-アザ-O⁶-ベンジルグアニンに分解する); ¹H NMR 1.12 (s, 9H, C(CH₃)₃), 5.56 (s, 2H, ArCH₂), 6.40 (s, 2H, CH₂), 7.04 (s, 2H, NH₂, D₂Oで交換可能), 7.4-7.58 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値m/z C₁₇H₂₀N₆O₃ 356.1596, 測定値356.1602; 元素分析 (C₁₇H₂₀N₆O₃).

30

40

実施例 27: O⁶-ベンジル-8-ブロモ-9-メチルグアニン (10a)

O⁶-ベンジル-9-メチルグアニン (0.252 g, 1.0 mmol) および炭酸水素ナトリウム (0.084 g, 1.0 mmol) をアルゴン下にて無水DMF (2 mL) に溶解した。臭素 (52 μL, 1.0 mmol) を前記溶液に添加し、得られた混合物を室温にて一晩攪拌した。溶媒を減圧下にて留去した。残渣をクロロホルムに溶解し、シリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) に充填した。生成物10a

50

をクロロホルムで溶出した。収量, 180mg (52%); 融点 150-152 ; UV (pH1) λ_{\max} 248nm ($\epsilon=0.753 \times 10^4$), 292 (1.398×10^4); (pH6.9) 251 (0.919×10^4), 287 (1.306×10^4); (pH13) 251 (0.906×10^4), 287 (1.296×10^4); $^1\text{H NMR}$ 3.53 (s, 3H, CH_3), 5.47 (s, 2H, ArCH_2), 6.61 (s, 2H, NH_2 , D_2O で交換可能), 7.35-7.52 (m, 5H, ArH); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}^{79}\text{Br}$ 333.0225, 測定値 333.0228; 計算値 m/z $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}^{81}\text{Br}$ 335.0205, 測定値 335.0188; 元素分析 ($\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{OBr}$) C, H, N, Br.

実施例 28: O^6 -ベンジル-8-ブロモ-9-(ピバロイルオキシメチル)グアニン(10b)および O^6 -ベンジル-8-ブロモ-7-(ピバロイルオキシメチル)グアニン(11)

O^6 -ベンジル-8-ブロモグアニン (Chae et al., J. Med. Chem., 38, 342-347 (1995)) (0.48g, 1.5mmol) を 1.0M のナトリウムエトキシドのエタノール溶液 1.5mL と混合し、20分間攪拌した。エタノールを減圧下にて留去し、残渣の固体を DMF (5mL) に溶解した。それからピバル酸クロロメチル (0.24mL, 1.65mmol) を添加し、この溶液を一晩攪拌した。DMF を減圧下にて留去した。残渣をクロロホルムに溶解し、クロロホルムで溶出させるシリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) に充填した。9-異性体(10b)はクロロホルムで7-異性体より早く溶出し、10bをこれらの条件下で純粋な形態で回収した。 O^6 -ベンジル-8-ブロモ-9-(ピバロイルオキシメチル)グアニン(10b): 収量, 150mg (23%); 融点 217-218 ; UV (pH1) λ_{\max} 250nm ($\epsilon=0.944 \times 10^4$), 291 (1.166×10^4); (pH6.9) 266 (0.916×10^4), 295 (0.916×10^4); (pH13) O^6 -ベンジル-8-ブロモグアニンに分解する; $^1\text{H NMR}$ 1.13 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 5.48 (s, 2H, ArCH_2), 5.93 (s, 2H, CH_2), 6.80 (s, 2H, NH_2 , D_2O で交換可能), 7.35-7.52 (m, 5H, ArH). MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3^{79}\text{Br}$ 433.0750, 測定値 433.0725; 計算値 m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3^{81}\text{Br}$ 435.0729, 測定値 435.0672; 元素分析 ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3\text{Br}$) C, H, N, Br. 回収した7-異性体(11)を、初めにクロロホルム/ヘキサン(1:1)で、続いてクロロホルムで溶出するシリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) で再びクロマトグラフィー処理することにより、 O^6 -ベンジル-8-ブロモ-7-(ピバロイルオキシメチル)グアニン(11)を回収した。

実施例 29: O^6 -ベンジル-7-(ピバロイルオキシメチル)グアニン(12)

O^6 -ベンジルグアニン (2.41g, 10mmol) を 1.0M のナトリウムエトキシドのエタノール溶液 10mL と混合し、30分間攪拌した。エタノールを減圧下にて留去した。残渣を無水 DMF (30mL) に溶解し、ピバル酸クロロメチル (Aldrich) (1.5mL, 10.4mmol) を添加した。透明な溶液を室温にて一晩攪拌した。DMF を減圧下にて留去することにより、淡い桃色がかった固体を得た。この固体をクロロホルム/エタノール(9:1)に溶解し、シリカゲルカラム (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) に充填した。カラムをクロロホルム/エタノール(9:1)で溶出することにより、9-異性体 (Chae et al., J. Med. Chem., 37, 342-347 (1994)) に続いて、7-異性体が溶出した。7-異性体(12)を、溶出液としてクロロホルム/エタノール(98:2)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Davisil grade 633, 200-425メッシュ, 60) によりさらに精製した。収量, 36mg (1%); 融点 166-168 (分解); UV (pH1) λ_{\max} 240nm (sh) ($\epsilon=0.656 \times 10^4$), 290 (1.164×10^4); (pH6.9) 240 (sh) (0.635×10^4), 293 (0.528×10^4); (pH13) O^6 -ベンジルグアニンに分解する; $^1\text{H NMR}$ 0.98 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 5.51 (s, 2H, ArCH_2), 6.07 (s, 2H, CH_2), 6.32 (s, 2H, NH_2 , D_2O で交換可能), 7.36-7.58 (m, 5H, ArH), 8.25 (s, 1H, H-8); MS (EI) 計算値 m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_3$ 355.1644, 測定値 355.1626.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/522 (2006.01)

A 6 1 K 31/522

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 0 7 D 239/47 (2006.01)

C 0 7 D 239/47 Z

C 0 7 D 251/52 (2006.01)

C 0 7 D 251/52

C 0 7 D 487/04 (2006.01)

C 0 7 D 487/04 1 4 6

A 6 1 K 31/505 (2006.01)

A 6 1 K 31/505

A 6 1 K 31/53 (2006.01)

A 6 1 K 31/53

(73)特許権者

ザ ペン ステート リサーチ ファウンデーション、インコーポレイティッド
 アメリカ合衆国、イリノイ州 1 6 8 0 2、ユニヴァーシティ パーク、テクノロジー センター
 、 1 1 3

(74)上記1名の代理人

弁理士 高島 一

(72)発明者 モシエル、ロバート スィー .

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 1 7 0 2、フレデリック、グレンデイル ドライヴ、8 2 0
 4

(72)発明者 ペッグ、アンソニー イー .

アメリカ合衆国、ペンシルヴァニア州 1 7 0 3 3、ハーシェイ、ブラウNSTON ドライヴ、
 9

(72)発明者 ドラン、エム . アイリーン

アメリカ合衆国、イリノイ州 6 0 3 0 4、オーク パーク、エス . イースト アヴェニュー、8
 2 1

(72)発明者 ツェ、ミ - ヨン

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 1 7 0 2、フレデリック、トニー アヴェニュー、1 4 1
 8 エイチ、アパートメント 2 0 3

審査官 中木 亜希

(56)参考文献 国際公開第 9 2 / 0 2 0 7 0 2 (WO , A 1)

J.Med.Chem., 1 9 9 4 年 2 月 4 日, Vol.37, No.3, p.342-347

J.Med.Chem., 1 9 9 2 年, Vol.35, p.4486-4491

Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 1 9 9 2 年, Vol.31, No.10, p.7
 93-800

Tetrahedron Letters, 1 9 8 6 年, Vol.27, No.7, p.877-880

Synthetic Communications, 1 9 8 9 年, Vol.19, No.18, p.3121-3128

J.Med.Chem., 1 9 9 2 年, Vol.35, No.16, p.2958-2969

J.Am.Chem.Soc., 1 9 6 5 年, Vol.87, No.16, p.3752-3759

J.Org.Chem., 1 9 9 4 年 9 月 2 3 日, Vol.59, No.19, p.5767-5773

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D473/

C07H 19/16 - 19/173

A61K 31/

REGISTRY(STN)

CAplus(STN)

CAOLD(STN)