

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4745971号
(P4745971)

(45) 発行日 平成23年8月10日 (2011. 8. 10)

(24) 登録日 平成23年5月20日 (2011. 5. 20)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 231/12 (2006. 01)

C O 7 D 231/12 C S P C

C O 7 D 403/10 (2006. 01)

C O 7 D 231/12 E

C O 7 D 403/06 (2006. 01)

C O 7 D 403/10

A 6 1 K 31/415 (2006. 01)

C O 7 D 403/06

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

A 6 1 K 31/415

請求項の数 22 (全 38 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2006-534245 (P2006-534245)
 (86) (22) 出願日 平成16年10月4日 (2004. 10. 4)
 (65) 公表番号 特表2007-527408 (P2007-527408A)
 (43) 公表日 平成19年9月27日 (2007. 9. 27)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2004/032723
 (87) 国際公開番号 W02005/044130
 (87) 国際公開日 平成17年5月19日 (2005. 5. 19)
 審査請求日 平成19年9月27日 (2007. 9. 27)
 (31) 優先権主張番号 60/508, 619
 (32) 優先日 平成15年10月3日 (2003. 10. 3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/509, 814
 (32) 優先日 平成15年10月8日 (2003. 10. 8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 504325287
 ザ オハイオ ステート ユニバーシティ
 ー リサーチ ファウンデーション
 アメリカ合衆国 オハイオ 43210,
 コロンバス, ケニー ロード 196
 O
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

前置審査

最終頁に続く

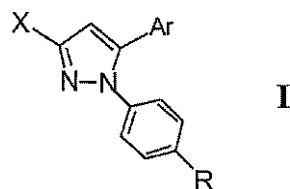
(54) 【発明の名称】 PDK-1/Aktシグナル伝達インヒビター

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I の化合物

【化 1】



10

またはそれらの薬学的に受容可能な塩であって、
 ここで、

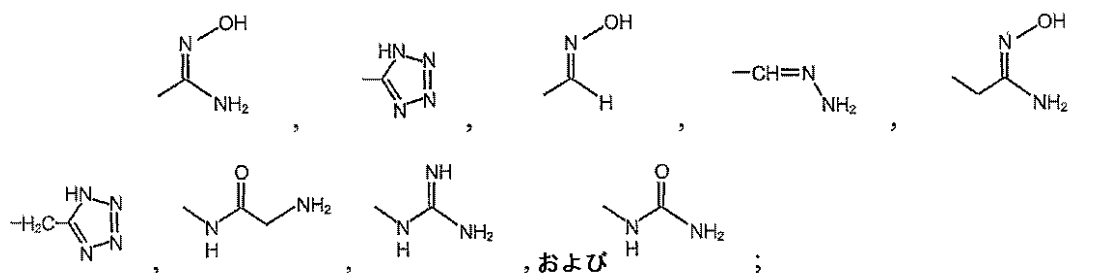
X はアルキルおよびハロアルキルからなる群より選択され；

Ar は、フェニル、ピフェニル、ナフチル、アントリル、フェナントレニル、およびフル
 オレニルからなる群より選択され、Ar は、非置換であるかまたはハロ、C₁ ~ C₄ アル
 キル、C₁ ~ C₄ ハロアルキル、アジド、C₁ ~ C₄ アジドアルキル、アリール、アルキ
 ルアリール、ハロアリール、ハロアルキルアリール、およびそれらの組み合わせからなる
 群より選択される 1 個以上のラジカルで、任意の適切な位置において置換されており；

R は、

20

【化 2】

$$-\text{CH}_2\text{CN}, -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}, -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN},$$


10

からなる群より選択される、化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の化合物であって、ここで X は $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ ハロアルキルである、化合物。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の化合物であって、ここで X は CF_3 である、化合物。

【請求項 4】

請求項 1 に記載の化合物であって、ここで Ar は 2 - ナフチル、4 - ビフェニル、9 - アントリル、2 - フルオレニル、4 - アジドフェニル、4 - アジドメチルフェニル、4 - (2 - アジドエチル) フェニル、4 - (3 - アジドプロピル) フェニル、4 - (4 - アジドブチル) フェニル、4 - (4 - アジドフェニル) フェニル、4 - (4 - アジドメチルフェニル) フェニル、4 - メチルフェニル、4 - エチルフェニル、4 - プロピルフェニル、4 - ブチルフェニル、4 - (2 - プロモエチル) フェニル、4 - (3 - プロモプロピル) フェニル、4 - (4 - プロモブチル) フェニル、4 - (トリフルオロメチル) フェニル、4 - (4 - メチルフェニル) フェニル、4 - (4 - プロモメチルフェニル) フェニル、4 - (4 - ブチルフェニル) フェニル、4 - (4 - tert - ブチルフェニル) フェニル、2 - クロロフェニル、4 - クロロフェニル、2, 4 - ジクロロフェニル、3, 4 - ジクロロフェニル、2, 5 - ジクロロフェニル、2, 4 - ジメチルフェニル、2, 5 - ジメチルフェニル、3, 4 - ジメチルフェニル、3, 5 - ジメチルフェニル、4 - (4 - クロロフェニル) フェニル、4 - (3, 5 - ジクロロフェニル) フェニル、4 - (2, 3 - ジクロロフェニル) フェニル、4 - (3, 5 - ジメチルフェニル) フェニル、4 - (2, 4, 5 - トリクロロフェニル) フェニル、4 - (4 - トリフルオロメチルフェニル) フェニル、2 - フェナントレニル、3 - インドリル、2 - ピロリル、4 - (ベンジル) フェニル、4 - t - ブチルフェニル、9H - フルオレン - 2 - イル、および 9 - フェナントレニルからなる群より選択される、化合物。

20

30

【請求項 5】

請求項 4 に記載の化合物であって、ここで Ar は、2 - フェナントレニルである、化合物。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の化合物であって、ここで R はアミノアセタミドおよびグアニジンから選択される、化合物。

40

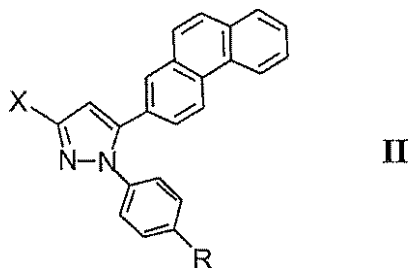
【請求項 7】

請求項 1 に記載の化合物であって、ここで X は CF_3 であり、Ar は 2 - フェナントレニルであり、そして R はアミノアセタミドおよびグアニジンから選択される、化合物。

【請求項 8】

式 I I の化合物

【化 3】

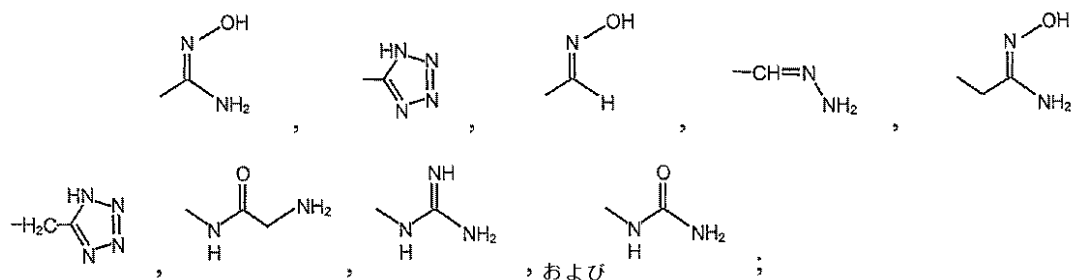


10

またはそれらの薬学的に受容可能な塩であって、
Xはアルキルおよびハロアルキルからなる群より選択され；
Rは、

【化 4】

-CN, -CH₂CN, -CH₂CH₂CN, -CH₂CH₂CH₂CN,



20

からなる群より選択される、化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の化合物であって、ここで X は C₁ ~ C₄ ハロアルキルである、化合物。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の化合物であって、ここで X は CF₃ である、化合物。

【請求項 11】

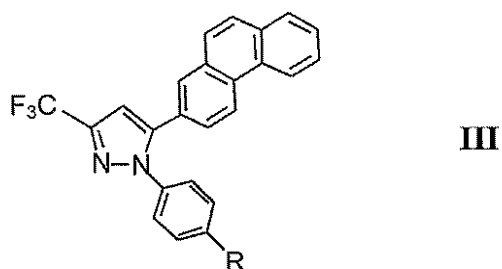
30

請求項 8 に記載の化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩であって、ここで R はアミノアセタミドおよびグアニジンから選択される、化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩。

【請求項 12】

式 III の化合物

【化 5】

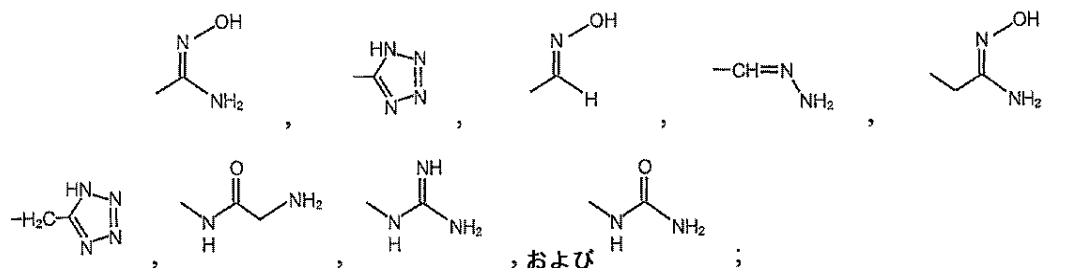


40

またはそれらの薬学的に受容可能な塩であって、
Rは、

【化 6】

-CN, -CH₂CN, -CH₂CH₂CN, -CH₂CH₂CH₂CN,



10

からなる群より選択さる、化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩。

【請求項 1 3】

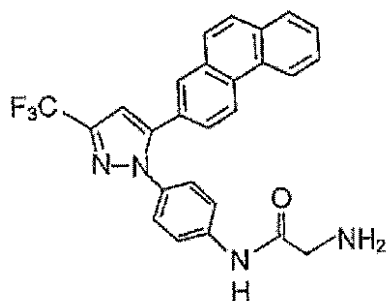
請求項 1 2 に記載の化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩であって、ここで R はアミノアセタミドおよびグアニジンから選択される、化合物またはそれらの薬学的に受容可能な塩。

【請求項 1 4】

式 I V の化合物

【化 7】

20



IV

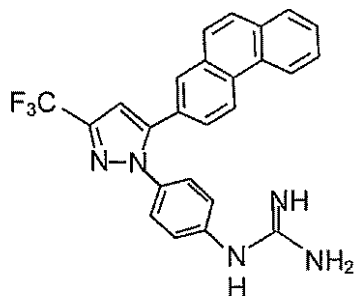
30

またはその薬学的に受容可能な塩。

【請求項 1 5】

式 V の化合物

【化 8】



V

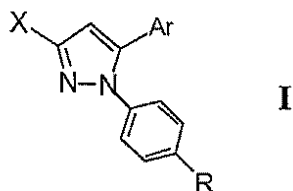
40

またはその薬学的に受容可能な塩。

【請求項 1 6】

所望されない急速に増殖する細胞においてアポトーシスを誘導するための組成物であって、該組成物は、式 I の化合物

【化 9】



またはそれらの薬学的に受容可能な塩を含有し、
ここで、

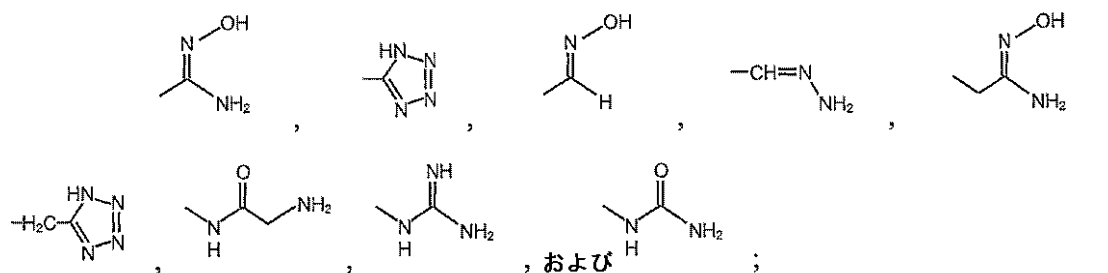
Xは、アルキルおよびハロアルキルからなる群より選択され；

A r は、フェニル、ピフェニル、ナフチル、アントリル、フェナントレニル、およびフルオレニルからなる群より選択され、A r は、非置換であるかまたは ハロ、C₁ ~ C₄ アルキル、C₁ ~ C₄ ハロアルキル、アジド、C₁ ~ C₄ アジドアルキル、アリール、アルキルアリール、ハロアリール、ハロアルキルアリール、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される 1 個以上のラジカルで、任意の適切な位置において置換されており；

R は、

【化 1 0】

-CN, -CH₂CN, -CH₂CH₂CN, -CH₂CH₂CH₂CN,



からなる群より選択される、組成物。

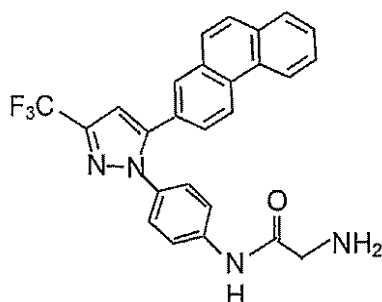
【請求項 17】

請求項 1 6 に記載の組成物であって、ここで、前記急速に増殖する細胞は癌細胞であり、ここで、該癌は、白血病、非小細胞肺癌、結腸癌、中枢神経系の癌、黒色腫、卵巣癌、腎臓癌、前立腺癌、および乳癌からなる群より選択される、組成物。

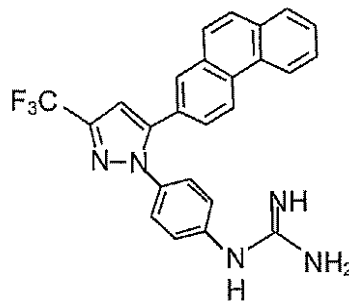
【請求項 18】

請求項 16 に記載の組成物であって、ここで、前記化合物は、化合物 I V および V

【化 1 1】



IV



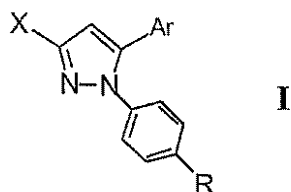
V

またはそれらの組み合わせ、またはそれらの薬学的に受容可能な塩からなる群より選択される、組成物。

【請求項 19】

癌の発生の処置、阻止、または遅延が必要な被験体において、癌の発生を処置、阻止、または遅延するための組成物であって、該癌は、白血病、非小細胞肺癌、結腸癌、中枢神経系の癌、黒色腫、卵巣癌、腎臓癌、前立腺癌、および乳癌からなる群より選択され、該組成物は式 I の化合物

【化 12】



10

またはそれらの薬学的に受容可能な塩の治療有効量を含有し、ここで、

X はアルキルおよびハロアルキルからなる群より選択され；

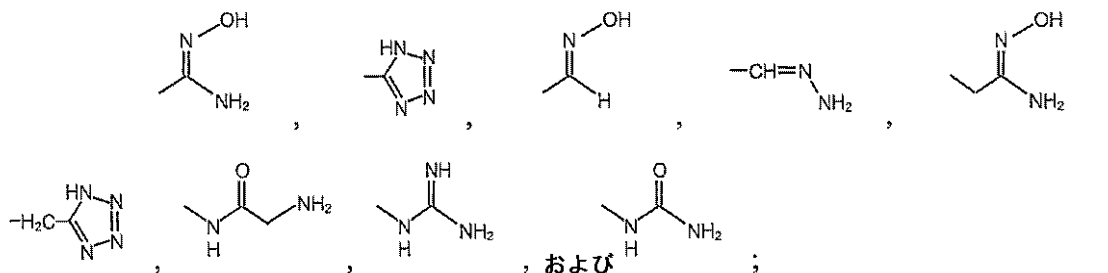
Ar はフェニル、ピフェニル、ナフチル、アントリル、フェナントレニル、およびフルオレニルからなる群より選択され、Ar は、非置換であるかまたはハロ、 $C_1 \sim C_4$ アルキル、 $C_1 \sim C_4$ ハロアルキル、アジド、 $C_1 \sim C_4$ アジドアルキル、アリール、アルキルアリール、ハロアリール、ハロアルキルアリール、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される 1 個以上のラジカルで、任意の適切な位置において置換されており；

20

R は、

【化 13】

$-\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$,



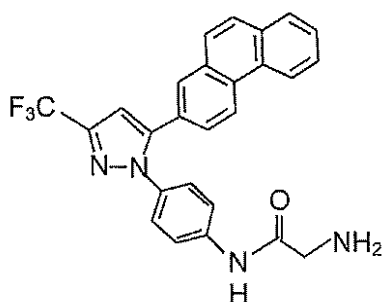
30

からなる群より選択される、組成物。

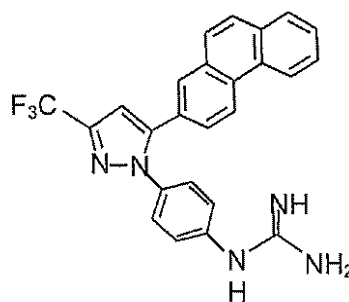
【請求項 20】

請求項 19 に記載の組成物であって、ここで、前記化合物は、化合物 IV および V

【化 14】



IV



V

40

またはそれらの組み合わせ、またはそれらの薬学的に受容可能な塩から選択される、組成

50

【請求項 2 1】

【請求項 2 2】

【化 1 5】



20

【化 1 6】



【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

40

【 0 0 0 2 】

50

において一定の権利を有し得る。

【背景技術】

【 0 0 0 3 】

(発明の背景)

ホスホイノシチド (P I) 3 - キナーゼ / P D K - 1 / A k t シグナル伝達カスケードは、細胞の増殖および生存を調節する、多血に対するレセプターチロシンキナーゼおよびサイトカイン媒介性経路の収束点を表し、そして細胞の生存を維持する多くの細胞外の栄養因子の能力を説明するフレームワークを提供する。構成的成長因子—レセプター活性および / または P T E N 模倣 (i m i t a t i o n) に起因するこのシグナル伝達カスケードの調節異常によって、A k t がアップレグレーションを引き起こして、次いで腫瘍の浸潤性、血管形成、および進行を促進する。従って、P D K - 1 / A k t シグナル伝達インヒビターは、有用な化学療法剤または化学予防剤の開発に関係すると言い換えられる。潜在的 P D K - 1 / A k t シグナル伝達インヒビターである、新しい化合物を開発する必要性が存在する。さらに、P D K - 1 / A k t シグナル伝達阻害に基づく化学療法剤および化学予防剤を開発する必要性が存在する。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

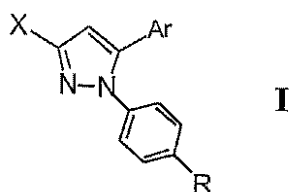
【 0 0 0 4 】

(発明の要旨)

式 I の化合物

【 0 0 0 5 】

【化 1 7】

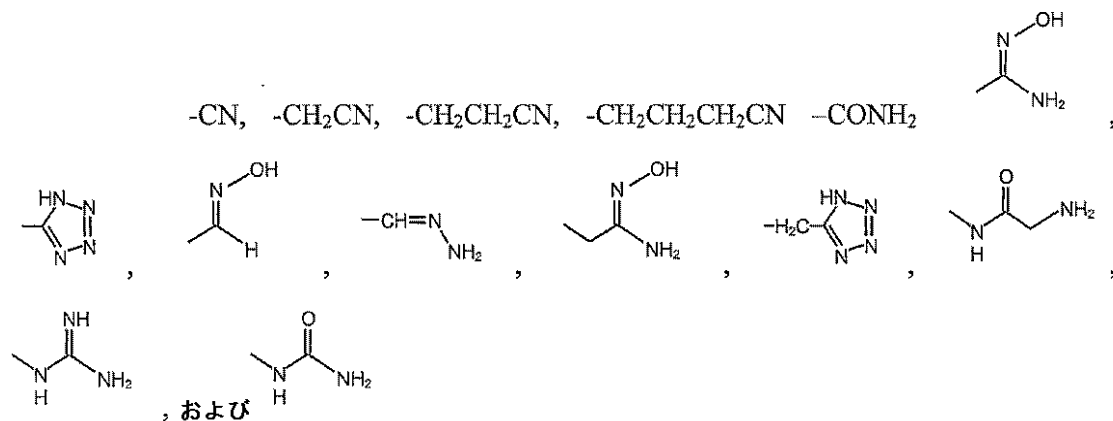


が提供され、

ここで、Xはアルキルおよびハロアルキルから選択され；Arはフェニル、ピフェニル、ナフチル、アントリル、フェナントリル、およびフルオレニルからなる群より選択され；Rは、

【 0 0 0 6 】

【化 1 8】



から選択される。式 I はまた、その薬学的に受容可能な塩、代謝産物またはそれらのプロドラッグを含む。

(発明の詳細な説明)

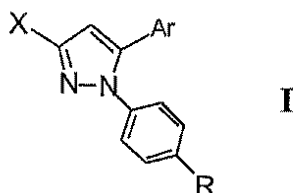
新しいクラスの P D K - 1 / A k t シグナル伝達インヒビターが提供される。本明細書で記述する化合物は、癌細胞のような所望されない増殖細胞におけるアポトーシスを誘導するのに有用である。本明細書で記述する化合物はまた、創傷治癒の促進および瘢痕の予防に有用である。本明細書で記述する化合物はさらに、再狭窄を予防するのに適用される。本明細書で記述する化合物はさらに、臓器移植に適用される。

【 0 0 0 7 】

本明細書で記述する化合物は、一般式 I

【 0 0 0 8 】

【 化 1 9 】



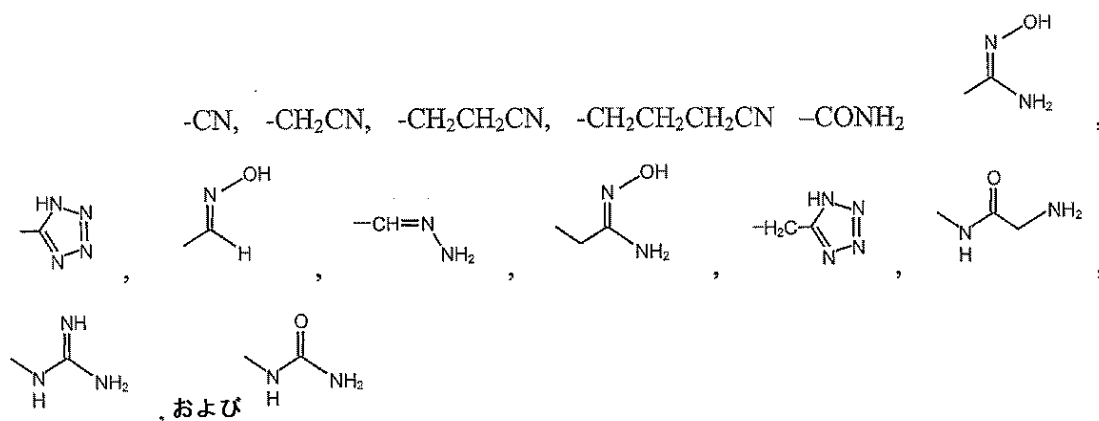
で示され得、

ここで、X はアルキルおよびハロアルキルから選択され；

Ar は、フェニル、ピフェニル、ナフチル、アントリル、フェナントリル、およびフルオレニルからなる群より選択され；R は、

【 0 0 0 9 】

【 化 2 0 】



からなる群より選択される。別な方法で記述すると、R は、ニトリル、アセトニトリル、エチルニトリル、プロピルニトリル、カルボキシアミド、アミジン、ピラゾール、オキシム、ヒドラゾン、アセトアミジン、アセタミド、グアニジン、および尿素から選択される。式 I はまた、それらの薬学的に受容可能な塩、代謝産物、およびそれらのプロドラッグを含む。

【 0 0 1 0 】

いくつかの実施形態では、X は C₁ ~ C₄ ハロアルキルである。いくつかの実施形態では、X は C F₃ である。いくつかの実施形態では、Ar は、任意の置換し得る位置で、ハロ、C₁ ~ C₄ アルキル、C₁ ~ C₄ ハロアルキル、アジド、C₁ ~ C₄ アジドアルキル、アリール、アルキルアリール、ハロアリール、ハロアルキルアリール、およびそれらの組み合わせのような、ただしこれらに限定されない 1 個以上のラジカルで置換され得る。いくつかの実施形態では、Ar は 2 - ナフチル、4 - ピフェニル、9 - アントリル、2 - フルオレニル、4 - アジドフェニル、4 - アジドメチルフェニル、4 - (2 - アジドエチル) フェニル、4 - (3 - アジドプロピル) フェニル、4 - (4 - アジドブチル) フェニル、4 - (4 - アジドフェニル) フェニル、4 - (4 - アジドメチルフェニル) フェニル、4 - メチルフェニル、4 - エチルフェニル、4 - プロピルフェニル、4 - ブチルフェニ

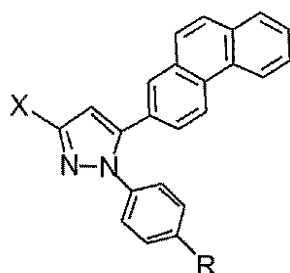
ル、4 - (2 - プロモエチル) フェニル、4 - (3 - プロモプロピル) フェニル、4 - (4 - プロモブチル) フェニル、4 - (トリフルオロメチル) フェニル、4 - (4 - メチルフェニル) フェニル、4 - (4 - プロモメチルフェニル) フェニル、4 - (4 - ブチルフェニル) フェニル、4 - (4 - t e r t - ブチルフェニル) フェニル、2 - クロロフェニル、4 - クロロフェニル、2 , 4 - ジクロロフェニル、3 , 4 - ジクロロフェニル、2 , 5 - ジクロロフェニル、2 , 4 - ジメチルフェニル、2 , 5 - ジメチルフェニル、3 , 4 - ジメチルフェニル、3 , 5 - ジメチルフェニル、4 - (4 - クロロフェニル) フェニル、4 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) フェニル、4 - (2 , 3 - ジクロロフェニル) フェニル、4 - (3 , 5 - ジメチルフェニル) フェニル、4 - (2 , 4 , 5 - トリクロロフェニル) フェニル、4 - (4 - トリフルオロメチルフェニル) フェニル、2 - フェナントレニル、3 - インドリル、2 - ピロリル、および 4 - (ベンジル) フェニルから選択される。いくつかの実施形態では、A r は 4 - (2 - プロモエチル) フェニル、4 - (3 - プロモプロピル) フェニル、4 - (2 - アジドエチル) フェニル、4 - (3 - アジドプロピル) フェニル、4 - ブチルフェニル、4 - t - ブチルフェニル、2 - ナフタレニル、3 - インドリル、4 - ビフェニルイル、4 ' - クロロ [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、3 ' , 5 ' - ジクロロ [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、2 ' , 3 ' - ジクロロ [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、4 ' - メチル [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、4 ' - トリフルオロメチル [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、4 ' - プロモメチル [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、3 ' , 5 ' - ジメチル [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、4 ' - ブチル [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、4 ' - t e r t - ブチル [1 , 1 ' - ビフェニル] - 4 - イル、4 - (フェニルメチル) フェニル、9 H - フルオレン - 2 - イル、9 - アントラセニル、2 - フェナントレニル、9 - フェナントレニルから選択される。いくつかの実施形態では、A r は 2 - フェナントレニルである。いくつかの実施形態では、R はアミノアセタミドおよびグアニジンから選択される。

【 0 0 1 1 】

本明細書で記述される別の実施形態は、式 I I

【 0 0 1 2 】

【 化 2 1 】



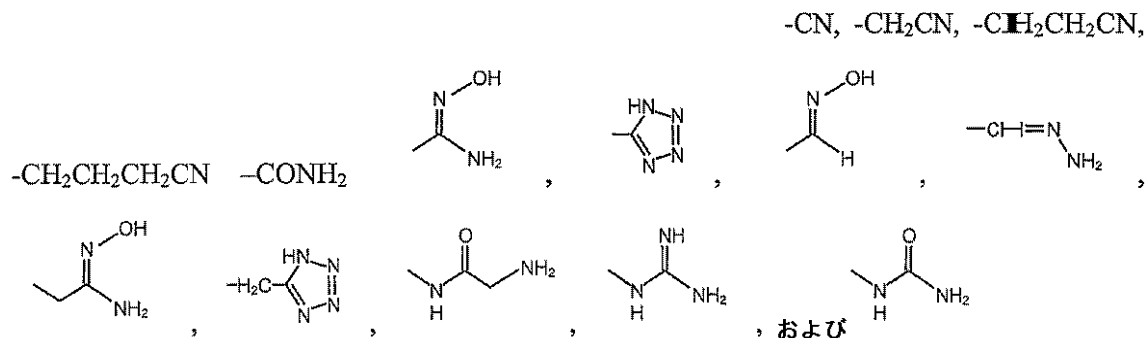
II

の実施形態であり、

ここで X はアルキルおよびハロアルキルから選択され； R は

【 0 0 1 3 】

【化 2 2】



から選択され、または別の方法で記述すると、Rは、ニトリル、アセトニトリル、エチルニトリル、プロピルニトリル、カルボキシアミド、アミジン、ピラゾール、オキシム、ヒドラゾン、アセトアミジン、アセタミド、グアニジン、および尿素から選択される。いくつかの実施形態では、XはC₁ ~ C₄ ハロアルキルであり、そしていくつかの実施形態では、XはCF₃である。いくつかの実施形態では、Rはアミノアセタミドまたはグアニジンである。式IIはまた、それらの薬学的に受容可能な塩、それらの代謝産物、およびそれらのプロドラッグを含む。

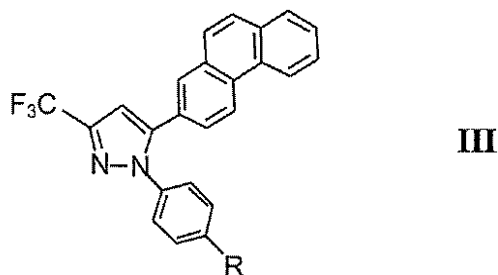
【0014】

本明細書で記述される別の実施形態は、式III

20

【0015】

【化 2 3】



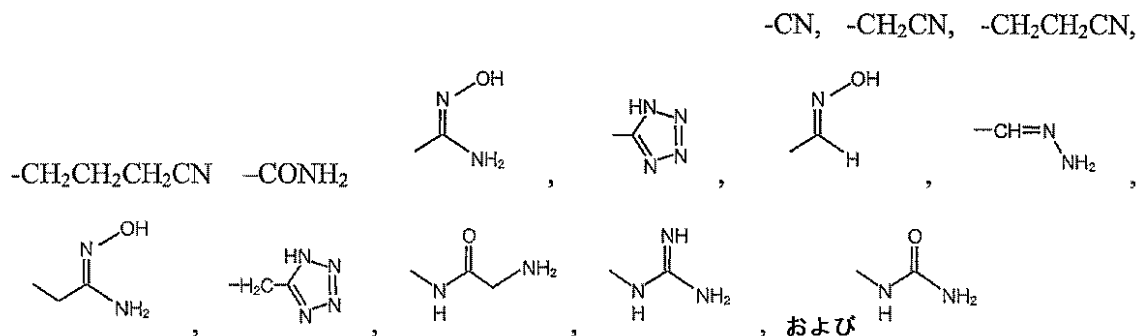
30

の実施形態であり、

ここでRは

【0016】

【化 2 4】



からなる群から選択され、または別の方法で記述すると、Rは、ニトリル、アセトニトリル、エチルニトリル、プロピルニトリル、カルボキシアミド、アミジン、ピラゾール、オキシム、ヒドラゾン、アセトアミジン、アセタミド、グアニジン、および尿素から選択される。いくつかの実施形態では、Rはアミノアセタミドまたはグアニジンである。式IIIはまた、それらの薬学的に受容可能な塩、それらの代謝産物、およびそれらのプロドラッグを含む。

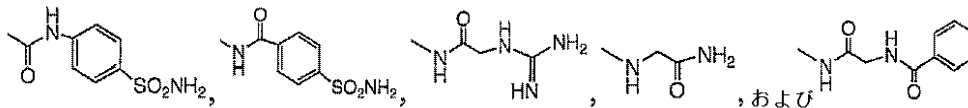
50

【 0 0 1 7 】

式 I I I のいくつかのさらなる化合物は R に関して次の基を含む：

【 0 0 1 8 】

【 化 2 5 】

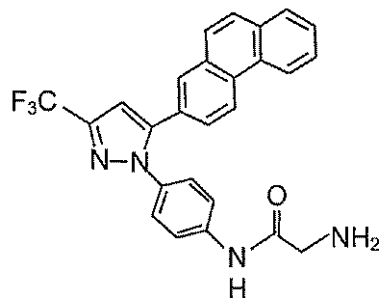


別の実施形態では、上記化合物は式 I V または V の化合物である：

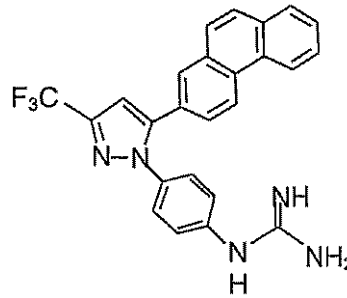
10

【 0 0 1 9 】

【 化 2 6 】



IV



V

20

式 I ~ V の化合物を使用して、処置の必要な被験体において所望しない増殖細胞におけるアポトーシスを誘導する方法もまた提供される。上記方法は、治療有効量の式 I ~ V の化合物またはその誘導体、代謝産物、もしくは薬学的に受容可能な塩を用いてそのような処置を必要とする上記被験体を処置する工程を包含する。

【 0 0 2 0 】

本明細書で記述する化合物および方法は、癌の発生を処置、阻止、または遅延するために有用であるが、これらに限定されない。上記化合物および方法はまた、前癌および所望しない細胞増殖についての他の発症を処置するのに有用である。式 I、I I、I I I、I V もしくは V の化合物、またはそれらの組み合わせは、所望しない細胞増殖により特徴付けられた障害と診断された、または所望しない細胞増殖により特徴付けられた障害を発症する危険のある被験体に投与される。上記化合物および方法は、癌（白血病、黒色腫、非小細胞肺癌、結腸癌、中枢神経系の癌、卵巣癌、乳癌、腎臓癌、および前立腺癌が挙げられるがこれらに限定されない）を処置するために有用である。さらに、それらは、前癌を有する個体およびこれらの障害を受けやすいまたはこれらの障害に対する遺伝的な素因を有する個体において、これらの癌の成長を遅くするのに有用である。

30

【 0 0 2 1 】

上記化合物は、所望されない急速に増殖する細胞におけるアポトーシスを誘導する方法において有用であり、この方法は、所望されない急速に増殖する細胞に、式 I、I I、I I I、I V、または V の化合物の治療有効量を導入する工程を包含する。上記癌細胞は、白血病、黒色腫、非小細胞肺癌、結腸癌、中枢神経系の癌、卵巣癌、乳癌、腎臓癌、および前立腺癌からなる群より選択され得る。

40

【 0 0 2 2 】

上記化合物はさらに、血管形成術またはステント法を受けた被験体において再狭窄を予防するのに有用である。この予防は、血管形成術またはステント法を受けた被験体に式 I、I I、I I I、I V、もしくは V の化合物、またはこれらの組み合わせ、またはこれらの薬学的に受容可能な塩および/もしくは代謝産物を投与する工程を包含する。

【 0 0 2 3 】

50

本明細書で使われる以下の用語は、次の定義を含むが、これらに限定されない。

【 0 0 2 4 】

用語「PDK - 1 / Aktシグナル伝達インヒビター」は、特定の化合物または化合物の組み合わせが、インピボであるかインピトロであるかに関わらず、ブランクに対して測定したとき、PDK - 1 / Aktシグナル伝達経路を崩壊できること、を意味する。一つの方法が以下の実施例で記述されるが、現在公知であるかまたは今後開発される他の方法もまた使用され得る。

【 0 0 2 5 】

本明細書で使用される用語「処置」は、状態の予防もしくは管理、および／または状態の治療 (r e m e d y) を提供するための、本明細書で記述される 1 種以上の化合物の被験体への投与および／または適用を包含する。本開示の目的のための「処置」は、治療を提供し得るが、提供しなくてもよい。むしろ、「処置」は、上記状態の管理の形態であり得る。本明細書で記述される化合物が、癌を含む、所望されない増殖細胞を処置するために使用されるとき、「処置」は、正常細胞への破壊的影響が最小限な状態での、所望されない増殖細胞の部分的または全体破壊を含む。癌を含む、所望されない急速に増殖する細胞の処置の細胞レベルでの所望する機序は、アポトーシスである。

10

【 0 0 2 6 】

本明細書で使用される用語「予防」は、全体として、臨床的に明白な所望されない細胞増殖の開始を予防することか、もしくは遅くすること、または危険を有する個体における所望されない急速な細胞増殖の前臨床的に明白な段階の開始を予防することかもしくは遅くすること、のいずれかを含む。この定義にはまた、悪性細胞の転移の予防もしくは遅延、または悪性細胞の進行を抑止することもしくは逆転することを含むことが意図される。これは、前癌および癌を発症する危険のある被験体の予防的な処置を含む。この定義にはまた、血管形成術またはステント法を受けた被験体における再狭窄の予防または減速が含まれる。

20

【 0 0 2 7 】

用語「治療的に有効な」および「薬学的に有効な」は、本明細書で記述される化合物での処置の間にわたって、疾患の重傷度および発生頻度の改善という目標を達成する、各々の薬剤の量を定めることを意図する。治療的に有効な量または薬学的に有効な量は、当業者によって簡単に決定され得る。

30

【 0 0 2 8 】

処置のための、用語「被験体」には、所望されない急速な細胞増殖により特徴付けられる障害と診断されたか、所望されない急速な細胞増殖により特徴付けられる障害の症状を有するか、または所望されない急速な細胞増殖により特徴付けられる障害の危険がある、任意のヒトまたは動物が含まれる。そのような障害として癌および前癌が挙げられるが、これらに限定されない。予防の方法に関して、上記被験体は任意のヒト被験体または動物被験体である。説明すると、予防の目的に関して、被験体は、癌のような所望されない急速な細胞増殖により特徴付けられる障害の危険にあるか、または癌のような所望されない急速な細胞増殖により特徴付けられる障害を遺伝的に獲得しやすいヒト被験体であり得る。上記被験体は、発癌因子への暴露、所望されない急速な細胞増殖により特徴付けられる障害を遺伝的に受けやすいことなどに起因して危険を有し得る。ヒトの処置のために有用である以外に、本明細書で記述される化合物はまた、哺乳動物の獣医学的処置のために有用である。これらの哺乳動物として、コンパニオン動物および家畜、例えば、これらに限定されないが、犬、猫、馬、牛、羊、および豚が挙げられる。

40

【 0 0 2 9 】

(投薬量および投与)

動物による予備試験により、これらの化合物は経口的に吸収され得、TGIより数倍高い平均血清濃度を生じ、そしてより重要なことに1ヶ月間の毎日の経口投与後、動物に対しほとんど毒性を生じないことが分かった(データは示されない)。

【 0 0 3 0 】

50

本発明の化合物は、経口投与用に錠剤、カプセル、またはエリキシルのような適切な医薬品、または非経口投与用に無菌溶液または無菌懸濁液に処方され得る。本明細書で記述される治療剤は、当該分野で周知の技術および手順を使用して医薬組成物に処方され得る。

【0031】

本明細書で記述される PDK - 1 / Akt シグナル伝達インヒビターは、生理学的に受容可能なビヒクル、キャリア、賦形剤、結合剤、防腐剤、安定剤、香味料など、受容された薬学的実施により要求されるような単位服用形態で調合される。それらの組成物または製剤における活性物質の量は、示された範囲における適切な投薬量が得られるような量である。いくつかの実施形態では、上記投薬量は、PDK - 1 / Akt シグナル伝達インヒビターで 0.1 ~ 1000 mg の間であり得る。いくつかの実施形態では、上記組成物は、単位投薬形態で処方され得、各々の投薬量は 1 ~ 500 mg である。他の実施形態では、上記投薬量は、活性成分の 10 ~ 100 mg であり得る。用語「単位投薬形態」は、ヒト被験体および他の哺乳動物に対する単位投薬として適切な物理的に不連続な単位をいう。各単位は、適切な薬学的賦形剤と関連して、所望の治療効果を生み出すように計算された活性物質の所定の量を含む。上記投薬量は、多くの要因、例えば、被験体の年齢およびサイズ、処置されている状態、状態の重傷度、および当業者に公知の他の要因に依存する。それらの要因を考慮して、投薬量は、当業者により決定され得る。

10

【0032】

組成物を調製するために、本発明の方法において使用される治療剤の 1 種以上が適切な薬学的に受容可能なキャリアと混合される。上記治療剤の混合または添加後、得られた混合物は溶液、懸濁液、エマルジョンなどであり得る。これらは、当業者に公知の方法に準じて調製され得る。得られた混合物の形態は、多くの要因（意図した投与様式および選択されたキャリアまたはビヒクルにおける化合物の溶解度が挙げられる）に依存する。効果的な濃度は、癌細胞などの所望されない細胞におけるアポトーシスを誘導するのに十分な濃度であり、経験的に決定され得る。

20

【0033】

本発明の治療剤の投与に適切な薬学的キャリアまたはビヒクルには、投与の具体的な様式に適した任意のそのようなキャリアが含まれる。さらに、活性物質はまた、所望の作用を損なうことのない他の活性物質と混合され得るか、または所望の作用を補充されるか、もしくは別の作用を有する物質と混合され得る。本発明の治療剤は、上記組成物中の単独の薬学的活性成分として処方され得るか、または他の活性成分と併用され得る。塩またはプロドラッグのような、本発明の治療剤の誘導体もまた、効果的な薬学的組成物を処方するのに使用され得る。

30

【0034】

本発明の治療剤は、徐放性処方物またはコーティング剤のような、これらの治療剤を身体からの急速な除去に対して保護する、キャリアと共に調製され得る。そのようなキャリアには、マイクロカプセルにした伝送システムのような制御放出处方物が挙げられるが、これらに限定されない。上記活性化合物は、処置されている患者における所望しない副作用なしで、治療に有用な効果を発揮するに十分な量で、薬学的に受容可能なキャリアに含まれ得る。

40

【0035】

上記活性成分は一度に投与され得るか、または時間間隔を空けて投与される、何回かにわたるより少ない用量に分割され得る。正確な投薬量および処置期間は、処置されている疾患の関数であり、公知の試験プロトコルを使用することによるか、またはインビボまたはインビトロでの試験データから推定により、経験的に決定され得ることが、理解される。濃度および投薬量の値はまた、軽減される状態の重傷度に伴って変化し得ることを、銘記すべきである。任意の特定の被験体の場合、特定の投薬量レジメンは、個体の必要性および上記組成物を投与するまたは管理する人の専門的判断に従って、長期にわたって調節されるべきであること、そして本明細書に述べられる濃度範囲は、例示のみであって、特

50

許請求された組成物の範囲または実施を限定することを意図されないこと、をさらに理解しているものとする。

【0036】

経口用の組成物は、一般に、不活性な希釈剤または食べられるキャリアを含み、そして錠剤に圧縮され得るかまたはゼラチンカプセルに包み込まれ得る。経口治療投与の目的の場合、単一の活性化合物または複数の活性化合物が賦形剤と共に組み込まれ得、そして錠剤、カプセル、トローチの形態で使用され得る。薬学的に適合性のある結合剤およびアジュバント物質は、上記組成物の一部として含まれ得る。

【0037】

錠剤、丸薬、カプセル、トローチなどは、同様な性質の次の成分または化合物のいずれかを含み得る：結合剤、例えば、トラガカントゴム、アカシア、コーンスターチ、またはゼラチン、これに限定されない；賦形剤、例えば、微結晶性セルロース、でんぷん、またはラクトース；分解剤、例えば、アルギン酸およびコーンスターチ、これに限定されない；潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、これに限定されない；流動促進剤、例えば、コロイド状二酸化ケイ素、これに限定されない；甘味剤、例えば、スクロースまたはサッカリン；および香料添加剤、例えば、ペパーミント、サリチル酸メチルまたはフルーツ香料。

【0038】

式Ⅰ～Ⅴの化合物は、多くの異なった機序によって細胞死を誘発し得るが、ほとんどの実施形態では、式Ⅰ～Ⅴの化合物は、所望しない増殖細胞におけるアポトーシスを誘導できる。用語「アポトーシス」は、プログラム化した細胞死の過程を意味する。全ての人で、古いまたは傷ついた何十万の細胞が、アポトーシスの過程により毎日死滅し、そして置き換えられ、身体における生存細胞を増減させながら一定数を維持する。古い細胞および傷ついた細胞は、その標的細胞が自己破壊するため、細胞表面で誘発されたシグナルにตอบสนองして死亡する。アポトーシスは、腫れ、赤み、痛みおよび圧痛を引き起こす壊死のような他の細胞死の機序とは区別される。アポトーシスはそのような応答を刺激しない。アポトーシスでは、細胞は縮み、破片に崩壊し、内容物は炎症を誘導しない方法によって静かに取り除かれる。これらの理由で、癌細胞のように急激に増殖している細胞においては、壊死よりアポトーシスを誘導する方がいっそう望ましい。しかしながら、いくつかの癌細胞での突然変異によって、これらの細胞がアポトーシスへの抵抗性を与える。たとえ突然変異のために癌細胞がアポトーシスに抵抗性であっても、式Ⅰ～Ⅴの化合物は、その癌細胞においてアポトーシスを誘導することが見出された。アポトーシスは、顕微鏡観察のような方法で他の処理機序と区別され得る。これらの方法は、当該分野で公知である。

【0039】

用語「増殖性細胞」、「増殖細胞」、「急速に増殖する細胞」、「所望されない増殖細胞」、「所望されない(undesirable)急速に増殖する細胞」、「所望されない(unwanted)急速に増殖する細胞」、などは、被験体において、癌細胞、前癌細胞、および他の所望されない、急速に分裂する細胞を意味する。

【0040】

(材料および方法)

(材料)

4-[5-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミドを、Amerisource Health (Mallervn, PA) から得たカプセルから酢酸エチルで抽出し、次いで、酢酸エチルおよびヘキサンの混合物から再結晶を行った。Cell Death Detection ELISA法キットを、Roche Diagnostics (Mannheim, Germany) から購入した。Aktおよびホスホ-Akt⁴⁷³ Ser Aktに対するウサギポリクローナル抗体をCell Signaling Technologies (Beverly, MA) から得た。マウスモノクローナル抗ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ(PARP)抗体を、Pharmingen (Sari Diego, CA) から

10

20

30

40

50

得た。PDK - 1キナーゼアッセイキットをUpstate (Lake Placid, NY) から購入した。他の化学物質および生化学物質を、他に述べない限り、Sigma - Aldrich (St. Louis, MO) から得た。核磁気共鳴スペクトル (^1H NMR) をBruker 250 MHzで測定した。化学シフト (δ) は、他に述べない限り、 CDCl_3 を溶媒として用いTMSピークに対する百万分率 (ppm) で報告する。高分解能エレクトロスプレーイオン化質量分析を、3 - Tesla Finnigan FTMS - 2000 フーリエ変換質量分析計で行った。

【0041】

(化学物質の合成)

表1に列挙した化合物を、以下に示すように調製し、そして試験した。化学物質名、プロトン核磁気共鳴 (^1H NMR) および高分解能質量分析 (HRMS) データを以下にまとめる。化合物1~36を合成するのに使用した手順を以下の実施例に記述する。

10

【0042】

(表1 命名、 ^1H NMR (プロトン核磁気共鳴)、および化合物1~36のHRMS (高分解能質量分析) による特徴付け)

【0043】

【表 1 - 1】

化合物	内容
1	4-[5-(4-(2-フルオロフェニル)フェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 3.16 (t, J = 6.4, 2.0 Hz, 2H), 3.60 (t, J = 6.4, 2.0 Hz, 2H), 4.90 (s, 2H), 6.75 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.20 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.91 (d, J = 8.5 Hz, 2H)
	C ₁₈ H ₁₅ BrF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 495.9913; 実測質量, 495.9943
2	4-[5-(4-(3-フルオロフェニル)フェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 2.16 (m, 2H), 2.81 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 5.08 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 7.15 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.25 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.90 (d, J = 8.5 Hz, 2H)
	C ₁₉ H ₁₇ BrF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 510.0069; 実測質量, 510.0042
3	4-[5-(4-(2-フルオロフェニル)フェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 2.90 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.51 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 5.49 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 7.17 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 8.7, 2.0 Hz, 2H)
	C ₁₈ H ₁₅ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 459.0821; 実測質量, 459.0817
4	4-[5-(4-(3-フルオロフェニル)フェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 1.83 (m, 2H), 2.64 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.20 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 5.31 (br s, 2H), 6.67 (s, 1H), 7.07 (m, 4H), 7.35 (dd, J = 7.5, 2.0 Hz, 2H), 7.79 (d, J = 7.5, 2.0 Hz, 2H)
	C ₁₉ H ₁₇ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 473.0978; 実測質量, 473.0946
5	4-[5-(4-フルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.36 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 2.63 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 5.54 *sm 2H), 6.76 (s, 1H), 7.15 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.20 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.45 (dt, J = 8.8, 2.0 Hz, 2H), 7.88 (dt, J = 8.8, 2.0 Hz, 2H)
	C ₂₀ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 446.1120; 実測質量, 446.1149
6	4-[5-(4-(1-フルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 1.33 (s, 9H), 4.90 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 7.32 (dd, J = 9.7 Hz, 4H), 7.42 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.02 (d, J = 8.8 Hz, 2H)
	C ₂₀ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 446.1120; 実測質量, 446.1118
7	4-[5-(2-ナフタレン)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 5.47 (s, 2H), 6.89 (s, 1H), 7.18 (dd, J = 8.6, 1.6 Hz, 1H), 7.42 (bd, J = 8.6 Hz, 2H), 7.51-7.55 (m, 2H), 7.78-7.83 (m, 6H)
	C ₂₀ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 440.0651; 実測質量, 440.0657
8	4-[5-(3-インドール)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ (7.4トシ-d ₆) 6.69 (br s, 1H), 7.03-7.08 (m, 2H), 7.19 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.92 (d, J = 8.7 Hz, 2H)
	C ₁₈ H ₁₃ F ₃ N ₄ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 429.0603; 実測質量, 429.0606
9	4-[5-(4-フルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 4.81 (s, 2H), 6.75 (s, 1H), 7.23 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.34-7.56 (m, 5H), 7.56 (m, 4H), 7.86 (d, J = 8.5 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 466.0807; 実測質量, 466.0811

10

20

30

【表 1 - 2】

化合物	内容
10	4-[5-(4'-クロロ [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -ビラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 6.42 (s, 2H), 6.83 (s, 1H), 7.30 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 7.40-7.59 (m, 8H), 7.92 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₅ ClF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 500.0418; 実測質量, 500.0432
11	4-[5-(3',5'-ジクロロ [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -ビラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 4.85 (s, 2H), 6.82 (s, 1H), 7.30 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.37-7.57 (m, 6H), 7.93 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₄ Cl ₂ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 534.0028; 実測質量, 534.0016
12	4-[5-(2',3'-ジクロロ [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -ビラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 4.85 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 7.18-7.25 (m, 3H), 7.35-7.49 (m, 6H), 7.88 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₄ Cl ₂ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 534.0028; 実測質量, 533.9999
13	4-[5-(2',4',5'-トリクロロ [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -ビラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 4.86 (s, 2H), 6.77 (s, 1H), 7.25 (dt, <i>J</i> = 8.6, 2.0 Hz, 2H), 7.37 (dt, <i>J</i> = 8.6, s.0 Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.46 (dt, <i>J</i> = 8.8, 2.0 Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.88 (dt, <i>J</i> = 8.9, 1.2 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₃ Cl ₃ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 567.9638; 実測質量, 567.9679
14	4-[5-(4'-メチル [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 2.32 (s, 3H), 4.57 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 7.18-7.21 (m, 4H), 7.39-7.52 (m, 6H), 7.84 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 480.0964; 実測質量, 480.0961
15	4-[5-(4'-トリフルオロメチル [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 5.19 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 7.36 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 2H), 7.53 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 2H), 7.65 (m, 6H), 7.92 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₅ F ₆ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 534.0681; 実測質量, 534.0677
16	4-[5-(4'-ブromoメチル [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 3.92 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 6.66 (s, 1H), 7.03-7.26 (m, 8H), 7.38 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H), 7.82 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₇ BrF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 558.0069; 実測質量, 558.0112
17	4-[5-(3',5'-ジメチル [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 2.40 (s, 6H), 5.38 (br s, 2H), 6.83 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.25 (m, 4H), 7.50 (dd, <i>J</i> = 6.7, 1.7 Hz, 2H), 7.59 (dd, <i>J</i> = 6.7, 1.7 Hz, 2H), 7.92 (dd, <i>J</i> = 6.7, 1.7 Hz, 2H)
	C ₂₄ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 494.1120; 実測質量, 494.1119
18	4-[5-(4'-フルチル [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 0.96 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 3H), 1.41 (m, 2H), 1.66 9m, wH), 2.68 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 5.20 (br s, 2H), 6.84 (s, 1H), 7.29 (dd, <i>J</i> = 8.2, 2.0 Hz, 4H), 7.53 (dt, <i>J</i> = 8.2, 2.0 Hz, 4H), 7.62 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 2H), 7.93 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 2H)
	C ₂₆ H ₂₄ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 522.1433; 実測質量, 522.1466
19	4-[5-(4'-tert-フルチル [1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 1.35 (s, 9H), 4.87 (s, 2H), 6.59 (s, 1H), 7.44-7.57 (m, 6H), 7.58 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 7.92 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H), 8.12 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H)
	C ₂₆ H ₂₄ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 522.1433; 実測質量, 522.1401
20	4-[5-(4-(フェニルメチル)フェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1 <i>H</i> -1 <i>H</i> -1-イル]ベンゼンスルホンアミド
	¹ H-NMR δ 3.71 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.91-7.11 (m, 9H), 7.27 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H), 7.69 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 480.0964; 実測質量, 580.0938

10

20

30

40

【表 1 - 3】

化合物	内容
21	4-[5-(9H-フルoren-2-イル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]ベンズルホンアミド
	¹ H-NMR δ 3.88 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 6.68 (s, 1H), 7.26-7.38 (m, 4H), 7.56 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.74-7.81 (m, 3H), 7.90 (d, J = 8.7 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 478.0807; 実測質量, 478.0771
22	4-[5-(9-アトロセン)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]ベンズルホンアミド
	¹ H-NMR δ 4.63 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 7.33 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.45-7.55 (m, 8H), 8.04 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 8.60 (s, 1H)
	C ₂₄ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 490.0807; 実測質量, 490.0769
23	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]ベンズルホンアミド
	¹ H-NMR δ (600 MHz) 4.89 (s, 2H), 6.92 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.5, 1.4 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.54-7.69 (m, 3H), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.86-7.92 (m, 4H), 8.64 (d, J = 8.4 Hz, 2H)
	C ₂₄ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 490.0807; 実測質量, 490.0805
24	4-[5-(9-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]ベンズルホンアミド
	¹ H-NMR δ 4.76 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 7.43-7.84 (m, 11H), 8.72 (t, J = 7.8 Hz, 2H)
	C ₂₄ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 490.0807; 実測質量, 490.0833
25	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]ベンズルホルミル
	¹ H-NMR δ 5.75-6.05 (br d, 2H), 7.0 (s, 1H), 7.50 (dd, J = 8.5, 1.4 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.77 (m, 3H), 7.88 (m, 3H), 7.90 (m, 2H), 8.72 (m, 2H)
	C ₂₅ H ₁₆ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 454.0038; 実測質量, 454.1142
26	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]ベンズニトリル
	¹ H-NMR δ 6.91 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.50 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.63-7.79 (m, 5H), 7.83 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.92 (m, 1H), 8.64 (d, J = 8.4 Hz, 2H)
	C ₂₅ H ₁₄ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 436.1032; 実測質量, 436.1032
27	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-イル]-N-ヒドロキシベンズアミン
	¹ H-NMR δ 7.10 (s, 1H), 7.34 (dd, J = 4.0, 0.9 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.42-7.45 (m, 3H), 7.46 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 7.51-7.52 (m, 2H), 7.53 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.91 (s, 1H)
	C ₂₅ H ₁₇ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 469.1220; 実測質量, 469.1247
28	5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-4-(1H-1-ヒドロキシ-5-イルフェニル)-1H-ヒラゾール
	¹ H-NMR δ 6.82 (s, 1H), 7.28 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.48-7.74 (m, 5H), 7.74 (d, J = 2.5 Hz, 2H), 7.95 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.47 (d, J = 8.7 Hz, 2H)
	C ₂₅ H ₁₅ F ₃ N ₆ ; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 479.1202; 実測質量, 479.1225
29	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]ベンズアルデヒドオキシム
	¹ H-NMR δ 6.81 (s, 1H), 7.27-7.30 (m, 3H), 7.47 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.52-7.57 (m, 4H), 7.68 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.75-7.79 (m, 2H), 8.48-8.53 (m, 2H)
	C ₂₅ H ₁₆ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 454.1137; 実測質量, 454.1106
30	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]ベンズアルデヒドヒドラゾン
	¹ H-NMR δ 6.81 (s, 1H), 7.27-7.30 (m, 2H), 7.33 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.53-7.55 (m, 2H), 7.57-7.60 (m, 2H), 7.68 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.75 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 8.48-8.55 (m, 2H)
	C ₂₅ H ₁₇ F ₃ N ₄ ; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 453.1297; 実測質量, 453.1302
31	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]-フェニル}-アセトニトリル
	¹ H-NMR δ 3.77 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 7.29-7.43 (m, 4H), 7.66-7.86 (m, 6H), 8.65 (t, J = 7.0 Hz, 3H)
	C ₂₆ H ₁₆ F ₃ N ₃ ; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 450.1151; 実測質量, 450.1188

10

20

30

40

【表 1 - 4】

化合物	内容
32	2-{4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]-フェニル}-N-ヒドロキシ-7-テタミジン
	¹ H-NMR δ 3.30 (s, 1H), 3.38 (s, 1H), 6.83 (s, 1H), 7.20-7.41 (m, 4H), 7.59-7.89 (m, 6H), 8.55-8.60 (m, 3H)
	C ₂₆ H ₁₉ F ₃ N ₄ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 461.1580; 実測質量, 461.1584
33	5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-4-(1H-テトラゾール-5-イルメチルフェニル)-1H-ヒラゾール
	¹ H-NMR δ 4.45 (s, 2H), 7.1 (s, 1H), 7.42 (s, 4H), 7.53 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.66-7.76 (m, 3H), 7.89 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.01 (m, 2H), 8.78 (t, J = 6.9 Hz, 2H)
	C ₂₆ H ₁₇ F ₃ N ₆ ; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 493.1335; 実測質量, 493.1359
34	2-7ミノ-N-{4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]-フェニル}-7-テタミジン
	¹ H-NMR δ 3.48 (s, 2H), 6.92 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.42 (dd, J = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 7.62-7.72 (m, 5H), 7.79 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.85-7.94 (m, 2H), 8.62 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 9.56 (br s, 1H)
	C ₂₆ H ₁₉ F ₃ N ₄ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 483.1403; 実測質量, 483.1389
35	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]-フェニル}-7-テタミジン
	¹ H-NMR δ 6.90 (s, 1H), 7.19 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.34 (dd, J = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.61-7.67 (m, 3H), 7.79 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.84-7.91 (m, 3H), 8.62 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 9.95 (s, 1H)
	C ₂₅ H ₁₈ F ₃ N ₅ ; HRMS (M + H): 理論質量, 446.1587 (M+H); 実測質量, 446.1596 (M+H)
36	4-[5-(2-フィナントリル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-1-ヒラゾール-1-イル]-フェニル}-尿素
	¹ H-NMR δ 6.98 (s, 1H), 7.19 (dt, J = 8.9, 2.1 Hz, 2H), 7.34-7.42 (m, 3H), 7.51-7.62 (m, 4H), 7.70 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.81-7.85 (m, 2H), 8.59-8.64 (m, 2H)
	C ₂₅ H ₁₇ F ₃ N ₄ O; HRMS (M + Na ⁺): 理論質量, 469.1252; 実測質量, 469.1199

10

20

【実施例】

【0047】

(細胞培養)

PC-3 (p53 - / -) ヒトアンドロゲン非反応性前立腺癌細胞は、American Type Tissue Collection (Manassas, VA) から譲渡された。細胞を、5% CO₂を含む、加湿したインキュベーター中37℃で、10% ウシ胎児血清 (FBS; Gibco) を補充したRPMI 1640培地 (Gibco、Grand Island, NY) で培養した。

30

【0048】

(細胞生存度分析)

4-[5-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミドおよびその誘導体のPC-3細胞生存度に対する効果を、MTT {[3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムプロミド]} アッセイを使用することによって、6個の反復で評価した。細胞を、96-ウェル、平底プレート中の10% FBSを補充したRPMI 1640培地で24時間培養し、1% 血清含有RPMI 1640培地中、異なった時間間隔で、DMSO (最終濃度 0.1%) 中に溶解した種々の濃度の化合物1~36に暴露した。コントロールは、薬物で処理した細胞中の濃度に等しい濃度でDMSOビヒクルを受容した。上記培地を除き、10% FBS含有RPMI 1640培地中で200 μlの0.5 mg/ml MTTで置き換え、そして細胞をCO₂インキュベーターで37℃で2時間インキュベートした。上清を上記ウェルから除き、上記還元したMTT染料を200 μl/ウェルのDMSOに溶解した。570 nmでの吸光度をプレートリーダーで決定した。

40

【0049】

(細胞増殖)

PC-3細胞を、50,000細胞/ウェルで6-ウェルプレート中の10% FBS含有RPMI 1640培地中に播種した。24時間の付着期間後に、細胞を三連で、1

50

0 % FBS含有RPMI - 1640培地中の表示された濃度の化合物1 ~ 36か、またはDMSOビヒクルで処理した。異なった時間間隔で、トリプシン処理によって細胞を収穫し、そしてCoulterカウンターモデルZ1 D/T (Beckman Coulter、Fullerton、CA)を使用してその数を数えた。

【0050】

(アポトーシス分析)

二方法を使用して薬剤誘導性アポトーシス細胞死を判定した。この二方法とは、Cell Death Detection ELISAキット (Roche Diagnostics、Mannheim、Germany) によるDNA断片の検出およびポリ- (ADP - リボース) ポリメラーゼ (PARP) 開裂のウェスタンブロット分析である。ELISA法を、その製造業者の手引きに従って行った。これは、誘導されたアポトーシス死後に生成されたモノヌクレオソームまたはオリゴヌクレオソームの形態の細胞質のヒストン結合DNA断片の定量決定に基づいている。簡単に言うと、 4×10^5 PC - 3細胞を、処理する前に、T - 25フラスコで24時間培養した。細胞を、上記表示した濃度で6 ~ 24時間、DMSOビヒクルで処理するか、または上記試験薬剤で処理し、回収し、 2×10^3 PC - 3細胞に相当する細胞溶解物をELISA法で使用した。PARP開裂アッセイの場合、薬剤で処理した細胞は、処理後4 ~ 8時間で回収し、氷冷したPBSで洗浄し、そして20mMトリス - HCl、pH 8、137mM NaCl、1mM CaCl_2 、10% グリセロール、1% Nonidet P - 40、0.5% デオキシコール酸塩、0.1% SDS、 $100 \mu\text{M}$ 4 - (2 - アミノエチル) ベンゼンスルホニルフルオリド、 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ ロイペプチン、および $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ アプロチニン含有溶解緩衝液に再懸濁した。可溶性細胞溶解物を、5分間の10,000gでの遠心分離後に回収した。各々の溶解物からの等量タンパク質 ($60 \sim 100 \mu\text{g}$) を8% SDS - ポリアクリルアミドゲルに再溶解した。バンドをニトロセルロース膜に移し、そして抗PARP抗体を用いる免疫ブロット法により分析した。

【0051】

(免疫ブロット法)

Aktおよびホスホ - Aktのウェスタンブロット分析に関する一般的手順を以下に記述する。細胞をPBSで洗浄し、超音波ソニケーターで5秒間処理したSDSサンプル緩衝液に再懸濁し、そして5分間煮沸した。短期の遠心分離後、可溶性フラクションから等量タンパク質濃縮物を、Mini gel器具上の10% SDS - ポリアクリルアミドゲルに再溶解し、そして半乾燥移送用セルを使用してニトロセルロース膜に移した。トランスブロットした膜を0.05% Tween 20含有TBS (TBST) を用いて3回洗浄した。5%の無脂肪乳含有TBSTを用いて60分間ブロックした後、上記膜を、TBST - 5%低脂肪ミルク中に1:1,000の希釈率で上記一次抗体と共に4で12時間インキュベートし、そしてTBSTで3回洗浄した。上記膜を、室温で1時間、ヤギ抗ウサギIgG - HRP結合体 (1:1,000) で探索 (probe) し、そしてTBSTで3回洗浄した。免疫ブロットを、増強された化学発光により視覚化した。

【0052】

(PDK - 1キナーゼ活性)

このインビトロアッセイを、販売元の手引きに従ってPDK - 1キナーゼアッセイキット (Upstate、Lake Placid、NY) を使用して行った。この無細胞アッセイは、DMSOビヒクルまたは上記試験薬剤の存在の下での、下流キナーゼ血清およびグルココルチコイド制御キナーゼ (これは、次に、 $[\gamma - ^{32}]$ - ATPを有するAkt / SGK特異ペプチド基質RPRAATFをリン酸エステル化する) を活性化する組換えPDK - 1の能力に基づく。次に、 $[\gamma - ^{32}\text{P}]$ でリン酸エステル化したペプチド基質を、P81ホスホセルロース紙を使用して残基 $[\gamma - ^{32}\text{P}]$ - ATPから分離し、0.75%リン酸を用いる3回の洗浄後シンチレーション計数計で定量した。報告される値は2つの独立した測定値の平均を表す。

【0053】

(免疫沈降 A k t キナーゼのアッセイ)

A k t 免疫沈降を、公開されている修正した手順に従って行った。P C - 3 細胞を、明示した濃度で 2 時間、D M S O ビヒクルまたは上記試験薬剤を用いて処理し、次に 5 0 m M トリス - H C I、p H 7 . 5、1 % T r i t o n X - 1 0 0、1 m M E D T A、1 m M E G T A、5 0 m M フッ化ナトリウム、1 0 m M β - グリセロリン酸ナトリウム、0 . 1 % 2 - メルカプトエタノール、0 . 1 m M フッ化フェニルメチルスルホニル、ならびに 1 μ g / m L の各々のアプロチニン、ペプスタチン、およびロイペプチン含有緩衝液 A に 4 で、1 時間で溶解した。細胞溶解物を、1 0 , 0 0 0 g で 5 分間遠心分離した。上清を、4 で 6 0 分間、抗 A k t で処理し、次いでさらに 6 0 分間タンパク質 G アガロースビーズで処理した。上記免疫沈降物を使って、上述した A k t / S G K - 特異的ペプチド基質 R P R A A T F を用いて、A k t キナーゼ活性を分析した。値は、2 つの独立した決定値の平均を表す。

10

【 0 0 5 4 】

(統計分析)

各々の実験を、別に述べない限り、三つ組みで行った。全ての実験を、少なくとも二回別の時期に行った。適切な場合、データを、平均 ± 9 5 % 信頼区間として表した。

【 0 0 5 5 】

2 4 種の代表的誘導体の構造、P D K - 1 キナーゼ活性を阻害する能力および P C - 3 細胞成長を、表 2 にまとめる。

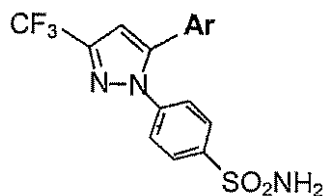
【 0 0 5 6 】

20

(表 2 4 - [5 - (4 - メチルフェニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] ベンゼンスルホンアミドおよび化合物 3 7 - 6 0 (1 - 2 4) に関する構造、組換え P D K - 1 キナーゼ活性を阻害する能力ならびに P C - 3 細胞でのアポトーシス死を誘導する能力)

【 0 0 5 7 】

【表 2 - 1】

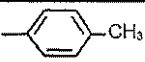
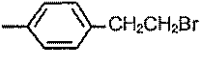
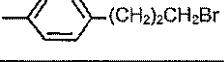
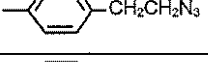
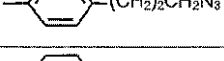
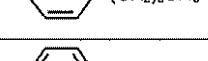
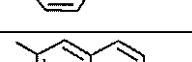
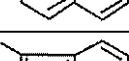
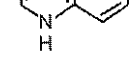
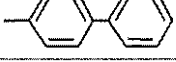
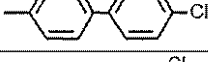
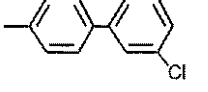
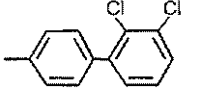
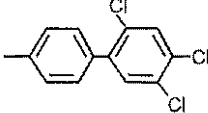
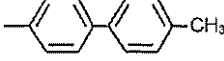


30

【 0 0 5 8 】

【表 2 - 2】

化合物37~60 (1~24)

番号	Ar	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
比較化合物		48	30
37		42	18
38		38	17
39		32	17
40		34	18
41		20	9
42		34	18
43		24	11
44		65	31
45		21	11
46		22	9
47		18	10
48		23	10
49		9	5
50		15	8
51		18	8
52		20	11

【 0 0 5 9 】

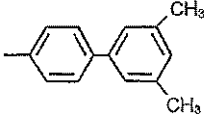
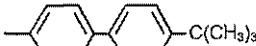
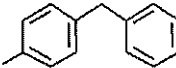
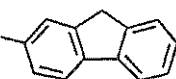
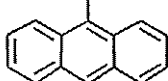
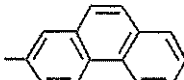
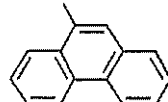
10

20

30

40

【表 2 - 3】

番号	Ar	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
53		17	9
54		32	15
55		32	15
56		15	8
57		16	9
58		12	7
59		9	5
60		42	23

これらの化合物はインドール誘導体 44 を除いて、4 - [5 - (4 - メチルフェニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] ベンゼンスルホンアミドに対して改善した P D K - 1 阻害活性および抗増殖活性を示した。さらに、これらの化合物は全て、測定可能な C O X - 2 阻害活性を示さなかった (データは示していない) 。 P D K - 1 阻害活性での一般的増加が、上記芳香環のかさ (b u l k i n e s s) が増加するにつれ示された ; すなわち、三環式芳香環 (57 - 59) > 置換ビフェニル (45 - 55) > 置換フェニル (37 - 42) 。これらのデータから、上記芳香族系が上記酵素ポケットの大きな疎水性領域に結合していることが示された。上記試験された 24 アナログのうち、化合物 59 は表 2 に報告されたように、P D K - 1 活性の阻害および P C - 3 細胞生存度に関して、それぞれ、9 μ M および 5 μ M の I C ₅₀ 値を示し、最適な誘導体を表した。これらの I C ₅₀ 値は、4 - [5 - (4 - メチルフェニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] ベンゼンスルホンアミドの活性 (それぞれ、48 μ M および 30 μ M) に対して 5 ~ 6 倍の改善に相当した。しかし、化合物 60 は、P D K - 1 の阻害活性において化合物 59 と比較して減少を示した。これは、その三環式芳香環の不都合な配向により強い立体障害に起因され得る。

【 0 0 6 0 】

試験された全ての化合物で P D K - 1 と P C - 3 成長阻害能力との間に相関関係が存在した。これは、抗増殖効果に対する P D K - 1 阻害の機序の関係を示している。全体として、P C 細胞増殖の阻害に関する I C ₅₀ 値は、P D K - 1 阻害の I C ₅₀ 値の約半分であった。この矛盾は、A u g で処理した細胞での P D K - 1 阻害と付随するタンパク質ホスファターゼ 2 A (P P 2 A) による A k t 脱リン酸化との間の機序の相乗効果 (増強された A k t の非活性化を生じる) に起因する可能性がある。この前提を検査するために、P C - 3 細胞を種々の濃度の化合物 59 で 2 時間処理し、結果としての A M に対する効果

を二つの独立したアッセイ（免疫沈降 A k t キナーゼ活性および A k t リン酸化状態）によって評価した。両アッセイから一致した結果を得た。

【 0 0 6 1 】

キナーゼアッセイによると、分子内 A k t 活性化を阻害する化合物 5 9 の IC_{50} は $5 \mu M$ であった。化合物 5 9 も他の化合物も、免疫沈降 A k t 活性に対する直接的阻害効果を示さなかった。一方、ウェスタンブロット分析は、 $5 \mu M$ 以上での化合物 5 9 による P C - 3 細胞の処理が、有意な A k t 脱リン酸化を生じることを示す。

【 0 0 6 2 】

用量依存的様式で P D K - 1 / A k t シグナル伝達の阻害は、D N A 断片化および P A R P 開裂で立証されているような、1 % F B S 含有 R P M I 1 6 4 0 培地での P C - 3 細胞のアポトーシス死を生じる。24 時間で 5 0 % P C - 3 細胞死を誘導するのに要求される化合物 5 9 の用量は、 $5 \mu M$ であった。化合物 5 9 に関する P C - 3 細胞死を誘導する IC_{50} 値は、薬物で処理した細胞における A k t 活性化を阻害する IC_{50} 値と一致した。さらに、化合物 5 9 の P C - 3 細胞増殖に対する効果を、1 0 % F B S を補充した R P M I 1 6 4 0 培地で試験した。 $1 \mu M$ の化合物 5 9 は、高い抗増殖性活性を示した。一緒にすると、これらのデータで、P C - 3 成長阻害での化合物 5 9 のインビトロ効力が明白に示された。

【 0 0 6 3 】

上記モデル化は、化合物 5 9 が、P D K - 1 の 2 個の葉 (l o b e) 間の深い間隙内に位置する A T P 結合ドメインにドッキングしたことを示した。化合物 5 9 は、結合で A T P と競合するが、化合物 5 9 の場合の結合様式は、A T P の様式と多少異なっていることが見出された。上記ベンゼンスルホンアミド部分は、アデニン結合型モチーフを占めるが、上記平面ピラゾール部分はリボース環に垂直であった。この配置は、隣接フェナントレン環をトリホスフェート結合ポケットの後ろに位置付けた。上記フェナントレン環は、グリシンリッチなループにより結合された 2 個の隣接 β シートの一部を含む残基 8 8 ~ 9 6 によって形成された無極性領域と疎水的に相互作用した。

【 0 0 6 4 】

1 2 種の代表的誘導体の構造、P D K - 1 に対するそれらの能力、および P C - 3 細胞におけるアポトーシス死を起こすそれらの能力を、表 3 にまとめる。

【 0 0 6 5 】

（表 3 化合物 2 5 ~ 3 6 に関する、構造および組換え P D K - 1 キナーゼ活性を阻害し、また P C - 3 細胞におけるアポトーシス死を誘導する能力。これらの化合物の一般構造式を上部に示してある。）

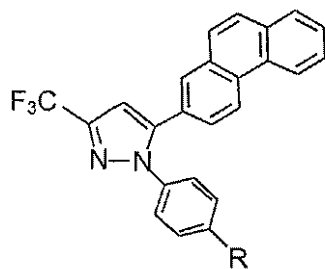
【 0 0 6 6 】

10

20

30

【表 3 - 1】



番号	R	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
61	-CONH ₂	12	7
62	-CN	45	30
63		40	25
64		52	32
65		25	14
66	-CH=N-NH ₂	16	10
67	-CH ₂ CN	42	25
68		15	8
69		45	27

【 0 0 6 7 】

【表 3 - 2】

番号	R	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
70		5	5
71		2	3
72		40	24

これらの誘導体の中で、化合物 70 および 71 は、PDK - 1 阻害に対し、それぞれ、 $5\text{ }\mu\text{M}$ および $2\text{ }\mu\text{M}$ の IC_{50} 値を示した。この値は、化合物 59 に対して 2 倍および 5 倍の能力増大を示している。化合物 70 および 71 は、それぞれ、2 - アミノアセタミド ($-\text{NHCH}(\text{O})\text{CH}_2\text{NH}_2$,) およびグアニジン ($-\text{NHCH}(\text{=NH})\text{NH}_2$) の側鎖を含んだ。化合物 59 と同様に、化合物 70 および 71 は、免疫沈降 Akt キナーゼ活性に関する測定可能な直接的阻害を示さず、また $50\text{ }\mu\text{M}$ までの濃度で、いかなる測定可能な COX - 2 阻害活性も、検出されなかった。PC - 3 細胞のいずれかの薬剤 (たとえ $1\text{ }\mu\text{M}$ でも) に対する暴露は、ホスホ - Akt レベルの大幅な減少となった。能力におけるこの改善は、これらの誘導体に関しタンパク質 - リガンド相互作用における水素結合の強化を反映していた。この前提は、上記のモデル化された、化合物 71 の ATP 結合部位へのドッキングによって支持された。化合物 71 のグアニジノ基は、ATP のプリン環の一部構造に似ており、これは、上記ドッキングモデルにより記述されたように、Ser 160 および Ala 162 との水素結合の生成を可能にした。

【0068】

(PDK - 1 / Akt シグナル伝達インヒビターの細胞効果)

化合物 70 および 71 の両方は、DNA 断片化および PARP 開裂で立証されたように、用量依存的様式で、1% FBS 含有培地で PC - 3 細胞のアポトーシス死を誘導した。これらの薬剤は、 $2.5\text{ }\mu\text{M}$ より高濃度でアポトーシス誘導において化合物 59 より高い能力を示した。さらに、これらの誘導体は、白血病、黒色腫、ならびに肺、結腸、脳、卵巣、乳房、前立腺、および腎臓の癌を表わす 60 種のヒト腫瘍細胞株についてのスクリーニングのために、National Cancer Institute (NCI) の Developmental Therapeutic Program (DTP) にかけた。 5% FBS 含有培地中における 2 日の暴露後の、腫瘍細胞の各クラスからの 1 種の代表的細胞株の用量 - 反応データを図 1C に示す。この図には、1、RPMI - 8226 白血病細胞；2、NCI - H322M 非小細胞肺癌細胞；3、HT29 結腸癌細胞；4、U251 CNS 癌細胞；5、SK - MEL - 28 黒色腫癌細胞；6、SK - OV - 3 卵巣癌細胞；7、RXF 393 腎臓癌細胞；8、PC - 3 前立腺癌細胞；9、MDA - MB - 231 乳癌細胞が含まれる。これらの細胞株の多くは、 $0.1\text{ }\mu\text{M}$ 程度の低い濃度で両薬剤の成長阻害効果に反応した。

【0069】

上記 60 細胞株アッセイにおいて、各細胞株に関する 3 個の用量反応パラメータを、成長阻害曲線に基づいて計算した。これらのパラメータには、GI50 (50% 成長阻害が生じる濃度)、TGI (完全 (tootl) 成長阻害が生じる濃度)、および LC50 (最初の薬剤処理に比べて薬剤処理の終わりでの測定したタンパク質レベルで 50% 減少が生じる濃度) が挙げられる。2 日間の処理後の化合物 70 および 71 に関する上記 60 の異なる細胞株の中でのこれらのパラメータの平均は、それぞれ、次ぎの通りである。GI50 : 1.1 および $1.2\text{ }\mu\text{M}$; TGI : 3.2 および $2.9\text{ }\mu\text{M}$; LC50 : 24 および $8.5\text{ }\mu\text{M}$ 。これらのデータは、明らかに、化合物 70 および 71 のインビトロでの効力を実証している。両薬剤は、 $3\sim 5\text{ }\mu\text{M}$ の治療範囲で広範な範囲の腫瘍細胞株において細胞成長を完全に抑えることができた。

【0070】

癌細胞の生存および癌細胞の増殖における PDK - 1 / Akt シグナル伝達の保存的役割を考慮すると、この経路は、経口的、生物的に利用可能な、小分子インヒビターを開発するための治療に関連する標的を示す。

【0071】

化合物 59 の ATP 結合ポケットへのインシリコドッキングは、この分子が、部分的には上記スルホンアミドと Ala 162 のアミドとの間の水素結合を通して、ATP 結合ドメインに固着されたことを示した。Ala 162 はまた、ATP¹⁷ および UCN - 01 のような他のリガンドを PDK - 1 に固着する際に重要な役割をすることを報告されている。これらのデータは、一緒に、化合物 59 のスルホンアミド部分が能力の最適化のた

めの変化を受けやすいかもしれないことを示唆している。

【 0 0 7 2 】

従って、上記スルホンアミド官能基を 2 - アミノアセタミド (- N H C (O) C H ₂ N H ₂) およびグアニジン [- N H C (= N H) N H ₂] で置き換えると、それぞれ、化合物 7 0 および 7 1 が得られた。両者は、それぞれ、5 および 2 μ M の I C ₅₀ 値を有する、改善された P D K - 1 阻害を示した。化合物 7 1 の上記 A T P 結合部位へのドッキングによって、グアニジン部分と S e r 1 6 0 の骨格 (b a c k b o n e) 酸素との間のさらなる水素結合の存在が明らかになった。これは、能力の増強が水素結合の増加に起因し得ることを示唆している。しかしながら、これらの側鎖のリガンド結合に対する効果は、表 3 にまとめられた構造 - 活性関係により例示されているように、わずかである。

10

【 0 0 7 3 】

P D K - 1 阻害における化合物 7 0 および 7 1 の高い能力は、低 μ M 濃度で P C - 3 細胞において効果的に A k t 活性化を阻止し、そしてアポトーシス細胞死を誘導するそれらの能力に反映されていた (図 1 A 、 1 B) 。より重要なことに、細胞増殖および細胞生存における P D K - 1 / A k t シグナル伝達の保存的役割に起因して、これらの薬剤は、試験した 6 0 種のヒト腫瘍細胞株全てで、血清含有培地での細胞成長を阻害する能力があった。平均 G I 5 0 (5 0 % 細胞成長阻害) 値は、それぞれ、1 . 2 μ M および 1 . 3 μ M であり、そして T G I (全成長阻害) 値は、それぞれ、3 . 2 μ M および 2 . 9 μ M であった。発明者らの予備的動物研究によって、これらの化合物は、経口的に吸収され得、T G I より数倍高い平均血清濃度を生じ得、そしてより重要なことに、1 ヶ月間毎日の経口投与後、上記動物への毒性をほとんど生じないことが示された (データは示されない) 。

20

【 0 0 7 4 】

ヌードマウスでの種々の腫瘍異種移植片に対するインビボ効力の試験を現在この研究室で実行中である。さらに、これらの薬剤の毒性試験および薬理的試験を、N C I での R a p i d A c c e s s t o I n t e r v e n t i o n D e v e l o p m e n t (R A I D) プログラムに基づいて行う。

【 0 0 7 5 】

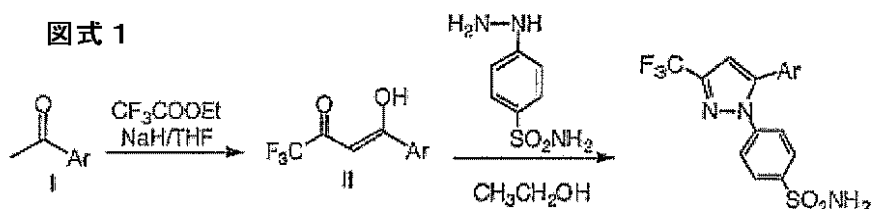
(化合物 3 7 ~ 6 0 に関する一般的合成手順)

全ての化学物質薬剤および有機溶媒を、別に記述がない限り、A l d r i c h (S t . L o u i s , M O) から購入した。化合物 1 ~ 2 4 は、図式 1 に記述されている 2 工程の一般的手順に従って合成し、式中 A r はそれぞれの芳香環構造を表す。

30

【 0 0 7 6 】

【 化 2 7 】

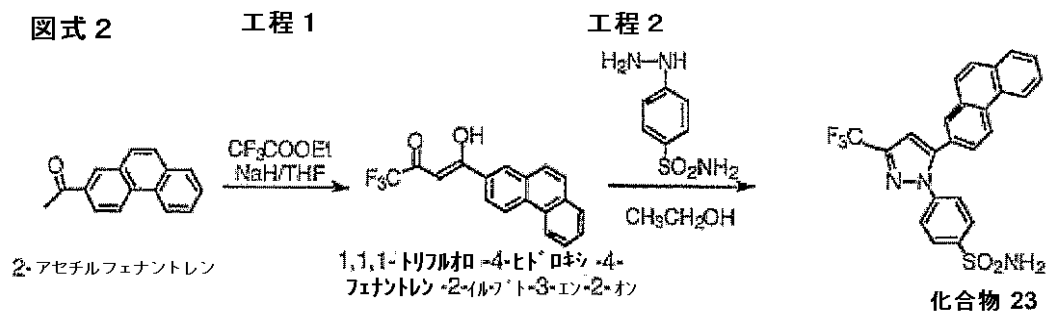


40

化合物 5 9 をここで例として使用し、化合物の群の合成を例示する (図式 2) 。他の化合物では、種々の芳香環構造を有する前駆体およびそれぞれ中間体の場合と同じ手順に従った (化合物 I および I I) 。

【 0 0 7 7 】

【化 28】



10

(実施例 1 1, 1, 1-トリフルオロ-4-ヒドロキシ-4-フェナントレン-2-イル-ブト-3-エン-2-オン前駆体の合成(工程 1))

5 mL の無水テトラヒドロフラン (THF) 中の水素化ナトリウム (NaH; 0.13 g、5.4 mmol) の懸濁液に、アルゴン下でエチルトリフルオロアセテート (CF₃COOEt; 0.64 g、4.5 mmol) を加えた。25 °C で 10 分攪拌後、5 mL の THF 中の 2-アセチルフェナントレン (1 g、4.5 mmol) を、上記溶液に滴下した。混合物は透明になり、そして 30 分以内にオレンジ色になった。さらに 2 時間攪拌後、混合物を減圧下で濃縮した。残留物を水に懸濁し、そしてエチルアセテート (15 mL) で 2 回抽出した。この有機相を分離し、硫酸ナトリウムで乾燥し、そして減圧下で濃縮し乾固して上記生成物 (黄色の固体; 1.29 g、90% 収率) を得た。この生成物をさらに精製することなく、直接使用した。

20

【0078】

(実施例 2 化合物 59 の合成(工程 2))

4-ヒドラジノベンゼン-1-スルホンアミドハイドロクロライド (1.1 g; 4.9 mmol) を、40 mL のエタノール中の 1, 1, 1-トリフルオロ-4-ヒドロキシ-4-フェナントレン-2-イル-ブト-3-エン-2-オン (1.29 g、4.1 mmol) の攪拌溶液に加えた。この混合物を、12 時間還流し、室温まで冷却し、そして減圧下で濃縮して乾固した。この残留物を、エチルアセテートに溶解し、そして水で洗浄した。有機層を、硫酸ナトリウム上で乾燥し、そして減圧下で濃縮した。この粗生成物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで精製し、59 を得た (1.52 g、80% 収率)。

30

【0079】

(実施例 3 ~ 14 化合物 61 ~ 72 の合成)

化合物 61 ~ 72 を、前述の工程 1 の生成物である 1, 1, 1-トリフルオロ-4-ヒドロキシ-4-フェナントレン-2-イル-ブト-3-エン-2-オンを共通の前駆体 (図式 3、エラー! 参照源が見つからない) として合成した。

【0080】

(実施例 3 4-[5-(2-フェナントラセニル(Phenanthracenyl))-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]-ベンゼンカルボキサミド(61)(工程 3))

40

(4-カルバモイルフェニル)-ヒドラジンハイドロクロライド (0.92 g、4.9 mmol) を、25 °C の 40 mL のエタノール中の 1, 1, 1-トリフルオロ-4-ヒドロキシ-4-フェナントレン-2-イル-ブト-3-エン-2-オン (1.29 g、4.1 mmol) の攪拌溶液に加えた。この混合物を 12 時間還流して、室温まで冷却し、そして減圧下で濃縮して乾固した。この残留物を、エチルアセテートに溶解し、そして水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、そして減圧下で濃縮した。この粗生成物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (エチルアセテート-ヘキサン、1:1) で精製し、61 を得た (1 g、60% 収率)。

【0081】

50

(実施例4 4-[5-(2-フェナントレニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]-ベンゾニトリル(62)(工程4))

60mLのエタノール中の1,1,1-トリフルオロ-4-ヒドロキシ-4-フェナントレン-2-イル-プト-3-エン-2-オン(2.45g、7.7mmol)の攪拌溶液に、25の4-シアノフェニルヒドラジンヒドロクロライド(2.53g、15mmol)を加えた。この混合物を12時間還流下で攪拌して、室温まで冷却し、そして減圧下濃縮して乾固した。この残留物をエチレンクロライドに溶解し、そして水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、そして減圧下で濃縮した。この粗生成物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(エチルアセテート-ヘキサン、1:4)で精製し、62を得た(2.7g、85%収率)。

10

【0082】

((実施例5 4-[5-(2-フェナントレニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]-N-ヒドロキシベンズアミジン(63)(工程5))

ヒドロキシルアミンヒドロクロライド(25mg、0.36mmol)を、メタノール(3mL)中のNa金属(8.3mg、0.36mmol)の懸濁液に加えた。この混合物を、10分間室温で攪拌し、そして化合物62(1224mg、0.3mmol)を加えた。この混合物を2時間還流して、その後、さらに16時間25で攪拌し、減圧下で濃縮した。残留物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(エチルアセテート-ヘキサン、1:4から1:1)で精製し、63を得た(120mg、76%収率)。

20

【0083】

(実施例6 5-(2-フェナントレニル)-3-(トリフルオロメチル)-4-(1H-テトラゾール-5-イルフェニル)-1H-ピラゾール(64)(工程6))

5mLの10% HC1中の化合物62(125mg、0.3mmol)、NH₄Cl(123.7mg)、およびNaN₃(58.5mg、0.9mmol)を含む混合物を加え、20mLのメチレンクロライドで2回抽出した。有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、そして減圧下で濃縮し、乾固した。この粗生成物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(エチルアセテート-ヘキサン、1:4)で精製し、64を得た(96mg、70%収率)。

【0084】

(実施例7 4-5[-(2-フェナントレニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール(pyrazol)-1-イル]-ベンズアルデヒドオキシム(65)(工程7))。

30

【0085】

DIBAL-H(3.1mL、3.1mmol、ヘキサン中で1.0M)を、-40で5mLのTHF中の化合物62(0.417g、1.1mmol)に滴下した。この混合物を、8時間攪拌して、5mLの10% 酢酸に注ぎ、30分間攪拌した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、そして減圧下で濃縮し、乾固した。この粗生成物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(エチルアセテート-ヘキサン、1:4)で精製し、アルデヒド中間体を得(141mg、0.34mmol)、これを直ちに5mLのエタノール中のヒドロキシルアミドヒドロクロライド(211mg)およびK₂CO₃を含む溶液に加えた。この混合物を還流下16時間攪拌した。溶媒の除去後、その残留物をCH₂Cl₂で抽出し、そして水で洗浄した。

40

【0086】

(実施例8 4-[5-(2-フェナントレニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]-ベンズアルデヒドヒドラゾン(66)(工程8))

ヒドロキシルアミンヒドロクロライドの代わりにヒドラジーン-水和物(153mg、3.1mmol)を使用した以外は、65の場合と同じ様式で化合物66(124mg、85%収率)を合成した。

【0087】

(実施例9 {4-[5-(2-フェナントレニル)-3-(トリフルオロメチル)-

50

1 H - ピラゾール - 1 - イル } - フェニル } - アセトニトリル (6 7) (工程 9))

(a) (4 - ヒドラジノフェニル) アセトニトリルハイドロクロライドの調製。水 (2 0 m L) 中の亜硝酸ナトリウム (3 . 1 5 g 、 4 5 . 7 m m o l) の溶液を、濃塩酸溶液 (5 5 m L) 中の 4 - アミノベンゾニトリル (5 g 、 4 2 . 3 m m o l) の冷却 (- 1 5) した、攪拌懸濁液に温度が - 1 0 未満に保たれるような速度で滴下した。添加終了後、この反応混合物を迅速にろ過し固体を取り除き、そしてこのろ液を濃塩酸溶液 (3 7 m L) 中の $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4 7 . 7 g 、 0 . 2 1 m o l) の冷却 (- 2 0) した、攪拌溶液に、温度が - 1 0 未満に保たれるような速度で複数回にわたって加えた。この溶液をさらに 1 5 分間攪拌した後、溶液中の固体を回収し、ジエチルエーテル (4 × 2 5 m L) で洗浄し、そして乾燥し (4 - ヒドラジノフェニル) アセトニトリルハイドロクロライド (5 . 6 g 、 7 8 %) を得た。 (b) 化合物 6 7 。 エタノール (2 0 m L) 中の (4 - ヒドラジノフェニル) アセトニトリルハイドロクロライド (0 . 3 2 g 、 1 m m o l) および 1 , 1 , 1 - トリフルオロ - 4 - ヒドロキシ - 4 - フェナントレン - 2 - イル - ブト - 3 - エン - 2 - オン (0 . 1 8 g 、 1 . 1 m m o l) の混合物を、還流下で 2 4 時間攪拌し、室温に冷却し、減圧下濃縮して乾固し、そしてエチルアセテートに溶解した。有機層を硫酸マグネシウム上で乾燥し、そして減圧下で濃縮し、乾固した。この粗生成物を、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン - エチルアセテート、 2 : 1) で精製し、 6 7 を得た (0 . 3 5 g 、 8 1 % 収率) 。

【 0 0 8 8 】

(実施例 1 0 2 - { 4 - [5 - (2 - フェナントレニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル } - フェニル } - N - ヒドロキシ - アセトアミジン (6 8) (工程 1 0))

エタノール (1 0 m L) 中の化合物 6 7 (0 . 4 3 g 、 1 m m o l) およびヒドロキシアミンハイドロクロライド (0 . 0 7 5 g 、 1 . 1 m m o l) の溶液を、還流下 8 時間攪拌し、そして減圧下濃縮して乾固した。残留物を水に溶解し、飽和 NaHCO_3 溶液を加えて pH 8 ~ 9 にし、そしてエチルアセテートで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、そして減圧下で濃縮し、乾固した。この粗生成物を、ジエチルエーテル - ヘキサン中で再結晶し、化合物 6 8 を得た (0 . 3 2 g 、 7 1 % 収率) 。

【 0 0 8 9 】

(実施例 1 1 5 - (2 - フェナントレニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 4 - (1 H - テトラゾール - 5 - イルメチルフェニル) - 1 H - ピラゾール (6 9) (工程 1 1))

トルエン (5 m L) 中に、化合物 6 7 (0 . 4 3 g 、 1 m m o l) 、アジ化ナトリウム (0 . 0 8 g 、 1 . 2 m m o l) およびトリエチルアミンハイドロクロライド (0 . 1 2 g 、 1 . 2 m m o l) を含む混合物を、 1 0 0 で 5 時間攪拌し、室温に冷却し、そして水 (1 0 m L) で抽出した。その水相に、 3 6 % 塩化水素溶液を滴下し、生じたテトラゾール 6 9 を塩析した。ろ過後、その固体を減圧下で乾燥し、化合物 3 3 を得た (0 . 3 9 g 、 8 4 % 収率) 。

【 0 0 9 0 】

(実施例 1 2 ~ 1 4 1 - (4 - ニトロフェニル) - 5 - フェニル - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール (I I I) (工程 1 2))

4 0 m L のエタノール中の 1 , 1 , 1 - トリフルオロ - 4 - ヒドロキシ - 4 - フェナントレン - 2 - イル - ブト - 3 - エン - 2 - オン (1 . 2 9 g 、 4 . 1 m m o l) の溶液に、 4 - ニトロフェニルヒドラジンハイドロクロライド (0 . 9 3 g 、 4 . 9 m m o l) を攪拌しながら加え、 1 時間還流し、室温まで冷却し、そして減圧下で濃縮し乾固した。残留物をエチルアセテートに溶解し、そして水で洗浄した。この有機相を硫酸マグネシウム上で乾燥し、減圧下で濃縮し乾固した。この粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、化合物 I I I を得た (0 . 8 8 g 、 5 0 % 収率) 。

【 0 0 9 1 】

(4 - [5 - (2 - フェナントレニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピロゾ

10

20

30

40

50

ール - 1 - イル] フェニルアミン (I V) (工程 1 3))

20 mL エタノール中の化合物 I I I (0 . 8 8 g、2 mmol) の溶液に、酸化白金 (27 mg、0 . 12 mmol) を加え、 H_2 下、55 psi で 12 時間攪拌し、ろ過して触媒を除去し、そして減圧下で濃縮して乾固した。粗生成物をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、化合物 I V (0 . 57 g、70 % 収率) を得た。

【 0092 】

(実施例 12 2 - アミノ - N - 4 - [5 - (2 - フェナントレニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] - フェニル } - アセタミド (70) (工程 14 および 15))

10 mL のテトラヒドロフラン中の t - ブチルオキシカルボニル (t BOC) - グリシン (0 . 25 g、1 . 4 mmol) および化合物 I V (0 . 57 g、1 . 4 mmol) の溶液に、1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドハイドロクロライド (0 . 41 g、2 . 1 mmol) を加え、25 で 12 時間攪拌し、そしてロータリーエバポレーター中において減圧下で濃縮乾固した。この残留物を水に懸濁し、そして生成物をエチルアセテートで抽出した。有機相を、硫酸マグネシウム上で乾燥し、そして減圧下で濃縮乾固し、化合物 V (0 . 67 g、85 % 収率) を得た。化合物 V (0 . 67 g、1 . 2 mmol) を、0 . 7 mL の濃 HCl 溶液を含有する 8 mL のエチルアセテートに溶解し、室温で 2 時間攪拌し、そして減圧下で濃縮乾固した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、化合物 70 を白色粉末 (0 . 49 g、90 %) として得た。

【 0093 】

(実施例 13 4 - [5 - (2 - フェナントレニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] - フェニル - グアニジン (71) (工程 16))

7 mL のエタノール中の化合物 I V (0 . 57 g、1 . 4 mmol) の溶液に、シアナミド (89 mg、2 . 1 mmol) および 1 . 5 mL の 1 N HCl を加えた。この混合物を 24 時間還流して、そして減圧下で濃縮乾固した。この生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、化合物 71 を白色固体 (0 . 25 g、40 % 収率) として得た。

【 0094 】

(実施例 14 4 - [5 - (2 - フェナントレニル) - 3 - (トリフルオロメチル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] フェニル尿素 (72) (工程 17))

酢酸 (50 mL)、水 (12 mL)、およびエタノール (20 mL) を含む 250 mL 丸底フラスコに、化合物 I V (2 . 25 g、5 . 6 mmol) を加え、次いでイソシアナ酸ナトリウム (0 . 74 g、11 . 2 mmol) を加えた。この反応を 1 . 5 時間攪拌し、そして 1 N の水酸化ナトリウム、次いで水酸化ナトリウムペレットを添加して中和し、この溶液の pH を 7 . 0 まで変化させた。この生成物を分離し、そして 100 mL の水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、そして溶媒を除去して粗生成物を得た。精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで (ヘキサン - エチルアセテート、3 : 2 からヘキサン - アセトン、1 : 3) によって行い、化合物 72 を得た。

【 0095 】

(実施例 15 さらに化合物の調製)

表 4 の化合物を上記実施例の方法を使用して調製した。

【 0096 】

【表 4】

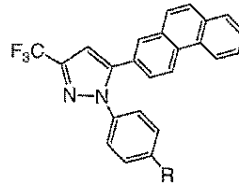


表 4 さらなる化合物

化合物	R	命名
73		4-(5-フィナントレン-2-イル-3-トリフルオロメチル-ヒラゾール-1-イル)-N-(4-スルファモイル-フェニル)-ベンゾアミド
74		N-[4-(5-フィナントレン-2-イル-3-トリフルオロメチル-ヒラゾール-1-イル)-フェニル]-4-スルファモイル-ベンゾアミド
75		2-グアニジノ-N-[4-(5-フィナントレン-2-イル-3-トリフルオロメチル-ヒラゾール-1-イル)-フェニル]-アセタミド
76		2-[4-(5-フィナントレン-2-イル-3-トリフルオロメチル-ヒラゾール-1-イル)-フェニルアミノ]-アセタミド
77		N-{{4-(5-フィナントレン-2-イル-3-トリフルオロメチル-ヒラゾール-1-イル)-フェニルカルバモイル}-メチル}-ベンゾアミド

(実施例 16 いくつかの癌細胞株に対する化合物 70 および 71 のスクリーニング)
 上記癌スクリーニングパネルのヒト腫瘍細胞株を、5% ウシ胎児血清および 2 mM
 L-グルタミンを含む RPMI 1640 培地で培養する。典型的なスクリーニング実験
 については、個々の細胞株の倍加期間に依存して、細胞を、5,000 ~ 40,000 細胞
 /ウェルの範囲のプレーティング密度で 96 ウェルマイクロタイタープレート中に接種
 する。細胞接種後、実験薬物を添加する前に、上記マイクロタイタープレートを、37
 、5% CO₂、95% 空気および 100% 相対湿度で 24 時間インキュベートした
 。

【0097】

24 時間後、薬物添加 (Tx) 時に各々の細胞株に関する細胞数の測定を表すため、各
 々の細胞株の 2 個のプレートをそのまま TCA で固定した。実験用の薬物を、所望の最
 終最大試験濃度の 400 倍でジメチルスルホキシドに可溶化し、そして使用するまで冷凍
 保存した。薬物添加時に、冷凍濃縮物のアリコートを融かし、そして所望の最終最大試験
 濃度を 50 μg/ml ゲンタマイシンを含む完全な培地で 2 倍に希釈した。さらなる 4
 個の、10 倍希釈または 1/2 log 連続番号希釈を行い、全体で 5 種類の濃度の薬物
 およびコントロールを提供する。これらの種々の希釈液の 100 μl のアリコートを、既
 に 100 μl の培地を含む、上記適切なマイクロタイターウェルに加え、所望の最終薬物
 濃度液を得た。

【0098】

薬物添加後、上記プレートを、さらに 48 時間、37 で、5% CO₂、95% 空
 気、100% 相対湿度でインキュベートする。付着細胞の場合、上記アッセイを、冷却
 TCA の穏やかな添加によって終結する。細胞を 50 μL の冷却 50% (w/v) TCA
 (最終濃度、10% TCA) でその場で固定し、4 で 60 分間インキュベートする。
 この上清を廃棄し、プレートを 5 回水道水で洗浄し、そして風乾する。1% 酢酸中で 0
 .4% (w/v) のスルホローダミン B (SRB) 溶液 (100 μl) を、各ウェルに添
 加し、そしてプレートを室温で 10 分間インキュベートする。染色後、未結合染料を 1%
 酢酸で 5 回洗浄することによって除去し、そしてプレートを風乾する。結合染色物を次
 に 10 mM trizma 塩基で可溶化し、そして吸光度を自動プレートリーダー上で 5
 15 nm の波長で読み取る。浮遊細胞の場合、上記アッセイを、50 μl の 80% TC

A (最終濃度、16% TCA)を穏やかに添加することによってウェルの底に定着した細胞を固定することによって、終結する。7回の吸光度測定[時間ゼロ、(Tz)、コントロール成長、(C)、および上記5つの濃度レベルでの薬物の存在下における試験成長(Ti)]を使用して、パーセント成長を各々の薬物濃度レベルで計算する。パーセント成長阻害を、以下のように計算する:

$T_i = T_z$ の場合の濃度に対して $[(T_i - T_z) / (C - T_z)] \times 100$

$T_i < T_z$ の場合の濃度に対して $[(T_i - T_z) / T_z] \times 100$

3個の用量反応パラメーターを、各々の実験用薬物に対して計算する。50%(GI₅₀)の成長阻害を、 $[(T_i - T_z) / (C - T_z)] \times 100 = 50$ から計算する。これは薬物インキュベーション中におけるコントロール細胞の正味タンパク質増加(SRB染色により測定される)における50%減少の結果をもたらす薬物濃度である。全成長阻害(TGI)を生じる薬物濃度は、 $T_i = T_z$ から計算される。処理後の正味損失を表すLC₅₀(最初における薬物濃度と比較して、薬物処理の終わりでの測定されたタンパク質において50%減少の結果となる薬物の濃度)は、 $[(T_i - T_z) / T_z] \times 100 = -50$ から計算される。活性のレベルに達する場合、値はこれらの3個のパラメーターの各々に対し計算される。しかし、この効果が達しないか、またはこの効果を超える場合、上記パラメーターに対する値は、試験された最大濃度または最小濃度より大きい、または小さい濃度として表される。

【0099】

記述された方法は、National Institutes of HealthにおけるDevelopmental Therapeutics Programにより提供されたスクリーニングサービスのもとで、60種の細胞株のパネルにおいて化合物70および71を試験するために使用した。図1Cに示されるのは、1、RPMI-8226白血病細胞；2、NCI-H322M非小細胞肺癌細胞；3、HT29結腸癌細胞；4、U251 CNS癌細胞；5、SK-MEL-28黒色腫癌細胞；6、SK-OV-3卵巣癌細胞；7、RXF393腎臓癌細胞；8、PC-3前立腺癌細胞；9、MDA-MB-231乳癌細胞である。

【0100】

全60種の細胞株に対する化合物70および71の試験結果を、以下の表に示す。試験は、National Cancer Institute Developmental Therapeutics Programにより行われた。示された結果は、インビトロ試験結果である。

【0101】

(表5 60種の癌細胞株に対する化合物70の試験結果)

【0102】

【表 5】

A ⁺ 細胞株	時間 セロ	平均光学密度					Log10 濃度					A ⁺ -セロ成長					GI50	TGI	LC50
		-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0			
白血病	CCRF-CRM	0.295	1.099	0.493	0.946	0.523	0.168	0.194	74	81	28	-43	-34	3.87E-07	2.49E-06	>1.00E-04			
	K-562	0.297	1.467	1.435	1.023	0.681	0.209	0.247	97	62	33	-30	-17	2.57E-07	3.34E-06	>1.00E-04			
	MO7-4	0.313	1.048	0.964	0.991	0.614	0.180	0.296	89	87	41	-42	-6	6.36E-07	3.10E-06	>1.00E-04			
	RFHL-9226	0.332	0.445	0.766	0.701	0.547	0.164	0.329	85	72	42	-51	-31	5.37E-07	2.84E-06	>1.00E-04			
	SR	0.364	0.902	0.816	0.796	0.605	0.265	0.363	84	80	45	-27	-	7.11E-07	4.17E-06	>1.00E-04			
非小細胞肺癌	A549/ATCC	0.363	1.279	1.294	1.149	0.931	0.155	0.252	102	86	51	-57	-31	1.02E-06	2.96E-06				
	ERVK	0.387	0.660	0.891	0.860	0.786	0.156	0.193	110	100	75	-72	-65	1.49E-06	3.25E-06	7.08E-06			
	HOP-92	0.510	1.395	1.310	1.330	1.075	0.155	0.217	97	93	64	-70	-57	1.27E-06	3.01E-06	7.13E-06			
	HOP-92	1.070	1.526	1.509	1.474	1.465	0.098	0.267	95	89	87	-91	-75	1.61E-06	3.07E-06	5.97E-06			
	NCI-H226	1.190	1.594	1.593	1.586	1.429	0.505	0.614	100	98	59	-50	-40	1.28E-06	3.21E-06				
	NCI-H23	0.457	1.655	1.672	1.073	1.255	0.097	0.156	101	102	67	-79	-66	1.30E-06	2.87E-06	6.33E-06			
	NCI-H322H	0.626	2.465	1.363	1.562	1.420	0.100	0.269	80	51	43	-84	-57	2.18E-06	2.18E-06	5.40E-06			
	NCI-H460	0.319	1.443	1.799	1.499	0.830	0.171	0.213	97	77	34	-46	-33	4.21E-07	2.64E-06	>1.00E-04			
	NCI-H522	0.766	1.549	1.626	1.719	1.528	0.260	0.486	110	122	97	-66	-37	1.95E-06	3.94E-06				
	COLO 205	0.221	1.412	1.286	1.252	0.916	0.104	0.239	89	87	56	-53	-1	1.18E-06					
結腸癌	HCT-116	0.114	0.708	0.751	0.665	0.452	0.104	0.146	107	93	57	-9	-5	1.27E-06		>1.00E-04			
	HCT-15	0.279	0.975	0.760	0.599	0.561	0.149	0.278	81	54	47	-47	-	1.65E-07	3.19E-06	>1.00E-04			
	HT29	0.215	1.453	1.355	1.299	0.801	0.075	0.159	92	88	47	-65	-36	9.58E-07	2.64E-06				
	KM12	0.535	2.184	2.151	2.044	1.425	0.146	0.264	98	91	54	-73	-51	1.07E-06	2.67E-06	6.62E-06			
	SW-620	0.107	1.202	1.197	1.198	0.716	0.127	0.136	100	100	54	-32	-28	1.12E-06	4.33E-06	>1.00E-04			
CNS癌	SP-268	0.376	1.142	1.010	0.930	0.799	0.252	0.280	84	72	54	-33	-26	1.11E-06	4.16E-06	>1.00E-04			
	SP-295	0.421	1.224	1.173	1.190	0.515	0.225	0.287	94	96	62	-47	-32	1.28E-06	3.71E-06	>1.00E-04			
	SW-19	0.530	1.721	1.562	1.055	1.230	0.219	0.324	87	94	59	-59	-39	1.18E-06	3.15E-06				
	U251	0.391	1.301	1.298	1.239	0.610	0.144	0.320	100	82	46	-63	-18	7.55E-07	2.64E-06				
黒色腫	LOX IMVI	0.353	1.166	1.204	0.974	0.742	0.176	0.352	105	76	48	-50	-	8.36E-07	3.07E-06				
	MALME-3M	0.666	1.165	1.123	1.128	1.102	0.218	0.290	92	93	87	-67	-56	1.74E-06	3.67E-06	7.73E-06			
	M14	0.315	0.986	0.975	0.974	0.916	0.211	0.256	98	96	90	-33	-29	2.10E-06	3.37E-06	>1.00E-04			
	SK-MEL-2	0.486	0.983	0.943	0.956	0.865	0.289	0.330	114	117	100	-37	-28	2.33E-06	5.40E-06	>1.00E-04			
	SK-MEL-20	0.530	1.482	1.426	1.320	1.180	0.071	0.213	94	83	63	-87	-59	1.22E-06	2.64E-06	5.69E-06			
	SK-MEL-5	0.549	2.147	2.995	1.958	1.659	0.136	0.364	91	88	69	-75	-34	1.36E-06	3.02E-06				
	UACC-62	0.675	1.600	1.649	1.546	1.407	0.137	0.364	105	94	79	-80	-46	1.53E-06	3.15E-06				
卵巣癌	IGROV1	0.462	1.060	1.044	1.103	0.902	0.235	0.302	97	107	74	-49	-35	1.56E-06	1.97E-06	>1.00E-04			
	OVCA9-3	0.460	0.929	0.879	0.849	0.816	0.148	0.301	89	83	76	-70	-35	1.51E-06	3.32E-06				
	OVCA9-4	0.530	1.121	1.114	1.073	1.096	0.093	0.172	99	92	94	-82	-68	1.78E-06	3.41E-06	6.55E-06			
	OVCA9-5	0.512	1.597	1.480	1.540	1.412	0.087	0.149	97	103	90	-83	-71	1.71E-06	3.32E-06	6.45E-06			
	OVCA9-8	0.400	1.101	1.078	1.114	0.755	0.269	0.306	97	102	51	-73	-24	1.02E-06	4.05E-06	>1.00E-04			
	SK-OV-3	0.399	1.623	1.514	1.597	1.262	0.081	0.302	91	98	71	-79	-24	1.37E-06	2.96E-06				
腎臓癌	786-0	0.652	1.958	2.012	1.897	1.440	0.181	0.299	104	95	60	-72	-54	1.20E-06	2.95E-06	6.79E-06			
	A498	0.945	3.261	2.230	2.598	2.201	0.660	0.433	98	126	95	-30	-54	2.30E-06	5.75E-06	6.69E-06			
	ACHN	0.374	1.026	0.925	1.037	0.825	0.150	0.313	94	102	70	-60	-16	1.42E-06	3.45E-06				
	CARK-1	0.597	1.862	1.692	1.802	1.125	0.147	0.335	87	95	42	-75	-44	7.03E-07	2.27E-06				
	AKP 393	0.403	0.821	0.766	0.760	0.623	0.177	0.441	91	75	56	-56	-10	1.14E-06					
	SN12C	0.504	1.233	1.209	1.194	1.093	0.203	0.198	96	94	78	-65	-47	1.58E-06	3.51E-06				
	TK-10	0.672	1.496	1.512	1.492	1.304	0.138	0.208	102	100	77	-80	-70	1.68E-06	3.18E-06	6.47E-06			
前立腺癌	UO-31	0.443	1.782	1.572	1.563	1.356	0.161	0.285	84	84	68	-64	-36	1.37E-06	3.29E-06				
	PC-3	0.242	0.996	0.910	0.763	0.593	0.055	0.108	89	69	47	-77	-55	7.05E-07	2.38E-06	6.03E-06			
乳癌	DU-145	0.327	0.961	0.993	1.018	0.895	0.078	0.132	105	109	90	-76	-60	1.73E-06	3.47E-06	6.95E-06			
	MCF7	0.452	1.672	1.566	1.541	0.982	0.196	0.255	91	89	43	-57	-44	7.18E-07	2.72E-06				
	NCI/ADR-RES	0.556	1.904	1.883	1.873	1.217	0.229	0.212	98	98	49	-59	-62	9.54E-07	2.85E-06	3.28E-06			
	MDA-MB-231/ATCC	0.642	0.988	0.908	0.809	0.843	0.173	0.306	100	71	58	-73	-57	1.15E-06	2.77E-06	6.67E-06			
	HS 578T	0.534	1.186	1.221	1.179	1.110	0.351	0.333	105	99	88	-34	-38	2.05E-06	5.29E-06	>1.00E-04			
	MDA-MB-435	0.404	1.469	1.392	1.447	1.126	0.127	0.347	103	98	68	-69	-14	1.35E-06	3.14E-06				
	BT-549	0.492	0.957	0.912	0.891	0.785	0.143	0.195	90	86	63	-71	-69	1.25E-06	2.95E-06	6.98E-06			
	T-47D	0.423	1.019	0.921	1.071	0.935	0.205	0.233	84	109	86	-52	-44	1.82E-06	4.21E-06				

(表 6 60種の癌細胞株に対する化合物71の試験結果)

【0103】

10

20

30

【表 6】

H ⁺ セル / 細胞株	時間 h	平均光学密度				Log10 濃度				H ⁺ -セル成長					GI50	TGI	LC50
		0.0	-0.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-3.0	-2.0	-1.0	-0.0	-1.0	-2.0	-3.0			
白血病	CCRF-CEM	0.295	0.949	0.808	0.811	0.718	0.002	0.140	78	79	65	-99	-53	1.23E-06	2.48E-06	5.00E-06	
	K-562	0.297	1.401	1.338	1.283	0.438	0.126	0.119	94	89	13	-58	-60	3.26E-07	1.52E-06	7.77E-06	
	MOLT-4	0.313	0.957	0.833	0.736	0.461	0.143	0.143	81	65	23	-54	-54	2.33E-07	1.98E-06	8.75E-06	
	RFMT-B276	0.332	0.682	0.536	0.559	0.513	0.016	0.176	58	65	52	-95	-47	1.03E-06	2.25E-06		
	SR	0.364	0.888	0.688	0.583	0.254	0.234	0.287	62	42	-30	-36	-21	3.06E-08	3.79E-07	>1.00E-04	
非小細胞肺癌	A549/ATCC	0.363	1.175	1.148	1.145	1.121	-0.032	0.135	95	96	93	-100	-63	1.68E-06	3.64E-06	5.51E-06	
	H1975	0.557	0.841	0.713	0.737	0.711	-0.098	0.145	56	63	54	-100	-74	1.00E-06	2.24E-06	4.74E-06	
	HOP-62	0.510	1.288	1.285	1.267	1.255	0.011	0.325	100	97	96	-98	-36	1.72E-06	3.12E-06		
	HOP-92	1.070	1.647	1.567	1.541	1.361	0.089	0.767	86	82	50	-92	-28	1.01E-06	2.26E-06		
	NCI-H23	0.457	1.669	1.585	1.515	1.679	-0.041	0.151	93	87	101	-100	-67	1.79E-06	3.10E-06	5.64E-06	
	NCI-H322M	0.626	1.181	0.988	1.049	1.031	-0.052	0.257	65	76	73	-100	-59	1.36E-06	2.64E-06	5.14E-06	
	NCI-H460	0.319	1.792	1.654	1.658	1.650	0.011	0.257	91	91	90	-97	-20	1.64E-06	3.04E-06		
	NCI-H522	0.766	1.671	1.509	1.558	1.471	0.037	0.439	82	87	78	-55	-43	1.45E-06	2.82E-06		
	COLOR 205	0.221	1.196	1.146	1.028	0.930	0.089	0.151	95	83	73	-96	-32	1.36E-06	2.69E-06		
	HCT-116	0.114	0.714	0.607	0.633	0.525	-0.022	0.058	82	86	68	-100	-49	1.29E-06	2.85E-06		
結腸癌	HCT-15	0.279	0.893	0.669	0.779	0.797	-0.003	0.082	64	81	84	-100	-71	1.54E-06	2.87E-06	5.36E-06	
	KM12	0.215	1.333	1.276	1.238	1.136	-0.054	0.093	95	91	82	-100	-99	1.50E-06	2.83E-06	5.32E-06	
	H729	0.535	1.957	1.867	1.833	1.777	0.013	0.307	94	91	87	-95	-43	1.59E-06	2.97E-06		
	SW-620	0.167	1.073	0.923	0.993	1.060	-0.048	0.016	83	91	98	-100	-92	1.75E-06	3.13E-06	5.60E-06	
	SP-208	0.376	1.016	0.893	0.939	0.886	0.148	0.270	81	88	80	-61	-26	1.63E-06	3.69E-06		
	SP-295	0.421	1.107	1.033	0.931	0.987	-0.025	0.195	89	74	84	-100	-54	1.53E-06	2.96E-06	5.35E-06	
	U87-MG	0.532	1.483	1.385	1.365	1.351	0.063	0.317	90	90	86	-68	-40	1.61E-06	3.12E-06		
	U251	0.391	1.156	1.125	1.059	1.123	0.026	0.484	96	87	96	-93	12	1.74E-06			
	LOX IMVI	0.353	1.164	0.948	1.033	0.939	0.008	0.165	73	84	72	-98	-53	1.34E-06	2.65E-06	5.22E-06	
	MXLME-3N	0.666	0.984	0.832	0.838	0.826	0.089	0.333	52	54	50	-87	-50	1.01E-06	2.13E-06	1.00E-04	
黒色腫	M14	0.315	0.935	0.772	0.823	0.816	-0.004	0.210	74	82	81	-100	-33	1.48E-06	2.80E-06		
	SK-MEL-3	0.456	0.830	0.775	0.819	0.780	-0.010	0.324	85	87	87	-100	-29	1.57E-06	2.91E-06		
	SK-MEL-28	0.510	1.508	1.439	1.408	1.367	-0.002	0.248	93	90	86	-100	-33	1.56E-06	2.89E-06	5.38E-06	
	SK-MEL-5	0.549	1.640	1.611	1.762	1.813	0.143	0.363	97	111	116	-74	-34	2.22E-06	4.87E-06		
	UACC-62	0.675	1.477	1.323	1.338	1.301	-0.041	0.272	81	83	78	-100	-60	1.44E-06	2.74E-06	5.24E-06	
	IGROV1	0.462	1.091	0.997	0.983	0.886	-0.039	0.216	85	83	55	-100	-53	1.07E-06	2.26E-06	4.75E-06	
	OVCA-3	0.460	0.868	0.833	0.792	0.770	-0.043	0.131	91	81	76	-100	-72	1.40E-06	2.78E-06	5.30E-06	
卵巣癌	OVCA-4	0.539	1.123	1.011	0.999	0.945	-0.001	0.179	81	79	70	-100	-66	2.31E-06	2.50E-06	5.03E-06	
	OVCA-5	0.512	1.592	1.538	1.437	1.559	-0.033	0.474	95	86	97	-100	-8	1.73E-06	3.11E-06		
	OVCA-8	0.400	0.968	0.923	0.946	0.934	-0.001	0.126	92	96	94	-100	-63	1.69E-06	3.05E-06	5.52E-06	
	SK-OV-3	0.399	1.327	1.261	1.245	1.093	0.062	0.278	93	91	75	-85	-30	1.43E-06	2.94E-06		
	786-O	0.652	1.912	1.862	1.858	1.663	0.045	0.458	96	96	80	-93	-30	1.49E-06	2.91E-06		
	A498	0.945	2.207	2.413	2.887	1.869	1.903	0.540	116	91	73	-76	-43	1.65E-05	4.35E-05	>1.00E-04	
	ACHN	0.374	1.026	0.898	0.902	0.964	0.034	0.291	80	81	90	-91	-22	1.67E-06	3.15E-06		
腎臓癌	CAKI-1	0.397	1.767	1.735	1.642	1.884	-0.067	0.315	97	89	103	-100	-47	1.83E-06	3.22E-06		
	HXP 193	0.403	0.829	0.582	0.629	0.629	0.196	0.385	42	53	53	-61	-4		2.91E-06		
	SN12C	0.584	1.115	1.050	0.938	1.045	-0.014	0.224	88	78	87	-100	-62	1.57E-06	2.91E-06	5.40E-06	
	TX-10	0.672	1.134	1.032	1.097	0.998	-0.021	0.245	76	50	71	-100	-64	1.32E-06	2.59E-06	5.09E-06	
	UD-31	0.433	1.467	1.375	1.407	1.332	-0.030	0.288	91	94	87	-100	-35	1.57E-06	2.92E-06		
	PC-3	0.212	1.068	0.862	0.846	0.857	-0.022	0.179	75	73	75	-100	-26	1.38E-06	2.67E-06		
	DU-145	0.327	0.835	0.694	0.767	0.760	-0.074	-0.019	72	87	85	-100	-100	1.55E-06	2.89E-06	5.37E-06	
乳癌	MCF7	0.452	1.540	1.467	1.340	1.507	0.071	0.229	93	82	97	-84	-49	1.82E-06	3.44E-06		
	NCI/ADR-RES	0.556	1.942	1.920	1.892	1.874	0.490	0.294	96	96	95	-12	-47	2.64E-06	7.73E-06	>1.00E-04	
	MDA-MB-231/ATCC	0.642	0.884	0.756	0.830	0.709	0.015	0.389	47	78	27	-98	-39		1.66E-06		
	M5 578T	0.534	1.107	1.099	1.165	1.127	0.169	0.333	89	100	94	-69	-38	1.86E-06	3.78E-06		
	MDA-MB-435	0.404	1.498	1.376	1.382	1.444	-0.073	0.295	89	89	95	-100	-27	1.70E-06	3.07E-06		
	T-47D	0.423	0.750	0.541	0.678	0.529	0.189	0.198	36	47	32	-76	-53	<1.00E-08	1.98E-06	5.72E-06	

10

20

本明細書で記述される実施例は、記述される化合物の合成および用途の例示を意味する。上記実施例は、本明細書で記述される発明の範囲を限定することを意味しない。

【図面の簡単な説明】

30

【0104】

【図1】図1は、9種の代表的ヒト腫瘍細胞株における、PC-3細胞の細胞生存度および細胞成長に対する化合物70（左パネル）および化合物71（右パネル）の用量依存性効果を示す。

【図2】図2は、1, 1, 1-トリフルオロ-4-ヒドロキシ-4-フェナントレン-2-イル-プト-3-エン-2-オンを共通の前駆体として使用することによる化合物37～72の合成を示す。

【図 1】

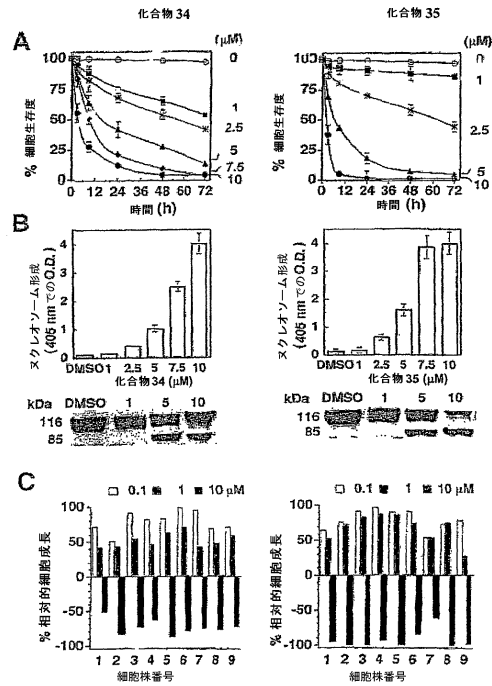


FIG. 1

【図 2】

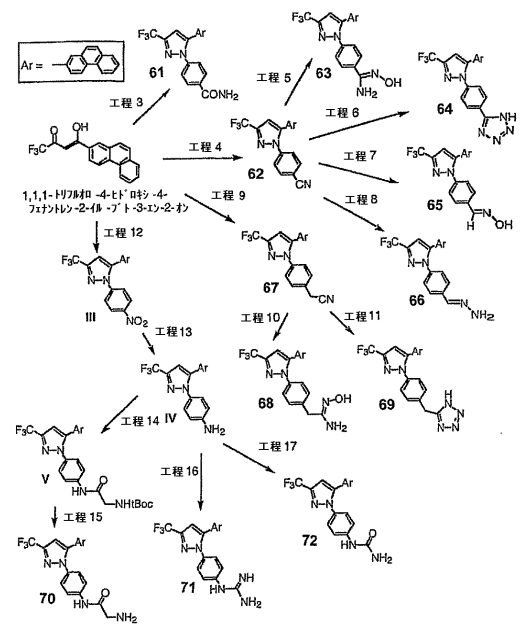


FIG. 2

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/10

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

(72)発明者 チェン, チン - シー

アメリカ合衆国 オハイオ 4 3 2 2 1, アッパー アーリントン, サフォーク ロード 1
8 4 0

審査官 植原 克典

(56)参考文献 米国特許第 0 5 7 6 0 0 6 8 (U S , A)

欧州特許出願公開第 0 0 5 5 4 8 2 9 (E P , A 1)

Journal of the National Cancer Institute, 2 0 0 2 年, 94(23), pp.1745-1757