

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5259398号
(P5259398)

(45) 発行日 平成25年8月7日(2013.8.7)

(24) 登録日 平成25年5月2日(2013.5.2)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519
A 6 1 K 31/426 (2006.01)	A 6 1 K 31/426
A 6 1 K 31/444 (2006.01)	A 6 1 K 31/444
A 6 1 K 31/52 (2006.01)	A 6 1 K 31/52
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00

請求項の数 5 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-522640 (P2008-522640)	(73) 特許権者	000228590
(86) (22) 出願日	平成19年6月22日 (2007.6.22)		日本ケミファ株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2007/063062		東京都千代田区岩本町2丁目2番3号
(87) 国際公開番号	W02007/148835	(74) 代理人	100124822
(87) 国際公開日	平成19年12月27日 (2007.12.27)		弁理士 千草 新一
審査請求日	平成22年4月15日 (2010.4.15)	(72) 発明者	平野 益治
(31) 優先権主張番号	特願2006-172290 (P2006-172290)		埼玉県三郷市さつき平2-3-1-510
(32) 優先日	平成18年6月22日 (2006.6.22)	(72) 発明者	山川 富雄
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		千葉県柏市みどり台2-23-2
		(72) 発明者	石川 智久
			神奈川県横浜市緑区長津田町4259 国
			立大学法人東京工業大学内
		(72) 発明者	齊藤 光
			神奈川県横浜市緑区長津田町4259 国
			立大学法人東京工業大学内

最終頁に続く

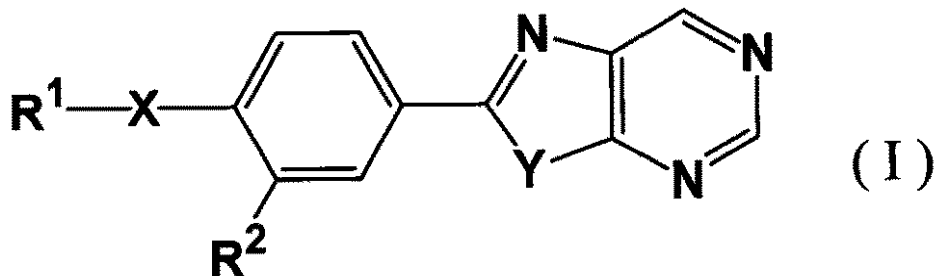
(54) 【発明の名称】 抗ガン剤耐性克服剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

次の一般式(I)、

【化1】



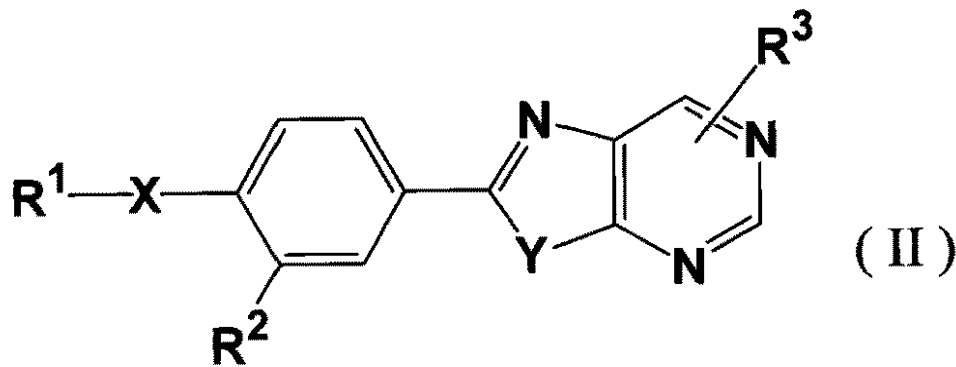
(式中、R¹は炭素数2～8のアルケニル基、又は置換基として炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルコキシ基、炭素数2～8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6～10のアリール基若しくは炭素数6～10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良い炭素数6～10のアリール基若しくはヘテロア

リール基を表し、 R^2 はシアノ基、ニトロ基、ホルミル基、カルボキシル基、カルバモイル基又は炭素数 2 ~ 8 のアルコキシカルボニル基を表し、 X は酸素原子、 $-N(R^3)-$ 又は $-S(O)_n-$ を表し、ここで R^3 は水素原子若しくは炭素数 1 ~ 8 のアルキル基を表すか、 R^1 と R^3 が一緒になってモルホリニル基、チオモルホリニル基若しくはピペラジニル基を表すか、又は前記の R^1 と同じものを表し、 n は 0 ~ 2 の整数を表し、そして Y は酸素原子、硫黄原子又は NH を表す。) で表される化合物又はその塩を有効成分として含有するガン細胞の抗ガン剤に対する耐性獲得に BCRP の過剰発現が関与している抗ガン剤耐性克服剤。

【請求項 2】

次の一般式 (II)、

【化 2】



(式中、 R^1 は、置換基として炭素数 1 ~ 8 のアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基で置換された炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基、炭素数 2 ~ 8 のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数 6 ~ 10 のアリール基若しくは炭素数 6 ~ 10 のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良い炭素数 6 ~ 10 のアリール基若しくはヘテロアリール基を表し、 R^2 は、シアノ基、ニトロ基、ホルミル基、カルボキシル基、カルバモイル基又は炭素数 2 ~ 8 のアルコキシカルボニル基を表し、 R^3 は、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、メルカプト基、 OR^4 又は NHR^5 を表し、ここで、 R^4 及び R^5 は置換基としてハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数 6 ~ 10 のアリール基若しくは炭素数 6 ~ 10 のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良い炭素数 1 ~ 8 のアルキル基を表し、 X は、酸素原子、 $-N(R^6)-$ 又は $-S(O)_n-$ を表し、ここで R^6 は、水素原子、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基を表すか又は前記の R^1 と同じものを表し、 n は 0 ~ 2 の整数を表し、そして Y は、酸素原子又は硫黄原子を表す。) で表される化合物又はその塩を有効成分として含有するガン細胞の抗ガン剤に対する耐性獲得に BCRP の過剰発現が関与している抗ガン剤耐性克服剤。

【請求項 3】

2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) チアゾロ [5, 4 - d] ピリミジン、2 - [3 - シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ) フェニル] チアゾロ [5, 4 - d] ピリミジン、2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4 - ヒドロキシチアゾロ [5, 4 - d] ピリミジン、2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4 - ヒドロキシチアゾロ [5, 4 - d] ピリミジン カリウム塩及び 2 - [3 - シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ) フェニル] - 4 - ヒドロキシチアゾロ [5, 4 - d] ピリミジン カリウム塩から選択される化合物を有効成分として含有するガン細胞の抗ガン剤に対する耐性獲得に BCRP の過剰発現が関与している抗ガン剤耐性克服剤。

【請求項 4】

フェブキソスタット又は 4 - [5 - ピリジン - 4 - イル - 1 H - [1, 2, 4] トリアゾール - 3 - イル] ピリジン - 2 - カルボニトリルを有効成分として含有するガン細胞の抗

10

20

30

40

50

ガン剤に対する耐性獲得にBCRPの過剰発現が関与している抗ガン剤耐性克服剤。

【請求項5】

2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル)チアゾロ[5, 4 - d]ピリミジン、2 - [3 - シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ)フェニル]チアゾロ[5, 4 - d]ピリミジン、2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4 - ヒドロキシチアゾロ[5, 4 - d]ピリミジン、2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4 - ヒドロキシチアゾロ[5, 4 - d]ピリミジン カリウム塩、2 - [3 - シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ)フェニル] - 4 - ヒドロキシチアゾロ[5, 4 - d]ピリミジン カリウム塩、

フェブキソスタット及び4 - [5 - ピリジン - 4 - イル - 1H - [1, 2, 4]トリアゾール - 3 - イル]ピリジン - 2 - カルボニトリルから選択される化合物と抗ガン剤とからなるガン細胞の抗ガン剤に対する耐性獲得にBCRPの過剰発現が関与している多剤耐性を示すガン細胞に対する治療用薬剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はキサンチンオキシダーゼ阻害剤を有効成分として含有する抗ガン剤耐性克服剤に関する。

【背景技術】

【0002】

ガンの化学療法はガン治療において不可欠なものとなっているが、耐性が生じることもし少なくない。耐性を獲得したガン細胞では、治療には用いていない抗ガン剤、あるいは作用機構や構造が異なる複数の薬剤に対しても耐性を示す、いわゆる多剤耐性を示すことが多い。耐性は治療上の大きな問題であるが中でも多剤耐性は深刻であり、その克服薬の開発が切望されている。この多剤耐性のメカニズムの一つとして細胞膜に局在するP - 糖蛋白(ABC B1)及びMRP1(ABC C1)等のABCトランスポーターの過剰発現がある。これらのABCトランスポーターは、ATP依存的に様々な構造の基質(薬物、生理活性物質等)を細胞内から細胞外に排出することから、その過剰発現は細胞内薬物濃度を減少させ、抗ガン剤等の種々の薬物に対して耐性を引き起こす。

Breast Cancer Resistance Protein(BCRP/ABC G2)は比較的最近になって同定されたABCトランスポーターである。(非特許文献1: Doyle LA et al.: Proc Natl Acad Sci US A., 95: 15665 - 15670(1998)、非特許文献2: Allikmets R et al.: Cancer Res., 58: 5337 - 5339(1998)及び非特許文献3: Miyake K et al.: Cancer Res., 59: 8 - 13(1999))

BCRPはイリノテカンの活性代謝物であるSN - 38、ミトキサントロン及びトポテカン等の抗ガン剤を細胞外に排出することから、これらの抗ガン剤の耐性克服に対する分子標的として注目されている。(特許文献1: 特開2003 - 63989)

一方、後記一般式(I)又は(II)で表される二環性のヘテロ縮合環を有する化合物がキサンチンオキシダーゼ(XOD)阻害作用を有することは知られている。(特許文献2: WO2005/121153、特許文献3: WO 03/042185、特許文献4: WO 2007/4688)

またフェブキソスタットfebuxostat(TM X - 67)、4 - [5 - ピリジン - 4 - イル - 1H - [1, 2, 4]トリアゾール - 3 - イル]ピリジン - 2 - カルボニトリル(FY X - 051)はキサンチンオキシダーゼ(XOD)阻害作用を有し、高尿酸血症治療剤として有用である。

しかしながら、後記一般式(I)又は(II)で表される化合物、並びにTM X - 67等がBCRPに対して阻害作用を示すことは、知られていない。

【発明の開示】

10

20

30

40

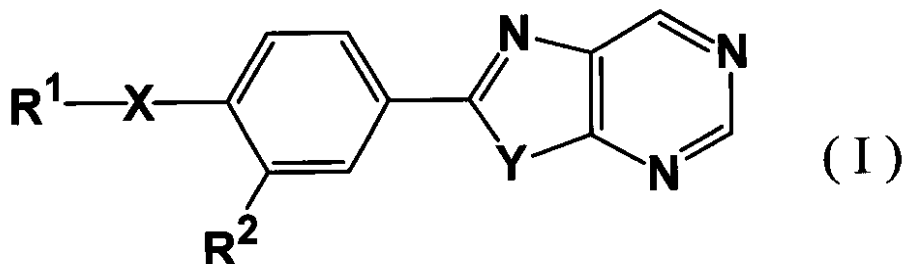
50

【 0 0 0 3 】

本発明の目的は、薬剤耐性克服剤及び抗ガン剤耐性克服剤を提供することにある。

本発明者らは、後記一般式 (I) 及び (I I) 記載の化合物や、TMX - 67等のキサンチンオキシダーゼ阻害作用を有する化合物がBCRPに対して阻害作用を示すことを見だし、本発明を完成した。

即ち、本発明は、次の一般式 (I)、



10

(式中、 R^1 は炭素数2～8のアルケニル基、又は置換基として炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルコキシ基、炭素数2～8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6～10のアリール基若しくは炭素数6～10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良い炭素数6～10のアリール基若しくはヘテロアリール基を表し、

20

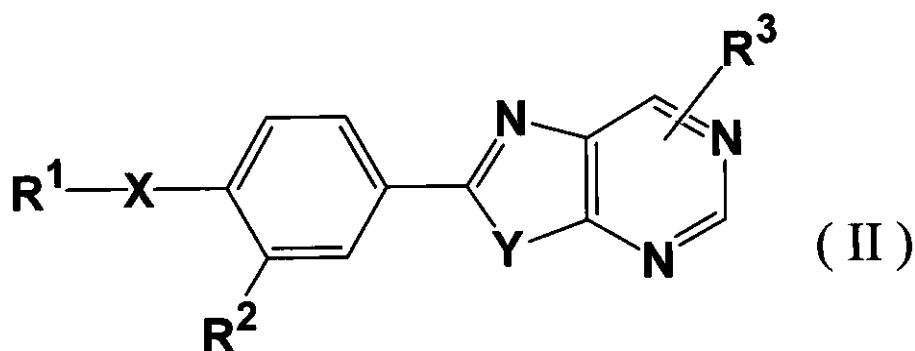
R^2 はシアノ基、ニトロ基、ホルミル基、カルボキシル基、カルバモイル基又は炭素数2～8のアルコキシカルボニル基を表し、

Xは酸素原子、 $-N(R^3)-$ 又は $-S(O)_n-$ を表し、ここで R^3 は水素原子若しくは炭素数1～8のアルキル基を表すか、 R^1 と R^3 が一緒になってモルホリニル基、チオモルホリニル基若しくはピペラジニル基を表すか、又は前記の R^1 と同じものを表し、nは0～2の整数を表し、

そしてYは酸素原子、硫黄原子又はNHを表す。)

で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する薬剤耐性克服剤に関する。また、本発明は、次の一般式 (I I)、

30



40

(式中、 R^1 は、置換基として炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、炭素数1～8のアルコキシ基で置換された炭素数1～8のアルコキシ基、炭素数2～8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6～10のアリール基若しくは炭素数6～10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良い炭素数6～10のアリール基若しくはヘテロアリール基を表し、

R^2 は、シアノ基、ニトロ基、ホルミル基、カルボキシル基、カルバモイル基又は炭素数2～8のアルコキシカルボニル基を表し、

50

R^3 は、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、メルカプト基、 OR^4 、または NHR^5 を表し、ここで、 R^4 及び R^5 は置換基としてハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6～10のアリール基若しくは炭素数6～10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良い炭素数1～8のアルキル基を表し、

X は、酸素原子、 $-N(R^6)-$ 又は $-S(O)_n-$ を表し、ここで R^6 は、水素原子、炭素数1～8のアルキル基を表すか、又は前記の R^1 と同じものを表し、

n は0～2の整数を表し、

そして Y は、酸素原子又は硫黄原子を表す。))

で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する薬剤耐性克服剤に関する。

また、本発明はフェブキソスタット又は4-[5-ピリジン-4-イル-1H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イル]ピリジン-2-カルボニトリルを有効成分として含有する薬剤耐性克服剤に関する。

10

また、本発明は上記一般式(I)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する抗ガン剤耐性克服剤に関する。

また、本発明は上記一般式(II)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する抗ガン剤耐性克服剤に関する。

また、本発明は、フェブキソスタット又は4-[5-ピリジン-4-イル-1H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イル]ピリジン-2-カルボニトリルを有効成分として含有する抗ガン剤耐性克服剤に関する。

さらにまた、本発明は2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル)チアゾロ[5, 4-d]ピリミジン、

20

2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]チアゾロ[5, 4-d]ピリミジン、

2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル) 4-ヒドロキシチアゾロ[5, 4-d]ピリミジン、

2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル) 4-ヒドロキシチアゾロ[5, 4-d]ピリミジン カリウム塩及び

2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]-4-ヒドロキシチアゾロ[5, 4-d]ピリミジン カリウム塩、フェブキソスタット又は4-[5-ピリジン-4-イル-1H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イル]ピリジン-2-カルボニトリルから選択される化合物と抗ガン剤とからなる多剤耐性を示すガン細胞に対する治療用薬剤に関する。

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0004】

更に詳細に本発明を説明する。

上記一般式(I)記載の化合物は特許文献2～4及び後記の参考例に記載されている方法を使用して合成できる。

上記一般式(I)記載の化合物のうち、次に示す化合物又はその塩が好ましい。

(1-1)

R^1 が置換基として炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルコキシ基、炭素数2～8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6～10のアリール基若しくは炭素数6～10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基、ナフチル基、フリル基、ピロール基、チエニル基、ピペリジニル基、ピリジニル基、ピラニル基、ピリジニル基、チアゾリル基、イミダゾリル基、インドリル基若しくはキノリル基である上記一般式(I)で表される化合物又はその塩。

40

(1-2)

R^1 が置換基として炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、炭素数1～8のハロゲン原子で置換された

50

アルコキシ基、炭素数 2 ~ 8 のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数 6 ~ 10 のアリアル基若しくは炭素数 6 ~ 10 のアリアルオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基若しくはピリジル基である上記一般式 (I) で表される化合物又はその塩。

(1 - 3)

R¹ が置換基として炭素数 1 ~ 8 のアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、若しくはアミノ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基若しくはピリジル基である上記一般式 (I) で表される化合物又はその塩。

(1 - 4)

R² がシアノ基又はニトロ基である上記一般式 (I) で表される化合物、又は上記 (1 - 1) ~ (1 - 3) の何れかに記載の化合物又はその塩。

(1 - 5)

R² がシアノ基である上記一般式 (I) で表される化合物、又は上記 (1 - 1) ~ (1 - 3) の何れかに記載の化合物又はその塩。

(1 - 6)

X が酸素原子、NH 又は硫黄原子である上記一般式 (I) で表される化合物、又は上記 (1 - 1) ~ (1 - 5) の何れかに記載の化合物又はその塩。

(1 - 7)

X が酸素原子又は硫黄原子である上記一般式 (I) で表される化合物、又は上記 (1 - 1) ~ (1 - 5) の何れかに記載の化合物又はその塩。

(1 - 8)

Y が硫黄原子又は NH である上記一般式 (I) で表される化合物、又は上記 (1 - 1) ~ (1 - 7) の何れかに記載の化合物又はその塩。

(1 - 9)

Y が硫黄原子である上記一般式 (I) で表される化合物、又は上記 (1 - 1) ~ (1 - 7) の何れかに記載の化合物又はその塩。

(1 - 10)

R¹ が置換基として炭素数 1 ~ 8 のアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基若しくはピリジル基で、

R² がシアノ基又はニトロ基で、

X が酸素原子又は硫黄原子で、

Y が硫黄原子又は NH である上記一般式 (I) で表される化合物又はその塩。

(1 - 11)

R¹ が置換基として炭素数 1 ~ 8 のアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基若しくはピリジル基で、

R² がシアノ基又はニトロ基で、

X が酸素原子又は硫黄原子で、

Y が硫黄原子である上記一般式 (I) で表される化合物又はその塩。

(1 - 12)

R¹ が置換基として炭素数 1 ~ 8 のアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基若しくはピリジル基で、

R² がシアノ基又はニトロ基で、

X が酸素原子で、

10

20

30

40

50

Yが硫黄原子である上記一般式(I)で表される化合物又はその塩。

(1-13)

特に好ましくは、2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル)チアゾロ[5,4-d]ピリミジン及び2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]チアゾロ[5,4-d]ピリミジンが挙げられる。

上記一般式(II)記載の化合物の合成方法は特許文献2に記載されている。

上記一般式(II)記載の化合物のうち、次に示す化合物又はその塩が好ましい。

(2-1)

R¹が、置換基として炭素数1~8のアルキル基、炭素数1~8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1~8のアルコキシ基、炭素数2~8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6~10のアリール基若しくは炭素数6~10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基、ナフチル基、フリル基、ピロール基、チエニル基、イミダゾリル基、ピリミジニル基、チアゾリル基、ピリジル基、インドリル基若しくはキノリル基である上記一般式(II)記載の化合物又はその塩。

10

(2-2)

R¹が、置換基として炭素数1~8のアルキル基、炭素数1~8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1~8のアルコキシ基、炭素数2~8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、アミノ基、炭素数6~10のアリール基若しくは炭素数6~10のアリールオキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基である上記一般式(II)記載の化合物又はその塩。

20

(2-3)

R¹が、置換基として炭素数1~8のアルキル基、炭素数1~8のハロゲン原子で置換されたアルキル基、炭素数1~8のアルコキシ基、炭素数2~8のアルコキシカルボニル基、ホルミル基、カルボキシル基、ハロゲン原子、フェニル基若しくはフェノキシ基から選ばれる基又は原子を有していても良いフェニル基である上記一般式(II)記載の化合物又はその塩。

(2-4)

R²が、シアノ基又はニトロ基である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-3)の何れかに記載の化合物又はその塩。

30

(2-5)

R²が、シアノ基である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-3)の何れかに記載の化合物又はその塩。

(2-6)

R³が、水酸基である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-5)の何れかに記載の化合物又はその塩。

(2-7)

R³の置換位置が(二環性の)ヘテロ縮合環の4位である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-6)の何れかに記載の化合物又はその塩

40

(2-8)

Xが、酸素原子、NH又は硫黄原子である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-7)の何れかに記載の化合物又はその塩。

(2-9)

Xが、酸素原子である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-7)の何れかに記載の化合物又はその塩。

(2-10)

Yが、硫黄原子である上記一般式(II)記載の化合物若しくはその塩、又は上記(2-1)~(2-9)の何れかに記載の化合物又はその塩。

50

(2 - 1 2)

特に好ましい有効性成分としては、2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4
ヒドロキシチアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン、2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェ
ニル) 4 ヒドロキシチアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン カリウム塩及び2 - [3 -
シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ) フェニル] - 4 - ヒドロキシチアゾロ [5 , 4
- d] ピリミジン カリウム塩が挙げられる。

本発明の抗ガン剤耐性克服剤が対象とする抗ガン剤としては、イリノテカン、イリノテカ
ンの活性代謝物であるSN - 3 8、ミトキサントロン、トポテカン、メトトレキセート、
ドキシソルピシン、ダウノルピシン、エトポシド、ゲフィチニブ、イマチニブ等が挙げられ
る。

10

本発明の抗ガン剤耐性克服剤が対象とするガンの種類は、BCRPが過剰発現していれば特に制限はなく、たとえば、耐性を獲得している血液ガン（造血器腫瘍）、肝ガン、大腸ガン、肺ガン、乳ガン、卵巣ガン、子宮頸ガン、骨肉腫、脳腫瘍、膵ガン、前立腺ガン等が挙げられる。

次に本発明の薬理効果について述べる。

後記実施例 1 はBCRPによるメトトレキセート輸送に対する作用を確認した試験である。

表 1 から明らかなように、化合物 1 (2 - [3 - シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ) フェニル] - 4 - ヒドロキシチアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン カリウム塩)、化合物 2 (2 - [3 - シアノ - 4 - (4 - フルオロフェノキシ) フェニル] チアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン)、化合物 3 (2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4 ヒドロキシチアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン カリウム塩)、化合物 4 (2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) チアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン)、TMX - 6 7 及び F Y X - 0 5 1 はいずれもBCRPによるメトトレキセートの輸送を強力に阻害することが確認された。

20

また、後記実施例 2 はBCRP過剰発現細胞 (F l p - I n - 2 9 3 / B C R P) による抗ガン剤耐性に及ぼす影響を確認した試験である。

化合物 1 及び化合物 2 はいずれも F l p - I n - 2 9 3 / A B C G 2 細胞のSN - 3 8 に対する耐性を濃度依存的に解除し、5 μ m o l / L において化合物 1 は約 9 6 %、化合物 2 は約 9 0 % 耐性を解除した。また、両化合物は検討した 1 0 μ m o l / L までの範囲において、F l p - I n - 2 9 3 / A B C G 2 細胞の生存率に影響を与えなかった。即ち、化合物 1 及び化合物 2 は細胞毒性を示すことなく、BCRP過剰発現細胞における抗ガン剤の耐性に対して克服作用を示すことが確認された。また、実施例 2 と同様な試験において、化合物 5 (2 - (3 - シアノ - 4 - フェノキシフェニル) 4 ヒドロキシチアゾロ [5 , 4 - d] ピリミジン)、TMX - 6 7 及び F Y X - 0 5 1 は 1 0 μ m o l / L で細胞毒性を示さず、また 5 μ m o l / L で、化合物 5 は、9 6 %、TMX - 6 7 は、8 2 %、F Y X - 0 5 1 は 3 9 % 耐性を解除した。

30

一方、公知のキサンチンオキシダーゼ (X O D) 阻害作用を有する薬物のうち、アロプリノール、オキシプリノールはBCRPによるメトトレキセートの輸送の阻害作用がなく、またSN - 3 8 に対する耐性克服作用を示さなかった。さらに Y - 7 0 0 (1 - [3 - シアノ - 4 - (2 , 2 - ジメチルプロポキシ) フェニル] - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸) もSN - 3 8 に対する耐性克服作用を示さなかった。(比較例 1 , 2)

40

従って、キサンチンオキシダーゼ (X O D) 阻害作用を有する薬物、特に上記一般式 (I) 又は (I I) 記載の化合物、TMX - 6 7、F Y X - 0 5 1 は、薬剤耐性克服剤、特に抗ガン剤耐性克服剤の有効成分として有用である。

本発明の薬剤耐性克服剤及び抗ガン剤耐性克服剤は、ヒトに対して一般的な経口投与又は非経口投与のような適当な投与方法によって投与することができる。

製剤化するためには、製剤の技術分野における通常の方法で錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、懸濁剤、注射剤、坐薬等の剤型に製造することができる。

これらの調製には、通常の賦形剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、色素、希釈剤などが用い

50

られる。ここで、賦形剤としては、乳糖、D-マンニトール、結晶セルロース、ブドウ糖などが、崩壊剤としては、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム(CMC-Ca)などが、滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどが、結合剤としては、ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)、ゼラチン、ポリビニルピロリドン(PVP)などが挙げられる。

投与量は通常成人においては、注射剤で有効成分である本発明化合物を1日約0.1mg~100mg、経口投与で1日1mg~2000mgであるが、年齢、症状等により増減することができる。

抗ガン剤耐性克服剤と公知の抗ガン剤からなる薬剤(配合剤)は、通常の配合剤の製造方法により得ることもできるが、別々に製造された薬剤を患者が同時に、又は時間を

10

おいて投与することもできる。

血液腫瘍及び全身性の転移を有する固形腫瘍等においては、抗ガン剤投与で急激に腫瘍が壊死すると、腫瘍細胞内の成分が大量に血中に放出され、高尿酸血症、高K血症、低Ca血症等を発生し、腎不全、心停止が惹起されることがある(腫瘍崩壊症候群)。

本発明の有効成分は、抗ガン剤の耐性克服に加え、キサンチンオキシダーゼ阻害作用を持つことから、腫瘍崩壊にともなう高尿酸血症発症に対する治療という面でも有用である。

次に、実施例を挙げ本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【実施例】

【0005】

20

参考例 1

(1) 4-クロロ-N-(4-クロロ-5-ピリミジニル)-3-シアノベンズアミド
4-クロロ-3-シアノ安息香酸(7.01g, 38.6mmol)をベンゼン(70mL)に懸濁し、塩化チオニル(3.6mL, 49.6mmol)を加え4時間加熱還流した。この反応液を減圧下濃縮し、得られた酸クロリドに5-アミノ-4-クロロピリミジン(5.00g, 38.6mmol)、ジクロロメタン(70mL)及びピリジン(3.6mL, 44.5mmol)を加え、室温で7時間攪拌した。反応液にクロロホルム(50mL)及び水(50mL)を加え結晶を濾取した。得られた結晶をクロロホルム(20mL)及び水(20mL)で洗浄後、風乾して7.35g(収率65%)の標題化合物を白色結晶として得た。また、母液及び洗浄液の混合溶液から2次晶として0.62g(収率8%)の標題化合物を淡茶色結晶として得た。(合計収率73%)

30

mp: 189-190.

¹H-NMR(CDC1₃, 400MHz): δ = 7.74(1H, d, J = 8Hz), 8.07(1H, dd, J = 2Hz, 8Hz), 8.13(1H, s), 8.23(1H, d, J = 2Hz), 8.83(1H, s), 9.79(1H, s).

(2) 2-(4-クロロ-3-シアノフェニル)チアゾロ[5,4-d]ピリミジン

上記の方法で得た4-クロロ-N-(4-クロロ-5-ピリミジニル)-3-シアノベンズアミド(7.98g, 27.2mmol)、ローソン試薬(8.25g, 20.4mmol)及びトルエン(150mL)の懸濁液を8時間加熱還流後、室温まで冷却し、析出した結晶を濾取した。クロロホルム(75×2)で洗浄後、風乾して7.25g(収率98%)の標題化合物を淡黄色結晶として得た。

40

mp: 278-280 (分解).

¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz): δ = 7.99(1H, d, J = 9Hz), 8.47(1H, dd, J = 2Hz, 9Hz), 8.70(1H, d, J = 2Hz), 9.20(1H, s), 9.54(1H, s).

(3) 2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]チアゾロ[5,4-d]ピリミジン

55%水素化ナトリウム(150mg, 3.44mmol)と乾燥DMSO(7mL)の懸濁液に4-フルオロフェノール(383mg, 3.42mmol)を加え、50℃で30分間加熱攪拌した。この反応液に上記2-(4-クロロ-3-シアノフェニル)チア

50

ゾロ[5, 4-d]ピリミジン(776 mg, 2.85 mmol)を加え、50 で4時間攪拌した。室温まで冷却後、反応液に水(35 mL)を加え、析出した結晶を濾取し、水(20 mL)で洗浄した。風乾後、得られた結晶をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロコホルム)で精製し、エーテル(15 mL)で洗浄後、乾燥して701 mg(収率71%)の標題化合物を淡黄色結晶として得た。

mp: 175 - 177 .

¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz): = 6.94(1H, d, J = 9 Hz), 7.1 - 7.2(4H, m), 8.18(1H, dd, J = 2 Hz, 9 Hz), 8.44(1H, d, J = 2 Hz), 9.13(1H, s), 9.35(1H, s).

IR(KBr) cm⁻¹: 2233, 1606, 1564, 1419, 1300, 1119, 1011, 916, 893, 847, 829, 777, 760, 758, 723, 702, 700, 650, 648, 597, 526, 496, 490.

FAB-MS(m/e): 349(M+1).

参考例2

2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル)チアゾロ[5, 4-d]ピリミジン

55%水素化ナトリウム(23 mg, 0.53 mmol)と乾燥DMSO(1 mL)の懸濁液にフェノール(45 mg, 0.48 mmol)を加え、室温で30分間攪拌した。この反応液に上述の2-(4-クロコ-3-シアノフェニル)チアゾロ[5, 4-d]ピリミジン(120 mg, 0.44 mmol)を加え、60 で4時間攪拌した。室温まで冷却後、反応液に水(5 mL)を加え、析出した結晶を濾取した。水(5 mL)、エタノール(1 mL)、及びエーテル(2 mL)で順次洗浄後、減圧下室温で乾燥して100 mg(収率69%)の標題化合物を淡茶色結晶として得た。

mp: 154 - 156 .

¹H-NMR(DMSO-d₆, 400 MHz): = 7.08(1H, d, J = 9 Hz), 7.2 - 7.4(3H, m), 7.5 - 7.6(2H, m), 8.42(1H, dd, J = 2 Hz, 9 Hz), 8.69(1H, d, J = 2 Hz), 9.18(1H, s), 9.52(1H, s).

IR(KBr) cm⁻¹: 3037, 2227, 1605, 1587, 1560, 1525, 1504, 1470, 1369, 1365, 1257, 1238, 1190, 1171.

FAB-MS(m/e): 331(M+1).

実施例1

BCRPによるメトトレキセート輸送に対する作用

(試験方法)

実験には、BCRPを発現させたSf9昆虫細胞から形質膜を調製し、その膜ベシクルを用いた(Ishikawa et al.: Methods of Enzymol., 400:485-510(2005))。

メトトレキセート輸送活性の測定は、96ウェルプレートを用いた以下の方法により行った。

反応溶液の調製と組成:

50 μL 250 mmol/L ショ糖・10 mmol/L Tris/Hepes (pH 7.4) 溶液

30 μL 3.33 mmol/L ATP・33.3 mmol/L クレアチンリン酸・33.3 mmol/L MgCl₂ 溶液

(または、33.3 mmol/L クレアチンリン酸・33.3 mmol/L MgCl₂ 溶液)

5 μL 2 mg/mL クレアチンキナーゼ

2 μL 10 mmol/L [³H]メトトレキセート(最終濃度200 μmol/L)

3 μL 試験化合物

10 μ L ABCG2発現Sf9細胞膜サンプル(計50 μ g タンパク質)

計 100 μ L

反応溶液のインキュベーションを37℃で20分間行った。その後、氷冷した250 mmol/L ショ糖・2 mmol/L EDTA・10 mmol/L Tris/Hepes (pH 7.4) 溶液1 mLを反応溶液に速やかに加えて、反応を停止させた。その混液を270 μ Lずつミリポア社製MultiScreenTMの各ウェルに分注して吸引した。そして氷冷した250 mmol/L ショ糖・10 mmol/L Tris/Hepes (pH 7.4) 溶液200 μ Lで各ウェルを4回洗浄した。各ウェルのフィルターにトラップされた放射活性を測定した。その放射活性値に基づいて、細胞膜ベシクルに取り込まれたメトトレキサートの輸送量を算出した。

10

また、以上の方法を用いて試験化合物のIC₅₀値[メトトレキサートの輸送を50%阻害する濃度、inhibitory concentration (μ mol/L)]を求めた。

(結果)

表1に示すように、化合物1~4、TMX-67及びFYX-051はいずれもBCRPによるメトトレキサートの輸送を強力に阻害することが確認された。

BCRPによるメトトレキサートの輸送に対する作用

【表1】

被験化合物	IC ₅₀ (μ mol/L)
化合物1	0.46
化合物2	1.1
化合物3	0.23
化合物4	0.66
TMX-67	0.25
FYX-051	0.77

20

化合物1：2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]-4-ヒドロキシチアゾロ[5,4-d]ピリミジン カリウム塩

化合物2：2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]チアゾロ[5,4-d]ピリミジン

化合物3：2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル)-4-ヒドロキシチアゾロ[5,4-d]ピリミジン カリウム塩

化合物4：2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル)チアゾロ[5,4-d]ピリミジン

30

40

比較例1

BCRPによるメトトレキサート輸送に対する作用

(試験方法)

実施例1と同様な方法で、アロプリノール、オキシプリノールについて、BCRPによるメトトレキサート輸送に対する作用を試験した。

(結果)

アロプリノール、オキシプリノールは100 μ mol/Lでも阻害作用を示さなかった。

実施例2

BCRP過剰発現細胞(Flp-In-293/BCRP)における抗ガン剤耐性に及ぼす影響

50

(試験方法)

実験には、Flp-In-293/ABCG2細胞及びFlp-In-293/Mock細胞を用いた(Wakabayashi et al.: J. Exp. Ther. Oncol., 5:205-222(2006))。

細胞は10% FCS、100U/mL penicillin、100µg/mL streptomycin、250ng/mL amphotericin B、100µg/mL hygromycin B、2mmol/L L-glutamine含有のDMEMを用いて、5%CO₂下で培養した。

Flp-In-293細胞の薬剤耐性のプロファイリングはMTTアッセイにより生存細胞を測定することにより行った。すなわち、細胞を 2×10^3 cells/wellの濃度で96ウェル培養プレートに播種し、24時間培養した。その後、SN-38と化合物1(2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]-4-ヒドロキシチアゾロ[5,4-d]ピリミジン カリウム塩)または化合物2(2-[3-シアノ-4-(4-フルオロフェノキシ)フェニル]チアゾロ[5,4-d]ピリミジン)を添加し、72時間培養した後、500µg/mL MTTを加えさらに4時間培養した。そして100µLの10% SDSを加えた後、オーバーナイトでインキュベートし、生成したMTT-formazan(MTTの代謝物で生存細胞により生成される)を570nmと630nmで測定した。

10

(結果)

化合物1及び化合物2はいずれもFlp-In-293/ABCG2細胞のSN-38に対する耐性を濃度依存的に解除し、5µmol/Lにおいて化合物1は約96%、化合物2は約90%耐性を解除した。また、両化合物は検討した10µmol/Lまでの範囲において、Flp-In-293/ABCG2細胞の生存率に影響を与えなかった。

20

従って、化合物1及び化合物2は細胞毒性を示すことなく、BCRP過剰発現細胞における抗ガン剤の耐性に対して克服作用を示すことが確認された。

(実施例3及び比較例2)

BCRP過剰発現細胞(Flp-In-293/BCRP)における抗ガン剤耐性に及ぼす影響

(試験方法)

実施例2と同様な方法で、2-(3-シアノ-4-フェノキシフェニル)-4-ヒドロキシチアゾロ[5,4-d]ピリミジン(化合物5)、TMX-67、FYX-051、アロプリノール、オキシプリノール、Y-700について、BCRP過剰発現細胞(Flp-In-293/BCRP)における抗ガン剤耐性に及ぼす影響を試験した。

30

(結果)

(i) SN-38に対する耐性克服度

5µmol/Lで、化合物5は、96%、TMX-67は、82%、FYX-051は39%耐性を解除したが、アロプリノール及びオキシプリノールでは克服作用を示さなかった。また、Y-700は細胞毒性を示さない濃度では克服作用を示さなかった。

(ii) 細胞毒性作用

化合物5、TMX-67、FYX-051、アロプリノール、オキシプリノールは10µmol/Lの濃度範囲で毒性作用を示さなかった。Y-700は5µmol/Lより細胞毒性を示した。

40

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 0 7 D 513/04	(2006.01)	A 6 1 K 45/00	
C 0 7 D 277/20	(2006.01)	C 0 7 D 513/04	3 5 1
C 0 7 D 277/56	(2006.01)	C 0 7 D 277/56	
C 0 7 D 401/14	(2006.01)	C 0 7 D 401/14	
C 0 7 D 498/04	(2006.01)	C 0 7 D 498/04	1 0 5
C 0 7 D 473/00	(2006.01)	C 0 7 D 473/00	

審査官 谷尾 忍

- (56)参考文献 特開2000-086511(JP,A)
 国際公開第2005/121153(WO,A1)
 国際公開第2003/042185(WO,A1)
 国際公開第2004/080486(WO,A1)
 国際公開第2003/064410(WO,A1)
 特表2005-508855(JP,A)
 国際公開第2005/067546(WO,A2)
 国際公開第2007/004688(WO,A1)
 特開2003-063989(JP,A)
 TAKARA, Kohji et al., Cytotoxic effects of 27 anticancer drugs in HeLa and MDR1-overexpressing derivative cell lines, Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2002年 6月 1日, vol.25, no.6, p.771-778

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 5 1 9
 A 6 1 K 3 1 / 4 2 6
 A 6 1 K 3 1 / 4 4 4
 A 6 1 K 3 1 / 4 7 4 5
 A 6 1 K 3 1 / 5 2
 A 6 1 K 4 5 / 0 0
 C 0 7 D 2 7 7 / 2 0
 C 0 7 D 2 7 7 / 5 6
 C 0 7 D 4 0 1 / 1 4
 C 0 7 D 4 7 3 / 0 0
 C 0 7 D 4 8 7 / 0 4
 C 0 7 D 4 9 8 / 0 4
 C 0 7 D 5 1 3 / 0 4
 C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)