

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-530455

(P2007-530455A)

(43) 公表日 平成19年11月1日(2007.11.1)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
CO7C 255/30 (2006.01)	CO7C 255/30 CSP	4C206
CO7C 255/23 (2006.01)	CO7C 255/23	4H006
CO7C 271/64 (2006.01)	CO7C 271/64	4H049
CO7C 317/46 (2006.01)	CO7C 317/46	4H050
CO7C 327/44 (2006.01)	CO7C 327/44	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 135 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-504223 (P2007-504223)	(71) 出願人	502373710
(86) (22) 出願日	平成17年3月22日 (2005. 3. 22)		エイチエスシー リサーチ アンド ディ
(85) 翻訳文提出日	平成18年10月30日 (2006. 10. 30)		ベロップメント リミテッド パートナー
(86) 国際出願番号	PCT/CA2005/000423		シップ
(87) 国際公開番号	W02005/092904		カナダ国 オンタリオ州 トロント スイ
(87) 国際公開日	平成17年10月6日 (2005. 10. 6)		ート 5270 ユニバーシティー アベ
(31) 優先権主張番号	60/556, 972	(74) 代理人	100102978
(32) 優先日	平成16年3月26日 (2004. 3. 26)		弁理士 清水 初志
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100128048
(31) 優先権主張番号	60/649, 211		弁理士 新見 浩一
(32) 優先日	平成17年2月2日 (2005. 2. 2)	(72) 発明者	ロイフマン カイム エム
(33) 優先権主張国	米国 (US)		カナダ国 オンタリオ州 ノース ヨーク
			クリスティーン クレセント 33
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞増殖を調節する化合物

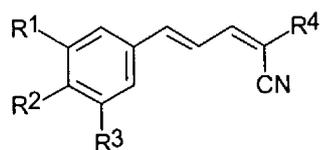
(57) 【要約】

癌などの様々な細胞増殖性障害の治療において有用である新規スチリルアクリロニトリル化合物が開示される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

式Iの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物：



I

式中、

R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルC₂O₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択されるか、またはR¹およびR²は一緒に、O-C₁₋₆アルキル-Oを表し、これにより環を形成し；

R³は、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、ハロゲンおよびCH₂-S-(CH₂)_nArから選択され；

R⁴は、C(X)R⁵、SO₃Ar、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、P(O)(OH)₂、P(O)(OC₁₋₆アルキル)₂、およびC(NH₂)=C(CN)₂から選択され；

Xは、O、S、NHおよびN-C₁₋₆アルキルから選択され；

R⁵は、NH₂、OH、NH(CH₂)_pAr、NH(CH₂)_pOH、(CH₂)_pOC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NHNH₂、NHC(O)NH₂、NHC(O)C₁₋₆アルコキシ、N-モルホリノおよびN-ピロリジノから選択され；ならびに

Arは、未置換の芳香族または複素芳香族基であるか、またはOH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから独立して選択される1~4個の置換基により置換された芳香族または複素芳香族基であり、

nは0~4であり；ならびに

pは1~4である。

【請求項2】

R¹およびR²が、各々独立して、H、OH、C₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルコキシ、C₁₋₄アルキルC₂O₂、NH₂、NH-C₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルキル(C=O)NH、C₁₋₄アルキル(C=O)N(C₁₋₄アルキル)、SH、S-C₁₋₄アルキル、O-Si(C₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択されるか、またはR¹およびR²と一緒に、O-C₁₋₆アルキル-Oを表し、これにより環を形成する、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

R¹およびR²が、各々独立して、H、OH、OCH₃、CH₃CO₂、O-Si(CH₃)₂(^tBu)、S-Me、SH、CH₃CONH、CH₃CONCH₃、およびNO₂からなる群より選択される、請求項2記載の化合物。

【請求項4】

R¹およびR²が、両方ともOHであるか、またはR¹およびR²が、両方ともOCH₃である、請求項3記載の化合物。

【請求項5】

R¹がOCH₃であり、かつR²がOHである、請求項4記載の化合物。

【請求項6】

R³が、H、OH、C₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルコキシ、C₁₋₄アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₄アルキル、N(C₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)、C₁₋₄アルキル(C=O)NH、C₁₋₄アルキル(C=O)N(C₁₋₄アルキル)、SH、S-C₁₋₄アルキル、NO₂、およびハロゲンから選択される、請求項1記載の化合物。

10

20

30

40

50

【請求項7】

R^3 が、H、OH、 OCH_3 、 CH_3CO_2 、SH、SMe、 NO_2 、 CH_3CONH 、 CH_3CONCH_3 、およびハロゲンから選択される、請求項6記載の化合物。

【請求項8】

R^1 、 R^2 および R^3 が、各々独立して、H、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、および C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)から選択され、ただし R^1 、 R^2 および R^3 の少なくとも1つは水素ではない、請求項1記載の化合物。

【請求項9】

R^4 がC(X) R^5 およびC(NH₂)=C(CN)₂から選択される、請求項1記載の化合物。

【請求項10】

R^4 がC(X) R^5 である、請求項9記載の化合物。

10

【請求項11】

XがOおよびSから選択される、請求項10記載の化合物。

【請求項12】

R^5 が、NH₂、OH、NH(CH₂)_pAr、NH(CH₂)_pOHおよび C_{1-4} アルコキシから選択される、請求項10記載の化合物。

【請求項13】

pが1~3である、請求項12記載の化合物。

【請求項14】

R^5 が、NH₂、OH、NH(CH₂)_pAr、NH(CH₂)_pOHおよび OCH_3 から選択される、請求項13記載の化合物。

20

【請求項15】

pが1~2である、請求項14記載の化合物。

【請求項16】

Arが未置換のフェニル基であるか、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、NH₂、NH- C_{1-6} アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから任意に選択された1~4個の置換基により置換されたフェニル基である、請求項1記載の化合物。

【請求項17】

Arが未置換のフェニル基であるか、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、NH₂、NH- C_{1-6} アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから任意に選択された1~4個の置換基により置換されたフェニル基である、請求項14記載の化合物。

30

【請求項18】

Arが未置換のフェニル基であるか、またはOH、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、NH₂、NH- C_{1-4} アルキル、N(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)、SH、S- C_{1-4} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である、請求項16および17のいずれか一項記載の化合物。

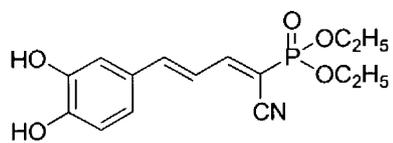
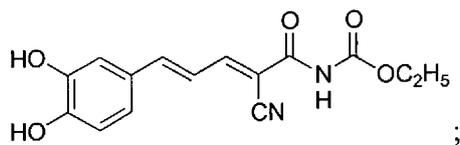
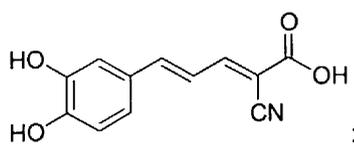
【請求項19】

Arが未置換のフェニル基であるか、またはOH、 OCH_3 、NH₂、NHCH₃、N(CH₃)₂、SH、SCH₃、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である、請求項18記載の化合物。

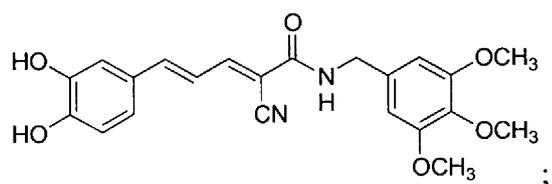
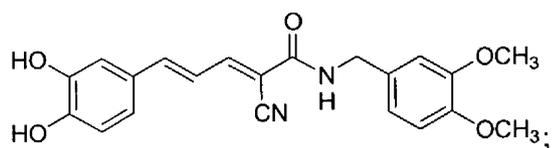
40

【請求項20】

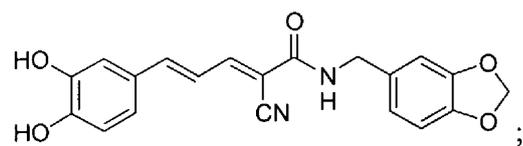
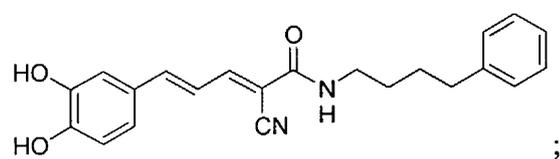
以下から選択される化合物：



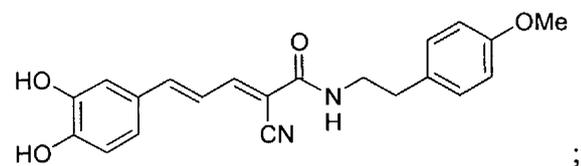
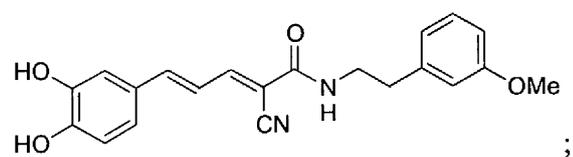
10



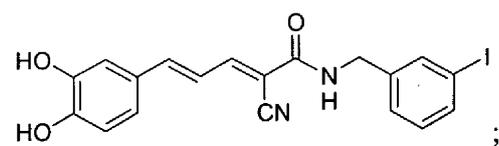
20

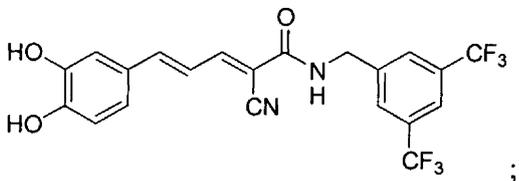
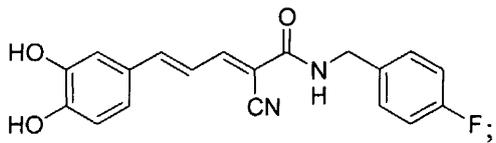
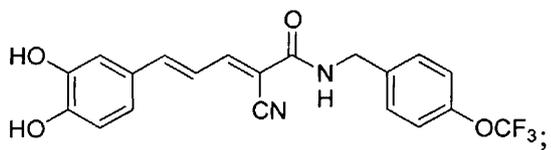


30

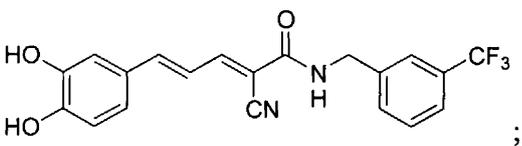
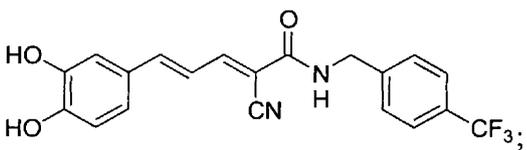


40

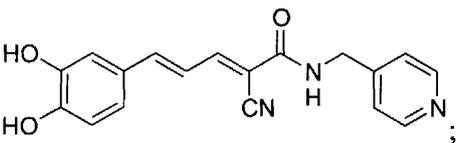
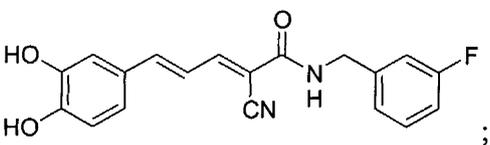




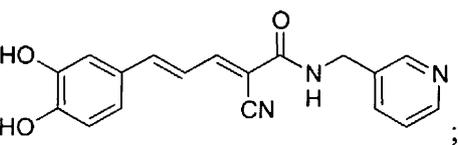
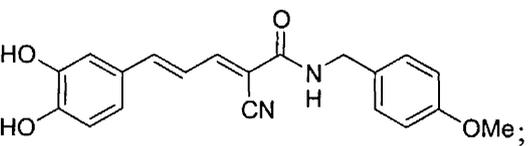
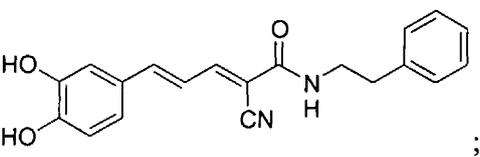
10



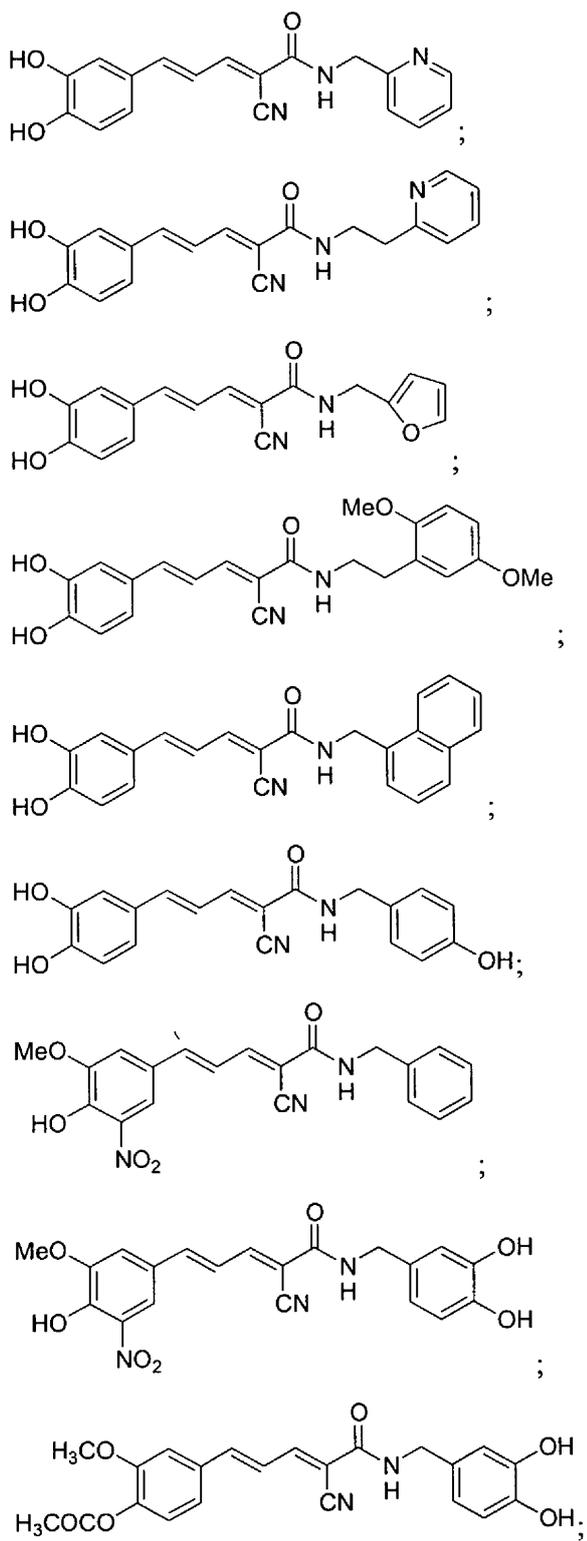
20



30



40

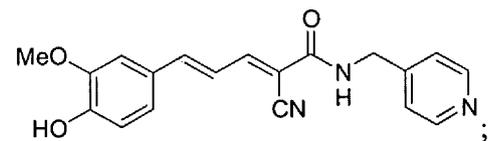
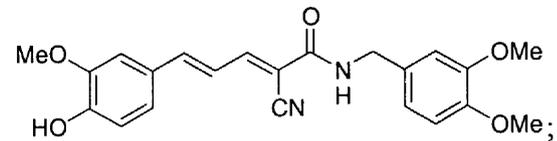
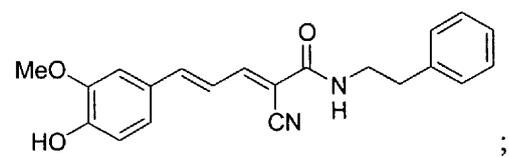
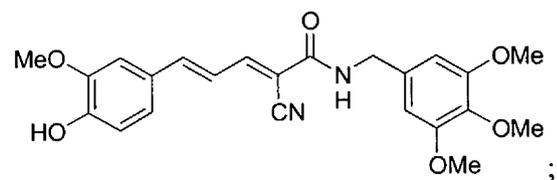
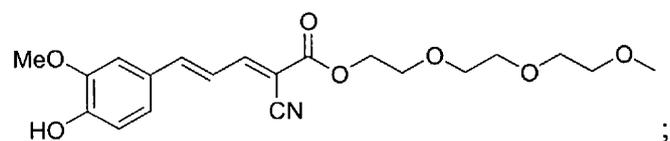
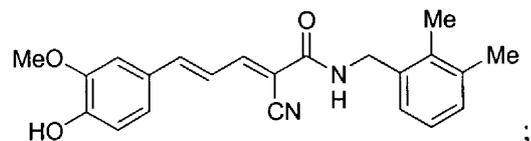
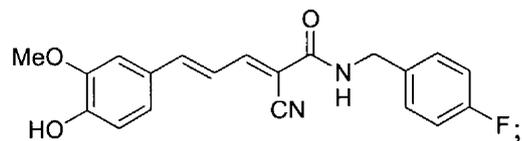
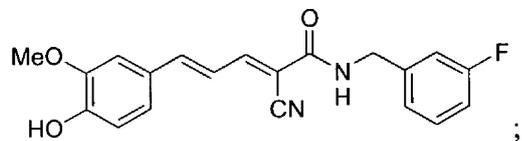
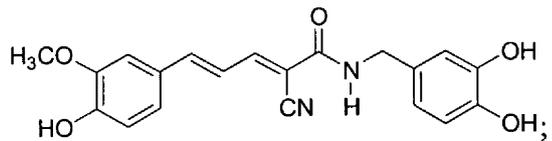
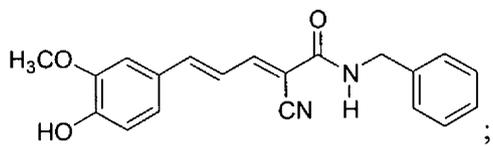


10

20

30

40

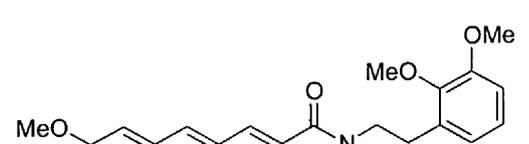
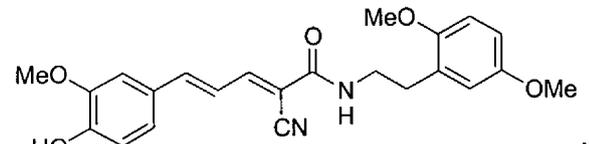
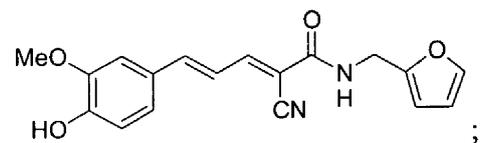
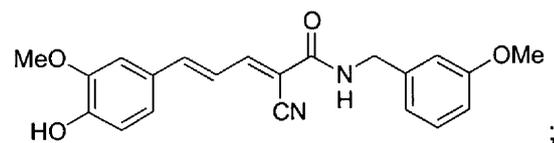
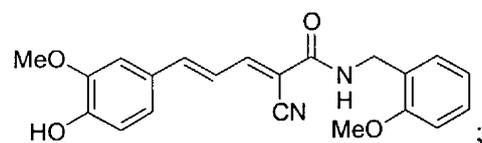
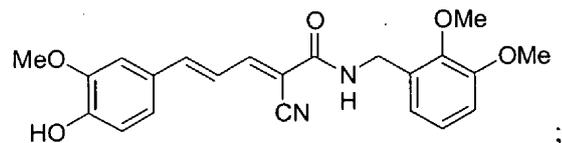
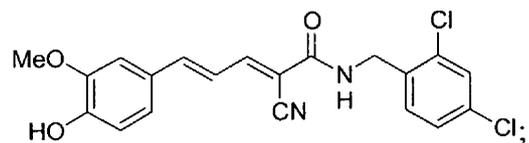
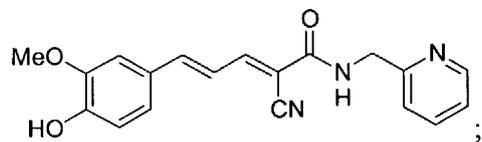
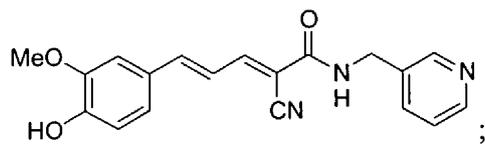
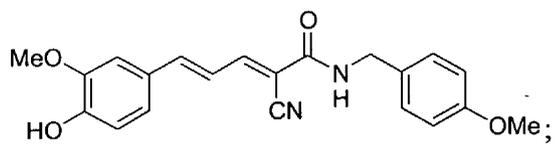


10

20

30

40

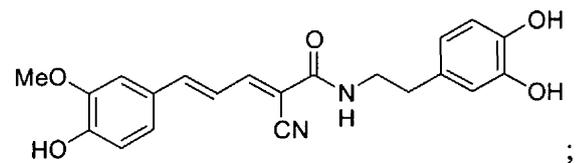
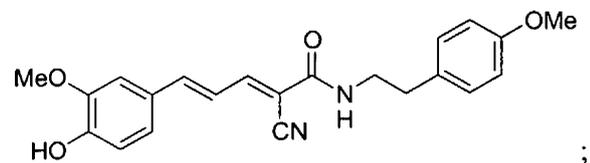
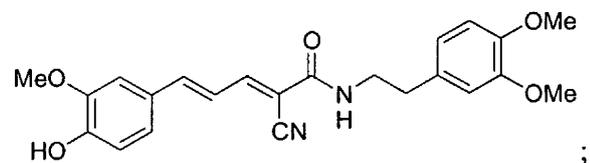
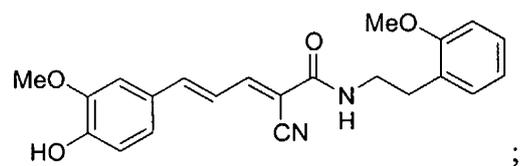
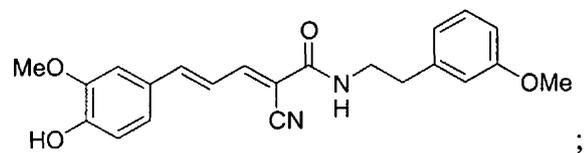
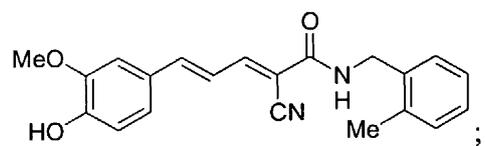
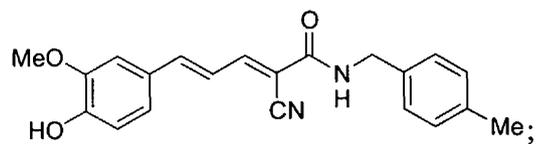
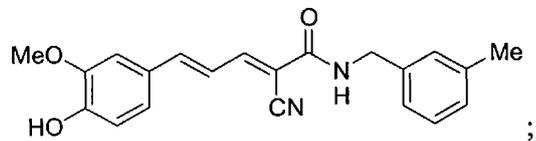
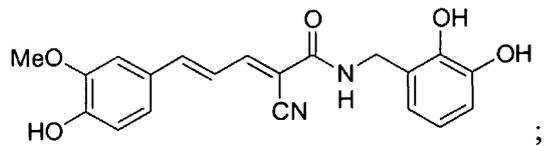
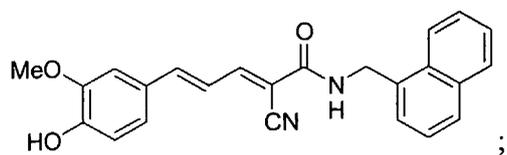


10

20

30

40

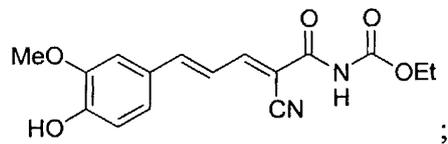
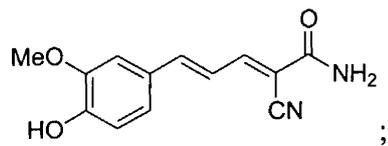
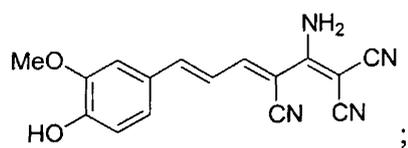


10

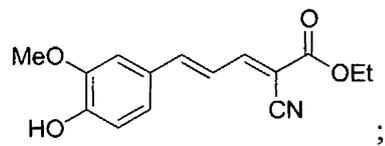
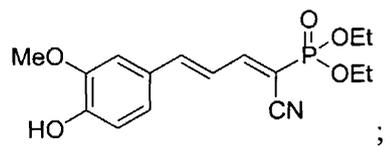
20

30

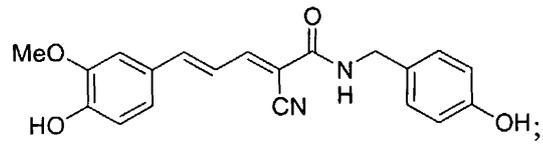
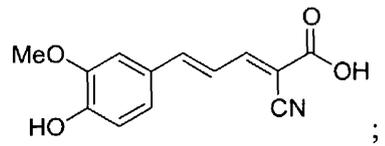
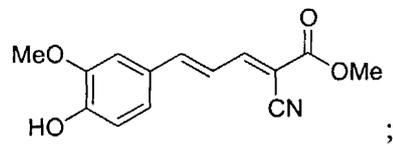
40



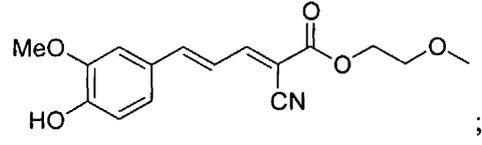
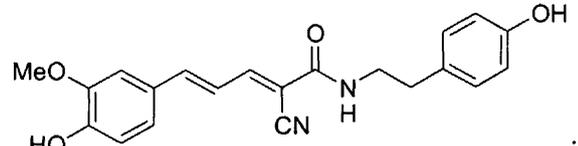
10



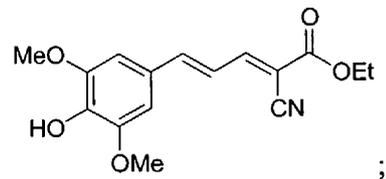
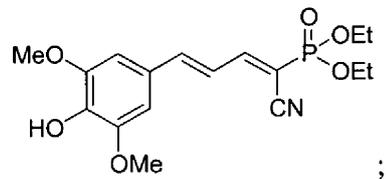
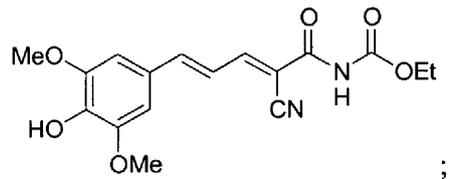
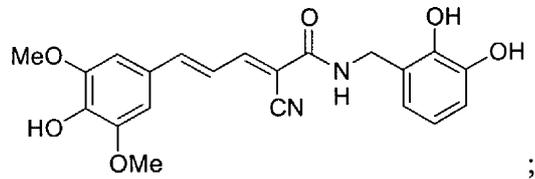
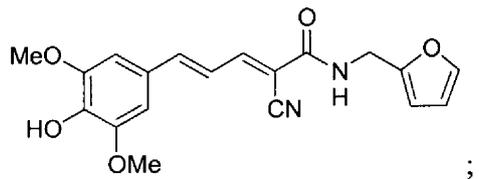
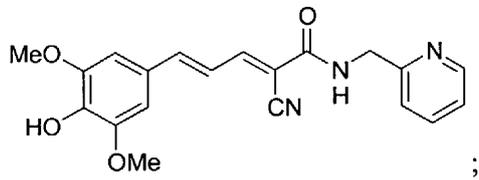
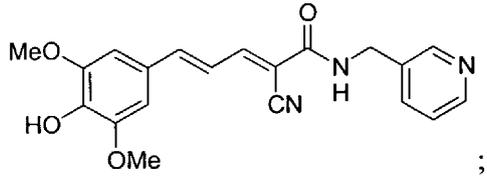
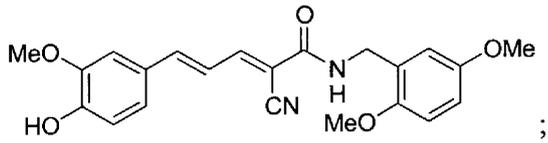
20



30



40

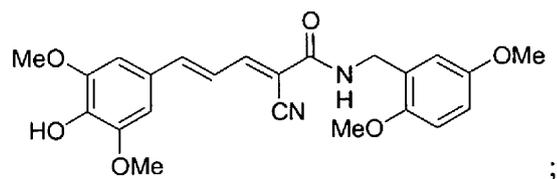
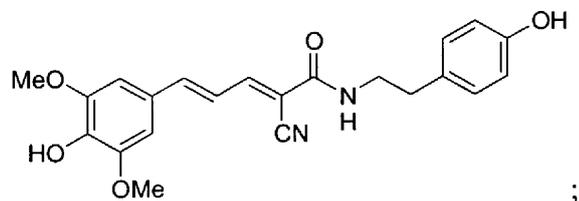
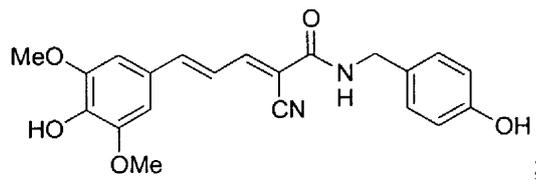
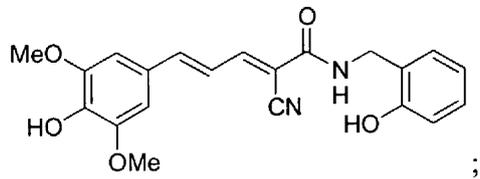
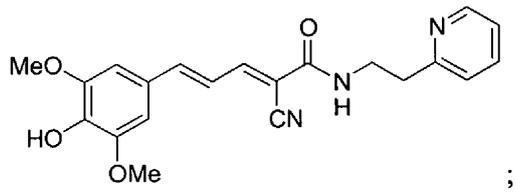
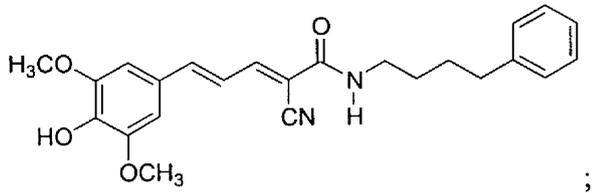
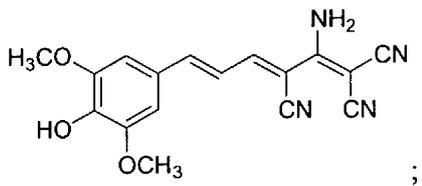
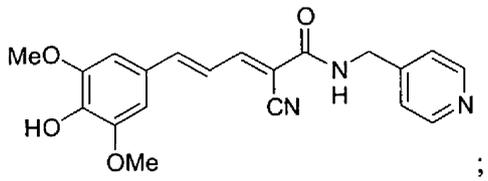


10

20

30

40

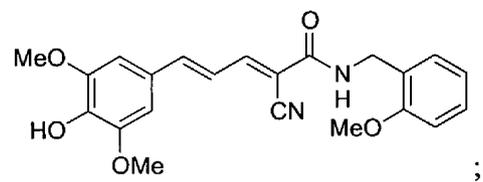
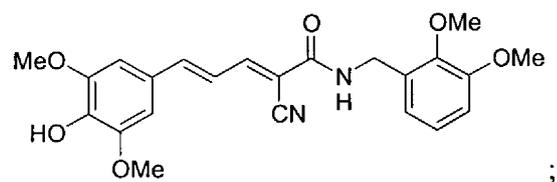
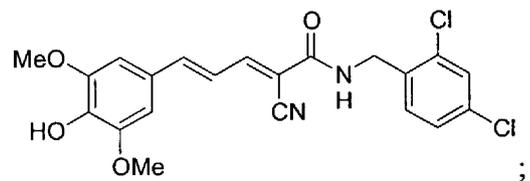
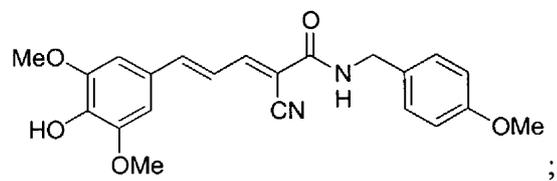
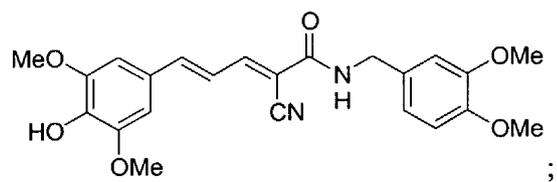
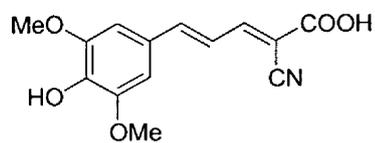
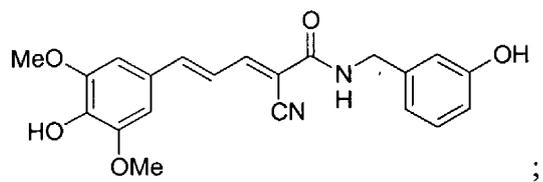
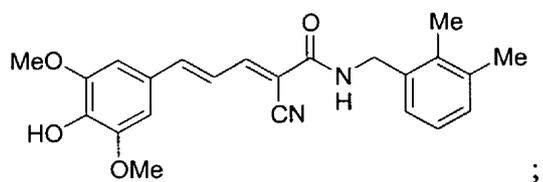


10

20

30

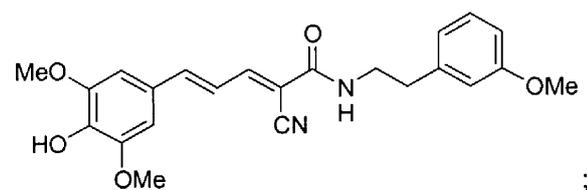
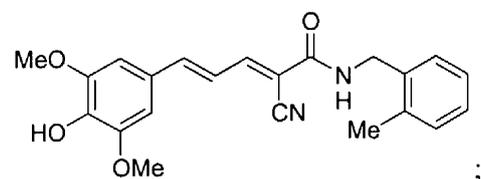
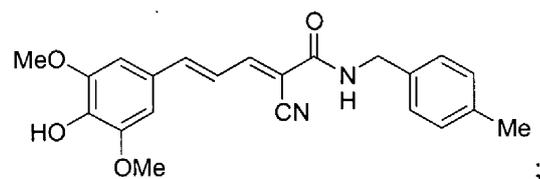
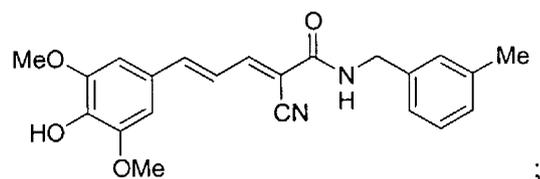
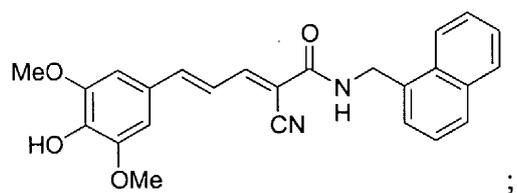
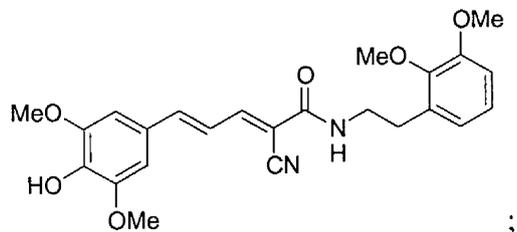
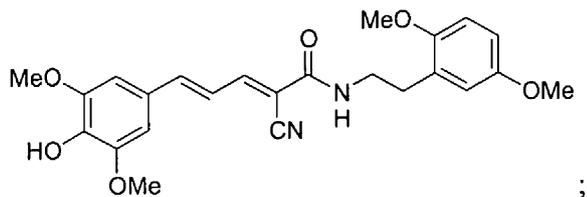
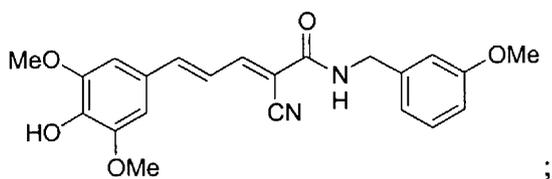
40



10

20

30

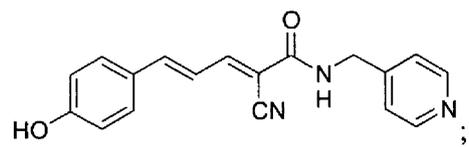
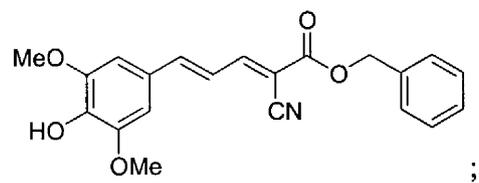
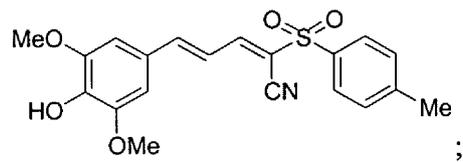
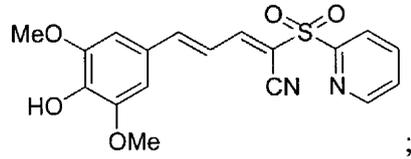
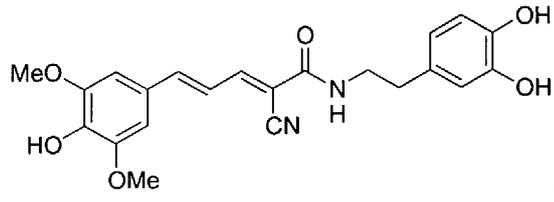
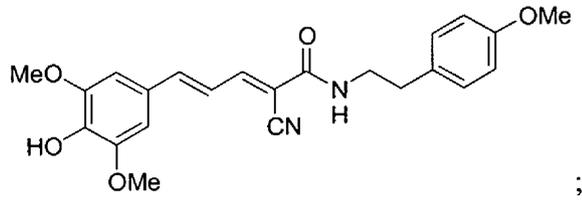
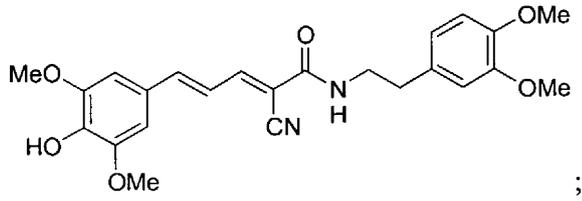
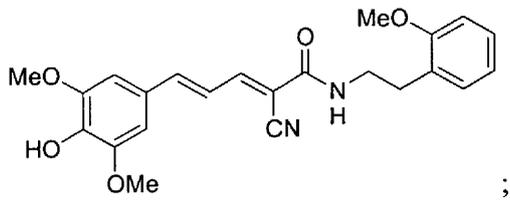


10

20

30

40

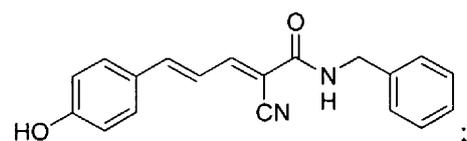
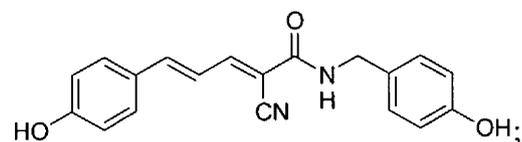
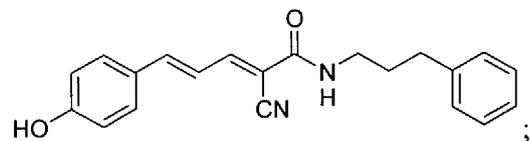
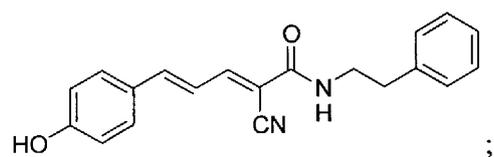
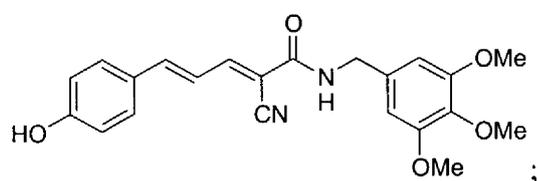
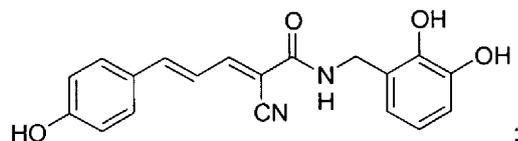
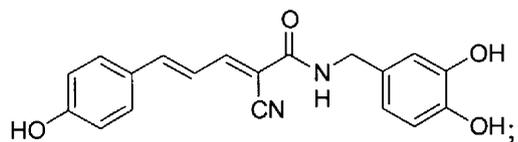
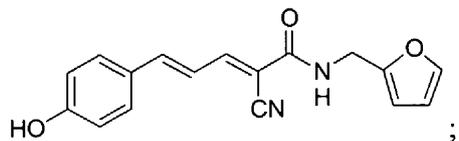
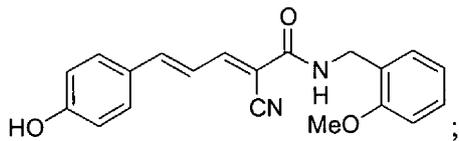
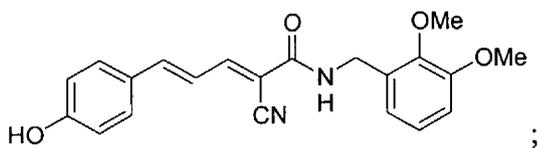


10

20

30

40

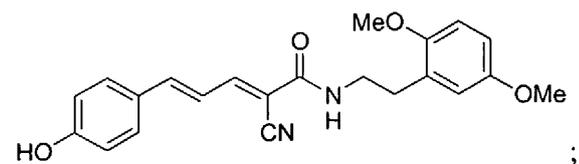
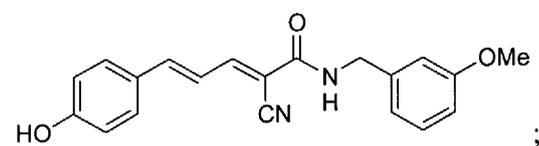
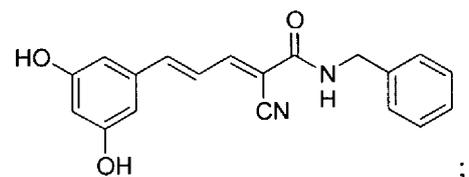
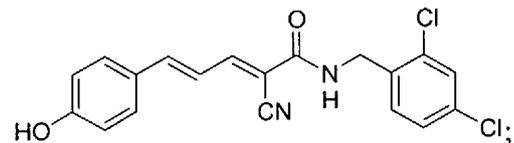
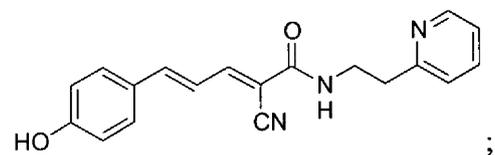
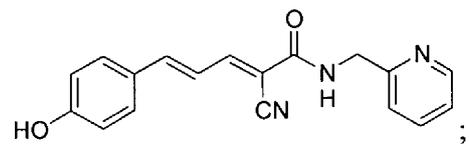
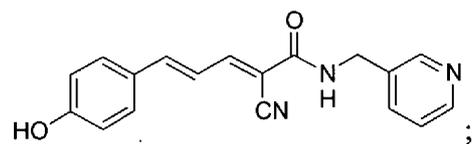
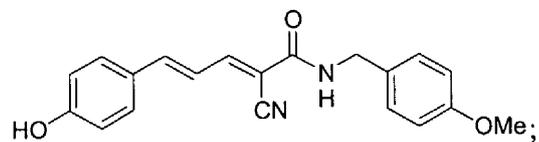
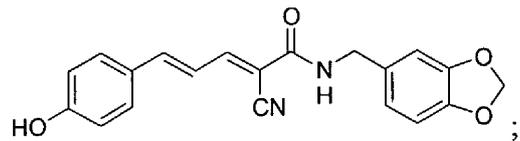
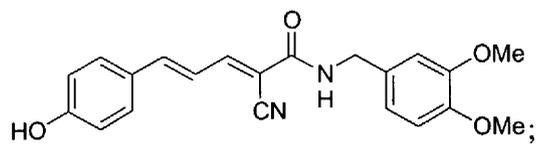


10

20

30

40

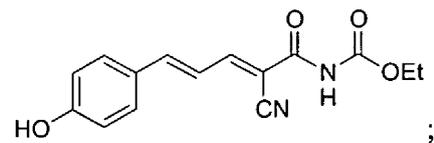
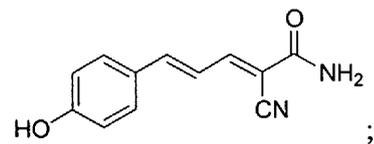
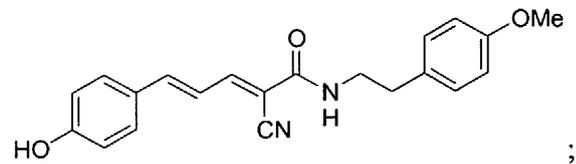
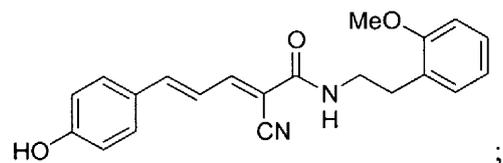
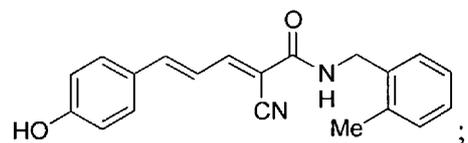
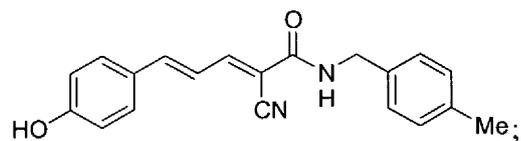
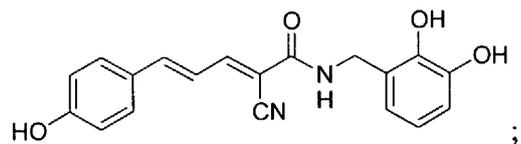
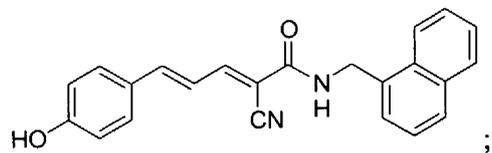
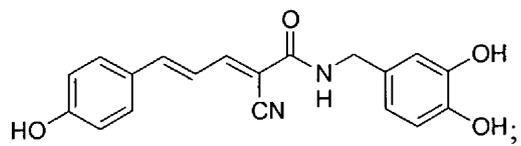
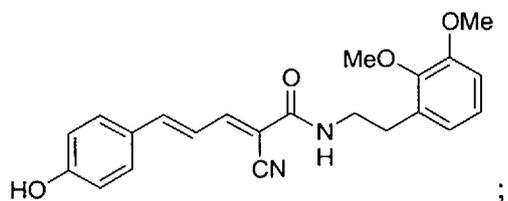


10

20

30

40

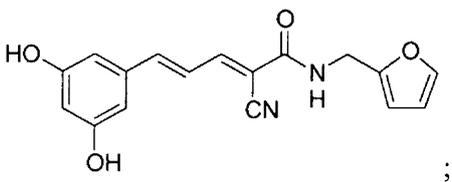
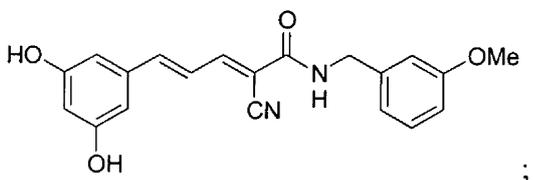
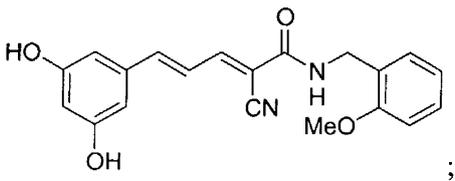
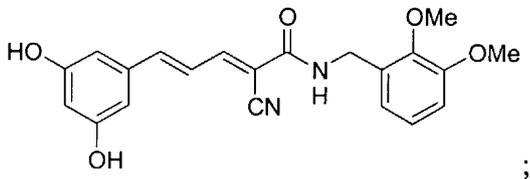
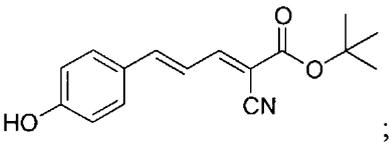
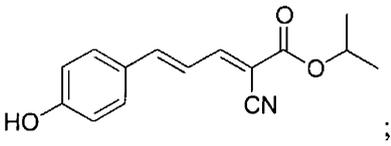
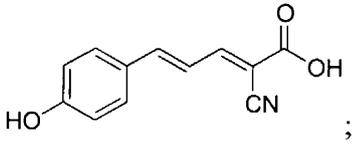
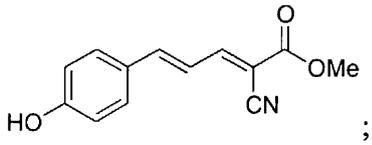
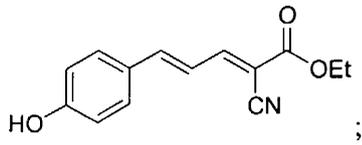


10

20

30

40

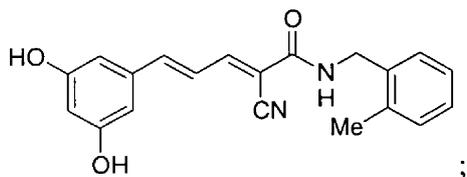
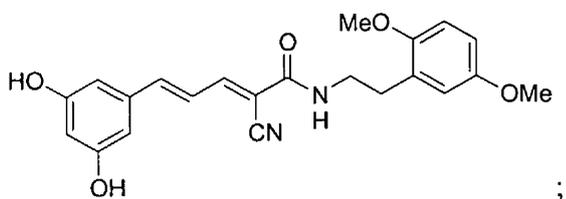


10

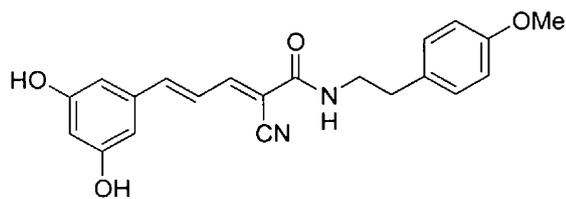
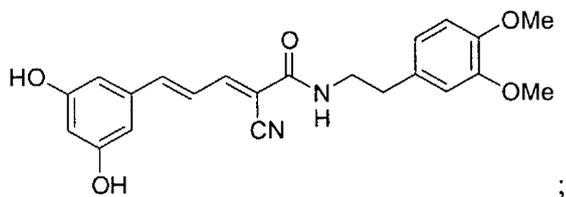
20

30

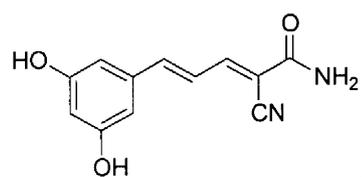
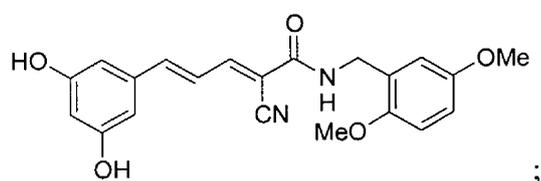
40



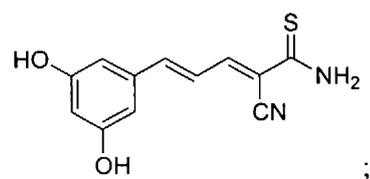
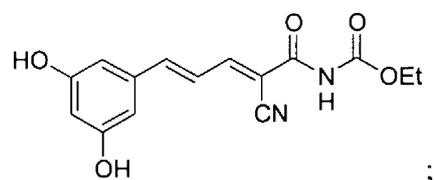
10



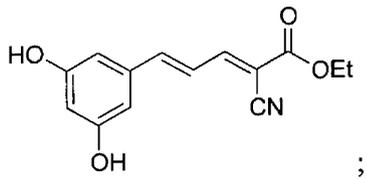
20



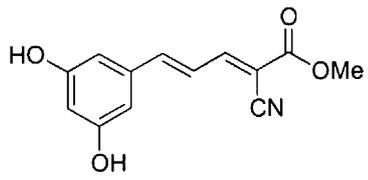
30



40

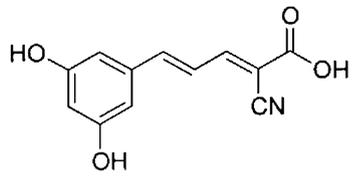


;

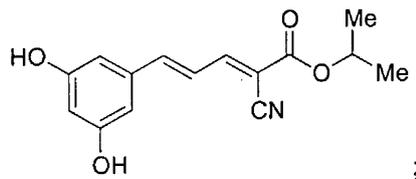


;

10

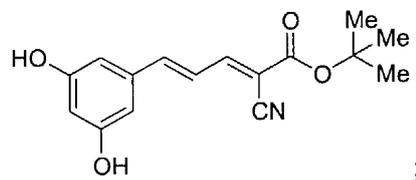


;

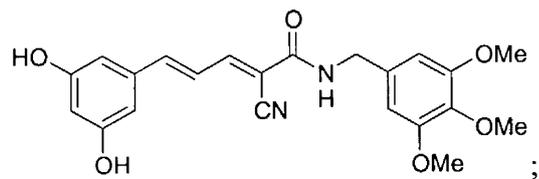


;

20

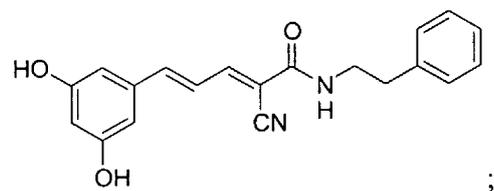


;

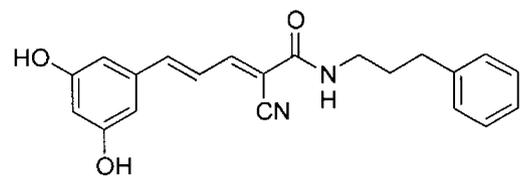


;

30

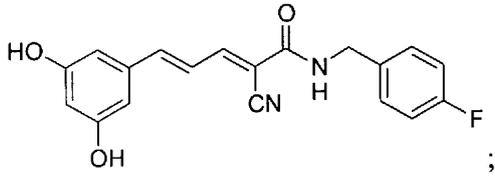
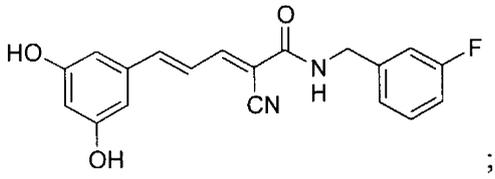


;

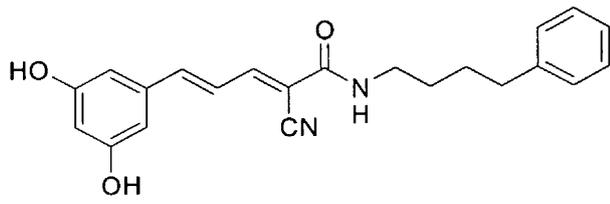
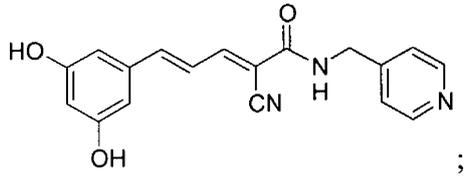


;

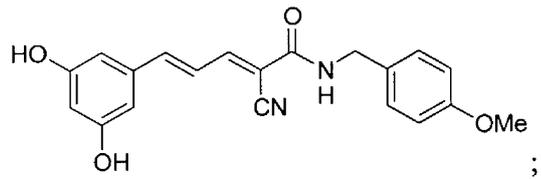
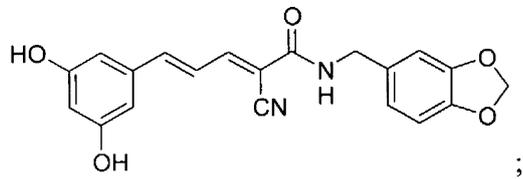
40



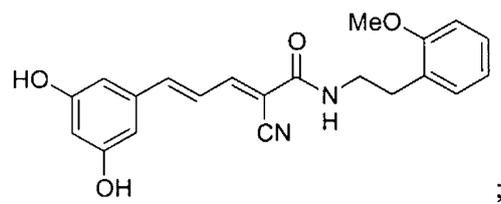
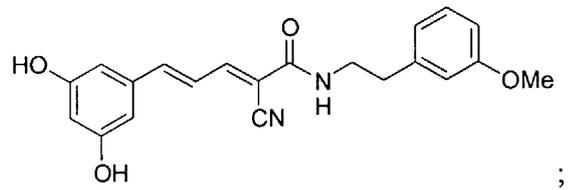
10



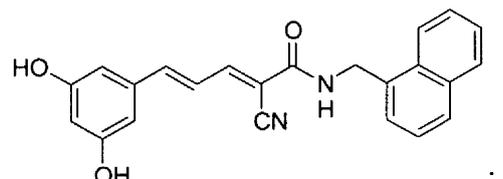
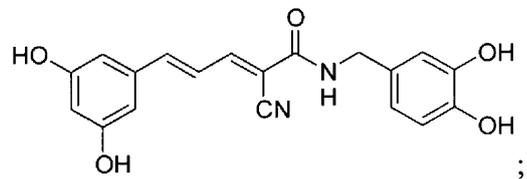
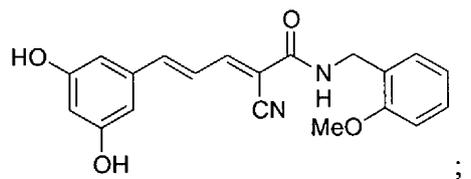
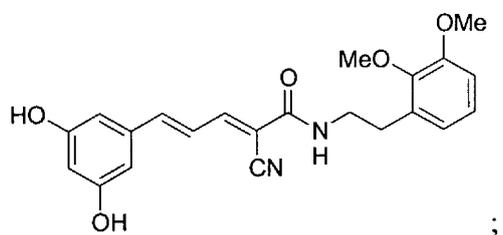
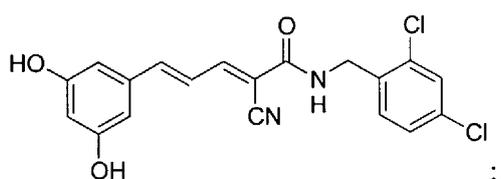
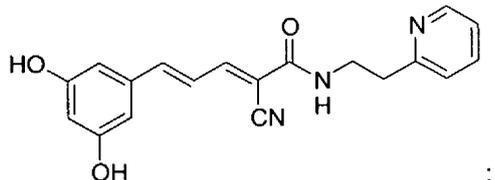
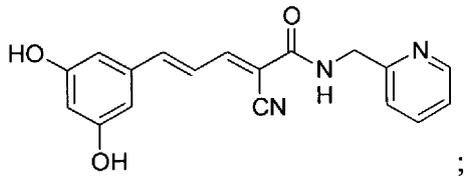
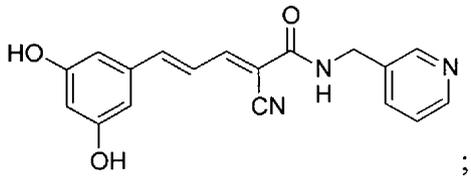
20



30



40

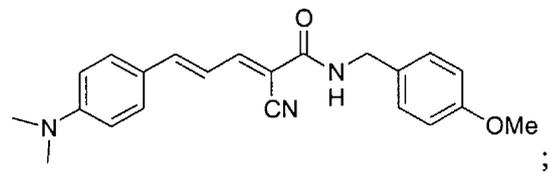
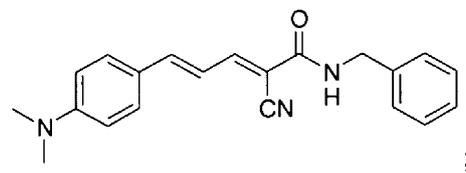
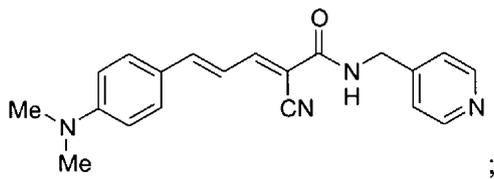
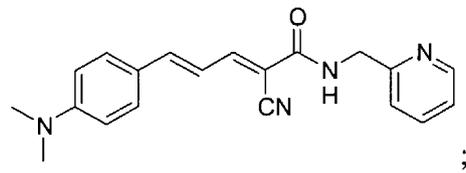
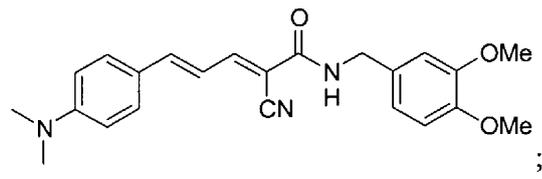
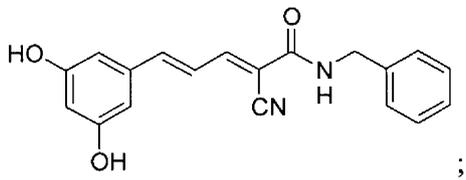
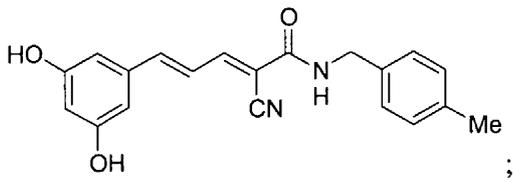
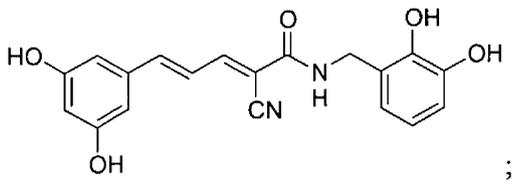


10

20

30

40

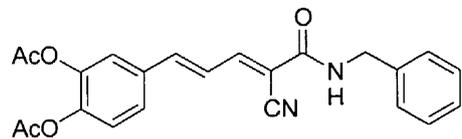
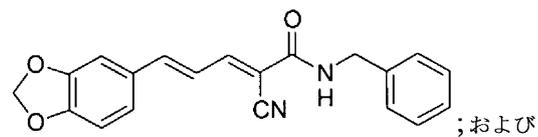
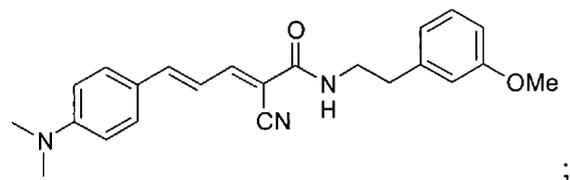
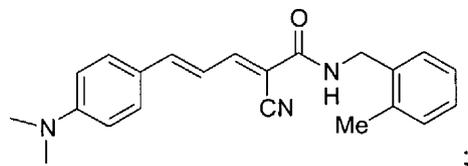
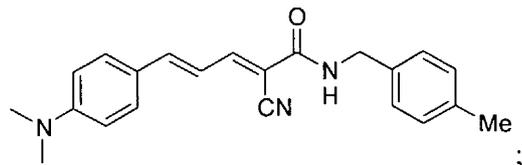
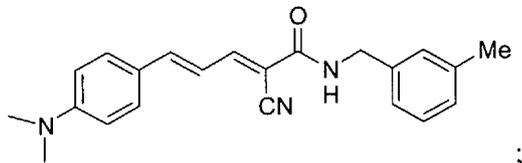
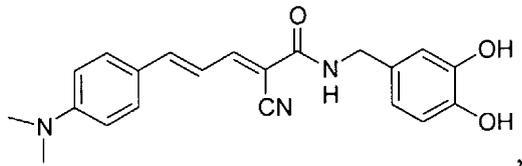
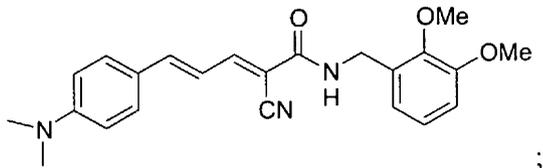


10

20

30

40



。 【請求項 2 1】

薬学的に許容される希釈剤または担体と混合した請求項1~20のいずれか一項記載の化合物を含む組成物。

【請求項 2 2】

細胞増殖を調節する薬剤を調製するための、請求項1~20のいずれか一項記載の細胞増殖を調節可能な化合物の使用。

【請求項 2 3】

細胞増殖を阻害するための、請求項1~20のいずれか一項記載の細胞増殖を阻害可能な化合物の使用。

【請求項 2 4】

癌細胞増殖を阻害するための、請求項1~20のいずれか一項記載の癌細胞増殖を阻害可

10

20

30

40

50

能な化合物の使用。

【請求項 25】

癌を治療するための、請求項1～20のいずれか一項記載の化合物の使用。

【請求項 26】

癌が、造血細胞癌である、請求項24または25記載の使用。

【請求項 27】

癌が、白血病、リンパ腫、骨髄腫または癌腫である、請求項24または25記載の使用。

【請求項 28】

白血病が、急性リンパ芽球性白血病、フィラデルフィア染色体陽性白血病、フィラデルフィア染色体陰性白血病、急性骨髄球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病または若年性骨髄単球性白血病である、請求項27記載の使用。 10

【請求項 29】

白血病が、急性リンパ芽球性白血病である、請求項27記載の使用。

【請求項 30】

請求項1～20のいずれか一項記載の細胞増殖を調節可能な化合物または請求項21記載の組成物の有効量を、それを必要とする細胞または動物へ投与する段階を含む、細胞増殖を調節する方法。

【請求項 31】

請求項1～20のいずれか一項記載の細胞増殖を阻害可能な化合物または請求項21記載の組成物の有効量を、それを必要とする細胞または動物へ投与する段階を含む、細胞増殖を阻害する方法。 20

【請求項 32】

請求項1～20のいずれか一項記載の癌細胞増殖を阻害可能な化合物または請求項21記載の組成物の有効量を、それを必要とする細胞または動物へ投与する段階を含む、癌細胞増殖を阻害する方法。

【請求項 33】

請求項1～20のいずれか一項記載の癌細胞増殖を阻害可能な化合物または請求項21記載の組成物の有効量を、それを必要とする細胞または動物へ投与する段階を含む、癌を治療する方法。

【請求項 34】

癌が、造血細胞癌である、請求項32または33記載の方法。 30

【請求項 35】

癌が、白血病、リンパ腫、骨髄腫または癌腫である、請求項32または33記載の方法。

【請求項 36】

白血病が、急性リンパ芽球性白血病、侵襲性フィラデルフィア染色体陽性白血病、急性骨髄球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病または若年性骨髄単球性白血病である、請求項35記載の方法。

【請求項 37】

白血病が、急性リンパ芽球性白血病である、請求項35記載の方法。

【発明の詳細な説明】

40

【背景技術】

【0001】

発明の背景

広範囲の増殖因子が、細胞増殖および分化を調整している。悪性細胞は、増殖因子またはそれらのシグナル伝達経路の成分の調節されない発現を含む事象の段階的進行の結果生じる。受容体、細胞質および核のキナーゼ類により開始され、かつホスファターゼにより調節されるチロシンリン酸化事象は、これらの工程の中心である。タンパク質チロシンキナーゼの突然変異、超活性化(hyper-activation)、転座および過剰発現は、全て腫瘍形成に関連している。増殖率および不死化細胞の増加に加え、チロシンキナーゼの過剰発現は、形態学的形質転換を引き起こし、足場非依存性(anchorage independence)を生じ、これ 50

は移動能の促進およびおそらく転移誘導に寄与している。

【0002】

ATPまたはホスホチロシンの模倣を基にした構造を有するある種の化合物は、有効なキナーゼインヒビターであることが示されている。ホスホチロシンを基にしたものは、より特異的チロシンキナーゼインヒビターであることが明らかにされている。それらのチロシンリン酸化を阻害する能力のために、これらの化合物は、増殖因子または他のチロシンキナーゼ活性により起動される工程に対する細胞反応を変更することがあり、これはチロシンキナーゼの過剰発現、突然変異、または転座の結果としての調節されない増殖を含む。増殖シグナル伝達経路、または細胞の細胞骨格構造を調節する経路において中心的役割を占めているチロシンキナーゼの阻害は、例え一過性または不完全な阻害であったとしても、癌性細胞を増殖サイクルからプログラムされた細胞死、またはアポトーシスへとスイッチするのに十分であると考えられる。アポトーシスによる死は、最も頻繁には、チロシンキナーゼインヒビターによる効果的治療時に観察される。

10

【0003】

特異的チロシンキナーゼの選択的阻害は、正常に増殖している細胞および組織に対し高度の特異性および最小の毒性を伴う癌細胞増殖を標的化する方法をもたらす。従ってチロシンキナーゼの特異的インヒビターは、臨床の抗癌治療として大きな可能性を有する。チロシンキナーゼインヒビターとして作用する多くの低分子が同定されている。例えば、ある種のフェニルアクリロニトリル化合物は、細胞増殖の阻害に効果があるチロシンキナーゼインヒビターとして説明されている(例えば、米国特許第5,891,917号(特許文献1)、米国特許第5,217,999号(特許文献2)、米国特許第5,773,476号(特許文献3)、米国特許第5,935,993号(特許文献4)、米国特許第5,656,655号(特許文献5)、米国特許第5,677,329号(特許文献6)、および米国特許第5,789,427号(特許文献7)参照)。

20

【0004】

チロシンキナーゼの阻害は、それにより細胞増殖が阻害され得るようなひとつの機序を提供する。当業者は、他の阻害機序も関連し得ることを理解すると考えられる。

【0005】

当技術分野において、細胞増殖を阻害する化合物を同定する必要性がある。

【0006】

【特許文献1】米国特許第5,891,917号

30

【特許文献2】米国特許第5,217,999号

【特許文献3】米国特許第5,773,476号

【特許文献4】米国特許第5,935,993号

【特許文献5】米国特許第5,656,655号

【特許文献6】米国特許第5,677,329号

【特許文献7】米国特許第5,789,427号

【発明の開示】

【0007】

発明の概要

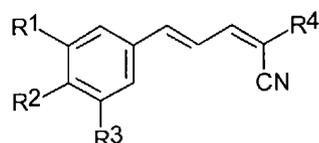
異常な細胞増殖、例えば癌細胞増殖を阻害する多くの新規化合物が、現在同定されている。これらの化合物は、正常細胞の増殖は阻害しない。

40

【0008】

従って本発明は、式Iの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物を含む

:



I

(式中、

50

R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルC₀O₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択されるか、またはR¹およびR²は一緒に、O-C₁₋₆アルキル-Oを表し、これにより環を形成し；

R³は、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、ハロゲンおよびCH₂-S-(CH₂)_nArから選択され；

R⁴は、C(X)R⁵、SO₃Ar、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、P(O)(OH)₂、P(O)(OC₁₋₆アルキル)₂、およびC(NH₂)=C(CN)₂から選択され；

Xは、O、S、NHおよびN-C₁₋₆アルキルから選択され；

R⁵は、NH₂、OH、NH(CH₂)_pAr、NH(CH₂)_pOH、(CH₂)_pOC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NHNH₂、NHC(O)NH₂、NHC(O)C₁₋₆アルコキシ、N-モルホリノおよびN-ピロリジノから選択され；

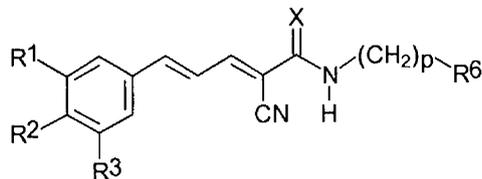
Arは、未置換であるか、またはOH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから独立して選択される1~4個の置換基により置換された、芳香族または複素芳香族基であり

nは、0~4であり；ならびに

pは、1~4である。)

【0009】

本発明は式IIの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物を更に含む；



II

(式中、

R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルC₀O₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択されるか、またはR¹およびR²は一緒に、O-C₁₋₆アルキル-Oを表し、これにより環を形成し；

R³は、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、ハロゲンおよびCH₂-S-(CH₂)_nArから選択され；

Arは、未置換であるか、またはOH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから独立して選択される1~4個の置換基により置換された、芳香族または複素芳香族基であり

R⁶は、Ar、OHおよびOC₁₋₆アルキルから選択され；

Xは、OおよびSから選択され；

nは、0~4であり；ならびに

pは、1~4である。)

【0010】

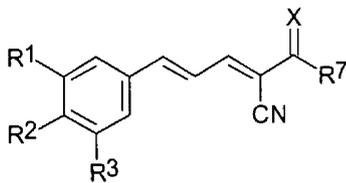
本発明は、式IIIの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物も提供する；

20

30

40

50



III

(式中、

R^1 および R^2 は、各々独立して、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル C_{1-6} アルキル O_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル($C=O$) NH 、 C_{1-6} アルキル($C=O$) $N(C_{1-6}$ アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から選択されるか、または R^1 および R^2 は一緒に、 $O-C_{1-6}$ アルキル- O を表し、これにより環を形成し；

R^3 は、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル($C=O$) NH 、 C_{1-6} アルキル($C=O$) $N(C_{1-6}$ アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NH_2 、八口ゲンおよび $CH_2-S-(CH_2)_nAr$ から選択され；

Ar は、未置換であるか、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から独立して選択される1~4個の置換基により置換された、芳香族または複素芳香族基であり

R^7 は、OH、 NH_2 および OC_{1-6} アルキルから選択され；

X は、 O および S から選択され；

n は、0~4である。)

【0011】

本発明の別の局面に従い、本発明の化合物および薬学的に許容される担体または希釈剤を含有する薬学的組成物が提供される。

【0012】

本発明の更なる局面において、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物に投与することを含む、細胞増殖を調節、好ましくは細胞増殖を阻害する方法が提供される。本発明は更に、細胞増殖を調節する、好ましくは細胞増殖を阻害するための、本発明の化合物の使用を含む。本発明は更に、細胞増殖を調節する、好ましくは細胞増殖を阻害する医薬品を調製するための、本発明の化合物の使用を含む。

【0013】

好ましい態様において、本発明は、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物に投与することを含む、癌細胞の増殖を阻害する方法を提供する。処理された癌細胞は、白血病、リンパ腫、黒色腫、転移性癌腫、肉腫、または任意の他の悪性形質転換もしくは任意の他の悪性腫瘍を含む、任意の種類のものである。本発明は更に、癌細胞増殖を調節する、好ましくは癌細胞増殖を阻害するための、本発明の化合物の使用を含む。本発明は更に、癌細胞増殖を調節する、好ましくは癌細胞増殖を阻害する医薬品の調製のための本発明の化合物の使用を含む。

【0014】

別の局面において、本発明は、本発明の化合物を有効量投与することにより、細胞内のチロシンキナーゼ活性を調節する方法を提供する。更なる局面において、本発明は、本発明の化合物を有効量投与することにより、細胞内のチロシンキナーゼ活性を阻害する方法を提供する。本発明は更に、チロシンキナーゼ活性を調節、好ましくは阻害するための、本発明の化合物の使用を提供する。本発明は更に、チロシンキナーゼ活性を調節する、好ましくはチロシンキナーゼ活性を阻害する医薬品を調製するための、本発明の化合物の使用を提供する。本発明の化合物による細胞増殖の阻害は、他の機序の影響を受けることがあることが理解される。

【0015】

10

20

30

40

50

本発明の別の特徴および利点は、下記の詳細な説明から明らかになると思われる。しかし、本発明の精神および範囲内の様々な変更および修飾は、この詳細な説明から当業者には明らかとなるので、詳細な説明および具体例は、本発明の好ましい態様を示すと同時に、単なる例証として示されていることは理解されなければならない。

【0016】

本発明は、図面に対して説明される。

【0017】

発明の詳細な説明

1. 定義

本明細書において使用される「 C_{1-6} アルキル」という用語は、特に記さない限りは、1 ~ 6個の炭素原子を含む直鎖および/または分枝鎖のアルキルラジカルを意味し、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、*t*-ブチルなどを含む。 10

【0018】

本明細書において使用される「 C_{1-6} アルコキシ」という用語は、特に記さない限りは、1 ~ 6個の炭素原子を含む直鎖および/または分枝鎖のアルコキシラジカルを意味し、メトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、イソプロピルオキシ、*t*-ブトキシなどを含む。

【0019】

本明細書において使用される「 C_{1-4} アルキル」という用語は、特に記さない限りは、1 ~ 4個の炭素原子を含む直鎖および/または分枝鎖のアルキルラジカルを意味し、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、*t*-ブチルなどを含む。 20

【0020】

本明細書において使用される「 C_{1-4} アルコキシ」という用語は、特に記さない限りは、1 ~ 4個の炭素原子を含む直鎖および/または分枝鎖のアルコキシラジカルを意味し、メトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、イソプロピルオキシ、*t*-ブトキシなどを含む。

【0021】

本明細書において使用される「Ar」という用語は、未置換または置換されたアリールおよび/またはヘテロアリール基を意味し、ヘテロアリールの場合には、最大2個のヘテロ原子を含むことができ、その成分は、独立してOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロから選択され、未置換または置換されたフェニル、フリル、チエニル、インドリル、ナフチル、キノリルなどを含む。 30

【0022】

本明細書において使用される「ハロ」という用語は、ハロゲンを意味し、塩素、フッ素、臭素、ヨウ素などを含む。

【0023】

「薬学的に許容される塩」という用語は、患者の治療に適しているまたは適合性がある酸付加塩または塩基付加塩を意味する。

【0024】

本明細書において使用される「本発明の化合物」という用語は、本明細書において定義されたような式I、IIまたはIIIの任意の化合物(それらの塩、溶媒和物または水和物を全て含む)に加え、本明細書において構造が具体的に示された任意の化合物(それらの塩、溶媒和物、または水和物を全て含む)を含む。 40

【0025】

「薬学的に許容される酸付加塩」という用語は、式I、IIおよび/またはIIIにより表されたいずれかの基本化合物の無毒の有機もしくは無機の塩、またはそれらのいずれかの中間体を意味する。適当な塩を形成する例示的な無機酸は、塩酸、臭化水素酸、硫酸およびリン酸に加え、オルトリン酸一水素ナトリウムおよび硫酸水素カリウムのような金属塩を含む。適当な塩を形成する例示的な有機酸は、モノ-、ジ-、およびトリ-カルボン酸、例えばグリコール酸、乳酸、ピルビン酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、マレイン酸、安息香酸、フェニル酢酸、ケ 50

イ皮酸およびサリチル酸に加え、p-トルエンスルホン酸およびメタンスルホン酸のようなスルホン酸を含む。モノまたはジ-酸性塩のいずれかを生成することができ、このような塩は、水和された、溶媒和された、または実質的に無水物のいずれかの形態で存在することができる。一般に、式I、IIおよび/またはIIIの化合物の酸付加塩は、それらの遊離基本形と比べ、水および様々な親水性有機溶媒中により可溶性であり、かつ一般により高い融点を示す。適当な塩の選択は、当業者には公知であると思われる。その他の薬学的に許容されない塩、例えばシュウ酸塩を、実験室用途のために、または引き続きの薬学的に許容される酸付加塩への転化のために、例えば、式I、IIおよび/またはIIIの化合物の単離において使用することができる。

【0026】

10

本明細書において使用される「薬学的に許容される塩基付加塩」という用語は、式I、IIおよび/またはIIIにより表されたいずれかの酸性化合物の無毒の有機もしくは無機の塩基付加塩、またはそれらのいずれかの中間体を意味する。適当な塩を形成する例示的な無機塩基は、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムまたは水酸化バリウムを含む。適当な塩を形成する例証的無機塩基は、脂肪族、脂環式、または芳香族有機アミン、例えばメチルアミン、トリメチルアミン、およびピコリンまたはアンモニアを含む。適当な塩の選択は、当業者に公知であると思われる。

【0027】

本明細書において使用される「溶媒和物」という用語は、式I、IIおよび/もしくはIIIの化合物、または式I、IIおよび/もしくはIIIの化合物の薬学的に許容される塩であり、ここで適当な溶媒分子がその結晶格子に組込まれているものを意味する。適当な溶媒は、投与される用量で生理的に忍容性がある。適当な溶媒の例は、エタノール、水などである。水が溶媒である場合、その分子は、「水和物」と称される。

20

【0028】

本明細書において使用される用語物質の「有効量」または「十分量」は、臨床の結果を含む、有益または望ましい結果に作用するのに十分な量であり、「有効量」は、適用される状況に応じて決定される。例えば、癌細胞増殖を阻害する物質を投与する状況において、物質の有効量は、例えば、物質を投与しない場合に得られる反応と比較して、癌細胞増殖におけるこのような減少を達成するのに十分な量である。

30

【0029】

本明細書に使用されるように、更には当技術分野において周知のように、「治療」とは、臨床結果を含む、有益または望ましい結果を得るための方法である。有益または望ましい臨床の結果は、検出できるか否かにかかわらず、1つ以上の症状または状態の緩和または改善、疾患の程度の低下、疾患状態の安定化(すなわち増悪せず)、疾患の拡大の防止、疾患進行の遅延または減速、疾患状態の改善または軽減、ならびに寛解(部分または全体のいずれか)を含むが、これらに限定されるものではない。更に「治療」は、治療を受けない場合に予想される生存と比較して、延長された生存も意味することができる。

【0030】

疾患または障害の「軽減」とは、未治療の障害と比較して、障害または疾患状態の程度および/または望ましくない臨床の症状発現が減少し、および/または進行の時間経過が遅延または延長されることを意味する。

40

【0031】

本明細書において使用される「調節」という用語は、機能または活性(細胞増殖など)の阻害または抑制に加え、機能または活性の増強を含む。

【0032】

癌細胞増殖のような、機能または活性を「阻害」または「抑制」または「低下」することは、対象となる条件またはパラメータを除いてその他の点では同じ条件で比べた場合、あるいは、別の条件と比べた場合に、機能または活性が低下することである。

【0033】

50

本明細書において使用される「動物」という用語は、ヒトを含む動物界の全ての構成物を含む。好ましくは動物はヒトである。

【0034】

本明細書において使用される「細胞」という用語は、複数の細胞を含む。細胞への化合物の投与は、インビボ、エクスピボおよびインビトロの治療を含む。

【0035】

本明細書において使用される「癌細胞」という用語は、癌または新生物性疾患の全ての形態を含む。

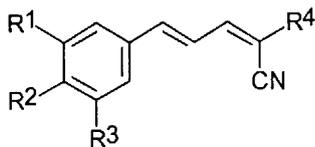
【0036】

11. 発明の化合物

細胞増殖を調節する上で有用である新規化合物が調製された。このような化合物は、癌のような細胞増殖性疾患の治療に有用である。

【0037】

従って本発明は、式Iの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物を提供する：



I

(式中、

R^1 および R^2 は、各々独立して、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから選択されるか、または R^1 および R^2 は一緒に、 $O-C_{1-6}$ アルキル-Oを表し、これにより環を形成し；

R^3 は、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 N 30
 O_2 、ハロゲンおよび $CH_2-S-(CH_2)_n$ Arから選択され；

R^4 は、 $C(X)R^5$ 、 SO_3 Ar、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 $P(O)$ (OH) $_2$ 、 $P(O)(OC_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、および $C(NH_2)=C(CN)_2$ から選択され；

Xは、O、S、NHおよび $N-C_{1-6}$ アルキルから選択され；

R^5 は、 NH_2 、OH、 $NH(CH_2)_p$ Ar、 $NH(CH_2)_p$ OH、 $(CH_2)_p$ OC $_{1-6}$ アルキル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 $NHNH_2$ 、 $NHC(O)NH_2$ 、 $NHC(O)C_{1-6}$ アルコキシ、N-モルホリノおよびN-ピロリジノから選択され；ならびに

Arは、未置換であるか、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから独立して選択される1~4個の置換基により置換された、芳香族または複素芳香族基 40
であり

nは、0~4であり；

mは、1~4であり；ならびに

pは、1~4である。)

【0038】

本発明の態様において、式Iの化合物は、 R^1 および R^2 が、各々独立して、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから選択されるか、または R^1 および R^2 は一緒に、 $O-C_{1-6}$ アルキル-Oを表し、これにより 50

環を形成する。好ましい態様において、 R^1 および R^2 は、各々独立して、H、OH、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、 C_{1-4} アルキル(C=O)NH、 C_{1-4} アルキル(C=O)N(C_{1-4} アルキル)、SH、S- C_{1-4} アルキル、O-Si(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から選択される。より好ましい態様において、 R^1 および R^2 は、各々独立して、H、OH、 OCH_3 、 CH_3CO_2 、O-Si(CH_3)₂(^tBu)、S-Me、SH、 CH_3CONH 、 CH_3CONCH_3 、および NO_2 から選択される。本発明の最も好ましい態様は、 R^1 および R^2 が、両方ともOHもしくは OCH_3 であるか、または R^1 は OCH_3 であり、および R^2 はOHである。

【0039】

更なる本発明の態様において、式Iの化合物は、 R^3 が、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、O-Si(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、八口ゲンおよび $CH_2-S-(CH_2)_nAr$ (ここでnは0~4)から選択される。好ましい態様において、 R^3 は、H、OH、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、N(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)、 C_{1-4} アルキル(C=O)NH、 C_{1-4} アルキル(C=O)N(C_{1-4} アルキル)、SH、S- C_{1-4} アルキル、 NO_2 、および八口から選択される。より好ましい態様において、 R^3 は、H、OH、 OCH_3 、 CH_3CO_2 、SH、SMe、 CH_3CONH 、 CH_3CONCH_3 、 NO_2 および八口から選択される。最も好ましい態様において、 R^3 は、H、OHおよび OCH_3 から選択される。

【0040】

ある態様において、 R^1 、 R^2 、および R^3 は、少なくとも1個の基は水素以外であるという条件で、各々独立して、H、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、および C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)から選択される。

【0041】

本発明の態様は、 R^4 が、 $C(X)R^5$ 、 SO_3Ar 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 $P(O)(OH)_2$ 、 $P(O)(OC_{1-6}アルキル)_2$ 、および $C(NH_2)=C(CN)_2$ (ここでmは1~4である)から選択される、式Iの化合物を含む。好ましい態様において、 R^4 は、 $C(X)R^5$ または $C(NH_2)=C(CN)_2$ から選択される。より好ましくは、 R^4 は $C(X)R^5$ である。 R^4 が $C(X)R^5$ である場合、本発明の態様は、Xが、O、S、NHおよびN- C_{1-6} アルキルから選択され、ならびに R^5 が、 NH_2 、OH、 $NH(CH_2)_pAr$ 、 $NH(CH_2)_pOH$ 、 $(CH_2)_pOC_{1-6}アルキル$ 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 $NHNH_2$ 、 $NHC(O)NH_2$ 、 $NHC(O)C_{1-6}アルコキシ$ 、N-モルホリノおよびN-ピロリジノ (ここでpは1~4である)から選択される化合物を含む。好ましい態様において、Xは、OまたはSであり、および R^5 は、 NH_2 、OH、 $NH(CH_2)_pAr$ 、 $(CH_2)_pOH$ 、および C_{1-4} アルコキシ (ここでpは1~3である)から選択される。最も好ましいのは、XがOであり、および R^5 が、 NH_2 、OH、 $NH(CH_2)_pAr$ 、 $NH(CH_2)_pOH$ 、および OCH_3 (ここでpは1~2である)からなる群より選択される式Iの化合物である。

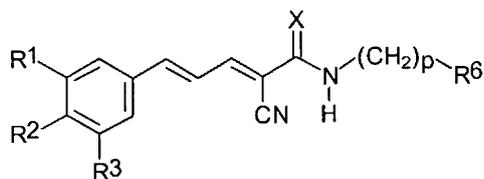
【0042】

本発明は、式Iの化合物を含む(式中、用語「Ar」は、未置換または置換されたアリールおよび/またはヘテロアリール基を意味し、これはヘテロアリールの場合には、最大2個のヘテロ原子を含んでよく、ここで任意の置換基は、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から選択され、ならびに未置換または置換されたフェニル、フリル、チエニル、インドリル、ナフチル、キノリルなどである。)。本発明の態様において、Arは、未置換のフェニル基、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~4個の置換基により置換されたフェニル基である。好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、またはOH、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、N(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)、SH、S- C_{1-4} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。より好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、またはOH、 OCH_3 、 NH_2 、N

HCH₃、N(CH₃)₂、SH、SCH₃、CF₃、OCF₃およびハロゲンから任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。最も好ましい態様において、Arは、フェニルおよび3,4-ジヒドロキシフェニルから選択される。

【0043】

本発明は更に、式IIの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物を含む：



II

10

(式中、

R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択されるか、またはR¹およびR²は一緒に、O-C₁₋₆アルキル-Oを表し、これにより環を形成し；

R³は、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、ハロゲンおよびCH₂-S-(CH₂)_nArから選択され；

20

Arは、未置換であるか、またはOH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから独立して選択される1~4個の置換基により置換された、芳香族または複素芳香族基であり

R⁶は、Ar、OH、およびOC₁₋₆アルキルから選択され；

Xは、OおよびSから選択され；

nは、0~4であり；ならびに

pは、1~4である。)

30

【0044】

本発明の態様において、式IIの化合物は、R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択されるか、またはR¹およびR²は一緒に、O-C₁₋₆アルキル-Oを表し、これにより環を形成するものである。好ましい態様において、R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、C₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルコキシ、C₁₋₄アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルキル(C=O)NH、C₁₋₄アルキル(C=O)N(C₁₋₄アルキル)、SH、S-C₁₋₄アルキル、O-Si(C₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)(C₁₋₄アルキル)、NO₂、CF₃、OCF₃およびハロゲンから選択される。より好ましい態様において、R¹およびR²は、各々独立して、H、OH、OCH₃、CH₃CO₂、O-Si(CH₃)₂(^tBu)、S-Me、SH、CH₃CONH、CH₃CONCH₃、およびNO₂から選択される。本発明の最も好ましい態様は、R¹およびR²が、両方ともOHもしくはOCH₃であるか、またはR¹がOCH₃およびR²がOHである。

40

【0045】

更なる本発明の態様において、式IIの化合物は、R³が、H、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルCO₂、NH₂、NH-C₁₋₆アルキル、N(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、C₁₋₆アルキル(C=O)NH、C₁₋₆アルキル(C=O)N(C₁₋₆アルキル)、SH、S-C₁₋₆アルキル、O-Si(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)(C₁₋₆アルキル)、NO₂、ハロゲンおよびCH₂-S-(CH₂)_nAr (ここでnは0~4)から選択されるものを含む。好ましい態様において、R³は、H、OH、C₁₋₄ア

50

ルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、 $N(C_{1-4}$ アルキル)(C_{1-4} アルキル)、 C_{1-4} アルキル($C=O$) NH 、 C_{1-4} アルキル($C=O$) $N(C_{1-4}$ アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-4}$ アルキル、 NO_2 、および八口から選択される。より好ましい態様において、 R^3 は、 H 、 OH 、 OCH_3 、 CH_3CO_2 、 SH 、 SMe 、 NO_2 、 CH_3CONH 、 CH_3CONCH_3 、および八口から選択される。最も好ましい態様において、 R^3 は、 H 、 OH および OCH_3 から選択される。

【0046】

ある態様において、 R^1 、 R^2 、および R^3 は、少なくとも1個の基は水素以外であるという条件で、各々独立して、 H 、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 C_{1-6} アルキル($C=O$) NH 、および C_{1-6} アルキル($C=O$) $N(C_{1-6}$ アルキル)から選択される。

【0047】

本発明は更に、式IIの化合物を含む(式中、用語「Ar」は、未置換または置換されたアリールおよび/またはヘテロアリール基を意味し、これはヘテロアリールの場合は、最大2個のヘテロ原子を含んでよく、ここで任意の置換基は、 OH 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から選択され、ならびに未置換または置換されたフェニル、フリル、チエニル、インドリル、ナフチル、キノリルなどである。)本発明の態様において、Arは、未置換のフェニル基、または OH 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~4個の置換基により置換されたフェニル基である。好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、または OH 、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、 $N(C_{1-4}$ アルキル)(C_{1-4} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-4}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。より好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、または OH 、 OCH_3 、 NH_2 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、 SH 、 SCH_3 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。最も好ましい態様において、Arは、フェニルおよび3,4-ジヒドロキシフェニルから選択される。

【0048】

式IIの化合物は、 R^6 が、Ar、 OH および OC_{1-6} アルキルから選択され、およびpが1~4であるものを含む。好ましい態様において、 R^6 は、Arまたは OH から選択され、およびpは1~2である。最も好ましくは、 R^6 がArである場合、pは1であり、および R^6 が OH である場合、pは2である。 R^6 がArである場合、Arは、未置換もしくは置換のアリールおよび/またはヘテロアリール基を意味し、これがヘテロアリールである場合には、最大2個のヘテロ原子を含んでよく、ここで任意の置換基は、 OH 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から独立して選択され、これは未置換または置換のフェニル、フリル、チエニル、インドリル、ナフチル、キノリルなどを含む。本発明の態様において、Arは、未置換のフェニル基、または OH 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~4個の置換基により置換されたフェニル基である。好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、または OH 、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、 $N(C_{1-4}$ アルキル)(C_{1-4} アルキル)、 SH 、 $S-C_{1-4}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。より好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、または OH 、 OCH_3 、 NH_2 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、 SH 、 SCH_3 、 CF_3 、 OCF_3 および八口から任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。最も好ましい態様において、Arは、フェニルおよび3,4-ジヒドロキシフェニルから選択される。

【0049】

式IIの化合物は、Xが0およびSから選択されるものを更に含む。好ましい態様において、Xは0である。

【0050】

10

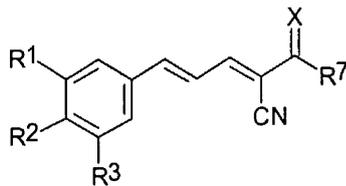
20

30

40

50

本発明は更に、式IIIの化合物、またはそれらの塩、溶媒和物、もしくは水和物も提供する：



III

(式中、

R^1 および R^2 は、各々独立して、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキルC 10
 O_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6}
 アルキル(C=O) $N(C_{1-6}$ アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アル
 キル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから選択されるか、または R^1 および R^2
 は一緒に、 $O-C_{1-6}$ アルキル-Oを表し、これにより環を形成し；

R^3 は、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキ
 ル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O) $N(C_{1-6}$
 アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 N
 O_2 、ハロゲンおよび $CH_2-S-(CH_2)_nAr$ から選択され；

Arは、未置換であるか、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アル
 キル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハ 20
 ロゲンから独立して選択される1~4個の置換基により置換された、芳香族または複素芳香族基
 であり；

R^7 は、OH、 NH_2 および OC_{1-6} アルキルから選択され；

Xは、OおよびSから選択され；ならびに

nは0~4である。)

【0051】

本発明の態様において、式IIIの化合物は、 R^1 および R^2 が、各々独立して、H、OH、 C_{1-6}
 アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)
 (C_{1-6} アルキル)、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O) $N(C_{1-6}$ アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$
 アルキル、 $O-Si(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 および 30
 ハロゲンから選択されるか、または R^1 および R^2 は一緒に、 $O-C_{1-6}$ アルキル-Oを表し、これによ
 り環を形成するものである。好ましい態様において、 R^1 および R^2 が、各々独立して、H、O
 H、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、 C_{1-4} アル
 キル(C=O)NH、 C_{1-4} アルキル(C=O) $N(C_{1-4}$ アルキル)、SH、 $S-C_{1-4}$ アルキル、 $O-Si(C_{1-4}$ アル
 キル)(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロゲンから選択される。より
 好ましい態様において、 R^1 および R^2 が、各々独立して、H、OH、 OCH_3 、 CH_3CO_2 、 $O-Si(CH_3)$
 $_2$ (tBu)、 $S-Me$ 、SH、 CH_3CONH 、 CH_3CONCH_3 、および NO_2 から選択される。本発明の最も好ま
 しい態様においては、 R^1 および R^2 が、両方ともOHもしくは OCH_3 であるか、または R^1 が OCH_3
 および R^2 がOHである。

【0052】

更なる本発明の態様において、式IIIの化合物は、 R^3 が、H、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アル
 コキシ、 C_{1-6} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-6}$ アルキル、 $N(C_{1-6}$ アルキル)(C_{1-6} アルキル)、
 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、 C_{1-6} アルキル(C=O) $N(C_{1-6}$ アルキル)、SH、 $S-C_{1-6}$ アルキル、 $O-Si$ (
 C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、 NO_2 、ハロゲンおよび $CH_2-S-(CH_2)_nAr$ (こ
 こでnは0~4)から選択される。好ましい態様において、 R^3 は、H、OH、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4}
 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 NH_2 、 $NH-C_{1-4}$ アルキル、 $N(C_{1-4}$ アルキル)(C_{1-4} アルキル)
)、 C_{1-4} アルキル(C=O)NH、 C_{1-4} アルキル(C=O) $N(C_{1-4}$ アルキル)、SH、 $S-C_{1-4}$ アルキル、 NO
 $_2$ 、およびハロゲンから選択される。より好ましい態様において、 R^3 は、H、OH、 OCH_3 、 CH_3CO_2
 、SH、 SMe 、 NO_2 、 CH_3CONH 、 CH_3CONCH_3 、およびハロゲンから選択される。最も好ましい態様
 において、 R^3 は、H、OHおよび OCH_3 から選択される。

【0053】

ある態様において、 R^1 、 R^2 、および R^3 は、少なくとも1個の基は水素以外であるという条件で、各々独立して、H、 C_{1-4} アルキル CO_2 、 C_{1-6} アルキル(C=O)NH、および C_{1-6} アルキル(C=O)N(C_{1-6} アルキル)から選択される。

【0054】

本発明は更に、式IIIの化合物を含む(式中、用語「Ar」は、未置換または置換されたアリールおよび/またはヘテロアリール基を意味し、これはヘテロアリールの場合は、最大2個のヘテロ原子を含み、ここで任意の置換基は、OH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、NH- C_{1-6} アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロから独立して選択され、ならびに未置換または置換されたフェニル、フリル、チエニル、インドリル、ナフチル、キノリルなどである。)。本発明の態様において、Arは、未置換のフェニル基、またはOH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 NH_2 、NH- C_{1-6} アルキル、N(C_{1-6} アルキル)(C_{1-6} アルキル)、SH、S- C_{1-6} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロから任意に選択された1~4個の置換基により置換されたフェニル基である。好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、またはOH、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 NH_2 、NH- C_{1-4} アルキル、N(C_{1-4} アルキル)(C_{1-4} アルキル)、SH、S- C_{1-4} アルキル、 NO_2 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロから任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。より好ましい態様において、Arは、未置換のフェニル基、またはOH、 OCH_3 、 NH_2 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、SH、 SCH_3 、 CF_3 、 OCF_3 およびハロから任意に選択された1~2個の置換基により置換されたフェニル基である。最も好ましい態様において、Arは、フェニルおよび3,4-ジヒドロキシフェニルから選択される。

【0055】

式IIIの化合物は更に、 R^7 が、OH、 NH_2 および OC_{1-6} アルキルから選択されるものを含む。好ましい態様において、 R^7 は、OHおよび NH_2 から選択される。

【0056】

式IIIの化合物は更に、XがOおよびSから選択されるものを含む。好ましい態様において、XはOである。

【0057】

本発明の特定の態様において、本発明の化合物は以下を含む：

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル(CR1)；

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル(CR2)；

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR3)；

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR4)；

(E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル(CR5)；

(E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR8)；

(E,E)-2-(フェニルプロピルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR9)；

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR11)；

(E,E)-2-チオアセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR12)；

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR13)；

(E,E)-2-カルボキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR14)；

10

20

30

40

50

(E,E)-2-カルボメトキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR15) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシスチリル)]アクリロニトリル (CR16) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR17) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシスチリル)]アクリロニトリル (CR18) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル (CR19) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシスチリル)]アクリロニトリル (CR20) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR21) ;

(E,E)-2-(α -エタノールアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR24) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル (CR27)

;
(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル (CR28) ; および

(E,E)-2-(1-アミノ-2,2-ジシアノエチル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル (CR29)。

【 0 0 5 8 】

好ましい本発明の態様において、本発明の化合物は以下を含む：

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル (CR1) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル (CR2) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR3) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR4) ;

(E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル (CR5) ;

(E,E)-2-(フェニルプロピルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR9) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR11) ;

(E,E)-2-チオアセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR12) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR13) ;

(E,E)-2-カルボキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR14) ;

(E,E)-2-カルボメトキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR15) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR17) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル (CR19) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル

10

20

30

40

50

)アクリロニトリル (CR21) ; および

(E,E)-2-(β -エタノールアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR24)。

【 0 0 5 9 】

より好ましい本発明の態様において、本発明の化合物は以下を含む：

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR4) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR11) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR 17) ;

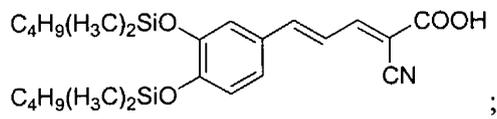
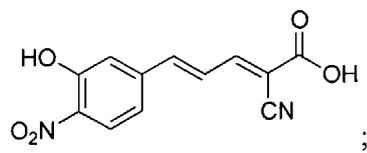
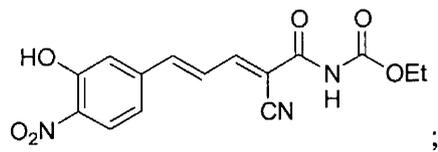
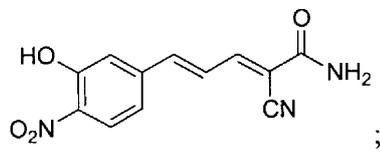
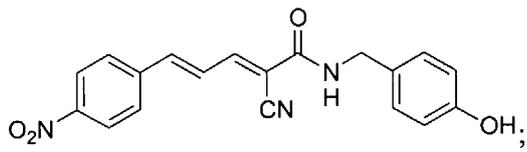
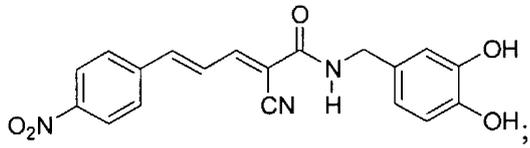
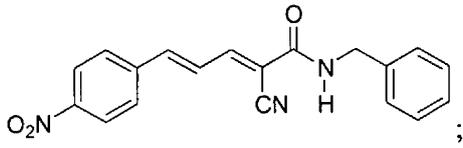
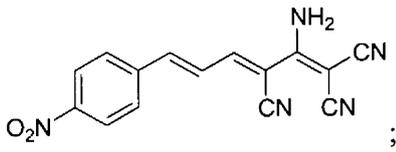
(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル (CR19) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR21) ; および

(E,E)-2-(β -エタノールアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR24)。

【 0 0 6 0 】

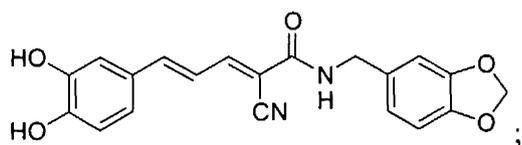
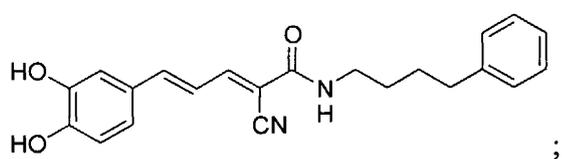
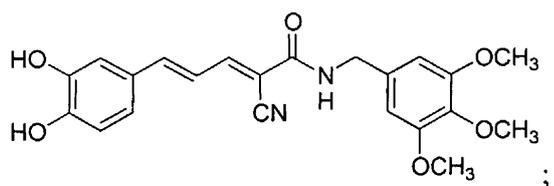
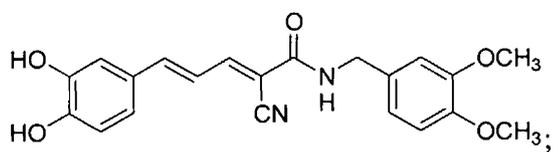
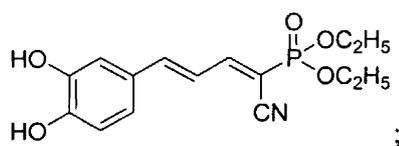
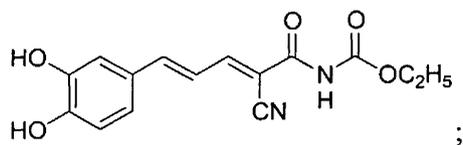
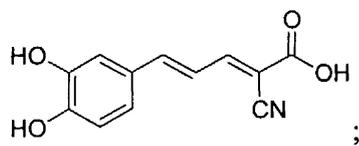
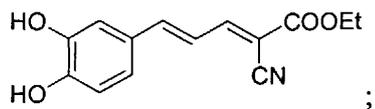
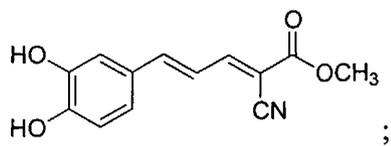
本発明のある態様において、本発明の化合物は、下記構造を有する化合物から選択される：



10

20

30

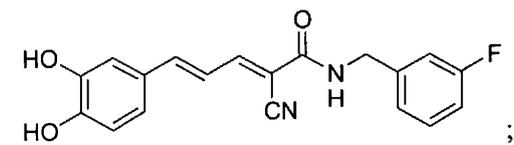
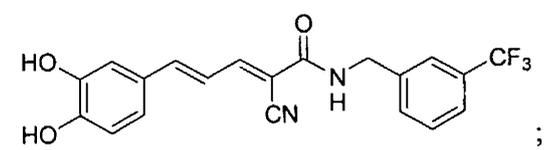
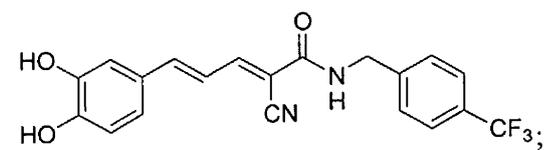
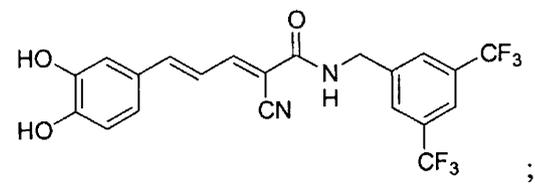
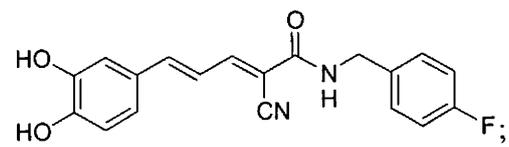
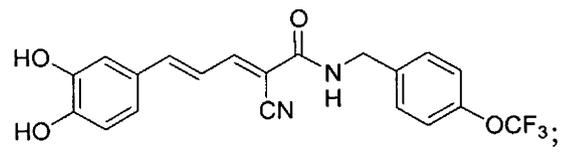
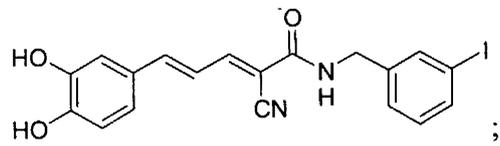
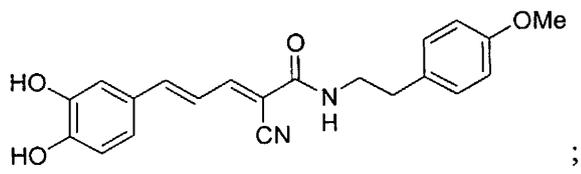
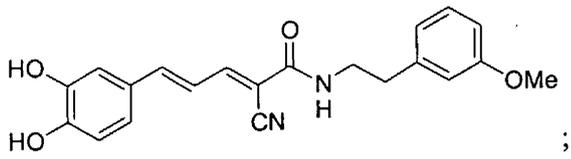


10

20

30

40

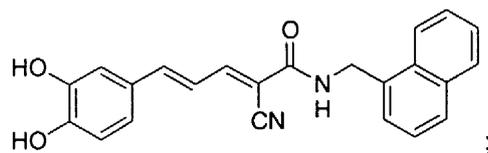
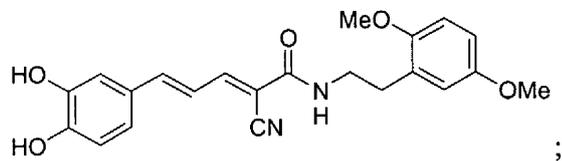
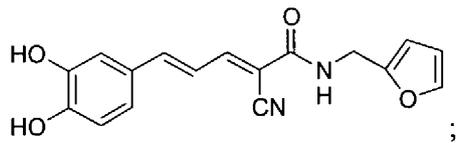
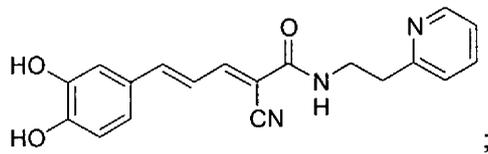
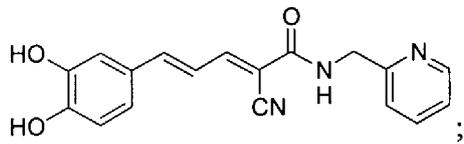
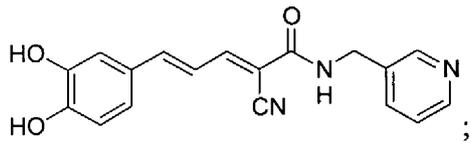
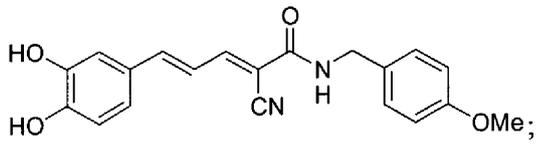
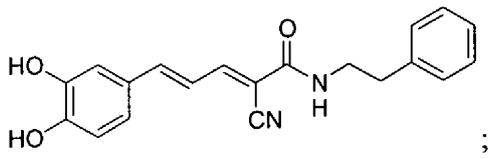
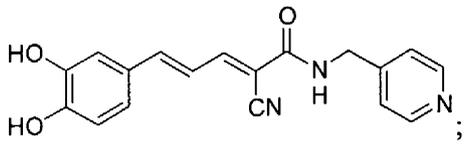


10

20

30

40

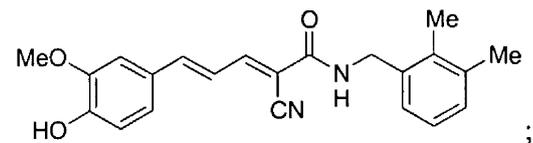
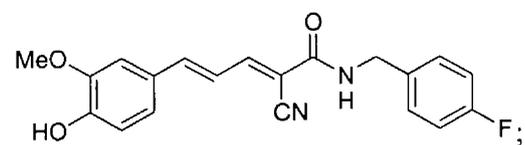
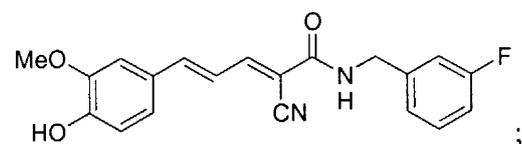
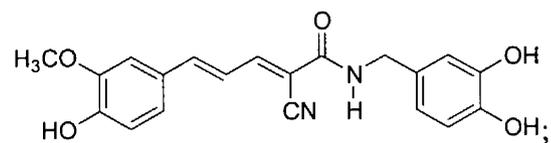
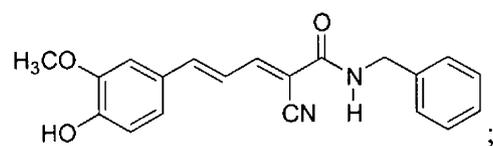
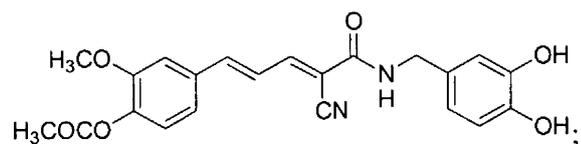
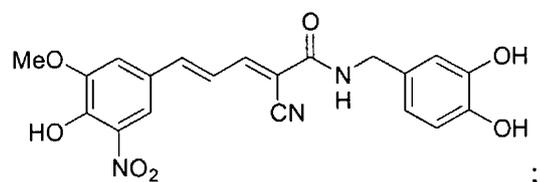
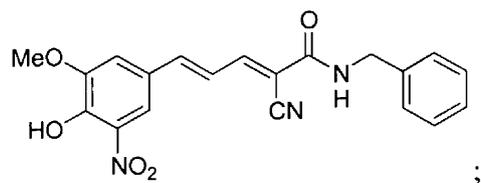
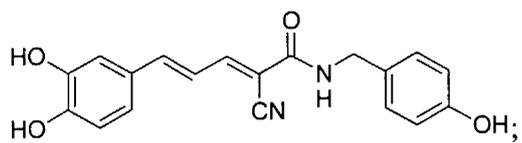


10

20

30

40

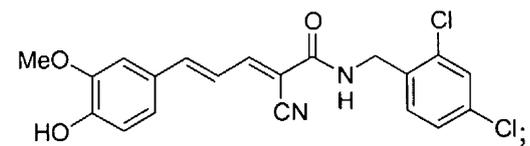
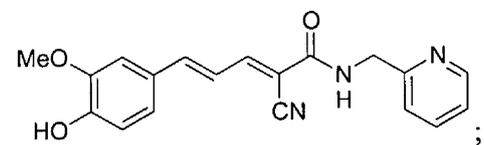
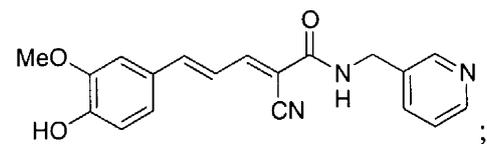
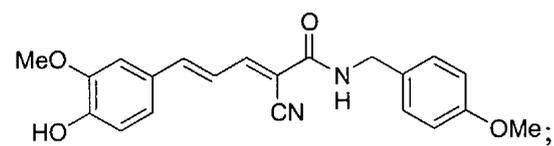
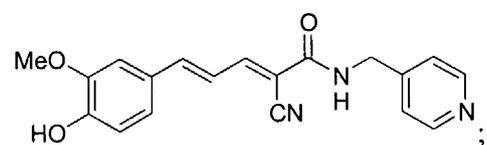
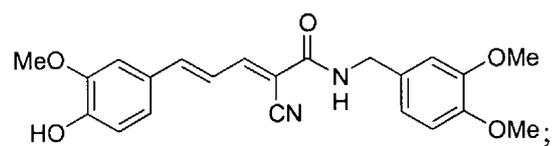
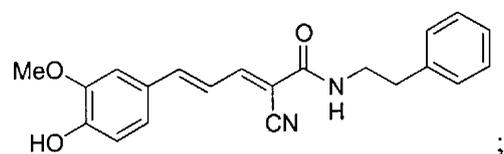
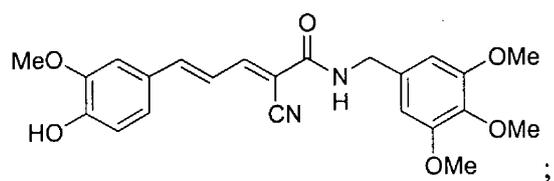
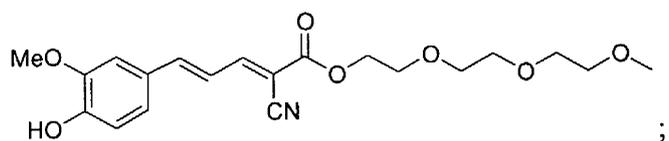


10

20

30

40

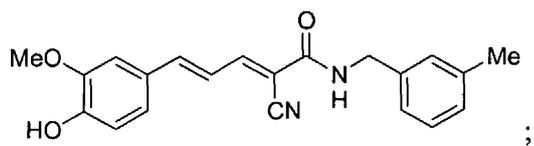
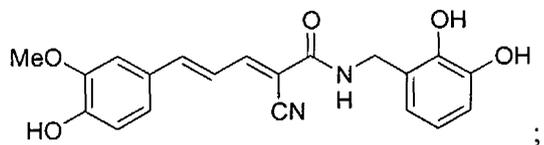
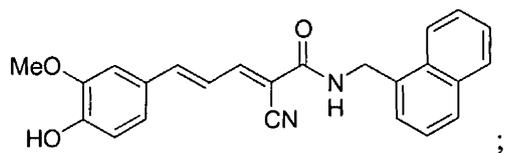
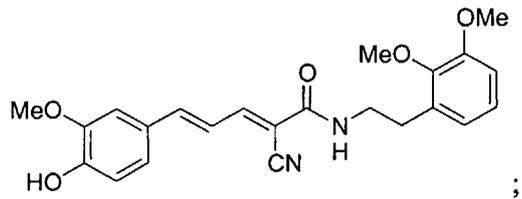
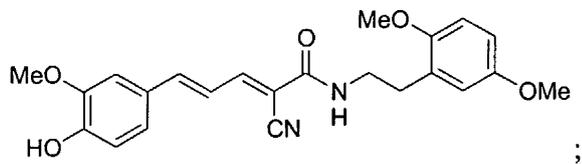
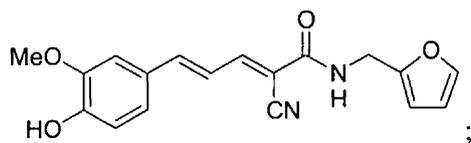
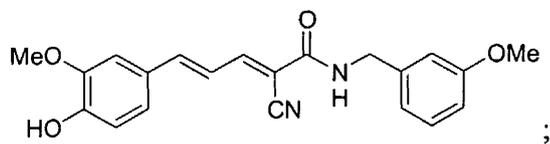
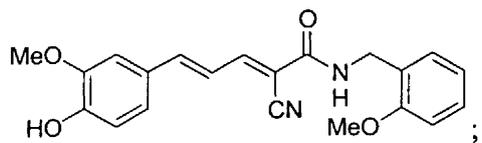
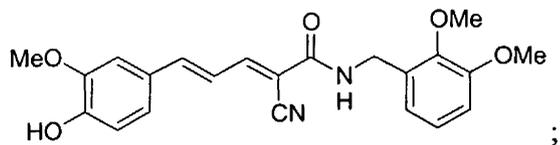


10

20

30

40

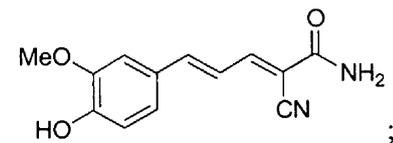
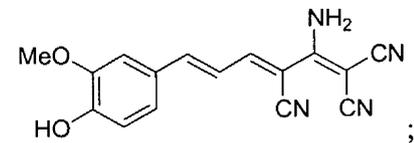
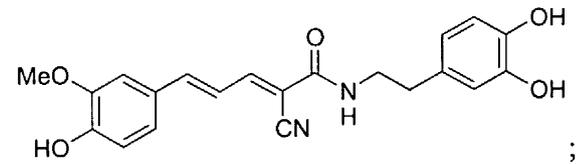
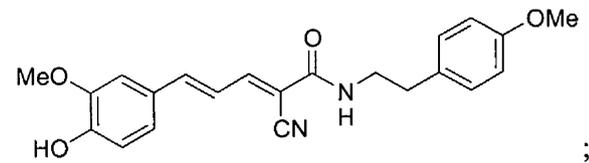
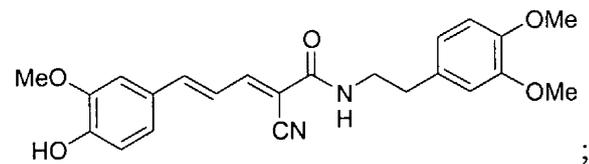
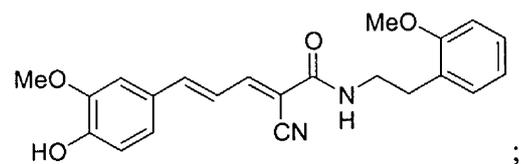
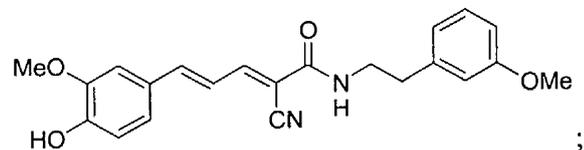
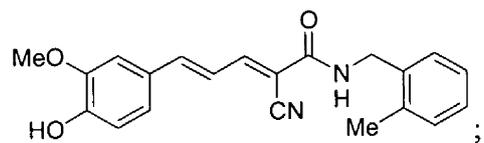
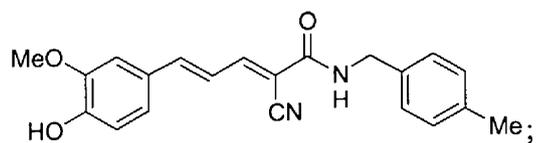


10

20

30

40

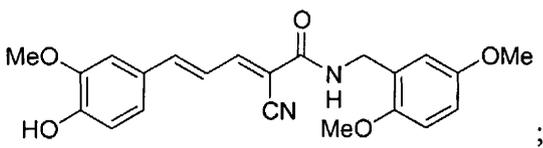
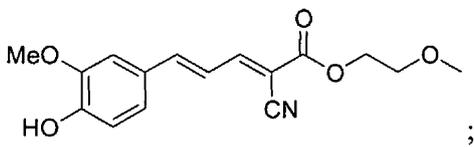
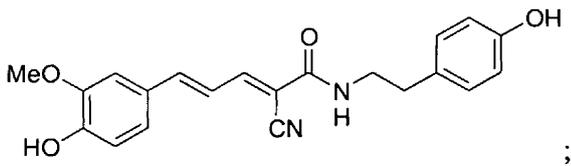
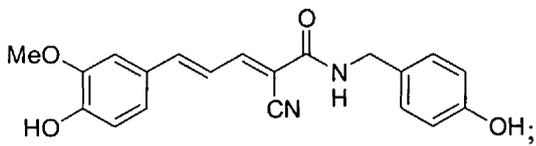
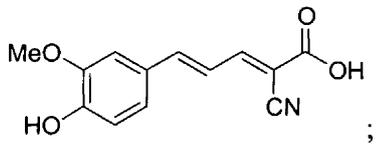
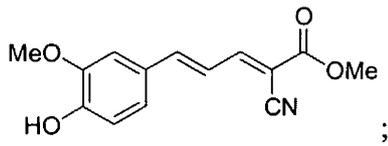
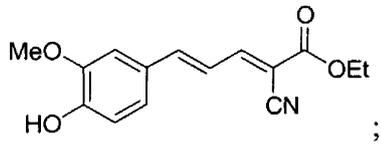
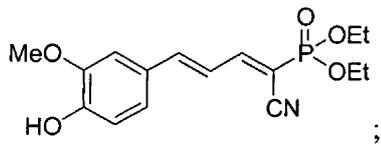
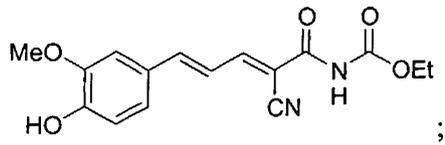


10

20

30

40

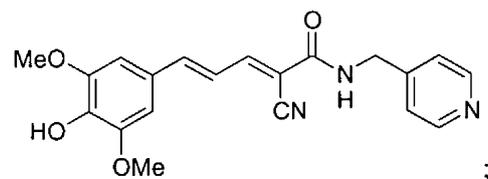
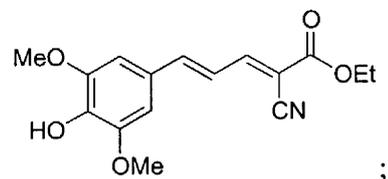
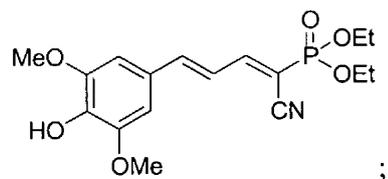
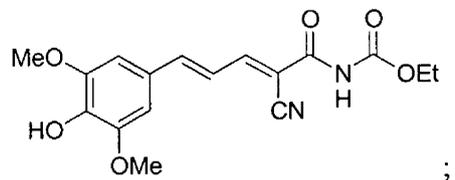
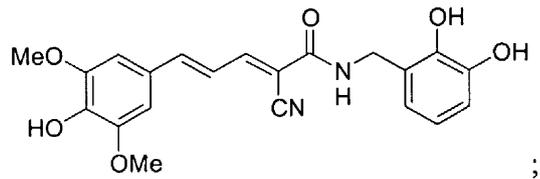
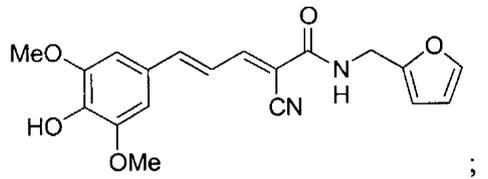
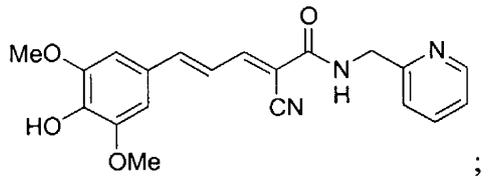
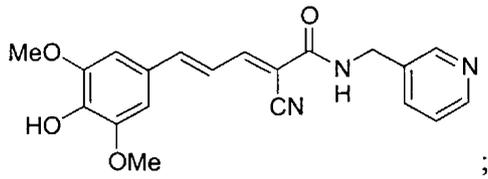


10

20

30

40

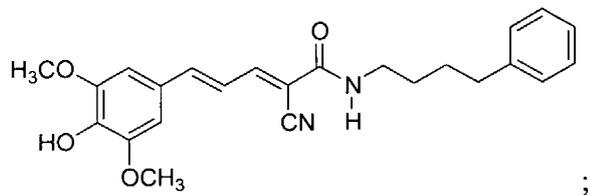
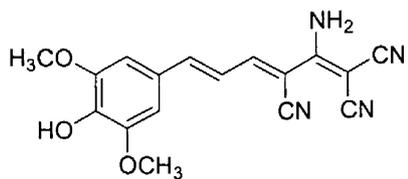


10

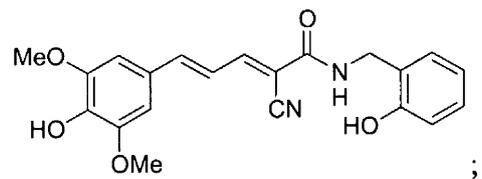
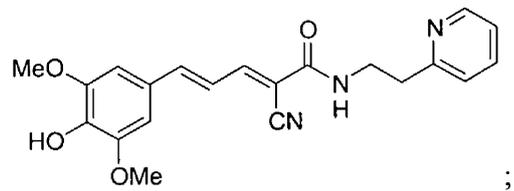
20

30

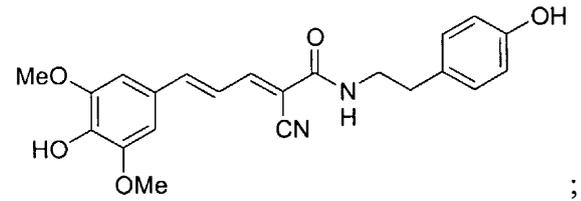
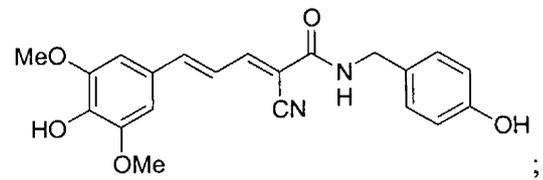
40



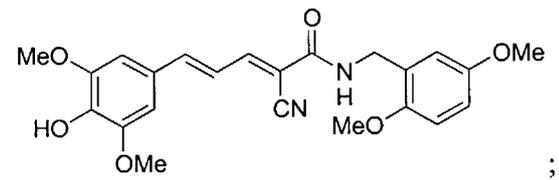
10

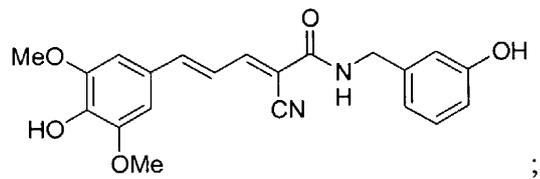
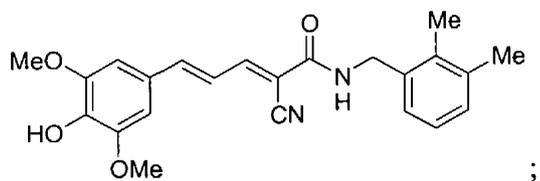


20

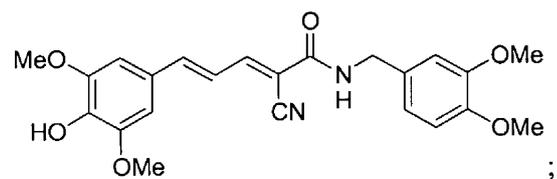
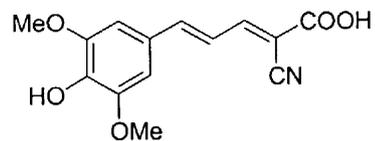


30

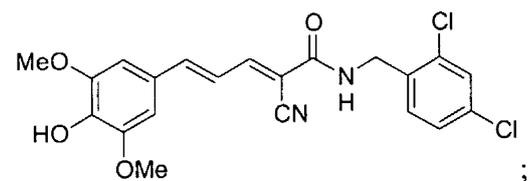
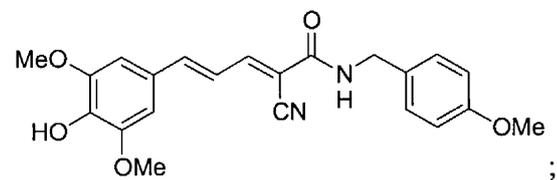




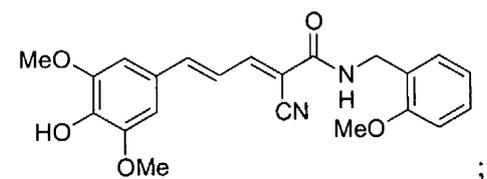
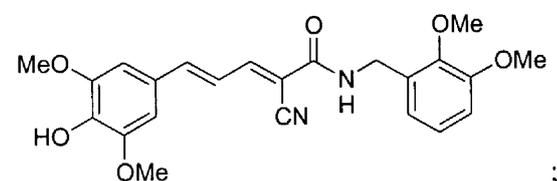
10



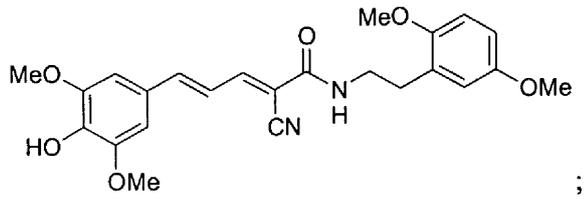
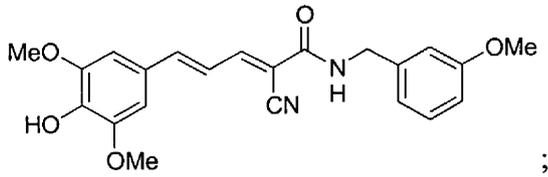
20



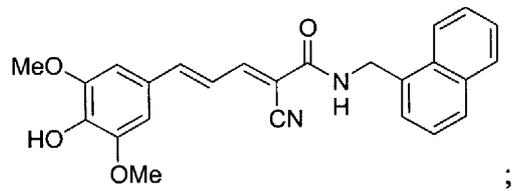
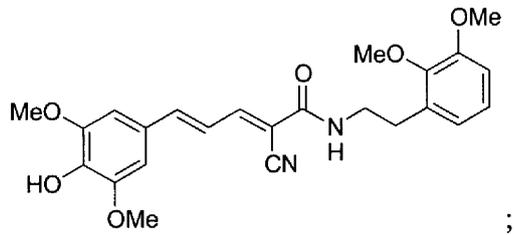
30



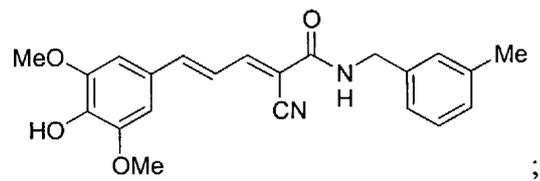
40



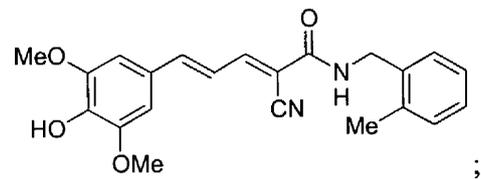
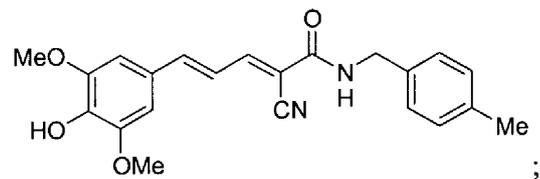
10



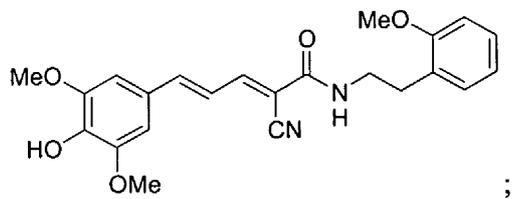
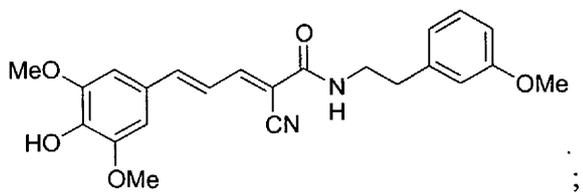
20



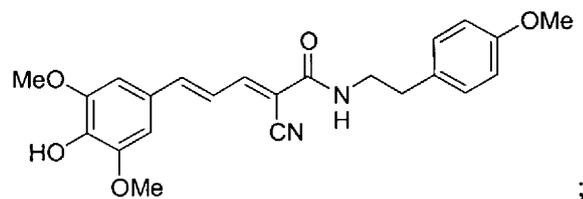
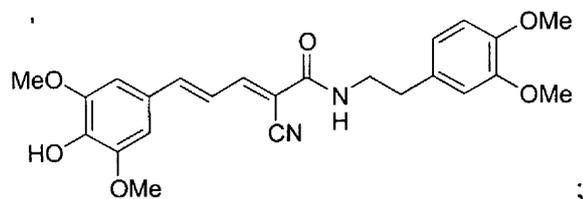
30



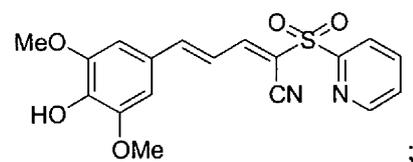
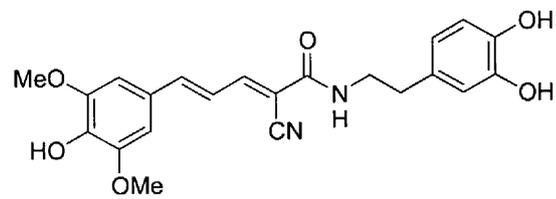
40



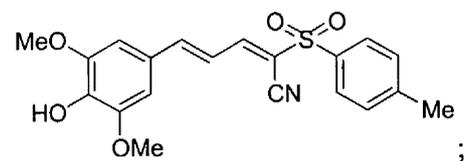
10

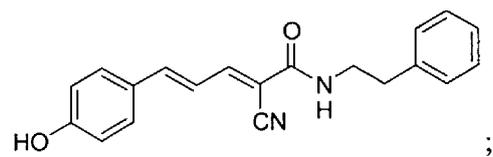
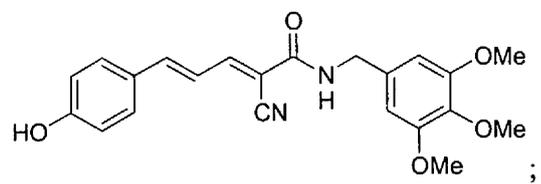
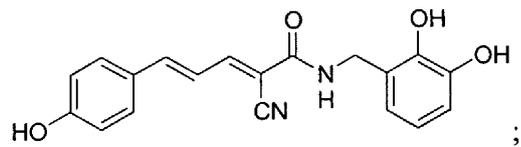
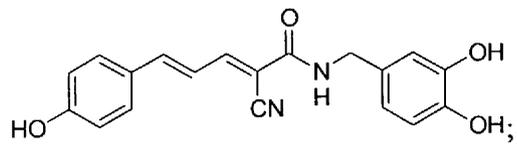
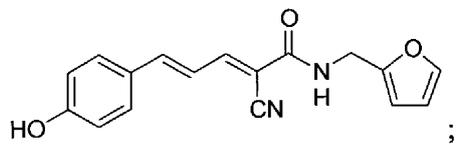
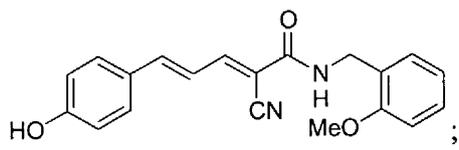
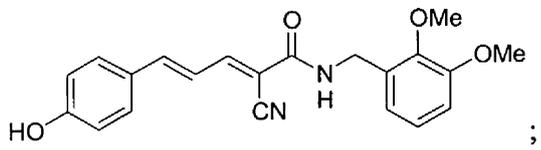
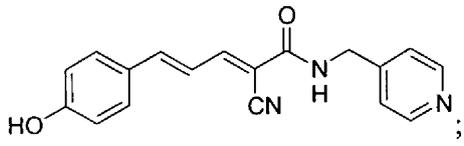
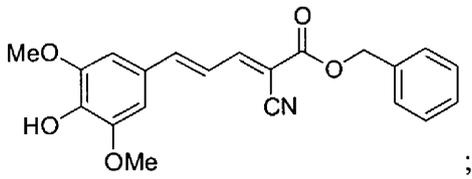


20



30



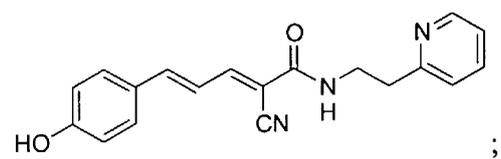
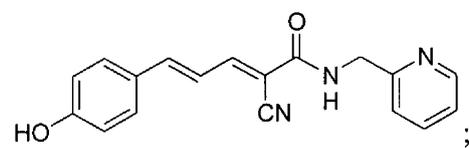
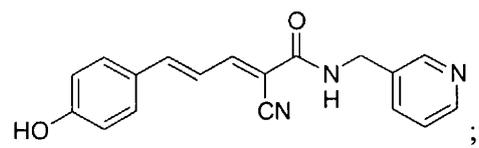
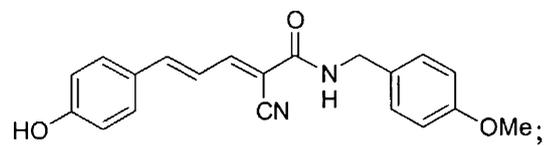
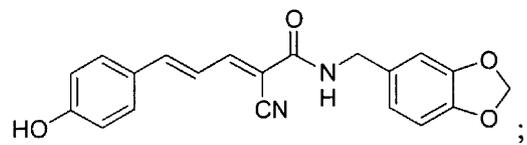
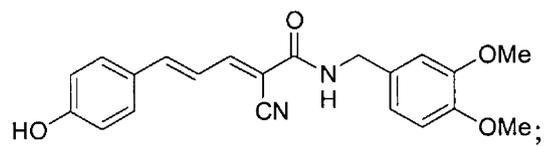
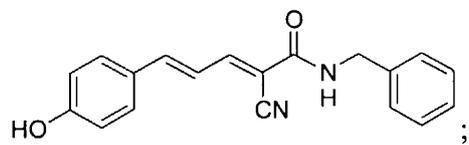
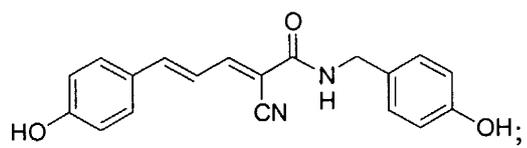
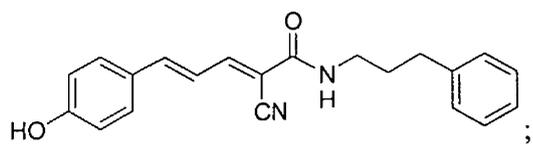


10

20

30

40

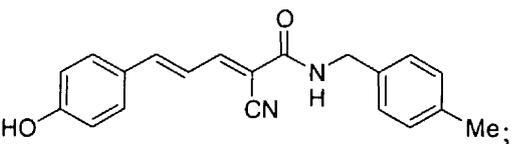
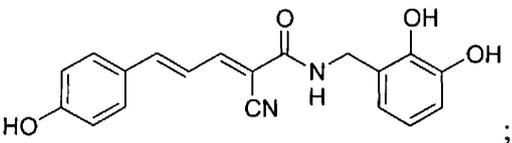
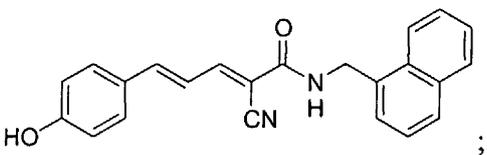
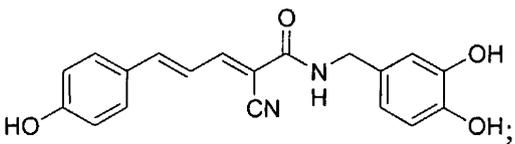
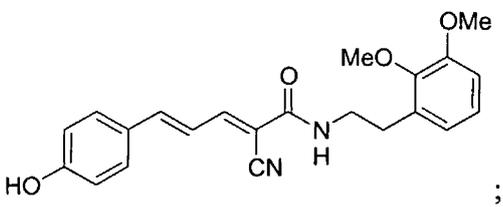
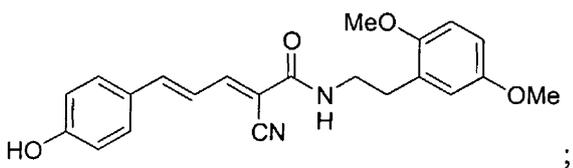
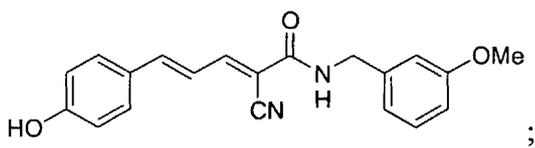
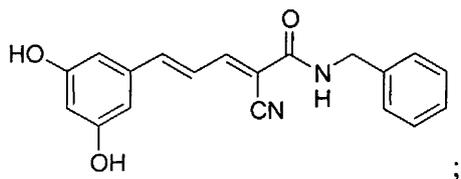
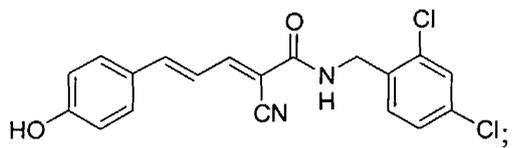


10

20

30

40

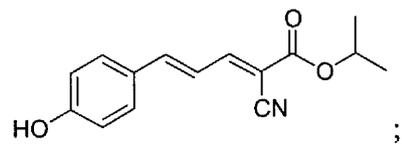
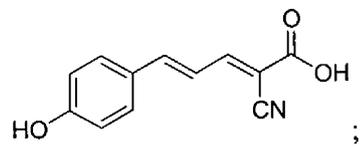
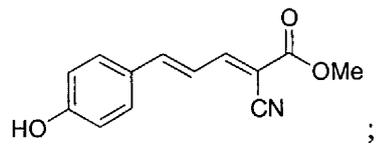
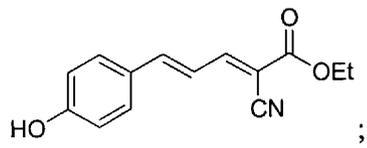
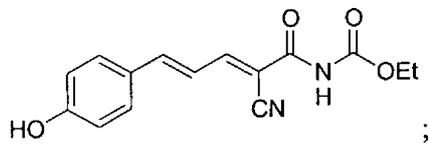
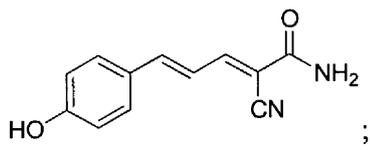
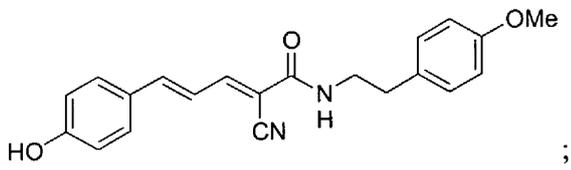
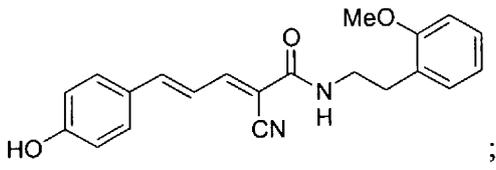
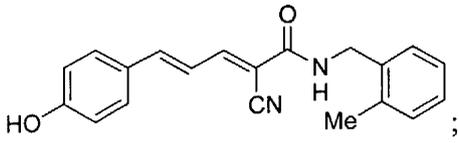


10

20

30

40

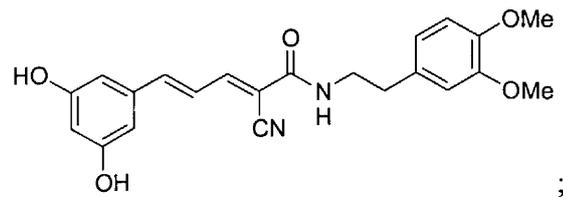
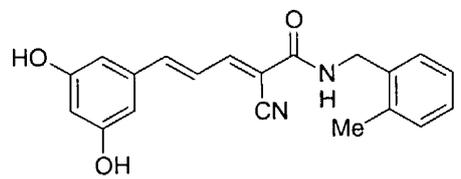
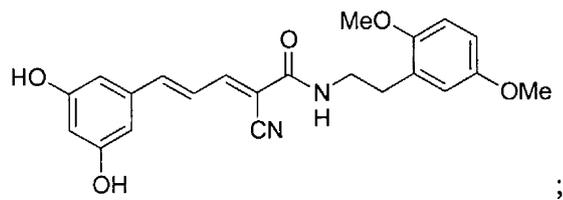
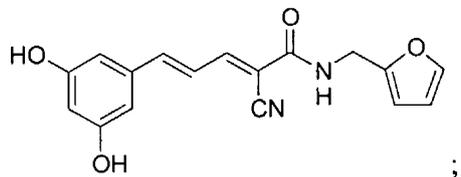
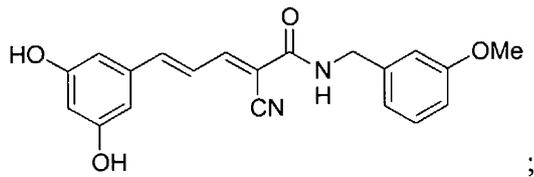
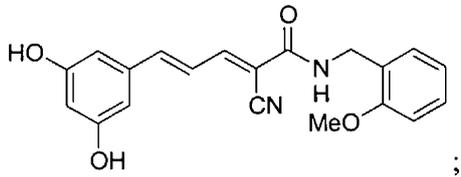
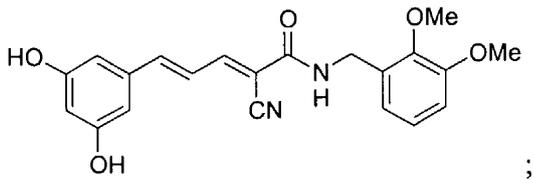
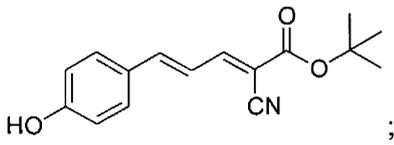


10

20

30

40

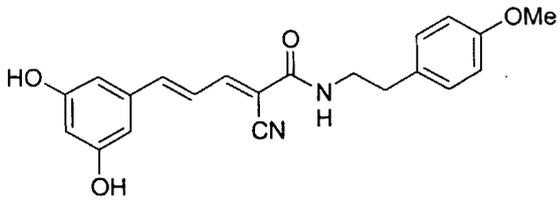


10

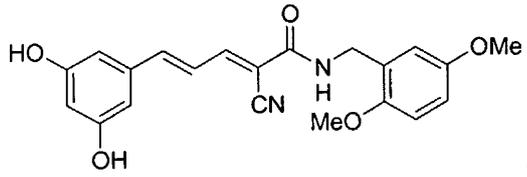
20

30

40

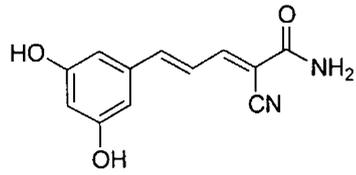


;

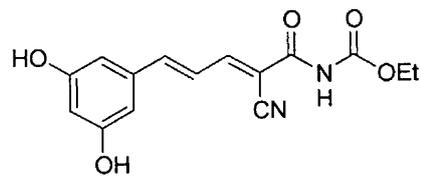


;

10

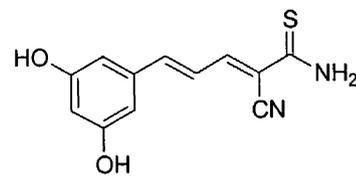


;

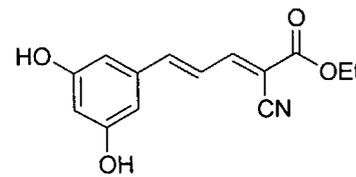


;

20

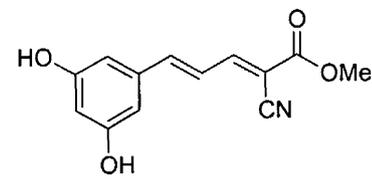


;

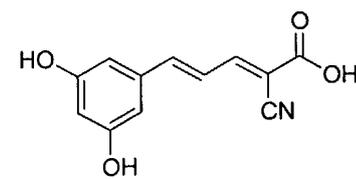


;

30

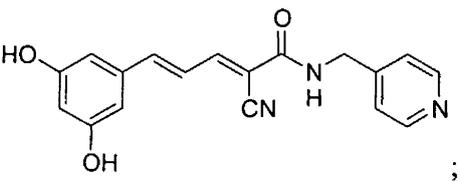
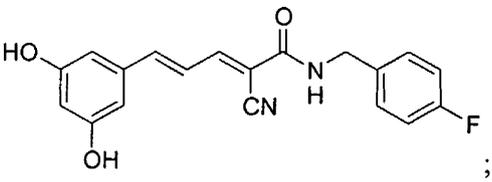
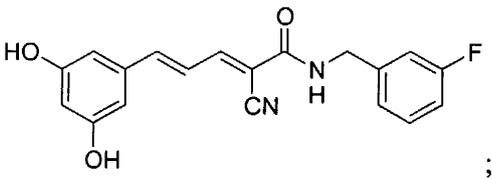
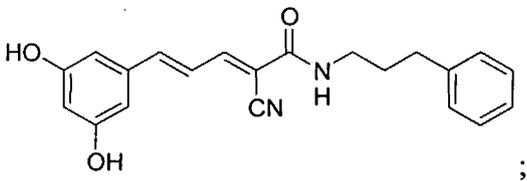
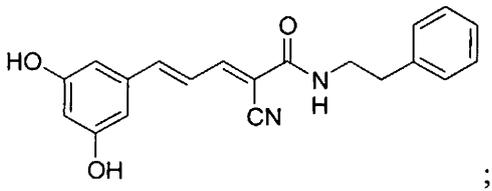
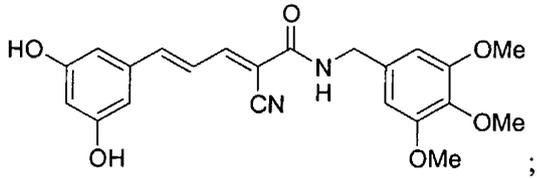
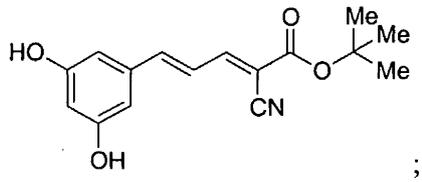
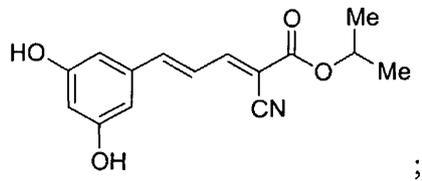


;



;

40

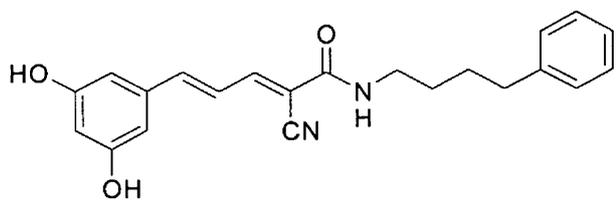


10

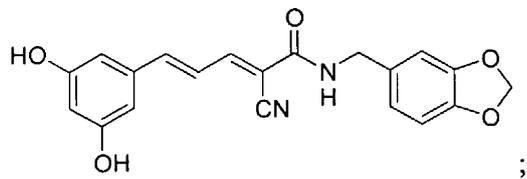
20

30

40

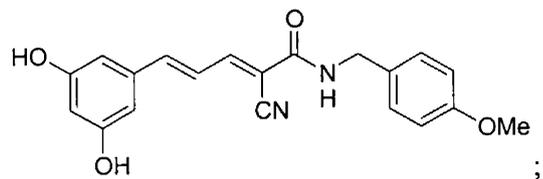


;

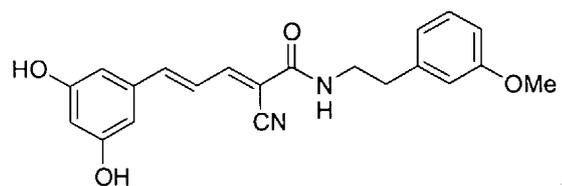


;

10

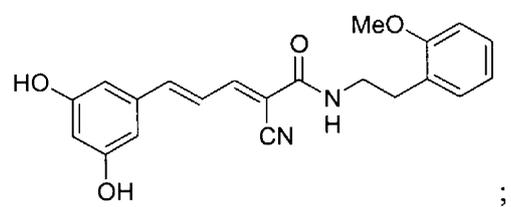


;

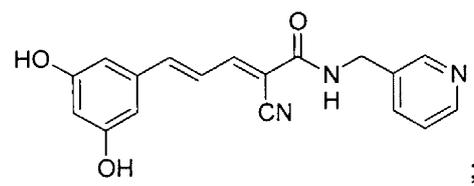


;

20

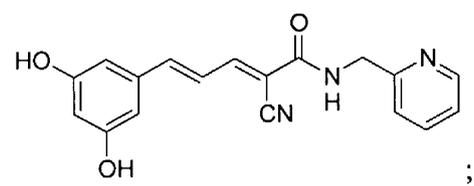


;

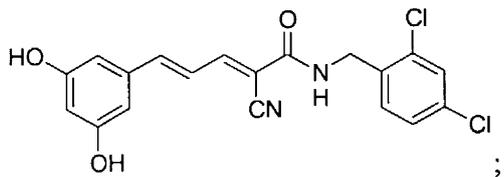
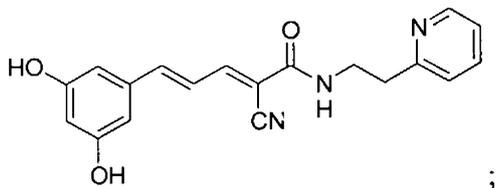


;

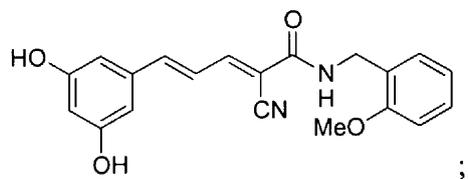
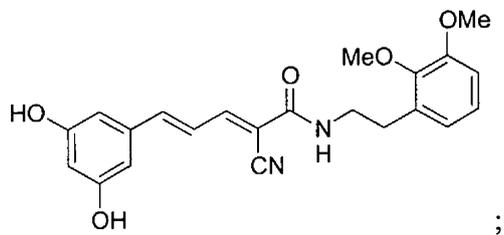
30



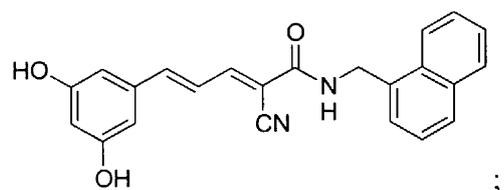
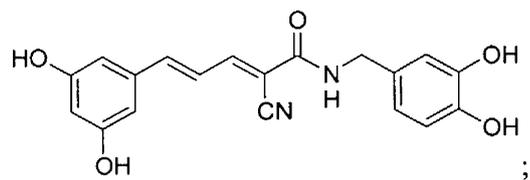
;



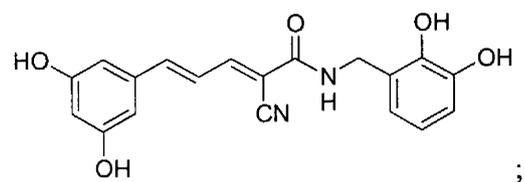
10



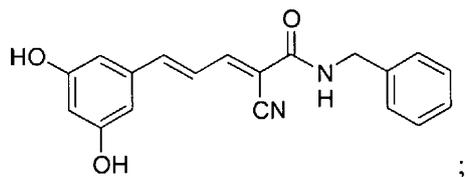
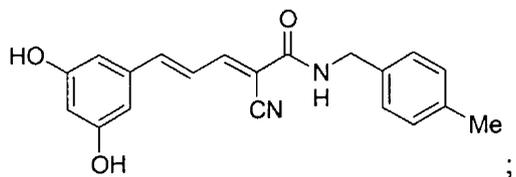
20



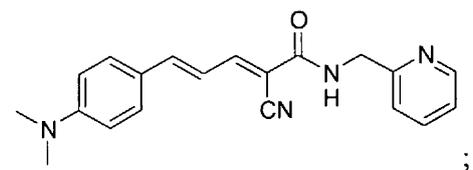
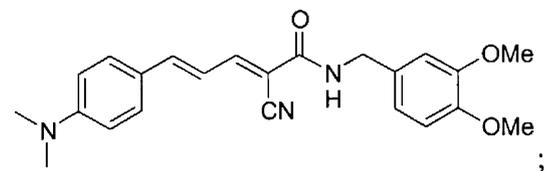
30



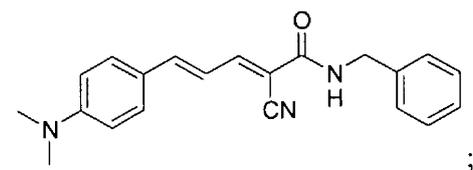
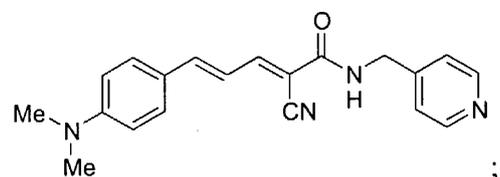
40



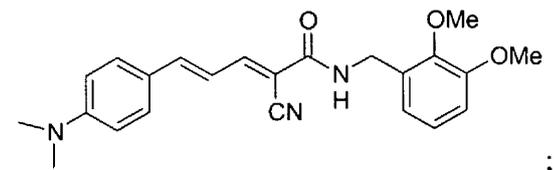
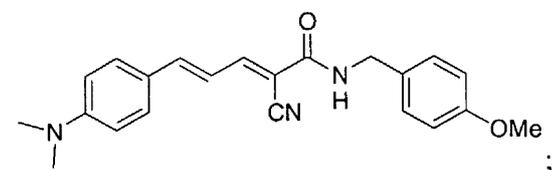
10



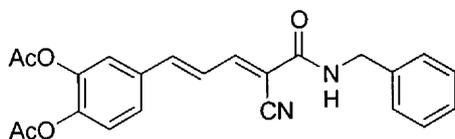
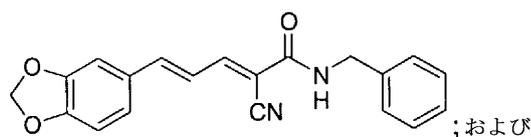
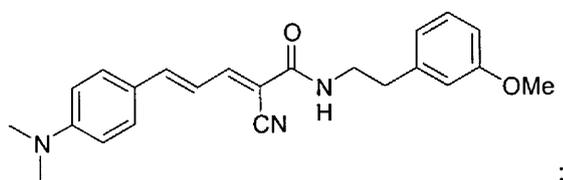
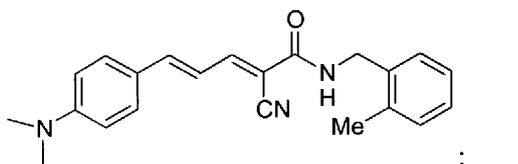
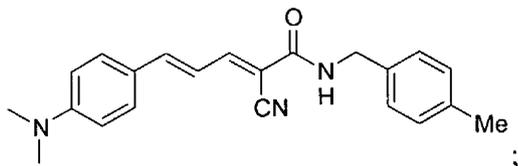
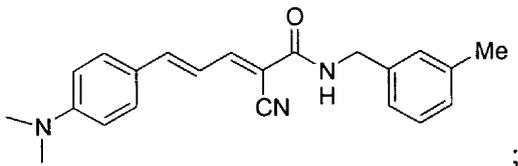
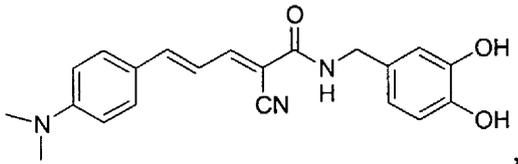
20



30



40



10

20

30

【0061】

本発明は、その範囲内に、本発明の化合物のプロドラッグを含む。一般に、このようなプロドラッグは、インビボにおいて、それが概念的に由来するような化合物へ容易に転化される本発明の化合物の機能的誘導体であると考えられる。適当なプロドラッグの選択および調製の通常の方法は、例えば、H. Bundgaard編、Elsevier社、1985年の「プロドラッグデザイン(Design of Prodrugs)」に記されている。

40

【0062】

本発明の化合物の一部は、少なくとも1個の不斉中心を有することができる。本発明の化合物が1個の不斉中心を有する場合、これは鏡像異性体として存在し得る。本発明の化合物が2個以上の不斉中心を有する場合、これらは追加的にジアステレオマーとして存在し得る。全てのこのような異性体およびそれらのあらゆる割合の混合物は、本発明の範囲内に包含されていることは理解されるべきである。

50

【0063】

本発明は、本発明の化合物の放射標識された形態、例えば、構造³Hもしくは¹⁴C、または¹²⁵Iのような放射性ハロゲン内に組込まれることにより標識された本発明の化合物を含む。

【0064】

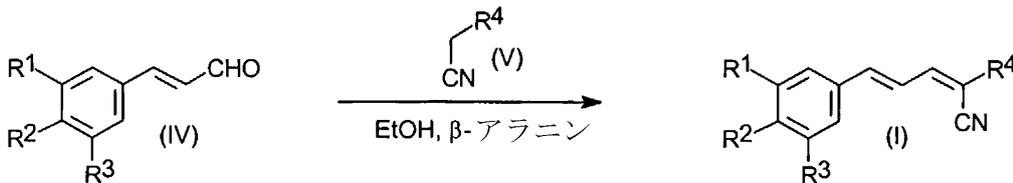
本発明の化合物は、例えば、活性化されたシナミル化合物および活性化されたシアノ置換のメチレン化合物から誘導することができる。従って当業者は、シナミル部分を基にして本発明の化合物に一般名を提供することもできる。しかし、例えばスチリルアクリロニトリルのような、生成されたアクリロニトリル部分を基にした一般命名法が、より適していると思われる。

【0065】

III. 本発明の化合物の調製法

本発明の別の局面に従い、本発明の化合物は、当技術分野において確立された工程に類似した工程により調製することができる。従って、本発明の化合物は、スキーム1に示された反応シーケンスにより調製され得る：

スキーム1



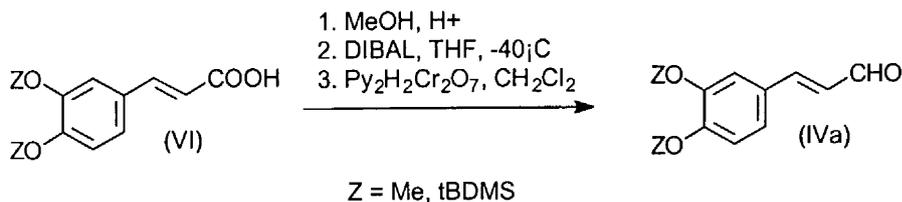
【0066】

本発明の実施において有用な一般式I、IIおよび/またはIIIの化合物は、シナムアルデヒドまたはその様々なアリール置換のホモログ(IV)のような、 α -不飽和アルデヒドと、活性 β -メチレン基を有する化合物(V)とのクネフェナーゲル縮合により調製することができる。活性 β -メチレン基成分としてイリデンマロノニトリル(ylidene malononitrile)を使用する同様のクネフェナーゲル縮合は、総説に記載された(F. Freeman, Chem. Rev., 80:329-350(1980))。例えば、これらの縮合は、 β -アラニンのような弱塩基の触媒量の存在下で、エタノールのような極性溶媒中で実施することができる。反応温度は20~100

【0067】

式IVおよび/またはVの化合物は、シナムシナムアルデヒド、およびその3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ誘導体などが市販されている。他の式IVおよび/またはVの化合物は、簡潔な手法を用い調製することができる。例えば、様々なR¹、R²、R³-ヒドロキシ置換のシナムアルデヒドを、対応する市販のアリール置換されたケイ皮酸から調製することができる。スキーム2は、3,4-ジヒドロキシケイ皮酸(VI)から出発する、保護された3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド(IVa)の調製の例を示す。反応シーケンスの最後に、保護基はを、当業者に周知の常法を用いて除去することができる。

スキーム2



【0068】

R¹、R²、R³置換基は、例えば公知のニトロ基からアミノ基への還元、およびジアルキルアミノ基への更なる転換により、または公知のヒドロキシ基のハロゲン基への変換により、1個の官能基から別の官能基へ変換することもできる。

10

20

30

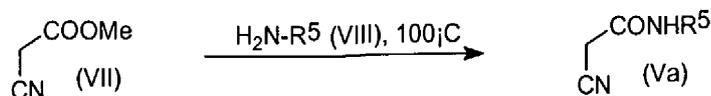
40

50

【0069】

反応性メチレン基 (Va) を伴う α -シアノアミドは、例えば、A. Gazitらの論文 (J. Med. Chem., 34:1896-1907(1991)) に記されたように得ることができる。例えば、シアノ酢酸メチル (VII) および適当な市販のアミン (VIII) の最高100 までの溶媒の非存在下での12~15時間の加熱、それに続く混合物からの直接真空蒸留 (例えばKugelrohr装置の使用) により、所望の生成物を得ることができる (スキーム3)。

スキーム3



10

【0070】

場合によっては、先に概説した化学は、置換基として結合した反応基などの反応基に起因した副反応を妨げるために、例えば保護基を用いることにより、変更することができる。これは、通常保護基により実現することができ、例えば「有機化学における保護基 (Protective Groups in Organic Chemistry)」、McOmie, J.F.W. 編、Plenum Press社、1973年、ならびにGreene, T.W. およびWuts, P.G.M. の「有機合成における保護基 (Protective Groups in Organic Synthesis)」、John Wiley & Sons社、1991年に記されている。

【0071】

所望の化合物塩の生成は、常法を用いて実現される。例えば、中性化合物は、適当な溶媒中において酸または塩基で処理され、かつ生成された塩は、濾過、抽出またはいずれか他の適当な方法により単離される。

20

【0072】

本発明の化合物の溶媒和物の生成は、化合物および溶媒和物に応じて変動すると思われる。一般に、溶媒和物は、化合物を適当な溶媒中に溶解し、かつ溶媒和物を冷却または反溶剤を用い、単離することにより生成される。この溶媒は、典型的には周囲条件下で乾燥または共沸される。

【0073】

本発明の化合物のプロドラッグは、利用可能なヒドロキシ、アミノ、またはカルボキシ基を伴い形成された通常のエステルでありうる。例えば、式I、IIおよび/またはIIIの化合物において R^1 、 R^2 、 R^3 がOHである場合、これは、塩基の存在下、および任意に不活性溶媒 (例えば、ピリジン) を溶媒とする酸クロリド中で活性化された酸を用いてアシル化することができる。プロドラッグとして使用されるいくつかの共通のエステルは、フェニルエステル、脂肪族 (C_8 - C_{24}) エステル、アシルオキシメチルエステル、カルバミン酸エステルおよびアミノ酸エステルである。

30

【0074】

本発明の放射性化合物は、当技術分野において公知の常法を用いて調製することができる。例えばトリチウムは、常法を用い、例えばトリチウムガスおよび触媒を使用する本発明の化合物への適当な前駆体の水素添加により、本発明の化合物へ組込むことができる。あるいは、放射性ヨウ素を有する本発明の化合物は、ジメチルホルムアミドのような適当な溶媒中のクロラミンTの存在下の $[^{125}\text{I}]$ ヨウ化ナトリウムのような標準のヨウ素化条件を用い、対応するトリアルキルスズ (トリメチルスズが適している) 誘導体から調製することができる。トリアルキルスズ化合物は、対応する非放射性ハロゲン化合物、適当にはヨウ素化合物から、標準のパラジウム触媒されたスタンニル化条件を用い、例えばジオキサンのような不活性溶媒中テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) の存在下でのヘキサメチルジスズを用い、高温、適当には50~100 で、調製することができる。

40

【0075】

IV. 用途

前述のように、本発明者らは、式I、IIおよびIIIの新規化合物を調製した。従って、本発明は、細胞増殖を調節するための治療的方法および組成物におけるそれらの使用、診断

50

アッセイ法におけるそれらの使用、ならびに研究ツールとしてのそれらの使用を含む、本発明の化合物のあらゆる用途を含む。

【0076】

ある局面において、本発明は、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物に投与することを含む細胞増殖を調節する方法を提供する。好ましくは、本発明は、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物に投与することを含む、細胞増殖を阻害する方法を提供する。特に本発明の方法は、異常細胞の増殖は阻害するが、正常細胞の増殖は阻害しないことにおいて有用である。異常細胞は、疾患または状態の原因となるまたはそれに関連するようなあらゆる種類の細胞を含み、これは、この疾患または状態を治療するために、異常細胞の増殖を調節または阻害することが望ましい。異常細胞の例は、悪性または癌性の細胞に加え、炎症状態において過剰増殖した細胞を含む。

10

【0077】

本発明の化合物の一部は、癌細胞の殺傷において非常に有効であると同時に、正常細胞は殺傷しないことが決定されている。これらの特性は、本発明の化合物を極めて有用な抗癌剤としている。従ってある態様において、本発明は、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物に投与することを含む、癌細胞の増殖を阻害する方法を提供する。

【0078】

本発明の化合物で治療され得る癌細胞は、白血病、リンパ腫、および骨髄腫を含む造血系の悪性腫瘍に加え、肉腫、癌腫、黒色腫、腺腫、神経系の癌および尿生殖器の癌を含む他の種類の癌であるあらゆる種類の癌であることができるが、これらに限定されるものではない。白血病の例は、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、急性骨髄球性白血病(AML)、急性骨髄単球性白血病(AMML)、慢性骨髄性白血病(CML)、慢性リンパ球性白血病(CLL)および若年性骨髄単球性白血病(JMML)である。本発明の化合物で治療されるALL型は、bcr-abl融合タンパク質を発現している細胞、例えばフィラデルフィア陽性ALL細胞、更にはフィラデルフィア陰性ALL細胞を含む。リンパ腫の例は、B細胞バーキットリンパ腫、ホジキンリンパ腫、Ki-1陽性退形成巨細胞リンパ腫を含む非ホジキンリンパ腫、T細胞リンパ腫、および組織球性リンパ腫のような希なリンパ腫を含む。骨髄腫の例は、多発性骨髄腫である。

20

【0079】

特定の態様において、本発明は、以下の化合物群から選択された化合物を有効量投与する段階を含む、癌細胞の増殖を阻害する方法を提供する：

30

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル(CR1)；

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル(CR2)；

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR3)；

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR4)；

(E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル(CR5)；

40

(E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR8)；

(E,E)-2-(フェニルプロピルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR9)；

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR11)；

(E,E)-2-チオアセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR12)；

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR13)；

50

(E,E)-2-カルボキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR14) ;

(E,E)-2-カルボメトキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR15) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシスチリル)]アクリロニトリル(CR16) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR17) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシスチリル)]アクリロニトリル(CR18) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル(CR19) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシスチリル)]アクリロニトリル(CR20) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR21) ;

(E,E)-2-(β -エタノールアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR24) ;

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル(CR27) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル(CR28) ; および

(E,E)-2-(1-アミノ-2,2-ジシアノエチル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル(CR29)。

【0080】

好ましい態様において、本発明は、以下の化合物群から選択された化合物を有効量投与する段階を含む、癌細胞の増殖を阻害する方法を提供する：

(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR4) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR11) ;

(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR17) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル(CR19) ;

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR21) ; および

(E,E)-2-(β -エタノールアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR24)。

【0081】

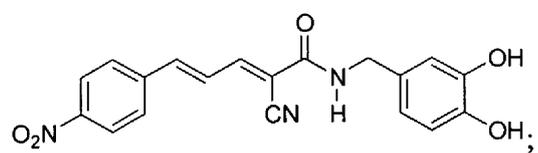
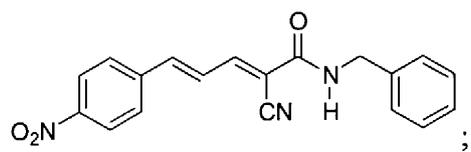
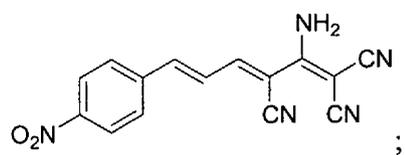
ある態様において、本発明は、以下の構造を有する化合物から選択された化合物を有効量投与する段階を含む、癌細胞の増殖を阻害する方法を提供する：

10

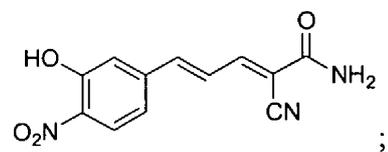
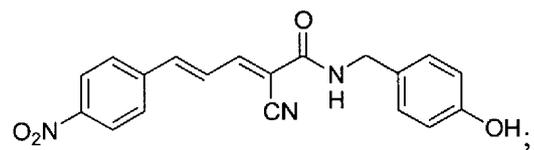
20

30

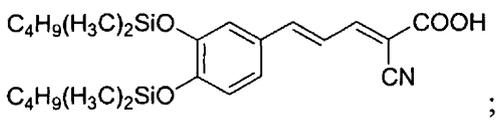
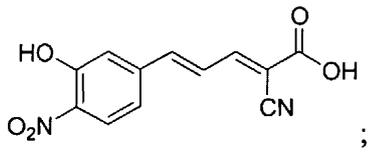
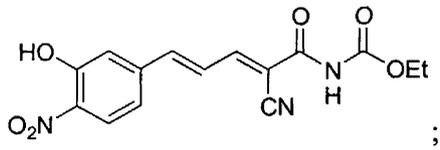
40



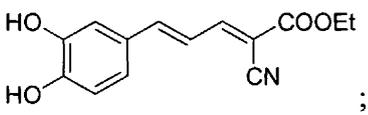
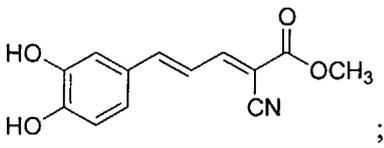
10



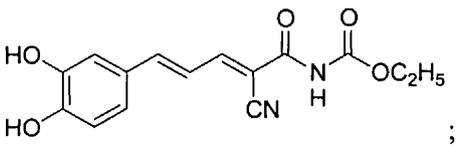
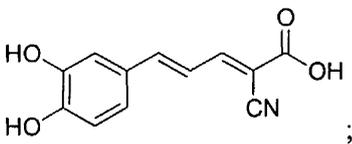
20



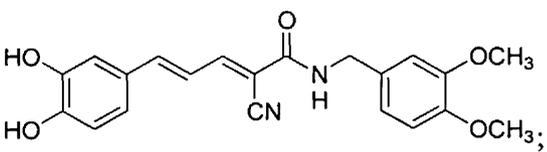
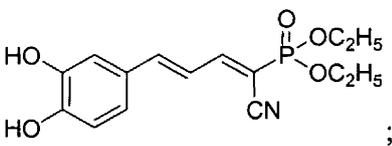
10

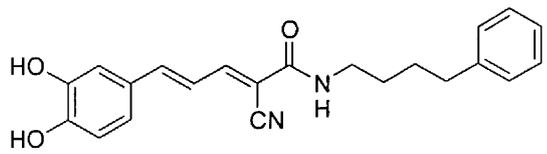
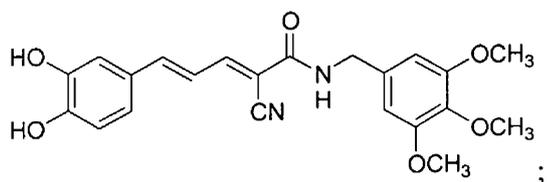


20

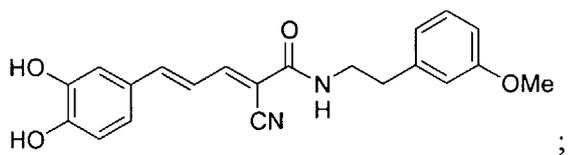
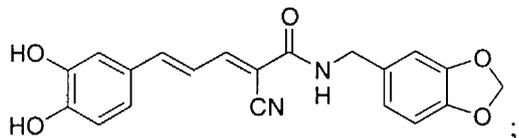


30

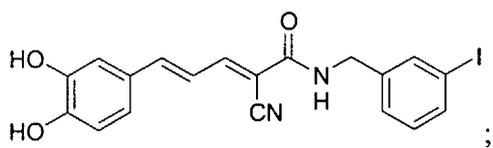
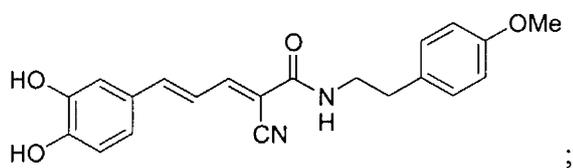




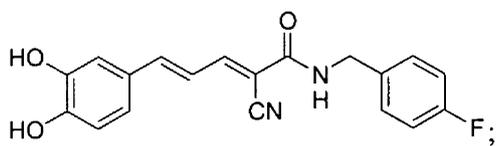
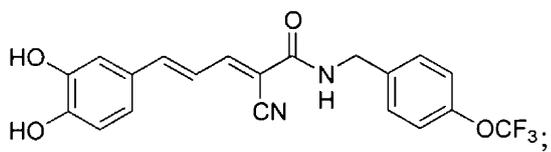
10



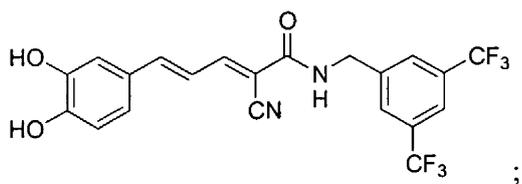
20

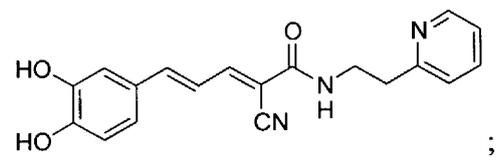
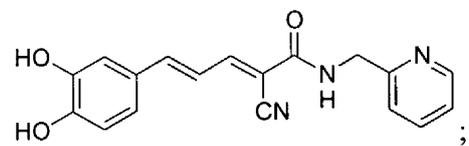
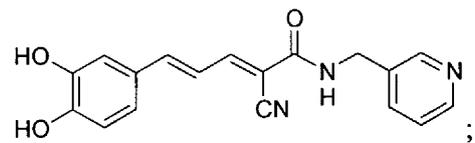
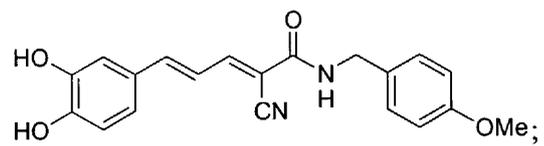
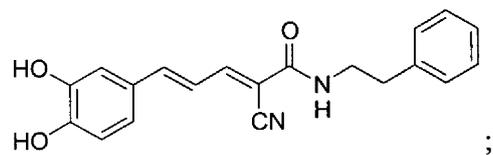
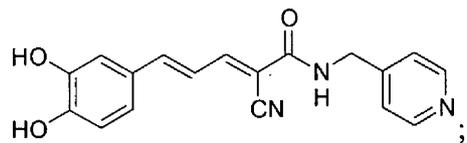
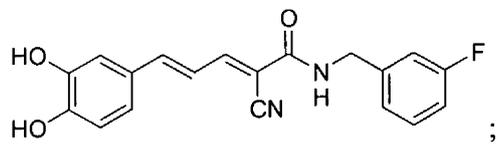
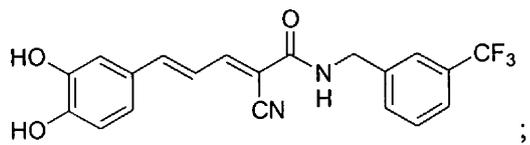
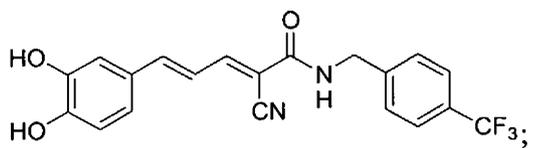


30



40



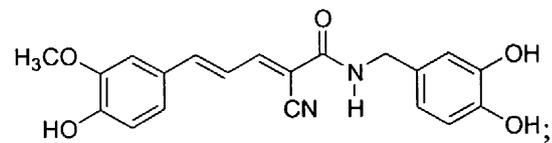
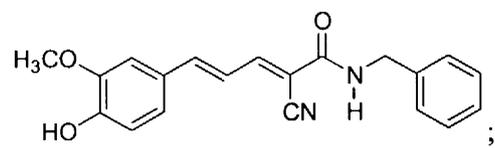
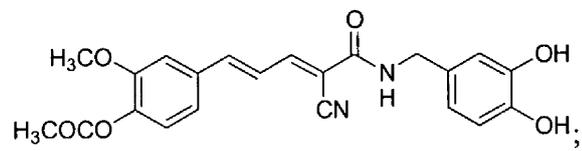
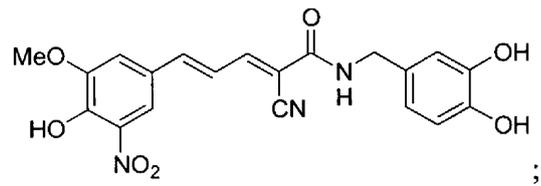
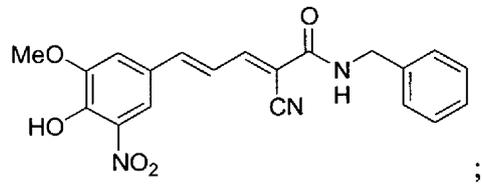
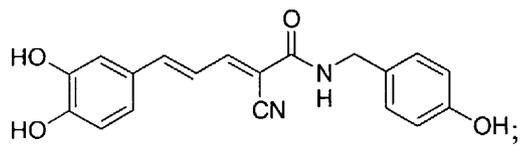
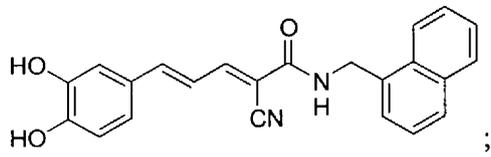
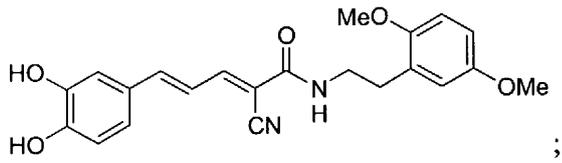
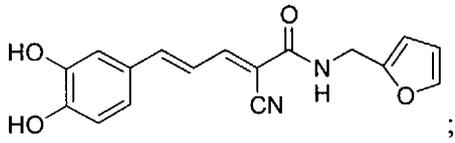


10

20

30

40

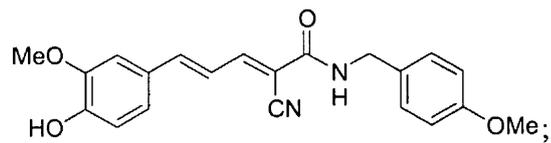
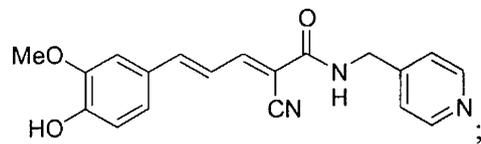
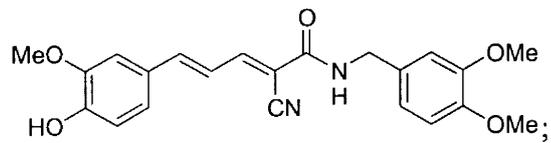
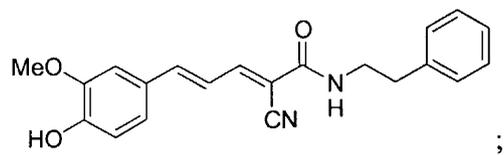
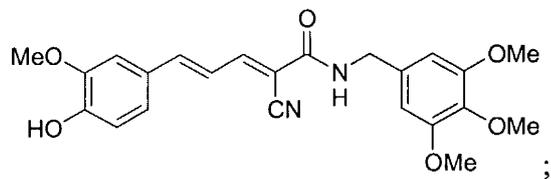
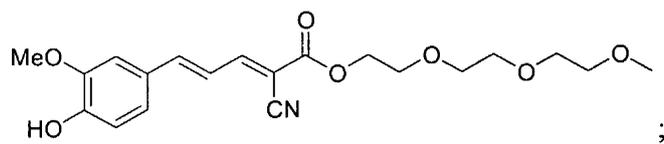
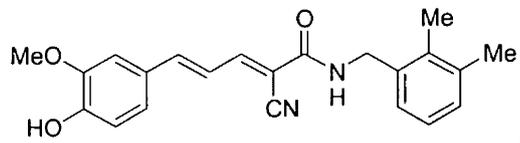
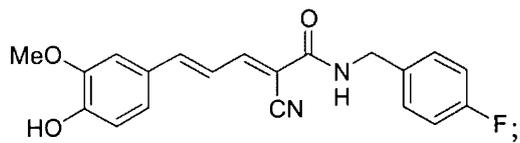
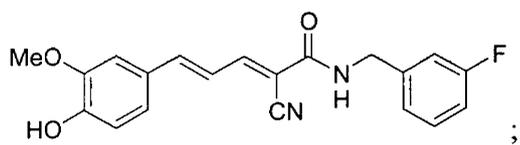


10

20

30

40

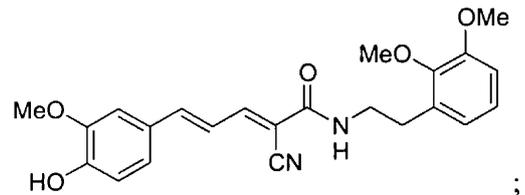
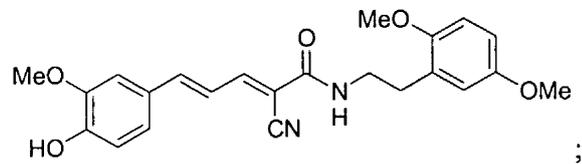
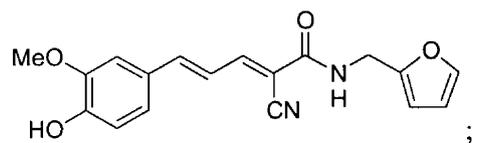
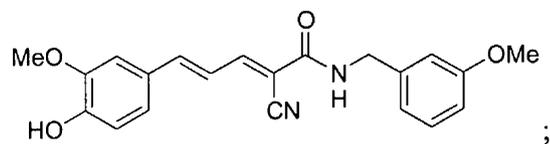
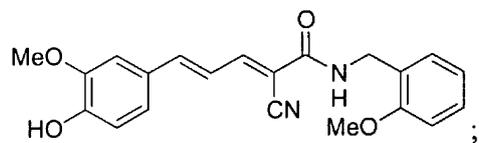
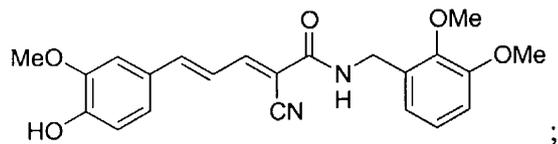
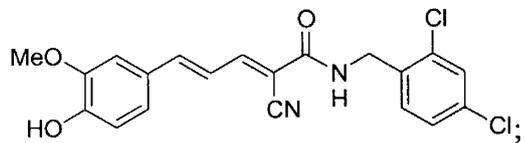
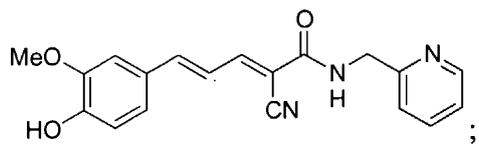
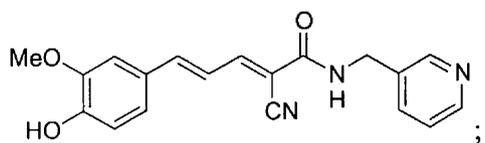


10

20

30

40

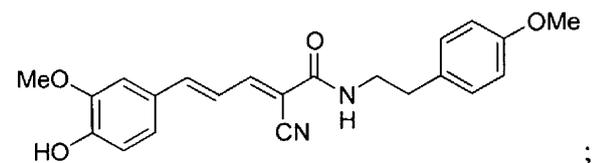
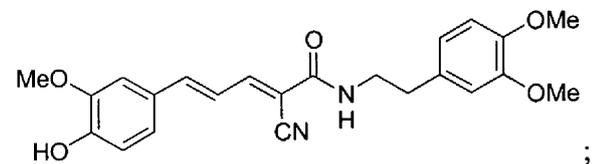
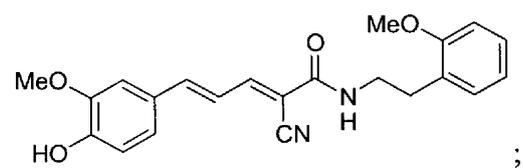
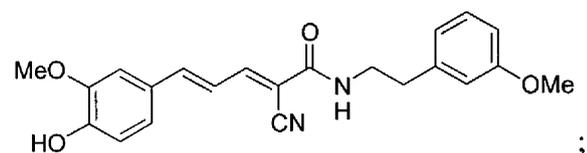
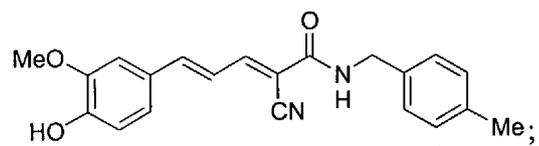
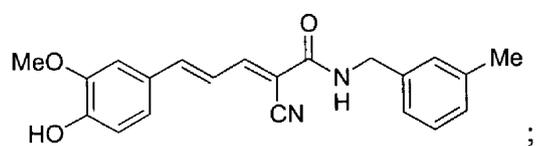
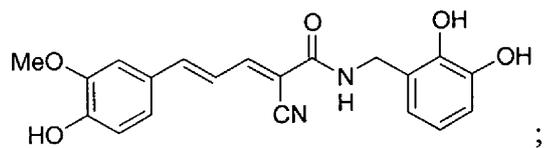
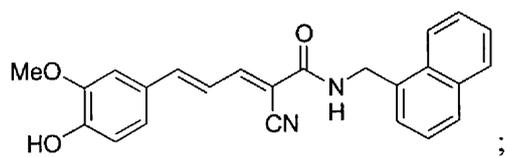


10

20

30

40

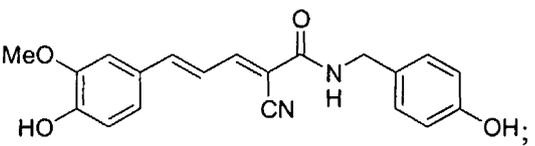
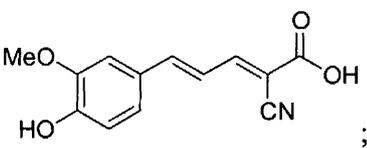
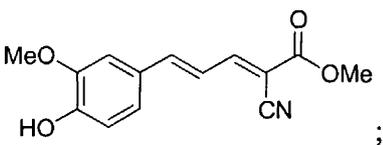
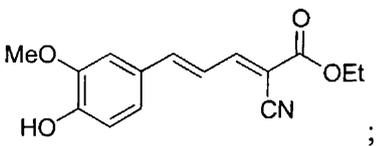
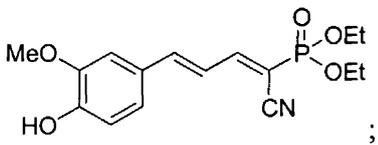
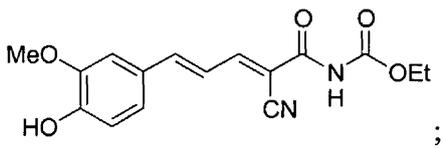
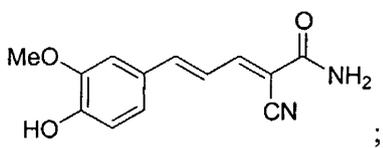
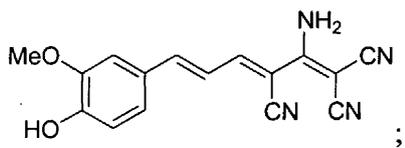
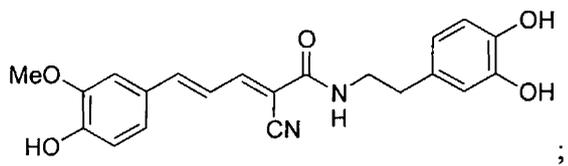


10

20

30

40

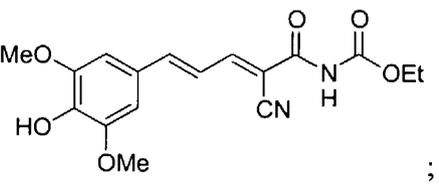
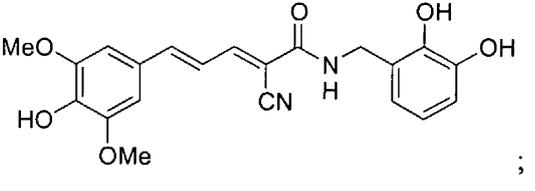
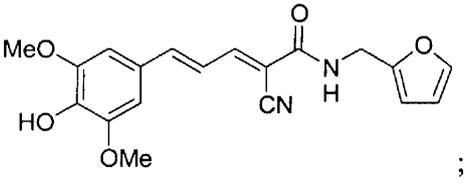
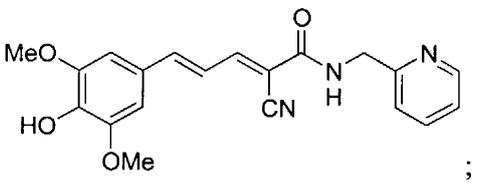
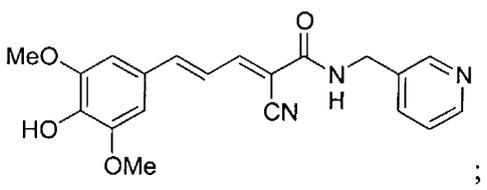
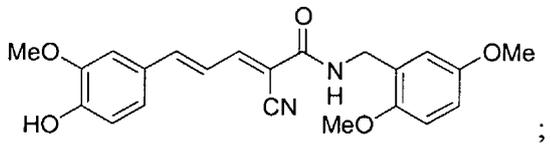
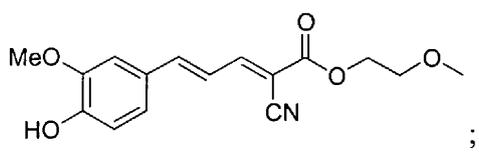
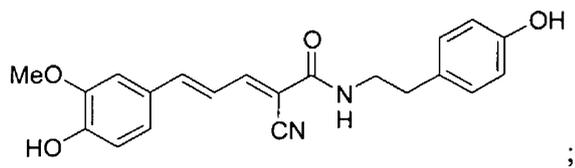


10

20

30

40

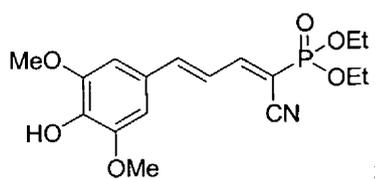


10

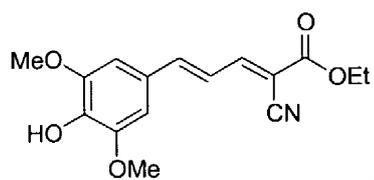
20

30

40

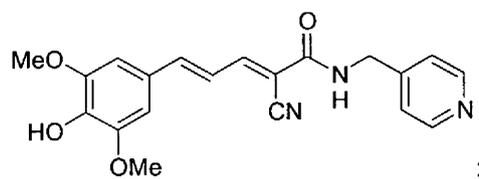


;

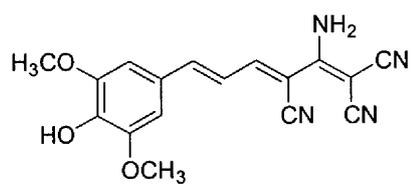


;

10

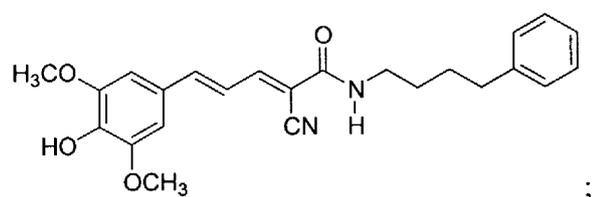


;

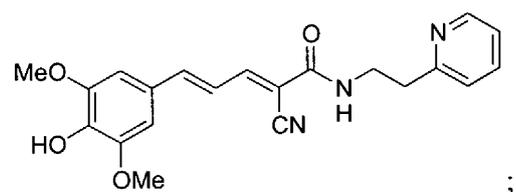


;

20

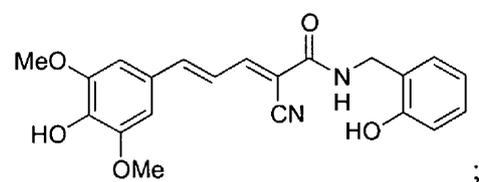


;



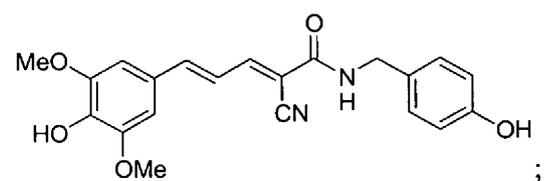
;

30

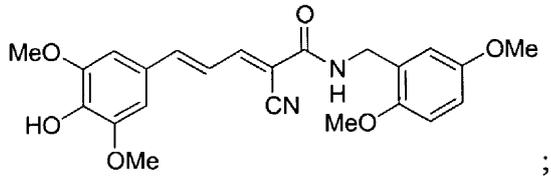
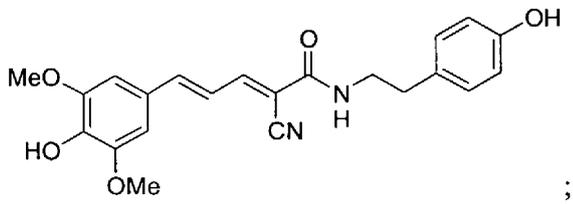


;

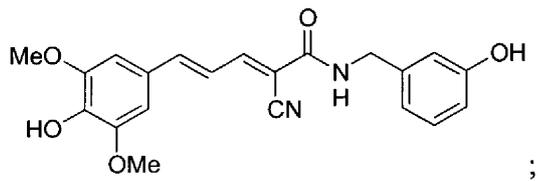
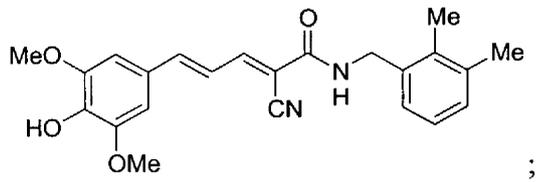
40



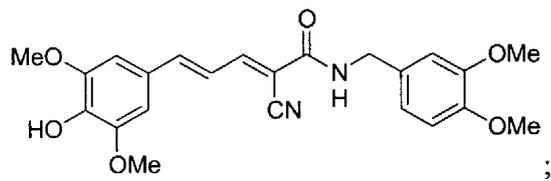
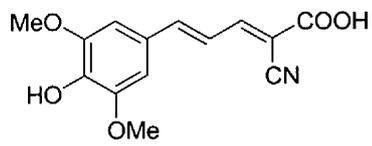
;



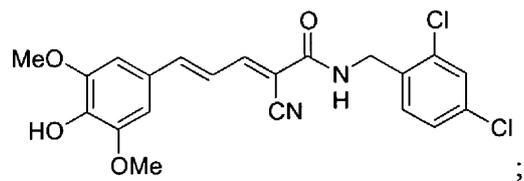
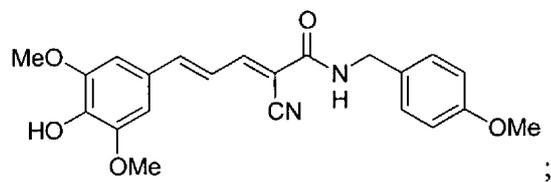
10



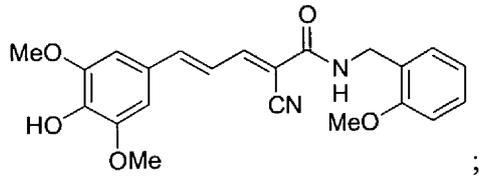
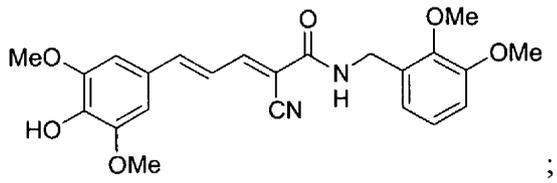
20



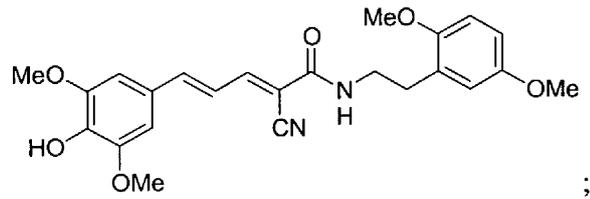
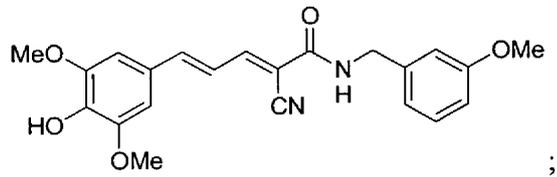
30



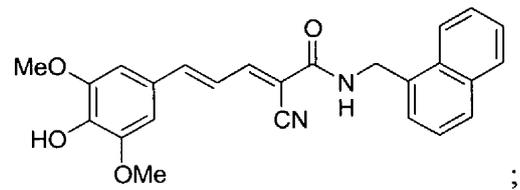
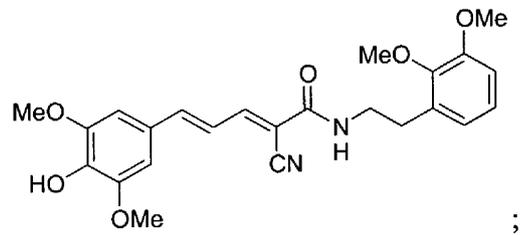
40



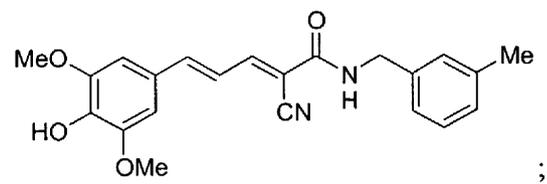
10



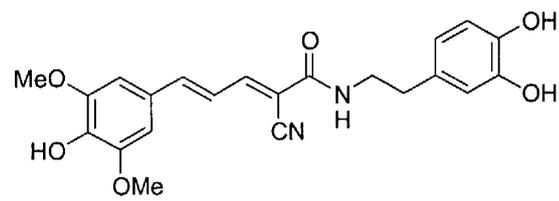
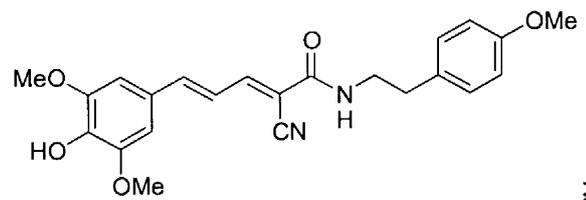
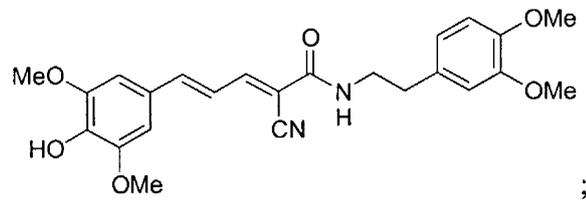
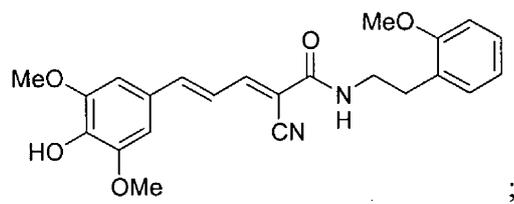
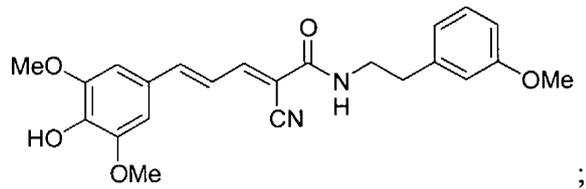
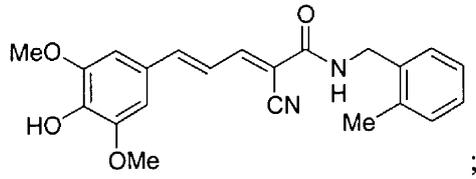
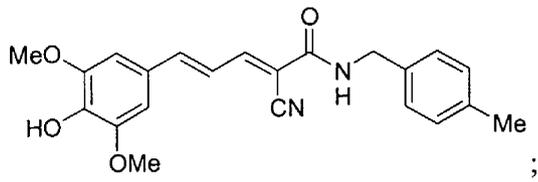
20



30



40

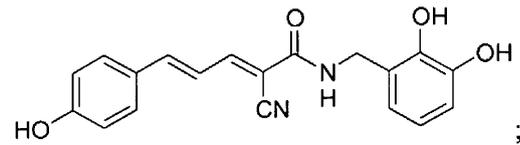
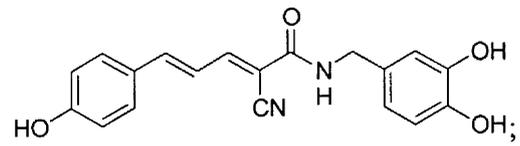
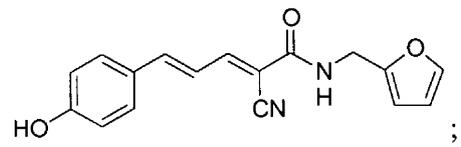
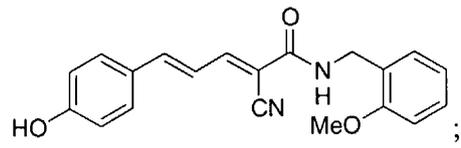
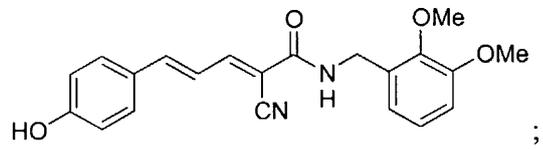
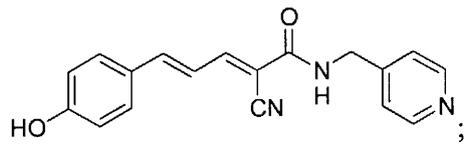
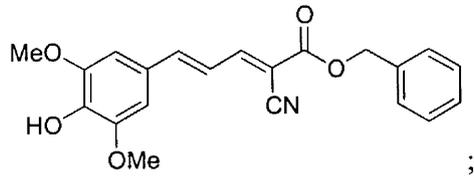
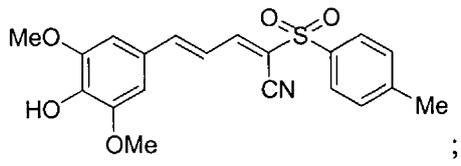
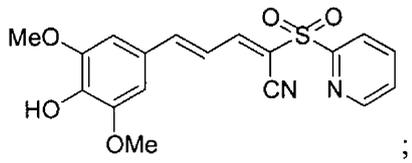


10

20

30

40

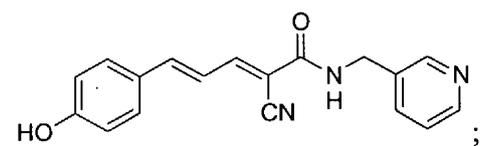
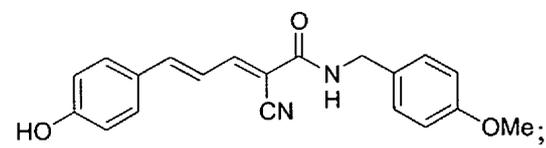
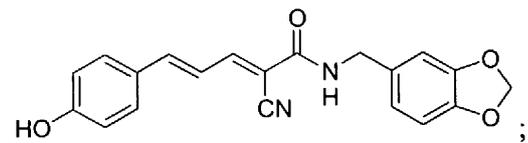
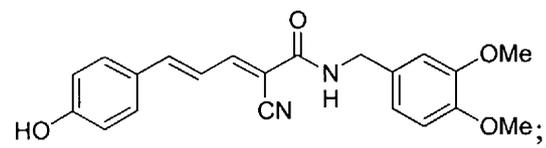
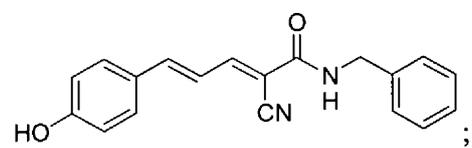
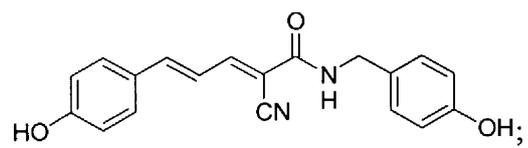
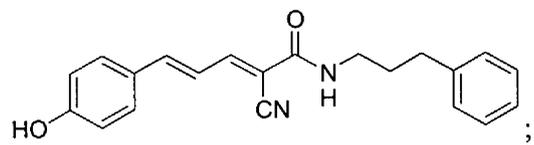
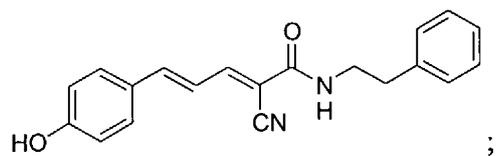
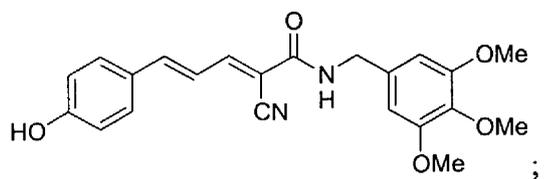


10

20

30

40

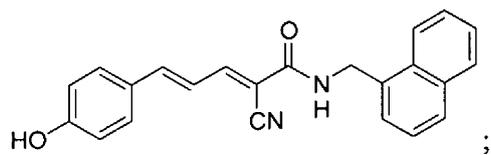
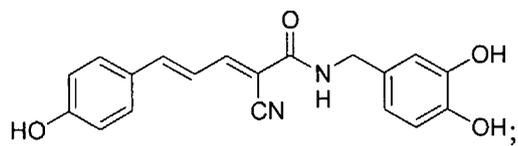
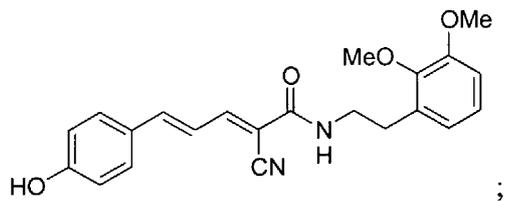
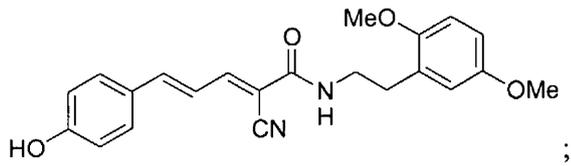
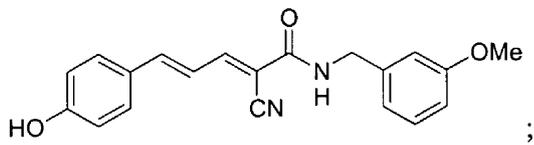
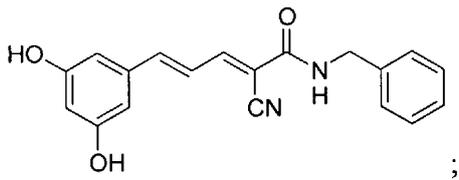
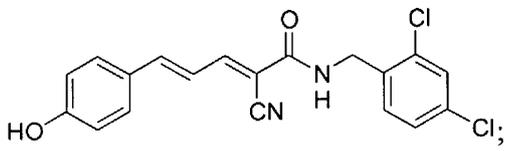
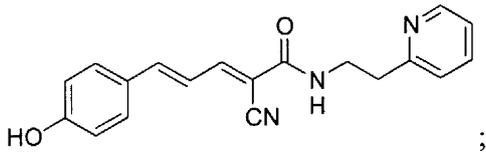
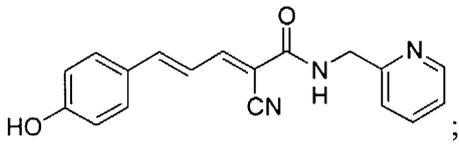


10

20

30

40

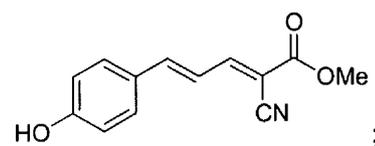
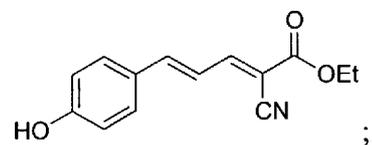
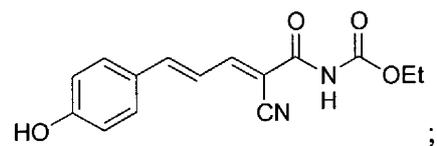
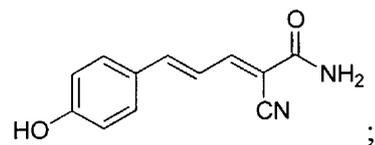
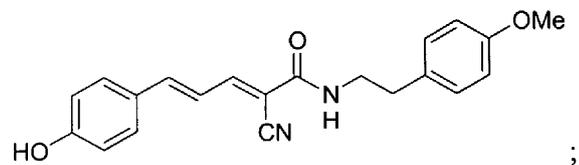
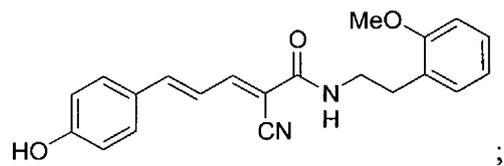
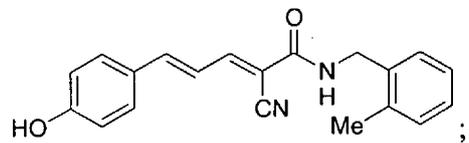
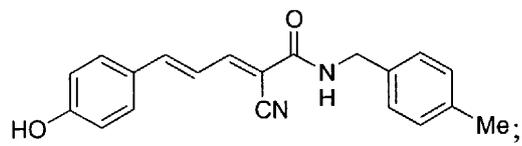
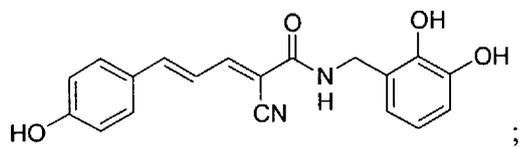


10

20

30

40

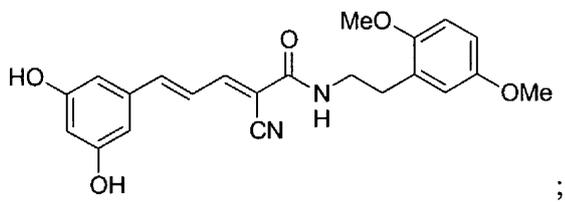
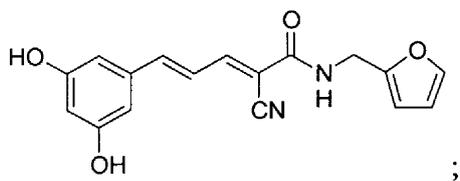
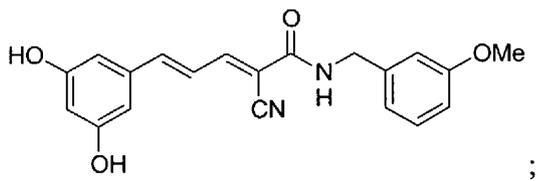
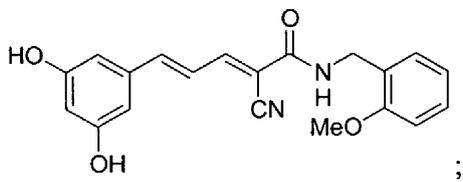
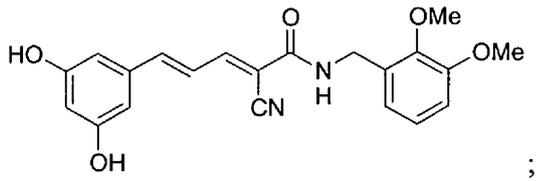
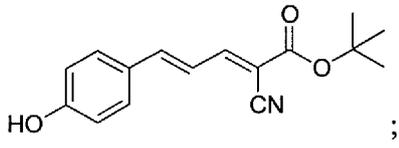
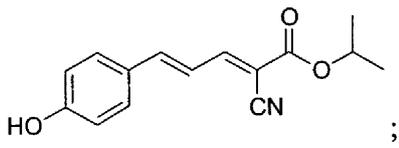
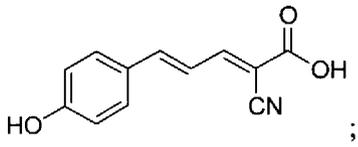


10

20

30

40

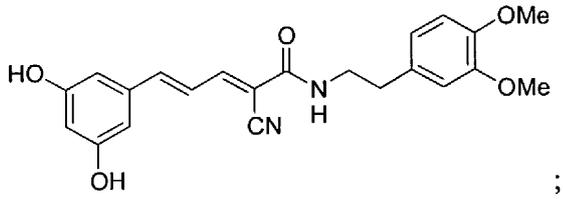
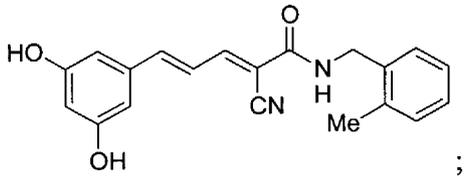


10

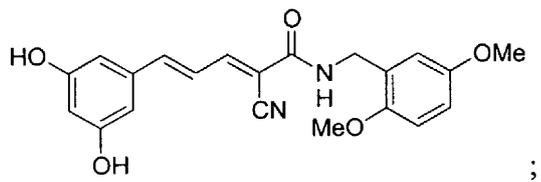
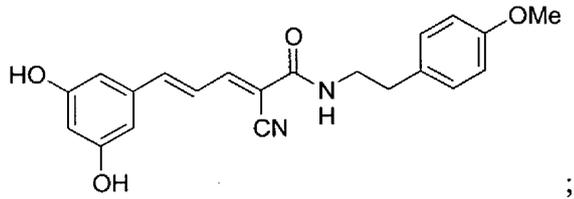
20

30

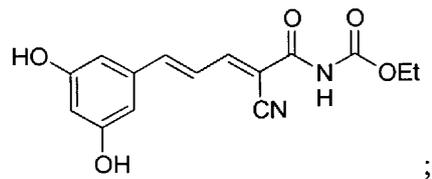
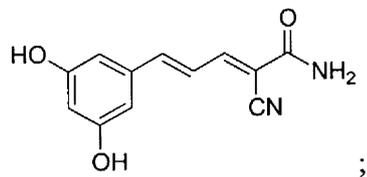
40



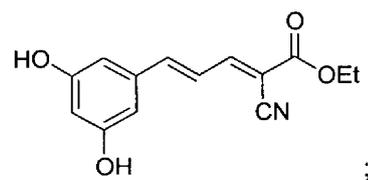
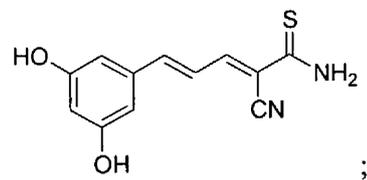
10



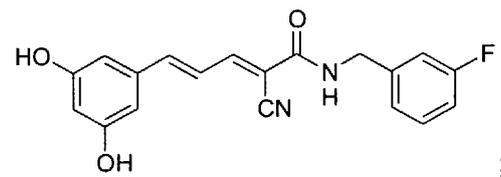
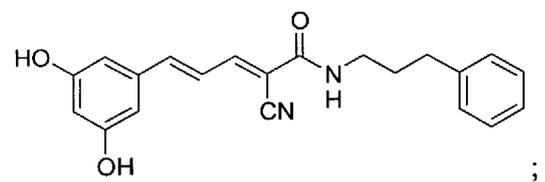
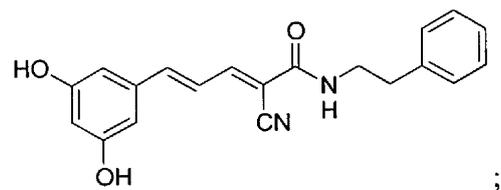
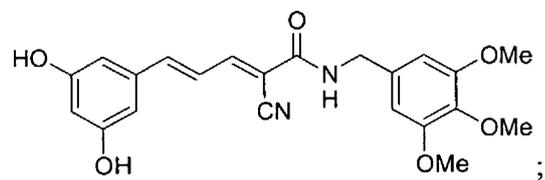
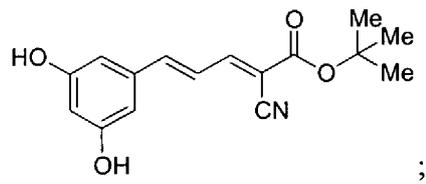
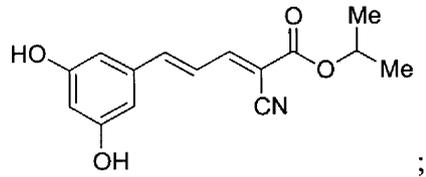
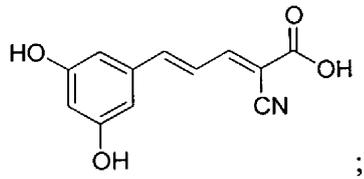
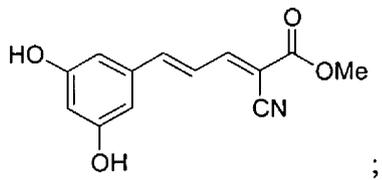
20



30



40

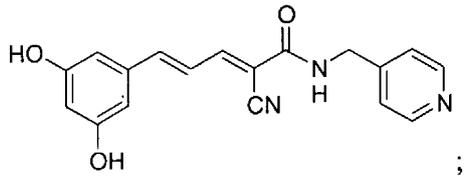
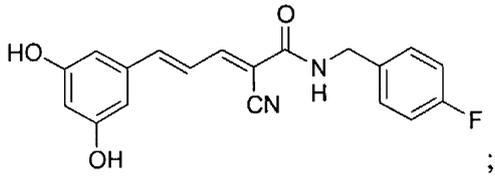


10

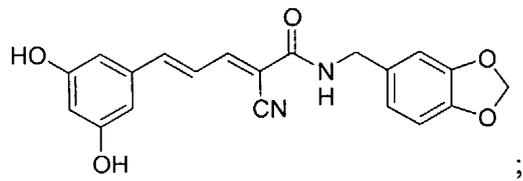
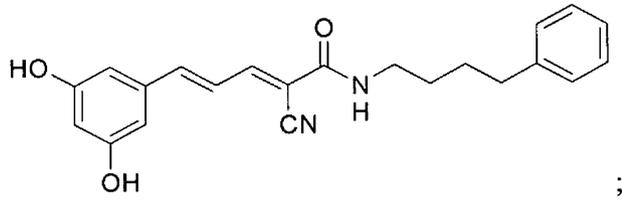
20

30

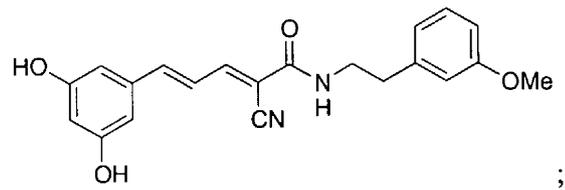
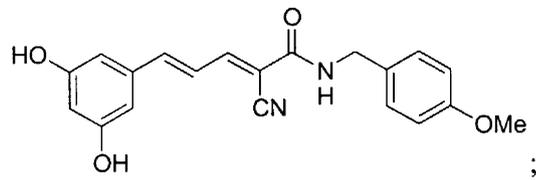
40



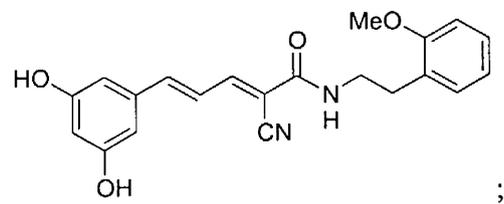
10

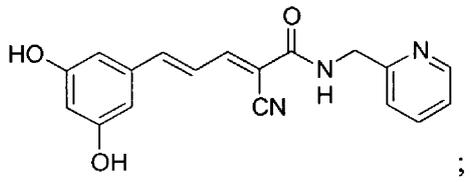
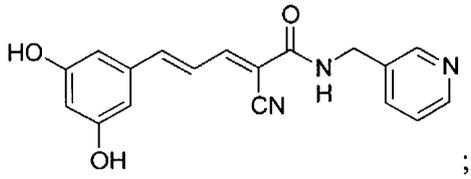


20

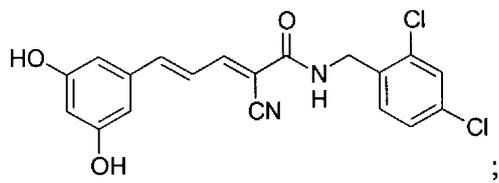
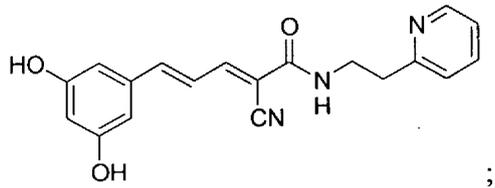


30

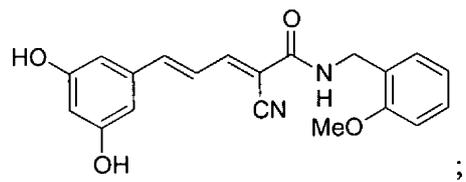
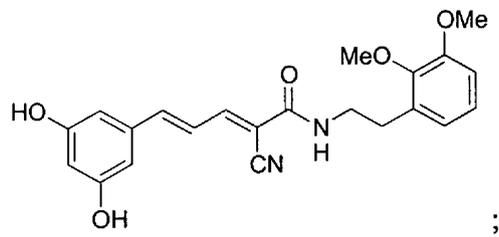




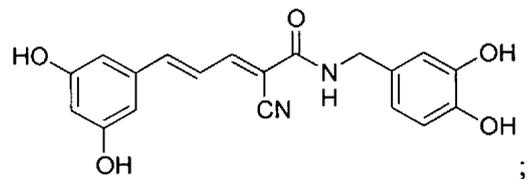
10

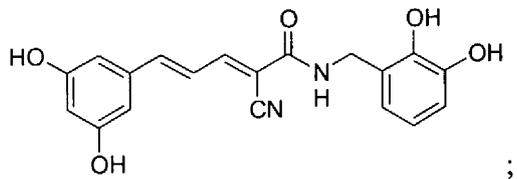
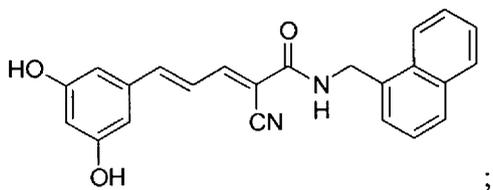


20

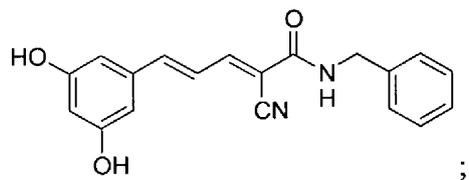
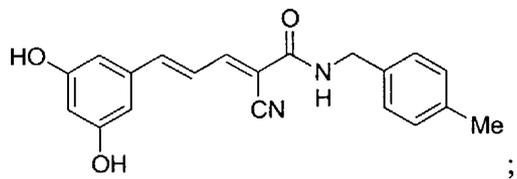


30

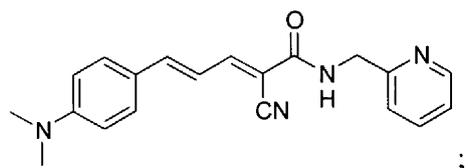
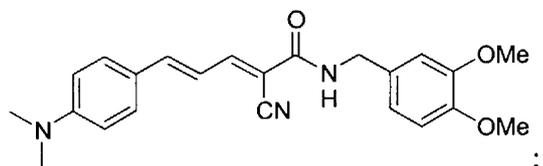




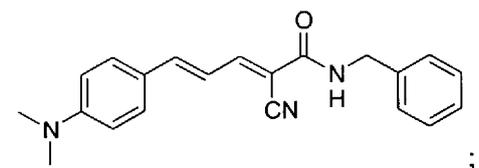
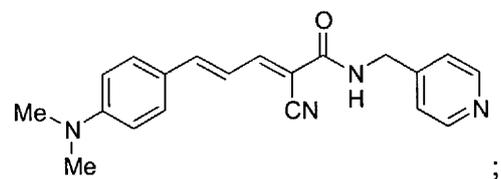
10



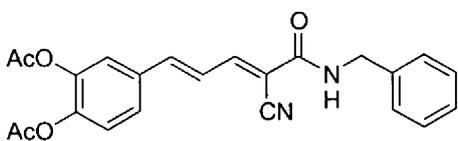
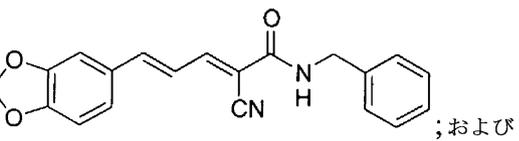
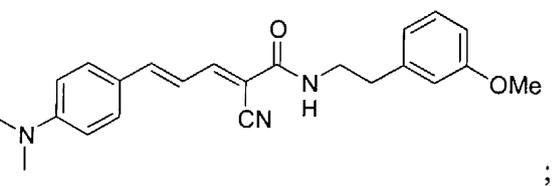
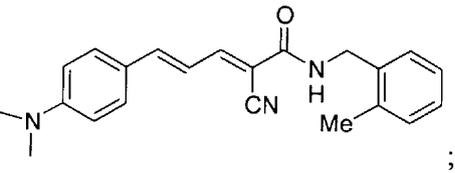
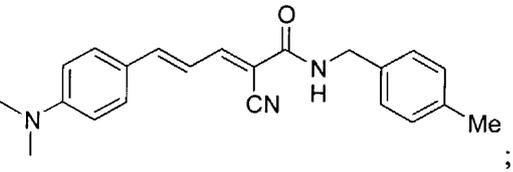
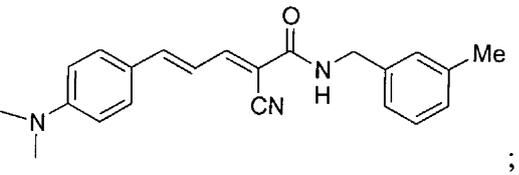
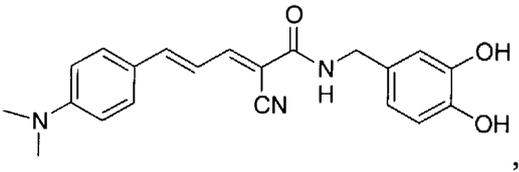
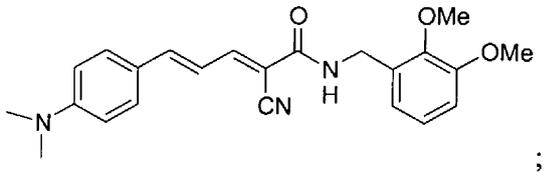
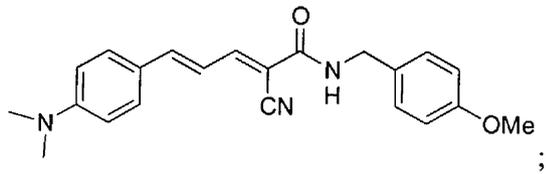
20



30



40



【 0 0 8 2 】

当業者は、本発明の化合物が、例えば癌または細胞増殖障害のいずれかの型における細胞増殖の阻害において、治療的有用性を有するかどうかを決定することができる。化合物は、本明細書において実施例35~56に説明したような細胞増殖アッセイ法において増殖を

10

20

30

40

50

阻害するそれらの効能について試験することができる。従って、本発明の方法、用途および組成物は、所望の作用を有するこのような化合物のみを含むことを意味している。

【0083】

本発明の化合物のインビトロおよびインビボにおける癌細胞、特に造血細胞悪性腫瘍の増殖を阻害する能力が試験された。試験されたいくつかの化合物は、マイクロモル用量以下(sub-micro-molar doses)において、培養物中の癌細胞増殖を排除することがわかった。特に、CR4、CR11およびCR19は、急性リンパ芽球性白血病、フィラデルフィア陽性白血病、および急性骨髄性白血病のような、様々な細胞型に対して非常に有効であることがわかった。CR4およびCR19は両方とも低いナノモル用量で癌細胞に高い毒性があるのに対し、正常細胞の増殖および分化には作用しない。これらの作用は、低レベルの本化合物の長期曝露により得られる。従って、ひとつの局面において、本発明は、本発明の化合物、好ましくは、有効量のCR4またはCR11またはCR19を、それを必要とする細胞または動物に投与することにより、造血系癌細胞の増殖を阻害する方法を提供する。

10

【0084】

化合物CR4は、マウスモデルを用い、インビボにおいてヒトのフィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病細胞を効果的に殺傷することが可能であることが決定されている。CR4は、ALL細胞による腫瘍負荷および臓器浸潤を効果的に低下した。癌細胞増殖の排除に必要とされる用量では、動物に検出可能な非特異的損傷を生じない。

【0085】

CR4およびCR11のような本発明の化合物は、エクスピボパーズング剤として有効であることも決定されている。エクスピボ投与について、骨髄細胞は、癌患者から取り出すことができ、かつ本発明の化合物によりエクスピボでパーズングすることができる。このようなパーズングは、腫瘍細胞を殺傷する一方で、正常な骨髄細胞は無傷のまま残すと考えられる。パーズング後、これらの細胞を洗浄し、患者に再導入することができる。

20

【0086】

エクスピボパーズングアッセイ法の間、これらの細胞は、比較的高用量の該化合物(50 μ M ~ 100 μ M)に、短期間(1~24時間)曝され、癌細胞増殖の排除を生じる一方で、同用量に同期曝された正常な骨髄細胞は相対的に影響を受けない。癌細胞の死は、アポトーシスの誘導により影響を受けた。従って、本発明の別の局面において、本発明の化合物、好ましくはCR4およびCR11による癌患者由来の骨髄のエクスピボ治療、その後の治療された(またはパーズングされた)骨髄の該患者への再導入により、癌細胞を殺傷する方法が提供される。

30

【0087】

本発明の化合物は、癌に加え、異所性または異常な細胞増殖に関連している他の状態の治療に有用である。本発明により治療され得るようなその他の細胞増殖性障害は、炎症性疾患、アレルギー、自己免疫疾患、移植拒絶反応、乾癬、再狭窄、アテローム性動脈硬化症、および細胞増殖の阻害、防止または抑制が望まれるようないずれかの他の障害を含む。本発明の化合物は、当業者に公知のアッセイ法および技術を用い、特定の細胞増殖性障害におけるそれらの効能を試験することができる。例えば、下記の参考文献は、様々な条件のアッセイ法を提供している。C. S. Kasyapaらの、Rheumatoid Arthritis: 「IL-15の調節 - ロリبرانによるTNF- α 産生のシミュレーション(Regulation of IL-15- Simulated TNF-alpha Production by Rolipram)」(Journal of Immunology、163:8236(1999))。T. Adachiらの、Allergy: 「新規Lyn-結合ペプチドインヒビターは好酸球の分化、生存および気道好酸球性炎症をブロックする(A novel Lyn-Binding Peptide Inhibitor Blocks Eosinophil Differentiation, Survival, and Airway eosinophilic inflammation)」(Journal of Immunology、163:939(1999))。R. Uchert(Uにウムラウト付き)の、Psoriasis: 「IL-15による角化細胞アポトーシスの阻害: 感染の病因における新規パラメータ(Inhibition of Keratinocyte apoptosis by IL-15: a new parameter in the pathogenesis of psoriasis)」(Journal of Immunology、165:224(2000))。A. H. Enkの、Psoriasis: 「T細胞受容体類似ペプチドおよびそれらのT細胞媒介型疾患におけるそれらの利用可能性(T-cell r

40

50

ceptor mimic peptides and their potential application in T-cell mediated diseases)」(International Archives of allergy and Immunology、123:275(2000))。

【0088】

本発明の化合物は、チロシンキナーゼモジュレーターであり、前述の全ての増殖障害のような様々な状態の治療のための、チロシンキナーゼ活性の阻害を含む、チロシンキナーゼ活性の調節において有用である。従って、本発明は、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物へ投与することにより、チロシンキナーゼ活性を調節する方法を提供する。更なる局面において、本発明は、本発明の有効量の化合物を、それを必要とする細胞または動物へ投与することにより、チロシンキナーゼ活性を阻害する方法を提供する。

10

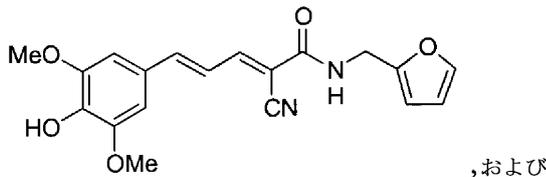
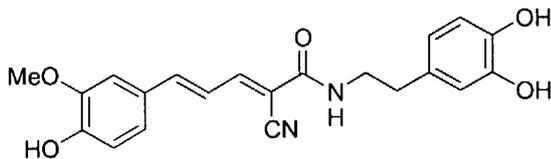
【0089】

本発明の化合物は、チロシンキナーゼ活性の阻害により作用することができるが、当業者は、本発明の化合物の作用の他の方式または機序が可能であることを理解すると思われる。

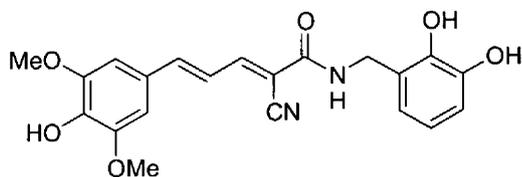
【0090】

本化合物で、CR4、(E,E)-2-シアノ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR7)、CR8、CR11、CR19、および(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3-メトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル(CR56)を含むものは、インビトロ、エクスピボおよびインビボにおいて、骨髄造血(本明細書においては、顆粒球、単球およびその分化した形、マクロファージを含む、骨髄系細胞の増殖および/または分化と定義される)を促進することが可能である。国際公開公報第03/030895号を参照のこと(その内容は本明細書に参照として組み入れられる)。本明細書において具体的に明らかにされた化合物のうち、下記の化合物は、この活性も有する：

20



30



【0091】

従って本発明は、インビボ、エクスピボまたはインビトロにおける骨髄造血を促進する方法において、これらの骨髄造血促進化合物のいずれかを使用する段階を含む。

40

【0092】

ひとつの局面において、本発明は、1種または複数のこれらの骨髄造血促進化合物を有効量、それが必要な造血細胞または動物へ投与する段階を含む、骨髄造血を促進する方法に関連している。用語「細胞」は、複数の細胞を含む。細胞への投与は、インビボ、エクスピボ、およびインビトロ処置を含む。

【0093】

一部の態様において、造血細胞は、造血幹細胞であり、および動物は、ヒト患者である。特定の態様において、これらの化合物は、化学療法または薬物が誘発した好中球減少症

50

、G-CSF反応性悪性疾患を含む悪性疾患に随伴する好中球減少症を含む、原発性または続発性好中球減少症に罹患した、またはそのリスクのあるヒト患者へ投与される。別の態様において、これらの化合物は、再生不良性貧血または無形成症のリスクのある、またはそれらに罹患したヒト患者へ投与される。別の態様において、動物は、骨髓細胞または末梢血幹細胞のヒトドナーである。別の態様において、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物は、骨髓細胞または末梢血幹細胞の移植を必要とするヒト患者へ、移植の前後に投与される。

【0094】

別の局面において、本発明は、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物の有効量を造血細胞へ投与する段階を含む、骨髓造血をエクスピボで促進する方法を提供する。ひとつの態様において、細胞は、造血幹細胞である。特定の態様において、造血細胞は、ドナーの骨髓もしくは末梢血幹細胞、または自家骨髓もしくは末梢血幹細胞移植を必要とする患者の骨髓もしくは末梢血幹細胞に由来する。

10

【0095】

別の局面において、本発明は、好中球減少症、再生不良性貧血または無形成症に罹患したまたはリスクのある患者を治療する方法であって、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物の有効量を該患者へ投与する段階を含む方法を提供する。別の局面において、本発明は、骨髓造血を促進するのに有効な量の1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物がエクスピボで投与された造血細胞を、患者へ投与する段階を含む、好中球減少症、再生不良性貧血または無形成症に罹患したまたはリスクのある患者を治療する方法を提供する。造血細胞は、ドナーまたはその患者の骨髓または末梢血幹細胞に由来することができる。

20

【0096】

別の局面において、本発明は、骨髓造血を促進するための、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物の使用に関する。本発明は、骨髓造血を促進する薬剤を調製するための、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物の使用にも関する。更に別の局面において、本発明は、好中球減少症、再生不良性貧血または無形成を治療するための、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物の使用、ならびに好中球減少症、再生不良性貧血または無形成症を治療するための薬剤の調製のための、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物の使用に関する。

30

【0097】

別の局面において、本発明は、1種または複数のこれらの骨髓造血促進化合物、ならびに、骨髓造血の促進および好中球減少症、再生不良性貧血または無形成症の治療を含むそれらの使用説明書を備える、キットを提供する。

【0098】

本発明の化合物は、好ましくは、インピボ投与に適した生物学的に適合性のある形態でのヒト被験者への投与のために薬学的組成物に製剤化される。従って、別の局面において、本発明は、適当な希釈剤または担体と混合した本発明の化合物を含有する薬学的組成物を提供する。

【0099】

本発明の化合物を含有する組成物は、活性物質の有効量が薬学的に許容される溶媒との混合物中に一緒にされるように、被験者に投与することができる薬学的に許容される組成物の調製のための公知の方法で調製することができる。適当な溶媒は、例えば、「レミントンの薬科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)」に記されている (Mack Publishing社、イーストン、Pa.、USA、1985年)。これを基に、この組成物は、例え独占的ではなくとも、1種以上の薬学的に許容される溶媒または希釈剤と会合し、かつ生理的液体と適当なpHおよび等張で緩衝された溶液に含まれた、該物質の溶液を含む。

40

【0100】

本発明の化合物は、遊離塩基の形態、塩の形態、溶媒和物および水和物として使用することができる。全ての形態は本発明の範囲内である。酸付加塩を形成することができ、か

50

つこれは使用にとってより簡便な形態を提供する：実際には、塩方の使用は塩基型の使用に本質的に等しい。酸付加塩の調製に使用することができる酸は、遊離塩基と組合わせた場合に、薬学的に許容される塩、すなわち、塩の薬学的用量においてそのアニオンが動物生体に無毒である塩を形成するものを含むことが好ましく、その結果遊離塩基に本来備わっている有益な特徴は、該アニオンに起因した副作用により損なわれることはない。この塩基性化合物の薬学的に許容される塩は好ましいにもかかわらず、全ての酸付加塩が、例えば塩が精製および同定の目的のためだけに使用される場合、またはそれがイオン交換法により薬学的に許容される塩を調製する際の間体として使用される場合のように、特定の塩それ自身が中間生成物としてのみ望ましいとしても、遊離塩基形態の給源として有用である。

10

【0101】

本発明の範囲内の薬学的に許容される塩は、下記の酸に由来するものを含む：無機酸、例えば塩酸、硫酸、リン酸およびスルファミン酸；ならびに、有機酸、例えば酢酸、クエン酸、乳酸、酒石酸、マロン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、シクロヘキシルスルファミン酸、キナ酸など。

【0102】

本発明の方法において、説明された化合物もしくはそれらの塩または溶媒和物は、当業者に理解されるように、選択される投与経路に応じ様々な形態で、患者に投与することができる。本発明の組成物は、経口または非経口投与することができる。非経口投与は、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、経上皮、点鼻、肺内、クモ膜下、経直腸および局所的投与方式を含む。非経口投与は、選択される期間にわたる連続注入によることができる。

20

【0103】

本発明の化合物もしくはそれらの塩または溶媒和物は、例えば、不活性希釈剤と共に、または同化可能な食用カード(carder)と共に、経口投与することができるか、または硬質もしくは軟質ゼラチンカプセル内に封入することができるか、または錠剤に圧縮することができるか、または直接規定食用食品と共に摂取することができる。経口治療用投与について、本発明の化合物は、賦形剤と混入するか、もしくは摂取可能な錠剤、舌下錠、トローチ、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、ウエハーなどの形態で使用することができる。

【0104】

本発明の化合物は、非経口または腹腔内投与することもできる。遊離塩基もしくは薬学的に許容される塩または溶媒和物としての本発明の化合物の溶液は、ヒドロキシプロピルセルロースのような界面活性剤と適切に混合された水において調製することができる。同じく分散剤は、アルコールを伴うまたは伴わずに、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、DMSOおよびそれらの混合物中に、または油分中に調製することができる。通常の貯蔵および使用条件下で、これらの調製物は、微生物の増殖を防止するために保存剤を含む。当業者には、適当な製剤を調製する方法は既知であると思われる。適当な処方を選択し、調製する通常の手法および成分は、例えば、「レミントンの薬科学」(1990年、18版)および1999年に刊行された米国薬局方：米国医薬品規格(USP24NF19)に記載されている。

30

【0105】

注射用法に適した薬学的形態は、滅菌した水性の溶液または分散液、ならびに無菌の注射可能な溶液または分散液の即時調製のための無菌の粉末である。全ての場合において、この形態は、無菌でなければならず、かつ容易に注射できる程度の液体でなければならぬ。

40

【0106】

本発明の化合物は、前述のように、化合物の溶解度および化学的特徴、選択される投与経路ならびに標準の薬学的実践により決定されるような割合で、動物へ、単独で、または薬学的に許容される担体と組合わせて投与することができる。

【0107】

本発明の化合物および/または組成物の用量は、化合物の薬力学的特性、投与方式、レ

50

シピエントの年齢、健康状態および体重、症状の性質および程度、治療頻度および存在するならば併用療法の種類、ならびに治療される動物における化合物のクリアランス速度などの多くの要因に応じて変動しうる。当業者は、前述の要因を基に適当な用量を決定することができる。本発明の化合物は、臨床反応に応じて、必要ならば調製することができるような適量で初回投与される。例として、本発明の化合物は、約1nM～約100μM、好ましくは50nM～50μMの範囲で投与することができる。例えば30分～1時間またはそれ以上の期間のような、短期間の細胞エクスピボ治療については、長期インピボ療法よりもより高用量の化合物を用いることができ；例えば、50μMまたはそれ以上の濃度を使用することができる。

【0108】

本発明は更に、細胞増殖、好ましくは癌細胞増殖を阻害するための、本発明の化合物または組成物の使用を含む。本発明は更に、細胞増殖、好ましくは癌細胞増殖を阻害するための医薬品を調製するための、本発明の化合物または組成物の使用を含む。

10

【0109】

本発明の化合物は、細胞増殖性障害については、単独で、もしくはチロシンキナーゼ活性を調節するような他の物質と組合わせて、または他の種類の治療(チロシンキナーゼ活性を調節してもしなくても良い)と組合わせて使用することができる。当技術分野においてチロシンキナーゼ活性を阻害することが公知の物質は、米国特許第5,891,917号、米国特許第5,217,999号、米国特許第5,773,476号、米国特許第5,935,993号、米国特許第5,656,655号、米国特許第5,677,329号、および米国特許第5,789,427号に開示されたような、受容体型チロシンキナーゼをコードしている核酸を標的化したアンチセンス核酸およびリボザイム、チロシンキナーゼ活性を調節することが可能な抗体、ならびにその他の低分子チロシンキナーゼインヒビターを含むが、これらに限定されるものではない。異なる種類の癌の治療のために現在使用されている、その他の種類の細胞増殖性障害の治療の例は様々である。一般的治療は、癌の型を基にしており、チロシンキナーゼ活性を特異的に標的とするものではない。本発明の特定の局面において、本発明の化合物は、白血病を治療するための他の療法および治療薬と併用することができる。

20

【0110】

本発明の化合物は、前述の治療的用途に加え、診断アッセイ法、スクリーニングアッセイ法、および研究ツールとしても有用である。

30

【0111】

診断アッセイ法において、本発明の化合物は、細胞増殖性障害の同定または検出において有用であることができる。このような態様において、本発明の化合物は、放射標識(先に説明したように)することができ、細胞集団と接触させることができる。細胞上で放射標識された存在は、細胞増殖性障害を示すことができる。具体的態様において、放射標識された本発明の化合物は、bcr-abl融合タンパク質を発現している細胞の存在を検出するために使用することができる。

【0112】

スクリーニングアッセイ法において、本発明の化合物は、細胞増殖またはチロシンキナーゼ活性を調節する他の化合物を同定するために使用することができる。研究ツールとしては、本発明の化合物は、受容体結合アッセイ法およびチロシンキナーゼの局在を試験するアッセイ法において使用することができる。このようなアッセイ法において、これらの化合物は、放射標識することもできる。

40

【0113】

下記の非制限的な実施例は、本発明を例証するものである。

【0114】

実施例

実施例1～34の材料および方法

¹H NMRスペクトルは、Varian Unity Plus分析計(USA)において、内部標準(=0)としてテトラメチルシラン(TMS、Me₄Si)を用い、500MHzで得た。電子衝撃(electrospray)質量分

50

析は、API III Plusトリプル四重極質量分析計(USA)において、試料をイオン化源へ直接導入することにより記録した。薄層クロマトグラフィーは、厚さ0.25mmのUV-254アルミニウムで裏当てしたTLCシート(Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck社、独国)により行った。実施例13の化合物のHPLC分離は、Waters 600クロマトグラフ(USA)上、カラムNova-Pak C18 3.9 x 300mm(Waters社、USA)において行った。真空蒸留は、Kugelrohr装置(Aldrich社、USA)を用い、炉の指定温度で行った。

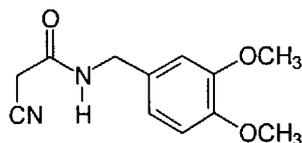
【0115】

3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド、4-ニトロシナムアルデヒド、3,4-ジメトキシケイ皮酸、3,4-ジヒドロキシケイ皮酸、3,4-ジメトキシベンジルアミン、ベンジルアミン、フェニルエチルアミン、フェニルプロピルアミン、シアノ酢酸メチル、2-シアノチオアセトアミド、2-シアノアセトアミド、シアノ酢酸、 γ -エタノールアミン、2-アミノ-1-プロペン-1,1,3-トリカルボニトリルは、Aldrich社(USA)から購入し、受け取った状態で使用した。試薬類は、Aldrich社(USA)から購入した。溶媒は、Caledon社(カナダ)から購入した。

10

【0116】

実施例1: N-(シアノアセチル)3,4-ジメトキシベンジルアミド(A₁)



20

3,4-ジメトキシベンジルアミン(2.7ml, 18mmol)へ、シアノ酢酸メチル(1.6ml, 18mmol)を添加した。この反応液を、100℃で14時間加熱した。冷却し、暗褐色固形物を得、これをエタノールで再結晶し、生成物2.90gを得た(収率69%)。

【0117】

生成物は下記の分析データを示した：

NMR (CD₃COCD₃, δ , ppm): 3.62 (s, 2H, CH₂CN), 3.78 (s, 6H, (OMe)₂),

4.34 (br.s., 2H, NHCH₂Ph), 6.84 (dd, 1H, J 1.95 and 8.1 Hz, H^b), 6.88 (d, 1H, J 8.1 Hz, H^c), 6.93 (d, 1H, J 1.95 Hz, H^a), 7.80 (br.s., 1H, NH)

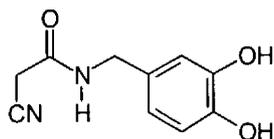
30

MS, m/e (rel. intensity, %): 235 (19) [M+H]⁺, 252 (100) [M+NH₄]⁺, 257 (33)

[M+Na]⁺

【0118】

実施例2: N-(シアノアセチル)3,4-ジヒドロキシベンジルアミド(A₂)



40

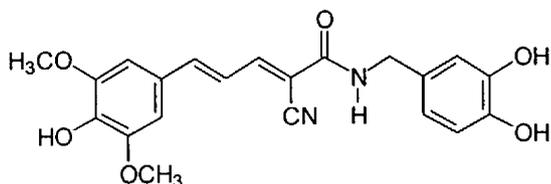
CH₂Cl₂ 20mlを溶媒とするN-(シアノアセチル)3,4-ジメトキシベンジルアミド(実施例1, 0.2g, 0.85mmol)に、CH₂Cl₂ 2.5mlを溶媒とする三臭化ホウ素を、アルゴン下-78℃で添加した(0.24ml, 2.56mmol)。2時間後、この反応液を室温とし、一晚攪拌した。反応液を、0℃に冷却し、1N HCl 10mlを添加し、この溶液を酢酸エチル3 x 50mlで抽出し、有機相を中性pHになるまで洗浄し、MgSO₄で乾燥し、乾固させた。残渣を、シリカゲルクロマトグラフィーにより精製し(CHCl₃-MeOH, 20:1)、黄色固形物を得た(0.07g, 収率40%)。生成物は下記の分析データを示した：

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.83 (s, (OH)₂), 3.60 (s, 2H, CH₂CN), 4.25 (br.s., 2H, NHCH₂Ph), 6.63 (dd, 1H, J 1.95 and 8.1 Hz, H⁶), 6.75 (d, 1H, J 8.1 Hz, H⁵), 6.79 (d, 1H, J 1.95 Hz, H²), 7.71 (br.s., 1H, NH)

MS, m/e (rel. intensity, %): 207 (38) [M+H]⁺, 224 (100) [M+NH₄]⁺, 229 (2.6) [M+Na]⁺

【 0 1 1 9 】

実施例 3: (E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR11) 10



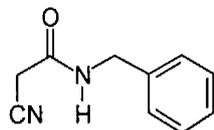
エタノール10mlを溶媒とする3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナナムアルデヒド(0.042g, 0.2mmol)およびN-(シアノアセチル)3,4-ジヒドロキシベンジルアミド(実施例2, 0.042g, 0.2mmol)に、アラニン3mgを添加し、反応液を6時間還流した。水を添加し、固形物をエタノール5mlで2回再結晶し、赤色固形物0.06g(75%)を得た。生成物は下記の分析データを示した: 20

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.81 (s, (OH)₃), 3.89 (s, 6H, (OMe)₂), 4.39 (br.s., 2H, NHCH₂Ph), 6.68 (dd, 1H, J 1.95 and 8.1 Hz, H^{6'}), 6.76 (d, 1H, J 8.1 Hz, H^{5'}), 6.86 (d, 1H, J 1.95 Hz, H^{2'}), 7.07 (br.s, 2H, H^{2+6'}), 7.16 (dd, 1H, J 11.7 and 15.1 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.37 (d, 1H, J 15.1 Hz, PhCH olefinic), 7.70 (br.s., 1H, NH), 7.98 (dd, 1H, J 0.75 and 11.7 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 397 (100) [M+H]⁺, 414 (14) [M+NH₄]⁺ 30

【 0 1 2 0 】

実施例 4: N-(シアノアセチル)ベンジルアミド (A₃)



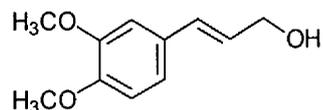
化合物を、実施例1に記したように、シアノ酢酸メチル(1.3ml, 14mmol)をベンジルアミン(1.5ml, 14mmol)へ添加することにより調製した。この反応混合液から直接化合物を真空蒸留し(Kugelrohr装置(Aldrich社), 0.1mmHg, 炉温度180~190)、帯黄白色の固形物を得た(2.34g, 95%)。生成物は下記の分析データを示した: 40

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.39 (s, 2H, CNCH₂), 4.46 (d, 2H, J 5.4 Hz, NHCH₂Ph), 6.40 (br.s., 1H, NH), 7.24-7.36 (m, 5H, Ph)

MS, m/e (rel. intensity, %): 175 (64) [M+H]⁺, 192 [M+NH₄]⁺

【 0 1 2 1 】

実施例 5: 3,4-ジメトキシシナミルアルコール (A₆) 50



MeOH 50mlを溶媒とする3,4-ジメトキシケイ皮酸0.42g(2.0mmol)の溶液に、SOCl₂ (50 μ l)を添加し、この混合液を60 °Cで5時間攪拌した。メタノールを乾固させ、得られた3,4-ジメトキシケイ皮酸メチルエステルを、無水THF(50ml)を溶媒とする水素化ジイソブチルアルミニウム(8.0mmol)の1M THF溶液により、20 °Cで1時間還元した。水を添加し、混合液をEtOAcで洗浄し、MgSO₄で乾燥し、真空蒸留し(Kugelrohr装置(Aldrich社), 0.1mmHg, 炉温度185~190 °C)、帯黄白色の固形物を得、収量0.36g(92%)、m.p.70~71 °Cであった。生成物は下記の分析データを示した:

10

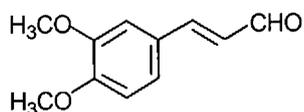
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.77, 3.82 (2 × s, 2 × 3H, OMe + OMe), 4.19 (d, 2H, J 5.0 Hz, CH₂OH), 6.25 (dt, 1H, J 5.0 and 15.5 Hz, PhCCH olefinic), 6.51 (d, 1H, J 15.5 Hz, PhCH olefinic), 6.89 (m, 2H, H⁵⁺⁶), 7.05 (br.s., 1H, H²)

MS, m/e (rel. intensity, %): 177 (100) [M-OH]⁺, 195 (4) [M+H]⁺, 212 (59) [M+NH₄]⁺, 217 (26) [M+Na]⁺

20

【 0 1 2 2 】

実施例6: 3,4-ジメトキシシナムアルデヒド(A₇)



CH₂Cl₂ 20mlを溶媒とするニクロム酸ピリジニウム(3.88g, 10.3mmol)および微粉碎した新たに活性化したモレキュラーシーブ3.4gの混合液へ、CH₂Cl₂ 10ml中の3,4-ジメトキシシナミルアルコール(実施例5, 1.00g, 5.1mmol)を添加した。反応液を2時間攪拌し、メタノール0.5mlを添加し、残渣をシリカゲルを通し、酢酸エチル300mlで洗浄した。蒸発後、化合物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-EtOAc, 5:1)で精製し、晶質油状物とした(0.62g, 63%)。生成物は下記の分析データを示した:

30

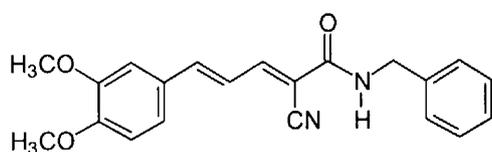
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.90 (2 × s, 2 × 3H, OCH₃ + OCH₃), 6.70 (dd, 1H, J 7.6 and 16.0 Hz, PhC=CH olefinic), 7.05 (d, 1H, J 8.3 Hz, H⁵), 7.28 (dd, 1H, J 1.4 and 8.3 Hz, H⁶), 7.37 (d, 1H, J 1.4 Hz, H²), 7.60 (d, 1H, J 16.0 Hz, PhCH olefinic), 9.65 (d, 1H, J 7.6 Hz, CHO)

MS, m/e (rel. intensity, %): 193 (100) [M+H]⁺, 210 (26) [M+NH₄]⁺

40

【 0 1 2 3 】

実施例7: (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル(CR2)



化合物を、実施例3に記したように、3,4-ジメトキシシナムアルデヒド(実施例6, 0.0 50

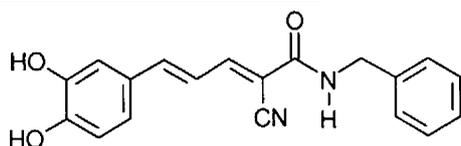
4g, 0.2mmol)をN-(シアノアセチル)ベンジルアミド(実施例4, 0.036g, 0.2mmol)へ添加することにより調製した。1時間還流した後、エタノールで再結晶し、黄色固形物を得た(0.045g, 62%)。生成物は下記の分析データを示した:

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.90 (s, 2 × 3H, OMe + OMe), 4.57 (d, 2H, J < 2 Hz, NHCH₂Ph), 7.08 (br.s., 1H, H²), 7.17 (dd, 1H, J 11.5 and 15.2 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.23-7.42 (m, 8H, aromatic + H⁵ + H⁶ + PhCH olefinic), 7.90 (br.t, 1H, NH), 8.05 (dd, 1H, J 0.55 and 11.5 Hz, CHCN olefinic)

【 0 1 2 4 】

10

実施例8: (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシシスチリル)アクリロニトリル(CR4) - 方法A



三臭化ホウ素(0.033ml, 0.34mmol)を、(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシシスチリル)アクリロニトリル(実施例7, 0.04g, 0.11mmol)に添加した。残渣を、シリカゲルクロマトグラフィー(CHCl₃-MeOH, 10:1)で精製し、オレンジ色の固形物(0.02g, 収率55%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

20

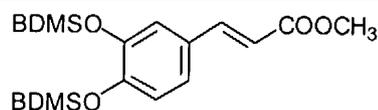
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.86 (br.s., 2H, (OH)₂), 4.55 (m, 2H, NHCH₂Ph), 6.90-7.42 (m, 10H, Ph + Ph' + olefinic), 7.87 (br.s., 1H, NH), 8.02 (dd, 1H, J < 0.5 and 11.4 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 295 (61) [M+H-CN]⁺, 321 (100) [M+H]⁺, 338 (30) [M+NH₄]⁺

30

【 0 1 2 5 】

実施例9: 3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシ)ケイ皮酸のメチルエステル(A₈)



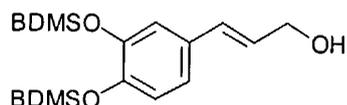
MeOH 300mlを溶媒とする3,4-ジヒドロキシケイ皮酸3.6g(20mmol)の溶液に、SOCl₂(100 μl)を添加し、混合液を60 で5時間攪拌した。メタノールを乾固させ、得られたメチルエステルを、DMF 100ml中のt-BuMe₂SiCl 10.2g(68mmol)およびイミダゾール9.2g(136mmol)で、50 で0.5時間処理した。混合液を水で希釈し、ヘキサンで抽出した。ヘキサンを乾固した。残渣を真空で蒸留し(Kugelrohr装置(Aldrich社), 0.1mmHg, 炉温度200~210)、およびヘキサンから-20 で晶出し、白色固形物を得、収量7.5g(89%)、m.p.57~58であった。生成物は下記の分析データを示した:

40

MS, m/e (rel. intensity, %): 423 (100) [M+H]⁺, 440 (98) [M+NH₄]⁺

【 0 1 2 6 】

実施例10: 3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシ)シンナミルアルコール(A₉)



化合物を、実施例5に記したように、3,4-ビスジヒドロキシケイ皮酸(BDMS)エーテルメチルエステル(実施例9, 0.42g, 1.0mmol)の無水THF(25ml)を溶媒とする水素化イソブチルアルミニウム(4.0mmol)の1M THF溶液による20℃で1時間の処理により調製した。真空蒸留後(Kugelrohr装置(Aldrich社), 0.1mmHg, 炉温度185~200℃)、白色の粘稠な油状物を得、収量0.33g(85%)であった。生成物は下記の分析データを示した。

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 0.23, 0.24 (2 × s, 2 × 6H, Me₂Si + Me₂Si), 1.00,

10

1.02 (2 × s, 2 × 9H, *t*-BuSi + *t*-BuSi), 4.19 (d, 2H, J 4.9 Hz, CH₂OH), 6.22 (dt, 1H, J 4.9 and 16.0 Hz, PhCCH olefinic), 6.49 (d, 1H, J 16.0 Hz, PhCH olefinic), 6.85 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 6.92 (dd, 1H, J 2.1 and 8.2 Hz, H⁶), 6.97 (d, 1H, J 2.1 Hz, H²)

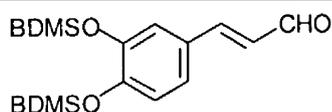
MS, m/e (rel. intensity, %): 377 (100) [M-OH]⁺, 395 (2) [M+H]⁺, 412 (15)

[M+NH₄]⁺

【0127】

実施例11: 3,4-ビス(*t*-ブチルジメチルシリルオキシ)シンナムアルデヒド(A₁₀)

20



化合物を、実施例6に記したように、CH₂Cl₂ 5mlを溶媒とする3,4-ビス(*t*-ブチルジメチルシリルオキシ)シンナミルアルコール(実施例10, 0.2g, 0.5mmol)の、CH₂Cl₂ 20ml中のニクロム酸ピリジニウム(0.38g, 1mmol)およびモレキュラーシーブ3 Åの混合液への添加により調製した。残渣を、シリカゲルを通し、EtOAc-ヘキサン1:1 300mlで洗浄した。蒸発後、化合物を、シリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-EtOAc, 5:1)により精製し、油状物(0.15g, 76%)とした。生成物は下記の分析データを示した:

30

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 0.26 and 0.28 (2 × s, 2 × 6H, Me₂Si + Me₂Si),

1.01 and 1.02 (2 × s, 2 × 9H, *t*-BuSi + *t*-BuSi), 6.60 (dd, 1H, J 7.7 and 15.9 Hz, PhCCH olefinic), 7.01 (dd, 1H, J < 0.5 and 8.9 Hz, H⁶), 7.27 (m, 2H, H²⁺⁵), 7.60 (d, 1H, J 15.9 Hz, PhCH olefinic), 9.65 (d, 1H, J 7.7 Hz, CHO)

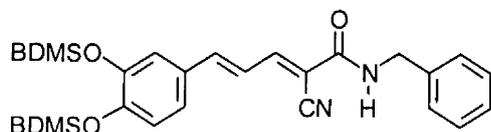
MS, m/e (rel. intensity, %): 367 (3) [M+H-CN]⁺, 393 (100) [M+H]⁺, 410

(10) [M+NH₄]⁺

【0128】

40

実施例12: (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(*t*-ブチルジメチルシリルオキシ)スチリル]アクリロニトリル(CR18)



化合物を、実施例3に記したように、3,4-ビス(*t*-ブチルジメチルシリルオキシ)シンナムアルデヒド(実施例11, 0.100g, 0.26mmol)のN-(シアノアセチル)ベンジルアミド(実施例4, 0.044g, 0.26mmol)への添加により調製した。2.5時間還流した後、シリカゲルクロ

50

マトグラフィー(ヘキサン-EtOAc, 15:1)により精製し、黄色固形物(0.090g, 64%)を生じた、生成物は下記の分析データを示した:

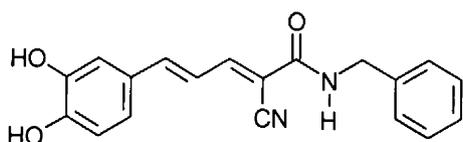
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 0.24 and 0.25 (2 × s, 2 × 6H, Me₂Si + Me₂Si), 1.01 and 1.02 (2 × s, 2 × 9H, *t*-BuSi + *t*-BuSi), 4.55 (br.s., 2H, NHCH₂Ph), 7.00 (d, 1H, J 8.5 Hz, H⁴), 7.12 (dd, 1H, J 11.7 and 15.6 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.24-7.43 (m, 8H, aromatic and olefinic protons), 7.93 (br.s., 1H, NH), 8.02 (dd, 1H, J < 0.5 and 11.7 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 523 (30) [M+H-CN]⁺, 540 (24) [M+NH₄-CN]⁺, 549 (89) [M+H]⁺, 566 (100) [M+NH₄]⁺

10

【 0 1 2 9 】

実施例 13: (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシステリル)アクリロニトリル (CR4) - 方法 B



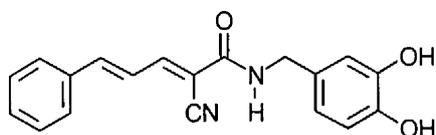
20

(E,E)-2-ベンジルアミノカルボニル-3-[3,4-ビス(*t*-ブチルジメチルシリルオキシステリル)]アクリロニトリル(実施例12, 0.028g, 0.052mmol)を、乾燥THF 2ml中のテトラ-*n*-ブチルフッ化アンモニウムの1M THF溶液60 μlにより、20 °Cで0.5時間処理した。蒸発後、化合物をクロロホルム-メタノール20:1の5mlに溶解し、シリカゲルを通し、クロロホルム-メタノール20:1で洗浄した。残渣を、HPLCクロマトグラフィー(MeCN-H₂O, 60:40, UV検出340nm)により精製し、オレンジ色の固形物(0.010g, 62%)を得た。分析データは、実施例8に記したように調製した化合物と同じであった。

【 0 1 3 0 】

実施例 14: (E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-ステリルアクリロニトリル (CR19)

30



化合物を、実施例3に記したように、シナムアルデヒド(0.018ml, 0.14mmol)のN-(シアノアセチル)3,4-ジヒドロキシベンジルアミド(実施例2, 0.03g, 0.14mmol)への添加により調製した。2時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物(0.027g, 59%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

40

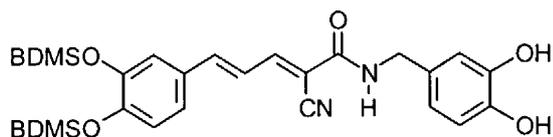
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.82 (br.s., 2H, (OH)₂), 4.39 (br.s., 2H, NHCH₂Ph), 6.70 (dd, 1H, J 1.9 and 8.2 Hz, H⁶), 6.76 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 6.87 (d, 1H, J 1.9 Hz, H²), 7.30 (dd, 1H, J 11.3 and 15.7 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.47 and 7.73 (2 × m, 6H, aromatic protons and PhCH olefinic), 7.82 (br.s., 1H, NH), 8.04 (dd, 1H, J < 0.5 and 11.3 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 321 (100) [M+H]⁺, 338 (65) [M+NH₄]⁺

50

【 0 1 3 1 】

実施例 15 : (E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシシチリル)]アクリロニトリル (CR20)



化合物を、実施例3に記したように、3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシ)シチリルアルデヒド(実施例11, 0.015g, 0.038mmol)のN-(シアノアセチル)3,4-ジヒドロキシベンジルアミド(実施例2, 0.0079g, 0.038mmol)への添加により調製した。2時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物を得た(0.014g, 64%)。生成物は下記の分析データを示した：

10

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 0.22 and 0.24 (2 × s, 2 × 6H, Me₂Si + Me₂Si),

1.01 and 1.03 (2 × s, 2 × 9H, t-BuSi + t-BuSi), 2.72 (br.s., 2H, (OH)₂), 4.41 (br.s., 2H, NHCH₂Ph), 6.68-7.42 (m, 8H, aromatic and olefinic protons), 7.75 (br.s., 1H, NH), 8.00 (dd, 1H, J <0.5 and 12.0 Hz, CHCN olefinic)

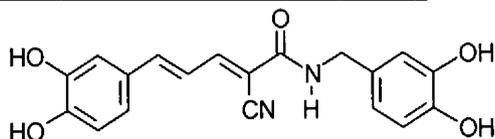
MS, m/e (rel. intensity, %): 555 (5) [M+H-CN]⁺, 572 (8) [M+NH₄-CN]⁺,

20

581 (46) [M+H]⁺, 598 (100) [M+NH₄]⁺

【 0 1 3 2 】

実施例 16 : (E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロシチリル)アクリロニトリル (CR21)



30

(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシシチリル)]アクリロニトリル(実施例15, 0.026g, 0.044mmol)を、乾燥THF 1.5ml中のテトラ-n-ブチルフッ化アンモニウム1M THF溶液60μlにより、20℃で0.5時間、実施例13に記したように処理した。精製後、黄色固形物を得た(0.006g, 43%)。生成物は下記の分析データを示した：

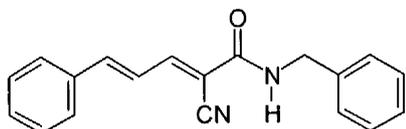
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 4.38 (s, 1H, NHCH₂Ph), 6.67-7.22 (m, 6H, Ph + Ph'), 7.05 (dd, 1H, J 11.8 and 15.5 Hz, PhC=CH olefinic), 7.34 (d, 1H, J 15.5 Hz, PhCH olefinic), 7.70 (br.s., 1H, NH), 8.00 (d, 1H, J 11.8 Hz, CH=CCN olefinic)

40

MS, m/e (rel. intensity, %): 186 (86) [(HO)₂C₆H₃CH=CHCH=CCN]⁺, 202 (28), 242 (100) [M+H-C₆H₃(OH)₂]⁺, 353 (13) [M+H]⁺, 370 (6) [M+NH₄]⁺

【 0 1 3 3 】

実施例 17 : (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-スチリルアクリロニトリル (CR1)



50

化合物を、実施例3に記したように、シナムアルデヒド(0.048ml, 0.38mmol)のN-(シアノアセチル)ベンジルアミド(実施例4, 0.066g, 0.38mmol)への添加により調製した。1時間の還流およびエタノールからの再結晶後、白色固形物を得た(0.074g, 68%)。生成物は下記の分析データを示した:

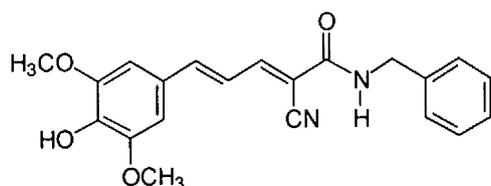
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 4.55 (s, 1H, NHCH₂Ph), 7.24-7.51 (m, 11H, Ph + Ph' + PhCCHCCN olefinic), 7.72 (br.d, 1H, J 6.5 Hz, CHCN olefinic), 7.98 (br.s., 1H, NH), 8.05 (d, 1H, J 11.7 Hz, PhCH olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 289 (100) [M+H]⁺, 306 (92) [M+NH₄]⁺

10

【 0 1 3 4 】

実施例18: (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシステリル)アクリロニトリル(CR3)



20

化合物を、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド(0.10g, 0.48mmol)をN-(シアノアセチル)ベンジルアミド(実施例4, 0.084g, 0.48mmol)への添加により調製した。3時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物を得た(0.10g, 57%)。生成物は下記の分析データを示した:

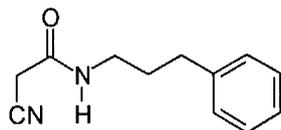
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.90 (s, 6H, (OMe)₂), 4.55 (m, 2H, NHCH₂Ph), 7.08 (br.s, 2H, H²⁺⁶), 7.17 (dd, 1H, J 11.5 and 15.2 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.22-7.41 (m, 6H, Ph' + PhCH olefinic), 7.90 (br.s., 1H, NH), 8.01 (dd, 1H, J 0.55 and 11.7 Hz, CHCN olefinic)

30

MS, m/e (rel. intensity, %): 275 (14) [M+H-CN-MeOH-MeOH]⁺, 307 (9) [M+H-CN-MeOH]⁺, 339 (4) [M+H-CN]⁺, 365 (100) [M+H]⁺, 382 (16) [M+NH₄]⁺

【 0 1 3 5 】

実施例19: N-(シアノアセチル)フェニルプロピルアミド(A₅)



40

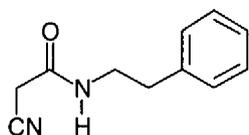
化合物を、実施例1に記したように、シアノ酢酸メチル(0.98ml, 11.1mmol)のフェニルプロピルアミン(1.58ml, 11.1mmol)への添加により調製した。この化合物を、反応混合液から直接真空で蒸留し(Kugelrohr装置(Aldrich社), 0.1mmHg, 炉温度195~200)、帯黄白色の固形物(2.18g, 97%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

NMR (CD_3COCD_3 , δ , ppm): 1.88 (q, 2H, J 7.3 Hz, PhCCH_2), 2.66 (t, 2H, J 7.3 Hz, PhCH_2), 3.28 (s, 2H, CNCH_2), 3.33 (dt, 2H, J 7.3 and 6.6 Hz, PhCCCH_2), 6.02 (br.s., 1H, NH), 7.15-7.30 (m, 5H, Ph)

MS, m/e (rel. intensity, %): 203 (88) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 220 (100) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

【 0 1 3 6 】

実施例 20 : N-(シアノアセチル)フェニルエチルアミド (A_4)



10

化合物を、実施例1に記したように、シアノ酢酸メチル(1.1ml, 12.4mmol)のフェニルエチルアミン(1.55ml, 12.4mmol)への添加により調製した。この化合物を、反応混合液から直接真空で蒸留し(Kugelrohr装置(Aldrich社), 0.1mmHg, 炉温度190~195)、帯黄白色の固形物(2.14g, 91%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

NMR (CD_3COCD_3 , δ , ppm): 2.80 (t, 2H, J 7.6 Hz, PhCH_2), 3.46 (br.t, 2H, J

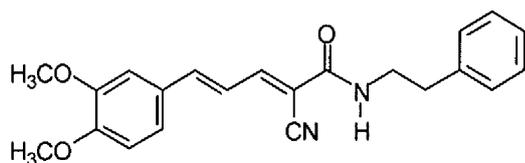
7.6 Hz, PhCCH_2), 3.54 (s, 2H, CNCH_2), 7.20-7.31 (m, 5H, Ph), 7.51 (br.s., 1H, NH)

20

MS, m/e (rel. intensity, %): 189 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 206 (99) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

【 0 1 3 7 】

実施例 21 : (E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジメトキシスチリル)アクリロニトリル (CR5)



30

化合物を、実施例3に記したように、3,4-ジメトキシシナムアルデヒド(実施例6, 0.1g, 0.52mmol)のN-(シアノアセチル)フェニルエチルアミド(実施例20, 0.1g, 0.52mmol)への添加により調製した。1時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物を得た(0.12g, 63%)。生成物は下記の分析データを示した:

NMR (CD_3COCD_3 , δ , ppm): 2.91 (t, 2H, J 7.5 Hz, $\text{Ph}'\text{CH}$), 3.59 (br.t, 2H, J

7.5 Hz, $\text{Ph}'\text{CCH}$), 3.88, 3.89 ($2 \times$ s, $2 \times$ 3H, $\text{OCH}_3 + \text{OCH}_3$), 7.04 (d, 1H, J 8.6 Hz,

H5), 7.16 (dd, 1H, J 11.8 and 15.0 Hz, $\text{PhC}=\text{CH}$ olefinic), 7.20-7.42 (m, 9H,

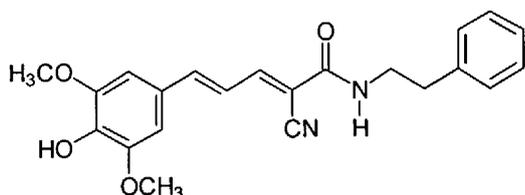
aromatic + olefinic), 7.97 (d, 1H, J 11.8 Hz, $\text{CH}=\text{CCN}$ olefinic)

40

MS, m/e (rel. intensity, %): 363 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 380 (34) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

【 0 1 3 8 】

実施例 22 : (E,E)-2-(フェニルエチルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR8)



化合物を、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド (0.1g, 0.48mmol)をN-(シアノアセチル)フェニルエチルアミド(実施例20, 0.091g, 0.48mmol)へ添加することにより調製した。残渣を、シリカゲルクロマトグラフィー(CHCl₃-ヘキサン, 1:1)により精製し、黄色固形物(0.15g, 収率83%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

10

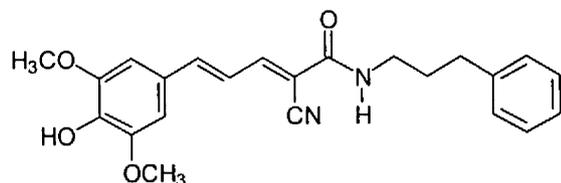
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.95 (t, 2H, J 7.6 Hz, CH₂Ph'), 3.62 (m, 2H, CH₂CPh'), 3.94 (s, 6H, (OMe)₂), 7.11 (s, 2H, H²⁺⁶), 7.19 (dd, 1H, J 11.7 and 15.3 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.23-7.36 (m, 5H, Ph'), 7.41 (d, 1H, J 15.3 Hz, PhCH olefinic), 7.45 (br.s., 1H, NH), 7.99 (d, 1H, J 11.7 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 379 (100) [M+H]⁺, 396 (7) [M+NH₄]⁺

【0139】

20

実施例23: (E,E)-2-(フェニルプロピルアミノカルボニル)-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR9)



化合物は、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド (0.10g, 0.48mmol)のN-(シアノアセチル)フェニルプロピルアミド(実施例19, 0.097g, 0.48mmol)への添加により調製した。3時間の還流後、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー(CHCl₃-ヘキサン, 1:1)により精製し、褐色固形物(0.17g, 収率90%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

30

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.09 (q, 2H, J 7.5 Hz, NHCCH₂CPh'), 2.85 (t, 2H, J 7.5 Hz, CH₂Ph'), 3.57 (m, 2H, CH₂CPh'), 4.06 (s, 6H, (OMe)₂), 7.24 (s, 2H, H²⁺⁶), 7.32 (dd, 1H, J 11.7 and 15.3 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.33-7.46 (m, 5H, Ph'), 7.53 (d, 1H, J 15.3 Hz, PhCH olefinic), 7.58 (br.s., 1H, NH), 8.11 (d, 1H, J 11.7 Hz, CHCN olefinic)

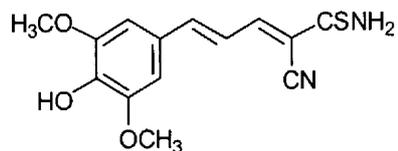
40

MS, m/e (rel. intensity, %): 331 (40), 348 (30), 359 (34), 376 (32), 393 (100)

[M+H]⁺, 410 (24) [M+NH₄]⁺

【0140】

実施例24: (E,E)-2-チオアセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR12)



化合物は、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド (0.15g, 0.72mmol)を2-シアノチオアセトアミド (0.073g, 0.72mmol)へ添加することにより調製した。1時間還流後、残渣をヘキサン-酢酸エチル1:1 中でTLC-プレート上で精製し、赤色固形物 (0.10g, 52%)を得た。生成物は下記の分析データを示した：

10

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.85 (br.s., OH + NH₂), 3.91 (s, 6H, (OMe)₂),

7.11 (s, 2H, H²⁺⁶), 7.20 (dd, 1H, J 11.6 and 15.1 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.46 (d,

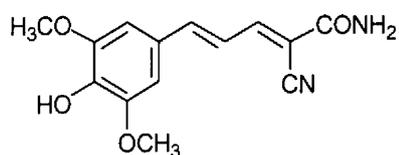
1H, J 15.1 Hz, PhCH olefinic), 8.22 (dd, 1H, J 0.73 and 11.6 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 289 (100), 291 (60) [M+H]⁺, 312 (8) [M+Na]⁺

【 0 1 4 1 】

実施例 25 : (E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR13)

20



化合物は、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド (0.1g, 0.48mmol)を2-シアノアセトアミド (0.04g, 0.48mmol)に添加することにより調製した。3時間の還流およびエタノールからの再結晶後、オレンジ色の固形物を得た (0.083g, 63%)。生成物は下記の分析データを示した：

30

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.82-2.88 (br.s., OH + NH₂), 3.90 (s, 6H,

(OMe)₂), 7.08 (s, 2H, H²⁺⁶), 7.16 (dd, 1H, J 11.6 and 15.1 Hz, PhCCHCCN

olefinic), 7.38 (d, 1H, J 15.1 Hz, PhCH olefinic), 7.96 (dd, 1H, J 0.73 and 11.6 Hz,

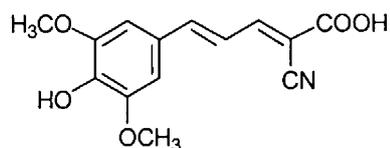
CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 275 (100) [M+H]⁺, 292 (28) [M+NH₄]⁺

【 0 1 4 2 】

実施例 26 : (E,E)-2-カルボキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR14)

40



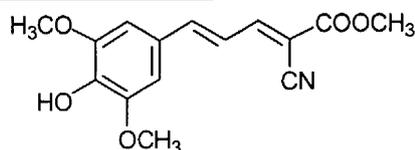
化合物は、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド (0.15g, 0.72mmol)をシアノ酢酸 (0.061g, 0.72mmol)に添加することにより調製した。1時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物を得た (0.15g, 75%)。生成物は下記の分析データを示した：

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.00 (br.s., OH), 3.91 (s, 6H, (OMe)₂), 7.12 (s, 2H, H²⁺⁶), 7.21 (dd, 1H, J 11.6 and 15.1 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.50 (d, 1H, J 15.1 Hz, PhCH olefinic), 8.04 (dd, 1H, J 0.73 and 11.6 Hz, CHCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 276 (66) [M+H]⁺, 293 (100) [M+NH₄]⁺

【 0 1 4 3 】

実施例 27 : (E,E)-2-カルボメトキシ-3-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR15)



10

化合物は、実施例3に記したように、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド (0.15g, 0.72mmol) をシアノ酢酸メチル (0.064ml, 0.72mmol) に添加することにより調製した。1時間の還流およびエタノールからの再結晶後、オレンジ色の固形物を得た (0.2g, 90%)。生成物は下記の分析データを示した：

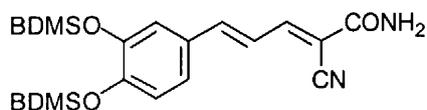
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.84 (br.s., OH), 3.84 (s, 3H, COOMe), 3.91 (s, 6H, (OMe)₂), 7.12 (s, 2H, H²⁺⁶), 7.21 (dd, 1H, J 11.6 and 15.1 Hz, PhCCHCCN olefinic), 7.53 (d, 1H, J 15.1 Hz, PhCH olefinic), 8.05 (dd, 1H, J 0.73 and 11.6 Hz, CHCN olefinic)

20

MS, m/e (rel. intensity, %): 290 (100) [M+H]⁺, 307 (99) [M+NH₄]⁺

【 0 1 4 4 】

実施例 28 : (E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-[3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシ)スチリル]アクリロニトリル (CR16)



30

化合物は、実施例3に記したように、3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシ)シナムアルデヒド (実施例11, 0.15g, 0.38mmol) を2-シアノアセトアミド (0.032g, 0.38mmol) に添加することにより調製した。0.5時間の還流後、シリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン-EtOAc, 5:1) による精製は、晶出油状物を生じた (0.10g, 57%)。

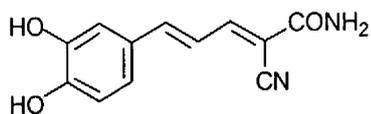
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 0.22 and 0.24 (2 × s, 2 × 6H, Me₂Si + Me₂Si), 1.01 and 1.03 (2 × s, 2 × 9H, t-BuSi + t-BuSi), 7.01, 7.23-7.29 (m, 3H, aromatic), 7.11 (dd, 1H, J 11.9 and 15.3 Hz, PhC=CH olefinic), 7.40 (d, 1H, J 15.3 Hz, PhCH olefinic), 7.98 (d, 1H, J 11.9 Hz, CH=CCN olefinic)

40

MS, m/e (rel. intensity, %): 459 (100) [M+H]⁺, 476 (89) [M+NH₄]⁺

【 0 1 4 5 】

実施例 29 : (E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR17)



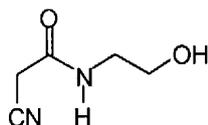
(E,E)-2-アセトアミノカルボニル-3-(3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシステリル))アクリロニトリル(実施例28, 0.1g, 0.22mmol)を、ベンゼン中のテトラ-n-ブチルフッ化アンモニウム1M THF溶液の過剰量で、実施例13に記したように、20 で0.5時間処理した。精製後、黄色固形物を得た(0.04g, 85%)。生成物は下記の分析データを示した：

10

MS, m/e (rel. intensity, %): 231 (83) [M+H]⁺, 248 (100) [M+NH₄]⁺

【 0 1 4 6 】

実施例30: N-(シアノアセチル) -エタノールアミド (A₁₁)



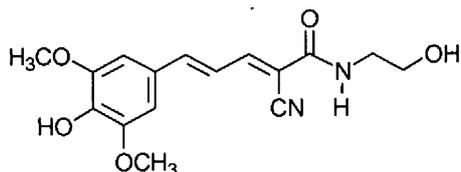
-エタノールアミン(1.37ml, 22.6mmol)に、シアノ酢酸メチルを添加した(2.0ml, 22.6mmol)。この反応液を、100 で30時間加熱した。冷却し、褐色固形物を得、これをエタノールから再結晶し、生成物2.10gを得た(71%)。生成物は下記の分析データを示した：

20

MS, m/e (rel. intensity, %): 129 (30) [M+H]⁺, 146 (100) [M+NH₄]⁺

【 0 1 4 7 】

実施例31: (E,E)-2-(2,4-ジメトキシ-5-ヒドロキシフェニル)-3-(3-(2-シアノエチルアミノ)アクリロニトリル)アクリロニトリル (CR24)



30

3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナムアルデヒド(0.018g, 0.086mmol)に、N(シアノアセチル) -エタノールアミド(実施例30, 0.010g, 0.086mmol)を添加した。2時間の還流およびシリカゲル、CHCl₃-MeOH 5:1での精製後、黄色固形物を得た(0.024g, 87%)。生成物は下記の分析データを示した：

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 3.47, 3.67 (2 × m, 4H, NHCH₂ + CH₂OH), 3.90

(s, 6H, OCH₃ + OCH₃), 7.07 (br.s, 2H, H²⁺⁶), 7.16 (dd, 1H, J 11.7 and 15.2 Hz,

40

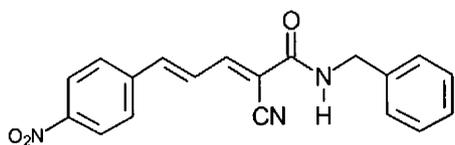
PhC=CH olefinic), 7.31 (br.s, 1H, NH), 7.38 (d, 1H, J 15.2 Hz, PhCH olefinic), 7.97

(d, 1H, J 11.7 Hz, CH=CCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 319 (70) [M+H]⁺, 341 (100) [M+Na]⁺

【 0 1 4 8 】

実施例32: (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ニトrostチリル)アクリロニトリル (CR27)



化合物を、実施例3に記したように、4-ニトロシンナムアルデヒド(0.022g, 0.12mmol)をN-(シアノアセチル)ベンジルアミド(実施例4, 0.022g, 0.12mmol)に添加することにより調製した。1時間還流後、生成物を、シリカゲルクロマトグラフィー(CHCl₃-MeOH, 5:1)により精製し、黄色固形物(0.033g, 81%)を得た。生成物は下記の分析データを示した:

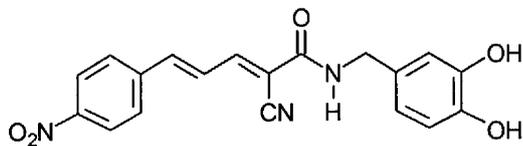
NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 4.56 (br.s, 2H, NHCH₂), 7.24-7.38 (m, 6H, Ph' + NH), 7.47 (dd, 1H, J 11.1 and 15.2 Hz, PhC=CH olefinic), 7.62 (d, 1H, J 15.2 Hz, PhCH olefinic), 8.02, 8.32 (2 × br.d, 4H, J 8.8 and 8.3 Hz, Ph), 8.08 (d, 1H, J 11.1 Hz, CH=CCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 334 (100) [M+H]⁺, 351 (16) [M+NH₄]⁺, 356 (28)

[M+Na]⁺

【0149】

実施例33: (E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル (CR28)



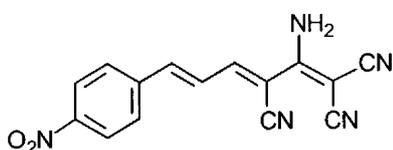
化合物は、実施例3に記したように、4-ニトロシンナムアルデヒド(0.009g, 0.05mmol)をN-(シアノアセチル)-3,4-ジヒドロキシベンジルアミド(実施例2, 0.010g, 0.05mmol)に添加することにより調製した。2時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物を得た(0.007g, 39%)。生成物は下記の分析データを示した:

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 2.81, 2.83 (2 × br.s, 2H, OH + OH), 4.39 (br.s, 2H, NHCH₂), 6.69 (br.d, 1H, J < 0.5 and 7.6 Hz, H^{6'}), 6.76 (d, 1H, J 7.6 Hz, H^{5'}), 6.86 (br.d, 1H, J < 0.5 Hz, H^{2'}), 7.47 (dd, 1H, J 11.7 and 15.2 Hz, PhC=CH olefinic), 7.61 (d, 1H, J 15.2 Hz, PhC olefinic), 7.91 (br.s, 1H, NH), 8.02, 8.31 (2 × br.d, 4H, J 8.2 and 8.8 Hz, Ph), 8.06 (d, 1H, J 11.7 Hz, CH=CCN olefinic)

MS, m/e (rel. intensity, %): 331 (21) [M-OH-OH]⁺, 348 (47) [M-OH]⁺, 366 (100) [M+H]⁺, 383 (97) [M+NH₄]⁺

【0150】

実施例34: (E,E)-2-(1-アミノ-2,2-ジシアノエチニル)-3-(4-ニトロスチリル)アクリロニトリル (CR29)



化合物は、実施例3に記したように、4-ニトロシンナムアルデヒド(0.051g, 0.29mmol)を2-アミノ-1-プロペン-1,1,3-トリカルボニトリル(0.038g, 0.29mmol)に添加することに

より調製した。4時間の還流およびエタノールからの再結晶後、黄色固形物を得た(0.08g, 51%)。生成物は下記の分析データを生じた：

NMR (CD₃COCD₃, δ, ppm): 7.54 (dd, 1H, J 11.1 and 15.8 Hz, PhC=CH

olefinic), 7.67 (d, 1H, J 15.8 Hz, PhCH olefinic), 7.99 (d, 1H, J 11.1 Hz, CH=CCN

olefinic), 8.08, 8.32 (2 × br.d, 4H, J 8.8 and 8.8 Hz, Ph)

MS, m/e (rel. intensity, %): 309 (100) [M+NH₄]⁺, 314 (67) [M+Na]⁺

【 0 1 5 1 】

10

実施例35：培養物中の正常な骨髄分化に対するCR4の作用

CFU-GEMMアッセイ法を、FausserおよびMessnerの方法(Blood、52(6):143-8(1978))ならびにMessnerおよびFausserの方法(Blut、41(5):327-33(1980))に従い、若干変更の上行った。簡単に述べると、ヘパリン処理した骨髄細胞を、パーコール(Percoll)(1.077gm/ml)(Pharmacia Fine Chemical社、ピスカタウェイ、NJ)上に積層し、4 で、400g、10分間遠心し、好中球およびRBCを除去した。分画したBM細胞2x10⁵細胞/mlを、30% FCS(Cansera R exdale社、ON)または正常なヒト血漿、G-CSF(10ng/ml、Amgen社)、IL-3(40U/ml、Immunex社)、MGF(50ng/ml、Immunex社)、エリスロポエチン(2u/ml、Eprex社)またはTPO(10ng/ml、Amgen社)を含むサイトカインカクテル、5x10⁻⁵M -2-メルカプトエタノールおよび指定濃度のCR4を補充した、IMDM(OCI社、トロント)を含有する0.9%(容量/容量)メチルセルロースにおいて培養した。この培養混合液容量1mlを、35mmペトリ皿に中に入れ、湿潤大気中5%CO₂下で37 でインキュベーションした。全ての培養物を、14日目に、BFU-Eコロニー(500個以上のヘモグロビン含有細胞の凝集、または3個以上の赤血球サブコロニーとして定義)、CFU-GMコロニー(顆粒球または単球-マクロファージ細胞または両方として定義)、CFU-Megコロニー(4個以上の巨核球を含む)およびCFU-GEMMコロニー(全ての要素を含む混合集団)の数について評価した。

20

30

【 0 1 5 2 】

図1に示した結果は、CR4が、最大5μMの用量で、正常骨髄に対し無視できる毒性を示すことを明らかにしている。CR4は10μMで、BFU-Eコロニー形成の若干の阻害を引き起こしたが、同時に、CFU-GMコロニー数を有意に刺激した。

【 0 1 5 3 】

実施例36：培養物における低用量CR4によるフィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病の殺傷

Ph+ ALL細胞を、容量1mlで、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka社、スイス)中に MEM(Gibco社)+10-20%FCS(Cansera R exdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に、指定された濃度のCR4と共に入れた。培養物を、湿潤大気中、37 で、5%CO₂に放置した。20個より多い細胞を含むコロニーを、倒立顕微鏡を用い、12日目またはそれ以前に計測した。

【 0 1 5 4 】

図2に示した結果は、CR4が、低ナノモル用量(35-100)で、Ph+ ALL細胞の増殖および生存の有意な阻害作用を示すことを明らかにしている。CR4は、同等の濃度で正常細胞には作用を有さない。

40

【 0 1 5 5 】

実施例37：培養物における低用量CR4によるフィラデルフィア陽性Z119急性リンパ芽球性白血病細胞の殺傷

Z119細胞を、容量1ml、密度1x10⁴細胞/mlで、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka社、スイス)中にIMDM(OCI社、トロント)+20%FCS(Cansera R exdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc社、Gibco)に、指定された濃度のCR4と共に入れた。培養物を、湿潤大気中、37 で、5%CO₂に放置した。20個より多い細胞を含むコロニーを、倒立顕微鏡を用い、7日目またはそれ以前に計測した。

50

【0156】

図3に示した結果は、CR4が、低ナノモル用量で、Z119 ALL細胞増殖および生存の有意な阻害に作用することを明らかにしている。CR4は、同等の濃度で正常細胞には作用を有さない。

【0157】

実施例38：培養物における低用量CR4によるAML-3急性骨髄性白血病細胞の殺傷

OCI-AML-3細胞を、容量1mlで、密度 3.3×10^3 細胞/mlで、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース(Fluka社、スイス)中に MEM+20%FCS(Cansera Rexdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc社、Gibco)に、指定された濃度のCR4と共に入れた。細胞培養物を、湿潤大気中、37℃で、5%CO₂で培養した。20個より多い細胞を含むコロニーを、倒立顕微鏡を用い、5~6日目にスコア化した。

【0158】

図4に示した結果は、CR4が、低ナノモル用量(300-600nM)で、AML-3細胞増殖および生存の完全な阻害作用を示すことを明らかにしている。CR4は、同等の濃度で正常細胞には作用を有さない。

【0159】

実施例39：培養物における低用量CR4によるLy-MNリンパ腫細胞の殺傷

Ly-MN細胞を、容量1ml、密度 3.3×10^3 細胞/mlで、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース(Fluka社、スイス)中にIMDM(OCI社、トロント)+20%ヒト臍帯血血漿を含有する35mmペトリ皿(Nunc社、Gibco)に、指定された濃度のCR4と共に入れた。培養物を、湿潤大気中、37℃で、5%CO₂で培養した。20個より多い細胞を含むコロニーを、倒立顕微鏡を用い、5日目またはそれ以前に計測した。

【0160】

図5に示した結果は、CR4が、低ナノモル用量で、細胞の増殖および生存を有意に阻害し、2.5μMにより阻害作用を示したことを明らかにしている。CR4は、同等の濃度で正常細胞には作用を有さない。

【0161】

実施例40：培養物におけるCR4による原発性若年性骨髄単球性白血病細胞の殺傷

JMML患者由来のヘパリン処理した骨髄細胞を、パーコール(1.077g/ml)(Pharmacia Fine Chemical社、ピスカタウェイ、NJ)上に積層し、4℃で、400g、10分間遠心し、好中球およびRBCを除去した。細胞を更に分画し、Miltenyi MSカラム(Miltenyi Biotec社、独国)上で精製し、CD34⁺細胞の早期前駆体集団を獲得した。分画したBM CD34⁺細胞密度 1×10^4 細胞/mlで、30%FCS(Cansera Rexdale社、ON)を補充した、IMDM(OCI社、トロント)を含有する0.9% (容量/容量)メチルセルロースにおいて、指定濃度のCR4と共に培養した。この培養混合液容量1mlを、35mmペトリ皿に中に入れ、湿潤大気中5%CO₂下で37℃でインキュベーションした。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、12日目またはそれ以前に計測した。

【0162】

図6に示した結果は、CR4が、原発性JMML細胞に対し中等度の殺傷能力を示し、5μM濃度で80~90%阻害が達成されることを明らかにしている。

【0163】

実施例41：培養物における低用量CR4によるOCI-LY2リンパ腫細胞の殺傷

OCI-LY2細胞容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース(Fluka社、スイス)中にIMDM(OCI、トロント)+20%ヒト臍帯血血漿を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に、指定された用量のCR4と共に入れた。培養物を、湿潤大気中、37℃で、5%CO₂に放置した。20個より多い細胞を含むコロニーを、倒立顕微鏡を用い、5日目またはそれ以前に計測した。

【0164】

図7に示した結果は、CR4が、高ナノモルから低マイクロモルの用量で、有意に細胞の増殖および生存を阻害する(2.5μMで90%)ことを明らかにしている。CR4は、同等の濃度で

正常細胞には作用を有さない。

【0165】

実施例42：培養物におけるCR17およびCR21によるフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷

ALL細胞容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース (Fluka社、スイス)中に MEM(Gibco社) + 20% FCS(Cansera Rexdale社、ON)ならびに指定された濃度の化合物を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に入れた。培養物を、湿潤大気中、37℃で、5% CO₂に放置した。20個よりも多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、12日目またはそれ以前に計測した。

【0166】

図8に示した結果は、CR17が、濃度1~2.5 μMで細胞増殖の有意な阻害を示すことを明らかにしている。CR21は、5 μMで細胞増殖を阻害した。 10

【0167】

実施例43：培養物におけるCR17およびCR21によるフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷

ALL細胞容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース (Fluka社、スイス)中に MEM(Gibco社) + 20% FCS(Cansera Rexdale社、ON)ならびに指定された濃度の化合物を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に入れた。培養物を、湿潤大気中、37℃で、5% CO₂に放置した。20個よりも多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、12日目またはそれ以前に計測した。

【0168】

図9に示した結果は、CR17およびCR21が両方とも、濃度1~2.5 μMで細胞増殖の有意な阻害を示すことを明らかにしている。 20

【0169】

実施例44：培養物におけるCR24によるフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷

ALL細胞容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース (Fluka社、スイス)中に MEM(Gibco社) + 20% FCS(Cansera Rexdale社、ON)ならびに指定された濃度のCR24を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に入れた。培養物を、湿潤大気中、37℃で、5% CO₂に放置した。20個よりも多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、9日目またはそれ以前に計測した。

【0170】

図10に示した結果は、CR24が、0.5 μMと低い濃度で、Ph+ALL細胞に対して有効であることを明らかにし、このことは2.5~5 μMの範囲で細胞増殖を事実上完全に阻害することを示している。 30

【0171】

実施例45：培養物におけるCR19によるフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷

ALL細胞容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9% (容量/容量)メチルセルロース (Fluka社、スイス)中に MEM(Gibco社) + 20% FCS(Cansera Rexdale社、ON)ならびに指定された濃度のCR19を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に入れた。培養物を、湿潤大気中、37℃で、5% CO₂に放置した。20個よりも多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、9日目またはそれ以前に計測した。

【0172】

図11に示した結果は、CR19が、250~500nMのナノモル濃度範囲で、Ph+ ALL細胞に対して非常に有効であることを明らかにした。 40

【0173】

実施例46：培養物中の正常な骨髄分化に対するCR19の作用

CFU-GEMMアッセイ法を、FauserおよびMessnerの論文(Blood、52(6):1243-8(1978))ならびにMessnerおよびFauserの論文(Blut、41(5):327-33(1980))に従い、若干変更の上行った。簡単に述べると、ヘパリン処理した骨髄細胞を、パーコール(1.077g/ml)(Pharmacia Fine Chemical社、ピスカタウェイ、NJ)上に積層し、4℃で、400g、10分間遠心し、好中球およびRBCを除去した。分画したBM細胞2x10⁵細胞/mlを、30% FCS(Cansera Rexdale社、ON)または正常なヒト血漿、G-CSF(10ng/ml、Amgen社)、IL-3(40U/ml、Immunex社)、MGF(5 50

0ng/ml、Immunex社)、エリスロポエチン(2u/ml、Eprex社)またはTPO(10ng/ml、Amgen社)を含むサイトカインカクテル、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ -2-メルカプトエタノールおよび指定濃度のCR19を補充した、IMDM(OCI社、トロント)を含有する0.9%(容量/容量)メチルセルロースにおいて培養した。この培養混合液容量1mlを、35mmペトリ皿に中に入れ、湿潤大気中5%CO₂下で37℃でインキュベーションした。全ての培養物を、14日目に、BFU-Eコロニー(500個より多いヘモグロビン含有の細胞の凝集、または3個以上の赤血球サブコロニーとして定義)およびCFU-Cコロニー(顆粒球または単球-マクロファージ細胞または両方として定義)の数について決定した。

【0174】

図12に示した結果は、CR19が、2.5μMでBFU-Eコロニー出現の有意な阻害を示すが、この濃度で、これはCFU-Cコロニー形成は増強した。5μMで、刺激作用は消滅し、BFU-Eコロニーは事実上存在しない。

10

【0175】

実施例47：正常な骨髄分化に対するCR24、CR17およびCR21の作用

CFU-GEMMアッセイ法を、FauserおよびMessnerの論文(Blood、52(6):1243-8(1978))ならびにMessnerおよびFauserの論文(Blut、41(5):327-33(1980))に従い、若干変更の上行った(British Journal of Haematology、80:40-48(1992))。簡単に述べると、ヘパリン処理した骨髄細胞を、パーコール(1.077g/ml)(Pharmacia Fine Chemical社、ピスカタウェイ、NJ)上に積層し、4℃で、400g、10分間遠心し、好中球およびRBCを除去した。分画したB M細胞 2×10^5 細胞/mlを、30%FCS(Cansera Rexdale社、ON)または正常なヒト血漿、G-CSF(10ng/ml、Amgen社)、IL-3(40U/ml、Immunex社)、MGF(50ng/ml、Immunex社)、エリスロポエチン(2u/ml、Eprex社)またはTPO(10ng/ml、Amgen社)を含むサイトカインカクテル、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ -2-メルカプトエタノールおよび指定濃度の被験化合物を補充した、IMDM(OCI社、トロント)を含有する0.9%(容量/容量)メチルセルロースにおいて培養した。この培養混合液容量1mlを、35mmペトリ皿に中に入れ、湿潤大気中5%CO₂下で37℃でインキュベーションした。全ての培養物を、14日目に、BFU-Eコロニー(500個より多いヘモグロビン含有の細胞の凝集、または3個以上の赤血球サブコロニーとして定義)およびCFU-Cコロニー(顆粒球または単球-マクロファージ細胞または両方として定義)の数について決定した。

20

【0176】

図13に示した結果は、CR24は、10または20μMのいずれかの濃度で、骨髄コロニー形成の最小阻害を示すのに対し、CR17およびCR21は両方とも、より高い20μM用量で、BFU-Eコロニー形成の阻害を引き起した。

30

【0177】

実施例48：正常骨髄のCR4によるインビトロパーズング

ヘパリン処理した骨髄細胞を、パーコール(1.077g/ml)(Pharmacia Fine Chemical社、ピスカタウェイ、NJ)上に積層し、4℃で、400g、10分間遠心し、好中球およびRBCを除去した。

【0178】

パーズング処理のために、細胞を 1×10^6 細胞/mlで、50μM CR4を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁した。細胞を、CR4と共に2.5時間、5%CO₂下で37℃でインキュベーションした。この期間の最後に、細胞を培地で完全に洗浄し、CR4を除去し、その後、30%FCS(Cansera Rexdale社、ON)または正常なヒト血漿、G-CSF(10ng/ml、Amgen社)、IL-3(40U/ml、Immunex社)、MGF(50ng/ml、Immunex社)、エリスロポエチン(2u/ml、Eprex社)またはTPO(10ng/ml、Amgen社)を含むサイトカインカクテル、ならびに $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ -2-メルカプトエタノールを補充した、IMDM(OCI社、トロント)を含有する0.9%(容量/容量)メチルセルロースにおいて培養した。この培養物混合液容量1mlを、35mmペトリ皿に中に入れ、湿潤大気中5%CO₂下で37℃で培養した。全ての培養物を、14日目に、BFU-Eコロニー(500個より多いヘモグロビン含有の細胞の凝集、または3個以上の赤血球サブコロニーとして定義)、CFU-Cコロニー(顆粒球または単球-マクロファージ細胞または両方として定義)およびCFU-GEMMコロニー(全ての要素を含む混合集団)の数について決定した。

40

50

【0179】

図14に示した結果は、50 μ M CR4への2.5時間の曝露は、コロニー形成の有意な阻害を生じなかったことを明らかにした。BFU-Eコロニーのわずかな低下が生じる一方で、CFU-Cコロニー数は、実際に有意に増加した。

【0180】

実施例49：Z119急性リンパ芽球性白血病のCR4によるインビトロパーズィング

パーズィングアッセイ法のために、細胞を、指定されたようにCR4を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁し、0~5時間、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cでインキュベーションした。その後、細胞を培地で完全に洗浄し、CR4を除去し、再懸濁し、容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka、スイス)中にMEM(Gibco社)+20%FCS(Cansera Rexdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc, Gibco社)に中に入れた。培養物は、湿潤大気において5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cに放置した。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、9日目またはそれ以前に計測した。

10

【0181】

図15に示した結果は、CR4は、試験した濃度で、Z119細胞の迅速な殺傷を示したことを明らかにしている。50 μ M CR4は、わずかに2.5時間の曝露後、完全な阻害を示したのに対し、25 μ M CR4により同じ時間で、85%殺傷が達成された。細胞の25 μ M CR4への5時間以上の曝露は、その後の細胞増殖の完全な除去を生じた。

【0182】

実施例50：OCI-Ly2リンパ腫細胞のCR4によるインビトロパーズィング

パーズィングアッセイ法のために、細胞を、指定されたようにCR4を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁し、0~5時間、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cでインキュベーションした。その後、細胞を培地で完全に洗浄し、CR4を除去し、再懸濁し、5x10³細胞/mlで容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka、スイス)中にIMDM(OCI、トロント)+20%ヒト臍帯血血漿を含有する35mmペトリ皿(Nunc, Gibco社)に中に入れた。培養物は、湿潤大気において5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cに放置した。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、5日目またはそれ以前に計測した。

20

【0183】

図16に示した結果は、CR4は、25~50 μ Mで、曝露のわずかに5時間後で、OCI-Ly2細胞の有意な殺傷(90%)を示したことを明らかにしている。より低い12.5 μ Mの被験用量も、同じ時間で有意な殺傷を達成した。

30

【0184】

実施例51：OCI-AML-3急性骨髄性白血病細胞のCR4によるインビトロパーズィング

パーズィングアッセイ法のために、細胞を、指定されたようにCR4を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁し、0~5時間、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cでインキュベーションした。その後、細胞を培地で完全に洗浄し、CR4を除去し、再懸濁し、5x10³細胞/mlで容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka、スイス)中にMEM(Gibco社)+10%FCS(Cansera Rexdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc, Gibco社)に中に入れた。培養物は、湿潤大気において5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cに放置した。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、5日目またはそれ以前に計測した。

40

【0185】

図17に示した結果は、CR4は、50 μ Mで、曝露のわずかに2.5~5時間後で、OCI-AML-3細胞の有意な殺傷を示したことを明らかにしている。より低い25 μ Mの被験用量も、同じ時間で有意な殺傷を達成した。

【0186】

実施例52：Ramos B細胞パーキットリンパ腫細胞のCR4によるインビトロパーズィング

パーズィングアッセイ法のために、細胞を、指定されたようにCR4を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁し、0~5時間、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cでインキュベーションした。その後、細胞を培地で完全に洗浄し、CR4を除去し、再懸濁し、容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka、スイス)中にRPMI 1640(Gibco社)+10

50

% FCS(Cansera Rexdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc, Gibco社)に中に入れた。培養物は、湿潤大気において5%CO₂下で37℃に放置した。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、12日目またはそれ以前に計測した。

【0187】

図18に示した結果は、CR4は、50μMで、5時間曝露後に、Ramos細胞の有意な殺傷(70%)を示したことを明らかにしている。

【0188】

実施例53：CR4によるHuNS1多発性骨髄腫の殺傷

HuNS1細胞密度 1×10^4 細胞/mlで容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、MEM(Gibco社) + 20%FCS(Cansera Rexdale社、ON)、および0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka、スイス)、ならびに指定された濃度のCR4を含有する35mmペトリ皿(Nunc, Gibco社)に中に入れた。培養物は、湿潤大気において5%CO₂下で37℃に放置した。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、5~6日目にスコア化した。

10

【0189】

図19に示した結果は、CR4は、高ナノモルから低マイクロモルで、細胞の増殖および生存を有意に阻害した(2.5μMで>90%)ことを明らかにしている。CR4は、同等の濃度で正常細胞への作用を有さなかった。

【0190】

実施例54：NOD-SCIDマウスにおけるフィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病のインビボ治療

20

NOD-SCIDマウスを放射線照射し(350rad)、 5×10^6 個のフィラデルフィア陽性Z119急性リンパ芽球性白血病細胞を注射した。24時間後、50%DMSO/培地中のCR4または50%DMSO/培地単独のいずれかの20mM溶液を含有する、Alzet微小浸透圧ポンプ(micro-osmotic pump)(Alza社、パロアルト、CA)を、皮下移植した。Alzet 2001ポンプを利用し、総容量200μlを維持しつつ、7~10日間にわたって1μl/時間で放出した。7日後にポンプを交換した。各マウスは、CR4を一日量0.154mgで受け取った。

【0191】

14日目(図20A)および21日目(図20B)に、マウスを屠殺し、骨髄を前肢および後肢から抽出した。1個の細胞の懸濁液を調製し、赤血球細胞を溶解し、試料を、PE標識したイソ型抗ヒトCD19抗体および抗-ヒトHLA-DR抗体で染色し、Z119細胞の存在を検出した。これらの抗体は、マウス細胞とは交差反応しなかった。

30

【0192】

14日目に、骨髄細胞培養物も、Z119細胞の存在についての評価を行った。 5×10^4 個のBM細胞を、FCS(Cansera Rexdale社、ON)および正常ヒト血漿の1:1の比の混合物からなる30%血清を補充した、IMDM(OCI、トロント)を含有する0.9%(容量/容量)メチルセルロースにおいて培養した。サイトカインは添加しなかった。これら条件下で、マウス細胞は増殖しなかった。この培養混合液の容量1mlを、35mmペトリ皿に入れ、湿潤大気において5%CO₂下で37℃でインキュベーションした。全ての培養物を、ALLコロニーの数について、9日目に評価した。

【0193】

図20Aおよび20Bに示した結果は、14および21日目の両屠殺時に、CR4処理した全てのマウスにおいて、DMSO処理した対照マウスと比べ、骨髄のALL浸潤の有意な低下が認められたことを明らかにしている。

40

【0194】

対照動物において、脾、肝および腎の大量浸潤に加え、末梢血中のALL細胞の存在が認められた。CR4による治療は、ALL細胞の骨髄への浸潤の90%低下に加え、臓器および血液へのALL浸潤を検出可能なレベル以下に低下した。

【0195】

従ってCR4は、濃度50nM~5μMの範囲で、急性リンパ芽球性白血病、フィラデルフィア陽性ALL、急性骨髄性白血病、骨髄腫およびB-細胞性リンパ腫を含む、様々な癌細胞に対

50

し非常に有効である。同時に、最小毒性は、濃度10~20 μ Mまたはそれ以上に達するまでのCR4存在下で、正常細胞がインキュベーションされた場合に認められた。CR4は、bcr-abl形質転換されたフィラデルフィア陽性細胞に対して特に活性があり、40nMと低い濃度で、>90%壊滅に達する。CR4は更に、フィラデルフィア陽性ALL、AMLおよびリンパ腫に対するインビトロパーズングアッセイ法において、高用量(25~50 μ M)で、非常に効果があり、2.5~5時間の曝露で増殖の>90%阻害を引き起す。同一用量および時間で、正常骨髄の増殖および分化は影響を受けなかった。CR4は、最小非特異性細胞傷害性の損傷と癌細胞に対する高レベル毒性の組合せを示した。

【0196】

CR4は同じく、動物全体モデル(実施例54)において高い作用を有した。これらの化合物は、良好な持続特性を示し、血中においてはI.V.注射の30分後も依然検出可能であった。ヒトPh+ALLのマウスモデルにおいて、CR4は、2週間以内に骨髄のALL浸潤の90%を超える低下を引き起し、肝、腎、脾および末梢血において検出レベル以下の浸潤ALL細胞の存在に低下した。対照的に、溶媒単独で処理した対照マウスは、これらの臓器全てにおいて大量の浸潤を示した。非特異的毒性の証拠は認められなかった。

10

【0197】

実施例55：正常骨髄のCR11によるインビトロパーズング

ヘパリン処理した骨髄細胞を、パーコール(1.077g/ml)(Pharmacia Fine Chemical社、ピスカタウェイ、NJ)上に積層し、4 \times で、400g、10分間遠心し、好中球およびRBCを除去した。

20

【0198】

パーズング処理のために、細胞を 1×10^6 細胞/mlで、50 μ M CR11を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁した。細胞を、トリリン酸スズ(tryrphostin)と共に7時間、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cでインキュベーションした。この期間の最後に、細胞を培地で完全に洗浄し、CR11を除去し、その後、30%FCS(Cansera Rexdale社、ON)または正常なヒト血漿、G-CSF(10ng/ml、Amgen社)、IL-3(40U/ml、Immunex社)、MGF(50ng/ml、Immunex社)、エリスロポエチン(2u/ml、Epprex社)またはTPO(10ng/ml、Amgen社)を含むサイトカインカクテル、ならびに 5×10^{-5} M β -2-メルカプトエタノールを補充した、IMDM(OCI社、トロント)を含有する0.9%(容量/容量)メチルセルロースにおいて培養した。この培養物混合液容量1mlを、35mmペトリ皿に中に入れ、湿潤大気において培養した。全ての培養物を、14日目に、BFU-Eコロニー(500個より多いヘモグロビン含有の細胞の凝集、または3個以上の赤血球サブコロニーとして定義)、CFU-Cコロニー(顆粒球または単球-マクロファージ細胞または両方として定義)およびCFU-GEMMコロニー(全ての要素を含む混合集団)の数について評価した。

30

【0199】

図21に示した結果は、50 μ M CR11への7時間の曝露は、コロニー形成の有意な阻害を生じなかったことを明らかにした。BFU-E、CFU-GEMMおよびCFU-Cコロニーは全て正常であった。

【0200】

実施例56：フィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病のCR11によるインビトロパーズング

パーズングアッセイ法のために、細胞を、指定されたようなCR11を含むまたは含まない完全培地中に再懸濁し、0~7時間、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cでインキュベーションした。その後細胞を培地で完全に洗浄し、CR11を除去し、再懸濁し、容量1mlを、外来性増殖因子を含まない、0.9%(容量/容量)メチルセルロース(Fluka、スイス)中にMEM(Gibco社)+20%FCS(Cansera Rexdale社、ON)を含有する35mmペトリ皿(Nunc、Gibco社)に中に入れた。培養物は、湿潤大気において5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cに放置した。20個より多い細胞からなるコロニーを、倒立顕微鏡を用い、9日目またはそれ以前に計測した。

40

【0201】

図22に示した結果は、CR11は、50 μ Mで、7時間曝露後に、Ph+ALL細胞の完全な殺傷を示したことを明らかにしている。

50

【0202】

実施例57：フィラデルフィア(Ph+)ALL株Z119およびZ181(5x10⁶細胞/点)を溶解し、Bcr-AbI抗体で免疫沈降した

沈殿を、溶解緩衝液で2回、キナーゼアッセイ緩衝液で1回洗浄し、可変濃度のCR4を含有する同一緩衝液中に再懸濁した。沈殿を、該薬物と共に10分間室温でインキュベーションし、その後10 μ Ci ³³P ATPを添加した。20分後にSDS-PAGE分解試料(reducing sample)緩衝液を添加し反応を停止し、8~16% SDS-PAGEゲル上で分離した。生成物を、ニトロセルロース膜上に移し、オートラジオグラフィにより視認した。

【0203】

図23に示した結果は、Bcr-AbIキナーゼ活性が、Z199およびZ181の両ALL細胞株において、濃度1~10 μ MのCR4化合物で効果的にブロックされたことを示している。 10

【0204】

実施例58：フィラデルフィア(Ph+)ALL株Z119(5x10⁶細胞/点)を異なる濃度のCR4共に5時間予備インキュベーションし、Jak2抗体で免疫沈降した

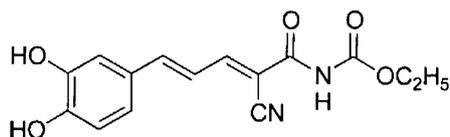
細胞を溶解緩衝液で溶解し、Jak2抗体で免疫沈降した。沈殿を、溶解緩衝液で2回、キナーゼアッセイ緩衝液で1回洗浄し、その後10 μ Ci ³³P ATPを添加した。20分後にSDS-PAGE分解試料緩衝液を添加し反応を停止し、8~16% SDS-PAGEゲル上で分離した。生成物を、ニトロセルロース膜上に移し、オートラジオグラフィにより視認した。

【0205】

図24に示した結果は、Jak2キナーゼ活性が、6 μ Mの濃度で劇的に阻害され、更により高い濃度でブロックされたことを示している。 20

【0206】

実施例59：(E,E)-[2-シアノ-5-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-ペンタ-2,4-ジエノイル]カルバミン酸エチルエステル



【0207】

この化合物は、3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド(32mg, 0.2mmol)をN-シアノアセチルウレタン(32mg, 0.2mmol)へ添加することにより、実施例3に説明されたように調製した。1時間還流後、エタノール-水から再結晶し、オレンジ色固形物を得た(54mg, 90%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

NMR (CD₃C(O)CD₃, δ , ppm): 1.28; 4.21 (t and q, J 7.1 Hz, COOEt), 6.92 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 7.08 (dd, 1H, J 11.5 and 15.2 Hz, PhC=CH), 7.12 (dd, 1H, J 2.2 and 8.2 Hz, H⁶), 7.25 (d, 1H, J 2.2 Hz, H²), 7.44 (d, 1H, J 15.2 Hz, PhCH=C), 8.08 (d, 1H, J 11.5 Hz, CH=CCN)

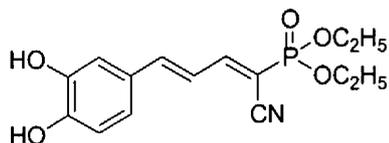
MS, m/e (rel.intensity, %): 303 (100) [M+H]⁺, 320 (23) [M+NH₄]⁺, 325 (24) [M+Na]⁺

【0208】

実施例60：(E,E)-(1-シアノ-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-ブタ-1,3-ジエニル)ホスホン酸ジエチルエステル

30

40



【 0 2 0 9 】

この化合物は、3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド (32mg, 0.2mmol) を、シアノメチルホスホン酸のジエチルエステル (34mg, 0.2mmol) へ添加することにより、実施例3に説明されたように調製した。3時間還流後、エタノール-水から再結晶し、オレンジ色固形物を得た (45mg, 70%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

10

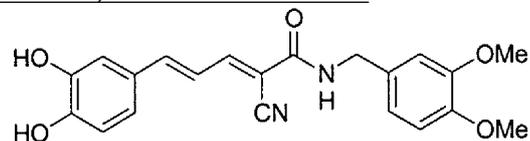
NMR ($\text{CD}_3\text{C}(\text{O})\text{CD}_3$, δ , ppm): 1.35; 4.18 (2 × m, 10H, $\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$), 6.91 (d, 1H, J 8.2 Hz, H^5), 7.07 (ddd, 1H, J 1.9, 11.5 and 15.2 Hz, $\text{PhC}=\text{CH}$), 7.11 (dd, 1H, J 2.1 and 8.2 Hz, H^6), 7.24 (d, 1H, J 2.1 Hz, H^2), 7.42 (d, 1H, J 15.2 Hz, $\text{PhCH}=\text{C}$), 7.80 and 7.84 (2 × d, 2 × 0.5H, J 11.5 Hz, $\text{CH}=\text{CCN}$)

MS, m/e (rel.intensity, %): 324 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 341 (62) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

【 0 2 1 0 】

実施例61：(E,E)-2-(3,4-ジメトキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシチリル)アクリロニトリル

20



【 0 2 1 1 】

エタノール8mL中の3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド (32mg, 0.2mmol) およびN-(シアノアセチル)3,4-ジメトキシベンジルアミド (47mg, 0.2mmol) へ、ピペリジン40 μ lを添加し、この混合物を室温で1時間放置した。2N HClおよび水を添加し、沈殿した固形物をエタノール-水から再結晶し、オレンジ色固形物52mgを得た (68%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

30

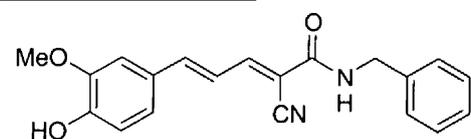
NMR ($\text{CD}_3\text{C}(\text{O})\text{CD}_3$, δ , ppm): 3.79; 3.80 (2 × s, 6H, $\text{Ph}'(\text{OCH}_3)_2$), 4.46 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{Ph}'$), 6.89 (d, 1H, J 8.3 Hz, H^5), 6.90; 7.01 (2 × m, 2H, Ph'), 7.05 (dd, 1H, J 11.7 and 15.2 Hz, $\text{PhC}=\text{CH}$), 7.07 (dd, 1H, J 2.1 and 8.3 Hz, H^6), 7.21 (d, 1H, J 2.1 Hz, H^2), 7.34 (d, 1H, J 15.2 Hz, $\text{PhCH}=\text{C}$), 8.00 (d, 1H, J 11.7 Hz, $\text{CH}=\text{CCN}$)

MS, m/e (rel.intensity, %): 381 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 398 (26) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

40

【 0 2 1 2 】

実施例62：(E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシチリル)アクリロニトリル



【 0 2 1 3 】

この化合物は、エタノール中の4-ヒドロキシ-3-メトキシシナムアルデヒド (35mg, 0.

50

2mmol)およびN-(シアノアセチル)ベンジルアミド(34mg, 0.2mmol)の溶液に、ピペリジンを添加することにより、実施例37に説明されたように調製した。エタノール-水から再結晶後、黄色固形物を得た(50mg, 75%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 3.92 (s, 3H, OMe), 4.55 (s, 2H, CH₂Ph'), 6.91

(d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 7.14 (dd, 1H, J 11.6 and 15.1 Hz, PhC=CH), 7.20 (dd, 1H, J

2.1 and 8.2 Hz, H⁶), 7.25; 7.31-7.42 (2 × m, 5H, Ph'), 7.35 (d, 1H, J 15.1 Hz,

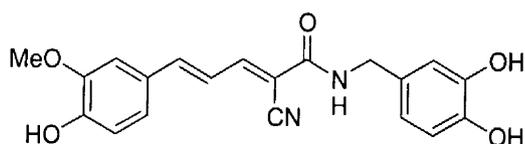
PhCH=C), 7.37 (d, 1H, J 2.1 Hz, H²), 8.02 (d, 1H, J 11.6 Hz, CH=CCN)

MS, m/e (rel.intensity, %): 335 (100) [M+H]⁺, 352 (30) [M+NH₄]⁺

10

【 0 2 1 4 】

実施例63：(E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシスチリル)アクリロニトリル



【 0 2 1 5 】

この化合物は、エタノール中の4-ヒドロキシ-3-メトキシシナムアルデヒド(35mg, 0.2mmol)およびN-(シアノアセチル)3,4-ジヒドロキシベンジルアミド(40mg, 0.2mmol)の溶液に、ピペリジンを添加することにより、実施例37に説明されたように調製した。エタノール-水から再結晶後、黄色固形物を得た(53 mg, 72%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 3.92 (s, 3H, OMe), 4.38 (s, 2H, CH₂Ph'), 6.68

(dd, 1H, J 2.1 and 8.1 Hz, H⁶), 6.76 (d, 1H, J 8.1 Hz, H⁵), 6.86 (d, 1H, J 2.1 Hz,

H²), 6.91 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 7.13 (dd, 1H, J 11.6 and 15.3 Hz, PhC=CH), 7.20

(dd, 1H, J 2.1 and 8.2 Hz, H⁶), 7.37 (d, 1H, J 2.1 Hz, H²), 7.39 (d, 1H, J 15.3 Hz,

PhCH=C), 8.00 (d, 1H, J 11.6 Hz, CH=CCN)

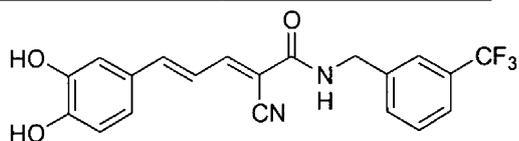
MS, m/e (rel.intensity, %): 367 (100) [M+H]⁺, 384 (45) [M+NH₄]⁺, 389 (24)

[M+Na]⁺

30

【 0 2 1 6 】

実施例64：(E,E)-2-((3-トリフルオロメチル)ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル



【 0 2 1 7 】

この化合物は、エタノール中の3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド(35mg, 0.2mmol)および2-シアノ-N-(3-トリフルオロメチルベンジル)アセトアミド(48mg, 0.2mmol)の溶液に、ピペリジンを添加することにより、実施例37に説明されたように調製した。エタノール-水から再結晶後、黄色固形物を得た(54mg, 70%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

40

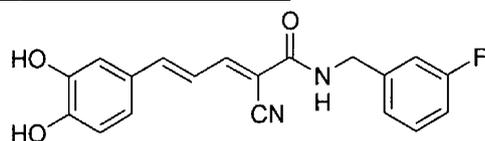
50

NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 4.65 (s, 2H, CH₂Ph'), 6.90 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 7.05 (dd, 1H, J 11.6 and 15.1 Hz, PhC=CH), 7.08 (dd, 1H, J 2.2 and 8.2 Hz, H⁶), 7.22 (d, 1H, J 2.2 Hz, H²), 7.36 (d, 1H, J 15.1 Hz, PhCH=C), 7.60; 7.70 (2 × m, 2 × 2H, Ph'), 8.02 (d, 1H, J 11.6 Hz, CH=CCN)

MS, m/e (rel.intensity, %): 389 (100) [M+H]⁺, 406 (60) [M+NH₄]⁺

【 0 2 1 8 】

実施例 65 : (E,E)-2-(3-フルオロベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル 10



【 0 2 1 9 】

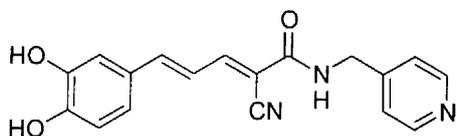
この化合物は、エタノール中の3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド(35mg, 0.2mmol) および2-シアノ-N-(3-フルオロベンジル)アセトアミド(38mg, 0.2mmol)の溶液に、ピペリジン 20
ジンを添加することにより、実施例37に説明されたように調製した。エタノール-水から
再結晶後、黄色固形物を得た(51mg, 75%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 4.56 (s, 2H, CH₂Ph'), 6.90 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 7.02; 7.14; 7.20; 7.36 (4 × m, 4 × 1H, Ph'), 7.05 (dd, 1H, J 11.7 and 15.3 Hz, PhC=CH), 7.07 (dd, 1H, J 2.2 and 8.2 Hz, H⁶), 7.22 (d, 1H, J 2.2 Hz, H²), 7.35 (d, 1H, J 15.3 Hz, PhCH=C), 8.01 (d, 1H, J 11.7 Hz, CH=CCN)

MS, m/e (rel.intensity, %): 339 (100) [M+H]⁺, 356 (12) [M+NH₄]⁺

【 0 2 2 0 】

実施例 66 : (E,E)-2-((ピリジン-4-イルメチル)アミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシ 30
スチリル)アクリロニトリル



【 0 2 2 1 】

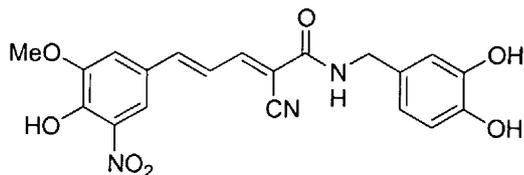
この化合物は、3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド(32mg, 0.2mmol)の2-シアノ-N-ピ 40
リジン-4-イルメチルアセトアミド(33mg, 0.2mmol)への添加により、実施例3に説明され
たように調製した。2時間還流後、エタノール-水から再結晶し、オレンジ色固形物を得た
(44mg, 69%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 4.59 (s, 2H, CH₂Ph'), 6.91 (d, 1H, J 8.2 Hz, H⁵), 7.07 (dd, 1H, J 11.7 and 15.3 Hz, PhC=CH), 7.09 (dd, 1H, J 2.2 and 8.2 Hz, H⁶), 7.23 (d, 1H, J 2.2 Hz, H²), 7.37 (d, 1H, J 15.3 Hz, PhCH=C), 7.38 (m, 2H, H^{2'}+H^{6'}), 8.04 (d, 1H, J 11.7 Hz, CH=CCN), 8.51 (m, 2H, H^{3'}+H^{5'})

MS, m/e (rel.intensity, %): 284 (30), 322 (100) [M+H]⁺

【 0 2 2 2 】

実施例 67 : (E,E)-2-(3,4-ジヒドロキシベンジルアミノカルボニル)-3-(3-メトキシ-4-ヒドロキシ-5-ニトロスチリル)アクリロニトリル



【 0 2 2 3 】

この化合物は、3-メトキシ-4-ヒドロキシ-5-ニトロシナムアルデヒド (22mg, 0.1mmol) (10) のN-(シアノアセチル)3,4-ジヒドロキシベンジルアミド (21mg, 0.1mmol) への添加により、実施例3に説明されたように調製した。4時間還流後、エタノール-水から再結晶し、オレンジ色固形物を得た (19mg, 46%)。この生成物は、下記の分析データを示した：

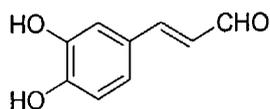
NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 4.02 (s, 3H, OMe), 4.38 (s, 2H, CH₂Ph'), 6.69

(dd, 1H, J 2.1 and 8.0 Hz, H⁶), 6.76 (d, 1H, J 8.0 Hz, H⁵), 6.87 (d, 1H, J 2.1 Hz, H²), 7.29 (dd, 1H, J 11.5 and 15.3 Hz, PhC=CH), 7.47 (d, 1H, J 15.3 Hz, PhCH=C), 7.74 (d, 1H, J 1.9 Hz, H²), 7.90 (d, 1H, J 1.9 Hz, H⁶), 8.02 (d, 1H, J 11.5 Hz, CH=CCN)

MS, m/e (rel.intensity, %): 293 (30), 412 (100) [M+H]⁺, 429 (35) [M+NH₄]⁺

【 0 2 2 4 】

実施例 68 : 3,4-ジヒドロキシシナムアルデヒド (A_{1,2})



【 0 2 2 5 】

3,4-ビス(t-ブチルジメチルシリルオキシ)シナミルアルコールA₉ (実施例10) (7.88g, 20mmol) を、CH₂Cl₂ 1000mLに溶解し、活性化したMnO₂ 17.2g(200mmol)を添加し、この混合物を24時間20 で激しく攪拌した。MnO₂を濾過除去し、濾液を乾固した。3,4-ジBDMSカフェオイルアルデヒドを得るために、CHCl₃ 250mLを添加し、その後n-Bu₄NF-水和物 (11.6g, 40mmol)を添加した。この混合物を、20 で30分間攪拌し、5% HCl 300mLで後処理した。クロロホルム層を分離し、H₂Oで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、乾固した。残渣を、シリカゲルカラムで、溶離液MeOH-CHCl₃ (1:4) + 1% AcOHを用い、精製した。溶媒を蒸発させ、結晶質の残渣を、CHCl₃で洗浄し、アルデヒドA_{1,2}、収量1.77g(54%)を得た。この生成物は、下記の分析データを示した：

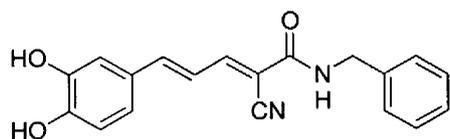
NMR (CD₃C(O)CD₃, δ, ppm): 6.54 (dd, J 7.7, 15.8 Hz, H_α olefinic), 6.91 (d,

J 8.2 Hz, H⁵), 7.12 (br.d, J 8.2 Hz, H⁶), 7.21 (br.s, H²), 7.52 (d, J 15.8 Hz, H_β

olefinic), 9.62 (d, J 7.7 Hz, CHO)

【 0 2 2 6 】

実施例 69 : (E,E)-2-(ベンジルアミノカルボニル)-3-(3,4-ジヒドロキシスチリル)アクリロニトリル (CR4) - 方法C



【0227】

エタノール8mL中の3,4-ジヒドロキシシシナムアルデヒドA₁₂(実施例59)(32mg, 0.2mmol)およびアミドA₃(実施例4)(32mg, 0.2mmol)へ、ピペリジン40μlを添加し、この混合物を室温で1時間放置した。2N HClおよび水を添加し、沈殿した固形物を、エタノール-水から再結晶し、オレンジ色固形物を得た(44mg, 68%)。この分析データは、実施例8に説明されたように調製した化合物と同じであった。

10

【0228】

本発明は、現在好ましい実施例と考えられるものを参照し説明されているが、本発明は明らかにされた実施例に限定されるものではないことは理解されるべきである。対照的に、本発明は、添付の特許請求の範囲の精神および範囲内である様々な修飾および同等の変更を含むことが意図されている。

【0229】

全ての刊行物、特許、および特許明細書は、各々の刊行物、特許、および特許明細書が個別にその全体が本明細書に参照として組み入れられるのと同程度にその全体が本明細書に参照として組入れられる。

20

【図面の簡単な説明】

【0230】

【図1】培養物中の正常な骨髄分化に対するCR4の作用を示す棒グラフである。

【図2】低用量CR4による培養物中のフィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病の殺傷を示す棒グラフである。

【図3】低用量CR4による培養物中のフィラデルフィア陽性Z119急性リンパ芽球性白血病細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図4】低用量CR4による培養物中のAML-3急性骨髄性白血病細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図5】低用量CR4による培養物中のLy-MNリンパ腫細胞の殺傷を示す棒グラフである。

30

【図6】CR4による培養物中の原発性若年性骨髄単球性白血病細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図7】低用量CR4による培養物中のOCI-LY2リンパ腫細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図8】CR17およびCR21による培養物中のフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図9】CR17およびCR21による培養物中のフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図10】CR24による培養物中のフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷を示す棒グラフである。

【図11】CR19による培養物中のフィラデルフィア陽性ALL細胞の殺傷を示す棒グラフである。

40

【図12】培養物中の正常な骨髄分化に対するCR19の作用を示す棒グラフである。

【図13】正常な骨髄分化に対するCR24、CR17、およびCR21の作用を示す棒グラフである。

【図14】CR4による正常骨髄のインビトロパーキングの作用を示す棒グラフである。

【図15】CR4によるZ119急性リンパ芽球性白血病のインビトロパーキングの作用を示す棒グラフである。

【図16】CR4によるOCI-Ly2リンパ腫細胞のインビトロパーキングの作用を示す棒グラフである。

【図17】CR4によるOCI-AML-3急性骨髄性白血病細胞のインビトロパーキングの作用を示

50

す棒グラフである。

【図18】CR4によるRamos B細胞型パーキットリンパ腫細胞のインビトロパーズィングの作用を示す棒グラフである。

【図19】低用量CR4による培養物中のHuNS1多発性骨髄腫細胞の殺傷を示す棒グラフである。

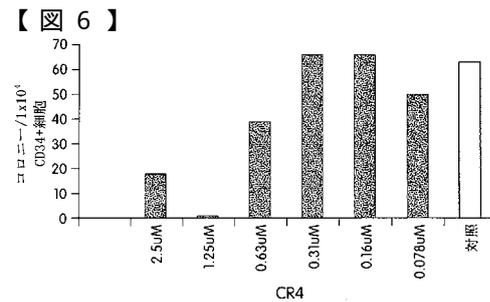
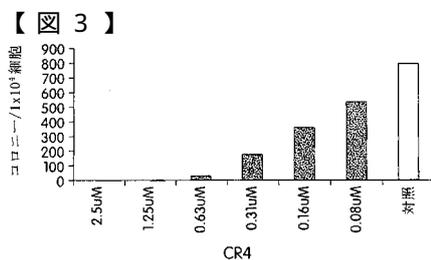
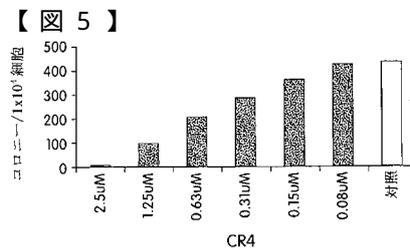
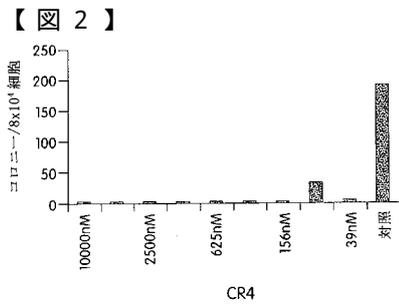
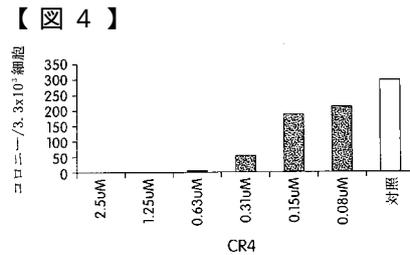
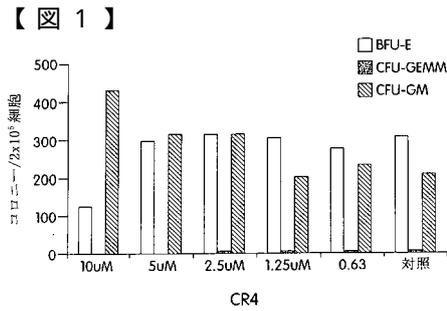
【図20】AおよびBは、NOD-SCIDマウスにおけるフィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病のインビボ処理後の細胞染色を示すグラフである。

【図21】CR11による正常骨髄のインビトロパーズィングの作用を示す棒グラフである。

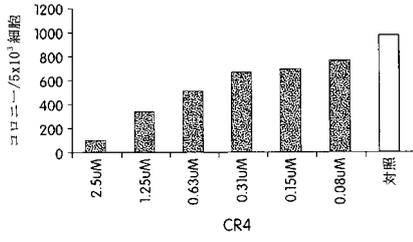
【図22】CR11によるフィラデルフィア陽性急性リンパ芽球性白血病のインビトロパーズィングの作用を示す棒グラフである。

【図23】Bcr-Abl抗体により免疫沈降したフィラデルフィア(Ph+)ALL株Z119およびZ181(5×10^6 細胞/点)を示すオートラジオグラフである。

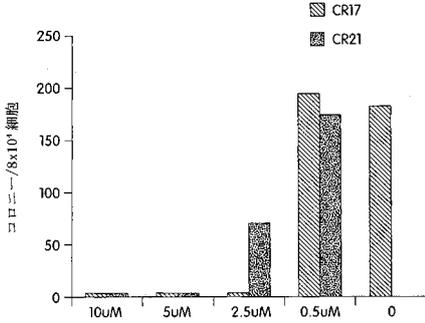
【図24】Jak2抗体により免疫沈降したフィラデルフィア(Ph+)ALL株Z119(5×10^6 細胞/点)を示すオートラジオグラフである。



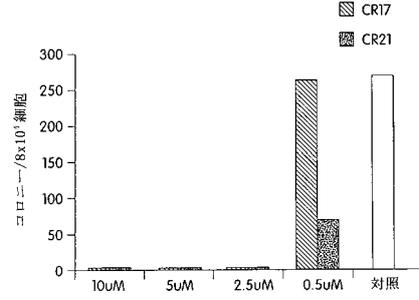
【 図 7 】



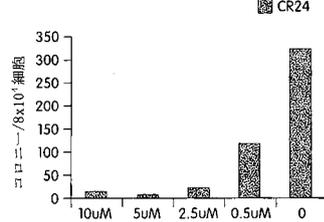
【 図 8 】



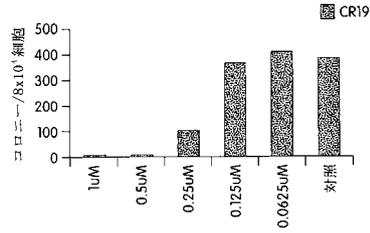
【 図 9 】



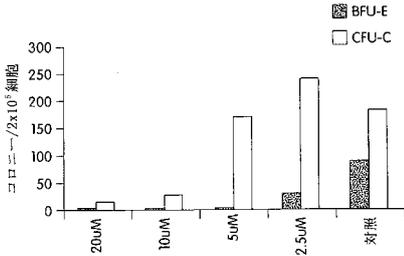
【 図 10 】



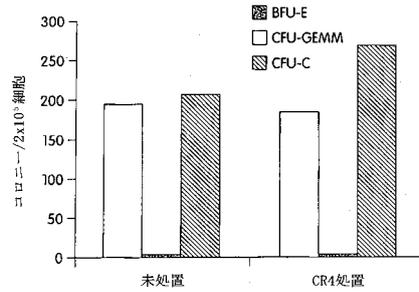
【 図 11 】



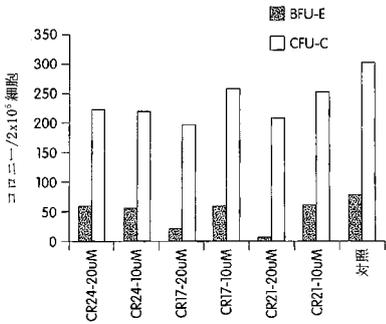
【 図 12 】



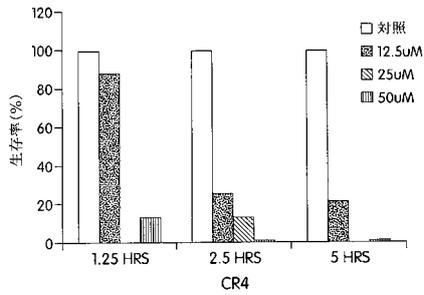
【 図 14 】



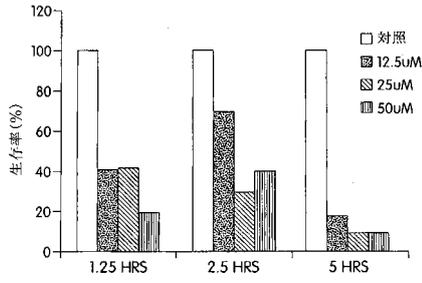
【 図 13 】



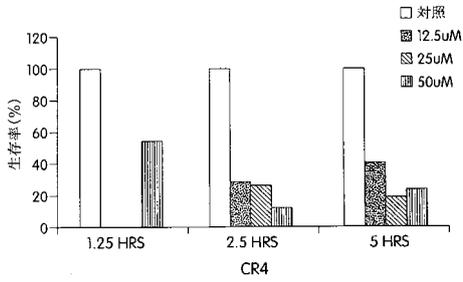
【 図 15 】



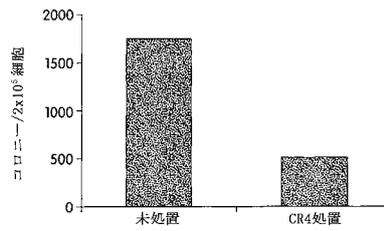
【 図 16 】



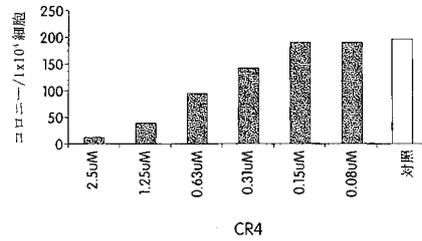
【 図 17 】



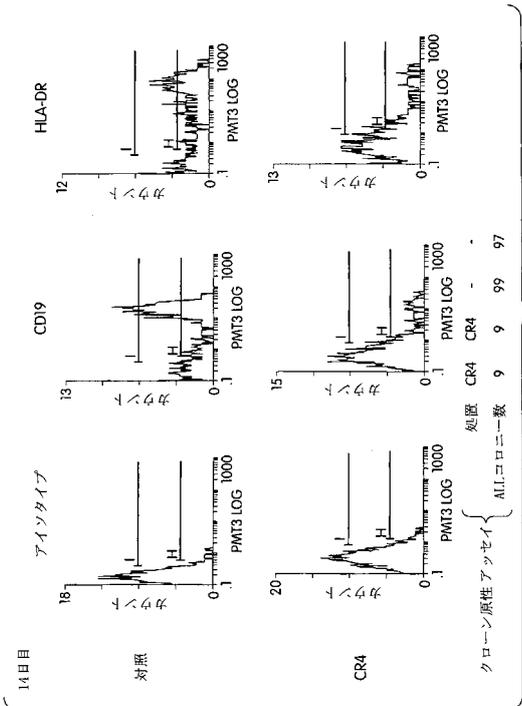
【 図 18 】



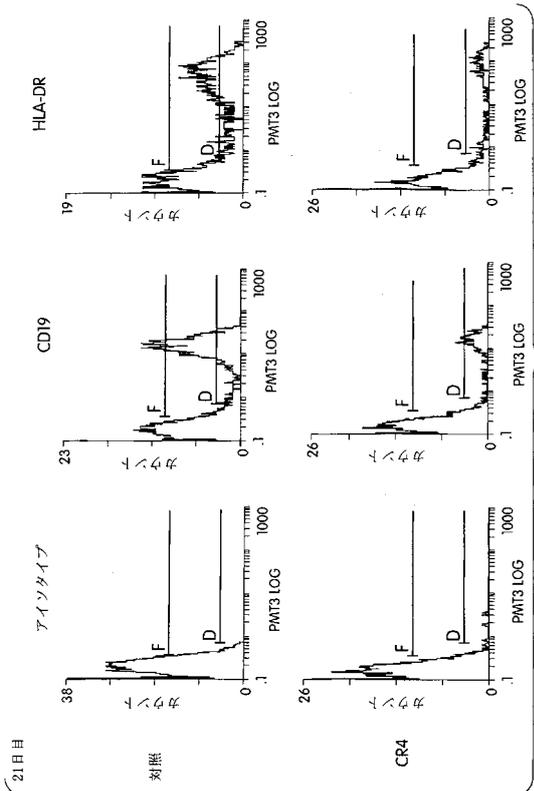
【 図 19 】



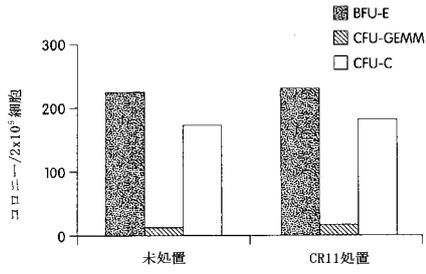
【 図 20 A 】



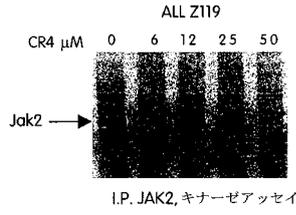
【 図 20 B 】



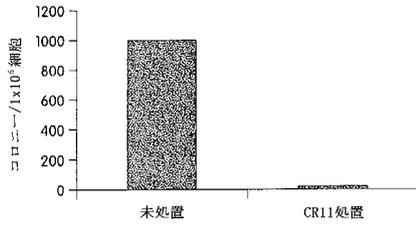
【 図 2 1 】



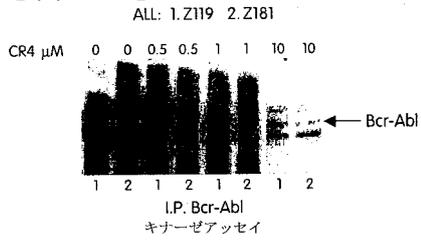
【 図 2 4 】



【 図 2 2 】



【 図 2 3 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2005/000423
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7): C07F 9/40, C07C 255/29, C07C 255/10, C07C 317/32, C07D 213/40, C07D 317/60, C07D 307/54, C07F 7/02, A61P 35/00, A61P 35/02, A61K 31/277, A61K 31/662, A61K 31/36, A61K 31/44, A61K 31/341, A61K 31/695, C07C 255/14, C07C 255/13, C07C 255/34		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(7): C07F 9/40, C07C 255/29, C07C 255/10, C07C 317/32, C07D 213/40, C07D 317/60, C07D 307/54, C07F 7/02, A61P 35/00, A61P 35/02, A61K 31/277, A61K 31/662, A61K 31/36, A61K 31/44, A61K 31/341, A61K 31/695, C07C 255/14, C07C 255/13, C07C 255/34 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) Canadian Patent database, United States Patent database, European Patent database, Delphion		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CA 2406160 (Roifman et al.) October 25, 2001	1-37
X	CA 2463133 (Roifman et al.) April 17, 2003	1-22, 30
X	CA 2473763 (Roifman et al.) July 31, 2003	1-11, 16-37
X	EP 0335641 (Taketani et al.) October 4, 1989	1-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 May 2005 (11-05-2005)		Date of mailing of the international search report 18 May 2005 (18-05-2005)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001(819)953-2476		Authorized officer Wesley Sharman (819) 934-2326

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2005/000423

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
CA2406160	25-10-2001	AU4820101 A	30-10-2001
		BR0110087 A	17-02-2004
		CN1429202 A	09-07-2003
		EP1272457 A2	08-01-2003
		GB0226316D D0	18-12-2002
		JP2003531133T T	21-10-2003
		US6800659 B2	05-10-2004
		US2004072803 A1	15-04-2004
		US2004209845 A1	21-10-2004
		WO0179158 A2	25-10-2001
		CA2463133	17-04-2003
US2005014690 A1	20-01-2005		
WO03030895 A1	17-04-2003		
CA2473763	31-07-2003	BR0307000 A	03-11-2004
		EP1467967 A1	20-10-2004
		GB0418331D D0	22-09-2004
		WO03062190 A1	31-07-2003
EP0335641	04-10-1989	DE68911969D D1	17-02-1994
		JP1245230 A	29-09-1989
		JP1288831 A	21-11-1989
		JP1300234 A	04-12-1989
		JP2073236 A	13-03-1990
		JP2073237 A	13-03-1990
		JP2074931 A	14-03-1990
		JP2077025 A	16-03-1990
		JP2134622 A	23-05-1990
		JP2134623 A	23-05-1990
		JP2135427 A	24-05-1990
		JP2138163 A	28-05-1990
		JP2171731 A	03-07-1990
		US5196147 A	23-03-1993

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2005/000423

Continuation of Box II:

Claims 1-37 relate to an extremely large number of possible compounds, compositions and uses thereof. Support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found however for only a very small proportion of the defined compounds, compositions and uses thereof. In the present application, the claims so lack support and the specification so lacks disclosure that a meaningful search over the whole of the claimed scope is not possible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be supported and disclosed, namely those parts that relate to the compounds defined in claim 20.

It is stressed that the initial phase of the search revealed a very large number of documents that call into question the novelty and inventive step involved in claims 1-20. Only the most relevant of these documents have been cited in the search report. As a result, a meaningful search over the whole of the defined scope of claims 1-37 is not possible and the search has been limited as described above.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2005/000423**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons :

1. Claim Nos. : 30 - 37
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :

Although claims 30 to 37 are directed to methods of medical treatment of the human/animal body, the search has been carried out based on the alleged effects of the compounds of claims 1 to 20 on modulating cell proliferation.
2. Claim Nos. : 1-37
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically :

see additional sheet
3. Claim Nos. :
because they are dependant claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows :

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos. :
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos. :

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I		テーマコード(参考)
C 0 7 F 7/18 (2006.01)	C 0 7 F	7/18	P
C 0 7 F 9/38 (2006.01)	C 0 7 F	9/38	D
A 6 1 K 31/275 (2006.01)	A 6 1 K	31/275	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 デーミン ピーター

カナダ国 オンタリオ州 トロント ハイ パーク アベニュー 4 1 4 - 4 0

(72) 発明者 フレイウォルド アンドリュー

カナダ国 オンタリオ州 ソーンヒル ニュー ウェストミンスター ドライブ 7 3 5 ユニ
ト 5 4

(72) 発明者 グランバーガー トーマス

カナダ国 オンタリオ州 トロント ロビングローブ ロード 6 3

(72) 発明者 ルノバ オルガ

カナダ国 オンタリオ州 トロント ハイ パーク アベニュー 4 1 4 - 4 0

(72) 発明者 シャーフ ナイジェル

カナダ国 オンタリオ州 トロント アジール ストリート 6 2

F ターム(参考) 4C206 AA01 AA02 AA03 HA12 MA01 MA04 MA43 MA55 MA57 MA72

MA75 MA76 MA79 MA80 MA86 NA13 ZA20 ZB26 ZB27

4H006 AA01 AA03 AB28 TA02 TB53

4H049 VN01 VP02 VQ41 VR23 VR41 VU07

4H050 AA01 AA03 AB28