

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5478262号
(P5478262)

(45) 発行日 平成26年4月23日(2014.4.23)

(24) 登録日 平成26年2月21日(2014.2.21)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/551 (2006.01)	A 6 1 K 31/551
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
C O 7 D 495/14 (2006.01)	C O 7 D 495/14 E

請求項の数 15 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2009-548121 (P2009-548121)	(73) 特許権者	000002956
(86) (22) 出願日	平成20年12月26日(2008.12.26)		田辺三菱製薬株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2008/073864		大阪府大阪市中央区北浜二丁目6番18号
(87) 国際公開番号	W02009/084693	(74) 代理人	100080791
(87) 国際公開日	平成21年7月9日(2009.7.9)		弁理士 高島 一
審査請求日	平成23年11月29日(2011.11.29)	(74) 代理人	100125070
(31) 優先権主張番号	特願2007-339456 (P2007-339456)		弁理士 土井 京子
(32) 優先日	平成19年12月28日(2007.12.28)	(74) 代理人	100136629
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		弁理士 鎌田 光宜
		(74) 代理人	100121212
			弁理士 田村 弥栄子
		(74) 代理人	100122688
			弁理士 山本 健二
		(74) 代理人	100117743
			弁理士 村田 美由紀

最終頁に続く

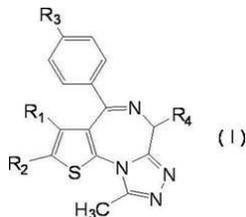
(54) 【発明の名称】 抗癌剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記一般式(I)

【化1】



(式中、R₁ は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R₂ は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R₃ はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル；-NR₅-(CH₂)_m-R₆ (ここで、R₅ は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、m は 0 ~ 4 の整数、R₆ はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)；又は-NR₇-CO-(CH₂)_n-R₈ (ここで、R₇ は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、n は 0 ~ 2 の整数、R₈ はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)、

R₄ は -(CH₂)_a-CO-NH-R₉ (ここで、a は 1 ~ 4 の整数、R₉ は炭素数

1 ~ 4 のアルキル；炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル；炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ；又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ （ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル）を示す。）

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分とする 癌腫を縮小若しくは消滅させるか又は癌腫を増大させないための薬剤。

【請求項 2】

一般式 (I) 中の置換基 R_4 が結合している不斉炭素原子の立体配置が S 配置である請求項 1 に記載の薬剤。

10

【請求項 3】

一般式 (I) 中、 R_1 がメチルである請求項 1 又は 2 に記載の薬剤。

【請求項 4】

一般式 (I) 中、 R_2 がメチルである請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の薬剤。

【請求項 5】

一般式 (I) 中、 R_3 が塩素原子、シアノフェニル、フェニルアミノ又はフェネチルカルボニルアミノである請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の薬剤。

【請求項 6】

一般式 (I) 中、 R_4 がヒドロキシフェニルアミノカルボニルメチル又はメトキシカルボニルメチルである請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の薬剤。

20

【請求項 7】

一般式 (I) で示される化合物が (S) - 2 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル] - N - (4 - ヒドロキシフェニル) アセトアミド若しくはその 2 水和物、

メチル (S) - { 4 - (3' - シアノビフェニル - 4 - イル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート、

メチル (S) - { 2 , 3 , 9 - トリメチル - 4 - (4 - フェニルアミノフェニル) - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート又は

30

メチル (S) - { 2 , 3 , 9 - トリメチル - 4 - [4 - (3 - フェニルプロピオニルアミノ) フェニル] - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタートである請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の薬剤。

【請求項 8】

癌が血液癌、骨髄腫、肝癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、骨肉腫又は大腸癌である請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の薬剤。

【請求項 9】

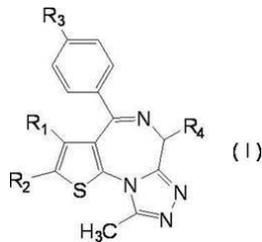
(S) - 2 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル] - N - (4 - ヒドロキシフェニル) アセトアミド又はその 2 水和物を有効成分とする 肺癌を縮小若しくは消滅させるか又は肺癌を増大させないための薬剤。

40

【請求項 10】

下記一般式 (I)

【化 2】



(式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$ (ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 m は 0 ~ 4 の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)；又は $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$ (ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 n は 0 ~ 2 の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)、

R_4 は $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$ (ここで、 a は 1 ~ 4 の整数、 R_9 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル；炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル；炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ；又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ (ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル)を示す。)

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分とするアセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合阻害剤。

【請求項 1 1】

アセチル化ヒストンがアセチル化ヒストン H 3 又はアセチル化ヒストン H 4 である請求項 1 0 に記載の結合阻害剤。

【請求項 1 2】

アセチル化ヒストンがアセチル化ヒストン H 4 である請求項 1 0 又は 1 1 に記載の結合阻害剤。

【請求項 1 3】

プロモドメイン含有タンパク質が BET ファミリータンパク質である請求項 1 0 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の結合阻害剤。

【請求項 1 4】

BET ファミリータンパク質が BRD 2、BRD 3、BRD 4 又は BRD t である請求項 1 3 に記載の結合阻害剤。

【請求項 1 5】

BET ファミリータンパク質が BRD 2、BRD 3 又は BRD 4 である請求項 1 3 又は 1 4 に記載の結合阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物を有効成分とする抗癌剤、より具体的にはチエノトリアゾロジアゼピン化合物を有効成分とする抗癌剤に関する。

【背景技術】

【0002】

ヒストン (histone) は、ヒトをはじめとする多細胞生物から真菌類 (カビ・酵母) に代表される単細胞生物に至るまで、真核細胞の核内に共通に存在し、ゲノム DNA

10

20

30

40

50

とイオン結合する塩基性タンパク質である。ヒストンは通常5種類の成分(H1、H2A、H2B、H3およびH4)からなっており、生物種を越えて高度に類似している。例えばヒストンH4の場合、出芽酵母ヒストンH4(全長102アミノ酸配列)とヒトヒストンH4(全長102アミノ酸配列)では92%のアミノ酸配列が一致し、相違はわずか8残基である。1生物中に数万種類存在すると想定されている天然タンパク質の中で、ヒストンは真核生物種間で最も高度に保存されたタンパク質であることが知られている。ゲノムDNAはこのヒストンとの規則的な結合により折り畳まれており、両者の複合体は、ヌクレオソームという基本的な構造単位を形成する。そして、このヌクレオソームが凝集することによって染色体のクロマチン構造が形成されている。ヒストンはヒストンテールと呼ばれるN末端部分で、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化、及びSUMO化などの修飾を受け、クロマチン構造を維持又は特異的に構造変換することによって遺伝子発現、DNA複製、DNA修復等の染色体DNA上で生じる反応がコントロールされている。ヒストンの翻訳後修飾は後成的な調節メカニズムであり、真核細胞の遺伝子調節に対して必須であると考えられている。例えば、ヒストンのアセチル化は一对の修飾酵素(すなわちヒストンアセチル化酵素と脱アセチル化酵素)によりコントロールされている。通常は脱アセチル化酵素が優位に働き、ヒストンは脱アセチル化状態に保たれているが、細胞が刺激を受け活性化するとヒストンアセチル化酵素によってヒストンのリジン残基のアミノ基がアセチル化され、アミノ基の正電荷が中和されることによってヌクレオソーム間の相互作用が緩み、転写因子がリクルートされて転写が開始する。

10

【0003】

20

一方、ヒストンのアセチル化リジンに結合するタンパク質のドメイン構造としてプロモドメインが知られている。ヒトでは三十数種類のプロモドメイン含有タンパク質が存在する。この中で、アセチル化ヒストンH3/H4と相互作用するタンパク質にBRD2、BRD3、BRD4がある。これらの中で、BRD4は細胞周期や遺伝子発現に関するタンパク質であることが知られている。(非特許文献1:Nature 399, 491-496, 1999)(非特許文献2:JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol.282 No.18 13141-13145, 2007)。このBRD4は分子内に2つのbromodomainと1つのextraterminal domainを有するBET(bromodomain and extraterminal)ファミリータンパク質に属する。BRD4以外のBETファミリータンパク質としては、ヒト由来ではBRD2、BRD3、BRD4が知られている。これまでに、これらBETファミリータンパク質とアセチル化ヒストンとの結合を阻害する化合物は知られていない。

30

【0004】

ヒストンのアセチル化に関連して、ヒストン脱アセチル化酵素を阻害する化合物が腫瘍細胞の細胞周期停止、分化誘導やアポトーシス誘導活性を示すことが知られている(非特許文献3:Exp.Cell Res.,177,122-131, 1988、非特許文献4:Cancer Res.,47,3688-3691, 1987)。しかしながら、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物が腫瘍細胞に影響を及ぼすか否かについては、これまで一切報告がない。

【0005】

近年、胸腺、気道、肺などの体中上部組織における上皮性細胞癌(midline carcinoma)にBRD4-NUT融合タンパク質が発現する例があり、この融合タンパク質の発現が認められる患者は放射線治療と化学療法に抵抗性を示して患者の予後が悪いことが知られている(非特許文献6:Cancer Research vol.63 January 15 2003 p304-307、非特許文献7:Journal of clinical oncology Vol. 22 No. 20 October 15 2004 p4135-4139)。また、midline carcinomaにおいて第9番染色体と第15番染色体とのt(9;15)染色体転座によってBRD3タンパク質とNUTタンパク質との融合タンパク質BRD3-NUTも形成されることが報告されている。BRD3-NUT融合タンパク質、BRD4-NUT融合タンパク質を各々発現している患者由来の癌細胞株において、その融合タンパク質の発現をsiRNAによって遺伝学的に阻害すると、その癌細胞の増殖は停止することが報告されている(非特許文献8:Oncogene advance online publication 15 October 2007

40

50

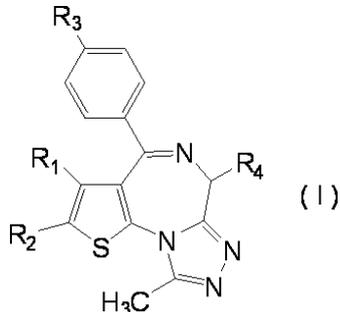
; doi: 10.1038/sj.onc.1210852)。よって、これらの融合タンパク質の機能を阻害する薬剤は抗癌剤として期待されるが、アセチル化ヒストンと融合タンパク質上に存在するプロモドメインとの結合を阻害することで、これら融合タンパク質の機能が阻害されるという報告はない。

【 0 0 0 6 】

一方、下記一般式 (I)

【 0 0 0 7 】

【化 1】



10

【 0 0 0 8 】

(式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

20

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$ (ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 m は 0 ~ 4 の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)；又は $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$ (ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 n は 0 ~ 2 の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)

R_4 は $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$ (ここで、 a は 1 ~ 4 の整数、 R_9 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル；炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル；炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ；又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ (ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル)を示す。) 30

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物は、細胞接着阻害作用を有し、炎症性腸疾患に有用であること、又はT細胞上のCD28からの共刺激シグナルを阻害する作用を有し、移植時における拒絶反応、自己免疫疾患、アレルギー性疾患に有用であることが知られている(特許文献1：国際公開パンフレット WO98/11111号、特許文献2：国際公開パンフレット WO2006/129623号)。しかしながら、これらの化合物がアセチル化ヒストンとBETファミリータンパク質との結合を阻害する作用を有すること、及び抗癌作用を有することについては一切知られていない。

【 0 0 0 9 】

【特許文献1】国際公開パンフレット WO98/11111号

40

【特許文献2】国際公開パンフレット WO2006/129623号

【非特許文献1】Nature 399, p491-496, 1999

【非特許文献2】JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol.282 No.18 p13141-13145, 2007

【非特許文献3】Exp.Cell Res.,177, p122-131, 1988

【非特許文献4】Cancer Res.,47, p3688-3691, 1987

【非特許文献5】American Journal of Pathology Vol. 159 No. 6, p1987-1992 December 2001

【非特許文献6】Cancer Research vol.63, p304-307 January 15 2003

【非特許文献7】Journal of clinical oncology Vol. 22 No. 20, p4135-4139 October 15 2004

50

【非特許文献 8】Oncogene advance online publication 15 October 2007; doi: 10.1038/sj.onc.1210852

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明の課題は新規な抗癌剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは上記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物、好ましくは以下の一般式 (I) で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として用いることで、新規な抗癌剤を提供できることを見出し、本発明を完成するに至った。

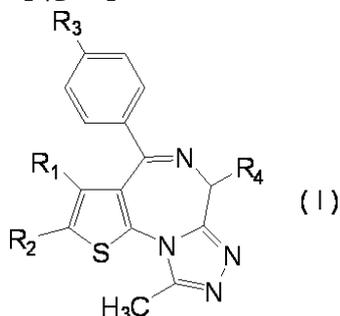
すなわち、本発明の要旨は以下の通りである。

【0012】

1. アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分とする抗癌剤、
2. アセチル化ヒストンがアセチル化ヒストン H3 又はアセチル化ヒストン H4 である 1 に記載の抗癌剤、
3. アセチル化ヒストンがアセチル化ヒストン H4 である 1 又は 2 に記載の抗癌剤。
4. プロモドメイン含有タンパク質が BET ファミリータンパク質である 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の抗癌剤、
5. BET ファミリータンパク質が BRD2、BRD3、BRD4 又は BRD4t である 4 に記載の抗癌剤、
6. BET ファミリータンパク質が BRD2、BRD3 又は BRD4 である 4 又は 5 に記載の抗癌剤、
7. アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物が下記一般式 (I)

【0013】

【化 2】



【0014】

(式中、R₁ は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R₂ は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R₃ はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル；-NR₅-(CH₂)_m-R₆ (ここで、R₅ は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、m は 0 ~ 4 の整数、R₆ はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)；又は-NR₇-CO-(CH₂)_n-R₈ (ここで、R₇ は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、n は 0 ~ 2 の整数、R₈ はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)、

R₄ は -(CH₂)_a-CO-NH-R₉ (ここで、a は 1 ~ 4 の整数、R₉ は炭素数

10

20

30

40

50

1 ~ 4 のアルキル；炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル；炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ；又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ （ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル）を示す。）

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物である 1 ~ 6 のいずれか 1 つに記載の抗癌剤、

8 . 一般式 (I) 中の置換基 R_4 が結合している不斉炭素原子の立体配置が S 配置である 7 に記載の抗癌剤、

9 . 一般式 (I) 中、 R_1 がメチルである 7 又は 8 に記載の抗癌剤、

10 . 一般式 (I) 中、 R_2 がメチルである 7 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の抗癌剤。 10

11 . 一般式 (I) 中、 R_3 が塩素原子、シアノフェニル、フェニルアミノ、フェネチルカルボニルアミノである 7 ~ 10 のいずれか 1 つに記載の抗癌剤、

12 . 一般式 (I) 中、 R_4 がヒドロキシフェニルアミノカルボニルメチル、メトキシカルボニルメチルである 7 ~ 11 のいずれか 1 つに記載の抗癌剤、

13 . 一般式 (I) で示される化合物が (S) - 2 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル] - N - (4 - ヒドロキシフェニル) アセトアミド若しくはその 2 水和物、

メチル (S) - { 4 - (3 ' - シアノビフェニル - 4 - イル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート、 20

メチル (S) - { 2 , 3 , 9 - トリメチル - 4 - (4 - フェニルアミノフェニル) - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート又は

メチル (S) - { 2 , 3 , 9 - トリメチル - 4 - [4 - (3 - フェニルプロピオニルアミノ) フェニル] - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタートである 7 ~ 12 のいずれか 1 つに記載の抗癌剤、

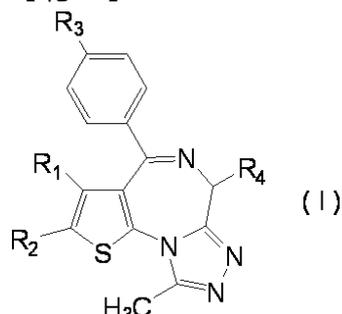
14 . 癌が血液癌、骨髄腫、肝癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、骨肉腫又は大腸癌である 1 ~ 13 のいずれか 1 つに記載の抗癌剤、 30

15 . (S) - 2 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル] - N - (4 - ヒドロキシフェニル) アセトアミド又はその 2 水和物を有効成分とする抗肺癌剤、

16 . 下記一般式 (I)

【 0 0 1 5 】

【 化 3 】



【 0 0 1 6 】

(式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコ 50

キシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$ （ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数1～4のアルキル、 m は0～4の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）；又は $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$ （ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数1～4のアルキル、 n は0～2の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）、

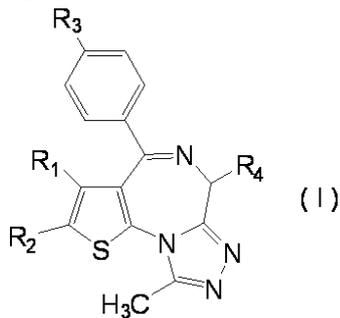
R_4 は $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$ （ここで、 a は1～4の整数、 R_9 は炭素数1～4のアルキル；炭素数1～4のヒドロキシルアルキル；炭素数1～4のアルコキシ；又は炭素数1～4のアルキル、炭素数1～4のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ （ここで、 b は1～4の整数、 R_{10} は炭素数1～4のアルキル）を示す。）

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分とする抗癌剤、

17. 下記一般式(I)

【0017】

【化4】



【0018】

(式中、 R_1 は炭素数1～4のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数1～4のアルキル、

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数1～4のアルキル、炭素数1～4のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$ （ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数1～4のアルキル、 m は0～4の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）；又は $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$ （ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数1～4のアルキル、 n は0～2の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）、

R_4 は $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$ （ここで、 a は1～4の整数、 R_9 は炭素数1～4のアルキル；炭素数1～4のヒドロキシルアルキル；炭素数1～4のアルコキシ；又は炭素数1～4のアルキル、炭素数1～4のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ （ここで、 b は1～4の整数、 R_{10} は炭素数1～4のアルキル）を示す。）

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分とするアセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合阻害剤、

18. 哺乳動物に対し、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする癌の治療方法、

19. 哺乳動物に対し、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する下記一般式(I)

【0019】

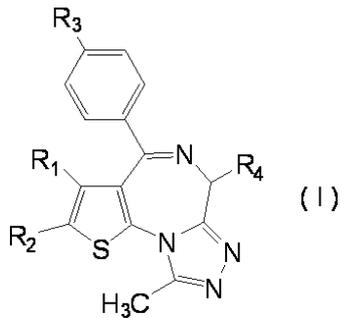
10

20

30

40

【化5】



【0020】

(式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5 - (CH_2)_m - R_6$ (ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 m は 0 ~ 4 の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)；又は $-NR_7 - CO - (CH_2)_n - R_8$ (ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 n は 0 ~ 2 の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)、

R_4 は $-(CH_2)_a - CO - NH - R_9$ (ここで、 a は 1 ~ 4 の整数、 R_9 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル；炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル；炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ；又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)又は $-(CH_2)_b - COOR_{10}$ (ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル)を示す。)

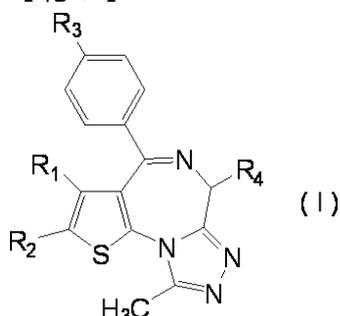
で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする癌の治療方法、

20. 癌の予防又は治療剤を製造するための、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用、

21. 癌の予防又は治療剤を製造するための、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する下記一般式 (I)

【0021】

【化6】



【0022】

(式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5 - (CH_2)_m - R_6$ (ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 m は 0 ~ 4 の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)；又は $-NR_7 - CO - (CH_2)_n - R_8$ (ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 n は 0 ~ 2 の整

10

20

30

40

50

数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)、

R_4 は $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$ (ここで、 a は 1 ~ 4 の整数、 R_9 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル; 炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル; 炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ; 又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル) 又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ (ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル) を示す。)

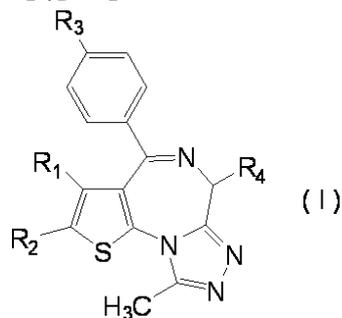
で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用、

22. 癌の予防又は治療方法に用いる、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物、

23. 癌の予防又は治療方法に用いる、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する下記一般式 (I)

【0023】

【化7】



【0024】

(式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子; ハロゲン原子; 又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_3 はハロゲン原子; ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$ (ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 m は 0 ~ 4 の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル); 又は $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$ (ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 n は 0 ~ 2 の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル)、

R_4 は $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$ (ここで、 a は 1 ~ 4 の整数、 R_9 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル; 炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル; 炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ; 又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル) 又は $-(CH_2)_b-COOR_{10}$ (ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル) を示す。)

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物。

【発明の効果】

【0025】

本発明によれば、新規な抗癌剤を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0026】

本発明により提供される抗癌剤は有効成分としてアセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物を含有している。ヒストンは既に述べたように 5 種類の成分からなっているが、本発明においては H3 又は H4 がアセチル化されたアセチル化ヒストン H3 又はアセチル化ヒストン H4 とプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物を有効成分として用いることが好ましい。プロモドメイン含有タンバ

10

20

30

40

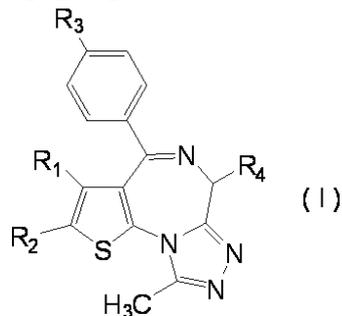
50

ク質に関しては、B E Tファミリーに属するタンパク質であることが好ましい。B E Tファミリータンパク質はヒト由来以外にも、ハエ由来、イースト菌由来のタンパク質などが知られているが本発明においてはヒト由来のB E Tファミリータンパク質とアセチル化ヒストンとの結合を阻害する化合物を有効成分として用いることが望ましい。ヒト由来のB E Tファミリータンパク質の具体例としては、B R D 2、B R D 3、B R D 4、B R D tを挙げることができ、B R D 2、B R D 3又はB R D 4を好ましい例として挙げることができる。よって、本発明において用いる有効成分として好ましい化合物は、アセチル化ヒストンH 3又はアセチル化ヒストンH 4（好ましくは、アセチル化ヒストンH 4）とB R D 2、B R D 3又はB R D 4との結合を阻害する化合物が挙げられる。

本発明において有効成分として用いる化合物の具体的な構造を挙げると、一例として以下の一般式（I）

【0027】

【化8】



【0028】

（式中、 R_1 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_2 は水素原子；ハロゲン原子；又はハロゲン原子若しくは水酸基で置換されていても良い炭素数 1 ~ 4 のアルキル、

R_3 はハロゲン原子；ハロゲン原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ若しくはシアノで置換されていても良いフェニル； $-NR_5 - (CH_2)_m - R_6$ （ここで、 R_5 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 m は 0 ~ 4 の整数、 R_6 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）；又は $-NR_7 - CO - (CH_2)_n - R_8$ （ここで、 R_7 は水素原子又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、 n は 0 ~ 2 の整数、 R_8 はハロゲン原子で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）、

R_4 は $-(CH_2)_a - CO - NH - R_9$ （ここで、 a は 1 ~ 4 の整数、 R_9 は炭素数 1 ~ 4 のアルキル；炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキル；炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ；又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ、アミノ若しくは水酸基で置換されていても良いフェニル若しくはピリジル）又は $-(CH_2)_b - COOR_{10}$ （ここで、 b は 1 ~ 4 の整数、 R_{10} は炭素数 1 ~ 4 のアルキル）を示す。）

で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物若しくはその医薬上許容しうる塩又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を挙げることができる。

【0029】

本明細書において、炭素数 1 ~ 4 のアルキルとは、直鎖又は分枝鎖のアルキルを意味し、例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチル、イソブチル、 t -ブチル等を挙げることができる。

【0030】

ハロゲン原子とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を意味する。

【0031】

炭素数 1 ~ 4 のアルコキシとは、直鎖又は分枝鎖のアルコキシを意味し、例えば、メトキシ、エトキシ、 n -プロポキシ、イソプロポキシ、 n -ブトキシ、イソブトキシ、 t -ブトキシ等を挙げることができる。

【0032】

炭素数 1 ~ 4 のヒドロキシアルキルとは、1 ~ 9 個の水酸基で置換されている上述した

10

20

30

40

50

炭素数 1 ~ 4 のアルキルを意味し、ヒドロキシメチル、ヒドロキシエチル等を具体例として挙げる事ができる。

【 0 0 3 3 】

R₁ の好ましい例としてはメチルを挙げる事ができる。

【 0 0 3 4 】

R₂ の好ましい例としては、ハロゲン原子、メチル及びヒドロキシメチルを挙げる事ができ、塩素原子、メチル及びヒドロキシメチルをより好ましい例として挙げる事ができる。最も好ましい例としてはメチルを挙げる事ができる。

【 0 0 3 5 】

R₃ の好ましい例としては、ハロゲン原子、メトキシフェニル、シアノフェニル、- N R₅ · - (C H₂)_m · - R₆ · (ここで、R₅ · は水素原子又はメチル、m' は 0 又は 1、R₆ · はフェニル、ピリジル又はフッ素原子で置換されたフェニル) 及び - N R₇ · - C O - (C H₂)_n · - R₈ · (ここで、R₇ · は水素原子、n' は 2、R₈ · はフェニル) を挙げる事ができ、塩素原子、シアノフェニル、フェニルアミノ及びフェネチルカルボニルアミノをより好ましい例として挙げる事ができる。最も好ましい例としては、塩素原子及び 3 - シアノフェニルを挙げる事ができる。

10

【 0 0 3 6 】

R₄ の好ましい例としては、- (C H₂)_a · - C O - N H - R₉ · (ここで、a' は 1、R₉ · はメチル、ヒドロキシエチル、メトキシ、アミノフェニル、ヒドロキシフェニル、ピリジル又はメトキシピリジル) 及び - (C H₂)_b · - C O O R₁₀ · (ここで、b' は 1、R₁₀ · はメチル又はエチル) を挙げる事ができ、ヒドロキシフェニルアミノカルボニルメチル、メトキシカルボニルメチルをより好ましい例として挙げる事ができる。最も好ましい例としては、4 - ヒドロキシフェニルアミノカルボニルメチル及びメトキシカルボニルメチルを挙げる事ができる。また、R₄ が結合している炭素原子は不斉炭素原子であり、その立体配置は S 配置、R 配置及びそれらの混合物のいずれでも良いが、S 配置であることが望ましい。

20

【 0 0 3 7 】

一般式 (I) で示される化合物の好ましい例としては、(S) - 2 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル] - N - (4 - ヒドロキシフェニル) アセトアミド及びその 2 水和物 (実施例中の化合物 1)、

30

メチル (S) - { 4 - (3' - シアノピフェニル - 4 - イル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート (実施例中の化合物 2)、

メチル (S) - { 2 , 3 , 9 - トリメチル - 4 - (4 - フェニルアミノフェニル) - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート (実施例中の化合物 8)、並びに

メチル (S) - { 2 , 3 , 9 - トリメチル - 4 - [4 - (3 - フェニルプロピオニルアミノ) フェニル] - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル } アセタート (実施例中の化合物 10)

40

が挙げられ、

(S) - 2 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 2 , 3 , 9 - トリメチル - 6 H - チエノ [3 , 2 - f] [1 , 2 , 4] トリアゾロ [4 , 3 - a] [1 , 4] ジアゼピン - 6 - イル] - N - (4 - ヒドロキシフェニル) アセトアミド及びその 2 水和物をより好ましい例として挙げる事ができる。

【 0 0 3 8 】

本発明において有効成分として用いることができる化合物は遊離形態の化合物のほか、医薬上許容しうる塩を用いてもよい。医薬上許容しうる塩としては、塩酸、硫酸、臭化水素塩、リン酸等の鉱酸との塩；メタンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、酢酸、シュウ酸、クエン酸、リンゴ酸、フマル酸等の有機酸との塩；ナトリウム、カリウム等のアル

50

カリ金属との塩；マグネシウム等のアルカリ土類金属との塩；アンモニア、エタノールアミン、2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール等のアミンとの塩が挙げられる。この他、医薬として許容されるものであれば塩の種類は特に限定されることはない。

【0039】

さらに、本発明において有効成分として用いることができる化合物は、溶媒和物として用いてもよい。溶媒和物としては、エタノール酢酸エチル等との溶媒和物が挙げられる。この他、医薬として許容されるものであれば、溶媒和物の種類は特に限定されることはない。

【0040】

式(I)で示される化合物はいずれも公知の化合物であり、国際公開パンフレット WO 98/11111号や国際公開パンフレット WO 2006/129623号公報などに記載された方法により当業者が容易に合成できる。

【0041】

本発明の有効成分は製薬上許容しうる担体（賦形剤、結合剤、崩壊剤等）と混合して得られる医薬組成物あるいは製剤（例えば、錠剤、液剤等）の形態で経口的又は非経口的に投与することができる。医薬組成物は通常の方法に従って製剤化することができる。

【0042】

有効成分の投与量は、年齢、体重、一般的健康状態、性別、食事、投与時間、投与方法、排泄速度、薬物の組合せ、患者のその時に治療を行っている病状の程度に応じ、それらあるいはその他の要因を考慮して決められる。具体例を挙げると、1日投与量は、患者の状態や体重、化合物の種類、投与経路等によって異なるが、例えば、経口的には0.01~1000mg/kg体重/日であり、一日1~数回に分けて投与され、また非経口的には約0.01~100mg/kg体重/日を一日1~数回に分けて投与するのが好ましい。

【0043】

本発明において提供される抗癌剤は適応される癌種を問わないが、具体例としては血液癌、骨髄腫、肝癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、骨肉腫、大腸癌、乳癌、皮膚癌、上皮性細胞癌（midline carcinoma）を挙げることができる。この中で好ましい癌種としては血液癌、骨髄腫、肝癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、骨肉腫、大腸癌を挙げることができ、血液癌、前立腺癌、肺癌、大腸癌をより好ましい例をとって挙げることができる。本発明において血液癌とはリンパ腫、白血病を含むものである。本発明において抗癌剤とは制癌剤、抗腫瘍剤等を含む概念であり、癌を予防及び/又は治療する目的で、癌腫を縮小若しくは消滅させるか又は癌腫を増大させない効果を有するものである。なお、本発明において、「予防」とは疾患を発症していない健康人に対して本発明の有効成分を投与する行為であり、例えば、疾患の発症を防止することを目的とするものである。「治療」とは医師により疾患を発症している診断された人（患者）に対して本発明の有効成分を投与する行為であり、例えば、疾患や症状を軽減すること、癌腫を増大させないこと又は疾患発症前の状態に戻すことを目的とするものである。また、投与の目的が疾患や症状の悪化防止又は癌腫の増大防止であっても、投与されるのが患者であれば、治療行為である。

【実施例】

【0044】

以下に、実施例を用いて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は以下の実施例によって限定されるものではない。

【0045】

合成例

以下に示す化合物1をWO98/11111号の実施例2、化合物2をWO2006/129623号の実施例8に記載の方法に準じて作成した。この他の化合物3~18についても同様に国際公開パンフレット WO98/11111号又は国際公開パンフレット WO2006/129623号の実施例に記載の方法に準じて合成した。

【0046】

10

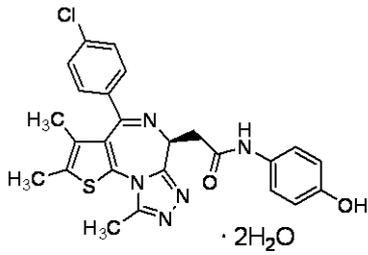
20

30

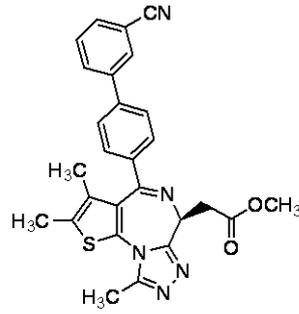
40

50

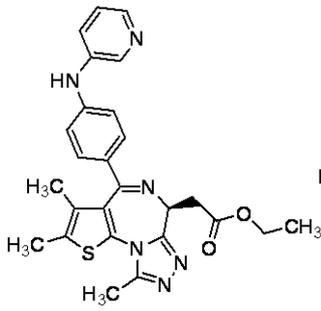
【化 9】



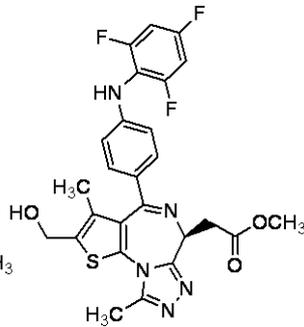
化合物 1



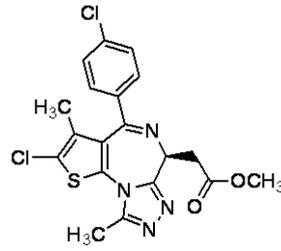
化合物 2



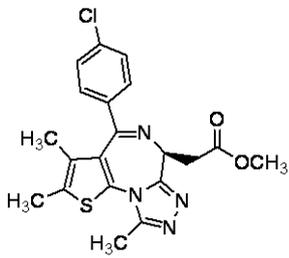
化合物 3



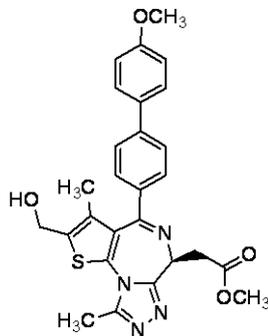
化合物 4



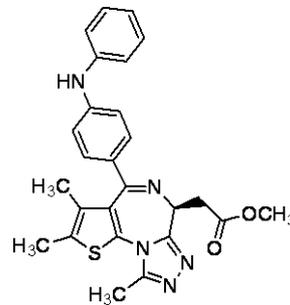
化合物 5



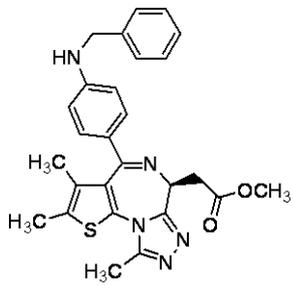
化合物 6



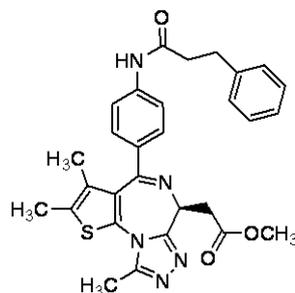
化合物 7



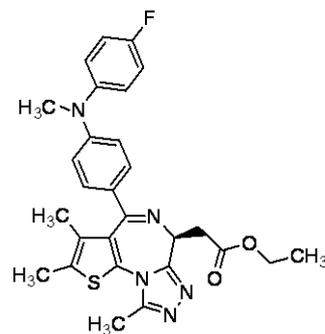
化合物 8



化合物 9



化合物 10



化合物 11

【 0 0 4 7 】

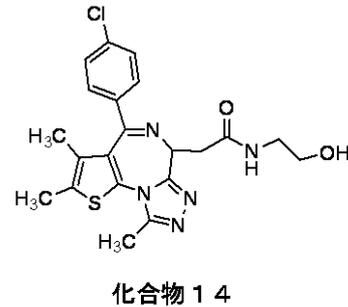
10

20

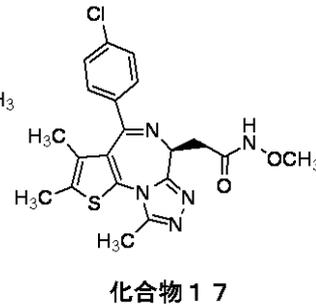
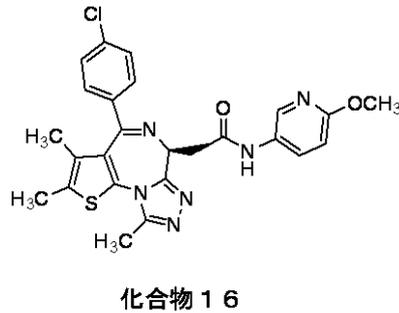
30

40

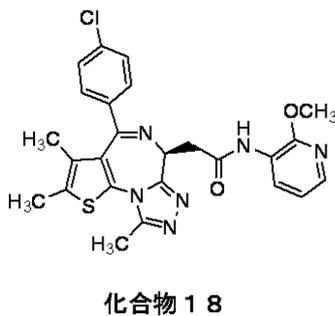
【化10】



10



20



【0048】

実施例1 アセチル化ヒストンH4とBRD2、3及び4との結合阻害試験

30

Flag-tagを付加したBRD2、3及び4のcDNAを含む発現ベクターをCHO細胞にトランスフェクトし、24時間後に細胞溶解液を調製した。アセチル化ヒストンH4とBRDとの結合はTime Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer (TR-FRET)法を用いて確認した。384-well white plate (Coaster社製)に50nmol/Lのビオチン標識アセチル化ヒストンH4ペプチド (Upstate社製)と段階希釈した被検化合物を加えた。さらに、BRD発現ベクターをトランスフェクトしたCHO細胞溶解液、ユーロピウム標識抗Flag抗体 (Cisbio社製)、及びXL-665標識アビジン (Cisbio社製)を加え、室温で30分から2時間反応させた。FRETによる蛍光をEnVision 2103 Multilabel Reader (Perkin Elmer社製)で測定した。結合阻害活性は、化合物非添加群のカウントに対する化合物添加群のカウントの減少率で表し、化合物の濃度を変えて求めたカウントの減少率と化合物の濃度をプロットした用量-反応曲線からIC₅₀値を求めた。

40

化合物1のIC₅₀(nmol/L)値はアセチル化ヒストンH4-BRD2が55.5、アセチル化ヒストンH4-BRD3が120.2、アセチル化ヒストンH4-BRD4が136.1であった。その他の化合物のIC₅₀値を表2に示した。

【0049】

実施例2 癌細胞に対する増殖抑制活性試験

10% Fetal bovine serumを含むRPMI 1640培地 (SIGMA社製)を用いて、ヒト前骨髄性白血病由来細胞株HL-60、ヒト急性リンパ芽球性白

50

血病由来細胞株MOLT4、ヒトバーキットリンパ腫由来細胞株Daudi、ヒト多発性骨髄腫由来細胞株RPMI-8226をそれぞれ37℃、5%CO₂下で培養した。また、10%Fetal bovine serumを含むISKOV培地(SIGMA社製)を用いて、ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株MV4-11を37℃、5%CO₂下で培養した。また、10%Fetal bovine serumを含むDMEM/F-12培地(SIGMA社製)を用いて、ヒト肺癌細胞由来細胞株EBC-1、ヒト肝細胞癌由来細胞株Kim-1、ヒト結腸癌由来細胞株HCT-116、ヒト前立腺癌由来細胞株PC-3、ヒト卵巣癌由来細胞株A2780、ヒト骨肉腫由来細胞株Saos2をそれぞれ37℃、5%CO₂下で培養した。これらの細胞を96穴プレートへ播種し、1日間培養した後、そこに培地で希釈した化合物を終濃度0.0003~10μM(最終DMSO濃度、0.4%)になるように添加した。更に3日間培養した後、WST-8(0.16mg/mL)を培養液に加えて2時間培養した。450nmの吸光度から650nmの吸光度を減じた値を測定した。増殖抑制活性は、化合物非添加群の吸光度に対する化合物添加群の吸光度の減少率で表し、化合物の濃度を変えて求めた吸光度の減少率と化合物の濃度をプロットした用量-反応曲線からGI₅₀値を求めた。

10

化合物1及び2のGI₅₀(μmol/L)値を表1に示した。

【0050】

【表1】

表1 化合物1及び2の癌種に対する細胞増殖抑制活性

20

細胞株由来癌種	細胞株名	細胞増殖抑制活性GI ₅₀ (μmol/L)	
		化合物1	化合物2
前骨髄性白血病	HL-60	0.149	0.007
慢性骨髄性白血病	MV4-11	0.0607	0.019
バーキットリンパ腫	Daudi	0.611	0.0674
多発性骨髄腫	RPMI-8226	0.1299	0.06944
肝細胞癌	Kim-1	0.569	0.1036
急性リンパ性白血病	MOLT-4	0.08	0.106
卵巣癌	A-2780	0.6191	0.1295
前立腺癌	PC-3	1.03	0.199
非小細胞肺癌	EBC-1	0.491	0.2071
骨肉腫	Saos2	0.4807	0.2686
結腸癌	HCT-116	0.5633	0.356

30

【0051】

その他の化合物についてのGI₅₀(nmol/L)値を表2に示した。

【0052】

【表 2】

表 2 化合物 2～18 の試験結果

	アセチル化ヒストンH4と BRD4との結合阻害活性 IC ₅₀ (nmol/L)	MV4-11に対する 増殖抑制活性 GI ₅₀ (nmol/L)
化合物 2	121.2	19
化合物 3	54.9	20
化合物 4	77.2	95
化合物 5	54.2	73
化合物 6	18.2	26
化合物 7	113.0	55
化合物 8	123.5	9
化合物 9	73.6	39
化合物 10	47.1	7
化合物 11	225.3	95
化合物 12	107.8	30
化合物 13	17.3	22
化合物 14	21.0	42
化合物 15	119.8	34
化合物 16	116.4	28
化合物 17	12.8	14
化合物 18	146.8	48

10

20

【0053】

以上の結果より、アセチル化ヒストン、より詳細にはアセチル化ヒストンH4とプロモドメイン含有タンパク質、より詳細にはヒト由来のBETファミリータンパク質であるBRD2、BRD3、BRD4との結合を阻害する化合物は抗癌剤として用いることが可能であることが明らかとなった。また、アセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合を阻害する化合物である上記一般式(I)で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物は抗癌剤として有用であることも明らかとなった。さらに、上記一般式(I)で示されるチエノトリアゾロジアゼピン化合物はアセチル化ヒストンとプロモドメイン含有タンパク質との結合阻害活性を有していることが明らかとなった。

30

【産業上の利用可能性】

【0054】

本発明によれば、新規な抗癌剤を提供することが可能である。

本願は、日本で出願された特願2007-339456を基礎としており、その内容は本明細書にすべて包含されるものである。

40

フロントページの続き

- (72)発明者 三好 真司
大阪府大阪市中央区北浜二丁目6番18号 田辺三菱製薬株式会社内
- (72)発明者 大池 進介
大阪府大阪市中央区北浜二丁目6番18号 田辺三菱製薬株式会社内
- (72)発明者 岩田 和憲
大阪府大阪市中央区北浜二丁目6番18号 田辺三菱製薬株式会社内
- (72)発明者 氷川 英正
大阪府大阪市中央区北浜二丁目6番18号 田辺三菱製薬株式会社内
- (72)発明者 菅原 邦夫
大阪府大阪市中央区北浜二丁目6番18号 田辺三菱製薬株式会社内

審査官 井上 明子

- (56)参考文献 国際公開第94/006802(WO, A1)
特開2008-156311(JP, A)
国際公開第2006/129623(WO, A1)
特表2002-518400(JP, A)
国際公開第98/011111(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/551
C07D 495/14
CAplus/REGISTRY(STN)