

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4969443号  
(P4969443)

(45) 発行日 平成24年7月4日(2012.7.4)

(24) 登録日 平成24年4月13日(2012.4.13)

(51) Int.Cl.	F I
<b>C O 7 D 239/95 (2006.01)</b>	C O 7 D 239/95
<b>C O 7 D 403/12 (2006.01)</b>	C O 7 D 403/12 C S P
<b>A 6 1 K 31/517 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/517
<b>C O 7 D 401/12 (2006.01)</b>	C O 7 D 401/12
<b>C O 7 D 407/12 (2006.01)</b>	C O 7 D 407/12

請求項の数 16 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-518606 (P2007-518606)
(86) (22) 出願日	平成17年6月28日 (2005.6.28)
(65) 公表番号	特表2008-504347 (P2008-504347A)
(43) 公表日	平成20年2月14日 (2008.2.14)
(86) 国際出願番号	PCT/EP2005/053029
(87) 国際公開番号	W02006/003146
(87) 国際公開日	平成18年1月12日 (2006.1.12)
審査請求日	平成20年6月25日 (2008.6.25)
(31) 優先権主張番号	04076887.1
(32) 優先日	平成16年6月30日 (2004.6.30)
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者	390033008 ジヤンセン・ファーマシューチカ・ナーム ローゼ・フエンノートシャツプ JANSSEN PHARMACEUTI CA NAAMLOZE VENNOOT SCHAP ベルギー・ビー-2340-ビールセ・ト ウルンホウトセバーク30
(74) 代理人	110000741 特許業務法人小田島特許事務所
(72) 発明者	ギルモン, ジエローム・エミル・ジョルジ ユ フランス・エフ-27106バルドルイユ セーデクス・カンパストメグルモンビーピ ー615・ジヤンセン・シラグ 最終頁に続く

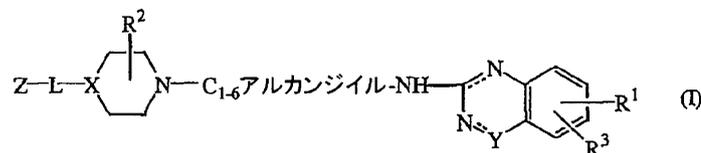
(54) 【発明の名称】 PARP阻害剤としてのキナゾリノン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I)

【化1】



{ 式中、

点線は、場合によっては結合を表し；

Xは >N- または >CH- であり；

-N.....Y- は、-NH-C(O)- または -N=C(R<sup>4</sup>)- [ 式中、R<sup>4</sup>はヒドロキシである ] であり；

Lは、直接結合か、または -C(O)-、-C(O)-NH-、-NH-、-C(O)-C<sub>1-6</sub>アルカンジイル-、-C(O)-O-C<sub>1-6</sub>アルカンジイル- または -C<sub>1-</sub>

<sub>6</sub>アルカンジイル- から選ばれる二価の基であり；

R<sup>1</sup>は、水素、ハロ、C<sub>1-6</sub>アルキルオキシまたはC<sub>1-6</sub>アルキルであり；

R<sup>2</sup>は、水素、ヒドロキシ、C<sub>1-6</sub>アルキルオキシまたはアミノカルボニルであり；あるいは、

XがR<sup>2</sup>により置換される場合は、-L-Zと一緒にしたR<sup>2</sup>は式



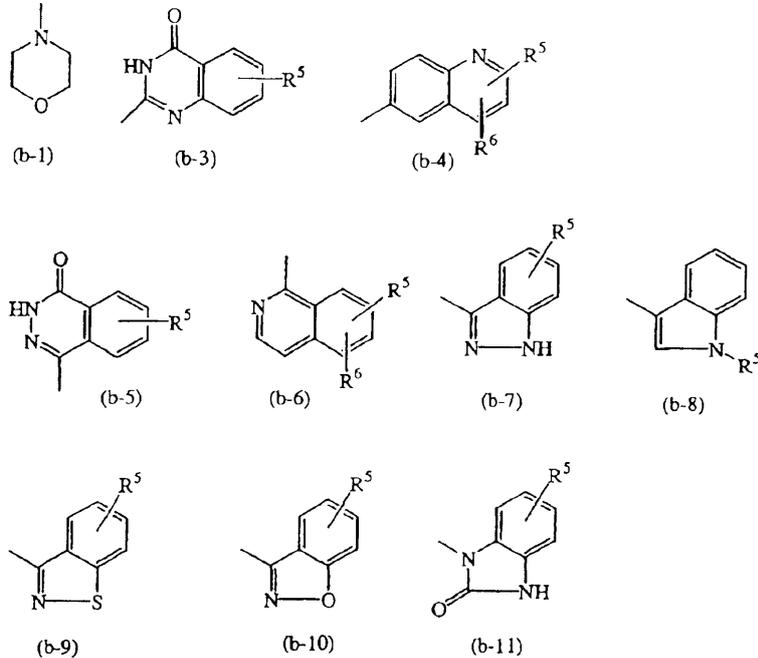
[式中、R<sup>10</sup>はフェニルである]

の二価の基を形成してもよく；

R<sup>3</sup>は水素またはC<sub>1-6</sub>アルキルオキシであり；

Zは、アミノ、シアノまたは

【化2】



10

20

[式中、各R<sup>5</sup>およびR<sup>6</sup>は、水素、ハロ、アミノ、C<sub>1-6</sub>アルキルおよびC<sub>1-6</sub>アルキルオキシから独立して選ばれる]である}

の化合物、または該化合物のN-オキシド、製薬学的に許容できる付加塩もしくは立体化学的異性体。

【請求項2】

Lが直接結合か、または-C(O)-、-C(O)-NH-または-C(O)-O-C<sub>1-6</sub>アルカンジイル-から選ばれる二価の基であり；R<sup>2</sup>が水素、ヒドロキシまたはC<sub>1-6</sub>アルキルオキシであり；Zが、(b-3)、(b-4)、(b-5)、(b-6)、(b-7)、(b-8)または(b-9)から選ばれる基であり；各R<sup>5</sup>およびR<sup>6</sup>が、水素、ハロ、アミノ、C<sub>1-6</sub>アルキルまたはC<sub>1-6</sub>アルキルオキシから独立して選ばれる、請求項1に記載の化合物。

30

【請求項3】

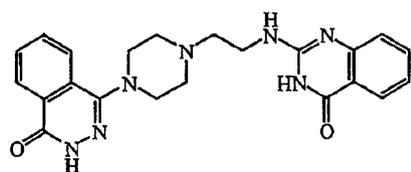
Lが直接結合であり；R<sup>1</sup>が水素、ハロまたはC<sub>1-6</sub>アルキルであり；R<sup>2</sup>が水素であり；R<sup>3</sup>が水素であり；Zが、(b-5)または(b-7)から選ばれる基であり；そして各R<sup>5</sup>が、水素またはハロから独立して選ばれる、請求項1または2に記載の化合物。

40

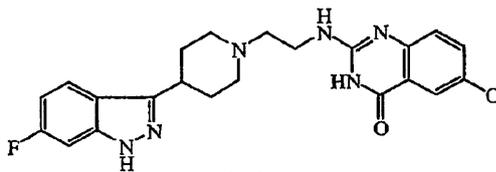
【請求項4】

化合物が、下記式で表される化合物35、36、39、1および43から選ばれる、請求項1、2および3のいずれかに記載の化合物。

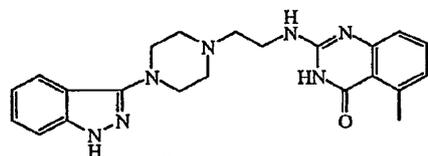
## 【化4】



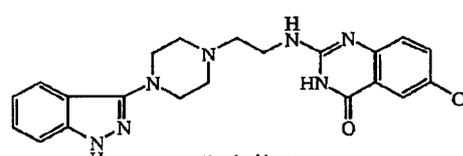
化合物35



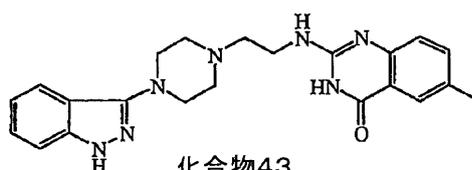
化合物36



化合物39



化合物1



化合物43

## 【請求項5】

医薬として使用するための請求項1～4のいずれかに記載の化合物。

## 【請求項6】

製薬学的に許容できる担体および有効成分として請求項1～4のいずれかに記載の化合物の治療学的有効量を含んでなる製薬学的組成物。

## 【請求項7】

製薬学的に許容できる担体および請求項1～4のいずれかに記載の化合物が密接に混合される、請求項6に記載される製薬学的組成物の製造方法。

## 【請求項8】

壊死もしくはアポトーシスによる細胞の損傷もしくは死から生じる組織の損傷を処置もしくは予防するための、NMDAの毒性によって媒介されないニューロンの活性を生じさせるための、NMDAの毒性によって媒介されるニューロンの活性を生じさせるための、虚血および再還流障害から生じる神経組織の損傷、神経学的障害および神経変性疾患を処置するための、血管卒中を予防もしくは処置するための、心臓血管障害を予防もしくは処置するための、AIDS、炎症、痛風、関節炎、動脈硬化症、悪疫質、がん、複製老衰を伴う骨格筋の変性疾患、糖尿病、頭部外傷、炎症性腸障害、筋ジストロフィー、骨関節炎、骨粗鬆症、慢性および/もしくは急性疼痛、腎不全、網膜虚血、敗血症ショック、または皮膚の老化を処置するための、細胞の寿命および増殖能力を拡大するための、老衰細胞の遺伝子発現を変えるための、あるいは、腫瘍細胞を化学増感および/もしくは放射線増感するための、医薬の製造における請求項1～4のいずれかに記載の化合物の使用。

## 【請求項9】

処置が化学増感作用(chemosensitization)を伴う、請求項8に記載の使用。

## 【請求項10】

処置が放射線増感作用(radiosensitization)を伴う、請求項8に記載の使用。

## 【請求項11】

請求項1～4のいずれかに記載の化合物と、カンプトテシン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドセタキセル、トキソルビシン、インターフェロン(、)、インターロイキン2、イリノテカン、パクリタキセルおよびトポテカンからなる群

10

20

30

40

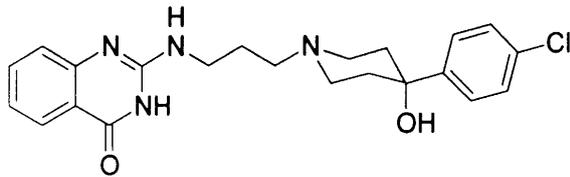
50

より選ばれる化学療法剤とのがんの処置において使用するための併用剤。

【請求項 1 2】

下記式で表される化合物、またはその N - オキシド、製薬学的に許容できる付加塩もしくは立体化学的異性体。

【化 5】

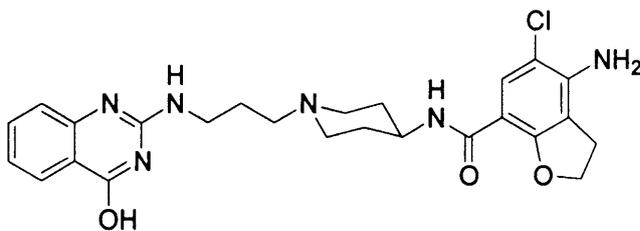


10

【請求項 1 3】

下記式で表される化合物、またはその N - オキシド、製薬学的に許容できる付加塩もしくは立体化学的異性体。

【化 6】

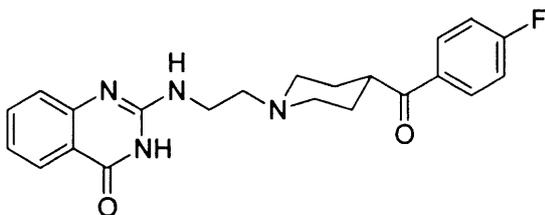


20

【請求項 1 4】

下記式で表される化合物、またはその N - オキシド、製薬学的に許容できる付加塩もしくは立体化学的異性体。

【化 7】

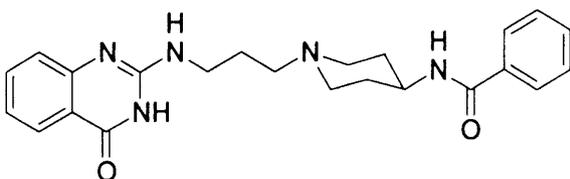


30

【請求項 1 5】

下記式で表される化合物、またはその N - オキシド、製薬学的に許容できる付加塩もしくは立体化学的異性体。

【化 8】



40

【請求項 1 6】

がんの処置用の医薬を製造するための請求項 1 ~ 4、および 1 2 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は PARP の阻害剤に関し、そして化合物および開示される化合物を含有する組

50

成物を提供する。さらに、本発明は、例えば医薬としての開示されるPARP阻害剤の使用方法を提供する。

#### 【背景技術】

#### 【0002】

核酵素ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1(PARP-1)は、PARP酵素ファミリーの一員である。この増加するファミリーの酵素は、例えば、PARP-1、PARP-2、PARP-3およびVault-PARPのようなPARP；ならびに例えば、TANK-1、TANK-2およびTANK-3のようなTankyrase(TANK)からなる。またPARPは、ポリ(アデノシン5'-ジホスホ-リボース)ポリメラーゼまたはPARS(ポリ(ADP-リボース)シンテターゼ)とも呼ばれる。

10

#### 【0003】

PARP-1は、3種のドメイン：2個の亜鉛フィンガーを含有するN末端DNA結合ドメイン、自己修飾(automodification)ドメインおよびC末端触媒ドメインからなる116kDaの主要な核タンパク質である。それはほとんど全ての真核生物において存在している。この酵素は、ポリ(ADP-リボース)、200以上のADP-リボース単位からなる分枝ポリマーを合成する。ポリ(ADP-リボース)のタンパク質アクセプターは、直接的にも、また間接的にもDNAの完全な状態を維持することに関与している。それらは、ヒストン、トポイソメラーゼ、DNAおよびRNAポリメラーゼ、DNAリガーゼ、およびCa<sup>2+</sup>およびMg<sup>2+</sup>依存エンドヌクレアーゼを含む。PARPタンパク質は、多数の組織、もっとも注目されるには免疫系、心臓、脳および生殖系細胞において高レベルで発現される。正常な生理学的条件下では、最小のPARP活性が存在する。しかしながら、DNAの損傷は500倍までPARPの即時活性化を惹起する。

20

#### 【0004】

Tankyrase(TANK)はヒトのテロメア複合体の構成成分として同定された。また、それらは小胞の取引(trafficking)に役割を有することが提案されており、そして種々の他の細胞プロセスに関与するタンパク質のための舞台として働くのであろう。染色体の維持と安定性のために必須であるテロメアは、テロメラーゼ、特殊な逆転写酵素によって維持される。TANKは、シグナル伝達と細胞骨格タンパク質の両方のいくつかの特徴をもつ(ADP-リボース)転移酵素である。それらは、基質タンパク質のポリ-ADPリボシル化(ribosylation)を触媒するPARPドメイン、ある種のシグナル伝達分子と共有される不稔アルファモチーフ、および細胞骨格タンパク質アンキリン(ankyrin)に対する24個のアンキリン反復同族体(repeats homologues)を含有するANKドメインを含有する。ANKドメインはテロメアタンパク質、テロメア反復結合因子-1(TRF-1)と相互作用する。したがって、これらのタンパク質は、TRF1相互作用性アンキリン関連ADP-リボースポリメラーゼ(TANK)と命名された。

30

#### 【0005】

TANKのより特別な機能の1つは、TRF-1のADPリボシル化である。ヒトのテロメア機能は、2つのテロメア特異的DNA結合タンパク質、TRF-1およびTRF-2を要求する。TRF-2は染色体末端を保護し、そしてTRF-1はテロメアの長さを調節する。ADPリボシル化は、テロメアDNAに結合するTRF-1の能力を阻害する。TRF-1のこのポリ-ADPリボシル化は、テロメア複合体を開裂してテロメアからTRF-1を遊離し、そしてテロメラーゼに接近させる。したがって、TANKはテロメアの長さのポジティブレギュレーターとして機能して、テロメラーゼによるテロメアの伸長を可能にする。

40

#### 【0006】

PARP、特にPARP-1に因るとされる多くの機能の中で、その主な役割は、ADPリボシル化によってDNA修復を促進すること、したがって多くのDNA修復タンパク質を調整することにある。PARPの活性化の結果として、NAD<sup>+</sup>レベルは有意に減少

50

する。広範なPARP活性化は、大きなDNA損傷を蒙っている細胞におけるNAD<sup>+</sup>の深刻な枯渇をもたらす。ポリ(ADP-リボース)の短い半減期は急速なターンオーバー速度をもたらす。一旦ポリ(ADP-リボース)が形成されると、それは、ホスホジエステラーゼおよび(ADP-リボース)タンパク質リアーゼとともに、構成的に活性のあるポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ(PARG)によって急速に分解される。PARPおよびPARGは、大量のNAD<sup>+</sup>をADP-リボースに変換するサイクルを形成する。1時間未満に、PARPの過剰刺激は正常レベルの20%未満までのNAD<sup>+</sup>およびATPの低下を惹起できる。そのようなシナリオは、酸素の喪失が細胞のエネルギー生産を既に劇的に危うくしている虚血においては特に有害である。再還流における続く遊離ラジカルの産生は、組織損傷の主要な原因であると考えられる。虚血と再還流の間の多くの器官において典型的に存在するATP低下の一部は、ポリ(ADP-リボース)ターンオーバーによるNAD<sup>+</sup>枯渇に結び付けられるであろう。かくして、PARPまたはPARG阻害は、細胞のエネルギーレベルを保持し、それによって発作後の虚血組織の生残を強化することが期待される。

10

## 【0007】

また、ポリ(ADP-リボース)合成は、炎症応答に必須である多くの遺伝子の誘導発現に関与している。PARP阻害剤は、マクロファージにおける誘導性ニトリック・オキシド・シンターゼ(nitric oxide synthase)(iNOS)、P型セレクトリン(P-type selectin)および内皮細胞における細胞間接着分子-1(ICAM-1)の生産を抑制する。そのような活性は、PARP阻害剤によって発揮される強力な抗炎症効果の基礎をなす。PARP阻害は、傷害された組織への好中球の移動および浸潤を防ぐことによって壊死を低下させることができる。

20

PARPは損傷されたDNAフラグメントによって活性化され、一旦活性化されると、ヒストンおよびPARPそれ自体を含む、種々の核タンパク質への100ADP-リボース単位までの結合を触媒する。大きな細胞ストレスにおいて、PARPの広範な活性化は、急速に、エネルギー貯蔵の枯渇をとおして細胞の損傷または死をもたらすことができる。ATPの4分子が再生されるNAD<sup>+</sup>の各分子のために消費されるので、NAD<sup>+</sup>は大量のPARP活性化によって枯渇させられ、NAD<sup>+</sup>を再合成するために、ATPがまた枯渇するようになるであろう。

## 【0008】

30

PARP活性化が両NMDAおよびNO誘導の神経毒性において重要な役割を演じることが報告された。これは、皮質培養物および海馬切片において例証されたが、この場合、毒性の防御は直接PARP阻害力に相関される。かくして、正確な作用機構がまだ解明されてなくても、神経変性疾患および頭部外傷の処置におけるPARP阻害剤の潜在的役割が認識された。

## 【0009】

同様に、PARP阻害剤の単一注射が、ウサギにおいて心臓または骨格筋の虚血と再還流によって惹起された梗塞サイズを減少させたことが例証された。これらの研究において、閉塞1分前または再還流1分前のいずれでも3-アミノ-ベンズアミド(10mg/kg)の単一注射が、心臓における梗塞サイズの同様の減少(32~42%)を惹起したが、一方、その他のPARP阻害剤、1,5-ジヒドロキシイソキノリン(1mg/kg)も同程度(38~48%)、梗塞サイズを低下させた。これらの結果は、PARP阻害剤が、虚血心臓または骨格筋組織の再還流傷害を予め救済できるという仮説を理にかなったものにさせる。

40

## 【0010】

PARPの活性化は、また、卒中、アルツハイマー病およびパーキンソン病のような病状に関与している、次の誘導物質、例えばグルタメート(NMDAレセプター刺激をとおして)、反応性酸素中間体、アミロイド-タンパク質、N-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン(MPTP)またはその活性代謝物N-メチル-4-フェニルピリジン(MPP<sup>+</sup>)のいずれかへの曝露から生じる損傷後の神経毒性発作の

50

測定手段として使用されてもよい。他の研究は、イン・ビトロでの小脳の顆粒細胞およびMPTP神経毒性におけるPARP活性化の役割を探求するために継続された。顕著な中枢神経系神経伝達物質として働き、そしてN-メチルD-アスパルテート(NMDA)レセプターおよび他のサブタイプレセプターに作用するグルタメートへの過剰な神経曝露は、ほとんど、卒中または他の神経変性過程の結果としてしばしば発生する。酸素を奪われたニューロンは、虚血性脳発作、例えば卒中もしくは心臓発作において大量にグルタメートを放出する。グルタメートのこの過剰な放出は、順に、N-メチル-D-アスパルテート(NMDA)、AMPA、カイネート(Kainate)およびMGRレセプターの過剰刺激(刺激毒性(excitotoxicity))を惹起し、これらは、イオンチャンネルを開き、そして無制御のイオン流動(例えば、細胞内へのCa<sup>2+</sup>およびNa<sup>+</sup>, 細胞外へのK<sup>+</sup>)を許して、ニューロンの過剰刺激をもたらす。過剰刺激されたニューロンは、より多くのグルタメートを分泌して、フィードバックループまたはドミノ効果を生じ、これが最終的に、プロテアーゼ、リパーゼおよび遊離ラジカルの産生をとおして細胞損傷または死をもたらす。グルタメートレセプターの過剰な活性化は、癲癇、卒中、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病、精神分裂病、慢性疼痛、低酸素後の虚血症およびニューロン喪失、低血糖症、虚血症、トラウマおよび神経性発作を含む種々の神経学的疾患および症状に関係していた。グルタメート曝露および刺激は、また、強迫障害、特に薬物依存に対する根拠として関係していた。証拠は、グルタメートまたはNMDAにより処置された多数の動物種ならびに脳皮質培養物における発見を含み、そのグルタメートレセプター・アンタゴニスト(すなわち、そのレセプターへの結合またはその活性化からグルタメートを遮断する化合物)が、神経損傷後の血管卒中を遮断する。NMDA、AMPA、カイネートおよびMGRレセプターを遮断することによる刺激毒性(excitotoxicity)を予防する試みは、困難であることが証明されたが、その理由は、各レセプターはグルタメートが結合できる多数の部位を有し、それ故、レセプターの全てへのグルタメートの結合を防ぐアンタゴニストの有効な混合物または普遍的なアンタゴニストを見いだして、この理論の試験を可能にすることが困難であったからである。さらにまた、レセプターを遮断することに効果的である多くの組成物はまた動物に対して毒性である。それだけで、グルタメートの異常に対する既知の有効な処置は現在存在しない。

#### 【0011】

グルタメートによるNMDAレセプターの刺激は、例えば、酵素ニューロンのニトリック・オキシド・シンターゼ(nNOS)を活性化して、ニトリック・オキシド(NO)の生成をもたらす、これがまた神経毒性を媒介する。NMDA神経毒性は、ニトリック・オキシド・シンターゼ(NOS)阻害剤による処置によるか、またはイン・ビトロでのnNOSの標的遺伝子破壊をとおして予防されてもよい。

#### 【0012】

PARP阻害剤のその他の用途は、末梢神経傷害、ならびに普通の座骨神経の慢性狭窄損傷(CCI)によって誘導されるような神経病性疼痛として知られ、そして細胞質と核質の過染色性(いわゆる、「暗い」ニューロン)を特徴とする脊髄背角の経シナプス変調が起きる結果として生じる病理学的疼痛症候群の処置である。

#### 【0013】

また、PARP阻害剤が大腸炎のような炎症性腸障害を処置するために有用であるという証拠も存在する。具体的には、大腸炎が、50%エタノール中八ブテン スルホン酸トリニトロベンゼンの管腔内投与によってラットにおいて誘導された。処置されたラットは、3-アミノベンズアミド、PARP活性の特異的阻害剤を受けた。PARP活性の阻害は、炎症応答を低減し、そして末端大腸の形態およびエネルギー状況を回復した。

#### 【0014】

さらなる証拠は、PARP阻害剤が関節炎の処置のために有用であることを示唆する。さらに、PARP阻害剤は糖尿病の処置のために有用であると思われる。PARP阻害剤は内毒素ショックまたは敗血症ショックを処置するために有用であることが示された。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 5 】

P A R P 阻害剤は、また、皮膚の老化、アルツハイマー病、動脈硬化症、骨関節炎、骨粗鬆症、筋ジストロフィー、複製老衰を伴う骨格筋の変性疾患、年齢に関連する筋肉変性、免疫老衰、A I D S および他の免疫老衰疾患のような疾患の処置を含む、細胞の寿命および増殖能力を拡大するため、ならびに老衰細胞の遺伝子発現を変えるために使用された。

3 - アミノベンズアミドのような P A R P 阻害剤が、例えば、過酸化水素またはイオン化放射への応答において全体の D N A 対に影響を与えることもまた知られている。

## 【 0 0 1 6 】

D N A 鎖の破損部の修復における P A R P の中心的役割は、特に、イオン化放射によって直接的に、あるいはメチル化剤、トポイソメラーゼ I 阻害剤、および他のシスプラチンおよびブレオマイシンのような化学療法剤によって誘導される D N A 損傷の酵素的修復後に間接的に惹起される場合には、十分に確立されている。「ロックアウト」マウス、トランス - ドミナント ( t r a n s - d o m i n a n t ) インヒビション・モデル ( D N A 結合性ドメインの過発現)、アンチセンスおよび低分子量阻害剤を用いる種々の研究は、D N A 損傷の誘導後の修復および細胞生残における P A R P の役割を例証した。P A R P 酵素活性の阻害は、D N A 損傷処理に対する腫瘍細胞の感受性の増強をもたらすであろう。

## 【 0 0 1 7 】

P A R P 阻害剤は、多分、D N A 鎖破損の再連結を防ぐそれらの能力によって、そしていくつかの D N A 損傷シグナル伝達経路に影響を与えることによって、(低酸素の ( h y p o x i c ) ) 腫瘍細胞を放射線増感する ( r a d i o s e n s i t i z i n g ) のに効果的であり、そして放射線療法後の潜在的に致死のおよび致死以下の D N A の損傷からの腫瘍細胞の回復を防ぐのに効果的であることが報告された。

## 【 0 0 1 8 】

P A R P 阻害剤はがんを処置するために使用された。さらに、特許文献 1 は、腫瘍細胞に及ぼすイオン化放射または化学療法剤の致死効果を増進するために使用された数種のイソキノリンを議論している。非特許文献 1 は、P A R P 活性の阻害、腫瘍細胞の低下された増殖、および腫瘍細胞がアルキル化剤で同時に処理された場合の顕著な相乗効果を議論している。

## 【 0 0 1 9 】

当該技術の状態の総説は、非特許文献 2、非特許文献 3 および非特許文献 4 によって公表された。

## 【 0 0 2 0 】

有効かつ強力な P A R P 阻害剤、より具体的には、最小の副作用を生じる P A R P - 1 阻害剤に対する要求が継続して存在する。本発明は、がんを処置し、そして / または例えば、壊死またはアポトーシスによる細胞の損傷または死から生じる細胞、組織および / または器官の損傷を予防するための、P A R P 活性を阻害するための化合物、組成物、および阻害する方法を提供する。本発明の化合物および組成物は、処置の一次効果が標的細胞における D N A 損傷を惹起する処置である、化学療法および放射線療法の効力を増進する際に特に有用である。

## 【 0 0 2 1 】

背景先行技術

1 9 6 7 年 3 月 2 2 日公表の特許文献 2 は、抗高血圧効果を有するキナゾロン誘導体を開示している。

## 【 0 0 2 2 】

1 9 7 3 年 6 月 2 0 日公表の特許文献 3 は、抗高血圧作用を有する置換ピリジノン誘導体を開示している。

## 【 0 0 2 3 】

1 9 8 3 年 1 1 月 1 1 日公表の特許文献 4 は、置換ピペリジニルアルキルキナゾリン誘導体を開示している。記述される化合物はセロトニン・アンタゴニストである。

10

20

30

40

50

## 【0024】

1994年6月9日公表の特許文献5は、5-HT<sub>3</sub>アンタゴニストとしてのジメチルベンゾフランおよびジメチルベンゾピランを開示している。本出願のより特別な化合物No. 8, 4, 5, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17および14が開示されている。

## 【0025】

1994年12月20日公表の特許文献6は、ベンズアミド誘導体を開示している。開示された化合物は胃腸運動促進特性を有する。本出願の特別な化合物No. 8, 6および9が開示されている。

## 【0026】

1998年12月23日公表の特許文献7は、胃運動特性を有する1,4-二置換ピペリジン誘導体を開示している。本出願の特別な化合物No. 7が開示されている。

## 【0027】

1999年6月17日公表の特許文献8は、置換キナゾリンジオン誘導体を開示している。記述される化合物は、基底部弛緩特性を有する。

## 【0028】

2002年6月20日公表の特許文献9は、PARP阻害剤としてのキナゾリノン誘導体を開示している。

【特許文献1】米国特許第5,177,075号

【特許文献2】英国特許第1062357号

【特許文献3】ドイツ特許第2258561号

【特許文献4】欧州特許第13612号

【特許文献5】欧州特許第669919号

【特許文献6】米国特許第5374637号

【特許文献7】欧州特許第885190号

【特許文献8】欧州特許第1036073号

【特許文献9】欧州特許第1355888号

【非特許文献1】Weltin et al., "Effect of 6-(5-Phenanthridinone), an Inhibitor of Poly(ADP-ribose) Polymerase, on Cultured Tumor Cells", *Oncol. Res.*, 6:9, 399-403 (1994)

【非特許文献2】Li and Zhang, *IDrugs* 2001, 4(7): 804-812

【非特許文献3】Ame et al., *Bioassys*, 2004, 26: 882-883

【非特許文献4】Nguewa et al., *Progress in Biophysics & Molecular Biology* 2005, 88: 143-172

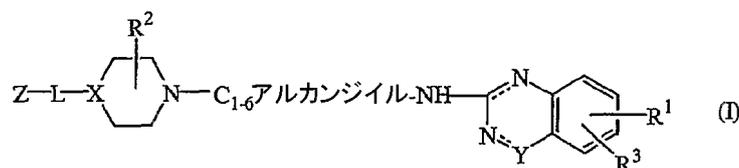
## 【発明の開示】

## 【0029】

本発明は、式(I)

## 【0030】

## 【化1】



## 【0031】

の化合物、そのN-オキシド形態物、製薬学的に許容できる付加塩および立体化学的異性

10

20

30

40

50

形態物に関し、  
式中、

点線は、場合によっては結合を表し；

Xは >N - または >CH - であり；

- N.....Y - は、 - N - C(O) - または - N = CR<sup>4</sup> - [ 式中、R<sup>4</sup> はヒドロキシである ] であり；

Lは、直接結合か、または - C(O) - 、 - C(O) - NH - 、 - NH - 、 - C(O) - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - 、 - C(O) - O - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - または - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - から選ばれる二価の基であり；

R<sup>1</sup> は、水素、ハロ、C<sub>1-6</sub> アルキルオキシまたはC<sub>1-6</sub> アルキルであり；

R<sup>2</sup> は、水素、ヒドロキシ、C<sub>1-6</sub> アルキルオキシまたはアミノカルボニルであり；

XがR<sup>2</sup>により置換される場合は、 - L - Z と一緒になったR<sup>2</sup>は式



[ 式中、R<sup>10</sup> はフェニルである ]

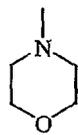
の二価の基を形成してもよく；

R<sup>3</sup> は水素またはC<sub>1-6</sub> アルキルオキシであり；

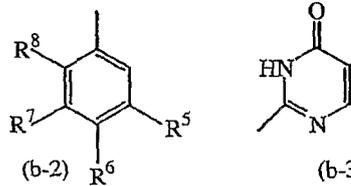
Zは、アミノ、シアノまたは

【 0 0 3 2 】

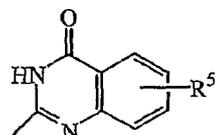
【 化 2 】



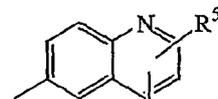
(b-1)



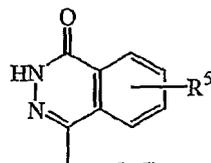
(b-2)



(b-3)



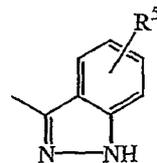
(b-4)



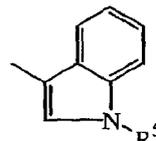
(b-5)



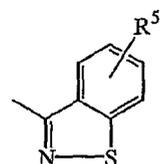
(b-6)



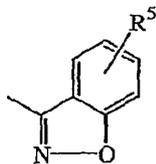
(b-7)



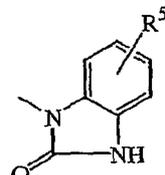
(b-8)



(b-9)



(b-10)



(b-11)

【 0 0 3 3 】

[ 式中、各R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>およびR<sup>8</sup>は、水素、ハロ、アミノ、C<sub>1-6</sub> アルキルまたはC<sub>1-6</sub> アルキルオキシから独立して選ばれるか；または

R<sup>7</sup>およびR<sup>8</sup>は一緒になって、式

【 0 0 3 4 】

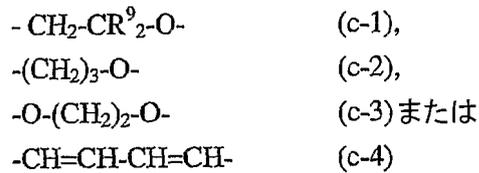
10

20

30

40

## 【化3】



## 【0035】

(式中、各 R<sup>9</sup> は水素または C<sub>1</sub> - 6 アルキルから独立して選ばれる) の二価の基を形成してもよい] から選ばれる基であり;

但し、ここで、

X が > N - である場合は、Z は基 (b - 2) 以外のものであり、そして

X が > CH - であり、かつ L が - C(O) - NH - または - C(O) - O - C<sub>1</sub> - 6 アルカンジイル - であり、かつ Z が基 (b - 2) であり、かつ R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> が一緒になって、式 (c - 1) , (c - 2) または (c - 3) の二価の基を形成する場合は、R<sup>5</sup> はクロロ以外のものである。

## 【0036】

また、式 (I) の化合物は、それらの互変異性形態物において存在してもよい。そのような形態物は、上記式において明白には指示されないが、本発明の範囲内に含まれることが意図される。

## 【0037】

前記定義および以降において使用される多くの用語が以下に説明される。これらの用語は、時には、それだけでも、または合成用語においても使用される。

## 【0038】

前記定義および以降において使用されるように、ハロは、フルオロ、クロロ、プロモおよびヨードに対する総称であり; C<sub>1</sub> - 6 アルキルは、1 ~ 6 個の炭素原子を有する直鎖および分枝鎖飽和炭化水素基、例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、1 - メチルエチル、2 - メチルプロピル、2 - メチルブチル、2 - メチルペンチルなどを定義し; C<sub>1</sub> - 6 アルカンジイルは、1 ~ 6 個の炭素原子を有する二価の直鎖および分枝鎖飽和炭化水素基、例えば、メチレン、1, 2 - エタンジイル、1, 3 - プロパンジイル、1, 4 - ブタンジイル、1, 5 - ペンタンジイル、1, 6 - ヘキサタンジイルおよびその分枝異性体、例えば、2 - メチルペンタンジイル、3 - メチルペンタンジイル、2, 2 - ジメチルブタンジイル、2, 3 - ジメチルブタンジイルなどを定義する。

## 【0039】

用語「製薬学的に許容できる塩」は、製薬学的に許容できる酸または塩基付加塩を意味する。先に述べられたような製薬学的に許容できる酸または塩基付加塩は、式 (I) の化合物が形成できる治療学的に活性のある無毒の酸および無毒の塩基付加塩形態物を含むと意味される。塩基性を有する式 (I) の化合物は、適当な酸により該塩基形態物を処理することによってそれらの製薬学的に許容できる酸付加塩に変換できる。適当な酸は、例えば、ハロゲン化水素酸のような無機酸、例えば塩化水素酸もしくは臭化水素酸; 硫酸; 硝酸; リン酸およびそれに類する酸; または、有機酸、例えば、酢酸、プロパン酸、ヒドロキシ酢酸、乳酸、ピルビン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸 (すなわちブタン二酸)、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、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、シクラミン酸、サリチル酸、p - アミノサリチル酸、パモ酸およびそれに類する酸を含む。

酸性を有する式 (I) の化合物は、適当な有機または無機塩基により該酸形態物を処理することによってそれらの製薬学的に許容できる塩基付加塩に変換できる。適当な塩基塩形態物は、例えば、アンモニウム塩、アルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩、例えばリチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム塩など、有機塩基との塩、例

10

20

30

40

50

えば、ベンザシン、N - メチル - D - グルカミン、ヒドラバミン塩、およびアミノ酸、例えばアルギニン、リジンなどとの塩を含む。

【 0 0 4 0 】

また、用語、酸または塩基付加塩は、式 ( I ) の化合物が形成することができる水和物および溶媒和物を含む。そのような形態物の例は、例えば水和物、アルコールおよびそれに類するものである。

【 0 0 4 1 】

先に使用されたような、用語、式 ( I ) の化合物の立体化学的異性形態物は、式 ( I ) の化合物が保持してもよい、同じ結合配列によって結合された同じ原子から作成されるが、相互交換不可能である異なる三次元構造を有するすべての可能な化合物を定義する。別の方法で記述または指示されなければ、化合物の化学的名称は、該化合物が保持してもよい、すべての可能な立体化学的異性形態物の混合物を包含する。該混合物は、該化合物の塩基性分子構造のすべてのジアステレオマーおよび/または鏡像異性体を含んでもよい。両純粋形態物または互いの混合物における式 ( I ) の化合物のすべての立体化学的異性形態物は、本発明の範囲内に包含されることが意図される。

10

【 0 0 4 2 】

式 ( I ) の化合物の N - オキシド形態物は、1個または数個の窒素原子がいわゆる N - オキシドに酸化されるそれらの式 ( I ) の化合物、特に、1個以上のピペリジンまたはピペラジン窒素が N - オキシド化されるそれらの N - オキシドを含むことを意味する。

【 0 0 4 3 】

これ以降で使用される場合は、用語「式 ( I ) の化合物」は、また N - オキシド形態物、製薬学的に許容できる酸または塩基付加塩およびすべての立体異性形態物を含むことを意味する。

20

【 0 0 4 4 】

英国特許第 1 0 6 2 3 5 7 号は、抗高血圧効果を有するキナゾロン誘導体を開示している。ドイツ特許第 2 2 5 8 5 6 1 号は、抗高血圧作用を有する置換ピリジノン誘導体を開示している。欧州特許第 1 3 6 1 2 号は、セロトニン・アンタゴニストである置換ピペリジニルアルキルキナゾリン誘導体を開示している。欧州特許第 6 6 9 9 1 9 号は、5 - H T <sub>3</sub> アンタゴニストとしてのジメチルベンゾフランおよびジメチルベンゾピランを開示している。米国特許第 5 3 7 4 6 3 7 号は、胃腸運動促進特性を有するベンズアミド誘導体を開示している。欧州特許第 8 8 5 1 9 0 号は、胃運動特性を有する 1, 4 - 二置換ピペリジン誘導体を開示している。欧州特許第 1 0 3 6 0 7 3 号は、基底部弛緩特性を有する置換キナゾリンジオン誘導体を開示している。

30

予期せぬことに、本発明の化合物が P A R P 阻害活性を示すことが見い出された。

【 0 0 4 5 】

興味ある化合物の第 1 群は、次に示す制約の 1 つ以上が適合する式 ( I ) のそれらの化合物からなる：

- a) 各 X は > N - であり；
- b) L は、- C ( O ) -、- C ( O ) - N H -、- N H -、- C ( O ) - C <sub>1 - 6</sub> アルカンジイル -、- C ( O ) - O - C <sub>1 - 6</sub> アルカンジイル - または - C <sub>1 - 6</sub> アルカンジイル - から選ばれる二価の基であり；
- c) R <sup>1</sup> は水素であり；
- d) R <sup>2</sup> はヒドロキシ、C <sub>1 - 6</sub> アルキルオキシまたはアミノカルボニルであり；
- e) Z はアミノ、シアノ、または ( b - 1 )、( b - 3 )、( b - 4 )、( b - 5 )、( b - 6 )、( b - 7 )、( b - 8 ) または ( b - 9 ) から選ばれる基であり；
- f) 各 R <sup>5</sup> および R <sup>6</sup> は、水素またはアミノから独立して選ばれる。

40

【 0 0 4 6 】

興味ある化合物の第 2 群は、次に示す制約の 1 つ以上が適合する式 ( I ) のそれらの化合物からなる：

- a) X は > C H - であり；

50

- b) Lは、直接結合か、または - C ( O ) - 、 - NH - 、 - C ( O ) - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - または - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - から選ばれる二価の基であり；
- c) Zはアミノ、シアノ、または ( b - 1 ) , ( b - 3 ) , ( b - 4 ) , ( b - 5 ) , ( b - 6 ) , ( b - 7 ) , ( b - 8 ) または ( b - 9 ) から選ばれる基であり；
- d) 各 R<sup>5</sup> は、水素、フルオロ、ヨード、ブロモ、アミノ、C<sub>1-6</sub> アルキルまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシから独立して選ばれ；
- e) 各 R<sup>6</sup> は、水素、クロロ、ヨード、ブロモ、アミノ、C<sub>1-6</sub> アルキルまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシから独立して選ばれる。

## 【 0 0 4 7 】

興味ある化合物の第3群は、次に示す制約の1つ以上が適合する式 ( I ) のそれらの化合物からなる；

- a) Lは、直接結合か、または - C ( O ) - または - C ( O ) - NH - から選ばれる二価の基であり；
- b) R<sup>2</sup> は水素、ヒドロキシまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシであり；
- c) Zは、( b - 2 ) , ( b - 3 ) , ( b - 4 ) , ( b - 5 ) , ( b - 6 ) , ( b - 7 ) , ( b - 8 ) または ( b - 9 ) から選ばれる基であり；
- d) 各 R<sup>5</sup> 、 R<sup>6</sup> 、 R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> は、水素、ハロ、C<sub>1-6</sub> アルキルまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシから独立して選ばれるか；または
- e) R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> は一緒になって、式 ( c - 1 ) または ( c - 4 ) の二価の基を形成してもよい。

## 【 0 0 4 8 】

興味ある化合物の第4群は、次に示す制約の1つ以上が適合する式 ( I ) のそれらの化合物からなる；

- a) Lは、直接結合か、または - C ( O ) - 、 - C ( O ) - NH - または - C ( O ) - O - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - から選ばれる二価の基であり；
- b) R<sup>2</sup> は水素、ヒドロキシまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシであり；
- c) Zは、( b - 2 ) , ( b - 3 ) , ( b - 4 ) , ( b - 5 ) , ( b - 6 ) , ( b - 7 ) , ( b - 8 ) または ( b - 9 ) から選ばれる基であり；
- d) 各 R<sup>5</sup> 、 R<sup>6</sup> 、 R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> は、水素、ハロ、アミノ、C<sub>1-6</sub> アルキルまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシから独立して選ばれるか；または
- e) R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> は一緒になって、式 ( c - 1 ) , ( c - 2 ) , ( c - 3 ) または ( c - 4 ) の二価の基を形成してもよい。

## 【 0 0 4 9 】

興味ある化合物の第5群は、次に示す制約の1つ以上が適合する式 ( I ) のそれらの化合物からなる；

- a) Lは直接結合であり；
- b) R<sup>1</sup> は水素、ハロまたは C<sub>1-6</sub> アルキルであり；
- c) R<sup>2</sup> は水素であり；
- d) R<sup>3</sup> は水素であり；
- e) Zは、( b - 5 ) または ( b - 7 ) から選ばれる基であり；
- f) 各 R<sup>5</sup> は、水素またはハロから独立して選ばれる。

## 【 0 0 5 0 】

好適な化合物の群は、Lが直接結合か、または - C ( O ) - 、 - C ( O ) - NH - または - C ( O ) - O - C<sub>1-6</sub> アルカンジイル - から選ばれる二価の基であり；R<sup>2</sup> が水素、ヒドロキシまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシであり；Zが、( b - 2 ) , ( b - 3 ) , ( b - 4 ) , ( b - 5 ) , ( b - 6 ) , ( b - 7 ) , ( b - 8 ) または ( b - 9 ) から選ばれる基であり；各 R<sup>5</sup> 、 R<sup>6</sup> 、 R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> が、水素、ハロ、アミノ、C<sub>1-6</sub> アルキルまたは C<sub>1-6</sub> アルキルオキシから独立して選ばれるか；または R<sup>7</sup> および R<sup>8</sup> が一緒になって、式 ( c - 1 ) , ( c - 2 ) , ( c - 3 ) または ( c - 4 ) の二価の基を形成してもよい、式 ( I ) のそれらの化合物からなる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 5 1 】

より好適な化合物の群は、L が直接結合であり； $R^1$  が水素、ハロまたは  $C_{1-6}$  アルキルであり； $R^2$  が水素であり； $R^3$  が水素であり；Z が、(b-5) または (b-7) から選ばれる基であり；そして各  $R^5$  が、水素またはハロから独立して選ばれる、式 (I) のそれらの化合物からなる。

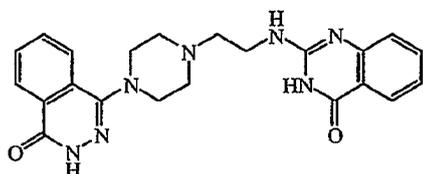
## 【 0 0 5 2 】

もっとも好適な化合物は、化合物 No. 35、No. 36、No. 39、No. 1 および No. 43 である。

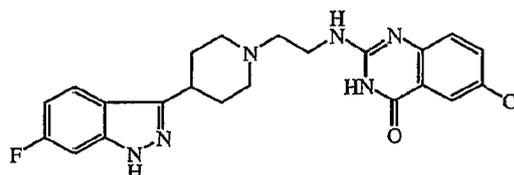
## 【 0 0 5 3 】

## 【 化 4 】

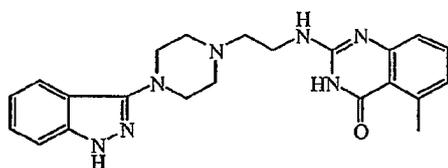
10



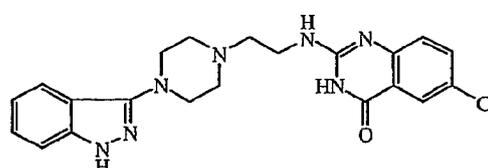
化合物35



化合物36

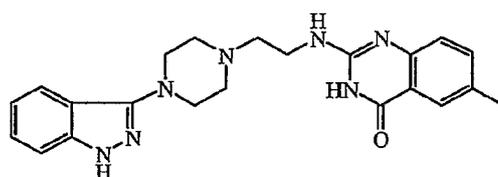


化合物39



化合物1

20



化合物43

30

## 【 0 0 5 4 】

式 (I) の化合物は、欧州特許第 1 0 3 6 0 7 3 号、欧州特許第 8 8 5 1 9 0 号、米国特許第 5 3 7 4 6 3 7 号、欧州特許第 6 6 9 9 1 9 号および欧州特許第 1 3 6 1 2 号に記述される一般的方法にしたがって製造することができる。出発物質および若干の中間体は既知の化合物であり、そして市販されているか、または当該技術分野において一般に既知である慣用の反応手順にしたがって製造されてもよい。

若干の製造方法がこれ以降においてより詳細に記述されるであろう。式 (I) の最終化合物を得るための他の方法は実施例に記述される。

40

## 【 0 0 5 5 】

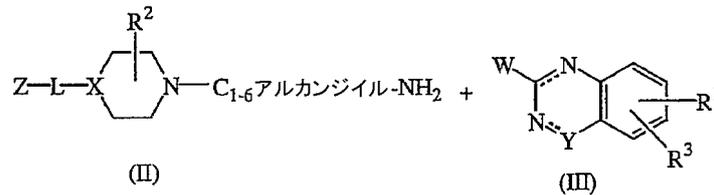
式 (I) の化合物は、式 (II) の中間体を、式 (III) の中間体と反応させることによって製造することができる。この場合、W は適当な脱離基、例えば、ハロ、例えばフルオロ、クロロ、プロモまたはヨード、またはスルホニルオキシ基、例えばメチルスルホニルオキシ、4-メチルフェニルスルホニルオキシなどである。反応は、反応に不活性な溶媒、例えば、アルコール、例えばメタノール、エタノール、2-メトキシ-エタノール、プロパノール、ブタノールなど；エーテル、例えば 4,4-ジオキサン、1,1'-オキシビスプロパンなど；またはケトン、例えば 4-メチル-2-ペンタノン、N,N'-ジメチルホルムアミド、ニトロベンゼンなどの中で実施することができる。適当な塩基、例

50

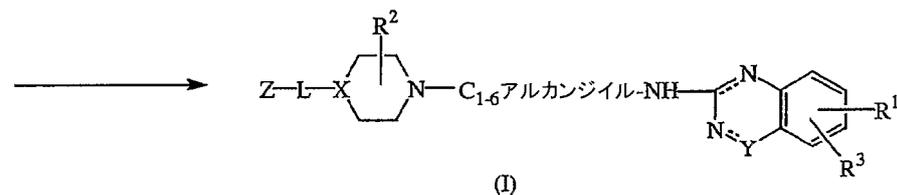
えば、アルカリ金属もしくはアルカリ土類金属の炭酸塩または炭酸水素塩、例えばトリエチルアミンまたは炭酸ナトリウムの添加は、反応過程において遊離される酸をピックアップ (pick up) するために利用されてもよい。少量の適当な金属ヨウ化物、例えばヨウ化ナトリウムまたはカリウムが、反応を促進するために添加されてもよい。攪拌は反応速度を増進できる。反応は、室温～反応混合液の還流温度の範囲の温度で都合よく実施でき、そして所望であれば、反応は加圧下で実施されてもよい。

【0056】

【化5】



10



20

【0057】

また、式 (I) の化合物は、当該技術分野で既知の反応または官能基変換を介して互いに転化されてもよい。若干のそのような変換は既に前述されている。他の例は、カルボン酸エステルに対応するカルボン酸またはアルコールへの加水分解であり；アミドに対応するカルボン酸またはアミンへの加水分解であり；ニトリルの対応するアミドへの加水分解であり；イミダゾールまたはフェニル上のアミノ基の当該技術分野で既知のジアゾ化反応により水素を置換し、続いて水素によってジアゾ基が置換されてもよい；アルコールはエステルおよびエーテルに転化されてもよい；1級アミンは2級または3級アミンに転化されてもよい；二重結合は対応する単結合に水素化されてもよい；フェニル基上のヨード基は、適当なパラジウム触媒の存在下で一酸化炭素挿入によってエステル基に転化されてもよい。

30

【0058】

本発明はまた、医薬として使用するための先に定義された式 (I) の化合物に関する。

【0059】

本発明の化合物は、以下の実験の部から理解できるように、PARP阻害特性を有する。

【0060】

用語「PARP」は、ポリ-ADP-リボシル化活性を有するタンパク質を意味するように本明細書では使用される。この用語の意味の中では、PARPは、parp遺伝子によってコードされたすべてのタンパク質、その変異体、およびその代替断片 (slice) タンパク質を包含する。さらに、本明細書で使用されるように、「PARP」は、PARP類似体、同族体および他の動物の類似体を含む。

40

【0061】

用語「PARP」は、限定されるものではないがPARP-1を含む。この用語の意味の中には、PARP-2、PARP-3、Vault-PARP (PARP-4)、PARP-7 (TiPARP)、PARP-8、PARP-9 (Bal)、PARP-10、PARP-11、PARP-12、PARP-13、PARP-14、PARP-15、PARP-16、TANK-1、TANK-2およびTANK-3が包含されてもよい。

【0062】

50

両PARP-1およびタンキラーゼ(tankyrase)2を阻害する化合物は、それらが、がん細胞において増強された成長阻害活性を有するという点で有利な性質を有することができる。

【0063】

また、本発明は、本明細書に記述される動物における疾患および障害のいずれかの処置のための薬物の製造における化合物の使用を意図し、この場合、該化合物は、式(I)

【0064】

【化6】



10

【0065】

の化合物、そのN-オキッド形態物、製薬学的に許容できる付加塩および立体化学的異性形態物であって、

式中、

点線は、場合によっては結合を表し；

Xは>N-または>CH-であり；

-N $\cdots$ Y-は、-N-C(O)-または-N=CR<sup>4</sup>-[式中、R<sup>4</sup>はヒドロキシである]であり；

Lは、直接結合か、または-C(O)-、-C(O)-NH-、-NH-、-C(O)-C<sub>1-6</sub>アルカンジイル-、-C(O)-O-C<sub>1-6</sub>アルカンジイル-または-C<sub>1-6</sub>アルカンジイル-から選ばれる二価の基であり；

R<sup>1</sup>は、水素、ハロ、C<sub>1-6</sub>アルキルオキシまたはC<sub>1-6</sub>アルキルであり；

R<sup>2</sup>は、水素、ヒドロキシ、C<sub>1-6</sub>アルキルオキシまたはアミノカルボニルであり；

XがR<sup>2</sup>により置換される場合は、-L-Zと一緒にしたR<sup>2</sup>は式



[式中、R<sup>10</sup>はフェニルである]

の二価の基を形成してもよく；

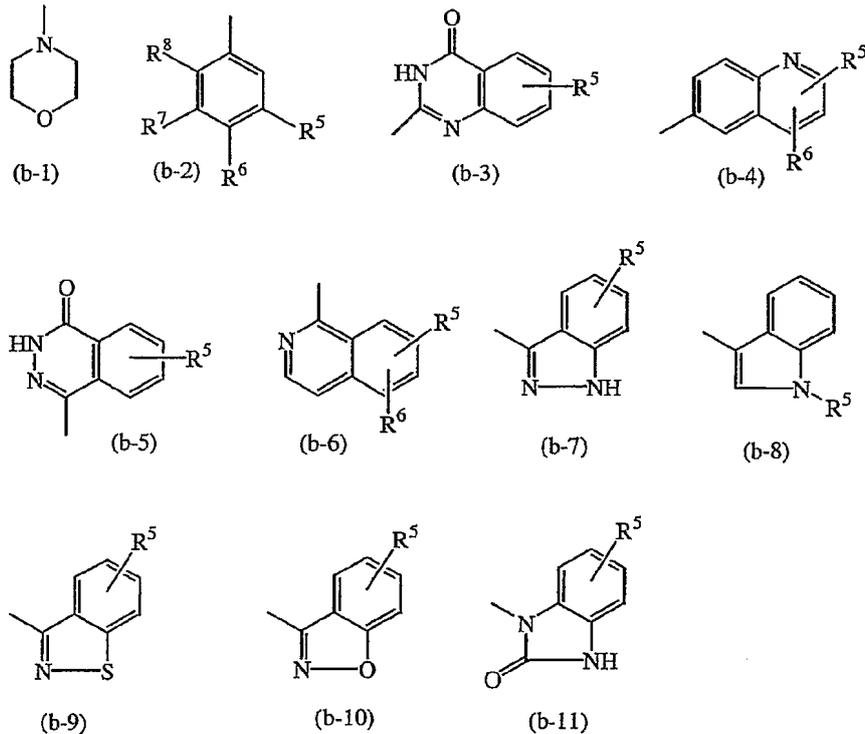
R<sup>3</sup>は水素またはC<sub>1-6</sub>アルキルオキシであり；

Zは、アミノ、シアノまたは

【0066】

30

## 【化7】



10

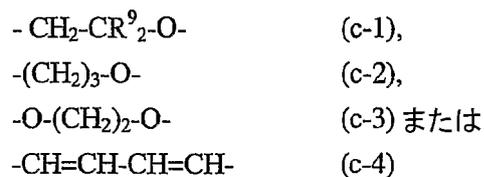
20

## 【0067】

[式中、各  $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  および  $R^8$  は、水素、ハロ、アミノ、 $C_{1-6}$  アルキルまたは  $C_{1-6}$  アルキルオキシから独立して選ばれるか；または  $R^7$  および  $R^8$  は一緒になって、式

## 【0068】

## 【化8】



30

## 【0069】

(式中、各  $R^9$  は水素または  $C_{1-6}$  アルキルから独立して選ばれる) の二価の基を形成してもよい] から選ばれる基である。

## 【0070】

さらにまた、本発明は、PARPをとおして媒介される障害の処置用の薬物の製造のための先に定義された化合物の使用に関する。

40

## 【0071】

特に、本発明は、PARPをとおして媒介される障害の処置用の薬物の製造のための先に定義された化合物の使用に関する。

## 【0072】

両PARP-1およびTANK-2を阻害する化合物は、それらが、がん細胞において増強された成長阻害活性を有するという点で有利な性質を有することができる。

## 【0073】

それらのPARP結合特性に鑑みて、本発明の化合物は、参照化合物またはトレーサー化合物として使用されてもよく、この場合、この分子の原子の1個が、例えば、放射性アイソトープにより置換されてもよい。

50

## 【0074】

本発明の製薬学的組成物を製造するために、有効成分としての、塩基もしくは酸付加塩形態における特定の化合物の有効量が、製薬学的に許容できる担体との直接混合物において組み合わせられるが、この担体は、投与に望ましい調製物の形態に応じて、広範な種類の形態をとることができる。これらの製薬学的組成物は、好ましくは、経口的、肛門内、経皮的、または非経口的注射による投与に適切な単位用量形態物で存在するのが望ましい。例えば、経口用量形態物における組成物を製造するには、例えば、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤および液剤のような経口液状調製物の場合には、水、グリコール、オイル、アルコール等；あるいは散剤、丸剤、カプセル剤および錠剤の場合には、固形担体、例えば澱粉、糖、カオリン、滑沢剤、結合剤、崩壊剤等のような、いずれの通常の製薬学的媒質が使用されてもよい。それらの投与が容易であることから、錠剤およびカプセル剤が、もっとも有利な経口用量単位形態物を代表し、この場合には、固形の製薬学的担体を使用されることは明らかである。非経口組成物では、他の成分が、例えば溶解性を助けるために含まれてもよいけれども、担体は、通常は、少なくとも大部分は無菌水を含むであろう。例えば、注射用液剤は、担体が、生理食塩溶液、グルコース溶液もしくは生理食塩水とグルコース溶液の混合液を含む状態で製造されてもよい。また、注射用懸濁剤が製造されてもよく、この場合には適切な液状担体、懸濁化剤等が使用されてもよい。経皮投与に適する組成物では、担体は、場合によっては、添加物が皮膚に対して有意な悪影響を惹起しない、少量で何らかの性質をもつ適切な添加物と組み合わせられて、場合によっては、浸透促進剤および/または適切な湿潤剤を含む。該添加物は、皮膚への投与を容易にし、そして/または所望の組成物を製造するのに役立つであろう。これらの組成物は、種々の方法、例えば経皮パッチ剤として、スポット・オン剤として、軟膏剤として投与されてもよい。前述の製薬学的組成物を、投与の簡易性および用量の均一性のために用量単位形態物において調合することは、特に得策である。本明細書および請求範囲において使用される用量単位形態物は、単位用量として適切な物理的に分割された単位を指し、各単位は、必要な製薬学的担体と一緒に所望の治療効果を生むように計算された有効成分の予め決定された量を含む。そのような用量単位形態物の例は、錠剤（刻み目をつけたり、コーティングされた錠剤を含む）、カプセル剤、丸剤、粉末包装剤、ウェーファー剤、注射用液剤もしくは懸濁剤、ティースプーン量剤（*teaspoonfuls*）、テーブルスプーン量剤（*tablespoonfuls*）等、およびそれらの分割される集合物である。

10

20

30

## 【0075】

本発明の化合物は、壊死またはアポトーシスによる細胞の損傷または死から生じる組織の損傷を処置または予防することができ；次ぎの巣状虚血、心筋梗塞および再還流傷害を含む、神経または心臓血管組織の損傷を回復することができ；PARP活性によって惹起されるか、または悪化される種々の疾患または症状を処置することができ；細胞の寿命または増殖能力を拡大または増強でき；老衰細胞の遺伝子発現を変えることができ；細胞を放射線増感（*radiosensitize*）および/または化学増感（*chemosensitize*）することができる。一般に、PARP活性の阻害はエネルギー損失から細胞を救済して、神経細胞の場合は、ニューロンの不可逆的減極を防ぎ、その結果、神経保護を提供する。

40

## 【0076】

前記理由のために、本発明は、さらに、壊死またはアポトーシスによる細胞の損傷または死から生じる組織の損傷を処置または予防するため、NMDAの毒性によって媒介されないニューロンの活性を生じさせるため、NMDAの毒性によって媒介されるニューロンの活性を生じさせるため、虚血および再還流傷害から生じる神経組織の損傷、神経学的障害および神経変性疾患を処置するため；血管卒中を予防または処置するため；心臓血管障害を処置または予防するため；他の症状および/または障害、例えば年齢に関連する筋肉変性、AIDSおよび他の免疫老衰疾患、炎症、痛風、関節炎、動脈硬化症、悪液質、がん、複製老衰を伴う骨格筋の変性疾患、糖尿病、頭部外傷、炎症性腸障害（例えば大腸炎

50

およびクローン病)、筋ジストロフィー、骨関節炎、骨粗鬆症、慢性および/または急性疼痛(例えば神経痛性疼痛)、腎不全、網膜虚血、敗血症ショック(例えば内毒素ショック)、および皮膚の老化を処置するため、細胞の寿命および増殖能力を拡大するため; 老衰細胞の遺伝子発現を変えるため; (低酸素の)腫瘍細胞を化学増感および/または放射線増感するために、PARP活性を阻害するのに十分な量における先に同定された化合物の治療学的有効量を投与する方法に関する。また、本発明は、先に同定された化合物の治療学的有効量を動物に投与することを含む、該動物における疾患おける症状の処置に関する。

特に、本発明は、先に同定された化合物の治療学的有効量を動物に投与することを含む、該動物における神経学的障害を処置、予防または抑制する方法に関する。神経学的障害は、肉体的傷害または疾患状態によって惹起される末梢神経病、外傷性脳傷害、脊髄に対する物理的損傷、脳損傷に伴う卒中、巣状虚血、総体的虚血、再還流傷害、脱髄疾患および神経変性に関連する神経学的障害からなる群から選ばれる。

#### 【0077】

また、本発明は、PARP活性を阻害するため、壊死またはアポトーシスによる細胞の損傷または死から生じる組織の損傷を処置、予防または抑制するため、動物における神経学的障害を処置、予防または抑制するための式(I)の化合物の使用を意図する。

#### 【0078】

用語「神経変性を予防する」は、神経変性疾患を有すると新たに診断されたか、または新たな変性疾患を現す危険にある患者において神経変性を予防する能力、および既に神経変性疾患を罹患しているか、その症候を有する患者においてさらなる神経変性を予防するための能力を含む。

#### 【0079】

本明細書で使用されるような用語「処置」は、動物、特にヒトにおける疾患および/または症状のすべての処置に関し、そして(i)疾患および/または症状にかかり易いがまだそれを有すると診断されていない患者において疾患および/または症状が発生するのを予防する;(ii)疾患および/または症状を抑制する、すなわちその発達を止める;(iii)疾患および/または症状を軽減する、すなわち疾患および/または症状の退化を惹起することを含む。

#### 【0080】

本明細書で使用されるような、用語「放射線増感剤(radiosensitizer)」は、イオン化放射に対する細胞の感受性を増大し、そして/またはイオン化放射により処置できる疾患の処置を促進するために治療学的有効量において動物に投与される、分子、好ましくは低分子量分子として定義される。イオン化放射により処置できる疾患は、新生物形成疾患、良性および悪性腫瘍およびがん細胞を含む。本明細書に挙げられていない他の疾患のイオン化放射処置もまた本発明によって意図される。

#### 【0081】

本明細書で使用されるような、用語「化学増感剤(chemosensitizer)」は、化学療法に対する細胞の感受性を増強し、そして/または化学療法剤により処置できる疾患の処置を促進するために治療学的有効量において動物に投与される、分子、好ましくは低分子量分子として定義される。化学療法により処置できる疾患は、新生物形成疾患、良性および悪性腫瘍およびがん細胞を含む。本明細書に挙げられていない他の疾患の化学療法処置もまた本発明によって意図される。

#### 【0082】

本発明の化合物、組成物および方法は、特に、壊死またはアポトーシスによる細胞の死または損傷から生じる組織の損傷を処置または予防するために有用である。

本発明の化合物は「抗がん剤」であってもよく、この用語はまた、「抗腫瘍細胞増殖剤」および「抗新生物形成剤」を包含する。例えば、本発明の方法は、ACTH産生腫瘍、急性リンパ性白血病、急性非リンパ性白血病、副腎皮質のがん、膀胱がん、脳がん、乳がん、頸がん、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、結腸直腸がん、皮膚T細胞リンパ腫

10

20

30

40

50

、子宮内膜がん、食道がん、Ewing's肉腫、胆嚢がん、hairy細胞白血病、頭頸部がん、Hodgkin's白血病、カポジ肉腫、腎臓がん、肝臓がん、肺がん（小および/または非小細胞）、悪性腹膜滲出、悪性胸膜滲出、黒色腫、中皮腫、多発性骨髄腫、神経芽細胞腫、非Hodgkin's白血病、骨肉腫、卵巣がん、卵巣（生殖細胞）がん、前立腺がん、膵臓がん、陰茎がん、網膜芽腫、皮膚がん、軟組織肉腫、鱗状細胞がん腫、胃がん、睾丸がん、甲状腺がん、栄養芽層新生物腫、子宮がん、外陰部のがんおよびWilms腫瘍のようながんを処置するため、そしてそのようながんにおける腫瘍細胞を化学増感および/または放射線増感するために有用である。

【0083】

それ故、本発明の化合物は、「放射線増感剤」および/または「化学増感剤」として使用することができる。

10

【0084】

放射線増感剤は、イオン化放射の毒性作用に対するがん性細胞の感受性を増強することが知られている。放射線増感剤の作用様式についてのいくつかのメカニズムは、次のことを含む文献において示唆された：低酸素下で酸素を模倣するか、さもなければ生物還元剤のように挙動する低酸素細胞の放射線増感剤（例えば、2-ニトロイミダゾール化合物および二酸化ベンゾトリアジン化合物）；非低酸素細胞の放射線増感剤（例えば、ハロゲン化ピリミジン）がDNA塩基の類似体であってもよく、そしてがん細胞のDNA中に優先的に組み入れられ、それによってDNA分子の放射誘導破壊を促進し、そして/または正常なDNA修復メカニズムを妨げる；および種々の他の潜在的な作用機構が疾患の処置における放射線増感剤について仮説を立てられた。

20

現在、多くのがんの処置プロトコルは、x線の放射と組み合わせて放射線増感剤を使用する。x線活性化放射線増感剤の例は、限定されるものではないが、次のとおりである：メトロナダゾール、ミソナダゾール、デスメチルミソナダゾール、ピモナダゾール、エタナダゾール、ニモラゾール、マイトマイシンC、RSU1069、SR4233、EO9、RB6145、ニコチンアミド、5-プロモデオキシウリジン（BUdR）、5-ヨードデオキシウリジン（IUdR）、プロモデオキシチジン、フルオロデオキシウリジン（FudR）、ヒドロキシ尿素、シスプラチン、およびそれらの治療学的に有効な類似体および誘導体。

がんの光学的療法（PDT）は、増感剤の放射線活性化作用物として可視光線を使用する。光学的放射線増感剤の例は、限定されるものではないが次のとおりである：ヘマトポルフィリン誘導体、フォトフリン、ベンゾポルフィリン誘導体、錫エチオポルフィリン、フェオポルピド-a、バクテリオクロロフィル-a、ナフトロシアニン、フタロシアニン、亜鉛フタロシアニン、およびそれらの治療学的に有効な類似体および誘導体。

30

放射線増感剤は、治療学的有効量の1種以上の他の化合物と組み合わせて投与されてもよく、それらは、限定されるものではないが、標的細胞への放射線増感剤の組み入れを促進する化合物；標的細胞への治療剤、栄養物および/または酸素の流動を制御する化合物；さらなる放射の有無によらず腫瘍に作用する化学療法剤；またはがんもしくは他の疾患を処置するための他の治療学的に有効な化合物を含む。放射線増感剤と組み合わせて使用されてもよいさらなる治療剤の例は、限定されるものではないが、5-フルオロウラシル、ロイコポリン、5'-アミノ-5'-デオキシチミジン、酸素、カルボゲン、赤血球輸血、ペルフルオロカーボン（例えば、Fluosol 10DA）、2,3-DPG、BW12C、カルシウムチャンネル遮断剤、ペントキシフィリン、抗血管形成化合物、ヒドラルアジンおよびLBSOを含む。放射線増感剤と組み合わせて使用されてもよい化学療法剤の例は、限定されるものではないが、アドリアマイシン、カンプトテシン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルピシン、ドセタキセル、ドキシソルピシン、インターフェロン（ 、 、 ）、インターロイキン2、イリノテカン、パクリタキセル、トポテカン、およびそれらの治療学的に有効な類似体および誘導体。

40

【0085】

化学増感剤は、治療学的有効量の1種以上の他の化合物と組み合わせて投与されてもよ

50

く、それらは、限定されるものではないが、標的細胞への化学増感剤の組み入れを促進する化合物；標的細胞への治療剤、栄養物および/または酸素の流動を制御する化合物；腫瘍に作用する化学増感剤またはがんまたは他の疾患を処置するための他の治療学的に有効な化合物を含む。化学増感剤と組み合わせて使用されてもよいさらなる治療剤の例は、限定されるものではないが、メチル化剤、トポイソメラーゼ I 阻害剤および他の化学療法剤、例えばシスプラチンおよびブレオマイシンを含む。

【0086】

また、式(I)の化合物は、PARP、より特別にはPARP-1レセプターを検出または同定するために使用することができる。その目的のためには、式(I)の化合物は標識される。該標識は、放射性アイソトープ、スピン標識、抗原標識、酵素標識、蛍光原子団または化学発光原子団からなる群から選ばれてもよい。

10

【0087】

当業者は、これ以降に提示される試験結果から有効量を容易に決定できるであろう。一般に、有効量は、0.001 mg/kg ~ 100 mg/kg 体重、特に0.005 mg/kg ~ 10 mg/kg 体重であることが考えられる。1日をとおして適当な間隔で2、3、4またはそれ以上のサブ用量として要求用量を投与することが適当であろう。該サブ用量は、例えば、1単位用量形態物当たり有効成分の0.05 ~ 500 mg、特に0.1 mg ~ 200 mg を含有する単位用量形態物として調合されてもよい。

【実施例】

【0088】

20

実験の部

これ以後、「DCM」はジクロロメタンとして定義され；「DMF」はN,N-ジメチルホルムアミドとして定義され；「MeOH」はメタノールとして定義され；「MIK」はメチルイソブチルケトンとして定義され；「MEK」はメチルエチルケトンとして定義され；「TEA」はトリエチルアミンとして定義され；そして「THF」はテトラヒドロフランとして定義される。

【0089】

A. 中間化合物の製造

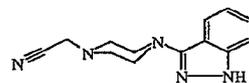
例 A 1

a) 中間体 1 の製造

30

【0090】

【化 9】



【0091】

トルエン(200 ml)およびアセトニトリル(200 ml)中3-(1-ピペラジニル)-1H-インダゾール(0.11 mol)、クロロ-アセトニトリル(0.16 mol)およびTEA(13 g)の混合液を攪拌し、そして3時間還流した。冷却した反応混合液を水(250 ml)で洗浄した。有機層を分離し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)、濾過し、そして溶媒を蒸発させた。残さをトリクロロメタンに溶解し、ガラスフィルター上でシリカにより精製(溶出液:トリクロロメタン/MeOH 90/10)した。もっとも純粋なフラクションを回収し、そして溶媒を蒸発させた。残さをアセトニトリルから結晶化させた。結晶を濾別し、乾燥して、中間体1、融点136 °C, 26 g(99%)を得た。

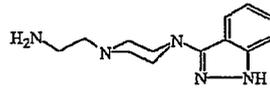
40

【0092】

b) 中間体 2 の製造

【0093】

## 【化10】



## 【0094】

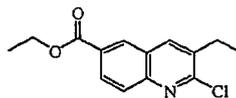
$\text{NH}_3 / \text{MeOH}$  (600 ml) 中、中間体1 (0.11 mol) の混合液を触媒としてラネ ニッケル (4 g) を用いて50 °C で水素化した。 $\text{H}_2$  (2 eq) の取り込み後、触媒を濾別し、濾液を蒸発させた。残さをアセトニトリルから結晶化させた。結晶を濾別し、乾燥して、中間体2、融点121 °C、21 g (77.5%) を得た。

## 【0095】

例A2a) 中間体3の製造

## 【0096】

## 【化11】



## 【0097】

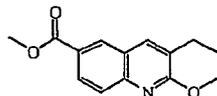
塩化ホスホリル (110.9 ml) を DMF (81.5 ml) に5 °C において滴下した。混合液を完全に溶解するまで攪拌した。4 - [(1 - オキソブチル) アミノ] - 安息香酸エチルエステル (0.34 mol) を添加した。混合液を100 °C で15時間攪拌し、次いで、室温まで冷却し、そして氷水中に注入した。沈殿を濾過し、水で洗浄し、乾燥して、中間体3 42.35 g (47%) を得た。

## 【0098】

b) 中間体4の製造

## 【0099】

## 【化12】



## 【0100】

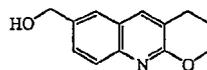
$\text{MeOH}$  (152.8 ml) 中ナトリウムメチレート、30% 溶液における中間体3 (0.1606 mol) および  $\text{MeOH}$  (400 ml) の混合液を攪拌し、15時間還流し、次いで、冷却して、氷水中に注いだ。沈殿を濾過し、水で洗浄し、そしてDCM中に採取した。有機層を分離し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ )、濾過し、そして溶媒を乾固するまで蒸発させて、中間体4 31.64 g (85%) を得た。

## 【0101】

c) 中間体5の製造

## 【0102】

## 【化13】



## 【0103】

テトラヒドロアルミン酸リチウム (0.1288 mol) を  $\text{N}_2$  流動下で0 °C において THF (263 ml) 中、中間体4 (0.1288 mol) 溶液に少量ずつ添加した。混合液を30分間攪拌し、氷水中に注入し、そしてDCMで抽出した。有機層を分離し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ )、濾過し、そして溶媒を乾固するまで蒸発させて、中間体5 27.4 g (85%) を得た。

10

20

30

40

50

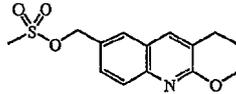
g ( 9 8 % ) を得た。

【 0 1 0 4 】

d) 中間体 6 の製造

【 0 1 0 5 】

【 化 1 4 】



【 0 1 0 6 】

塩化メタンスルホニル ( 0 . 1 0 4 m o l ) を  $N_2$  流動下で 0 において D C M ( 1 2 0 m l ) 中、中間体 5 ( 0 . 0 6 9 m o l ) および T E A ( 0 . 2 0 7 m o l ) の混合液に滴下した。混合液を 0 で 4 時間攪拌した。溶媒を乾固するまで蒸発させた ( 加熱なし ) 。生成物をさらなる精製なしで使用して、中間体 6 2 0 . 4 g を得た。

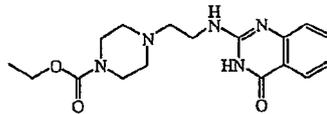
【 0 1 0 7 】

例 A 3

a) 中間体 7 の製造

【 0 1 0 8 】

【 化 1 5 】



【 0 1 0 9 】

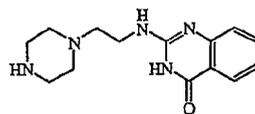
4 - ( 2 - アミノエチル ) - 1 - ピペラジincarボン酸、エチルエステル ( 0 . 0 5 8 6 m o l ) および 2 - ( メチルチオ ) - 4 ( 1 H ) - キナゾリノン ( 0 . 0 5 8 8 m o l ) を、ジャベル水での処理の際に攪拌しながら 1 8 0 で 2 時間加熱し、次いで、D C M および M e O H 中に取り上げた。溶媒を乾固するまで蒸発させた。残さをシリカゲル ( 1 5 ~ 3 5  $\mu$  m ) でのカラムクロマトグラフィーによって精製した ( 溶出液 : D C M / M e O H /  $NH_4OH$  9 4 / 6 / 0 . 5 ) 。純粋フラクションを回収し、そして溶媒を蒸発させた。油状残さをジエチルエーテルから結晶化した。沈殿を濾別しそして乾燥して、中間体 7、融点 : 1 3 8 を得た。

【 0 1 1 0 】

b) 中間体 8 の製造

【 0 1 1 1 】

【 化 1 6 】



【 0 1 1 2 】

2 - プロパノール ( 1 0 0 m l ) 中、中間体 7 ( 0 . 0 2 2 3 m o l ) および水酸化カリウム ( 0 . 2 2 3 m o l ) の混合液を攪拌し、4 日間還流した。溶媒を乾固するまで蒸発させた。残さを、6 0 で攪拌しながら M e O H 中に採取した。塩を濾別した。溶媒を蒸発させて、中間体 8 6 . 5 g を得た。

【 0 1 1 3 】

B. 最終化合物の製造

例 B 1

化合物 1 の製造

【 0 1 1 4 】

10

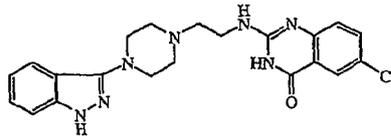
20

30

40

50

## 【化17】



## 【0115】

中間体2 (0.000815 mol) および6-クロロ-2-(メチルチオ)-4(1H)-キナゾリノン(0.00097 mol)を160 で1時間加熱し、次いで、水および10%炭酸カリウムに採取し、DCM/MeOH 90/10で抽出した。有機層を分離し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)、濾過し、そして溶媒を蒸発させた。残さ(0.3 g)をシリカゲル(15~40 μm)でのカラムクロマトグラフィーによって精製した(溶出液: DCM/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 92/8/0.5)。純粋フラクションを回収し、そして溶媒を蒸発させた。残さをMEKおよびDIPEから結晶化した。沈殿を濾別しそして乾燥して、化合物1、融点186 の0.2 g(58%)を得た。

10

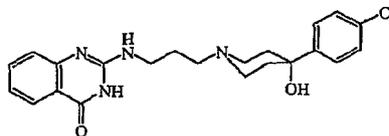
## 【0116】

## 例B2

## 化合物2の製造

## 【0117】

## 【化18】



20

## 【0118】

ジメチルアセトアミド(5 ml)中、1-(3-アミノプロピル)-4-(4-クロロフェニル)-4-ピペリジノール(0.015 mol)および2-クロロ-4(1H)-キナゾリノン(0.018 mol)の混合液を、120 で1時間撹拌した。反応混合液を冷却し、DCMに溶解し、そしてアンモニア水溶液で洗浄した。有機層を分離し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)、濾過し、そして溶媒を蒸発させた。残さをシリカゲルでのカラムクロマトグラフィーによって精製した(溶出液: DCM/(MeOH/NH<sub>3</sub>) 92/8)。純粋フラクションを回収し、そして溶媒を蒸発させた。残さをDIPE中に懸濁した。沈殿を濾別しそして乾燥(真空; 70 )して、化合物2、融点178, 4 の3.72 g(60%)を得た。

30

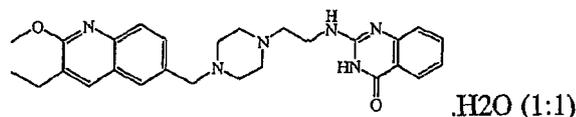
## 【0119】

## 例B3

## 化合物3の製造

## 【0120】

## 【化19】



40

## 【0121】

DMF(80 ml)中、中間体6(0.0124 mol)、中間体8(0.0137 mol)および炭酸カリウム(0.0373 mol)の混合液を60 で1時間撹拌し、氷水中に注入し、そして室温で30分間撹拌した。沈殿を濾別し、水で洗浄し、そして2-プロパノン中に採取した。沈殿を濾別しそして乾燥して、化合物3、融点118 の1.

50

5 g (26%) を得た。

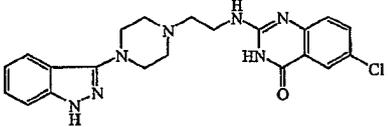
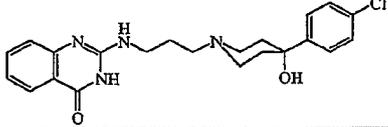
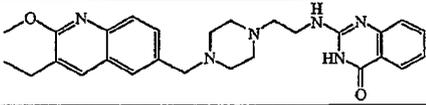
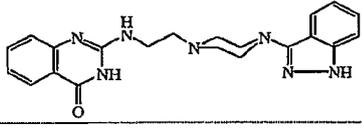
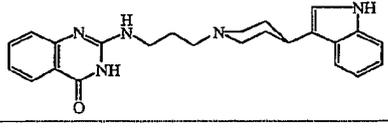
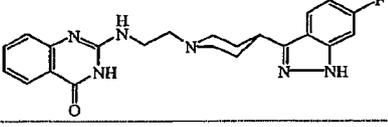
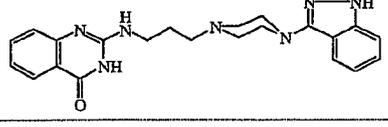
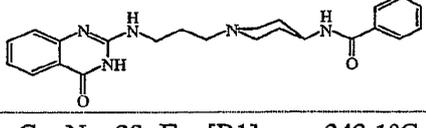
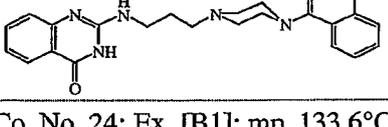
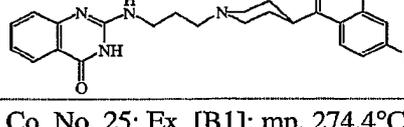
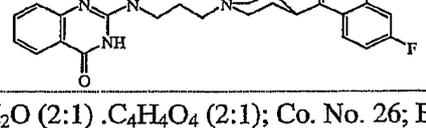
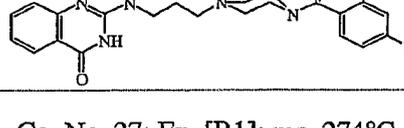
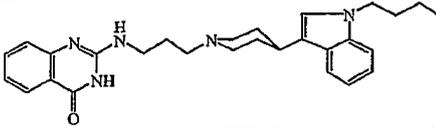
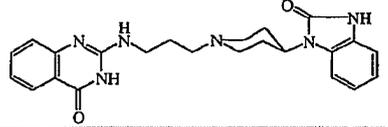
【0122】

表 F - 1 は、上記実施例の 1 つにしたがって製造された化合物を列挙する。

【0123】

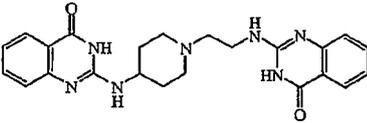
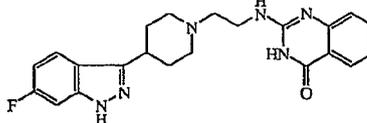
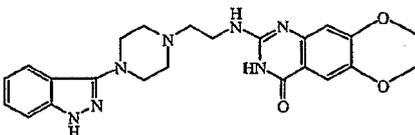
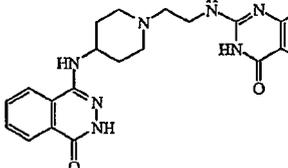
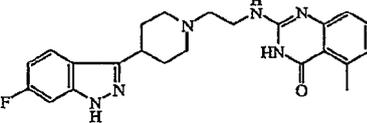
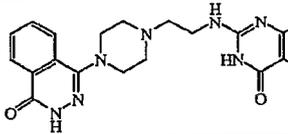
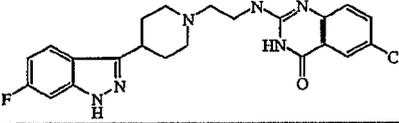
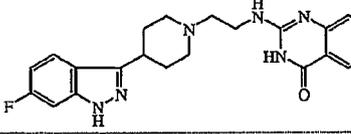
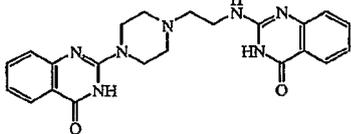
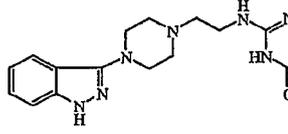
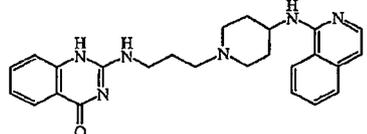
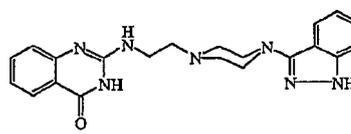
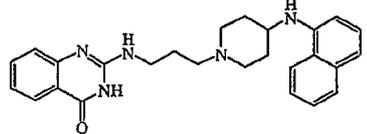
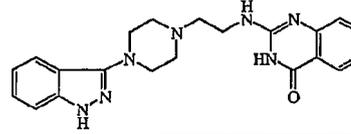
【表 1】

実施例

		10
Co. No. 1; Ex. [B1]; mp. 186°C	Co. No. 2; Ex. [B2]; mp. 178.4°C	
		
.H <sub>2</sub> O (1:1); Co. No. 3; Ex. [B3]; mp. 118°C		
		20
Co. No. 19; Ex. [B1]; mp. 206.3°C	Co. No. 20; Ex. [B1]; mp. 164.6°C	
		20
Co. No. 21; Ex. [B1]; mp. 193°C	Co. No. 22; Ex. [B1]; mp. 254°C	
		
Co. No. 23; Ex. [B1]; mp. 243.1°C		
		30
Co. No. 24; Ex. [B1]; mp. 133.6°C	Co. No. 25; Ex. [B1]; mp. 274.4°C	
		30
.H <sub>2</sub> O (2:1) .C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> (2:1); Co. No. 26; Ex. [B1]; mp. 147.1°C		
		40
Co. No. 28; Ex. [B1]; mp. 119.5°C	Co. No. 29; Ex. [B1]; mp. 255.5°C	

【0124】

【表 2】

	
Co. No. 30; Ex. [B1]; mp. 230°C	.C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (1:2). H <sub>2</sub> O (1:1); Co. No. 31; Ex. [B1]; mp. 142°C
	
.H <sub>2</sub> O (1:1); Co. No. 32; Ex. [B1]; mp. 154°C	.H <sub>2</sub> O (1:5); Co. No. 33; Ex. [B1]; mp. 190°C
	
.C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (1:2) .H <sub>2</sub> O (1:2) Co. No. 34; Ex. [B1]; mp. 156°C	Co. No. 35; Ex. [B1]; mp. >260°C
	
. C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (1:2) .H <sub>2</sub> O (1:1); Co. No. 36; Ex. [B1]; mp. 134°C	. C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (1:1); Co. No. 37; Ex. [B1]; mp. 148°C
	
. H <sub>2</sub> O (1:1); Co. No. 38; Ex. [B1]; mp. 205°C	Co. No. 39; Ex. [B1]; mp. 172°C
	
Co. No. 40; Ex. [B1]	Co. No. 41; Ex. [B1]; mp. 242.2°C
	
Co. No. 42; Ex. [B1]	Co. No. 43; Ex. [B1]; mp. 254°C

10

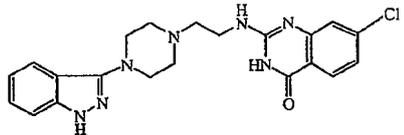
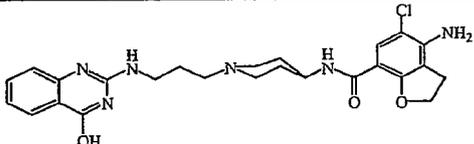
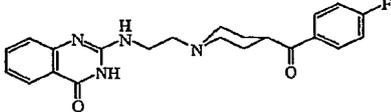
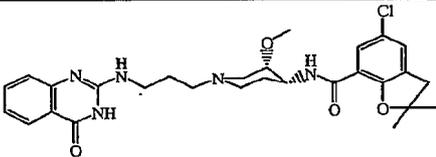
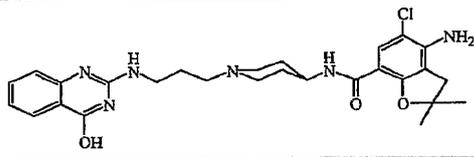
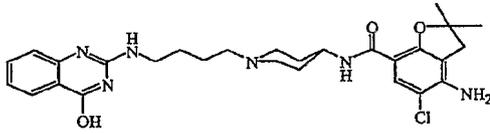
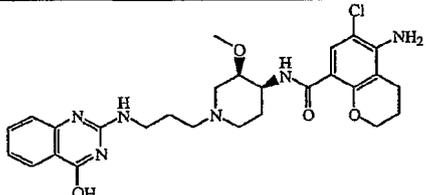
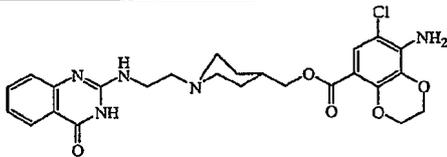
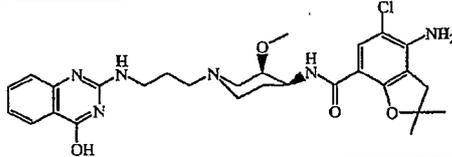
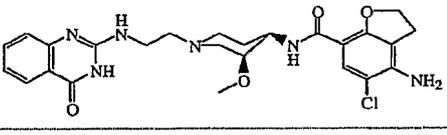
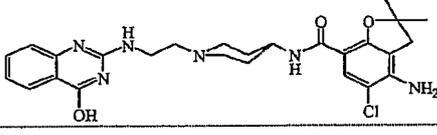
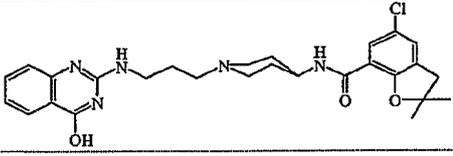
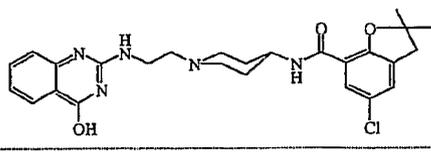
20

30

40

【 0 1 2 5 】

【表 3】

	
Co. No. 44; Ex. [B1]; mp. 172°C	.H <sub>2</sub> O (2:1); Co. No. 45 ; Ex. [B2]; mp. 192.6°C
	
.HCl (1:2); Co. No. 46; Ex. [B1]; mp. 253.8°C	
	
(B-CIS); Co. No. 18; Ex. [B2]; mp. 145.8°C	Co. No. 4; EP 669919
	
Co. No. 5; EP669919	(CIS); Co. No. 6; US 5374637
	
Co. No. 7; EP 885190	Co. No. 8; EP 669919, US 5374637
	
Co.No. 9, US 5374637	Co.No. 10, EP 669919
	
Co.No. 11, EP 669919	Co.No. 12, EP 669919

10

20

30

40

【表 4】

Co.No. 13, EP 669919	Co.No. 14, EP 669919
Co.No. 15, EP 669919	Co.No. 16, EP 669919
Co.No. 17, EP 669919	

10

## 【 0 1 2 7 】

20

## 薬理学的実施例

## PARP - 1 阻害活性についてのインビトロのシンチレーション・プロキシミティ・アッセイ (Scintillation Proximity Assay (SPA))

本発明の化合物は、SPA技術 (Amersham Pharmacia Biotech に対する所有権) に基づくインビトロ・アッセイにおいて試験された。

原則として、アッセイは、ピオチン化された標的タンパク質、すなわちヒストンのポリ (ADP - リボシル) 化の検出のための十分に確立されたSPA技術に頼る。このリボシル化は、ニックDNA活性化PARP - 1酵素およびADP - リボシルドナーとしての $[^3\text{H}]$  - ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド ( $[^3\text{H}]$  -  $\text{NAD}^+$ ) を用いて誘導される。

30

## 【 0 1 2 8 】

PARP - 1 酵素活性の誘導物質として、ニックDNAが製造された。このために、DNA (供給者: Sigma) の25mgが、25mlのDNアーゼバッファー (10mM Tris - HCl, pH 7.4; 0.5mg/mlウシ血清アルブミン (BSA); 5mM  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  および 1mM KCl) に溶解され、これに50 $\mu\text{l}$ のDNアーゼ溶液 (0.15M NaCl 中 1mg/ml) が添加された。37 $^\circ\text{C}$  で90分のインキュベーション後、反応は、1.45g NaCl を添加することによって終了され、続いて、さらに58 $^\circ\text{C}$  で15分間インキュベートされた。反応混合液を氷上で冷却し、そして0.2M KCl の1.5l に対してそれぞれ1.5および2時間、そして0.01M KCl の1.5l に対して2回、それぞれ1.5および2時間4 $^\circ\text{C}$  で透析された。混合液は一定分量に分けられ、-20 $^\circ\text{C}$  で保存された。ヒストン (1mg/ml, II - A型、供給者; Sigma) は、Amershamのピオチン化キットを用いてピオチン化され、一定分量に分けられて-20 $^\circ\text{C}$  で保存された。100mg/mlのSPAポリ (ビニルトルエン) (PVT) ビーズ (供給者; Amersham) の保存液がPBSにおいて作成された。 $[^3\text{H}]$  -  $\text{NAD}^+$  の保存液は $[^3\text{H}]$  -  $\text{NAD}^+$  (0.1mCi/ml、供給者; NEK) の120 $\mu\text{l}$  を6mlのインキュベーションバッファー (50mM Tris / HCl, pH 8; 0.2mM DTT; 4mM  $\text{MgCl}_2$ ) に添加することによって作成された。4mM  $\text{NAD}^+$  (供給者; Roche) の溶液は、インキュベーションバッファーにおいて作成された (-20 $^\circ\text{C}$  で保存された水中100mM保存溶液から)。PARP - 1 酵素は、当該技術において既知の技術、すなわち、ヒト肝臓cDNAから出発するタ

40

50

ンパク質のクローニングおよび発現を用いて作成された。参考文献を含むPARP-1酵素の使用されたタンパク質配列に関する情報は、主アクセス番号P09874の下のSwiss-Protデータベースにおいて見出される。ビオチン化ヒストンおよびPVT-SPAビーズが混合され、そして室温で30分間プレインキュベートされた。PARP-1酵素（濃度はロットに依存する）がニック酵素と混合され、そして混合液は4で30分間プレインキュベートされた。このヒストン/PVT-SPAビーズ溶液とPARP-1酵素/DNA溶液の等部分が混合され、この混合液75 $\mu$ lがDMSO中化合物1 $\mu$ lおよび $[^3\text{H}]-\text{NAD}^+$ の25 $\mu$ lとともに96穴マイクロタイタプレート中に1ウエル当たり添加された。インキュベーション混合液における最終濃度は、ビオチン化ヒストンについて2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、PVT-SPAビーズについては2 $\text{mg}/\text{ml}$ 、ニックDNAについては2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ およびPARP-1酵素については5~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。室温で15分間の混合液のインキュベーション後、反応は、インキュベーションバッファー中4 $\text{mM}$   $\text{NAD}^+$ の100 $\mu$ lの添加（最終濃度2 $\text{mM}$ ）によって終了させ、そしてプレート液が混合された。

ビーズは少なくとも15分間沈降させられ、そしてプレートがシンチレーションカウンティングのためにTopCountNXT<sup>TM</sup>（Packard）に移され、値が1分当たりのカウント（cpm）として表された。各実験では、対照（PARP-1酵素および化合物なしのDMSOを含有する）、ブランクインキュベーション（DMSOを含有するがPARP-1酵素または化合物は含有しない）、サンプル（PARP-1酵素およびDMSOに溶解された化合物を含有する）は並行して実施された。試験された全化合物はDMSOに溶解され、最終的にさらにそれにおいて希釈された。第1の例では、化合物は $10^{-5}\text{M}$ の濃度で試験された。化合物が $10^{-5}\text{M}$ で活性を示した場合、化合物が $10^{-5}\text{M}$ ~ $10^{-8}\text{M}$ の濃度で試験された用量応答曲線が作成された。各試験では、ブランク値は、両対照とサンプル値から引き算された。対照サンプルが最高のPARP-1酵素活性を示した。各サンプルでは、cpm量は、対照の平均cpm値のパーセントとして表された。適当であれば、 $\text{IC}_{50}$ 値（PARP-1酵素活性を対照の50%まで低下させるのに要する薬物の濃度）は、丁度50%レベルの上下の実験点間の直線補間を用いて算出された。ここでは、試験化合物の効果は、 $\text{pIC}_{50}$ （ $\text{IC}_{50}$ 値の負のlog値）として表された。参照化合物として、4-アミノ-1,8-ナフタルイミドがSPAアッセイを確認するために包含された。試験化合物は $10^{-5}\text{M}$ の初期試験濃度で阻害活性を示した（表2, 参照）。

#### 【0129】

##### PARP-1阻害活性のインビトロ・フィルトレーションアッセイ

本発明の化合物は、ADP-リボシルドナーとしての $[^3\text{P}]-\text{NAD}$ を用いて、そのヒストンポリ(ADP-リボシル)化活性によってPARP-1活性(ニックDNAの存在下で起こされる)を調査するインビトロ・フィルトレーションアッセイにおいて試験された。放射性リボシル化ヒストンは、96穴フィルタープレートにおいてトリクロロ酢酸(TCA)によって沈殿され、組み込まれた $[^3\text{P}]$ がシンチレーションカウンターを用いて測定された。

#### 【0130】

インキュベーションバッファー(50 $\text{mM}$  Tris/HCl, pH8; 0.2 $\text{mM}$  DTT; 4 $\text{mM}$  MgCl<sub>2</sub>)中、ヒストン(保存溶液: H<sub>2</sub>O中5 $\text{mg}/\text{ml}$ )、 $\text{NAD}^+$ (保存溶液: H<sub>2</sub>O中100 $\text{mM}$ )、および $[^3\text{P}]-\text{NAD}^+$ の混合液が作成された。また、PARP-1酵素(5~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )およびニックDNAの混合液が作成された。ニックDNAは、PARP-1阻害活性のためのインビトロSPAにおいて記述されたように調製された。DMSO中化合物1 $\mu$ lおよびヒストン- $\text{NAD}^+$ / $[^3\text{P}]-\text{NAD}^+$ 混合液25 $\mu$ lと一緒に、PARP-1酵素/DNA混合液75 $\mu$ lが、96穴フィルタープレートの1ウエル当たり添加された。インキュベーション混合液における最終濃度は、ヒストンについて2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $\text{NAD}^+$ については0.1 $\text{mM}$ 、 $[^3\text{P}]-\text{NAD}^+$ については200 $\mu\text{M}$ (0.5 $\mu\text{Ci}$ )、およびニックDNAについては

2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。プレートは、室温で15分間インキュベートされ、そして反応は、10  $\mu\text{l}$ の氷冷100% TCAの添加，続いて10  $\mu\text{l}$ の氷冷BSA溶液（ $\text{H}_2\text{O}$ 中1%）の添加によって終了させた。タンパク質フラクションは4で10分間沈殿させられ、そしてプレートは真空濾過された。続いて、プレートは、各ウエルについて、10%氷冷TCAの1ml、5%氷冷TCAの1mlおよび室温での5% TCAの1mlにより洗浄された。最後に、シンチレーション溶液（Microscint 40, Packard）の100  $\mu\text{l}$ が各ウエルに添加され、そしてプレートがシンチレーションカウンティングのためにTop Count NXT<sup>TM</sup>（供給者：Packard）に移され、値が1分当たりのカウント（cpm）として表された。各実験では、対照（PARP-1酵素および化合物なしのDMSOを含有する）、ブランクインキュベーション（DMSOを含有するがPARP-1酵素または化合物は含有しない）およびサンプル（PARP-1酵素およびDMSOに溶解された化合物を含有する）は並行して実施された。試験された全化合物はDMSOに溶解され、最終的にさらにそれにおいて希釈された。第1の例では、化合物は $10^{-5}$  Mの濃度で試験された。化合物が $10^{-5}$  Mで活性を示した場合、化合物が $10^{-5}$  M ~  $10^{-8}$  Mの濃度で試験された用量応答曲線が作成された。各試験では、ブランク値は、両対照とサンプル値から引き算された。対照サンプルが最高のPARP-1酵素活性を示した。各サンプルでは、cpm量は、対照の平均cpm値のパーセントとして表された。適当であれば、 $\text{IC}_{50}$ 値（PARP-1酵素活性を対照の50%まで低下させるのに要する薬物の濃度）は、丁度50%レベルの上下の実験点間の直線補間を用いて算出された。ここでは、試験化合物の効果は、 $\text{pIC}_{50}$ （ $\text{IC}_{50}$ 値の負のlog値）として表された。参照化合物として、4-アミノ-1,8-ナフタルイミドがフィルトレーションアッセイを確認するために包含された。試験化合物は $10^{-5}$  Mの初期試験濃度で阻害活性を示した（表2，参照）。

#### 【0131】

#### TANK-2 阻害活性についてのインビトロのシンチレーション・プロキシミティ・アッセイ（SPA）

本発明の化合物は、Ni Flashプレート（96または384穴）を用いるSPA技術に基づくインビトロ・アッセイにおいて試験された。

原則として、このアッセイは、ADP-リボシルドナーとして[<sup>3</sup>H]-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（[<sup>3</sup>H]-NAD<sup>+</sup>）を用いるTANK-2タンパク質の自己ポリ（ADP-リボシル）化の検出のためにSPA技術に頼る。

#### 【0132】

[<sup>3</sup>H]-NAD<sup>+</sup>/NADの保存液は[<sup>3</sup>H]-NAD<sup>+</sup>（0.1 mCi/ml、供給者；PerkinElmer）の64.6  $\mu\text{l}$ およびNAD保存液（10.7 mM，-20で保存された、供給者；Roche）の46.7  $\mu\text{l}$ を1888.7  $\mu\text{l}$ のアッセイバッファー（60 mM Tris/HCl，pH 7.4；0.9 mM DTT；6 mM MgCl<sub>2</sub>）に添加することによって作成された。TANK-2酵素は、欧州特許第1238063号に記述されるように作成された。アッセイバッファーの60  $\mu\text{l}$ が、DMSO中化合物1  $\mu\text{l}$ 、[<sup>3</sup>H]-NAD<sup>+</sup>/NADの20  $\mu\text{l}$ およびTANK-2酵素（最終濃度6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）の20  $\mu\text{l}$ とともに96穴Niコートされたフラッシュプレート（Perkin Elmer）中に1ウエル当たり添加された。室温で120分間の混合液のインキュベーション後，反応は、停止液（6 mlの $\text{H}_2\text{O}$ 中42.6 mgのNAD）の60  $\mu\text{l}$ の添加によって終了された。プレートはプレートシーラーで覆われ、シンチレーションカウンティングのためにTop Count NXT<sup>TM</sup>（Packard）に置かれた。値は1分当たりのカウント（cpm）として表された。各実験では、対照（TANK-2酵素および化合物なしのDMSOを含有する）、ブランクインキュベーション（DMSOを含有するがTANK-2酵素または化合物は含有しない）およびサンプル（TANK-2酵素およびDMSOに溶解された化合物を含有する）は並行して実施された。試験された全化合物はDMSOに溶解され、最終的にさらにそれにおいて希釈された。第1の例では、化合物は $10^{-5}$  Mの濃度で試験された。化合物が $10^{-5}$  Mで活性を示した場

10

20

30

40

50

合、化合物が  $10^{-5} \text{ M} \sim 10^{-8} \text{ M}$  の濃度で試験された用量応答曲線が作成された。各試験では、ブランク値は、両対照とサンプル値から引き算された。対照サンプルが最高の TANK - 2 酵素活性を示した。各サンプルでは、cpm量は、対照の平均cpm値のパーセントとして表された。適当であれば、 $IC_{50}$  値 (TANK - 2 酵素活性を対照の50%まで低下させるのに要する薬物の濃度) は、丁度50%レベルの上下の実験点間の直線補間を用いて算出された。ここでは、試験化合物の効果は、 $pIC_{50}$  ( $IC_{50}$  値の負のlog値) として表された。参照化合物として、3 - アミノベンズアミドおよび4 - アミノ - 1, 8 - ナフタルイミドがSPAアッセイを確認するために包含された。ここではアッセイは96穴プレートを用いて記述された。384穴プレートを用いるアッセイでは、同じ最終濃度が使用され、そして容量が適用された。96穴プレートの結果が利用される場合、これらの結果が表2に組み入れられたが、他にも384穴プレートからの結果も示された。

【0133】

【表5】

表2

化合物 No	インヒドロの フィルター アッセイ PARP-1 pIC50	インヒドロの SPAアッセイ PARP-1 pIC50	インヒドロの SPAアッセイ TANK-2 pIC50
1		8.11	<5
2	6.012	6.876	<5
3		6.272	5.753
4	5.438	6.144	<5
5	5.579	6.195	<5
6	5.563	6.412	<5
7	5.464	6.228	6.127
8	5.676	6.272	<5
11			<5
12			<5
13			<5
16			<5
17			<5
18	5.345	6.072	<5
19	6.204	7.498	<5
20	5.276	6.171	<5
21	6.284	7.593	<5
22	6.331	7.334	5.073
23	5.595	6.163	<5
24	5.305	6.105	<5
25	5.635	6.721	<5
26	5.789	6.372	<5
27	6.373	7.353	5.099
28	5.55	5.827	<5
29	5.333	6.105	<5
30		7.491	6.1
31		7.405	<5
32		7.345	
33		7.458	6.028
34		7.664	
35		7.971	
36		7.965	<5
37		7.816	<5
38		6.373	6.27
39		8.003	<5
40	5.649	6.492	<5
41	6.263	7.352	<5
42	5.048	6.075	<5
43		7.908	<5
44		7.533	<5
45	5.516	6.647	<5
46	5.729	6.637	<5

## 【0134】

化合物は、細胞の化学および放射線増感アッセイ、がん細胞系および最終的にはインビボの放射線増感試験における内因性PARP-1活性の阻害を測定するアッセイにおいて評価されてもよい。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

C 0 7 D 407/14	(2006.01)	C 0 7 D 407/14	
C 0 7 D 417/12	(2006.01)	C 0 7 D 417/12	
C 0 7 D 413/12	(2006.01)	C 0 7 D 413/12	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 51/00	(2006.01)	A 6 1 K 43/00	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 7
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 9/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 21/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 31/18	(2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 37/04	(2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 19/06	(2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/06	
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 17/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 19/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 25/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 31/04	(2006.01)	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 17/16	(2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 41/00	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 25/02	(2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 17/16	
		A 6 1 P 41/00	
		A 6 1 P 25/02	
		A 6 1 P 35/02	

- (72)発明者 ケニス, ルド・エドモンド・ジヨセフィン  
ベルギー・ビー - 2 5 0 0 リール・ボスストラート 3 5
- (72)発明者 メルテンス, ジヨセフス・カロルス  
ベルギー・ビー - 2 3 6 0 オウト - トウルンホウト・スターツバーン 3 5 / 1
- (72)発明者 バン・デユン, ヤコブス・アルフオンスス・ジヨセフス  
ベルギー・ビー - 2 3 4 0 ビールセ・トウルンホウトセベーク 3 0・ジャンセン・ファーマシユー  
チカ・ナムローゼ・フエンノートシャツプ
- (72)発明者 ソマーズ, マリア・ビクトリア・フランシスカ  
ベルギー・ビー - 2 3 4 0 ビールセ・トウルンホウトセベーク 3 0・ジャンセン・ファーマシユー  
チカ・ナムローゼ・フエンノートシャツプ
- (72)発明者 ウーターズ, ワルター・ブーデウイン・レオポルト  
ベルギー・ビー - 2 3 4 0 ビールセ・トウルンホウトセベーク 3 0・ジャンセン・ファーマシユー  
チカ・ナムローゼ・フエンノートシャツプ

審査官 三上 晶子

- (56)参考文献 国際公開第03/055865(WO,A1)  
特表2004-515544(JP,A)  
特表平08-505840(JP,A)  
特表2000-505461(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)  
C07D239/00-239/96  
C07D401/00-421/14  
A61K 31/33- 33/44  
A61K 51/00  
A61P 1/00- 43/00  
CAPlus/REGISTRY(STN)