

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02012/176878

発行日 平成27年2月23日 (2015. 2. 23)

(43) 国際公開日 平成24年12月27日 (2012. 12. 27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/551 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/551	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C 2 0 6
<b>A 6 1 P 35/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/02	4 H 0 0 6
<b>C 0 7 D 243/08 (2006.01)</b>	C 0 7 D 243/08 5 0 2	
<b>A 6 1 K 31/135 (2006.01)</b>	C 0 7 D 243/08 5 0 5	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 41 頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2013-521632 (P2013-521632)	(71) 出願人 505246789
(21) 国際出願番号 PCT/JP2012/065992	学校法人自治医科大学
(22) 国際出願日 平成24年6月22日 (2012. 6. 22)	東京都千代田区平河町二丁目6番3号
(31) 優先権主張番号 特願2011-139235 (P2011-139235)	(71) 出願人 000163006
(32) 優先日 平成23年6月23日 (2011. 6. 23)	興和株式会社
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	愛知県名古屋市中区錦3丁目6番29号
	(74) 代理人 100113376
	弁理士 南条 雅裕
	(74) 代理人 100179394
	弁理士 瀬田 あや子
	(74) 代理人 100168491
	弁理士 武井 紀英
	(74) 代理人 100185384
	弁理士 伊波 興一朗

最終頁に続く

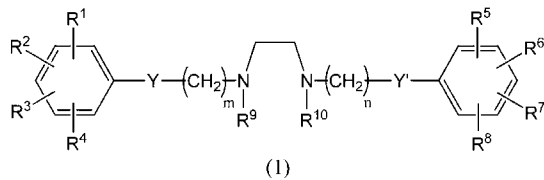
(54) 【発明の名称】 プロテアソーム阻害剤

(57) 【要約】

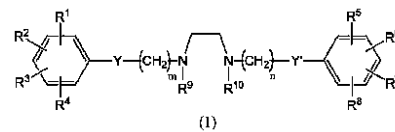
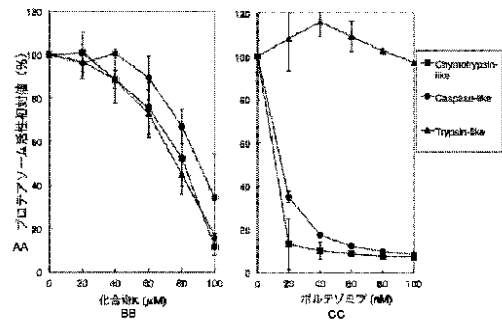
【課題】 経口投与可能な新規プロテアソーム阻害剤の提供。

【解決手段】 次の一般式(1) :

【化1】



【式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-CH=CH、-O-CONH、-S-CO、-CONH、-NHCO 又はNH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub> [ここでは、フェニル基側の結合を示す]を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なっ



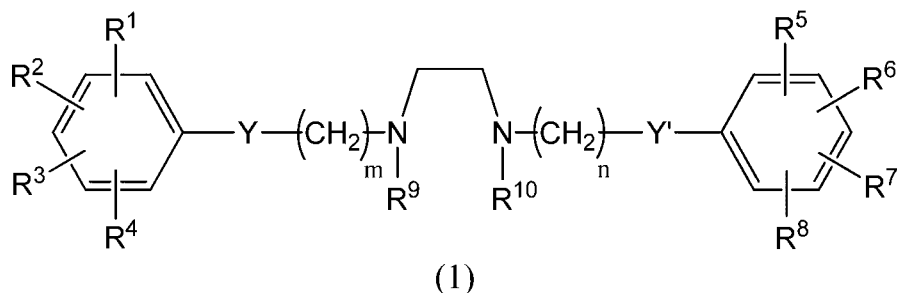
AA Relative value of proteasome activity (%)  
 BB Compound K (μM)  
 CC Bortezomib (nM)

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

次の一般式(1)：

## 【化 1】



10

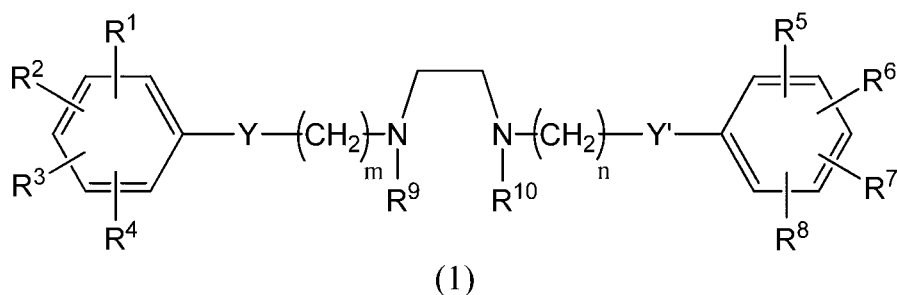
〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CONH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とするプロテアソーム  
阻害剤。

20

## 【請求項 2】

次の一般式(1)：

## 【化 2】



30

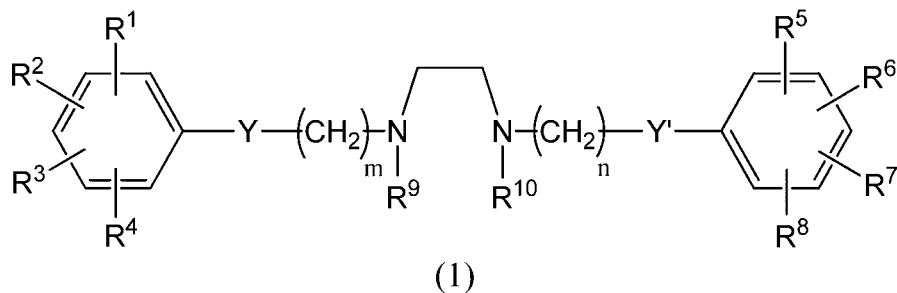
〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CONH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とする腫瘍細胞の増殖  
抑制剤。

40

## 【請求項 3】

次の一般式(1)

## 【化3】



10

〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CONH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とする悪性腫瘍の予防  
及び/又は治療剤。

20

## 【請求項4】

悪性腫瘍が、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、白血病、乳癌、大腸癌、ホルモン抵抗  
性前立腺癌、卵巣癌である、請求項3に記載の予防及び/又は治療剤。

## 【請求項5】

一般式(1)で表される化合物が、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

、  
N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、

N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレ  
ンジアミン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
ラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラ  
ジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
ジン、及び、

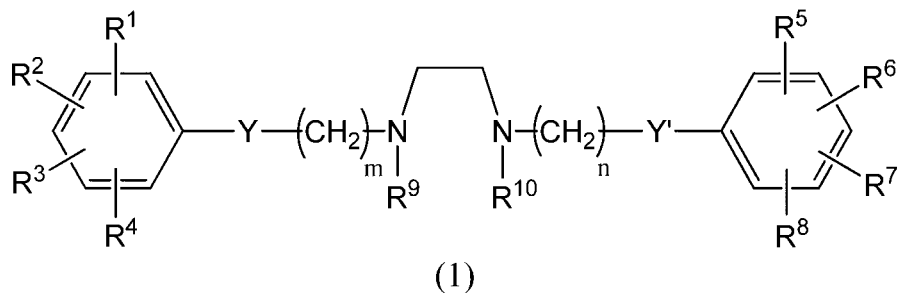
N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
から選択される化合物である、請求項1～4に記載の剤。

40

## 【請求項6】

次の一般式(1)

## 【化4】



10

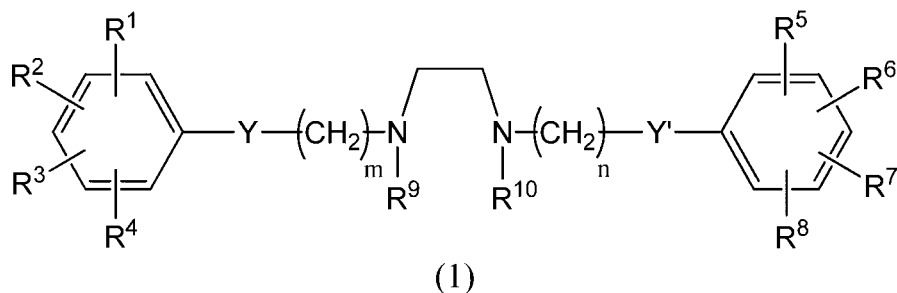
〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CO-NH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴と  
する、プロテアソーム阻害方法。

20

## 【請求項7】

次の一般式(1)

## 【化5】



30

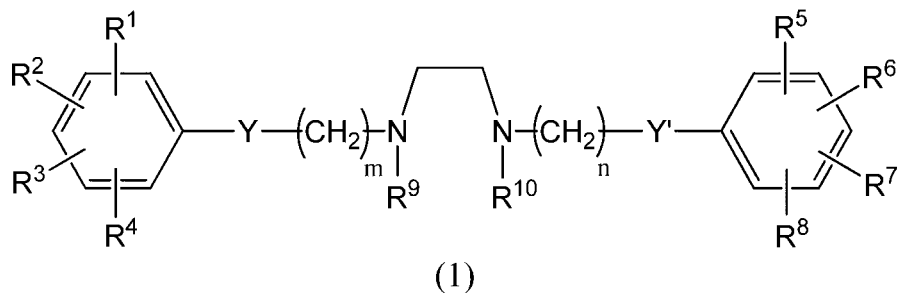
〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CO-NH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴と  
する、腫瘍細胞の増殖抑制方法。

40

## 【請求項8】

次の一般式(1)

## 【化6】



10

〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CO-NH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なっ  
て、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なっ  
て、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴と  
する、悪性腫瘍の予防及び/又は治療方法。

20

## 【請求項9】

一般式(1)で表される化合物が、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

、  
N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、

N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレ  
ンジアミン、

30

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
ラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラ  
ジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
ジン、及び、

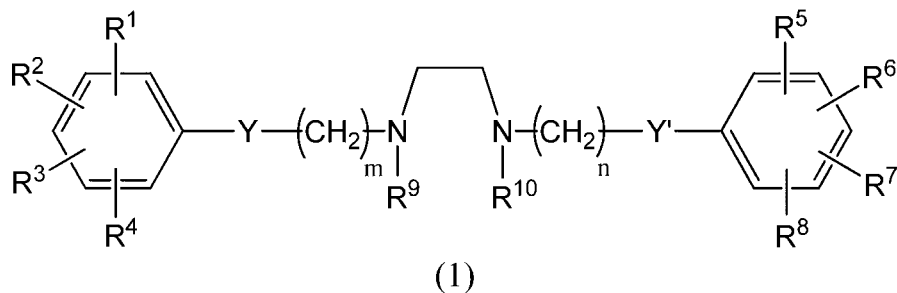
N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
から選択される化合物である、請求項6～8に記載の方法。

40

## 【請求項10】

(a) 次の一般式(1)

## 【化 7】



10

〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CO-NH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニ  
ル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>  
アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって  
、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示すか、又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-又  
は-CH<sub>2</sub>CH(R<sup>11</sup>)CH<sub>2</sub>-〔ここで、R<sup>11</sup>は水素原子、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルキルスル  
ホニルオキシ基を示す〕を示し；m及びnは、同一又は異なって、2～4の整数を示す〕で  
表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物、及び(b)その他の薬剤を含有す  
る組合せ医薬組成物。

20

## 【請求項 1 1】

一般式(1)で表される化合物が、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

、  
N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、

N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレ  
ンジアミン、

30

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
ラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラ  
ジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
ジン、及び、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
から選択される化合物である、請求項 1 0 に記載の組合せ医薬組成物。

40

## 【請求項 1 2】

その他の薬剤が、抗癌剤、ステロイド系抗炎症薬、サリドマイド又はレナリドマイドであ  
る請求項 1 0 又は 1 1 に記載の組合せ医薬組成物。

## 【請求項 1 3】

下記、

N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチ  
レンジアミン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

50

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメチルフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
から選択される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、プロテアソーム阻害活性を有し、多発性骨髄腫を始めとする悪性腫瘍の治療に有用な経口低分子薬剤に関する。

【背景技術】

【0002】

最近になって、抗CD20抗体リツキサンやBCR-ABL阻害剤イマニチブに代表される分子標的治療剤が開発され、劇的な治療効果を挙げている。これまでの悪性腫瘍に対する治療薬は、DNA障害を惹起して細胞死を誘導するタイプの薬剤が主流であったが、今後は、治療標的分子の探索に基づく分子標的治療薬が主流になると予測される。分子標的治療薬には大きく分けて2つのタイプがあり、ひとつにはリツキサンに代表される抗体と、もうひとつはイマニチブに代表される低分子化合物である。

20

【0003】

近年、難治性の造血器悪性腫瘍である多発性骨髄腫に有効性を示すボルテゾミブ（非特許文献1）が上市された。ボルテゾミブは、後者に属する分子標的薬である。ボルテゾミブは細胞内で不要になった蛋白質を分解するプロテアソーム中心に入り込み（非特許文献2）、その活性を阻害し、細胞内に過剰な蛋白質を蓄積させて細胞内ストレスを惹起させることにより細胞死を誘導する。骨髄腫細胞は元々抗体を産生するプラズマ細胞が腫瘍化した細胞であり、細胞内に抗体などの多量の蛋白質が存在する。そのため、プロテアソーム阻害に対する感受性が高いと考えられ、プロテアソームは多発性骨髄腫の有用な治療標的分子として認識されている。実際にこれまでの臨床試験において、ボルテゾミブの劇的な治療成績の向上が示されている（非特許文献3、4）。しかしながら、末梢神経障害や血小板減少症といった長期投与に伴うさまざまな副作用や、一部の症例では依然、5サブユニットの遺伝子変異による耐性の獲得や再発例も報告されている。さらに、ボルテゾミブが静脈注射投与によってのみ効果を示すため、QOLの低さが問題となっている

30

【0004】

ボルテゾミブ以外にも、カーフィルゾミブ（carfilzomib、非特許文献5）、CEP-18770（非特許文献6）、MLN-9708（非特許文献7）、マリゾミブ（marizomib、NPI-0052、非特許文献8）、ONX-0912（非特許文献9）等のプロテアソーム阻害剤が知られているが、ほとんどのプロテアソーム阻害剤は、ボルテゾミブ同様にペプチドミメティクスであり経口投与には不適な構造を有している。唯一、天然物であるマリゾミブのみが非ペプチド型低分子化合物であり、経口投与可能であるとの報告があるが、実際には静注投与製剤として開発が進められている。

40

【0005】

従って、副作用の軽減や耐性の克服、再発例に対する治療やQOL等の必要性から、異なる作用機序を持ち経口投与で効果を示す非ペプチド型新規プロテアソーム阻害剤の開発は重要な課題である。

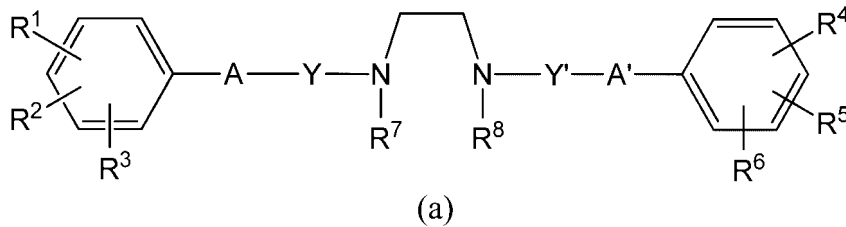
【0006】

一方、次の一般式(a)：

【0007】

50

## 【化1】



## 【0008】

10

〔式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 及び $R^6$ は、同一又は異なって、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、低級アルキル基、低級アルコキシ基、低級アシルオキシ基、低級アルキルスルホニルオキシ基又はアミノ基を示し、 $R^7$ 及び $R^8$ は、同一又は異なって低級アルキル基を示すが、両者が結合して炭素数1~4のアルキレン基を示し、A及びA'は同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-NHCO、-CONH、-NHCOO、-NHCONH、-SO<sub>2</sub>NH又は-COSを示し（Y又はY'との結合を示す）、Y及びY'は同一又は異なって、低級アルキレン基又は低級アルキニレンキ基を示す〕で表されるジアミン化合物又はその塩は、脳機能障害の改善や進展防止に有効な脳保護剤であることが知られている（特許文献1参照）。

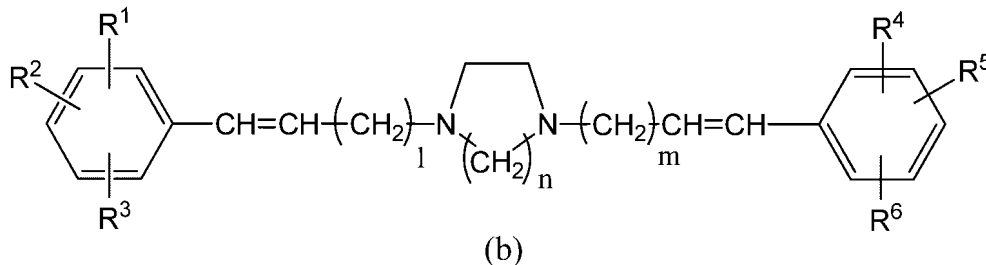
## 【0009】

次の一般式(b)：

20

## 【0010】

## 【化2】



30

## 【0011】

〔式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 及び $R^6$ は、同一又は異なって、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、 $C_{1-6}$ アルキル基又は $C_{1-6}$ アルコキシ基を示し、l及びmは、同一又は異なって、1~3の整数を示し、nは2又は3の整数を示す〕で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物のいくつかは、細胞接着阻害作用及び細胞浸潤阻害作用による抗アレルギー剤、抗炎症剤（特許文献2参照）、及びアポトーシス抑制作用によるシェーグレン症候群、結膜障害等の治療剤（特許文献3参照）、エリスロポエチン産生促進剤（特許文献4参照）、前駆脂肪細胞分化抑制剤（特許文献5参照）、インスリン分泌促進剤（特許文献6参照）として有用であることが知られている。しかしながら、後記一般式(1)で表される化合物のプロテアソーム阻害作用や悪性腫瘍の予防・治療剤、特に多発性骨髄腫の治療効果は全く知られていなかった。

40

## 【0012】

以下に、関連し得る技術について言及する文献を示す。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0013】

【特許文献1】特開平3-2144号公報

【特許文献2】特開平9-143075号公報

【特許文献3】W002/20477号パンフレット

【特許文献4】W004/02493号パンフレット

50



【特許文献5】特開2009-051796号公報

【特許文献6】特開2011-001296号公報

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献1】J.Clin.Oncol., 20, 4420-4427 (2002)

【非特許文献2】Structure, 14, 451-456 (2006)

【非特許文献3】New Engl.J.Med., 348, 2609-2617 (2003)

【非特許文献4】New Engl.J.Med., 352, 2487-2498 (2003)

【非特許文献5】Blood, 110, 3281-3290(2007)

【非特許文献6】Blood, 111,2765-75(2008)

10

【非特許文献7】Cancer Res., 70, 1970-1980 (2006)

【非特許文献8】Cancer Cell, 8(5), 407-419 (2005)

【非特許文献9】Blood, 116, 4906-4915 (2010)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0015】

本発明の課題は、多発性骨髄腫などの悪性腫瘍の治療成績とQOLの向上を目指すため、ボルテゾミブとは異なる経路を介した経口投与可能な新規プロテアソーム阻害剤を提供することにある。

【発明を解決するための手段】

20

【0016】

本発明者らは、上記目的を達成するため鋭意研究を続けた結果、下記一般式(1)で表される化合物がプロテアソーム活性を阻害することを見出した。また、多発性骨髄腫株を用いた評価から、ボルテゾミブがプロテアソームのカスパーゼ様活性(1サブユニット)、トリプシン様活性(2サブユニット)、キモトリプシン様活性(5サブユニット)部位のうちの特にキモトリプシン様活性を阻害するのに対し、前記一般式(1)で表される化合物はすべての活性を阻害すること、及び一般式(1)で表される化合物はボルテゾミブ耐性株に対しても細胞増殖を抑制することを見出した。さらに、腫瘍細胞移植マウスを用いた経口投与in vivo評価においても一般式(1)で表される化合物が骨髄腫細胞の増殖抑制作用を有していることを確認し、本発明を完成した。

30

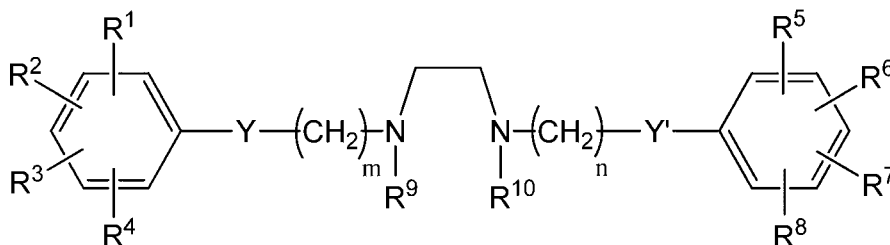
【0017】

すなわち、本発明は以下の発明に関する。

[1] 次の一般式(1)：

【0018】

【化3】



(1)

40

【0019】

〔式中、Y及びY'は、同一又は異なって、単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-C  
H=CH、-O-CONH、-S-CO、-CONH、-NHCO又はNHSO<sub>2</sub>〔ここでは、フェニル基側の結合を示す〕を示し；R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、同一又は異なって、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基を示し；R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、同一又は異なって

50

、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基を示すか、又は $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって、 $-CH_2CH_2-$ 又は $-CH_2CH(R^{11})CH_2-$  [ここで、 $R^{11}$ は水素原子、 $C_{1-6}$ アルコキシ基又は $C_{1-6}$ アルキルスルホニルオキシ基を示す]を示し； $m$ 及び $n$ は、同一又は異なって、2～4の整数を示す]で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とするプロテアソーム阻害剤。

[2] 一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とする腫瘍細胞の増殖抑制剤。

[3] 一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とする悪性腫瘍の予防及び/又は治療剤。

[4] 悪性腫瘍が、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫(マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、耐性/再発性の濾胞性リンパ腫等)、白血病(急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血等)、乳癌、大腸癌、ホルモン抵抗性前立腺癌、卵巣癌である、前記[3]に記載の予防及び/又は治療剤。

[5] 一般式(1)で表される化合物が、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 $N,N'$ -ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

、  
 $N,N'$ -ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ジメチル- $N,N'$ -ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレンジアミン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、及び、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、から選択される化合物である、前記[1]～[4]に記載の剤。

【0020】

[6] 一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、プロテアソーム阻害方法。

[7] 一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、腫瘍細胞の増殖抑制方法。

[8] 一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、悪性腫瘍の予防及び/又は治療方法。

[9] 一般式(1)で表される化合物が、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

、  
 $N,N'$ -ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、

$N,N'$ -ジメチル- $N,N'$ -ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレンジアミン、

$N,N'$ -ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

10

20

30

40

50

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
 ラジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラ  
 ジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3, 5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
 ジン、及び、  
 N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 から選択される化合物である、前記[6]～[8]に記載の方法。

10

## 【0021】

[10] プロテアソーム阻害剤を製造するための、一般式(1)で表される化合物、若しくはそ  
 の塩又はそれらの溶媒和物の使用。

[11] 腫瘍細胞の増殖抑制剤を製造するための、一般式(1)で表される化合物、若しくはそ  
 の塩又はそれらの溶媒和物の使用。

[12] 悪性腫瘍の予防及び/又は治療剤を製造するための、一般式(1)で表される化合物、  
 若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の使用。

[13] 一般式(1)で表される化合物が、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

20

、  
 N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレ  
 ンジアミン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
 ラジン、

30

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラ  
 ジン、

N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3, 5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
 ジン、及び、

N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 から選択される化合物である、前記[10]～[12]に記載の使用。

## 【0022】

[14] (a) 一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物、及び(b)  
 その他の薬剤(抗癌剤、ステロイド系抗炎症薬、サリドマイド又はレナリドマイド等)を  
 含有する組合せ医薬組成物。

40

[15] 一般式(1)で表される化合物が、

N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン

、  
 N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン、  
 N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレ  
 ンジアミン、

50

N,N' -ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
 ラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラ  
 ジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3, 5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
 ジン、及び、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

10

から選択される化合物である、前記[14]に記載の組合せ医薬組成物。

【0023】

[16] 次の、

N,N' -ジメチル-N,N' -ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレ  
 ンジアミン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペ  
 ラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメチルフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラジ  
 ン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3, 5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラ  
 ジン、  
 N,N' -ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン、

20

から選択される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物。

【発明の効果】

【0024】

本発明の、一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物は、プ  
 ロテアソーム活性を強力に阻害する非ペプチド型低分子性化合物であり、経口投与によっ  
 て腫瘍細胞の増殖抑制を有する。従って、ヒトを含む哺乳類の悪性腫瘍、特に多発性骨髄  
 腫の予防及び/又は治療剤として有用である。

30

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】多発性骨髄腫細胞株に対する化合物Kの細胞増殖抑制作用を示す図である。

【図2】多発性骨髄腫細胞株において、3種類のプロテアソームサブユニットそれぞれに  
 対するボルテゾミブと化合物Kの阻害作用を示す図である。

【図3】ボルテゾミブ耐性株に対する、化合物Kのキモトリプシン様活性阻害作用を示す  
 図である。

【図4】ボルテゾミブ耐性株に対する、化合物Kの細胞増殖抑制作用を示す図である。

40

【図5】骨髄腫細胞を移植したマウスへの経口投与による、化合物Kの腫瘍形成の抑制効  
 果を示す図である。

【図6】化合物KとHDAC阻害剤Tubacinと併用したときの、骨髄腫細胞の増殖抑制作用を示  
 す図である。

【図7】多発性骨髄腫細胞株に対する化合物K、K2、K3、K4、K5、K6及びK7  
 の細胞増殖抑制作用を示す図である。

【図8】多発性骨髄腫細胞株に対する化合物K8、K9、K10、K11、K12及びK  
 13の細胞増殖抑制作用を示す図である。

【図9】多発性骨髄腫細胞株において、3種類のプロテアソームサブユニット(左から順  
 に、キモトリプシン様、カスパーゼ様、トリプシン様酵素活性)に対する化合物K、K7

50

、K 8、K 10の阻害作用を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0026】

以下、本発明について詳細に説明する。本発明中の用語の定義は以下の通りである。なお、ここに定義のない用語については、通常の意味に従う。

【0027】

一般式(1)中、Y及びY'は、それぞれ独立に(すなわち、同一又は異なって)、

(1) 単結合、-O-、-NH-、-CH=CH、-CO-CH=CH、-O-CONH、-S-CO、-CONH、-NHCO又は-NHSO<sub>2</sub>、または、

(2) 単結合、-CH=CH、-CO-CH=CH、-O-CONH又は-NHCO

を示す。ここで、は、フェニル基側の結合であることを意味する。

10

【0028】

一般式(1)中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、それぞれ独立に(すなわち、同一又は異なって)、

(1) 水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基、または、

(2) 水素原子、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基、または、

(3) 水素原子、アミノ基、カルボキシル基、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基、

を示す。

20

【0029】

一般式(1)中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>におけるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子が挙げられる。

【0030】

一般式(1)中、C<sub>1-6</sub>アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基が挙げられるが、メチル基及びt-ブチル基がより好ましい。

【0031】

一般式(1)中、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基としては、例えば、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、i-ブトキシ基、t-ブトキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基が挙げられるが、メトキシ基及びエトキシ基がより好ましい。

30

【0032】

一般式(1)中、C<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基としては、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、n-プロポキシカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基、n-ブトキシカルボニル基、i-ブトキシカルボニル基、t-ブトキシカルボニル基、ペンチルオキシカルボニル基、ヘキシルオキシカルボニル基が挙げられるが、t-ブトキシカルボニル基がより好ましい。

【0033】

一般式(1)中、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は、それぞれ独立に(すなわち、同一又は異なって)、

(1) 水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基、または、

(2) C<sub>1-6</sub>アルキル基

を示す。

40

【0034】

一般式(1)中、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>におけるC<sub>1-6</sub>アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基が挙げられるが、メチル基がより好ましい。

【0035】

一般式(1)中、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって(すなわち、両者が結合して)環を形成した場

50

合は、

(1)  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  又は  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^{11})\text{CH}_2-$ 、または

(2)  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^{11})\text{CH}_2-$

を示す。

【0036】

一般式(1)中、 $\text{R}^{11}$ における $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ基としては、例えば、メトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、イソプロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*i*-ブトキシ基、*t*-ブトキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基が挙げられるが、メトキシ基がより好ましい。

【0037】

一般式(1)中、 $\text{R}^{11}$ における $\text{C}_{1-6}$ アルキルスルホニルオキシ基としては、例えば、メチルスルホニルオキシ基、エチルスルホニルオキシ基、*n*-プロピルスルホニルオキシ基、イソプロピルスルホニルオキシ基、*n*-ブチルスルホニルオキシ基、*i*-ブチルスルホニルオキシ基、*t*-ブチルスルホニルオキシ基、ペンチルスルホニルオキシ基、ヘキシルスルホニルオキシ基が挙げられるが、メチルスルホニルオキシ基がより好ましい。

10

【0038】

一般式(1)中、*m*及び*n*は、2~4の整数が挙げられるが、3がより好ましい。

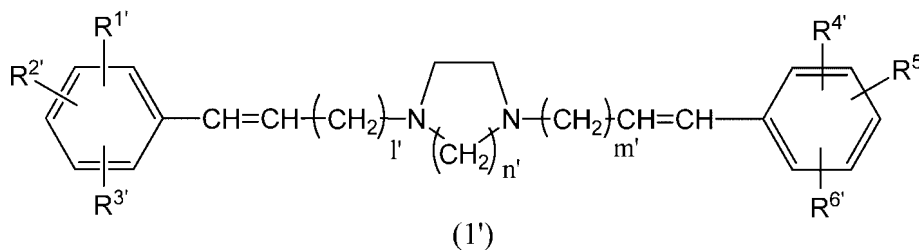
【0039】

本発明の一実施態様としては、一般式(1)に代えて、下記一般式(1')

【0040】

【化4】

20



【0041】

〔式(1')中、 $\text{R}^{1'}$ 、 $\text{R}^{2'}$ 、 $\text{R}^{3'}$ 、 $\text{R}^{4'}$ 、 $\text{R}^{5'}$ 及び $\text{R}^{6'}$ は、同一又は異なって、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、 $\text{C}_{1-6}$ アルキル基又は $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ基を示し、*l'*及び*m'*は、同一又は異なって、1~3の整数を示し、*n'*は2又は3の整数を示す〕で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を用いることができる。

30

【0042】

一般式(1')中、 $\text{R}^{1'}$ 、 $\text{R}^{2'}$ 、 $\text{R}^{3'}$ 、 $\text{R}^{4'}$ 、 $\text{R}^{5'}$ 及び $\text{R}^{6'}$ は、それぞれ独立に(すなわち、同一又は異なって)、

(1) 水素原子、ハロゲン原子、水酸基、 $\text{C}_{1-6}$ アルキル基又は $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ基、または、

(2) 水素原子、水酸基、 $\text{C}_{1-6}$ アルキル基又は $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ基、または、

(3) 水素原子、 $\text{C}_{1-6}$ アルキル基又は $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ基、

(4) 水素原子又は $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ基、または、

(5) 水素原子又は $\text{C}_{1-6}$ アルキル基

とすることができる。

40

【0043】

一般式(1')中、 $\text{R}^{1'}$ 、 $\text{R}^{2'}$ 、 $\text{R}^{3'}$ 、 $\text{R}^{4'}$ 、 $\text{R}^{5'}$ 及び $\text{R}^{6'}$ におけるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子が挙げられる。

【0044】

一般式(1')中、 $\text{C}_{1-6}$ アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*t*-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基が挙げられる。

50

## 【 0 0 4 5 】

一般式(1')中、 $C_{1-6}$ アルコキシ基としては、例えば、メトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、イソプロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*i*-ブトキシ基、*t*-ブトキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基が挙げられるが、メトキシ基がより好ましい。

## 【 0 0 4 6 】

一般式(1')中、*l*' 及び *m*' は、3が好ましい。

## 【 0 0 4 7 】

一般式(1')中、*n*' は、3が好ましい

## 【 0 0 4 8 】

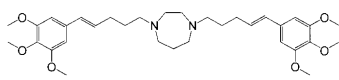
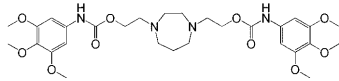
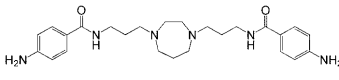
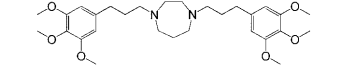
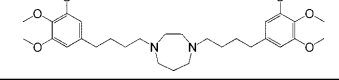
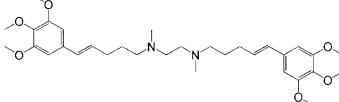
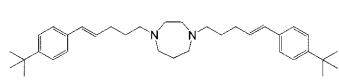
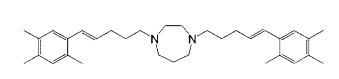
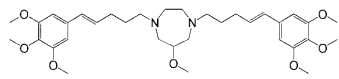
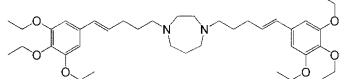
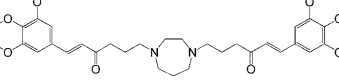
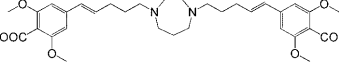
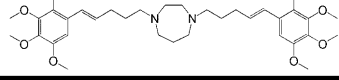
一般式(1')のより好ましい例の1つとして、*N,N'*-ビス-(*E*)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジンを挙げることができる。 10

## 【 0 0 4 9 】

一般式(1)のより好ましい例として、以下の化合物を挙げることができる。

## 【 0 0 5 0 】

【表 1】

化合物	構造式	化学名
K		N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン
K2		N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン
K3		N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン
K4		N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン
K5		N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン
K6		N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレンジアミン
K7		N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン
K8		N,N'-ビス-(E)-[5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン
K9		N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペラジン
K10		N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン
K11		N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラジン
K12		N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン
K13		N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン

10

20

30

## 【0051】

本明細書中で使用するとき、プロテアソームとは、ユビキチンが複数個連なって付加された標的タンパク質をATP依存的に分解し、細胞内で不要になったタンパク質を除去する器官を意味する。20Sプロテアソームは リングと リングが会合した円筒形粒子で、カスパーゼ様、トリプシン様及びキモトリプシン様活性を示す 1, 2及び 5の3種の触媒サブユニットが存在し、それぞれアミノ酸のC末端側のペプチド結合を切断する。これらのサブユニットの活性中心は20Sプロテアソーム サブユニットの空洞内表面に存在する。20Sプロテアソームはユビキチン化蛋白を識別し、活性化を調節する19S複合体と会合して26Sプロテアソームを形成する。ポリユビキチン化された基質蛋白質は、26Sプロテアソームにより特異的に分解される。本発明において、プロテアソームとしては20Sプロテアソームのみならず、26Sプロテアソームも包含される。

40

50



## 【0052】

本明細書中で使用するとき、悪性腫瘍とは、「造血器腫瘍」、上皮細胞由来の「癌」及び非上皮性細胞由来の「肉腫」を包含する。造血器腫瘍としては、例えば、白血病、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫が挙げられ、癌としては例えば、肺癌、乳癌、胃癌、肝臓癌、膵臓癌、大腸癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、食道癌、喉頭癌、咽頭癌、舌癌が挙げられ、肉腫としては、例えば、骨肉腫、軟部肉腫が挙げられる。

## 【0053】

本明細書中で使用するとき、白血病としては、例えば、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、骨髄異形成症候群、慢性骨髄性白血病、成人T細胞白血病リンパ腫、慢性リンパ性白血病、小細胞性リンパ腫が挙げられる。

10

## 【0054】

本明細書中で使用するとき、悪性リンパ腫としては、例えば、ホジキンリンパ腫（古典型ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優勢型ホジキンリンパ腫等）、非ホジキンリンパ腫（リンパ芽球型リンパ腫、パーキットリンパ腫、びまん性大細胞B細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、MALTリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、NK細胞リンパ腫等）が挙げられる。

## 【0055】

本明細書中で使用するとき、肺癌としては、例えば、非小細胞肺癌、小細胞肺癌が挙げられる。

## 【0056】

本明細書中で使用するとき、肝臓癌としては、肝細胞癌、胆管細胞癌、肝細胞芽腫、胆管嚢胞腺癌等が挙げられる。

20

## 【0057】

本明細書中で使用するとき、子宮癌としては、例えば、子宮頸癌、子宮内膜癌が挙げられる。

## 【0058】

本明細書中で使用するとき、腎臓癌としては、腎細胞癌、Wilms腫瘍、腎肉腫、腎盂腫瘍、腎血管筋脂肪腫等が挙げられる。

## 【0059】

本明細書中で使用するとき、喉頭癌としては、例えば、声門癌、声門上癌、声門下癌が挙げられる。

30

## 【0060】

本明細書中で使用するとき、咽頭癌としては、例えば、上咽頭癌、中咽頭癌、下咽頭癌が挙げられる。

## 【0061】

本明細書中で使用するとき、骨肉腫としては、例えば、原発性悪性骨腫瘍（骨肉腫、ユーイング肉腫等）が挙げられる。

## 【0062】

本明細書中で使用するとき、軟部肉腫としては、例えば、平滑筋肉腫、悪性線維性組織球腫、脂肪肉腫、横紋筋肉腫、皮膚線維肉腫、血管肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、線維肉腫が挙げられる。

40

## 【0063】

これらの悪性腫瘍の中で、本発明における予防・治療、又は転移・再発抑制の対象となる悪性腫瘍としては、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫（マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、耐性/再発性の濾胞性リンパ腫等）、白血病（急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血等）、乳癌、大腸癌、ホルモン抵抗性前立腺癌、卵巣癌が好ましく、多発性骨髄腫がより好ましい。

## 【0064】

本発明に用いる一般式(1)で表される化合物は、単独で用いる他、その他の薬剤との医薬用組合せ組成物として用いることができる。本発明の医薬用組合せ組成物に用いられる

50

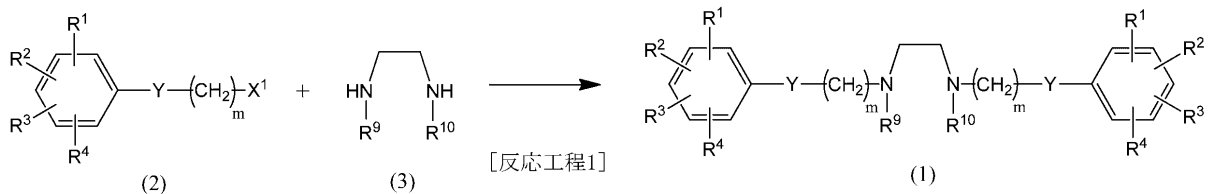
その他の薬剤としては、抗癌剤、ステロイド系抗炎症剤、サリドマイド又はレナリドマイド等が挙げられる。抗癌剤としては、一般式(1)で表される化合物以外のプロテアソーム阻害剤の他、シクロホスファミド、メルファラン等のアルキル化剤、ポリノスタット、パノビノスタット、ロミデプシン、フェニル酪酸類、ツバシン(Tubacin)等のヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤を挙げることができる。ステロイド系抗炎症剤としては、コルチゾール、プレドニゾロン、トリアムシノロン、デキサメタゾン、ベタメタゾン等が挙げられる。

【0065】

本発明に用いる一般式(1)で表される左右対称の構造を持つ化合物は、例えば、下記反応工程図に従って製造することができる。

【0066】

【化5】



【0067】

〔式中、Y、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、mは前記と同じ基を示し、X<sup>1</sup>は脱離基を示す〕

【0068】

本発明の化合物(1)は、化合物(2)とジアミン(3)とを溶媒中、塩基の存在下又は非存在下に縮合反応することにより製造することができる。式(2)中のX<sup>1</sup>で示される脱離基としては、塩素原子又は臭素原子等のハロゲン原子；メタンスルホニルオキシ基等のアルキルスルホニルオキシ基；p-トルエンスルホニルオキシ基等のアリールスルホニルオキシ基が好ましい。溶媒としては、例えば、ジエチルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン(THF)等のエーテル類；クロロホルム、ジクロロエタン、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類；メタノール、エタノール等のアルコール類；N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、N,N-ジメチルアセトアミド等のアミド類；ジメチルスルホキシド(DMSO)、アセトニトリル等を使用することができる。塩基としては、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム等、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム等の無機塩基；トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジン等の有機塩基を使用することができる。また、反応促進剤を共存することもできる。反応促進剤としては、ヨウ化カリウム等が挙げられる。反応温度は、0~100、好ましくは室温~80であり、反応時間は1時間~数日間、好ましくは5~24時間である(反応工程1)。

【0069】

また、本発明に用いる一般式(1)で表される左右非対称の構造を持つ化合物は、例えば、下記反応工程図に従って製造することができる。

【0070】

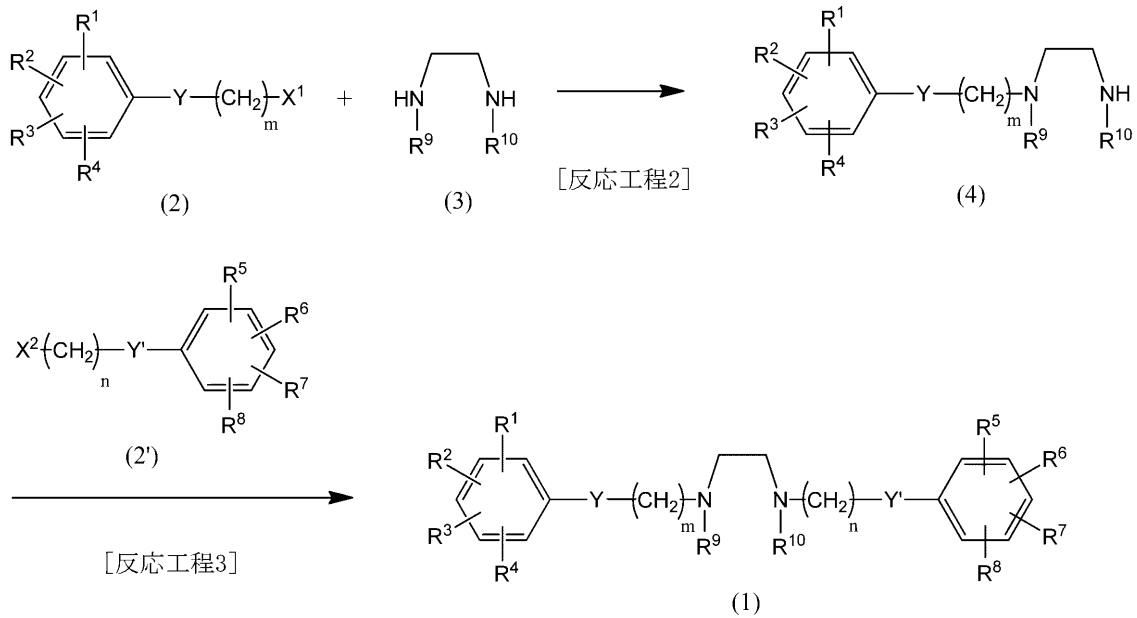
10

20

30

40

## 【化6】



10

## 【0071】

〔式中、Y、Y'、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、m、nは前記と同じ基を示し、X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>は脱離基を示す〕

20

## 【0072】

本発明の化合物(1)は、化合物(2)とジアミン(3)とを縮合反応することにより化合物(4)とし(反応工程2)、次いで化合物(2')と縮合反応することにより製造することができる(反応工程3)。反応工程2及び3の反応条件は、前記反応工程1と同様である。また、副反応を回避する目的で、原料及び中間体に保護基を導入してもよい。例えば、アミノ基の片側のみ保護基が導入されたBoc-ホモピペラジン(1-Boc-hexahydro-1,4-diazepine)が、Ardrich社より販売されている。保護、脱保護条件としては一般に用いられる方法(Protective Groups in Organic Synthesis Third Edition, John Wiley & Sons, Inc.)を参考にして行うことができる。

30

## 【0073】

また、本発明に用いる一般式(1)で表される化合物は、例えば、特開平9-143075号公報等に記載の方法に従って製造することができる。当該文献において、N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン(化合物K)は製造例2として開示されている。

## 【0074】

また、本発明に用いる一般式(1)で表される化合物は、例えば、特開平3-2144号公報等に記載の方法に従って製造することができる。当該文献において、N,N'-ビス[2-(3,4,5-トリメトキシフェニルカルバモイルオキシ)エチル]ホモピペラジン(化合物K2)は実施例38、N,N'-ビス[3-(p-アミノベンゾイルアミノ)プロピル]ホモピペラジン(化合物K3)は実施例57、N,N'-ビス[3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)プロピル]ホモピペラジン(化合物K4)は実施例4、N,N'-ビス[4-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチル]ホモピペラジン(化合物K5)は実施例1として開示されている。

40

## 【0075】

また、本発明では一般式(1)で表される化合物の塩若しくは溶媒和物を用いることもできる。塩及び溶媒和物は、常法により製造することができる。

## 【0076】

本発明に用いる一般式(1)で表される化合物は、酸との付加塩、塩基との付加塩を形成することができる。化合物を塩基性化合物として扱う場合は、塩を形成する酸は薬学的に許容できるものであれば特に制限はないが、例えば、硫酸、塩酸、硝酸、リン酸、臭化水

50

素酸等の無機酸；酢酸、シュウ酸、乳酸、コハク酸、酒石酸、リンゴ酸、マレイン酸、クエン酸、フマル酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸等の有機酸等が挙げられる。化合物を酸性化合物として扱う場合は、塩を形成する塩基は薬学的に許容できるものであれば特に制限はないが、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム、バリウム、カルシウム、マグネシウム等の金属塩等が挙げられる。

【0077】

本発明に用いる一般式(1)で表される化合物の溶媒和物としては、水和物、アルコール和物（例えば、エタノール和物）等が挙げられる。

【0078】

本発明の医薬は、単独又は他の薬学的に許容される溶解剤、賦形剤、結合剤、希釈剤等の担体を用いて、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤、ローション剤、軟膏剤、注射剤、座剤等の剤型とすることができる。これらの製剤は、公知の方法で製造することができる。例えば、経口投与用製剤とする場合には、トラガントガム、アラビアガム、ショ糖エステル、レシチン、オリーブ油、大豆油、PEG400等の溶解剤；澱粉、マンニトール、乳糖等の賦形剤；カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤；結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤；タルク、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤；軽質無水ケイ酸等の流動性向上剤；トウモロコシデンプン等の希釈剤等を適宜組み合わせることで処方することにより製造することができる。

10

【0079】

本発明の医薬は、経口投与又は非経口投与により投与される。本発明の医薬の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状等によって異なるが、通常成人の場合、一般式(1)で表される化合物として一日0.01~1000mg、好ましくは0.1~100mgを1~3回に分けて投与するのが好ましい。

20

【実施例】

【0080】

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれら実施例により何ら限定されるものではない。

【0081】

実施例1 N,N'-ジメチル-N,N'-ビス[(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]エチレンジアミン ジ塩酸塩（化合物K6）の製造

30

N,N'-ジメチルエチレンジアミン 35mg (0.397mmol)とW003/002536パンフレット製造例84に記載の方法により製造した(E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニルプロミド 250mg (0.794mmol)をN,N-ジメチルホルムアミド(DMF) 1.5mLに溶解し、炭酸カリウム 132mg (0.953mmol)及びヨウ化カリウム 364mg (0.953mmol)を加えて、室温で24時間、次いで75℃で2時間攪拌した。反応液の溶媒を留去し、クロロホルムと炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、分液した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、CHCl<sub>3</sub>:MeOH=20:1)にて精製し、表題化合物(フリー体) 152.5mg (68.9%)を得た。フリー体150mgをエタノール5mLに溶解し、HCl/EtOH(22.05g / 108mL) 0.09mLを加えた後、溶媒を留去した。エタノール、次いでクロロホルムを加えて共沸し、残渣を減圧乾燥し、表題化合物(ジ塩酸塩) 147mgを得た。

40

【0082】

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) ;

2.81 (6H, s)、3.63 (6H, s)、3.77 (12H, s)

【0083】

実施例2 N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン ジ塩酸塩(化合物K7)の製造

工程1：アルゴン雰囲気下、乾燥イソプロパノール 20mLに金属ナトリウム 117mg (5.1mmol)を加え、90℃にて攪拌した。溶解後、4-t-ブチルベンズアルデヒド590mg (3.6mmol)を加え、次いで4-プロモブチルトリフェニルホスホニウムプロミド1.8g (3.6mmol)を加え、氷冷下8時間攪拌した。反応液を水に注ぎ、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽

50

和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、AcOEt:Hexane=30:1）で精製し、(E)-5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニルブロミド 383mg (37.8%)を得た。

【0084】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

1.31 (9H, s)

【0085】

工程2 : (E)-5-(4-t-ブチルフェニル)-4-ペンテニルブロミド 380mg (1.35mmol)、ホモピペラジン 65mg (0.65mmol)をDMF 5mLに溶解し、炭酸カリウム 190mg (1.4mmol)及びヨウ化カリウム 230mg (1.4mmol)を加えて、65 で24時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をプレパラティブ薄層クロマトグラフィー（シリカゲル、 $\text{CHCl}_3$ :MeOH=10:1）で精製し、表題化合物（フリー体） 128mg (40.1%)を得た。

10

【0086】

フリー体128mgを酢酸エチル5mLとクロロホルム2mLに溶解し、4N-HCl/AcOEt 0.5mLを加えた後、析出した結晶を濾取し、酢酸エチルで洗浄した後、減圧乾燥し、表題化合物（ジ塩酸塩） 90mgを得た。

【0087】

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$  ;

1.30 (18H, s)

20

【0088】

実施例3 N,N'-ビス-(E)-[6-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン ジ塩酸塩（化合物K8）の製造

工程1 : 2,4,5-トリメチルベンズアルデヒド4.4g (30.0mmol)を原料として、実施例2の工程1と同様に反応処理し、(E)-5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニルブロミド1.4g (17.5%)を得た。

【0089】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

2.21 (3H, s)、2.22(3H, s)、2.27 (3H, s)

【0090】

工程2 : (E)-5-(2,4,5-トリメチルフェニル)-4-ペンテニルブロミド 1.38g (5.2mmol)、ホモピペラジン 260mg (2.6mmol)をDMF 20mLに溶解し、炭酸カリウム 720mg (5.2mmol)及びヨウ化カリウム 870mg (5.2mmol)を加えて、65 で一週間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、 $\text{CHCl}_3$ :MeOH=15:1）で精製し、表題化合物（フリー体） 770mg (30.5%)を得た。

30

【0091】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

2.20 (6H, s)、2.21(6H, s)、2.25 (6H, s)

【0092】

フリー体770mgを酢酸エチル8mLに溶解し、4N-HCl/AcOEt 1.5mLを加えた後、析出した結晶を濾取し、エーテル-ヘキサンで洗浄した後、減圧乾燥し、表題化合物（ジ塩酸塩） 760mgを得た。

40

【0093】

融点 : 248-250

【0094】

実施例4 N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メトキシホモピペラジン ジシユウ酸塩（化合物K9）の製造

工程1 : (E)-5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニルブロミド 1.78g (5.66mmol)、6-ヒドロキシホモピペラジン 787mg (2.83mmol)をDMF 10mLに溶解し、炭酸カリウム

50

2.74g (19.8mmol)及びヨウ化カリウム 2.35g (14.2mmol)を加えて、50 で一週間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=40:1\sim 20:1$ )で精製し、粗N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-ヒドロキシホモピペラジン 622mg (40.0%)を得た。

工程2 : N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-ヒドロキシホモピペラジン 662mg (1.13mmol)、トリエチルアミン 0.36mL (2.6mmol)をクロロホルム5mLに溶解し、メタンスルホニルクロリド 0.20mL(2.6mmol)を加えた後、室温で一週間撹拌後、トリエチルアミン 0.36mL (2.6mmol)とメタンスルホニルクロリド 0.20mL(2.6mmol)を追加し、さらに室温で4時間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=40:1$ )で精製し、粗N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メタンスルホニルオキシホモピペラジン 755mg (定量的)を得た。

工程3 : アルゴン雰囲気下、ナトリウム 15mg (0.655mmol)をメタノール15mLに溶解し、N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]-6-メタンスルホニルオキシホモピペラジン 87mg (131mg)を加えて75 で一週間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=50:1$ )で精製した。常法によりシュウ酸塩とし、表題化合物(ジシュウ酸塩) 32mg (31.4%)を得た。

【0095】

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$  ;

3.52 (3H, s)、3.62(6H, s)、3.77 (9H, s)

【0096】

実施例5 N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン ジ塩酸塩(化合物K10)の製造

工程1 : アルゴン雰囲気下、氷冷下にて無水テトラヒドロフラン(THF) 5mLに水素化リチウムアルミニウム76mg (2.0mmol)を加え撹拌した。次いで、無水THF 3mLに溶解した3,4,5-トリエトキシ安息香酸エチルエステル564mg (2.0mmol)を滴下し、室温で1時間撹拌した。反応液にジエチルエーテル30mLを加え、次いで水(数滴)を滴下した後、無水硫酸ナトリウムを加えて10分間撹拌した。反応液を濾過し、濾液を濃縮して3,4,5-トリエトキシベンジルアルコール450mg (定量的)を得た。

【0097】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

1.35 (3H, t,  $J = 6.8\text{Hz}$ )、1.42 (6H, t,  $J = 6.8\text{Hz}$ )、6.51 (2H, s)

【0098】

工程2 : 3,4,5-トリエトキシベンジルアルコール450mg (2mmol)をベンゼン50mLに溶解し、活性二酸化マンガン4.3g (50mmol)を加えて室温で3時間撹拌した。反応液を濾過した、濾液を濃縮して3,4,5-トリエトキシベンズアルデヒド385mg(95.2%)を得た。

【0099】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

1.38 (3H, t,  $J = 7.0\text{Hz}$ )、1.46 (6H, t,  $J = 7.0\text{Hz}$ )、7.10 (2H, s)、9.84 (1H, s)

【0100】

工程3 : 3,4,5-トリエトキシベンズアルデヒド1.98g(9.8mmol)を原料として、実施例2の工程1と同様に反応処理し、(E)-5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニルプロミド 1.3g (37.1%)を得た。

【0101】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

1.35 (3H, t,  $J = 7.1\text{Hz}$ )、1.42 (6H, t,  $J = 7.1\text{Hz}$ )、6.55 (2H, s)

【0102】

10

20

30

40

50

工程 4 : (E)-5-(3,4,5-トリエトキシフェニル)-4-ペンテニルブロミド 1.3g (3.6mmol)、ホモピペラジン 180mg (1.8mmol) を D M F 25mL に溶解し、炭酸カリウム 500mg (3.8mmol) 及びヨウ化カリウム 600mg (3.8mmol) を加えて、室温で一週間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、CHCl<sub>3</sub>:MeOH=30:1~15:1) で精製し、表題化合物 (フリー体) 804mg (68.5%) を得た。フリー体400mgを酢酸エチル4mLに溶解し、4N-HCl/AcOEt 1mLを加えた後、析出した結晶を濾取し、酢酸エチルで洗浄した後減圧乾燥し、表題化合物 (ジ塩酸塩) 248mgを得た。

【 0 1 0 3 】

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) ;

1.20 (6H, t, J = 7.0Hz)、1.31 (12H, t, J = 7.0Hz)、6.65 (4H, s)

10

【 0 1 0 4 】

実施例 6 N,N'-ビス-(E)-[6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-オキソ-5-ヘキセニル]ホモピペラジン ジ塩酸塩 (化合物K11) の製造

工程 1 : アルゴン雰囲気下、-78 °C で無水THF15mLに2.0M リチウムジイソプロピルアミド(ヘキサン/テトラヒドロフラン懸濁液) 7.43mL (14.9mmol)を滴下し、次いで、無水THF 5mLに溶解した3,4,5-トリメトキシベンズアルデヒド2.91g (14.9mmol)を滴下して、同温にて1時間攪拌した。次いで、無水THF 5mLに溶解した5-((t-ブチルジメチルシリル)オキシ)ペンタン-2-オン3.22g (14.9mmol)を滴下し、さらに1時間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液5mLを滴下した後、室温に戻し、ジエチルエーテルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、AcOHt:Hexane=1:4~1:2) で精製し、6-((-ブチルジメチルシリル)オキシ)-1-ヒドロキシ-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサン-3-オン3.65g (59.6%)を得た。

20

【 0 1 0 5 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) ;

0.04 (6H, s)、0.89 (9H, s)、3.83 (3H, s)、3.87 (6H, s)、6.59 (2H, s)

【 0 1 0 6 】

工程 2 : 6-((-ブチルジメチルシリル)オキシ)-1-ヒドロキシ-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサン-3-オン3.6g (8.73mmol)とN,N-ジメチルアミノピリジン1g (8.20mmol)をピリジン7mLに溶解し、氷冷下にてアセチルクロリド932mg (11.9mmol)を滴下し、室温で2時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、AcOHt:Hexane=1:3) で精製し、6-((t-ブトキシジメチルシリル)オキシ)-3-オキソ-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサン-1-イルアセテート4.08g (定量的)を得た。

30

【 0 1 0 7 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) ;

0.07 (6H, s)、0.92 (9H, s)、2.08 (3H, s)、3.86 (3H, s)、3.90 (6H, s)

【 0 1 0 8 】

工程 3 : 6-((t-ブトキシジメチルシリル)オキシ)-3-オキソ-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサン-1-イルアセテート3.97g (8.73mmol)をトルエン5mLに溶解し、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン1.99g (13.7mmol)を加え、50 °C で1.5時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去した。得られた油状物をTHF 5mLに溶解し、テトラブチルアンモニウムフロリド13.1mL (13.1mmol)を加え、室温で3時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルエステルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、CHCl<sub>3</sub>:MeOH=10:1) で精製し、(E)-6-ヒドロキシ-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサ-1-エン-3-オン1.35g (55.2%)を得た。

40

50

## 【 0 1 0 9 】

 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.89 (3H, s)、3.90 (6H, s)、6.78 (2H, s)

## 【 0 1 1 0 】

工程 4 : (E)-6-ヒドロキシ-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサ-1-エン-3-オン1.0g (3.57mmol)をピリジン5mLに溶解し、氷冷下にメタンスルホニルクロリド490mg (4.28mmol)を滴下し、同温で10分間、室温で20分間攪拌した。反応液を酢酸エチルエステルで希釈し、2N-塩酸、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=40:1$ )で精製し、(E)-4-オキソ-6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサ-5-エン-1-イルメタンスルホネート1.19g (92.6%)を得た。

10

## 【 0 1 1 1 】

 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.02 (3H, s)、3.89 (3H, s)、3.91 (6H, s)、6.79(2H, s)

## 【 0 1 1 2 】

工程 5 : (E)-4-オキソ-6-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサ-5-エン-1-イルメタンスルホネート1.06g (2.96mmol)をトルエン10mLに溶解し、臭化カリウム3.52g (29.6mmol)及びcis-ジシクロヘキサノ-18-クラウン-6 221mg (0.59mmol)を加え、100℃で30分攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=50:1$ )で精製し、(E)-6-ブromo-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサ-1-エン-3-オン103.3mg (10.2%)を得た。

20

## 【 0 1 1 3 】

 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.89 (3H, s)、3.90 (6H, s)、6.79(2H, s)

## 【 0 1 1 4 】

工程 6 : (E)-6-ブromo-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)ヘキサ-1-エン-3-オン 227mg (0.66mmol)、ホモピペラジン 30mg (0.3mmol)をDMF 3mLに溶解し、炭酸カリウム 138mg (1.0mmol)及びヨウ化カリウム 131mg (0.7mmol)を加えて、室温で一夜間攪拌した。反応液を濃縮し、クロロホルムで希釈して濾過し、濾液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=10:1$ )で精製し、表題化合物(フリー体) 56.3mg (30.0%)を得た。

30

## 【 0 1 1 5 】

 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.89 (6H, s)、3.90 (12H, s)、6.79(2H, s)

## 【 0 1 1 6 】

フリー体56.3mgをクロロホルム1mLに溶解し、4N-HCl/AcOEt 0.3mLを加えた後、減圧濃縮した。残渣をメタノール-エーテルから再結晶し、表題化合物(ジ塩酸塩)45mgを得た。

## 【 0 1 1 7 】

 $^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$  ;

3.79 (6H, s)、3.87 (12H, s)、6.98(2H, s)

40

## 【 0 1 1 8 】

実施例 7 N,N'-ビス-(E)-[5-(4-カルボキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン ジ塩酸塩(化合物K12)の製造

工程 1 : 4-ブromo-3,5-ジメトキシベンズアルデヒド3.0g (12.2mmol)をベンゼン60mLに溶解し、1,3-プロパンジオール5.3mL (72.5mL)及びトルエンスルホン酸一水和物2.1g (12.2mmol)を加えて還流下、一夜攪拌した。反応液を酢酸エチルエステルで希釈し、炭酸カリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をAcOEt-Hexaneから再結晶し、2-(4-ブromo-3,5-ジメトキシフェニル)-1,3-ジオキサソ3.48g (94.1%)を得た。

50



## 【 0 1 1 9 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCI<sub>3</sub>) ;

3.92 (6H, s)、5.46(1H, s)、6.73(2H, s)

## 【 0 1 2 0 】

工程 2 : アルゴン雰囲気下、2-(4-プロモ-3,5-ジメトキシフェニル)-1,3-ジオキサン7.26 g (23.9mmol)を無水THF40mLと無水ジエチルエーテル40mLに溶解し、-25 でn-ブチルリチウム16.2mL(25.0mmol)を滴下して氷冷下30分間攪拌した。次いで無水DMFド2.3mLを滴下し、0 で1時間攪拌した。反応液に塩化アンモニウムを加えた後、溶媒を留去した。残渣をクロロホルムに溶解し、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去し、4-(1,3-ジオキサン-2-イル)-2,6-ジメトキシベンズアルデヒド6.0g (99.5%)を得た。

10

## 【 0 1 2 1 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCI<sub>3</sub>) ;

3.92 (6H, s)、5.46(1H, s)、6.73(2H, s)、10.49(1H, s)

## 【 0 1 2 2 】

工程 3 : 4-(1,3-ジオキサン-2-イル)-2,6-ジメトキシベンズアルデヒド6.0g (23.8mmol)、2-メチル-2-ブテン10.6mL (100mmol)、燐酸二水素ナトリウム2.85g (23.8mmol)をt-ブタノール120mL及び水30mLに溶解し、氷冷下、亜塩素酸ナトリウム6.45g (71.4mmol)を少量ずつ加え、0 で1時間攪拌した。反応液に水を加え、クエン酸を加えて酸性とし、酢酸エチルで抽出した。有機層から炭酸水素ナトリウム水を用いて逆抽出し、水層にクエン酸を加えて酸性とした後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に溶媒を留去し、粗4-(1,3-ジオキサン-2-イル)-2,6-ジメトキシ安息香酸3.57g (58.5%)を得た。

20

## 【 0 1 2 3 】

工程 4 : 4-(1,3-ジオキサン-2-イル)-2,6-ジメトキシ安息香酸3.57g (14.4mmol)をトルエン50mLに溶解し、120 でN,N-ジメチルホルムアミド ジ-t-ブチルアセタール14.4mL (60mmol)を20分かけて滴下し、同温でさらに10分間攪拌した。放冷後、反応液を濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、AcOEt:Hexane=1:4~1:2)で精製し、4-(1,3-ジオキサン-2-イル)-2,6-ジメトキシ安息香酸 t-ブチルエステル3.5g (77.1%)を得た。

30

## 【 0 1 2 4 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCI<sub>3</sub>) ;

1.56(9H, s)、3.83 (6H, s)、5.44(1H, s)、6.68(2H, s)

## 【 0 1 2 5 】

工程 5 : 4-(1,3-ジオキサン-2-イル)-2,6-ジメトキシ安息香酸 t-ブチルエステル3.5g (10.8mmol)をアセトン50mLに溶解し、水12mLに溶解したp-トルエンスルホン酸ピリジニウム 2.71g (10.8mmol)を滴下し、還流下3時間攪拌した。放冷後、反応液を濃縮し、残渣に酢酸エチルエステルを加えた。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、AcOEt:Hexane=1:4)で精製し、4-ホルミル-2,6-ジメトキシ安息香酸 t-ブチルエステル2.55g (90.7%)を得た。

40

## 【 0 1 2 6 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCI<sub>3</sub>) ;

1.59(9H, s)、3.90 (6H, s)、7.08(2H, s)、9.93(1H, s)

## 【 0 1 2 7 】

工程 6 : 4-ホルミル-2,6-ジメトキシ安息香酸 t-ブチルエステル9.81g (50mmol)を原料として、実施例 2 の工程 1 と同様に反応処理し、(E)-4-(5-プロモペンタ-1-エン-1-イル)-2,6-ジメトキシ安息香酸 t-ブチルエステル7.1g (43.4%)を得た。

## 【 0 1 2 8 】

50

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

1.57(18H, s)、3.82(6H, s)、6.51(2H, s)

【 0 1 2 9 】

工程 7 : (E)-4-(5-プロモペンタ-1-エン-1-イル)-2,6-ジメトキシ安息香酸 t-ブチルエステル7.1g (43.4%)を原料として、実施例 2 の工程 2 と同様に反応処理し、N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブトキシカルボニル-3, 5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン 625mg (52.5%)を得た。

【 0 1 3 0 】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

1.57(9H, s)、3.82(12H, s)、6.50(4H, s)

10

【 0 1 3 1 】

工程 8 : N,N'-ビス-(E)-[5-(4-t-ブトキシカルボニル-3, 5-ジメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン200mg (0.28mmol)をトリフルオロ酢酸6mLに溶解し、還流下6時間撹拌した。放冷後、反応液を濃縮し、残渣をメタノール-ジエチルエーテルから再結晶し、表題化合物(ジトリフルオロ酢酸塩) 159mg (21.6%)を得た。

【 0 1 3 2 】

実施例 8 N,N'-ビス-(E)-[5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジン ジ塩酸塩(化合物K13)の製造

工程 1 : 2,3,4-トリメトキシベンズアルデヒド 7.0g (35.7mmol)をエタノール70mLに溶解し、40%過酢酸15mL (96mmol)を加え、室温で一夜撹拌した。さらに40%過酢酸20mL (128mmol)を加え、室温で5時間撹拌した。反応液を0 に冷却し、アンモニア/メタノール溶液60mLを加え、同温で1.5時間撹拌した。反応液を約1/3量まで濃縮し、酢酸エチルを加えた。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、AcOEt:Hexane=1:5)で精製し、2,3,4-トリメトキシフェノール 3.31g (50.3%)を得た。

20

【 0 1 3 3 】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.81(3H, s)、3.90(3H, s)、3.96(3H, s)

【 0 1 3 4 】

工程 2 : 2,3,4-トリメトキシフェノール 2.9g (15.7mmol)をDMF 60mLに溶解し、氷冷下、55%水素化ナトリウム830mg (19.0mmol)を加えた。次いでヨウ化メチル2.7g (18.8mmol)を滴下し、室温で30分間撹拌した。反応液を氷水に注ぎ、酢酸エチルエステルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をAcOEt-Hexaneから再結晶し、1,2,3,4-テトラメトキシベンゼン 2.32g (74.5%)を得た。

30

【 0 1 3 5 】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.82(6H, s)、3.90(6H, s)、6.58(2H, s)

【 0 1 3 6 】

工程 3 : 1,2,3,4-テトラメトキシベンゼン 4.6g (23.2mmol)をトリフルオロ酢酸20mLに溶解し、ヘキサメチレンテトラミン3.3g (23.5mmol)を加え、90 で8時間撹拌した。放冷後、反応液に水を加え、1時間撹拌し、次いで酢酸エチルエステルを加えて抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、AcOEt:Hexane=1:5)で精製し、2,3,4,5,-テトラメトキシベンズアルデヒド 2.11g (40.2%)を得た。

40

【 0 1 3 7 】

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$  ;

3.87(3H, s)、3.94(3H, s)、3.98(3H, s)、4.00(3H, s)、7.11(1H, s)、10.30(1H, s)

【 0 1 3 8 】

工程 4 : 2,3,4,5,-テトラメトキシベンズアルデヒド 2.1g (9.3mmol)を原料として、実施

50

例 2 の工程 1 と同様に反応処理し、(E)-5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニルプロミド 1.14g (35.5%)を得た。

【 0 1 3 9 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) ;

3.79(3H, s)、3.86(3H, s)、3.89(3H, s)、3.93(3H, s)、6.70(1H, s)

【 0 1 4 0 】

工程 5 : (E)-5-(2,3,4,5-テトラメトキシフェニル)-4-ペンテニルプロミド 1.1g (3.2mmol)、ホモピペラジン 160mg (1.6mmol)をDMF 20mLに溶解し、炭酸カリウム 442mg (3.2mmol)及びヨウ化カリウム 532mg (3.2mmol)を加えて、室温で一夜間、次いで50℃で5時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、CHCl<sub>3</sub>:MeOH=15:1)で精製し、表題化合物(フリー体) 892mg (88.8%)を得た。

10

【 0 1 4 1 】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) ;

3.78(3H, s)、3.85(3H, s)、3.88(3H, s)、3.92(3H, s)、6.70(1H, s)

【 0 1 4 2 】

フリー体457mg (0.73mmol)を酢酸エチル4mLに溶解し、4N-HCl/AcOEt 0.7mLを加えた後、溶媒を留去した。残渣を少量のクロロホルムに溶解し、エーテル中に滴下し、析出した結晶を濾取し、減圧乾燥し、吸湿性の表題化合物(ジ塩酸塩) 157mgを得た。

20

【 0 1 4 3 】

#### 実施例 9 細胞増殖抑制作用

一般式(1)で表される化合物の一例として、N,N'-ビス-(E)-[5-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-4-ペンテニル]ホモピペラジンの二塩酸塩(以下、本明細書において、化合物Kという。また、本化合物は、特開平9-143075号公報(特許文献2参照)の製造例2に記載の化合物である。)を用いて骨髄腫細胞への細胞傷害活性を評価した。Cell Counting Kit-8(DOJINDO, カタログ番号347-07621)を用いて、骨髄腫細胞株の細胞増殖への影響を評価した。なお、実験には骨髄腫細胞由来と認定を受けた骨髄腫細胞株(Drexler HG, et al, Hum Cell. 2003; 16: 101-105)の中から、KMS12-BM、U266及びRPMI8226細胞株の3種類を選択し、いずれもヒューマンサイエンス研究資源バンクより提供された細胞を使用した。96ウェルプレートの各ウェルに10,000個の細胞を播種、化合物Kを図に表記の濃度(5~25 μM)で添加し3日間培養した。各ウェルにCell Counting Kit-8 付属の発色基質含有バッファ10 μLを加え、37℃で約1時間インキュベートした後、波長450nmの吸光度をマイクロプレートリーダー(Ultramark microplate imaging system, BioRad)にて測定した。化合物K非添加下で培養したウェルの値を100%とした時の相対値を算出、実験3回の平均値±標準偏差値を求め用量反応曲線を作成した。化合物Kは濃度依存的な増殖抑制作用を示したことから、骨髄腫細胞に対する細胞傷害活性を示した(図1)。

30

【 0 1 4 4 】

#### 実施例 10 プロテアソームサブユニットに対するボルテゾミブと化合物Kの阻害作用の比較

骨髄腫細胞のプロテアソーム活性阻害作用を、20S Proteasome Assay Kit (Cayman Chemical、カタログ番号10008041)を用いて評価した。骨髄腫細胞株RPMI8226細胞に化合物Kを図に表記の濃度で添加し、炭酸ガスインキュベータ内にて37℃、1時間インキュベートした。遠心分離により細胞を回収、20S Proteasome Assay Kit (Cayman Chemical、カタログ番号10008041)付属のAssay bufferにて細胞を洗浄、さらに遠心後の細胞をLysis bufferにて溶解し、細胞溶解液を作製した。この溶解液の遠心分離後の上清90 μLを96ウェルプレートの各ウェルに加え、蛍光標識(AMC)したキモトリプシン様、カスパーゼ様またはトリプシン様酵素の基質であるSuc-LLVY-AMC、Z-LLE-AMCまたはBoc-LRR-AMCを加え、さらに30℃で1時間反応させた。この反応により遊離した蛍光物質(AMC)を、蛍光マイクロプレートリーダー(SpectraMax Gemini EM, Molecular Devices)を用いて励起波長360nmにおける波長460nmの蛍光により測定した。化合物K非添加下で培養した細胞溶解液上清を加えた

40

50

ウェルの値を100%とした時の相対値を算出、実験3回の平均値±標準偏差値を求め用量反応曲線を作成した。なお、活性阻害の陽性対照として既知のプロテアソーム阻害剤ボルテゾミブの結果を付して評価した。化合物Kは、骨髄腫細胞において3種類のサブユニットすべての活性を阻害した(図2左)。なお、従来薬であるボルテゾミブについて同様の実験を行ったが、トリプシン様活性の阻害作用はほとんどなかった(図2右)。この結果は、化合物Kのプロテアソーム阻害の作用機序が、ボルテゾミブと全く異なることを示唆している。

#### 【0145】

実施例11 ボルテゾミブ耐性株に対する化合物Kのキモトリプシン様活性阻害作用

Riらの報告(Ri et al, Leukemia, 2010; 24: 1506-1512)から、プロテアソーム 5サブユニットのボルテゾミブ結合領域の変異がボルテゾミブ耐性を誘導することが示されている。そこで、mutagenesisを用いて変異を導入した 5サブユニット遺伝子をレンチウイルスベクターを用いてRPMI8226細胞に導入し、変異型 5サブユニット遺伝子を持つクローン垂株(mutant clone)を樹立した。同様に、正常型 5サブユニット遺伝子を導入した垂株(wild type clone)も樹立し、比較対象として用いた。プロテアソーム 5サブユニット遺伝子の正常型(WT)または変異型(mut)を導入したRPMI8226細胞垂株に化合物Kを図に表記の濃度で添加し、キモトリプシン様活性をProteasome Assay Kitにより測定した際の用量反応曲線を示す。化合物K非添加下の値を100%とした時の相対値を算出、実験3回の平均値±標準偏差値を示した。化合物Kに対する反応性を評価した結果、化合物Kはmutant clone及びwild type cloneいずれに対しても同様なキモトリプシン様活性阻害(図3)を示した。従って、化合物Kはボルテゾミブ耐性細胞に対してもプロテアソーム活性の阻害を介した細胞傷害活性を誘導することを示した。

#### 【0146】

実施例12 ボルテゾミブ耐性株に対する化合物Kの細胞増殖抑制作用

プロテアソーム 5サブユニット遺伝子の正常型(WT)または変異型(mut)を導入したRPMI8226細胞垂株に化合物Kを図に表記の濃度で添加し、細胞増殖能をCell Counting Kit-8により測定した際の用量反応曲線を示す。化合物K非添加下の値を100%とした時の相対値を算出、実験3回の平均値±標準偏差値を示した。化合物Kに対する反応性を評価した結果、化合物Kはmutant clone及びwild type cloneいずれに対しても同様な細胞増殖抑制効果(図4)を示した。従って、化合物Kはボルテゾミブ耐性細胞に対してもプロテアソーム活性の阻害を介した細胞傷害活性を誘導することを示した。

#### 【0147】

実施例13 骨髄腫細胞移植マウスの経口投与による、化合物Kの腫瘍形成抑制作用

骨髄腫細胞を移植したマウスにおける化合物Kの腫瘍増殖抑制効果を評価した。発明者らの報告(Kikuchi et al, Blood, 2010; 116: 406-417)に基づき、骨髄腫細胞を皮下に移植した免疫不全マウスを作成した。6~8週齢のNOD/SCIDマウス(Charles River Laboratories)に、1匹あたり $1 \times 10^7$ 個のU266細胞または $3 \times 10^7$ 個のRPMI8226細胞をMatrigel basement membrane matrix(BD Bioscience、カタログ番号354248)に懸濁し、右足上部の皮下に移植した。4日間かけて接種部位に腫瘍を発生させてから薬物の投与を開始、この日をDay0とし、以降14日間連日経口投与を行った。なお、化合物K投与群には、化合物KをDMSOに溶解後50mg/kgになるように生理食塩水で希釈したもの、Control群には、等量のDMSOを生理食塩水で希釈したものそれぞれを同じスケジュールで投与した。腫瘍サイズは、腫瘍の長径と短径を測定し、 $4/3 \times (\text{短径}/2)^2 \times (\text{長径}/2)$ で概算値( $\text{mm}^3$ )を算出、投与開始日から28日後までのマウス3~4匹の腫瘍サイズの平均値±標準偏差値をグラフに示した。図中、\*はstudent's t-testにより算出した、それぞれのControl群に対するp値0.05以下を示す。化合物K投与群において、有意な腫瘍増殖抑制効果を示した(図5)。なお、化合物K投与による血球や体重減少、肝機能傷害等の副作用は認めなかった。

#### 【0148】

実施例14 HDAC阻害剤Tubacinとの併用による、化合物Kの骨髄腫細胞の増殖抑制作用

化合物Kとヒストン脱アセチル化酵素阻害剤Tubacin併用の細胞増殖抑制作用を評価した

。96ウェルプレートの各ウェルに10,000個のRPMI8226細胞を播種、化合物K及びTubacinを図に表記の濃度で添加し3日間培養した。各ウェルにCell Counting Kit-8 付属の発色基質含有バッファ-10  $\mu$ Lを加え、37  $^{\circ}$ Cで約1時間インキュベートした後、波長450nmの吸光度をマイクロプレートリーダー(Ultramark microplate imaging system, BioRad)にて測定した。化合物K及びTubacin非添加下で培養したウェルの値を100%とした時の相対値を算出、実験3回の平均値 $\pm$ 標準偏差値を求め用量反応曲線を作成した。なお、標準偏差値はいずれも10%未満であったため、図からは割愛した。化合物K及びTubacinの併用時、RPMI8226細胞の増殖は濃度依存的に抑制され、2剤併用による細胞傷害活性の増強が確認された(図6)。

【0149】

10

#### 実施例15 細胞増殖抑制作用

化合物K以外の一般式(1)で表されるジアミン化合物の塩を用いて骨髄腫細胞への細胞傷害活性を評価した。Cell Counting Kit-8(DOJINDO, カタログ番号347-07621)を用いて、RPMI8226細胞株の増殖への影響を評価した。96ウェルプレートの各ウェルに10,000個の細胞を播種、化合物を5~25  $\mu$ Mの間の濃度で添加し3日間培養した。化合物非添加下で培養したウェルの値を100%とした時の50%の値となる濃度をIC<sub>50</sub>濃度として算出し、実験3回の平均値 $\pm$ 標準偏差値を求め、各化合物の構造とその値を示した。いずれも化合物Kと同様あるいは低濃度で細胞傷害活性を示した(図7、図8)。

【0150】

#### 実施例16 ジアミン化合物のプロテアソームサブユニットに対する阻害作用

20

化合物K以外の一般式(1)で表されるジアミン化合物の塩のプロテアソーム活性阻害作用を評価した。骨髄腫細胞株RPMI8226細胞にジアミン化合物をK7、K8、K10については5  $\mu$ M、化合物Kについては10  $\mu$ Mの濃度で添加し、キモトリプシン様、カスパーゼ様またはトリプシン様酵素活性を20S Proteasome Assay Kit (Cayman Chemical、カタログ番号10008041)により測定した。化合物非添加時の値を100%とした時の相対値を算出、実験3回の平均値 $\pm$ 標準偏差値を示した(図9)。この結果は、化合物Kを含む一般式(1)で表されるジアミン化合物にプロテアソーム阻害作用のあることを示唆している。

【産業上の利用可能性】

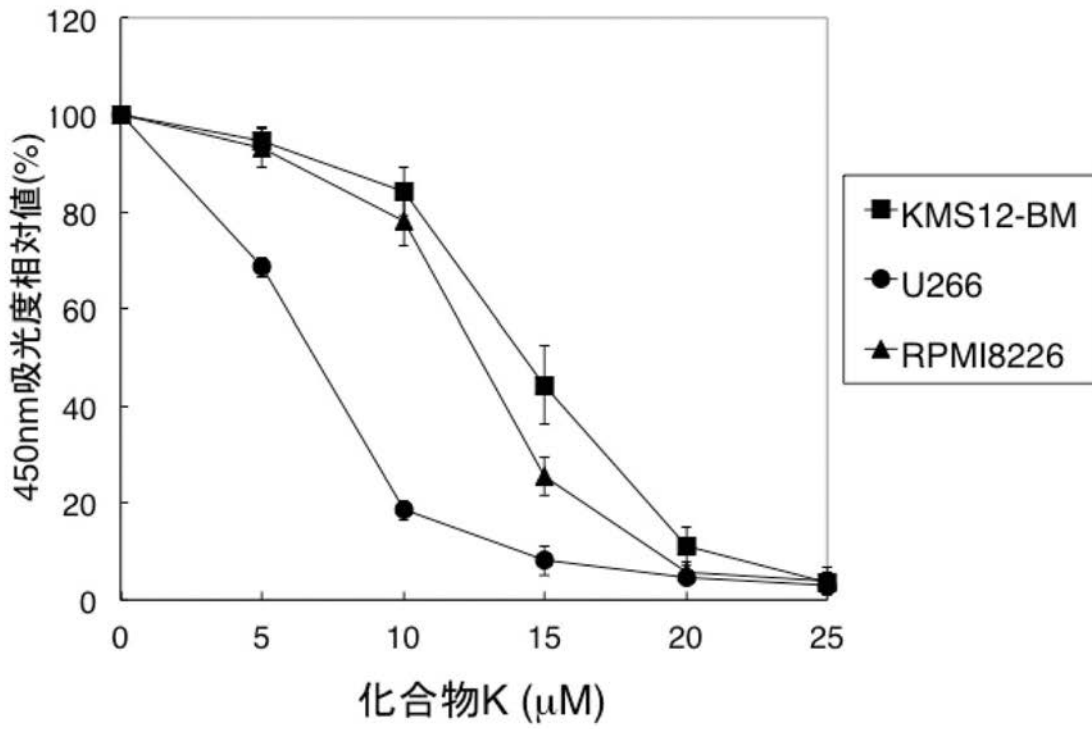
【0151】

30

本発明の一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物は、優れた腫瘍形成抑制作用を示し、多発性骨髄腫を始めとする悪性腫瘍の治療に有用であることから、産業上の利用可能性を有している。

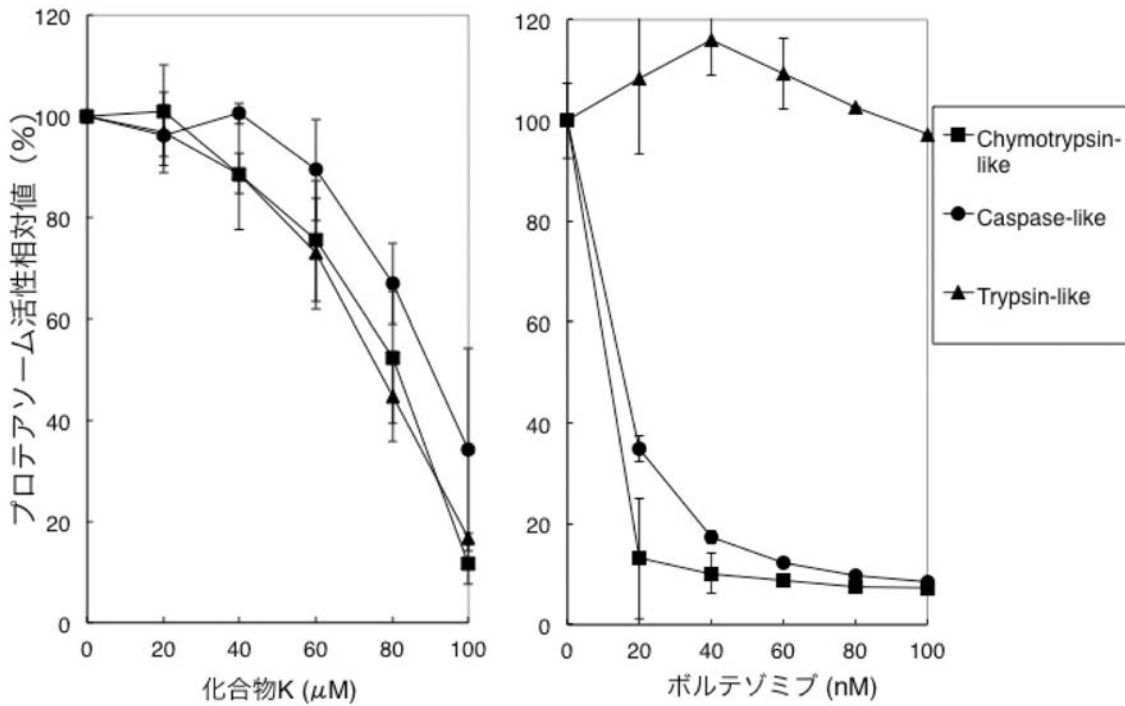
【 図 1 】

[ 図 1 ]



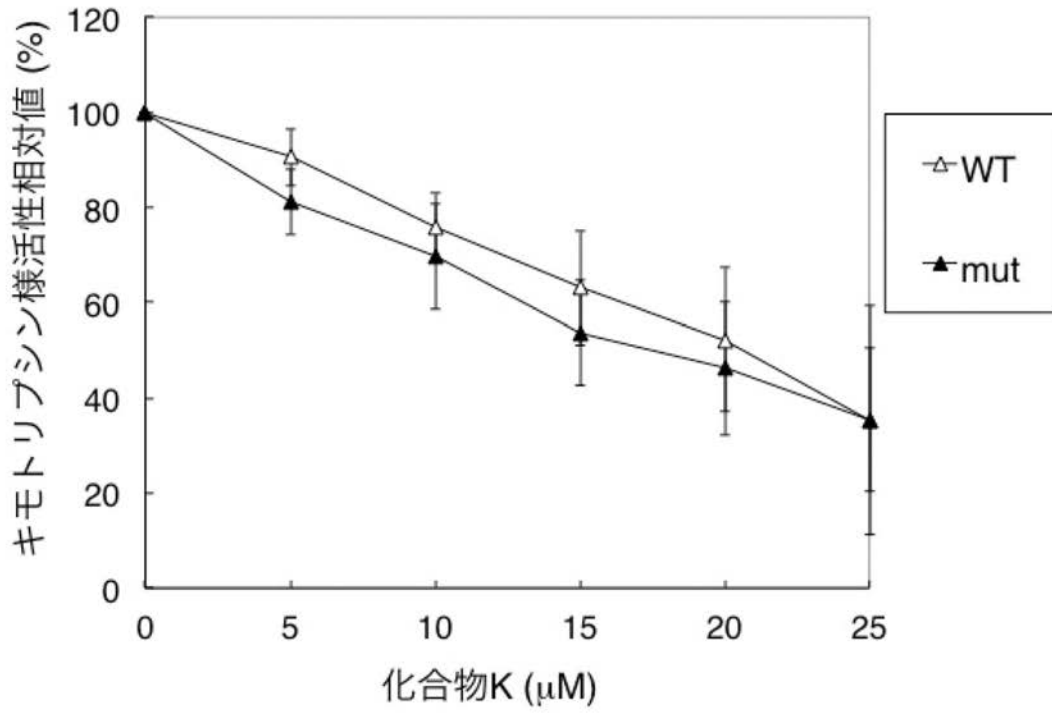
【 図 2 】

[ 図 2 ]



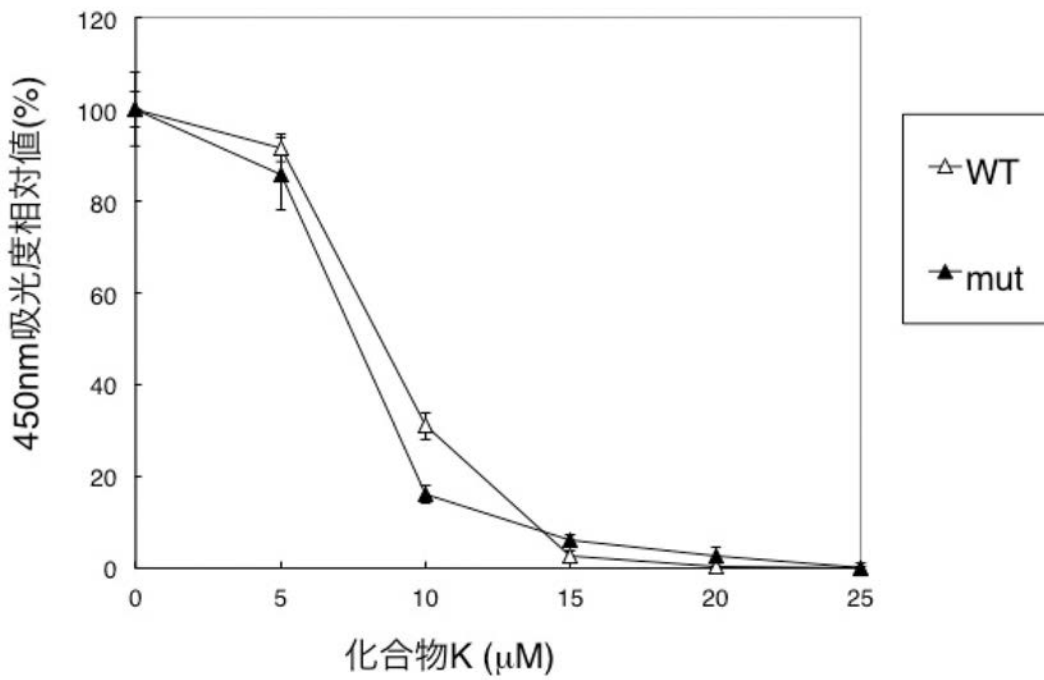
【 図 3 】

[ 図 3 ]



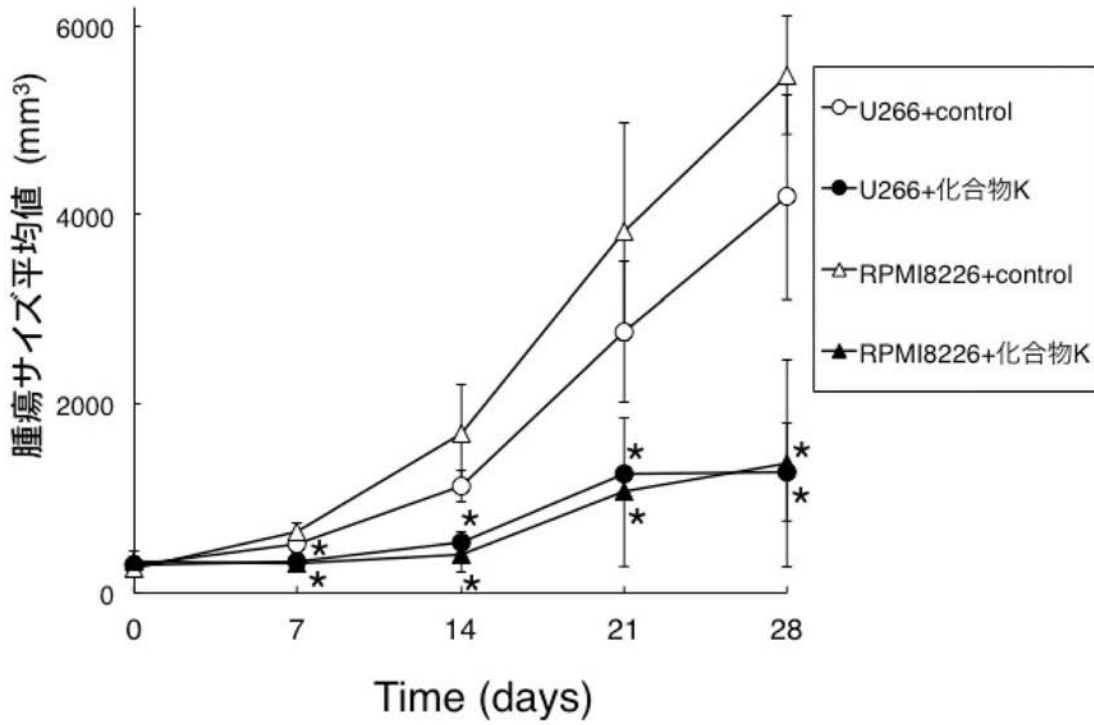
【 図 4 】

[ 図 4 ]



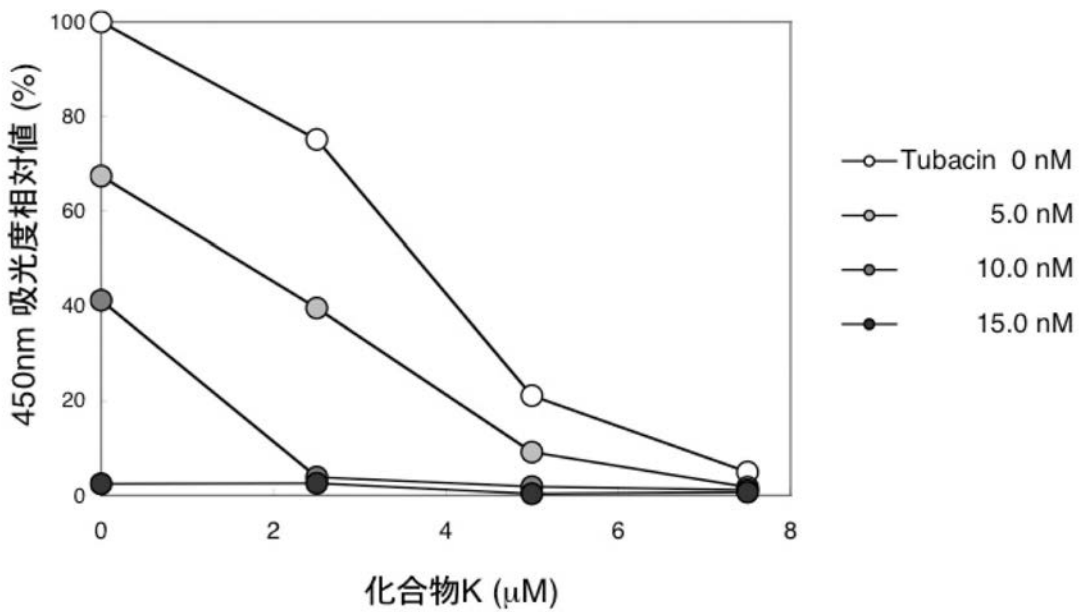
【 図 5 】

[ 図 5 ]



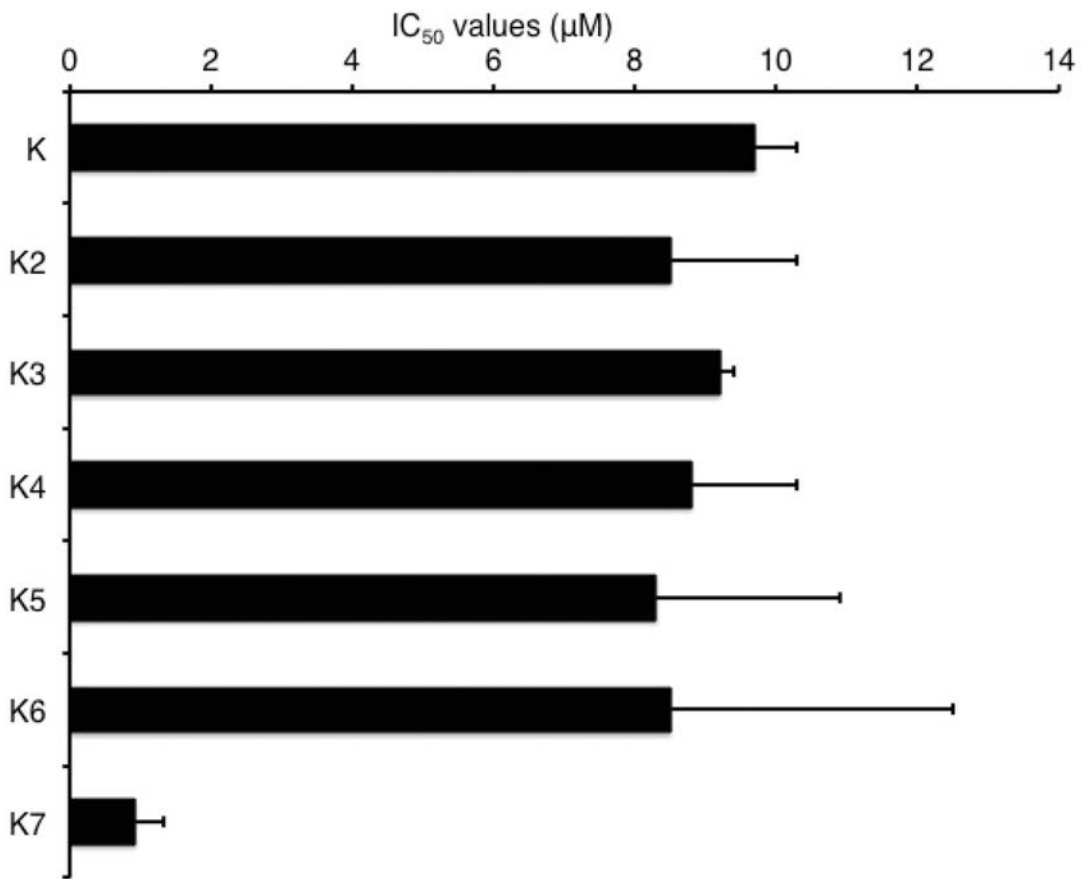
【 図 6 】

[ 図 6 ]

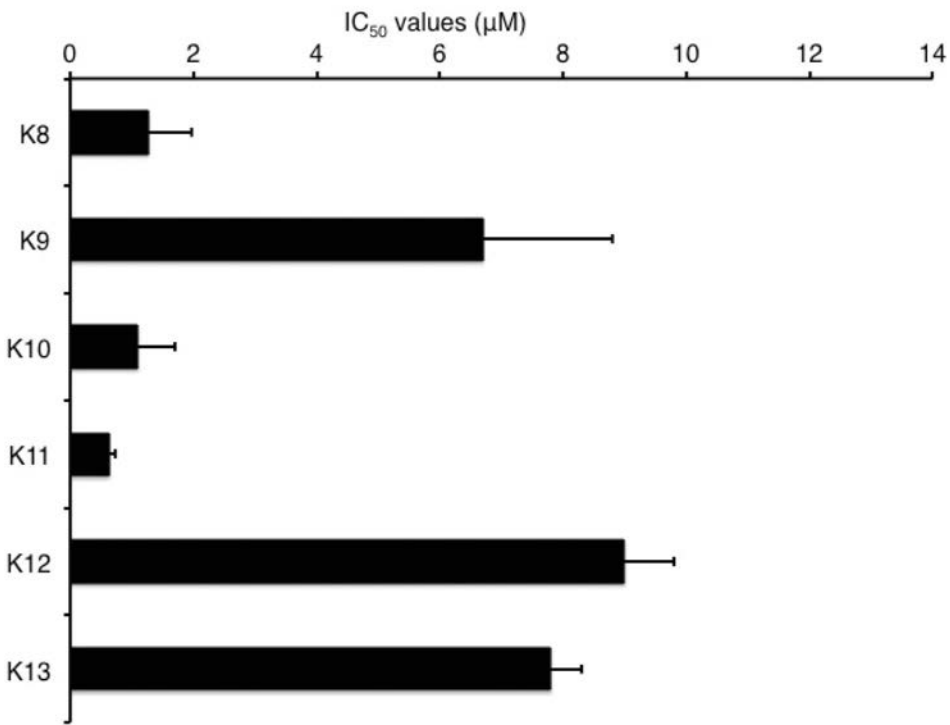




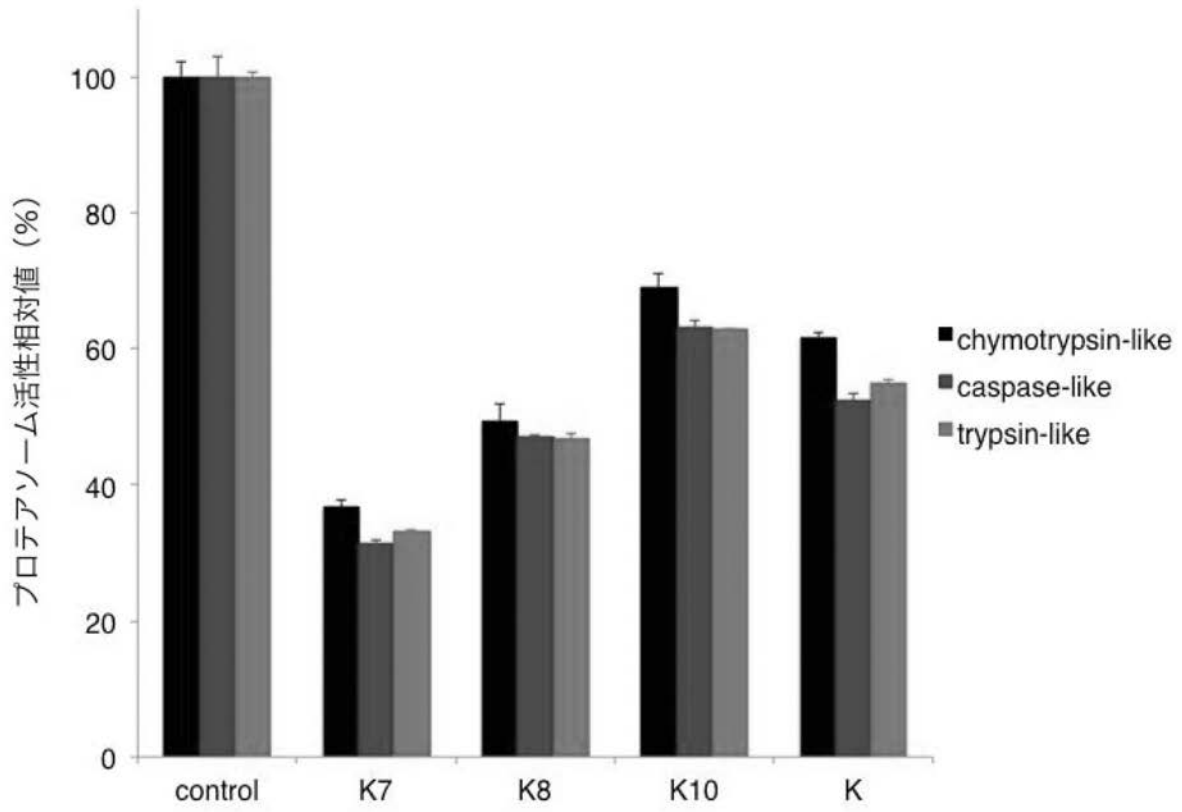
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2012/065992
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> A61K31/4965(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/02(2006.01)i, C07C217/62(2006.01)i, C07D243/08(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K31/4965, A61P35/00, A61P35/02, C07C217/62, C07D243/08  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA/REGISTRY (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	JP 9-143075 A (Kowa Co., Ltd.), 03 June 1997 (03.06.1997), entire text & US 5723465 A & EP 774257 A2 & DE 69636048 D & AT 323492 T	1-5, 10-12/13
Y/A	JP 3-2144 A (Kowa Co., Ltd.), 08 January 1991 (08.01.1991), entire text & US 5389630 A & EP 541798 A1 & WO 1992/002487 A1 & DE 69023928 D & NO 930328 A & AU 647034 B & ES 2081996 T & DK 541798 T & AT 130842 T & FI 930360 A & RU 2045522 C & HU 63143 A & CA 2087604 C & KR 10-0171569 B	1-5, 10, 12/13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 09 July, 2012 (09.07.12)		Date of mailing of the international search report 17 July, 2012 (17.07.12)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2012/065992

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004/032930 A1 (Kowa Co., Ltd.), 22 April 2004 (22.04.2004), entire text & AU 2003272972 A	1-5, 10-13

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/065992

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.: 6-9  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 6 to 9 pertain to methods for treatment of human being by therapy.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

**Remark on Protest**

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

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 2 / 0 6 5 9 9 2									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/4965 (2006.01)i, A61P35/00 (2006.01)i, A61P35/02 (2006.01)i, C07C217/62 (2006.01)i, C07D243/08 (2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/4965, A61P35/00, A61P35/02, C07C217/62, C07D243/08											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2012年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2012年	日本国実用新案登録公報	1996-2012年	日本国登録実用新案公報	1994-2012年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2012年										
日本国実用新案登録公報	1996-2012年										
日本国登録実用新案公報	1994-2012年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA/REGISTRY (STN)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
X/ A	JP 9-143075 A (興和株式会社) 1997.06.03, 全文 & US 5723465 A & EP 774257 A2 & DE 69636048 D & AT 323492 T	1-5, 10-12/ 13									
Y/ A	JP 3-2144 A (興和株式会社) 1991.01.08, 全文 & US 5389630 A & EP 541798 A1 & WO 1992/002487 A1 & DE 69023928 D & NO 930328 A & AU 647034 B & ES 2081996 T & DK 541798 T & AT 130842 T & FI 930360 A & RU 2045522 C & HU 63143 A & CA 2087604 C & KR 10-0171569 B	1-5, 10, 12/ 13									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 09.07.2012		国際調査報告の発送日 17.07.2012									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 吉田 佳代子	4U 9516 電話番号 03-3581-1101 内線 3439								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2012/065992
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2004/032930 A1 (興和株式会社) 2004.04.22, 全文 & AU 2003272972 A	1-5, 10-13

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2012/065992

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 6-9 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求項6-9は、人間の治療方法である。
2.  請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210（第1ページの続葉（2））（2009年7月）



## フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)  
**C 0 7 C 217/62 (2006.01)** A 6 1 K 31/135  
 C 0 7 C 217/62 C S P

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

(72) 発明者 古川 雄祐  
 栃木県下野市薬師寺 3 3 1 1 - 1 学校法人自治医科大学内

(72) 発明者 菊池 次郎  
 栃木県下野市薬師寺 3 3 1 1 - 1 学校法人自治医科大学内

F ターム (参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 BC54 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZB27  
 4C206 AA01 AA02 AA03 FA08 FA11 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZB27  
 4H006 AA01 AA03 AB28 BJ50 BP30 BU36

## 【要約の続き】

て、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基を示すか、又は $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって、 $-CH_2CH_2-$ 又は $-CH_2CH(R^{11})CH_2-$  [こ  
 こで、 $R^{11}$ は水素原子、 $C_{1-6}$ アルコキシ基又は $C_{1-6}$ アルキルスルホニルオキシ基を示す]を示し； $m$ 及び $n$ は、同一又は  
 異なって、2～4の整数を示す]で表される化合物、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とするプロテ  
 アソーム阻害剤。

【選択図】なし

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に  
 係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項 (実用新案法  
 第48条の13第2項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。