

明 細 書

発明の名称：

二環式含窒素芳香族ヘテロ環アミド化合物を有効成分とする医薬組成物 技術分野

[0001] 本発明は、二環式含窒素芳香族ヘテロ環アミド化合物又はその製薬学的に許容される塩を有効成分とする多発性骨髄腫の治療用医薬組成物に関する。また、多発性骨髄腫の予防又は治療のための、二環式含窒素芳香族ヘテロ環アミド化合物又はその製薬学的に許容される塩と多発性骨髄腫の治療剤との併用、及び併用療法に関する。

背景技術

[0002] 多発性骨髄腫 (multiple myeloma) はBリンパ球から分化した形質細胞の腫瘍であり、その産物である単クローン性免疫グロブリンの産生や、貧血を主とする造血障害、易感染性、腎障害、溶骨性変化などの多彩な臨床症状を呈する不治の疾患である。多発性骨髄腫はすべてのがんの約1%、全造血器腫瘍の10%以上を占めることが報告されている (SEER Cancer Statistics Review, 2008_2012)。また、高齢者の増加に伴いその患者数は増加の一途をたどっている。

近年、レナリドミド (lenalidomide) やポマリドミド (pomalidomide) などの免疫調節薬、ボルテゾミブ (bortezomib) やカーフィルゾミブ (carfilzomib) などのプロテオソーム阻害剤等の新規薬剤の導入およびそれらの薬剤の併用により、5年生存率が2001-2005年の統計では30%程度であったのに対し、2006-2010年の統計では約50%まで改善した (Leukemia, 2014, 28, 1122 _ 1128)。しかしながら、これらの薬剤が効果を示さない患者の平均生存期間は未だ短く、再発・治療抵抗性の多発性骨髄腫患者に効果を発揮する新規薬剤の開発が強く求められている。投与形態としては、多くの患者が高齢であること、また投与が長期にわたる場合が多いことから患者の負担が少ない経口剤が求められている。

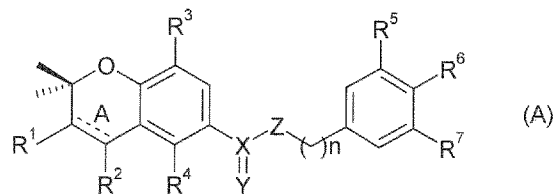
多発性骨髄腫ではphosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /Akt/ mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路が活性化しており、その病態に深く関わっていることが知られている (Clin. Cancer Res. 2007, 13: 3771-3775)。例えば、IL-6はPI3K/Akt/mTOR経路を介して骨髄腫細胞の増殖を刺激することが報告されている (Oncogene, 2001, 20: 5991-6000)。また、骨髄腫細胞の増殖因子として知られているIGF-IもまたPI3K/Akt/mTOR経路を刺激することが報告されており (J. Immunol. 2004, 173: 4953-4959)、IGF-Iの阻害剤は骨髄腫細胞の増殖を抑制する (Clin. Cancer Res. 2011, 17: 4693-4704)。

2型糖尿病治療薬の第一選択薬として知られるメトホルミン (metformin) は、adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK) を活性化することで乳癌や肺癌の増殖を阻害することが近年報告されている (Cancer Res. 2006, 66: 10269-10273, Expert Opin. Investig. Drugs. 2013, 22: 1401-1409)。AMPKは高度に保存されたセリン・スレオニンキナーゼで、種々の細胞においてエネルギー代謝を制御しており、細胞内でAMP/ATP比の変動をモニターして応答する (Annu. Rev. Biochem. 1998, 67: 821-855)。メトホルミンによるAMPK活性化は、ミトコンドリアComplex I阻害作用に基づくことが分かっている (Diabetes Metab. 2003, 29(4 Pt 2): 6S88-94)。ミトコンドリアComplex Iとは、ミトコンドリアの内膜に位置するNADH脱水素酵素であり、ミトコンドリアにおける酸化的リン酸化の「入り口酵素」として知られている。ミトコンドリアComplex Iを阻害することでミトコンドリアの電子伝達系におけるATP生成反応である酸化的リン酸化が阻害され、細胞内ATPレベルが低下するとAMP/ATP比が上昇し、AMPがAMPKに結合することによりAMPKがアロステリックに活性化する。活性化したAMPKは、PI3K/Akt 経路の下流にあるtuberous sclerosis complex 2 (TSC2) のリン酸化を介してmTORのシグナルを阻害する (Genes Cells. 2003, 8: 65-79)。このことは、メトホルミンが癌細胞の増殖を阻害する理由の一つと考えられている (Cancer Res. 2007, 67: 10804-10812)。

[0003] ミトコンドリアComplex I阻害作用を有する化合物としては、ロテノン(rot

enone)、ピリダベン(pyridaben)、ブラタシン(bullatacin)、ピエリシジンA(piericidin A)、カプサイシン(capsaicin)、フェナザキン(fenazaquin)等、天然・非天然を問わず、多数の化合物が知られている他、例えば、下記式(A)の化合物がミトコンドリアComplex I阻害作用を有し、各種癌細胞の増殖を阻害することが報告されている(特許文献1)。

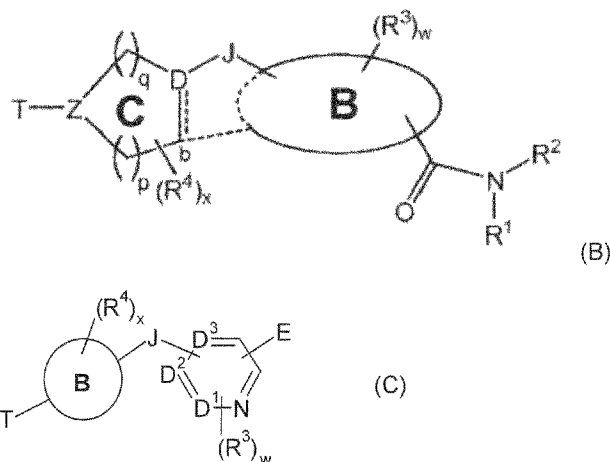
[0004] [化1]



(式中の記号の意味は当該公報参照。)

[0005] また、AMPK活性化作用を有する化合物としては、例えば、下記式(B)及び(C)の化合物がAMPK活性化作用を有し、2型糖尿病、アテローム性動脈硬化症、心血管疾患等の代謝性疾患の治療等に有用であることが報告されている(それぞれ特許文献2及び特許文献3)。しかし、当該文献には癌の治療等への有用性を示唆する具体的記載はない。

[0006] [化2]



(式中の記号の意味は当該公報参照。)

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：国際公開第02/20008号

特許文献2：国際公開第2009/132136号

特許文献3：国際公開第2012/016217号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 多発性骨髄腫の治療用医薬組成物、特に、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物を提供する。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の創製を目的に鋭意検討した結果、本発明の二環式含窒素芳香族ヘテロ環アミド化合物又はその製薬学的に許容される塩が優れたミトコンドリアComplex I阻害作用を有し（本願の優先権の基礎となる特許出願後に公開された本出願人による国際公開第2014/199933号）、これらの化合物が多発性骨髄腫の増殖抑制作用を有し、さらにレナリドミドを併用することにより、顕著な抗腫瘍作用の増強が達成されることを知見して本発明を完成した。

即ち、本発明は、(5-{1-[(6-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（以下、「化合物A」と言うことがある）

、

(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（以下、「化合物B」と言うことがある）、

4-({4-[(6-{1-[(5-エトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル（以下、「化合物C」と言うことがある）、及び

4-({4-[(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル（以下、「化合物D」と言うことがある）から選択される化合物

、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物、ある態様として、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物に関する。

[0010] また、本発明は、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を含有する多発性骨髄腫の治療剤、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療剤である。

[0011] また、本発明は、多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の使用；多発性骨髄腫の治療のための、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の使用；多発性骨髄腫の治療のための、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物D又はその製薬学的に許容される塩；化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる多発性骨髄腫の治療方法、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法に関する。なお、「対象」とは、その治療を必要とするヒト又はその他の動物であり、ある態様としては、その治療を必要とするヒトである。

[0012] また、本発明は、多発性骨髄腫の治療剤と併用することを特徴とする、多発性骨髄腫の予防若しくは治療用医薬組成物を製造するための、ある態様としては、多発性骨髄腫の治療剤と併用することを特徴とする、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の予防若しくは治療用医薬組成物を製造するための、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の使用；多発性骨髄腫の治療剤と併用することを特徴とする、多発性骨髄腫の予防若しくは治療のための、ある態様と

しては、多発性骨髄腫の治療剤と併用することを特徴とする、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の予防若しくは治療のための、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の使用；多発性骨髄腫の治療剤と併用することを特徴とする、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分とする、多発性骨髄腫の予防若しくは治療用医薬組成物、ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の予防若しくは治療用医薬組成物に関する。

発明の効果

- [0013] 本発明の医薬組成物の有効成分である化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩は、ミトコンドリアComplex I阻害作用を有し、多発性骨髄腫の増殖抑制作用を有し、多発性骨髄腫治療用医薬組成物、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の有効成分として使用できる可能性がある。

発明を実施するための形態

- [0014] 以下、本発明を詳細に説明する。
- [0015] 多発性骨髄腫の治療剤とは、メルファラン、プレドニゾン、デキサメタゾン、サリドマイド、レナリドミド、ポマリドミド、ボルテゾミブ及びカーフィルゾミブ等が挙げられ、ある態様としてはレナリドミドが挙げられる。
- [0016] レナリドミドとは多発性骨髄腫の治療剤であり、レナリドミドは市販品を購入して使用することが可能であり、或いは自明である方法又はそれらの変法によって容易に入手可能である。また、レナリドミドは既に臨床的に使用されており、その投与経路、投与サイクル、投与量は当業者に明らかである。
- [0017] 本明細書において、「化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物の製薬学的に許容される塩」とは、化合物A、化合物B、化合物C若しくは化合物Dの酸付加塩を意味し、具体的には、塩酸、臭化水素

酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の無機酸や、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、乳酸、リンゴ酸、マンデル酸、酒石酸、ジベンゾイル酒石酸、ジトルオイル酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸（メシル酸）、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（トシル酸）、アスパラギン酸、グルタミン酸等の有機酸との酸付加塩が挙げられる。

なお、「化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物」には、化合物A、化合物B、化合物C若しくは化合物Dの各種溶媒和物、具体的には、水和物やエタノール和物が含まれる。さらに、「製薬学的に許容される塩」にはこれらの溶媒和物の酸付加塩も含まれる。

また、「化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩」のある態様としては、塩を形成していないフリーベース、即ち、化合物A、化合物B、化合物C若しくは化合物Dが挙げられ、ある態様としては、化合物Aであり、さらにある態様としては、化合物Bであり、さらにある態様としては、化合物Cであり、またさらにある態様としては、化合物Dである。また、ある態様としては、化合物A、化合物B、化合物C若しくは化合物Dのトシル酸塩であり、さらにある態様としては、化合物A ニトシル酸塩であり、さらにある態様としては、化合物B ニトシル酸塩であり、さらにある態様としては、化合物C ニトシル酸塩であり、またさらにある態様としては、化合物D ニトシル酸塩である。

また、「化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩」を以下「二環式含窒素芳香族ヘテロ環アミド化合物又はその製薬学的に許容される塩」ということがある。

[0018] 本発明のある態様を以下に示す。

(1-1) 化合物A又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。ある態様としては、化合物A又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物A

ニトシル酸塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。
さらにある態様としては、化合物 A ニトシル酸塩を有効成分として含有する
PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(1-2) 多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物 A 又は
その製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路
が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物 A 又はそ
の製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫
の治療用医薬組成物の製造のための、化合物 A ニトシル酸塩の使用。さら
にある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組
成物の製造のための、化合物 A ニトシル酸塩の使用。

(1-3) 多発性骨髄腫の治療のための化合物 A 又はその製薬学的に許容さ
れる塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄
腫の治療のための化合物 A 又はその製薬学的に許容される塩の使用。さら
にある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための化合物 A ニトシル酸塩の使
用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の
治療のための化合物 A ニトシル酸塩の使用。

(1-4) 多発性骨髄腫の治療のための、化合物 A 又はその製薬学的に許容
される塩。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の
治療のための、化合物 A 又はその製薬学的に許容される塩。さらにある態様
としては、多発性骨髄腫の治療のための、化合物 A ニトシル酸塩。さら
にある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のため
の、化合物 A ニトシル酸塩。

(1-5) 化合物 A 又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与
することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。ある態様としては、化合物 A
又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、P
I3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様とし
ては、化合物 A ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、多発
性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物 A ニトシル酸塩の有

効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。

[0019] (2-1) 化合物B又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。ある態様としては、化合物B又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物B ニトシル酸塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物B ニトシル酸塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(2-2) 多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物B又はその製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物B又はその製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物B ニトシル酸塩の使用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物B ニトシル酸塩の使用。

(2-3) 多発性骨髄腫の治療のための化合物B又はその製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための化合物B又はその製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための化合物B ニトシル酸塩の使用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための化合物B ニトシル酸塩の使用。

(2-4) 多発性骨髄腫の治療のための、化合物B又はその製薬学的に許容される塩。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物B又はその製薬学的に許容される塩。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための、化合物B ニトシル酸塩。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物B ニトシル酸塩。

(2-5) 化合物B又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。ある態様としては、化合物B又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物B ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物B ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。

[0020] (3-1) 化合物C又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。ある態様としては、化合物C又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物C ニトシル酸塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物C ニトシル酸塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(3-2) 多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物C又はその製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物C又はその製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物C ニトシル酸塩の使用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物C ニトシル酸塩の使用。

(3-3) 多発性骨髄腫の治療のための化合物C又はその製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための化合物C又はその製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための化合物C ニトシル酸塩の使用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための化合物C ニトシル酸塩の使用。

(3-4) 多発性骨髄腫の治療のための、化合物C又はその製薬学的に許容される塩。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物C又はその製薬学的に許容される塩。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための、化合物C ニトシル酸塩。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物C ニトシル酸塩。

(3-5) 化合物C又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。ある態様としては、化合物C又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物C ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物C ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。

[0021] (4-1) 化合物D又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。ある態様としては、化合物D又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物D ニトシル酸塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。さらにある態様としては、化合物D ニトシル酸塩を有効成分として含有するPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(4-2) 多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物D又はその製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物D又はその製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療用医薬組成物の製造のための、化合物D ニトシル酸塩の使用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物D ニトシル酸塩の使用。

(4-3) 多発性骨髄腫の治療のための化合物D又はその製薬学的に許容される塩の使用。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための化合物D又はその製薬学的に許容される塩の使用。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための化合物D ニトシル酸塩の使用。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための化合物D ニトシル酸塩の使用。

(4-4) 多発性骨髄腫の治療のための、化合物D又はその製薬学的に許容される塩。ある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物D又はその製薬学的に許容される塩。さらにある態様としては、多発性骨髄腫の治療のための、化合物D ニトシル酸塩。さらにある態様としては、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療のための、化合物D ニトシル酸塩。

(4-5) 化合物D又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。ある態様としては、化合物D又はその製薬学的に許容される塩の有効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物D ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、多発性骨髄腫の治療方法。さらにある態様としては、化合物D ニトシル酸塩の有効量を対象に投与することからなる、PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療方法。

[0022] (5-1) レナリドミドと併用されることを特徴とする、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(5-2) レナリドミドの投与と同時に、連続して、或いは間隔をあけて投与されることを特徴とする、(5-1)に記載の多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(5-3) レナリドミドと併用されることを特徴とする、多発性骨髄腫治療用医薬組成物の製造のための、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物D

から選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の使用。

(5-4) レナリドミドと併用されることを特徴とする、多発性骨髄腫治療のための化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩。

(5-5) レナリドミドと併用されることを特徴とする、多発性骨髄腫治療のための化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の使用。

(5-6) 化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩、並びに、レナリドミドを有効成分とする多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(5-7) レナリドミドの治療有効用量、並びに、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩の治療有効用量を組み合わせ、対象に投与することを特徴とする多発性骨髄腫の治療方法。

(5-8) レナリドミドの投与と同時に、連続して或いは間隔をあけて対象に投与することを特徴とする、(5-7)に記載の多発性骨髄腫の治療方法。

(5-9) 化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する、レナリドミドによる多発性骨髄腫治療を受けている対象を治療するための多発性骨髄腫治療用医薬組成物。

(5-10) PI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫の治療用である(5-1)、(5-2)、(5-6)、(5-9)に記載の医薬組成物。

(5-11) 化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する、レナリドミドの抗多発性骨髄腫作用増強剤。

(5-12) 化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬組成

物、並びに、レナリドミドを有効成分として含有する医薬組成物とを組み合わせるキット。

(5-13) 化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬組成物、並びに、レナリドミドを有効成分として含有する医薬組成物とを併用して投与することが表示された添付文書を含有してなる、多発性骨髄腫治療用医薬品。

[0023] 本発明の医薬組成物の薬理的効果は、以下の試験例により確認した。以下の試験例では化合物A ニトシル酸塩（以下、化合物A 1と言う）、化合物B ニトシル酸塩（以下、化合物B 1と言う）、化合物C ニトシル酸塩（以下、化合物C 1と言う）、及び、化合物D ニトシル酸塩（以下、化合物D 1と言う）を被験化合物として使用した。なお、それぞれの試験例において、化合物A 1、B 1、C 1、及び、D 1の濃度は、各々のフリーベースの濃度に換算して記載した。

[0024] 試験例1 ヒトミトコンドリアComplex I阻害作用の評価

ヒトPIK3CA変異陽性乳癌であるMDA-MB-453腫瘍よりミトコンドリアを抽出し、化合物A 1、B 1、C 1、及び、D 1のComplex I阻害活性を評価した。

なお、PIK3CA変異陽性乳癌とは、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 経路の遺伝子変異の内、PI3Kの触媒ユニットであるp110 α の遺伝子名であるPIK3CAに変異を有する乳癌をいう。

また、本試験例及び次の試験例2で使用するMDA-MB-453細胞はAmerican Type Culture Collection（以下、ATCCと記載する場合がある）から入手した。

4週齢の雄性ヌードマウス（日本チャールス・リバー社）の皮下にヒトPIK3CA変異陽性乳癌由来のMDA-MB-453細胞を担癌し、一定の大きさになった後にMDA-MB-453腫瘍を摘出して、ミトコンドリア抽出用液(0.275M Sucrose, 2.2mM EDTA, 11mM Tris/HCl pH7.5, Complete-EDTA-free (Roche Diagnostics社))を腫瘍重量の9倍量加え、破碎した。600xg, 4℃で10分間遠心して上清を得た後に14000xg, 4℃で10分間遠心してペレットを得た。ペレットを、摘出した

腫瘍重量の5倍量の10mM Tris/HCl pH7.5に懸濁して、ヒトミトコンドリア懸濁液を得た。

次に、Complex I活性測定用液(25mM potassium phosphate pH7.6, 0.35% Bovine Serum Albumin(BSA), 60 μ M 2,6-dichlorophenol-indophenol, 70 μ M decylubiquinone, 1 μ M antimycin) 1mlあたりヒトミトコンドリア懸濁液を25若しくは50 μ l加えた。96若しくは384ウェルプレートに分取した後に、被験化合物を終濃度10000nMから終濃度0.3nMまでの任意の範囲で添加した。陰性対照として被験化合物の溶媒であるジメチルスルホキシド (DMSO) を終濃度1%となるように、陽性対照としてComplex I阻害剤であるrotenoneを終濃度1 μ Mとなるように、それぞれ添加した。さらにNADHを終濃度0.2若しくは0.5mMとなるように各ウェルに加え、予め37°Cに設定したSpectraMax (Molecular Device社) にて波長600nmにおける吸光度の変化を測定した。DMSO処理でのシグナル値をtop、rotenone 1 μ M処理でのシグナル値をbottomとし、反応が線形である範囲内でシグナルの変動を算出し、50%阻害値(IC₅₀)をSigmoid-Emaxモデル非線形回帰分析法にて算出した。被験化合物A 1、B 1、C 1、及び、D 1の結果を表1に示す。なお、化合物A 1～D 1は後記の実施例1～4に記載の方法で製造した(以下同様)。

[0025] [表1]

被験化合物	IC ₅₀ (nM)
A 1	41
B 1	75
C 1	22
D 1	120

[0026] 試験例2 AMPK活性化作用の評価

AMPKの基質であるAcetyl-CoA Carboxylase (ACC)の79番目のセリン (Ser79) のリン酸化をCell ELISAにより測定することで化合物A 1、B 1、C 1、及び、D 1によるAMPK活性化作用を評価した。

MDA-MB-453細胞を1ウェルあたり15000細胞となるように10% 牛胎児血清を含むLeibovitz's L-15培地 (Life technologies社) で36 μ lずつ384ウェルプ

レートに播種し、CO₂非存在下37℃で一晩培養した。翌日、被験化合物 A 1、B 1、C 1、D 1、及び陰性対照として被験化合物の溶媒であるDMSOを終濃度の10倍濃度となるように新鮮な培地で希釈し、各ウェルに4μlずつ添加した（被験化合物は終濃度10000nMから終濃度0.3nMまでの10段階、DMSOは終濃度0.1%）。その後CO₂非存在下37℃で2時間培養した。培養後、各ウェルに40%グリオキサール溶液（ナカライテスク社）を20μl添加し、30分間室温で静置することで細胞を固定した。その後、プレートを遠心（Ecospin；C.A.N.社、800rpm、8秒間、以下特記しない限り遠心は同条件で行った）することで上清を除き、0.1% Triton X-100含有Phosphate-Buffered Saline(PBS)を20μlずつ各ウェルに添加し、10分間室温で静置した。遠心により0.1% Triton X-100含有PBSを除き、ブロッキング溶液（Odyssey Blocking Buffer；LI-COR Biosciences社）を20μlずつ各ウェルに添加して1時間室温で静置した。遠心によりブロッキング溶液を除き、1次抗体としてACC Ser79のリン酸化抗体（Cell Signaling社）を原液に対して1/500量含有したブロッキング溶液を10μlずつ各ウェルに添加して4℃にて一晩静置した。その翌日、プレートを遠心して反応液を除き、0.05% Tween-20含有Tris-Buffered Saline(TBS)（Thermo Scientific社；20x TBS Tween-20をイオン交換水で希釈し1xで使用）を25μlずつ各ウェルに添加し、遠心により除去することで各ウェルを洗浄した。洗浄は計3回行った。洗浄後、2次抗体としてIRDye（登録商標）800CW Goat anti-Rabbit IgG（LI-COR Biosciences社）を原液に対して1/1000量含有したブロッキング溶液を10μlずつ各ウェルに添加して1時間室温で静置した。プレートを遠心して反応液を除き、0.05% Tween-20含有TBSで1次抗体反応後と同様に各ウェルを3回洗浄した。洗浄液を除いた後にそのままプレートを室温で3時間以上風乾させ、Aerius（LI-COR Biosciences社）にてシグナルを測定した。DMSO処理でのシグナル値をbottom、プラトーに達した時のシグナル値をtopとし、50%活性化値（EC₅₀）をSigmoid-Emaxモデル非線形回帰分析法にて算出した。被験化合物 A 1、B 1、C 1、及び、D 1の結果を表2に示す。

[表2]

被験化合物	EC ₅₀ (nM)
A 1	24
B 1	8.3
C 1	1.8
D 1	3.3

[0028] 試験例3 ヒト骨髓腫細胞担癌マウスにおける抗腫瘍試験1

CAnN.Cg-Foxn1^{nu}/CrIcrljマウス（Nudeマウス、4週齢、メス、日本チャールス・リバー社）にヒト骨髓腫由来であるKMS-12-BM細胞（購入品）またはOPM-2細胞（購入品）を、PBSとMatrigel（登録商標）を1:1の割合で混合した溶液で 5×10^7 cells/mLに調製し、0.1mLをマウスの背部側面に皮下移植した（ 5×10^6 cells/head）。腫瘍細胞が生着し、平均腫瘍体積が約300 mm³を超えた時点で腫瘍体積で群分けを行い（各群5匹）、6%シクロデキストリン水溶液（Sigma-Aldrich社）に溶解した被験化合物を8 mg/kgの用量で1日1回、KMS-12-BM細胞を用いた試験では21日間、OPM-2細胞を用いた試験では7日間それぞれ連続経口投与した。溶媒群（対照群）には6%シクロデキストリン水溶液を1日1回、経口投与した。

ヒト骨髓腫由来であるRPMI 8226細胞（購入品）についてはCB17/Icr-Prkdc^{scid}/CrIcrljマウス（Scidマウス、5週齢、メス、日本チャールス・リバー社）にPBSとMatrigel（登録商標）を1:1の割合で混合した溶液で 5×10^7 cells/mLに調製し、0.1mLをマウスの背部側面に皮下移植した（ 5×10^6 cells/head）。腫瘍細胞が生着し、平均腫瘍体積が約150mm³を超えた時点で腫瘍体積で群分けを行い（各群5匹）、6%シクロデキストリン水溶液に溶解した被験化合物を8 mg/kgの用量で1日1回、21日間連続経口投与した。溶媒群（対照群）には6%シクロデキストリン水溶液を1日1回、経口投与した。

1週間に2回の頻度で腫瘍径および体重を測定し、抗腫瘍効果および体重に対する作用を検討した。腫瘍体積の算出には以下の式を用いた。

$$[\text{腫瘍体積(mm}^3\text{)}] = [\text{腫瘍の長径(mm)}] \times [\text{腫瘍の短径(mm)}]^2 \times 0.5$$

腫瘍体積の平均値から、下記の式に従い腫瘍増殖抑制率および腫瘍退縮率を算出した。腫瘍退縮率は、腫瘍増殖抑制率 > 100%の群に関して算出した。

腫瘍増殖抑制率 (%) = (1 - 各群の平均腫瘍体積増加 ÷ 対照群の平均腫瘍体積増加) × 100

腫瘍退縮率 (%) = (1 - 各群の測定日における平均腫瘍体積 ÷ 各群の群分け時における平均腫瘍体積) × 100

化合物 A 1 の最終投与翌日の抗腫瘍効果を表 3 に示す。

なお、ヒト骨髓腫由来であるKMS-12-BM細胞、OPM-2細胞およびRPMI 8226細胞は、例えばATCC、Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB細胞バンク等から購入できる。

[0029] [表3]

細胞	用量(mg/kg)	投与期間	抑制又は退縮率
KMS-12-BM	8	21 日	100 % 退縮
OPM-2	8	7 日	17 % 退縮
RPMI 8226	8	21 日	97 % 抑制

[0030] 試験例 4 ヒト骨髓腫細胞担癌マウスにおける抗腫瘍試験 2

ヒト骨髓腫由来であるKMS-12-BM細胞およびRPMI 8226細胞は、それぞれJCRB（国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所）細胞バンクおよびATCCから購入した。KMS-12-BM細胞は、CAnN.Cg-Foxn1^{nu}/CrlCrljマウス（Nudeマウス、4-5週齢、メス、日本チャールス・リバー社）に、RPMI 8226細胞はCB17/Icr-r-Prkdc^{scid}/CrlCrljマウス（Scidマウス、4-5週齢、メス、日本チャールス・リバー社）にそれぞれ移植した。各腫瘍細胞はPBSとMatrigel（登録商標）を1:1の割合で混合した溶液で5 × 10⁷ cells/mLに調製し、0.1mLをマウスの背部側面に皮下移植した（5 × 10⁶ cells/head）。腫瘍細胞が皮下に生着し、平均腫瘍体積が約150 mm³になった時点で腫瘍体積で群分けを行った（各群5匹）。被験化合物は6%シクロデキストリン水溶液（Sigma-Aldrich社）に溶解し、8 mg/kgまたは1 mg/kgの用量で1日1回、経口投与した。溶媒群（対照群）に

は6%シクロデキストリン水溶液を1日1回、同様に経口投与した。KMS-12-BM細胞については17日間、RPMI 8226細胞については18日間連続経口投与し、最終投与翌日の腫瘍増殖抑制率または腫瘍退縮率を以下の式で算出した。

$$[\text{腫瘍体積}(\text{mm}^3)] = [\text{腫瘍の長径}(\text{mm})] \times [\text{腫瘍の短径}(\text{mm})]^2 \times 0.5$$

$$\text{腫瘍増殖抑制率}(\%) = (1 - \text{各群の平均腫瘍体積増加} \div \text{対照群の平均腫瘍体積増加}) \times 100$$

腫瘍増殖抑制率 > 100%の群に関しては腫瘍退縮率を算出した。

$$\text{腫瘍退縮率}(\%) = (1 - \text{各群の測定日における平均腫瘍体積} \div \text{各群の投与開始時における平均腫瘍体積}) \times 100$$

化合物A 1、B 1、C 1およびD 1の最終投与翌日における抗腫瘍効果を表4に示す。

[0031] [表4]

被験化合物	用量 (mg/kg)	抑制率又は退縮率	
		KMS-12-BM	RPMI 8226
		17日間投与	18日間投与
A 1	8	99% 抑制	99% 抑制
B 1	8	6% 退縮	4% 退縮
C 1	1	68% 退縮	25% 退縮
D 1	1	71% 抑制	75% 抑制

[0032] 試験例5 レナリドミドとの併用効果試験1

CAnN.Cg-Foxn1^{nu}/Cr lCr l jマウス（Nudeマウス、4週齢、メス、日本チャールス・リバー社）にヒト骨髓腫由来であるKMS-12-BM細胞を、PBSとMatrigel（登録商標）を1:1の割合で混合した溶液で 2.8×10^7 cells/mLに調製し、0.1mLをマウスの背部側面に皮下移植した（ 2.8×10^6 cells/head）。腫瘍細胞が生着し、平均腫瘍体積が約200 mm³を超えた時点で腫瘍体積で群分けを行い、各群5匹とした。被験化合物は6%シクロデキストリン水溶液に溶解し2 mg/kgの用量で1日1回、27日間経口投与した。レナリドミド（MedChemExpress社）は6%シクロデキストリン水溶液に懸濁し100 mg/kgの用量で27日間1日1回、経口投与した。併用投与群においては被験化合物 2 mg/kgおよびレナリドミド100 m

g/kgの用量でそれぞれ1日1回、経口投与した。溶媒群（対照群）には6%シクロデキストリン水溶液を1日1回、経口投与した。1週間に2回の頻度で腫瘍径および体重を測定し、抗腫瘍効果および体重に対する作用を検討した。腫瘍体積の算出には以下の式を用いた。

$$[\text{腫瘍体積}(\text{mm}^3)] = [\text{腫瘍の長径}(\text{mm})] \times [\text{腫瘍の短径}(\text{mm})]^2 \times 0.5$$

平均腫瘍体積の平均値から、下記の式に従い腫瘍増殖抑制率および腫瘍退縮率を算出した。腫瘍退縮率は、腫瘍増殖抑制率 > 100%の群に関して算出した。

$$\text{腫瘍増殖抑制率}(\%) = (1 - \text{各群の平均腫瘍体積増加} \div \text{対照群の平均腫瘍体積増加}) \times 100$$

$$\text{腫瘍退縮率}(\%) = (1 - \text{各群の測定日における平均腫瘍体積} \div \text{各群の群分け時における平均腫瘍体積}) \times 100$$

最終投与翌日における化合物A 1とレナリドミドとの併用効果を表5に示す。

[0033] [表5]

被験化合物用量(mg/kg)	レナリドミド用量(mg/kg)	抑制又は退縮率
投与なし	100	53% 抑制
2	投与なし	24% 退縮
2	100	100% 退縮

[0034] 試験例6 レナリドミドとの併用効果試験2

CAnN.Cg-Foxn1^{nu}/Cr1Cr1jマウス（Nudeマウス、4-5週齢、メス、日本チャールス・リバー社）にヒト骨髓腫由来であるKMS-12-BM細胞を、PBSとMatrigel（登録商標）を1:1の割合で混合した溶液で5 x 10⁷ cells/mLに調製し、0.1mLをマウスの背部側面に皮下移植した（5 x 10⁶ cells/head）。腫瘍細胞が皮下に生着し、平均腫瘍体積が約200 mm³を超えた時点で腫瘍体積で群分けを行った。試験群として溶媒+溶媒（対照群）、化合物A1+溶媒、化合物B1+溶媒、化合物C1+溶媒、化合物D1+溶媒、溶媒+レナリドミド、化合物A1+レナリ

ドミド、化合物B1+レナリドミド、化合物C1+レナリドミド および化合物D1+レナリドミド投与群の合計10 群を設定し、各群5匹とした。被験化合物は6%シクロデキストリン水溶液に溶解し8 mg/kgまたは1 mg/kgの用量で1日1 回、14 日間連続経口投与した。レナリドミド（MedChemExpress社）は6%シクロデキストリン水溶液に懸濁し、100 mg/kgの用量で1日1 回、14 日間連続経口投与した。最終投与の翌日の各群の腫瘍増殖抑制率または腫瘍退縮率を以下の式で算出した。

$$[\text{腫瘍体積}(\text{mm}^3)] = [\text{腫瘍の長径}(\text{mm})] \times [\text{腫瘍の短径}(\text{mm})]^2 \times 0.5$$

$$\text{腫瘍増殖抑制率}(\%) = (1 - \text{各群の平均腫瘍体積増加} \div \text{対照群の平均腫瘍体積増加}) \times 100$$

腫瘍増殖抑制率 > 100%の群に関しては腫瘍退縮率を算出した。

$$\text{腫瘍退縮率}(\%) = (1 - \text{各群の測定日における平均腫瘍体積} \div \text{各群の投与開始時における平均腫瘍体積}) \times 100$$

最終投与の翌日における各群の腫瘍増殖抑制率または腫瘍退縮率を表6に示す。

[0035] [表6]

被験化合物	被験化合物 用量(mg/kg)	レナリドミド 用量(mg/kg)	抑制率または 退縮率
A1	8	0	100% 抑制
B1	8	0	20% 退縮
C1	1	0	40% 退縮
D1	1	0	61% 抑制
溶媒	0	100	21% 抑制
A1	8	100	39% 退縮
B1	8	100	42% 退縮
C1	1	100	64% 退縮
D1	1	100	74% 抑制

[0036] 以上の結果から、本発明の医薬組成物の有効成分である、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物DがミトコンドリアComplex Iを阻害し、さらにAMPK活性化作用を有することが確認された。また、ヒト骨髄腫担がんマウスに対して抗腫瘍作用を有することが確認された。また、レナリドミドと化合

物A、化合物B、化合物C及び化合物Dを併用することにより、それぞれの単剤投与よりも強い抗腫瘍効果を示すことが確認された。

[0037] 従って、化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩は、多発性骨髄腫の治療に使用できる。

[0038] 化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬組成物は、任意の添加剤として賦形剤を含んでいてもよく、また当分野において通常用いられている賦形剤、即ち、薬剤用賦形剤や薬剤用担体等を用いて、通常使用されている方法によって調製することができる。

投与は錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、液剤等による経口投与、又は、関節内、静脈内、筋肉内等の注射剤、坐剤、経皮用液剤、軟膏剤、経皮用貼付剤、経粘膜液剤、経粘膜貼付剤等による非経口投与のいずれの形態であってもよい。

[0039] 経口投与のための固体組成物としては、錠剤、散剤、顆粒剤等が用いられる。このような固体組成物においては、1種又は2種以上の有効成分を、少なくとも1種の不活性な賦形剤と混合される。組成物は、常法に従って、不活性な添加剤、例えば滑沢剤や崩壊剤、安定化剤、溶解補助剤を含有していてもよい。錠剤又は丸剤は必要により糖衣又は胃溶性若しくは腸溶性物質のフィルムで被膜してもよい。

経口投与のための液体組成物は、薬剤的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤又はエリキシル剤等を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水又はエタノールを含む。当該液体組成物は不活性な希釈剤以外に可溶化剤、湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

[0040] 非経口投与のための注射剤は、無菌の水性又は非水性の溶液剤、懸濁剤又は乳濁剤を含有する。水性の溶剤としては、例えば注射用蒸留水又は生理食塩液が含まれる。非水性の溶剤としては、例えばエタノールのようなアルコ

ール類がある。このような組成物は、さらに等張化剤、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、又は溶解補助剤を含んでもよい。これらは例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合又は照射によって無菌化される。また、これらは無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水又は無菌の注射用溶媒に溶解又は懸濁して使用することもできる。

[0041] 外用剤としては、軟膏剤、硬膏剤、クリーム剤、ゼリー剤、パップ剤、噴霧剤、ローション剤等を包含する。一般に用いられる軟膏基剤、ローション基剤、水性又は非水性の液剤、懸濁剤、乳剤等を含有する。

[0042] 経鼻剤等の経粘膜剤は固体、液体又は半固体状のものが用いられ、従来公知の方法に従って製造することができる。例えば公知の賦形剤や、更に、pH調整剤、防腐剤、界面活性剤、滑沢剤、安定剤や増粘剤等が適宜添加されていてもよい。投与は、適当な吸入又は吹送のためのデバイスを使用することができる。例えば、計量投与吸入デバイス等の公知のデバイスや噴霧器を使用して、化合物を単独で又は処方された混合物の粉末として、もしくは医薬的に許容し得る担体と組み合わせて溶液又は懸濁液として投与することができる。乾燥粉末吸入器等は、単回又は多数回の投与用のものであってもよく、乾燥粉末又は粉末含有カプセルを利用することができる。あるいは、適当な駆出剤、例えば、クロロフルオロアルカン又は二酸化炭素等の好適な気体を使用した加圧エアゾールスプレー等の形態であってもよい。

[0043] 通常経口投与の場合、1日の投与量は、体重当たり約0.001~100mg/kg、好ましくは0.1~30mg/kg、更に好ましくは0.1~10mg/kgが適当であり、これを1回であるいは2回~4回に分けて投与する。静脈内投与される場合は、1日の投与量は、体重当たり約0.0001~10mg/kgが適当で、1日1回~複数回に分けて投与する。また、経粘膜剤としては、体重当たり約0.001~100mg/kgを1日1回~複数回に分けて投与する。投与量は症状、年齢、性別等を考慮して個々の場合に応じて適宜決定される。

[0044] 投与経路、剤形、投与部位、賦形剤や添加剤の種類によって異なるが、本発明の医薬組成物は0.01~100重量%、ある態様としては0.01~50重量%の有効

成分である化合物A、化合物B、化合物C及び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を含有する。

[0045] 本発明の医薬組成物は、レナリドミド以外にも、多発性骨髄腫に有効性を示すと考えられる種々の治療剤と併用することができる可能性がある。当該併用は、同時投与、あるいは別個に連続して、若しくは所望の時間間隔をおいて投与してもよい。同時投与の場合には、配合剤であっても別個に製剤化されていてもよい。

実施例

[0046] 以下、実施例に基づき、化合物A、化合物B、化合物C、及び、化合物Dの製造法を詳細に説明する。また、それらの原料化合物の製法を製造例に示す。また、化合物A、化合物B、化合物C、及び、化合物Dの製造法は、以下に示される具体的実施例の製造法のみ限定されるものではなく、これらの製造法の別の組み合わせ、あるいは当業者に自明である方法によっても製造されうる。

[0047] 本明細書において、化合物の命名にACD/Name（登録商標、Advanced Chemistry Development, Inc.）等の命名ソフトを使用している場合がある。

[0048] また、便宜上、濃度mol/lをMとして表す。例えば、1M水酸化ナトリウム水溶液は1mol/lの水酸化ナトリウム水溶液であることを意味する。

[0049] 粉末X線回折は、RINT-TTRII(RIGAKU社)を用い、管球：Cu、管電流：300mA、管電圧：50kV、サンプリング幅：0.020°、走査速度：4°/min、波長：1.54056 Å、測定回折角範囲（2θ）：2.5～40°の条件で測定し、データ処理を含む装置の取り扱い、各装置で指示された方法及び手順に従った。

各結晶はそれぞれ粉末X線回折パターンで特徴付けられるが、粉末X線回折はデータの性質上、結晶の同一性認定においては、結晶格子間隔や全体的なパターンが重要であり、回折角及び回折強度は結晶成長の方向、粒子の大きさ、測定条件によって多少変わりうるものであるから、厳密に解されるべきではない。粉末X線回折パターンにおける回折角（2θ（°））は、当該測定方法において通常許容される誤差範囲を考慮して解釈され、ある態様として

は、 $\pm 0.2^\circ$ の誤差範囲を取りうる。

[0050] 製造例 1

5-ブロモ-1H-ベンゾイミダゾール-2-カルボン酸(1.0g)、1-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン (1.0g)、1H-ベンゾトリアゾール-1-オール (840mg) 及びN,N-ジメチルホルムアミド (10ml: 以下、DMFと略記する) の混合物にN-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-N'-エチルカルボジイミド 塩酸塩 (1.2g)を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、室温で1時間攪拌し、生じた固体を濾取後、減圧下乾燥した。得られた固体をクロロホルム (100ml) 及びエタノール(1ml)の混合物に加熱還流下溶解した。混合物を室温まで冷却後、ヘキサン (100ml) を加えた。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥し、(5-ブロモ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン (1.4 g) を固体として得た。

[0051] 製造例 2

(5-ブロモ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン (1.2g)、4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル (1.6g)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(590mg)、炭酸ナトリウム(2.2g)、ジオキサン (40ml) 及び水 (10ml) の混合物をアルゴン雰囲気下、95℃で24時間攪拌後、室温まで放冷した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、4-[2-({4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}カルボニル)-1H-ベンゾイミダゾール-5-イル]-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル (1.2g)を油状物として得た。

[0052] 製造例 3

4-[2-({4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}カルボニ

ル)-1H-ベンゾイミダゾール-5-イル]-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル(1.4g)のエタノール(40ml)溶液に10%パラジウム-活性炭(約50%含水量、500mg)を加え、水素雰囲気下、室温で6時間攪拌した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣のエタノール(40ml)溶液に10%パラジウム-活性炭(約50%含水量、500mg)を加え、3.0kgf/cm²の水素雰囲気下、室温で4時間攪拌した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣のメタノール(41ml)溶液に20%水酸化パラジウム-活性炭(約50%含水量、800mg)を加え、3.0kgf/cm²の水素雰囲気下、室温で24時間攪拌した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製し、4-[2-({4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}カルボニル)-1H-ベンゾイミダゾール-5-イル]ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル(1.1g)を油状物として得た。

[0053] 製造例 4

4-[2-({4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}カルボニル)-1H-ベンゾイミダゾール-5-イル]ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル(1.1g)の酢酸エチル(30ml)溶液に4M塩化水素/酢酸エチル溶液(5ml)を加え、室温で6時間攪拌し、終夜静置した。減圧下溶媒を留去し、得られた残渣に酢酸エチル及びヘキサンを加えた。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥し、[5-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル]{4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノンの塩酸塩(740mg:但し、塩化水素とのモル比は未決定)を固体として得た。

[0054] 製造例 5

4-[2-({4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}カルボニル)-1H-ベンゾイミダゾール-5-イル]ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル(270mg)のジクロロメタン(2ml)溶液にトリフルオロ酢酸(1ml)を加え、室温で30分間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄後、無

水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）により精製し、[5-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル]{4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（150mg）をアモルファスとして得た。

[0055] 製造例 6

6-ブロモ-1H-インドール-2-カルボン酸（1.0g）、N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-N'-エチルカルボジイミド 塩酸塩（1.1g）、1H-ベンゾトリアゾール-1-オール（770mg）及びジクロロメタン（15ml）の混合物を室温で10分間攪拌した。反応混合物に4-(ピペラジン-1-イルメチル)ベンゾニトリル 二塩酸塩（1.2g）及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン（1.6ml）を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した後、クロロホルム-メタノールで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）により精製し、4-({4-[(6-ブロモ-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル（1.1g）を固体として得た。

[0056] 製造例 7

4-({4-[(6-ブロモ-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル（1.1g）、4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル（1.6g）、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム（480mg）、炭酸ナトリウム（790mg）、ジオキサン（18ml）及び水（1.8ml）の混合物をアルゴン雰囲気下、100℃で終夜攪拌後、室温まで放冷した。反応混合物に水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール、次いでヘキサン-酢酸エチル）により精製し、得られた固体をジイソプロピルエーテルを用いて洗浄して4-(2-[

4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1H-インドール-6-イル)-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル (470mg) を固体として得た。

[0057] 製造例 8

4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1H-インドール-6-イル)-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル (470mg)、テトラヒドロフラン (以下、THFと略記する) (14ml) 及びエタノール (3ml) の混合物に10%パラジウム-活性炭 (約50%含水品、230mg) を加え、水素雰囲気下、室温で2時間攪拌した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣、THF (14ml) 及びエタノール (3ml) の混合物に10%パラジウム-活性炭 (約50%含水品、230mg) を加え、水素雰囲気下、室温で終夜攪拌した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣、THF (14ml) 及びエタノール (3ml) の混合物に20%水酸化パラジウム-活性炭 (約50%含水品、230mg) を加え、3.0kgf/cm²の水素雰囲気下、室温で4時間攪拌した後、3日間静置した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、4-[2-(ピペラジン-1-イルカルボニル)-1H-インドール-6-イル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (360mg) を油状物として得た。

[0058] 製造例 9

4-[2-(ピペラジン-1-イルカルボニル)-1H-インドール-6-イル]ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル (350mg)、4-ホルミルベンズニトリル (140mg) 及びジクロロメタン (3ml) の混合物にトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム (360mg) を加え、室温で1.5時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及びメタノールを加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1H-インドール-6-イル)ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル (450mg)

を油状物として得た。

[0059] 製造例 1 0

4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1H-インドール-6-イル)ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル (450mg) のDMF (4ml) 溶液に、氷冷下、水素化ナトリウム(流動パラフィン約45%含有、40mg)を加え、室温で1時間攪拌した。反応混合物に室温にてヨウ化メチル (58 μ l) を加え、室温で1時間攪拌した。反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液及び水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和塩化ナトリウム水溶液で順次洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1-メチル-1H-インドール-6-イル)ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル (200mg) を油状物として得た。

[0060] 製造例 1 1

4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1-メチル-1H-インドール-6-イル)ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル (200mg) のジクロロメタン (1ml) 溶液に室温にてトリフルオロ酢酸 (500 μ l) を加え、室温で2時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、得られた残渣に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、4-[(4-{[1-メチル-6-(ピペリジン-4-イル)-1H-インドール-2-イル]カルボニル}ピペラジン-1-イル)メチル]ベンゾニトリル (120mg) を固体として得た。

[0061] 製造例 1 2

5-エトキシピラジン-2-カルボン酸エチル (4.5g) のメタノール (100ml) 溶液に氷冷下、水素化ホウ素ナトリウム (2.6g) を数回に分けて加え、室温で6時間攪拌した。反応混合物に1M塩酸を加えてpH4とした後、室温で15分間

撈拌した。混合物に1M水酸化ナトリウム水溶液を加えてpH9とした後、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル）により精製し、（5-エトキシピラジン-2-イル）メタノール（2.6g）を油状物として得た。

[0062] 製造例 1 3

（5-エトキシピラジン-2-イル）メタノール（150mg）のジクロロメタン（3ml）溶液に氷冷下、塩化チオニル（200 μ l）を加え、室温で30分間撈拌した。減圧下濃縮し、2-(クロロメチル)-5-エトキシピラジン（160mg）を油状物として得た。

[0063] 製造例 1 4

5-ブロモ-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（5.2g）、4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-3,6-ジヒドロピリジン-1(2H)-カルボン酸tert-ブチル（13g）、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム（5.3g）、2M炭酸ナトリウム水溶液（28ml）及びジオキサン（110ml）の混合物をアルゴン雰囲気下、95℃で17時間撈拌後、室温まで放冷した。反応混合物に水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル、次いでクロロホルム-メタノール）及びアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル）により精製し、得られた固体（6.5g）にヘキサン-ジイソプロピルエーテルを加え、粉末化した。固体を濾取後、減圧下乾燥して、5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル]-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（5.0g）を固体として得た。

[0064] 製造例 1 5

5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル]-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（5.0g）、エタノール（55ml）及びTHF（55ml）の混合物に20%水酸化パラジウム-活性炭（約50%含水量、1.0g）を加

え、水素雰囲気下、室温で3時間撹拌した。不溶物を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル）により精製し、5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル]-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（4.8g）を固体として得た。

[0065] 製造例 1 6

5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル]-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（4.8g）、炭酸セシウム（7.0g）及びアセトニトリル（70ml）の混合物に硫酸ジメチル（1.8ml）を加え、75℃で2時間撹拌後、室温まで放冷した。反応混合物に酢酸エチルを加えた後、水、飽和塩化ナトリウム水溶液で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去し、5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル]-1-メチル-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（5.7g）を油状物として得た。

[0066] 製造例 1 7

5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル]-1-メチル-1H-インドール-2-カルボン酸エチル（5.7g）、ジオキサン（23ml）及びエタノール（23ml）の混合物に1M水酸化ナトリウム水溶液（23ml）を加え、60℃で終夜撹拌後、室温まで放冷した。反応混合物に氷冷下、1M塩酸（23ml）を加えクロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去し、5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル]-1-メチル-1H-インドール-2-カルボン酸（4.8g）をアモルファスとして得た。

[0067] 製造例 1 8

5-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル]-1-メチル-1H-インドール-2-カルボン酸（4.8g）、1H-ベンゾトリアゾール-1-オール（1.9g）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（6.8ml）及びジクロロメタン（55ml）の混合物に4-(ピペラジン-1-イルメチル)ベンゾニトリル 二塩酸塩（4.0g）及びN-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-N'-エチルカルボジイミド 塩酸塩（3.1g）を加え、室温で2時間撹拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及

び水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル）により精製し、4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1-メチル-1H-インドール-5-イル)ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル（6.8g）をアモルファスとして得た。

[0068] 製造例 19

4-(2-{[4-(4-シアノベンジル)ピペラジン-1-イル]カルボニル}-1-メチル-1H-インドール-5-イル)ピペリジン-1-カルボン酸tert-ブチル（6.8g）のジクロロメタン（10ml）溶液に室温にてトリフルオロ酢酸（5ml）を加え、室温で2時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、得られた残渣に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去し、4-[(4-{[1-メチル-5-(ピペリジン-4-イル)-1H-インドール-2-イル]カルボニル}ピペラジン-1-イル)メチル]ベンゾニトリル（7.1g）をアモルファスとして得た。

[0069] 実施例 1

[5-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル]{4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノンの塩酸塩（200mg）、6-メトキシニコチンアルデヒド（100mg）、トリエチルアミン（140 μ l）、酢酸（100 μ l）及びジクロロメタン（4ml）の混合物を室温で10分間攪拌した。反応混合物にトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム（580mg）を室温にて加え、室温で2時間攪拌した後、室温で終夜静置した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた粗生成物をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）により精製し、得られた油状物（化合物A；110mg）のアセトン溶液にトシル酸一水和物（69mg）を加え、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣にエタノール（3ml）及びジイソプロピルエーテル（20ml）を加え、室温で攪拌した。

。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥して、(5-{1-[(6-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（化合物A）のニトシル酸塩（180mg）をアモルファスとして得た。また、上記と同様にして製造した化合物A（200mg）とアセトニトリル（10ml）の混合物を95℃で30分間攪拌した後、トシル酸一水和物（130mg）を加えた。混合物を室温まで攪拌下放冷後、室温で7日間攪拌した。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥して、(5-{1-[(6-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（化合物A）のニトシル酸塩（300mg）を結晶として得た。この結晶の粉末X線回折データを後記表12に示す。

[0070] 実施例2

[5-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル]{4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（47mg）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（68μl）、アセトニトリル（1ml）及びDMF（1ml）の混合物に2-(クロロメチル)-5-メトキシピラジン（16mg）を加え、室温で5日間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、乾燥剤を除去後、減圧下溶媒を留去した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）により精製し、得られた油状物（化合物B；38mg）のアセトン（2ml）溶液にトシル酸一水和物（24mg）及び酢酸エチル（3ml）を加え、室温で終夜攪拌した。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥して、(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（化合物B）のニトシル酸塩（53mg）を固体として得た。また、上記と同様にして製造した化合物B（200mg）、アセトン（18ml）及びアセトニトリル（3ml）の混合物を80℃で攪拌した後、トシル酸一水和物（130mg）を加えた。混合物を室温まで攪拌下放冷後、室温で72時間攪拌した。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥して

、(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン（化合物B）のニトシル酸塩（300mg）を結晶として得た。この結晶の粉末X線回折データを後記表12に示す。

[0071] 実施例3

4-[(4-{[1-メチル-6-(ピペリジン-4-イル)-1H-インドール-2-イル]カルボニル}ピペラジン-1-イル)メチル]ベンゾニトリル（120mg）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（160 μ l）、アセトニトリル（1ml）の混合物に2-(クロロメチル)-5-エトキシピラジン（53mg）のアセトニトリル（500 μ l）溶液を加え、室温で終夜撹拌した。反応混合物の溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）及びDIOLシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル）により精製した。得られた固体（110mg）とアセトン（3ml）の混合物を80℃にて撹拌した後、トシル酸一水和物（68mg）を加えた。混合物を室温まで撹拌下放冷後、室温で終夜撹拌した。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥して、4-[(4-{[6-{1-[(5-エトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル]カルボニル}ピペラジン-1-イル)メチル]ベンゾニトリル（化合物C）のニトシル酸塩（130mg）を結晶として得た。この結晶の粉末X線回折データを後記表12に示す。

[0072] 実施例4

4-[(4-{[1-メチル-5-(ピペリジン-4-イル)-1H-インドール-2-イル]カルボニル}ピペラジン-1-イル)メチル]ベンゾニトリル（2.0g）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（2.7ml）、アセトニトリル（10ml）の混合物に2-(クロロメチル)-5-メトキシピラジン（760mg）のジクロロメタン（5ml）溶液を加え、室温で5日間撹拌した。反応混合物の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）およびアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル、次いでクロロホルム-メタノール）により精製し、アモルファス（1.4g）を得た。得られ

たアモルファス (1.2g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-酢酸エチル) により精製し、得られた固体 (760mg) とアセトン (100ml) の混合物を80℃で30分間加熱攪拌した後、トシル酸一水和物 (510mg) を加えた。混合物を室温まで攪拌下放冷後、室温で4時間攪拌した。生じた固体を濾取後、減圧下乾燥して、4-({4-[(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル (化合物D) のニトシル酸塩 (1.1g) を結晶として得た。この結晶の粉末X線回折データを後記表 1 2 に示す。

[0073] 製造例化合物及び実施例化合物の構造、及び物理化学的データを後記表 7 ~ 表 1 2 に示す。

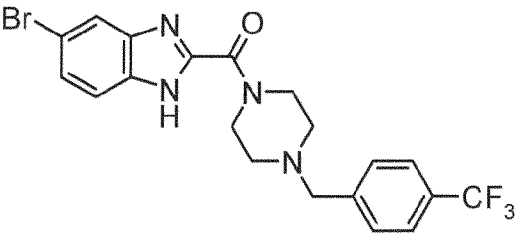
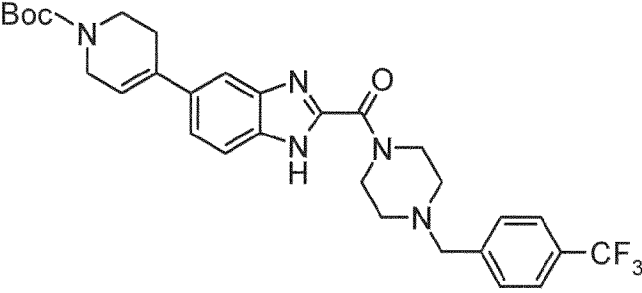
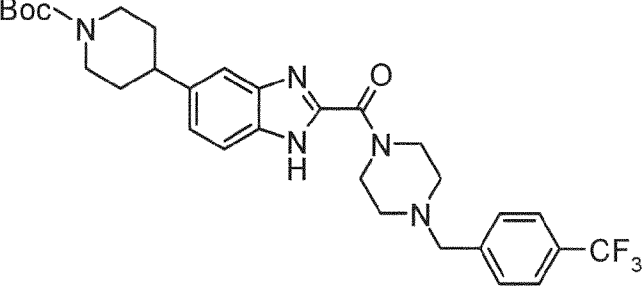
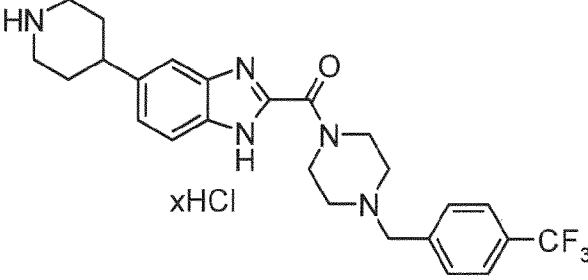
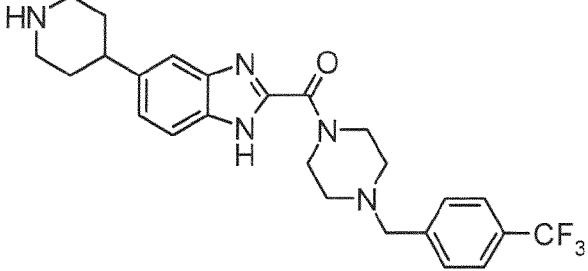
[0074] なお、後記表 7 ~ 表 1 2 中において、以下の略号を用いる。

Pre : 製造例番号、Ex : 実施例番号、Str : 化学構造式、Dat : 物理化学的データ、ESI+ : 質量分析におけるm/z値 (イオン化法ESI、断りのない場合[M+H]⁺)、ESI- : 質量分析におけるm/z値 (イオン化法ESI、断りのない場合[M-H]⁻)、APCI/ESI : APCI/ESI-MS (大気圧化学イオン化法APCI、APCI/ESIはAPCIとESIの同時測定を意味し、APCI/ESI+は[M+H]⁺)、NMR1 : CD₃OD中の¹H-NMRにおけるピークのδ (ppm)、NMR2 : DMSO-d₆中の¹H-NMRにおけるピークのδ (ppm)、Me : メチル、Et : エチル、Boc : tert-ブトキシカルボニル、及び2θ (°) : 粉末X線回折における回折角。

[0075] さらに、化学構造式中のxHClはその化合物が塩酸塩であるものの塩化水素とのモル比が未決定であること、2TsOHはその化合物がニトシル酸塩であることをそれぞれ示す。

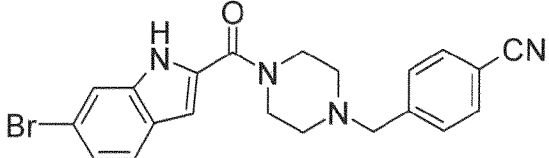
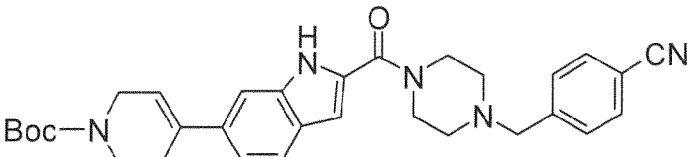
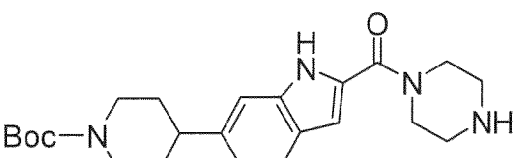
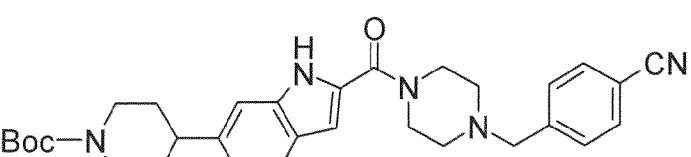
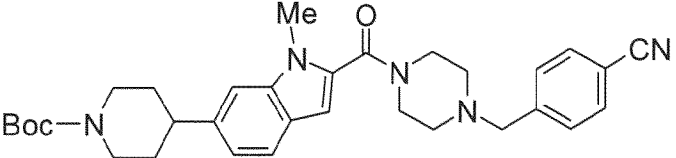
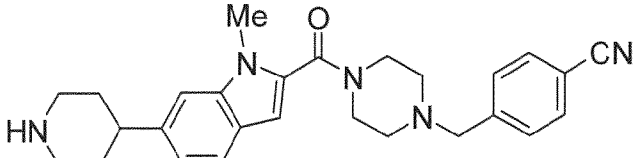
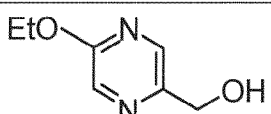
[0076]

[表7]

Pre	Str	Dat
1		ESI+: 467, 469
2		ESI+: 570
3		ESI+: 572
4		ESI+: 472
5		APCI/ESI+: 472

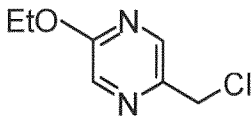
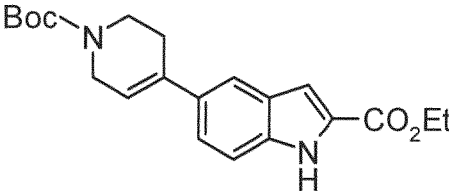
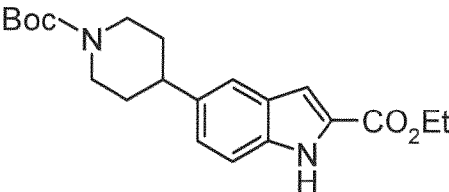
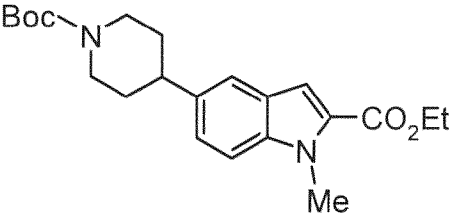
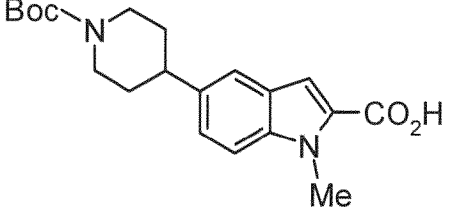
[0077]

[表8]

Pre	Str	Dat
6		ESI+: 423, 425
7		ESI+: 526
8		ESI-: 411
9		ESI-: 526
10		ESI+: 542
11		ESI+: 442
12		ESI+: 155

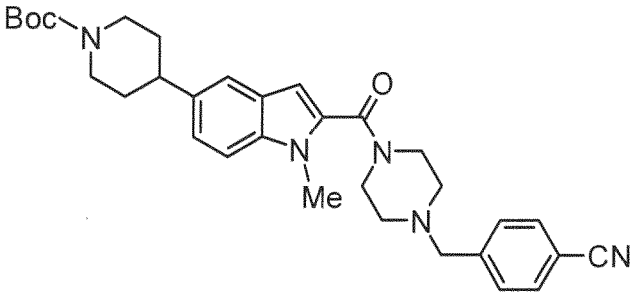
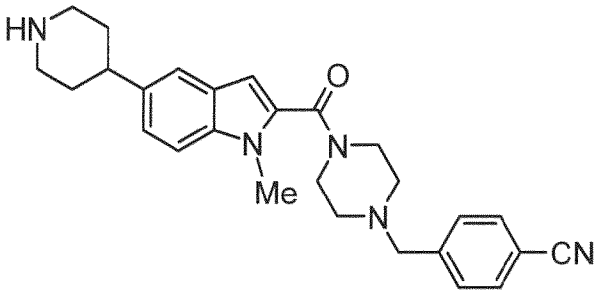
[0078]

[表9]

Pre	Str	Dat
13		ESI+: 173, 175
14		ESI-: 369
15		ESI+: 373
16		ESI+: 409 [M+Na] ⁺
17		ESI-: 357

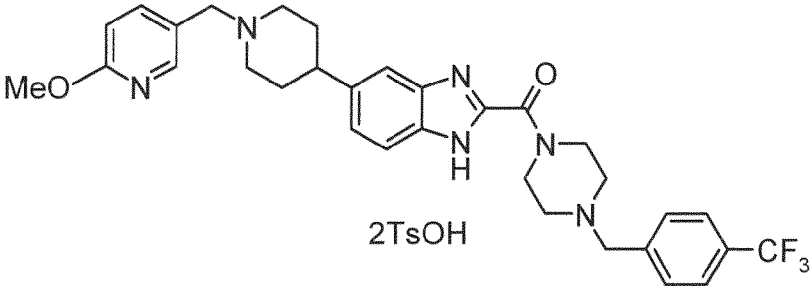
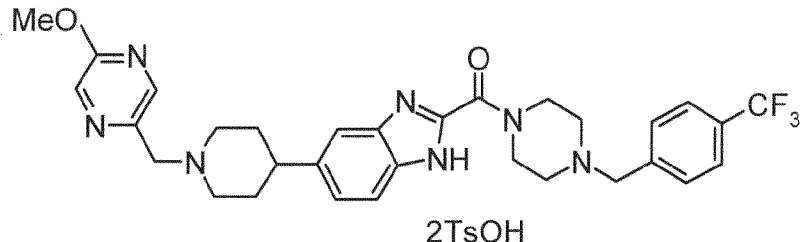
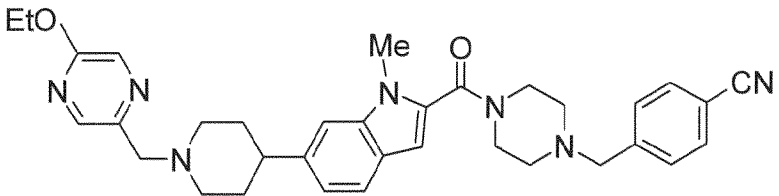
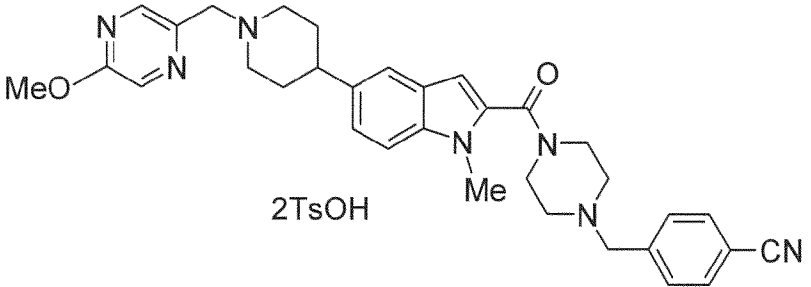
[0079]

[表10]

Pre	Str	Dat
18		ESI+: 542
19		ESI+: 442

[0080]

[表11]

Ex	Str
1	 2TsOH
2	 2TsOH
3	 2TsOH
4	 2TsOH

[0081]

[表12]

Ex	Dat
1	ESI+: 593; NMR1: 1.98-2.21 (4H, m), 2.38 (6H, s), 2.99-3.09 (1H, m), 3.12-3.27 (2H, m), 3.27-3.58 (8H, m), 3.59-3.68 (2H, m), 3.95 (3H, s), 4.36 (2H, s), 4.39-4.51 (2H, m), 6.86-6.92 (1H, m), 7.19-7.24 (4H, m), 7.25-7.30 (1H, m), 7.54-7.65 (2H, m), 7.68-7.83 (8H, m), 7.85 (1H, dd, J = 2.8, 8.4 Hz), 8.31 (1H, d, J = 2.0 Hz); $2\theta (^{\circ}) = 6.5, 10.1, 15.2, 16.2, 18.6, 19.6, 20.1, 20.8, 23.3, 25.8$
2	ESI+: 594; NMR1: 2.01-2.22 (4H, m), 2.35 (6H, s), 3.01-3.11 (1H, m), 3.20-3.80 (12H, m), 4.02 (3H, s), 4.47 (2H, s), 4.52 (2H, s), 7.18-7.25 (4H, m), 7.31 (1H, dd, J = 1.6, 8.6 Hz), 7.55-7.59 (1H, m), 7.64 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.67-7.73 (4H, m), 7.75-7.78 (2H, m), 7.78-7.84 (2H, m), 8.31-8.35 (2H, m); $2\theta (^{\circ}) = 6.2, 6.7, 13.3, 15.2, 16.4, 19.0, 20.5, 20.9, 22.6, 24.8$
3	ESI+: 578 NMR2: 1.38 (3H, t, J = 7.0 Hz), 1.89-2.10 (4H, m), 2.29 (6H, s), 2.88-3.00 (1H, m), 3.02-3.69 (12H, m), 3.76 (3H, s), 4.26-4.63 (4H, m), 4.41 (2H, q, J = 7.1 Hz), 6.61-6.79 (1H, m), 6.96-7.03 (1H, m), 7.06-7.14 (4H, m), 7.32 (1H, s), 7.44-7.51 (4H, m), 7.57 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.62-7.81 (2H, m), 7.85-8.10 (2H, m), 8.39 (1H, d, J = 1.2 Hz), 8.42 (1H, d, J = 1.2 Hz), 9.67-9.81 (1H, m), 9.89-10.16 (1H, m); $2\theta (^{\circ}) = 3.6, 7.2, 10.9, 16.1, 16.7, 17.2, 19.2, 20.9, 22.8, 26.6$
4	ESI+: 564 NMR2: 1.84-2.07 (4H, m), 2.29 (6H, s), 2.82-2.94 (1H, m), 3.08-3.68 (12H, m), 3.75 (3H, s), 3.97 (3H, s), 4.21-4.66 (4H, m), 6.57-6.80 (1H, m), 7.06-7.13 (4H, m), 7.12-7.19 (1H, m), 7.37-7.43 (1H, m), 7.44-7.54 (5H, m), 7.58-7.79 (2H, m), 7.84-8.10 (2H, m), 8.41 (1H, d, J = 1.2Hz), 8.46 (1H, d, J = 1.3Hz), 9.64-9.83 (1H, m), 9.87-10.16 (1H, m); $2\theta (^{\circ}) = 7.5, 9.8, 13.2, 14.7, 15.6, 16.9, 18.8, 19.5, 20.0, 22.6$

産業上の利用可能性

[0082] 本発明の医薬組成物の有効成分である、化合物A、化合物B、化合物C及

び化合物Dから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩は、ミトコンドリアComplex I阻害作用を有し、多発性骨髄腫の増殖抑制作用を有し、多発性骨髄腫治療用医薬組成物、ある態様としてPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫治療用医薬組成物の有効成分として使用できる可能性がある。

請求の範囲

- [請求項1] (5-{1-[(6-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン、
(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン、
4-({4-[(6-{1-[(5-エトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル、及び
4-({4-[(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリルから選択される化合物、又はその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する多発性骨髄腫の治療用医薬組成物。
- [請求項2] 多発性骨髄腫がPI3K/Akt/mTOR経路が亢進した多発性骨髄腫である、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項3] (5-{1-[(6-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン又はその製薬学的に許容される塩、及び製薬学的に許容される賦形剤を含有する請求項2に記載の医薬組成物。
- [請求項4] (5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン又はその製薬学的に許容される塩、及び製薬学的に許容される賦形剤を含有する請求項2に記載の医薬組成物。
- [請求項5] 4-({4-[(6-{1-[(5-エトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-

-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル又はその製薬学的に許容される塩、及び製薬学的に許容される賦形剤を含有する請求項2に記載の医薬組成物。

[請求項6] 4-({4-[(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル又はその製薬学的に許容される塩、及び製薬学的に許容される賦形剤を含有する請求項2に記載の医薬組成物。

[請求項7] (5-{1-[(6-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン ニトシル酸塩、及びその製薬学的に許容される賦形剤を含有する、請求項2に記載の医薬組成物。

[請求項8] (5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1H-ベンゾイミダゾール-2-イル){4-[4-(トリフルオロメチル)ベンジル]ピペラジン-1-イル}メタノン ニトシル酸塩、及びその製薬学的に許容される賦形剤を含有する、請求項2に記載の医薬組成物。

[請求項9] 4-({4-[(6-{1-[(5-エトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル ニトシル酸塩、及びその製薬学的に許容される賦形剤を含有する、請求項2に記載の医薬組成物。

[請求項10] 4-({4-[(5-{1-[(5-メトキシピラジン-2-イル)メチル]ピペリジン-4-イル}-1-メチル-1H-インドール-2-イル)カルボニル]ピペラジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル ニトシル酸塩、及びその製薬学的に許容される賦形剤を含有する、請求項2に記載の医薬組成物。

[請求項11] レナリドミドと併用されることを特徴とする、請求項1から10に記載の医薬組成物。