

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-514456

(P2005-514456A)

(43) 公表日 平成17年5月19日(2005.5.19)

| (51) Int. Cl. ⁷ | F I | テーマコード (参考) |
|----------------------------|-------------------|-----------------|
| C07C 323/52 | C O 7 C 323/52 | 4 C O 3 7 |
| A61K 31/192 | A 6 1 K 31/192 | 4 C O 8 6 |
| A61K 31/215 | A 6 1 K 31/215 | 4 C 2 0 4 |
| A61K 31/27 | A 6 1 K 31/27 | 4 C 2 0 6 |
| A61K 31/341 | A 6 1 K 31/341 | 4 H O 0 6 |
| | 審査請求 未請求 予備審査請求 有 | (全 34 頁) 最終頁に続く |

(21) 出願番号 特願2003-559979 (P2003-559979)
 (86) (22) 出願日 平成15年1月15日 (2003. 1. 15)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年9月14日 (2004. 9. 14)
 (86) 国際出願番号 PCT/IT2003/000011
 (87) 国際公開番号 W02003/059875
 (87) 国際公開日 平成15年7月24日 (2003. 7. 24)
 (31) 優先権主張番号 RM02A000014
 (32) 優先日 平成14年1月15日 (2002. 1. 15)
 (33) 優先権主張国 イタリア (IT)

(71) 出願人 591043248
 シグマータウ・インドゥストリエ・ファル
 マチュウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル
 ・アチオニ
 SIGMA-TAU INDUSTRIE
 FARMACEUTICHE RIUN
 ITE SOCIETA PER AZI
 ONI
 イタリア00144ローマ、ピアレ・シャ
 ケスベアレ47番
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子

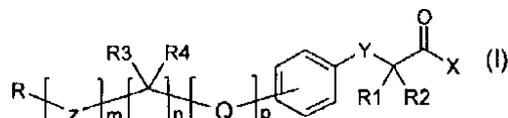
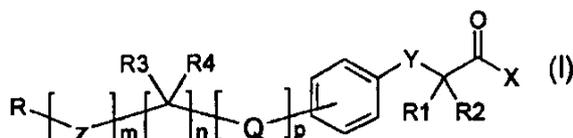
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 PPAR α 活性化に应答する疾患の治療に有用な α -フェニルチオカルボン酸および α -フェニルオキシカルボン酸の誘導体

(57) 【要約】

心不全、高脂血症およびアテローム性動脈硬化症などの、PPAR 活性化に应答する疾患の治療に有用な式 (I) の化合物 (その置換基の意味は明細書中に記載) が記載される。

【化1】

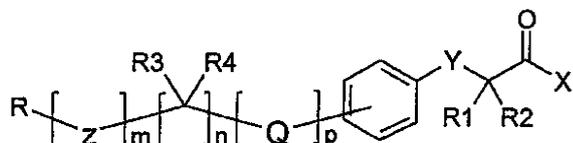


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の化合物 :

【化 1】



(I)

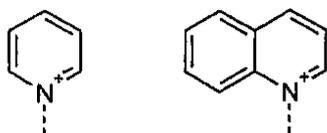
10

[式中 : R は、 - H、 - Y C R 5 R 6 C O X、単環式、二環式または三環式アリールあるいはヘテロアリール (ハロゲンによって置換されていてもよい、 - Y C R 5 R 6 C O X、ハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、およびアルコキシのタイプの基によって置換されていてもよい)、単環式、二環式または三環式アリールアルキルあるいはヘテロアリールアルキル (ここでアリールまたはヘテロアリールは、ハロゲンによって置換されていてもよい、 - Y C R 5 R 6 C O X、ハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル、およびアルコキシのタイプの基によって置換されていてもよい) ;

ヘテロアリールは以下のタイプの荷電したものであってもよい :

【化 2】

20



ここで正の荷電は、好適な負の対イオンによって平衡される ;

m は、0 - 1 を表す ;

n は、0 - 3 を表す ; n が 1 を表す場合、R 3 および R 4 は、同じであっても異なってもよく、H またはアルキル C₁ - C₅ から選択される ; n が 2 または 3 を表す場合、R 3 と R 4 はともに、H を表す ;

30

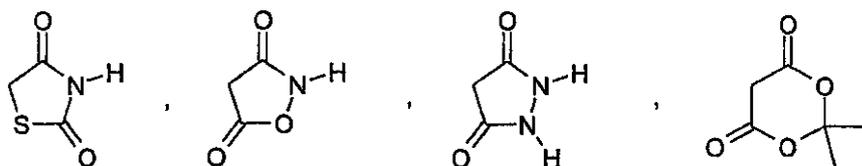
p は、0 - 1 を表す ;

X は、 - O H、 - O - アルキル C₁ - C₃ を表す ;

R 1 および R 2 は、同じであっても異なってもよく、以下から選択される : - H ; アルキル C₁ - C₅ ; ハロゲンによって置換されていてもよい - アルコキシ ; ハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキルによって置換されていてもよい - フェノキシ ; ハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキルによって置換されていてもよい - ベンジルオキシ ; - C O X ; あるいは一般式 (I) の C O X とともに以下のタイプの環を形成してもよい :

【化 3】

40



R 5 および R 6 は、同じであっても異なってもよく、R 1 および R 2 について挙げられた基から選択される ;

Q および Z、同じであっても異なってもよく、以下から選択される : N H、O、S、 - N H C (O) O -、N H C (O) N H -、 - N H C (O) S -、 - O C (O) N H -

50

、 - NHC(S)O - 、 - NHC(S)NH - 、 - C(O)NH - ;そして、
Yは、O、Sを表す]。

【請求項2】

医薬分野において使用するための請求項1の式(I)の化合物。

【請求項3】

活性成分として請求項1の式(I)の化合物を含み、少なくとも1つの医薬上許容される賦形剤および/または希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項4】

錠剤、カプセル剤、丸剤、サシェ、バイアル、散剤、坐薬、溶液、懸濁液、乳濁液またはリポソーム調製物の形態の、請求項3の組成物。

10

【請求項5】

経腸または非経口経路によって投与されうる請求項4の組成物。

【請求項6】

PPAR 活性化に応答する疾患の治療用医薬の調製のための請求項1の式(I)の化合物の使用。

【請求項7】

疾患が、心不全、高脂血症およびアテローム性動脈硬化症からなる群から選択される、請求項6の使用。

【発明の詳細な説明】

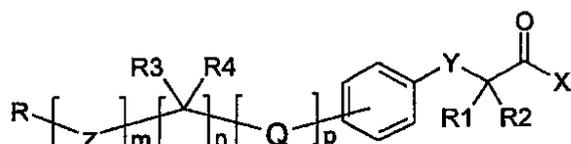
【技術分野】

20

【0001】

本明細書に記載する本発明は、一般式(I)の、PPAR (ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アルファ) 活性化に応答する疾患の治療に有用な - フェニルチオカルボン酸および - フェニルオキシカルボン酸の誘導体に関する：

【化1】



30

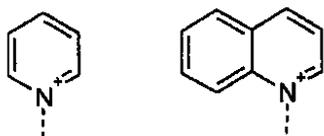
(I)

[式中：Rは、-H；-YCR₅R₆COX；1または複数のハロゲン基によって置換されていてもよい1または複数の-YCR₅R₆COXハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル基およびアルコキシによって置換されていてもよい単環式、二環式または三環式アリールあるいはヘテロアリール；単環式、二環式または三環式アリールアルキルまたはヘテロアリールアルキル（ここでアリールまたはヘテロアリールは、1または複数のハロゲン基によって置換されていてもよい1または複数の-YCR₅R₆COXハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル基およびアルコキシによって置換されていてもよい）；

ここでヘテロアリールは以下のタイプにて荷電されていてもよい：

40

【化2】



ここで正の荷電は、好適な負の対イオンによって平衡される；

mは、0 - 1を表す；

nは、0 - 3を表す；nが1の場合、R₃およびR₄は、同じであっても異なってもよく、HまたはアルキルC₁ - Cから選択される；nが2または3の場合、R₃とR₄

50

はともに H を表す；

p は、0 - 1 を表す；

X は、-OH、-O-アルキル $C_1 - C_3$ を表す；

R₁ および R₂ は、同じであっても異なってもよく、以下から選択される：

-H；1 または複数のハロゲン基によって置換されていてもよいアルキル $C_1 - C_5$ 、-アルコキシ；

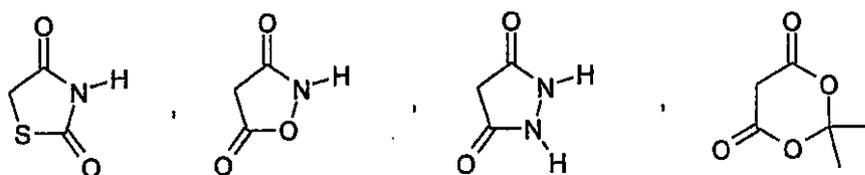
1 または複数のハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル基によって置換されていてもよい-フェノキシ、；

1 または複数のハロゲン、ニトロ、ヒドロキシ、アルキル基によって置換されていてもよい-ベンジルオキシ；

-COX；

あるいは R₁ または R₂ は一般式 (I) の COX とともに以下のタイプの環を形成してもよい：

【化 3】



10

20

R₅ および R₆ は、同じであっても異なってもよく、R₁ および R₂ について挙げられた基から選択される；

Q および Z は、同じであっても異なってもよく、以下から選択される：NH、O、S、-NHC(O)O-、NHC(O)NH-、-NHC(O)S-、-OC(O)NH-、-NHC(S)O-、-NHC(S)NH-、-C(O)NH-；そして、

Y は、O、S を表す】。

【0002】

本明細書に記載する本発明において PPAR の活性化に応答する疾患は、心不全、高脂血症 (hyperlipaemias) およびアテローム性動脈硬化症である。

【背景技術】

30

【0003】

核内受容体スーパーファミリーのメンバーである PPAR は、遺伝子発現を調節するリガンドによって活性化される転写因子である。

【0004】

PPAR の様々なアイソフォームが同定されている：PPAR α 、PPAR β (と称されることもある) および PPAR γ (J. Med. Chem. 2000、43、527-550; Nature 2000、405、421-424)。

【0005】

PPAR はステロイドホルモン受容体の大きなファミリーに属する (Kersten et al.、Nature 2000、405 : 421-424)。

40

【0006】

この受容体は最初は、フィブリック酸 (fibric acid) の誘導体などのペルオキシソーム増殖因子に応答する脂肪酸酸化酵素をコードする遺伝子の制御に基づいて同定された (Issemann and Green、Nature 1990、347 : 645-650)。

【0007】

Leone らは、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999、96 : 7473-7478 において、組織において PPAR γ によって発揮される脂肪酸の重要な役割を確認した。

【0008】

心不全は能力障害および突然死の主要な原因である。それは様々な組織の代謝要求に合う十分な量の血液を心臓が拍出できないことによる。

50

【0009】

この症状は、心臓の電気的および機械的機能の制御系における深刻な変化を伴う。観察される生化学的および神経ホルモンの異常は代償できない心臓の変化した血行力学状態への適応機構を構成し、該状態は主に心拍出量の低下、末梢抵抗の上昇および機能不全の心臓における血流の保持、そしてその結果の心房拡張および逆行性代償不全によって特徴づけられる。

【0010】

心不全の発症、発達および進展に関する生理病理的機構には未だに解明されていない部分がある。

【0011】

P P A R 活性化に応答する疾患の治療に有用な化合物は既に知られている。

10

【0012】

Gen. Pharmacol. 1995 Sep; 26 (5): 897-904には、エトモキシルが心臓の機能に有益な効果を有することおよび P P A R が関与していることが報告されている。

【0013】

Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids; 1999 May-Jun; 60 (5-6): 339-43には、エトモキシルおよび P P A R が脂質代謝の制御に関与していることが報告されている。

【0014】

Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2000 Apr; 278 (4): F667-75には、エトモキシルが P P A R 活性化因子であり、この活性化によって脂肪酸酸化の制御が誘導されることが報告されている。

20

【0015】

Circulation 1997,96 : 3681-3686、および Br. J. Pharmacol. 1999、126: 501-507には、エトモキシルが肥大および心不全の動物モデルにおける心筋機能の向上に有効であることが報告されている。

【0016】

Clin. Sci. (Colch) 2000; Jul. ; 99 (1) : 27-35には、エトモキシルでの治療後に心不全患者の心臓機能が向上したことが報告されている。

【0017】

Curr. Opin. Lipidol. 1999,10 : 245-247には、フィブラートが、P P A R を活性化することにより、脂肪酸酸化を刺激し、血管壁の炎症を阻害し、アテローム性動脈硬化症から保護することが報告されている。

30

【0018】

国際特許出願第 W O 9 8 / 0 5 3 3 1 号には、フィブラートが、P P A R を活性化することにより、高血圧、冠動脈障害および糖尿病に起因するアテローム性現象に対して保護作用を有することが報告されている。

【0019】

しかし今日まで P P A R を活性化することができ、心臓の代償不全の治療に有用な化合物はほんのわずかしが存在しなかった。

40

【0020】

したがってこの医学分野において、この病状の治療用の特異的な新規薬剤の必要性が強く認識されるようになっている。

【0021】

上記の公知の化合物には欠点がないわけではない。

【0022】

実際のところ、Therapie 1991 Sep-Oct; 46 (5): 351-4には、フィブラートによって皮膚反応、出血、腭炎および神経系障害などのいくつかの副作用がもたらされることが報告されている。

【0023】

50

Current Pharmaceutical Design、1998; 4; 1-15には、エトモキシルは心筋肥大を引き起こし、心筋梗塞の危険性を増加させるということが報告されている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0024】

それゆえ、上記病状の治療活性を有するが、上記の公知化合物の欠点を示さない、新規なPPAR活性化因子の必要性が強く認識されるようになっている。

【課題を解決するための手段】

【0025】

このたび、驚くべきことに、式(I)の化合物がPPAR活性化因子であり、PPARの活性化に応答する疾患の治療に有用であることが見いだされた。

【0026】

PPARの活性化に応答する疾患には、先に説明したように、心不全、高脂血症およびアテローム性動脈硬化症が含まれる。

【0027】

本明細書に記載する本発明の目的は、式(I)の化合物および医薬分野におけるその使用にある。

【0028】

本明細書に記載する本発明のさらなる目的は、活性成分として式(I)の化合物を含み、少なくとも1つの医薬上許容される賦形剤および/または希釈剤を含む医薬組成物にある。

【0029】

本明細書に記載する本発明のさらなる目的は、PPAR活性化に応答する疾患の治療用医薬の調製のための式(I)の化合物の使用にあり、かかる疾患の例はこれらに限定されないが、心不全、高脂血症およびアテローム性動脈硬化症である。

【0030】

以下の実施例においてさらに詳細に本発明を説明する。

【0031】

一般合成方法

以下の図式は、式(I)の化合物の合成に使用される方法を説明するものである。

【0032】

特に断りのない限り、様々な記号の意味は一般式(I)において示したものと同一である。方法Aに記載される加水分解工程はその他の方法にも適用できる。

【0033】

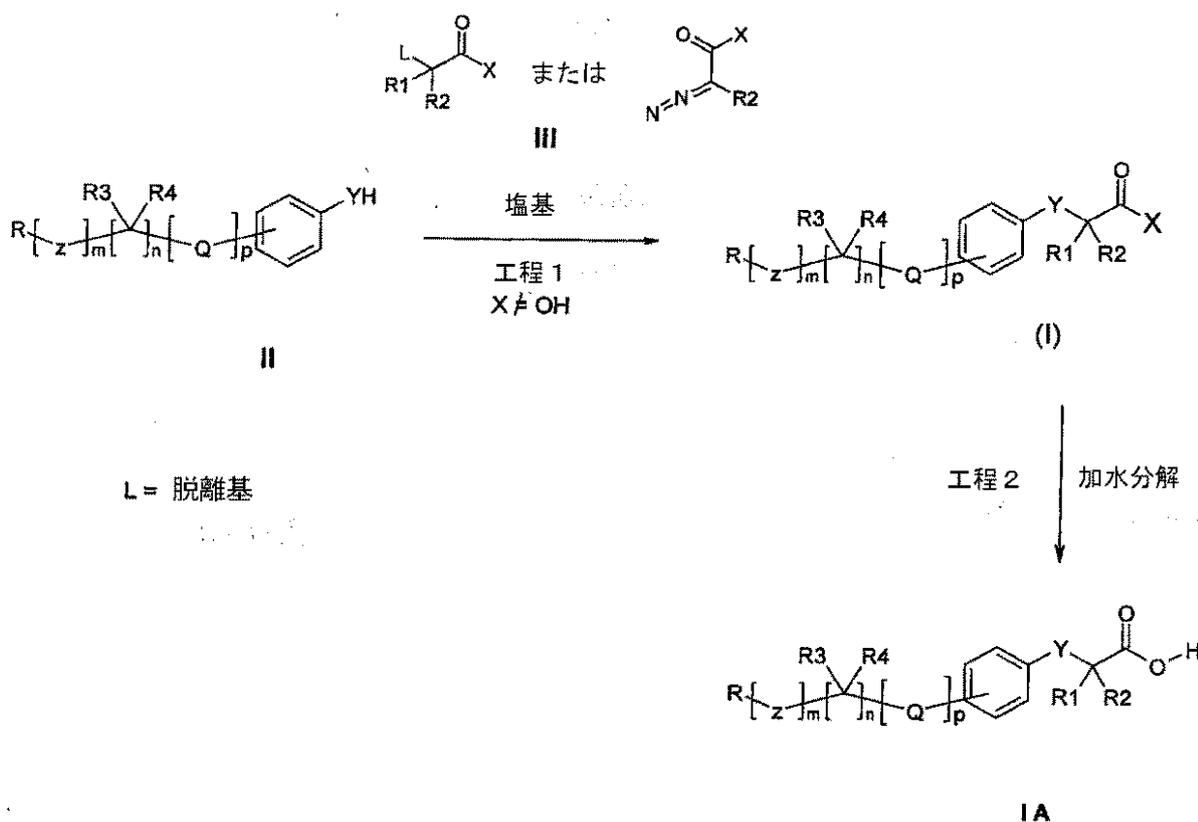
10

20

30

【化 4】

方法 A



10

20

【0034】

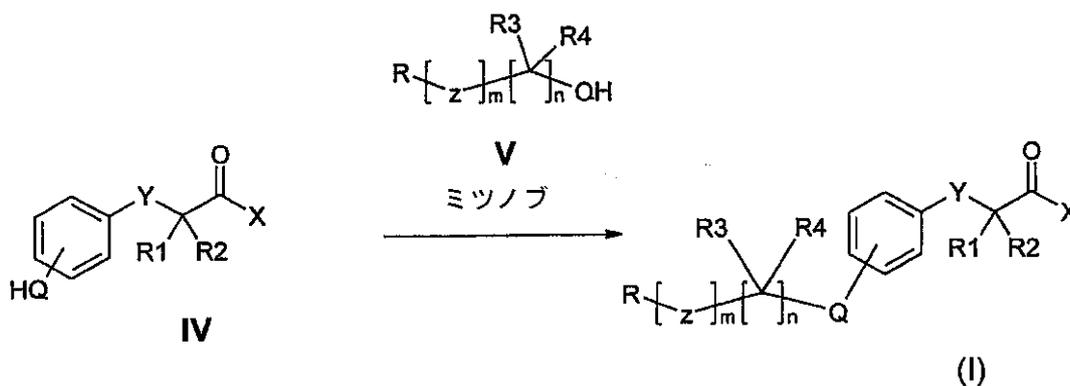
一般式 (I) の化合物の調製は、一般式 II の化合物と塩基、好ましくは無機塩基、好ましくは水素化ナトリウムと反応させて、対応するアニオンを形成し、このアニオンと脱離基（例えば、塩素、臭素、ヨウ素、メシル、トシルおよびジアゾなど（ジアゾ基の場合、触媒として無機塩基の代わりに二価酢酸ロジウムダイマーを用いる））を含む一般式 II の化合物、例えば 2 - メチル - アルファ - プロモイソ - ブチラートを極性溶媒（例えば、アセトニトリル、トルエンまたは好ましくはジメチルホルムアミド）中で、18 から 48 時間、10 ~ 50、好ましくは 25 で反応させることにより達成された。得られた生成物を、例えば NaOH、または HCl / 酢酸の混合物を用いる、10 ~ 100、好ましくは 25 での、1 ~ 72 時間、好ましくは 3 時間の塩基または酸加水分解にかけ、対応する酸 IA を得た。

30

【0035】

【化5】

方法B



10

Q = O, S

X ≠ OH

【0036】

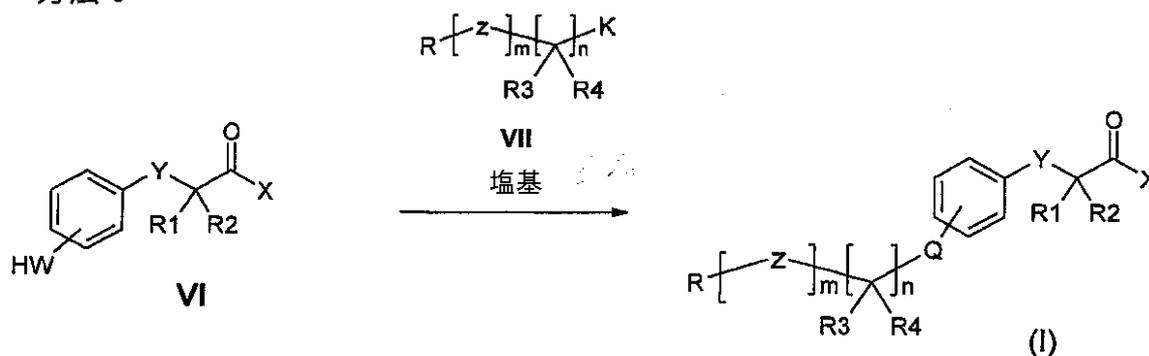
一般式 (I) の化合物の調製は、一般構造 IV の化合物から開始し、これを一般構造 V のアルコールと、Synthesis 1981, 1-28 に記載のような Mitsunobu 反応の常套の条件下で、無水および非プロトン性溶媒 (例えば、ベンゼン、トルエン、エーテルまたは好ましくはテトラヒドロフラン) を用い、30分~72時間、好ましくは48時間、10~40℃、好ましくは25℃で反応させることによって達成された。

20

【0037】

【化6】

方法C



30

W = O, NH, S

K = -NCS, -NCO, -OC(O)Cl, -COOH

Q ≠ N, O, S

40

【0038】

この方法によって調製される化合物は、非プロトン性溶媒 (例えばトルエン、エーテル、ベンゼン、しかし好ましくはテトラヒドロフラン) に溶解した一般構造 VI から開始して、これに関連するイソシアナート、チオイソシアナートまたはクロロホルミアート VII を、無機または有機塩基、好ましくはトリエチルアミンを触媒量または化学量論量添加し、混合物を6~72時間、好ましくは48時間、10~40℃、好ましくは25℃で反応させて得た。KがCOOHの場合、縮合剤 (例えば、ジエチルホスホロ-シアニデート、EEDQ、DCCまたはCDIなど) を基質に対して1-3当量、好ましくは1-1.5当量の比で用いるか、あるいは酸の塩化物の形成を介して有機溶媒 (例えばDMF、C

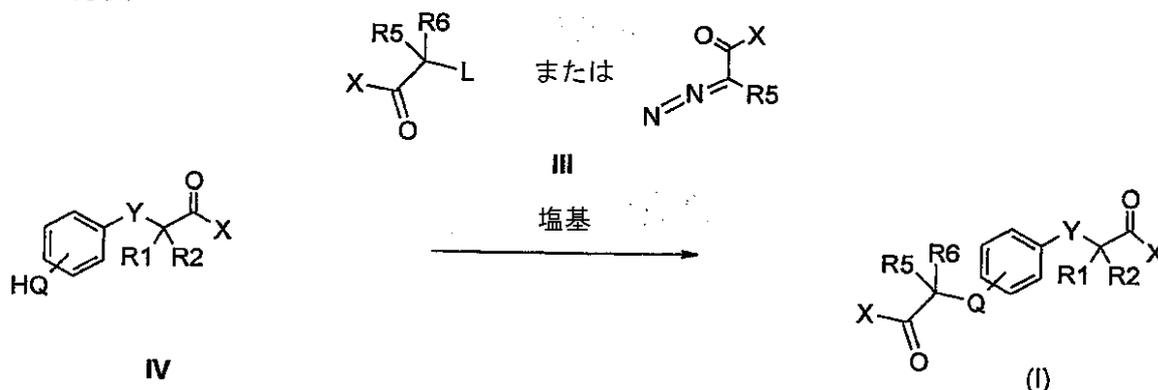
50

H₃CN、CHCl₃、THFなど)中で、20~80、好ましくは25、18時間~3日間、好ましくは24時間、縮合反応を行う。

【0039】

【化7】

方法D



10

Q = O, S

XはOHではない

L = 脱離基

20

【0040】

一般式(I)の化合物(mおよびnは0であり、YおよびQはOおよび/またはS)の調製は、例えば、Tetrahedron、1990、46(3)、967-978に記載の方法に従って、生成物I Vから開始し、これを脱離基(例えば、塩素、臭素、ヨウ素、メシル、トシルおよびジアゾ(ジアゾ基の場合、二価の酢酸ロジウムダイマーを無機塩基の代わりに触媒として用いる))を含む一般式IIIの化合物、例えば、2-メチル-アルファ-プロモイソブチラートとを、塩基(例えば炭酸カリウム)および相間移動触媒(例えば、テトラブチルアンモニウムブロミド(TBAB))の存在下でトルエンなどの非プロトン性溶媒中、25 30 から選択した溶媒の還流温度で1~5日間、好ましくは2日間反応させることにより達成された。

30

【実施例1】

【0041】

メチル2-(4-ヒドロキシフェニルチオ)イソブチラート(ST1923)の調製
方法A工程1

10mLの無水CH₃CN中の4-メルカプトフェノール(0.500g、4.0mmol)に、NaH80%(0.144g、4.8mmol)を添加した。混合物を0に冷却し、メチル- -プロモイソブチラート(0.724g、4.0mmol)を5分後に添加した。反応物をマグネティックスターラーで攪拌しながら2日間室温で放置した。その後、反応混合物をH₂Oに注ぎ酢酸エチルで抽出した；水相を酸性にし、酢酸エチルで再び抽出した。プールした有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、ろ過および蒸発させた。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてCHCl₃を用いた。0.760gの生成物が得られた(収率：84%)；Mp(融点)：110-112；TLC：シリカゲル、溶離液CHCl₃、Fr(前部比(frontal ratio))：0.11；¹H NMR(CDCl₃、300MHz) 7.30(d、2H)、6.73(d、2H)、5.57(brm、1H)、3.70(s、3H)、1.45(s、6H)；HPLC：カラム：対称-C₁₈、(5μm)4.6x250mm、R.T.(室温)、移動相CH₃CN/H₂O50/50(v/v)、pH：不変、流速：0.75mL/分、205nmUV検出器、保持時間10.14分；E.A.(元素分析)により 50

40

50

確認：C₁₁H₁₄O₃S

【実施例 2】

【0042】

2 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) イソ酪酸 (ST1981) の調製

方法 A 工程 2

メチル 2 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチレート (ST1923) (0.200 g、0.88 mmol) に、2.7 mL の酢酸および 2.7 mL の 37% 塩酸を添加し、こうして得られた混合物を一晩還流下でマグネティックスターラーで攪拌しながら還流して放置した。溶液を水に注ぎ、水相を酢酸エチルで抽出した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥させ、ろ過および蒸発させた。0.161 g の生成物が得られた (収率：87%) ; Mp (融点) 152 - 154 ; TLC : シリカゲル、溶離液 CHCl₃ / CH₃OH 9 / 1、Fr : 0.38 ; ¹H NMR (DMSO、300 MHz) 7.23 (d、2H)、6.72 (d、2H)、3.30 (br m、2H)、1.30 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナーティシル (Inertisil) ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / KH₂PO₄ 50 mM 40 / 60 (v / v)、pH : 不変、流速 : 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 7.39 分 ; KF : 0.5% H₂O ; E.A. により確認 : C₁₀H₁₂O₃S

10

【実施例 3】

【0043】

メチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチレート (ST2047) の調製

生成物を方法 A (工程 1) に記載のようにして、0 の 40 mL の無水 CH₃CN、80% NaH (0.572 g、19.1 mmol) 中の 3 - メルカプトフェノール (2.000 g、15.9 mmol) から開始して調製した。5 分後、メチル - 2 - プロモイソブチレート (2.88 g、15.9 mmol) を懸濁液に添加した。このようにして得た反応混合物を一晩マグネティックスターラーで攪拌しながら室温で放置した。その後、反応混合物を H₂O に注ぎ、酢酸エチルで抽出した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過および蒸発させた。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液として CHCl₃ / CH₃OH 98 / 2 を用いた。2.900 g の生成物が得られた (収率：81%) ; Mp : 41.5 - 42.5 ; TLC : シリカゲル、溶離液 CHCl₃ / CH₃OH 98 / 2、Fr : 0.23 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.19 (t、1H)、7.00 (d、1H)、6.95 (br t、1H)、6.81 (dd、1H)、3.69 (s、3H)、1.50 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナーティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 50 / 50 (v / v)、pH : 不変、流速 : 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 13.82 分 ; KF : 0.3% H₂O ; E.A. により確認 : C₁₁H₁₄O₃S

20

30

【実施例 4】

【0044】

メチル 2 - [4 - [2 - (4 - クロロフェニル) エトキシ] フェニル - チオ] イソブチレート (ST1929) の調製

方法 B

20 mL の無水 THF 中のメチル 2 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチレート (ST1923、実施例 1 に記載のようにして調製) (0.800 g、3.54 mmol) および 4 - クロロフェニルアルコール (0.554 g、3.54 mmol) に、DEAD (0.801 g、4.6 mmol) およびトリフェニルホスフィン (1.205 g、4.6 mmol) を、温度を 30 以下に保持しながら少しずつ添加した。反応混合物を室温で一晩マグネティックスターラーで攪拌しながら放置した。その後、溶媒を蒸発させ残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン / 酢酸エチル 9 / 1 を用いた。0.416 g の油状生成物が得られた (収率：32%) ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン / 酢酸エチル 9 / 1、Fr : 0.32 ; ¹H NMR (CD

40

50

C1₃、300 MHz) 7.40 - 7.19 (m、6H)、6.80 (d、2H)、4.15 (t、2H)、3.65 (s、3H)、3.08 (t、2H) 1.45 (s、6H); HPLC: カラム: 対称 - C₁₈、(5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN/H₂O 70/30 (v/v)、pH: 不変、流速: 0.75 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 31.40 分; KF: 0.4% H₂O; E.A. により確認: C₁₉H₂₁ClO₃S

【実施例 5】

【0045】

メチル 2 - [4 - [2 - (1 - インドリル) エトキシ] フェニル - チオ] イソブチラート (ST1983) の調製

10

中間体生成物 1 - (2 - ヒドロキシ - エチル) インドールの調製

J. Med. Chem. 1998、41/10、1619-1639に報告されている中間体生成物をそこに記載されている手順に従って調製した。ただし、反応時間は30分ではなく30時間とし、50 mlの無水DMSO中のインドール(5.0 g、42.7 mmol)、KOH(3.6 g、64.1 mmol)およびプロモエタノール(6.4 g、51.3 mmol)から開始し、温度25 - 30 として、5 gの油状生成物(収率: 73%)を得た。

【0046】

メチル 2 - [4 - [2 - (1 - インドリル) エトキシ] フェニルチオ] イソブチラート (ST1983) の調製

生成物を方法 B に記載の方法に従って調製した。メチル 2 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST1923、実施例 1 に記載のように調製) (0.671 g、2.97 mmol) から開始し、15 mL の無水 THF 中の 1 - (2 - ヒドロキシエチル) インドール (0.478 g、2.97 mmol)、DEAD (0.672 g、3.86 mmol) およびトリフェニルホスフィン (1.011 g、3.86 mmol) を少しずつ 30 以下に保持しながら添加した。反応混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながら 48 時間室温で放置した。その後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。ヘキサン/酢酸エチル 8/2 を溶離液として用いた。全部で 0.500 g の純粋でない生成物が得られ、これを酢酸エチルに溶解し、NaOH の 1 N 溶液で洗浄した。有機相を乾燥させ、蒸発させて 0.230 g の残渣を得、これをさらにシリカゲルクロマトグラフィーで精製した。溶離液として CHCl₃ を用いた。0.184 g の油状生成物が得られた (収率: 17%); TLC: シリカゲル、溶離液ヘキサン/酢酸エチル 8/2、Fr: 0.29; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.62 (d、1H)、7.40 - 7.10 (m、6H)、6.78 (d、2H)、6.50 (d、1H)、4.50 (m、2H)、4.24 (m、2H)、3.61 (s、3H) 1.40 (s、6H); HPLC: カラム: 対称 - C₁₈、(3.5 μm) 4.6 x 75 mm、R.T.、移動相 CH₃CN/H₂O 60/40 (v/v)、pH: 不変、流速: 0.90 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 10.70 分; KF: 1.7% H₂O; E.A. により確認: C₂₁H₂₃NO₃S

20

30

【実施例 6】

【0047】

40

メチル 2 - [4 - [2 - (2 - ナフチル) エトキシ] フェニル - チオ] イソブチラート (ST2011) の調製

生成物を方法 B に記載のようにして調製した。メチル 2 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST1923、実施例 1 に記載のように調製) (1.000 g、4.42 mmol) から出発し、30 mL の無水 THF 中で、2 - (2 - ナフチル) エタノール (0.760 g、4.42 mmol)、DEAD (1.000 g、5.75 mmol) およびトリフェニルホスフィン (1.500 g、5.75 mmol) を少しずつ 30 以下に保持しながら添加した。反応混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後、溶媒を蒸発させ残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/酢酸エチル 9/1 を用いた。1.262 g の生成物

50

が得られた (収率: 75%) ; Mp : 56 - 57 ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン / 酢酸エチル 9 / 1、Fr : 0.23 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.85 - 7.70 (m、4H)、7.45 - 7.28 (m、5H)、6.83 (d、2H)、4.27 (t、2H)、3.65 (s、3H)、3.26 (t、2H) 1.45 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナーティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 80 / 20 (v/v)、pH : 不変、流速 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 23.51 分 ; KF : 0.16% H₂O ; E.A. により確認 : C₂₃H₂₄O₃S

【実施例 7】

【0048】

2 - [4 - [2 - (2 - ナフチル) エトキシ] フェニルチオ] イソ - 酪酸 (ST 2036) の調製

30 mL のメタノール中の ST 2011 (実施例 6 に記載のように調製) (0.489 g、1.29 mmol) の溶液に、12.9 mL の NaOH 1 N を添加した。このようにして得られた溶液を還流しながら一晩放置した。その後、溶液を冷却し、水で希釈し、酸性にし、水相を酢酸エチルで抽出した。有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてクロロホルムを用いた。0.360 g の生成物が得られた (収率 : 76, 2%) ; Mp : 103 - 104 ; TLC : シリカゲル、溶離液 CHCl₃ / CH₃OH 98 / 2、Fr : 0, 13 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.80 (m、3H)、7.70 (s、1H)、7.50 - 7.38 (m、5H)、6.83 (d、2H)、4.26 (t、2H)、3.35 (t、2H) 1.48 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナーティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / KH₂PO₄ 75 / 25 (v/v)、pH : 不変、流速 : 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 13.07 分 ; KF : 1% H₂O ; E.A. により確認 : C₂₂H₂₂O₃S

【実施例 8】

【0049】

メチル 2 - [4 - [[(4 - メトキシベンジル) カルバモイル] オキシ] フェニルチオ] イソブチラート (ST 2031) の調製

方法 C

10 mL の無水 THF 中の ST 1923 (0.482 g、2.13 mmol) (実施例 1 に記載のように調製) に、p - メトキシベンジルイソシアナート (0.417 g、2.56 mmol) および 0.010 g のトリエチルアミンを添加した。溶液をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で 48 時間放置した。その後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液として CHCl₃ / CH₃OH 98 / 2 を用いた。0.410 g の生成物が得られた (収率 : 50%) ; Mp : 64 - 65 ; TLC : シリカゲル、溶離液 CHCl₃、Fr : 0, 14 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.44 (d、2H)、7.28 (d、2H)、7.10 (d、2H)、6.90 (d、2H)、5.29 (br m、1H)、4.39 (d、2H)、3.80 (s、3H)、3.65 (s、3H) 1.48 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナーティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 70 / 30 (v/v)、pH : 不変、流速 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 11.22 分 ; E.A. により確認 : C₂₀H₂₃NO₅S

【実施例 9】

【0050】

メチル 2 - [3 - [[(4 - メトキシ - ベンジル) カルバモイル] オキシ] フェニルチオ] イソブチラート (ST 2139) の調製

生成物を方法 C に記載の手順に従って調製した。7 mL の無水 THF、p - メトキシベンジルイソシアナート (0.207 g、1.27 mmol) および 0.010 g のトリエ

10

20

30

40

50

チルアミン中のST2047(実施例3に記載のように調製)(0.240g、1.06 mmol)から開始し、溶液を18時間室温で攪拌しながら放置した。その後、0.086g(0.53 mmol)のp-メトキシベンジルイソシアナートを添加し、混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながらさらに6時間室温で放置した。溶媒を蒸発させて乾燥させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/酢酸エチル7/3を用いた。0.320gの生成物が得られこれをさらにNa₂CO₃で洗浄することにより精製した。0.200gの油状生成物が得られた(収率48%) ; TLC:シリカゲル、溶離液ヘキサン/酢酸エチル7/3、Fr:0.37; ¹H NMR(CDC1₃、300 MHz) 7.35-7.18(m、6H)、6.90(d、2H)、5.25(br m、1H)、4.40(d、2H)、3.80(s、3H)、3.62(s、3H) 1.50(s、6H); HPLC:カラム:イナートイシルODS-3(5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相CH₃CN/H₂O 50/50(v/v)、pH:不変、流速:0.75 mL/分、205 nm UV検出器、保持時間47.02分; E.A.により確認:C₂₀H₂₃NO₅S

10

【実施例10】

【0051】

メチル2-[4-(2メトキシ-1,1-ジメチル2-オキソエトキシ)フェニルチオ]イソブチラート(ST1982)の調製

方法D

15 mLの無水トルエン中のメチル2-(4-ヒドロキシフェニルチオ)イソブチラート(ST1923、実施例1に記載のように調製)(0.250g、1.11 mmol)に、K₂CO₃(0.306g、2.22 mmol)およびテトラブチルアンモニウムブROMID(TBAB)(0.0193g、0.06 mmol)を添加した;混合物を100に加熱し、5分後、メチル2-プロモイソブチラート(0.803g、4.44 mmol)を添加した。反応混合物を2日間還流して放置した(油浴温度130)。ついで混合物をろ過し固体をトルエンで洗浄した。プールの有機相を乾燥させ、油状残渣を酢酸エチルで溶解し、NaOH 1Nで洗浄した。有機溶媒の蒸発後に得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/酢酸エチル9/1を用いた。0.145gの油状生成物が得られた(収率:40%); TLC:シリカゲル、溶離液ヘキサン/酢酸エチル9/1、Fr:0.17; ¹H NMR(CDC1₃、300 MHz) 7.31(d、2H)、6.74(d、2H)、3.75(s、3H)、3.65(s、3H) 1.60(s、6H) 1.45(s、6H); HPLC:カラム:対称-C₁₈、(3.5 μm) 4.6 x 75 mm、R.T.、移動相CH₃CN/H₂O 50/50(v/v)、pH:不変、流速:0.75 mL/分、205 nm UV検出器、保持時間13.00分; E.A.により確認:C₁₆H₂₂O₅S

20

30

【実施例11】

【0052】

メチル2-[3-[2-(3-ヒドロキシ-フェノキシ)エトキシ]フェノキシ]イソブチラート(ST1877)およびメチル2-[3-[2-[3-(2メトキシ1,1-ジメチル-2-オキソエトキシ)フェノキシ]エトキシ]フェノキシ]イソブチラート(ST1878)の調製

40

生成物を方法Dに記載の手順に従って調製した。100 mLのトルエン中の3,3-エチレンジオキシドフェノール(2.000g、8.1 mmol)、K₂CO₃(4.500g、32.4 mmol)、TBAB(0.131g、0.4 mmol)およびメチル-2-プロモイソブチラート(11.611g、64 mmol)から開始した。反応混合物を130に3日間加熱し、次いで冷却およびろ過した。得られた固体をトルエンで洗浄し、プールの有機相を減圧下で蒸発させて乾燥させ、油状残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/酢酸エチル8/2を用いた。2つの生成物が得られた:モノ誘導体ST1877(0.700g)(収率:25%)およびビス誘導体ST1878(1.100g)(収率:30.4%)

50

【0053】

ST1877の分析データ

融点：77 - 79 ; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.13 (t, 2H)、6.62 - 6.40 (m, 6H)、4.25 (s, 4H)、3.78 (s, 3H) 1.60 (s, 6H); HPLC: カラム、イナートシルODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.; 移動相 CH₃CN/H₂O (60/40 v/v)、pH: 3.2、流速: 1.0 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間: 8.76 分; E.A. により確認: C₁₉H₂₂O₆

【0054】

ST1878の分析データ

融点: 60 - 62 ; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.13 (t, 2H)、6.60 (d, 2H)、6.41 (m, 4H)、4.26 (s, 4H)、3.78 (s, 6H) 1.60 (s, 12H); HPLC: カラム、イナートシルODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN/H₂O (60/40 v/v)、pH: 3.2、流速: 1.0 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間: 23.92 分; E.A. により確認: C₂₄H₃₀O₈

10

【実施例12】

【0055】

ジメチル2-[4-[1-(4-ヒドロキシフェニル)1-メチル-エチル]フェノキシ]マロネート(ST2020)の調製

20

生成物を以下の手順に従って方法A工程1に記載のように調製した: 100 mLの無水トルエン中の二価の酢酸ロジウムダイマー(0.220 g、0.5 mmol)とビスフェノールA(2,2-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-プロパン)(3.400 g、15 mmol)の懸濁液に、窒素流下で50 mLの無水トルエン中のジアゾマロネート(2.846 g、18 mmol)(Org. Synth.: 1973, V, 179に記載のように調製)の溶液を滴下し、温度を15から20 に保つように注意した。反応混合物を窒素下で24時間120 - 130 で還流した。その後、反応混合物をろ過しトルエンを減圧下で蒸発させた。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/酢酸エチル8/2を用いた。1.700 gの油状生成物が得られた(収率: 32%); TLC: シリカゲル、溶離液ヘキサン/酢酸エチル7/3、Fr. 0.23; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.16 (m, 4H)、6.90 (d, 2H)、6.87 (d, 2H)、5.12 (s, 1H)、3.90 (s, 6H) 1.62 (s, 6H); HPLC: カラム: イナートシルODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN/H₂O 70/30 (v/v)、pH: 不変、流速: 0.75 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 7.00 分; KF: 0.6% H₂O; E.A. により確認: C₂₀H₂₂O₆

30

【実施例13】

【0056】

ジメチル2-[4-(1-{4-[2-メトキシ-1-(メトキシカルボニル)-2-オキシエトキシ]フェニル}-1-メチルエチル)フェノキシ]マロネート(ST2048)の調製

40

生成物を実施例12に記載の手順に従って方法A工程1に記載のように調製した。36 mLの無水トルエン中の二価の酢酸ロジウムダイマー(0.0885 g、0.2 mmol)とST2020(1.230 g、3.4 mmol)(実施例12に記載のように調製)から開始し、これに18 mLの無水トルエン中のジアゾマロネート(1.882 g、11.9 mmol)を滴下し、温度を15から20 に保つように注意した。反応混合物を窒素下で24時間120 - 130 で還流した。その後、反応混合物をろ過し、トルエンを減圧下で蒸発させた。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/酢酸エチル8/2を用いた。0.430 gの油状生成物が得られた(収率: 26%); TLC: シリカゲル、溶離液ヘキサン/酢酸エチル6/4、Fr:

50

0.46; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.20 (d, 4H), 6.90 (d, 4H), 5.22 (s, 2H), 3.90 (s, 12H) 1.61 (s, 6H); HPLC: カラム: イナティシル ODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm, R.T., 移動相 CH₃CN/H₂O 70/30 (v/v), pH: 不変、流速: 0.75 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 9.68 分; KF: 0.7% H₂O; E.A. により確認: C₂₅H₂₈O₁₀

【実施例 14】

【0057】

メチル 2 - [3 - [2 - (2 - ナフチル) エトキシ] フェニル - チオ] イソブチラート (ST 2167) の調製

生成物を方法 B に記載の手順に従って調製した (ただし、DEAD の代わりに DIAD を用いた)。20 mL の無水 THF 中のメチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST 2047) (1.110 g, 4.9 mmol)、2 - (2 - ナフチル) エタノール (0.842 g, 4.9 mmol)、DIAD (1.290 g, 6.37 mmol)、およびトリフェニルホスフィン (1.670 g, 6.37 mmol) から開始した。反応混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後、溶媒を減圧下でのぞき、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン / 酢酸エチル 7 / 3 を用いた。生成物をさらに、酢酸エチルに溶解し、有機相を Na₂CO₃ 溶液で洗浄することによって精製した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、溶媒を減圧下で蒸発させた。1.14 g の生成物が得られた (収率: 61.2%); TLC: シリカゲル、溶離液ヘキサン / 酢酸エチル 9 / 1, Fr: 0.20; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.80 (m, 3H), 7.75 (s, 1H), 7.45 (m, 3H), 7.25 (t, 1H), 7.05 (m, 2H), 6.90 (d, 1H), 4.25 (t, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.30 (t, 2H) 1.50 (s, 6H); HPLC: カラム: イナティシル ODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm, R.T., 移動相 CH₃CN/H₂O 80/20 (v/v), pH: 不変、流速: 0.9 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 18.91 分; KF: 1.0% H₂O; E.A. により確認: C₂₃H₂₄O₃S

【実施例 15】

【0058】

メチル 2 - [3 - [[4 - (トリフルオロ - メチル) フェニル] カルバモイル] オキシ] フェニルチオ] イソブチラート (ST 2208) の調製

生成物を方法 C に記載の手順に従って調製した。10 mL の無水 THF、4 - トリフルオロメチルイソシアナート (0.749 g, 4.25 mmol) および 0.010 g のトリエチルアミン中の ST 2047 (0.800 g, 3.54 mmol) (実施例 3 に記載のように調製) から開始した; 反応時間は 48 時間ではなく 18 時間とし、室温で行った。溶媒を蒸発させて乾燥させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液として CHCl₃ および CHCl₃ / MeOH 98 / 2 を用いた。0.881 g の生成物が得られた (収率 = 60%); Mp = 66 - 67; TLC: シリカゲル、溶離液 CHCl₃, Fr: 0.38; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.60 (m, 4H), 7.38 (m, 3H), 7.15 (m, 1H), 7.06 (brs, 1H), 3.70 (s, 3H) 1.55 (s, 6H); HPLC: カラム: イナティシル ODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm, R.T., 移動相 CH₃CN / KH₂PO₄ 50 mM (60 / 40 v/v), pH: 3.0 (H₃PO₄ 85%), 流速: 1 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 25.46 分; KF: 2.5% H₂O; E.A. により確認: C₁₉H₁₈F₃NO₄S

【実施例 16】

【0059】

メチル 2 - [4 - [[4 - (トリフルオロ - メチル) フェニル] カルバモイル] オキシ] フェニルチオ] イソブチラート (ST 2209) の調製

標題の化合物を方法 C に記載の手順に従って調製した。7 mL の無水 THF、4 - トリフルオロメチルイソシアナート (0.298 g、1.6 mmol) および 0.010 g のトリエチルアミン中の ST1923 (0.300 g、1.33 mmol) (実施例 1 に記載のように調製) から開始した; 反応時間を 48 時間ではなく 18 時間とし、室温で行った。溶媒を蒸発させて乾燥させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/AcOEt 7/3 を用いた。0.340 g の生成物が得られた (収率: = 62%) ; Mp = 110 - 111 ; TLC : シリカゲル、溶離液 CHCl₃、Fr : 0.34 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.55 (m、4H)、7.48 (d、2H)、7.15 (d、2H)、7.10 (br s、1H)、3.70 (s、3H) 1.55 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / KH₂PO₄ 50 mM (60 / 40 v / v)、pH : 3.0 (H₃PO₄ 85%)、流速 : 1 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 25.60 分 ; E.A. により確認 : C₁₉H₁₈F₃NO₄S

10

【実施例 17】

【0060】

メチル 2 - [3 - [2 - (4 - クロロフェニル) エトキシ] フェニル - チオ] イソブチラート (ST 2195) の調製

標題の化合物を方法 B に記載の手順に従って調製した。15 mL の無水 THF 中のメチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST 2047、実施例 3 に記載のように調製) (1.00 g、4.42 mmol) および 4 - クロロフェネチルアルコール (0.692 g、4.42 mmol) から開始し、これに少しずつ DIAD (1.16 g、5.75 mmol) および トリフェニルホスフィン (1.500 g、5.75 mmol) を温度を 30 以下に保持しながら添加した。反応物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/AcOEt 9/1 を用いた。1.146 g の油状生成物が得られた (収率 : 71%) ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン/AcOEt 9/1、Fr : 0.28 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.25 (m、6H)、7.00 (m、1H)、6.90 (d、1H)、4.15 (t、2H)、3.65 (s、3H)、3.08 (t、2H) 1.55 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 80 / 20 (v / v)、pH : 不変、流速 : 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 19.34 分 ; KF : 1.7% H₂O ; E.A. により確認 : C₁₉H₂₁ClO₃S

20

30

【実施例 18】

【0061】

メチル 2 - [3 - [2 - (1 - インドリル) エトキシ] フェニル - チオ] イソブチラート (ST 2394) の調製

標題の化合物を方法 B に記載の手順に従って調製した。20 mL の無水 THF 中のメチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST 2047、実施例 3 に記載のように調製) (1.00 g、4.42 mmol)、および 1 - (2 - ヒドロキシエチル) インドール (実施例 5 に記載のように調製) (0.711 g、4.42 mmol) から開始し、これに少しずつ DIAD (1.16 g、5.75 mmol) および トリフェニルホスフィン (1.500 g、5.75 mmol) を添加し、温度を 30 以下に保った。反応物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後、溶媒を蒸発させて乾燥させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/AcOEt 8/2 を用いた。0.581 g の油状生成物が得られた (収率 : 35%) ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン/AcOEt 9/1、Fr : 0.22 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) : 7.62 (d、1H)、7.42 (d、1H)、7.30 - 6.80 (m、7H)、6.52 (d、1H)、4.55 (m、2H)、4.30 (m、2H)、3.61 (s、3H) 1.50 (s、6H) ; HPLC :

40

50

カラム：スペルコ(Supelco) - C₁₈ (5 μm) 4.6 x 150 mm、R.T.、移動相 CH₃CN/H₂O 70/30 (v/v)、pH：不変、流速：0.90 mL/分、205 nm UV 検出器、保持時間 6.36 分；E.A.により確認：C₂₁H₂₃NO₃S

【実施例 19】

【0062】

メチル 2 - [3 - [(1 - メチル - 1 メトキシカルボニル) エチルオキシ] フェニルチオ] イソブチレート (ST 2 4 1 8) の調製

標題の化合物を方法 D に記載の手順に従って調製した。100 mL のトルエン中の 2 - (3 - ヒドロキシフェニル - チオ) イソブチレート (ST 2 0 4 7 、実施例 3 に記載のように調製) (0.870 g 、 3.85 mmol) 、 K₂CO₃ (1.06 g 、 7.7 mmol) 、 TBAB (0.062 g 、 0.19 mmol) およびメチル 2 - プロモイソブチレート (2.8 g 、 15.4 mmol) から開始した。反応混合物を 130 に 3 日間加熱し、次いで冷却してろ過した。得られた固体をトルエンで洗浄し、プールした有機層を減圧下で蒸発させて乾燥させ、油状残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。ヘキサン/AcOEt 9 : 1 を溶離液として用いた。1.0 g の油状生成物を得た (収率 : 79%) ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン/AcOEt 9 / 1、Fr : 0.20 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) : 7.20 (m、1 H)、7.05 (d、1 H)、6.95 (s、1 H)、6.90 (d、1 H)、3.80 (s、3 H)、3.65 (s、3 H) 1.60 (s、6 H) 1.45 (s、6 H) ; HPLC : カラム : 対称 - C₁₈ (5 μm) 4.6 x 150 mm、R.T.、移動相 CH₃CN/H₂O 60 / 40 (v/v)、pH : 不変、流速 : 0.75 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 9.53 分 ; E.A. により確認 : C₁₆H₂₂O₅S

【実施例 20】

【0063】

2 - [4 - [2 - (4 - クロロフェニル) エトキシ] フェニルチオ] - 2 - メチルプロパン酸 (ST 2 5 0 5) の調製

標題の化合物を一般方法 A 工程 2 に記載の手順に従って調製した。36 mL のメタノール中の ST 1 9 2 9 (実施例 4 に記載のように調製) (0.572 g 、 1.57 mmol) 溶液から開始し、これに 15.7 mL の NaOH 1 N を添加した。このようにして得られた溶液を一晩還流した。その後、溶液を冷却し、水で希釈して酸性にし、水相を AcOEt で抽出した。有機相を減圧下で蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/AcOEt 7 / 3 を用いた。0.448 g の生成物が得られた (収率 : 81%) ; Mp = 87 - 88 ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン/AcOEt 6 / 4、Fr : 0.30 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) : 7.45 (d、2 H)、7.15 (m、4 H)、6.85 (d、2 H)、4.15 (t、2 H)、3.05 (t、2 H) 1.50 (s、6 H) ; HPLC : カラム : 対称 - C₁₈ (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / 酢酸アンモニウム 10 mM 45 / 55 (v/v)、pH : 不変、流速 : 0.70 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 4.73 分 ; E.A. により確認 : C₁₈H₁₉ClO₃S

【実施例 21】

【0064】

メチル 2 - [3 - [5 - (4 - ニトロフェニル) フルフリル - オキシ] フェニルチオ] イソブチレート (ST 2 5 0 1) の調製

標題の化合物を方法 B に記載の手順に従って調製した。23 mL の無水 THF 中のメチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチレート (ST 2 0 4 7 、実施例 3 に記載のように調製) (1.02 g 、 4.5 mmol) および 5 - (ニトロフェニル) フルフリルアルコール (0.986 g 、 4.5 mmol) から開始し、これに少しずつ DIAD (1.18 g 、 5.85 mmol) およびトリフェニルホスフィン (1.53 g 、 5.85 mmol) を添加し、温度を 30 以下に保った。反応物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマト

グラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/AcOEt 9.4/0.6を用いた。0.300 gの生成物が得られた(収率: 16%); Mp: 81 - 82 ; TLC: シリカゲル、溶離液ヘキサン/AcOEt 7/3、Fr: 0.45; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 8.25 (d、2H)、7.80 (d、2H)、7.30 (m、1H)、7.05 (m、1H)、7.03 (m、1H)、7.01 (m、1H)、6.90 (d、1H)、6.60 (d、1H)、5.10 (s、2H)、3.70 (s、3H) 1.50 (s、6H); HPLC: カラム: 対称-C₁₈ (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相CH₃CN/H₂O 85/15 (v/v)、pH: 不変、流速: 0.85 mL/分、205 nm UV検出器、保持時間6.24分; E.A.により確認: C₂₂H₂₁NO₆S

10

【実施例 22】

【0065】

2-[3-[2-(4-クロロフェニル)エトキシ]フェニルチオ]-2-メチルプロパン酸(ST2518)の調製

標題の化合物を一般方法A工程2に記載の手順に従って調製した。9 mLのメタノール中のST2195(実施例17に記載のように調製)(0.150 g、0.41 mmol)の溶液から開始し、これに4 mLのNaOH 1Nを添加した。このようにして得られた溶液をマグネティックスターラーで攪拌しながら48時間室温で放置し、その後、溶液を水で希釈し、酸性にし、水相をAcOEtで抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、ろ過し、溶媒を減圧下で蒸発させた。0.128 gの生成物が得られた(収率 = 88%); Mp: 105 - 106 ; TLC: シリカゲル、溶離液CHCl₃/CH₃OH 9.4/0.6、Fr: 0.42; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.45 (m、5H)、7.10 (m、2H)、6.80 (dd、1H)、4.15 (t、2H)、3.05 (t、2H) 1.50 (s、6H); HPLC: カラム: 対称-C₁₈ (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相CH₃CN/酢酸アンモニウム 10 mM 35/65 (v/v)、pH: 不変、流速: 0.80 mL/分、205 nm UV検出器、保持時間4.66分; E.A.により確認: C₁₈H₁₉ClO₃S

20

【実施例 23】

【0066】

メチル2-[4-(2-(2,4-ジクロロ-フェニル)エトキシ)フェニルチオ]イソブチレート(ST2531)の調製

30

標題の化合物を方法Bに記載の手順に従って調製した。3 mLの無水THF中に溶解したメチル2-(4-ヒドロキシフェニルチオ)イソブチレート(ST1923、実施例1に記載のように調製)(0.280 g、1.24 mmol)およびDIAD(0.325 g、1.61 mmol)から開始し、これを4 mLの無水THF中の2,4-ジクロロフェネチルアルコール(0.260 g、1.36 mmol)およびトリフェニルホスフィン(0.422 g、1.61 mmol)の溶液に0 で滴下した。反応混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン/AcOEt 9.6/0.4を用いた。0.346 gの生成物が得られた(収率: 70%); Mp: 73 - 74 ; TLC: シリカゲル、溶離液ヘキサン/AcOEt 9/1、Fr: 0.26; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.35 (m、3H)、7.22 (m、2H)、6.83 (d、2H)、4.18 (t、2H)、3.65 (s、3H)、3.20 (t、2H) 1.45 (s、6H); HPLC: カラム: イナティシルODS-3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相CH₃CN/H₂O 85/15 (v/v)、pH: 不変、流速: 1 mL/分、205 nm UV検出器、保持時間12.58分; KF: 0.4% H₂O; E.A.により確認: C₁₉H₂₀Cl₂O₃S

40

【実施例 24】

【0067】

メチル2-[3(2(2,4-ジクロロ-フェニル)エトキシ)フェニルチオ]イソブ

50

チラート (ST2534) の調製

標題の化合物を方法 B に記載の手順に従って調製した。3 mL の無水 THF に溶解したメチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST2047、実施例 3 に記載のように調製) (0.280 g、1.24 mmol) および DIAD (0.325 g、1.61 mmol) から開始し、これを 4 mL の無水 THF 中の 2, 4 - ジクロロフェネチルアルコール (0.260 g、1.36 mmol) およびトリフェニルホスフィン (0.422 g、1.61 mmol) の溶液に 0 で滴下した。反応物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で一晩放置した。その後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン / AcOEt 9 / 0.4 を用いた。0.327 g の油状生成物が得られた (収率: 66%) ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン / AcOEt 9 / 1、Fr : 0.34 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 7.40 (d、1H)、7.20 (m、3H)、7.00 (m、2H)、6.90 (dd、1H)、4.15 (t、2H)、3.65 (s、3H)、3.20 (t、2H) 1.45 (s、6H) ; HPLC : カラム : イナティシル ODS - 3 (5 μm) 4.6 x 250 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 90 / 10 (v/v)、pH : 不変、流速 : 0.8 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 12.40 分 ; KF : 0.2% H₂O ; E.A. により確認 : C₁₉H₂₀Cl₂O₃S

10

【実施例 25】

【0068】

メチル 2 - [3 - (2 - (カルバゾール - 9 - イル) エトキシ) フェニル - チオ] イソブチラート (ST2365) の調製

20

標題の化合物を方法 B に記載の手順に従って調製した。メチル 2 (3 - ヒドロキシフェニルチオ) イソブチラート (ST2047、実施例 3 に記載のように調製) (0.609 g、2.7 mmol)、9H - カルバゾール - 9 - エタノール (0.570 g、2.7 mmol)、DIAD (0.708 g、3.5 mmol)、およびトリフェニルホスフィン (0.917 g、3.5 mmol) から開始し、少しずつ、温度を 30 以下に保ちながら 14 mL の無水 THF に添加した。反応混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で 18 時間放置した。その後、溶媒を蒸発させて乾燥させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン / AcOEt 9 / 1 を用いた。0.510 g の生成物が得られた (収率: 45%) ; Mp : 101 - 103 ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン / AcOEt 8 / 2、Fr : 0.38 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 8.05 (d、2H)、7.50 (m、4H)、7.15 (m、2H)、7.08 (t、1H)、7.00 (d、1H)、6.90 (s、1H)、6.80 (m、1H)、4.75 (t、2H)、4.35 (t、2H)、3.60 (s、3H) 1.40 (s、6H) ; HPLC : カラム : 対称 - C₁₈、(5 μm) 4.6 x 150 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 65 / 35 (v/v)、pH : 不変、流速 : 0.80 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 11.45 分 ; E.A. により確認 : C₂₅H₂₅NO₃S

30

【実施例 26】

【0069】

メチル 2 - [4 - (2 - (カルバゾール - 9 - イル) エトキシ) フェニル - チオ] イソブチラート (ST2387) の調製

40

生成物を方法 B に記載の手順に従って調製した。メチル 2 - (3 - ヒドロキシフェニル - チオ) イソブチラート (ST1923、実施例 1 に記載のように調製) (0.609 g、2.7 mmol)、9H - カルバゾール - 9 - エタノール (0.570 g、2.7 mmol)、DIAD (0.708 g、3.5 mmol) から開始し、これに 14 mL の無水 THF 中のトリフェニルホスフィン (0.917 g、3.5 mmol) を温度を 30 以下に保ちながら少しずつ添加した。反応混合物をマグネティックスターラーで攪拌しながら室温で 18 時間放置した。その後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。溶離液としてヘキサン / AcOEt 9 / 1 を用いた。0.702

50

g の生成物が得られた (収率 : 62%) ; Mp = 72 - 74 ; TLC : シリカゲル、溶離液ヘキサン / AcOEt 8 / 2、Fr : 0.30 ; ¹H NMR (CDCl₃、300 MHz) 8.05 (d、2H)、7.50 (m、4H)、7.15 (m、4H)、6.75 (d、2H)、4.75 (t、2H)、4.35 (t、2H)、3.60 (s、3H) 1.40 (s、6H) ; HPLC : カラム : 対称 - C₁₈、(5 μm) 4.6 × 150 mm、R.T.、移動相 CH₃CN / H₂O 70 / 30 (v/v)、pH : 不変、流速 : 0.80 mL / 分、205 nm UV 検出器、保持時間 11.60 分 ; E.A. により確認 : C₂₅H₂₅NO₃S

【実施例 27】

【0070】

大動脈の狭窄

使用した動物は体重 100 - 120 g の雄性ウイスター系ラット (Wister rats) であり、ケージあたり 5 匹 (ケージサイズ : 425 mm × 266 mm × 180 mm、おがくずを散らしてある)、温度 21 ± 1 および湿度 50 ± 15%、明暗周期 12 / 12 時間、1 時間あたり 15 から 20 回換気しながら、飼育した。動物に LP ALTROMIN 飼料 (REIPER) および天然水を自由に与えた。

【0071】

心臓肥大の誘導

左心室肥大をネンブータル (ペントバルビタールナトリウム) で麻酔したラットに、横隔膜と腎分枝部の間の腹部大動脈に設置したクリップ (0.8 mm) によって腹部大動脈を狭窄することにより引き起こした ; 1 群の動物は対照群として用い、同じ手術を行ったがクリップは移植せず、したがって大動脈狭窄は起こさなかった (ブランク)。

【0072】

動物を以下の群に無作為に分けた :

ブランク : 大動脈狭窄せずに手術した (8 匹)

対照 : 大動脈狭窄して手術した (8 匹)

CLO : 大動脈狭窄して手術し、手術の翌日から 12 週間本明細書に記載の本発明の化合物で処理した (11 匹)。

【0073】

心臓機能の評価

処理後、ネンブータル (ペントバルビタールナトリウム) で麻酔した動物において、心臓機能の評価した。これは、頸動脈を介して左心室に挿入したポリエチレンカテーテルによって行い、カテーテルを圧力変換器 (Statham p23XL) と増幅器 (Biomedica Mangoni b m 61) に接続した。

【0074】

記録したパラメータは、心拍数、収縮期および拡張末期左心室内圧力、および心室内圧力の正負の導関数であり、これらは、パーソナルコンピュータに特別のデータ捕捉システム (IDAS) によって記録した。記録は 30 分間行った。

【0075】

巨視的評価

実験の最後に動物を致死量のネンブータルによって屠殺し、腹腔を開腹し、内臓を露出させて大動脈クリップが正しく配置されていたかを確認した ; 心臓、肺および肝臓を摘出し、可能性のある異常について巨視的に調べた後、十分乾燥させて計量した。

【0076】

この試験によって得られた予備的結果により、本明細書に記載の本発明の化合物は、良好に許容され、対照群と比較して、処理群においては圧力値が正常化していることが示された。

【実施例 28】

【0077】

PPAR リガンドのアゴニスト活性を評価するための真核細胞の一過性トランスフェ

10

20

30

40

50

クシオン

真核細胞におけるトランス活性化アッセイにより、推定リガンドが、転写因子とプロモーター内のその応答要素との相互作用を促進する能力の定量的評価が可能となる。

【0078】

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アイソフォームアルファ (P P A R) は、9 - シスレチノイン酸受容体 (R X R) とのヘテロダイマー化により標的遺伝子の転写を調節する。形成されたダイマーは、2つの受容体のうち少なくとも1つのリガンドの存在によって活性化された場合には、標的遺伝子プロモーターに位置するペルオキシソーム増殖因子応答要素 (P P R E) へ結合することができる。

【0079】

したがってトランス活性化アッセイには予め選択された細胞系において以下のものが同時に存在することが必要である：

- a) 十分な量の P P A R ；
- b) 十分な量の9シス - レチノイン酸受容体 (R X R) ；
- c) キメラプラスミド (これは異種のウイルスプロモーターの上流に位置する、P P R E によって制御されるレポーター遺伝子を含む。本願の場合、レポーター遺伝子はクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (C A T) である)。

【0080】

P P A R および R X R の内在レベルが不十分な場合は、それらをかかると受容体の遺伝子を含む発現ベクターによるトランスフェクションによって外部源から補充すればよい。

【0081】

プラスミド p C H 1 1 0 は、 - ガラクトシダーゼの遺伝子を含み、レポーター遺伝子 C A T とともに共トランスフェクションされ、それによってトランスフェクション効率および結果の標準化についての内部対照が与えられる。

【0082】

実験手順

サル腎臓線維芽細胞の細胞系 (C O S - 7) を用いた。細胞をレポーター遺伝子 (上記項目 c を参照) および P P A R 遺伝子のコード配列 (c D N A) を含む発現プラスミドでトランスフェクションした。細胞を様々な濃度の被験化合物に曝し、C A T 活性を評価した。未処理細胞を対照として用いた。C A T レベルの上昇は、P P R E への結合による P P A R 依存的遺伝子転写の活性 (化合物のアゴニスト活性) を示す。

【0083】

細胞培養

サル腎臓線維芽細胞 (C O S - 7) を通常の細胞培養技術に従って、37 °C で 5 % v / v 二酸化炭素雰囲気、培地として D M E M (ダルベッコ改変イーグル培地) (3 . 7 g / l の炭酸水素ナトリウム、4 m M の L - グルタミン、4 . 5 g / l のグルコース、1 m M のピルビン酸ナトリウムおよび 1 0 % v / v のウシ胎児血清により改変) を用い、ストレプトマイシン 1 0 0 μ g / m l とペニシリン 1 0 0 U / m l (終濃度) の存在下で培養した。

【0084】

C O S - 7 細胞の一過性トランスフェクション

C O S - 7 細胞を核酸とリン酸カルシウムの共沈技術によって一過性に共トランスフェクションした。

【0085】

細胞をトランスフェクションの24時間前に、6つのウェル (直径 25 m m) を有するプレートに 3 × 1 0 ⁵ 細胞 / ウェルの密度で播いた。培地をトランスフェクションの2時間前に交換し、各ウェルに 280 μ l の以下のように調製したトランスフェクション混合物を滴下した：

- 1) P P A R の c D N A を含む発現プラスミド (2 . 5 μ g)

10

20

30

40

50

2) レポーター遺伝子CATを含むプラスミド(5 µg)

3) pCH110(1 µg);

+ 17.5 µlの塩化カルシウム2M。

【0086】

水を最終容積140 µlとなるよう添加した。このプラスミドと塩の混合物に等量のHBS溶液2 x pH7.1(1lあたり、塩化ナトリウム16g、塩化カリウム0.74g、脱水塩基性リン酸ナトリウム0.27g、デキストロース2g、Hepes10g)を添加した。

【0087】

細胞を6時間、37 °Cで5% v/v二酸化炭素雰囲気インキュベートした。

10

【0088】

本明細書に記載の本発明の化合物および参照化合物、クロフィブラートおよび4-クロロ-6-(2,3キシリジノ)-2-ピリミジルチオ酢酸(WY-14,643)による処理を2mlの新鮮な培地中で24時間行った。未処理細胞を陰性対照として用いた。様々な処理が、レポーター遺伝子CATの転写に影響を与える能力を、放射測定により処理および非処理細胞からのタンパク質抽出物について評価した。

【0089】

細胞タンパク質抽出物の調製およびCAT活性のアッセイ

処理後、細胞をリン酸バッファー(5ml)で2回洗浄し、ウェルから機械的に除き、TENバッファー(トリス[ヒドロキシメチル]アミノメタン10mM pH8、エチレンジアミンテトラ酢酸1mM、pH8、塩化ナトリウム0.1M)に入れた。エッペンドルフ5417R遠心機(ローターF453011)中での4,2分間、1000回転/分(rpm)での遠心分離後、細胞を0.15mLのバッファー(トリス[ヒドロキシメチル]-アミノメタン-塩酸0.25M、pH8)に再懸濁し、凍結乾燥を繰り返すことにより溶解した(3回の5分サイクル)。

20

【0090】

不溶性細胞物質を4,15分、最速での遠心分離により除き、上清を回収し、CAT活性アッセイに用いた。

【0091】

CAT活性を測定するアッセイは以下からなる:

30

1) 50 µlのタンパク質細胞抽出物(65 °Cで10分加熱したもの)

2) 10 µlのn-ブチリル-コエンザイムA(3.5mg/ml)

3) 5 µlの[¹⁴C]クロラムフェニコール(0.25 µCi);

水によって最終容積を100 µlとした。

【0092】

37 °Cでのおよそ2時間のインキュベーションの後、反応を2容量のキシレン/2,6,10,14テトラメチル-ペンタデカン(1:2 v/v混合物)でブロックした。この溶媒での抽出後、150 µlの上相を5mlのシンチレーション液に添加し、ベータ・カウンター(シンチレーター)で分析し、酵素反応の結果生成した[¹⁴C]ブチリル-クロラムフェニコールの含量を測定した。

40

【0093】

- ガラクトシダーゼ活性測定試験

トランスフェクション効率についてCAT活性を標準化するための内部対照として、プラスミドpCH110に存在する対応する遺伝子によってコードされる - ガラクトシダーゼ活性を用いた。

【0094】

20 µlのタンパク質抽出物(上記参照)の、基質ONPG(O-ニトロフェニル-D-ガラクトピラノシド)2mg/mlに対する活性を「Zバッファー」(リン酸バッファー中、塩化カリウム10mM、塩化マグネシウム1mM、および -メルカプトエタノール50mM)の存在下で評価した。15-120分の37 °Cでのインキュベーション

50

後（典型的な黄色が現れる速度に応じた時間）、反応を 200 μ l の炭酸ナトリウム 1 M でブロックした。サンプルを 10 分間室温でインキュベートし、分光光度計で分析し、波長 420 nm での吸光度 (A_{420}) を測定した。

【0095】

以下の式を β -ガラクトシダーゼ活性についての CAT アッセイの結果の標準化に用いた：

$$\frac{\text{CAT サンプルカウント} / \text{分} - \text{ブランクサンプルカウント} / \text{分}}{\beta\text{-gal サンプル容積} (20 \mu\text{l})} \times \frac{\text{CAT サンプル容積} (50 \mu\text{l})}{\beta\text{-gal サンプル容積} (20 \mu\text{l})}$$

$$* \beta\text{-ガラクトシダーゼ活性ユニット} = \frac{A_{420} \times \text{希釈因子}}{\text{インキュベーション時間 (分)}}$$

10

【実施例 29】

【0096】

PPAR リガンドのアゴニスト活性を評価するための真核細胞の一過性トランスフェクション (II 方法)

DNA 上に受容体が位置する様式が異なり、リガンド結合現象が転写活性化にどのようにつながるかに依存する、別のトランス活性化システムを用いた。

【0097】

20

このモデルにおいて、真核細胞を酵母 Gal4 転写因子の DNA 結合ドメイン (DBD) と PPAR のリガンド結合ドメイン (LBD) の融合タンパク質 (Gal4 DBD / PPAR LBD) をコードする発現ベクターで一過性にトランスフェクションした。5 コピーの Gal4 に対する高アフィニティー結合部位 (UAS (upstream activating sequence) と称する) を、レポーター遺伝子クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) に連結する強力なウイルスプロモーターの上流に含むレポーターベクターを共トランスフェクションした。このモデルによってもたらされるいくつかの利点のうち、もっとも重要なことは、内在性受容体による干渉がないことである。

【0098】

発現およびレポーターベクターに加えて細胞を β -ガラクトシダーゼ酵素をコードする対照ベクター pCH110 でトランスフェクションし、トランスフェクション効率における相違を補正した。

30

【0099】

実験方法

サル腎臓線維芽細胞系 (COS-7) を用いた。細胞を遺伝子レポーターを含むプラスミド、融合タンパク質 Gal4 DBD / PPAR LBD をコードする発現プラスミドおよび対照ベクター pCH110 で共トランスフェクションした。細胞を様々な濃度の被験化合物で処理し CAT 活性を測定した。未処理細胞を対照として用いた。

【0100】

細胞培養

40

サル腎臓線維芽細胞 (COS-7) を常套方法により 3, 7 g / l 炭酸水素ナトリウム、4 mM L-グルタミン、4, 5 g / l グルコース、1 mM ピルビン酸ナトリウムおよび 10% v / v ウシ胎児血清を追加した DMEM (ダルベッコ改変イーグル培地) でストレプトマイシン 100 μ g / ml およびペニシリン 100 U / ml の存在下で培養した。

【0101】

COS-7 細胞の一過性トランスフェクション

COS-7 細胞を、トランスフェクションの際に DNA と複合体形成し、細胞へと輸送する多成分脂質ベース FuGENE 6 トランスフェクション試薬を用いて一過性にトランスフェクションした。細胞を 12-ウェルプレートに 1, 2 \times 10⁵ 細胞 / ウェルで播き

50

一晚37℃で5% v/v二酸化炭素雰囲気中で培養した。トランスフェクションの2時間前に培地を新鮮な無血清培地に交換し、トランスフェクションを製造業者の指示に従ってFuGENE 6トランスフェクション試薬によって行った。簡単に説明すると、トランスフェクション混合物(各ウェルにつき0.8 μgの発現ベクター、1.6 μgのレポーターベクター、0.8 μgの対照ベクターおよび9 μlのFuGENE 6トランスフェクション試薬を含有)を直接無血清培地の存在下で細胞に添加した。5時間後、トランスフェクション培地を、被験分子を3種類の濃度で(2、20および100 μM)含むかあるいは含まない1 mlの完全培地に交換した。2 μMの既知のPPAR リガンドであるWy-14,643を陽性対照として用いた。

【0102】

細胞タンパク質抽出物の調製およびCAT活性アッセイ

48時間後、細胞を1 mlのリン酸バッファー(PBS)で2回洗浄し、TENバッファー(トリス[ヒドロキシメチル]アミノメタン10 mM pH 8、エチレンジアミンテトラ酢酸1 mM、pH 8、塩化ナトリウム0.1 M)中に搔爬することによって収集した。室温で3分、1000回転/分(rpm)の遠心分離後、細胞を60 μlの溶解バッファー(0.25 M、トリス-HCl、pH 8)に再懸濁し、3回の迅速な凍結乾燥サイクルによって溶解した。細胞残骸を4、15分、15,000回転/分(rpm)での遠心分離(3×5分サイクル)によって除いた。グリセロール(終濃度10% v/v)およびβ-メルカプトエタノール(終濃度5 mM)を添加し(最終容積75 μl)、細胞抽出物を-80℃でアッセイまで保存した。

【0103】

CAT活性アッセイを以下のように行った: 20 μlの細胞溶解液(予め65℃で10分加熱し、内部脱アセチル酵素活性を不活化した)を10 μlの3.5 mg/mlのn-ブチリル-CoA、5 μl(0.25 μCi)の[¹⁴C]-クロラムフェニコールおよび65 μl蒸留水に添加し、37℃で2時間インキュベートした。反応を200 μlのキシレン/2, 6, 10, 14テトラメチル-ペンタデカン溶液(1:2 v/v混合物)を添加することによってブロックした。激しいボルテックスおよび最速での5分間の遠心分離の後、150 μlの上清を5 mlのシンチレーション液の存在下でシンチレーションバイアルに移し、比放射能をβ-カウンターにより測定した。

【0104】

- ガラクトシダーゼ活性の測定試験

- ガラクトシダーゼ活性を以下のように測定した: 20 μlの細胞抽出物を、750 μlの反応バッファーに添加した。反応バッファーは、1容積の2 mg/ml ONPGおよび3容積の「Zバッファー」(リン酸バッファー中、塩化カリウム10 mM、塩化マグネシウム1 mM、およびβ-メルカプトエタノール50 mM)からなる。反応を37℃で行い、典型的な黄色がみられるようになったら200 μlの1 M Na₂CO₃を添加することによりブロックした。サンプルを10分間、室温でインキュベートし、420 nmでの吸光度(A₄₂₀)を分光光度法により測定した。

【0105】

CAT活性の結果を以下のようにβ-ガラクトシダーゼ活性に対して標準化した:

$\frac{\text{CATサンプルカウント/分} - \text{ブランクサンプルカウント/分}}{\beta\text{-ガラクトシダーゼ活性ユニット}^*}$

$A_{420} \times \text{希釈因子}$

$\beta\text{-ガラクトシダーゼユニット}^* = \frac{A_{420} \times \text{希釈因子}}{\text{インキュベーション時間 (分)}}$

【0106】

得られた予備的結果を表1に報告するが、これは本発明による化合物がPPAR アゴニストであることを示す。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 7 】

【 表 1 】

| 化合物 | 2 μ M | 20 μ M | 100 μ M |
|-----------------|-----------|------------|-------------|
| 実施例 5 (ST1983) | 150% | 391,2% | 1372% |
| 実施例 14 (ST2167) | 98,1% | 360% | 462,7% |
| 実施例 24 (ST2534) | 113,1% | 284,9% | 421% |

10

【 0 1 0 8 】

結果を参照化合物 (W Y - 1 4 . 6 4 3 2 μ M) (1 0 0 % と見なす) の存在下で測定したものと比較した C A T レポーター遺伝子の活性化のパーセンテージとして表す。

【 実施例 30 】

20

【 0 1 0 9 】

d b / d b マウスにおける H D L - コレステロールレベルの上昇

この実験において P P A R 発現が正常値を超え (Memon et al., Endocrinology 2000、4021 - 4031)、H D L - コレステロールレベルが実質的に上昇している (Silver et al., J Biol Chem 1999、274: 4140 - 4146) d b / d b マウスを用いた。

【 0 1 1 0 】

C 5 7 B L / K s J d b / d b マウスを 1 週間標準条件下 (2 2 \pm 2 ; 5 5 \pm 1 5 % 湿度 ; 1 5 - 2 0 回換気 / 時間 ; 1 2 時間明暗周期 (明期午前 7 時から午後 7 時)) で標準 4 R F 2 1 飼料 (Mucedola) を与えて馴化させた。血液サンプルを吸収後条件 (午前 8 . 3 0 から午後 4 . 3 0 まで絶食) で尾側静脈から J e l c o 2 2 G カテーテル (Johnson and Johnson) によって採取した。グルコース、インシュリン、トリグリセリド、コレステロール、遊離脂肪酸および尿素レベルを処理群における均一に分布したマウスについて血漿において確認した。

30

【 0 1 1 1 】

処理の最初に動物の体重を確認し、その水および飼料の消費をモニターするために配列させた。

【 0 1 1 2 】

マウスを 1 日 2 回 (午前 8 . 3 0 および午後 6 . 3 0) 経口で 1 0 または 1 4 日間処理した。

【 0 1 1 3 】

40

実施例 4 に記載のようにして得た被験化合物 (S T 1 9 2 9) を 1 0 m l / k g の媒体 (脱イオン水中 T w e e n 8 0 0 . 5 % を含有する 1 % C M C) 中 2 4 m g / k g の用量で投与した。

【 0 1 1 4 】

その他の被験化合物も実施例 4 の化合物と匹敵する用量で投与した。

【 0 1 1 5 】

既知の P P A R アゴニストであるシプロフィブラート (Varanasi et al., J Biol Chem 1996、271: 2147 - 2155; Latruffe et al. Cell Biochem Biophys 2000、32 Spring: 213 - 220) を 2 0 m g / k g の用量で投与した (Dwivedi et al., Toxicol Pathol 1989、17: 16 - 26; Qi et al., Proc Natl Acad Sci USA 1999、96: 1585 - 1590) 。

50

【0116】

動物を吸収後条件下（午前9.30から午後4.30絶食）で最後の処理から7時間後に（断頭により）屠殺した。数々の重要な脂質および炭水化物代謝パラメータのレベルを血清において測定した。

【0117】

HDL-コレステロールレベルをカイロミクロン、超低密度および低密度リポタンパク質を除去するホスホタングステン酸・ベース・沈降剤（ABX Diagnostics）により血清を処理することにより測定し、上清におけるHDL-コレステロールレベルをコレステロールキット（ABX Diagnostics）およびCobas Mira S Autoanalyzer(Roche)を用いて測定した。

10

【0118】

結果は、db/dbマウスにおいて、本発明の化合物が、HDL-コレステロール値（PPAR α アゴニスト活性の指標）を参照化合物、シプロフィブラートと同様にあるいはそれ以上に上昇させることができることを示す（表2）。

【0119】

【表2】

db/db マウスにおけるHDL-コレステロールレベルの上昇

| 化合物 | 用量 mg/kg | 処理時間 (日) | HDL-コレステロールレベル の上昇 (%) |
|--------------------------|------------------------|-------------|------------------------------|
| シプロフィブラート | 20 | 14 | + 52 ▲ |
| 実施例 4 化合物 (ST1929) | 24 | 10 | + 80 ▲ |
| 実施例 8 化合物 (ST2031) | 24mgの ST1929に 相当 | 10 | + 51 ▲ |

20

30

【0120】

スチューデント t 検定：黒三角は対照に対し、 $P < 0.001$ を示す。

【0121】

本明細書に記載の本発明による式(I)の化合物は、そのまま、あるいは医薬上許容される誘導体の形態、例えば、塩または薬理動力学面を向上させつつ比活性を維持する誘導体（プロドラッグ）の形態で利用できる

40

【0122】

本明細書に記載の本発明の産業利用面については、医薬は、好適な医薬製剤（または組成物）の形態として当業者に周知の常套方法によって調製すればよい。医薬組成物の例としては、錠剤、カプセル剤、丸剤、坐薬、サシェ(sachet)、経口投与用の液体形態、例えば溶液、懸濁液および乳濁液が挙げられる；経口または経腸投与用の徐放形態も一般的である；また非経口投与形態、例えば注射用形態も挙げられる。

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International Application No. PCT/IT 03/00011 |
|--|--|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER | | |
| IPC 7 C07C323/52 C07D209/08 C07C69/712 C07D307/68 C07D209/86 A61K31/19 A61K31/215 A61P9/10 | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
| B. FIELDS SEARCHED | | |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07C C07D A61K A61P | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BEILSTEIN Data, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | P.J. BROWN, ET AL.: "A ureido-thiobutyric acid (GW9578) is a subtype-selective PPARalpha agonist with potent lipid-lowering activity" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 42, no. 19, 9 April 1999 (1999-04-09), pages 3785-3788, XP002128791 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US ISSN: 0022-2623 table 1 | 1-7 |
| X | DE 199 40 415 A (F. SPENER) 8 March 2001 (2001-03-08) column 2, line 65 - line 68; figure 2 ----- -/-- | 1-7 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document 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 25 August 2003 | | Date of mailing of the international search report 11/09/2003 |
| Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 051 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer English, R. |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/IT 03/00011

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|-----------------------|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | D.A. BROOKS, ET AL.: "Design and synthesis of 2-methyl-2-(4-(2-(5-methyl-2-aryloxazol-4-yl)ethoxy)phenoxy)propionic acids: a new class of dual PPAR α /gamma agonists" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 44, no. 13, 21 June 2001 (2001-06-21), pages 2061-2064, XP002184099 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US ISSN: 0022-2623 table 1, compounds 4-8 | 1-7 |
| X | GB 1 422 679 A (FUNAI PHARMACEUTICAL INDUSTRIES) 28 January 1976 (1976-01-28) page 1; examples 1,3-10,12-16,19; table 1 | 1-5 |
| X | D.J. ABRAHAM, ET AL.: "Design, synthesis, and testing of potential antisickling agents. 4. Structure-activity relationships of benzyloxy and phenoxy acids" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 27, no. 9, 1984, pages 967-978, XP002024764 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US ISSN: 0022-2623 compounds 44,51; table III, compound 610 | 1-5 |
| X | W.A. DENNY, ET AL.: "Potential antitumour agents. 36. Quantitative relationships between experimental antitumour activity, toxicity, and structure for the general class of 9-anilinoacridine antitumour agents" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 25, no. 3, March 1982 (1982-03), pages 276-315, XP0002250593 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US table I, compounds 615,616,719,721 | 1-5 |
| X | R.S. RANDAD, ET AL.: "Allosteric modifiers of haemoglobin. 1. Design, synthesis, testing, and structure-activity relationship of novel haemoglobin oxygen affinity decreasing agents" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 34, no. 2, February 1991 (1991-02), pages 752-757, XP0002250594 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US table I, compounds 2a,2b,3a-g,4a,4b,5a-j | 1-5 |

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| | |
|-----------------|-------------------------|
| Int | national Application No |
| PCT/IT 03/00011 | |

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | I. LALEZARI, ET AL.: "Synthesis and investigation of effects of 2-'4-'(aryl-amino)carbonylamino!phenoxy!-2-methyl-propionic acids" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 32, no. 10, October 1989 (1989-10), pages 2352-2357, XP0002250595 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US compounds 4,6; tables I,II | 1-5 |
| X | S.T. HAZELDINE, ET AL.: "Design, synthesis, and biological evaluation of analogues of the antitumour agent, 2{4-'(7-chloro-2-quinoxalinyloxy!-phenoxy)propionic acid (XK469)" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 44, no. 11, 28 April 2001 (2001-04-28), pages 1758-1776, XP0002250596 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US tables 1,3 | 1-5 |
| X | I. SIRCAR, ET AL.: "Phenylenebis(oxy)bis-'2,2-dimethylpentanoic acid!s: agents that elevate high-density lipoproteins" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 26, no. 7, 1983, pages 1020-1027, XP001064059 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US ISSN: 0022-2623 table III, compound 70 | 1 |
| X | W.D. CROW, ET AL.: "Synthetic applications of intramolecular insertion in arlycarbenes- and alkylthio-1-phenylethylidines" AUSTRALIAN JOURNAL OF CHEMISTRY, vol. 32, no. 1, 1979, pages 111-121, XP0008020680 MELBOURNE, AU ISSN: 0004-9425 compound 26; page 120, paragraphs (f)(i) and (ii) | 1 |
| P,A | EP 1 184 366 A (KYORIN SEIYAKU KK) 6 March 2002 (2002-03-06) the whole document | 1-7 |
| A | & WO 00 75103 A (KYORIN SEIYAKU) 14 December 2000 (2000-12-14) | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IT 03/00011**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: 1-5 (in part)
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

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.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/IT 03 00011

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-5 (in part)

The initial phase of the search revealed a very large number of documents relevant to the issue of novelty. So many documents were retrieved that it is impossible to determine which parts of the claims may be said to define subject-matter for which protection might legitimately be sought (Article 6 PCT).

For these reasons it appears impossible to execute a meaningful search and to issue a complete search report over the whole breadth of the claims. The search and the report for those claims can only be considered complete for the compounds prepared in examples 1-26 and their use in medical treatments of other than those responding to PPARalpha activation. The search and the report are, however, complete for the use of compounds of claim 1 for use in the treatment of diseases responding to PPARalpha activation and in the treatment of heart failure, hyperlipidaemias and atherosclerosis.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/IT 03/00011

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|---|------------------|-------------------------|------------------|
| DE 19940415 | A | 08-03-2001 | DE 19940415 A1 | 08-03-2001 |
| GB 1422679 | A | 28-01-1976 | JP 49086336 A | 19-08-1974 |
| | | | JP 52005493 B | 14-02-1977 |
| | | | JP 49086337 A | 19-08-1974 |
| | | | JP 52005494 B | 14-02-1977 |
| | | | JP 877212 C | 22-08-1977 |
| | | | JP 49072228 A | 12-07-1974 |
| | | | JP 52005492 B | 14-02-1977 |
| | | | CH 589589 A5 | 15-07-1977 |
| | | | DE 2356655 A1 | 22-05-1974 |
| | | | FR 2207120 A1 | 14-06-1974 |
| | | | NL 7315171 A | 20-05-1974 |
| | | | ES 420471 A1 | 01-04-1977 |
| EP 1184366 | A | 06-03-2002 | JP 2001055367 A | 27-02-2001 |
| | | | AU 5106700 A | 28-12-2000 |
| | | | BR 0011734 A | 05-03-2002 |
| | | | CA 2376094 A1 | 04-12-2000 |
| | | | EP 1184366 A1 | 06-03-2002 |
| | | | NO 20016001 A | 11-02-2002 |
| | | | NZ 515705 A | 28-02-2003 |
| | | | US 6506797 B1 | 14-01-2003 |
| | | | CN 1354742 T | 19-06-2002 |
| | | | HU 0201654 A2 | 28-09-2002 |
| | | | WO 0075103 A1 | 14-12-2000 |
| WO 0075103 | A | 14-12-2000 | JP 2001055367 A | 27-02-2001 |
| | | | AU 5106700 A | 28-12-2000 |
| | | | BR 0011734 A | 05-03-2002 |
| | | | CA 2376094 A1 | 04-12-2000 |
| | | | CN 1354742 T | 19-06-2002 |
| | | | EP 1184366 A1 | 06-03-2002 |
| | | | HU 0201654 A2 | 28-09-2002 |
| | | | WO 0075103 A1 | 14-12-2000 |
| | | | NO 20016001 A | 11-02-2002 |
| | | | NZ 515705 A | 28-02-2003 |
| | | | US 6506797 B1 | 14-01-2003 |

フロントページの続き

| (51) Int.Cl. ⁷ | F I | テーマコード(参考) |
|---------------------------|----------------|------------|
| A 6 1 K 31/403 | A 6 1 K 31/403 | |
| A 6 1 K 31/404 | A 6 1 K 31/404 | |
| A 6 1 P 3/06 | A 6 1 P 3/06 | |
| A 6 1 P 9/04 | A 6 1 P 9/04 | |
| A 6 1 P 9/10 | A 6 1 P 9/10 | |
| A 6 1 P 43/00 | A 6 1 P 43/00 | 1 1 1 |
| C 0 7 C 69/712 | C 0 7 C 69/712 | A |
| C 0 7 D 209/08 | C 0 7 D 209/08 | |
| C 0 7 D 209/86 | C 0 7 D 209/86 | |
| C 0 7 D 307/36 | C 0 7 D 307/36 | |

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

- (72) 発明者 ファビオ・ジャンネッシ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 ナタリナ・デッルオーモ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 エマヌエラ・タッソーニ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 マリア・オルネッラ・ティンティ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 アンナ・フロリアナ・シャローニ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 モニカ・バンデラ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 ボンペオ・ペッソット
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
- (72) 発明者 アルドゥイーノ・アルドゥイーニ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメートル 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内

F ターム(参考) 4C037 HA08

| | | | | | | | | | | |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 4C086 | AA01 | AA02 | AA03 | BA03 | BC12 | BC13 | MA01 | MA02 | MA03 | MA04 |
| | MA05 | MA52 | MA55 | NA14 | ZA36 | ZA45 | ZC33 | ZC41 | | |
| 4C204 | BB01 | BB09 | CB03 | CB25 | DB01 | EB01 | FB17 | GB01 | | |
| 4C206 | AA01 | AA02 | AA03 | DB29 | DB43 | HA24 | JA34 | MA01 | MA02 | MA03 |
| | MA04 | MA05 | MA72 | MA75 | NA14 | ZA36 | ZA45 | ZC33 | ZC41 | |

4H006 AA01 AA03 AB23 BJ50 BM30 BM72 BN30 BP30 BP60 BV11
TA04 TB42