

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4488350号
(P4488350)

(45) 発行日 平成22年6月23日 (2010. 6. 23)

(24) 登録日 平成22年4月9日 (2010. 4. 9)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 C 217/62 (2006. 01)

C O 7 C 217/62 C S P

A 6 1 K 31/137 (2006. 01)

A 6 1 K 31/137

A 6 1 P 1/04 (2006. 01)

A 6 1 P 1/04

A 6 1 P 1/08 (2006. 01)

A 6 1 P 1/08

A 6 1 P 1/14 (2006. 01)

A 6 1 P 1/14

請求項の数 13 (全 61 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-505307 (P2004-505307)
 (86) (22) 出願日 平成15年5月15日 (2003. 5. 15)
 (65) 公表番号 特表2005-526133 (P2005-526133A)
 (43) 公表日 平成17年9月2日 (2005. 9. 2)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2003/015581
 (87) 国際公開番号 W02003/097573
 (87) 国際公開日 平成15年11月27日 (2003. 11. 27)
 審査請求日 平成18年5月12日 (2006. 5. 12)
 (31) 優先権主張番号 60/381, 041
 (32) 優先日 平成14年5月16日 (2002. 5. 16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 500114922
 セプラコール インク.
 Sepracor Inc.
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 O
 1752、マールバロ、ウォーターフォー
 ド ドライブ 84 番地
 (74) 代理人 100073184
 弁理士 柳田 征史
 (74) 代理人 100090468
 弁理士 佐久間 剛
 (72) 発明者 アクワイラ、ブライアン エイ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
 1752-2435 マルボロー ロイヤ
 ル クレスト ドライブ 36

最終頁に続く

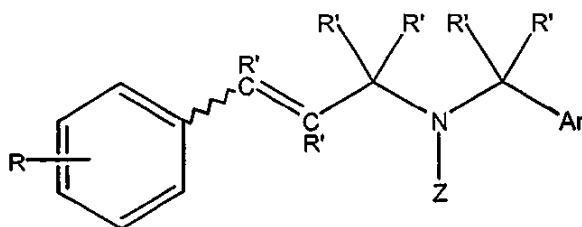
(54) 【発明の名称】 哺乳類アナンダミド輸送体を阻害するアミン、およびその使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記の化学式 A で表される化合物。

【化 1】



A

(Z は、2 - メトキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロ
 プロピル、シクロプロピルメチル、2 - メチルプロピル、ブチル、アリル、4 - ヒドロキ
 シブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル) メチル、2 - (ピ
 リド - 4 - イル) エチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル) エチルを表す；

A r は、4 - アリルオキシフェニル、4 - プロピルオキシフェニル、2 - アリルオキシ
 フェニル、3 , 4 - (メチレンジオキシ) フェニル、4 - (トリフルオロメトキシ) フェ

ニル、4 - メチルフェニル、4 - メトキシフェニル、4 - カルボキシフェニル、または 4 - フルオロフェニルを表す；

R は存在しないかまたは 1、2、3、4、または 5 個存在する；

R は、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R' は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R₈₀ は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシリルを表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

A によって表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である；および

A によって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。）

【請求項 2】

R が存在しないことを特徴とする請求項 1 記載の化合物。

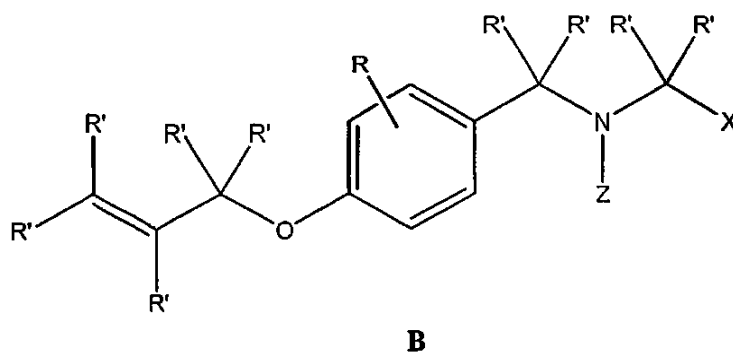
【請求項 3】

R' が H を表すことを特徴とする請求項 1 または 2 記載の化合物。

【請求項 4】

下記の化学式 B によって表される化合物。

【化 2】



(Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、エチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表す；

X は、2 - フェニルエチル、(E) - (2 - メトキシフェニル)CH=CH -、4 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、(E) - (4 - メトキシフェニル)CH=CH -、4 - フルオロフェニル、3, 4 - ジフルオロフェニル、または 4 - (トリフルオロメトキシ)フェニルを表す；

R は存在しないかまたは 1、2、3、または 4 個存在する；

R は、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、ア

リールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R' は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R_{80} は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルを表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

B で表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である；および

B によって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。）

【請求項 5】

R が存在しないことを特徴とする請求項 4 記載の化合物。

【請求項 6】

R' が H を表すことを特徴とする請求項 4 または 5 記載の化合物。

【請求項 7】

単一の立体異性体であることを特徴とする請求項 1 から 6 いずれか 1 項記載の化合物。

【請求項 8】

請求項 1 から 7 いずれか 1 項記載の化合物、および医薬的に許容される賦形剤を含む製剤。

【請求項 9】

請求項 1 から 7 いずれか 1 項記載の化合物を含むことを特徴とする、哺乳類においてアナンドミド輸送体の活性を調節するための組成物。

【請求項 10】

請求項 1 から 7 いずれか 1 項記載の化合物を含むことを特徴とする、喘息、神経障害性疼痛、持続痛、炎症性疼痛、多動、高血圧、脳虚血、パーキンソン病、痙攣、トゥーレット症候群、統合失調症、出血性ショック、敗血性ショック、心臓ショック、偏頭痛、ホートン頭痛、多発性硬化症、拒食症、AIDS、消耗症候群、臓器拒絶、自己免疫疾患、アレルギー、関節炎、クローン病、悪性神経膠腫、神経変性疾患、ハンチントン舞蹈病、緑内障、吐き気、不安症、精神疾患、注意欠陥多動性障害、早漏、または卒中に罹患した哺乳類を治療するための組成物。

【請求項 11】

前記哺乳類が、霊長類、ウマ、イヌまたはネコであることを特徴とする請求項 9 または 10 記載の組成物。

【請求項 12】

前記哺乳類がヒトであることを特徴とする請求項 9 または 10 記載の組成物。

【請求項 13】

前記化合物が、経口投与、静脈内投与、舌下投与、眼内投与、経皮投与、直腸内投与、膣内投与、局所投与、筋肉内投与、皮下投与、口腔内投与または経鼻投与されることを特徴とする請求項 9 または 10 記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

哺乳類内因性カンナビノイド

哺乳類内因性カンナビノイド (ECS) のさまざまな要素は、一般にカンナビノイドと呼ばれる幅広い群の化合物の様々な薬理学的標的を構成する。これらの要素に含まれるのは、二種類の G タンパク質結合型膜受容体：中枢 CB_1 受容体 (非特許文献 1)；および末梢 CB_2 受容体 (非特許文献 2) である。

【0002】

10

20

30

40

50

同じくECSの要素の中に含まれるのは、内因性リガンドであるアナンダミド（非特許文献3）、2-アラキドニルグリセロール（非特許文献4）、および最近報告された2-アラキドニルグリセリルエーテル（非特許文献5）である。内因性リガンドの生物活性の停止の機構が解明されており、担体媒介輸送系（アナンダミド輸送体（AT））および脂肪酸アミドヒドロラーゼ（FAAH）という名の加水分解酵素から成る（非特許文献6；非特許文献7；非特許文献8；および非特許文献9）。

【0003】

重要なことには、ECSは、抗侵害受容作用、脳の発達、逆行性神経細胞情報伝達、記憶、食欲、精神運動調節、心臓血管および免疫調節、および細胞増殖といった、幅広い中枢および末梢過程の調節に関与しているように思われる。（a）非特許文献10；（b）非特許文献11；（c）非特許文献12；（d）非特許文献13；（e）非特許文献14；（f）非特許文献15；（g）非特許文献16；および（h）非特許文献17を参照。この広汎な作用スペクトルによって、ECSは喘息、疼痛、多発性硬化症、悪性神経膠種、および神経変性疾患を含む多様な病理の治療の重要な標的となる。（a）非特許文献18；（b）非特許文献19；（c）非特許文献20；および（d）非特許文献21を参照。

【0004】

さらに、哺乳類細胞における内因性カンナビノイドのレベルの上昇は、その取り込みおよび/または分解を阻害することによって達成することができ、古典的アゴニストでカンナビノイド受容体を直接活性化することなく局所的なカンナビノイド様(cannabimimetic)の効果を生じさせる可能性を高め、それによって、付随する望ましくない副作用を回避する。したがって、合成阻害剤は、低い内因性カンナビノイド活性によって特徴づけられる疾患の治療であって、直接的アゴニストが有効であることが証明されているが望ましくない作用をもたらす場合に、治療的価値がある可能性がある（非特許文献22）。特に、そのような取り込み阻害剤の治療的有用性は、ハンチントン舞蹈病または多発性硬化症のような多様な病状の治療において検討されている（非特許文献23）。

【0005】

アナンダミド

一般的に、カンナビノイドアゴニストは、外因性活性分子および内因性カンナビノイドの両方を含む。外因性アゴニストは通常、古典的カンナビノイド（たとえば⁹-THCおよびその類縁体のようなカンナビス・サティバ(Cannabis sativa)由来化合物）、非古典的カンナビノイド（たとえばCP55940のように、古典的カンナビノイドの特徴的な三環構造を欠く）、およびアミノアルキルインドール（たとえばWIN552122）に分類される一方、内因性カンナビノイドはエイコサノイド類に属する。アンタゴニストの中で、ジアリールピラゾールは、最も広く用いられている化合物であることで特筆に値する（非特許文献24）。

【0006】

アナンダミド（アラキドニルエタノールアミド）は、脳カンナビノイド受容体を活性化し、⁹-テトラヒドロカンナビノール、すなわち大麻およびマリファナの有効成分の薬理作用を模倣する内因性脂質である（非特許文献3；および非特許文献25）。ヒトでは、そのような作用は、多幸感、冷静、夢幻状態、および眠気を含む。非特許文献26。脱分極化した神経細胞は、神経細胞膜でのリン脂質前駆体のカルシウム依存的切断を要する機構を介してアナンダミドを放出する（非特許文献27；および非特許文献28；非特許文献29；および非特許文献30）。さらに、アナンダミドは、認知および感情の調節に関与する新規な系の主要な構成要素として作用する可能性がある。実際、生理学的実験は、アナンダミドが、ドーパミンおよびセロトニンといった他のより理解された神経伝達物質と同様に、健康および疾患での我々の脳機能の調節において重要であり得ることを示している。

【0007】

アナンダミドは、受容体刺激に反応して神経細胞の膜区画から放出される。とりわけ、D2作用はアナンダミド放出を刺激する。ラット脳神経細胞の研究では、アナンダミドは

10

20

30

40

50

独自の機構によって放出されることが示された: アナンドミドはリン脂質前駆体の形で細胞膜中に保存され、その前駆体はカルシウムおよび活性に依存する酵素反応によって切断される。N - アラキドノイルホスファチジルエタノールアミン (NAPE) がアナンドミドの前駆体として同定されており、アナンドミドはホスホジエステラーゼに媒介されるNAPEの切断によって形成される。NAPEの生合成は特定のN - アシルトランスフェラーゼ酵素によって触媒され、その酵素は特徴付けられており、かつラット脳抽出物から部分精製されている。NAPEの形成およびアナンドミドを生じるその切断は高度に調節された過程であり、その過程は脳の特定の領域で起こる。

【0008】

他の調節物質と同様に、細胞外アナンドミドは迅速に不活性化されると考えられている。前項で概要を述べた通り、その経路は、ラットの脳および肝臓で高発現された膜結合脂肪酸アミドヒドロラーゼ (FAAH) によって触媒される、アラキドン酸およびエタノールアミンへの加水分解を含む (非特許文献31; 非特許文献32)。にもかかわらず、脳細胞膜で見られる低いFAAH活性は、この酵素が細胞内酵素である得ることを示唆し、その可能性はラットFAAHの配列分析によってさらに支持される (非特許文献33)。アナンドミドは受動拡散によってFAAHに接近できるが、この機構による輸送速度は、この脂質媒介因子の分子サイズのために低いことが予測される (非特許文献34)。多価不飽和脂肪酸およびプロスタグランジンE₂ (PGE₂) を含むその他の脂質は、担体媒介輸送によって細胞に入る (非特許文献35; 非特許文献36; 非特許文献37; 非特許文献38)。上述した通り、アナンドミド輸送体を介する神経細胞内へのアナンドミド蓄積の迅速で飽和可能な過程が報告されている (非特許文献27)。

【0009】

その生物学的作用を停止するのに必要なアナンドミドの不活性化は、二段階で起こる。アナンドミドはまず、それを細胞内へ輸送する選択的担体タンパク質によって細胞外間隙から除かれ、次いでアナンドミドアミドヒドロラーゼと称する酵素に触媒される加水分解によって、生物学的に不活性な化合物に分解される。この酵素の強力な阻害剤が同定されており (一種のプロモエノールラクトン、BTNP)、それが利用可能なことはアナンドミド作用の薬理学的分析を促進する。高親和性アナンドミド輸送体がラット皮質神経細胞および星状細胞で特徴づけられている。ある化合物 (N - (4 - ヒドロキシフェニル) アラキドニルアミド) が、カンナビノイド受容体に結合したりアナンドミド加水分解に影響したりすることなく、そのような輸送を選択的かつ強力に阻害することが見出されている。この輸送系は、プロスタグランジン取り込み系と類似しているが異なる、新規な脂質取り込み系を構成するように見える。また、これらの阻害剤の使用は、*in vitro* および *in vivo* の両方で、アナンドミド輸送がアナンドミドの生物学的不活性化の律速段階を構成することを実証した。アナンドミドレベルがどのように調節されるかを理解することは、その調節解除 (deregulation) が脳の機能障害につながり得るため、重要である。

【0010】

アナンドミドおよびドーパミンは、反対方向に作用して、脳の背側線条体と呼ばれる部位における動作を調節するように思われる; ドーパミンはこの部位で作用することによって動作を刺激し、アナンドミドは見かけ上ドーパミンのこの作用を阻害する。アナンドミドがドーパミンの作用を打ち消すことができることの特定は、脳におけるドーパミン不均衡が関与すると思われる疾患を治療するための薬剤の開発に有用であることを立証する。ある種の疾患は、特定の脳領域におけるドーパミンの過剰、またはおそらくドーパミンの標的となる脳の部位の過敏性によって引き起こされるように思われる。これらの疾患は、統合失調症および、顔面チックおよび語句の繰り返しおよび不随意的な卑語の発言によって特徴づけられるジル・ド・ラ・トゥレット症候群を含む。アナンドミドを模倣する薬剤は、ドーパミン過剰活性を緩和することによって、これらおよびその他の疾患の症状を軽減できる。さらに、脳におけるアナンドミド作用を阻害する薬剤もまた、特定の脳領域におけるドーパミン過少、またはドーパミン標的の感受性低下に関連すると思われる疾患の

治療に有用であることが証明されている。これらの疾患は、薬物依存症およびパーキンソン病を含む。

【0011】

ラットでは、AT阻害剤であるAM404は、脳において放出されたアナンダミドの寿命を延長し、またドーパミンD2作用の精神運動効果を低減する。ラットにおける疼痛刺激は、CB1受容体の作用を介して、脳の外側背側水道周囲灰白質における自然鎮痛反応を媒介したアナンダミド放出を引き起こす。さまざまな*in vivo*モデルで、AM404は、カンナビノイドCB1受容体アンタゴニストSR-141716Aによって逆転することができる弱く進行の遅い運動低下症を生じた。AM404はまた、アポモルヒネ誘導性のあくびを用量依存的に妨げた；この効果は同様にSR-141716Aによって逆転された。さらに、AM404は、選択的ドーパミンD2アゴニストであるキンピロールによって誘導される運動行動を減少させ、またADHDのラットモデルにおいて多動を軽減させた。AM404はATを阻害するが($IC_{50} \sim 2 \mu M$)、その低い効果および特異性のために、薬物候補としては適当でない。後者の特徴は、AM404のアラキノニル部分による可能性が高い。さらに、*in vitro*測定法を用いて、研究者はフッ化フェニルメチルスルホニル(PMSF)がアナンダミドの分解を阻害できることを示している。さらに、一連のフッ化脂肪酸スルホニルが、アミダーゼを阻害し、さらにPMSFよりも強力かつ選択的であることが確認されている(非特許文献39)。

【0012】

興味深いことに、アナンダミドおよび構造的に関連する脂質は、一次感覚神経上のパニロイド受容体の活性を調節することが最近報告されている(特許文献1)。この発見は、医学、薬学、および科学の分野で多様な意味を有し、またアナンダミドの非CB1受容体媒介血管拡張因子作用に分子機構を提供する。パニロイド受容体(VR1)は、Caterinaらによって最近クローニングされたが(非特許文献40)、カプサイシン感受性で熱作動性の非選択的陽イオンチャネルである。Caterinaらによる研究およびそれ以降の研究は、一次感覚神経細胞の部分集合においてVR1が独自に発現されていることを確認しており(非特許文献41)、この細胞はヒトおよび動物で広く分布している(非特許文献42)。

【特許文献1】米国特許出願第2002/0019444号明細書

【非特許文献1】Matsuda, L. A.; Lolait, S. J.; Brownstein, M. J.; Young, A. C.; Bonner, T. I. Structure of a Cannabinoid Receptor and Functional Expression of the Cloned cDNA. *Nature* 1990, 346, 561-564

【非特許文献2】Munro, S.; Thomas, K. L.; Abu-Shaar, M. Molecular Characterization of a Peripheral Receptor for Cannabinoids. *Nature* 1993, 365, 61-65

【非特許文献3】Devane, W. A.; Hanus, L.; Breuer, A.; Pertwee, R. G.; Stevenson, L. A.; Griffin, G.; Gibson, D.; Mandelbaum, A.; Etinger, A.; Mechoulam, R. Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. *Science* 1992, 258, 1946-1949

【非特許文献4】Sugiura, T.; Kondo, S.; Sukagawa, A.; Nakane, S.; Shinoda, A.; Itoh, K.; Yamashita, A.; Waku, K. 2-Arachidonoylglycerol: a Possible Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand in Brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 215, 89-97

【非特許文献5】Hanus, L.; AbuLafi, S.; Fride, E.; Breuer, A.; Vogel, Z.; Shalev, D. E.; Kustanovich, I.; Mechoulam, R. 2-Arachidonoyl Glyceryl Ether, an Endogenous Agonist of the Cannabinoid CB1 Receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001, 98, 3662-3665

【非特許文献6】Hillard, C. J.; Edgemond, W. S.; Jarrahian, A.; Campbell, W. B. Accumulation of N-Arachidonylethanolamine (Anandamide) into Cerebellar Granule Cells Occurs via Facilitated Diffusion. *J. Neurochem.* 1997, 69, 631-638

【非特許文献7】Beltramo, M.; Stella, N.; Calignano, A.; Lin, S. Y.; Makriyannis

10

20

30

40

50

, A.; Piomelli, D. Functional Role of High-Affinity Anandamide Transport, as Revealed by Selective Inhibition, *Science* 1997, 277, 1094-1097

【非特許文献 8】Hillard, C. J.; Jarrahian, A. The Movement of N-arachidonylethanolamine (Anandamide) across Cellular Membranes. *Chem. Phys. Lipids* 2000, 108, 123-134

【非特許文献 9】Ueda, N.; Puffenberger, R. A.; Yamamoto, S.; Deutsch, D. G. The Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH). *Chem. Phys. Lipids* 2000, 108, 107-121

【非特許文献 10】Calignano, A.; La Rana, G.; Giuffrida, A.; Piomelli, D. Control of Pain Initiation by Endogenous Cannabinoids. *Nature* 1998, 394, 277-281

【非特許文献 11】Walker, J. M.; Hohmann, A. G.; Martin, W. J.; Strangman, N. M.; Huang, S. M.; Tsou, K. The Neurobiology of Cannabinoid Analgesia. *Life Sci.* 1999, 65, 665-673

【非特許文献 12】Fernandez-Ruiz, J.; Berrendero, F.; Hernandez, M. L.; Ramos, J. A. The Endogenous Cannabinoid System and Brain Development. *Trends Neurosci.* 2000, 23, 14-20

【非特許文献 13】Wilson, R. I.; Nicoll, R. A.; Endogenous Cannabinoids Mediate Retrograde Signaling at Hippocampal Synapses. *Nature* 2001, 410, 588-592

【非特許文献 14】Hampson, R. E.; Deadwyler, S. A. Cannabinoids, Hippocampal Function and Memory. *Life Sci.* 1999, 65, 715-723

【非特許文献 15】Di Marzo, V.; Goparaju, S. K.; Wang, L.; Liu, J.; Baik, S.; Jara, Z.; Fezza, F.; Miura, G. I.; Palmiter, R. D.; Sugiura, T.; Kunos, G. Leptin-Regulated Endocannabinoids Are Involved in Maintaining Food Intake. *Nature* 2001, 410, 822-825

【非特許文献 16】Giuffrida, A.; Piomelli, D. The Endocannabinoid System: a Physiological Perspective on its Role in Psychomotor Control. *Chem. Phys. Lipids* 2000, 108, 151-158

【非特許文献 17】De Petrocellis, L.; Melck, D.; Bisogno, T.; Di Marzo, V. Endocannabinoids and Fatty Acid Amides in Cancer, Inflammation and Related Disorders. *Chem. Phys. Lipids* 2000, 108, 191-209

【非特許文献 18】Calignano, A.; Katona, I.; Desarnaud, F.; Giuffrida, A.; La Rana, G.; Mackie, K.; Freund, T. F.; Piomelli, D. Bidirectional Control of Airway Responsiveness by Endogenous Cannabinoids. *Nature* 2000, 408, 96-101

【非特許文献 19】Baker, D.; Pryce, G.; Croxford, J. L.; Brown, P.; Pertwee, R. G.; Huffman, J. W.; Layward, L. Cannabinoids Control Spasticity and Tremor in a Multiple Sclerosis Model. *Nature* 2000, 404, 84-87

【非特許文献 20】Galve-Roperh, I.; Sanchez, C.; Cortes, M. L.; Gomez del Pulgar, T.; Izquierdo, M.; Guzman, M. Antitumoral Action of Cannabinoids: Involvement of Sustained Ceramide Accumulation and Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation. *Nat. Med.* 2000, 6, 313-319

【非特許文献 21】Pertwee, R. G. Pharmacology of Cannabinoid Receptor Ligands. *Curr. Med. Chem.* 1999, 6, 635-664

【非特許文献 22】Piomelli, D.; Giuffrida, A.; Calignano, A.; Rodriguez de Fonseca, F. The Endocannabinoid System as a Target for Therapeutic Drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 2000, 21, 218-224

【非特許文献 23】Baker, D.; Pryce, G.; Croxford, J. L.; Brown, P.; Pertwee, R. G.; Makriyannis, A.; Khanolkar, A.; Layward, L.; Fezza, F.; Bisogno, T.; Di Marzo, V. Endocannabinoids Control Spasticity in a Multiple Sclerosis Model. *FASEB J.* 2001, 15, 300-302

【非特許文献 24】Pertwee, R. G. Cannabinoid Receptor Ligands: Clinical and Neuropharmacological Considerations, Relevant to Future Drug Discovery and Development

10

20

30

40

50

nt. Expert Opin. Invest. Drugs 2000,9, 1-19

【非特許文献 2 5】R. Mechoulam, L. Hanus, B. R. Martin, Biochem. Pharmacol. 48,1537 (1994)

【非特許文献 2 6】W. L. Dewey, Pharmacol. Rev. 38,151 (1986)

【非特許文献 2 7】V. Di Marzo et al., Nature 372, 686 (1994)

【非特許文献 2 8】H. Cadas, S. GaiUet, M. Bettramo, L. Venance, D. Piomelli, J Neurosci. 16,3934 (1996)

【非特許文献 2 9】T. Sugiura et al., Eur. J. Biochem. 240,53 (1996)

【非特許文献 3 0】H. Cadas, E. di Tomaso, D. Piomelli, J. Neurosci.,17, 1226 (1997)

【非特許文献 3 1】D. G. Deutsch and S. Chin, Biochem. Pharmacol. 46,791 (1993)

【非特許文献 3 2】F. Desamand, H. Cadas, O. Piomelli, J. Biol. Chem. 270,6030 (1995)

【非特許文献 3 3】B. Cravatt et al., Nature 384, 83 (1996)

【非特許文献 3 4】W. D. Stein, Channels and Pumps. An Introduction to Membrane Transport, (Academic Press, San Diego, 1990), pp. 53-57

【非特許文献 3 5】L. Z. Bito, Nature 256, 1234 (1975)

【非特許文献 3 6】J. E. Schaffer and H. F. Lodish, Cell 79, 427 (1994)

【非特許文献 3 7】I. N. Bojesen and E. Bojesen, Acta Physiol. Scand. 156, 501 (1996)

【非特許文献 3 8】N. Kanai et al., Science 268,866 (1995)

【非特許文献 3 9】Deutsch, D. G. et al. "Fatty acid sulfonyl fluorides inhibit anandamide metabolism and bind to the cannabinoid receptor" Biochemical and Biophysical Research Communications 1997,231,217-221

【非特許文献 4 0】Caterina, M. J. et al., The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway., Nature 389, 816-824 (1997)

【非特許文献 4 1】Tominaga K, Caterina M J, Mahnberg A B, Rosen T A, Gilbert H, Skinner K, Raumann B E, Basbaum A I, Julius D., The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli., Neuron 21, 531-543 (1998)

【非特許文献 4 2】Holzer P., Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons, Pharmacol Rev 43, 143-201 (1991)

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明の一態様はアミンに関する。本発明の別の態様は哺乳類アナンダミド輸送体の阻害剤としてのアミンの使用に関する。本発明の化合物はまた、喘息、神経障害性疼痛、持続痛、炎症性疼痛、多動、高血圧、脳虚血、パーキンソン病、痙攣、トゥレット症候群、統合失調症、出血性ショック、敗血性ショック、心臓ショック、偏頭痛、ホートン頭痛、多発性硬化症、拒食症、AIDS、消耗症候群、臓器拒絶、自己免疫疾患、アレルギー、関節炎、クローン病、悪性神経腫瘍、神経変性疾患、ハンチントン舞踏病、緑内障、吐き気、不安症、精神疾患、注意欠陥多動性障害、早漏、および卒中を含むがこれらに限定されない、哺乳類を冒す多数の病気、症状、および疾患の治療において用途を見出す。本発明の別の態様は、アミンのコンビナトリアルライブラリ、およびそのライブラリを作成する方法に関する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

我々は、放出されたアナンダミドの神経細胞外寿命を延長することによって、カンナビノイド作用の治療上の利益を伸ばすことができることを発見した。D2受容体の機能亢進によって特徴づけられる精神疾患は、アナンダミド放出を介した負のフィードバックによって弱められ、そしてアナンダミドの神経細胞外寿命を伸ばすことによって防ぐことがで

きる。

【 0 0 1 5 】

本発明の一態様は新規アミンに関する。本発明の別の態様は哺乳類アナンダミド輸送体の阻害剤としての新規アミンの使用に関する。本発明の化合物はまた、喘息、神経障害性疼痛、持続痛、炎症性疼痛、多動、高血圧、脳虚血、パーキンソン病、痙攣、トゥーレット症候群、統合失調症、出血性ショック、敗血性ショック、心臓ショック、偏頭痛、ホートン頭痛、多発性硬化症、拒食症、A I D S、消耗症候群、臓器拒絶、自己免疫疾患、アレルギー、関節炎、クローン病、悪性神経膠種、神経変性疾患、ハンチントン舞蹈病、緑内障、吐き気、不安症、精神疾患、注意欠陥多動性障害、早漏、および卒中を含むがこれらに限定されない、哺乳類を冒す多数の病気、症状、および疾患の治療において用途を見出す。本発明の別の態様は、新規アミンのコンビナトリアルライブラリ、およびそのライブラリを作成する方法に関する。

10

【 0 0 1 6 】

定義

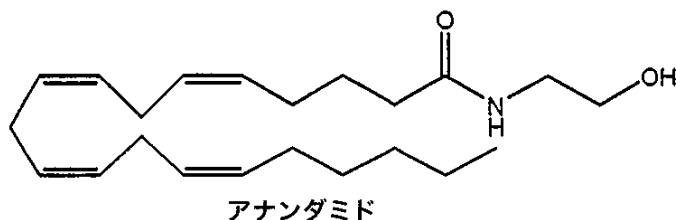
便宜上、本明細書、実施例、および添付の請求項で用いられる一部の用語をここに集める。

【 0 0 1 7 】

「アナンダミド」の語は、N - (2 - ヒドロキシエチル) アラキドンアミドを称し、下記の構造を有する：

【 化 1 】

20

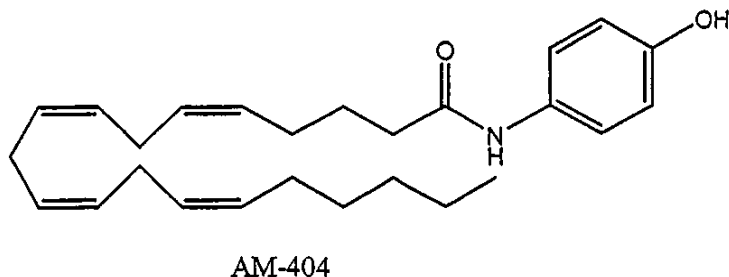


【 0 0 1 8 】

「AM404」および「AM - 404」の語は、N - (4 - ヒドロキシフェニル) アラキドンアミドを称し、下記の構造を有する：

30

【 化 2 】



40

【 0 0 1 9 】

「細胞表面タンパク質」の語は、細胞の表面に存在し、細胞外環境と相互作用し、環境に関する情報を細胞内に伝達または導入する分子を含む。

【 0 0 2 0 】

「細胞外シグナル」の語は、そのシグナルと直接的にまたは間接的に相互作用する細胞表面タンパク質を介して細胞内に導入された分子または環境の変化を含む。細胞外シグナルは、細胞表面タンパク質の活性を何らかの方法で特異的に変化させる任意の化合物または物質である。そのようなシグナルの例は、細胞表面受容体およびイオンチャンネルに結

50

合し、そのような受容体およびチャンネルの活性を調節する、アセチルコリンのような分子、増殖因子、ホルモンおよび酢酸ミリスチン酸ホルボール（PMA）といったその他の有糸分裂誘起物質を含むがこれらに限定されない。細胞外シグナルはまた、細胞表面タンパク質の活性を調節しそれによって細胞内機能に影響を与えるまだ同定されていない物質、および特定の細胞表面受容体の活性を調節することによって特定の疾患を治療するのに用いることができる医薬品候補であるまだ同定されていない物質も含む。

【0021】

「ED₅₀」の語は、最大反応または効果の50%を生じる薬剤の用量を意味する。あるいは、被験者または被験調製物の50%で規定の反応を生じる用量である。

【0022】

「LD₅₀」の語は、被験者の50%で致死性である薬剤の用量を意味する。

【0023】

「治療係数」の語は、LD₅₀ / ED₅₀ と定義される薬剤の治療係数を称する。

【0024】

「構造 - 活性相関（SAR）」の語は、薬剤の分子構造を変えることが、その薬剤の受容体、酵素などとの相互作用を変化させる手法を称する。

【0025】

「アゴニスト」の語は、天然の伝達物質の作用を模倣するか、または天然の伝達物質が未知である場合は、他の受容体リガンドの非存在下で受容体複合体の変化を引き起こす化合物を称する。

【0026】

「アンタゴニスト」の語は、受容体部位に結合するが、別の受容体リガンドが存在しない限り、生理的变化を何ら引き起こさない化合物を称する。

【0027】

「競合的アンタゴニスト」の語は、受容体部位に結合する化合物を称する；アゴニストの濃度を上昇させることによってその効果に打ち勝つことができる。

【0028】

「部分アゴニスト」の語は、受容体部位に結合するが、濃度にかかわらず最大効果を生じない化合物を称する。

【0029】

「逆アゴニスト」の語は、恒常的活性型受容体部位に結合しその生理的機能を低下させる化合物を称する。

【0030】

「リガンド」の語は、受容体部位に結合する化合物を称する。

【0031】

ここで用いられる「ヘテロ原子」の語は、炭素または水素以外の任意の元素の原子を意味する。好ましいヘテロ原子は、ホウ素、窒素、酸素、リン、硫黄、およびセレンである。

【0032】

「電子求引基」の語は、本分野で認知されており、置換基が隣接する原子から価電子を引きつける傾向を意味し、すなわちその置換基は隣接する原子に関して陰性である。電子供与能のレベルの定量化は、ハメットのシグマ（ σ ）定数によって与えられる。このよく知られている定数は、多数の参考文献、たとえば、J. March, *Advanced Organic Chemistry*, McGraw Hill Book Company, New York, (1977 edition) pp. 251-259に記載されている。ハメット定数値は一般的に、電子供与基について陰性（NH₂について $[P] = -0.66$ ）および電子求引基について陽性（ニトロ基について $[P] = 0.78$ ）であって、 $[P]$ はパラ置換を示す。典型的な電子求引基は、ニトロ、アシル、ホルミル、スルホニル、トリフルオロメチル、シアノ、塩化物、などを含む。典型的な電子供与基は、アミノ、メトキシ、などを含む。

【0033】

10

20

30

40

50

「アルキル」の語は、直鎖アルキル基、分枝鎖アルキル基、シクロアルキル（アリサイクリック）基、アルキル置換シクロアルキル基、およびシクロアルキル置換アルキル基を含む、飽和脂肪族基のラジカルを称する。好ましい実施形態では、直鎖または分枝鎖アルキルは骨格に 30 個以下の炭素原子を有し（たとえば、直鎖については C 1 ~ C 30、分枝鎖については C 3 ~ C 30）、およびより好ましくは 20 個以下の炭素原子を有する。同様に、好ましいシクロアルキルは、環構造に 3 ~ 10 個の炭素原子を有し、およびより好ましくは環構造に 5、6、または 7 個の炭素原子を有する。

【0034】

炭素数が別に指定されない限り、ここで用いられる「低級アルキル」は、上記に定義される通りであるが、骨格構造に 1 から 10 個の炭素を有する、より好ましくは 1 から 6 個の炭素原子を有するアルキル基を意味する。同様に、「低級アルケニル」および「低級アルキニル」は同様の鎖長を有する。好ましいアルキル基は低級アルキルである。好ましい実施形態では、ここでアルキルと指定されている置換基は低級アルキルである。

【0035】

ここで用いられる「アラルキル」の語は、アリール基（たとえば、芳香族基またはヘテロ芳香族基）で置換されたアルキル基を称する。

【0036】

「アルケニル」および「アルキニル」の語は、長さおよび可能な置換について上記のアルキルと類似の不飽和脂肪族基であるが、少なくとも一の二重結合または三重結合をそれぞれ有するものを称する。

【0037】

ここで用いられる「アリール」の語は、0 から 4 個のヘテロ原子を含み得る 5、6、および 7 員単環芳香族基、たとえば、ベンゼン、ナフタレン、アントラセン、ピレン、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、トリアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン、およびピリミジン、などを含む。環構造中にヘテロ原子を有するそれらのアリール基はまた、「アリールヘテロ環」または「ヘテロ芳香族」とも称する。芳香族環は、環の一個以上の位置で、上記のような置換基、たとえば、ハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族またはヘテロ芳香族部分、-CF₃、-CN、などで置換され得る。「アリール」の語はまた、二個以上の炭素が二つの隣接する環（それらの環は「融合環」である）に共通する、二つ以上の環を有する多環系を含み、ここでたとえば環のうち少なくとも一は芳香族であり、その他の環式環はシクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリールおよび/またはヘテロシクリルであり得る。

【0038】

オルト、メタ、パラの語は、1, 2-、1, 3-、および 1, 4-二置換ベンゼンにそれぞれ適用される。たとえば、1, 2-ジメチルベンゼンおよびオルト-ジメチルベンゼンという名称は同義である。

【0039】

「ヘテロシクリル」または「ヘテロ環基」の語は、3 から 10 員環構造、より好ましくは 3 から 7 員環であって、その環構造が 1 から 4 個のヘテロ原子を含むものを称する。ヘテロ環はまた多環であることができる。ヘテロシクリル基は、たとえば、アゼチジン、アゼピン、チオフェン、チアントレン、フラン、ピラン、イソベンゾフラン、クロメン、キサンチン、フェノキサチン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソキサゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、ピリミジン、フェナントロリン、

10

20

30

40

50

フェナジン、フェナルサジン、フェノチアジン、フラザン、フェノキサジン、ピロリジン、オキソラン、チオラン、オキサゾール、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、ラクトン類、アゼチジノン類およびピロリジノン類といったラクタム類、スルタム類、スルトン類、などを含む。ヘテロ環式環は、一個以上の位置で、上記のような置換基、たとえば、ハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族またはヘテロ芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、などで置換され得る。

【0040】

10

「ポリシクリル」または「多環基」の語は、たとえば二個以上の炭素が二つの隣接する環に共通し、それらの環は「融合環」である、二個以上の環（たとえば、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリアルおよび/またはヘテロシクリル）を称する。隣接しない原子を介して結合した環は「架橋」環と称する。多環のうちの環のそれぞれは、上記のような置換基、たとえば、ハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族またはヘテロ芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、などで置換され得る。

【0041】

20

ここで用いられる「炭素環」の語は、環の各原子が炭素である芳香族または非芳香族環を称する。

【0042】

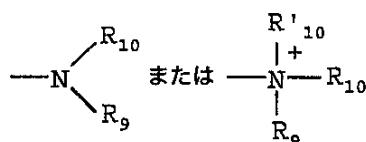
ここで用いられる「ニトロ」の語は $-NO_2$ を意味する；「ハロゲン」の語は $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、または $-I$ を示す；「スルフヒドリル」の語は $-SH$ を意味する；「ヒドロキシル」の語は $-OH$ を意味する；および「スルホニル」の語は $-SO_2-$ を意味する。

【0043】

「アミン」および「アミノ」の語は本分野で認められており、非置換および置換アミンの両方、たとえば、下記の一般式で表すことができる部分を称する：

【化3】

30



【0044】

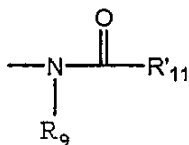
ここで R_9 、 R_{10} 、および R'_{10} はそれぞれ独立に、原子価則によって許容される基を表す。

40

【0045】

「アシルアミノ」の語は本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を称する：

【化 4】



10

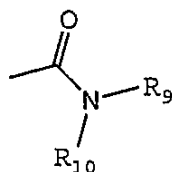
【0046】

ここで R_9 は上記で定義された通りであり、 R'_{11} は水素、アルキル、アルケニル、または $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_8$ を表し、 m および R_8 は上記で定義された通りである。

【0047】

「アミド」は、アミノ置換カルボニルとして本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を含む：

【化 5】



20

【0048】

ここで R_9 、 R_{10} は上記で定義された通りである。アミドの好ましい実施形態は、不安定である可能性があるイミドは含まない。

30

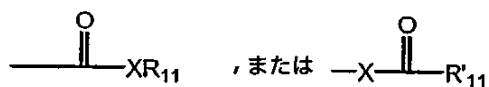
【0049】

「アルキルチオ」の語は、硫黄ラジカルが結合した、上記で定義された通りのアルキル基を称する。好ましい実施形態では、「アルキルチオ」部分は S -アルキル、 $-\text{S}$ -アルケニル、 $-\text{S}$ -アルキニル、および $-\text{S}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_8$ のうちの一つで表され、 m および R_8 は上記で定義された通りである。代表的なアルキルチオ基は、メチルチオ、エチルチオ、などを含む。

【0050】

「カルボニル」の語は本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を含む：

【化 6】



40

【0051】

ここで X は結合であるかまたは酸素または硫黄を表し、 R_{11} は水素、アルキル、アルケニル、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_8$ 、または医薬的に許容される塩を表し、 R'_{11} は水素、アルキル、アルケニル、または $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_8$ を表し、 m および R_8 は上記で定義された通りである。 X が酸素であって R_{11} または R'_{11} が水素でない場合、この式は「

50

エステル」を表す。Xが酸素であり、 R_{11} が上記で定義された通りである場合は、この部分はここではカルボキシル基と呼ばれ、特に R_{11} が水素である場合、この式は「カルボン酸」を表す。Xが酸素であり、 R'_{11} が水素である場合、この式は「ギ酸」を表す。一般に、上記の式の酸素原子が硫黄によって置換される場合、この式は「チオールカルボニル」基を表す。Xが硫黄であって R_{11} または R'_{11} が水素でない場合、この式は「チオールエステル」を表す。Xが硫黄であって R_{11} が水素である場合、この式は「チオールカルボン酸」を表す。Xが硫黄であって R'_{11} が水素である場合、この式は「チオールギ酸」を表す。一方、Xが結合であり、 R_{11} が水素でない場合、上記の式は「ケトン」基を表す。Xが結合であり、 R_{11} が水素である場合、上記の式は「アルデヒド」基を表す。

10

【0052】

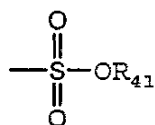
ここで用いられる「アルコキシル」または「アルコキシ」の語は、酸素ラジカルが結合した、上記で定義された通りのアルキル基を称する。代表的なアルコキシル基は、メトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、tert-ブトキシなどを含む。「エーテル」は、一個の酸素によって共有結合で連結された二個の炭化水素である。したがって、アルキルの、そのアルキルをエーテルにする置換基は、アルコキシルであるかまたはそれに類似しており、たとえば-O-アルキル、-O-アルケニル、-O-アルキニル、-O-(CH₂)_m-R₈のうちの一つで表すことができ、mおよびR₈は上記で定義された通りである。

【0053】

「スルホネート」の語は本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を含む：

20

【化7】



【0054】

ここで R_{41} は、電子対、水素、アルキル、シクロアルキル、またはアリールである。

30

【0055】

トリフリル、トシル、メシル、およびノナフリルの語は本分野で認められており、トリフルオロメタンスルホニル、p-トルエンスルホニル、メタンスルホニル、およびノナフルオロブタンスルホニル基をそれぞれ称する。トリフレート、トシレート、メシレート、およびノナフレートは本分野で認められており、トリフルオロメタンスルホネートエステル、p-トルエンスルホネートエステル、メタンスルホネートエステル、およびノナフルオロブタンスルホネートエステル官能基、および前記の基を含む分子をそれぞれ称する。

【0056】

Me、Et、Ph、Tf、Nf、Ts、Msと称する短縮形は、メチル、エチル、フェニル、トリフルオロメタンスルホニル、ノナフルオロブタンスルホニル、p-トルエンスルホニル、およびメタンスルホニル、をそれぞれ表す。当業者である有機化学者によって利用される短縮形のより包括的な一覧は、Journal of Organic Chemistryの各巻の第1号に登場する；この一覧は典型的にはStandard List of Abbreviationsと題する表で提示される。前記一覧に含まれる短縮形、および当業者である有機化学者によって利用されるすべての短縮形は、参照によって本開示に含まれる。

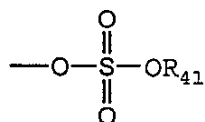
40

【0057】

「硫酸塩」の語は本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を含む：

50

【化 8】



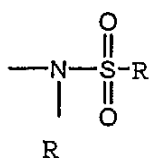
【 0 0 5 8 】

ここで R_{41} は上記で定義された通りである。

【 0 0 5 9 】

「スルホニルアミノ」の語は本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を含む：

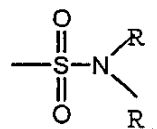
【化 9】



【 0 0 6 0 】

「スルファモイル」の語は本分野で認められており、下記の一般式で表すことができる部分を含む：

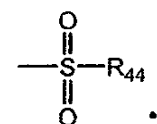
【化 1 0】



【 0 0 6 1 】

ここで用いられる「スルホニル」の語は、下記の一般式で表すことができる部分を称する：

【化 1 1】



【 0 0 6 2 】

ここで R_{44} は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールから成る群から選択される。

【 0 0 6 3 】

ここで用いられる「スルホキシド」の語は、下記の一般式で表すことができる部分を称する：

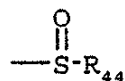
10

20

30

40

【化 1 2】



【0064】

ここで R_{44} は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アラルキル、またはアリールから成る群から選択される。

10

【0065】

「セレノアルキル」は、結合したセレノ基で置換されたアルキル基を称する。アルキル上で置換された典型的な「セレノエーテル」は、 $-\text{Se}-$ アルキル、 $-\text{Se}-$ アルケニル、 $-\text{Se}-$ アルキニル、および $-\text{Se}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_7$ のうち一つから選択され、 m および R_7 は上記で定義される。

【0066】

類似の置換はアルケニル基およびアルキニル基に行うことができ、たとえば、アミノアルケニル、アミノアルキニル、アミドアルケニル、アミドアルキニル、イミノアルケニル、イミノアルキニル、チオアルケニル、チオアルキニル、カルボニル-置換アルケニルまたはアルキニルを生じる。

20

【0067】

ここで用いられる通り、たとえばアルキル、 m 、 n 、などといった個々の表現の定義は、それが任意の構造中で一回より多く存在する場合は、同一の構造中の他所での定義とは独立していることが意図される。

【0068】

「置換」または「～で置換された」は、そのような置換は置換原子および置換基の許容される原子価に基づくこと、および置換の結果として安定化合物が生じ、それはたとえば転位、環化、脱離、などによる変化を自然に起こさないこと、という黙示的但し書きを含むと理解される。

30

【0069】

ここで用いられる通り、「置換された」の語は、有機化合物のすべての許容される置換基を含むと考えられる。幅広い解釈では、許容される置換基は、有機化合物の、非環式および環式、分枝および非分枝、炭素環式およびヘテロ環式、芳香族および非芳香族置換基を含む。例証となる置換基は、たとえば、上述のものを含む。許容される置換基は、適当な有機化合物について、一個またはそれ以上であってよく、さらに同一または異なっていてよい。本発明の目的のために、たとえば窒素といったヘテロ原子は、水素置換基および/またはここに記載の有機化合物のそのヘテロ原子の原子価を満足させる任意の許容される置換基を有していてもよい。本発明は、許容される有機化合物の置換基によって何らかの方法で制限されることを意図しない。

40

【0070】

ここで用いられる「保護基」の語句は、潜在的に反応性の官能基を、望ましくない化学的变化から守る一時的な置換基を意味する。そのような保護基の例は、カルボン酸のエステル、アルコールのシリルエーテル、および、アルデヒドおよびケトンのアセタールおよびケタールをそれぞれ含む。保護基の化学の分野は総説がある (Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991)。

【0071】

本発明の特定化合物は、特に幾何学的形または立体異性形で存在する可能性がある。本発明は、*cis*-および *trans*-異性体、*R*-および *S*-光学異性体、ジアステレオ

50

マー、(D) - 異性体、(L) - 異性体、そのラセミ混合物、およびその他の混合物を含むそのような化合物すべてを含む。別の不斉炭素原子が、アルキル基のような置換基中に存在し得る。そのような異性体のすべて、およびその混合物が本発明に含まれることが意図されている。

【0072】

たとえば、本発明の化合物の特定の光学異性体が望ましい場合、不斉合成によってそれを調製することができ、キラルクロマトグラフィー法を用いてそれを単離することができ、またはキラル補助基を用いた誘導体化によって、得られたジアステレオマー混合物を分離し、さらに補助基を切断して純粋な目的の光学異性体をもたらすことができる。または、その分子がアミノ基のような塩基性官能基、またはカルボキシル基のような酸性官能基を含む場合、適当な光学活性酸または塩基を用いてジアステレオマー塩が形成され、その後、そのようにして形成されたジアステレオマーの分離を、本分野でよく知られている分画結晶化法またはクロマトグラフィー法によって行い、その結果、純粋な光学異性体が回収される。

【0073】

上述の化合物の考えられる等価物は、他の面ではそれと合致し、それと同一の一般的性質を有し(たとえば、鎮痛薬として機能する)、オピオイド受容体への結合においてその化合物の効力に悪影響を及ぼさない、置換基の一以上の単純な変形が行われている化合物を含む。一般に、本発明の化合物は、たとえば下記に示す一般的反応スキームで説明される方法によって、またはその改変によって、容易に入手可能な開始材料、試薬、および従来の合成手順を用いて調製することができる。これらの反応においては、それ自体が既知であるがここでは言及されない変形を利用することも可能である。

【0074】

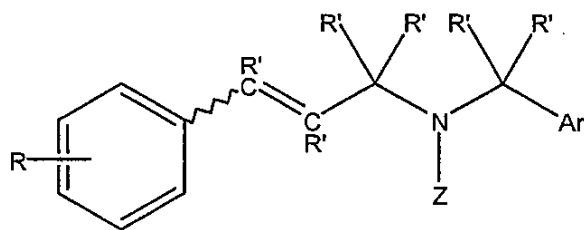
本発明の目的のために、化学元素は、元素周期表、CAS版、Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87, 内表紙に従って同定される。

【0075】

本発明の化合物

ある実施形態では、本発明の化合物は下記の化学式 A によって表される：

【化13】



A

【0076】

ここで、

Z は、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アラルキル、ヘテロアラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、ヘテロシクリル、 $-(CH_2)_n-R_{80}$ 、または固相担体への共有結合による連結鎖を表す；

Ar はアリールまたはヘテロアリールを表す；

R は存在しないかまたは 1、2、3、4、または 5 個存在する；

R は、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、ア

リールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R' は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R_{80} は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルを表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

A によって表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である；および

A によって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。

【0077】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、2 - メチルプロピル、ブチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、2 - (ピリド - 4 - イル)エチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表す。

【0078】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで A_r は、4 - アリルオキシフェニル、4 - プロピルオキシフェニル、2 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、4 - (トリフルオロメトキシ)フェニル、4 - メチルフェニル、4 - メトキシフェニル、4 - カルボキシフェニル、または 4 - フルオロフェニルを表す。

【0079】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで R は存在しない。

【0080】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで R' は H を表す。

【0081】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、2 - メチルプロピル、ブチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、2 - (ピリド - 4 - イル)エチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表し；さらに A_r は、4 - アリルオキシフェニル、4 - プロピルオキシフェニル、2 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、4 - (トリフルオロメトキシ)フェニル、4 - メチルフェニル、4 - メトキシフェニル、4 - カルボキシフェニル、または 4 - フルオロフェニルを表す。

【0082】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、2 - メチルプロピル、ブチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、2 - (ピリド - 4 - イル)エチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表し； A_r は、4 - アリルオキシフェニル、4 - プロピルオキシフェニル、2 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、4 - (トリフルオロメトキシ)フェニル、4 - メチルフェニル、4 - メトキシフェニル、4 - カルボキシフェニル

10

20

30

40

50

、または 4 - フルオロフェニルを表し;さらに R は存在しない。

【 0 0 8 3 】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、2 - メチルプロピル、ブチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル) メチル、2 - (ピリド - 4 - イル) エチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル) エチルを表し; A r は、4 - アリルオキシフェニル、4 - プロピルオキシフェニル、2 - アリルオキシフェニル、3 , 4 - (メチレンジオキシ) フェニル、4 - (トリフルオロメトキシ) フェニル、4 - メチルフェニル、4 - メトキシフェニル、4 - カルボキシフェニル、または 4 - フルオロフェニルを表し; R は存在せず;さらに R ' は H を表す。

10

【 0 0 8 4 】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造 A に記載の特定化合物は、1 μ M 未満の、より好ましくは 1 0 0 n M 未満の、さらに最も好ましくは 1 0 n M 未満の IC_{50} 値を有する。

【 0 0 8 5 】

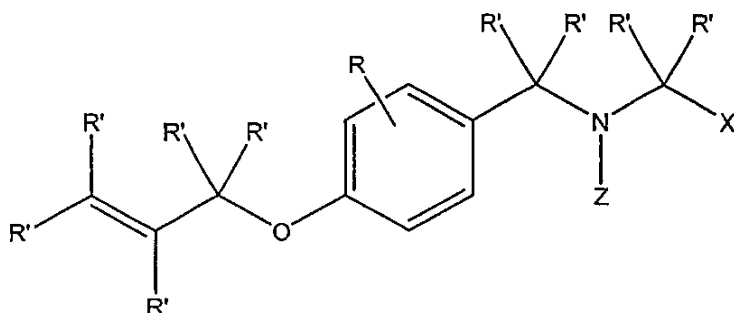
哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造 A に記載の、特定化合物は、1 μ M 未満の、より好ましくは 1 0 0 n M 未満の、さらに最も好ましくは 1 0 n M 未満の EC_{50} 値を有する。

【 0 0 8 6 】

20

ある実施形態では、本発明の化合物は以下の化学式 B によって表される：

【 化 1 4 】



B

30

【 0 0 8 7 】

ここで、

Z は、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アラキル、ヘテロアラキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、ヘテロシクリル、- (CH₂)_n - R₈₀、または固相担体への共有結合による連結鎖を表す；

X は、アリール、ヘテロアリール、(アリール) アルケニル、(ヘテロアリール) アルケニル、または - (CH₂)_n - R₈₀ を表す；

40

R は存在しないかまたは 1、2、3、または 4 個存在する；

R は、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラキル、ハロゲン、ヘテロアラキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または - (CH₂)_n - R₈₀ を表す；

R ' は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラキル、ヘテロアラキル、または - (CH₂)_n - R₈₀ を表す；

50

R_{80} は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルを表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

B で表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である；および

B によって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。

【0088】

ある実施形態では、本発明の化合物は B および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、エチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表す。

10

【0089】

ある実施形態では、本発明の化合物は B および付随する定義によって表され、ここで X は、2 - フェニルエチル、(E) - (2 - メトキシフェニル)CH = CH - 、4 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、(E) - (4 - メトキシフェニル)CH = CH - 、4 - フルオロフェニル、3, 4 - ジフルオロフェニル、または 4 - (トリフルオロメトキシ)フェニルを表す。

【0090】

ある実施形態では、本発明の化合物は B および付随する定義によって表され、ここで R は存在しない。

20

【0091】

ある実施形態では、本発明の化合物は B および付随する定義によって表され、ここで R' は H を表す。

【0092】

ある実施形態では、本発明の化合物は B および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、エチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表し；さらに X は、2 - フェニルエチル、(E) - (2 - メトキシフェニル)CH = CH - 、4 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、(E) - (4 - メトキシフェニル)CH = CH - 、4 - フルオロフェニル、3, 4 - ジフルオロフェニル、または 4 - (トリフルオロメトキシ)フェニルを表す。

30

【0093】

ある実施形態では、本発明の化合物は A および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、エチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、または 2 - (2 - フルオロフェニル)エチルを表し；X は、2 - フェニルエチル、(E) - (2 - メトキシフェニル)CH = CH - 、4 - アリルオキシフェニル、3, 4 - (メチレンジオキシ)フェニル、(E) - (4 - メトキシフェニル)CH = CH - 、4 - フルオロフェニル、3, 4 - ジフルオロフェニル、または 4 - (トリフルオロメトキシ)フェニルを表し；さらに R は存在しない。

40

【0094】

ある実施形態では、本発明の化合物は B および付随する定義によって表され、ここで Z は、2 - メトキシエチル、2 - ヒドロキシエチル、3 - メトキシプロピル、3 - ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、エチル、アリル、4 - ヒドロキシブチル、2 - ヒドロキシプロピル、(テトラヒドロフラン - 2 - イル)メチル、または 2

50

- (2-フルオロフェニル)エチルを表し; Xは、2-フェニルエチル、(E)-(2-メトキシフェニル)CH=CH-、4-アリルオキシフェニル、3,4-(メチレンジオキシ)フェニル、(E)-(4-メトキシフェニル)CH=CH-、4-フルオロフェニル、3,4-ジフルオロフェニル、または4-(トリフルオロメトキシ)フェニルを表し; Rは存在せず; さらにR'はHを表す。

【0095】

哺乳類アナンダミド輸送体に基づく測定法では、構造Bに記載の特定化合物は、1 μ M未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のIC₅₀値を有する。

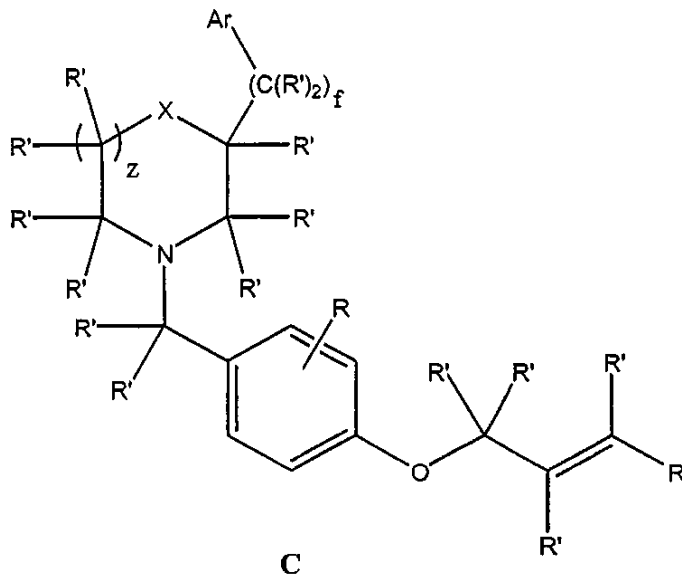
【0096】

哺乳類アナンダミド輸送体に基づく測定法では、構造Bに記載の、特定化合物は、1 μ M未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のEC₅₀値を有する。

【0097】

ある実施形態では、本発明の化合物は以下の化学式Cで表される：

【化15】



【0098】

ここで、

XはC(R')₂またはOを表す；

Arはアリールまたはヘテロアリールを表す；

Rは存在しないかまたは1、2、3、または4個存在する；

Rは、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または-(CH₂)_n-R₈₀を表す；

R'は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または-(CH₂)_n-R₈₀を表す；

R₈₀は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシリルを表す；

f は 1、2、または 3 を表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

z は 0、1、または 2 を表す；ただし z が 0 のとき、X は $C(R')$ である；

C で表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である；および

C によって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。

【0099】

ある実施形態では、本発明の化合物は C および付随する定義によって表され、ここで R は存在しない。

10

【0100】

ある実施形態では、本発明の化合物は C および付随する定義によって表され、ここで R' は H を表す。

【0101】

ある実施形態では、本発明の化合物は C および付随する定義によって表され、ここで R は存在せず；さらに R' は H を表す。

【0102】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造 C に記載の特定化合物は、 $1 \mu M$ 未満の、より好ましくは $100 nM$ 未満の、さらに最も好ましくは $10 nM$ 未満の IC_{50} 値を有する。

20

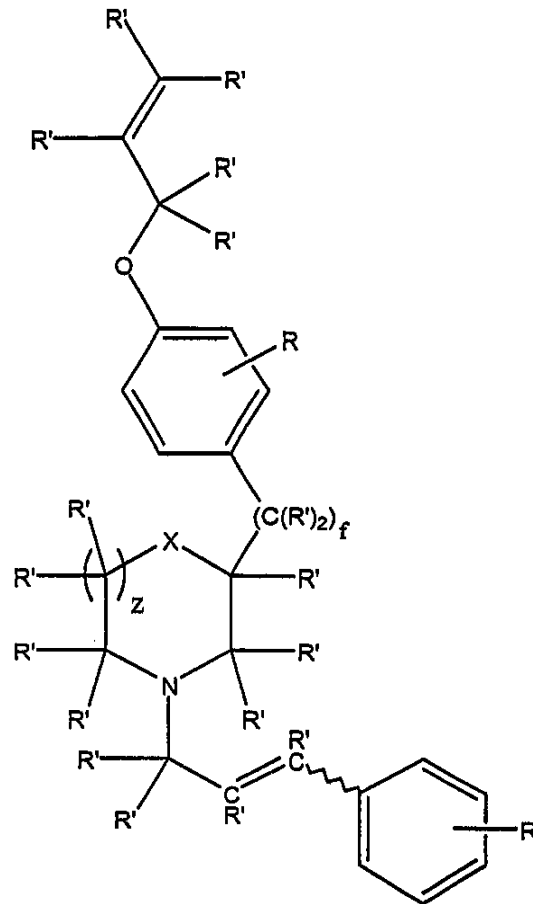
【0103】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造 C に記載の、特定化合物は、 $1 \mu M$ 未満の、より好ましくは $100 nM$ 未満の、さらに最も好ましくは $10 nM$ 未満の EC_{50} 値を有する。

【0104】

ある実施形態では、本発明の化合物は以下の化学式 D で表される：

【化 16】



D

【0105】

ここで、

Xは $C(R')_2$ またはOを表す；

Rは、各存在ごとに独立して、存在しないかまたは1、2、3、または4個存在する；

Rは、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R'は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R₈₀は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルを表す；

fは1、2、または3を表す；

nは、各存在ごとに独立して、0から8の範囲から選択される整数である；

zは0、1、または2を表す；ただしzが0のとき、Xは $C(R')_2$ である；

Dで表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である；および

Dによって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物で

ある。

【0106】

ある実施形態では、本発明の化合物はDおよび付随する定義によって表され、ここでRは存在しない。

【0107】

ある実施形態では、本発明の化合物はDおよび付随する定義によって表され、ここでR'はHを表す。

【0108】

ある実施形態では、本発明の化合物はDおよび付随する定義によって表され、ここでRは存在せず；さらにR'はHを表す。

10

【0109】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造Dに記載の、特定化合物は、1 μ M未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のIC₅₀値を有する。

【0110】

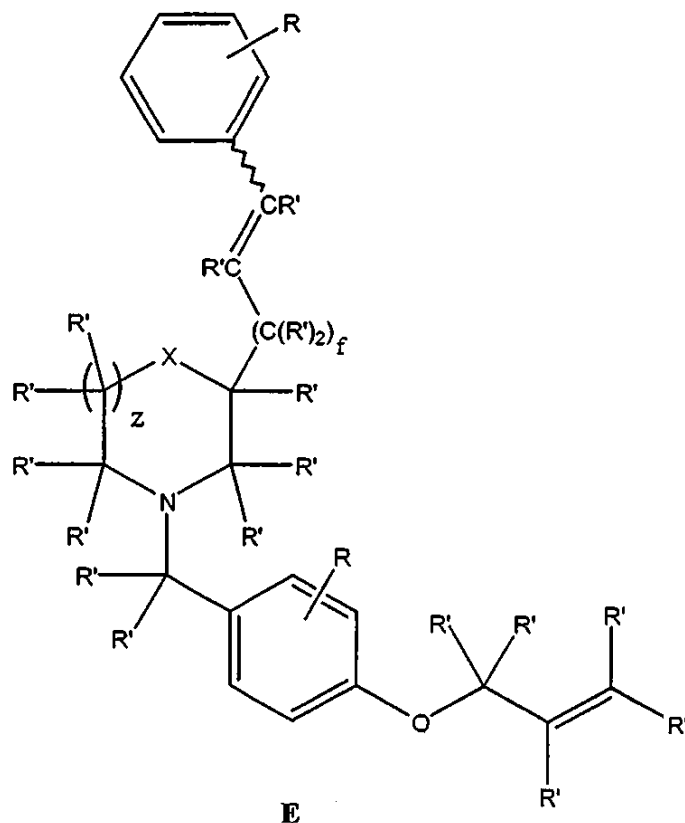
哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造Dに記載の、特定化合物は、1 μ M未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のEC₅₀値を有する。

【0111】

ある実施形態では、本発明の化合物は以下の化学式Eで表される：

20

【化17】



30

40

【0112】

ここで、

XはC(R')₂またはOを表す；

Rは、各存在ごとに独立して、存在しないかまたは1、2、3、または4個存在する；

Rは、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、

50

アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R' は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R_{80} は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルを表す；

f は 0 または 1 を表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

z は 0、1、または 2 を表す；ただし z が 0 のとき、 X は $C(R')_2$ である；

E で表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、 R 、 S 、またはその混合物である；および

E によって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、 E 、 Z 、またはその混合物である。

【0113】

ある実施形態では、本発明の化合物は E および付随する定義によって表され、ここで R は存在しない。

【0114】

ある実施形態では、本発明の化合物は E および付随する定義によって表され、ここで R' は H を表す。

【0115】

ある実施形態では、本発明の化合物は E および付随する定義によって表され、ここで R は存在せず；さらに R' は H を表す。

【0116】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造 E に記載の、特定化合物は、 $1\ \mu M$ 未満の、より好ましくは $100\ nM$ 未満の、さらに最も好ましくは $10\ nM$ 未満の IC_{50} 値を有する。

【0117】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造 E に記載の、特定化合物は、 $1\ \mu M$ 未満の、より好ましくは $100\ nM$ 未満の、さらに最も好ましくは $10\ nM$ 未満の EC_{50} 値を有する。

【0118】

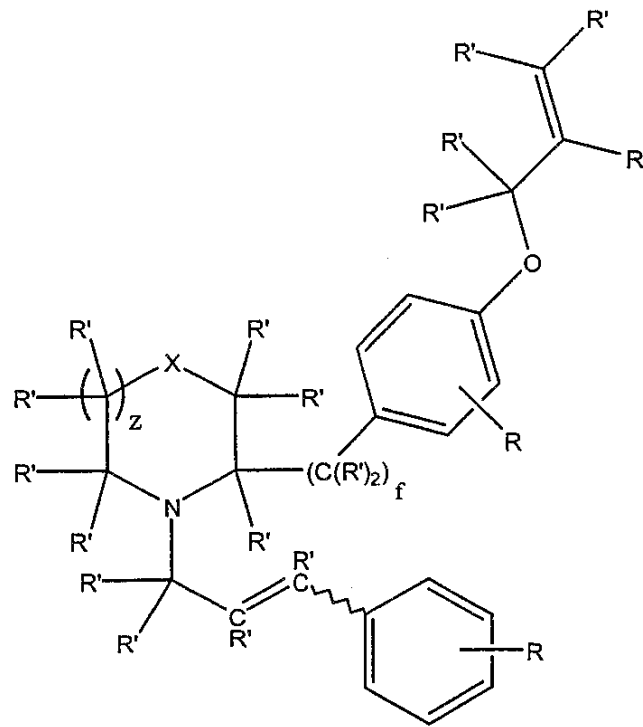
ある実施形態では、本発明の化合物は以下の化学式 F で表される：

10

20

30

【化 1 8】

**F**

【 0 1 1 9 】

ここで、

X は $C(R')$ または 0 を表す;

R は、各存在ごとに独立して、存在しないかまたは 1、2、3、または 4 個存在する；

R は、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R'は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または $-(CH_2)_n-R_{80}$ を表す；

R₈₀ は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルを表す；

f は 1、2、または 3 を表す；

n は、各存在ごとに独立して、0 から 8 の範囲から選択される整数である；

z は 0、1、または 2 を表す; ただし z が 0 のとき、 X は $C(R')$ である;

Fで表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である;および

Fによって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。

【 0 1 2 0 】

ある実施形態では、本発明の化合物はFおよび付随する定義によって表され、ここでRは存在しない。

【 0 1 2 1 】

ある実施形態では、本発明の化合物はFおよび付随する定義によって表され、ここでR'はHを表す。

【0122】

ある実施形態では、本発明の化合物はFおよび付随する定義によって表され、ここでRは存在せず；さらにR'はHを表す。

【0123】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造Fに記載の、特定化合物は、1 μM未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のIC₅₀値を有する。

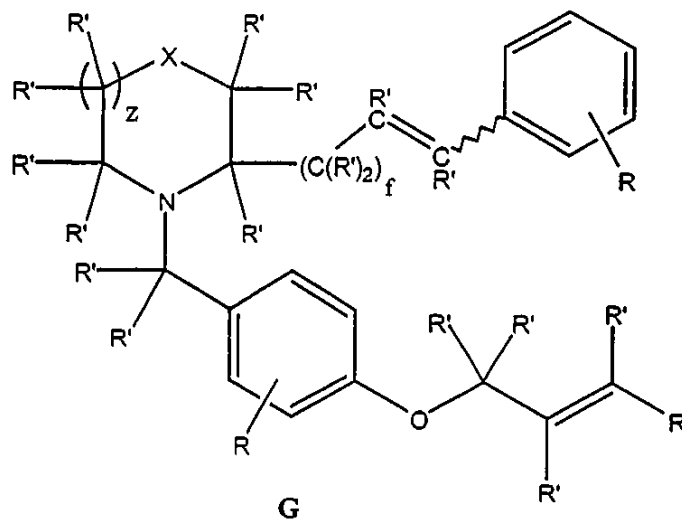
【0124】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造Fに記載の、特定化合物は、1 μM未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のEC₅₀値を有する。

【0125】

ある実施形態では、本発明の化合物は以下の化学式Gで表される：

【化19】



【0126】

ここで、

XはC(R')₂またはOを表す；

Rは、各存在ごとに独立して、存在しないかまたは1、2、3、または4個存在する；

Rは、各存在ごとに独立して、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ハロゲン、ヘテロアラルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、アルキルアミノ、カルボン酸、カルボキシアミド、ニトロソ、ニトロ、スルフヒドリル、アルキルチオ、チオアルキル、シリル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、ホルミル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、または-(CH₂)_n-R₈₀を表す；

R'は、各存在ごとに独立して、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、または-(CH₂)_n-R₈₀を表す；

R₈₀は、各存在ごとに独立して、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシリルを表す；

fは0または1を表す；

nは、各存在ごとに独立して、0から8の範囲から選択される整数である；

zは0、1、または2を表す；ただしzが0のとき、XはC(R')₂である；

Gで表される化合物中の立体中心における絶対立体配置は、R、S、またはその混合物である;および

Gによって表される化合物中のアルケニル部分の配置は、E、Z、またはその混合物である。

【0127】

ある実施形態では、本発明の化合物はGおよび付随する定義によって表され、ここでRは存在しない。

【0128】

ある実施形態では、本発明の化合物はGおよび付随する定義によって表され、ここでR'はHを表す。

【0129】

ある実施形態では、本発明の化合物はGおよび付随する定義によって表され、ここでRは存在せず;さらにR'はHを表す。

【0130】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造Gに記載の、特定化合物は、1 μ M未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のIC₅₀値を有する。

【0131】

哺乳類アナンドミド輸送体に基づく測定法では、構造Gに記載の、特定化合物は、1 μ M未満の、より好ましくは100 nM未満の、さらに最も好ましくは10 nM未満のEC₅₀値を有する。

【0132】

ある実施形態では、本発明は、上記で概説した構造のうち任意のもので表される化合物であって、ここで前記化合物が単一の立体異性体であるものに関する。

【0133】

ある実施形態では、本発明は、上記で概説した構造のうち任意のもので表される化合物;および医薬的に許容される賦形剤を含む製剤に関する。

【0134】

ある実施形態では、本発明は哺乳類アナンドミド輸送体に対するリガンドに関するが、ここでそのリガンドは、上記で概説した構造のうち任意のもの、およびそれらの構造のうちの一つに付随する定義の組のうち任意のものによって表される。ある実施形態では、本発明の化合物は、哺乳類アナンドミド輸送体のアンタゴニストまたはアゴニストである。いずれにしても、本発明の化合物は好ましくは、哺乳類アナンドミド輸送体に対する効果を、約1 μ M未満の濃度で、より好ましくは約100 nM未満の濃度で、さらに最も好ましくは10 nM未満の濃度で発揮する。

【0135】

本発明は、本発明の化合物を含む医薬製剤を検討する。ある実施形態では、その医薬製剤は哺乳類アナンドミド輸送体を選択的に作用する本発明の化合物を含み、それによって、哺乳類アナンドミド輸送体を伴う生化学または生理的過程が少なくとも一部原因である急性または慢性の病気、疾患、または弊害に対して治療効果を有する。たとえば、背景技術(上記参照)は、哺乳類アナンドミド輸送体を伴う生化学または生理的過程によって引き起こされるかまたは悪化する急性または慢性の病気、疾患、または弊害の例を示す。当業者は、科学文献を参照することにより、哺乳類アナンドミド輸送体を伴う生化学または生理的過程によって引き起こされるかまたは悪化する急性または慢性の病気、疾患、または弊害のより包括的な一覧を蓄積することができる。本発明は、本発明の化合物を含む医薬製剤が、前述の急性または慢性の病気、疾患、または弊害に対して薬理効果を有することを考えている。

【0136】

ある実施形態では、本発明は、喘息、神経障害性疼痛、持続痛、炎症性疼痛、多動、高血圧、脳虚血、パーキンソン病、痙縮、トゥーレット症候群、統合失調症、出血性ショッ

10

20

30

40

50

ク、敗血性ショック、心臓ショック、偏頭痛、ホートン頭痛、多発性硬化症、拒食症、AIDS、消耗症候群、臓器拒絶、自己免疫疾患、アレルギー、関節炎、クローン病、悪性神経膠腫、神経変性疾患、ハンチントン舞蹈病、緑内障、吐き気、不安症、精神疾患、注意欠陥多動性障害、早漏、または卒中に罹患した哺乳類の、前記哺乳類に治療的効果量の本発明の化合物を投与することを含む、治療方法に関する。

【0137】

本発明の治療方法は、予防的、治療的、または治癒的であってよい。本発明の治療方法が、個体が疾患または障害の何らかの臨床兆候または症状を示す前に実施される場合、それらは予防的であると考えられる。予防的治療は、たとえば、疾患または障害を有することが疑われる個体、あるいは疾患または障害を発症するリスク高いことが疑われる個体について実施することができる。いくつかの実施形態では、予防的方法是、望ましくない血管収縮によって特徴づけられる疾患または障害を発症するリスクを低下させるかまたは消失させる。いくつかの実施形態では、予防的方法是、望ましくない炎症によって特徴づけられる疾患または障害を発症するリスクを低下させるかまたは消失させる。いくつかの実施形態では、予防的方法是、望ましくない痛みによって特徴づけられる疾患または障害を発症するリスクを低下させるかまたは消失させる。いくつかの実施形態では、予防的方法是、望ましくない臓器機能障害によって特徴づけられる疾患または障害を発症するリスクを低下させるかまたは消失させる。

10

【0138】

本発明の治療方法が疾患または障害の少なくとも一の臨床兆候または症状をすでに示している個体を実施される場合、その方法は治療的または治癒的であり得る。本発明の治療的方法是、疾患または障害の少なくとも一の症状における検出可能な変化を結果として生じる方法である。好ましくは、その検出可能な変化は、症状の改善である。いくつかの実施形態では、治療的方法是、望ましくない血管収縮を低下させるかまたは消失させる。いくつかの実施形態では、本発明の治療的方法是、望ましくない炎症を低下させるかまたは消失させる。いくつかの実施形態では、本発明の治療的方法是、望ましくない痛みを低下させるかまたは消失させる。いくつかの実施形態では、治療的方法是、望ましくない臓器機能障害を低下させるかまたは消失させる。

20

【0139】

治癒的方法是、疾患または障害の少なくとも一の症状の消失を結果として生じる治療的方法である。好ましくは、治癒的方法是、疾患または障害の原因を消失させる。いくつかの実施形態では、治癒的方法是、望ましくない血管収縮を消失させる。いくつかの実施形態では、治癒的方法是、望ましくない炎症を消失させる。いくつかの実施形態では、治癒的方法是、望ましくない痛みを消失させる。いくつかの実施形態では、治癒的方法是、望ましくない臓器機能障害を消失させる。

30

【0140】

いくつかの実施形態では、本発明の治療方法は、意図される結果をもたらすのに十分な量で、本発明の化合物を個体に投与することを含む。たとえば、いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、血管緊張を調節するのに十分な量で；炎症を調節するのに十分な量で；感覚神経活性を調節するのに十分な量で；鎮痛を達成するのに十分な量で；および/または臓器機能を調節するのに十分な量で投与される。いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、治療されている疾患、障害、または症状における検出可能な変化を達成するのに十分な量で個体に投与される。その変化は、治療された個体の全身にわたるかまたは、治療された個体の特定の部位内または体表上の変化であり得る。したがって、本発明の治療方法は、全身治療および局所治療を含む。

40

【0141】

本発明の治療方法は、個体への単回投与、または複数回投与を含んでいてよい。治療および投与の計画は、本分野でよく知られていて広く用いられているものに従って計画および実施することができる。個々の治療計画は、治療を受ける個体および、関与する疾患、障害、および/または症状に合わせて作成することができると考えられる。しかし、その

50

ような個別のオーダーメイドは十分に当業者の技術範囲内であり、必要以上のまたは過剰な実験を含まない。

【0142】

本発明はまた、哺乳類アナンダミド輸送体の活性に影響を及ぼす本発明の化合物を含むキットを提供する。いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、キットの唯一の成分としてキットで提供される。いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、組成物の一部として存在する。いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、別の化合物、溶液、またはそこに含まれる化合物および/または組成物の使用のために必要であるかまたは望ましい器具と組み合わせて提供される。このように、本発明のキットは、すべての必要な化合物、溶液、ならびにそこに含まれる化合物および組成物の個体への投与のための用具を含んでいてよく、またはそのキットは本発明の化合物の *in vitro* での使用のために設計することができる。

10

【0143】

細胞受容体での生化学活性、およびその活性を検出するための測定法

試薬を試料に添加し、試料および試薬の測定を行って、試薬によって刺激された試料の特性を測定する、測定の過程は本分野でよく知られている。たとえば、そのような測定過程の一つは、発色測定法において生物試料または溶液中に存在する酵素の量を測定することに関する。そのような測定法は、反応溶液中の有色物質の生成に基づく。反応は、酵素が無色の発色基質の有色の産物への変換を触媒する際に起こる。

【0144】

20

本発明において有用であるもう一つの反応は、本分野でよく知られている放射性リガンド結合測定法といわれる技術を利用する、リガンドが生物学的受容体へ結合する能力の測定に関する。この測定法は、標的受容体への放射性リガンドの特異的結合を、その総結合成分と非特異的結合成分の線引きによって正確に特定する。総結合は、受容体調製物（細胞ホモジネートまたは再構成受容体）中に結合した放射性リガンドの、結合していないものからの迅速分離後に残る放射性リガンドの量と定義される。非特異的結合成分は、受容体、放射性リガンド、および過剰量の非標識リガンドから成る反応混合物の分離後に残る放射性リガンドの量と定義される。この条件下で、残っている放射性リガンドだけが、受容体以外の成分に結合しているものを表す。結合している特異的放射性リガンドは、総放射能結合から非特異的結合を引くことによって決定される。 μ オピオイド受容体についての放射性リガンド結合測定法の具体的な例に関しては、Wang, J. B. et al. FEBS Letters 1994, 338, 217を参照。

30

【0145】

本発明において有用である測定法は、活性化がその後の細胞内現象を開始し、その中でカルシウムイオンの細胞内蓄積が二次メッセンジャーとしての用途のために放出される、受容体の活性を測定することに関する。一部のGタンパク質結合型受容体の活性化は、イノシトール三リン酸（IP3、Gタンパク質結合型受容体二次メッセンジャー）の生成を、ホスファチジルイノシトールのホスホリパーゼC媒介加水分解を介して促進する（Berridge and Irvine (1984); Nature 312: 315-21）。IP3は、次に細胞内カルシウムイオン蓄積の放出を促進する。

40

【0146】

細胞内蓄積からのカルシウムイオンの放出によって生じる細胞質カルシウムイオンレベルの変化は、Gタンパク質結合型受容体機能を測定するのに用いられる。これは別の種類の間接的測定法である。Gタンパク質結合型受容体の中には、ムスカリン性アセチルコリン受容体（mAChR）、アドレナリン作動性受容体、シグマ受容体、セロトニン受容体、ドーパミン受容体、アンギオテンシン受容体、アデノシン受容体、ブラジキニン受容体、代謝調節型興奮性アミノ酸受容体などがある。そのようなGタンパク質結合型受容体を発現している細胞は、細胞内蓄積およびイオンチャンネルの活性化経路の両方からの寄与の結果として、細胞質カルシウムレベルの上昇を示し得るが、その場合は、内部蓄積からのカルシウム放出の結果として生じる蛍光反応を区別するため、必要に応じてEGTAの

50

ようなキレート剤を含む、カルシウムを含まない緩衝液中でそのような測定法を実施するのが、必要ではないが好ましい。別の種類の間接的測定法は、活性化された際に結果として細胞内環状ヌクレオチド、たとえば、cAMP、cGMPのレベルに変化を生じる、受容体の活性を測定することを含む。たとえば、一部のドーパミン、セロトニン、代謝調節型グルタミン酸受容体、およびムスカリン性アセチルコリン受容体の活性化は、細胞質のcAMPまたはcGMPレベルの低下を結果として生じる。

【0147】

さらに、cAMPまたはcGMPの結合による活性化の際に陽イオンが透過可能になる、環状ヌクレオチド作動性イオンチャンネル、たとえば、桿光受容体細胞チャンネルおよび嗅神経細胞チャンネルがある[Altenhofen, W. et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88: 9868-9872およびDhallan et al. (1990) Nature 347: 184-187]。受容体または嗅神経細胞チャンネルの環状ヌクレオチド活性化の量における変化によって引き起こされる細胞質イオンレベルの変化は、活性化された際にcAMPまたはcGMPレベルに変化を引き起こす受容体の機能を測定するのに用いられる。受容体の活性化が環状ヌクレオチドレベルの低下を結果として生じる場合は、測定法において細胞に受容体活性化化合物を加える前に、たとえばフォルスコリンといった、細胞内環状ヌクレオチドレベルを上昇させる物質に細胞を曝露することが好ましい。この種類の測定法用の細胞は、環状ヌクレオチド作動性イオンチャンネルをコードするDNAおよび受容体（たとえば、特定の代謝調節型グルタミン酸受容体、ムスカリン性アセチルコリン受容体、ドーパミン受容体、セロトニン受容体など、活性化された際に細胞質中の環状ヌクレオチドレベルの変化を引き起こすもの、をコードするDNAを用いた宿主細胞の同時遺伝子導入によって作製することができる。

【0148】

たとえば作動性カルシウムチャンネルを開くことによって活性化の際にカルシウムの細胞内濃度を直接上昇させるか、または、たとえば二次メッセンジャーとして Ca^{2+} を利用する反応を開始させることによって細胞内カルシウムの濃度に間接的に影響を与えることができる受容体タンパク質（たとえばGタンパク質結合型受容体）を発現している任意の細胞は、測定法の基礎を形成することができる。そのような受容体またはイオンチャンネルを内生的に発現している細胞、および、一種類以上のそのような細胞表面タンパク質をコードする適当なベクターを用いて遺伝子導入することができる細胞は、当業者に既知であるかまたは当業者によって同定され得る。内因性イオンチャンネルおよび/または受容体活性を発現する任意の細胞を本質的には用いることができるが、単一の種類のイオンチャンネルまたは受容体を主に発現するように、そのようなイオンチャンネルおよび/または受容体をコードする異種DNAを用いて形質転換または遺伝子導入された細胞を用いることが好ましい。異種細胞表面タンパク質を発現するように遺伝子組み換えされ得る多数の細胞が既知である。そのような細胞は、ベビーハムスター腎（BHK）細胞（ATCC No. CCL10）、マウスL細胞（ATCC No. CCL1.3）、DG44細胞[Chasin (1986) Cell. Molec. Genet. 12: 555を参照]ヒト胚性腎（HEK）細胞（ATCC No. CRL1573）、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（ATCC Nos. CRL9618、CCL61、CRL9096）、PC12細胞（ATCC No. CRL1721）、およびCOS-7細胞（ATCC No. CRL1651）を含むがこれらに限定されない。異種細胞表面タンパク質発現用に好ましい細胞は、容易におよび効率的に遺伝子導入することができるものである。好ましい細胞は、米国特許第5,024,939号に開示されたもののような、HEK293細胞を含む。

【0149】

目的のイオンチャンネルまたは受容体を活性化することが知られている任意の化合物を、測定法を開始するのに用いることができる。適当なイオンチャンネル活性化試薬または受容体活性化試薬を、目的のイオンチャンネルまたは受容体に応じて選択することは、本分野の技術範囲内である。カルシウムチャンネル活性を測定するための、細胞膜の直接的脱分極化は、細胞を含むウェルにおけるカリウムイオンの終濃度が約50～150mMの範囲内になるような、特定濃度のカリウムイオンを含むカリウム塩溶液を添加することに

よって達成できる（たとえば、50 mM KCl）。リガンド作動性受容体およびリガンド作動性イオンチャンネルに関しては、そのような受容体に対して親和性を有しかつそれを活性化するリガンドが知られている。たとえば、ニコチン性アセチルコリン受容体はニコチンまたはアセチルコリンによって活性化されることが知られている；同様に、ムスカリン性およびアセチルコリン受容体は、ムスカリンまたはカルバミルコリンの添加によって活性化され得る。

【0150】

アゴニスト測定法は、ある化合物が目的のイオンチャンネルまたは受容体の活性化または増強に対して、もしあればどのような効果を有するかを調べるために、イオンチャンネルおよび/または受容体を有することが知られている細胞において実施することができる。アゴニスト測定法はまた、ある細胞がそれぞれ目的の機能性のイオンチャンネルまたは受容体を発現しているかどうかを調べるために、イオンチャンネル活性化能力または受容体活性化能力を有することが知られている試薬を用いて実施することができる。

【0151】

機能性の受容体またはイオンチャンネルをアゴニストと接触させることは、典型的には一過性の反応を活性化する；およびアゴニストへの長時間の曝露は、受容体またはイオンチャンネルを、その後の活性化に対する感受性を低下させ得る。したがって、一般に、イオンチャンネルまたは受容体の機能を調べるための測定法は、アゴニストの添加（すなわち、反応を開始するため、使用する試薬溶液に）によって開始すべきである。アゴニスト活性を有する化合物の効果は、同一の細胞、または、アゴニストを欠く試薬（すなわち対照）がウェルに加えられることを除いて実質的に同一に処理された実質的に同一な細胞のどちらかにおける、その観測可能因子のレベルと比較して、細胞中の特定の観測可能因子の検出された変化（典型的には増加、しかし特定の受容体の活性化は減少を引き起こす）によって特定される。アゴニスト測定法が、ある細胞が目的の機能性の受容体またはイオンチャンネルを発現しているかどうかを調べるために実施される場合、被験細胞を含むウェルにおよび対照細胞（その特定の受容体またはイオンチャンネルを欠く、実質的に同一な細胞）を含むウェルに既知のアゴニストを添加し、観察可能因子のレベルを比較する。測定法に応じて、目的のイオンチャンネルおよび/または受容体を欠く細胞は、その既知のアゴニストに反応した観測可能因子の増加を実質的に示さない。実質的に同一の細胞は、組み換え細胞が作製された同一の細胞であるが異種DNAの導入によって改変されていない細胞に由来するものであってよい。または、実質的に同一の細胞は、その特定の受容体またはイオンチャンネルが除去された細胞であってもよい。観察可能因子のレベルにおける何らかの統計的に有意なまたはその他の有意な差は、被験化合物がその特定の受容体またはイオンチャンネルの活性を何らかの方法で変化させていること、または、被験細胞がその特定の受容体またはイオンチャンネルを有することを示唆する。

【0152】

目的のイオンチャンネルまたは受容体を調節する能力を有する化合物を特定するための医薬スクリーニング測定法の一例では、個々のウェル（または二連のウェル、など）は、異なる細胞型、または目的の受容体またはイオンチャンネルの均一な集団を発現している異なる組み換え細胞株を含み、それによって、未同定の活性を有する化合物をスクリーニングしてそれが一以上の様々な機能性イオンチャンネルまたは受容体に関して調節活性を有するか否かを調べることができる。また、個々のウェルのそれぞれが同一の細胞型を含み、それによって一つ特定の受容体またはイオンチャンネルの種類に関する調節活性について、複数の化合物（装置内の別々の試薬供給元から得られるかまたは別々のウェルに含まれる）をスクリーニングおよび比較することができることも考えられている。

【0153】

医薬スクリーニング測定法を含むアンタゴニスト測定法は、化合物が受容体および/またはイオンチャンネルに結合するのに十分な時間（化合物が目的のイオンチャンネルおよび/または受容体に対する親和性を有する程度）、マイクロタイタープレートの各ウェル中の細胞を入れた溶液に添加した一種類以上の化合物の存在下または非存在下で、機能性

のイオンチャンネルおよび/または受容体を有する細胞をインキュベートし、次いで既知のアゴニストの添加によってイオンチャンネルまたは受容体を活性化し、さらに、同一の細胞または実質的に同一の細胞のいずれかにおけるそのアンタゴニスト候補の非存在下での観測因子のレベルと比較して、アゴニストを添加した細胞中の観測可能因子のレベルを測定することによって実施することができる。

【0154】

それらの測定法はこのように、化合物を迅速にスクリーニングして、細胞中の何らかの受容体またはイオンチャンネルを調節するものを同定するのに有用である。特に、それらの測定法は、リガンド作動性イオンチャンネル、電圧作動性イオンチャンネル、Gタンパク質結合型受容体、および増殖因子受容体を含む細胞受容体について、リガンド-受容体相互作用またはリガンド-イオンチャンネル相互作用を調べるのに用いることができる。

10

【0155】

当業者は、測定法が、差別的特性を有することが可能な化合物において細胞現象に反応してその特性を変化させる細胞現象の結果として生じる溶液の検出可能な変化を測定することを包含し得ることを認識する。細胞現象の発生に際して差別的特性を有することが可能な特定の化合物を選択することによって、さまざまな測定法を実施することができる。たとえば、化合物が細胞傷害または細胞死を誘導する能力を調べる測定法は、BCECF (Molecular Probes, Inc., Eugene, Oreg. 97402, Catalog#B1150) のようなpH感受性蛍光指示薬を細胞に加え、細胞傷害または細胞死を時間の経過に伴う蛍光の変化の関数として測定することによって実施できる。

20

【0156】

有用な測定法の別の一例では、細胞質の環状ヌクレオチドレベルにおける変化が活性化の結果として生じる受容体の機能は、そのような受容体を発現し、またcAMPの結合に際して蛍光が変化する蛍光性化合物を注入されている細胞の測定法において直接測定することができる。その蛍光性化合物は、触媒サブユニットおよび調節サブユニットがそれぞれ別の蛍光色素で標識されているcAMP依存性タンパク質キナーゼを含む[Adams et al. (1991) Nature 349: 694-697]。cAMPが調節サブユニットと結合する際、蛍光放出スペクトルが変化する;この変化は、cAMP濃度における変化の指標として用いることができる。

【0157】

30

二個の神経細胞の間の接点にあるシナプス間隙に存在する特定の神経伝達物質輸送体の機能は、そのような神経細胞の細胞質において、アミノ酸および蛍光指示薬の結合物(結合物の蛍光試薬はアセトキシメチルエステル誘導体、たとえば5-(アミノアセトアミド)フルオレセインである; Molecular Probes, Catalog#A1363)がその神経伝達物質輸送体によってその細胞の細胞質へ輸送され、そこでエステル基がエステラーゼ活性によって切断され結合物が蛍光性となるときに、蛍光の発色によって測定することができる。

【0158】

この種類の測定法の実施において、レポーター遺伝子構造は真核細胞に挿入され、特定の種類の細胞表面タンパク質が表面に存在する組み換え細胞を生じる。細胞表面受容体は、内因性に発現され得るかまたは、細胞に導入された異種遺伝子から発現され得る。異種DNAを真核細胞へ導入するための方法は本分野でよく知られており、任意のそのような方法を用いることができる。加えて、さまざまな細胞表面タンパク質をコードするDNAは当業者に既知であり、または、それは方法当業者に既知である任意の方法によってクローニングすることができる。

40

【0159】

組み換え細胞を被験化合物と接触させ、レポーター遺伝子発現のレベルを測定する。接触は任意の媒体中で行うことができ、試験は当業者に既知である特定の分子相互作用を評価するための、たとえば段階希釈といった任意の手順を用いて行うことができる。組み換え細胞を、何らかの相互作用を生じるのに十分な時間接触させた後、遺伝子発現のレベルを測定する。そのような相互作用を達成するための時間の長さは、たとえば時間的経過を

50

追って転写のレベルを時間の関数として測定することにより、実験的に決定することができる。転写の量は、適当であることが当業者に既知である任意の方法を用いて測定することができる。たとえば、特定のmRNA発現はノーザンブロットを用いて検出することができ、または、特定のタンパク質産物は特徴的な染色によって同定することができる。転写の量は、同一の細胞における被験化合物の非存在下での転写の量、またはその特定受容体を欠く実質的に同一の細胞における転写の量と比較される。実質的に同一の細胞は、組み換え細胞が作製された同一の細胞であるが異種DNAの導入によって改変されていないものに由来する。または、実質的に同一の細胞は、その特定の受容体が除去された細胞である。転写の量における何らかの統計的に有意なまたはその他の有意な差は、被験化合物がその特定の受容体の活性を何らかの方法で変化させていることを示唆する。

10

【0160】

被験化合物が細胞表面タンパク質の活性を促進、活性化、または誘導しないように見える場合は、その特定の受容体の既知のアゴニストまたは活性化因子が転写を活性化する能力についてその組み換え細胞を最初に試験する段階を導入することによって、測定を繰り返しさらに改変することができ、転写が誘導されるならば、アゴニストの活性を阻害、遮断、またはその他影響を与える能力について被験化合物を試験する。

【0161】

転写に基づく測定法は、活性が最終的に遺伝子発現を変化させる何らかの細胞表面タンパク質と相互作用する化合物を特定するために有用である。特に、その測定法は、リガンド作動性イオンチャンネルおよび電圧作動性イオンチャンネル、およびGタンパク質結合型受容体を含むいくつかの種類の細胞表面局在受容体に関して機能性のリガンド-受容体相互作用またはリガンド-イオンチャンネル相互作用を試験するのに用いることができる。

20

【0162】

目的の細胞表面タンパク質を、そのようなタンパク質が細胞内に細胞外シグナルを伝達するように機能する態様で発現することができる、遺伝子導入が可能な任意の細胞を使用することができる。細胞表面タンパク質を内因性に発現するかまたはそうするように遺伝子組み換えされているように細胞を選択することができる。多数のそのような細胞が当業者に既知である。そのような細胞は、Ltk<->細胞、PC12細胞、およびCOS-7細胞を含むがそれらに限定されない。

30

【0163】

受容体またはイオンチャンネルおよびレポーター遺伝子発現構造を発現し、化合物を活性について試験するのに有用である細胞の調製は、I型ヒトムスカリン性(HM1)受容体を発現し、さらにac-fosプロモーター-CATレポーター遺伝子発現構造またはc-fosプロモーター-ルシフェラーゼレポーター遺伝子発現構造のどちらかを用いて形質転換された哺乳類Ltk<->およびCOS-7細胞株を参照することにより、ここに示した実施例で例示されている。

【0164】

当業者に既知であるかまたは当業者によって同定され得る任意の細胞表面タンパク質を本測定法に用いることができる。その細胞表面タンパク質は、選択された細胞上で内因性に発現され得るかまたは、クローニングされたDNAから発現され得る。典型的な細胞表面タンパク質は、細胞表面受容体およびイオンチャンネルを含むがこれらに限定されない。細胞表面受容体は、ムスカリン性受容体(たとえばヒトM2(GenBank登録番号;M16404);ラットM3(GenBank登録番号;M16407);ヒトM4(GenBank登録番号;M16405);ヒトM5(Bonner et al. (1988) Neuron 1: 403-410);など);神経細胞ニコチン性アセチルコリン受容体(たとえば、参照によって全体が明示的に本開示に含まれる米国特許出願第504,455号(1990年4月3日出願)で開示される、2、3、および2サブタイプ;ラット2サブユニット(Wada et al. (1988) Science 240: 330-334);ラット3サブユニット(Boulter et al. (1986) Nature 319: 368-374);ラット4サブユニット(Goldman et al. (1987) cell 48: 965-973);

40

50

ラット 5 サブユニット (Boulter et al. (1990) J. Biol. Chem. 265: 4472-4482); ラット 2 サブユニット (Deneris et al. (1988) Neuron 1: 45-54); ラット 3 サブユニット (Deneris et al. (1989) J. Biol. Chem. 264: 6268-6272); ラット 4 サブユニット (Duvoisin et al. (1989) Neuron 3: 487-496); ラット サブユニット、サブユニット、および および サブユニットの組み合わせ; G A B A 受容体 (たとえば、ウシ 1 および 1 サブユニット (Schofield et al. (1987) Nature 328: 221-227); ウシ 2 および 3 サブユニット (Levitan et al. (1988) Nature 335: 76-79); サブユニット (Pritchett et al. (1989) Nature 338: 582-585); 2 および 3 サブユニット (Ymer et al. (1989) EMBO J. 8: 1665-1670); サブユニット (Shivers, B. D. (1989) Neuron 3: 327-337); など); グルタミン酸受容体 (たとえば、ラット脳から単離された受容体 (Hollmann et al. (1989) Nature 342: 643-648); など); アドレナリン作動性受容体 (たとえば、ヒト 1 (Friele et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. 84.: 7920-7924); ヒト 2 (Kobilka et al. (1987) Science 238: 650-656); ハムスター 2 (Dixon et al. (1986) Nature 321: 75-79); など); ドーパミン受容体 (たとえば、ヒト D 2 (Stormann et al. (1990) Molec. Pharm. 37: 1-6); ラット (Bunzow et al. (1988) Nature 336: 783-787); など); N G F 受容体 (たとえば、ヒト N G F 受容体 (Johnson et al. (1986) Cell 47: 545-554); など); セロトニン受容体 (たとえば、ヒト 5 H T 1 a (Kobilka et al. (1987) Nature 329: 75-79); ラット 5 H T 2 (Julius et al. (1990) PNAS 87: 928-932); ラット 5 H T 1 c (Julius et al. (1988) Science 241: 558-564); など) を含むがこれらに限定されない。

10

20

【 0 1 6 5 】

レポーター遺伝子構造は、レポーター遺伝子を少なくとも一の転写調節配列と調節可能に結合させることによって調製する。転写調節配列が一個だけ含まれる場合は、それは調節可能なプロモーターでなければならない。選択された転写調節配列のうち少なくとも一個は、選択された細胞表面受容体の活性によって間接的にまたは直接的に調節されなければならない、それによって受容体の活性は、レポーター遺伝子の転写を介して監視することができる。

【 0 1 6 6 】

その構造は、F I R E 配列のような追加の転写調節配列、または、必ずしも細胞表面タンパク質によって調節されないがバックグラウンドレベル転写を低下させるかまたは導入されたシグナルを増幅する能力について選択されたそれによって測定法の感度および信頼性を向上させるその他の配列を含んでいてよい。

30

【 0 1 6 7 】

多数のレポーター遺伝子および転写調節配列が当業者に既知であり、また、その他のものは当業者に既知である方法によって同定または合成することができる。

【 0 1 6 8 】

レポーター遺伝子は、R N A またはタンパク質であることができる検出可能な遺伝子産物を発現する任意の遺伝子を含む。好ましいレポーター遺伝子は、容易に検出可能なものである。レポーター遺伝子はまた、目的の転写調節配列を含むかまたはその他の望ましい性質を示す遺伝子との融合遺伝子の形で構造内に含まれ得る。

40

【 0 1 6 9 】

レポーター遺伝子の例は、C A T (クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ) (Alton and Vapnek (1979), Nature 282: 864-869) ルシフェラーゼ、およびその他の酵素検出系、たとえばガラクトシダーゼ; ホタルルシフェラーゼ (deWet et al. (1987), Mol. Cell. Biol. 7: 725-737); 細菌ルシフェラーゼ (Engebrecht and Silverman (1984), PNAS 1: 4154-4158; Baldwin et al. (1984), Biochemistry 23: 3663-3667); アルカリホスファターゼ (Toh et al. (1989) Eur. J. Biochem. 182: 231-238, Hall et al. (1983) J. Mol. Appl. Gen. 2: 101) といったものを含むがこれらに限定されない。

【 0 1 7 0 】

50

転写調節配列は、プロモーター、エンハンサー、およびリプレッサーおよび活性化因子結合部位を含むがそれらに限定されない。適当な転写調節配列は、細胞表面タンパク質と細胞表面タンパク質の活性を調節するエフェクタータンパク質との間の一般的に数分間の接触で発現が迅速に誘導される遺伝子の転写調節領域に由来するものでよい。そのような遺伝子の例は、*c-fos*のような前初期遺伝子 (Sheng et al. (1990) Neuron 4: 477-485を参照) を含むがそれらに限定されない。前初期遺伝子は、細胞表面タンパク質へのリガンドの結合に際して迅速に誘導される遺伝子である。その遺伝子構造における使用に好ましい転写調節配列は、前初期遺伝子由来の転写調節配列、前初期遺伝子の性質の一部またはすべてを示す別の遺伝子に由来する配列、または、調節可能な結合中の遺伝子があるような特性を示すように構成された合成配列を含む。転写調節配列を得る好ましい遺伝子の特徴として、休止期の細胞での低発現または発現検出不能、細胞外刺激の数分間以内の転写レベルでの迅速な誘導、一過性でタンパク質合成とは独立した誘導、その後の転写停止が新しいタンパク質合成を必要とすること、および、これらの遺伝子から転写された mRNA の半減期が短いことが挙げられるが、それらに限定されない。これらのすべての性質が存在する必要はない。

【0171】

医薬組成物

別の態様では、本発明は、一種類以上の医薬的に許容される担体 (添加剤) および / または希釈剤と共に製剤化された、一種類以上の上記の化合物の治療的効果量を含む、医薬的に許容される組成物を提供する。下記に詳細に示す通り、本発明の医薬組成物は、以下に記載のように適合させたものを含む、固体または液体の形態での投与のために特に製剤化することができる: (1) 経口投与、たとえば、水薬 (水性または非水性液剤または懸濁剤)、錠剤、たとえば、口腔、舌下、および全身吸収を目的とするもの、ボラス、散剤、顆粒剤、舌への投与用のペースト; (2) 非経口投与、たとえば皮下、筋肉内、静脈内または硬膜外注射によって、たとえば、滅菌液剤または懸濁剤、または徐放性製剤として; (3) 局所使用、たとえば、皮膚に使用するクリーム、軟膏、または徐放性パッチまたはスプレーとして; (4) 腔内にまたは直腸内に、たとえば、ペッサリー、クリーム、または泡として; (5) 舌下に; (6) 眼に; (7) 経皮で; または (8) 経鼻で。

【0172】

ここで用いられる「治療的効果量」の語句は、本発明の化合物を含む化合物、材料、または組成物が、任意の医療処置に適用可能な合理的な利益 / リスク比で、少なくとも、動物の中の細胞の部分集団においていくらかの目的の治療効果を生じるために有効である量を意味する。

【0173】

「医薬的に許容される」の語句はここでは、健全な医療上の判断の範囲内で、ヒトおよび動物の組織と接触させる使用に適当であり、過剰な毒性、刺激性、アレルギー反応、またはその他の問題または合併症がなく、合理的な利益 / リスク比に相応した、化合物、材料、組成物、および / または剤形を称するのに用いられる。

【0174】

ここで用いられる「医薬的に許容される担体」の語句は、医薬的に許容される材料、組成物、媒体、たとえば液体または固体の増量剤、希釈剤、賦形剤、製造用の酸 (たとえば、潤滑剤、タルク、マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸) または、一つの臓器または身体の部分から、別の臓器または身体の部分へ、その化合物を運搬または輸送するのに関与する材料を封入する溶媒を意味する。各担体は、製剤のその他の成分と適合性であり患者に有害でないという意味で「許容し得る」ものでなければならない。医薬的に許容される担体として用いることができる材料の一部の例は下記のものを含む: (1) 糖類、たとえば乳糖、グルコースおよびスクロース; (2) デンプン、たとえばトウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプン; (3) セルロース、およびその誘導体、たとえばナトリウムカルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、および酢酸セルロース; (4) トラガント末; (5) 麦芽; (6) ゼラチン; (7) タルク

；(8) 賦形剤、たとえばカカオ脂および坐剤口ウ；(9) 油、たとえば落花生油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、および大豆油；(10) グリコール、たとえばプロピレングリコール；(11) ポリオール、たとえばグリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコール；(12) エステル、たとえばオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル；(13) 寒天；(14) 緩衝剤、たとえば水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム；(15) アルギン酸；(16) パイロジェンフリー水；(17) 等張生理食塩水；(18) リンゲル液；(19) エチルアルコール；(20) pH 緩衝溶液；(21) ポリエステル、ポリカーボネートおよび／またはポリ無水物；および(22) 医薬製剤に用いられるその他の無毒性の適合性物質。

【 0 1 7 5 】

上記に示す通り、本化合物のある実施形態は、アミノまたはアルキルアミノといった塩基性官能基を含んでいてよく、したがって医薬的に許容される酸と医薬的に許容される塩を形成することができる。「医薬的に許容される塩」の語はこの点で、本発明の化合物の、相対的に無毒性の、無機および有機酸付加塩を称する。これらの塩は、投与媒体または剤形製造過程で、または精製した本発明の化合物を遊離塩基の形で適当な有機酸または無機酸と別々に反応させ、そのように生じた塩を続く精製の間に単離することによって、*in situ*で調製することができる。代表的な塩は、臭化水素酸塩、塩酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、酢酸塩、吉草酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリル酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、トシル酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフテン酸塩、メシル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクトピオン酸塩、およびラウリルスルホン酸塩などを含む（たとえば、Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19を参照）。

【 0 1 7 6 】

本化合物の医薬的に許容される塩は、たとえば、無毒性の有機酸または無機酸からの、従来の無毒性塩またはその化合物の第四級アンモニウム塩を含む。たとえば、そのような従来の無毒性塩は、たとえば塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸、などといった無機酸に由来するもの；および有機酸、たとえば酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パルミチン酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2 - アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエン

【 0 1 7 7 】

別の場合には、本発明の化合物は一個以上の酸性官能基を含んでいてよく、そのため、医薬的に許容される塩基と、医薬的に許容される塩を形成することができる。「医薬的に許容される塩」の語はこの場合、本発明の化合物の、相対的に無毒性の、無機および有機塩基付加塩を称する。これらの塩は同様に、投与媒体または剤形製造過程で、あるいは精製した本化合物を遊離酸の形で、たとえば医薬的に許容される金属陽イオンの水酸化物、炭酸塩、または重炭酸塩といった適当な塩基と、アンモニアと、または医薬的に許容される有機一級、二級、または三級アミンと、別々に反応させることによって、*in situ*で調製することができる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類塩は、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、およびアルミニウム塩などを含む。塩基付加塩の形成に有用である代表的な有機アミンは、エチルアミン、ジエチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン などを含む。（たとえば、Berge et al., 上記を参照）

湿潤剤、乳化剤、および潤滑剤、たとえばラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム、および着色剤、放出剤、コーティング剤、甘味料、香料、保存料および酸化防止剤もまた、本組成物中に存在してよい。

【 0 1 7 8 】

医薬的に許容される酸化防止剤の例は下記を含む：(1) 水溶性酸化防止剤、たとえば

アスコルビン酸、シスチン塩酸塩、炭酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど；(2) 脂溶性酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸パルミチン酸エステル、ブチルヒドロキシアニソール(BHA)、ブチルヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、トコフェロール、など；および(3) 金属キレート剤、たとえばクエン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸、など。

【0179】

本発明の製剤は、経口、経鼻、局所(口腔および舌下を含む)、直腸内、腔内および/または非経口投与に相当するものを含む。製剤は単位用量剤形で便利に与えることができる。また、薬学の分野でよく知られている任意の方法によって調製することができる。担体材料と組み合わせて単回投与剤形を作製することができる有効成分の量は、治療する宿主、特定の投与形態に応じて変化する。担体材料と組み合わせて単回投与剤形を製することができる有効成分の量は、一般的に、治療効果を生じる化合物の量となる。一般的に、百パーセントのうち、この量は有効成分の約0.1パーセントから約99パーセント、好ましくは約5パーセントから約70パーセント非常に好ましくは約10パーセントから約30パーセントの範囲にある。

【0180】

ある実施形態では、本発明の製剤は、シクロデキストリン、リポソーム、ミセル形成剤たとえば胆汁酸、および高分子担体たとえばポリエステルおよびポリ無水物から成る群から選択された賦形剤；および本発明の化合物を含む。ある実施形態では、前述の製剤は、本発明の化合物に経口での生物学的利用能をもたらす。

【0181】

これらの製剤または組成物を調製する方法は、本発明の化合物を、担体および、必要に応じて、一種以上の上記成分と会合させる段階を含む。一般に、その製剤は、本発明の化合物を液体担体、または微細に分割された固体担体、または両方と均一におよび密に会合させ、その後、必要に応じて、製品を成形することによって調製される。

【0182】

本発明の経口投与に適した製剤は、それぞれ有効成分として本発明の化合物の規定量を含む、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、錠剤、トローチ剤(香味つき基剤、通常スクロースおよびアラビアゴムまたはトラガントを用いる)、散剤、顆粒剤の形、または水性または非水性液体中の液剤または懸濁剤として、または水中油型または油中水型液体の乳剤として、またはエリキシル剤またはシロップ剤として、または香錠剤として(不活性基剤、たとえばゼラチンおよびグリセリン、またはスクロースおよびアラビアゴム)および/または含漱剤としてなどであることができる。本発明の化合物はまた、ペースト、またはペーストとして投与することができる。

【0183】

経口投与用の本発明の固体剤形では(カプセル剤、錠剤、丸剤、糖衣錠剤、散剤、顆粒剤など)、有効成分は、一種以上の上記医薬的に許容される担体、たとえばクエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウム、および/または下記のうち任意のものと混合される：(1) 増量剤または賦形剤、たとえばデンプン、乳糖、スクロース、グルコース、マンニトール、および/またはケイ酸；(2) 結合剤、たとえば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロースおよび/またはアラビアゴム；(3) 湿潤剤、たとえばグリセロール；(4) 崩壊剤、たとえば寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモデンプンまたはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウム；(5) 溶液抑制剤(solution retarding agents)、たとえばパラフィン；(6) 吸収促進剤、たとえば四級アンモニウム化合物；(7) 湿潤剤、たとえば、セチルアルコール、モノステアリン酸グリセロール、および非イオン性界面活性剤；(8) 吸収剤、たとえばカオリンおよびベントナイト粘土；(9) 潤滑剤、たとえばタルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、およびそれらの混合物；および(10) 着色剤。カプセル剤、錠剤、およ

び丸剤の場合、医薬組成物はまた緩衝剤を含んでいてよい。同様の種類の固体組成物もまた、ラクトースすなわち乳糖、および高分子量ポリエチレングリコールなどといった賦形剤を用い、硬質および軟質ゼラチンカプセル剤で、増量剤として用いることができる。

【0184】

錠剤は、必要に応じて一種類以上の副成分と共に、圧縮または成形によって製造することができる。圧縮錠剤は、結合剤（たとえば、ゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、潤滑剤、不活性な稀釈剤、保存料、崩壊剤（たとえば、デンプングリコール酸ナトリウムまたは架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、界面活性または分散剤を用いて調製することができる。成形錠剤は、不活性な液体稀釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を適当な機械で成形することによって製造できる。

10

【0185】

本発明の医薬組成物の錠剤、およびその他の固体剤形、たとえば糖衣錠剤、カプセル剤、丸剤、および顆粒剤は、必要に応じてコーティングおよび被覆、たとえば腸溶コーティングおよび医薬製剤技術でよく知られているその他のコーティングを用いて得るまたは調製することができる。それらはまた、たとえば、目的の放出プロファイルを与えるためのさまざまな割合のヒドロキシプロピルメチルセルロース、その他の高分子マトリックス、リポソームおよび/またはマイクロスフィアを用いて、有効成分の遅放性または徐放性を与えるように製剤化することができる。それらはまた迅速な放出のために製剤化することができ、たとえば、凍結乾燥してもよい。それらはまた、たとえば、細菌を保持するフィルターを通した濾過によって、または使用直前に滅菌水または他の注射用滅菌媒体に溶解させることができる滅菌固体組成物の形で滅菌剤を封入することによって、滅菌することができる。これらの組成物はまた、必要に応じて不透明化剤(opacifying agent)を含んでいてよく、また、消化管の特定の部分で、必要に応じて徐放性に、有効成分だけまたは優先的に、放出する組成のものであってもよい。使用することができる埋め込み組成物の例は、高分子物質およびロウを含む。有効成分はまた、適切な場合には、上記の賦形剤の一種類以上を用いた、マイクロカプセル化形態であってもよい。

20

【0186】

本発明の化合物の経口投与のための液体剤形は、医薬的に許容される乳剤、マイクロエマルジョン、液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤を含む。有効成分に加えて、液体剤形は本分野で一般に用いられる不活性な稀釈剤、たとえば水またはその他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、たとえばエチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、油（特に、綿実油、落花生油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール、およびソルピタンの脂肪酸エステル、およびその混合物を含んでいてよい。

30

【0187】

不活性な稀釈剤の他に、経口組成物はまた、湿潤剤、乳化剤または懸濁化剤、甘味料、香料、着色料、着香料、および保存料といった助剤を含んでいてもよい。

【0188】

懸濁剤は、活性化合物に加えて、懸濁化剤、たとえば、エトキシイソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルピタンエステル、微結晶セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天、およびトラガント、およびその混合物を含んでいてよい。

40

【0189】

本発明の医薬組成物の直腸内または腔内投与のための製剤は、坐剤として提供することができ、これは一種類以上の本発明の化合物を、たとえば、カカオ脂、ポリエチレングリコール、坐剤用ロウまたはサリチル酸塩を含む一種類以上の適当な非刺激性賦形剤または担体と混合することによって調製することができ、また室温では固体であるが、体温では液体であり、したがって、直腸または腔内で溶解して活性化合物を放出する。

50

【 0 1 9 0 】

腔内投与に適した本発明の製剤はまた、ベッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト剤、泡、または本分野で適当であることが知られている担体を含む製剤を含む。

【 0 1 9 1 】

本発明の化合物の経皮投与のための局所用剤形は、散剤、スプレー、軟膏、ペースト剤、クリーム、ローション、ゲル、液剤、パッチ、および吸入剤を含む。活性化合物を、医薬的に許容される担体、および必要な任意の保存料、緩衝剤、または推進剤と、滅菌条件下で混合することができる。

【 0 1 9 2 】

軟膏、ペースト剤、クリーム、およびゲルは、本発明の活性化合物に加えて、たとえば動植物脂肪、油、ロウ、パラフィン、デンプン、トラガント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、タルク、および酸化亜鉛、またはそれらの混合物のような賦形剤を含んでいてよい。

10

【 0 1 9 3 】

散剤およびスプレーは、本発明の化合物に加えて、たとえば乳糖、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、およびポリアミド粉末、またはそれらの物質の混合物のような賦形剤を含んでいてよい。スプレーは、さらに従来の推進剤たとえば塩化フッ化炭化水素および揮発性非置換炭化水素、たとえばブタンおよびプロパンを含んでいてよい。

【 0 1 9 4 】

20

経皮パッチは、本発明の化合物の身体への徐放を与える付加的な利点を有する。そのような剤形は、化合物を適当な媒体に溶解または分散することによって得ることができる。吸収エンハンサーもまた、皮膚を通した化合物の流入を増加させるために用いることができる。そのような流入の速度は、速度調節膜を用意するかまたは化合物を高分子マトリックスまたはゲル中に分散させることによって調節することができる。

【 0 1 9 5 】

眼科用製剤、眼軟膏、散剤、液剤などもまた本発明の範囲内にあると考えられる。

【 0 1 9 6 】

非経口投与に適した本発明の医薬組成物は、本発明の一種類以上の化合物を、医薬的に許容される一種類以上の滅菌等張水溶液または非水溶液、分散剤、懸濁剤または乳剤、または滅菌注射用液剤または分散剤に再構成することができる滅菌散剤と組み合わせて含んでいてよく、それらは、糖類、アルコール、酸化防止剤、緩衝剤、静菌剤、製剤を意図したレシipientの血液と等張にする溶質、あるいは懸濁剤または増粘剤を含んでいてよい。

30

【 0 1 9 7 】

本発明の医薬組成物に使用することができる適当な水性および非水性担体の例は、水、エタノール、ポリオール（たとえばグリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、など）、およびその適当な混合物、植物油、たとえばオリーブ油、および注射用有機エステル、たとえばオレイン酸エチルを含む。適当な流動性は、たとえば、レシチンのようなコーティング材料の使用によって、分散剤の場合には必要な粒子径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。

40

【 0 1 9 8 】

これらの組成物はまた、保存料、湿潤剤、乳化剤、および分散化剤といった助剤を含んでいてよい。対象化合物に対する微生物の作用の防止は、さまざまな抗菌剤および抗真菌剤、たとえば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、などの添加によって確保することができる。また、等張剤、たとえば糖類、塩化ナトリウムなどを組成物に含めることが望ましい。さらに、注射用剤形の持続性吸収は、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンといった、吸収を遅らせる物質の添加によって実現することができる。

【 0 1 9 9 】

50

一部の場合には、医薬の効果を持続させるために、皮下または筋肉内注射からの医薬の吸収を遅らせることが望ましい。これは、水溶性が低い結晶性または非晶性材料の液体懸濁剤の使用によって達成することができる。医薬の吸収の速度はその結果、溶解の速度に依存し、溶解の速度は結晶の大きさおよび結晶形に依存し得る。または、非経口的に投与される剤形の持続性吸収は、その医薬を油媒体に溶解または懸濁することによって達成される。

【0200】

注射用デポ形態は、ポリラクチド - ポリグリコリドといった生分解性高分子中に対象化合物のマイクロカプセル化マトリックスを形成することによって製造される。高分子に対する薬物の比、および使用した特定の高分子の性質に依存して、薬物放出の速度を調節することができる。他の生分解性高分子の例は、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)を含む。デポ注射用製剤はまた、体組織に適合性であるリポソームまたはマイクロエマルジョンに薬物を封入することによって調製される。

10

【0201】

本発明の化合物が医薬として、ヒトおよび動物に投与される場合、それ自体を、またはたとえば0.1から99.5%(より好ましくは、0.5から90%)の有効成分を医薬的に許容される担体と組み合わせて含む医薬組成物として投与することができる。

【0202】

本発明の調製物は、経口的に、非経口的に、局所に、または直腸内に投与することができる。それらはもちろん各投与経路に適した剤形で投与される。たとえば、それらは、錠剤またはカプセル剤の形態で、注射、吸入、眼科用ローション、軟膏、坐剤、などによって、注射、注入、または吸入による投与;ローションまたは軟膏によって局所;および坐剤によって直腸内に投与される。経口投与が好ましい。

20

【0203】

ここで用いられる「非経口投与」および「非経口的に投与される」の語句は、経腸および局所投与以外の、通常は注射による投与形態を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、角皮内、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、および胸骨内注射および輸液を制限無しに含む。

【0204】

ここで用いられる「全身投与」、「全身的に投与される」、「末梢投与」および「末梢に投与される」の語句は、たとえば皮下投与のような、化合物、医薬、または他の材料が、患者の全身に入りしただって代謝およびその他の同様の処理に供されるような、直接中枢神経系に投与される以外の投与を意味する。

30

【0205】

経口的に、経鼻的に(たとえばスプレーによって)、直腸内に、腔内に、非経口的に、大槽内に、および局所的に(たとえば、口腔におよび舌下投与を含み、散剤、軟膏またはドロップによって)等、任意の適当な投与経路によって、これらの化合物をヒトおよびその他の動物へ治療のために投与することができる。

【0206】

選択した投与経路にかかわらず、適当な水和形で用いることができる本発明の化合物、および/または本発明の医薬組成物は、当業者に既知である従来の方法によって、医薬的に許容される剤形に製剤化される。

40

【0207】

本発明の医薬組成物中の有効成分の実際の用量レベルは、特定の患者、組成物、および投与形態について、患者に対して毒性にならず、目的の治療反応を達成するのに有効である有効成分の量を得られるように変えることができる。

【0208】

選択された用量レベルは、使用する本発明の特定の化合物、またはそのエステル、塩、またはアミドの活性、投与経路、投与時間、使用する特定の化合物の排泄速度または代謝速度、治療期間、使用する特定の化合物と組み合わせて用いられる他の医薬、化合物およ

50

び／または材料、治療を受ける患者の年齢、性別、体重、状態、全身的健康、および以前の病歴、および医療技術においてよく知られている同様の因子、を含むいろいろな因子に依存する。

【0209】

当業者である医師または獣医師は、必要な医薬組成物の有効量を容易に決定および製剤化することができる。たとえば、医師または獣医師は、医薬組成物に使用される本発明の化合物の用量を、目的の治療効果を達成するために必要であるよりも低いレベルで開始し、目的の効果が達成されるまで徐々に用量を増やすことができる。

【0210】

一般に、本発明の化合物の適当な一日量は、治療効果を生じるのに有効である最低の用量である化合物の量である。そのような有効量は一般的に上記の因子に依存する。一般的に、本発明の化合物の患者に対する静脈内、脳室内、および皮下投与量は、適応の目的の効果をj得るために使用する場合、1日当たりの体重キログラム当たり約0.0001mgから約100mgの範囲である。

10

【0211】

必要に応じて、活性化合物の有効一日量は、必要に応じて単位剤形で、一日を通じて適当な間隔で分けて投与される2、3、4、5、6またはそれより多数の部分用量として投与することができる。しかし、好ましい投薬は1日1回である。

【0212】

本発明の化合物を単独で投与することが可能である一方、その化合物を医薬製剤（組成物）として投与することが好ましい。

20

【0213】

別の態様では、本発明は、一種類以上の医薬的に許容される担体（添加剤）および／または稀釈剤と共に製剤された、一種類以上の対象化合物の治療的効果量を上記の通り含む、医薬的に許容される組成物を提供する。下記に詳細に示す通り、本発明の医薬組成物は、下記に適合させたものを含む固体または液体の形での投与のために特に製剤化することができる：（1）経口投与、たとえば、水薬（水性または非水性液剤または懸濁剤）、錠剤、ポーラス、散剤、顆粒剤、舌への投与用のペースト；（2）非経口投与、たとえば、皮下、筋肉内、静脈内注射によって、たとえば、滅菌液剤または懸濁剤として；（3）局所使用、たとえば、皮膚、肺、または口腔に使用するクリーム、軟膏、またはスプレーとして；または（4）腔内にまたは直腸内に、たとえば、ペッサリー、クリームまたは泡として；（5）舌下に；（6）眼に；（7）経皮的に；または（8）経鼻で。

30

【0214】

本発明に記載の化合物は、他の医薬から類推して、ヒトまたは動物用薬における使用に便利な任意の方法での投与のために製剤化することができる。

【0215】

「治療」の語はまた、予防、治療、および治癒も包含することが意図される。

【0216】

この治療を受ける患者は、必要とする任意の動物であり、霊長類、特にヒト、およびその他の哺乳類たとえばウマ、ウシ、ブタ、およびヒツジ；および家禽および一般に愛玩動物を含む。

40

【0217】

本発明の化合物は、それ自体で、または医薬的に許容される担体との混合物として投与することができる、またペニシリン、セファロスポリン、アミノグリコシド、および糖ペプチドといった抗菌剤と併せて投与することもできる。併用治療は、このように、先に投与されたものの治療効果が完全に消えないうちに次のものが投与される方法での、活性化合物の連続的な、同時のおよび別々の投与を含む。

【0218】

本発明の活性化合物を動物飼料へ添加することは、好ましくは活性化合物を有効量で含む適当な飼料プレミックスを調製し、そのプレミックスを完成飼料に組み込むことによ

50

て達成される

または、有効成分を含む中間濃縮物または飼料添加剤を飼料に混合することができる。そのような飼料プレミックスおよび完成飼料を調製および投与できる方法は参考書に記載されている（たとえば "Applied Animal Nutrition", W. H. Freedman and CO., San Francisco, U. S. A., 1969または "Livestock Feeds and Feeding" O and B books, Corvallis, Ore., U. S. A., 1977）。

【0219】

コンビナトリアルライブラリ

対象化合物は、医薬、農薬、またはその他の生物学的または医学関連活性または材料関連品質のスクリーニングのためのコンビナトリアルライブラリの作成に容易に役立つ。図1および2を参照。本発明の目的のためのコンビナトリアルライブラリは、化学的に関連する化合物の混合物であり、目的の性質について一緒にスクリーニングすることができる；前記ライブラリは溶液中に存在するかまたは固相担体に共有結合している。単一の反応での多数の関連化合物の調製は、実施する必要があるスクリーニング処理の数を大幅に減らし単純化する。適当な生物学的、医薬的、農業化学的、または物理的性質についてのスクリーニングは、従来の方法によって行うことができる。

【0220】

ライブラリにおける多様性は、いろいろな異なるレベルで作り出すことができる。たとえば、コンビナトリアルアプローチで用いられる基質アリアル基は、中核のアリアル部分に関して多様化することができ、たとえば環構造に関する多様化、および/またはその他の置換基について変化させることができる。

【0221】

小有機分子のコンビナトリアルライブラリを作製するためには本分野の色々な技術が利用可能である。たとえば、Blondelle et al. (1995) Trends Anal. Chem. 14: 83; Affymetrix社の米国特許第5,359,115号および第5,362,899号; Eilman社の米国特許第5,288,514号; Still et al. 国際公開第94/08051号; Chen et al. (1994) JACS 116:2661; Kerr et al. (1993) JACS 115: 252; 国際公開第92/10092号, 国際公開第93/09668号、および国際公開第91/07087号; および Lerner et al. 国際公開第93/20242号を参照)。その結果、約16から1,000,000以上のディバーソマー (diversomers) の規模のいろいろなライブラリを合成し特定の活性または性質についてスクリーニングすることができる。

【0222】

典型的な一実施形態では、たとえば基質の位置の一つに位置する、たとえば加水分解または光分解が可能な基によって高分子ビーズへ結合している、置換されたdiversomerのライブラリを、Stillらの国際公開第94/08051号に記載されている技術に適用された問題の反応を用いて合成することができる。Stillらの技術によると、ライブラリは一組のビーズ上に合成され、各ビーズはビーズ上の特定のdiversomerを特定する一組のタグを含む。酵素阻害剤を発見するのに特に適している一実施形態では、ビーズは透過性膜の表面上に分散することができ、diversomersはビーズのリンカーの分解によってビーズから遊離する。各ビーズからのdiversomerは膜上を測定ゾーンへ拡散し、そこで酵素測定法と相互作用する。いくつかのコンビナトリアル方法論の詳細な説明を下記に示す。

【0223】

A. 直接的特徴づけ

コンビナトリアル化学の分野で拡大している傾向は、たとえば、フェムトモル以下の量の化合物を特徴づけるのにもちいることができる、質量分析 (MS) といった技術の感度を利用すること、およびコンビナトリアルライブラリから選択された化合物の化学組成を直接決定することである。たとえば、ライブラリが不溶性支持マトリックス上に供給される場合、化合物の別々の集団をまず担体から遊離してMSによって特徴づけることができる。別の実施形態では、MS試料調製技術の一部として、特にマトリックスに化合物をつなぐ際に不安定な結合が用いられる場合、MALDIといったMS技術を用いてマトリックスから化合物を遊離することができる。たとえば、ライブラリから選択されたビーズを

、マトリックスからdiversomerを遊離しそのdiversomerをMS分析用にイオン化するため、MALDI段階で照射することができる。

【0224】

B. マルチピン合成

本方法のライブラリは、マルチピンライブラリ形式を取ることができる。要約すると、Geysenおよび共同研究者らは(Geysen et al. (1984) PNAS 81: 3998-4002)、マイクロタイタープレート形式に配列した、ポリアクリル酸で処理したポリエチレンピン上での平行合成によって、化合物ライブラリを作製する方法を紹介した。Geysenの技術は、マルチピン方法を用いて過当たり何千もの化合物を合成しスクリーニングするのに用いることができ、また取り付けられた化合物は多数の測定に再使用することができる。純度の査定およびさらなる評価のために、合成後に化合物を担体から切断することができるように、適当なリンカー部分もまたピンに付けることができる(Bray et al. (1990) Tetrahedron Lett 31: 5811-5814; Valerio et al. (1991) Anal Biochem 197: 168-177; Bray et al. (1991) Tetrahedron Lett 32: 6163-6166を参照)。

【0225】

C. 分割 - 結合 - 再混合

さらに別の一実施形態では、分割 - 結合 - 再混合の戦略を利用して、化合物の多様化したライブラリを一組のビーズ上に提供することができる(たとえば、Houghten (1985) PNAS 82: 5131-5135; および米国特許第4,631,211号; 第5,440,016号; 第5,480,971号を参照)。要約すると、名称が示唆するように、ライブラリに変質が導入される各合成段階で、ライブラリ中の特定の位置に導入される異なる置換基の数と等しい別々の群に分割され、異なる置換基が別々の反応で結合され、そしてビーズは次の反復のために一つのプールに再混合される。

【0226】

一実施形態では、分割 - 結合 - 再混合の戦略は、Houghtenによって最初に開発された、化合物合成が多孔質ポリプロピレンバッグ中に封入された樹脂上で起こる(Houghten et al. (1986) PNAS 82: 5131-5135)いわゆる「ティーバッグ」法と類似の手法を用いて実施することができる。置換基はバッグを適当な反応溶液中に置くことによって化合物担体樹脂に結合され、一方、樹脂洗浄および保護基除去といったすべての共通段階は同時に一個の反応容器内で実施される。合成の終了時には、各バッグは単一の化合物を含む。

【0227】

D. 光制御空間的特定可能平行化学合成によるコンビナトリアルライブラリ

化合物の同定が合成基質上の位置によって与えられるコンビナトリアル合成の仕組みを、空間的特定可能合成と称する。一実施形態では、コンビナトリアル過程は、固相担体上の特定位置への化学試薬の添加を調節することによって実施される(Dower et al. (1991) Annu Rep Med Chem 26: 271-280; Fodor, S. P. A. (1991) Science 251: 767; Pirrung et al. (1992) 米国特許第5,143,854号; Jacobs et al. (1994) Trends Biotechnol 12: 19-26)。光リソグラフィーの空間分解能は小型化を可能にする。この技術は、光不安定な保護基を用いた保護/脱保護反応の使用を通じて実施することができる。

【0228】

この技術の重要な点は、Gallop et al. (1994) J Med Chem 37: 1233-1251に説明されている。合成の基質を、光不安定なニトロベラトリルオキシカルボニル(NVOC)基で保護されたアミノリンカーまたは別の光不安定なリンカーの共有付加によって、結合のために用意する。光を用いて結合のための合成担体の特定の領域を選択的に活性化する。光不安定な保護基の光による除去(脱保護)の結果として、選択された範囲の活性化が起こる。活性化後に、それぞれ光不安定な保護基をアミノ末端に有するアミノ酸アナログの組の最初のものが、表面全体に曝露される。結合は前の段階で光によって位置指定された領域にだけ起こる。反応を停止し、プレートを洗浄し、基質を再び第二の覆いを通して照射し、第二の保護基つき構造ブロックを用いた反応のために別の領域を活性化する。覆いのパターンと反応剤の配列が、生成物およびその位置を定義する。この処理は光リソグラフ

イー技術を利用するため、合成できる化合物の数は、適当な分解能で位置指定できる合成部位の数によってのみ制限される。各化合物の位置は正確に知られている；ゆえに、各化合物の他の分子との相互作用を直接に評価することができる。

【0229】

光制御化学合成では、生成物は照射のパターンおよび反応剤の添加の順序に依存する。リトグラフィーのパターンを変えることによって、多数の異なる組の被験化合物を同時に合成することができる；この特性は、多数の異なる被覆戦略の生成に結びつく。

【0230】

E. コード化コンビナトリアルライブラリ

さらに別の実施形態では、本方法はコード化タグ化系を用いて与えられる化合物ライブラリを利用する。コンビナトリアルライブラリに由来する活性化合物の同定の最近の改良は、任意のピーズが経験した反応段階、および、推論によって、それが有する構造を、独自にコード化するタグを用いる化学的見出し付けを使用する。概念的には、この手法は、活性が発現ペプチドに由来するが活性ペプチドの構造は対応するゲノムDNA配列から推論される、ファージディスプレイライブラリを模倣する。合成コンビナトリアルライブラリの最初のコード化は、DNAをコードとして用いた。配列決定可能な生体オリゴマー（たとえば、オリゴヌクレオチドおよびペプチド）を用いるコード化、および追加の配列決定不能なタグを用いたバイナリコード化を含む、コード化のいろいろな別の形式が報告されている。

【0231】

1) 配列決定可能な生体オリゴマーを用いたタグ化

オリゴヌクレオチドを用いてコンビナトリアル合成ライブラリをコード化することの原理は1992年に記載され(Brenner et al. (1992) PNAS 89: 5381-5383)、そのようなライブラリの一例が翌年に発表された(Needles et al. (1993) PNAS 90: 10700-10704)。それぞれが特定のジヌクレオチド(それぞれTA、TC、CT、AT、TT、CA、およびAC)でコードされた、Arg、Gln、Phe、Lys、Val、D-Val、およびThr(三文字アミノ酸コード)のすべての組み合わせから成る、名目上 $7^7 (= 823, 543)$ 個のペプチドのコンビナトリアルライブラリが、固相担体上での一連の交互の回のペプチドおよびオリゴヌクレオチド合成によって調製された。この研究で、オリゴヌクレオチド合成のためには保護されたOH基を、ペプチド合成のためには保護されたNH₂基を生じる試薬を用いて(ここでは1:20の比で)ピーズを同時に予備インキュベートすることによって、ペプチドまたはオリゴヌクレオチド合成に向けてピーズ上のアミン結合機能性が特異的に差別化された。完了時に、タグはそれぞれ69量体から成り、その14単位がコードを有した。ピーズに結合したライブラリを蛍光標識化抗体とインキュベートし、強く蛍光を発した結合抗体を含むピーズを、蛍光発色細胞分取(FACS)によって採取した。DNAタグはPCRによって増幅し配列決定し、予測されたペプチドが合成された。そのような技術を受けて、タグのオリゴヌクレオチド配列が特定のピーズが受けた連続的なコンビナトリアル反応を特定し、したがってピーズ上の化合物の同定を与える、本方法での使用のための化合物ライブラリを得ることができる。

【0232】

オリゴヌクレオチドタグの使用は、極めて高感度のタグ分析を可能にする。それでさえ、本方法は、タグおよびライブラリメンバーの交互同時合成に必要な、直交する組の保護基の慎重な選択を要する。さらに、タグ、特にリン酸塩および糖アノマー結合の化学的不安定性は、非オリゴマー性ライブラリの合成に使用することができる試薬および条件の選択を制限し得る。好ましい実施形態では、ライブラリは分析のためにライブラリメンバーの選択的な脱離を可能にするリンカーを使用する。

【0233】

ペプチドもまた、コンビナトリアルライブラリ用のタグ化分子として用いられている。二つの典型的な手法が本分野で記載されており、その両方が固相への分枝リンカーを使用し、その上でコード鎖およびリガンド鎖が交互に合成される。第一の手法では(Kerr JM

10

20

30

40

50

et al. (1993) J Am Chem Soc 115: 2529-2531)、合成における直交性は、酸に不安定な保護をコード鎖に、および塩基に不安定な保護を化合物鎖に用いることによって達成される。

【0234】

別の一手法では (Nikolaiev et al. (1993) Pept Res 6:161-170)、コード部分および被験化合物が両方とも樹脂上の同一の官能基に結合することができるよう、分枝リンカーが使用される。一実施形態では、切断可能なリンカーが分枝点とビーズとの間に置くことができ、そのため切断によって、コードおよび化合物の両方を含む分子が遊離する (Ptek et al. (1991) Tetrahedron Lett 32: 3891-3894)。

【0235】

別の一実施形態では、切断可能なリンカーは、コードを残して被験化合物をビーズから選択的に分離することができるように配置することができる。この最後の構造は、コード基の干渉の可能性無しでの被験化合物のスクリーニングを可能にするため、特に価値が高い。ペプチドライブラリメンバーおよびその対応するタグの独立した切断および配列決定の分野での例は、タグがペプチド構造を正確に予想できることを裏付けている。

【0236】

2) 配列決定不能なタグ化: バイナリコード化

被験化合物ライブラリをコード化する別の形式は、バイナリコードとして用いられる一組の配列決定不能なエレクトロホリックなタグ化分子 (electrophoric tagging molecule) を使用する (Ohneyer et al. (1993) PNAS 90: 10922-10926)。典型的なタグは、フェムトモル未満のレベルで電子捕捉ガスクロマトグラフィー (ECGC) によってトリメチルシリルエーテルとして検出可能な、ハロゲン化芳香族アルキルエーテルである。アルキル鎖長、およびハロゲン化芳香族置換基の性質および位置における変化は、少なくとも40種類のそのようなタグの合成を可能にし、タグは原理的には、 2^{40} 個 (たとえば 10^{12} より上) の異なる分子をコードすることができる。原報では (Ohlmeyer et al., 上記) タグは、光切断可能な *o*-ニトロベンジルリンカーを介して、ペプチドライブラリの利用可能なアミン基の約1%に結合した。この手法は、ペプチド様または他のアミン含有分子のコンビナトリアルライブラリを作製する場合には便利である。しかし、本質的に任意のコンビナトリアルライブラリのコード化を可能にする、より多用途の系が開発されている。ここでは、化合物は光切断可能なリンカーを介して固相担体に結合し、タグはビーズマトリックス中へのカルベン挿入部を介するカテコールエーテルリンカーを通じて結合する (Nestler et al. (1994) J Org Chem 59: 4723-4724)。この直交結合戦略は、溶液中の測定およびタグの組の酸化的脱離後の ECGC による次のコード解読のための、ライブラリメンバーの脱離を可能にする。

【0237】

本分野のいくつかのアミド結合ライブラリが、アミン基に結合したエレクトロホリックなタグを用いるバイナリコード化を使用しているが、これらのタグを直接にビーズマトリックスへ結合させることは、コード化されたコンビナトリアルライブラリ中に作製することができる構造に、はるかに大きな汎用性を提供する。この方法で結合されて、タグとそのリンカーはビーズマトリックス自体とほぼ同程度に反応性が低い。エレクトロホリックなタグが直接に固相へ結合している、二種類のバイナリコード化コンビナトリアルライブラリが報告されており (Ohneyer et al. (1995) PNAS 92:6027-6031)、本化合物ライブラリを作製するための指針を与える。両方のライブラリは、ライブラリメンバーが光不安定なリンカーによって固相担体へ結合し、タグが激しい酸化によってのみ切断可能なリンカーを介して結合する、直交結合戦略を用いて構成された。ライブラリメンバーを固相担体から繰り返し部分的に光溶出することができるため、ライブラリメンバーは複数の測定に利用することができる。連続的な光溶出はまた、非常に高処理量である反復スクリーニング戦略を可能にする: 第一に、複数のビーズを96ウェルマイクロタイタープレートに入れる; 第二に、化合物を部分的に脱離し測定プレートに移す; 第三に、金属結合測定法によって活性ウェルを特定する; 第四に、対応するビーズを単独で新しいマイクロタイタ

10

20

30

40

50

ープレートに再配列する;第五に、単一の活性化合物を特定する;および第六に、構造を解読する。

【実施例】

【0238】

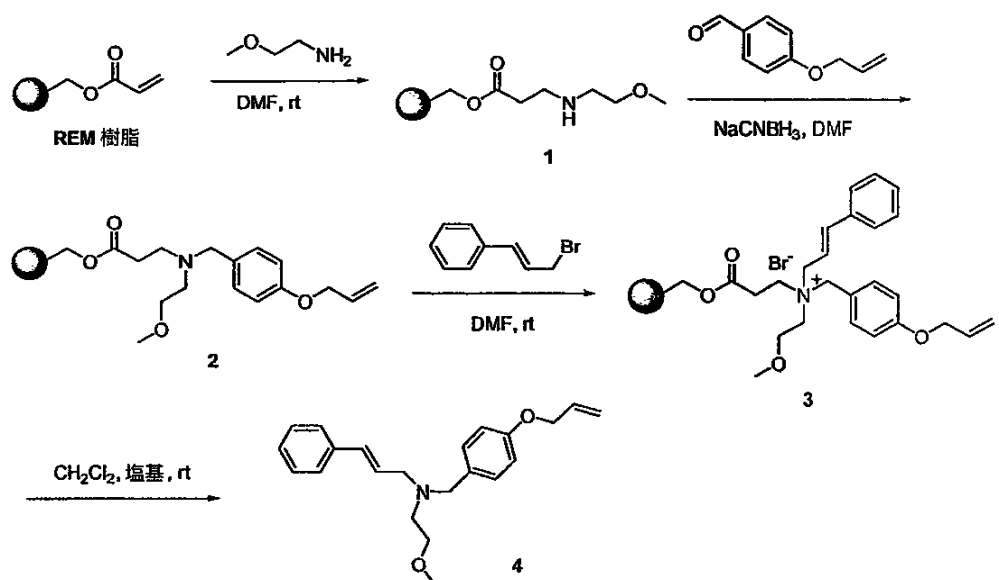
本発明を一般的に説明したが、下記の実施例を参照することによって本発明をより容易に理解できる。実施例は単に本発明の一部の態様および実施形態の説明の目的のために含まれており、本発明を制限することを意図しない。

【0239】

実施例 1

N - (4 - アリルオキシベンジル) - N - (2 - メトキシエチル) - N - (3 - フェニル - アリル) アミン (4) の固相合成

【化20】



【0240】

ポリエチレンフリット付きの3 mL ポリプロピレン濾過チューブに入れたREM樹脂 (0 . 1 0 g 、 1 . 0 6 m m o l / g) に、DMF (1 m L) 、次いで2 - メトキシエチルアミン (9 2 μ L 、 1 . 0 6 m m o l) を加えた。混合物を室温にて24時間振とうした。結果として生じる樹脂 (1) を、DMF (3 x 1 m L) 、MeOH (4 x 1 m L) 、およびCH₂Cl₂ (4 x 1 m L) を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。樹脂 (1) に、4 - アリルオキシベンズアルデヒド (1 5 3 μ L 、 1 . 0 6 m m o l) を含むDMF (1 m L) 、およびNaCNBH₃ (1 3 3 m g 、 2 . 1 2 m m o l) 、その後に酢酸 (1 0 μ L) を加えた。室温 (r t) にて一夜振とう後、結果として生じる樹脂 (2) を、DMF (3 x 1 m L) 、MeOH (4 x 1 m L) 、およびCH₂Cl₂ (4 x 1 m L) を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。乾燥樹脂 (2) を、臭化シンナミル (2 0 9 m g 、 1 . 0 6 m m o l) のDMF (1 m L) 溶液に懸濁し、室温にて24時間攪拌して樹脂 (3) を得た。濾過後にDMF (3 x 1 m L) 、MeOH (4 x 1 m L) 、およびCH₂Cl₂ (4 x 1 m L) を用いて洗浄し、次いで樹脂を減圧下で乾燥した。乾燥樹脂 (3) に、ポリアミン樹脂 (0 . 1 0 g 、 2 . 4 3 m m o l / g) およびCH₂Cl₂ (2 m L) を加えた。混合物を室温にて24時間攪拌し、その後に濾過し、CH₂Cl₂ (2 x 1 . 5 m L) を用いて洗浄した。濾液を回収し蒸発させて、無色の油として4を得た (1 5 m g 、 収率 4 2 % 、 H P L C で 純度 > 9 5 % 、 L R M S m / z 3 3 8) 。

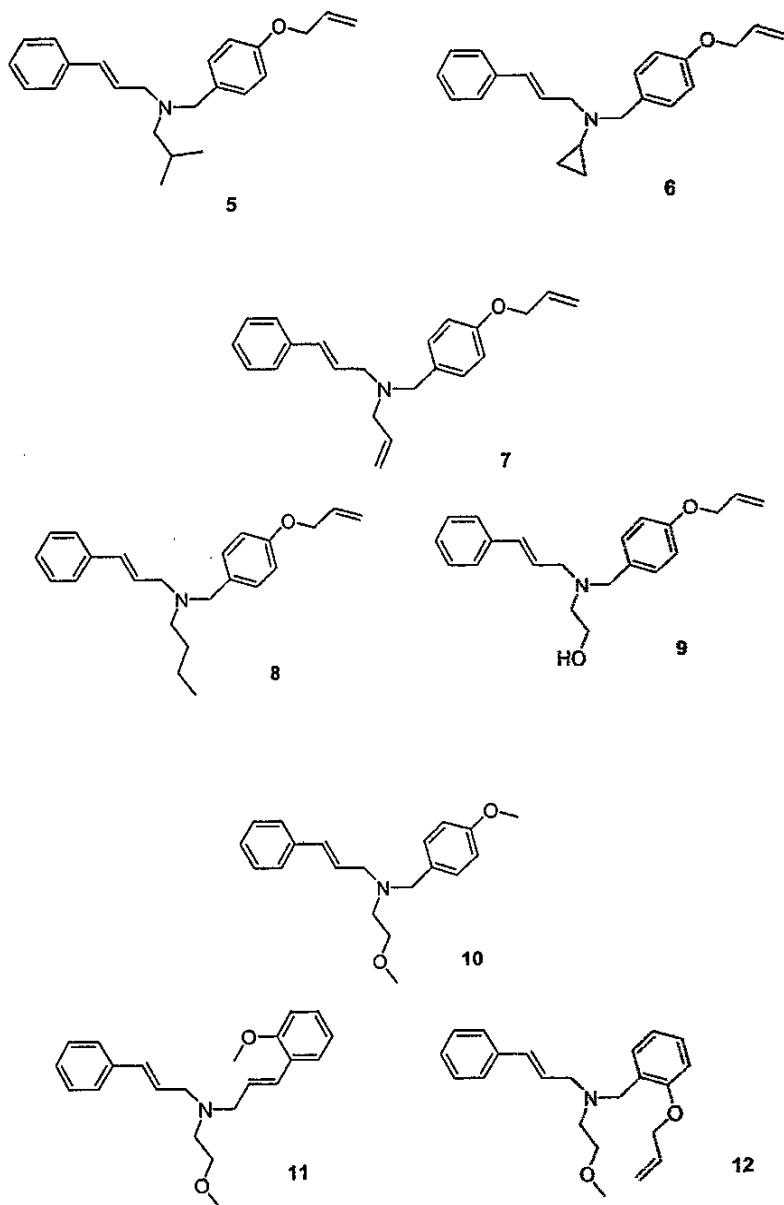
【0241】

実施例 2

三級アミン 5 ~ 1 2 の固相合成

個々の化合物 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, および 12 は、4 の合成について実施例 1 で説明した一般的手順を用いて調製した。これらの化合物のそれぞれの全体の収率は 35 % から 45 % であり、各化合物の純度は > 95 % であった。

【化 2 1】



【0242】

実施例 3

シンナミル部分を含むアナンダミド輸送体阻害剤のコンビナトリアルライブラリの固相合成 (図 1 参照)

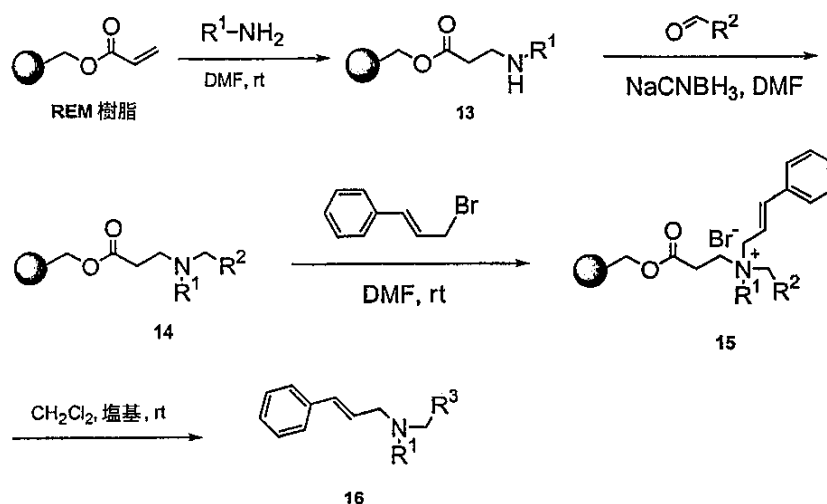
10

20

30

40

【化 2 2】



10

【 0 2 4 3】

REM樹脂(1.06mmol/g)を12本の12mL濾過チューブ(0.80g/チューブ、0.848mmol)に分け、次いでDMFを8mL/チューブにて分配した。12種類のアミンを8.48mmol/チューブにて12本の反応チューブにそれぞれ加えた。室温にて24時間振とう後、結果として生じる樹脂(13)を、DMF(3×8mL)、MeOH(4×8mL)、およびCH₂Cl₂(4×8mL)を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。12種類の樹脂をそれぞれ96ウェル反応ブロックに、列1から列12まで0.10g(0.106mmol)/ウェルにてそれぞれ分配した。8種類のアルデヒド(AからH)を含むDMFを行Aから行Hまで1.0mL/ウェルにて(1.06mmolアルデヒドを含む)それぞれ8行に分配し、次いでNaCNBH₃を96ウェルに133mg/ウェルにて分配し、その後酢酸を10μL/ウェルにて添加した。室温にて一夜振とう後、反応混合物を濾過し、樹脂をDMF(3×1mL/ウェル)、MeOH(4×1mL/ウェル)、およびCH₂Cl₂(4×1mL/ウェル)を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。臭化シンナミル(20g、102mmol)を含むDMF(96mL)を96ウェルに1.0mL/ウェルにて分配した。室温(rt)にて24時間振とう後、反応混合物反応混合物を濾過し、樹脂をDMF(3×1mL/ウェル)、MeOH(4×1mL/ウェル)、およびCH₂Cl₂(4×1mL/ウェル)を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。ポリアミン樹脂(2.43mmol/g)を96ウェルに0.10g/ウェルにて分配し、その後CH₂Cl₂を2mL/ウェルにて分配した。混合物を室温にて24時間攪拌し、その後に濾過し、CH₂Cl₂(2×1.5mL/ウェル)を用いて洗浄した。濾液を回収し蒸発させて、一般構造16で表される96種類の最終化合物を得て、最終化合物はHPLCおよび質量スペクトル分析に供した。

20

30

【 0 2 4 4】

ライブラリの各メンバーについて得られた、LRMS実験で観察された分子イオン(M+H⁺)および収量を下記に表で示す。ライブラリの個別メンバーの構造は、この実施例および図1の反応スキームを参照することによって推論することができる。

40

【表 1】

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	338; 47%	324; 84%	352; 61%	338; 61%	334; 63%	336; 60%	320; 70%	352; 53%	338; 43%	364; 56%	385; 44%	402; 50%
B	340; 52%	326; 77%	354; 61%	340; 55%	336; 51%	338; 61%	322; 48%	354; 68%	340; 44%	366; 50%	387; 37%	404; 54%
C	338; 66%	324; 80%	352; 61%	338; 58%	334; 56%	336; 60%	320; 72%	352; 62%	338; 48%	364; 67%	385; 40%	402; 57%
D	326; 60%	312; 67%	340; 57%	326; 76%	322; 66%	324; 67%	308; 73%	340; 77%	326; 53%	352; 63%	373; 35%	390; 48%
E	366; 47%	352; 70%	380; 43%	366; 70%	362; 68%	364; 64%	348; 39%	380; 67%	366; 57%	392; 55%	413; 33%	430; 42%
F	296; 65%	282; 81%	310; 75%	296; 70%	292; 54%	294; 90%	278; 90%	310; 95%	296; 56%	322; 60%	343; 55%	360; 52%
G	300; 64%	286; 88%	314; 60%	300; 80%	296; 52%	298; 60%	282; 61%	314; 68%	300; 85%	326; 58%	347; 33%	364; 46%
H	272; 56%	258; 45%	296; 72%	272; 59%	268; 49%	270; 55%	254; 66%	286; 59%	272; 68%	298; 49%	319; 36%	336; 41%

10

20

【 0 2 4 5 】

実施例 5 に記載のアナンダミド機能性測定法を用いて測定された、ライブラリのメンバーの、哺乳類アナンダミド輸送体に対する IC_{50} 値 (μM) を下記に表で示す。この測定法での AM - 404 の IC_{50} は $2.0 \mu M$ であった。ライブラリの個別メンバーの構造は、この実施例および図 1 の反応スキームを参照することによって推論することができる。

30

【表 2】

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<1	>1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	>1
B	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
C	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
D	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
E	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
F	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
G	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
H	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1

40

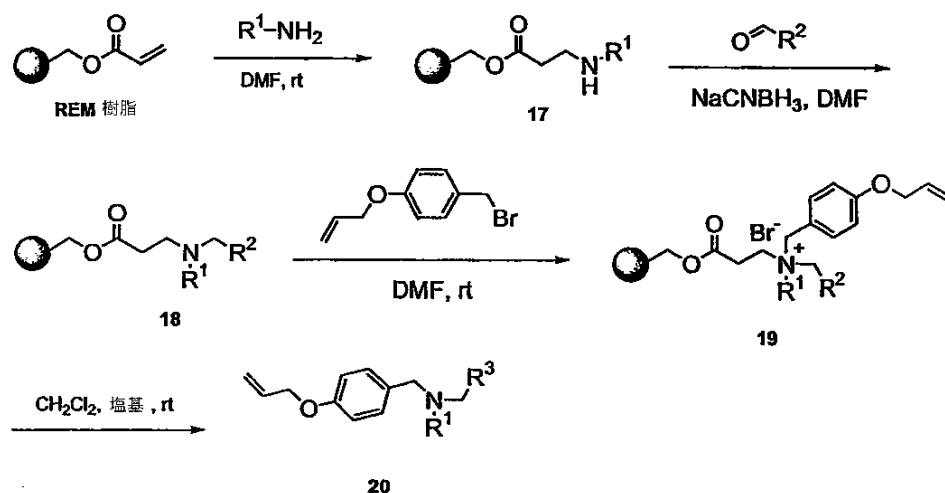
【 0 2 4 6 】

実施例 4

50

4 - アリルオキシベンジル部分を含むアナンダミド輸送体阻害剤のコンビナトリアルライブラリの固相合成 (図 2 参照)

【化 2 3】



【 0 2 4 7 】

図 2 に概略的に描かれたコンビナトリアルライブラリを、実施例 3 に概要が示された一般的手続を用いて、上記の反応スキームにしたがって調製した。結果として、一般構造 20 で表される 96 種類の化合物が調製された。

【 0 2 4 8 】

ライブラリの各メンバーについて得られた、L R M S 実験で観察された分子イオン ($M + H^+$) および収量を下記に表で示す。ライブラリの個別メンバーの構造は、この実施例および図 2 の反応スキームを参照することによって推論することができる。

【表 3】

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	354; 53%	326; 46%	340; 58%	340; 53%	336; 55%	310; 50%	322; 53%	354; 70%	340; 54%	366; 54%	404; 55%	322; 36%
B	382; 37%	354; 47%	368; 40%	368; 42%	364; 38%	338; 38%	350; 36%	382; 41%	368; 37%	394; 35%	432; 30%	350; 31%
C	382; 30%	354; 31%	368; 34%	368; 31%	364; 39%	338; 42%	350; 30%	382; 38%	368; 31%	394; 33%	432; 30%	350; 29%
D	370; 40%	342; 43%	356; 44%	356; 49%	352; 56%	326; 44%	338; 40%	370; 35%	356; 34%	382; 42%	420; 30%	338; 29%
E	382; 28%	354; 43%	368; 35%	368; 39%	364; 38%	338; 41%	350; 35%	382; 42%	368; 42%	394; 29%	432; 32%	350; 28%
F	344; 29%	316; 31%	330; 30%	330; 31%	326; 34%	300; 41%	312; 28%	344; 33%	330; 29%	356; 39%	394; 44%	312; 34%
G	362; 33%	334; 42%	348; 45%	348; 35%	344; 28%	318; 36%	330; 33%	362; 38%	348; 32%	374; 57%	412; 40%	330; 30%
H	410; 30%	382; 36%	396; 28%	396; 25%	392; 47%	366; 29%	378; 27%	410; 33%	396; 34%	422; 31%	460; 29%	378; 33%

【 0 2 4 9 】

実施例 5 に記載のアナンドミド機能性測定法を用いて測定された、ライブラリのメンバーの、哺乳類アナンドミド輸送体に対する IC_{50} 値 (μM) を下記に表で示す。この測定法での AM - 404 の IC_{50} は $2.0 \mu M$ であった。ライブラリの個別メンバーの構造は、この実施例および図 2 の反応スキームを参照することによって推論することができる。

【表 4】

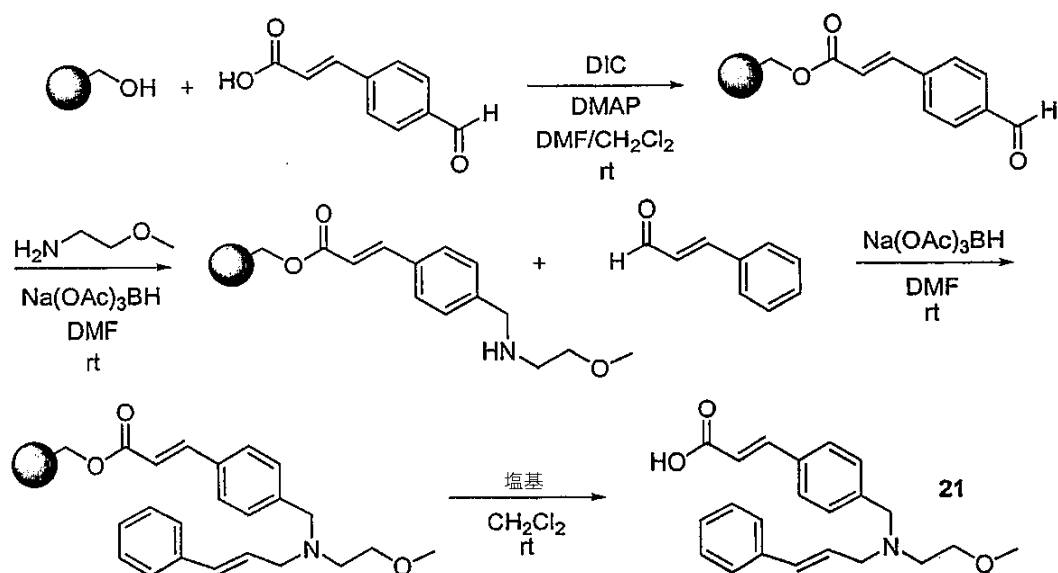
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
B	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
C	>1	>1	>1	>1	<1	>1	<1	>1	>1	>1	>1	>1
D	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
E	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
F	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
G	>1	>1	>1	>1	>1	>1	<1	>1	>1	>1	>1	>1
H	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1

【 0 2 5 0 】

実施例 5

3 - (4 - { [2 - メトキシ - エチル) - (3 - フェニル - アリル) - アミノ] - メチル } - フェニル) - アクリル酸 (21) の固相合成

【化 2 4】



【 0 2 5 1 】

ポリエチレンフリット付きのポリプロピレン濾過チューブに入れた Wang 樹脂 (1.1 mmol/g 、 1.00 g) に、DMF (5 mL) および CH_2Cl_2 (5 mL) を加え、次いで 4 - ホルミル桂皮酸 (5.5 mmol 、 969 mg)、DMAP (1.08 mmol 、 132 mg) およびジイソプロピルカルボジイミド (5.5 mmol 、 $861 \mu\text{L}$) を加えた。混合物を室温にて 24 時間振とうした。結果として生じる樹脂を、DMF ($3 \times 5 \text{ mL}$)、MeOH ($3 \times 5 \text{ mL}$)、および CH_2Cl_2 ($4 \times 5 \text{ mL}$) を用いて

洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。樹脂 (1 0 0 m g) に、2 - メトキシエチルアミン (1 . 1 m m o l 、 9 6 μ L) を含む D M F (1 m L) 、 N a (O A c) ₃ B H (2 . 2 m m o l 、 4 6 6 m g) 、および酢酸 (2 5 μ L) を含む D M F (1 m L) を加えた。室温 (r t) にて一夜振とう後、結果として生じる樹脂を、D M F (3 x 1 m L) 、 M e O H (3 x 1 m L) 、および C H ₂ C l ₂ (4 x 1 m L) を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。結果として生じる樹脂を、t r a n s - 桂皮アルデヒド (1 . 1 m m o l 、 1 3 9 μ L) 、 N a (O A c) ₃ B H (2 . 2 m m o l 、 4 6 6 m g) 、および酢酸 (1 0 μ L) を含む D M F (1 m L) 溶液に懸濁した。混合物を室温にて24時間攪拌した。結果として生じる樹脂を、D M F (3 x 1 m L) 、 M e O H (3 x 1 m L) 、および C H ₂ C l ₂ (4 x 1 m L) を用いて洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。乾燥樹脂に、ポリアミン樹脂および C H ₂ C l ₂ を加えた。濾液を回収し蒸発させて、無色の油として21を得た (L R M S m / z 3 5 1) 。

【 0 2 5 2 】

実施例 6

アナンダミド取り込み機能測定法

アナンダミド取り込みの特徴づけを、96ウェル形式 (反応容量 5 0 0 μ L) を使用してヒト単球 (U - 9 3 7 細胞) を用いて実施した。放射性標識化アナンダミドの U - 9 3 7 細胞 (4 0 0 μ L / ウェル中に細胞 1 0 ⁵ 個) による取り込みは、50 μ L で溶液に添加した被験化合物および 5 0 μ L の [³ H] - A E A (9 8 n M) の存在下で、37 でのインキュベート時間 1 5 分間に生じた。

【 0 2 5 3 】

U - 9 3 7 細胞および [³ H] - A E A / A E A は、2 5 m M N a H C O ₃ 、 1 1 m M グルコース、5 0 μ M アスコルビン酸、および 1 % B S A を含む K r e b s 緩衝液 p H 7 . 4 中で調製された。このインキュベート緩衝液はインキュベート前に5分間酸素を送気した。基線対照は、取り込みを妨害する被験化合物または参照化合物のどれも非存在下で、1 5 分間 4 にてインキュベートした。

【 0 2 5 4 】

インキュベート後に、遊離の [³ H] - A E A を除去するために、2 5 m M N a H C O ₃ を含む K r e b s 緩衝液で洗浄した「ユニフィルター 9 6 ウェル G F B プレート」 (P a c k a r d) を通した濾過によって取り込みを停止した。取り込みに対応する、U - 9 3 7 細胞に付随する放射能は、ユニフィルター上に保持され、T o p c o u n t マイクロプレートシンチレーションカウンター (P a c k a r d) で、M i c r o s c i n t 0 シンチレーション液 (P a c k a r d) を用いて測定した。

【 0 2 5 5 】

図 3 ~ 5 は、本発明の一部の化合物および、この測定法で測定した I C ₅₀ 値を表す。参照化合物 A M 4 0 4 を、標準として使用したが、1 0 ⁻⁹ M から 1 0 ⁻⁴ M にわたる 1 0 種類の濃度で試験して I C ₅₀ 値を得た。一般には M a c c a r r o n e , M . e t a l . " A n a n d a m i d e h y d r o l y s i s b y h u m a n c e l l s i n c u l t u r e a n d b r a i n " J . B i o l . C h e m . 1 9 9 8 , 2 7 3 : 3 2 3 3 2 - 3 2 3 3 9 ; および M u t h i a n , S . e t a l . J . P h a r m a c o l . E x p . T h e r . 2 0 0 0 , 2 9 3 , 2 8 9 - 2 9 5 を参照。

【 0 2 5 6 】

実施例 7

アナンダミドおよび化合物 4 の個別におよび組み合わせでの I n V i v o 抗侵害受容効果 (図 6 参照)

概要

この実験は、アナンダミド、化合物 4、およびアナンダミドと化合物 4 の組み合わせの鎮痛効果を、マウスにおける熱板試験で評価した。

【 0 2 5 7 】

試験系

体重 1 7 g から 2 3 g の、百匹の雄 S w i s s マウス I C O : O F 1 (I O P S C a w

10

20

30

40

50

)(Iffa Credo、フランス)を試験に用いた。マウスは温度(19.5~24.5)および相対湿度(45~65%)を調節した室内にて12時間明/暗周期で、試験期間を通じ濾過水道水および標準ペレット実験飼料(U. A. R.、フランス)の自由摂取下で飼育した。動物実験施設での受領時に、マウスをケージ当たり20個体入れ、少なくとも5日間の順化期間を観察した。動物は尾で個体識別した。

【0258】

使用材料

アナンダミド

化合物4

溶媒 = 20% DMSOを含む0.9% NaCl

装置 = 熱板 (Socrel model DS37; Ugo Basile, イタリア)

主データ処理システム = SigmaStat (登録商標) v. 2.0.3 (SPSS Science Software, Erkrath GmbH)。

【0259】

試験計画

各10個体の10群をこの試験に使用した。個別の群を下記に示す通り処置した。使用した用量は遊離の活性物質に関して表されている。被験物質および参照物質および溶媒は、静脈内経路(i.v.)によって無作為な順序で、5mL/kgの容量で投与された。アナンダミドおよび化合物4は、混合物として静脈内経路によって10mL/kgの容量で同時に投与した(群3、7、および10)。

【0260】

群1:溶媒(t=20分)

群2:アナンダミド(20mg/kg)(t=20分)

群3:アナンダミド(20mg/kg)+化合物4(10mg/kg)(t=20分)

群4:溶媒(t=30分)

群5:アナンダミド(20mg/kg)(t=30分)

群6:化合物4(10mg/kg)(t=30分)

群7:アナンダミド(20mg/kg)+化合物4(10mg/kg)(t=30分)

群8:溶媒(t=60分)

群9:アナンダミド(20mg/kg)(t=60分)

群10:アナンダミド(20mg/kg)+化合物4(10mg/kg)(t=60分)。

【0261】

実験手順

投与の20、30、および60分後、任意のマウスを 56 ± 0.2 に保たれた金属熱板上に置いた。前肢の舐め反射によってまたは熱板からの飛び降りによって特徴づけられる侵害受容反応潜時を記録した。カットオフ時間は30秒に設定した。Eddy NB, Touchberry CF, Lieberman JE. "Synthetic analgesics. 1-Methadone isomers and derivatives" J. Pharmacol. Exp. Ther. 1950; 98:121-137;およびBeltramo M, Stella N, Calignano A, Lin SY, Makriyannis A, Piomelli D. "Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition" Science 1997; 277: 1094-1097を参照。

【0262】

結果

生データを下記に示す。これらの実験からの結果の平均を図式的に図6に示す。図6で表にした結果は平均±標準誤差(S.E.M)で表されている。分散分析(2元配置):溶媒群、アナンダミド群、および併用群について、時間/治療の効果、および二つの間の相互作用。ダネット検定:*は溶媒処置群と比較した $P < 0.05$ の有意差を示す。ダネット検定:†はt-60分の同一処置群と比較した $P < 0.05$ の有意差を示す。分散分析(1元配置):t-30分にて溶媒群、アナンダミド群、化合物4群、および併用群について

。ダネット検定：°は溶媒処置群と比較した $P < 0.05$ の有意差を示す。溶媒：生理食塩水 + 20% DMSO；n = 群当たりマウス10個体。

【0263】

侵害受容反応潜時（秒）

【表5】

時間＝投与後20分(それぞれ図6の列1、2、および3)

	溶媒	アナンダミド (20mg/kg)	アナンダミド (20mg/kg) + 化合物4(10mg/kg)
	5.4	7.8	16.7
	7.6	5.1	11.1
	8	11.5	10
	5.8	10.3	15.2
	11	21.2	20
	9.3	6.3	23.4
	6.3	8.8	21.2
	7.1	4.9	19.5
	5.7	5.3	30
	11.8	8.1	22
平均	7.8	8.9	18.9
S.E.M.	0.7	1.5	1.9
N	10	10	10

10

20

30

【表 6】

時間＝投与後30分(それぞれ図6の列4、5、6、および7)

	溶媒	アナンダミド (20mg/kg)	化合物4 (10mg/kg)	アナンダミド (20mg/kg) + 化合物4(10mg/kg)
	15.3	7.1	13.5	11.3
	9.4	6.5	16.3	30
	6.5	7.8	6.1	7
	7	8.9	10	16
	8.7	7.5	12.8	11
	7	10.7	14.5	12.3
	12.5	7.9	4.5	12.9
	5.4	5.2	10.4	22.2
	7.5	9.7	4.2	6.9
	9.9	10	9.6	26.3
平均	8.9	8.1	10.2	15.6
S.E.M.	1.0	0.5	1.3	2.5
N	10	10	10	10

10

20

【表 7】

時間＝投与後60分(それぞれ図6の列8、9、および10)

	溶媒	アナンダミド (20mg/kg)	アナンダミド (20mg/kg)+ 化合物4(10mg/kg)
	11.5	13.5	12.2
	7.5	24.4	9.7
	13.3	4.6	6.8
	13.5	6.9	11.6
	9.5	11.1	14.2
	5.9	10.1	6.9
	6.4	9.3	20.6
	7.5	11.7	7
	14.3	8.9	6
	6.5	16.1	7.3
平均	9.6	11.7	10.2
S.E.M.	1.0	1.7	1.4
N	10	10	10

【 0 2 6 4 】

参考文献

引用されたすべての特許および出版物は参照により本開示に含まれる。

【 0 2 6 5 】

等価物

当業者は、定型分析しか用いずに、ここに記載の本発明の特定の実施形態の多数の等価物を認識する、または確認することができる。そのような等価物は下記の請求項によって包含されることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【 0 2 6 6 】

【図 1】図 1 は、シンナミル部分を含むアナンダミド輸送体阻害剤のコンビナトリアルライブラリの合成および 96 種類のメンバーを図式的に示す。

【図 2】図 2 は、4 - アリルオキシベンジル部分を含むアナンダミド輸送体阻害剤のコンビナトリアルライブラリの合成および 96 種類のメンバーを図式的に示す。

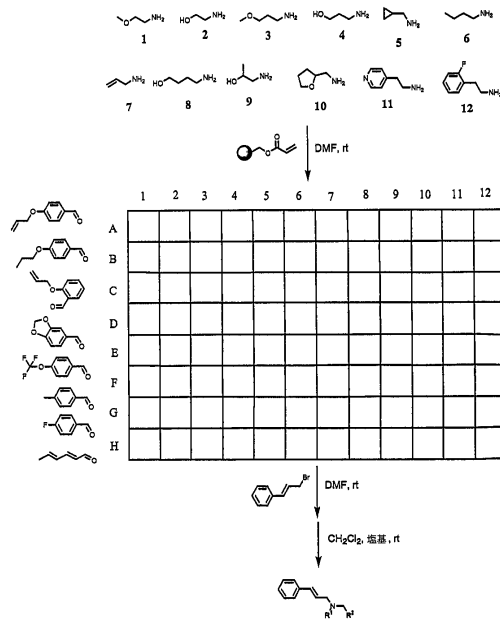
【図 3】図 3 は、本発明の特定化合物、および実施例 5 に記載の測定法を用いて測定した哺乳類アナンダミド輸送体に対するその IC_{50} 値を示す。

【図 4】図 4 は、本発明の特定化合物、および実施例 5 に記載の測定法を用いて測定した哺乳類アナンダミド輸送体に対するその IC_{50} 値を示す。

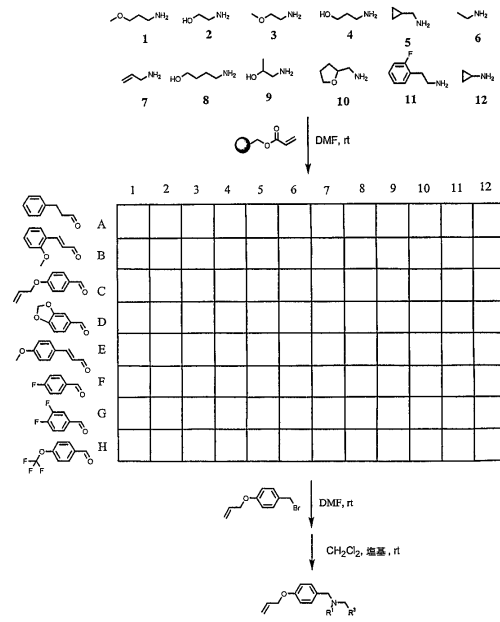
【図 5】図 5 は、本発明の特定化合物、および実施例 5 に記載の測定法を用いて測定した哺乳類アナンダミド輸送体に対するその IC_{50} 値を示す。

【図 6】図 6 は、アナンダミドおよび本発明の化合物の個別でのおよび組み合わせたの *in vivo* 抗侵害受容作用を示す。実施例 7 を参照。

【図 1】



【図 2】



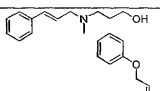
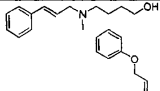
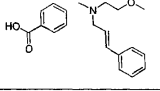
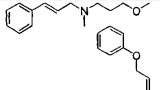
【図 3】

化合物	アナンタミド輸送体の阻害 (IC ₅₀ , nM)
	<500
	<500
	<500
	<500
	<500

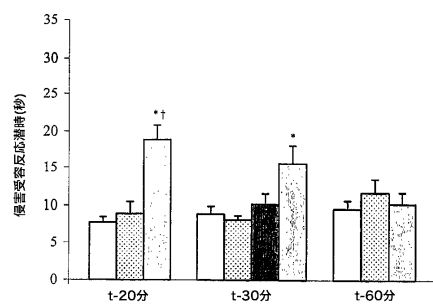
【図 4】

化合物	アナンタミド輸送体の阻害 (IC ₅₀ , nM)
	<1,000
	<500
	<500
	<500
	<500

【図 5】

化合物	アナンドミド輸送体の阻害 (IC ₅₀ , nM)
	<1,000
	<1,000
	>1,000
	<1,000

【図 6】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	3/02	(2006.01)	A 6 1 P	3/02	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	21/02	(2006.01)	A 6 1 P	21/02	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/02	1 0 1
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/06	
A 6 1 P	25/08	(2006.01)	A 6 1 P	25/08	
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/22	(2006.01)	A 6 1 P	25/22	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	27/06	(2006.01)	A 6 1 P	27/06	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/18	(2006.01)	A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	37/04	(2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	
C 0 7 C	217/58	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 C	229/34	(2006.01)	C 0 7 C	217/58	
			C 0 7 C	229/34	

- (72)発明者 ホブキンス, セス
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 マルボロー
- (72)発明者 ロックシン, カーティス エイ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 2 1 レキシントン ロス ロード 7
- (72)発明者 ワン, フェンジャン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 5 3 2 ノースボロー エドマンズ ウェイ 6

審査官 近藤 政克

- (56)参考文献 特表 2 0 0 4 - 5 3 2 2 4 2 (J P , A)
特開 2 0 0 3 - 1 1 3 1 4 8 (J P , A)
特表 2 0 0 5 - 5 1 0 4 5 0 (J P , A)
特開平 1 0 - 3 1 6 6 2 9 (J P , A)
西独国特許出願公開第 0 3 4 0 5 3 3 4 (D E , A)
特開昭 5 2 - 1 3 1 5 6 4 (J P , A)
米国特許第 0 2 6 0 1 2 7 5 (U S , A)
米国特許第 0 5 4 7 3 0 8 0 (U S , A)
特表平 0 6 - 5 0 6 4 4 0 (J P , A)
Archiv der Pharmazie , 1 9 9 5 年 , 328(9) , p.667-672

Journal of Organic Chemistry , 1 9 6 0 年 , 25(10) , p.1719-1722

薬学雑誌 , 1 9 7 5 年 , 95(3) , p.251-260

Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L'academie des Sciences , 1 9 7 2 年 , 275-Ser.C , p.1305-1308

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07C 217/62

A61K 31/137

A61P 1/04

A61P 1/08

A61P 1/14

A61P 3/02

A61P 9/00

A61P 9/10

A61P 9/12

A61P 11/06

A61P 15/00

A61P 19/02

A61P 21/02

A61P 25/00

A61P 25/02

A61P 25/06

A61P 25/08

A61P 25/14

A61P 25/16

A61P 25/22

A61P 25/28

A61P 27/06

A61P 29/00

A61P 31/04

A61P 31/18

A61P 37/04

A61P 37/06

A61P 37/08

A61P 43/00

C07C 217/58

C07C 229/34

CA/REGISTRY(STN)