

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4440481号
(P4440481)

(45) 発行日 平成22年3月24日 (2010. 3. 24)

(24) 登録日 平成22年1月15日 (2010. 1. 15)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K	31/202	(2006. 01)	A 6 1 K	31/202
A 6 1 P	17/00	(2006. 01)	A 6 1 P	17/00
A 6 1 P	17/06	(2006. 01)	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	17/08	(2006. 01)	A 6 1 P	17/08
A 6 1 P	29/00	(2006. 01)	A 6 1 P	29/00

請求項の数 12 (全 46 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2000-604843 (P2000-604843)
(86) (22) 出願日	平成12年3月14日 (2000. 3. 14)
(65) 公表番号	特表2002-539159 (P2002-539159A)
(43) 公表日	平成14年11月19日 (2002. 11. 19)
(86) 国際出願番号	PCT/US2000/006582
(87) 国際公開番号	W02000/054767
(87) 国際公開日	平成12年9月21日 (2000. 9. 21)
審査請求日	平成15年7月25日 (2003. 7. 25)
(31) 優先権主張番号	60/125, 205
(32) 優先日	平成11年3月18日 (1999. 3. 18)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	504412945
	ザ ブライハム アンド ウイメンズ ホ スピタル, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02 115 ボストン, フランシス ストリ ート 75
(74) 代理人	110000741
	特許業務法人小田島特許事務所
(72) 発明者	サーハン, チャールズ・エヌ アメリカ合衆国マサチューセッツ州0248 1 ウエルズリー・クラウンリッジロード5 1

審査官 大野 晃

最終頁に続く

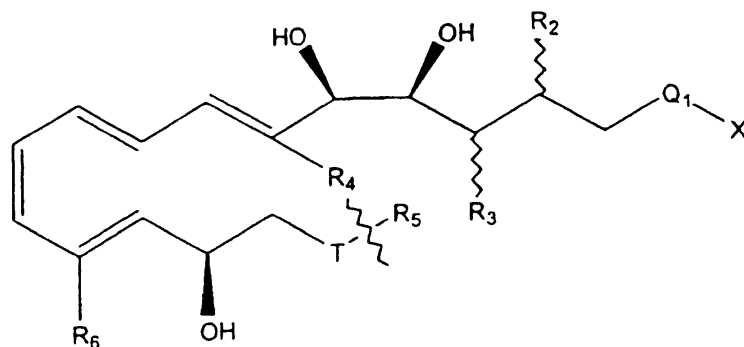
(54) 【発明の名称】 TNF- α により開始される好中球応答を阻害するためのリポキシン化合物の使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (III)

【化 4 3】



10

式中、

XはR₁、OR₁またはSR₁であり；

ここで、

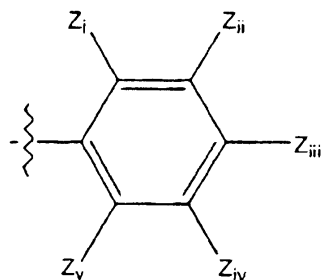
R₁は

(i) 水素原子；

20

- (ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；
- (iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；
- (iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；
- (v) フェニル；
- (vi) 置換されたフェニル

【化 4 4】



10

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii) 検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

20

であり；

Q_1 は $\text{C}(=\text{O})$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(c) 3～6個の炭素原子のシクロアルキル；

(d) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ (ここで、 Q_2 は $-\text{O}-$ もしくは $-\text{S}-$ であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキルであるかまたは水素原子である)；

30

であり；

R_4 は

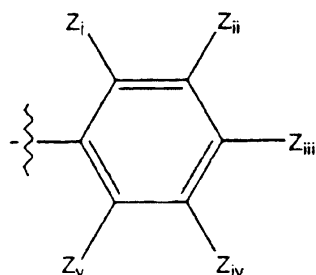
(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【化 4 5】



40

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分

50

枝していないアルキル基から選択され；

R_6 は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

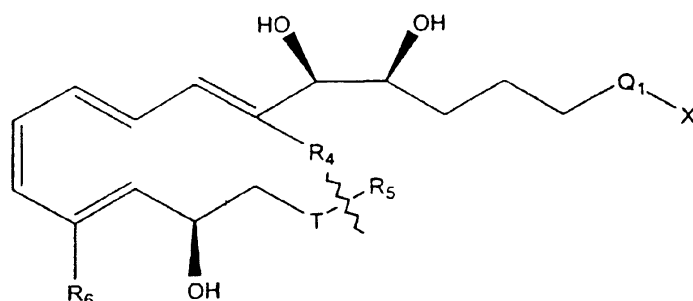
であり；

TはOまたはSである、

を有するか、または、

式(IV)

【化46】



10

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

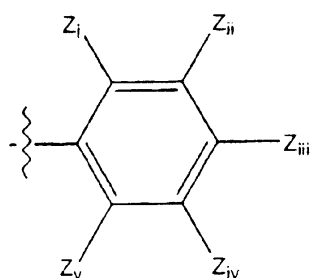
(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【化47】



30

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)-R_1$ 、 $-SO_3H$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $(C=O)$ 、 SO_2 または (CN) であり、ただし、 Q_1 が CN である場合にはXは存在せず；

R_4 は

(a)H；

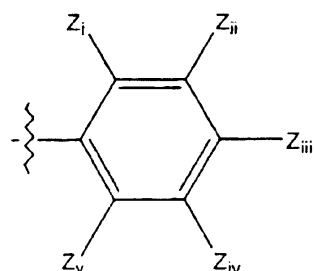
(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

50

R₅ は

【化 4 8】



10

であり、ここで、

Z_i、Z_{ii}、Z_{iii}、Z_{iv}及びZ_vは各々独立して-NO₂、-CN、-C(=O)-R₁、-SO₃H、水素原子、ハロゲン、メチル、-OR_x、ここで、R_xは直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

R₆ は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

20

TはOまたはSである、

を有する、

少なくとも一つのリポキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩の治療的に有効な量を含んでなる、被験体におけるTNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症と関連する脂漏性皮膚炎、膿疱性皮膚炎またはふけを処置するための製薬学的組成物。

【請求項 2】

治療的に有効な量のリポキシン化合物がシャンプー中に含まれる請求項 1 記載の製薬学的組成物。

【請求項 3】

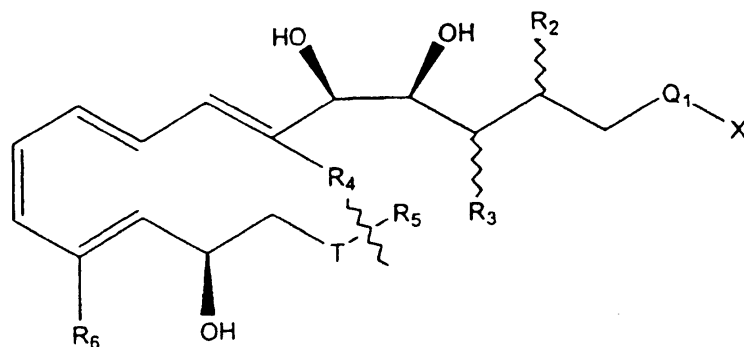
治療的に有効な量のリポキシン化合物がボディークレンジング製品中に含まれる請求項 1 記載の製薬学的組成物。

30

【請求項 4】

式(III)

【化 4 3】



40

式中、

XはR₁、OR₁またはSR₁であり；

ここで、

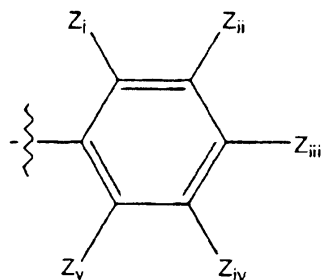
R₁ は

(i)水素原子；

50

- (ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；
- (iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；
- (iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；
- (v) フェニル；
- (vi) 置換されたフェニル

【化 4 4】



10

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii) 検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

20

であり；

Q_1 は $\text{C}(=\text{O})$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(c) 3～6個の炭素原子のシクロアルキル；

(d) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ (ここで、 Q_2 は $-\text{O}-$ もしくは $-\text{S}-$ であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキルであるかまたは水素原子である)；

30

であり；

R_4 は

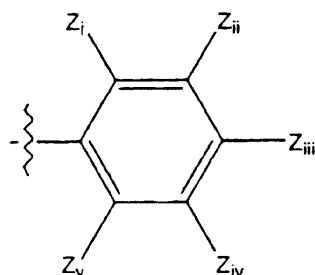
(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【化 4 5】



40

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分

50

枝していないアルキル基から選択され；

R_6 は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

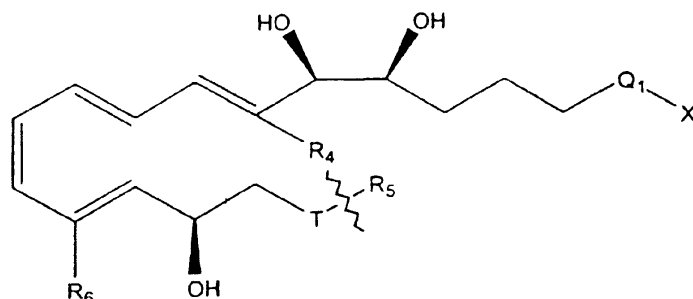
であり；

TはOまたはSである、

を有するか、または、

式(IV)

【化46】



10

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

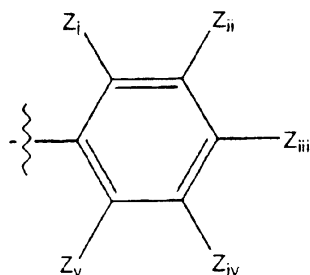
(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【化47】



30

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)-R_1$ 、 $-SO_3H$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $(C=O)$ 、 SO_2 または (CN) であり、ただし、 Q_1 が CN である場合にはXは存在せず；

R_4 は

(a)H；

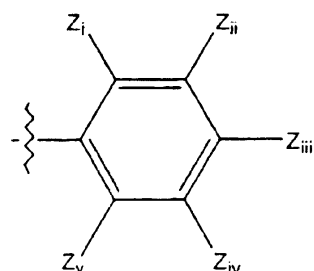
(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

50

R₅ は

【化 4 8】



10

であり、ここで、

Z_i、Z_{ii}、Z_{iii}、Z_{iv}及びZ_vは各々独立して-NO₂、-CN、-C(=O)-R₁、-SO₃H、水素原子、ハロゲン、メチル、-OR_x、ここで、R_xは直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

R₆は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

20

TはOまたはSである、

を有する、

少なくとも一つのリポキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩の治療的に有効な量を含んでなる、被験体における脂漏性皮膚炎、膿疱性皮膚炎またはふけを処置するための製薬学的組成物。

【請求項 5】

治療的に有効な量のリポキシン化合物がシャンプー中に含まれる請求項 4 記載の製薬学的組成物。

【請求項 6】

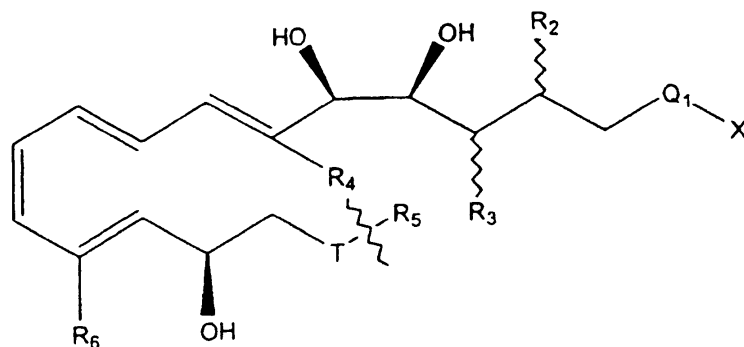
治療的に有効な量のリポキシン化合物がボディークレンジング製品中に含まれる請求項 4 記載の製薬学的組成物。

30

【請求項 7】

式(III)

【化 4 3】



40

式中、

XはR₁、OR₁またはSR₁であり；

ここで、

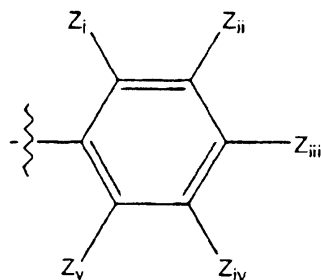
R₁は

(i)水素原子；

50

- (ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；
- (iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；
- (iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；
- (v) フェニル；
- (vi) 置換されたフェニル

【化 4 4】



10

(ここで、
 Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii) 検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

20

であり；

Q_1 は $\text{C}(=\text{O})$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(c) 3～6個の炭素原子のシクロアルキル；

(d) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ (ここで、 Q_2 は $-\text{O}-$ もしくは $-\text{S}-$ であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキルであるかまたは水素原子である)；

30

であり；

R_4 は

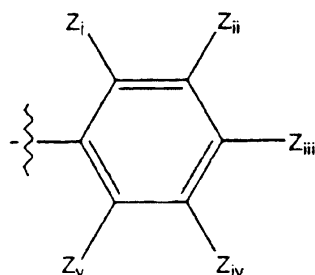
(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【化 4 5】



40

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分

50

枝していないアルキル基から選択され；

R_6 は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

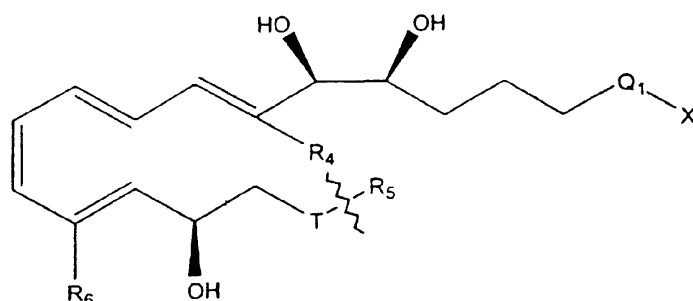
であり；

TはOまたはSである、

を有するか、または、

式(IV)

【化46】



10

式中、

X は R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

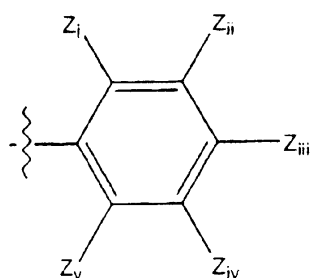
(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【化47】



30

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)-R_1$ 、 $-SO_3H$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $(C=O)$ 、 SO_2 または (CN) であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

R_4 は

(a)H；

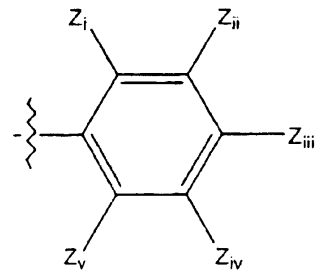
(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

50

R₅ は

【化 4 8】



10

であり、ここで、

Z_i、Z_{ii}、Z_{iii}、Z_{iv}及びZ_vは各々独立して-NO₂、-CN、-C(=O)-R₁、-SO₃H、水素原子、ハロゲン、メチル、-OR_x、ここで、R_xは直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

R₆は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

20

TはOまたはSである、

を有する、

少なくとも一つのリポキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩の治療的に有効な量を含んでなる、被験体におけるTNFにより開始されるサイトカイン活性と関連する脂漏性皮膚炎、膿疱性皮膚炎またはふけを処置するための製薬学的組成物。

【請求項 8】

治療的に有効な量のリポキシン化合物がシャンプー中に含まれる請求項 7 記載の製薬学的組成物。

【請求項 9】

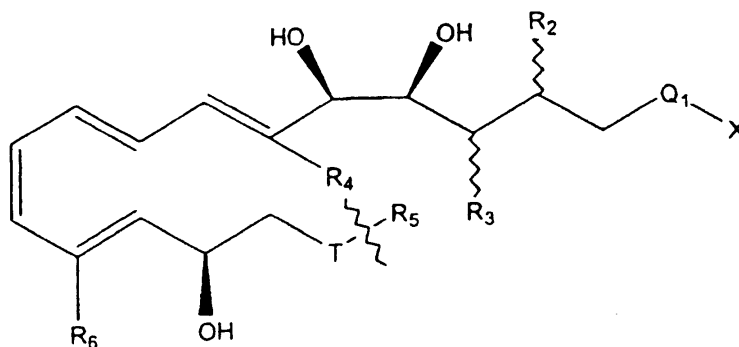
治療的に有効な量のリポキシン化合物がボディークレンジング製品中に含まれる請求項 7 記載の製薬学的組成物。

30

【請求項 10】

式(III)

【化 4 3】



40

式中、

XはR₁、OR₁またはSR₁であり；

ここで、

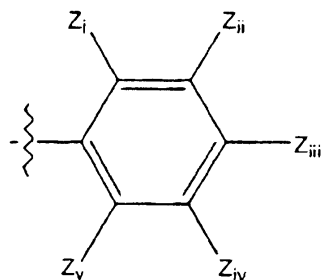
R₁は

(i)水素原子；

50

- (ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；
- (iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；
- (iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；
- (v) フェニル；
- (vi) 置換されたフェニル

【化 4 4】



10

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii) 検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

20

であり；

Q_1 は $\text{C}(=\text{O})$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(c) 3～6個の炭素原子のシクロアルキル；

(d) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ (ここで、 Q_2 は $-\text{O}-$ もしくは $-\text{S}-$ であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキルであるかまたは水素原子である)；

30

であり；

R_4 は

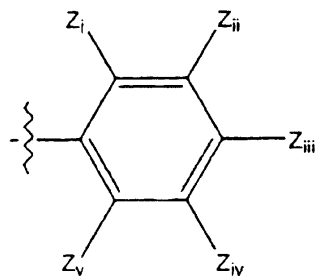
(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【化 4 5】



40

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分

50

枝していないアルキル基から選択され；

R_6 は

(a)H；

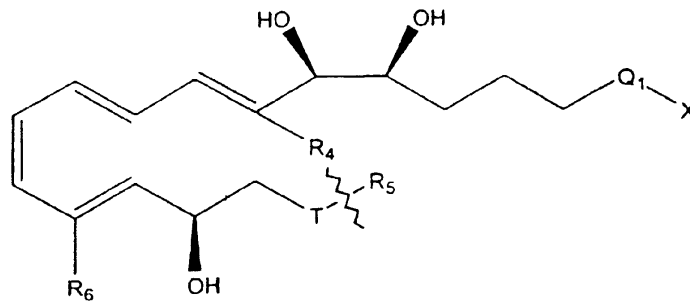
(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；
であり；

TはOまたはSである、

を有するか、または、

式(IV)

【化46】



10

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

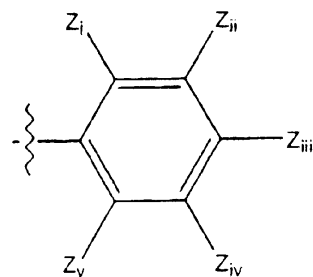
(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【化47】



30

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)-R_1$ 、 $-SO_3H$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $(C=O)$ 、 SO_2 または (CN) であり、ただし、 Q_1 が CN である場合にはXは存在せず；

R_4 は

(a)H；

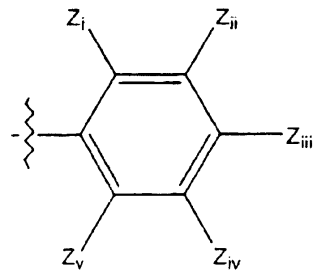
(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

50

R₅ は

【化 4 8】



10

であり、ここで、

Z_i、Z_{ii}、Z_{iii}、Z_{iv}及びZ_vは各々独立して-NO₂、-CN、-C(=O)-R₁、-SO₃H、水素原子、ハロゲン、メチル、-OR_x、ここで、R_xは直鎖もしくは分枝鎖であることができる1~8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

R₆は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1~4個の炭素原子のアルキル；

であり；

20

TはOまたはSである、

を有する、

少なくとも一つのリポキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩の治療的に有効な量を含んでなる、被験体におけるTNF により開始されるIL-1 炎症と関連する脂漏性皮膚炎、膿疱性皮膚炎またはふけを処置するための製薬学的組成物。

【請求項 1 1】

治療的に有効な量のリポキシン化合物がシャンプー中に含まれる請求項 1 0 記載の製薬学的組成物。

【請求項 1 2】

治療的に有効な量のリポキシン化合物がボディークレンジング製品中に含まれる請求項 1 0 記載の製薬学的組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の背景

サイトカイン及びケモカインのような炎症の脂質及びタンパク質メディエーターは、相互の形成及び作用に大きな影響を有する(Serhan, C. N., J. Z. Haeggstrom, and C. C. Leslie. 1996. Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines. FASEB J. 10:1147-1158)。特に、サイトカインTNF 及びIL-1 は、炎症、敗血症性ショック及び組織損傷において主要な役割を果たす。PMNは、化学走性、反応性酸素種の生成及び強力な脂質メディエーターの生合成を包含する、様々なよく理解された特殊化した機能を果たす(Weiss, S. J. 1989. Tissue destruction by neutrophils. N. Engl. J. Med. 320:365-376)。これに関連して、TNF は、IL-1 のようなサイトカインを転写して放出するようにPMNを刺激し、ロイコトリエン生合成を高め、そして接着分子をアップレギュレーションする(Marucha, P. T., R. A. Zeff, and D. L. Kreutzer. 1991. Cytokine-induced IL-1 gene expression in the human polymorphonuclear leukocyte: transcriptional and post-transcriptional regulation by tumor necrosis factor and IL-1. J. Immunol. 147: 2603-2608)。PMNは末梢血白血球の約70%に相当し、そして多くの場合において間隙部位に漸増される最初の細胞タイプであるので、現在、これらは、TNF 及びIL-1 を包含する「前炎症性(proinflammatory)」サイトカインの重要な起源と考えられる。これら並びに他のPMNに由来するサイトカイン及びケモカインは、今度は、炎

40

50

症反応及び免疫応答の経過に影響を与えることができる(Lloyd, A. R., and J. J. Oppenheim. 1992. Poly 's lament: the neglected role of the polymorphonuclear neutrophil in the afferent limb of the immune response. Immunology Today 13: 169-172)。呼吸困難症候群、心筋再灌流障害、痛風及び慢性関節リウマチを包含するある種の臨床環境において、PMNは宿主組織の進行中の損傷の一因となる(Weiss, S. J. 1989. Tissue destruction by neutrophils. N. Engl. J. Med. 320:365-376; Hachicha, M., P. H. Naccache, and S. R. McColl. 1995. Inflammatory microcrystals differentially regulate the secretion of macrophage inflammatory protein-1 and interleukin-8 by human neutrophils: A possible mechanism of neutrophil recruitment to sites of inflammation in synovitis. J. Exp. Med. 182:2019-2025; Hansen, P. R. 1995. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. Circulation 91:1872-1885)。従って、これらの事象を制御することにおける新しいアプローチの洞察を得るために脂質メディエーターとTNF により誘発されるPMN応答の間の複雑な関係を理解することは興味深い。発明の要約

本発明は、TNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症と関連する疾患または症状を調整する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるPMN炎症が調整されるように、下記の式を有するリポキシン類似体の有効な抗炎症量を被験体に投与することを含む。

【0002】

本発明はまた、被験体におけるTNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症を処置する方法にも関する。当該方法は、TNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症が処置されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗炎症量を投与することを含む。

【0003】

本発明はさらに、被験体におけるTNF により開始されるサイトカイン活性と関連する疾患または症状を調整する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるサイトカイン活性と関連する疾患または症状が調整されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗-TNF 量を投与することを含む。

【0004】

本発明はさらに、被験体におけるTNF により開始されるサイトカイン活性を処置する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるサイトカイン活性、例えば炎症が処置されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗-TNF 量を投与することを含む。

【0005】

本発明はまた、被験体におけるTNF により開始されるIL-1 活性と関連する疾患または症状を調整する方法にも関する。当該方法は、TNF により開始されるIL-1 と関連する疾患または症状が調整されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗炎症量を投与することを含む。

【0006】

本発明はさらに、被験体におけるTNF により開始されるIL-1 活性を処置する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるIL-1 活性、例えば炎症が処置されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗-TNF 量を投与することを含む。

【0007】

好ましい態様として、本発明の方法はインビトロまたはインビボで実施される。

【0008】

別の態様として、本発明は、被験体における上記の活性または症状を処置するための容器入り製薬学的組成物に関する。容器入り製薬学的組成物は、下記の式の一つを有する少なくとも一つのリポキシン化合物の治療的に有効な量が入っている容器及び被験体における活性または症状を処置するためにリポキシン化合物を使用するための説明書を含む。

【0009】

本発明は、添付の図面と結びついて取り上げられる以下の詳細な記述からさらに十分に理解される。

【0010】

【発明の詳細な記述】

本発明の特徴及び他の詳細は、今回、請求項においてより詳細に記述され、指摘される。本発明の特定の態様は本発明の例示として示され、限定としてではないことが理解される。本発明の原則特徴は、本発明の範囲からそれずに様々な態様において用いることができる。

【0011】

リボキシン A_4 (LXA $_4$)及びアスピリンにより誘発されるリボキシン(ATL)の影響を代謝的に安定なLX類似体を用いて腫瘍壊死因子(TNF)により開始される好中球(PMN)応答においてインピトロ及びインピボで調べた。1~10nM程度の低い濃度で、LXA $_4$ 及びATL類似体は各々、ヒトPMNによるTNFにより刺激されるスーパーオキシドアニオン生成及びIL-1放出を阻害した。これらのLXA $_4$ -ATLの作用は、時間及び濃度に依存し、そしてこれらの応答はGM-CSFまたはザイモサンにより刺激した細胞では改変されなかったため、TNFに選択的であると判明した。TNFにより誘導されるIL-1遺伝子発現はまた、抗-LXA $_4$ -受容体抗体及びLXA $_4$ -ATL類似体の両方によっても調整された。マウス空気嚢において、15R/S-メチル-LXA $_4$ は、TNFにより刺激される白血球輸送、並びにマクロファージ炎症性ペプチド-2及びIL-1の両方の出現を劇的に阻害し、一方、付随して嚢滲出物においてIL-4を刺激した。一緒にしてこれらの結果は、LXA $_4$ 及びATLの両方が、TNFにより誘導される好中球作用をインピトロ及びインピボで調整し、そして免疫応答において重要な役割を果たすIL-4を滲出物において刺激することを示す。

【0012】

本願において使用する略語：ATL、アスピリンにより誘発されるリボキシン；ATL類似体、15R/S-メチル-LXA $_4$ -メチルエステル；LX、リボキシン；LXA $_4$ 、5S,6R,15S-トリヒドロキシ-7,9,13-トランス-11-シス-エイコサテトラエン酸；LXA $_4$ 類似体、16フェノキシ-リボキシン A_4 メチルエステル；15-エピ-LXA $_4$ 、5S,6R,15R-トリヒドロキシ-7,9,13-トランス-11-シス-エイコサテトラエン酸；LT、ロイコトリエン；MIP、マクロファージ炎症性ペプチド；RA、慢性関節リウマチ。リボキシン化合物の適当な製造方法はまた、例えば、引用することにより本明細書に組み込まれる米国特許第5,411,951号、第5,648,512号、第5,650,435号及び第5,750,354号に見出すこともできる。

【0013】

炎症におけるロイコトリエン(LT 1)B $_4$ の寄与は、PMNを誘引するその強力な能力のために確立している。各々リボキシン(LX)及びアスピリンにより誘発されるリボキシン(ATL)と呼ばれる別の系列の生物活性脂質メディエーターは、ナノモルの範囲内で、fMLP及びLTB $_4$ により刺激されるPMN接着及び遊出を阻害し、従って、炎症部位の消散に有効な逆調整シグナルであると提示されている(Serhan, C. N., J. Z. Haeggstrom, and C. C. Leslie. 1996. Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines. FASEB J. 10:1147-1158; Takano, T., S. Fiore, J. F. Maddox, H. R. Brady, N. A. Petasis, and C. N. Serhan. 1997. Aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A_4 and LXA $_4$ stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for anti-inflammatory receptors. J. Exp. Med. 185:1693-1704; Claria, J., and C. N. Serhan. 1995. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:9475-9479; Lee, T. H., C. E. Horton, U. Kyan-Aung, D. Haskard, A. E. Crea, and B. W. Spur. 1989. Lipoxin A_4 and lipoxin B_4 inhibit chemotactic responses of human neutrophils stimulated by leukotriene B_4 and N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine. Clin. Sci. 77:195-203; Serhan, C. N. 1994. Lipoxin biosynthesis and its impact in inflammatory and vascular events. Biochim. Biophys. Acta 1212:1-25)。ヒト組織において、3つの主要な経路がLX生成に関して既知である。LXの管内起源は、PMN 5-リボキシゲナーゼ(L0)生成物LTA $_4$ と血小板12-L0で続いて起こる経細胞的生合成経路を利用するPMN-血小板相互作用により例示される。これらのエイコサノイドの粘膜及び/または間隙起源は、白血球5-L0とIL-4及びIL-13により制御される例えば好酸球、胃腸または気管上皮に

存在する15-LOでの細胞-細胞相互作用を含む((Serhan, C. N., J. Z. Haeggstrom and C. C. Leslie. 1996. Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines. FASEB J. 10:1147-1158)に概説される)。また、第三のそして最も最近に解明されたものは、経細胞的生合成により生成される、アスピリンにより誘発されるリポキシン(ATL)と呼ばれる、天然のLXの15Rエピマーの内因性生合成を誘発するアスピリンの新規な作用機構でもある(Claria, J., and C. N. Serhan. 1995. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:9475-9479)。

【 0 0 1 4 】

LXは、経細胞的生合成により細胞-細胞相互作用中に生成され、そして血管形成中及び免疫複合体性糸球体腎炎においてインビボで産生される(Serhan, C. N., J. Z. Haeggstrom and C. C. Leslie. 1996. Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines. FASEB J. 10: 1147-1158; Papayianni, A., C. N. Serhan, M. L. Phillips, H. G. Rennke, and H. R. Brady. 1995. Transcellular biosynthesis of lipoxin A₄ during adhesion of platelets and neutrophils in experimental immune complex glomerulonephritis. Kidney Int. 47:1295-1302)。LXA₄はまた、アスピリン感受性の喘息患者の鼻洗浄液中にも存在し、そして喘息及び慢性関節リウマチにかかっている患者からの白血球により生成される(Chavis, C., I. Vachier, P. Chanez, J. Bousquet, and P. Godard. 1996. 5(S),15(S)-Dihydroxyeicosatetraenoic acid and lipoxin generation in human polymorphonuclear cells: dual specificity of 5-lipoxygenase towards endogenous and exogenous precursors. J. Exp. Med. 183:1633-1643; Thomas, E., J. L. Leroux, F. Blotman, and C. Chavis. 1995. Conversion of endogenous arachidonic acid to 5,15-diHETE and lipoxins by polymorphonuclear cells from patients with rheumatoid arthritis. Inflamm. Res. 44: 121-124)。大部分のオートコイド及び脂質メディエーターのように、LXは迅速に生合成され、局所的微環境内で作用し、そして迅速に酵素的に不活性化される。インビボでLX及びATLの役割の理解を進めるために、迅速な不活性化に耐え且つ天然に存在するLX及びATLのインビトロ作用によく似る代謝的に安定なLX類似体が設計された(Serhan, C. N., J. F. Maddox, N. A. Petasis, I. Akritopoulou-Zanze, A. Papayianni, H. R. Brady, S. P. Colgan, and J. L. Madara. 1995. Design of lipoxin A₄ stable analogs that block transmigration and adhesion of human neutrophils. Biochemistry 34:14609-14615)。意外にも、これらの化合物は、インビトロ並びにインビボでTNF により誘導されるPMNに関連する炎症事象の強力なインヒビターであることが見出された。さらに、LXA₄-ATLは、MIP-2及びIL-1 を阻害するが、滲出物内でのIL-4の局所的出現を刺激する。

【 0 0 1 5 】

本発明は、TNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症と関連する疾患または症状を調整する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるPMN炎症が調整されるように、下記の式を有するリポキシン類似体の有効な抗炎症量を被験体に投与することを含む。

【 0 0 1 6 】

本発明はまた、被験体におけるTNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症を処置する方法にも関する。当該方法は、TNF により開始される多形核好中球(PMN)炎症が処置されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗炎症量を投与することを含む。

【 0 0 1 7 】

本発明はさらに、被験体におけるTNF により開始されるサイトカイン活性と関連する疾患または症状を調整する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるサイトカイン活性と関連する疾患または症状が調整されるように、下記のリポキシン類似体の有効な抗-TNF 量を投与することを含む。

【 0 0 1 8 】

本発明はさらに、被験体におけるTNF により開始されるサイトカイン活性を処置する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるサイトカイン活性、例えば炎症が処置

10

20

30

40

50

されるように、下記のリボキシシ類似体の有効な抗炎症量を投与することを含む。

【0019】

本発明はまた、被験体におけるTNF により開始されるIL-1 活性と関連する疾患または症状を調整する方法にも関する。当該方法は、TNF により開始されるIL-1 活性と関連する疾患または症状が調整されるように、下記のリボキシシ類似体の有効な抗-TNF 量を投与することを含む。

【0020】

本発明はさらに、被験体におけるTNF により開始されるIL-1 活性を処置する方法に関する。当該方法は、TNF により開始されるIL-1 活性、例えば炎症が処置されるように、下記のリボキシシ類似体の有効な抗-TNF 量を投与することを含む。

10

【0021】

好ましい態様として、本発明の方法はインビトロまたはインビボで実施される。

【0022】

別の態様として、本発明は、被験体における上記の活性または症状を処置するための容器入り製薬学的組成物に関する。容器入り製薬学的組成物は、下記の式の一つを有する少なくとも一つのリボキシシ化合物の治療的に有効な量が入っている容器及び被験体における活性または症状を処置するためにリボキシシ化合物を使用するための説明書を含む。

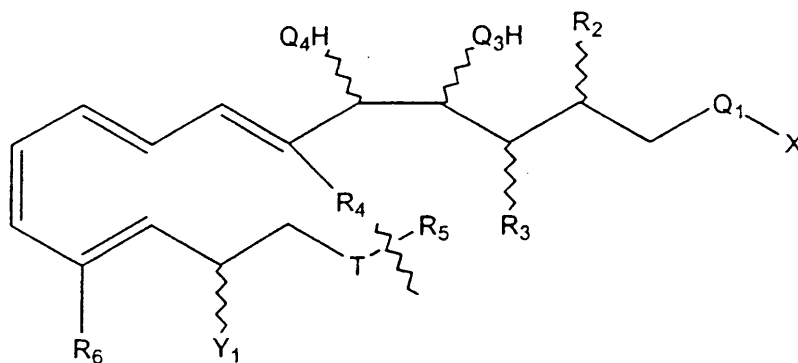
【0023】

一つの態様として、本発明において有用な化合物は、式(I)

【0024】

20

【化37】



30

【0025】

式中、

XはR₁、OR₁またはSR₁であり；

ここで、

R₁は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

40

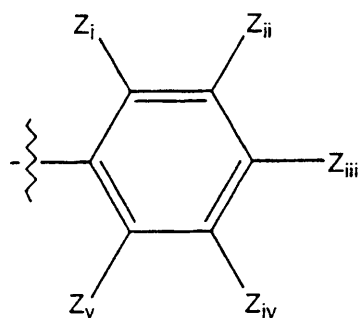
(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【0026】

【化38】



10

【 0 0 2 7 】

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii) 検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $\text{C}=\text{O}$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

Q_3 及び Q_4 は各々独立して O 、 S または NH であり；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(c) 3～6個の炭素原子のシクロアルキル；

(d) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ (ここで、 Q_2 は $-\text{O}-$ もしくは $-\text{S}-$ であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～8個の炭素原子のアルキルであり、ただし、 R_b が0である場合には R_b は水素原子である)；

であり；

 R_4 は(a) H ；

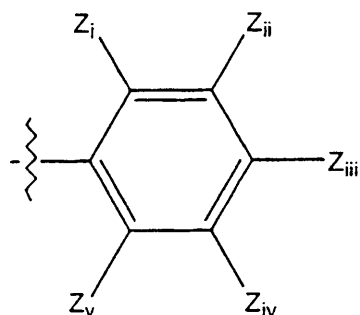
(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

 R_5 は

【 0 0 2 8 】

【 化 3 9 】



40

【 0 0 2 9 】

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハ

50

ロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

Y_1 は $-OH$ 、メチル、 $-SH$ 、直鎖もしくは分枝鎖の2～4個の炭素原子のアルキル、1～4個の炭素原子のアルコキシまたは CH_aZ_b であり、ここで、 $a+b=3$ 、 $a=0\sim3$ 、 $b=0\sim3$ 、そしてZはシアノ、ニトロもしくはハロゲンであり；

R_6 は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

TはOまたはSである、

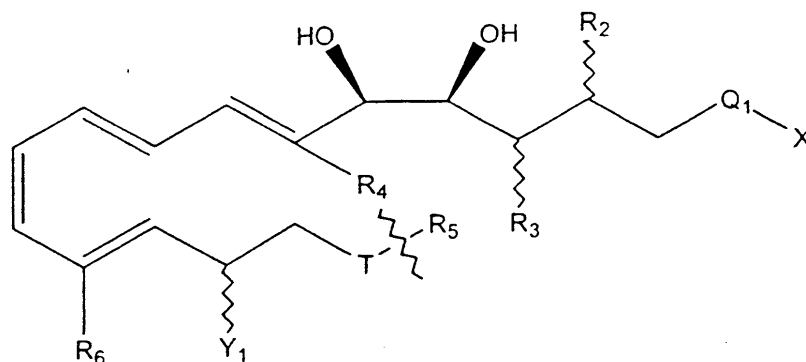
及びその製薬学的に許容しうる塩を有する。

【0030】

別の態様として、本発明において有用な化合物は、式(II)

【0031】

【化40】



【0032】

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

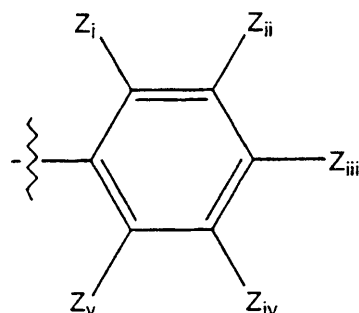
(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【0033】

【化41】



10

20

30

40

50

【 0 0 3 4 】

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $\text{C}=\text{O}$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合には X は存在せず；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

10

(a) H ；

(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(c)3～6個の炭素原子のシクロアルキル；

(d)直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ (ここで、 Q_2 は $-\text{O}-$ もしくは $-\text{S}-$ であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～8個の炭素原子のアルキルであり、ただし、 R_b が0である場合には R_b は水素原子である)；

であり；

R_4 は

20

(a) H ；

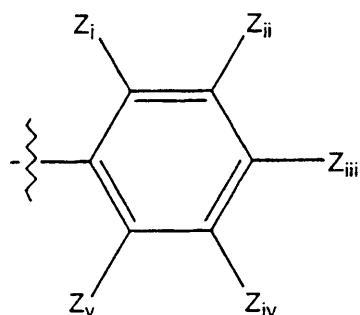
(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【 0 0 3 5 】

【 化 4 2 】



30

【 0 0 3 6 】

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

40

Y_1 は $-\text{OH}$ 、メチル、 $-\text{SH}$ 、直鎖もしくは分枝鎖の2～4個の炭素原子のアルキル、1～4個の炭素原子のアルコキシまたは CH_aZ_b であり、ここで、 $a+b=3$ 、 $a=0\sim3$ 、 $b=0\sim3$ 、そして Z はシアノ、ニトロもしくはハロゲンであり；

R_6 は

(a) H ；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

T は O または S である、

50

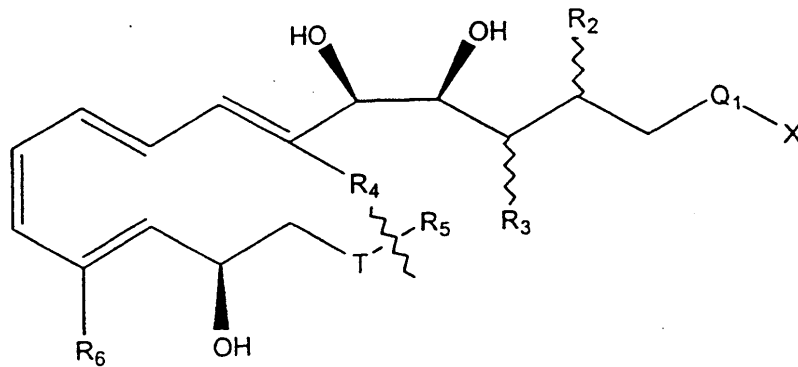
及びその製薬学的に許容しうる塩を有する。

【 0 0 3 7 】

本発明はまた、式(III)

【 0 0 3 8 】

【 化 4 3 】



10

【 0 0 3 9 】

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

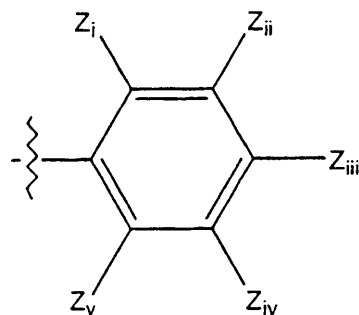
(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【 0 0 4 0 】

【 化 4 4 】



30

【 0 0 4 1 】

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)-R_1$ 、 $-SO_3H$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

であり；

Q_1 は $(C=O)$ 、 SO_2 または (CN) であり、ただし、 Q_1 が CN である場合にはXは存在せず；

R_2 及び R_3 の一方は水素原子であり、そしてもう一方は

(a)H；

40

50

- (b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；
 (c) 3～6個の炭素原子のシクロアルキル；
 (d) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる2～8個の炭素原子のアルケニル；または
 (e) $R_a Q_2 R_b$ （ここで、 Q_2 は-O-もしくは-S-であり； R_a は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～6個の炭素原子のアルキレンであり、そして R_b は直鎖もしくは分枝鎖であることができる0～8個の炭素原子のアルキルであり、ただし、 R_b が0である場合には R_b は水素原子である）；

であり；

R_4 は

(a) H；

10

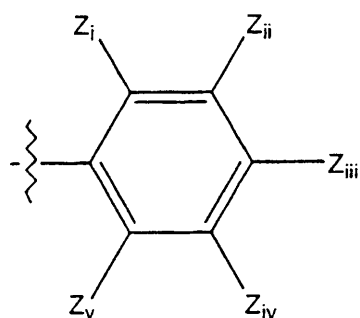
(b) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【0042】

【化45】



20

【0043】

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して- NO_2 、-CN、-C(=O)- R_1 、- SO_3H 、水素原子、ハロゲン、メチル、- OR_x 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

30

R_6 は

(a) H；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

TはOまたはSである、

を有する有用なリポキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩にも関する。

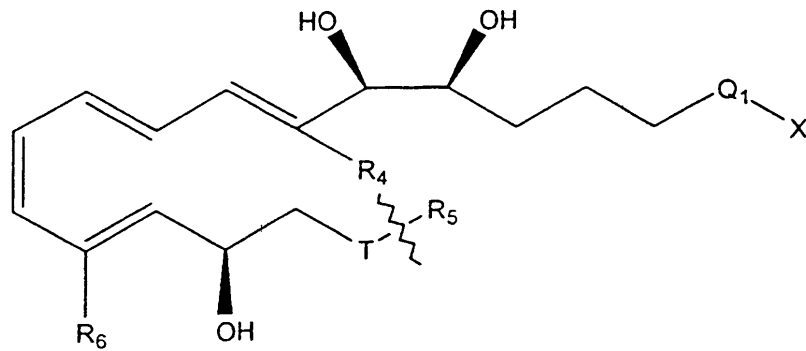
【0044】

本発明はさらに、式(IV)

【0045】

40

【化46】



10

【 0 0 4 6 】

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

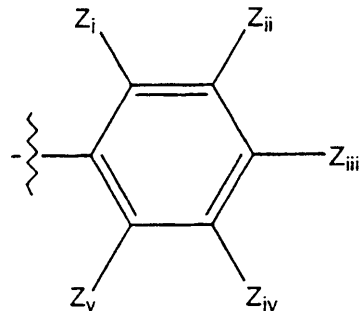
(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

20

【 0 0 4 7 】

【 化 4 7 】



30

【 0 0 4 8 】

(ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)-R_1$ 、 $-SO_3H$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-OR_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される)；

(vii)検出可能な標識分子；または

(viii) 2～8個の炭素原子の直鎖もしくは分枝鎖のアルケニル；

40

であり；

Q_1 は $C=O$ 、 SO_2 または CN であり、ただし、 Q_1 が CN である場合にはXは存在せず；

R_4 は

(a)H；

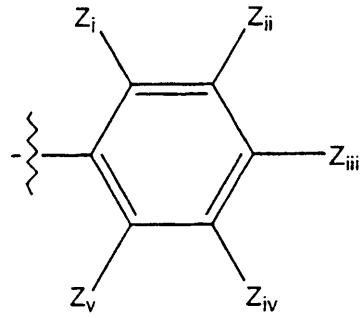
(b)直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～6個の炭素原子のアルキル；

であり；

R_5 は

【 0 0 4 9 】

【 化 4 8 】



10

【 0 0 5 0 】

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

R_6 は

(a)H；

(b)直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

であり；

20

TはOまたはSである、

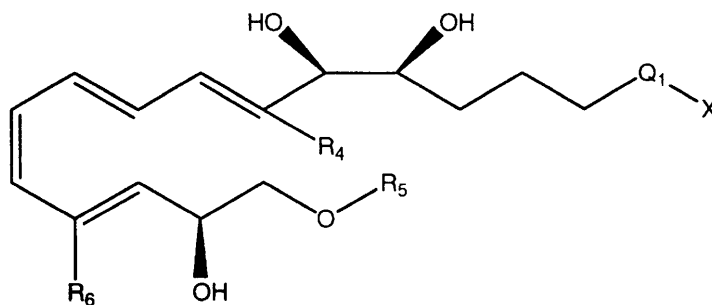
を有する有用なポリキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩に関する。

【 0 0 5 1 】

本発明はさらに、式(V)

【 0 0 5 2 】

【 化 4 9 】



30

【 0 0 5 3 】

式中、

Xは R_1 、 OR_1 または SR_1 であり；

ここで、

40

R_1 は

(i)水素原子；

(ii) 直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子のアルキル；

(iii) 3～10個の炭素原子のシクロアルキル；

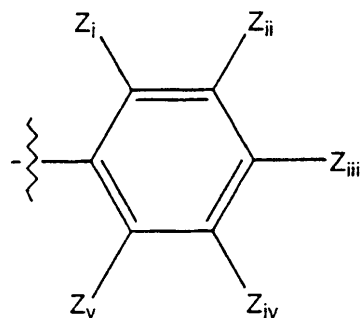
(iv) 7～12個の炭素原子のアラルキル；

(v)フェニル；

(vi)置換されたフェニル

【 0 0 5 4 】

【 化 5 0 】



10

【0055】

(式中、 Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} および Z_v は、それぞれ独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ (式中、 R_x は直鎖または分枝状であってもよい炭素原子1～8個である)、およびヒドロキシルより選ばれる)

(vii) 検出可能な標識分子、または

(viii) 炭素原子2～8個の直鎖または分枝状アルケニル

であり、

式中、 Q_1 は、 $(\text{C}=\text{O})$ 、 $-\text{SO}_2$ または (CN) であり、ただし Q_1 が CN の場合には、 X は存在せず、

20

式中、 R_4 は、

(a) H 、

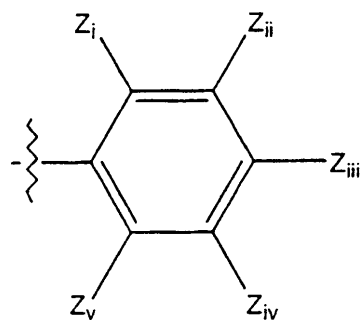
(b) 直鎖または分枝状であってもよい炭素原子1～6個のアルキル

であり、

式中、 R_5 は、

【0056】

【化51】



30

【0057】

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1～8個の炭素原子である、及びヒドロキシルまたは置換されたもしくは未置換の分枝したもしくは分枝していないアルキル基から選択され；

40

R_6 は

(a) H ；

(b) 直鎖もしくは分枝鎖の1～4個の炭素原子のアルキル；

である

を有する有用なリポキシン化合物及びその製薬学的に許容しうる塩に関する。

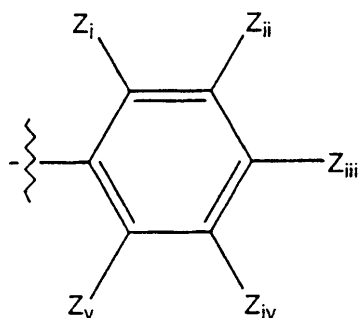
好ましい態様として、 X は OR_1 であり、ここで、 R_1 は水素原子、1～4個の炭素原子のアルキル基または製薬学的に許容しうる塩であり、 Q_1 は $\text{C}=\text{O}$ であり、 R_2 及び R_3 は存在する場合に

50

は水素原子であり、 R_4 は水素原子またはメチルであり、 Q_3 及び Q_4 は存在する場合には両方とも0であり、 R_6 は存在する場合には水素原子であり、 Y_1 は存在する場合にはOHであり、 T は0であり、そして R_5 は置換されたフェニル、例えば、

【0058】

【化52】



10

【0059】

であり、ここで、

Z_i 、 Z_{ii} 、 Z_{iii} 、 Z_{iv} 及び Z_v は各々独立して $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、水素原子、ハロゲン、メチル、 $-\text{OR}_x$ 、ここで、 R_x は直鎖もしくは分枝鎖であることができる1~8個の炭素原子である、及びヒドロキシルから選択される。 R_5 のある態様として、パラ-フルオロフェニル及び未置換のフェニルは除かれる、例えば、15-エピ-16-(パラ-フルオロ)-フェノキシ-LXA₄、15-エピ-16-フェノキシ-LXA₄、16-(パラ-フルオロ)-フェノキシ-LXA₄及び/または16-フェノキシ-LXA₄。米国特許5,441,951により包含される化合物は、本発明のある態様から除かれる。

20

【0060】

好ましい態様として、 Y_1 はヒドロキシルであり、そしてヒドロキシルを保有する炭素はRまたはS配置を有することができる。最も好ましい態様として、ヒドロキシル基、例えば Y_1 を保有するキラル炭素は、当該技術分野において既知であるように15-エピ-リポキシンと呼ばれる。

【0061】

ある態様として、 R_2 、 R_3 、 Q_3 及び Q_4 基を保有する炭素のキラリティーは、各々独立してRまたはSのいずれかであることができる。好ましい態様として、 Q_3 及び Q_4 は、構造II、III、IVまたはVに示すキラリティーを有する。

30

【0062】

好ましい態様として、 R_4 は水素である。別の好ましい態様として、 R_6 は水素である。

【0063】

さらに、 R_5 は、1~約6個の間の炭素原子、好ましくは1~4個の間の炭素原子、最も好ましくは1~3個の間、そして好ましくは1または2個の炭素原子を有する置換されたまたは未置換の分枝したまたは分枝していないアルキル基であることができる。これらの炭素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシル基またはエーテル基を包含する置換基を有することができる。

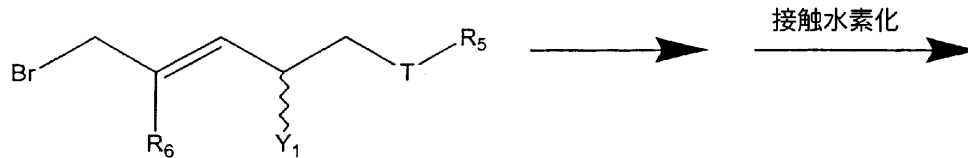
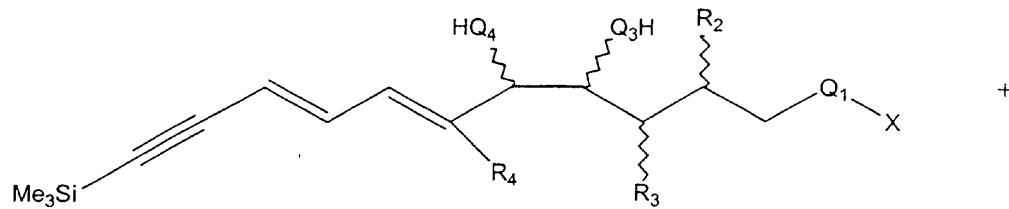
40

【0064】

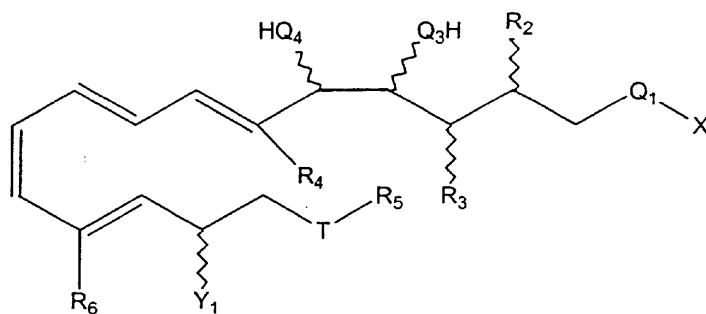
本発明において有用な化合物は、以下の合成スキームにより製造することができる：

【0065】

【化53】



10



20

【 0 0 6 6 】

ここで、

X、Q₁、Q₃、Q₄、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、Y₁及びTは上に定義したとおりである。各フラグメントを製造するために、当該技術分野において既知である適当な方法を用いることができる。例えば、アセチレンフラグメントは、Nicolaou, K. C. et al. (1991) Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 30:1100; Nicolaou, K. C. et al. (1989) J. Org. Chem. 54:5527; Weber, S. E. et al. (1988) Adv. Exp. Med. Biol. 229:61; 及び米国特許5,441,951に説明されている方法により製造することができる。第二のフラグメントは、Raduchel, B. and Vorbruggen, H. (1985) Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res. 14:263の方法により製造することができる。

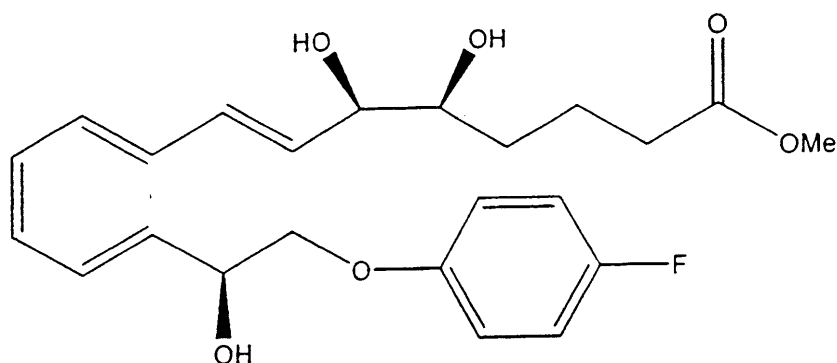
30

【 0 0 6 7 】

さらに別の態様として、本発明は、上記の式を有する化合物及び製薬学的に許容しうる担体を含む製薬学的組成物に関する。一つの態様として、好ましい化合物は、

【 0 0 6 8 】

【 化 5 4 】



40

【 0 0 6 9 】

50

である。好ましい態様として、製薬学的担体はケトン、例えばアセトンではない。

【0070】

一つの態様として、本発明の抗炎症剤は、頭皮及び/または体の洗浄のためのシャンプーまたはボディークレンジング製品、例えば石鹼中に導入することができる。シャンプーまたは石鹼製品におけるこれらの化合物の使用は、乾癬、脂漏性皮膚炎、膿疱性皮膚炎及びふけを処置するために利用することができる。従って、これらの化合物は、そのような症状と関連するTNF PMNまたはサイトカイン炎症を調整するために有用である。

【0071】

「リポキシン類似体」は、「天然のリポキシン」の活性領域のように機能する「活性領域」を有するが、天然のリポキシンと異なる「代謝変換領域(metabolic transformation region)」を有する化合物を意味するものとする。リポキシン類似体には、天然のリポキシンと構造的に類似している化合物、同じ受容体認識部位を共有する化合物、リポキシンと同じまたは同様のリポキシン代謝変換領域を共有する化合物及びリポキシンの類似体であると当該技術分野で認められている化合物が包含される。リポキシン類似体には、リポキシン類似体代謝産物が包含される。本明細書において開示する化合物は、1またはそれ以上の不斉中心を含有することができる。不斉炭素原子が存在する場合には1より多い立体異性体が可能であり、そして全ての可能な異性体は、示した構造表示内に包含されるものとする。光学的に活性の(R)及び(S)異性体は、当業者に既知である通常の技術を用いて分割することができる。本発明は、可能なジアステレオマー並びにラセミ異性体及び光学的に分割した異性体を包含するものとする。

【0072】

「対応するリポキシン」及び「天然のリポキシン」という用語は、天然に存在するリポキシンまたはリポキシン代謝産物をさす。類似体がりポキシン特異的受容体の活性を有する場合、対応するまたは天然のリポキシンはその受容体の通常のリガンドである。例えば、類似体が、分化したHL-60細胞上のLXA₄特異的受容体である場合、対応するリポキシンはLXA₄である。類似体が、天然に存在するリポキシンにより中和される、(ロイコトリエンのような)別の化合物に対するアンタゴニストとしての活性を有する場合、その天然のリポキシンは対応するリポキシンである。

【0073】

「活性領域」は、インピボでの細胞の相互作用と関連する、天然のリポキシンまたはリポキシン類似体の領域を意味するものとする。活性領域は、酵素及びその補因子を包含する、細胞のリポキシン受容体または高分子もしくは高分子の複合体の「認識部位」に結合することができる。好ましいリポキシンA₄類似体は、天然のリポキシンA₄のC₅-C₁₅を含んでなる活性領域を有する。好ましいリポキシンB₄類似体は、天然のリポキシンB₄のC5-C14を含んでなる活性領域を有する。

【0074】

「認識部位」または受容体という用語は当該技術分野で認識されており、一般に、ホルモン、ロイコトリエン及びリポキシンのようなある群の細胞メッセンジャーが、これらのメッセンジャーに対する生化学的及び生理学的応答が開始される前に最初に相互作用しなければならない機能性高分子または高分子の複合体をさすものとする。本願において用いる場合、受容体は、完全なもしくは透過性にした細胞上でまたは器官を包含する組織中で単離することができる。受容体は、生きている被験体からもしくはその中であることができ、またはそれをクローン化することができる。受容体は常態で存在することができ、または疾病状態により、損傷によりもしくは人工的手段により誘導することができる。本発明の化合物は、認識部位の天然の基質に関して可逆的に、不可逆的に、拮抗的に、非拮抗的にまたは不拮抗的(uncompetitively)に結合することができる。

【0075】

「代謝変換領域」という用語は、一般に、酵素または酵素とその補因子が、リポキシンに対して通常その酵素または酵素と補因子が変換する1またはそれ以上の代謝変換を行おうとするリポキシン、リポキシン代謝産物、またはリポキシン類似体代謝産物を包含するリ

10

20

30

40

50

ポキシン類似体の部分をさすものとする。代謝変換領域は、変換を受けやすくてもまたはそうでなくてもよい。リポキシンの代謝変換領域の限定しない例は、C-13,14二重結合またはC-15ヒドロキシル基または両方を包含するLXA₄の部分である。

【0076】

「検出可能な標識分子」という用語は、検出可能な標識分子が結合している化合物または受容体認識部位をトレースするか、追跡するかまたは同定するために用いる蛍光性、リン光性及び放射性標識した分子を包含するものとする。標識分子は、当該技術分野で既知のいくつかの方法のいずれかにより検出することができる。

【0077】

さらに、「標識したリポキシン類似体」という用語は、トリチウム(³H)、ジウテリウム(²H)、炭素(¹⁴C)のようなしかしこれらに限定されるものではない放射性同位体で標識されているかまたは別のやり方で(例えば蛍光的に)標識されている化合物を包含すると理解される。本発明の化合物は、例えば、動的結合実験のために、代謝経路及び酵素機構をさらに解明するために、または分析化学の分野において既知である方法による特性化のために標識するかまたは誘導化することができる。

【0078】

「代謝を阻害する」という用語は、天然のリポキシンを代謝する酵素の活性の阻止または減少を意味する。阻止または減少は、共有結合により、不可逆的結合により、不可逆的結合の実質上の効果を有する可逆的結合により、またはリポキシン類似体代謝産物を包含する別のリポキシン類似体、リポキシンもしくはリポキシン代謝産物に対して酵素が通常のように機能するのを防ぐあらゆる他の手段により起こることができる。

【0079】

「代謝に耐える」という用語は、リポキシンを代謝する少なくとも1つの酵素による1またはそれ以上の代謝分解変換を受けることができないことを包含するものとする。代謝に耐えるLXA₄類似体の2つの限定しない例は、1)15-オキソ形態に酸化することができない構造、及び2)15-オキソ形態に酸化することができるが、13,14-ジヒドロ形態への酵素還元を受けやすい構造である。

【0080】

「よりゆっくりと代謝を受ける」という用語は、より遅い反応速度論を有すること、またはリポキシンを代謝する1もしくはそれ以上の酵素による一連の代謝変換の完了により多くの時間を必要とすることを意味する。よりゆっくりと代謝を受けるLXA₄類似体の限定しない例は、類似体がC-16で立体的に妨げられるので、LXA₄より高いC-15脱水素の遷移状態エネルギーを有する構造である。

【0081】

「組織」という用語は、完全な細胞、血液、血漿及び血清のような血液調製物、骨、関節、筋肉、平滑筋及び器官を包含するものとする。

【0082】

「ハロゲン」という用語は、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素、またはフルオロ、クロロ、ブロモ及びヨードを包含するものとする。ある態様として、本発明の化合物は、ハロゲン化合物、例えばフッ素化合物を含まない。

【0083】

「被験体」という用語は、炎症、炎症反応、血管収縮及び骨髄抑制により引き起こされるかまたはそれが一因となる症状または疾患にかかりやすい生きている生物体を包含するものとする。被験体の例には、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ヤギ及びマウスが包含される。被験体という用語はさらに、トランスジェニック種を包含するものとする。

【0084】

本発明の化合物がヒト及び哺乳類に製薬として投与される場合、それらはそれ自体でまたは製薬学的に許容しうる担体と組み合わせて例えば0.1~99.5%(より好ましくは0.5~90%)の有効成分を含有する製薬学的組成物として与えることができる。

【0085】

10

20

30

40

50

「製薬学的に許容しうる担体」という語句は、本明細書において用いる場合、本発明の化合物（１または複数）がその意図される機能を果たすことができるようにそれを被験体内または被験体に運ぶことまたは輸送することに関与する、液体または固体の増量剤、希釈剤、賦形剤、溶媒または封入材料のような製薬学的に許容しうる材料、組成物または賦形剤を意味する。典型的には、そのような化合物は、体のある器官または部分から体の別の器官または部分に運ばれるかまたは輸送される。各担体は、製剤の他の成分と適合し且つ患者に有害でないという意味で「許容でき」なければならない。製薬学的に許容しうる担体として使うことができる材料のいくつかの例には：ラクトース、グルコース及びショ糖のような糖；コーンスターチ及びジャガイモ澱粉のような澱粉；セルロース並びにカルボキシメチルセルロース、エチルセルロース及び酢酸セルロースのようなその誘導体；粉末トラガカントゴム；麦芽；ゼラチン；タルク；ココアバター及び座薬ワックスのような賦形剤；ピーナッツ油、綿実油、ペニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及びダイズ油のような油；プロピレングリコールのようなグリコール；グリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコールのようなポリオール；オレイン酸エチル及びラウリン酸エチルのようなエステル；寒天；水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウムのような緩衝剤；アルギン酸；発熱物質を含まない水；等張食塩水；リンガー溶液；エチルアルコール；リン酸緩衝溶液；並びに製薬学的配合物に用いられる他の無毒の適合する物質が包含される。

10

【 0 0 8 6 】

ある態様として、本発明の化合物は１またはそれ以上の酸性官能基を含有することができ、従って、製薬学的に許容しうる塩基と製薬学的に許容しうる塩を形成することができる。これらの例における「製薬学的に許容しうる塩」という用語は、本発明の化合物の比較的無毒の無機及び有機塩基付加塩をさす。これらの塩は、化合物の最終単離及び精製中にインサイチューで、あるいは遊離酸形態の精製した化合物を製薬学的に許容しうる金属陽イオンの水酸化物、炭酸塩もしくは重炭酸塩のような適当な塩基と、アンモニアと、または製薬学的に許容しうる有機第一級、第二級もしくは第三級アミンと別個に反応させることにより同様に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には、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム及びアルミニウム塩等が包含される。塩基付加塩の形成に有用な代表的な有機アミンには、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、ピペラジン等が包含

20

30

【 0 0 8 7 】

「製薬学的に許容しうるエステル」という用語は、本発明の化合物の比較的無毒のエステル化生成物をさす。これらのエステルは、化合物の最終単離及び精製中にインサイチューで、または遊離酸形態もしくはヒドロキシルの精製した化合物を適当なエステル化剤と別個に反応させることにより調製することができる。カルボン酸は、触媒の存在下でアルコールでの処理によりエステルに転化することができる。この用語にはさらに、生理的条件下で溶媒和にすることができる低級炭化水素基、例えば、アルキルエステル、メチル、エチル及びプロピルエステルが包含されるものとする。好ましい態様として、エステルはメチルエステルではない（例えば、Berge et al., 上記、を参照）。

40

【 0 0 8 8 】

湿潤剤、乳化剤、並びにラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、並びに着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味料、調味料及び香料、防腐剤及び酸化防止剤もまた、組成物中に存在することができる。

【 0 0 8 9 】

製薬学的に許容しうる酸化防止剤の例には：アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム等のような水溶性酸化防止剤；パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、 α -トコフェロール等のような油溶性酸化防止剤；及びクエン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸

50

等のような金属キレート化剤が包含される。

【0090】

本発明の製剤には、静脈内、経口、鼻、局所、経皮、頬、舌下、直腸、膣及び/または非経口投与のために適当なものが包含される。製剤は、単位剤形で都合よく与えることができ、そして薬学の分野で周知であるあらゆる方法により製造することができる。単位剤形を製造するために担体材料と合わせることができる有効成分の量は、一般に、治療効果を生じる化合物の量である。一般に、100%のうち、この量は約1%～約99%の有効成分、好ましくは約5%～約70%、最も好ましくは約10%～約30%に及ぶ。

【0091】

これらの製剤または組成物を製造する方法には、本発明の化合物を担体及び場合により1またはそれ以上の付属成分と会合させる工程が含まれる。一般に、製剤は、本発明の化合物を液体担体または微細に分割した固体担体または両方と均質によく会合させ、次いで必要に応じて生成物を造形することにより製造される。

【0092】

経口投与のために適当な本発明の製剤は、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、錠剤、ロゼンジ（風味をつけた基剤、通常、ショ糖及びアカシアゴムもしくはトラガカントゴムを使用する）、散剤、顆粒剤の形態、または水性もしくは非水性の液体の水剤もしくは懸濁剤として、または水中油滴型もしくは油中水滴型液状乳剤として、またはエリキシル剤もしくはシロップ剤として、またはトローチ（ゼラチン及びグリセリンのような不活性基剤、もしくはショ糖及びアカシアゴムを用いる）として、そして/またはうがい薬等としてであることができ、各々、有効成分として本発明の化合物の予め決定された量を含む。本発明の化合物はまた、ボラス、舐剤またはパスタ剤として投与することもできる。

【0093】

経口投与のための本発明の固体剤形（カプセル剤、錠剤、丸剤、糖衣錠、散剤、顆粒剤等）において、有効成分は、クエン酸ナトリウムもしくはリン酸ジカルシウムのような1もしくはそれ以上の製薬学的に許容しうる担体、並びに/または以下のもののいずれか：澱粉、ラクトース、ショ糖、グルコース、マンニトール及び/もしくはケイ酸のような増量剤もしくはエキステンダー；例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、ショ糖及び/もしくはアカシアゴムのような結合剤；グリセロールのような保湿剤；寒天-寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモもしくはタピオカ澱粉、アルギン酸、ある種のシリケート及び炭酸ナトリウムのような崩壊剤；パラフィンのような溶解遅延剤(solution retarding agents)；第四級アンモニウム化合物のような吸収促進剤；例えばセチルアルコール及びグリセロールモノステアレートのような湿潤剤；カオリン及びベントナイトクレーのような吸収剤；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及びこれらの混合物のような潤滑剤；並びに着色剤と混合される。カプセル剤、錠剤及び丸剤の場合、製薬学的組成物はまた、緩衝剤を含んでなることもできる。同様のタイプの固体組成物はまた、ラクトースまたは乳糖並びに高分子量ポリエチレングリコール等のような賦形剤を用いて軟質充填及び硬質充填ゼラチンカプセル剤に充填剤として用いることもできる。

【0094】

錠剤は、場合により1またはそれ以上の付属成分と共に、圧縮または成形により製造することができる。圧縮錠剤は、結合剤（例えば、ゼラチンもしくはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、潤滑剤、不活性希釈剤、防腐剤、崩壊剤（例えば、ナトリウム澱粉グリコレートもしくは架橋したナトリウムカルボキシメチルセルロース）、界面活性剤または分散助剤を用いて製造することができる。成形錠剤は、不活性液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を適当な機械において成形することにより製造することができる。

【0095】

錠剤、並びに糖衣錠、カプセル剤、丸剤及び顆粒剤のような本発明の製薬学的組成物の他の固体剤形は、場合により、刻み目をつけるか、または溶腸性コーティング及び製薬調分分野において周知である他のコーティングのようなコーティング及びシェルを有して製造

10

20

30

40

50

してもよい。それらはまた、例えば、所望の放出プロフィールを与える様々な割合のヒドロキシプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリックス、リボソーム及び/またはミクロスフェアを用いて、その中の有効成分の持続的または制御放出を与えるように調合することもできる。それらは、例えば、細菌を保持するフィルターを通した濾過により、または使用直前に滅菌水もしくは何か他の滅菌した注入可能な媒質に溶解することができる滅菌した固体組成物の形態に滅菌剤を導入することにより滅菌することができる。これらの組成物はまた、場合により不透明剤を含有してもよく、そして胃腸管のある部分において、場合により遅延して、有効成分（１もしくは複数）を唯一または優先的に放出する組成物のものであることができる。使用することができる包埋組成物の例には、ポリマー物質及びワックスが包含される。有効成分はまた、必要に応じて、１またはそれ以上の上記の賦形剤と共に、マイクロカプセル化形態であることもできる。

10

【 0 0 9 6 】

本発明の組成物の経口投与のための液体剤形には、製薬学的に許容しうる乳剤、ミクロ乳剤(microemulsions)、水剤、懸濁剤、シロップ剤及びエリキシル剤が包含される。有効成分に加えて、液体剤形は、例えば、水または他の溶媒のような当該技術分野において一般に用いられる不活性希釈剤、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、ピーナッツ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油及びゴマ油）、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及びソルビタンの脂肪酸エステル並びにそれらの混合物のような可溶化剤及び乳化剤を含有することができる。

20

【 0 0 9 7 】

不活性希釈剤に加えて、経口組成物はまた、湿潤剤、乳化剤及び沈殿防止剤、甘味料、調味料、着色剤、香料及び保存剤のような添加剤を含むこともできる。

【 0 0 9 8 】

懸濁剤は、活性化合物に加えて、例えば、エトキシ化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及びソルビタンエステル、微晶質セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天-寒天及びトラガカントゴム並びにこれらの混合物のような沈殿防止剤を含有することができる。

【 0 0 9 9 】

直腸または腔投与のための本発明の製薬学的組成物の製剤は、座薬として与えることができ、それは、本発明の１またはそれ以上の化合物を例えばココアバター、ポリエチレングリコール、座薬ワックスまたはサリチレートを含んでなる１またはそれ以上の適当な刺激しない賦形剤または担体と混合することにより製造することができ、そしてそれは室温では固体であるが、体温では液体であり、それ故、直腸または腔腔において融解し、活性化合物を放出する。

30

【 0 1 0 0 】

また、腔投与のために適当な本発明の製剤には、当該技術分野において適切であることが既知であるような担体を含有するペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、パスタ剤、フォームまたはスプレー製剤も包含される。

40

【 0 1 0 1 】

本発明の化合物の局所または経皮投与のための剤形には、散剤、スプレー、軟膏、パスタ剤、クリーム、ローション、ゲル、水剤、パッチ及び吸入剤が包含される。活性化合物は、無菌条件下で製薬学的に許容しうる担体と、そして必要とされる可能性があるあらゆる防腐剤、バッファーまたは噴射剤と混合することができる。

【 0 1 0 2 】

軟膏、パスタ剤、クリーム及びゲルは、本発明の活性化合物に加えて、動物及び植物脂肪、油、ワックス、パラフィン、澱粉、トラガカントゴム、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベントナイト、ケイ酸、タルク及び酸化亜鉛またはこれらの混合物のような賦形剤を含有することができる。

50

【0103】

散剤及びスプレーは、本発明の化合物に加えて、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム及びポリアミド粉末またはこれらの物質の混合物のような賦形剤を含有することができる。スプレーはさらに、クロロフルオロ炭化水素並びにブタン及びプロパンのような揮発性の未置換の炭化水素のような通常の噴射剤を含有することができる。

【0104】

経皮パッチは、体への本発明の化合物の制御送達を与えるという付加された利点を有する。そのような剤形は、適切な媒質に化合物を溶解するかまたは分散させることにより製造することができる。また、皮膚を越えた化合物の流入を増加するために吸収エンハンサーを用いることもできる。そのような流入の速度は、速度制御膜を与えるかまたはポリマーマトリックスもしくはゲルに活性化合物を分散させるいずれかにより制御することができる。

10

【0105】

眼の製剤、眼の軟膏、散剤、水剤等もまた、本発明の範囲内であると考えられる。

【0106】

非経口投与のために適当な本発明の製薬学的組成物は、1もしくはそれ以上の製薬学的に許容しうる滅菌した等張の水性もしくは非水性の溶液、分散液、懸濁液もしくは乳液と組み合わせた1もしくはそれ以上の本発明の化合物、または使用直前に滅菌した注入可能な溶液もしくは分散液中に再構成することができる滅菌した粉末を含んでなり、これらは、酸化防止剤、バッファー、静菌薬、意図するレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質または沈殿防止剤もしくは増粘剤を含有することができる。

20

【0107】

本発明の製薬学的組成物に用いることができる適当な水性及び非水性の担体の例には、水、エタノール、(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等のような)ポリオール及びこれらの適当な混合物、オリーブ油のような植物油、並びにオレイン酸エチルのような注入可能な有機エステルが包含される。適切な流動性は、例えば、レシチンのようなコーティング材料の使用により、分散液の場合には必要とされる粒度の維持により、そして界面活性剤の使用により保つことができる。

【0108】

これらの組成物はまた、防腐剤、湿潤剤、乳化剤及び分散助剤のような添加剤を含有することができる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸等を含むことにより確実にすることができる。また、糖、塩化ナトリウム等のような等張剤を組成物中に含むことも望ましい。さらに、注入可能な製薬学的形態の長期吸収は、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンのような吸収を遅らせる作用因子を含むことによりもたらすことができる。

30

【0109】

ある場合には、薬剤の作用を引き延ばすために、皮下または筋肉内注入からの薬剤の吸収を遅らせることが望ましい。これは、水溶性が乏しい結晶質または非晶質材料の液体懸濁液の使用により成し遂げることができる。その場合、薬剤の吸収の速度はその溶解の速度により決まり、これは今度は結晶の大きさ及び結晶形態により決まることができる。あるいはまた、非経口的に投与する剤形の遅延吸収は、薬剤を油性賦形剤に溶解するかまたは懸濁することにより成し遂げることができる。

40

【0110】

注入可能な貯蔵形態(depot forms)は、ポリラクチド-ポリグリコリドのような生物分解性ポリマー中に本発明の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り製造される。ポリマーに対する薬剤の比率及び用いる特定のポリマーの性質により、薬物放出の速度を制御することができる。他の生物分解性ポリマーの例には、ポリ(オルトエステル)及びポリ(無水物)が包含される。注入可能な貯蔵製剤はまた、体の組織と適合するリポソームまたはマイクロエマルジョン中に薬剤を閉じ込めることによっても製造される。

50

【0111】

本発明の製剤は、経口的、非経口的、局所的または直腸に与えることができる。それらはもちろん各投与経路のために適当な形態により与えられる。例えば、それらは、錠剤またはカプセル剤の形態、注射、吸入、目薬、軟膏、座薬等、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る局所投与；及び座薬による直腸投与により投与される。静脈注射投与が好ましい。

【0112】

「非経口投与」及び「非経口的に投与される」という語句は、本明細書において用いる場合、腸及び局所投与以外、通常は注射による投与の形態を意味し、そして限定なしに静脈内、筋肉内、動脈剤、鞘内、包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内及び胸骨内注射及び注入を包含する。

10

【0113】

「全身投与」、「全身的に投与される」、「末梢投与」及び「末梢的に投与される」という語句は、本明細書において用いる場合、化合物、薬剤または他の物質が患者の系に入り、従って、代謝及び他の同様のプロセスを受けるような、中枢神経系に直接以外のその投与、例えば皮下投与を意味する。

【0114】

これらの化合物は、経口的、例えばスプレーによるような鼻、直腸、腔内、非経口的、槽内、そして頬及び舌下を包む、散剤、軟膏または滴薬によるような局所的を包含するあらゆる適当な投与経路により治療のためにヒト及び他の動物に投与することができる。

20

【0115】

選択した投与の経路にかかわらず、適当な脱水形態で用いることができる本発明の化合物及び/または本発明の製薬学的組成物は、当業者に既知である常法により製薬学的に許容しうる剤形に調合される。

【0116】

本発明の製薬学的組成物中の有効成分の実際の投薬レベルは、患者に有毒ではなく、特定の患者、組成物及び投与の形態に対して所望の治療応答を達成するために有効である有効成分の量を得るように変えることができる。

【0117】

選択した投薬レベルは、用いる本発明の特定の化合物またはそのエステル、塩もしくはアミドの活性、投与の経路、投与の時間、用いる特定の化合物の排出速度、処置の期間、用いる特定の化合物と組み合わせて使用する他の薬剤、化合物及び/もしくは材料、処置する患者の年齢、性別、体重、症状、一般的な健康及び以前の病歴、並びに医療分野において周知である同様の因子を包含する様々な因子により決まる。

30

【0118】

当該技術分野の通常の技量を有する医師または獣医は、必要とされる製薬学的組成物の有効量を容易に決定し、処方することができる。例えば、医師または獣医は、所望の治療効果を得るために必要とされるものより低いレベルで製薬学的組成物中に用いる本発明の化合物の用量を開始し、そして所望の効果が得られるまで投薬量を徐々に増やすことができるはずである。

40

【0119】

一般に、本発明の化合物の適当な日量は、治療効果を生じるために有効な最低用量である化合物の量である。そのような有効用量は、一般に、上記の因子により決まる。一般に、患者に対する本発明の化合物の静脈内及び皮下用量は、示した鎮痛作用に用いる場合、約0.0001～約100mg/kg体重/日、より好ましくは約0.01～約50mg/kg/日、そしてさらにより好ましくは約0.1～約40mg/kg/日である。例えば、被験体の体重の20g当たり約0.01 µg～20 µgの間、約20 µg～100 µgの間、そして約10 µg～200 µgの間の本発明の化合物を投与する。

【0120】

必要に応じて、活性化化合物の有効な日量は、場合により、単位剤形で、一日を通して適当

50

な間隔で別個に投与する2、3、4、5、6またはそれ以上の副用量として投与することができる。

【0121】

本発明の化合物を単独で投与することが可能であるが、製薬学的組成物として化合物を投与することが好ましい。

材料及び方法

ヒト及びマウス組換えTNF α 及びヒト組換えGM-CSFは、Boehringer Mannheim(Indianapolis, IN)から入手した。ダルベッコのPBS(Mg $^{++}$ 及びCa $^{++}$ を含まない)、RPMI-1640及びFCSは、Bio Whittaker Inc.(Walkersville, MD)から購入した。フィコール-HypaqueはOrganon Teknika Corp.(Durham, NC)からであり、そしてハンクス平衡塩溶液はGibco BRL(Grand Island, NY)から購入した。ウシ血清アルブミン、デキストラン、抗生物質、L-グルタミン、シトクロムC、スーパーオキシドジスムターゼ及びザイモサンは、Sigma(St. Louis, MO)から入手した。上清中のヒトIL-1 β の評価は、アセチルコリンエステラーゼ(Cayman Chemical, Ann Arbor, MI)で免疫測定アッセイを用いることにより実施した。マウスIL-1 β は、Endogen(Woburn, MA)からのELISAを用いて評価した。IL-4及びIL-10のELISAは、Amersham(Arlington Heights, IL)からであり；MIP-2及びIL-13 ELISAはR&D Systems(Minneapolis, MN)からであった。LXA $_4$ 及びATLの代謝的に安定な類似体は、(14)におけるように、製造し、核磁気共鳴分光学を含んで特性化した。各LX類似体の濃度は、各実験の直前に50,000M $^{-1}$.cm $^{-1}$ の消衰係数を用いて決定した。示される場合、統計学的分析は、スチューデントの非対(non-paired)t検定(両側)を用いて実施し、そして有意性(*)は、Pが<0.05であった場合に達成されるとみなした。

ヒトPMN懸濁液の調製及びスーパーオキシドアニオン生成

抗凝血剤として酸性クエン酸-デキストロース(ACD)を使用して無菌条件を用いて健康なドナーからの静脈血を集め、そしてPMNを(15)におけるように単離した。PMNを冷えた(4 $^{\circ}$ C)ハンクス培地(1.6mM Ca $^{++}$ 、0.1% FCS、2mM L-グルタミン、1%ペニシリン及び2%ストレプトマイシンを補足した、pH 7.4)に懸濁した。細胞調製物は、ライト-ギムザ染色により決定した場合に>98% PMNであり；細胞生存度は、トリパンブルー排除及び光学顕微鏡検査により決定した場合に>98%であった。スーパーオキシド生成を調べるために、PMN(1.0 $\times 10^6$ /ml)を37 $^{\circ}$ Cで置き(3分)、次いで賦形剤(0.1%エタノール)または合成のLXA $_4$ 、15R/S-メチル-LXA $_4$ もしくは16-フェノキシ-LXA $_4$ のいずれかに37 $^{\circ}$ Cで5分間さらした。TNF α (50ng/ml)を加える前に、PMNをシトクロムC(0.7mg/ml)と37 $^{\circ}$ Cで10分間インキュベーションした。シトクロムCのスーパーオキシドジスムターゼ依存的還元は、氷水浴中にチューブを素早く置くことにより終わらせた。各上清におけるシトクロムC還元の程度は、スーパーオキシドジスムターゼを刺激剤または賦形剤コントロールの前に加えた場合に得られるコントロール値を考慮して550nmで決定した。シトクロムC還元は、21.1/mmol/Lの消衰係数を用いて定量した。

RNA単離及びノーザンブロット分析

全RNA抽出及びノーザンブロット分析を(7)におけるように実施した。IL-1 β のcDNAを含有するpSM320ベクターは、ATCCから購入した。

マウス空気嚢

6~8週齢のオスBALB/eマウスは、Taconic Farms(Germantown, NY)から入手した。0日及び3日目に3mlの滅菌した空気s.c.注射により空気嚢を背側(dorsum)に持ち上げた。全ての実験を6日目に行った(16)。個々の空気嚢(マウス当たり1個)に賦形剤のみ(0.1%エタノール)、TNF α 、15R/S-メチル-LXA $_4$ またはTNF α と15R/S-メチル-LXA $_4$ のいずれかを注入し、そして各々を嚢腔への注入の直前に1mlの内毒素を含まないPBSに懸濁した。示した間隔で、マウスを殺し、個々の空気嚢を滅菌したPBS(1ml)で3回洗浄した。滲出物を2000 RPMで遠心分離し(5分)、上清を除いた。細胞ペレットを計数のためにPBS(200 μ l)に懸濁し、生存度を評価した。50 μ lの各細胞懸濁液を150 μ lの30% BSAと混合し、次いで細胞スピン遠心分離機を用いて顕微鏡スライド上に500 RPMで5分間遠心分離し、風乾させ、ライト-ギムザで染色した。

TNF により刺激されるスーパーオキシド生成の阻害

TNF は、ヒトPMNによる O_2^- 生成の適度のアゴニストであるが、炎症及び再灌流の両方の間の局所的組織損傷においてきわめて重要な役割を果たすことができるヒトPMNによる反応性酸素種(ROS)の生成に生理学的に関係のある刺激剤である(Tsujii, M., S. Kawano, S. Tsuji, H. Sawaoka, M. Hori, and R. N. DuBois. 1998. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 93:705-716; Shibuya, H., N. Ohkohchi, S. Tsukamoto, and S. Satomi. 1997. Tumor necrosis factor-induced, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *Hepatology* 26:113-120; Jaeschke, H., A. Farhood, and C. W. Smith. 1990. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J.* 4: 3355-3359)。図1では、TNF により刺激されるスーパーオキシドアニオン生成に対するLXA₄及びATLに関連する生物活性の安定な類似体の影響を評価した。天然のLXA₄及び類似体(15R/S-メチル-LXA₄及び16フェノキシ-LXA₄)は、TNF により刺激されるスーパーオキシドアニオン生成を濃度に依存して阻害した。10nMでのそれらの効能のランク順は、15R/S-メチル-LXA₄(81.3±14.1%阻害)>>16フェノキシ-LXA₄(93.7±3.2%)>LXA₄(34.3±2.3%)であった。15R/S-メチル-LXA₄は、構造にLXA₄及びATLの両方を含み、そして16-フェノキシ-LXA₄はLXA₄類似体である(図1参照)。各類似体は、LXA₄受容体で競合する。(Takano, T., S. Fiore, J. F. Maddox, H. R. Brady, N. A. Petasis, and C. N. Serhan. 1997. Aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A₄ and LXA₄ stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for anti-inflammatory receptors. *J. Exp. Med.* 185:1693-1704)。LXA₄、15R/S-メチル-LXA₄及び16フェノキシ-LXA₄はいずれも、単独で細胞に加えた1000nMまでの濃度で、ROSの生成を刺激しなかった。15R/S-メチル-LXA₄及び16フェノキシ-LXA₄は、天然のLXA₄より約3倍効能があり、PMNによるTNF により刺激されるスーパーオキシド生成の強力なインヒビターであると判明した。しかしながら、LXA₄もその類似体も、PMA(100nM;n=3;示さない)またはfMLPにより刺激される O_2^- 生成を阻害しない。LXA₄及びその類似体によるROSの阻害は、ROSが組織損傷の主要なメディエーターであると考えられる(15)虚血/再灌流に関連して興味深い。

TNF により刺激されるIL-1 放出の抑制

PMNは、強力な前炎症性サイトカインであるインターロイキン-1 を発現し、放出する(Dinarello, C. A. 1996. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87:2095-2147)。従って、TNF により誘導されるIL-1 放出に対する天然のLXA₄及びその類似体の作用を調べた。生理学的に関係する濃度のTNF 、GM-CSFまたは食作用粒子(ザイモサン)とPMNとのインキュベーションは、上清に存在するIL-1 レベルの濃度依存的増加をもたらした。各アゴニストのおおよそのEC₅₀は: TNF 、10ng/ml ; GM-CSF、10U/ml ; 及びザイモサン、100 µg/mlであった。天然のLXA₄は、TNF により誘導されるIL-1 放出を特異的に阻害し(図2A)、一方、PMNをGM-CSFまたはザイモサンのいずれかにさらした場合にはLXA₄の存在下または非存在下で同様な量のIL-1 が放出された。

【0122】

PMNを、TNF (10ng/ml)または賦形剤のみの存在下で増加する濃度の15R/S-メチル-LXA₄、16-フェノキシ-LXA₄または天然のLXA₄にさらした。100nMの濃度で、15R/S-メチル-LXA₄は~60%のIL-1 放出を阻害し、そして等モルレベルで16-フェノキシ-LXA₄は約40%の阻害(天然のLXA₄で得られたものに匹敵する値)を与えた。時間経過及び濃度依存性を15R/S-メチル-LXA₄で実施した(図2)。10nMで、15R/S-メチル-LXA₄は明らかな統計学的に有意な阻害を与え、これは6時間以内に明白であり、そして24時間後にさらに顕著であった(図2)。TNF (10ng/ml)と15R/S-メチル-LXA₄(100nM)で処理した細胞におけるIL-1 メッセンジャーRNAレベルは、TNF のみで処理した細胞に比較した場合に約60%減少していたので(図3)、これらのLX類似体によるIL-1 の阻害は、少なくとも一つには、遺伝子発現のダウンレギュレーションの結果であった。従って、IL-1 及びTNF は炎症において重要と考えられる2つのサイトカインであるので、認められたIL-1 の阻害(図1及び2)は、15R/S-メチル-LXA₄が強力なインビボ抗-サイトカイン作用を及ぼすかもしれないことを示

唆した（以下参照）。

LXA₄受容体の関与

LXA₄受容体(LXA₄-R)がTNF により刺激されるIL-1 放出の調整に関与したかどうかを調べるために、前に調製したLXA₄-Rの第三細胞外ドメイン(ASWGGTPEERLK)の部分に対するウサギポリクローナル抗体を用いた(Fiore, S., and C. N. Serhan. 1995. Lipoxin A₄ receptor activation is distinct from that of the formyl peptide receptor in myeloid cells: inhibition of CD11/18 expression by lipoxin A₄-lipoxin A₄ receptor interaction. *Biochemistry* 34:16678-16686)。TNF (10ng/ml)及び15R/S-メチル-LXA₄(100nM)にさらす前にPMNを~50 µg/mlのプロテイン-Aで精製した免疫前のIgGまたはLXA₄-Rに対して誘導されたIgGのいずれかと4 で1時間インキュベーションした。抗-LXA₄-R抗体は、TNF によるIL-1 放出を妨げ、第三細胞外ループがLXA₄受容体活性化においてきわめて重要な役割を果たすことを示唆する(図4)。15R/S-メチル-LXA₄は、約50%のIL-1 放出を阻害した。一緒に加えると、TNF の存在下で抗-LXA₄-R抗体及び15R/S-メチル-LXA₄は、IL-1 出現をさらには阻害せず、そして抗-LXA₄-R抗体も15R/S-メチル-LXA₄も単独では、上清内に出現する有意な量のIL-1 を刺激しなかった。これらの実験の結果には2つの部分があり：第一に、これらは、15R/S-メチル-LXA₄の阻害作用がLXA₄受容体を介して伝達されることを示し、そして第二に、抗-LXA₄-R抗体が単独でLXA₄受容体を活性化してIL-1 放出の阻害を導くことを示した。

インビボでのTNF により誘導される白血球輸送の阻害

TNF は、マウス6日目空気嚢においてケモカインに依存して白血球浸潤を引き起こすので、LXA₄またはATLがインビボでサイトカイン-ケモカイン軸も分断するかどうかを決定するためにこのモデルにおける15R/S-メチル-LXA₄の影響を評価した(Tessier, P. A., P. H. Naccache, I. Clark-Lewis, R. P. Gladue, K. S. Neote, and S. R. McColl. 1997. Chemokine networks in vivo: involvement of C-X-C and C-C chemokines in neutrophil extravasation in vivo in response to TNF- . *J. Immunol.* 159:3595-3602; Sin, Y. M., A. D. Sedgwick, E. P. Chea, and D. A. Willoughby. 1986. Mast cells in newly formed lining tissue during acute inflammation: a six day air pouch model in the mouse. *Ann. Rheum. Dis.* 45:873-877)。15R/S-メチル-LXA₄は、炭素15でメチルの付加を有する天然のLXA₄及びATL構造への最も微細な改変である。マウスTNF (10ng/ml)は、4時間で最大蓄積を有して時間に依存して空気嚢への白血球の一時的な浸潤を引き起こした。15R/S-メチル-LXA₄は25nmolで、TNF により刺激される空気嚢への白血球の漸増を62%阻害した(図5)。阻害は1時間で明白であり、そして2時間~4時間の間で最大であった。これらの間隔で、白血球浸潤の60%より多い減少が認められ、これは8時間で依然として有意に減少したままであった(図5、挿入物)。賦形剤または類似体のいずれかのみでの嚢の注入は、有意な白血球浸潤を引き起こさなかった。また、賦形剤のみ、TNF 、15R/S-メチル-LXA₄のみ、またはTNF と15R/S-メチル-LXA₄を注入した4時間後に炎症滲出物を集め、細胞タイプを計数した。TNF を与えた6日目嚢において、PMNは、4時間で滲出物内に存在する主要な細胞タイプを構成し、そして総細胞数の80~85%に及んだ。6日目空気嚢腔への15R/S-メチル-LXA₄及びTNF の両方の投与は、PMN及び好酸球/好塩基球並びに単核細胞の移動を阻害した(表I)。興味深いことに、15R/S-メチル-LXA₄のみの投与は、単核細胞流入の小さいが統計学的に有意な増加を引き出し(表I)、単球の特異的刺激及びPMN化学走性の阻害が認められている前のインビトロ結果と一致する結果である(Maddox, J. F., M. Hachicha, T. Takano, N. A. Petasis, V. V. Fokin, and C. N. Serhan. 1997. Lipoxin A₄ stable analogs are potent mimetics that stimulate human monocytes and THP-1 cells via a G-protein linked lipoxin A₄ receptor. *J. Biol. Chem.* 272:6972-6978)。

【 0 1 2 3 】

【表 1】

表 I マウス空気嚢におけるTNF- α により誘導される白血球浸潤：
15R/S-メチル-LXA₄の阻害作用†

注入	嚢中に存在する白血球の数 (x 10 ⁶)			
	好中球	好酸球/ 好塩基球	単球/ マクロファージ	
TNF α	2.40 \pm 0.10*	0.30 \pm 0.01*	0.20 \pm 0.01*	10
15 R/S-メチル- LXA ₄ + TNF α	0.98 \pm 0.10** (59.1 %)	0.13 \pm 0.01** (56.0 %)	0.10 \pm 0.01** (50 %)	
15 R/S-メチル- LXA ₄	0.25 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.14 \pm 0.01*	
賦形剤	0.30 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	20

【 0 1 2 4 】

† 空気嚢を材料及び方法において記述したように持ち上げた。各マウスに賦形剤(0.1%エタノール)、TNF (10ng)、15R/S-メチル-LXA₄(25mmole)またはTNF と15R/S-メチル-LXA₄のいずれかを含有する1mlのPBSを注入した。注入の4時間後に白血球浸潤を測定した。結果は、3匹の異なるマウスの平均 \pm SEMを示す。阻害%を括弧に入れて示す。*賦形剤を注入したマウス(p<0.01)及び**TNF を注入したマウス(p<0.01)と統計学的に異なる。

サイトカイン-ケモカインプロフィール

MIP-2は、TNF の注入後に空気嚢にPMNを漸増することに関与する主要なケモカインであるので、このTNF により誘導されるケモカイン/サイトカイン軸における15R/S-メチル-LXA₄の作用を決定した。MIP-2及びIL-1 は重要な前炎症性サイトカインであり、そしてIL-4、IL-10及びIL-13は免疫調整特性を有する(Isomaki, P., and J. Punnonen. 1997. Pro- and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. Ann. Med. 29:499-507; Volpert, O. V., T. Fong, A. E. Koch, J. D. Peterson, C. Waltenbaugh, R. I. Tepper, and N. P. Bouck. 1998. Inhibition of angiogenesis by interleukin 4. J. Exp. Med. 188:1039-1046)。選択した時間間隔からの滲出物を集め、無細胞上清をこれらのマウスサイトカインの存在に関して評価した。TNF は、90分以内に最大の検出可能な量のMIP-2及びIL-1 を誘導した(示さない)。15R/S-メチル-LXA₄(25mmole)は、TNF により刺激されるMIP-2及びIL-1 放出をそれぞれ48%及び30%阻害した(図6)。空気嚢において15R/S-メチル-LXA₄単独では、MIP-2またはIL-1 放出を刺激しなかった。著しく異なり、15R/S-メチル-LXA₄は、滲出物内でIL-4の出現を刺激した。IL-4のこの刺激は、TNF の非存在下並びに存在下の両方で認められた。IL-10もIL-13も嚢滲出物内で検出されなかった。これらの結果は、15R/S-メチル-LXA₄の投与がTNF により開始される急性炎症におけるサイトカイン-ケモカイン軸を改変したことを示し、そして興味深いことには、サイトカイン-ケモカイン軸のこの新たな方向づけは、白血球浸潤の減少と一致した。

【 0 1 2 5 】

TNF -受容体に対して誘導されたモノクローナル抗体の特定のFc部分での慢性関節リウマチを患っている患者の処置を包含する炎症性疾患及び虚血/再灌流損傷におけるTNF の望ましくない作用を弱めようとする試みにおいていくつかの異なる方法が検討されている(2

10

20

30

40

50

6)。炎症反応の痛み及び激しさを軽減する異なるステロイド及び非ステロイド薬が広く用いられる(Marriott, J. B., M. Westby, and A. G. Dalgleish. 1997. Therapeutic potential of TNF- inhibitors old and new. DDT 2:273-282)。しかしながら、再灌流損傷のようなある種の臨床環境は依然としてあまり制御されず、新しい治療薬が必要とされる。本発明の結果は、LXA₄及びATLが、それらの代謝的に安定な類似体(16-フェノキシ-LXA₄及び15R/S-メチル-LXA₄)の作用により明白に示されるように、TNF 及びIL-1 により開始される炎症の経過にも影響を与えることができる強力なサイトカイン調整脂質メディエーターであることを示す。これら2つのサイトカインは、虚血/再灌流の急速な炎症様事象(数分~数時間以内)を編成することにおける重要な成分であると考えられ、そして慢性関節リウマチ及び多数の他の慢性疾患における主要なサイトカインである。興味深いことに、滲出物及び皮膚創傷モデルにおいて、15R/S-メチル-LXA₄は、TNF により引き出されるIL-1 及びMIP-2出現を阻害するだけでなく、付随してIL-4も刺激した(図5-6)。これは、リポキシンがIL-4のような潜在的「抗炎症性」サイトカインのアップレギュレーションを誘導するという最初の結果である。従って、IL-4が、急性の抗体によりもたらされる炎症におけるPMN流入を阻害し、そしてIFN- で処理したヒト単球によるH₂O₂生成を阻害することは特に興味深い(Saleem, S., Z. Dai, S. N. Coelho, B. T. Konieczny, K. J. M. Assmann, F. K. Baddoura, and F. G. Lakkis. 1998. IL-4 is an endogenous inhibitor of neutrophil influx and subsequent pathology in acute antibody-mediated inflammation. J. Immunol. 160:979-984; Lehn, M., W. Y. Weiser, S. Engelhorn, S. Gillis, and H. G. Remold. 1989. IL-4 inhibits H₂O₂ production and antileishmanial capacity of human cultured monocytes mediated by IFN- . J. Immunol. 143:3020-3024)。IL-4はまた、有効な抗癌薬でもあり、最も最近では血管形成の強力なインヒビターであることが示された(Volpert, O. V., T. Fong, A. E. Koch, J. D. Peterson, C. Waltenbaugh, R. I. Tepper, and N. P. Bouck. 1998. Inhibition of angiogenesis by interleukin 4. J. Exp. Med. 188:1039-1046)。従って、代謝的に安定なLX類似体により刺激されるIL-4レベルの増加は、LXA₄及びアスピリンにより誘発される15-エピ-LXA₄のインビボでの影響のいくらかをある程度もたすことができると思われ、「抗炎症性」サイトカインと脂質メディエーター間の関係の新しい理解を開く発見である。

【0126】

要するに、LXA₄及びアスピリンにより誘発されるLXA₄は、急性並びに慢性炎症反応の両方を制御することに関与しているようである。本明細書に示すこれらの結果は、次にPMN及び/またはIL-4の出現に対して直接作用することができる内因性のアスピリンにより誘発されるLXA₄の生合成によりアスピリンがその有益な作用をある程度出すことができるという考えを裏付ける。従って、LX-ATLは、前炎症性シグナルの多数レベルの調整により宿主組織を守ることができる。

【0127】

【表2】

10

20

30

参考文献

1. Serhan, C.N., J.Z. Haeggström, and C.C. Leslie. 1996. Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines. *FASEB J.* 10:1147-1158.
2. Weiss, S.J. 1989. Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.* 320:365-376.
3. Marucha, P.T., R.A. Zeff, and D.L. Kreutzer. 1991. Cytokine-induced IL-1 β gene expression in the human polymorphonuclear leukocyte: transcriptional and post-transcriptional regulation by tumor necrosis factor and IL-1. *J. Immunol.* 147:2603-2608. 10
4. Lloyd, A.R., and J.J. Oppenheim. 1992. Poly's lament: the neglected role of the polymorphonuclear neutrophil in the afferent limb of the immune response. *Immunology Today* 13:169-172.
5. Hachicha, M., P.H. Naccache, and S.R. McColl. 1995. Inflammatory microcrystals differentially regulate the secretion of macrophage inflammatory protein-1 and interleukin-8 by human neutrophils: A possible mechanism of neutrophil recruitment to sites of inflammation in synovitis. *J. Exp. Med.* 182:2019-2025. 20
6. Hansen, P.R. 1995. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 91:1872-1885.
7. Takano, T., S. Fiore, J.F. Maddox, H.R. Brady, N.A. Petasis, and C.N. Serhan. 1997. Aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A₄ and LXA₄ stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for anti-inflammatory receptors. *J. Exp. Med.* 185:1693-1704. 30
8. Clària, J., and C.N. Serhan. 1995. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:9475-9479.
9. Lee, T.H., C.E. Horton, U. Kyan-Aung, D. Haskard, A.E. Crea, and B.W. Spur. 1989. Lipoxin A₄ and lipoxin B₄ inhibit chemotactic responses of human neutrophils stimulated by leukotriene B₄ and *N*-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine. *Clin. Sci.* 77:195-203.
10. Serhan, C.N. 1994. Lipoxin biosynthesis and its impact in inflammatory and vascular events. *Biochim. Biophys. Acta* 1212:1-25. 40

【 0 1 2 8 】

【 表 3 】

11. Papayianni, A., C.N. Serhan, M.L. Phillips, H.G. Rennke, and H.R. Brady. 1995. Transcellular biosynthesis of lipoxin A₄ during adhesion of platelets and neutrophils in experimental immune complex glomerulonephritis. *Kidney Int.* 47:1295-1302.
12. Chavis, C., I. Vachier, P. Chanez, J. Bousquet, and P. Godard. 1996. 5(S),15(S)-Dihydroxyeicosatetraenoic acid and lipoxin generation in human polymorphonuclear cells: dual specificity of 5-lipoxygenase towards endogenous and exogenous precursors. *J. Exp. Med.* 183:1633-1643. 10
13. Thomas, E., J.L. Leroux, F. Blotman, and C. Chavis. 1995. Conversion of endogenous arachidonic acid to 5,15-diHETE and lipoxins by polymorphonuclear cells from patients with rheumatoid arthritis. *Inflamm. Res.* 44:121-124.
14. Serhan, C.N., J.F. Maddox, N.A. Petasis, I. Akritopoulou-Zanze, A. Papayianni, H.R. Brady, S.P. Colgan, and J.L. Madara. 1995. Design of lipoxin A₄ stable analogs that block transmigration and adhesion of human neutrophils. *Biochemistry* 34:14609-14615. 20
- 7 15. Gronert, K., S.P. Colgan, and C.N. Serhan. 1998. Characterization of human neutrophil and endothelial cell ligand-operated extracellular acidification rate by microphysiometry: impact of reoxygenation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 285:252-261.
16. Tessier, P.A., P.H. Naccache, I. Clark-Lewis, R.P. Gladue, K.S. Neote, and S.R. McColl. 1997. Chemokine networks in vivo: involvement of C-X-C and C-C chemokines in neutrophil extravasation in vivo in response to TNF- α . *J. Immunol.* 159:3595-3602. 30
17. Tsujii, M., S. Kawano, S. Tsuji, H. Sawaoka, M. Hori, and R.N. DuBois. 1998. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 93:705-716.
18. Shibuya, H., N. Ohkohchi, S. Tsukamoto, and S. Satomi. 1997. Tumor necrosis factor-induced, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *Hepatology* 26:113-120.
19. Jaeschke, H., A. Farhood, and C.W. Smith. 1990. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver *in vivo*. *FASEB J.* 4:3355-3359. 40
20. Dinarello, C.A. 1996. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87:2095-

【 0 1 2 9 】

【 表 4 】

- 2147.
21. Fiore, S., and C.N. Serhan. 1995. Lipoxin A₄ receptor activation is distinct from that of the formyl peptide receptor in myeloid cells: inhibition of CD11/18 expression by lipoxin A₄-lipoxin A₄ receptor interaction. *Biochemistry* 34:16678-16686.
 22. Sin, Y.M., A.D. Sedgwick, E.P. Chea, and D.A. Willoughby. 1986. Mast cells in newly formed lining tissue during acute inflammation: a six day air pouch model in the mouse. *Ann. Rheum. Dis.* 45:873-877. 10
 23. Maddox, J.F., M. Hachicha, T. Takano, N.A. Petasis, V.V. Fokin, and C.N. Serhan. 1997. Lipoxin A₄ stable analogs are potent mimetics that stimulate human monocytes and THP-1 cells via a G-protein linked lipoxin A₄ receptor. *J. Biol. Chem.* 272:6972-6978.
 24. Isomaki, P., and J. Punnonen. 1997. Pro- and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann. Med.* 29:499-507.
 25. Volpert, O.V., T. Fong, A.E. Koch, J.D. Peterson, C. Waltenbaugh, R.I. Tepper, and N.P. Bouck. 1998. Inhibition of angiogenesis by interleukin 4. *J. Exp. Med.* 188:1039-1046. 20
 26. Moreland, L.W., S.W. Baumgartner, M.H. Schiff, E.A. Tindall, R.M. Fleischmann, A.L. Weaver, R.E. Ettlinger, S. Cohen, W.J. Koopman, K. Mohler, M.B. Widmer, and C.M. Bloch. 1997. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N. Engl. J. Med.* 337:141-147.
 27. Marriott, J.B., M. Westby, and A.G. Dalgleish. 1997. Therapeutic potential of TNF- α inhibitors old and new. *DDT* 2:273-282. 30
 28. Saleem, S., Z. Dai, S.N. Coelho, B.T. Konieczny, K.J.M. Assmann, F.K. Baddoura, and F.G. Lakkis. 1998. IL-4 is an endogenous inhibitor of neutrophil influx and subsequent pathology in acute antibody-mediated inflammation. *J. Immunol.* 160:979-984.
 29. Lehn, M., W.Y. Weiser, S. Engelhorn, S. Gillis, and H.G. Remold. 1989. IL-4 inhibits H₂O₂ production and antileishmanial capacity of human cultured monocytes mediated by IFN- γ . *J. Immunol.* 143:3020-3024. 40

【 0 1 3 0 】

当業者は、上記の態様に基づいて本発明のさらなる特徴及び利点を理解する。従って、本発明は、添付の請求項により示されることを除いて、詳細に示され記述されていることにより限定されるものではない。背景の節におけるものを包含する、本明細書に引用する全ての公開及び参考文献は、引用することによりそれら全部が本明細書に明白に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 LXA₄ 及び ATL の安定な類似体が、ヒト好中球による TNF により刺激されるスーパーオキシド生成を阻害することを示す。ヒト PMN を賦形剤のみまたは示した濃度の LXA₄

、15R/S-メチル-LXA₄もしくは16-フェノキシ-LXA₄のいずれかと5分間、次いでTNF (50ng/ml)とさらに10分間インキュベーションした。値は、LXA₄(n=3)、15R/S-メチル-LXA₄(n=4)または16-フェノキシ-LXA₄(n=3)の平均±SEMである。LXA₄及び類似体は、試験した全ての濃度で、TNF により誘導されるIL-1 出現の統計学的に有意な阻害を導いた(p<0.01)。

【図2】 LXA₄及び安定な類似体が、ヒト好中球におけるTNF により誘導されるIL-1 生産を阻害することを示す。A) PMNを37 °C及び5% CO₂で20時間示したようにインキュベーションした(TNF (10ng/ml)と賦形剤またはTNF とLXA₄(100nM))。上清を集め、IL-1をELISAにより定量した。結果は、二重反復試験の平均±SEMとして表され、そしてn=3に相当する1実験からである。B) PMNを増加する濃度の15R/S-メチル-LXA₄の存在下で示した期間にわたってインキュベーションした。値は平均±SEMを表す、n=3。試験した全ての時間間隔で、TNF は、賦形剤で処理した細胞より有意なIL-1 出現を誘導した(*p<0.01)。

10

【図3】 15R/S-メチル-LXA₄が、TNF により誘発されるIL-1 遺伝子発現をダウンレギュレーションすることを示す。PMNをTNF (10ng/ml)の存在下または非存在下で0.1%エタノール(賦形剤)または10、100及び1000 nMの15R/S-メチル-LXA₄のいずれかと37 °Cで6時間インキュベーションした。IL-1 メッセンジャーRNAを検出するためにノーザンブロットを行った。示した結果は、異なるドナーで実施した2つの別のものに相当する1実験からである。

【図4】 LXA₄受容体の関与を示す。PMNを免疫前の血清から精製したIgG(50 µg/ml)または抗-LXA₄受容体(50 µg/ml)のいずれかと4 °Cで1時間インキュベーションし、次いで37 °C及び5% CO₂でアゴニストに12時間さらした。値は、各々異なるドナーで実施した3つの別個の実験に相当する三重反復実験において実施した実験からの平均±SEMとして表される(*p<0.01)。

20

【図5】 マウス空気嚢におけるTNF により誘導されるPMN浸潤の阻害を示す。0.1%エタノール、TNF 、15R/S-メチル-LXA₄またはTNF と15R/S-メチル-LXA₄のいずれかを含有する1mlの滅菌したPBSを嚢に注入し、示した期間で滲出物を集めた。白血球の総数は、材料及び方法におけるように計数した。結果は、各時点で3匹の異なるマウスからの平均±SEMとして表される。全ての時間間隔で、TNF は、空気嚢腔への有意な白血球浸潤を誘導した(P<0.05)。*TNF で処理した細胞；及び賦形剤もしくは15R/S-メチル-LXA₄で処理した細胞と統計学的に異なる(p<0.01)。

30

【図6】 15R/S-メチル-LXA₄が、インビボでTNF により誘導されるサイトカイン/ケモカインプロフィールを再指令することを示す。実験を図5の説明文に記述したように実施した。IL-1 、IL-4、IL-10、IL-13及びMIP-2の定量は、空気嚢無細胞滲出物でELISAを用いて実施した。結果は、各時点で3匹の異なるマウスからの平均±SEMとして表される。IL-1 、MIP-2及びIL-4の変化は、全ての試験した時間間隔で有意であった(p<0.01)。

【図 1】

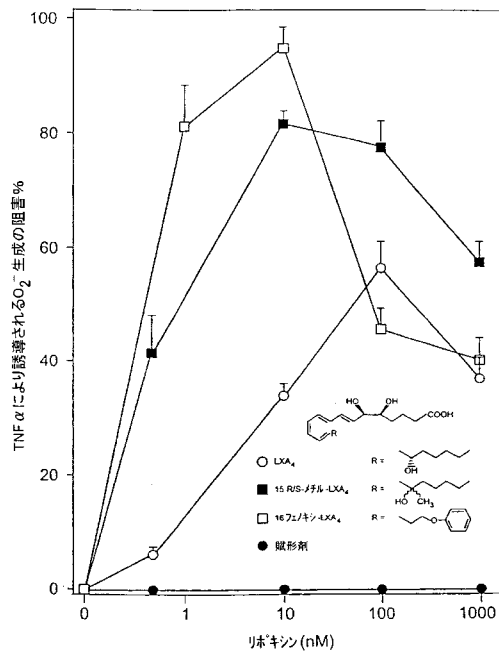


FIG. 1

【図 2 A】

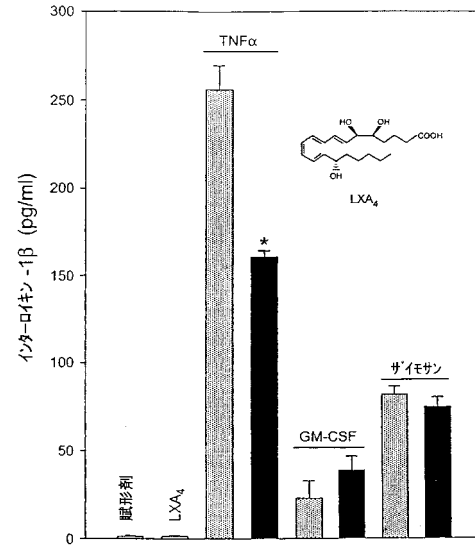


FIG. 2A

【図 2 B】

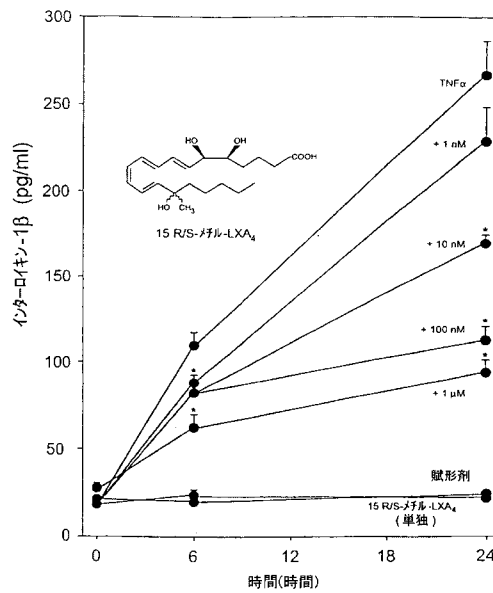


FIG. 2B

【図 3】

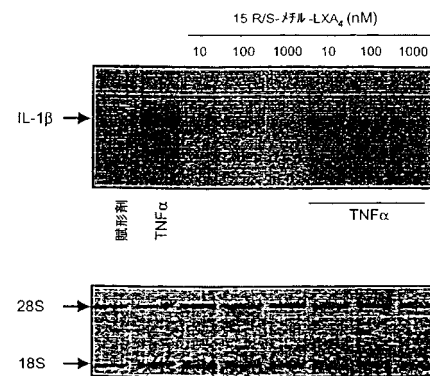


FIG. 3

【図 4】

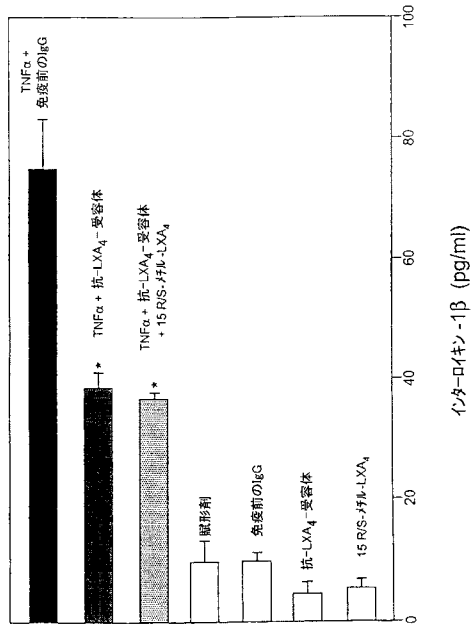


FIG. 4

【図 5】

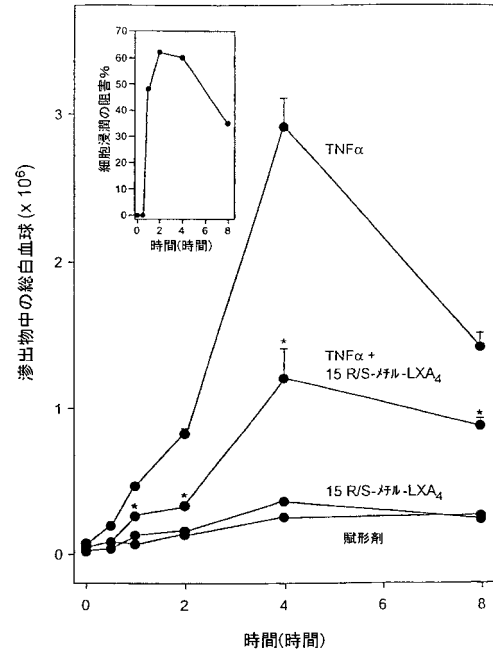


FIG. 5

【図 6】

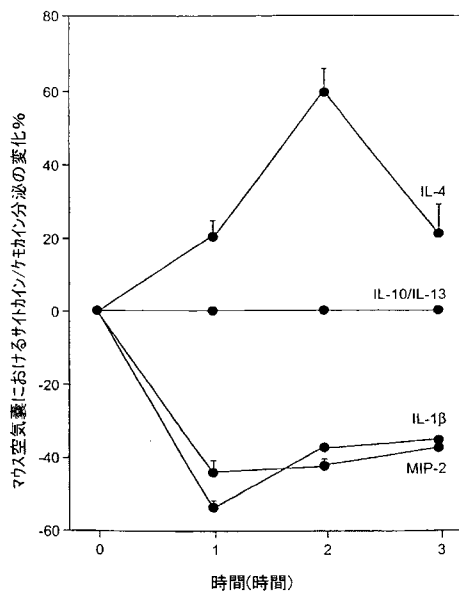


FIG. 6

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 0 5

- (56)参考文献 Karsten Gronert et al. , Journal of Experimental Medicine , 1 9 9 8 年 , Vol.187, No.8 , p .1285-1294
A. Bengtsson et al. , Clinical and Experimental Immunology , 1 9 9 7 年 , Vol.109, No.3 , p.533-537
J. J. Grob et al. , Journal of the American Academy of Dermatology , 1 9 9 1 年 , Vol.25, No.2 , p.944-947

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61K 31/202
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)
BIOSIS(STN)
EMBASE(STN)
MEDLINE(STN)