

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4728962号
(P4728962)

(45) 発行日 平成23年7月20日 (2011. 7. 20)

(24) 登録日 平成23年4月22日 (2011. 4. 22)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 217/04 (2006. 01)

C O 7 D 217/04 C S P

C O 7 D 413/04 (2006. 01)

C O 7 D 413/04

A 6 1 K 31/4725 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4725

A 6 1 K 31/472 (2006. 01)

A 6 1 K 31/472

A 6 1 K 31/422 (2006. 01)

A 6 1 K 31/422

請求項の数 6 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2006-533218 (P2006-533218)
 (86) (22) 出願日 平成16年5月19日 (2004. 5. 19)
 (65) 公表番号 特表2007-501860 (P2007-501860A)
 (43) 公表日 平成19年2月1日 (2007. 2. 1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2004/015699
 (87) 国際公開番号 W02004/113330
 (87) 国際公開日 平成16年12月29日 (2004. 12. 29)
 審査請求日 平成19年5月15日 (2007. 5. 15)
 (31) 優先権主張番号 60/471, 931
 (32) 優先日 平成15年5月19日 (2003. 5. 19)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/562, 182
 (32) 優先日 平成16年4月14日 (2004. 4. 14)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 503261524
 アイアールエム・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー
 I R M, L L C
 英国領バーミューダ、エイチエム・エルエックス、ハミルトン、ポスト・オフィス・ボックス・エイチエム2899、フロント・ストリート131番
 (73) 特許権者 505428938
 ミ・ユアン
 M I Y u a n
 アメリカ合衆国92131カリフォルニア州サンディエゴ、ユニット45、アフィニティ・コート11175番

最終頁に続く

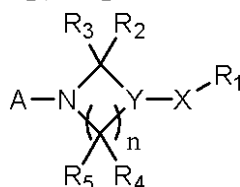
(54) 【発明の名称】 免疫抑制化合物および組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 I :

【化1】



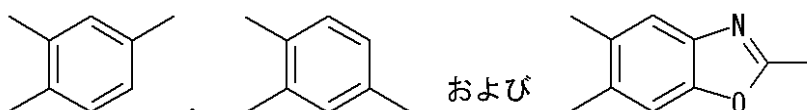
〔式中、

n は 1 または 2 であり；

A は $-(CH_2)_2C(O)OH$ であり；X は結合であるかまたは [1, 2, 4] オキサジアゾール、 $-CH_2O-$ 、 $-OCH_2-$ 、イソキサゾールおよび [1, 3, 4] オキサジアゾールから選択され；

Y は、

【化2】



および

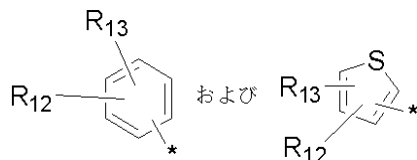
10

20

から選択され；

R₁ は

【化 3】



(式中、R₁₂ は水素、フェニルおよびシクロヘキシルから選択され；ここで、R₁₂ の任意のフェニルまたはシクロヘキシルは、所望によりメチルで置換されており；そしてR₁₃ はトリフルオロメチル、メチルおよびエチルから選択される)

10

から選択され；

R₂、R₃、R₄ および R₅ は、水素である。]

の化合物またはその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、光学異性体または幾何学異性体。

【請求項 2】

3- {6-[3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-5-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル} -プロピオン酸、

3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、

20

3- {5-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-イソキサゾール-3-イル]-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル} -プロピオン酸、

3- {5-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル]-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル} -プロピオン酸、

3- {5-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル} -プロピオン酸、

3-[2-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-5,7-ジヒドロ-オキサゾロ[4,5-f]イソインドール-6-イル]-プロピオン酸、

30

3- {7-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル} -プロピオン酸、

3- {6-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル} -プロピオン酸、

3- {6-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル} -プロピオン酸、

40

3-[6-(3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、

3-[6-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、

3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルメトキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、

3-[7-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルメトキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、

3-[7-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、

50

3-[6-(4-シクロヘキシル-3-メチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1 H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、
 3-[6-(4-シクロヘキシル-3-エチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1 H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、
 3-[6-(2-エチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1 H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸および
 3-[6-(2-エチル-3'-メチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1 H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸から選択される、請求項1記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、光学異性体または幾何学異性体。

10

【請求項3】

治療的有效量の請求項1または2記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、光学異性体または幾何学異性体を、薬学的に許容される賦形剤と共に含む、医薬組成物。

【請求項4】

動物における、EDG/S1P受容体介在シグナル伝達の変更が、その疾患の病態および/または総体症状を予防、阻害または軽減できるものである疾患の処置用医薬であって、請求項1または2記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、光学異性体または幾何学異性体を必須成分として含む、医薬。

20

【請求項5】

対象における、リンパ球が介在する障害または疾患を予防または処置する、急性もしくは慢性移植拒絶反応またはT細胞介在炎症性または自己免疫性疾患を予防または処置する、無秩序な血管形成を阻害または制御する、または新規血管形成過程が介在するまたは無秩序な血管形成が関連する疾患を予防または処置するための医薬であって、請求項1または2記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、光学異性体または幾何学異性体を必須成分として含む、医薬。

【請求項6】

動物における、EDG/S1P受容体介在シグナル伝達の変更が、その疾患の病態および/または総体症状に関与するものである疾患の処置用医薬の製造における、請求項1または2記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、光学異性体または幾何学異性体の使用。

30

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、米国仮特許出願番号60/471,931(2003年5月19日出願)および米国仮特許出願番号60/562,182(2004年4月14日出願)の優先権の利益を主張する。これらの出願の全部の記載は、引用により、その全体として、かつすべての目的に関して、本出願に包含される。

【0002】

40

発明の背景

技術分野

本発明は、リンパ球相互作用が介在する疾患または障害、特にEDG受容体介在シグナル伝達が関連する疾患の処置または予防に有用な免疫抑制化合物の新規クラスを提供する。

【0003】

背景技術

EDG受容体は、密接に関係した、脂質活性化G-タンパク質結合受容体のファミリーに属する。EDG-1、EDG-3、EDG-5、EDG-6、およびEDG-8(各々S1P1、S1P3、S1P2、S1P4、およびS1P5とも呼ばれる)は、スフィン

50

から選択される。]

の化合物およびそのN-オキシド誘導体、プロドラッグ誘導体、保護された誘導体、個々の異性体および異性体の混合物；およびこのような化合物の薬学的に許容される塩および溶媒和物(例えば水和物)に関する。

【0005】

本発明の第2の局面は、式Iの化合物またはそのN-オキシド誘導体、個々の異性体または異性体の混合物、またはその薬学的に許容される塩を、1個またはそれ以上の適当な賦形剤と共に含む、医薬組成物である。

【0006】

本発明の第3の局面は、動物における、EDG受容体介在シグナル伝達の変更が、その疾患の病態および／または総体症状を予防、阻害または軽減できるものである疾患を処置する方法であり、動物に治療的有效量の式Iの化合物またはそのN-オキシド誘導体、個々の異性体または異性体の混合物；またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法である。

10

【0007】

本発明の第4の局面は、動物における、EDG受容体介在シグナル伝達の変更が、その疾患の病態および／または総体症状に関与するものである疾患の処置用医薬の製造における式Iの化合物の使用である。

【0008】

本発明の第5の局面は、式Iの化合物およびそのN-オキシド誘導体、プロドラッグ誘導体、保護された誘導体、個々の異性体および異性体の混合物；およびその薬学的に許容される塩の製造法である。

20

【0009】

好ましい態様の記載

本発明は、リンパ球相互作用が介在する疾患または障害の処置および／または予防に有用な化合物を提供する。また提供されるのは、このような疾患または障害を処置する方法である。

【0010】

定義

本明細書中、特記しない限り：

30

基または他の基、例えばハロー置換-アルキル、アルコキシ、アシル、アルキルチオ、アルキルスルホニルおよびアルキルスルフィニルの構造要素としての“アルキル”は、直鎖または分枝鎖のいずれでもあり得る。基または他の基の構造要素としての“アルケニル”は、1個またはそれ以上の炭素-炭素二重結合を含み、かつ直鎖または分枝鎖のいずれでもあり得る。すべての二重結合は、cis-またはtrans-立体配置であり得る。基または他の基の構造要素としての“アルキニル”は、少なくとも1個のC≡C三重結合を含み、かつまた1個またはそれ以上のC=C二重結合を含んでよく、かつ、可能である限り、直鎖または分枝鎖のいずれでもあり得る。単独または他の基の構造要素としてのシクロアルキル基は、3から8炭素原子、好ましくは3から6炭素原子を含んでよい。“アルキレン”および“アルケニレン”は、各々“アルキル”基および“アルケニル”基に由来する2価基である。本明細書中、R¹の任意のアルキル基は、所望により、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-NR²⁰-および-O-(式中、R²⁰は水素またはC₁-₆アルキルである)から選択される群のメンバーで中断されていてよい。このような基は、-CH₂-O-CH₂-、-CH₂-S(O)₂-CH₂-、-(CH₂)₂-NR²⁰-CH₂-、-CH₂-O-(CH₂)₂-などを含む。

40

【0011】

“アリール”は、6個から10個の環炭素原子を含む、単環式または縮合二環式芳香環集合体を意味する。例えば、C₆₋₁₂アリールはフェニル、ビフェニルまたはナフチル、好ましくはフェニルであり得る。縮合二環式環は、部分飽和、例えば、1,2,3,4-テトラヒドロナフタレンなどであり得る。“アリーレン”は、アリール基由来の2価基

50

を意味する。例えば、本明細書で使用するアリーレンは、フェニレン、ビフェニレン、ナフチレンなどであり得る。

【0012】

“ハロ”または“ハロゲン”は、F、Cl、BrまたはI、好ましくはFまたはClを意味する。ハロー置換アルキル基および化合物は、部分的にハロゲン化されまたは過ハロゲン化されていてよく、複数ハロゲン化の場合、ハロゲン置換基は同一または異なり得る。好ましい過ハロゲン化アルキル基は、例えばトリフルオロメチルまたはトリフルオロメトキシである。

【0013】

“ヘテロアリール”は、特記しない限り、N、OまたはSから選択される少なくとも1個のヘテロ原子部分が付加され、かつ、各環が5から6環原子からなる、本明細書で定義のアリールである。例えば、C₂ヘテロアリールは、オキサジアゾール、トリアゾールなどを含む。C₉ヘテロアリールはキノリン、1,2,3,4-テトラヒドロキノリンなどを含む。本明細書で使用するC₂ - C₉ヘテロアリールはチエニル、ピリジニル、フラニル、イソオキサゾリル、ベンゾオキサゾリルまたはベンゾ[1,3]ジオキサソリル、好ましくはチエニル、フラニルまたはピリジニルを含む。“ヘテロアリーレン”は、環集合体が2価ラジカルを含むときの、本明細書で定義のヘテロアリールを意味する。縮合二環式ヘテロアリール環系は部分的に飽和され、例えば、2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール、1,2,3,4-テトラヒドロキノリンなどである。

【0014】

本明細書で使用するEDG-1選択的化合物(薬剤またはモジュレーター)は、EDG-3を超え、かつ、EDG-5、EDG-6、およびEDG-8の1個を超えてEDG-1に選択的である特異性を有する。本明細書で使用する他のEDG受容体(“非選択的受容体”)を超える1個のEDG受容体(“選択的受容体”)に対する選択性は、該化合物が、該選択的EDG受容体(例えば、EDG-1)が介在する活性の誘導に、非選択的S1P-特異的EDG受容体に対するよりもより高い効果を有することを意味する。GTP-γS結合アッセイで測定したとき(下記実施例に記載した通り)、EDG-1選択的化合物は、典型的に、非選択的受容体(例えば、EDG-3、EDG-5、EDG-6、およびEDG-8の1個またはそれ以上)に対するEC50(最大応答の50%をもたらす濃度)よりも5、10、25、50、100、500、または1000倍低い、選択的受容体(EDG-1)に対するEC50を有する。

【0015】

発明の詳細な説明

本発明は、リンパ球相互作用が介在する疾患または障害の処置または予防に有用な化合物を提供する。一つの態様において、式Iに関して、R₁が、所望により、C₆₋₁₀アリールC₀₋₄アルキル、C₂₋₉ヘテロアリールC₀₋₄アルキル、C₃₋₈シクロアルキルC₀₋₄アルキル、C₃₋₈ヘテロシクロアルキルC₀₋₄アルキルまたはC₁₋₆アルキルで置換されているフェニル、ナフチル、フラニルまたはチエニルであり；ここで、R₁の任意のアリール基、ヘテロアリール基、シクロアルキル基またはヘテロシクロアルキル基が、所望により、ハロ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、ハロー置換-C₁₋₆アルキルおよびハロー置換-C₁₋₆アルコキシから選択される1個から5個のラジカルで置換されていてよく；そしてR₁の任意のアルキル基は、所望により、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-NR₇-および-O-から選択される原子または基で置換されたメチレンを有してよく；ここで、R₇は水素またはC₁₋₆アルキルである。

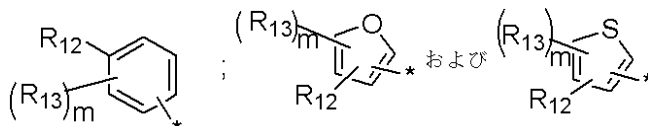
【0016】

別の態様において、Yがフェニルおよびベンゾオキサゾリルから選択され；そしてXが結合であるかまたは-X₁OX₂-およびC₄₋₆ヘテロアリーレンから選択され；ここで、X₁およびX₂が独立して結合およびC₁₋₃アルキレンから選択され；ここで、Xの任意のヘテロアリーレンが所望によりハロおよびC₁₋₆アルキルから選択される群のメンバーで置換されている。

【0017】

別の態様において、 R_1 が：

【化2】



(式中、アスタリスクは R_1 とXの結合点を示し；mは1および2から選択され； R_{12} は水素、 C_{6-10} アリール C_{0-4} アルキル、 C_{2-9} ヘテロアリール C_{0-4} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル C_{0-4} アルキル、 C_{3-8} ヘテロシクロアルキル C_{0-4} アルキルまたは C_{1-6} アルキルから選択され；ここで、 R_{12} の任意のアリール基、ヘテロアリール基、シクロアルキル基またはヘテロシクロアルキル基は、所望により、ハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ置換 C_{1-6} アルキルおよびハロ置換 C_{1-6} アルコキシから選択される1個から3個のラジカルで置換されていてよく；そして R_{12} の任意のアルキル基は、所望により、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-NR_{10}-$ および $-O-$ から選択される原子または基で置換されたメチレンを有してよく；ここで、 R_{10} は水素または C_{1-6} アルキルであり；そして R_{13} はハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ置換 C_{1-6} アルキルおよびハロ置換 C_{1-6} アルコキシから選択される。

【0018】

別の態様において、Aが $-(CH_2)_2C(O)OH$ であり；そして R_2 、 R_3 、 R_4 および R_5 が水素である。

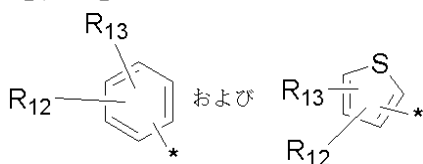
【0019】

別の態様において、nが1または2であり；Yがフェニルおよびベンゾオキサゾリルから選択され；そしてXが結合であるかまたは[1,2,4]オキサジアゾール、 $-CH_2O-$ 、 $-OCH_2-$ 、イソキサゾールおよび[1,3,4]オキサジアゾールから選択される。

【0020】

別の態様において、 R_1 が：

【化3】



(式中、 R_{12} は水素、フェニルおよびシクロヘキシルから選択され；ここで、 R_{12} の任意のフェニルまたはシクロヘキシルは、所望によりメチルで置換されており；そして R_{13} はトリフルオロメチル、メチルおよびエチルから選択される)

【0021】

本発明の好ましい化合物は、3- {6-[3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-5-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル} -プロピオン酸、3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3- {5-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-イソキサゾール-3-イル]-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル} -プロピオン酸、3- {5-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル]-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル} -プロピオン酸、3- {5-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル} -プロピオン酸、3-[2-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-5,7-ジヒドロ-オキサ

ゴロ[4,5-f]イソインドール-6-イル]-プロピオン酸、3-{7-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)]-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル}-プロピオン酸、3-{6-[5-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)]-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル}-プロピオン酸、3-{6-[5-(2-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3-[6-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルメトキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3-[7-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3-[6-(4-シクロヘキシル-3-メチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3-[6-(4-シクロヘキシル-3-エチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸、3-[6-(2-エチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸および3-[6-(2-エチル-3'-メチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸から選択される。

10

20

【0022】

さらに、好ましい化合物はまた下記実施例および表1に示す。

【0023】

本発明は、保護された形で存在するヒドロキシルまたはアミン基を有する化合物の形を提供する；これらはプロドラッグとして働く。プロドラッグは、投与後に、1つまたはそれ以上の生化学的変換を経由して活性薬剤形に変換される化合物である。生理学的条件下で容易に請求の化合物に変換される本発明の化合物の形は、請求の化合物のプロドラッグであり、本発明の範囲内である。プロドラッグの例は、ヒドロキシル基が酢酸エステルのような相対的に不安定なエステルにアシル化されている形、およびアミン基がグリシンもしくはセリンのようなL-アミノ酸のカルボン酸基でアシル化され、一般的な代謝酵素による加水分解を特に受けやすいアミド結合を形成している形を含む。

30

【0024】

式Iの化合物は、遊離形または塩形、例えば無機または有機酸の付加塩で存在できる。ヒドロキシル基が存在するとき、これらの基はまた塩形、例えばアンモニウム塩またはリチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、亜鉛もしくはマグネシウム、またはそれらの混合物のような金属との塩として存在できる。水和物または溶媒和物の形の式Iの化合物およびそれらの塩も本発明の一部である。

【0025】

式Iの化合物が分子中に不斉中心を有するとき、種々の光学異性体が得られる。本発明はまたエナンチオマー、ラセミ体、ジアステレオ異性体およびこれらの混合物も含む。さらに、式Iの化合物が幾何学異性体を含むとき、本発明はまた*c i s*-化合物、*t r a n s*-化合物およびそれらの混合物を包含する。同様の解釈が、上記のような不斉炭素原子または不飽和結合を示す出発物質に関しても適用される。

40

【0026】

免疫調節状態を処置するための方法および組成物

遊離形または薬学的に許容される塩形の式Iの化合物は、例えば、実施例3のインビトロおよびインビボ試験で示されるような、価値のある薬理学的特性、例えばリンパ球再循環調節特性を示し、したがって、治療に適用される。式Iの化合物は、好ましくは 1×10^{-11} から 1×10^{-5} Mの範囲の、好ましくは50 nMより小さいEC₅₀を示す。本化合物は、1個またはそれ以上のEDG/S1P受容体、好ましくはEDG-1/S1P

50

ー1に選択性を示す。本発明のEDG-1/S1P-1選択的モジュレーターは、EDG-1/S1P-1への、および1個またはそれ以上のEDG/S1P受容体(例えば、EDG-3/S1P-3、EDG-5/S1P-2、EDG-6/S1P-4、およびEDG-8/S1P-5)への化合物の結合をアッセイすることにより同定できる。EDG-1/S1P-1選択的モジュレーターは、通常、EDG-1/S1P-1受容体に 1×10^{-11} から 1×10^{-5} Mの範囲の、好ましくは50 nMより小さい、より好ましくは5 nMより小さいEC₅₀を示す。それはまた1個またはそれ以上の他のEDG/S1P受容体についてEDG-1/S1P-1のEC₅₀よりも少なくとも5、10、25、50、100、500、または1000倍高いEC₅₀を示す。故に、EDG-1/S1P-1調節化合物のいくつかは、EDG-1/S1P-1について5 nMより小さいEC₅₀を示し、その1個またはそれ以上の他のEDG/S1P受容体についてのEC₅₀は、少なくとも100 nMまたはそれより高い。EDG/S1P受容体に対する結合活性を測定する以外に、EDG-1/S1P-1選択的薬剤はまたEDG/S1P受容体が介在する細胞過程または活性を調節する薬剤の能力を試験することにより同定できる。

10

【0027】

式Iの化合物は、したがって、リンパ球相互作用が介在する疾患または障害、例えば移植において、例えば、細胞、組織または臓器の同種—または異種移植の急性または慢性拒絶反応または移植片機能の遅発、移植片対宿主病、自己免疫性疾患、例えばリウマチ性関節炎、全身性エリテマトーデス、橋本甲状腺炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型またはII型糖尿病およびその合併症、脈管炎、悪性貧血、シェーグレン症候群、ブドウ膜炎、乾癬、グレーブス眼症、円形脱毛症およびその他、アレルギー性疾患、例えばアレルギー性喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎/結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、所望により異常反応が根底にある炎症性疾患、例えば炎症性腸疾患、クローン病または潰瘍性大腸炎、内因性喘息、炎症性肺傷害、炎症性肝臓傷害、炎症性糸球体傷害、アテローム性動脈硬化症、骨関節症、刺激性接触性皮膚炎および別の湿疹性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、免疫介在障害の皮膚症状、炎症性眼疾患、角結膜炎、心筋炎または肝炎、虚血/再灌流傷害、例えば心筋梗塞、卒中、腸虚血、腎不全または出血性ショック、外傷性ショック、T細胞リンパ腫またはT細胞白血病、感染症、例えば毒素ショック(例えば超抗原誘発)、敗血症性ショック、成人呼吸窮迫症候群またはウイルス感染、例えばAIDS、ウイルス性肝炎、慢性細菌感染、または老人性痴呆の処置および/または予防に有用である。細胞、組織または固形臓器移植の例は、例えば脾臓、幹細胞、骨髓、角膜組織、神経組織、心臓、肺、複合心臓—肺、腎臓、肝臓、腸、膵臓、気管または食道を含む。上記使用に関して、必要な投与量はもちろん投与の形態、処置すべき特定の状態および所望の効果に依存して変化するであろう。

20

30

【0028】

さらに、式Iの化合物は癌化学療法、特に固形腫瘍、例えば乳癌の癌化学療法に、または抗血管形成薬剤として有用である。

【0029】

必要な投与量は、もちろん、投与の形態、処置すべき特定の状態および所望の効果に依存して変化するであろう。一般に、十分な結果が、約0.03から2.5 mg/体重kgの全身一日投与量で得られることが示される。大型哺乳類、例えばヒトにおいて指示される一日投与量は、約0.5 mgから約100 mgの範囲であり、簡便には、例えば、1日4回までの分割投与量または徐放性形で投与する。経口投与のための適当な単位投与形は、約1から50 mgの活性成分を含む。

40

【0030】

式Iの化合物は、任意の慣用の経路で、特に経腸的に、例えば、経口で、例えば錠剤またはカプセルの形で、または非経腸的に、例えば、注射溶液または懸濁液の形で、局所的に、例えばローション、ジェル、軟膏またはクリームで、または経鼻または坐薬形で投与できる。遊離形または薬学的に許容される塩形の式Iの化合物を、少なくとも1個の薬学的に許容される担体または希釈剤と共に含む医薬組成物は、慣用法で、薬学的に許容

50

される担体または希釈剤との混合により製造できる。

【0031】

式 I の化合物は、例えば、上記の通りの、遊離形または薬学的に許容される塩形で投与できる。このような塩は慣用法で製造でき、遊離化合物と同程度の活性を示す。

【0032】

前記によって、本発明はさらに下記を提供する：

1.1 処置を必要とする対象における、例えば、上記の通りの、リンパ球が介在する障害または疾患を予防または処置する方法であり、該対象に、有効量の式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法。

【0033】

1.2 処置を必要とする対象における、例えば、上記の通りの、急性もしくは慢性移植拒絶反応または T 細胞介在炎症性または自己免疫性疾患を予防または処置する方法であり、該対象に、有効量の式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法。

【0034】

1.3 処置を必要とする対象における、無秩序な血管形成、例えばスフィンゴシン-1-ホスフェート(S1P)介在血管形成を阻害または制御する方法であり、該対象に、有効量の式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法。

【0035】

1.4 処置を必要とする対象における、新規血管形成過程が介在するまたは無秩序な血管形成に関連する疾患を予防または処置する方法であり、該対象に、有効量の式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法。

【0036】

2. 医薬として、例えば、上記 1.1 から 1.4 に示す方法のいずれかにおいて使用するための、遊離形または薬学的に許容される塩形の式 I の化合物。

【0037】

3. 遊離形または薬学的に許容される塩形の式 I の化合物を、薬学的に許容される希釈剤または担体と共に含む、例えば、上記 1.1 から 1.4 に示す方法のいずれかにおいて使用するための医薬組成物。

【0038】

4. 上記 1.1 から 1.4 に示す方法のいずれかにおいて使用するための医薬組成物の製造において使用するための、式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【0039】

式 I の化合物は、唯一の活性成分として、または、例えばアジュバントとして、他の薬剤と、例えば同種もしくは異種移植片急性もしくは慢性拒絶反応または炎症性または自己免疫性障害の処置または予防のためには例えば免疫抑制剤もしくは免疫調節剤または他の抗炎症剤と、または化学療法剤、例えば悪性細胞抗増殖剤と併用して投与してよい。例えば式 I の化合物は、カルシニューリン阻害剤、例えばシクロスポリン A または FK506；mTOR 阻害剤、例えばラパマイシン、40-O-(2-ヒドロキシエチル)-ラパマイシン、CCI779、ABT578 または AP23573；免疫抑制特性を有するアスコマイシン、例えば ABT-281、ASM981 など；コルチコステロイド；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；レフルノミド；ミゾルビン；ミコフェノール酸；ミコフェノール酸モフェチル；15-デオキシスベルグアリンまたはその免疫抑制性ホモログ、アナログまたは誘導体；免疫抑制性モノクローナル抗体、例えば白血球受容体、例えば MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD25、CD28、CD40、CD45、CD58、CD80、CD86 またはそれらのリガンドに対するモノクローナル抗体；他の免疫調節化合物、例えば CTLA4 またはその変異体の細胞外ドメイン少なくとも一部、例えば非 CTLA4 タンパク質配列に結合した CTLA4 またはその変異体の細胞外領域の少なくとも一部を有する組み換え結合分子、例えば CTLA4 Ig (例えば、名称 ATCC 68629) またはその変異体、例えば LEA29Y；接着

10

20

30

40

50

分子阻害剤、例えばLFA-1アンタゴニスト、ICAM-1または-3アンタゴニスト、VCAM-4アンタゴニストまたはVLA-4アンタゴニスト；または化学療法剤と併用して使用できる。

【0040】

“化学療法剤”なる用語は、すべての化学療法剤を意味し、

- i. アロマターゼ阻害剤、
 - ii. 抗エストロゲン、抗アンドロゲン(とりわけ前立腺癌の場合)またはゴナドレリンアゴニスト、
 - iii. トポイソメラーゼI阻害剤またはトポイソメラーゼII阻害剤、
 - iv. 微小管活性化剤、アルキル化薬剤、抗新生物代謝拮抗剤またはプラチン化合物、
 - v. タンパク質または脂質キナーゼ活性またはタンパク質または脂質ホスファターゼ活性をターゲッティング/減少させる化合物、さらなる抗血管形成化合物または細胞分化過程を誘発する化合物、
 - vi. ブラジキニン1受容体またはアンギオテンシンIIアンタゴニスト、
 - vii. シクロオキシゲナーゼ阻害剤、ビスホスホネート、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、ヘパラーゼ阻害剤(ヘパランスルフェート分解を防止)、例えばPI-88、生物学的応答修飾剤、好ましくはリンフォカインまたはインターフェロン、例えばインターフェロン α 、ユビキチン化阻害剤、または抗アポトーシス経路を遮断する阻害剤、
 - viii. Ras発癌性アイソフォーム、例えばH-Ras、K-RasまたはN-Rasの阻害剤、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、例えばL-744,832またはDK8G557、
 - ix. テロメラーゼ阻害剤、例えばテロメスタチン、
 - x. プロテアーゼ阻害剤、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メチオニンアミノペプチダーゼ阻害剤、例えばベンガミドまたはその誘導体、またはプロテオソーム阻害剤、例えばPS-341、および/または
 - xi. mTOR阻害剤
- を含むが、これらに限定されない。

【0041】

本明細書で使用する“アロマターゼ阻害剤”は、エストロゲン産生、すなわち基質アンドロステジオンおよびテストステロンから各々エストロンおよびエストラジオールへの変換を阻害する化合物に関する。本用語は、ステロイド、とりわけアタメスタン、エキセメスタンおよびホルメスタンおよび、特に、非ステロイド、とりわけアミノグルテチミド、ログレチミド、ピリドグルテチミド、トリロスタン、テストラクトン、ケトコナゾール、ボロゾール、フアドロゾール、アナストロゾールおよびレトロゾールを含むが、これらに限定されない。アロマターゼ阻害剤である化学療法剤を含む本発明の組み合わせは、特にホルモン受容体陽性腫瘍、例えば乳房腫瘍の処置に有用である。

【0042】

本明細書で使用する“抗エストロゲン”なる用語は、エストロゲンの効果と、エストロゲン受容体レベルで拮抗する化合物に関する。本用語は、タモキシフェン、フルベストラント、ラロキシフェンおよび塩酸ラロキシフェンを含むが、これらに限定されない。抗エストロゲンである化学療法剤を含む本発明の組み合わせは、特にエストロゲン受容体陽性腫瘍、例えば乳房腫瘍の処置に有用である。

【0043】

本明細書で使用する“抗アンドロゲン”なる用語は、アンドロゲンホルモンの生物学的効果を阻害できる任意の物質に関し、ビカルタミドを含むが、これに限定されない。

【0044】

本明細書で使用する“ゴナドレリンアゴニスト”なる用語は、アバレリックス、ゴセリンおよび酢酸ゴセリンを含むが、これらに限定されない。

【0045】

本明細書で使用する“トポイソメラーゼI阻害剤”なる用語は、トポテカン、イリノテ

10

20

30

40

50

カン、9-ニトロカンプトテシンおよび巨大分子カンプトテシン・コンジュゲート・PN
U-166148(WO99/17804の化合物A1)を含むが、これらに限定されない。

【0046】

本明細書で使用する“トポイソメラーゼII阻害剤”なる用語は、ドキソルビシン、ダウ
ノルビシン、エピルビシン、イダルビシンおよびネモルビシンのようなアントラサイクリ
ン、アントラキノンであるミトキサントロンおよびロソキサントロン、およびポドフィロ
トキシシンであるエトポシドおよびテニポシドを含むが、これらに限定されない。

【0047】

“微小管活性化剤”なる用語は、微小管安定化および微小管脱安定化剤に関し、タキサ
ン、例えばパクリタキセルおよびドセタキセル、ビンカアルカロイド、例えば、ビンブラ
スチン、とりわけ硫酸ビンブラスチン、ビンクリスチン、とりわけ硫酸ビンクリスチン、
およびビノレルビン、ジスコデルモライドおよびエポシロンおよびそれらの誘導体、例え
ばエポシロンBまたはその誘導体を含むが、これらに限定されない。

10

【0048】

本明細書で使用する“アルキル化剤”なる用語は、ブスルファン、クロラムブシル、シ
クロホスファミド、イフォスファミド、メルファランまたはニトロソウレア(BCNUま
たはGliadelTM)を含むが、これらに限定されない。

【0049】

“抗新生物代謝拮抗剤”は、5-フルオロウラシル、カペシタビン、ゲムシタビン、シ
タラビン、フルダラビン、チオグアニン、メトトレキサートおよびエダトレキサートを含
むが、これらに限定されない。

20

【0050】

本明細書で使用する“プラチン化合物”なる用語は、カルボプラチン、シスプラチンお
よびオキサリプラチンを含むが、これらに限定されない。

【0051】

本明細書で使用する“タンパク質または脂質キナーゼ活性をターゲッティング／減少さ
せる化合物またはさらなる抗血管形成化合物”は、タンパク質チロシンキナーゼおよび／
またはセリンおよび／またはスレオニンキナーゼ阻害剤または脂質キナーゼ阻害剤、例え
ば受容体チロシンキナーゼの上皮成長因子ファミリー(EGFR、ErbB2、ErbB
3、ErbB4、モノーまたはヘテロダイマーとして)、受容体チロシンキナーゼの血管
内皮細胞増殖因子ファミリー(VEGFR)、血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)、繊
維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)、インシュリン様増殖因子受容体1(IGF-1R)、
Trk受容体チロシンキナーゼファミリー、Axl受容体チロシンキナーゼファミリー、
Ret受容体チロシンキナーゼ、Kit/SCFR受容体チロシンキナーゼ、c-Ab1
ファミリーのメンバーおよびそれらの遺伝子融合産物(例えばBCR-Abl)、タンパク
質キナーゼC(PKC)およびセリン／スレオニンキナーゼのRafファミリーのメンバ
ー、MEK、SRC、JAK、FAK、PDKまたはPI(3)キナーゼファミリーのメンバ
ー、またはPI(3)-キナーゼ関連キナーゼファミリーのメンバー、および／またはサイ
クリン依存性キナーゼファミリー(CDK)のメンバーの活性をターゲッティングし、減
少させ、または阻害する化合物ならびに活性に関して他の、例えば、タンパク質または脂
質キナーゼに無関係の機構を有する抗血管形成化合物を含むが、これらに限定されない。

30

40

【0052】

VEGFRの活性をターゲットとし、減少させ、または阻害する化合物は、とりわけV
EGF受容体チロシンキナーゼを阻害し、VEGF受容体を阻害し、またはVEGFに結
合する化合物、タンパク質または抗体であり、そして特にWO98/35958に一般的
にかつ具体的に記載の、例えば1-(4-クロロアニリノ)-4-(4-ピリジルメチル)フ
タラジンまたはその薬学的に許容される塩、例えばコハク酸塩、WO00/27820に
一般的にかつ具体的に記載の、例えばN-アリール(チオ)アントラニル酸アミド誘導体、
例えば2-[(4-ピリジル)メチル]アミノ-N-[3-メトキシ-5-(トリフルオロメチ

50

ル)フェニル]ベンズアミドまたは2-[(1-オキシド-4-ピリジル)メチル]アミノ-N-[3-トリフルオロメチルフェニル]ベンズアミド、またはWO 00/09495、WO 00/59509、WO 98/11223、WO 00/27819およびEP 0769947に一般的にかつ具体的に記載の化合物、タンパク質またはモノクローナル抗体；M. Prewett et al in Cancer Research 59(1999) 5209-5218、F. Yuan et al in Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 93, pp. 14765-14770, Dec. 1996、Z. Zhu et al in Cancer Res. 58, 1998, 3209-3214、およびJ. Mordenti et al in Toxicologic Pathology, Vol. 27, no. 1, pp 14-21, 1999に記載のもの；WO 00/37502およびWO 94/10202記載のもの；M. S. O'Reilly et al, Cell 79, 1994, 315-328により記載のAngiostatin^{T M}；M. S. O'Reilly et al, Cell 88, 1997, 277-285により記載のEndostatin^{T M}；アントラニル酸アミド；ZD 4190；ZD 6474；SU 5416；SU 6668；または抗VEGF抗体または抗VEGF受容体抗体、例えばRhuMa bである。

【0053】

抗体は、完全なモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも2つの完全な抗体から形成された多特異性抗体、および所望の生物学的活性を示す限り、抗体フラグメントを意味する。

【0054】

上皮成長因子受容体ファミリーの活性をターゲットとし、減少させまたは阻害する化合物は、とりわけ、EGF受容体チロシンキナーゼファミリー、例えばEGF受容体、ErbB2、ErbB3およびErbB4のメンバーを阻害するかまたはEGFリガンドもしくはEGF関連リガンドと結合するか、または、ErbBおよびVEGF受容体キナーゼに二重の阻害効果を有する化合物、タンパク質または抗体、特に一般的にかつ具体的にWO 97/02266に記載されている、例えば実施例39の化合物、またはEP 0564409、WO 99/03854、EP 0520722、EP 0566226、EP 0787722、EP 0837063、US 5,747,498、WO 98/10767、WO 97/30034、WO 97/49688、WO 97/38983に記載されている、とりわけ、WO 96/30347(例えばCP 358774として既知の化合物)、WO 96/33980(例えば化合物ZD 1839)およびWO 95/03283(例えば化合物ZM 105180)またはPCT/EP 02/08780に記載の化合物、タンパク質またはモノクローナル抗体；例えばトラスツズマブ(Herpetin^R)、セツキシマブ、Iressa、OSI-774、CI-1033、EKB-569、GW-2016、E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3またはE7.6.3である。

【0055】

PDGFRの活性をターゲットとし、減少させ、または阻害する化合物は、とりわけPDGFR受容体を阻害する化合物、例えばN-フェニル-2-ピリミジン-アミン誘導体、例えばイマチニブである。

【0056】

c-AbIファミリーメンバーおよびそれらの遺伝子融合産物の活性をターゲットとし、減少させ、または阻害する化合物は、例えばN-フェニル-2-ピリミジン-アミン誘導体、例えばイマチニブ；PD 180970；AG 957；またはNSC 680410である。

【0057】

タンパク質キナーゼC、Raf、MEK、SRC、JAK、FAKおよびPKCファミリーメンバー、またはPI(3)キナーゼまたはPI(3)キナーゼ関連ファミリーメンバー、および/またはサイクリン依存性キナーゼファミリー(CDK)のメンバーの活性をターゲットとし、減少させ、または阻害する化合物は、とりわけEP 0296110に記載のスタウロスポリン誘導体、例えばミドスタウリンである；さらなる化合物の例は、例えばUCN-01、サフィンゴル(safingol)、BAY 43-9006、Bryostatins、Perifosine；Ilmofosine；RO 318220およびRO 320432；G06976；Isis 3521；またはLY333531/LY379196を含む。

10

20

30

40

50

【0058】

さらなる抗血管形成化合物は、例えばサリドマイド (THALOMID) および TNP-470 である。

【0059】

タンパク質または脂質ホスファターゼの活性をターゲットとし、減少させ、または阻害する化合物は、例えばホスファターゼ 1、ホスファターゼ 2A、PTEN または CDC 25 の阻害剤、例えばオカダ酸またはその誘導体である。

【0060】

細胞分化過程を誘発する化合物は、例えばレチノイン酸、 α -、 γ -または δ -トコフェロールまたは α -、 γ -または δ -トコトリエノールである。

【0061】

本明細書で使用するシクロオキシゲナーゼ阻害剤なる用語は、例えばセレコキシブ (Cel ebrex^R)、ロフェコキシブ (Vioxx^R)、エトリコキシブ、バルデコキシブまたは 5-アルキル-2-アリールアミノフェニル酢酸、例えば 5-メチル-2-(2'-クロロ-6'-フルオロアニリノ)フェニル酢酸を含むが、これらに限定されない。

【0062】

本明細書で使用する“ヒストンデアセチラーゼ阻害剤”なる用語は、MS-27-275、SAHA、ピロキサミド、FR-901228 またはバルプロ酸を含むが、これらに限定されない。

【0063】

本明細書で使用する“ビスホスホネート”なる用語は、エチドロン酸 (etidonic)、クロドロン酸、チルドロン酸、パミドロン酸、アレンドロン酸、イバンドロン酸、リセドロン酸およびゾレドロン酸を含むが、これらに限定されない。

【0064】

本明細書で使用する“マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤”なる用語は、コラーゲンペプチド模倣および非ペプチド模倣阻害剤、テトラサイクリン誘導体、例えばヒドロキサメートペプチド模倣物阻害剤であるバチマスタットおよびその経口生物利用可能アナログであるマリマスタット、プリノマスタット (prinomastat)、BMS-279251、BAY 12-9566、TAA211 または AAJ996 を含むが、これらに限定されない。

【0065】

本明細書で使用する“mTOR 阻害剤”なる用語は、ラパマイシン (シロリムス) またはその誘導体、例えば 3,2-デオキシラパマイシン、1,6-ペント-2-イニルオキシ-3,2-デオキシラパマイシン、1,6-ペント-2-イニルオキシ-3,2(S)-ジヒドロラパマイシン、1,6-ペント-2-イニルオキシ-3,2(S)-ジヒドロ-4,0-O-(2-ヒドロキシエチル)-ラパマイシンおよび、より好ましくは、4,0-O-(2-ヒドロキシエチル)-ラパマイシンを含むが、これらに限定されない。ラパマイシン誘導体のさらなる例は、例えば USP 5,362,718 に記載されるような CCI779 または 4,0-[3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)-2-メチルプロパノエート]-ラパマイシンまたはその薬学的に許容される塩、例えば WO 99/15530 に記載されるような ABT578 または 4,0-(テトラゾリル)-ラパマイシン、特に 4,0-エピー(テトラゾリル)-ラパマイシン、または例えば WO 98/02441 および WO 01/14387 に記載されるような ラパログ (rapalog)、例えば AP23573 を含む。

【0066】

式 I の化合物を、他の免疫抑制剤/免疫調節剤、抗炎症剤または化学療法剤と併用して投与するとき、併用する免疫抑制性、免疫調節性、抗炎症性または化学療法化合物の投与量は、もちろん、用いる併用剤、例えばそれがステロイドかカルシニューリン阻害剤か、用いる具体的な薬剤、処置する状態などに依存して変化するであろう。

【0067】

前記によって、本発明はなおさらに下記の局面を提供する：

5. 治療的有効非毒性量の式 I の化合物と、少なくとも一個の第 2 医薬物質、例えば上記の通りの、例えば免疫抑制剤、免疫調節剤、抗炎症剤または化学療法剤を、例えば同時にまたは連続して併用投与することを含む、上記で定義の方法。

10

20

30

40

50

【0068】

6. a) 本明細書に記載の遊離形または薬学的に許容される塩形の式 I の化合物である第 1 薬剤、および b) 少なくとも 1 個の併用薬剤、例えば上記の通りの、例えば免疫抑制剤、免疫調節剤、抗炎症剤または化学療法剤を含む、薬学的組み合わせ、例えばキット。キットはその投与のための指示書を含み得る。

【0069】

本明細書で使用する“併用投与”または“組み合わせ投与”などの用語は、選択した治療剤を単独の患者に投与することを包含することを意味し、薬剤を必ずしも同じ投与経路でまたは同時に投与するものではない処置レジメンを含むことを意図する。

【0070】

本明細書で使用する“医薬的組み合わせ”なる用語は、1 個またはそれ以上の活性成分の混合または組み合わせにより得られる製品を意味し、活性成分の固定されたまたは固定されていない組み合わせの両方を含む。“固定された組み合わせ”なる用語は、活性成分、例えば式 I の化合物および併用薬剤を、両方とも患者に同時に一つの物または投与量の形で投与することを意味する。“固定されていない組み合わせ”なる用語は、活性成分、例えば式 I の化合物および併用薬剤が、両方とも患者に別々の物として、同時に、共に、または特別な時間制限なしに連続して投与することを意味し、このような投与が患者の体内で 2 個の化合物の治療的有効量を提供するものである。後者はまたカクテル療法、例えば、3 個またはそれ以上の活性成分の投与にも適用される。

【0071】

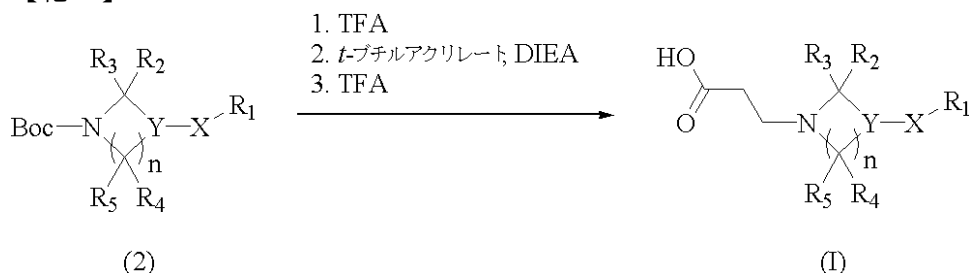
本発明の化合物の製造法

本発明はまた本発明の免疫調節化合物の製造法も含む。記載の反応において、反応性官能基、例えばヒドロキシ基、アミノ基、イミノ基、チオ基またはカルボキシ基を、これらが最終産物で望まれるとき、それらの望ましくない反応への参加を避けるために、保護する必要がある。慣用の保護基を標準的慣習にしたがって使用でき、例えば、T. W. Greene and P. G. M. Wuts in “Protective Groups in Organic Chemistry”, John Wiley and Sons, 1991 を参照のこと。

【0072】

式 I の化合物は、下記の反応スキームの通りの手順により製造できる：

【化 4】



(式中、 n 、 X 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 および R_5 は、上記式 I について定義の通り)。式 I の化合物は、式 2 の化合物を、連続的に、適当な酸(例えば TFA など)と反応させ、 t -ブチルアクリレートと、適当なアミン(例えば DIEA など)の存在下で反応させ、 t -ブチル保護基を、適当な酸(例えば TFA など)で除去することにより製造できる。反応は、約 0 から約 120 °C で進行し、完了まで約 24 時間かかり得る。

【0073】

本発明の化合物の製造の付加的工程：

本発明の化合物は、薬学的に許容される酸付加塩として、遊離塩基の形の化合物と薬学的に許容される無機または有機酸を反応させることにより製造できる。あるいは、本発明の化合物の薬学的に許容される塩基付加塩は、遊離塩基の形の化合物と薬学的に許容される無機または有機塩基を反応させることにより製造できる。あるいは、本発明の化合物の塩形は、塩の出発物質または中間体の使用により製造できる。

【0074】

本発明の化合物の遊離酸または遊離塩基形は、対応する塩基付加塩または酸付加塩形から各々製造できる。例えば酸付加塩形の本発明の化合物は、対応する遊離塩基に、適当な塩基(例えば、水酸化アンモニウム溶液、水酸化ナトリウムなど)での処理により変換できる。塩基付加塩形の本発明の化合物は、対応する遊離酸に、適当な酸(例えば、塩酸など)での処理により変換できる。

【0075】

酸化されていない形の本発明の化合物を、本発明の化合物のN-オキシドから、還元剤(例えば、硫黄、二酸化硫黄、トリフェニルホスフィン、リチウムボロハイドライド、水素化ホウ素ナトリウム、三塩化リン、三臭化物など)の適当な不活性有機溶媒(例えばアセトニトリル、エタノール、水性ジオキサンなど)中での、0から80℃での処理により製造できる。

10

【0076】

本発明の化合物のプロドラッグ誘導体は、当業者に一般的な方法により製造できる(例えば、さらなる詳細は、Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985参照)。例えば、適切なプロドラッグを、非誘導体である本発明の化合物を、適当なカルバミル化剤(例えば、1,1-アシルオキシアルキルカルバノクロリデート、パラ-ニトロフェニルカーボネートなど)と反応させることにより製造できる。

【0077】

本発明の化合物の保護された誘導体は、当業者に一般的な手段により製造できる。保護基の創成およびその除去に適用できる技術の詳細な記載は、T W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999に見ることができる。

20

【0078】

本発明の化合物は、溶媒和物(例えば、水和物)として、簡便に製造でき、はた、亜本発明の方法中に形成され得る。本発明の化合物の水和物は、ジオキシン、テトラヒドロフランまたはメタノールのような有機溶媒を使用した水性／有機溶媒混合物からの再結晶により簡便に製造できる。

【0079】

本発明の化合物は、該化合物のラセミ混合物と、光学活性分解剤を反応させ、ジアステレオ異性体化合物のペアを形成させ、ジアステレオマーを分離し、光学的に純粋なエナンチオマーを回収することにより、個々の立体異性体として製造できる。エナンチオマーの分離は、本発明の化合物の共有結合的ジアステレオマー誘導体を使用して行うことができるが、分離できる複合体(例えば、結晶ジアステレオマー塩)が好ましい。ジアステレオマーは異なる物理特性(例えば、融点、沸点、溶解度、反応性など)を有し、これらの差異を利用して容易に分離できる。ジアステレオマーは、クロマトグラフィーにより、または好ましくは溶解度の差に基づいた分離／分解法により分離できる。光学活性エナンチオマーを、次いで、解離剤と共に、ラセミ化をもたらさない任意の慣用的手段により回収する。ラセミ混合物からの化合物の立体異性体の分離に適用できる技術のより詳細な記載は、Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981に見ることができる。

30

40

【0080】

要約すると、式Iの化合物は、下記を含む方法により製造できる：

- (a) 上記反応スキーム；そして
- (b) 所望により本発明の化合物を薬学的に許容される塩に変換する；
- (c) 所望により塩の形の本発明の化合物を、非塩形に変換する；
- (d) 所望により非酸化形の本発明の化合物を薬学的に許容されるN-オキシドに変換する；
- (e) 所望によりN-オキシド形の本発明の化合物をその非酸化形に変換する；
- (f) 所望により本発明の化合物の個々の異性体を異性体の混合物から分離する；

50

(g)所望により非誘導体である本発明の化合物を薬学的に許容されるプロドラッグ誘導体に変換する；そして

(h)所望により本発明の化合物のプロドラッグ誘導体をその非誘導体形に変換する。

【0081】

出発物質の製造を特に記載していない限り、該化合物は既知であるか、または、当分野で既知の方法に準じて、または、下記実施例に記載の通り製造できる。

【0082】

当業者は、上記の変換は本発明の化合物の製造の代表であるのみであり、他の既知の方法を同様に使用できることを認識しよう。

【0083】

10

実施例

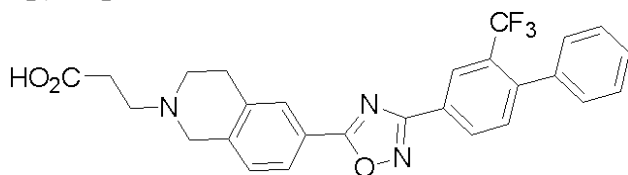
下記実施例は代表的化合物の製造の詳細な記載を提供し、本発明を説明するために提供するが、限定するものではない。

【0084】

実施例 1

3-〔6-〔3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-5-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸の合成

【化5】



20

3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2,6-ジカルボン酸 tert-ブチルエステル(96mg、0.348mmol)のトルエン(4mL)中の懸濁液に、SOCl₂(254μL、10当量)を添加する。混合物を3時間加熱還流する。すべての溶媒を減圧下除去する。残渣をトルエンに再溶解し、2回蒸発乾固して過剰のHClを除去し、高真空下で2時間乾燥させ、粗6-クロロカルボニル-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-カルボン酸 tert-ブチルエステルを得る。

30

【0085】

別のフラスコに、N-ヒドロキシ-2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-カルボキシアミジン(82mg、0.29mmol)およびDIEA(242μL、4当量)およびCH₂Cl₂(5mL)を添加する。混合物を氷-塩浴を使用して0℃に冷却する。前の工程の塩化物をCH₂Cl₂(2mL)に溶解し、ゆっくり添加する。添加後、得られた混合物を室温に温め、2時間攪拌する。すべての溶媒を蒸発させ、混合物をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、EtOAc/ヘキサン、勾配)で精製し、120mgの所望の生成物を得る。生成物をTHF(2mL)に溶解し、TBAF(444μL、2当量)と、マイクロ波バイアル中で混合する。混合物を100℃で15分、マイクロ波照射を使用して加熱する。すべての溶媒を蒸発させ、残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、EtOAc/ヘキサン、勾配)で精製し、70mgの6-〔3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-5-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-カルボン酸 tert-ブチルエステルを得る。

40

【0086】

6-〔3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-[1,2,4]オキサジアゾール-5-イル]-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-カルボン酸 tert-ブチルエステル(68mg、0.13mmol)のCH₂Cl₂(1mL)溶液に、TFA(2mL)を添加する。混合物を室温で30分攪拌する。すべての溶媒を減圧下除去する。混合物をCH₃OH(1.5mL)に溶解する。次いでDIEA(119μL、10当量)およびアクリル酸 tert-ブチルエステル(38μL、2当量)を添加する。混合物を90℃で20分、マイ

50

クロ波照射を使用して加熱する。すべての溶媒を蒸発させ、3-〔6-〔3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-〔1,2,4〕オキサジアゾール-5-イル〕-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸 *tert*-ブチルエステルの粗生成物を、精製することなく次工程に使用する。

【0087】

粗3-〔6-〔3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-〔1,2,4〕オキサジアゾール-5-イル〕-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸 *tert*-ブチルエステルの CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に、TFA (1 mL) を添加する。混合物を室温で1時間攪拌する。すべての溶媒を蒸発させる。混合物を逆相分取 LC/MS により精製し、3-〔6-〔3-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イル)-〔1,2,4〕オキサジアゾール-5-イル〕-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸を得る： ^1H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 8.52 (s, 1H), 8.38 (d, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.10 (d, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.50 (m, 4H), 7.38 (m, 2H), 3.20-3.50 (m, 8H), 2.92 (t, 2H), MS (ES^+): (494.10, $\text{M}+1$) $^+$ 。

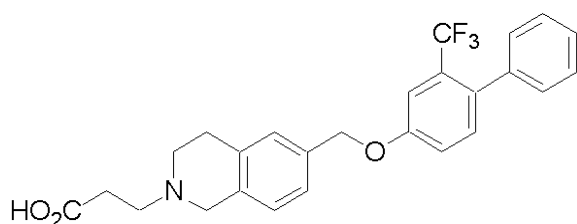
10

【0088】

実施例2

3-〔6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸の合成

【化6】



20

6-ヒドロキシメチル-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-カルボン酸 *tert*-ブチルエステル (85 mg, 0.323 mmol) の CH_2Cl_2 (1.5 mL) 溶液に、4-クロロ-3-トリフルオロメチル-フェノール (76 mg, 1.23 当量) の CH_2Cl_2 (0.5 mL)、 PPh_3 (127 mg, 1.5 当量)、および 1,1'-(アゾジカルボニル)-ジピペリジン (122 mg, 1.5 当量) を添加する。混合物を室温で一晩攪拌する。すべての溶媒を減圧下除去し、混合物をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、EtOAc/ヘキサン、勾配)で精製し、70 mg の 6-(4-クロロ-3-トリフルオロメチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-カルボン酸 *tert*-ブチルエステルを得る。

30

【0089】

6-(4-クロロ-3-トリフルオロメチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-カルボン酸 *tert*-ブチルエステル (70 mg, 0.158 mmol) の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に、TFA (1 mL) を添加する。混合物を室温で30分攪拌する。すべての溶媒を減圧下除去する。混合物を CH_3OH (1.5 mL) に溶解する。次いで DIEA (269 μL , 1.0 当量) および アクリル酸 *tert*-ブチルエステル (46 μL , 2 当量) を添加する。混合物を 90 $^\circ\text{C}$ で 20 分、マイクロ波照射を使用して加熱する。すべての溶媒を蒸発させ、混合物をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、EtOAc/ヘキサン、勾配)で精製し、56 mg の 3-〔6-(4-クロロ-3-トリフルオロメチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸 *tert*-ブチルエステルを得る。

40

【0090】

マイクロ波バイアルに、3-〔6-(4-クロロ-3-トリフルオロメチル-フェノキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル〕-プロピオン酸 *tert*-ブチルエステル (56 mg, 0.119 mmol)、フェニルボロン酸 (17 mg, 1.2 当量)、Pd(OAc) $_2$ (1.3 mg, 5 mol%)、(ジシクロヘキシルホスフィノ)ビフェニル (4.2 mg, 1

50

0 mol%)、KF (21 mg、3 当量)、および THF (0.25 mL)を入れる。得られた混合物を 120 °C に、マイクロ波照射を使用して 20 分加熱する。混合物をセライトを通して濾過する。セライトを EtOAc で数回洗浄する。次いで、濾液を濃縮して暗色油状物を得る。混合物をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、EtOAc/ヘキサン、勾配)で精製し、3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸 tert-ブチルエステルを得る。

【0091】

3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸 tert-ブチルエステル(35 mg、0.068 mmol)の CH₂Cl₂ (1 mL)溶液に、TFA (1 mL)を添加する。混合物を室温で 1 時間攪拌する。すべての溶媒を蒸発させる。混合物を逆相分取 LC/MS で精製して、3-[6-(2-トリフルオロメチル-ビフェニル-4-イルオキシメチル)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸を得る：¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 7.45 (m, 2H), 7.38-7.41 (m, 3H), 7.35 (s, 1H), 7.16-7.23 (m, 5H), 4.85 (s, 2H), 4.54 (s, 2H), 3.68 (m, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.27 (t, 2H), 2.96 (t, 2H), MS (ES⁺): (456.20, M+1)⁺。

10

【0092】

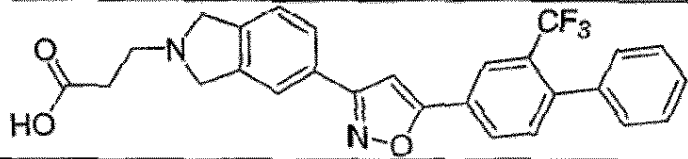
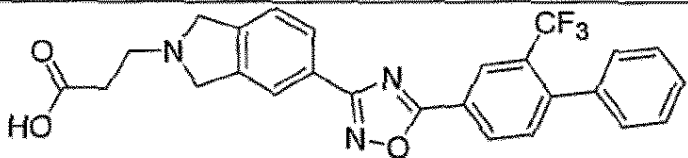
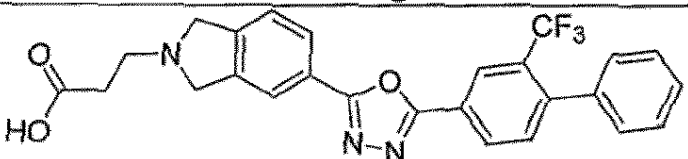
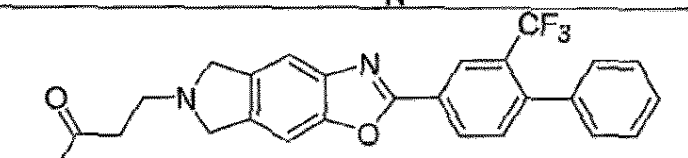
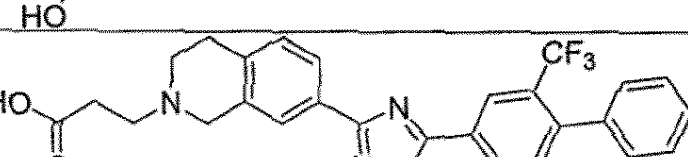
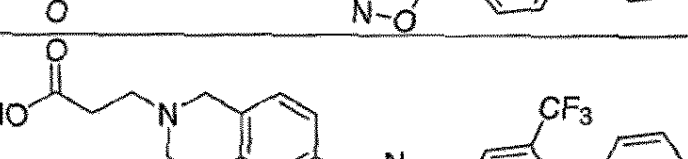
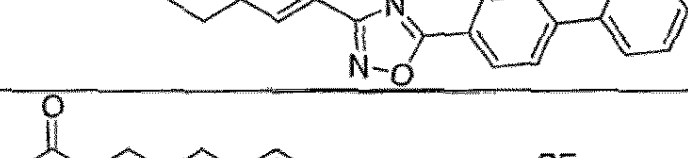
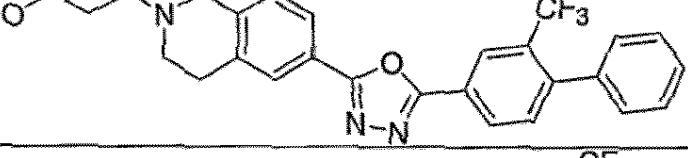
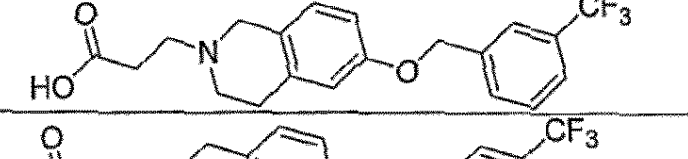
上記実施例の方法を繰り返し、適当な出発物質を使用して、下記の式 I の化合物を表 1 に同定した通りに得る。

20

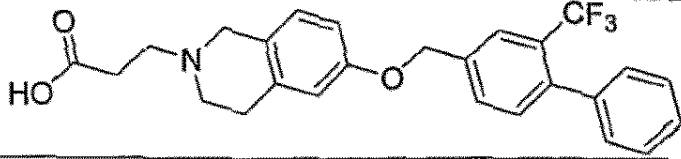
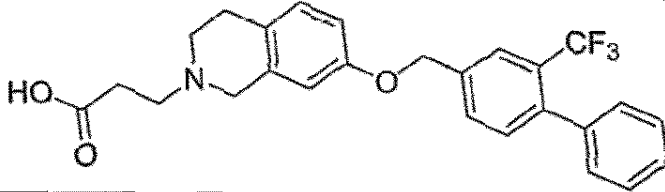
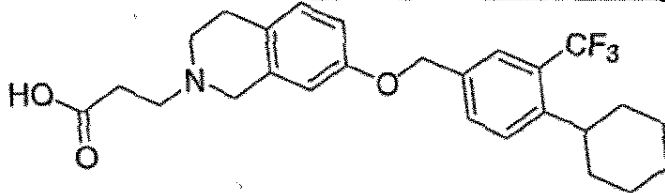
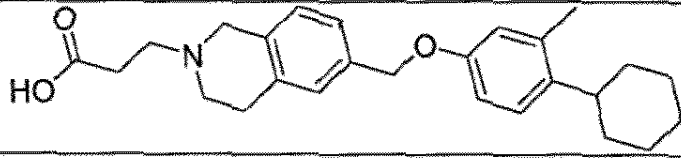
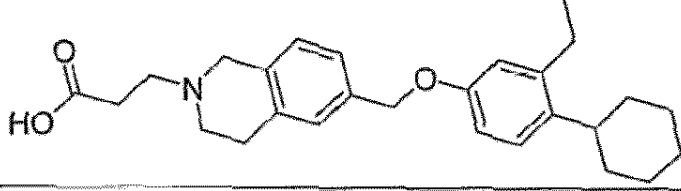
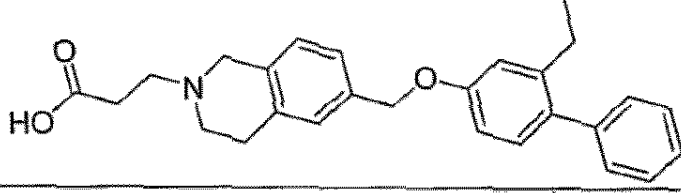
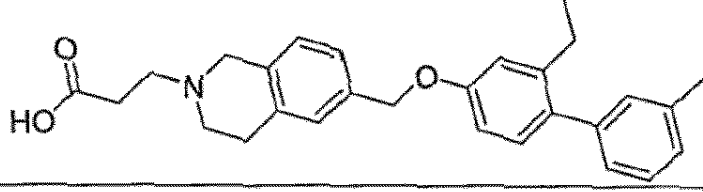
【0093】

【表1】

表1

化合物	構造	物理的 データ MS ES (M+1)
1		479.2
2		480.2
3		480.2
4		453.1
5		494.2
6		494.2
7		494.2
8		380.1
9		462.2

【表 2】

化合物	構造	物理的 データ MS ES (M+1)
10		456.2
11		456.2
12		462.3
13		
14		
15		
16		

【0094】

実施例 3

式 I の化合物は生物学的活性を示す

A. インビトロ：ヒト EDG 受容体を発現する CHO 細胞から調製した膜への GTP [γ - ^{3} S] の結合を測定する GPCR 活性化アッセイ

EDG-1 (S1P₁) GTP [γ - ^{3} S] 結合アッセイ：均質化膜を、ヒト EDG-1 N-末端 c-myc タグを安定に発現する CHO 細胞クローンから調製する。細胞を 2 個の 850 cm² ローラーボトル中の懸濁液で、3 日または 4 日増殖させ、その後収集する。細胞を遠沈させ、冷 PBS で洗浄し、< 20 ml の緩衝液 A (20 mM HEPES、pH

10

20

30

40

50

7.4、10mM EDTA、無EDTAの完全プロテアーゼ阻害剤カクテル[1錠/25ml])に再懸濁する。細胞懸濁液を氷上で、Polytronホモジナイザーを使用して、3000rpmで各15秒の3インターバルで均質化する。ホモジネートを最初に2000rpmで卓上式低速遠心器で10分遠心する。上清を、細胞ストレーナーを通した後、次いで、50,000×gで25分、4℃で遠心する。ペレットを緩衝液B(15%グリセロール、20mM HEPES、pH7.4、0.1mM EDTA、無EDTAの完全プロテアーゼ阻害剤カクテル[1錠/10ml])に再懸濁する。調製物のタンパク質濃度をBCAタンパク質アッセイキット(Pierce)を使用して、BSAを標準として用いて決定する。膜をアリコートに分け、-80℃で凍結保存する。

【0095】

10mMから0.01nMの範囲の試験化合物をDMSO中に調製する。S1Pを4%BSA溶液に、ポジティブコントロールとして希釈する。所望の量の膜調製物を氷冷アッセイ緩衝液(20mM HEPES、pH7.4、100mM NaCl、10mM MgCl₂、0.1%無脂肪酸BSA、5μM GTP)で希釈し、十分ボルテックス処理する。2μlまたはそれより少ない化合物を丸底96ウェルポリスチレンアッセイプレートの各ウェルに分配し、続いて100μlの希釈した膜(3-10μg/ウェル)を添加し、ホットGTPγSを添加するまで氷上に維持する。^[35S]-GTPγSを、冷アッセイ緩衝液で1:1000(v/v)に希釈し、100μlを各ウェルに添加する。反応を室温で90分行い、その後、膜をPerkin-Elmer Unifilter(登録商標)GF/B-96フィルタープレートに、Packard Filtermate Harvesterを使用して収集する。数回洗浄緩衝液(20mM HEPES、pH7.4、100mM NaCl、10mM MgCl₂)で洗浄し、95%エタノールで濯いだ後、フィルターを37℃オーブンで30分で乾燥させる。MicroScint-20を添加し、プレートをTopCountでのシンチレーションカウントのために密封する。EC50値を、GTP[γ-³⁵S]結合曲線(生データ)のGraphPad Prismの用量応答曲線適合ツールでの適合により得る。6または12の異なる濃度を使用して、濃度応答曲線を産生する(濃度当たり3データ点を使用)。

【0096】

EDG-3、-5、-6および-8GTP[γ-³⁵S]結合アッセイを、EDG-1GTP[γ-³⁵S]結合アッセイに準じた方法を使用して、c-末端c-mycタグ付加または非タグ付加受容体を安定に発現するCHO細胞由来の膜を使用して行う。各膜調製物について、力価測定実験を最初にS1Pコントロールで行い、アッセイウェルあたりに添加すべき膜の最適量を決定する。本発明の化合物を上記アッセイで試験し、EDG-1受容体を選択性を示すことが観察された。例えば、3-{4-[1-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシイミノ)-エチル]-2-エチル-ベンジルアミノ}-プロピオン酸(実施例2)は、上記アッセイで0.8nMのEC₅₀を示し、EDG-1に対して、EDG-3、EDG-5、EDG-6およびEDG-8を含む他の受容体の1個またはそれ以上と比較して、少なくとも1000倍選択的である。同様に、3-[6-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸(化合物9)は上記アッセイで0.2nMのEC₅₀を示し、EDG-1に対して、EDG-3、EDG-5、EDG-6およびEDG-8を含む他の受容体の1個またはそれ以上と比較して、少なくとも1000倍選択的である。

【0097】

B. インビトロ：FLIPRカルシウム流動アッセイ

本発明の化合物を、EDG-1、EDG-3、EDG-5、およびEDG-6に対するアゴニスト活性について、FLIPRカルシウム流動アッセイで試験する。簡単に言うと、EDG受容体を発現するCHO細胞を、5%FBSと500μg/mlのG418を含むF-12K培地(ATCC)に維持する。アッセイ前に、細胞を384黒色透明底プレートに、10,000細胞/ウェル/25μlの密度で、1%FBS含有F-12Kの培地に播く。二日目に、細胞を3回(各25μl)洗浄緩衝液で洗浄する。約25μlの色素を各ウェ

10

20

30

40

50

ルに添加し、1時間、37℃および5%CO₂でインキュベートする。細胞を次いで4回洗浄緩衝液(各25μl)で洗浄する。カルシウム流動を、25μlのSEQ2871溶液を各細胞のウェルに添加後に測定する。同じアッセイを、異なるEDG受容体を発現する細胞で行う。FLIPRカルシウム流動アッセイにおける力価を、3分インターバルにわたり測定し、EDG-1活性化に相対的な、最大ピーク高パーセンテージ応答として定量する。

【0098】

C. インビボ：血液リンパ球枯渇のためのスクリーニングアッセイおよび心臓作用の評価
循環しているリンパ球の測定：化合物をDMSOに溶解し、4%DMSO(v/v、最終濃度)の最終濃度を得るために希釈し、次いで、一定用量のTween80 25%/H₂O、v/vで希釈する。Tween80 25%/H₂O(200μl)、4%DMSO、およびFTY720(10μg)を各々ネガティブおよびポジティブコントロールとして包含させる。マウス(C57b1/6雄、6-10週齢)に250-300μLの化合物溶液を経口で、短いイソフルラン麻酔下に胃管栄養法により投与する。

10

【0099】

血液を、眼窩後洞(retro-orbital sinus)から薬剤投与6および24時間後に短いイソフルラン麻酔下に採る。全血サンプルを血液学的分析に付す。末梢リンパ球計数を自動アナライザーを使用して決定する。末梢血リンパ球の分画をフルオロクロム-接合特異的抗体により染色し、蛍光活性化細胞分別機(Facscalibur)を使用して分析する。スクリーニングした各化合物のリンパ球枯渇活性を評価するために2匹のマウスを使用する。結果はED₅₀であり、これは、50%の血液リンパ球枯渇を示すのに必要な有効投与量として定義する。本発明の化合物を上記アッセイにしたがい試験し、好ましくは1mg/kgより小さいED₅₀、より好ましくは0.5mg/kgより小さいED₅₀を示すことが判明した。例えば、3-[6-(4-シクロヘキシル-3-トリフルオロメチル-ベンジルオキシ)-3,4-ジヒドロ-1H-イソキノリン-2-イル]-プロピオン酸(化合物9)は、0.2mg/kgのED₅₀を示す。

20

【0100】

心臓作用の評価：化合物の心機能に対する作用を、AnonyMOUSE ECGスクリーニングシステムを使用してモニターする。心電図を、有意識マウス(C57b1/6雄、6-10週齢)で、化合物の投与前後に測定する。次いで、ECGシグナルを、e-MOUSEソフトウェアを使用して処理し評価する。200μl 水、15%DMSOにさらに希釈した90μgの化合物をIPで注射する。各化合物の心臓作用を評価するために4匹のマウスを使用する。

30

【0101】

D. インビボ：抗血管形成活性

(i)スフィンゴシン-1-ホスフェート(5μM/チャンバー)または(ii)ヒトVEGF(1μg/チャンバー)の0.5mlの0.8%w/v寒天(ヘパリン、20U/ml含有)溶液を含む、多孔性チャンバーをマウスの横腹に皮下にインプラントする。S1PまたはVEGFは、チャンバー周囲の血管組織の増殖を誘導する。この応答は用量依存性であり、組織の重量および血液含量の測定により定量できる。マウスに、チャンバーのインプラントの前4-6時間に開始して、1日1回、式Iの化合物を経口または静脈内投与し、4日間続ける。動物を最後の投与24時間後に血管組織の測定のために殺す。チャンバー周囲の血管組織の重量および血液含量を測定する。式Iの化合物で処置した動物は、媒体単独で処置した動物と比較して、血管組織の重量および/または血液含量の減少を示した。式Iの化合物は、約0.3から約3mg/kgの投与量で投与したとき、抗血管形成である。

40

【0102】

E. インビトロ：抗腫瘍活性

乳癌から元々単離したマウス乳癌細胞系、例えばJygMC(A)を使用する。工程前に、新鮮培地に播くために、細胞数を5×10⁵に調節する。細胞を、2.5mMのチミジン含有、FCS非含有新鮮培地で、12時間インキュベートし、PBSで2回洗浄し、続い

50

て10% FCS含有新鮮培地を添加し、さらに12時間インキュベートする。その後、細胞を2.5mMのチミジン含有、FCS非含有新鮮培地で12時間インキュベートする。細胞をブロックから解放するために、細胞を2回PBS洗浄し、10% FCS含有新鮮培に再び播く。同調後、細胞を種々の濃度の式Iの化合物の存在下または非存在下、3、6、9、12、18または24時間インキュベートする。細胞を0.2% EDTAで処理後収集し、氷冷70%エタノール溶液で固定し、250 μ g/mlのRNase A(タイプ1-A: Sigma Chem. Co.)で、37℃で30分加水分解し、10mg/mlのヨウ化プロピジウムで20分染色する。インキュベーション期間の後、細胞数を、CoulterカウンターおよびSRB比色アッセイの両方で測定する。これらの条件下、式Iの化合物は、腫瘍細胞の増殖を、 10^{-12} から 10^{-6} Mの範囲の濃度で阻害する。

10

【0103】

本明細書に記載の実施例および態様は、説明の目的のためのみであり、それに鑑みた種々の修飾および改変が、当業者には示唆され、本出願の精神および理解の範囲内および添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれる。本明細書で引用したすべての文献、特許および特許出願は、引用によりすべての目的で本明細書に包含させる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/4245 (2006.01)	A 6 1 K 31/4245	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 21/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/04	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 17/14 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 17/14	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
	A 6 1 P 9/10	

(74)代理人 100062144

弁理士 青山 葆

(74)代理人 100067035

弁理士 岩崎 光隆

(74)代理人 100064610

弁理士 中嶋 正二

(72)発明者 パン・シフエン

アメリカ合衆国 9 2 1 3 0 カリフォルニア州サンディエゴ、ケリー・レイン 1 3 8 8 0 番

(72)発明者 ナサニエル・エス・グレイ

アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州サンディエゴ、ラマス・ストリート 5 6 5 2 番

(72)発明者 ファン・イ

アメリカ合衆国 9 2 0 6 4 カリフォルニア州ポーウェイ、ベッパ・ツリー・レイン 1 2 2 2 8 番

(72)発明者 ガオ・ウェンキ

アメリカ合衆国 9 2 1 2 3 カリフォルニア州サンディエゴ、ハーマーシュ・ストリート 7 9 5 8 番

審査官 岡部 佐知子

(56)参考文献 特表 2 0 0 0 - 5 0 2 3 5 4 (J P, A)

特開 2 0 0 3 - 0 7 3 3 5 7 (J P, A)

国際公開第 0 2 / 0 5 5 5 0 1 (W O, A 1)

特開平 0 8 - 1 8 8 5 6 4 (J P, A)

特表 2 0 0 2 - 5 4 1 1 0 9 (J P, A)

特表平 1 1 - 5 0 0 7 4 5 (J P, A)

特表 2 0 0 5 - 5 3 3 7 6 1 (J P, A)

国際公開第 0 2 / 0 9 2 0 6 8 (W O, A 1)

国際公開第 2 0 0 4 / 0 3 1 1 1 8 (W O, A 1)

国際公開第 2 0 0 5 / 0 2 0 8 8 2 (W O, A 1)

Journal of Medicinal Chemistry, 1 9 8 6 年, 29(1), 8-19

Journal of Organic Chemistry, 1 9 9 6 年, 61(20), 7101-7105

Journal of the American Chemical Society, 1 9 9 0 年, 112(21), 7820-2

Gazzetta Chimica Italiana, 1 9 8 7 年, 117(11), 695-700

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C07D 217/04
A61K 31/422
A61K 31/4245
A61K 31/472
A61K 31/4725
A61P 1/04
A61P 3/10
A61P 9/00
A61P 9/10
A61P 17/14
A61P 19/02
A61P 21/04
A61P 25/00
A61P 29/00
A61P 35/00
A61P 37/02
A61P 37/06
A61P 37/08
C07D 413/04
WPI
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)