

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5341293号
(P5341293)

(45) 発行日 平成25年11月13日 (2013.11.13)

(24) 登録日 平成25年8月16日 (2013.8.16)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 31/44 (2006.01) A 6 1 K 31/44
A 6 1 K 31/472 (2006.01) A 6 1 K 31/472
A 6 1 P 1/16 (2006.01) A 6 1 P 1/16
A 6 1 P 3/10 (2006.01) A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 9/00 (2006.01) A 6 1 P 9/00

請求項の数 10 (全 71 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-550737 (P2003-550737)	(73) 特許権者	501093088
(86) (22) 出願日	平成14年12月6日 (2002.12.6)		ファイブローゲン、インコーポレーテッド
(65) 公表番号	特表2005-526010 (P2005-526010A)		アメリカ合衆国 94158 カリフォル
(43) 公表日	平成17年9月2日 (2005.9.2)		ニア州、サンフランシスコ、イリノイ
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/038867		ストリート 409
(87) 国際公開番号	W02003/049686	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開日	平成15年6月19日 (2003.6.19)		弁理士 平木 祐輔
審査請求日	平成17年11月30日 (2005.11.30)	(74) 代理人	100118773
審査番号	不服2010-24405 (P2010-24405/J1)		弁理士 藤田 節
審査請求日	平成22年10月29日 (2010.10.29)	(74) 代理人	100122389
(31) 優先権主張番号	60/337,082		弁理士 新井 栄一
(32) 優先日	平成13年12月6日 (2001.12.6)	(74) 代理人	100111741
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 田中 夏夫
(31) 優先権主張番号	60/349,659	(74) 代理人	100120905
(32) 優先日	平成14年1月16日 (2002.1.16)		弁理士 深見 伸子
(33) 優先権主張国	米国 (US)		最終頁に続く

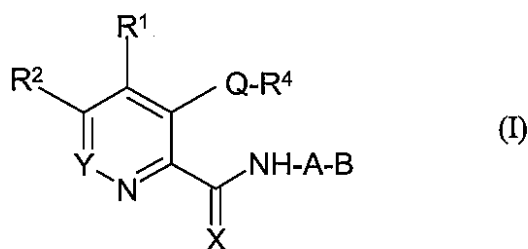
(54) 【発明の名称】 低酸素誘導性因子 (HIF) - α の安定化

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

低酸素誘導性因子 (HIF) プロリルヒドロキシラーゼ酵素活性を阻害する複素環カルボキサミド化合物を含む、対象における低酸素症および虚血に関連する組織損傷を治療または予防するための医薬品組成物であって、前記複素環カルボキサミドが、
 下記式 (I) の化合物から選択される化合物、またはそれらから誘導される生理活性塩である、上記医薬品組成物。

【化 1】



{ 式中、

Aは、-CH₂-であり；

Bは、-CO₂H、またはCO₂-Gカルボキシル基であり(ここで、GはアルコールG-OHの基であって、Gは(C₁-C₂₀)-アルキル基または(C₇-C₁₆)-炭素環アラルキル基である。)；

Xは、Oであり；

Qは、Oであり；

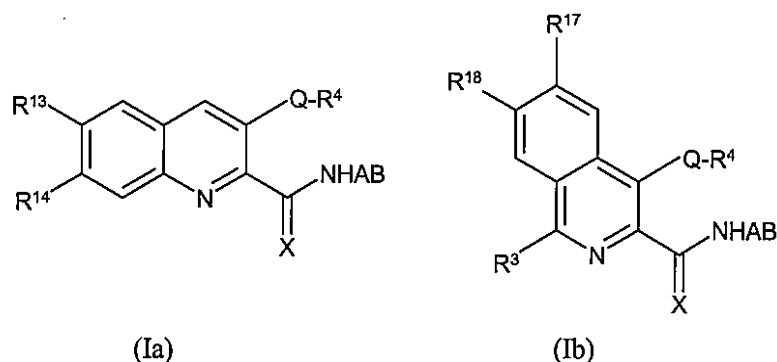
R⁴は水素またはメチル基であり；

YはCR³であり；

R¹、R²およびR³はそれぞれ独立して、水素、ハロゲン、シアノ、(C₁-C₂₀)-アルキル、(C₁-C₂₀)-アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₆)-アラルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N-((C₁-C₁₈)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、および-O-[CH₂]_xC_fH_(2f+1-g)F_g(ここで、fは1、gは3、xは0である)からなる群から選択され；いずれのアリール基も、ハロゲン、シアノ、(C₂-C₁₆)-アルキル、(C₁-C₁₆)-アルコキシ、およびカルバモイルからなる群から選択される1~5個の置換基によって置換されていても良く；または、

R¹およびR²、またはR²およびR³は、それらを有するピリジンと一体となって、下記式IaまたはIbから選択される任意に置換されていてもよい複素環系を形成しており；

【化2】



置換基R³、R¹³、R¹⁴、R¹⁷、およびR¹⁸はそれぞれ独立して、水素、ハロゲン、シアノ、(C₁-C₂₀)-アルキル、(C₁-C₂₀)-アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₆)-アラルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N-((C₁-C₁₈)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、および-O-[CH₂]_xC_fH_(2f+1-g)F_g(ここで、fは1、gは3、xは0である)からなる群から選択され；いずれのアリール基も、ハロゲン、シアノ、(C₂-C₁₆)-アルキル、(C₁-C₁₆)-アルコキシ、およびカルバモイルからなる群から選択される1~5個の置換基によって置換されていても良い。}

【請求項2】

前記複素環カルボキサミド化合物が、式Iaの化合物{式中、R¹³は水素、(C₁-C₂₀)-アルキル、(C₁-C₂₀)-アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、または-O-[CH₂]_xC_fH_(2f+1-g)F_g(ここで、fは1、gは3、xは0である)であり；R¹⁴は水素またはハロゲンである。}である、請求項1に記載の医薬品組成物。

【請求項3】

前記複素環カルボキサミド化合物が、式Ibの化合物{式中、R³は水素またはハロゲンであり；R¹⁷は水素であり；R¹⁸は水素、(C₁-C₂₀)-アルキル、(C₁-C₂₀)-アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、または-O-[CH₂]_xC_fH_(2f+1-g)F_g(ここで、fは1、gは3、xは0である)。}である、請求項1に記載の医薬品組成物。

【請求項4】

前記複素環カルボキサミド化合物が、

[(3-ヒドロキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸、

[(3-メトキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸

[(1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ]-酢酸、

N-((3-ヒドロキシ-6-イソプロポキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ)-酢酸、

[(3-ヒドロキシ-6-トリフルオロメトキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸、

N-((6-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸、
 ((7-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸メチルエステル、
 N-((7-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸、
 N-((7-ブトキシ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸、および
 (6-クロロ-3-ヒドロキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸から成る群から選択される、請求項1に記載の医薬品組成物。

【請求項5】

10

低酸素症および虚血に関連する組織損傷が、心筋梗塞、腎臓虚血性再灌流損傷、肝臓虚血、および脳梗塞から成る群から選択される、請求項1～4のいずれかに記載の医薬品組成物。

【請求項6】

前記虚血が、虚血事象である、請求項1～5のいずれかに記載の医薬品組成物。

【請求項7】

前記虚血事象が、手術、臓器移植、梗塞、外傷または損傷に関連するものである、請求項6に記載の医薬品組成物。

【請求項8】

前記虚血事象が慢性である、請求項6に記載の医薬品組成物。

20

【請求項9】

前記虚血事象が、高血圧、糖尿病、閉塞性動脈疾患、慢性静脈不全、レイノー病、および鬱血性心不全からなる群から選択される状態に関連する、請求項6に記載の医薬品組成物。

【請求項10】

前記組成物が経口製剤である、請求項1～9のいずれかに記載の医薬品組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2001年12月6日出願の米国仮出願第60/337082号、2002年2月25日出願の米国仮出願第60/359683号、2002年1月16日出願の米国仮出願第60/349659号および2002年6月5日出願の米国仮出願第60/386488号の利益を主張するものであり、各出願は参照によってその全ての内容を本明細書に組み込む。

30

【0002】

本発明は、低酸素誘導性因子(HIF)のサブユニットを安定化させる方法ならびにこれらの方法において使用可能な化合物に関する。

【背景技術】

【0003】

組織低酸素症に対する初期の応答は、低酸素誘導性因子(HIF)、すなわち細胞酸素濃度の変化に応答した遺伝子発現における変化に介在する塩基性ヘリックス-ループ-ヘリックス(bHLH)PAS(Per/Arnt/Sim)転写活性化物質の誘発である。HIFは、酸素調節サブユニット(HIF)および構成的に発現されるサブユニット(HIF)を有するヘテロダイマーであり、アリール炭化水素受容体核トランスポーター(ARNT)とも称される。酸化された(正常酸素状態)細胞ではHIFサブユニットは、フォン・ヒッペル・リンドウ腫瘍抑制(pVHL)E3リガーゼ複合体によるユビキチン化が関与する機序によって急速に分解される。低酸素状態下では、HIFは分解せず、活性なHIF/複合体が核において蓄積し、糖分解酵素、ブドウ糖輸送担体(GLUT)-1、エリスロポエチン(EPO)および血管内皮増殖因子(VEGF)などのいくつかの遺伝子の発現を活性化する(Jiang et al. (1996) J Biol Chem 271:17771-17778; Iliopoulos et al. (1996) Proc Natl Acad Sci U SA 93:10595-10599; Maxwell et al. (1999) Nature 399:271-275; Sutter et al. (2000

40

50

) Proc Natl Acad Sci USA 97:4748-4753; Cockman et al. (2000) J Biol Chem 275:25733-25741; および Tanimoto et al. (2000) EMBO J 19:4298-4309.)。

【 0 0 0 4 】

低酸素症に応答してほとんどの細胞でHIF タンパク質のレベルが上昇し、動物が貧血または低酸素症になるとin vivoでHIF が誘発される。HIF レベルは、低酸素症開始から数時間以内に上昇し、継続的に低酸素状態下にあるとベースラインまで戻る。HIFは、細胞増殖、血管新生および細胞周期停止などの多くの細胞および発達プロセスにおいて示唆されている。HIF は、心筋の急性虚血および初期梗塞、肺高血圧および炎症にも関連していた。HIF は腫瘍成長および転移に関連していたが、HIFが腫瘍形成に直接関与していることを示すデータはほとんどない。標的臓器を短期間にわたり低酸素症とする低酸素プレコンディショニングが、低酸素 - 虚血損傷に対して心筋および脳の両方を保護することが明らかになっている。HIF 安定化は虚血と密接に関連しており、プレコンディショニングによって誘発される (Wang and Semenza (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:4304-4308; Stroka et al. (2001) FASEB J 15:2445-2453; Semenza et al. (1997) Kidney Int 51:553-555; Carmeliet et al. (1998) Nature 394:485-490; Zhong et al. (1999) Cancer Res 59:5830-5835; Lee et al. (2000) N Engl J Med 343:148-149; Sharp et al. (2000) J Cereb Blood Flow Metab 20:1011-1032; Semenza et al. (2000) Adv Exp Med Biol 475:123-130; Thornton et al. (2000) Biochem J 350:307-312; Deindl and Schaper (1998) Mol Cell Biochem 186:43-51; Bergeron et al. (2000) Ann Neurol 48:285-296.)。

【 0 0 0 5 】

数名の研究者が、HIF とpVHLとの間の相互作用の機序について研究している。残基401 ~ 603のHIF-1 内の酸素依存性分解領域 (ODD) が最初に、キメラタンパク質構築物に酸素依存的な不安定性を与える上で十分なものであると確認された。残基526 ~ 652由来のODDの一部を含む領域が、pVHL依存的分解において必要であることが認められた。さらに、HIF 同族体間で保存されている領域 (HIF-1 における残基556 ~ 574) 内でのP₅₆₄YIのアスパラギン酸への突然変異またはK₅₃₂のアルギニンへの突然変異によって、全長HIF タンパク質が正常酸素条件下で安定となり、pVHL介在分解に対して抵抗性となった (Huang et al. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95:7987-7992; および Tanimoto et al. (2000) EMBO J 19:4298-4309.)。

【 0 0 0 6 】

HIF レベルは、デスフェリオキサミン (DFO) などの鉄キレート剤およびCoCl₂などの二価金属塩などの低酸素症に類似した作用を示す多くの因子によって上昇する。HIF レベルは、反応性酸素化学種が関与する機序を用いて正常酸素条件下で、アンジオテンシンII、トロンビンおよび血小板由来増殖因子によって上昇する。報告から、HIF が一酸化窒素活性化ホスホチリノシトール3 - キナーゼ (PI3K)、肝細胞増殖因子またはマイトジェン活性化タンパク質キナーゼが関与する経路によるリン酸化によって調節されることも示唆されている。PI3Kの下流標的であるグリコーゲンシンターゼキナーゼは、HIF ODD領域を直接リン酸化する (Richard et al. (2000) J Biol Chem 275:26765-26771; Sandau et al. (2000) Biochem Biophys Res Commun 278:263-267; Tacchini et al. (2001) Carcinogenesis 22:1363-1371; および Sodhi et al. (2001) Biochem Biophys Res Commun 287:292-300.)。

【 0 0 0 7 】

酸素が減少した状態である低酸素症は、肺に障害があったり、血流が減少すると起こる可能性がある。血流低下である虚血は、血塊 (血栓) によるまたは循環性の異物 (塞栓) による、あるいはアテローム性動脈硬化などの血管障害による動脈または静脈の閉塞によって引き起こされる可能性がある。血流低下は、突然発症して期間が短い場合があり (急性虚血)、あるいはゆるやかに発症して長期間続いたり頻繁に再発する場合がある (慢性虚血)。急性虚血は、局所的で不可逆の壊死 (梗塞) に関連している場合が多く、慢性虚血は通常、一過性低酸素性組織損傷に関連する。しかしながら、灌流低下が長期間であっ

10

20

30

40

50

たり重度である場合、慢性虚血が梗塞に関連する場合もある。梗塞は通常、脾臓、腎臓、肺、脳および心臓で起こり、腸梗塞、肺梗塞、虚血性脳脳梗塞および心筋梗塞などの障害を生じる。

【 0 0 0 8 】

虚血障害における病理学的変化は、虚血の期間および重度ならびに患者生存の長さによって決まる。最初の24時間では梗塞内に壊死を認めることができ、死んだ組織の領域内に移動する白血球によって、梗塞に隣接する生存組織において急性炎症応答が生じる。その後数日にわたり、食菌作用によって梗塞内の細胞が徐々に破壊および除去され、コラーゲン性もしくは神経膠性の瘢痕に置き換わる。

【 0 0 0 9 】

ある臓器における灌流低下または梗塞は、他の臓器に影響を与える場合が多い。例えば、肺塞栓症などによって生じる肺の虚血は、肺に影響を与えるだけでなく、心臓や脳などの他の臓器も低酸素ストレス下に置くものである。多くの場合、血栓症による冠動脈閉塞、動脈壁痙攣または心臓のウィルス感染が関与する心筋梗塞によって、鬱血性心不全および全身低血圧を生じる場合がある。灌流低下が継続して心停止が長期化すると、全体的虚血性脳症などの二次合併症が生じる場合がある。最も一般的にはアテローム性動脈硬化による血管閉塞によって生じる脳虚血は、重度において一過性虚血発作(TIA)から脳梗塞もしくは脳梗塞までの広範囲にわたる可能性がある。TIAの症状は一時的かつ可逆的であるが、TIAは再発する傾向があり、多くの場合、その後に脳梗塞を生じる。

【 0 0 1 0 】

閉塞性動脈疾患には、心筋梗塞に至る可能性がある冠動脈疾患ならびに腹部大動脈、その主要な枝および下肢の動脈に影響を与え得る末梢動脈疾患などがある。末梢動脈疾患には、バージャー病、レイノー病および先端チアノーゼなどがある。末梢動脈疾患はアテローム性動脈硬化によって生じるのが一般的であるが、他の主要な原因には、例えば糖尿病などがある。末梢動脈疾患に関連する合併症には、重度の下肢痙攣、狭心症、心臓リズム異常、心不全、心臓発作、脳梗塞および腎不全などがある。

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 1 1 】

虚血性および低酸素性障害は、死亡率(morbidity and mortality)の主要な原因となっている。心血管疾患は、毎年少なくとも1500万人の死因となっており、世界の死亡の30%の原因となっている。各種心血管疾患の中で、虚血性心疾患および脳血管疾患は約17%の死因となっている。毎年、非致死性急性心筋梗塞が130万例報告されており、有病率は10万人当たり約600人である。さらに、毎年推定500万人の米国人が静脈血栓を患っており、その患者のうちの約60万人において肺塞栓症が生じている。肺塞栓症の約1/3が致死性であり、それによって肺塞栓症は米国における最も一般的な死因の第3位となっている。

【 0 0 1 2 】

現在、虚血障害および低酸素障害の治療は、症状の緩和と原因となる障害の治療に重点が置かれている。例えば、心筋梗塞の治療には、ニトログリセリンおよび鎮痛剤による疼痛の抑制および心臓負担の軽減などがある。ジゴキシン、利尿剤、アムリノン、 β -遮断薬、脂質低下剤およびアンジオテンシン変換酵素阻害薬などの他の薬剤を用いてその状態を安定化させるが、これらの治療法で、虚血および低酸素症によって生じる組織損傷を直接扱うものはない。

【 0 0 1 3 】

現行の治療では不十分であることから、現在もなお、閉塞性動脈疾患、狭心症、腸梗塞、肺梗塞、脳虚血および心筋梗塞などの虚血および低酸素症が関与する状態の治療において有効な方法が必要とされている。さらに、例えばアテローム性動脈硬化、糖尿病および肺塞栓症などの肺障害によって生じる虚血が原因となる組織損傷の予防において有効な方法も必要とされている。要約すれば、当業界においては、HIFを安定化し、虚血および低

10

20

30

40

50

酸素症が関与する状態等のHIF関連の障害を治療および予防するのに用いることができる方法および化合物が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0014】

本明細書には、低酸素誘導性因子の サブユニット(HIF)を安定化させる方法が記載されている。その方法は、in vivoまたはin vitroで用いることができる。

【0015】

本発明は、低酸素誘導性因子(HIF)の サブユニットを安定化させる方法に関する。1実施形態において、HIFの サブユニット(HIF)の安定化方法は、HIF のヒドロキシル化を阻害する化合物を対象に投与することを含む。本発明のある種の実施形態において、前記HIF は、HIF-1、HIF-2、HIF-3 およびそれらの断片からなる群から選択される。さらに別の実施形態において前記方法は、2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素活性を阻害する化合物を対象に投与することを含む。各種実施形態において前記2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素は、EGLN1、EGLN2、EGLN3、プロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼ、プロコラーゲンプロリル3-ヒドロキシラーゼ、プロコラーゲンリシルヒドロキシラーゼ、PHD4、FIH-1およびそれらそれぞれのサブユニットまたは断片からなる群から選択される。

【0016】

特定の本発明によるHIF 安定化方法において、その方法は、HIFプロリルヒドロキシラーゼ酵素活性を阻害することを含む。さらに別の実施形態において前記HIFプロリルヒドロキシラーゼ酵素は、EGLN1、EGLN2、EGLN3およびそれらそれぞれのサブユニットまたは断片からなる群から選択される。

【0017】

1態様において本発明は、内因性HIF の安定化方法を提供する。そこで特定の実施形態において、HIF は対象にとって内因性である。本発明の実施形態には、HIF を安定化させる化合物をin vivoで対象に投与するHIF の安定化方法などがある。対象は例えば、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトであることができる。ex vivo投与の方法も想到される。そのような方法では、対象は例えば、細胞、組織または臓器などであることができる。ある種の実施形態では前記対象は、腎臓系、心臓系、肝臓系、肺系、造血系、消化管系、神経系または筋骨格系などの系に由来する細胞、組織または臓器である。

【0018】

HIF関連状態を治療、予防または前治療する方法も提供される。詳細には本発明は、HIF関連状態を治療、予防または前治療する方法であって、HIF を安定化させることを含む方法を提供する。具体的な態様において本発明は、対象におけるHIF関連状態を治療、予防または前治療/プレコンディショニングする方法であって、HIF を安定化させることを含む方法を提供する。各種態様において前記HIF関連状態は、虚血または低酸素症に関連するものである。好ましい態様において前記方法は、HIF を安定化させる化合物を対象に投与することを含む。

【0019】

各種実施形態において前記化合物は、複素環カルボキサミド類、フェナントロリン類、ヒドロキサメート類およびそれらから誘導される生理活性塩およびプロドラッグからなる群から選択される。特定の実施形態では前記化合物は、ピリジンカルボキサミド類、キノリンカルボキサミド類、イソキノリンカルボキサミド類、シンノリンカルボキサミド類および -カルボリンカルボキサミド類からなる群から選択される複素環カルボキサミドである。本発明の好ましい実施形態において前記化合物は、経口製剤で投与される。別の好ましい実施形態において前記化合物は、経皮製剤で投与される。

【0020】

ある本発明によるHIF 安定化方法では前記化合物は、HIF における少なくとも1個のアミノ酸残基のヒドロキシル化を特異的に阻害することでHIF を安定化する。さらに別の態様において前記アミノ酸残基は、プロリンおよびアスパラギンからなる群から選択さ

10

20

30

40

50

れる。

【 0 0 2 1 】

対象におけるHIF関連状態の治療、予防または前治療方法であって、2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素活性を阻害することを含む方法も提供され、それには前記HIF関連状態が虚血または低酸素症に関連するものである方法が含まれる。1態様において本発明は、HIF関連状態の治療、予防または前治療方法であって、2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素活性を阻害する化合物を対象に投与することを含む方法を提供する。

【 0 0 2 2 】

ある好ましい実施形態において本発明は、対象におけるHIF関連状態の治療、予防または前治療方法であって、HIFプロリルヒドロキシラーゼ酵素活性を阻害することを含む方法を提供する。やはり、HIF関連状態には虚血または低酸素症に関連するものなどがある。特定の実施形態において前記方法は、HIFプロリルヒドロキシラーゼ活性を阻害する化合物を対象に投与することを含む。

10

【 0 0 2 3 】

さらに別の実施形態において前記方法はさらに、第2の化合物を投与することを含む。特定の実施形態において、前記第2の化合物は2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素活性を阻害するか、あるいは前記化合物と前記第2の化合物が異なる2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素の活性を阻害するか、あるいは前記第2の化合物がACE阻害薬（ACE I）、アンジオテンシン-II受容体遮断薬（ARB）、利尿薬、ジゴキシン、スタチンまたはカルニチンなどからなる群から選択される。

20

【 0 0 2 4 】

具体的な実施形態においてHIF関連状態には、肺塞栓症などの肺障害、心筋梗塞、鬱血性心不全などの心臓障害、神経障害等の障害などがある。そこで本発明は明瞭に、急性もしくはは一過性あるいは慢性であるかを問わずあらゆる虚血事象に関連するHIF関連状態の治療、予防または前治療/プレコンディショニングに利用可能な方法を検討するものである。急性虚血事象には、手術、臓器移植、梗塞（例：脳、腸、心筋、肺など）、外傷、傷害または損傷などに関連するものなどがあり得る。虚血に関連する慢性事象には、高血圧、糖尿病、閉塞性動脈疾患、慢性静脈不全、レイノー病、肝硬変、鬱血性心不全、全身性硬化症などがあり得る。

【 0 0 2 5 】

具体的には、プレコンディショニングまたは前治療方法が検討される。1実施形態において本発明は、前治療またはプレコンディショニング方法であって、虚血などのHIF関連状態に関連する事象が起こる前に、あるいはHIF関連状態が生じる前にHIF を安定化させる方法を提供する。虚血は、急性事象によって誘発され得る。そのような事象には例えば、血管形成術、臓器移植などの手術ならびに麻酔剤投与などの関連する手技などがあり得る。さらに、慢性事象の具体的な実施形態である前記前治療またはプレコンディショニング方法は、それぞれ脳梗塞および心筋梗塞を示す一過性虚血発作もしくは狭心症などのHIF関連状態の発症を予測させる障害を対象が有する状況で用いて、HIF関連状態の発症を予防するか、その発症程度を軽減する。特定の実施形態では、HIF を安定化させる化合物を対象に投与して、例えばEPOなどの虚血のプレコンディショニング因子を増加させる。

30

40

【 0 0 2 6 】

各種HIF関連因子の発現を増加させる方法が、本発明においては具体的に想到される。1態様において本発明は、対象における血管由来因子の発現増加方法であって、HIF を安定化させることを含む方法を提供する。別の態様において本発明は、対象における糖分解因子の発現増加方法であって、HIF を安定化させることを含む方法を提供する。別の態様において本発明は、対象における酸化ストレス関連因子の発現増加方法であって、HIF を安定化させることを含む方法を提供する。虚血性再灌流損傷に関連する障害を有する対象を治療する方法であって、HIF を安定化させることを含む方法も検討される。

【 0 0 2 7 】

HIF を安定化させる化合物の確認方法も、本発明においては提供される。例えば本発

50

明は、HIF を安定化させる化合物の確認方法であって、(a)被験化合物を対象もしくは対象からのサンプルに投与すること；(b)前記対象もしくは前記サンプルにおけるHIF レベルを測定すること；ならびに(c)前記対象または前記サンプルにおけるHIF レベルを標準レベルと比較することを有し；前記対象または前記サンプルにおけるHIF レベル上昇がHIF を安定化する化合物であることを示す方法を提供する。

【0028】

別の態様では、本発明の方法を用いて、虚血障害および低酸素症障害など（これらに限定されるものではない）のHIF関連障害によって生じる組織損傷を予防する。1実施形態では、高血圧、糖尿病、閉塞性動脈疾患、慢性静脈不全、レイノー病、肝硬変、鬱血性心不全および全身性硬化症などの素因状態に関して、治療が示唆される。

10

【0029】

さらに別の態様では、本発明の方法を、虚血性障害および低酸素症障害などの（これらに限定されるものではない）HIF関連障害によって生じる組織損傷を軽減または予防するための前治療として用いることができる。1実施形態において、前治療の必要性は、患者における心筋梗塞もしくは一過性虚血発作などの虚血状態の再発歴あるいは狭心症などの切迫性虚血の症状に基づいたものである。別の実施形態では、前治療の必要性は、例えば全身麻酔を受けた個体もしくは一時的に高地で作業を行う個体の場合のような、虚血または低酸素症の可能性または見込みを示唆する物理的パラメータに基づいたものである。さらに別の実施形態では、前記方法を臓器移植の理由で用いて、臓器提供者の前処置を行い、被移植者における移植の前に提供者身体から摘出された臓器を維持することができる。

20

【0030】

別の態様において本発明は、HIF を安定化させる化合物ならびに上記のものなどのHIF関連状態を予防、前治療もしくは治療する上での前記化合物の使用方法を提供する。1実施形態では、治療上有効量の前記化合物またはその製薬上許容される塩を単独でまたは製薬上許容される賦形剤と組み合わせて、HIF関連状態を有する対象に投与する。ある具体的な実施形態において前記化合物は、急性虚血障害の診断直後に投与される。別の具体的な実施形態において前記化合物は、慢性虚血状態の経過中に対象に投与される。さらに別の具体的な実施形態では前記虚血は、一過性もしくは急性の外傷、傷害または脊髄損傷などの損傷によるものである。ある具体的な実施形態では前記化合物は、COPDなどの肺障害の診断後に必要とする患者に投与される。

30

【0031】

1態様において前記化合物は、慢性状態などの素因状態に基づいて投与することができるか、あるいはHIF関連障害によって生じる組織損傷を軽減または予防するための前治療として投与することができる。ある具体的な態様では、前記化合物を、心筋梗塞もしくは一過性虚血発作などの虚血状態の再発歴を有するか、あるいは狭心症などの切迫性虚血の症状を有する対象に投与する。別の具体的な実施形態では前記化合物は、例えば全身麻酔を受けた個体もしくは一時的に高地で作業を行う個体の場合のような、虚血または低酸素症の可能性を示唆する物理的パラメータに基づいて投与される。さらに別の実施形態において前記化合物は、臓器移植の文脈で用いて、臓器提供者の前処置を行い、被移植者における移植の前に提供者身体から摘出された臓器を維持することができる。

40

【0032】

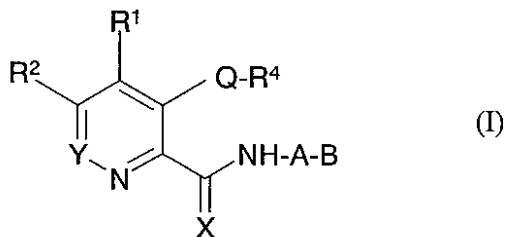
1態様において本発明の化合物は、タンパク質におけるアミノ酸残基のヒドロキシル化を特異的に阻害することでHIF を安定化させる。1実施形態において前記薬剤は、HIFプロリン残基のヒドロキシル化を阻害する。ある具体的な実施形態において前記薬剤は、HIF-1 P₅₆₄残基または別のHIF イソ型における同族体プロリンのヒドロキシル化を阻害する。別の具体的な実施形態において前記薬剤は、HIF-1 P₄₀₂残基または別のHIF イソ型における同族体プロリンのヒドロキシル化を阻害する。さらに別の実施形態において前記化合物はさらに、HIF アスパラギン残基のヒドロキシル化を阻害することができる。ある具体的な実施形態では前記薬剤は、HIF-1 N₈₀₃残基または別のHIF イソ型における同族体アスパラギン残基のヒドロキシル化を阻害する。

50

【 0 0 3 3 】

ある種の実施形態において、本発明の方法で使用される化合物は、下記式 (I) の化合物から選択され、その生理活性な塩およびプロドラッグも含まれる。

【 化 1 】



10

式中、

A は、1,2-アリーリデン、1,3-アリーリデン、1,4-アリーリデンであるか；あるいは 1 個もしくは 2 個のハロゲン、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -ヒドロキシアルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 $-O-[CH_2]_x-C_fH_{(2f+1-g)}Hal_g$ 、 (C_1-C_6) -フルオロアルコキシ、 (C_1-C_8) -フルオロアルケニルオキシ、 (C_1-C_8) -フルオロアルキニルオキシ、 $-OCF_2Cl$ 、 $-O-CF_2-CHFCl$ ； (C_1-C_6) -アルキルメルカプト、 (C_1-C_6) -アルキルスルフィニル、 (C_1-C_6) -アルキルスルホニル、 (C_1-C_6) -アルキルカルボニル、 (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、カルバモイル、 $N-(C_1-C_4)$ -アルキルカルバモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_4) -アルキルカルバモイル、 (C_1-C_6) -アルキルカルボニルオキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキル、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ベンジルオキシ、アニリノ、 N -メチルアニリノ、フェニルメルカプト、フェニルスルホニル、フェニルスルフィニル、スルファモイル、 $N-(C_1-C_4)$ -アルキルスルファモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_4) -アルキルスルファモイル；またはアリール部分にハロゲン、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 $-O-[CH_2]_x-C_fH_{(2f+1-g)}Hal_g$ 、 $-OCF_2Cl$ 、 $-O-CF_2-CHFCl$ 、 (C_1-C_6) -アルキルメルカプト、 (C_1-C_6) -アルキルスルフィニル、 (C_1-C_6) -アルキルスルホニル、 (C_1-C_6) -アルキルカルボニル、 (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、カルバモイル、 $N-(C_1-C_4)$ -アルキルカルバモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_4) -アルキルカルバモイル、 (C_1-C_6) -アルキルカルボニルオキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキル、スルファモイル、 $N-(C_1-C_4)$ -アルキルスルファモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_4) -アルキルスルファモイルから選択される 1 ~ 5 個の同一または異なる置換基を有する置換 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ、 (C_7-C_{11}) -アラルキルオキシ、 (C_6-C_{12}) -アリール、 (C_7-C_{11}) -アラルキル基によって置換されていても良い (C_1-C_4) -アルキレンであり；あるいは A は $-CR^5R^6$ であり、 R^5 および R^6 はそれぞれ独立に、水素、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_3-C_7) -シクロアルキル、アリール、または -アミノ酸の -炭素原子の置換基から選択され、前記アミノ酸は天然 L-アミノ酸もしくはその D-異性体であり；

20

30

B は、 $-CO_2H$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHSO_2CF_3$ 、テトラゾリル、イミダゾリル、3-ヒドロキシイソオキサゾリル、 $-CONHCOR$ 、 $-CONHSOR$ 、 $CONHSO_2R$ であり、R は、アリール、ヘテロアリール、 (C_3-C_7) -シクロアルキルであるか、または (C_6-C_{12}) -アリール、ヘテロアリール、OH、SH、 (C_1-C_4) -アルキル、 (C_1-C_4) -アルコキシ、 (C_1-C_4) -チオアルキル、 (C_1-C_4) -スルフィニル、 (C_1-C_4) -スルホニル、 CF_3 、Cl、Br、F、I、 NO_2 、 $-COOH$ 、 (C_2-C_5) -アルコキシカルボニル、 NH_2 、モノ- (C_1-C_4) -アルキル)-アミノ、ジ- (C_1-C_4) -アルキル)-アミノもしくは (C_1-C_4) -パーフルオロアルキルによってモノ置換されていても良い (C_1-C_4) -アルキルであり；あるいは B は、 CO_2-G カルボキシル基であり、G はアルコール $G-OH$ の基であって、G は (C_1-C_{20}) -アルキル基、 (C_3-C_8) -シクロアルキル基、 (C_2-C_{20}) -アルケニル基、 (C_3-C_8) -シクロアルケニル基、レチニル基、 (C_2-C_{20}) -アルキニル基、 (C_4-C_{20}) -アルケニル基（前記アルケニル、シクロアルケニル、アルキニルおよびアルケニル基は、1 以上の多重結合を有する）； (C_6-C_{16}) -炭素環アリール基、 (C_7-C_{16}) -炭素環アラルキル基、ヘテロアリール基もしくはヘテロアラルキル基（ヘテロアリール基もしくはヘテロアラルキル基のヘテロアリール部分は 5 個もしくは

40

50

は6個の環原子を有する)から選択され; Gについて定義した基は、1以上のヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、ニトロ、カルボキシル、(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキル、(C₅-C₈)-シクロアルケニル、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₆)-アラルキル、(C₂-C₁₂)-アルケニル、(C₂-C₁₂)-アルキニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ、(C₁-C₈)-ヒドロキシアルキル、-O-[CH₂]_x-C_fH_(2f+1-g)-F_g、-OCF₂Cl、-OCF₂-CHFCl、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニル、シンナモイル、(C₂-C₁₂)-アルケニルカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルキニルカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラルコキシカルボニル、(C₃-C₈)-シクロアルコキシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルケニルオキシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルキニルオキシカルボニル、アシルオキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシカルボニルオキシ、(C₃-C₈)-シクロアルコキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルケニルオキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N,N-ジ(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N-(C₃-C₈)-シクロアルキル-カルバモイル、N-(C₆-C₁₆)-アリールカルバモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₆)-アリールカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₆)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、アミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ、(C₂-C₁₂)-アルケニルアミノ、(C₂-C₁₂)-アルキニルアミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールアミノ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルアミノ、N-アルキル-アラルキルアミノ、N-アルキル-アリールアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルアミノ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルアミノ、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₂)-アラルキルカルボニルアミノ(C₁-C₈)-アルキル、アミノ-(C₁-C₁₀)-アル

10

20

30

40

50

キル、N-(C₁-C₁₀) アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ-(C₁-C₁₀)-アルキル
 アミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈) シクロアルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、
 (C₁-C₁₂)-アルキルメルカプト、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₁₂)-アル
 キルスルホニル、(C₆-C₁₆)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₆)-アリールスルフィニル、
 (C₆-C₁₂)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラ
 ルキルスルフィニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニル、スルファモイル、N-(C₁-C₁₀)
 -アルキルスルファモイル、N,N-ジ(C₁-C₁₀)-アルキルスルファモイル、(C₃-C₈)-シ
 クロアルキルスルファモイル、N-(C₆-C₁₂)-アルキルスルファモイル、N-(C₇-C₁₆)-ア
 ラルキルスルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールスルファモイ
 ル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルファモイル、(C₁-C₁₀)-アル
 キルスルホンアミド、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-(C₁-C₁₀)-アルキルスルホンアミド
 、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホンアミドまたはN-(C₁-C₁₀)-アルキル-(C₇-C₁₆)-ア
 ラルキルスルホンアミドによって置換されており；アリールであるかアリール部分を有す
 る基は、1～5個の同一または異なるヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメ
 チル、ニトロ、カルボキシル、(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキル、(C₆-
 C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₆)-アラルキル、(C₁-C₁₂
)-アルコキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂) アルキル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-
 (C₁-C₁₂) アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ、(C
₁-C₈)-ヒドロキシアルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル、(C₃-C₈)-シクロアルキ
 ル-カルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル、(C₇-C₁₆) アラルキルカルボニル、
 (C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボ
 ニル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラルコキシカルボニル、
 (C₃-C₈)-シクロアルコキシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルケニルオキシカルボニル、(C₂-
 C₁₂)-アルキニルオキシカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルオキシ、(C₃-C₈)
 -シクロアルキルカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆)
 -アラルキルカルボニルオキシ、シンナモイルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルケニルカルボニル
 オキシ、(C₂-C₁₂)-アルキニルカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニルオ
 キシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂)-ア
 リールオキシカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシカルボニルオキシ、(C₃-
 C₈)-シクロアルコキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルケニルオキシカルボニルオキ
 シ、(C₂-C₁₂)-アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₁₂)-アル
 キルカルバモイル、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N-(C₃-C₈)-シクロアル
 キルカルバモイル、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカル
 バモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-
 アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)
 -アルキル)-カルバモイル、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-
 カルバモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイ
 ル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモ
 イル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-
 カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-
 アルキル)-カルバモイル、カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオ
 キシ、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカ
 ルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキ
 ルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオ
 キシ、N(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C
₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-ア
 ルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル
)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)
 -アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリール
 オキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-

10

20

30

40

50

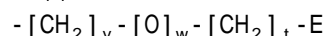
C_{16})-アラルキルオキシ-(C_1-C_{10})-アルキル)-カルバモイルオキシ、アミノ、(C_1-C_{12})-アルキルアミノ、ジ-(C_1-C_{12})-アルキルアミノ、(C_3-C_8)-シクロアルキルアミノ、(C_3-C_{12})-アルケニルアミノ、(C_3-C_{12})-アルキニルアミノ、N-(C_6-C_{12})-アリーールアミノ、N-(C_7-C_{11})-アラルキルアミノ、N-アルキルアラルキルアミノ、N-アルキルアリーールアミノ、(C_1-C_{12})-アルコキシアミノ、(C_1-C_{12})-アルコキシ-N-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ、(C_1-C_{12})-アルキルカルボニルアミノ、(C_3-C_8)-シクロアルキルカルボニルアミノ、(C_6-C_{12})-アリーールカルボニルアミノ、(C_7-C_{16})-アルキルカルボニルアミノ、(C_1-C_{12})-アルキルカルボニル-N-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ、(C_3-C_8)-シクロアルキルカルボニル-N-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ、(C_6-C_{12})-アリーールカルボニル-N-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ、(C_7-C_{11})-アラルキルカルボニル-N-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ、(C_1-C_{12})-アルキルカルボニルアミノ-(C_1-C_8)-アルキル、(C_3-C_8)-シクロアルキルカルボニルアミノ-(C_1-C_8)-アルキル、(C_6-C_{12})-アリーールカルボニルアミノ-(C_1-C_8)-アルキル、(C_7-C_{16})-アラルキルカルボニルアミノ-(C_1-C_8)-アルキル、アミノ-(C_1-C_{10})-アルキル、N-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ-(C_1-C_{10})-アルキル、N,N-ジ-(C_1-C_{10})-アルキルアミノ-(C_1-C_{10})-アルキル、(C_3-C_8)-シクロアルキルアミノ-(C_1-C_{10})-アルキル、(C_1-C_{12})-アルキルメルカプト、(C_1-C_{12})-アルキルスルフィニル、(C_1-C_{12})-アルキルスルホニル、(C_6-C_{12})-アリーールメルカプト、(C_6-C_{12})-アリーールスルフィニル、(C_6-C_{12})-アリーールスルホニル、(C_7-C_{16})-アラルキルメルカプト、(C_7-C_{16})-アラルキルスルフィニルまたは(C_7-C_{16})-アラルキルスルホニルによって前記アリーール上で置換されていても良く；

Xは、OまたはSであり；

Qは、O、S、NR または結合であり；

Qが結合である場合、 R^4 はハロゲン、ニトリルまたはトリフルオロメチルであり；

あるいはQがO、SまたはNR である場合、 R^4 は水素、(C_1-C_{10})-アルキル基、(C_2-C_{10})-アルケニル基、(C_2-C_{10})-アルキニル基（アルケニル基もしくはアルキニル基は1個もしくは2個のC-C多重結合を有する）；式- $[CH_2]_x-C_fH_{(2f+1-g)}-F_g$ の未置換フルオロアルキル基、(C_1-C_8)-アルコキシ-(C_1-C_6)-アルキル基、(C_1-C_6)-アルコキシ-(C_1-C_4)-アルコキシ-(C_1-C_4)-アルキル基、アリーール基、ヘテロアリーール基、(C_7-C_{11})-アラルキル基または下記式Zの基：



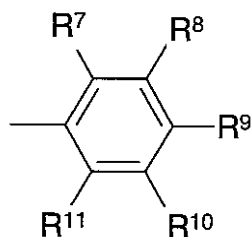
(Z)

であり、

上記式において、

Eはヘテロアリーール基、(C_3-C_8)-シクロアルキル基または下記式Fのフェニル基であり；

【化2】



(F)

【0034】

vは0～6であり；

wは0または1であり；

tは0～3であり；

R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は同一または異なり、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、(C_1-C_6)-アルキル、(C_3-C_8)-シクロアルキル、(C_1-C_6)-

アルコキシ、 $-O-[CH_2]_x-C_fH_{(2f+1-g)}-F_g$ 、 $-OCF_2-Cl$ 、 $-O-CF_2-CHFCI$ 、 (C_1-C_6) -アルキルメルカプト、 (C_1-C_6) -ヒドロキシアリール、 (C_1-C_6) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルキルスルフィニル、 (C_1-C_6) -アルキルスルホニル、 (C_1-C_6) -アルキルカルボニル、 (C_1-C_8) -アルコキシカルボニル、カルバモイル、 $N-(C_1-C_8)$ -アルキルカルバモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_8) -アルキルカルバモイルまたは (C_7-C_{11}) -アラルキルカルバモイルであり、フッ素、塩素、臭素、トリフルオロメチル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 $N-(C_3-C_8)$ -シクロアルキルカルバモイル、 $N-(C_3-C_8)$ -シクロアルキル- (C_1-C_4) -アルキルカルバモイル、 (C_1-C_6) -アルキルカルボニルオキシ、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ベンジルオキシ、 NR^YR^Z [R^Y および R^Z は独立に、水素、 (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_7-C_{12}) -アラルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_3-C_{10}) -シクロアルキル、 (C_3-C_{12}) -アルケニル、 (C_3-C_{12}) -アルキニル、 (C_6-C_{12}) -アリール、 (C_7-C_{11}) -アラルキル、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ、 (C_7-C_{12}) -アラルコキシ、 (C_1-C_{12}) -アルキルカルボニル、 (C_3-C_8) -シクロアルキルカルボニル、 (C_6-C_{12}) -アリールカルボニル、 (C_7-C_{16}) -アラルキルカルボニル；あるいはさらに、 R^Y と R^Z が一体となって $-[CH_2]_h(CH_2$ 基は O 、 S 、 $N-(C_1-C_4)$ -アルキルカルボニルイミノもしくは $N-(C_1-C_4)$ -アルコキシカルボニルイミノによって置き換わっていても良い)；フェニルメルカプト、フェニルスルホニル、フェニルスルフィニル、スルファモイル、 $N-(C_1-C_8)$ -アルキルスルファモイルまたは N,N -ジ- (C_1-C_8) -アルキルスルファモイルによって置換されていてもよい；あるいは R^7 と R^8 、 R^8 と R^9 、 R^9 と R^{10} 、あるいは R^{10} と R^{11} が一体となって、 $-[CH_2]_n$ -もしくは $-CH=CH-CH=CH-$ から選択される鎖であり、その鎖の CH_2 基は O 、 S 、 SO 、 SO_2 または NR^Y によって置き換わっていてもよい； n は3、4または5であり； E がヘテロアリール基である場合、前記基は $R^7 \sim R^{11}$ について定義したものから選択される1～3個の置換基を有することができ、あるいは E がシクロアルキル基である場合、その基は $R^7 \sim R^{11}$ について定義したものから選択される1個の置換基を有していても良く；

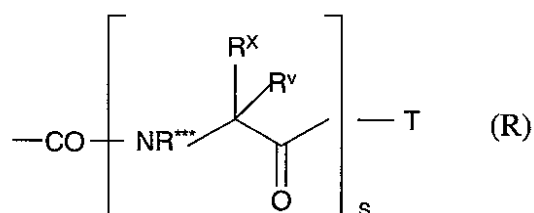
あるいは Q が NR である場合、 R^4 は別形態で R であり、 R および R は同一であるか異なっており、水素、 (C_6-C_{12}) -アリール、 (C_7-C_{11}) -アラルキル、 (C_1-C_8) -アルキル、 (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_7-C_{12}) -アラルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_1-C_{10}) -アルキルカルボニル、置換されていてもよい (C_7-C_{16}) -アラルキルカルボニルまたは置換されていてもよい (C_6-C_{12}) -アリールカルボニルであり；あるいは R と R が一体となって $-[CH_2]_h$ であり、 CH_2 基は O 、 S 、 N -アシルイミノまたは $N-(C_1-C_{10})$ -アルコキシカルボニルイミノによって置き換わっていても良く、 h は3～7であり；

Y は N または CR^3 であり；

R^1 、 R^2 および R^3 は同一であるか異なっており、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、ニトロ、カルボキシル、 (C_1-C_{20}) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_8) -アルキル- (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ、 (C_6-C_{12}) -アリール、 (C_7-C_{16}) -アラルキル、 (C_7-C_{16}) -アラルケニル、 (C_7-C_{16}) -アラルキニル、 (C_2-C_{20}) -アルケニル、 (C_2-C_{20}) -アルキニル、 (C_1-C_{20}) -アルコキシ、 (C_2-C_{20}) -アルケニルオキシ、 (C_2-C_{20}) -アルキニルオキシ、レチニルオキシ、 (C_1-C_{20}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ、 (C_7-C_{16}) -アラルキルオキシ、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_7-C_{16}) -アラルコキシ- (C_1-C_6)

) -アルコキシ、(C₁-C₁₆) -ヒドロキシアルキル、(C₆-C₁₆) -アリールオキシ-(C₁-C₈)
) -アルキル、(C₇-C₁₆) -アラルコキシ-(C₁-C₈) -アルキル、(C₆-C₁₂) -アリールオキ
 シ-(C₁-C₈) -アルコキシ-(C₁-C₆) -アルキル、(C₇-C₁₂) -アラルキルオキシ-(C₁-C₈)
) -アルコキシ-(C₁-C₆) -アルキル、(C₂-C₂₀) -アルケニルオキシ-(C₁-C₆) -アルキル
 、(C₂-C₂₀) -アルキニルオキシ-(C₁-C₆) -アルキル、レチニルオキシ-(C₁-C₆) -アル
 キル、-O-[CH₂]_xCfH_(2f+1-g)F_g、-OCF₂Cl、-OCF₂-CHFCl、(C₁-C₂₀) -アルキルカル
 ボニル、(C₃-C₈) -シクロアルキルカルボニル、(C₆-C₁₂) -アリールカルボニル、(C₇-
 C₁₆) -アラルキルカルボニル、シンナモイル、(C₂-C₂₀) -アルケニルカルボニル、(C₂-
 C₂₀) -アルキニルカルボニル、(C₁-C₂₀) -アルコキシカルボニル、(C₁-C₁₂) -アルコキ
 シ-(C₁-C₁₂) -アルコキシカルボニル、(C₆-C₁₂) -アリールオキシカルボニル、(C₇-C<sub>1
 6</sub>) -アラルコキシカルボニル、(C₃-C₈) -シクロアルコキシカルボニル、(C₂-C₂₀) -アル
 ケニルオキシカルボニル、レチニルオキシカルボニル、(C₂-C₂₀) -アルキニルオキシ
 カルボニル、(C₆-C₁₂) -アリールオキシ-(C₁-C₆) -アルコキシカルボニル、(C₇-C₁₆)
 -アラルコキシ-(C₁-C₆) -アルコキシカルボニル、(C₃-C₈) -シクロアルキル-(C₁-C₆)
 -アルコキシカルボニル、(C₃-C₈) -シクロアルコキシ-(C₁-C₆) -アルコキシカルボニル
 、(C₁-C₁₂) -アルキルカルボニルオキシ、(C₃-C₈) -シクロアルキルカルボニルオキシ
 、(C₆-C₁₂) -アリールカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆) -アラルキルカルボニルオキシ、シ
 ンナモイルオキシ、(C₂-C₁₂) -アルケニルカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂) -アルキニルカル
 ボニルオキシ、(C₁-C₁₂) -アルコキシカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂) -アルコキシ-(C
 1-C₁₂) -アルコキシカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂) -アリールオキシカルボニルオキシ、
 (C₇-C₁₆) -アラルキルオキシカルボニルオキシ、(C₃-C₈) -シクロアルコキシカルボニ
 ルオキシ、(C₂-C₁₂) -アルケニルオキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂) -アルキニルオキ
 シカルボニルオキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₁₂) -アルキルカルバモイル、N,N-ジ-(C<sub>1
 -C₁₂) -アルキルカルバモイル、N-(C₃-C₈) -シクロアルキルカルバモイル、N,N-ジシク
 ロ-(C₃-C₈) -アルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀) -アルキル-N-(C₃-C₈) -シクロアル
 キルカルバモイル、N-(C₃-C₈) -シクロアルキル-(C₁-C₆) -アルキル)-カルバモイル
 、N-(C₁-C₆) -アルキル-N-(C₃-C₈) -シクロアルキル-(C₁-C₆) -アルキル)-カルバ
 モイル、N-(+) -デヒドロアビエチルカルバモイル、N-(C₁-C₆) -アルキル-N-(+) -デ
 ヒドロアビエチルカルバモイル、N-(C₆-C₁₂) -アリールカルバモイル、N-(C₇-C₁₆) -ア
 ラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀) -アルキル-N-(C₆-C₁₆) -アリールカルバモイル、N
 -(C₁-C₁₀) -アルキル-N-(C₇-C₁₆) -アラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₈) -アルコ
 キシ-(C₁-C₁₀) -アルキル)-カルバモイル、N-(C₆-C₁₆) -アリールオキシ-(C₁-C₁₀)
) -アルキル)-カルバモイル、N-(C₇-C₁₆) -アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀) -アルキル
) -カルバモイル、N-(C₁-C₁₀) -アルキル-N-(C₁-C₁₀) -アルコキシ-(C₁-C₁₀) -アル
 キル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀) -アルキル-N-(C₆-C₁₂) -アリールオキシ-(C₁-C<sub>1
 0</sub>) -アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀) -アルキル-N-(C₇-C₁₆) -アラルキルオキ
 シ-(C₁-C₁₀) -アルキル)-カルバモイル；CON(CH₂)_h [CH₂基はO、S、N-(C₁-C₈) -アル
 キルイミノ、N-(C₃-C₈) -シクロアルキルイミノ、N-(C₃-C₈) -シクロアルキル-(C₁-
 C₄) -アルキルイミノ、N-(C₆-C₁₂) -アリールイミノ、N-(C₇-C₁₆) -アラルキルイミノ
 、N-(C₁-C₄) -アルコキシ-(C₁-C₆) -アルキルイミノによって置き換わっていても良く
 、hは3～7である]；下記式Rのカルバモイル基：</sub>

【化3】



10

20

30

40

[式中、

R^{*}およびR^vはそれぞれ独立に、水素、(C₁-C₆)-アルキル、(C₃-C₇)-シクロアルキル、アリールまたはL-およびD-アミノ酸が属する -アミノ酸の -炭素の置換基から選択され、

s は 1 ~ 5 であり、

T は、OHまたはNR^{*}R^{**}であり、R^{*}、R^{**}およびR^{***}は同一であるか異なっており、水素、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₁)-アラルキル、(C₁-C₈)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキル、(+)-デヒドロアビエチル、(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₂)-アラルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₁-C₁₀)-アルカノイル、置換されていても良い(C₇-C₁₆)-アラルカノイル、置換されていても良い(C₆-C₁₂)-アロイルから選択され；あるいはR^{*}とR^{**}が一体となって-[CH₂]_hであり、CH₂基はO、S、SO、SO₂、N-アシルアミノ、N-(C₁-C₁₀)-アルコキシカルボニルイミノ、N-(C₁-C₈)-アルキルイミノ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルイミノ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキル-(C₁-C₄)-アルキルイミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールイミノ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルイミノ、N-(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₁-C₆)-アルキルイミノによって置き換わっていても良く、hは3~7である]；

カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ、(C₃-C₁₂)-アルケニルアミノ、(C₃-C₁₂)-アルキニルアミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールアミノ、N-(C₇-C₁₁)-アラルキルアミノ、N-アルキル-アラルキルアミノ、N-アルキル-アリールアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルカノイルアミノ、(C₆-C₁₂)-アロイルアミノ、(C₇-C₁₆)-アラルカノイルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₆-C₁₂)-アロイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₇-C₁₁)-アラルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アロイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、アミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₁-C₂₀)-アルキルメルカプト、(C₁-C₂₀)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₂₀)-アルキルスルホニル、(C₆-C₁₂)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₂)-アリールスルフィニル、(C₆-C₁₂)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニル、(C₁-C₁₂)-アルキルメルカプト-(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルホニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールメルカプト-(C₁-C₆)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールスルフィニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールスルホニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト-(C₁-C₆)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニル-(C₁-C₆)-アルキル、スルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルスルフ

10

20

30

40

50

アモイル、N,N-ジ- (C_1-C_{10}) -アルキルスルファモイル、 (C_3-C_8) -シクロアルキルスル
 ファモイル、N- (C_6-C_{12}) -アリールスルファモイル、N- (C_7-C_{16}) -アラルキルスルファ
 モイル、N- (C_1-C_{10}) -アルキル-N- (C_6-C_{12}) -アリールスルファモイル、N- (C_1-C_{10}) -
 アルキル-N- (C_7-C_{16}) -アラルキルスルファモイル、 (C_1-C_{10}) -アルキルスルホンアミ
 ド、N- (C_1-C_{10}) -アルキル- (C_1-C_{10}) -アルキルスルホンアミド、 (C_7-C_{16}) -アラ
 ルキルスルホンアミドおよびN- (C_1-C_{10}) -アルキル- (C_7-C_{16}) -アラルキルスルホン
 アミドであり；アリール基は、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、
 ニトロ、カルボキシル、 (C_2-C_{16}) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルキル、 (C_3-C_8) -
 シクロアルキル- (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロ
 アルキル- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_{12}) -アルキ
 ル、 (C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキ
 ル- (C_1-C_8) -アルキル- (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルキル (C_1-C_8) -ア
 ルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ
 - (C_1-C_6) -アルキル、 (C_3-C_8) -シクロアルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -
 アルコキシ、 (C_6-C_{12}) -アリール、 (C_7-C_{16}) -アラルキル、 (C_2-C_{16}) -アルケニル、
 (C_2-C_{12}) -アルキニル、 (C_1-C_{16}) -アルコキシ、 (C_1-C_{16}) -アルケニルオキシ、 $(C_1$ -
 $C_{12})$ -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキ
 シ、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_6-C_{12}) -ア
 リールオキシ、 (C_7-C_{16}) -アラルキルオキシ、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_6) -
 アルコキシ、 (C_7-C_{16}) -アラルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_8) -ヒドロキシアル
 キル、 (C_6-C_{16}) -アリールオキシ- (C_1-C_8) -アルキル、 (C_7-C_{16}) -アラルコキシ- $($
 $C_1-C_8)$ -アルキル、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アル
 キル、 (C_7-C_{12}) -アラルキルオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、-O-
 $[CH_2]_x C_f H_{(2f+1-g)} F_g$ 、-OCF₂Cl、-OCF₂-CHFCl、 (C_1-C_{12}) -アルキルカルボニル、 $(C_3$ -
 $C_8)$ -シクロアルキルカルボニル、 (C_6-C_{12}) -アリールカルボニル、 (C_7-C_{16}) -アラル
 キルカルボニル、 (C_1-C_{12}) -アルコキシカルボニル、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12})
 $)$ -アルコキシカルボニル、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシカルボニル、 (C_7-C_{16}) -アラル
 コキシカルボニル、 (C_3-C_8) -シクロアルコキシカルボニル、 (C_2-C_{12}) -アルケニルオ
 キシカルボニル、 (C_2-C_{12}) -アルキニルオキシカルボニル、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシ
 - (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、 (C_7-C_{16}) -アラルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシカル
 ボニル、 (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、 (C_3-C_8) -シ
 クロアルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、 (C_1-C_{12}) -アルキルカルボニルオキ
 シ、 (C_3-C_8) -シクロアルキルカルボニルオキシ、 (C_6-C_{12}) -アリールカルボニルオキ
 シ、 (C_7-C_{16}) -アラルキルカルボニルオキシ、シンナモイルオキシ、 (C_2-C_{12}) -アルケ
 ニルカルボニルオキシ、 (C_2-C_{12}) -アルキニルカルボニルオキシ、 (C_1-C_{12}) -アルコキ
 シカルボニルオキシ、 (C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシカルボニルオキシ
 、 (C_6-C_{12}) -アリールオキシカルボニルオキシ、 (C_7-C_{16}) -アラルキルオキシカルボ
 ニルオキシ、 (C_3-C_8) -シクロアルコキシカルボニルオキシ、 (C_2-C_{12}) -アルケニルオキ
 シカルボニルオキシ、 (C_2-C_{12}) -アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、N
 - (C_1-C_{12}) -アルキルカルバモイル、N,N-ジ (C_1-C_{12}) -アルキルカルバモイル、N- $(C_3$ -
 $C_8)$ -シクロアルキルカルバモイル、N,N-ジシクロ-
 (C_3-C_8) -アルキルカルバモイル、N- (C_1-C_{10}) -アルキル-N- (C_3-C_8) -シクロアルキルカル
 バモイル、N- (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_6) -アルキルカルバモイル、N- $(C$
 $_1-C_6)$ -アルキル-N- (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_6) -アルキルカルバモイル、N
 - $(+)$ -デヒドロアビエチルカルバモイル、N- (C_1-C_6) -アルキル-N- $(+)$ -デヒドロアビ
 エチルカルバモイル、N- (C_6-C_{12}) -アリールカルバモイル、N- (C_7-C_{16}) -アラルキルカル
 バモイル、N- (C_1-C_{10}) -アルキル-N- (C_6-C_{16}) -アリールカルバモイル、N- (C_1-C_{10})
 $)$ -アルキル-N- (C_7-C_{16}) -アラルキルカルバモイル、N- (C_1-C_{16}) -アルコキシ- $(C_1$ -
 $C_{10})$ -アルキルカルバモイル、N- (C_6-C_{16}) -アリールオキシ- (C_1-C_{10}) -アルキル
 $)$ カルバモイル、N- (C_7-C_{16}) -アラルキルオキシ- (C_1-C_{10}) -アルキルカルバモイ

10

20

30

40

50

ル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、CON(CH₂)_h[CH₂基は、O、S、N-(C₁-C₈)-アルキルイミノ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルイミノ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキル-(C₁-C₄)-アルキルイミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールイミノ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルイミノ、N-(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₁-C₆)-アルキルイミノによって置き換わっていても良く、hは3~7である]；カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₆)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)カルバモイルオキシ、アミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ、(C₃-C₁₂)-アルケニルアミノ、(C₃-C₁₂)-アルキニルアミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールアミノ、N-(C₇-C₁₁)-アラルキルアミノ、N-アルキル-アラルキルアミノ、N-アルキル-アリールアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルカノイルアミノ、(C₆-C₁₂)-アロイルアミノ、(C₇-C₁₆)-アラルカノイルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₆-C₁₂)-アロイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₇-C₁₁)-アラルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アロイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、アミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルメルカプト、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルホニル、(C₆-C₁₆)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₆)-アリールスルフィニル、(C₆-C₁₆)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニルまたは(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニルから選択される1~5個の置換基によって置換されていても良く；

あるいはR¹とR²、またはR²とR³が鎖[CH₂]_oを形成しており、それは飽和しているかC=C二重結合によって不飽和となっており、1個もしくは2個のCH₂基がO、S、SO、SO₂またはNRによって置き換わっていても良く、Rは水素、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₁-C₈)-アルキル、(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₂)-アラルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₁-C₁₀)-アルカノイル、置換されていても良い(C₇-C₁₆)-アラルカノイルまたは置換されていても良い(C₆-C₁₂)-アロイルであり；oは3、4または5であり；

あるいは前記の基R¹およびR²、またはR²およびR³がそれらを有するピリジンもしくはピリダジンと一体となって、5,6,7,8-テトラヒドロイソキノリン環、5,6,7,8-テトラヒドロキノリン環または5,6,7,8-テトラヒドロシンノリン環を形成しており；

あるいはR¹とR²、またはR²とR³が、炭素環系もしくは複素環系で5員もしくは6員の芳香族環を形成しており；

あるいはR¹およびR²、またはR²およびR³がそれらを有するピリジンもしくはピリダジンと一体となって、エチノピリジン類、フラノピリジン類、ピリドピリジン類、ピリミジノ

10

20

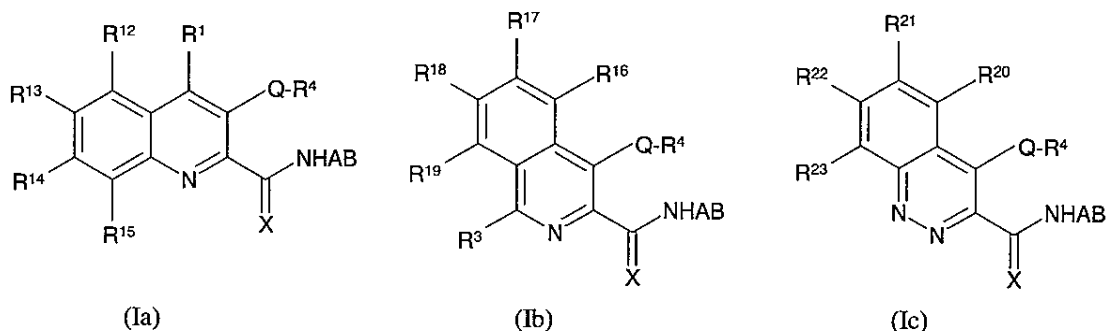
30

40

50

ピリジン類、イミダゾピリジン類、チアゾロピリジン類、オキサゾロピリジン類、キノリン、イソキノリンおよびシンノリンから選択される置換されていても良い複素環環系を形成しており；キノリン、イソキノリンまたはシンノリンは好ましくは、下記式 Ia、Ib および Ic を満足しており；

【化 4】



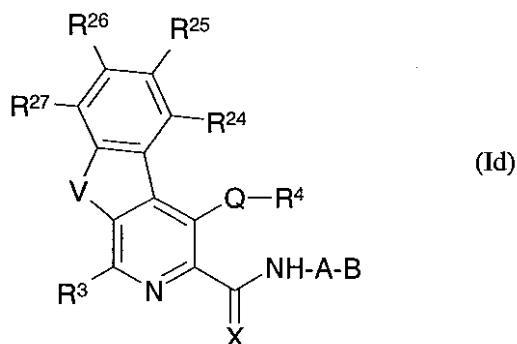
10

各場合における前記置換基 $R^{12} \sim R^{23}$ は互いに独立に、 R^1 、 R^2 および R^3 の意味を有しており；

あるいは前記基 R^1 および R^2 はそれらを有するピリジンと一体となって、下記式 1d の化合物；

20

【化 5】



30

を形成しており、式中において V は S、O または NR^k であり、 R^k は水素、 (C_1-C_6) -アルキル、アリールまたはベンジルから選択され；アリール基は上記で定義した 1 ~ 5 個の置換基によって置換されていても良く；

各場合における R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} および R^{27} は互いに独立に、 R^1 、 R^2 および R^3 の意味を有し；

f は 1 ~ 8 であり；

40

g は 0 もしくは 1 ~ $(2f+1)$ であり；

x は 0 ~ 3 であり；

h は 3 ~ 7 である。

【0035】

一部の実施形態において、上記で定義した式 (I) の化合物には、[(3-メトキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸；3-メトキシピリジン-2-カルボン酸 N- (((ヘキサデシルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド塩酸塩；3-メトキシピリジン-2-カルボン酸 N- (((1-オクチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド；3-メトキシピリジン-2-カルボン酸 N- (((ヘキシルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド；3-メトキシピリジン-2-カルボン酸 N- (((ブチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド；3-メトキ

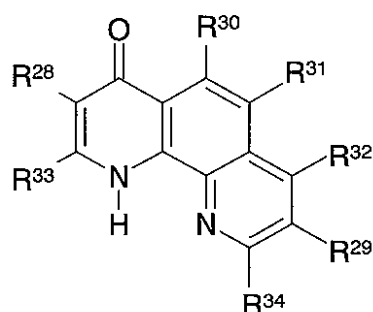
50

シピリジン-2-カルボン酸N-((2-ノニルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド・ラセミ体; 3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ヘプチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド; 3-ベンジルオキシピリジン-2-カルボン酸N-((オクチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド; 3-ベンジルオキシピリジン-2-カルボン酸N-((ブチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド; 5-((3-(1-ブチルオキシ)-プロピル)-アミノ)-カルボニル)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ベンジルオキシカルボニル)-メチル)-アミド; 5-((3-(1-ブチルオキシ)-プロピル)-アミノ)-カルボニル)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((1-ブチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド; 5-((3-ラウリルオキシ)-プロピル)アミノ)-カルボニル)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ベンジルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、[(3-ヒドロキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸; および [(3-メトキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸などがあるが、これらに限定されるものではない。他の実施形態では、上記で定義した式(Ia)の化合物には、N-((3-ヒドロキシ-6-イソプロポキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ)-酢酸、N-((6-(1-ブチルオキシ)-3-ヒドロキシキノリン-2-イル)-カルボニル)-グリシン、[(3-ヒドロキシ-6-トリフルオロメトキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸、N-((6-クロロ-3-ヒドロキシキノリン-2-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((7-クロロ-3-ヒドロキシキノリン-2-イル)-カルボニル)-グリシンおよび [(6-クロロ-3-ヒドロキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸などがあるが、それらに限定されるものではない。さらに他の実施形態において、上記で定義した式(Ib)の化合物には、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-7-(2-プロピルオキシ)イソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-6-(2-プロピルオキシ)イソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-7-メトキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-6-メトキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((7-ブチルオキシ)-1-クロロ-4-ヒドロキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((6-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸、((7-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸メチルエステル、N-((7-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸、N-((8-クロロ-4-ヒドロキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((7-ブトキシ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸などがあるが、それらに限定されるものではない。

【0036】

他の実施形態において、本発明の方法で使用される化合物は、下記式(II)の化合物から選択され、それから誘導される製薬上許容塩およびプロドラッグが含まれる。

【化6】



(II)

式中、

R²⁸は、水素、ニトロ、アミノ、シアノ、ハロゲン、(C₁-C₄)-アルキル、カルボキシ

またはその代謝を受けやすいエステル誘導体；(C₁-C₄)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₄)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルコキシカルボニル、(C₂-C₄)-アルカノイル、ヒドロキシ-(C₁-C₄)-アルキル、カルバモイル、N-(C₁-C₄)-アルキルカルバモイル、(C₁-C₄)-アルキルチオ、(C₁-C₄)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₄)-アルキルスルホニル、フェニルチオ、フェニルスルフィニル、フェニルスルホニルであり、前記フェニルまたはフェニル基は1～4個の同一または異なるハロゲン、(C₁-C₄)-アルコキシ、(C₁-C₄)-アルキル、シアノ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、フルオロ-(C₁-C₄)-アルキルチオ、フルオロ-(C₁-C₄)-アルキルスルフィニル、フルオロ-(C₁-C₄)-アルキルスルホニル、(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₂-C₄)-アルコキシカルボニル、N,N-ジ-[(C₁-C₄)-アルキル]カルバモイル-(C₁-C₄)-アルコキシカルボニル、(C₁-C₄)-アルキルアミノ-(C₂-C₄)-アルコキシカルボニル、ジ-(C₁-C₄)-アルキルアミノ-(C₂-C₄)-アルコキシカルボニル、(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₂-C₄)-アルコキシ-(C₂-C₄)-アルコキシカルボニル、(C₂-C₄)-アルカノイルオキシ-C₁-C₄-アルキルまたはN-[アミノ-(C₂-C₈)-アルキル]-カルバモイルによって置換されていても良く；

R²⁹は、水素、ヒドロキシ、アミノ、シアノ、ハロゲン、(C₁-C₄)-アルキル、カルボキシまたはその代謝を受けやすいエステル誘導体、(C₁-C₄)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₄)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルコキシカルボニル、(C₂-C₄)-アルカノイル、(C₁-C₄)-アルコキシ、カルボキシ-(C₁-C₄)-アルコキシ、(C₁-C₄)-アルコキシカルボニル-(C₁-C₄)-アルコキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₈)-アルキルカルバモイル、N,N-ジ-(C₁-C₈)-アルキルカルバモイル、N-[アミノ-(C₂-C₈)-アルキル]-カルバモイル、N-[(C₁-C₄)-アルキルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル]-カルバモイル、N-[ジ-(C₁-C₄)-アルキルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル]-カルバモイル、N-シクロヘキシルカルバモイル、N-[シクロペンチル]-カルバモイル、N-(C₁-C₄)-アルキルシクロヘキシルカルバモイル、N-(C₁-C₄)-アルキルシクロペンチルカルバモイル、N-フェニルカルバモイル、N-(C₁-C₄)-アルキル-N-フェニルカルバモイル、N,N-ジフェニルカルバモイル、N-[フェニル-(C₁-C₄)-アルキル]-カルバモイル、N-(C₁-C₄)-アルキル-N-[フェニル-(C₁-C₄)-アルキル]-カルバモイルまたはN,N-ジ-[フェニル-(C₁-C₄)-アルキル]-カルバモイルであり、前記フェニルまたはフェニル基は1～4個の同一または異なるハロゲン、(C₁-C₄)-アルコキシ、(C₁-C₄)-アルキル、シアノ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、N-[(C₂-C₄)-アルカノイル]-カルバモイル、N-[(C₁-C₄)-アルコキシカルボニル]-カルバモイル、N-[フルオロ-(C₂-C₆)-アルキル]-カルバモイル、N,N-[フルオロ-(C₂-C₆)-アルキル]-N-(C₁-C₄)-アルキルカルバモイル、N,N-[ジ-フルオロ-(C₂-C₆)-アルキル]カルバモイル、ピロリジン-1-イルカルボニル、ピペリジノカルボニル、ピペラジン-1-イルカルボニル、モルホリノカルボニルで置換されていても良く、前記複素環基は、1～4個の(C₁-C₄)-アルキル、ベンジル、1,2,3,4-テトラヒドロ-イソキノリン-2-イルカルボニル、N,N-[ジ-(C₁-C₄)-アルキル]-チオカルバモイル、N-(C₂-C₄)-アルカノイルアミノまたはN-[(C₁-C₄)-アルコキシカルボニル]-アミノで置換されていても良く；

R³⁰は、水素、(C₁-C₄)-アルキル、(C₂-C₄)-アルコキシ、ハロ、ニトロ、ヒドロキシ、フルオロ-(1-4C)アルキルまたはピリジニルであり；

R³¹は、水素、(C₁-C₄)-アルキル、(C₂-C₄)-アルコキシ、ハロ、ニトロ、ヒドロキシ、フルオロ-(C₁-C₄)-アルキル、ピリジニルまたはメトキシであり；

R³²は、水素、ヒドロキシ、アミノ、(C₁-C₄)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₄)-アルキルアミノ、ハロ、(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₂-C₄)-アルコキシ、フルオロ-(C₁-C₆)-アルコキシ、ピロリジン-1-イル、ピペリジノ、ピペラジン-1-イルまたはモルホリノであり、前記複素環基は1～4個の同一または異なる(C₁-C₄)-アルキルまたはベンジルによって置換されていても良く；

R³³およびR³⁴は個々に、水素、(C₁-C₄)-アルキルおよび(C₁-C₄)-アルコキシから選択される。

【 0 0 3 7 】

一部の実施形態において、上記で定義した式(II)の化合物には、4-オキソ-1,4-ジヒドロ-[1,10]フェナントロリン-3-カルボン酸、3-カルボキシ-5-ヒドロキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロ-1,10-フェナントロリン、3-カルボキシ-5-メトキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロ-1,10-フェナントロリン、5-メトキシ-4-オキソ-1,4-ジヒドロ-[1,10]フェナントロリン-3-カルボン酸エチルエステル、5-メトキシ-4-オキソ-1,4-ジヒドロ-[1,10]フェナントロリン-3-カルボン酸および3-カルボキシ-8-ヒドロキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロ-1,10-フェナントロリンなどがあるが、それらに限定されるものではない。

【0038】

これらの化合物は、単独で、あるいは他の各種治療手法との併用で投与することができる。1実施形態において前記化合物は、別の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ阻害薬とともに投与され、その2種類の化合物は、個々の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼファミリーメンバーに対して異なる特異性を有する。これら2種類の化合物は、他方に対して一方をある比率として同時に投与することができるか、あるいは例えば心筋梗塞後などの治療の時間経過中に連続的に投与することができる。ある具体的な実施形態では、一つの化合物はHIFプロリルヒドロキシラーゼ活性を特異的に阻害し、第2の化合物はプロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼ活性を特異的に阻害する。別の実施形態において前記化合物は、ACE阻害薬(ACEI)、アンギオテンシン-II受容体遮断薬(ARB)、利尿薬および/またはジゴキシンなどの異なる作用形態を有する別の治療薬とともに投与することができる。さらに別の実施形態では前記化合物は、カルニチンとともに投与される。

【0039】

ある態様では本発明の化合物は、1以上の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素を阻害する。1実施形態において前記化合物は、特異性が同一であるか異なっている例えばHIFプロリルヒドロキシラーゼおよびプロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼなどの少なくとも2種類の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼファミリーメンバーを阻害する。別の実施形態において前記化合物は、HIFプロリルヒドロキシラーゼなどの一つの2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼに対して特異的であって、他のファミリーメンバーにはほとんど特異性を示さない。

【0040】

本発明の好ましい実施形態は、経口および経皮投与機構を用いる方法を含む。そこで本発明は、本発明の化合物を含む経口製剤をも提供する。別の好ましい実施形態において本発明には、本発明の化合物の経皮投与が関与する。それゆえ本発明は、本発明の化合物を含む経皮パッチまたはパッドをも提供する。

【0041】

本発明の上記および他の実施形態については、当業者であれば本明細書における開示内容を考慮して容易に理解され、そのような実施形態はいずれも具体的に想到される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0042】

本発明の組成物および方法について説明する前に、本発明は記載されている特定の方法、プロトコール、細胞系、アッセイおよび試薬は、変動が可能であることから、これらに限定されるものではないことを理解すべきである。さらに本明細書で使用されている用語は、本発明の特定の実施形態を説明するためのものであって、いかなる形であっても、添付の特許請求の範囲に記載の本発明の範囲を限定するものではないことを理解すべきである。

【0043】

留意すべき点として、本明細書および添付の特許請求の範囲に記載されている場合に、単数形「一つ」、「一つの」および「その」には、文脈で別段にて明瞭に記載されていない限り、複数の言及も含まれるものである。そこで例えば、「断片」と言った場合、それは複数のそのような断片を含み、「抗体」と言った場合、それは1以上の抗体と当業者には高地のその等価物などに言及したものである。

【0044】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する分野における通常の技術を有する者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似または等価な方法および材料を本発明の実施または試験において用いることができるが、以下においては好ましい方法、装置および材料について説明する。本明細書に引用の刊行物はいずれも、本発明との関連で使用されることが考えられる刊行物中に報告されている方法、試薬および手段についての説明および開示に関して、参照によってその全体が本明細書に組み込まれるものとする。本明細書に記載のいずれの内容も、本発明が先行技術によってその開示の時間を早める資格がなくなるという自認と解釈すべきではない。

【0045】

別段の断りがない限り本発明の実施は、当業界の技術の範囲内で、化学、生化学、分子生物学、細胞学、遺伝学、免疫学および薬理学の従来の方法を用いるものである。そのような技術については、文献に詳細に説明されている（例えば、Gennaro, A.R., ed. (1990) Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co.; Hardman, J.G., Limbird, L.E., and Gilman, A.G., eds. (2001) The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill Co.; Colowick, S. et al., eds., Methods In Enzymology, Academic Press, Inc.; Weir, D.M., and Blackwell, C.C., eds. (1986) Handbook of Experimental Immunology, Vols. I-IV, Blackwell Scientific Publications; Maniatis, T. et al., eds. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition, Vols. I-III, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. et al., eds. (1999) Short Protocols in Molecular Biology, 4th edition, John Wiley & Sons; Ream et al., eds. (1998) Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, Academic Press; Newton, C.R., and Graham, A., eds. (1997) PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed., Springer Verlag. 参照)。

【0046】

定義

「虚血」という用語は、血流の低下を指す。虚血は、組織に送達される酸素などの養分における減少に関連する。虚血は、アテローム性動脈硬化、動脈もしくは静脈における血栓形成、または塞栓による動脈もしくは静脈の閉塞、血管痙攣などの他の原因による血管閉鎖などの状態によって生じ得るものである。そのような状態は、血流を低下させて臓器もしくは組織への低灌流状態を生じたり、あるいは血流を完全に遮断する可能性がある。虚血を生じ得る他の状態には、脊髄損傷などの外傷もしくは損傷；鬱血性心不全などを起こし得るウイルス感染による組織損傷などがある。「虚血状態」および「虚血性障害」という用語は、心筋梗塞、虚血性脳梗塞、肺塞栓症、周産期低酸素症、出血性、敗血性、心原性などの循環器ショック、高山病、急性呼吸器不全など、アテローム性動脈硬化などの慢性虚血状態、慢性静脈不全、慢性心不全、心臓性肝硬変、糖尿病、黄斑変性、睡眠時無呼吸、レイノー病、全身性硬化症、非細菌性血栓性心内膜炎、閉塞性動脈疾患、狭心症、TIA、慢性アルコール性肝臓疾患などの急性虚血状態を指すが、それらに限定されるものではない。個体が全身麻酔下にある場合には虚血状態が生じる場合もあり、移植用に準備された臓器における組織損傷を生じさせる場合がある。

【0047】

「低酸素症」および「低酸素性」という用語は、酸素レベルが正常以下である環境を指す。低酸素症は、低酸素環境での細胞培養によって細胞で誘発することができるか、あるいは細胞を低酸素症に似た状態とする化合物で処理することができる。細胞培養物における低酸素症を決定する酸素レベル測定は、当業界における技術の範囲内である。

【0048】

「低酸素状態」および「低酸素障害」という用語には、循環低下によって低酸素症を生じる上記のものなどの虚血障害（虚血性低酸素症）；肺における血液の酸素化低下によって低酸素症を生じるCOPD、重度肺炎、肺浮腫、肺高血圧、ヒアリン膜症などの肺障害（低酸素性低酸素症）；ヘモグロビンまたは赤血球の濃度低下によって低酸素症を生じる胃潰

瘍もしくは十二指腸潰瘍、肝臓病もしくは腎臓病、血小板減少症もしくは血液凝固障害、癌その他の慢性病、癌化学療法および貧血を生じる他の治療的介入などの貧血障害（貧血性低酸素症）；ならびに高山病などがあるが、それらに限定されるものではない。

【 0 0 4 9 】

「障害（disorder）」および「疾患（disease）」という用語は包括的に用いられ、正常から逸脱した状態を指す。「虚血状態」および「虚血障害」という用語は、虚血に関連した状態、疾患または障害を指す。「低酸素状態」および「低酸素障害」という用語は、低酸素症に関連する状態、疾患または障害を指す。そのような虚血性障害および低酸素症障害には、上記の障害などがあるが、それらに限定されるものではない。

【 0 0 5 0 】

「HIF」という用語は、低酸素誘導性因子タンパク質のアルファサブユニットを指す。HIF はヒトその他の哺乳動物のタンパク質またはその断片であることができ、それには、ヒトHIF-1（Genbank Accession No. Q16665）、HIF-2（GenBank Accession No. AAB41495）およびHIF-3（GenBank Accession No. AAD22668）；マウスHIF-1（GenBank Accession No. Q61221）、HIF-2（GenBank Accession No. BAA20130およびAAB41496）およびHIF-3（GenBank Accession No. AAC72734）；ラットHIF-1（GenBank Accession No. CAA70701）、HIF-2（GenBank Accession No. CAB96612）およびHIF-3（GenBank Accession No. CAB96611）；ならびに雌ウシHIF-1（GenBank Accession No. BAA78675）などがあるが、それらに限定されるものではない。HIF はまた、アフリカツメガエルHIF-1（GenBank Accession No. CAB96628）、キイロショウジョウバエHIF-1（GenBank Accession No. JC4851）およびニワトリHIF-1（GenBank Accession No. BAA34234）などの非哺乳動物タンパク質またはその断片であることもできる。HIF 遺伝子配列は、例えば別の動物におけるHIF 遺伝子の配列を回収および決定するためのプローブとして上記のHIF 遺伝子配列の全てまたは一部を用いることで通常のクローニング技術によっても得ることができる。

【 0 0 5 1 】

HIF の断片には、アミノ酸401～603（Huang et al., 前掲）、アミノ酸 531～575（Jiang et al. (1997) J Biol Chem 272:19253-19260）、アミノ酸556～575（Tanimoto et al., 前掲）、アミノ酸557～571（Srinivas et al. (1999) Biochem Biophys Res Commun 260:557-561）およびアミノ酸556～575（Ivan and Kaelin (2001) Science 292:464-468）由来のヒトHIF-1 によって決定される領域などがある。さらにHIF の断片には、例えばL₃₉₇TLLAPおよびL₅₅₉EMLAPでのHIF-1 天然配列において見られるような、モチーフLXXLAPの発生を少なくとも1個有する断片などがある。さらにHIF の断片には、HIF の少なくとも一つの機能的または構造的特徴を保持する断片などがある。例えば、実施例7のスクリーニングアッセイで用いられるHIFペプチドは、[メトキシクマリン]-DLLEALAPYIPADDDFQL-アミド（配列番号5）を有していてもよい。

【 0 0 5 2 】

「HIFプロリルヒドロキシラーゼ」および「HIFPH」という用語は、HIFタンパク質中のプロリン残基をヒドロキシル化する能力を有する酵素を指す。好ましくはHIFPHによってヒドロキシル化された前記プロリン残基には、例えばL₃₉₇TLLAPおよびL₅₅₉EMLAPでのヒトHIF-1 天然配列において見られるようなモチーフLXXLAP内で認められるプロリンなどがある。HIFPHには、テイラー（Taylor, 2001, Gene 275:125-132）が報告し、アラビンドラ（Aravind and Koonin, 2001, Genome Biol 2:RESEARCH0007）、エプスタインら（Epstein et al., 2001, Cell 107:43-54）およびブルイックら（Bruick and McKnight, 2001, Science 294:1337-1340）によって特性決定されたEgl-Nine（EGLN）遺伝子ファミリーのメンバーなどがある。HIFPH酵素の例には、ヒトSM-20（EGLN1）（GenBank Accession No. AAG33965；Dupuy et al. (2000) Genomics 69:348-54）、EGLN2イソ型1（GenBank Accession No. CAC42510；Taylor, 前掲）、EGLN2イソ型2（GenBank Accession No. NP_060025）およびEGLN3（GenBank Accession No. CAC42511；Taylor, 前掲）；マウスEGLN1（GenBank Accession No. CAC42515）、EGLN2（GenBank Accession No. CAC42511）およびEGLN3

10

20

30

40

50

(SM-20) (GenBank Accession No. CAC42517) ; ならびにラットSM-20 (GenBank Accession No. AAA19321) などがある。さらにHIFPHには、ケノルハブディティス・エレガンス (*Caenorhabditis elegans*) EGL-9 (GenBank Accession No. AAD56365) およびキイロシヨウジヨウバエCG1114遺伝子産物 (GenBank Accession No. AAF52050) などがあり得る。HIFPHにはさらに、ヒドロキシラーゼ活性を有する断片など、前記全長タンパク質の少なくとも一つの構造的または機能的特徴を保持する断片も含む。

【0053】

例えばHIF およびその断片またはHIFPHおよびその断片について言及するのに本明細書で使用される「アミノ酸配列」または「ポリペプチド」という用語は、オリゴペプチド、ペプチドまたはタンパク質配列を想到するものであるか、あるいはそれらの断片、そして天然もしくは合成分子を指すものである。「断片」とは、タンパク質の少なくとも一つの構造的もしくは機能的特徴を保持する配列の部分を指すことができる。免疫原性断片または抗原性断片は、ポリペプチドの断片、好ましくは少なくとも一つの生理活性または免疫活性を保持した約5~15アミノ酸長の断片である。「アミノ酸配列」を用いて天然タンパク質分子のポリペプチド配列について言及する場合、「アミノ酸配列」などの用語は、そのアミノ酸配列を挙げられたタンパク質分子に関連する完全な天然配列に限定するものではない。

【0054】

例えばHIF プロリルヒドロキシラーゼに関連するタンパク質を指すのに本明細書で使用する「関連タンパク質」という用語は、他の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素、特にヒドロキシラーゼ活性を維持するのに同様に Fe^{2+} 、2-オキソグルタル酸および酸素を必要とするファミリーメンバーを包含する。そのような酵素には、例えばプロコラーゲンリシルヒドロキシラーゼ、プロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼならびにHIF阻害性因子 (FIH)、すなわちHIF のトランスアクチベーションを調節する役割を行うアスパラギンヒドロキシラーゼなどがあるが、これらに限定されるものではない (GenBank Accession No. AAL27308 ; Mahon et al. (2001) Genes Dev 15:2675-2686 ; Lando et al. (2002) Science 295:858-861 ; および Lando et al. (2002) Genes Dev 16:1466-1471. Elkins et al. (2002) J Biol Chem C200644200も参照)。

【0055】

「アゴニスト」という用語は、例えば酵素もしくはタンパク質などの特定の分子あるいは低酸素症などの特定の環境の効果を高めたり、期間を延長する分子を指す。アゴニストには、タンパク質、核酸、炭水化物または標的分子の効果を調節する他の分子などがあり得る。

【0056】

「アンタゴニスト」という用語は、特定の分子の生理活性または免疫活性の効果の程度または期間を低下/短縮させる分子を指す。アンタゴニストには、タンパク質、核酸、炭水化物、抗体または標的分子の効果を低下させる他の分子などがあり得る。

【0057】

「マイクロアレイ」という用語は、基盤上に核酸、アミノ酸、抗体などのが配列されたものを指す。基盤は、ビーズ、ガラス、紙、ニトロセルロース、ナイロンまたは何らかの適切な膜などの好適な支持体であることができる。基盤は、膜、フィルター、ウェハー、チップ、スライドガラス、ファイバー、ビーズ (磁性ビーズまたは非磁性ビーズを含む) 、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微粒子、キャピラリーなどの剛性もしくは半剛性支持体であることができるが、これらに限定されるものではない。基盤はコーティングのための表面を提供することができ、ないしは核酸、アミノ酸などを結合させることができるウェル、ピン、溝、チャンネルおよび孔などの多様な表面形状を有することができる。

【0058】

本明細書で使用される「賦形剤」という用語は、医薬品その他の錠剤の製造において使用される不活性または非活性物質を意味し、結合剤、崩壊剤、コーティング剤、圧縮/カ

10

20

30

40

50

プセル化助剤、クリームもしくはローション、潤滑剤、非経口剤、甘味剤もしくは香味剤、懸濁剤／ゲル化剤または湿式造粒剤として用いられる物質などがあるが、これらに限定されるものではない。結合剤には、カーボポール、ポビドン、キサンタンガムなどがあり；コーティング剤には、酢酸フタル酸セルロース、エチルセルロース、ゲランガム、マルトデキストリンなどがあり；圧縮／カプセル化助剤には、炭酸カルシウム、デキストロース、フルクトースdc、蜂蜜dc、乳糖（無水物または1水和物；アスパルテーム、セルロースまたは微結晶セルロースと組み合わせても良い）、デンプンdc、ショ糖などがあり；崩壊剤には、クロスカルメロースナトリウム、ゲランガム、スターチグリコール酸ナトリウムなどがあり；クリームおよびローションには、マルトデキストリン、カラギーナン類などがあり；潤滑剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、ステアリルフマル酸ナトリウムなどがあり；咀嚼錠用の材料には、デキストロース、フルクトースdc、乳糖（1水和物、アスパルテームまたはセルロースと組み合わせても良い）などがあり；非経口剤には、マニトール、ポビドンなどがあり；可塑剤には、セバシン酸ジブチル、フタル酸ポリビニルアセテートなどがあり；懸濁剤／ゲル化剤には、カラギーナン、スターチグリコール酸ナトリウム、キサンタンガムなどがあり；甘味剤には、アスパルテーム、デキストロース、フルクトースdc、ソルビトール、ショ糖dcなどがあり；湿式造粒剤には、炭酸カルシウム、マルトデキストリン、微結晶セルロースなどがある。

10

【0059】

「サンプル」という用語は本明細書では、その最も広い意味で使用される。サンプルは、あらゆる入手源、例えば唾液、血液、尿、血清、血漿、硝子体、滑液、脳脊髄液、羊水および臓器組織（例：生検組織）（これらに限定されるものではない）のような体液、分泌物、組織、細胞または培養液中の細胞に由来するもの；染色体、オルガネラその他の細胞から単離された膜に由来するもの；ゲノムDNA、cDNA、RNA、mRNAなどに由来するもの；そして、単離された細胞もしくは組織、またはそのような細胞もしくは組織からのプロットもしくはインプリントに由来するものであることができる。サンプルは、例えばヒト対象または非ヒト哺乳動物対象などのあらゆる入手源に由来するものであることができる。疾患の動物モデルに由来のサンプルも考慮される。サンプルは溶液であることができるか、あるいは例えば基質に固定または結合させることができる。サンプルは、HIF もしくはHIF の断片の存在を調べるのに好適な、あるいはHIF またはその断片に結合する分子についてのスクリーニングを行う上で好適な材料を指すことができる。そのようなサンプルを得る方法は、当業界の技術レベルの範囲内である。

20

30

【0060】

「対象（subject）」という用語は本明細書においては、その最も広い意味で使用される。対象は、原核生物または真核生物の単離細胞、あるいは培地で成長した組織を含むことができる。好ましくは対象には、動物、特にラット、ウサギ、ウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマならびに霊長類、特にヒトなどの哺乳動物などがある。

【0061】

発明

本発明は、HIF を安定化させる方法、その方法で使用可能な化合物、ならびに上記のような低酸素および／または虚血障害など（それらに限定されるものではない）のHIF関連の障害を予防または治療する上での前記方法の使用を提供する。本発明はさらに、低酸素誘導性因子（HIF ）のアルファサブユニットの安定化が、心筋梗塞、脳梗塞、閉塞性動脈疾患、狭心症、心臓肝硬変、アテローム性動脈硬化などの低酸素症および／または虚血に関連する状態の治療または予防に適用された場合に、予期せぬ効果を有する有効な治療手法であるという発見に関するものである。

40

【0062】

本発明は、HIFを安定化して血管新生、急性低酸素症への応答および慢性低酸素症への適応を強化する方法を検討するものである。死亡率（morbidity and mortality）の主要原因であることから、HIF を安定化させる方法を確認することは、低酸素状態の治療において有効である。さらに、前記方法を用いて、虚血もしくは低酸素事象の前の正常酸素

50

環境でHIF を安定化させることで、プレコンディショニング低酸素応答などの有効な効果を生み出すことができる。これらの方法を用いて、損傷を受けた組織への血流を回復するための治療的血管新生；神経変性疾患に関連するニューロンのアポトーシス損失などを防止するための神経保護；ならびに例えば虚血もしくは低酸素事象後の再灌流から生じる反応性酸素化学種によって生じる酸化損傷に対する保護などのHIF 特異的効果を誘発することもできる。

【0063】

本発明の方法を用いて虚血および／または低酸素症に関連する障害を治療する場合、その障害は肺、腸、脳、および／または心筋梗塞などの急性虚血障害、あるいは閉塞性動脈疾患、肝硬変、鬱血性心不全などの慢性虚血状態であることができる。さらに本発明の方法を用いて、脊髄損傷などの一過性もしくは急性の外傷、傷害または損傷による虚血を治療したり、あるいは肺塞栓症などの肺障害と診断された患者を治療することができる。

10

【0064】

本発明の方法を用いて、虚血性障害および低酸素症障害など（それらに限定されるものではない）のHIF関連障害によって生じる組織損傷を予防する場合、高血圧、糖尿病、閉塞性動脈疾患、慢性静脈不全、レイノー病、全身性硬化症、肝硬変、鬱血性心不全などの素因となる状態に基づいて、処置を決定することができる。同様に本発明の方法を、虚血性障害および低酸素症障害（それらに限定されるものではない）などのHIF関連障害によって生じる組織損傷を軽減または予防するための前治療として用いることができる。前治療の必要性は、心筋梗塞または一過性虚血発作などの虚血状態の患者の再発歴に基づいたり；狭心症などの切迫性虚血の症状に基づいたり；あるいは全身麻酔もしくは高所での一時的作業下に置かれた個人などの場合のような虚血もしくは低酸素症の関連または可能性を示唆する理学的パラメータに基づいたものであることができる。これらの方法を臓器移植の理由で用いて、臓器ドナーを前処置し、被移植者での移植を行う前に身体から摘出した臓器を維持することもできる。

20

【0065】

本明細書においては、HIF の安定化がプロリンヒドロキシル化によって調節され、HIF 安定化がDVT、狭心症、肺塞栓症、脳梗塞、心筋梗塞などの虚血状態の発症または持続を治療または予防する上で有効であるという発見も示されている。具体的には、ウサギ網状赤血球溶解物（RRL）とともにプレインキュベートしたHIF-1 および残基556～575に相当するHIF-1 ペプチド〔HIF（556-575）〕がフォンヒッペル-リンダウタンパク質（pVHL）に特異的に結合し、そのような結合によってHIF-1 のユビキチン化および分解が生じることが明らかになっている。HIF内の高度に保存された同一直線上配列M₅₆₁LAPYIPM（556～575）の8個の連続するアラニンに対する突然変異によって、正常酸素状態下でHIF（556～575）が安定化されたことも示されている（Srinivas et al., 前掲）。その領域のアラニンスキャンから、全長HIF-1 またはグルタチオンS - トランスフェラーゼ（GST）-HIF 酸素分解領域（ODD）融合タンパク質（Gal4-ODD）の前後におけるP₅₆₄のアラニンへの突然変異がpVHL結合活性を消滅させることが明らかになっている。P₅₆₄の修飾は、〔³H〕プロリン存在下にRRLを用いてin vitroで翻訳されたGal4-HIF（555～575）のエレクトロスプレーイオントラップタンデム質量分析（MS/MS）および薄層クロマトグラフィーによってヒドロキシル化であることが確認された。プロリンヒドロキシル化の機能的意義は、P₅₆₄-ヒドロキシル化HIF がpVHLに結合するが、P₅₆₄のアラニンへの単一点変異を有するHIF-1 変異体がCOS7細胞で安定であり、低酸素症類似デスフェリオキサミンに対して非感受性であることが示されたことで明らかになった（Ivan and Kaelin, 前掲； Jaakola et al. (2001) Science 292:468-472参照）。

30

40

【0066】

HIF は酸素およびFe²⁺を必要とする反応であるプロリンヒドロキシル化によって修飾されることから、本発明は1態様において、HIF ヒドロキシル化を担当する酵素が2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼファミリーの1メンバーであることを考慮するものである。そのような酵素には、プロコラーゲンリシルヒドロキシラーゼ、プロコラーゲンプロ

50

【 0 0 6 7 】

10

20

【化 7】



40

50

$_1-C_4$) - アルキルカルバモイル、 (C_1-C_6) - アルキルカルボニルオキシ、 (C_3-C_8) - シクロアルキル、スルファモイル、 $N-(C_1-C_4)$ - アルキルスルファモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_4) - アルキルスルファモイルから選択される 1 ~ 5 個の同一または異なる置換基を有する置換 (C_6-C_{12}) - アリールオキシ、 (C_7-C_{11}) - アラルキルオキシ、 (C_6-C_{12}) - アリール、 (C_7-C_{11}) - アラルキル基によって置換されていても良い (C_1-C_4) - アルキレンであり；あるいは A は $-CR^5R^6$ であり、 R^5 および R^6 はそれぞれ独立に、水素、 (C_1-C_6) - アルキル、 (C_3-C_7) - シクロアルキル、アリール、または - アミノ酸の - 炭素原子の置換基から選択され、前記アミノ酸は天然 L-アミノ酸もしくはその D-異性体であり；

B は、 $-CO_2H$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHSO_2CF_3$ 、テトラゾリル、イミダゾリル、3-ヒドロキシイソオキサゾリル、 $-CONHCOR$ 、 $-CONHSOR$ 、 $CONHSO_2R$ であり、R は、アリール、ヘテロアリール、 (C_3-C_7) - シクロアルキルであるか、または (C_6-C_{12}) - アリール、ヘテロアリール、OH、SH、 (C_1-C_4) - アルキル、 (C_1-C_4) - アルコキシ、 (C_1-C_4) - チオアルキル、 (C_1-C_4) - スルフィニル、 (C_1-C_4) - スルホニル、 CF_3 、Cl、Br、F、I、 NO_2 、 $-COOH$ 、 (C_2-C_5) - アルコキシカルボニル、 NH_2 、モノ- (C_1-C_4) -アルキル)-アミノ、ジ- (C_1-C_4) -アルキル)-アミノもしくは (C_1-C_4) - パーフルオロアルキルによってモノ置換されていても良い (C_1-C_4) - アルキルであり；あるいは B は、 CO_2-G カルボキシル基であり、G はアルコール $G-OH$ の基であって、G は (C_1-C_{20}) - アルキル基、 (C_3-C_8) シクロアルキル基、 (C_2-C_{20}) - アルケニル基、 (C_3-C_8) - シクロアルケニル基、レチニル基、 (C_2-C_{20}) - アルキニル基、 (C_4-C_{20}) - アルケニニル基（前記アルケニル、シクロアルケニル、アルキニルおよびアルケニニル基は、1 以上の多重結合を有する）； (C_6-C_{16}) - 炭素環アリール基、 (C_7-C_{16}) - 炭素環アラルキル基、ヘテロアリール基もしくはヘテロアラルキル基（ヘテロアリール基もしくはヘテロアラルキル基のヘテロアリール部分は 5 個もしくは 6 個の環原子を有する）から選択され；G について定義した基は、1 以上のヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、ニトロ、カルボキシル、 (C_1-C_{12}) - アルキル、 (C_3-C_8) - シクロアルキル、 (C_5-C_8) - シクロアルケニル、 (C_6-C_{12}) - アリール、 (C_7-C_{16}) - アラルキル、 (C_2-C_{12}) - アルケニル、 (C_2-C_{12}) - アルキニル、 (C_1-C_{12}) - アルコキシ、 (C_1-C_{12}) - アルコキシ- (C_1-C_{12}) - アルキル、 (C_1-C_{12}) - アルコキシ- (C_1-C_{12}) - アルコキシ、 (C_6-C_{12}) - アリールオキシ、 (C_7-C_{16}) - アラルキルオキシ、 (C_1-C_8) - ヒドロキシアアルキル、 $-O-[CH_2]_x-C_fH_{(2f+1-g)}-F_g$ 、 $-OCF_2Cl$ 、 $-OCF_2-CHFCl$ 、 (C_1-C_{12}) - アルキルカルボニル、 (C_3-C_8) - シクロアルキルカルボニル、 (C_6-C_{12}) - アリールカルボニル、 (C_7-C_{16}) - アラルキルカルボニル、シンナモイル、 (C_2-C_{12}) - アルケニルカルボニル、 (C_2-C_{12}) - アルキニルカルボニル、 (C_1-C_{12}) - アルコキシカルボニル、 (C_1-C_{12}) - アルコキシ- (C_1-C_{12}) - アルコキシカルボニル、 (C_6-C_{12}) - アリールオキシカルボニル、 (C_7-C_{16}) - アラルコキシカルボニル、 (C_3-C_8) - シクロアルコキシカルボニル、 (C_2-C_{12}) - アルケニルオキシカルボニル、 (C_2-C_{12}) - アルキニルオキシカルボニル、アシルオキシ、 (C_1-C_{12}) - アルコキシカルボニルオキシ、 (C_1-C_{12}) - アルコキシ- (C_1-C_{12}) - アルコキシカルボニルオキシ、 (C_6-C_{12}) - アリールオキシカルボニルオキシ、 (C_7-C_{16}) - アラルキルオキシカルボニルオキシ、 (C_3-C_8) - シクロアルコキシカルボニルオキシ、 (C_2-C_{12}) - アルケニルオキシカルボニルオキシ、 (C_2-C_{12}) - アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、 $N-(C_1-C_{12})$ - アルキルカルバモイル、 N,N -ジ- (C_1-C_{12}) - アルキルカルバモイル、 $N-(C_3-C_8)$ - シクロアルキル-カルバモイル、 $N-(C_6-C_{16})$ - アリールカルバモイル、 $N-(C_7-C_{16})$ - アラルキルカルバモイル、 $N-(C_1-C_{10})$ - アルキル- $N-(C_6-C_{16})$ - アリールカルバモイル、 $N-(C_1-C_{10})$ - アルキル- $N-(C_7-C_{16})$ - アラルキルカルバモイル、 $N-(C_1-C_{10})$ - アルコキシ- (C_1-C_{10}) - アルキル)-カルバモイル、 $N-(C_6-C_{12})$ - アリールオキシ- (C_1-C_{10}) アルキル)-カルバモイル、 $N-(C_7-C_{16})$ - アラルキルオキシ- (C_1-C_{10}) - アルキル)-カルバモイル、 $N-(C_1-C_{10})$ - アルキル- $N-(C_1-C_{10})$ - アルコキシ- (C_1-C_{10}) - アルキル)-カルバモイル、 $N-(C_1-C_{10})$ - アルキル- $N-(C_6-C_{16})$ - アリールオキシ- (C_1-C_{10}) - アルキル)-カルバモイル、 $N-(C_1-C_{10})$ - アルキル- $N-(C_7-C_{16})$ - アラルキルオキシ- (C_1-C_{10}) - アルキル)-カルバモイル、カルバモイルオキシ、 $N-(C_1-C_{12})$ - アルキルカルバモイルオキシ、 N,N -ジ- (C_1-C_{12})

10

20

30

40

50

-アルキルカルバモイルオキシ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、アミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ、(C₂-C₁₂)-アルケニルアミノ、(C₂-C₁₂)-アルキニルアミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールアミノ、N-(C-C₁₁)-アラルキルアミノ、N-アルキル-アラルキルアミノ、N-アルキル-アリールアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルアミノ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルアミノ、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₇-C₁₁)-アラルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₂)-アラルキルカルボニルアミノ(C₁-C₈)-アルキル、アミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルメルカプト、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルホニル、(C₆-C₁₆)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₆)-アリールスルフィニル、(C₆-C₁₂)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニル、スルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルスルファモイル、N,N-ジ(C₁-C₁₀)-アルキルスルファモイル、(C₃-C₈)-シクロアルキルスルファモイル、N-(C₆-C₁₂)-アルキルスルファモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールスルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルファモイル、(C₁-C₁₀)-アルキルスルホンアミド、N-(C₁-C₁₀)-アルキル)-(C₁-C₁₀)-アルキルスルホンアミド、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホンアミドまたはN-(C₁-C₁₀)-アルキル-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホンアミドによって置換されており；アリールであるかアリール部分を有する基は、1～5個の同一または異なるヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、ニトロ、カルボキシル、(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキル、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₆)-アラルキル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ、(C₁-C₈)-ヒドロキシアリル、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラルコキシカルボニル、(C₃-C₈)-シクロアルコキシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルケニルオキシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルキニルオキシカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルオキシ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニルオキシ、シンナモイルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルケニルカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルキニルカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂)-ア

リールオキシカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシカルボニルオキシ、(C₃-C₈)-シクロアルコキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルケニルオキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂)-アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイル、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカルバモイル、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイル、カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N,N-ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルカルバモイルオキシ、N-(C₃-C₈)-シクロアルキルカルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルカルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₁-C₁₀)-アルコキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ-(C₁-C₁₀)-アルキル)-カルバモイルオキシ、アミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₁₂)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ、(C₃-C₁₂)-アルケニルアミノ、(C₃-C₁₂)-アルキニルアミノ、N-(C₆-C₁₂)-アリールアミノ、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルアミノ、N-アルキルアラルキルアミノ、N-アルキルアリールアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルアミノ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルアミノ、(C₇-C₁₆)-アルキルカルボニルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルカルボニルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、アミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルメルカプト、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルホニル、(C₆-C₁₂)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₂)-アリールスルフィニル、(C₆-C₁₂)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニルまたは(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニルによって前記アリール上で置換されていても良く；

Xは、OまたはSであり；

Qは、O、S、NR または結合であり；

Qが結合である場合、R⁴はハロゲン、ニトリルまたはトリフルオロメチルであり；

あるいはQがO、SまたはNR である場合、R⁴は水素、(C₁-C₁₀)-アルキル基、(C₂-C₁₀)-アルケニル基、(C₂-C₁₀)-アルキニル基(アルケニル基もしくはアルキニル基は1個もしくは2個のC-C多重結合を有する)；式-[CH₂]_x-C_fH_(2f+1-g)-F_gの未置換フルオロアルキル基、(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₆)-アルキル基、(C₁-C₆)-アルコキシ-(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₁-C₄)-アルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、(C₇

10

20

30

40

50

-C₁₁) - アラルキル基または下記式 Z の基 :

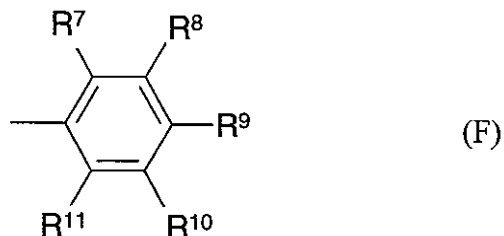


であり、

上記式において、

E はヘテロアリール基、(C₃-C₈) - シクロアルキル基または下記式 F のフェニル基であり ;

【化 8】



10

v は 0 ~ 6 であり ;

w は 0 または 1 であり ;

t は 0 ~ 3 であり ;

R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰およびR¹¹は同一または異なっており、水素、ハロゲン、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、(C₁-C₆) - アルキル、(C₃-C₈) - シクロアルキル、(C₁-C₆) - アルコキシ、-O-[CH₂]_x-C_fH_(2f+1-g)-F_g、-OCF₂-Cl、-O-CF₂-CHFCl、(C₁-C₆) - アルキルメルカプト、(C₁-C₆) - ヒドロキシアルキル、(C₁-C₆) - アルコキシ-(C₁-C₆) - アルコキシ、(C₁-C₆) - アルコキシ-(C₁-C₆) - アルキル、(C₁-C₆) - アルキルスルフィニル、(C₁-C₆) - アルキルスルホニル、(C₁-C₆) - アルキルカルボニル、(C₁-C₈) - アルコキシカルボニル、カルバモイル、N-(C₁-C₈) - アルキルカルバモイル、N,N-ジ-(C₁-C₈) - アルキルカルバモイルまたは(C₇-C₁₁) - アラルキルカルバモイルであり、これらはフッ素、塩素、臭素、トリフルオロメチル、(C₁-C₆) - アルコキシ、N-(C₃-C₈) - シクロアルキルカルバモイル、N-(C₃-C₈) - シクロアルキル-(C₁-C₄) - アルキルカルバモイル、(C₁-C₆) - アルキルカルボニルオキシ、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ベンジルオキシ、NR^YR^Z [R^YおよびR^Zは独立に、水素、(C₁-C₁₂) - アルキル、(C₁-C₈) - アルコキシ-(C₁-C₈) - アルキル、(C₇-C₁₂) - アラルコキシ-(C₁-C₈) - アルキル、(C₆-C₁₂) - アリールオキシ-(C₁-C₈) - アルキル、(C₃-C₁₀) - シクロアルキル、(C₃-C₁₂) - アルケニル、(C₃-C₁₂) - アルキニル、(C₆-C₁₂) - アリール、(C₇-C₁₁) - アラルキル、(C₁-C₁₂) - アルコキシ、(C₇-C₁₂) アラルコキシ、(C₁-C₁₂) - アルキルカルボニル、(C₃-C₈) - シクロアルキルカルボニル、(C₆-C₁₂) アリールカルボニル、(C₇-C₁₆) - アラルキルカルボニルから選択され ; あるいはさらに、R^YとR^Zが一体となって-[CH₂]_h (CH₂基はO、S、N-(C₁-C₄) - アルキルカルボニルイミノもしくはN-(C₁-C₄) - アルコキシカルボニルイミノによって置き換わっていても良い) ; フェニルメルカプト、フェニルスルホニル、フェニルスルフィニル、スルファモイル、N-(C₁-C₈) - アルキルスルファモイルまたはN,N-ジ-(C₁-C₈) - アルキルスルファモイルによって置換されていても良い ; あるいはR⁷とR⁸、R⁸とR⁹、R⁹とR¹⁰、あるいはR¹⁰とR¹¹が一体となって、-[CH₂]_n - もしくは-CH=CH-CH=CH-から選択される鎖であり、その鎖のCH₂基はO、S、SO、SO₂またはNR^Yによって置き換わっていても良く ; n は 3、4 または 5 であり ; E がヘテロアリール基である場合、前記基はR⁷ ~ R¹¹について定義したものから選択される 1 ~ 3 個の置換基を有することができ、あるいはE がシクロアルキル基である場合、その基はR⁷ ~ R¹¹について定義したものから選択される 1 個の置換基を有していても良く ;

20

30

40

あるいはQがNR⁴である場合、R⁴は別形態でR⁷であり、R⁷およびR⁸は同一であるか異なっており、水素、(C₆-C₁₂) - アリール、(C₇-C₁₁) - アラルキル、(C₁-C₈) - アルキル、(C₁-C₈) - アルコキシ-(C₁-C₈) - アルキル、(C₇-C₁₂) - アラルコキシ-(C₁-C₈) - アルキル、(C₆-C₁₂) - アリールオキシ-(C₁-C₈) - アルキル、(C₁-C₁₀) - アルキルカル

50

ボニル、置換されていても良い (C_7-C_{16}) -アラルキルカルボニルまたは置換されていても良い (C_6-C_{12}) -アリールカルボニルであり；あるいはR とR が一体となって $-[CH_2]_h$ であり、 CH_2 基はO、S、N-アシルイミノまたはN- (C_1-C_{10}) -アルコキシカルボニルイミノによって置き換わっていても良く、hは3～7であり；

YはNまたは CR^3 であり；

R^1 、 R^2 および R^3 は同一であるか異なっており、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、ニトロ、カルボキシル、(C_1-C_{20}) -アルキル、(C_3-C_8) -シクロアルキル、(C_3-C_8) シクロアルキル- (C_1-C_{12}) -アルキル、(C_3-C_8) -シクロアルコキシ、(C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、(C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、(C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_8) -アルキル- (C_1-C_6) -アルコキシ、(C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、(C_3-C_8) -シクロアルキルオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、(C_3-C_8) -シクロアルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ、(C_6-C_{12}) -アリール、(C_7-C_{16}) -アラルキル、(C_7-C_{16}) -アラルケニル、(C_7-C_{16}) -アラルキニル、(C_2-C_{20}) -アルケニル、(C_2-C_{20}) -アルキニル、(C_1-C_{20}) -アルコキシ、(C_2-C_{20}) -アルケニルオキシ、(C_2-C_{20}) -アルキニルオキシ、レチニルオキシ、(C_1-C_{20}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルキル、(C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシ、(C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、(C_6-C_{12}) -アリールオキシ、(C_7-C_{16}) -アラルキルオキシ、(C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_6) -アルコキシ、(C_7-C_{16}) -アラルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシ、(C_1-C_{16}) -ヒドロキシアリール、(C_6-C_{16}) -アリールオキシ- (C_1-C_8) -アルキル、(C_7-C_{16}) -アラルコキシ- (C_1-C_8) -アルキル、(C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、(C_7-C_{12}) -アラルキルオキシ- (C_1-C_8) -アルコキシ- (C_1-C_6) -アルキル、(C_2-C_{20}) -アルケニルオキシ- (C_1-C_6) -アルキル、(C_2-C_{20}) -アルキニルオキシ- (C_1-C_6) -アルキル、レチニルオキシ- (C_1-C_6) -アルキル、 $-O-[CH_2]_x C_f H_{(2f+1-g)} F_g$ 、 $-OCF_2 Cl$ 、 $-OCF_2-CHFCl$ 、(C_1-C_{20}) -アルキルカルボニル、(C_3-C_8) -シクロアルキルカルボニル、(C_6-C_{12}) -アリールカルボニル、(C_7-C_{16}) -アラルキルカルボニル、シンナモイル、(C_2-C_{20}) -アルケニルカルボニル、(C_2-C_{20}) -アルキニルカルボニル、(C_1-C_{20}) -アルコキシカルボニル、(C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシカルボニル、(C_6-C_{12}) -アリールオキシカルボニル、(C_7-C_{16}) -アラルコキシカルボニル、(C_3-C_8) -シクロアルコキシカルボニル、(C_2-C_{20}) -アルケニルオキシカルボニル、レチニルオキシカルボニル、(C_2-C_{20}) -アルキニルオキシカルボニル、(C_6-C_{12}) -アリールオキシ- (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、(C_7-C_{16}) -アラルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、(C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、(C_3-C_8) -シクロアルコキシ- (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、(C_1-C_{12}) -アルキルカルボニルオキシ、(C_3-C_8) -シクロアルキルカルボニルオキシ、(C_6-C_{12}) -アリールカルボニルオキシ、(C_7-C_{16}) -アラルキルカルボニルオキシ、シンナモイルオキシ、(C_2-C_{12}) -アルケニルカルボニルオキシ、(C_2-C_{12}) -アルキニルカルボニルオキシ、(C_1-C_{12}) -アルコキシカルボニルオキシ、(C_1-C_{12}) -アルコキシ- (C_1-C_{12}) -アルコキシカルボニルオキシ、(C_6-C_{12}) -アリールオキシカルボニルオキシ、(C_7-C_{16}) -アラルキルオキシカルボニルオキシ、(C_3-C_8) -シクロアルコキシカルボニルオキシ、(C_2-C_{12}) -アルケニルオキシカルボニルオキシ、(C_2-C_{12}) -アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、N- (C_1-C_{12}) -アルキルカルバモイル、N,N-ジ- (C_1-C_{12}) -アルキルカルバモイル、N- (C_3-C_8) -シクロアルキルカルバモイル、N,N-ジシクロ- (C_3-C_8) -アルキルカルバモイル、N- (C_1-C_{10}) -アルキル-N- (C_3-C_8) -シクロアルキルカルバモイル、N- (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_6) -アルキル-カルバモイル、N- (C_1-C_6) -アルキル-N- (C_3-C_8) -シクロアルキル- (C_1-C_6) -アルキル-カルバモイル、N- (+) -デヒドロアビエチルカルバモイル、N- (C_1-C_6) -アルキル-N- (+) -デヒドロアビエチルカルバモイル、N- (C_6-C_{12}) -アリールカルバモイル、N- (C_7-C_{16}) -アラルキルカルバモイル、N- (C_1-C_{10}) -アルキル-N- (C_6-C_{16}) -アリールカルバモイル、N

10

20

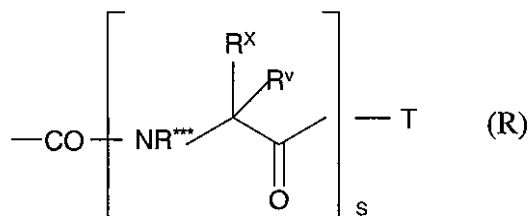
30

40

50

- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイル、N- ((C₁-C₁₈) - アルコキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル、N- ((C₆-C₁₆) - アリールオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル、N- ((C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- ((C₁-C₁₀) - アルコキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- ((C₆-C₁₂) - アリールオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- ((C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル ; CON (CH₂)_h [CH₂基はO、S、N- (C₁-C₈) - アルキルイミノ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキルイミノ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキル- (C₁-C₄) - アルキルイミノ、N- (C₆-C₁₂) - アリールイミノ、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルイミノ、N- (C₁-C₄) - アルコキシ- (C₁-C₆) - アルキルイミノによって置き換わっていても良く、hは3~7である] ; 下記式Rのカルバモイル基 :

【化9】



[式中、

R^xおよびR^yはそれぞれ独立に、水素、(C₁-C₆) - アルキル、(C₃-C₇) - シクロアルキル、アリールまたはL-およびD-アミノ酸が属する - アミノ酸の - 炭素の置換基から選択され、

sは1~5であり、

Tは、OHまたはNR^{*}R^{**}であり、R^{*}、R^{**}およびR^{***}は同一であるか異なっており、水素、(C₆-C₁₂) - アリール、(C₇-C₁₁) - アラルキル、(C₁-C₈) - アルキル、(C₃-C₈) - シクロアルキル、(+)-デヒドロアビエチル、(C₁-C₈) - アルコキシ- (C₁-C₈) - アルキル、(C₇-C₁₂) - アラルコキシ- (C₁-C₈) - アルキル、(C₆-C₁₂) - アリールオキシ- (C₁-C₈) - アルキル、(C₁-C₁₀) - アルカノイル、置換されていても良い(C₇-C₁₆) - アラルカノイル、置換されていても良い(C₆-C₁₂) - アロイルから選択され ; あるいはR^{*}とR^{**}が一体となって- [CH₂]_hであり、CH₂基はO、S、SO、SO₂、N-アシルアミノ、N- (C₁-C₁₀) - アルコキシカルボニルイミノ、N- (C₁-C₈) - アルキルイミノ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキルイミノ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキル- (C₁-C₄) - アルキルイミノ、N- (C₆-C₁₂) - アリールイミノ、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルイミノ、N- (C₁-C₄) - アルコキシ- (C₁-C₆) - アルキルイミノによって置き換わっていても良く、hは3~7である] ;

カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₂) - アルキルカルバモイルオキシ、N,N-ジ- (C₁-C₁₂) - アルキルカルバモイルオキシ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキルカルバモイルオキシ、N- (C₆-C₁₂) - アリールカルバモイルオキシ、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₆-C₁₂) - アリールカルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイルオキシ、N- ((C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイルオキシ、N- ((C₆-C₁₂) - アリールオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイルオキシ、N- ((C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- ((C₁-C₁₀) - アルコキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- ((C₆-C₁₂) - アリールオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- ((C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ- (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイルオキシ、(C₁-C₁₂) - アルキルアミノ、ジ- (C₁-C₁₂) - アルキルアミノ、(C₃-C₈) - シクロアルキルアミノ、(C₃-C₁₂) - アルケニルアミノ、(C₃-C₁₂) - アルキニルアミノ、N- (C₆-C₁₂) - アリールアミノ、N- (C₇-C₁₁) - ア

ラルキルアミノ、N-アルキル-アラルキルアミノ、N-アルキル-アリールアミノ、(C₁-C₁₂)
)-アルコキシアミノ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₁-C₁₂)
)-アルカノイルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルカノイルアミノ、(C₆-C₁₂)-アロイルア
 ミノ、(C₇-C₁₆)-アラルカノイルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アル
 キルアミノ、(C₃-C₈)-シクロアルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₆-C₁₂)
 -アロイル-N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ、(C₇-C₁₁)-アラルカノイル-N-(C₁-C₁₀)-ア
 ルキルアミノ、(C₁-C₁₂)-アルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロ
 アルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アロイルアミノ-(C₁-C₈)-アル
 キル、(C₇-C₁₆)-アラルカノイルアミノ-(C₁-C₈)-アルキル、アミノ-(C₁-C₁₀)-アル
 キル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ(C₁-C₁₀)-アルキル
 アミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ(C₁-C₁₀)-アルキル、
 (C₁-C₂₀)-アルキルメルカプト、(C₁-C₂₀)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₂₀)-アル
 キルスルホニル、(C₆-C₁₂)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₂)-アリールスルフィニル、
 (C₆-C₁₂)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラ
 ルキルスルフィニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニル、(C₁-C₁₂)-アルキルメルカプ
 ト-(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-
 C₁₂)-アルキルスルホニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールメルカプト-(C₁-
 C₆)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールスルフィニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₆-C₁₂)-ア
 リールスルホニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト-(C₁-C₆)-
 アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニル-(C₁-C₆)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラ
 ルキルスルホニル-(C₁-C₆)-アルキル、スルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルスルフ
 アモイル、N,N-ジ-(C₁-C₁₀)-アルキルスルファモイル、(C₃-C₈)-シクロアルキルスル
 ファモイル、N-(C₆-C₁₂)-アリールスルファモイル、N-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルファ
 モイル、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-N-(C₆-C₁₂)-アリールスルファモイル、N-(C₁-C₁₀)-
 アルキル-N-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルファモイル、(C₁-C₁₀)-アルキルスルホンアミ
 ド、N-(C₁-C₁₀)-アルキル-(C₁-C₁₀)-アルキルスルホンアミド、(C₇-C₁₆)-アラ
 ルキルスルホンアミドおよびN-(C₁-C₁₀)-アルキル-(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホン
 アミドであり；アリール基は、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、
 ニトロ、カルボキシル、(C₂-C₁₆)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキル、(C₃-C₈)-
 シクロアルキル-(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルコキシ、(C₃-C₈)-シクロ
 アルキル-(C₁-C₁₂)-アルコキシ、(C₃-C₈)-シクロアルキルオキシ-(C₁-C₁₂)-アルキ
 ル、(C₃-C₈)-シクロアルキルオキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキシ、(C₃-C₈)-シクロアルキ
 ル-(C₁-C₈)-アルキル-(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₃-C₈)-シクロアルキル(C₁-C₈)-ア
 ルコキシ-(C₁-C₆)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルオキシ-(C₁-C₈)-アルコキシ
 -(C₁-C₆)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルコキシ-(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₈)-
 アルコキシ、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₇-C₁₆)-アラルキル、(C₂-C₁₆)-アルケニル、
 (C₂-C₁₂)-アルキニル、(C₁-C₁₆)-アルコキシ、(C₁-C₁₆)-アルケニルオキシ、(C₁-
 C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)-アルコキ
 シ、(C₁-C₁₂)-アルコキシ(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-ア
 リールオキシ、(C₇-C₁₆)-アラルキルオキシ、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₆)-
 アルコキシ、(C₇-C₁₆)-アラルコキシ-(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₈)-ヒドロキシアル
 キル、(C₆-C₁₆)-アリールオキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₆)-アラルコキシ-(
 C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₆)-アル
 キル、(C₇-C₁₂)-アラルキルオキシ-(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₆)-アルキル、-O-[
 CH₂]_xC_fH_(2f+1-g)F_g、-OCF₂Cl、-OCF₂-CHFCl、(C₁-C₁₂)-アルキルカルボニル、(C₃-
 C₈)-シクロアルキルカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラル
 キルカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシカルボニル、(C₁-C₁₂)-アルコキシ-(C₁-C₁₂)
)-アルコキシカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシカルボニル、(C₇-C₁₆)-アラル
 コキシカルボニル、(C₃-C₈)-シクロアルコキシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルケニルオ
 キシカルボニル、(C₂-C₁₂)-アルキニルオキシカルボニル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ

10

20

30

40

50

- (C₁-C₆) - アルコキシカルボニル、(C₇-C₁₆) - アラルコキシ - (C₁-C₆) - アルコキシカルボニル、(C₃-C₈) - シクロアルキル - (C₁-C₆) - アルコキシカルボニル、(C₃-C₈) - シクロアルコキシ - (C₁-C₆) - アルコキシカルボニル、(C₁-C₁₂) - アルキルカルボニルオキシ、(C₃-C₈) - シクロアルキルカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂) - アリールカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆) - アラルキルカルボニルオキシ、シンナモイルオキシ、(C₂-C₁₂) - アルケニルカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂) - アルキニルカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂) - アルコキシカルボニルオキシ、(C₁-C₁₂) - アルコキシ - (C₁-C₁₂) - アルコキシカルボニルオキシ、(C₆-C₁₂) - アリールオキシカルボニルオキシ、(C₇-C₁₆) - アラルキルオキシカルボニルオキシ、(C₃-C₈) - シクロアルコキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂) - アルケニルオキシカルボニルオキシ、(C₂-C₁₂) - アルキニルオキシカルボニルオキシ、カルバモイル、N - (C₁-C₁₂) - アルキルカルバモイル、N,N-ジ(C₁-C₁₂) - アルキルカルバモイル、N- (C₃-C₈) - シクロアルキルカルバモイル、N,N-ジシクロ - (C₃-C₈) - アルキルカルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₃-C₈) - シクロアルキルカルバモイル、N- (C₃-C₈) - シクロアルキル - (C₁-C₆) - アルキル) カルバモイル、N- (C₁-C₆) - アルキル-N- (C₃-C₈) - シクロアルキル - (C₁-C₆) - アルキル) カルバモイル、N- (+) - デヒドロアビエチルカルバモイル、N- (C₁-C₆) - アルキル-N- (+) - デヒドロアビエチルカルバモイル、N- (C₆-C₁₂) - アリールカルバモイル、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₆-C₁₆) - アリールカルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイル、N- (C₁-C₁₆) - アルコキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイル、N- (C₆-C₁₆) - アリールオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイル、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₁-C₁₀) - アルコキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₆-C₁₂) - アリールオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイル、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) - カルバモイル、CON(CH₂)_h [CH₂基は、O、S、N- (C₁-C₈) - アルキルイミノ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキルイミノ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキル - (C₁-C₄) - アルキルイミノ、N- (C₆-C₁₂) - アリールイミノ、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルイミノ、N- (C₁-C₄) - アルコキシ - (C₁-C₆) - アルキルイミノによって置き換わっていても良く、hは3 ~ 7である] ; カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₂) - アルキルカルバモイルオキシ、N,N-ジ - (C₁-C₁₂) - アルキルカルバモイルオキシ、N- (C₃-C₈) - シクロアルキルカルバモイルオキシ、N- (C₆-C₁₆) - アリールカルバモイルオキシ、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₆-C₁₂) - アリールカルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₇-C₁₆) - アラルキルカルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイルオキシ、N- (C₆-C₁₂) - アリールオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイルオキシ、N- (C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₁-C₁₀) - アルコキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₆-C₁₂) - アリールオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイルオキシ、N- (C₁-C₁₀) - アルキル-N- (C₇-C₁₆) - アラルキルオキシ - (C₁-C₁₀) - アルキル) カルバモイルオキシ、アミノ、(C₁-C₁₂) - アルキルアミノ、ジ - (C₁-C₁₂) - アルキルアミノ、(C₃-C₈) - シクロアルキルアミノ、(C₃-C₁₂) - アルケニルアミノ、(C₃-C₁₂) - アルキニルアミノ、N- (C₆-C₁₂) - アリールアミノ、N- (C₇-C₁₁) - アラルキルアミノ、N-アルキル-アラルキルアミノ、N-アルキル-アリールアミノ、(C₁-C₁₂) - アルコシミアミノ、(C₁-C₁₂) - アルコキシ-N- (C₁-C₁₀) - アルキルアミノ、(C₁-C₁₂) - アルカノイルアミノ、(C₃-C₈) - シクロアルカノイルアミノ、(C₆-C₁₂) - アロイルアミノ、(C₇-C₁₆) - アラルカノイルアミノ、(C₁-C₁₂) - アルカノイル-N- (C₁-C₁₀) - アルキルアミノ、(C₃-C₈) - シクロアルカノイル-N- (C₁-C₁₀) - アルキルアミノ、(C₆-C₁₂) - アロイル-N- (C₁-C₁₀) - アルキルアミノ、(C₇-C₁₁) - アラルカノイル-N- (C₁-C₁₀) - アルキルアミノ、(C₁-C₁₂) - アルカノイルアミノ - (C₁-C₈) - アルキル、(C₃-C₈) - シクロアルカノイルアミノ - (C₁-C₈) - アルキル、(C₆-C₁₂) - アロイルアミノ - (C₁-C₈) - アルキル、(C₇-C₁₆) - アラルカノイルアミノ - (C₁-C₈) - アルキル、アミノ - (C₁-C₁

0) -アルキル、N-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、N,N-ジ-(C₁-C₁₀)-アルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₃-C₈)-シクロアルキルアミノ-(C₁-C₁₀)-アルキル、(C₁-C₁₂)-アルキルメルカプト、(C₁-C₁₂)-アルキルスルフィニル、(C₁-C₁₂)-アルキルスルホニル、(C₆-C₁₆)-アリールメルカプト、(C₆-C₁₆)-アリールスルフィニル、(C₆-C₁₆)-アリールスルホニル、(C₇-C₁₆)-アラルキルメルカプト、(C₇-C₁₆)-アラルキルスルフィニルまたは(C₇-C₁₆)-アラルキルスルホニルから選択される1~5個の置換基によって置換されていても良く；

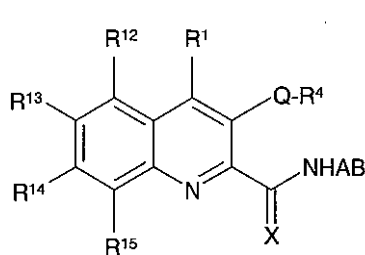
あるいはR¹とR²、またはR²とR³が鎖[CH₂]₀を形成しており、それは飽和しているかC=C二重結合によって不飽和となっており、1個もしくは2個のCH₂基がO、S、SO、SO₂またはNRによって置き換わっていても良く、Rは水素、(C₆-C₁₂)-アリール、(C₁-C₈)-アルキル、(C₁-C₈)-アルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₇-C₁₂)-アラルコキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₆-C₁₂)-アリールオキシ-(C₁-C₈)-アルキル、(C₁-C₁₀)-アルカノイル、置換されていても良い(C₇-C₁₆)-アラルカノイルまたは置換されていても良い(C₆-C₁₂)-アロイルであり；oは3、4または5であり；

あるいは前記の基R¹およびR²、またはR²およびR³がそれらを有するピリジンもしくはピリダジンと一体となって、5,6,7,8-テトラヒドロイソキノリン環、5,6,7,8-テトラヒドロキノリン環または5,6,7,8-テトラヒドロシンノリン環を形成しており；

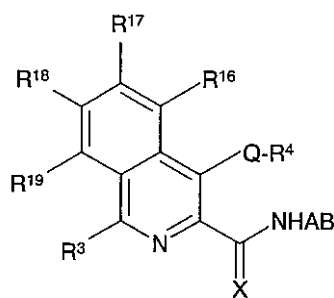
あるいはR¹とR²、またはR²とR³が、炭素環系もしくは複素環系で5員もしくは6員の芳香族環を形成しており；

あるいはR¹およびR²、またはR²およびR³がそれらを有するピリジンもしくはピリダジンと一体となって、エチノピリジン類、フラノピリジン類、ピリドピリジン類、ピリミジノピリジン類、イミダゾピリジン類、チアゾロピリジン類、オキサゾロピリジン類、キノリン、イソキノリンおよびシンノリンから選択される置換されていても良い複素環系を形成しており；キノリン、イソキノリンまたはシンノリンは好ましくは、下記式Ia、IbおよびIcを満足しており；

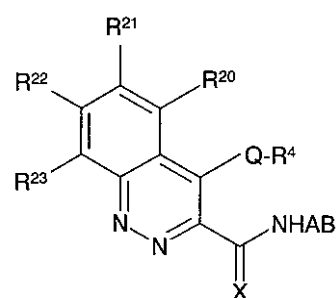
【化10】



(Ia)



(Ib)



(Ic)

各場合における前記置換基R¹²~R²³は互いに独立に、R¹、R²およびR³の意味を有しており；

あるいは前記基R¹およびR²はそれらを有するピリジンと一体となって、下記式Idの化合物；

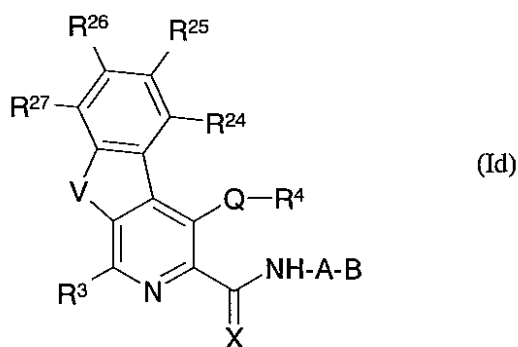
10

20

30

40

【化 1 1】



10

を形成しており、式中においてVはS、OまたはNR^kであり、R^kは水素、(C₁-C₆)-アルキル、アリールまたはベンジルから選択され；アリール基は上記で定義した1～5個の置換基によって置換されていても良く；

各場合におけるR²⁴、R²⁵、R²⁶およびR²⁷は互いに独立に、R¹、R²およびR³の意味を有し；

fは1～8であり；

gは0もしくは1～(2f+1)であり；

xは0～3であり；

hは3～7である。

20

【0070】

式(I)による化合物の例は、欧州特許EP0650960およびEP0650961に記載されている。EP0650960およびEP0650961に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。式(I)の化合物の例には、[(3-ヒドロキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸(化合物G)および[(3-メトキシ-ピリジン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸(化合物P)などがあるが、それらに限定されるものではない。

【0071】

さらに、式(I)による化合物の例は、米国特許第5658933号に記載されている。米国特許第5658933号に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。式(I)の化合物の例には、3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ヘキサデシルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド塩酸塩、3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((1-オクチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ヘキシルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ブチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((2-ノニルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド・ラセミ体、3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ヘプチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、3-ベンジルオキシピリジン-2-カルボン酸N-((オクチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、3-ベンジルオキシピリジン-2-カルボン酸N-((ブチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミド、5-((3-(1-ブチルオキシ)-プロピル)-アミノ)-カルボニル)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ベンジルオキシカルボニル)-メチル)-アミド、5-((3-(1-ブチルオキシ)-プロピル)-アミノ)-カルボニル)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((1-ブチルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミドおよび5-((3-ラウリルオキシ)-プロピル)-アミノ)-カルボニル)-3-メトキシピリジン-2-カルボン酸N-((ベンジルオキシ)-カルボニル)-メチル)-アミドなどがあるが、それらに限定されるものではない。

30

40

【0072】

式(I)による別の化合物は、米国特許第5620995号に記載の置換複素環カルボキシア

50

ミド類；米国特許第6020350号に記載の3-ヒドロキシピリジン-2-カルボキサミドエステル類；米国特許第5607954号に記載のスルホンアミドカルボニルピリジン-2-カルボキサミド類；ならびに米国特許第5610172号および5620996号に記載のスルホンアミドカルボニル-ピリジン-2-カルボキサミド類およびスルホンアミドカルボニル-ピリジン-2-カルボキサミドエステル類である。これら特許に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。

【0073】

式(1a)による化合物の例は、米国特許第5719164号および5726305号に記載されている。前記特許に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。式(1a)の化合物の例には、N-((3-ヒドロキシ-6-イソプロポキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ)-酢酸(化合物H)、N-((6-(1-ブチルオキシ)-3-ヒドロキシキノリン-2-イル)-カルボニル)-グリシン、[(3-ヒドロキシ-6-トリフルオロメトキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸(化合物I)、N-((6-クロロ-3-ヒドロキシキノリン-2-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((7-クロロ-3-ヒドロキシキノリン-2-イル)-カルボニル)-グリシンおよび[(6-クロロ-3-ヒドロキシ-キノリン-2-カルボニル)-アミノ]-酢酸(化合物O)などがあるが、これらに限定されるものではない。

【0074】

式(1b)による化合物の例は、米国特許第6093730号に記載されている。米国特許第6093730号に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。式(1b)の化合物の例には、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-7-(2-プロピルオキシ)イソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-6-(2-プロピルオキシ)イソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸(化合物B)、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-7-メトキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((1-クロロ-4-ヒドロキシ-6-メトキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((7-ブチルオキシ)-1-クロロ-4-ヒドロキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((6-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸(化合物J)、((7-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸メチルエステル(化合物K)、N-((7-ベンジルオキシ-1-クロロ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸(化合物L)、N-((8-クロロ-4-ヒドロキシイソキノリン-3-イル)-カルボニル)-グリシン、N-((7-ブトキシ-4-ヒドロキシ-イソキノリン-3-カルボニル)-アミノ)-酢酸(化合物M)などがあるが、これらに限定されるものではない。

【0075】

さらに、本発明の方法で用いることができる式(I)に関する化合物には、6-シクロヘキシル-1-ヒドロキシ-4-メチル-1H-ピリジン-2-オン(化合物N)、7-(4-メチル-ピペラジン-1-イルメチル)-5-フェニルスルファニルメチル-キノリン-8-オール(化合物D)、4-ニトロ-キノリン-8-オール(化合物E)および5-ブトキシメチル-キノリン-8-オール(化合物F)などがあるが、それらに限定されるものではない。さらに本発明は、例えば位置AおよびBが一体となって、例えばヘキサノ酸、シアノメチル、2-アミノエチル、安息香酸、1H-ベンズイミダゾール-2-イルメチルなどであることができる別の化合物例を提供する。

【0076】

他の実施形態において本発明の方法で使用される化合物は、下記式(II)の化合物から選択され、それから誘導される製薬上許容塩およびプロドラッグが含まれる。

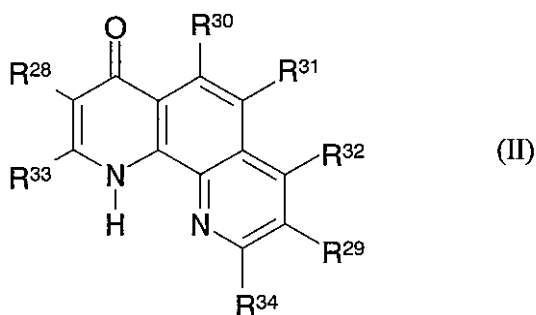
10

20

30

40

【化 1 2】



10

式中、

R^{28} は、水素、ニトロ、アミノ、シアノ、ハロゲン、 (C_1-C_4) -アルキル、カルボキシまたはその代謝を受けやすいエステル誘導体； (C_1-C_4) -アルキルアミノ、ジ- (C_1-C_4) -アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、 (C_2-C_4) -アルカノイル、ヒドロキシ- (C_1-C_4) -アルキル、カルバモイル、N- (C_1-C_4) -アルキルカルバモイル、 (C_1-C_4) -アルキルチオ、 (C_1-C_4) -アルキルスルフィニル、 (C_1-C_4) -アルキルスルホニル、フェニルチオ、フェニルスルフィニル、フェニルスルホニルであり、前記フェニルまたは
20 フェニル基は 1 ~ 4 個の同一または異なるハロゲン、 (C_1-C_4) -アルコキシ、 (C_1-C_4) -アルキル、シアノ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、フルオロ- (C_1-C_4) -アルキルチオ、フルオロ- (C_1-C_4) -アルキルスルフィニル、フルオロ- (C_1-C_4) -アルキルスルホニル、 (C_1-C_4) -アルコキシ- (C_2-C_4) -アルコキシカルボニル、N,N-ジ- $[(C_1-C_4)$ -アルキル]カルバモイル- (C_1-C_4) -アルコキシカルボニル、 (C_1-C_4) -アルキルアミノ- (C_2-C_4) -アルコキシカルボニル、ジ- (C_1-C_4) -アルキルアミノ- (C_2-C_4) -アルコキシカルボニル、 (C_1-C_4) -アルコキシ- (C_2-C_4) -アルコキシ- (C_2-C_4) -アルコキシカルボニル、 (C_2-C_4) -アルカノイルオキシ- C_1-C_4 -アルキルまたはN- $[\text{アミノ}-(C_2-C_8)$ -アルキル]-カルバモイルによって置換されていても良く；

20

R^{29} は、水素、ヒドロキシ、アミノ、シアノ、ハロゲン、 (C_1-C_4) -アルキル、カルボキシまたはその代謝を受けやすいエステル誘導体、 (C_1-C_4) -アルキルアミノ、ジ- (C_1-C_4) -アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルコキシカルボニル、 (C_2-C_4) -アルカノイル、 (C_1-C_4) -アルコキシ、カルボキシ- (C_1-C_4) -アルコキシ、 (C_1-C_4) -アルコキシカルボニル- (C_1-C_4) -アルコキシ、カルバモイル、N- (C_1-C_8) -アルキルカルバモイル、N,N-ジ- (C_1-C_8) -アルキルカルバモイル、N- $[\text{アミノ}-(C_2-C_8)$ -アルキル]-カルバモイル、N- $[(C_1-C_4)$ -アルキルアミノ- (C_1-C_8) -アルキル]-カルバモイル、N- $[\text{ジ}-(C_1-C_4)$ -アルキルアミノ- (C_1-C_8) -アルキル]-カルバモイル、N-シクロヘキシルカルバモイル、N- $[\text{シクロペンチル}]-カルバモイル$ 、N- (C_1-C_4) -アルキルシクロヘキシルカルバモイル、N- (C_1-C_4) -アルキルシクロペンチルカルバモイル、N-フェニルカルバモイル、N- (C_1-C_4) -アルキル-N-フェニルカルバモイル、N,N-ジフェニルカルバモイル、N- $[\text{フェニル}-(C_1-C_4)$ -アルキル]-カルバモイル、N- (C_1-C_4) -アルキル-N- $[\text{フェニル}-(C_1-C_4)$ -アルキル]-カルバモイルまたはN,N-ジ- $[\text{フェニル}-(C_1-C_4)$ -アルキル]-カルバモイルであり、前記フェニルまたはフェニル基は 1 ~ 4 個の同一または異なるハロゲン、 (C_1-C_4) -アルコキシ、 (C_1-C_4) -アルキル、シアノ、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、N- $[(C_2-C_4)$ -アルカノイル]-カルバモイル、N- $[(C_1-C_4)$ -アルコキシカルボニル]-カルバモイル、N- $[\text{フルオロ}-(C_2-C_6)$ -アルキル]-カルバモイル、N,N- $[\text{フルオロ}-(C_2-C_6)$ -アルキル]-N- (C_1-C_4) -アルキルカルバモイル、N,N- $[\text{ジ}-(C_2-C_6)$ -アルキル]-カルバモイル、ピロリジン-1-イルカルボニル、ピペリジノカルボニル、ピペラジン-1-イルカルボニル、モルホリノカルボニルで置換されていても良く、前記複素環基は、1 ~ 4 個の (C_1-C_4) -アルキル、ベンジル、1,2,3,4-テトラヒドロ-イソキノリン-
50

30

40

50

2-イルカルボニル、N,N-[ジ-(C₁-C₄)-アルキル]-チオカルバモイル、N-(C₂-C₄)-アルカノイルアミノまたはN-[(C₁-C₄)-アルコシカルボニル]-アミノで置換されていても良く；

R³⁰は、水素、(C₁-C₄)-アルキル、(C₂-C₄)-アルコキシ、ハロ、ニトロ、ヒドロキシ、フルオロ-(1-4C)アルキルまたはピリジニルであり；

R³¹は、水素、(C₁-C₄)-アルキル、(C₂-C₄)-アルコキシ、ハロ、ニトロ、ヒドロキシ、フルオロ-(C₁-C₄)-アルキル、ピリジニルまたはメトキシであり；

R³²は、水素、ヒドロキシ、アミノ、(C₁-C₄)-アルキルアミノ、ジ-(C₁-C₄)-アルキルアミノ、ハロ、(C₁-C₄)-アルコキシ-(C₂-C₄)-アルコキシ、フルオロ-(C₁-C₆)-アルコキシ、ピロリジン-1-イル、ピペリジノ、ピペラジン-1-イルまたはモルホリノであり、前記複素環基は1～4個の同一または異なる(C₁-C₄)-アルキルまたはベンジルによって置換されていても良く；

R³³およびR³⁴は個々に、水素、(C₁-C₄)-アルキルおよび(C₁-C₄)-アルコキシから選択される。

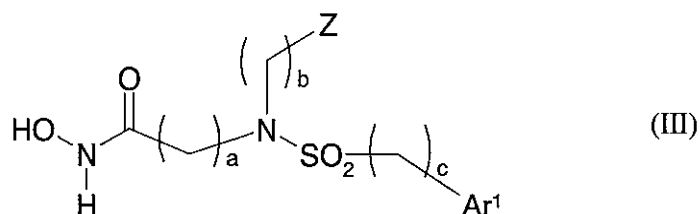
【0077】

式(II)の化合物の例は、米国特許第5916898号および6200974号ならびに国際公開W099/21860に記載されている。上記特許および公開に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。式(II)の化合物の例には、4-オキソ-1,4-ジヒドロ-[1,10]フェナントロリン-3-カルボン酸(化合物A)(例えば、Seki et al. (1974) Chem Abstracts 81:424, No. 21参照)、3-カルボキシ-5-ヒドロキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロ-1,10-フェナントロリン、3-カルボキシ-5-メトキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロ-1,10-フェナントロリン、5-メトキシ-4-オキソ-1,4-ジヒドロ-[1,10]フェナントロリン-3-カルボン酸エチルエステル、5-メトキシ-4-オキソ-1,4-ジヒドロ-[1,10]フェナントロリン-3-カルボン酸(化合物Q)および3-カルボキシ-8-ヒドロキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロ-1,10-フェナントロリンなどがある。

【0078】

他の実施形態において、本発明の方法で使用される化合物は、下記式(III)の化合物またはその製薬上許容される塩：

【化13】



[式中、

aは1～4の整数であり；

bは0～4の整数であり；

cは0～4の整数であり；

Zは、(C₃-C₁₀)シクロアルキル、独立に1以上のY¹で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、3～10員の複素環アルキルおよび独立に1以上のY¹で置換された3～10員の複素環アルキル；(C₅-C₂₀)アリール、独立に1以上のY¹で置換された(C₅-C₂₀)アリール、5～20員のヘテロアリールおよび独立に1以上のY¹で置換された5～20員のヘテロアリールからなる群から選択され；

Ar¹は、(C₅-C₂₀)アリール、独立に1以上のY²で置換された(C₅-C₂₀)アリール、5～20員のヘテロアリールおよび独立に1以上のY²で置換された5～20員のヘテロアリール

からなる群から選択され；

各 Y^1 は独立に、親油性官能基、(C_5 - C_{20})アリール、(C_6 - C_{26})アルカリール、5～20員のヘテロアリールおよび6～26員のアルク-ヘテロアリールからなる群から選択され；

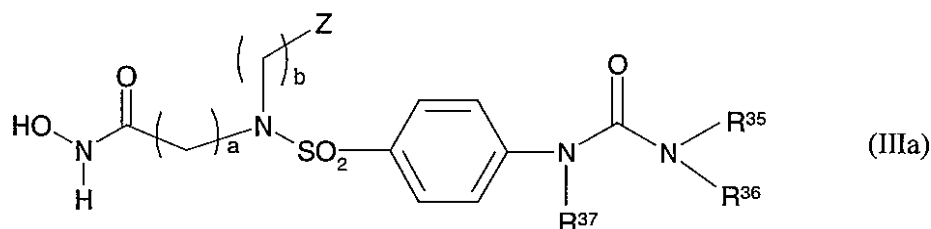
各 Y^2 は独立に、-R、-OR、-OR、-SR、-SR、-NR R 、-NO $_2$ 、-CN、-ハロゲン、-トリハロメチル、トリハロメトキシ、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)NR R 、-C(O)NR OR 、-C(NR R)=NOR、-NR-C(O)R、-SO $_2$ R、-SO $_2$ R、-NR-SO $_2$ -R、-NR-C(O)-NR R 、テトラゾール-5-イル、-NR-C(O)-OR、-C(NR R)=NR、-S(O)-R、-S(O)-Rおよび-NR-C(S)-NR R からなる群から選択され；

各Rは、独立に-H、(C_1 - C_8)アルキル、(C_2 - C_8)アルケニルおよび(C_2 - C_8)アルキニルからなる群から選択され；

各Rは、独立に(C_5 - C_{20})アリールおよび独立に1以上の-OR、-SR、-NR R 、-NO $_2$ 、-CN、ハロゲンまたはトリハロメチル基で置換された(C_5 - C_{20})アリールからなる群から選択される。]から選択されるか、

あるいはcが0であり、Ar 1 がN置換尿素-アリールである場合、前記化合物は下記構造式(IIIa)を有するか、その製薬上許容される塩である。

【化14】



式中、

a、bおよびZは上記で定義した通りであり；

R 35 およびR 36 はそれぞれ独立に、水素、(C_1 - C_8)アルキル、(C_2 - C_8)アルケニル、(C_2 - C_8)アルキニル、(C_3 - C_{10})シクロアルキル、(C_5 - C_{20})アリール、(C_5 - C_{20})置換アリール、(C_6 - C_{26})アルカリール、(C_6 - C_{26})置換アルカリール、5～20員のヘテロアリール、5～20員の置換ヘテロアリール、6～26員のアルク-ヘテロアリールおよび6～26員の置換アルク-ヘテロアリールからなる群から選択され；

R 37 は独立に、水素、(C_1 - C_8)アルキル、(C_2 - C_8)アルケニルおよび(C_2 - C_8)アルキニルからなる群から選択される。

【0079】

式(III)の化合物の例は、国際公開W000/50390に記載されている。W000/50390に挙げられている全ての化合物、特に化合物の請求項に挙げられた化合物および実施例の最終生成物は、本明細書において参照によって本願に組み込まれるものとする。式(III)の化合物の例には、3-{[4-(3,3-ジベンジル-ウレイド)-ベンゼンスルホニル]-[2-(4-メトキシ-フェニル)-エチル]-アミノ}-N-ヒドロキシ-プロピオンアミド(化合物C)、3-{[4-[3-(4-クロロ-フェニル)-ウレイド]-ベンゼンスルホニル]-[2-(4-メトキシ-フェニル)-エチル]-アミノ}-N-ヒドロキシ-プロピオンアミドおよび3-{[4-[3-(1,2-ジフェニル-エチル)-ウレイド]-ベンゼンスルホニル]-[2-(4-メトキシ-フェニル)-エチル]-アミノ}-N-ヒドロキシ-プロピオンアミドなどがある。

【0080】

活性に関するFe $^{2+}$ および2-オキシグルタル酸への依存性などの2-オキシグルタル酸ジオキシゲナーゼファミリーメンバーの共通の作用機序に基づく、ある種の態様において本発明は、本明細書に記載の化合物などの化合物のHIFヒドロキシル化を阻害することで、酸素に依存せずにHIFを安定化する上での使用に関するものである。さらに、本発明

の実施例および図は、そのような化合物を用いることでHIF が安定化され、その後にin vitroおよびin vivoでHIF調節遺伝子産物が誘発されることを示している。具体的な実施形態では、これらの化合物を用いて、虚血状態および低酸素状態の予防および治療において具体的な効果が得られる。

【0081】

本発明の方法は、正常酸素環境で増殖した細胞において用量依存的にHIF を安定化するものである。本発明の化合物存在下では、異なる種類の細胞は異なるHIF レベルを示すが、調べた細胞系はいずれも、ある程度のレベルのHIF 安定化を示した。未処理細胞におけるHIF のレベルは通常、低レベルないし検出できないものである。

【0082】

HIF の安定化によって、VEGF、Flt-1、EG-VEGF、PAI-1、アドレノメジュリンおよびCyr61などの血管由来因子をコードする遺伝子などのin vitroおよびin vivoでのHIF依存遺伝子発現が生じる。そこで、HIF を安定化させる能力は、血管新生の誘発および虚血および低酸素症による組織損傷の予防において有効である可能性がある。例えば、表皮で構成的に活性なHIF-1 を発現するトランスジェニックマウスは、各VEGFイソ型の発現増強および皮膚毛細血管の有意な増加を示す。あるVEGFイソ型単独の過剰発現とは異なり、HIF 誘発の血管過多は、浮腫、炎症および血管漏出を示さない (Elson et al. (2001) Genes Dev 15:2520-2532; Detmar et al. (1998) J Invest Derm 111:1-6; Larcher et al. (1998) Oncogene 17:303-311; および Thurston et al. (1999) Science 286:2511-2514 参照)。従ってある種の態様では、本発明の方法を用いて、側副血管の形成による虚血組織の再血管形成が関与する治療的血管新生を誘発することができる。

【0083】

さらに本発明の方法は、細胞の生存性に対して影響を与えることなく、細胞における酸素消費の用量依存的低下を生じさせる。安定なHIF複合体は、グルコーストランスポーター (GluT) -1およびGluT-3; アルドラーゼ-A、エノラーゼ-1、ヘキソキナーゼ-1および-2、ならびにホスホフルクトキナーゼ-Lおよび-Cなどのグルコース取り込みおよび利用に關与するタンパク質の発現を活性化する。HIF 安定化に関連する酸素消費低下は、恐らくは好氣的エネルギー生産から嫌氣的エネルギー生産への細胞代謝におけるシフトによるものである。そこで本発明は、低酸素条件下でエネルギーを発生させるのに利用することができ、例えば末梢動脈疾患、DVT、狭心症、肺塞栓症、脳梗塞および心筋梗塞などの虚血および低酸素状態において有効である。糖尿病などの他の症状の治療に利用可能な、身体の細胞によるグルコース取り込みおよび利用を増加させる方法も提供される。

【0084】

本発明はさらに、赤血球生成を誘発し、鉄の輸送および利用を促進することによる酸素運搬能を上昇させる方法をも提供する。具体的には本発明の方法は、赤血球産生を刺激する天然ホルモンであるエリスロポエチン (EPO) の発現を増加させる (例えば、同日出願の共有で同時係属中の米国特許出願第_____号 (発明の名称「内因性エリスロポエチン (EPO) を増加させる方法」 (参照によって全内容が本明細書に組み込まれる) 参照)。鉄の取り込み、輸送および処理に關与する酵素およびタンパク質の発現を増加させる方法が具体的に考えられる。そのような酵素およびタンパク質には、例えば赤血球系組織による鉄の輸送および取り込みを共に促進するトランスフェリンおよびトランスフェリン受容体; ならびに第一鉄を第二鉄に酸化するのに必要なフェロキシダーゼであるセルロプラスミンなどがあるが、それらに限定されるものではない。トランスフェリンは第二鉄のみに結合しそれを輸送することができることから、鉄を組織に供給するにはセルロプラスミンが重要である。本発明の方法が内因性エリスロポエチンならびに鉄の輸送および利用の両方を増加させる能力は、正常酸素環境および低酸素環境の両方における酸素送達において特に有利である。

【0085】

1 態様において本発明には、例えばHIF を安定化することによって神経保護性効果を提供する方法などがある。例えばVEGFおよびEPOのいずれも、神経保護性であることが明

10

20

30

40

50

らかなっている（例えば、Jin et al. (2000) Proc Natl Acad Sci USA. 97:10242-10247 Bocker-Meffert et al. (2002) Invest Ophthalmol Vis Sci 43:2021-2026; Buemi et al. (2002) Clin Sci (Lond) 103:275-282; および Siren et al. (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98:4044-4049参照）。EPOはまた、脊髄損傷からの回復を促進し、虚血性事象前に誘発されると神経保護効果を提供する（例えば、Gorio et al. (2002) Proc Natl Acad Sci USA 99:9450-9455; および Dawson (2002) Lancet 359:96-97参照）。本発明の方法はVEGFおよびEPOなどの神経保護因子の発現を増加させることから、その方法は、例えば糖尿病性神経症、脳梗塞、神経変性疾患、外傷、損傷（例：振盪、脊髄損傷など）などの治療、前治療または予防に利用可能であるか、あるいは脳虚血再灌流障害を生じる場合のある手術前に利用することができる神経保護効果を提供する。

10

【0086】

低酸素プレコンディショニングは、後の急性虚血性傷害に対して効果的に保護を行うことが明らかになっている。低酸素症の主要な効果はHIF の安定化とその後のHIF調節遺伝子の活性化であることから、本発明の方法は、正常酸素環境での低酸素プレコンディショニングを模倣するものである。例えば前記方法は、虚血性再灌流傷害が患者において有害な結果を生じると予想される手術前に用いることができる。そのような予防療法は、虚血性事象に先だって用いると、単回投与または連続投与で、その事象の前のいずれの時点においても提供可能である。

【0087】

本発明の方法はまた、酸化ストレスおよび血管緊張に関連する遺伝子を同等に上昇させる。そのような遺伝子には、例えば誘導一酸化窒素シンターゼ（iNOS）およびヘムオキシゲナーゼ1などがある。iNOSの産生は、いくつかの動物モデルにおいて低酸素プレコンディショニングの有用な効果にも関連している（例えば、Serracino-Inglott et al. (2002) BMC Gastroenterol 2:22-27; Kuntscher et al. (2002) Br J Plast Surg 55:430-433参照）。重要な点として、iNOS活性の遮断はプレコンディショニングの有用な効果を低下させるが消滅させるものではなく、一方、タンパク質 産生の非特異的遮断はプレコンディショニングの効果を完全に消滅させる（Wang et al. (2002) Cardiovasc Res 56:33-42）。これは、iNOSがプレコンディショニングに対する生理的応答の重要な要素であるが、唯一の因子ではないことを示唆するものである。本発明の方法は低酸素応答に関連するiNOSなどの各種因子を同等に調節することから、本発明の方法は低酸素プレコンディショニングの有用な効果をより正確に再現するものである。

20

30

【0088】

本発明の化合物の使用法

本発明は、HIF ヒドロキシル化を阻害することで、HIFを安定化させ、HIF調節遺伝子発現を活性化させる方法を提供する。その方法は、虚血状態および低酸素状態などのHIFに関連する状態の予防、前治療または治療に適用することができる。そのような状態には、例えば心筋梗塞、肝臓虚血、腎臓虚血および脳梗塞；末梢血管障害、潰瘍、火傷および慢性創傷；肺塞栓症；ならびに例えば手術および臓器移植に関連する虚血再灌流損傷などの虚血性再灌流損傷などがある。1実施形態において本発明は、特に心筋梗塞、脳梗塞または腎臓虚血性再灌流損傷に関連する虚血または低酸素症の前、途中もしくは直後にHIFを安定化させる方法を提供する。

40

【0089】

1態様において本発明は、特に本明細書に記載の化合物を用いた、各種虚血性状態および低酸素状態を治療する方法を提供する。1実施形態において前記本発明の方法は、虚血または低酸素症後に投与した場合に治療効果を生じる。例えば本発明の方法は、心筋梗塞後の死亡率（morbidity and mortality）の大幅低下、ならびに心臓の構造および能力における大幅な改善を生じる。さらに本発明の方法は、肝臓毒性虚血性損傷後に投与した場合に肝臓機能を改善する。低酸素症は、特にエタノールなどの肝臓毒性化合物に関連する慢性肝臓疾患における、肝臓疾患の重要な要素である。さらに、例えば一酸化窒素シンターゼおよびグルコーストランスポーター-1などのHIF によって誘発されることが知られ

50

ている遺伝子の発現が、アルコール性肝臓疾患で増加する（例えば、Areel et al. (1997) Hepatology 25:920-926; Strubelt (1984) Fundam Appl Toxicol 4:144-151; Sato (1983) Pharmacol Biochem Behav 18 (Suppl 1):443-447; Nanji et al. (1995) Am J Pathol 146:329-334; および Morio et al. (2001) Toxicol Appl Pharmacol 172:44-51参照）。

【0090】

従って本発明は、虚血または低酸素症に関連する状態の治療方法であって、対象に対して単独でまたは製薬上許容される賦形剤と組み合わせて、治療上有効量の化合物またはその製薬上許容される塩を投与することを含む方法を提供する。1実施形態において前記化合物は、急性虚血を生じる状態、例えば心筋梗塞、肺塞栓症、腸梗塞、虚血性脳梗塞および腎臓虚血性再灌流損傷直後に投与される。別の実施形態において前記化合物は、心臓性肝硬変、黄斑変性、肺塞栓症、急性呼吸不全、新生児呼吸困難症候群および鬱血性心不全などの慢性虚血の発症に関連する状態であると診断された患者に対して投与される。さらに別の実施形態において前記化合物は、外傷または損傷の直後に投与される。

10

【0091】

別の態様において本発明は、虚血状態または低酸素状態を発症するリスクを有する患者、例えばアテローム性動脈硬化などのリスクが高い個体を治療する方法であって、本明細書に記載の化合物を使用する方法を提供する。アテローム性動脈硬化のリスク因子には、例えば高脂血症、喫煙、高血圧、糖尿病、高インシュリン血症および腹部肥満などがある。従って本発明は、虚血性組織損傷を予防する方法であって、処置を必要とする患者に対して、単独でまたは製薬上許容される賦形剤と組み合わせて治療上有効量の化合物またはその製薬上許容される塩を投与することを含む方法を提供する。1実施形態において前記化合物は、高血圧、糖尿病、閉塞性動脈疾患、慢性静脈不全、レイノー病、慢性皮膚潰瘍、肝硬変、鬱血性心不全および全身性硬化症などの素因状態に基づいて投与することができる。

20

【0092】

ある具体的な実施形態において、前記方法を用いて損傷を受けた組織、創傷および潰瘍における血管形成および/または肉芽組織形成を増加させる。例えば本発明の化合物は、創傷治癒における肉芽組織形成を刺激する上で有効であることが明らかになっている。肉芽組織は、新たに形成された漏出性の血管およびフィブリノーゲンおよび血漿フィブロンクチンなどの血漿タンパク質の一時的基質を含む。炎症細胞、血小板および活性化内皮からの増殖因子放出が、肉芽組織内での線維芽細胞および内皮細胞の移動および増殖を刺激する。血管形成または神経刺激が障害される場合には、潰瘍化が生じる可能性がある。本発明の方法は、肉芽組織形成の促進に有効である。そこで本発明は、梗塞などによる組織損傷を有する患者、例えば外傷または損傷によって誘発された創傷を有する患者、あるいは糖尿病などの障害の結果として生じる慢性創傷または潰瘍を有する患者を治療する方法を提供する。前記方法は、処置を必要とする患者に対して、単独でまたは製薬上許容される賦形剤と組み合わせて治療上有効量の化合物またはその製薬上許容される塩を投与することを含む方法を提供する。

30

【0093】

別の態様において本発明は、前記化合物を用いて対象を前治療して、虚血または低酸素症に関連する組織損傷の発症を軽減または予防する方法を提供する。その本発明の方法は、虚血または低酸素症が関与する状態の直前に投与すると治療効果を与える。例えば、心筋梗塞誘導の前に本発明の方法を適用すると、心臓の構造および能力に統計的に有意な改善が示される。さらに前記本発明の方法は、虚血性再灌流損傷の直前および途中で投与すると治療効果を与え、腎不全に関連する診断パラメータを大幅に低下させる。

40

【0094】

従って本発明は、虚血または低酸素症に関連する組織損傷を軽減または予防するために対象を前治療する方法であって、心筋梗塞などの虚血障害歴を有する患者または狭心症などの切迫性虚血の症状を有する患者に対して、単独でまたは製薬上許容される賦形剤との

50

組み合わせで治療上有効量の化合物またはその製薬上許容される塩を投与することを含む方法を提供する。別の実施形態において前記化合物は、例えば全身麻酔下または高所での一時的作業下に置かれた個人などの虚血の可能性が示唆される理学的パラメータに基づいて投与することができる。さらに別の実施形態では、前記化合物を臓器移植に用いて、臓器提供者を前処理し、非移植者における移植の前に身体から摘出された臓器を維持することができる。

【0095】

以前の研究から、本発明の方法で用いられるある種の化合物が、プロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼの効果的な阻害薬であることが明らかになっている。初回の梗塞または創傷からの回復には壊死領域内での結合組織沈着が必要であることが認められているが、本発明では、瘢痕形成に関して投与の副作用は示されない。従って、低酸素性の組織損傷および線維化の治療および予防に対して本発明のある種の化合物が提供する効果に基づいて、本発明は心筋梗塞およびその結果生じる鬱血性心不全などの後の反応性線維化に関連する虚血または低酸素症などの虚血もしくは低酸素症が関与する状態の治療または予防に対する「二重療法」手法を考慮するものである。この方法は、同じ特異性あるいは異なる特異性でHIFプロリルヒドロキシラーゼおよびプロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼなどの複数の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素を阻害する1種類の化合物を用いることができる。別形態として前記方法は、1種類の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素のみを特異的に阻害する化合物の組み合わせを用いることができる。例えば、1種類の化合物がHIFプロリルヒドロキシラーゼを特異的に阻害し、第2の化合物がプロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼを特異的に阻害する。

【0096】

1態様において本発明の化合物は、1以上の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ酵素を阻害する。1実施形態において前記化合物は、少なくとも2種類の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼファミリーメンバー、例えばHIFプロリルヒドロキシラーゼおよびHIFアスパラギン-ヒドロキシラーゼ(FIH-1)を同一の特異性または異なる特異性で阻害する。別の実施形態において前記化合物は、1種類の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ、例えばHIFプロリルヒドロキシラーゼに対して特異的であり、他のファミリーメンバーにはほとんど特異性を示さない。

【0097】

前記化合物は、各種他の治療手法との併用で投与することができる。1実施形態において前記化合物は、別の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼ阻害薬とともに投与され、それら2種類の化合物は個々の2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼファミリーメンバーに対して異なる特異性を有する。これら2種類の化合物は、他方に対する一方の比率をある値として、同時に投与することができる。所定の治療経過または特定の対象に適した比率の決定は、当業界の技術レベルの範囲内である。別の形態として、前記2種類の化合物は、例えば心筋梗塞後などの治療の時間経過中に連続的に投与することができる。ある特定の形態では、一方の化合物はHIFプロリルヒドロキシラーゼ酵素活性を特異的に阻害し、第2の化合物はプロコラーゲンプロリル4-ヒドロキシラーゼ酵素活性を特異的に阻害する。別の具体的な実施形態では、一方の化合物はHIFプロリルヒドロキシラーゼ酵素活性を特異的に阻害し、第2の化合物はHIFアスパラギン-ヒドロキシラーゼ酵素活性を特異的に阻害する。別の実施形態では前記化合物は、例えばACE阻害薬(ACEI)、アンギオテンシン-II受容体遮断薬(ARB)、スタチン、利尿薬、ジゴキシン、カルニチンなどの異なる作用形態を有する別の治療薬とともに投与される。

【0098】

医薬製剤および投与経路

本発明の組成物は、直接または当業界で公知の担体もしくは賦形剤とともに医薬組成物の形で投与することができる。本発明の治療方法は、例えば鬱血性心不全、アテローム性動脈硬化などの虚血状態を有するまたはそのリスクのある対象に対して有効量の本発明の化合物を投与することを含むことができる。好ましい実施形態において、前記対象は哺乳

動物対象であり、最も好ましい実施形態において、前記対象はヒト対象である。好ましい投与経路には、経口および経皮の投与機構などがある。

【0099】

そのような薬剤の有効量は、最も有効かつ簡便な投与経路および最も適切な製剤が得られるように通常の実験によって容易に決定することができる。各種の製剤および薬剤投与システムが利用可能であり、適切な製剤の選択は当業界の技術レベルの範囲内である（例えば、Gennaro, ed. (1995) Remington's Pharmaceutical Sciences, 前掲; および Hardman, Limbird, および Gilman, eds. (2001) The Pharmacological Basis of Therapeutics, 前掲. 参照）。

【0100】

好適な投与経路には、例えば経口、直腸、粘膜、経鼻または腸投与ならびに筋肉、皮下、骨髄内注射そして硬膜内、直接脳室内、静脈、腹腔内、鼻腔内または眼内注射などの非経口投与などがあり得る。前記薬剤またはその組成物は、全身投与ではなく局所投与することができる。例えば好適な薬剤は、注射によって、あるいはデポー製剤もしくは徐放製剤などの標的薬剤投与系で投与することができる。

【0101】

本発明の医薬組成物は、従来の混和、溶解、造粒、糖衣製造、細粉化、乳化、カプセル化、封入または凍結乾燥法などにより、当業界で公知の方法によって製造することができる。上記のように、本発明の組成物は、活性分子を医薬的用途向けの製剤へと処理する作業を容易にする賦形剤および補助剤などの1以上の生理的に許容される担体を含むことができる。

【0102】

適切な製剤は、選択される投与経路によって決まる。例えば注射の場合、組成物は、水系溶液中、好ましくはハanks液、リンゲル液または生理食塩水緩衝液などの生理的に適合性の緩衝液中で製剤することができる。粘膜または経鼻投与の場合、透過する障壁に適した浸透剤を製剤に用いる。そのような浸透剤は当業界では公知である。経口投与の場合、前記化合物は、前記活性化合物を当業界で公知の製薬上許容される担体を組み合わせることで容易に製剤することができる。そのような担体は、本発明の化合物を対象による経口摂取用に錠剤、丸薬、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液として製剤できるようにするものである。前記化合物はまた、例えばカカオ脂その他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤を含む坐剤もしくは貯留浣腸剤などの直腸製剤に製剤することもできる。

【0103】

経口使用向けの医薬製剤は、固体賦形剤として得ることができ、得られた混合物を粉碎し、所望に応じて好適な補助剤を加えた後に顆粒混合物を処理して錠剤または糖衣錠コアを得ても良い。好適な賦形剤は特に、乳糖、ショ糖、マニトールもしくはソルビトールのような糖類などの充填剤；例えばトウモロコシデンプン、小麦デンプン、米デンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースおよび/またはポリビニルピロリドン（PVP）などのセルロース調製物である。所望に応じて、架橋ポリビニルピロリドン、寒天もしくはアルギン酸またはアルギン酸ナトリウムのようなその塩などの崩壊剤を加えることができる。

【0104】

糖衣錠コアには、好適なコーティングを施す。それについては、濃縮糖液を用いることができ、それはアラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、カーボポールゲル、ポリエチレングリコールおよび/または酸化チタン、ラッカー液ならびに好適な有機溶媒もしくは溶媒混合液を含むことができる。識別や活性化合物用量の異なる組み合わせの特性を決定するために、錠剤または糖衣錠コーティングに色素または顔料を加えることができる。

【0105】

経口投与用の医薬製剤には、ゼラチン製の押し込み型カプセル、ならびにゼラチンおよびグリセリンもしくはソルビトールなどの可塑剤製の軟密閉カプセルなどがある。押し込み型カプセルは、乳糖などの充填剤、デンプン類などの結合剤および／またはタルクもしくはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、そして適宜に安定剤との混合で有効成分を含むことができる。軟カプセルにおいては、活性化化合物を脂肪油、液体パラフィンまたは液体ポリエチレングリコール類などの好適な液体に溶解または懸濁させることができる。さらに、安定剤を加えることができる。

【0106】

1 実施形態において本発明の化合物は、皮膚貼付剤などによって経皮的に、または局所的に投与することができる。1 態様において本発明の経皮もしくは局所製剤は、投与された化合物の移動を促進する薬剤などの1 種類または複数種の浸透促進剤その他の効果物質をさらに含むことができる。例えば部位特異的な投与が望ましい状況では、経皮または局所投与が好ましいと考えられる。

10

【0107】

吸入による投与の場合、本発明による使用向けの化合物は、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の好適な気体などの適当な噴射剤を用いて、加圧パックまたはネブライザーからエアロゾル噴霧剤の形で簡便に投与される。加圧エアロゾルの場合、適切な用量単位は、計量された量を送出するバルブを設けることで決定することができる。吸入器または通気器で使用されるゼラチンなどのカプセルおよびカートリッジを製剤することができる。これらは代表的には、前記化合物と乳糖もしくはデンプンなどの工程な粉末基剤の粉末混合物を含む。

20

【0108】

注射による、例えばボラス注射または連続注入などによる非経口投与用に製剤された組成物は、単位製剤で、例えば保存剤を加えたアンプルまたは多用量容器で提供することができる。その組成物は、油系もしくは水系媒体中での懸濁液、液剤または乳濁液などの形態を取ることができ、懸濁剤、安定剤および／または分散剤などの製剤用薬剤を含むことができる。非経口投与用の製剤には、水溶液その他の水溶性の形態での組成物などがある。

【0109】

活性化化合物の懸濁液は、適切な注射懸濁液として製造することもできる。好適な親油性溶媒または媒体には、ゴマ油などの脂肪油ならびにオレイン酸エチルもしくはトリグリセリド類などの合成脂肪酸エステル類またはリボソームなどがある。水系注射用懸濁液は、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトールまたはデキストランなどの懸濁液の粘度を高める物質を含むことができる。場合によって前記懸濁液は、好適な安定剤または化合物の溶解度を高めて高濃縮溶液の製造を可能とする薬剤を含むこともできる。別の形態として前記有効成分は、使用前に無菌の発熱物質を含まない水などの好適な媒体で再構成する粉末の形態とすることができる。

30

【0110】

上記のように、本発明の組成物はデポー製剤として製剤することもできる。そのような長期作用性製剤は、埋め込み（例：皮下または筋肉）によって、あるいは筋肉注射によって投与することができる。そこで例えば、本発明の化合物を、好適なポリマーもしくは疎水性材料（例えば、許容されるオイル中の乳濁液として）またはイオン交換樹脂とともに製剤することができるか、あるいはやや溶けにくい誘導体、例えばやや溶けにくい塩として製剤することができる。

40

【0111】

本発明の疎水性分子に好適な担体は当業界では公知であり、例えばベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性有機ポリマーおよび水相を含む共溶媒系などがある。その共溶媒系は、VPD共溶媒系であることができる。VPDは、純粋エタノールで規定量とした3 重量／体積％のベンジルアルコール、8 重量／体積％の非極性界面活性ポリソルベート80 および65重量／体積％のポリエチレングリコール300の溶液である。VPD共溶媒系（VPD:5W）は、5％ブドウ糖水溶液で1：1希釈したVPDからなる。この共溶媒系は、疎水性化合

50

物を溶解させる上で有効であり、全身投与時に生じる毒性は低い。当然のことながら、共溶媒系の割合は、その溶解性および毒性の特徴を破壊することなくかなり変動させることができる。さらに、具体的な共溶媒成分も変動可能である。例えば、他の低毒性非極性界面活性剤をポリソルベート80に代えて用いることができ、ポリエチレングリコールの割合を変動させることができ、ポリビニルピロリドンなどの他の生体適合性のポリマーをポリエチレングリコールに代えて用いることができ、他の糖類または多糖類をデキストロースに代えることができる。

【0112】

別形態として、疎水性分子についての他の投与系を用いることができる。リポソームおよび乳濁液は、疎水性薬剤用の投与媒体または担体の公知の例である。リポソーム投与系については、遺伝子送達系の文脈で上記に記載されている。ジメチルスルホキシドなどのある種の有機溶媒も用いることができる。ただし、通常は毒性上昇という犠牲を払ってのことになる。さらに前記化合物は、有効量の投与すべき組成物を含む固体疎水性ポリマーの半透性基盤などの徐放系を用いて投与することができる。各種徐放材料が確立されており、当業者には利用可能である。徐放カプセルは、その化学的性質に応じて、数週間から100日間にわたって化合物を放出することができる。治療試薬の化学的性質および生物学的安定性に応じて、タンパク質安定化の別の戦略を用いてもよい。

【0113】

本発明の治療方法で使用される組成物の場合、治療上有効な用量は、最初に当業界で公知の各種方法を用いて推定することができる。例えば、細胞培養アッセイから得られた情報に基づいて、動物モデルにおいて1用量を製剤して、 IC_{50} を含む循環濃度範囲を達成することができる。同様に、例えば細胞培養アッセイおよび他の動物試験から得られたデータを用いて、ヒト対象に適した用量範囲を決定することができる。

【0114】

薬剤の治療上有効な用量とは、対象における症状の改善または生存の延長を生じる薬剤量を指す。そのような分子の毒性および治療効力は、細胞培養または実験動物での標準的な製薬手順によって、例えば LD_{50} （集団の50％が死に至る用量）および ED_{50} （集団の50％において治療効果のある用量）を求めることで決定することができる。毒性／治療効果の用量比は治療指数であり、それは LD_{50} / ED_{50} の比として表すことができる。高い治療指数を示す薬剤が好ましい。

【0115】

用量は好ましくは、ほとんどあるいは全く毒性を持たない、 ED_{50} を含む循環濃度範囲に包含される。用量は、用いられる剤型および用いられる投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。詳細な製剤、投与経路および用量は、対象の状態についての具体的事項を考慮して、当業界で公知の方法に従って選択すべきである。

【0116】

投与の量および間隔は、所望のHIF 安定化およびHIF調節遺伝子誘導を調節する上で十分な活性部分の血漿レベル、すなわち最低有効濃度（MEC）を得ることができるように、個別に調節することができる。MECは各化合物で変動するものであるが、例えばin vitro データから推定することができる。MECを達成するのに必要な用量は、化合物の個々の特性および投与経路によって決まる。薬剤またはその組成物は、治療期間の約10～90％、好ましくは治療期間の約30～90％、最も好ましくは50～90％にわたって血漿レベルをMECより高く維持する投与法を用いて投与すべきである。局所投与または選択的取り込みの場合、薬剤の有効局所濃度は、血漿濃度は関係ないものとなる場合がある。

【0117】

当然のことながら、投与される薬剤または組成物の量は、性別、年齢および投与を受ける対象の体重、病気の重度、投与形態、そして処方医の判断などの多様な要素によって決まる。

【0118】

所望に応じて本発明の組成物は、有効成分を含む1以上の単位製剤が入ったパックまた

10

20

30

40

50

はディスペンサー機器に入れて提供することができる。そのようなパックまたは機器は例えば、プリスターパックなどの金属もしくはプラスチックの箔を有することができる。パックまたはディスペンサー機器には、投与説明書を添付することができる。適合性の医薬担体中で製剤された本発明の化合物を含む組成物を調製し、適切な容器に入れ、適応の状態の治療に関するラベル表示を行うこともできる。ラベルに示される好適な状態には、虚血または低酸素症が主要な適応症である障害または疾患の治療などがあり得る。

【0119】

化合物のスクリーニングおよび確認

本発明はさらに、HIF ヒドロキシル化を阻害する別の化合物、あるいはHIF を安定化する別の化合物などをスクリーニングおよび確認する方法をも提供するものである。

10

【0120】

以下に記載のものなどの各種アッセイおよびスクリーニング法を用いて、HIF のレベルまたは活性を調節（例えば、上昇または低下）させる小型分子を確認することができる。アッセイは代表的には、反応基質の消費または反応生成物の生成に関連する検出可能なシグナルを提供するものである。例えば検出には、蛍光団、放射性同位元素、酵素結合体および当業界で公知の他の検出可能な標識が関与し得る。結果は、定性的または定量的であることができる。反応生成物の単離は、沈殿もしくはアフィニティークロマトグラフィーを介した他の反応成分からの精製を可能とするビオチンまたはヒスチジンタグなどの標識によって行い易くすることができる。

【0121】

20

HIF ヒドロキシル化についてのアッセイには、HIF もしくはその断片におけるヒドロキシル化プロリンまたはリジン残基の測定（例えばPalmerini et al. (1985) J Chromatogr 339:285-292参照）、あるいは 酵素およびHIF もしくはその断片存在下での2-オキソグルタル酸からのスクシネート形成の測定（例えば, Cunliffe et al. (1986) Biochem J 240:617-619参照）が関与し得る。HIF ヒドロキシル化を測定する手法の例は、イバンらの報告（Ivan et al. (前掲)）および実施例10に記載されている。2-オキソグルタル酸からのスクシネートの生成を測定する手法の例は、カウルらの報告に記載されている（Kaul et al. および Gunzler, 1990; Anal Biochem 184:291-297）。基質分子はHIF またはその断片、例えばHIF (556-575)を含むことができる。例えば実施例10に記載のアッセイで使用される基質の例には、[メトキシクマリン]-DLDLEALAPYIPADDDFQL-アミド（配列番号 5）がある。酵素には、何らかの入手源から得られるHIF プロリンヒドロキシラーゼ（例えば、GenBank Accession No. AAG33965等を参照）などがあり得る。酵素はまた、粗細胞溶解物または部分精製物の形態で存在することもできる。HIF を安定化する化合物またはHIF のヒドロキシル化を阻害する化合物は、その化合物の非存在下および存在下での酵素活性を測定および比較することで確認することができる。

30

【0122】

上記の方法に加えて、そしてそれと組み合わせて、当業界で公知の各種スクリーニング方法によって化合物を確認することができる。そのようなスクリーニング方法によって、標的のポリペプチドまたは化合物を、溶液中で遊離状態としたり、固体担体に固定したり、細胞表面に保持させたり、あるいは細胞内に配置することができる。例えば被験化合物は、当業界で現在利用可能なアレイ法と同様にして、ある表面上に配列し、活性分析を行うことができる（例えば、Shalon et al. (1995) 国際公開WO95 / 35505 ; Baldeschweiler et al. (1995) 国際公開WO95 / 251116 ; Brennan et al. (1995) 米国特許第5474796号 ; および Heller et al. (1997) 米国特許第5605662号参照）。

40

【0123】

本発明の上記および他の実施形態は、本明細書における開示内容を考慮すれば当業界で通常の技術を有する者には容易に想到され、具体的に予想されるものである。

【実施例】

【0124】

以下の実施例を参照することで本発明についての理解が深まるが、これら実施例は本発

50

明を純粋に例示するためのものである。本発明は、本発明の単一の態様の例となることのみを意図した例示の実施形態によって、その範囲を限定されるものではない。機能的に均等であるいかなる方法も、本発明の範囲に含まれるものである。本明細書に記載のもの以外の本発明についての各種変更は、上記の説明および添付の図面から当業者には明らかになる。そのような変更は、添付の特許請求の範囲に包含されるものである。

【0125】

実施例1：in vitroでの細胞におけるHIF 安定化

アデノウイルス形質転換胎児腎臓上皮（293A）、頸部上皮腺癌（HeLa）、肝細胞癌（Hep3B）、包皮線維芽細胞（HFF）、乳腺上皮腺癌（MCF7）、臍帯静脈内皮（HUVEC）、微小血管内皮（HMEC-1）、扁平上皮癌（SSC-25）、肺線維芽細胞（HLF）および静脈内皮（AG10774B）組織由来のヒト細胞（例えば、American Type Culture Collection, Manassas VA；および Qbiogene, Carlsbad CA参照）を別個に、35mm培養皿に接種し、ダルベッコの調整イーグル培地（DMEM）、2%ウシ胎仔血清（FBS）中でHeLa細胞；DMEM、10%FBS中でHFFおよびHLF細胞；DMEM、5%FBS中で293A細胞；内皮増殖培地（EGM-2；BioWhittaker, Inc., Walkersville MD）中でHUVECおよびAG10774B細胞；RPMI1640、10%FBS中でHMEC-1；最少必須培地（MEM）、イーグルBSS（Mediatech Inc., Herndon VA）、2mMのL-グルタミン、0.1mMの非必須アミノ酸、1mMのビルビン酸ナトリウム、10%FBS中のHep3B細胞のように、37、20%O₂、5%CO₂で培地中にて増殖させた。細胞層がコンフルエントになる状態に達したら、培地をOPTI-MEM培地（Invitrogen Life Technologies, Carlsbad CA）に代え、細胞層を37で20%O₂、5%CO₂中にて約24時間インキュベートした。得られた培地に、本発明の化合物（化合物A～Oのいずれか）またはDMSO（0.5～1%）を加え、インキュベーションをオーバーナイトで続けた。

【0126】

インキュベーション後、培地を取り出し、遠心し、分析用に保存した（以下参照）。細胞を冷リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で2回洗浄し、氷上にて10mM Tris（pH7.4）、1mM EDTA、150mM NaCl、0.5%IGEPAL（Sigma-Aldrich, St. Louis MO）およびプロテアーゼ阻害薬混合物（Roche Molecular Biochemicals）1mL中で15分間溶解させた。細胞溶解物を4にて3000×gで5分間遠心し、サイトゾル画分（上清）を回収した。核（ペレット）を20mM HEPES（pH7.2）、400mM NaCl、1mM EDTA、1mM ジチオトレイトールおよびプロテアーゼ混合物（Roche Molecular Biochemicals）100μL中に再懸濁させて溶解させ、4にて13000×gで5分間遠心し、核タンパク質画分（上清）を回収した。

【0127】

核画分をタンパク質濃度に基づいて正規化し、4～12%TGゲルに負荷し、還元条件下で分別した。タンパク質を500mAで1.5時間にわたってPVDF膜（Invitrogen Corp., Carlsbad CA）に転写させた。膜をT-TBS、2%ミルクで室温にて1時間ブロッキングし、T-TBS、2%ミルクで1:250希釈したマウス抗ヒトHIF-1 抗体（BD Biosciences, Bedford MA）とともにオーバーナイトでインキュベートした。SUPERSIGNAL WEST化学発光基質（Pierce, Rockford IL）を用いて、プロットを現像した。図1Aでわかるように、各種本発明の化合物（化合物A～F）は用量依存的に正常酸素環境でHIF を安定化させ、HIF を細胞内に蓄積させた。図1Bでわかるように、各種入手源からの線維芽細胞、上皮細胞、内皮細胞および肝細胞などの各種細胞が、正常酸素環境で本発明の化合物によって処理すると、HIF の用量依存的安定化を示した。

【0128】

別法として、上記で得た核画分およびサイトゾル画分について、製造者の指示に従ってQUANTIKINEイムノアッセイ（R&D Systems, Inc., Minneapolis MN）を用いて、HIF-1 の分析を行った。図2Aに示したように、各種本発明の化合物（化合物BおよびG～O）で処理した上皮細胞（293A）および肝細胞（Hep3B）は、媒体で処理した対照細胞と比較して、安定化およびHIF 蓄積を示した。図2Bに示したように、本発明の化合物で処理した細胞は、HIF の用量依存的安定化を示した。

【0129】

10

20

30

40

50

実施例 2：酸素消費に対する効果

Oxygen Sensor細胞培養プレート (BD Biosciences, Bedford MA) は、酸素非存在下でより蛍光が強いルテニウム錯体を含む。従って、蛍光読取値はプレート中の酸素消費細胞の存在によって増加し、その細胞が平衡を変化させて、酸素飽和を低下させ、蛍光を強める。ヒドロキシル化を阻害することでHIFを安定化させる化合物は、ヒドロキシル化事象自体によって消費される酸素を減少させ、ないしは細胞代謝を好氣的エネルギー産生から嫌氣的エネルギー産生に代謝をシフトさせることで酸素消費を低下させると予想される。

【0130】

アデノウイルス形質転換胎児腎臓上皮 (293A) または頸部上皮腺癌 (HeLa) 由来のヒト細胞 (American Type Culture Collection) を、培地 (高グルコースDMEM (Mediatech, Inc., Herndon VA)、1%ペニシリン/ストレプトマイシン混合物 (Mediatech)、1%ウシ胎仔血清) 中37℃、10%CO₂でコンフルエントになるまで増殖させた。細胞を回収し、細胞500000個/mLの密度で培地に再懸濁させた。細胞懸濁液を0.2ml/ウェルでオキシジェン・センサー96ウェル細胞培養プレート (BD Biosciences) の各ウェルに分配した。3連のウェル群に容量10μLで、(1) 0.5%DMSO; (2) 200μMデシル硫酸ナトリウム; または (3) 1、10もしくは50μM化合物 (化合物B、Gまたは化合物Vのプロドラッグ [pV] のいずれか) の処理剤を加えた。

【0131】

培地を37℃、10%CO₂で72時間インキュベートし、プレートの読取を、励起波長485nmおよび発光波長590nmのFL600蛍光光度計 (Biotek Instruments, Inc., Winooski VT) で行った。データをDMSO対照と比較したfold change値 (O₂消費) または波長450nmでの吸光度 (WST-1) の関数としてプロットし、EXCELソフトウェア (Microsoft Corporation, Bellevue WA) を用いて記述的統計解析を行った。

【0132】

図3Aには、対照細胞と比較した、化合物で処理した細胞における酸素消費のfold change値を示してある。図からわかるように、いずれの化合物も酸素消費における低下をある程度生じさせた。さらに、酸素消費低下は用量依存的であり (図3A)、最高用量であっても細胞生存性の喪失はほとんど検出されなかった (図1B)。³H-チミジン取り込みおよび総アミノ酸取り込みなどの各種細胞培養試験系での別の実験 (不図示) によって、酸素消費の低下が細胞傷害性とは関連がないことが確認された。

【0133】

実施例 3：in vitroでのHIF調節遺伝子の発現

実施例 1 で増殖させた細胞培養物から回収したならし培地について、製造者の指示に従ってQUANTIKINEイムノアッセイ (R&D Systems) を用いて血管内皮増殖因子 (VEGF) 発現の分析を行った。図4Aでわかるように、各種本発明の化合物 (化合物A、B、C、H、K、L、Qおよび化合物Vのプロドラッグ [pV] のいずれか) で処理した線維芽細胞 (HFF)、上皮細胞 (293A) および肝細胞 (Hep3B) は、VEGF発現において上昇を示した (図4A)。y 軸上の値は対照と比較したinduction changeを表しており、log₂スケールで報告されており、1 という値は2倍誘導を示すようになっている。

【0134】

別法として、アデノウイルス形質転換胎児腎臓上皮 (293A) 由来のヒト細胞を、37℃および10%CO₂でDMEM、5%FBS、1%ペニシリン - ストレプトマイシン中で培養した。48時間後、細胞を回収し、通常の培地にて35mm培養皿でコンフルエントになるまで平板培養し、1日後に培地をOpti-MemIに代えた。18~24時間後、化合物Bを培地に加え、インキュベーションをさらに18時間続けた。培養上清を除去し、プレートを氷上に乗せ、溶解緩衝液 (LB) -1を加え、細胞を掻き取りによって回収した。掻き取った細胞を集め、氷上で15分間インキュベートし、次に4℃にて3000gで5分間遠心した。サイトゾル画分を代表する上清を回収し、列当たり等量のタンパク質を負荷したSDSポリアクリルアミドゲルを用いて、変性および還元条件下でサイトゾルタンパク質を分離した。

【0135】

ゲル電気泳動を150Vで2時間行い、SDS-PAGE後にタンパク質を400mAで4 にて1.5時間にわたり、PVDF膜に転写させた。次に、膜をブロッキング緩衝液中でインキュベートし、T-TBSで1回洗浄し、ブロッキング緩衝液で作業濃度まで希釈した抗アルドラーゼ抗体を加え、緩く攪拌しながら4 でプロットをオーバーナイトでインキュベートした。膜をT-TBSで4回洗浄し、次に標識二次抗体を含むブロッキング緩衝液とともに室温で1時間インキュベートした。次に、膜をT-TBSで4回洗浄した。一次抗体に特異的な抗原を、X線フィルム露光によって肉眼で見えるようにし、製造者の指示に従って、ECLスーパーシグナル・ウェスト・フェムトまたはピコ化学発光基質 (Pierce, Rockford IL) を用いて現像した。

【0136】

10

図4Bには、化合物が経時的に、糖分解に関与する酵素であるアルドラーゼの発現を増加させたことが示されている。そこで、本発明の化合物によるHIF の安定化により、後にHIF調節遺伝子の発現が増加する。

【0137】

実施例4：in vivoでの細胞におけるHIF 安定化

スイス・ウェブスター雄マウス (30~32g) を入手し (例えば、Charles River Laboratories, Inc., Wilmington MAまたはSimonsen, Inc., Gilroy, CAから)、少なくとも1日間、1日当たり1回以上の強制経口投与によって、2ml/kgの容量の0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC; Sigma-Aldrich) (対照) または5.0%化合物 (0.5%CMC) のいずれかを投与する。最終投与から1以上の時点で、例えば2時間後および5時間後に、イソフルランで動物に麻酔を施し、例えば眼窩洞から0.1mlを採血して、ヘパリンの入った試験管に入れる。全ての選択された時点に達した後、動物を亜致死(sub-lethal)用量のCO₂に曝露し、腹部静脈から採血してヘパリンを加えた試験管に入れる。全ての血液検体は-80で保存する。

20

【0138】

上記の本発明の化合物を投与した動物から単離した組織について、下記のようにHIFタンパク質レベルの分析を行う。POLYTRONPT-1200ホモジナイザー (Brinkmann Instruments, Inc., Westbury NY) を用いて、10mM Tris (pH7.4)、1mM EDTA、150mM NaCl、0.5%IGEPAL (Sigma-Aldrich) およびプロテアーゼ阻害薬混合物 (Roche Molecular Biochemicals) 3ml中で組織を15秒間均質化する。細胞溶解物を4 で3000×gにて5分間遠心し、サイトゾル画分 (上清) を回収する。核 (ペレット) を20mM HEPES (pH7.2)、400mM NaCl、1mM EDTA、1mMジチオトレイトールおよびプロテアーゼ混合物 (Roche Molecular Biochemicals) 100μLに再懸濁させて溶解させ、4 にて13000×gで5分間遠心し、核タンパク質画分 (上清) を回収する。

30

【0139】

核画分をタンパク質濃度に基づいて正規化し、4~12%TGゲルに負荷し、還元条件下で分別する。タンパク質を500mAで1.5時間にわたってPVDF膜 (Invitrogen Life Technologies) に転写させる。膜をT-TBS、2%ミルクで室温にて1時間ブロッキングし、T-TBS、2%ミルクで1:250希釈した抗HIF-1 抗体とともにオーバーナイトでインキュベートする。スーパーシグナル・ウェスト・ピコ化学発光基質 (Pierce, Rockford IL) を用いて、プロットを現像する。

40

【0140】

別法として、上記で得た核画分およびサイトゾル画分について、製造者の指示に従ってQUANTIKINEイムノアッセイ (R&D Systems) を用いて、HIF-1 の分析を行う。

【0141】

実施例5：in vivoでのHIF調節遺伝子の発現

実験I

スイス・ウェブスター雄マウス20匹 (30~32g) を入手し (Simonsen, Inc.)、4ml/kg容量の0.5%CMC (Sigma-Aldrich) (0mg/kg/日) または1.25%化合物A (0.5%CMC中25mg/ml) (100mg/kg) のいずれかを強制経口投与によって投与した。最終投与から4時間

50

、8時間、16時間、24時間、48時間または72時間後に、動物にイソフルラン麻酔を施し、腹部静脈から採血を行った。血液検体をMICROTAINER血清分離管（Becton-Dickinson, Franklin Lakes NJ）に採取し、室温で30分間インキュベートし、4℃で8000rpmにて10分間遠心し、細胞ペレットをRNALATER液（Ambion）に再懸濁させ、-80℃で保存した。次にマウスを屠殺し、腎臓、肝臓、脳、肺および心臓の組織検体を摘出し、RNAレーター液（Ambion）中で-80℃にて保存した。

【0142】

以下のプロトコルを用いて、RNA単離を行った。各臓器50mg切片をサイの目に切り、RLT緩衝液（RNEASYキット；Qiagen Inc., Valencia CA）875μLを加え、ローター・ステーター・POLYTRONホモジナイザー（Kinematica, Inc., Cincinnati OH）を用いて、切片を約20秒間均質化した。ホモジネートを3分間微量遠心して、不溶物をペレットとし、上清を新たな管に移し、製造者の指示に従ってRNEASYキット（Qiagen）を用いてRNAを単離した。RNAを水80μL中に溶出させ、RIBOGREEN試薬（Molecular Probes, Eugene OR）で定量した。次に、製造者の指示に従ってDNA-FREEキット（Ambion Inc., Austin TX）を用いてRNAからゲノムDNAを除去した。260および280nmでの吸光度を測定して、RNAの純度および濃度を求めた。

10

【0143】

別法として、組織検体をサイの目に切り、ローター・ステーター・ポリトロンホモジナイザー（Kinematica）を用いてTRIZOL試薬（Invitrogen Life Technologies, Carlsbad CA）中で均質化した。ホモジネートを室温とし、0.2容量のクロロホルムを加え、サンプルを激しく混合した。混合物を室温で数分間インキュベートし、4℃で12000gにて15分間遠心した。水相を回収し、0.5容量のイソプロパノールを加えた。サンプルを混合し、室温で10分間インキュベートし、4℃で12000gにて10分間遠心した。上清を除去し、ペレットを75%EtOHで洗浄し、4℃で7500gにて5分間遠心した。次にゲノムDNAを、製造者の指示に従ってDNA-FREEキット（Ambion Inc., Austin TX）を用いてRNAから除去した。260nmおよび280nmでの吸光度を測定して、RNAの純度および濃度を求めた。

20

【0144】

0.3M酢酸ナトリウム（pH5.2）、50ng/mlグリコーゲンおよび2.5容量のエタノール中、-20℃でRNAを沈殿させた。サンプルを遠心し、ペレットを冷80%エタノールで洗浄し、乾燥し、水に再懸濁させた。製造者の指示に従ってT7-（dT）24第1鎖プライマー（Affymetrix, Inc., Santa Clara CA）およびSUPERSCRIPT CHOICEシステム（Invitrogen）を用いて、二本鎖cDNAを合成した。PHASE LOCK GEL挿入物（Brinkman, Inc., Westbury NY）を用いて、最終cDNAを等容量の25:24:1フェノール：クロロホルム：イソアミルアルコールで抽出した。水相を回収し、0.5容量の7.5M酢酸アンモニウムおよび2.5容量のエタノールを用いてcDNAを沈殿させた。別法として、製造者の指示に従ってGENECHIPサンプル清浄化モジュール（Affymetrix）を用いて、cDNAを精製した。

30

【0145】

製造者の指示に従ってBIOARRAY HighYield RNA転写物標識キット（Enzo Diagnostics, Inc., Farmingdale NY）を用いて、in vitro翻訳（IVT）反応で、ビオチン標識cRNAをcDNAから合成した。製造者の指示に従ってジーンチップサンプル清浄化モジュール（Affymetrix）を用いて、最終標識生成物を精製および断片化した。

40

【0146】

5μgプローブを1倍ハイブリダイゼーション緩衝液（100mM MES、1M [Na⁺]、20mM EDTA、0.01% Tween20）、100μg/mlニシン精子DNA、500μg/mlアセチル化BSA、0.03nM control oligo B2（Affymetrix）および1倍ジーンチップ真核細胞ハイブリダイゼーション対照液（Affymetrix）で100μLとすることで、ハイブリダイゼーションカクテルを調製した。カクテルを99℃で5分間、45℃で5分間にわたって順次インキュベートし、5分間遠心した。マウスゲノムU74AV2アレイ（MG-U74Av2；Affymetrix）を室温とし、回転させながら45℃で10分間にわたり1倍ハイブリダイゼーション緩衝液でプレハイブリダイズした。次に、緩衝液をハイブリダイゼーションカクテル80μLに置き換え、カウン

50

ターバランスとともに60rpmで45 にて16時間にわたってアレイをハイブリダイズした。ハイブリダイゼーション後、アレイを6倍SSPE、0.1% Tween20で1回洗浄し、製造者のmicro_1v1プロトコール(Affymetrix)に従って、R-フィコエリトリン接合ストレプトアビジン(Molecular Probes, Eugene OR)、ヤギ抗ストレプトアビジン抗体(Vector Laboratories, Burlingame CA)およびジーンチップ・フルイディクス・ステーション(Fluidics Station)400装置(Affymetrix)を用いて、洗浄および染色を行った。アレイを、ジーンアレイ(GENEARRAY)走査装置(Affymetrix)およびマイクロアレイ・スイート(Microarray Suite)ソフトウェア(Affymetrix)を用いて分析した。

【0147】

マウスゲノムU74AV2アレイ(Affymetrix)は、機能的に特性決定されているMouse UniGeneデータベース構造74(National Center for Biotechnology Information, Bethesda MD)における全ての配列(約6000)および約6000の未発表の発現配列タグ(EST)クラスターを代表するものである。

【0148】

図5Aでわかるように、血管由来タンパク質をコードする遺伝子の発現が、代表的な臓器である肺での本発明の化合物による処理後に、調整された形で上昇した。図に示した転写パターンには、VEGF-C、Flt-1/VEGF受容体-1、アドレノメデュリン、エンドテリン-1、プラスミノゲン活性化剤阻害薬(PAI)-1およびCyr61などがある。この時間的経過においては、mRNAレベルは早期にピークとなり、24時間後には対照レベルに戻る。図5Bには、図5Aに示した遺伝子のクラスターを代表する2種類の遺伝子であるエンドテリン-1およびアドレノメデュリンについての特異的発現の時間的経過を示してある。同様の実験で、例えばホスホフルクトキナーゼ、エノラーゼ1、乳酸デヒドロゲナーゼ、グルコーストランスポーター1、アシルCoAチオエステラーゼ、ヘムオキシゲナーゼ、トランスフェリン受容体、IGFBP-1、nip3、nixおよびサイクリンG3などの別のHIF調節遺伝子でも有意な増加が認められた。

【0149】

図7Aでわかるように、糖分解酵素をコードする遺伝子の発現は、代表的な臓器である腎臓での本発明の化合物による処理後に、調整された形で上昇した。図に示した転写パターンには、アルドラーゼ-A、エノラーゼ-1、グルコーストランスポーター(GlUT)-1および-3、GAPDH、ヘキソキナーゼ-1および-2、乳酸デヒドロキナーゼ-A、ホスホフルクトキナーゼ-Lおよび-C、ホスホグリセリン酸キナーゼ-1およびピルビン酸キナーゼ-Mなどがある。この時間的経過においては、mRNAレベルは早期にピークとなり、24時間後には対照レベルに戻る。図7Bには、図7Aに示した遺伝子のクラスターを代表する2種類の遺伝子であるアルドラーゼおよびホスホフルクトキナーゼについての特異的発現の時間的経過を示してある。

【0150】

実験II

スイス・ウェブスター雄マウス12匹(30~32g)を入手し(Simonsen, Inc. から)、4ml/kg容量の0.5%CMC(Sigma-Aldrich)(0mg/kg/日)または2.5%化合物(BまたはE; 0.5%CMC中25mg/ml)(200mg/kg/日)のいずれかを2.5日間にわたり1日当たり2回(5用量)で強制経口投与した。最終投与から4時間後、動物にイソフルランによる麻酔を施し、腹部静脈から採血を行った。血液検体をマイクロテイナー(MICROTAINER)血清分離管(Becton-Dickinson)に採取し、室温で30分間インキュベートし、4 で8000rpmにて10分間遠心し、製造者の指示に従ってQUANTIKINE・イムノアッセイ(R&D Systems)を用いて、血清画分を処理し、血管内皮増殖因子(VEGF)発現について分析した。次にマウスを屠殺し、肝臓および各腎臓約150mgを摘出し、RNAレータール液(Ambion)中で-20 にて保存した。

【0151】

以下のプロトコールを用いて、RNA単離を行った。組織切片を小片に切り、RLT溶解緩衝液(RNEASYキット; Qiagen)1.75mLを加え、ローター・ステーター・ポリトロンホモジナ

イザー (Kinematica, Inc., Cincinnati OH) を用いて、切片を約20秒間均質化した。ホモジネート350 μ L 容量を3分間微量遠心して、不溶物をペレットとし、上清を新たな管に移し、製造者の指示に従ってRNEASYキット (Qiagen) を用いてRNAを単離した。RNAを水80 μ L 中に溶出させ、RIBOGREEN試薬 (Molecular Probes, Eugene OR) で定量した。次に、製造者の指示に従ってDNA-FREEキット (Ambion) を用いてRNAからゲノムDNAを除去した。260および280nmでの吸光度を測定して、RNAの純度および濃度を求めた。

【0152】

製造者の指示に従って1 μ Mランダム6量体プライマー、総RNA 1 μ g およびOMNISCR IPT逆転写酵素 (Qiagen) を用いて、cDNA合成を行った。得られたcDNAを水で5倍に希釈して、最終容量100 μ L を得た。製造者の指示に従ってLIGHTCYCLERシステム (Roche Molecular Biochemicals) を用いて、FASTSTART DNA MASTER SYBR GREEN I キット (Roche Molecular Biochemicals) およびVEGF特異的プライマーを用いる定量的PCRによって、血管内皮増殖因子 (VEGF) 遺伝子発現の相対レベルの分析を行った。サンプルを94 で6分間加熱し、95 で15秒間、60 で5秒間および72 で10秒間のサイクルを計42サイクル行った。VEGF特異的プライマーは以下の通りであった。

【0153】

m-VEGF-F1: GTTGCAAGGCGAGGCAGCTT (配列番号1)

m-VEGF-R1: TGACGATGATGGCATGGTGGT (配列番号2)。

【0154】

18SリボソームRNA遺伝子発現の相対レベルを対照として測定した。製造者の指示に従ってライトサイクラーシステム (Roche Molecular Biochemicals) を用い、クアンチテクト SYBR グリーン (QUANTITECT SYBR GREEN) PCRキット (Qiagen) および18S rRNA特異的プライマーを用いて、定量的PCRを行った。サンプルを95 で15分間加熱し、94 で15秒間、60 で20秒間および72 で10秒間のサイクルを計42サイクル行った。リボソームRNA特異的プライマーは以下の通りであった。

【0155】

18S-rat-2B: TAGGCACGGCGACTACCATCGA (配列番号3)

18S-rat-2A: CGGCGGCTTTGGTGA CTCTAGAT (配列番号4)。

【0156】

各PCR実験には、標準曲線と水ブランクを含めた。さらに、各PCR実験終了後に融解曲線を行って、増幅の特異性を調べた。VEGF遺伝子発現を、そのサンプルについての18SリボソームRNAの発現レベルに対して正規化した。

【0157】

図6Aには、化合物Eが腎臓におけるVEGF発現を上昇させ、化合物Bが肝臓および腎臓におけるVEGF発現を上昇させたことが示されている。図6Bでわかるように、化合物を投与した動物の血漿中におけるVEGFレベルは、最終投与から2時間後、5時間後および20時間後において、未投与対照動物と比較して有意に上昇する。

【0158】

実施例6：心臓虚血

実験I

ノーグら (Nwogu et al., 2001; Circulation 104:2216-2221) は、心筋梗塞後における本発明の化合物の使用について報告している。著者らは、線維症に対するその化合物の影響に関して彼らの結果を解釈しているが、本発明は、心臓の能力に対する主要な効果はHIF の安定化によるものであることを明瞭に示している。実験は、ノーグらの報告 (前掲) に記載の方法に従って行い、以下に記載の通りである。

【0159】

成体雄ウィスターラット70匹 (200~250g) に麻酔を施し、左冠動脈閉塞を行って急性心筋梗塞 (AMI) を生じさせた。動物9匹について、冠動脈結紮を行わずに同じ手術を行った。手術から24~48時間後、足に心電図 (ECG) 電極を取り付け、胸部に15MHz直線プローブ (Acuson Corp., Mountain View CA) を取り付けて、乳頭筋中央レベルでの短軸経胸

10

20

30

40

50

壁心エコー検査（2DE）像を得た。プローブを頭方向または尾方向に動かし、左心室洞の明瞭な心臓内像が検出されるまで角度を付けた。セコイア（Sequoia）超音波システム（Acuson）を用いて画像を得た。2DEでの20%未満の短縮率および局所壁運動異常を有する動物を、化合物 A（n=14）投与または媒体（n=12）投与に無作為に割り付けた。シャム対照も、化合物 A（n=4）投与または媒体（n=5）投与に無作為に割り付けた。

【0160】

実験期間において動物には、1日2回強制経口投与によって、50mg/kgの化合物 A または媒体単独の投与を行った。薬剤の血清レベルを定期的に測定して、被投与動物が十分かつ一定の量の薬剤投与を受け、測定されたレベルが、代表的な2-オキシグルタル酸ジオキシゲナーゼであるプロリル4-ヒドロキシラーゼを阻害するのに十分であることを確認した。

10

【0161】

一連の2DE画像を週1回得た。5以上の収縮期および拡張期フレームを含む短軸2DEデジタルクリップ3個をキャプチャーし、保存した。投与について知らされていない観察者2名が、オフラインでの測定を行った。測定については、デジタル画像をスローで進め、収縮終期および拡張終期で止めた。3つのデジタルクリップそれぞれからの2つの収縮期フレームおよび2つの拡張期フレームを、意見の一致によって測定し、平均を求めた。収縮期および拡張期における前壁（それぞれ、AWSおよびAWD）、収縮期および拡張期における後壁（それぞれ、PWSおよびPWD）、そして左心室の収縮終期（LVESD）および拡張終期（LVEDD）を、米国心エコー協会（American Society for Echocardiology：ASE）最先端法に従って測定した。一貫性を持たせるため、測定は左心室洞の前中点から後中点まで行い、ランダムに繰り返して再現性を確保した（再現性は約96%であった）。

20

【0162】

投与4週間目に、大腿静脈からの 10^7 Mイソプロテレノール注入（1分間かけて0.2ml）の前および後の両方で、下記の方法に従ってin vivoの血行動態測定を行った。次に、以下に記載の方法に従って、心臓を切除し、秤量した。

【0163】

別法として、成体雄ウィスターラット140匹（200～250g）に麻酔を施し、左冠動脈閉塞を行ってAMIを発生させた。手術から48時間後、2DE像を得て、かなりの梗塞領域を有する動物を、化合物 A（n=34）投与または媒体（n=34）投与に無作為に割り付けた。

30

【0164】

実験期間において動物には、1日2回強制経口投与によって、50mg/kgの化合物 A または媒体単独の投与を行った。薬剤の血清レベルを定期的に測定して、被投与動物が十分かつ一定の量の薬剤投与を受け、測定されたレベルが、代表的な2-オキシグルタル酸ジオキシゲナーゼであるプロリル4-ヒドロキシラーゼを阻害するのに十分であることを確認した。

【0165】

第8週まで、各群の動物の半数について、2週間に1回、乳頭筋中央部および心尖部四室のデジタル2DE像を得た。投与について知らされていない観察者2名がオフラインで測定を行った。測定に関しては、デジタル画像を遅く進め、収縮終期および拡張終期で止めた。短軸および4室の両方の画像で2～3の心臓内表面をトレースし、平均を求めた。収縮期および拡張期での左心室面積、駆出率、面積変化率、僧帽弁ピークE波速度、大動脈ピーク速度および梗塞の大きさを測定した。

40

【0166】

投与10週間後、in vivoでの血行動態測定を行い、以下に記載の方法に従って心臓の切除と秤量を行った。

【0167】

in vivoでの血行動態測定値を収集するため、動物に麻酔を施し、右頸動脈を切開して周囲組織から離し、SPR-671超微小（ultra-miniature）圧力変換器（Millar Instruments, Inc., Houston TX）をカニューレ挿入した。次に、カテーテルを左心室に進めた。定常

50

状態が確立された後、ベースライン心拍数（HR）、Developed Pressure（DP）、収縮指数（CI）、左心室収縮期圧（SBP）および拡張終期圧（LVEDP）、ならびに圧力の上昇および下降の最大速度（それぞれ、 $+dP/dt$ および $-dP/dt$ ）を記録した。

【0168】

血行動態測定の後、心臓を切除し、秤量した。瘢痕のある心筋、ならびに梗塞部位から遠位の右心室および左心室心筋の切片を切り取り、秤量した。L-アゼチジン-2-カルボン酸（Sigma-Aldrich）に代えて3,4-デヒドロプロリンを内部標準として用いた以外、パルメリニら（Palmerini et al., 1985, J Chromatogr 339:285-92）の方法によって、ヒドロキシプロリンおよびプロリンを測定した。

【0169】

心筋梗塞後に本発明の化合物を投与したところ、直後の死亡率低下が認められた。図8からわかるように、心臓への傷害直後では投与群において死亡は認められず、90%を超える投与群が8週間後においてもなお生存していた。それに比べて、未投与群でその期間生存したのは約60%に過ぎなかった。未投与群と比較して投与群において統計的に有意な生存率改善（ $P<0.05$ ）が、2週～8週で認められ、死亡率の相対低下は77%であった。

【0170】

未投与群と比較して投与群では、心臓パラメータも改善した。表1には、投与群において左心室拡張終期径（LVEDD）に増加はないが、未投与群では同期間にわたりLVEDDと左心室収縮終期径（LVESD）測定値の両方において上昇があることが示されている。未投与群における心臓の拡張は、投与1週間後で、未投与群と比較して投与群では統計的に異なっていた。

【表1】

表1：左心室拡張終期径における変化

週	投与-MI (mm)	未投与-MI (mm)	シャム (mm)
0	69±1	67±2	43±3
1	68±2	76±2	44±3
2	69±3	74±4	45±2
3	68±4	75±3	45±2

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

【表2】

表2：左心室収縮終期径における変化

週	投与-MI (mm)	未投与-MI (mm)	シャム (mm)
0	77±2	75±1	67±2
1	82±2	88±1	65±2
2	85±2	86±3	69±2
3	85±3	86±2	68±4

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

【0171】

図9Aおよび9Bには、LVESDおよびLVEDDのそれぞれにおける経時的な上昇をグラフで示してある。無作為化の時点では、3つの群において左心室拡張終期および収縮終期の径は同様であった。図10Aには、2週～8週における未投与対照と比較した処理動物での左心室駆出率（LVEF）に統計的に有意な改善が示されている。無作為化の時点では、両群におけるLVEFは33%であった。未投与対照群での4週～6週におけるLVEFの見かけの上昇は、その群を構成する動物における高い死亡率を反映したものである。

【0172】

収縮時における心筋の短縮率も、投与群において改善した。表3は、1～4週において未投与群と比較して投与群で短縮率に統計的に有意な改善があることを示している。

【表3】

表3：短縮率における変化

週	投与-MI (%)	未投与-MI (%)	シャム (%)
0	10±0.8	12±1	34±3
1	17±1	13±1	33±3
2	20±2	15±2	33±2
3	21±2	12±1	35±2
4	21±3	16±2	36±1

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

【0173】

さらに、図10Bでわかるように、投与群における短縮率はベースラインでの10%から第2週で20%まで上昇し、ベースラインと比べて79%の上昇であった。未投与群とシャム対照の両方は、4週間にわたって変化のないままであった。

【0174】

心臓虚血によって誘発される外傷後の収縮および弛緩する心臓の能力も、投与群において改善した。表4Aには、投与4週後において未投与群と比較して投与群では、収縮後に心臓が弛緩する能力の尺度である経時的負方向圧力変化 ($-dP/dt$) に統計的有意差が示されている。表4Aおよび図11で示したように、イソプロテレノールによる心臓の刺激は、未投与群と比較して投与群で、心臓が収縮する能力の尺度である経時的正方向圧力変化 ($+dP/dt$) に統計的有意差を示している。

【0175】

表4Bは、投与10週後において未投与群と比較して投与群で $+dP/dt$ と $-dP/dt$ の両方に統計的に有意な差があることを示している。

【表 4】

表 4A : MI 後 4 週における血行動態データ

	投与・MI	未投与・MI	シャム
収縮期 BP (mmHg)			
ベースライン	143±7	142±3	144±5
イソプロテレノール	130±9	123±7	197±3
Developed pressure (mmHg)			
ベースライン	133±6	133±3	135±6
イソプロテレノール	121±9	115±8	173±3
+dP/dt (mmHg/秒)			
ベースライン	9477±581	8642±209	9925±1194
イソプロテレノール	16830±1195	13832±1097	21515±1074
-dP/dt (mmHg/秒)			
ベースライン	9978±827	8009±426	11578±622
イソプロテレノール	9234±703	8984±622	11549±10742

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

表 4B : MI 後 10 週における血行動態データ

	投与・MI	未投与・MI	P 値
収縮期 BP (mmHg)	106±4	92±5	0.053
Developed Pressure (mmHg)	97±3	69±14	0.031
+dP/dt (mmHg/秒)	6701±331	4937±828	0.042
-dP/dt (mmHg/秒)	6395±373	3641±737	0.002

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

【 0 1 7 6 】

10週目で、未投与群と比較して投与群において、Developed Pressureと収縮期血圧にも有意な改善が認められた。

【 0 1 7 7 】

初期梗塞からの回復には壊死領域内での結合組織沈着が必要であることが認められているが、本発明では、瘢痕形成に関して投与の有害効果は示されていない。それとは対照的に、表5Aでわかるように、4週目において瘢痕および非梗塞組織でのコラーゲン沈着に統計的に有意な変化はなく、最初の4週における心臓能力における改善がコラーゲン沈着と無関係であることが明らかになっている。

【 0 1 7 8 】

しかしながら、表5Bでわかるように、10週目において、未投与群と比較して投与群で非梗塞心筋および瘢痕組織のコラーゲン含有量に統計的に有意な絶対的減少があり、本発明の方法がより長期の時間経過にわたって反応性心臓線維症を低減することが明らかになっている。

【表 5】

表 5A : MI 後 4 週での心臓におけるコラーゲン含有量

	投与-MI	未投与-MI	シャム
非梗塞左心室心筋におけるヒドロキシプロリン／プロリン	0.12±0.06	0.18±0.05	0.11±0.02
非梗塞右心室心筋におけるヒドロキシプロリン／プロリン	0.13±0.02	0.17±0.03	0.15±0.03
梗塞瘢痕でのヒドロキシプロリン／プロリン	0.34±0.08	0.45±0.09	-

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

10

表 5B : MI 後 10 週での心臓におけるコラーゲン含有量

	投与-MI	未投与-MI	P 値
非梗塞左心室心筋におけるヒドロキシプロリン／プロリン	0.099±0.025	0.135±0.036	<0.05
非梗塞右心室心筋におけるヒドロキシプロリン／プロリン	0.152±0.044	0.175±0.042	-
梗塞瘢痕でのヒドロキシプロリン／プロリン	0.471±0.024	0.638±0.020	<0.05

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

20

【 0 1 7 9 】

実験 II

4 ~ 5 週齢の雄ウィスターラット (100 ~ 110g) を、通常の飼料および12時間昼夜サイクルに維持した。動物を、(1) シャム手術動物 (n=12)、(2) 心筋梗塞対照 (n=25) および (3) 化合物 B 投与を行う心筋梗塞 (n=25) という投与法に無作為に割り付けた。動物には、手術前 2 日間および手術後 1 週間にわたって投与を行った。動物には、0.5%CMC (Sigma-Aldrich) (対照) または 50mg/kg の 0.5%CMC 中の化合物 B のいずれかを、1 日 2 回強制経口投与した。左開胸術後に、人工換気している動物において、左前下行冠動脈の結紮を行った。手術から 1 週間後に動物を屠殺し、心エコー検査を行った。盲検的に、短縮率、拡張終期径および収縮終期径を測定した。

30

【 0 1 8 0 】

図12Aでわかるように、短縮率はシャム手術動物における51%から未投与対照で29%まで低下した。化合物投与は、未投与対照群と比較して41%までの、短縮率において統計的に有意な ($p<0.05$; 片側ANOVA / Tukey検定) 改善を示した。同様に図12Bは、未投与MI対照と比較して投与動物において、左心室拡張終期径 (LVEDD) および収縮終期径 (LVESD) に統計的に有意な改善があることを示している (それぞれ、 $p<0.005$ および $p<0.001$; 片側ANOVA / Tukey検定)。化合物を投与した動物は、シャム手術動物と比較して、左心室収縮終期径に増加を示さず、拡張終期径に18%の増加を示した。しかしながら未投与対照は、LVESD および LVEDD において、それぞれ15%および65%の増加を示した。

40

【 0 1 8 1 】

実施例 7 : 肝臓虚血

ビッケルら (Bickel et al., 1998; Hepatology 28:404-411) は、肝臓における毒性虚血損傷の誘発後における本発明の化合物の使用を報告している。著者らは線維症に対する化合物の効果に関して彼らの結果を解釈しているが、その著者らは、ビリルビン、胆汁酸およびアルカリホスファターゼの血清レベルのような肝臓機能の変数に対する有益な効果は、線維症の低減に直接帰することができないと考えられることを認めている。

【 0 1 8 2 】

毒性虚血性肝臓損傷のモデルが、ビッケルらの報告 (前掲) に記載されている。すなわ

50

ち、雄ウィスターラット（212～320g）に、1ml/kgの四塩化炭素（ CCl_4 ）のオリーブオイル溶液（1:1）を9週間にわたって週2回強制経口投与するか（ $n=140$ ）、あるいは投与を行わなかった（対照； $n=10$ ）。さらに、 CCl_4 投与動物群（ $n=60$ ）には、化合物Pも投与した。その化合物は、化合物60mg/生理食塩水2ml/kgで1日2回腹腔内注射によって投与した。9週間後、動物を屠殺し、肝臓を秤量した。血清中のビリルビン、アラニントランスアミナーゼ、アルカリホスファターゼ、アルブミンおよび総胆汁酸を、市販のキットを用いて測定した。

【0183】

表6で分かるように（Bickel et al., 前掲、表2）、肝臓損傷の誘発によって体重（BW）に有意な減少が生じた。ただし、肝臓重量に有意な変化は認められなかった（図示せず）。

【表6】

表6：投与9週間後の肝臓機能の血清パラメータ

投与	N	BW(g)	BR($\mu\text{mol/L}$)	tBA($\mu\text{mol/L}$)	ALT(U/L)	AP(U/L)
対照	10	425±66.9	2.00±0.50	8.48±8.40	27.5±10.9	156±57.5
CCl_4	80	370±43.3	4.34±3.93	81.3±87.9	83.1±51.7	269±117
CCl_4 +CPD	60	373±38.9	2.83±2.21	40.8±51.4	59.0±29.5	195±72.7

表中の値は、平均±標準偏差を表す。

【0184】

肝臓損傷は、ビリルビン（BR）、総胆汁酸（tBA）、アラニントランスアミナーゼ（ALT）およびアルカリホスファターゼ（AP）の血清レベルによって測定される肝機能における測定可能で統計的に有意な低下も生じ、それらの値はそれぞれ117%、856%、201%および72%上昇した。しかしながら本発明の化合物（CPD）の投与によって、肝機能に統計的に有意な改善が生じた。未投与群と比較して投与群においては、BR、tBA、ALTおよびAPの血清レベルは、それぞれ64%、65%、43%および65%低下した。肝機能におけるその改善は、本発明の方法によるHIFの安定化によるものである。

【0185】

実施例8：腎臓虚血 - 再灌流損傷

虚血性急性腎不全のモデルが、ネモトらの報告（Nemoto et al., 2001, Kidney Int 59:246-251）に記載されている。すなわち、雄スプレーグドローラット（200～250g）に、4ml/kg/日の容量で強制経口投与によって、0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC；Sigma-Aldrich）またはCMCに懸濁させた1.5%の化合物Bのいずれかを投与した。ラットには、4連続日（-3～0日）にわたり、1日1回の前投与を行った。第0日での4回目および最後の経口投与後に、腎臓虚血 - 再灌流損傷（IRI）を行った。

【0186】

動物は、（1）媒体前投与およびシャム手術；（2）化合物B前投与およびシャム手術；（3）媒体前投与およびIRI手術；および（4）化合物B前投与およびIRI手術という4つの群に分けた。動物にイソフルラン下での麻酔を施し、腹部正中線で切開し、両腎茎を鈍的切開した。右腎茎上に血管クリップを45分間取り付け、その間に同時に左腎臓の摘出術を行った。各閉塞後、クリップを45分間緩め、腎臓の色変化によって再灌流を観察した。温度を一定に維持し、ブプレネクス（Buprenex）鎮痛剤を含む温生理食塩水（体重の0.5%）を腹部に直接投与してから、切開部を完全に縫合した。

【0187】

動物の体重および死亡率をモニタリングした。尾静脈から採血を行い、血清化学検査値およびCBCをIDEXX獣医サービス（West Sacramento CA）によって測定した。データは、平均±SEとして示してあり、括弧内に動物数を記載している。片側分散分析（ANOVA、SIGMA STAT）およびスチューデント - ニューマン - クール法を用いて各時間点で、データを4群内で比較した。P<0.05の値を有意と見なした。

【0188】

10

20

30

40

50

図13でわかるように、化合物投与によって、虚血性 - 再灌流損傷に関連する初期死亡が予防された。さらに、腎機能の尺度である血清血中尿素窒素 (BUN) が、3日目および7日目の両方で腎臓IRIによって有意に上昇したが、化合物を投与することで、BUNにおけるIRI誘発上昇は有意に小さくなった (図14A)。さらに、3日目、7日目および14日目に腎臓IRIによって、血清コレステロールが有意に上昇したが、化合物を投与することで、血清コレステロールにおけるIRI誘発上昇は完全に防止された (図14B)。理由については現在もなお検討中であるが、腎臓コレステロール上昇は、腎臓虚血性 - 再灌流損傷の自然反射作用である (Zager et al. (2001) Am J Pathol 159:743-752; Appel (1991) Kidney Int 39:169-183; および Abdel-Gayoum et al. (1999) Hum Exp Toxicol 18:454-459)。

【0189】

実施例9：慢性創傷における肉芽組織形成促進

慢性創傷を治療する能力に関して、モリスらの報告 (Morris et al., 1997, Plast Reconstr Surg 100:674-681) およびマルクスらの報告 (Marcus et al., 2000, Plast Reconstr Surg 105:1591-1599) に記載のウサギ皮膚肥厚性瘢痕化モデルを用いた。すなわち、雌ニュージーランド白ウサギ (n=12; 3 ~ 6月齢) に麻酔を施し、軟骨膜を除去して各耳の腹側表面に7mmの皮膚潰瘍創傷4個を形成した。創傷を処置し、TEGADERM半閉塞性ポリウレタン包帯 (3M Health Care, St. Paul MN) で覆った。創傷の処置は、最初の1週間は、水系0.5% (重量 / 体積) カーボポール971PNFゲル (pH6.5; Noveon Inc., Cleveland OH) 中0.5%または1% (重量 / 体積) の化合物Vのプロドラッグ [pV] の局所投与によって1日1回行った。in vitroで試験を行った場合、ゲルは2時間以内に薬剤の50%、4時間以内に95%を放出した。投与対象の耳には、低用量投与 (0.5%の化合物) または高用量投与 (1%の化合物) のいずれかを行い、対照の耳にはゲルのみを投与した。創傷形成時に当てた包帯に穴を開けて、包帯を1日1回外すことで創傷周囲の領域に刺激が生じないようにすることで、治療投与を行い易くした。次に、比較的小さい包帯片で穴を覆うことで、創傷の乾燥を防止した。明らかな乾燥または感染のある創傷は、試験から除外した。

【0190】

創傷形成後7日および12日目に、創傷を集め、2つに切り、ヘマトキシリン - エオシンで染色して、肉芽組織形成および創傷上皮化を評価した。投与について知らされていない観察者が、接眼鏡レチクルを用いて、組織切片における創傷治癒パラメータを定量した。スチューデントのt検定を用いてデータを解析して、投与検体と未投与検体を比較した。P<0.05を有意と見なした。

【0191】

虚血および低酸素症に感受性の創傷治癒のパラメータである肉芽組織形成および創傷上皮化に関して、創傷を評価した (Corral et al. (1999) Arch Surg 134:200-205; および Ahn and Mustoe (1990) Ann Plast Surg 24:17-23)。図15Aに示したように、未投与創傷と比較して投与創傷で肉芽組織面積の増加が認められた。図15Bでわかるように、投与動物と未投与動物で、ピーク間距離に差はなかった。ピーク間値は、肉芽組織による創傷被覆の指標である。そこで、本発明の方法を用いて、慢性創傷および潰瘍などの創傷における血管形成および肉芽組織形成を増加させることができる。

【0192】

実施例10：スクリーニングアッセイ

HIF特異的プロリルヒドロキシラーゼ活性を阻害することで、HIF を安定化させる化合物を、下記のアッセイを用いて確認および特性決定することができる。100 μ M のHIF ペプチドを加えたまたはそれを加えていない4mg/ml BSA、0.1M Tris \cdot HCl (pH7.2)、2mM アスコルビン酸、80 μ M 硫酸第一鉄、0.2mM 2-オキソグルタル酸、600単位/ml カタラーゼを含む反応混合物50 μ L分を、HeLa細胞抽出液または精製HIFプロリルヒドロキシラーゼ50 μ Lと混和し、37 $^{\circ}$ Cで1.5時間インキュベートする。インキュベーション後、ストレプトアビジンビーズ50 μ Lを加え、混合物を攪拌しながら4 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートする。混合物を管に移し入れ、低速で遠心してビーズをペレット化する。ビーズを20mM Tris \cdot

HCl (pH7.2) 0.5~1mlで3回洗浄する。次に、2mMビオチンの20mM Tris・HCl (pH7.2) 溶液 5 μ Lで1時間にわたって、ビーズからペプチドを溶出させる。管を遠心して樹脂をペレット化し、上清40~50 μ Lを除去し、等容量のアセトニトリルを加える。別法として、前記ペプチドをpH不感受性蛍光団であるメトキシマリンに結合させる。その蛍光団は、粗細胞溶解物を用いたアッセイ試験での検出を容易にする上での感受性および特異性を提供することができる。このスクリーニングアッセイで使用するためのHIFペプチドの例には、[メトキシマリン]-DLLEALAPYIPADDDFQL-アミド(配列番号5)などがあり得る。次に、非ヒドロキシル化およびヒドロキシル化ペプチドを、214nmでのUV検出を行うC18カラムでの逆相HPLCによって分離する。

【0193】

本明細書で明示および説明したもの以外に、本発明の各種改変が、前記の説明から当業者には明らかになる。そのような改変は、添付の特許請求の範囲に包含されるものである。

【0194】

本明細書で引用の参考文献はいずれも、参照によってその全体が本明細書に組み込まれるものとする。

【図面の簡単な説明】

【0195】

【図1】図1Aおよび1Bは、本発明の化合物で処理した細胞におけるHIF-1 安定化を示す。図1Aは、各種本発明の化合物で処理したヒト包皮線維芽細胞s (HFF) におけるHIF-1

安定化および蓄積を示す。図1Bは、本発明の化合物で処理した各種ヒト細胞でのHIF-1 安定化および蓄積に関する用量応答を示す。図に示した細胞系には、HFF、ヒト微小血管内皮細胞 (HMEC)、静脈内皮 (AG7)、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)、扁平上皮細胞癌 (SCC)、ヒト肺線維芽細胞 (HLF)、乳腺上皮腺癌 (MCF7)、形質転換胎児腎臓細胞 (293A) および子宮頸腺癌細胞 (HeLa) を含む。

【図2】図2Aおよび2Bは、本発明の化合物で処理したヒト細胞におけるHIF-1 の安定化および蓄積を示す。図2Aは、各種本発明の化合物で処理した293Aおよびヒト肝臓癌細胞 (Hep3B) を示す。図2Bは、本発明の例示的化合物で処理したHep3B細胞におけるHIF-1 安定化に関する用量応答を示す。

【図3】図3Aおよび3Bは、本発明の化合物で処理したヒト細胞における酸素消費および細胞生存性を示す。図3Aは、各種本発明の化合物で処理した細胞における単一用量および用量応答での酸素消費を示す。図3Bは、図3Aから選択された化合物で処理した細胞におけるWST-1テトラゾリウム塩 (RocheDiagnosticsCorp., IndianapolisIN) の開裂によって測定される細胞増殖および生存性を示す。

【図4】図4Aおよび4Bは、本発明の化合物で処理したヒト細胞でのHIF応答性遺伝子の発現増加を示す。図4Aは、本発明の化合物で処理後のヒト細胞培地での、血管形成における重要な遺伝子である血管内皮増殖因子 (VEGF) のレベルを示す。図に示した細胞系は、293A、Hep3BおよびHFFである。図4Bは、本発明の化合物で処理した細胞における、糖分解経路における重要な酵素であるアルドラーゼの経時的増加を示す。

【図5】図5Aおよび5Bは、本発明の化合物で処理した動物における肺での血管由来タンパク質の発現増加を示す。図5Aは、血管由来遺伝子発現のモニタージュを示す。図に示した遺伝子には、血管内皮増殖因子 (VEGF) -C、Flt-1/VEGF受容体-1、アドレノメデュリン、エンドテリン-1、プラスミノゲン活性化剤阻害薬 (PAI) -1およびCyr61が含まれる。図5Bは、図5Aから選択されたエンドテリン-1およびアドレノメデュリンをコードする遺伝子の発現を示す。

【図6】図6Aおよび6Bは、in vivoでのHIF応答性遺伝子の発現増加を示す。図6Aは、本発明の化合物で処理したマウスの肝臓および腎臓でのVEGFをコードする転写物のレベル増加を示す。図6Bは、未処理対照群と比較した、本発明の化合物での最終処理から2時間後、5時間後および20時間後におけるマウス血漿中のVEGFレベルを示す。

【図7】図7Aおよび7Bは、本発明の化合物で処理した動物の腎臓における糖分解酵素の発

現増加を示す。図7Aは、糖分解遺伝子発現のモニタージュを示す。図に示した遺伝子には、アルドラーゼ-A、エノラーゼ-1、Glut1、Glut3、GAPDH、ヘキソキナーゼ-1および-2、乳酸デヒドロゲナーゼ-A、ホスホフルクトキナーゼ-Lおよび-C、ホスホグリセリン酸キナーゼ-1およびピルビン酸キナーゼ-Mが含まれる。図7Bは、図7Aから選択されたアルドラーゼ-Aおよびホスホフルクトキナーゼ-Lをコードする遺伝子の発現を示す。

【図8】図8は、誘導心筋梗塞後の各時間間隔での、未処理群（n=34）と比較した、本発明の化合物で処理した群（n=34）における生存パーセントを示す。

【図9】図9Aおよび9Bは、未処理対照と比較した、本発明の化合物で処理した動物における心筋梗塞後の心臓構造（architecture）の改善を示す。図9Aは、誘導心筋梗塞後の各時間間隔での、未処理群と比較した本発明の化合物で処理した群での左心室収縮末期径（LVESD）における変化を示す。図9Bは、誘導心筋梗塞後の各時間間隔での、未処理群と比較した本発明の化合物で処理した群での左心室拡張末期径（LVEDD）における変化を示す。

【図10】図10Aおよび10Bは、未処理群と比較した本発明の化合物で処理した動物での心筋梗塞後の心臓能力改善を示す。図10Aは、誘導心筋梗塞後の各時間間隔での、未処理群と比較した本発明の化合物で処理した群での左心室駆出率における変化を示す。図10Bは、誘導心筋梗塞後の各時間間隔での、未処理群と比較した本発明の化合物で処理した群での短縮率における変化を示す。

【図11】図11は、イソプロテレノール負荷を行った場合と行わない場合での、未処理群と比較した本発明の化合物で処理した群におけるMI後4週間での心臓の収縮応答を示す。

【図12】図12Aおよび12Bは、未処理対照と比較した本発明の化合物で前処理した動物での心筋梗塞後における心臓構造に対する改善を示す。図12Aは、誘導心筋梗塞から1週間後における未処理対照と比較した処理動物での短縮率における統計的に有意な改善（ $p<0.05$ ）を示す。図12Bは、誘導心筋梗塞から1週間後における未処理対照と比較した処理動物での左心室拡張末期径（LVEDD； $p<0.005$ ）および左心室収縮末期径（LVESD； $p<0.001$ ）における統計的に有意な改善を示す。

【図13】図13は、未処理で擬似手術を行った対照と比較した、本発明の化合物による前処理および後処理を受けた腎臓虚血性再灌流損傷を受けた動物での生存率上昇を示す。

【図14】図14Aおよび14Bは、未処理対照と比較した本発明の化合物で前処理した動物での虚血性再灌流損傷後の腎臓機能における改善を示す。図14Aは、虚血性再灌流損傷誘導から3日後および7日後における未処理対照と比較した処理動物での血中尿素窒素レベル低下を示す。図14Bは、虚血性再灌流損傷誘導から3日後、7日後および14日後における未処理対照と比較した処理動物での血中コレステロールレベルの低下を示す。

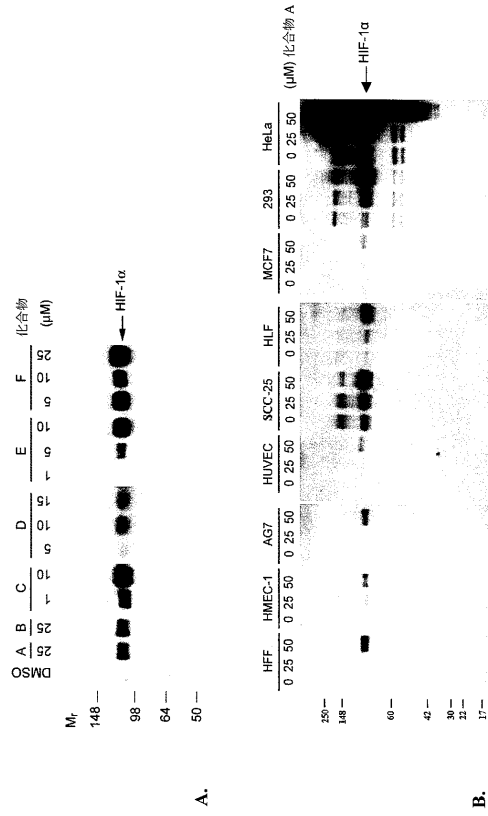
【図15】図15Aおよび15Bは、未処理対照と比較した本発明の化合物で処理した動物での慢性創傷の治癒改善を示す。図15Aは、創傷誘導から7日後および10日後での未処理対照と比較した処理動物での上皮化および肉芽組織形成の増加を示す。図15Bは、未処理対照と比較して処理動物での癒痕内におけるピーク間距離に差がないことを示す。

10

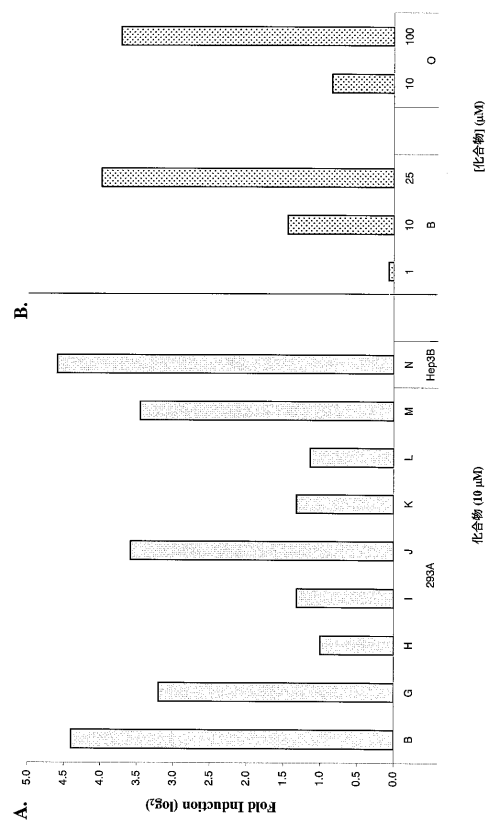
20

30

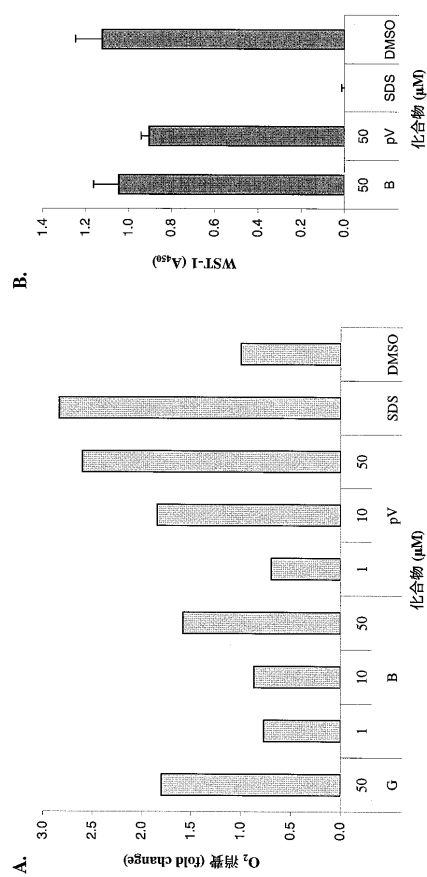
【図 1】



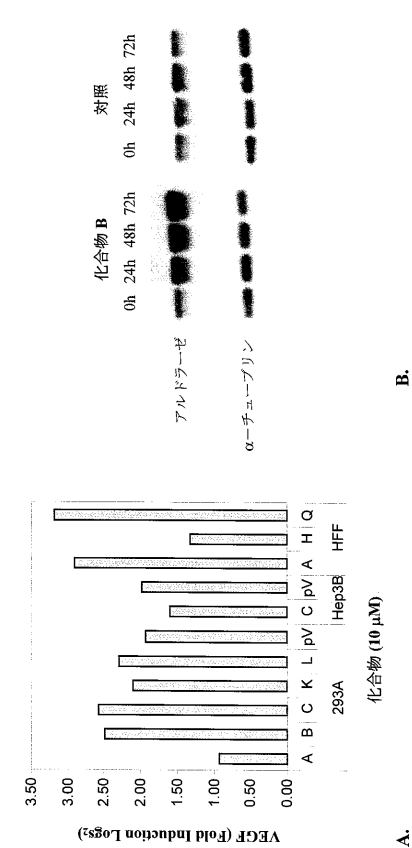
【図 2】



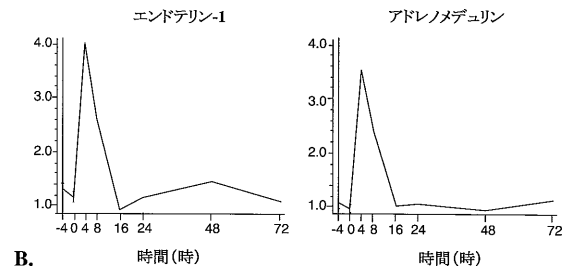
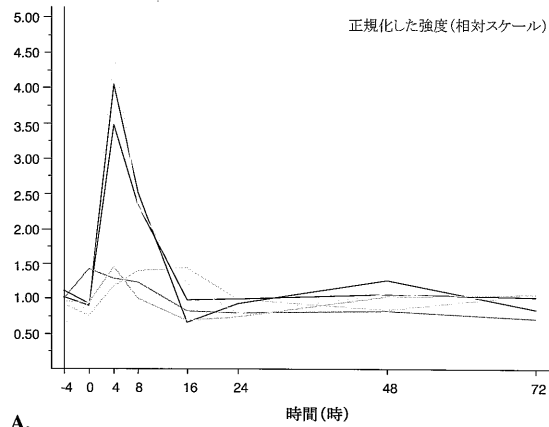
【図 3】



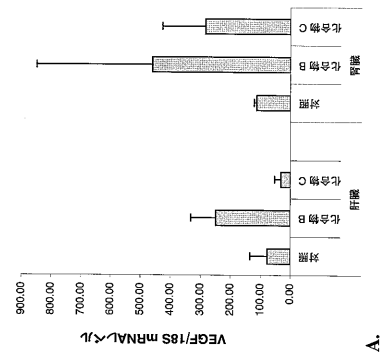
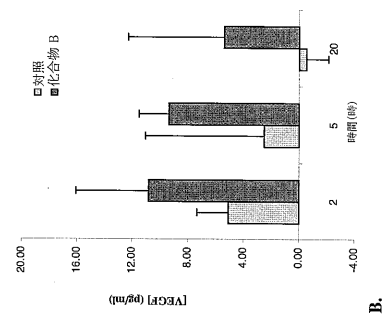
【図 4】



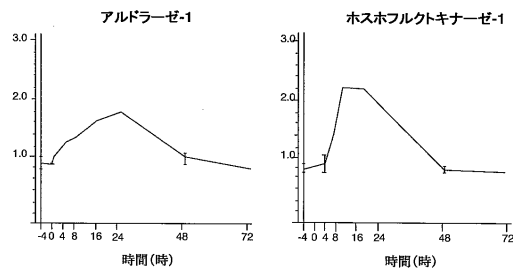
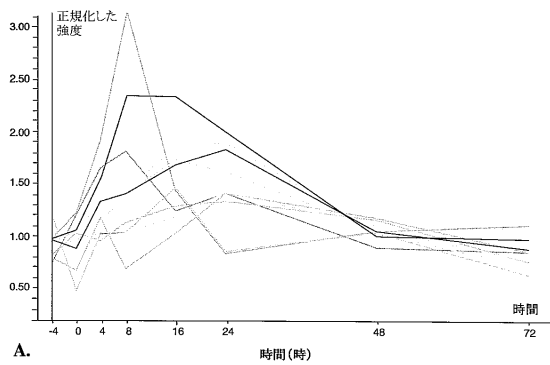
【図 5】



【図 6】

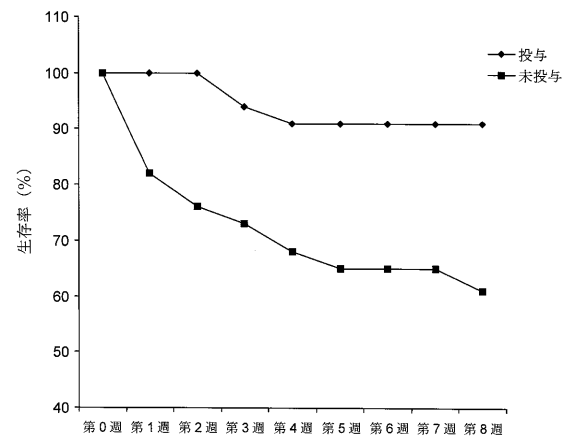


【図 7】

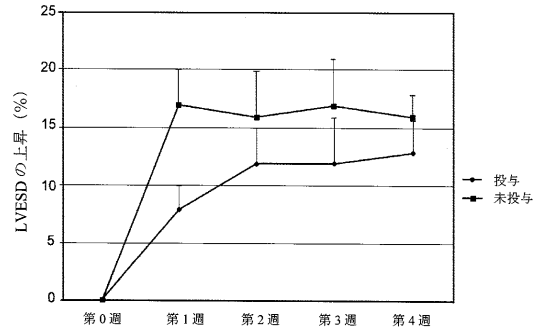


誤差バー: サンプル間標準誤差

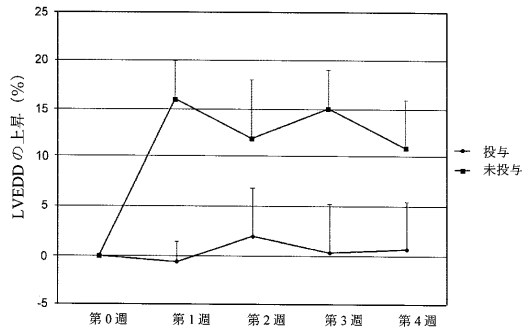
【図 8】



【図 9】

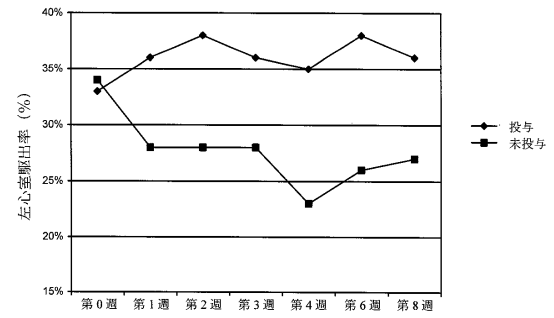


A.

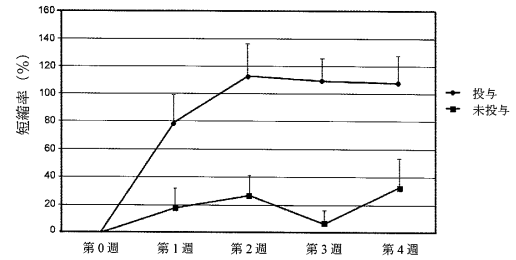


B.

【図 10】

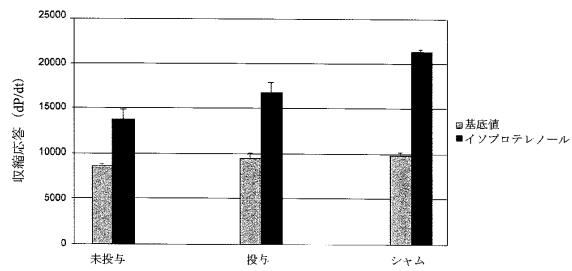


A.

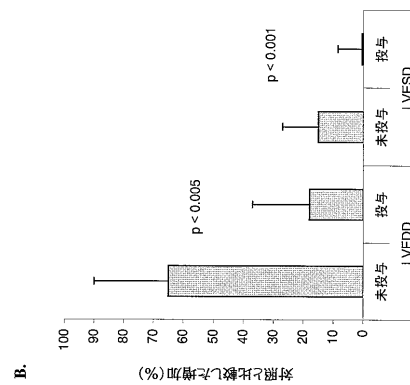


B.

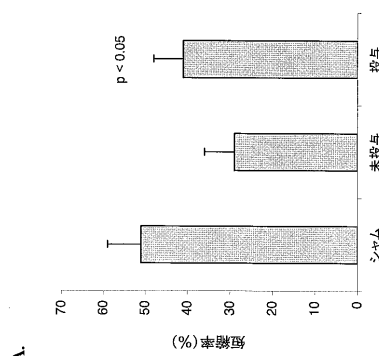
【図 11】



【図 12】

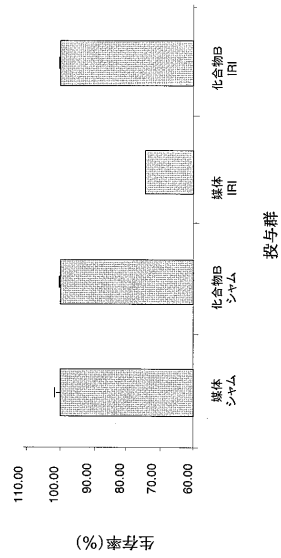


B.

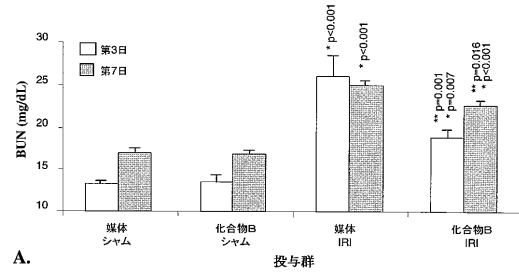


A.

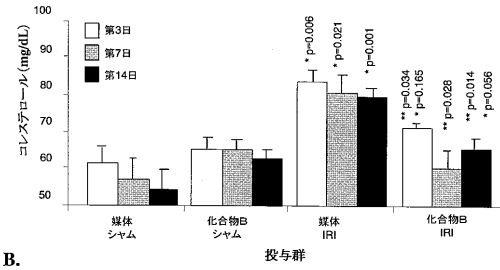
【図 13】



【図 14】



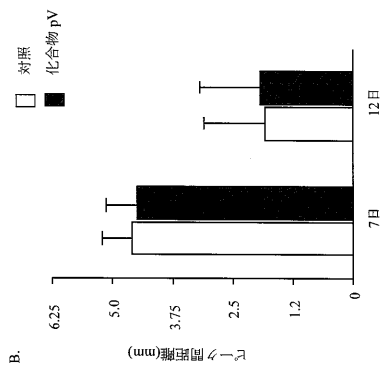
A.



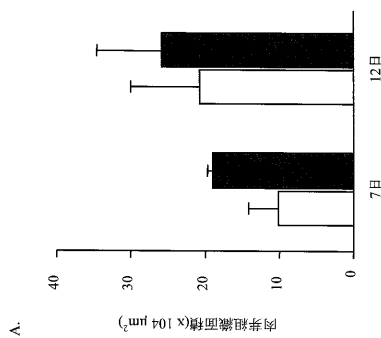
B.

それぞれ、*OMO+シヤムと比較、**OMO+IRIと比較

【図 15】



B.



A.

【配列表】

0005341293000001.xml

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P 17/02
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1

(31)優先権主張番号 60/359,683
 (32)優先日 平成14年2月25日(2002.2.25)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/386,488
 (32)優先日 平成14年6月5日(2002.6.5)
 (33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 ゲンツラー - プコール, フォルクマー
 アメリカ合衆国 9 4 5 7 7 カリフォルニア州, サン レアンドロ, リージェント ドライブ
 1 4 0 8
 (72)発明者 ネフ, トーマス, ビー.
 アメリカ合衆国 9 4 0 2 7 カリフォルニア州, アサートン, グレンウッド アベニュー 1 9
 0
 (72)発明者 ワン, キンジャン
 アメリカ合衆国 9 5 6 1 6 カリフォルニア州, デービス, エバーグレーズ プレース 2 1 1
 5
 (72)発明者 アレンド, マイケル, ビー.
 アメリカ合衆国 9 4 4 0 3 カリフォルニア州, サン マテオ, イースト 4 0 ティーエイチ
 アベニュー 3 6, アpartment ナンバーイー
 (72)発明者 フリップピン, リー, エー.
 アメリカ合衆国 9 4 0 6 2 カリフォルニア州, ウッドサイド, スカイライン ブルバード 1
 7 6 5 9

合議体

審判長 内田 淳子
 審判官 中村 浩
 審判官 穴吹 智子

(56)参考文献 特開平11-302257(JP,A)
 特開平9-124606(JP,A)
 特開平7-242635(JP,A)
 国際公開第00/50390(WO,A1)
 国際公開第99/21860(WO,A1)
 国際公開第99/28469(WO,A1)
 国際公開第00/10578(WO,A1)
 Science, 2001年4月, 292, p.468-472
 Science, 2001年11月, 294, p.1337-1340
 Hepatology, 1998年, 28, p.404-411

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 A61K 45/00
 CAPLUS(STN)

MEDLINE (STN)
EMBASE (STN)
BIOSIS (STN)