

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6035338号  
(P6035338)

(45) 発行日 平成28年11月30日 (2016.11.30)

(24) 登録日 平成28年11月4日 (2016.11.4)

(51) Int. Cl. F I  
**A 6 1 K 31/573 (2006.01)** A 6 1 K 31/573  
**A 6 1 K 47/28 (2006.01)** A 6 1 K 47/28  
**A 6 1 K 47/48 (2006.01)** A 6 1 K 47/48  
**A 6 1 P 3/06 (2006.01)** A 6 1 P 3/06  
**A 6 1 P 29/00 (2006.01)** A 6 1 P 29/00

請求項の数 8 (全 38 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-530888 (P2014-530888)	(73) 特許権者	514065003
(86) (22) 出願日	平成24年9月14日 (2012.9.14)		デイビッドソン ロベス, エルエルシー
(65) 公表番号	特表2014-526515 (P2014-526515A)		アメリカ合衆国 イリノイ 60035,
(43) 公表日	平成26年10月6日 (2014.10.6)		ハイランド パーク, ベル アベニュー
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/055549		140
(87) 国際公開番号	W02013/040441	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開日	平成25年3月21日 (2013.3.21)		弁理士 山本 秀策
審査請求日	平成27年8月21日 (2015.8.21)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	61/535,661		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成23年9月16日 (2011.9.16)	(74) 代理人	100181674
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 飯田 貴敏
(31) 優先権主張番号	61/675,966	(74) 代理人	100181641
(32) 優先日	平成24年7月26日 (2012.7.26)		弁理士 石川 大輔
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	230113332
			弁護士 山本 健策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 植物ステロイドおよびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の薬物コンジュゲート

D - L - P (I)

であって、

式中、D は プレドニゾロン であり、

L は連結であり、

P は植物ステロイド成分である、

薬物コンジュゲート。

【請求項 2】

プレドニゾロンスチグマステロールトリエチレングリコールアルコールスクシナート；  
 プレドニゾロンスチグマステロールスクシナート；およびプレドニゾロンスチグマステ  
 ロールトリエチレングリコールアセタートからなる群から選択される、請求項 1 に記載の薬  
 物コンジュゲート。

【請求項 3】

P がフィステロールまたはフィスタノール成分である、請求項 1 に記載の薬物コン  
 ジュゲート。

【請求項 4】

P がスチグマステロール、カンペステロール、24(S), 25-エポキシコレステロ  
 ール、または 5-6-エポキシカンペステロールである、請求項 3 に記載の薬物コンジュ

ゲート。

【請求項 5】

L が結合である、請求項 1 に記載の薬物コンジュゲート。

【請求項 6】

L が、エーテル、アミド、スルホンアミド、およびエステルからなる群から選択される少なくとも 1 つの化学官能基を含む、請求項 1 に記載の薬物コンジュゲート。

【請求項 7】

L が少なくとも 3 個の原子を含む、請求項 1 に記載の薬物コンジュゲート。

【請求項 8】

L が少なくとも 10 個の原子を含む、請求項 7 に記載の薬物コンジュゲート。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、植物ステロールを含む植物ステロイド、より具体的には、薬物送達媒体として植物ステロイドを用いることに関する。

【背景技術】

【0002】

負の副作用は、腸を通して血流へ吸収され、体全体へ循環する経口薬物への全身性曝露に関連し得る。いくつかの薬物、特に、胃腸管症状に適応される薬物について、または胃腸管系を通して効果を発揮する薬物について、体中を循環するよりむしろ、腸管細胞などの胃腸管組織内に薬物を保持することが望ましい。したがって、当技術分野において、薬物を腸管細胞へ特異的にターゲティングする方法の必要性がある。

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

植物ステロイドおよび薬物を含む化合物が、本明細書に提供される。植物ステロイドは、薬物に結合することができ、その結合は、共役結合またはアミン結合であり得る。薬物は、抗炎症薬、グルココルチコイド、LXR アゴニスト、TNF 阻害剤、NF- $\kappa$ B 阻害剤またはアゴニスト、選択的 COX-2 阻害剤、非選択的非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID)、メトトレキサート、レフルノミド、メサラミン、バルサラジド、オサラジン、スルファサラジン、アミノサリチラート、シクロスポリン、メルカプトプリン、アザチオプリン、アトロピン、ミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質 (MTP) 阻害剤、アシル CoA: コレステロールアシルトランスフェラーゼ-2 (ACAT2) 阻害剤、ファルネソイド X 受容体 (FXR) アゴニスト、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ (diacylglycerol acyltransferase) (DGAT) 阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) アゴニスト、回腸型胆汁酸輸送 (IBAT) 阻害剤、抗生物質、または抗ウイルス剤でもよい。薬物はまたプレドニゾンでもよい。

30

【0004】

植物ステロイドは、フィトステロールまたはフィトスタノールでもよい。ステロールは、スチグマステロール、ブラシカステロール、カンパエステノール、またはカンベステロールでもよい。コレステロールもまた、薬物に結合し得る。コレステロールレベルを低下させるための方法であって、それを必要としている哺乳類にオキシフィトスタノールを投与する工程を含み得る方法もまた、本明細書に提供される。

40

【0005】

以下の式 (I) の薬物コンジュゲートもまた本明細書に提供される：

D - L - P (I)

式中、D は薬物成分であり、L は連結であり、P は植物ステロイド成分である。コレステロールは、植物ステロイド成分の代わりに用いられてもよい。D は上記のような薬物であってもよい。例えば、D は、グルココルチコイドであっても LXR アゴニスト成分であっ

50

てもよい。グルココルチコイドはブデソニドであってもよく、LXRアゴニストは、GW-3965であってもTO-901317であってもよい。Pは、フィトステロールであってもフィスタノール成分であってもよい。Pは、スチグマステロール、カンペステロール、24(S), 25-エポキシコレステロール、または5-6-エポキシカンペステロールであってもよい。Lは結合であってもよく、エーテル、アミド、スルホンアミド、またはエステルなどの少なくとも1つの化学官能基を含んでもよい。Lは、少なくとも3個の原子を含んでもよく、少なくとも10個の原子を含んでもよい。

#### 【0006】

薬物コンジュゲートは、カンペステロール/ブデソニド薬物コンジュゲート、24(S), 25-エポキシコレステロール/ブデソニド薬物コンジュゲート、カンペステロール/GW-3965薬物コンジュゲート、カンペステロール/TO-901317薬物コンジュゲート、24(S), 25-エポキシコレステロール/GW-3965薬物コンジュゲート、または24(S), 25-エポキシコレステロール/TO-901317薬物コンジュゲートであってもよい。薬物コンジュゲートは、プレドニゾロンスチグマステロールトリエチレングリコールアルコールスクシナート(prednisolone stigmastrol trisethyleneglycol alcohol succinate)、プレドニゾロンスチグマステロールスクシナート、またはプレドニゾロンスチグマステロールトリエチレングリコールアセタート(prednisolone stigmastrol trisethyleneglycol acetate)であってもよい。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

#### (項目1)

式(I)の薬物コンジュゲート

D-L-P (I)

であって、

式中、Dは薬物成分であり、Lは連結であり、Pは植物ステロイド成分である、薬物コンジュゲート。

#### (項目2)

Dがプレドニゾンである、項目1に記載の化合物。

#### (項目3)

プレドニゾロンスチグマステロールトリエチレングリコールアルコールスクシナート；プレドニゾロンスチグマステロールスクシナート；およびプレドニゾロンスチグマステロールトリエチレングリコールアセタートからなる群から選択される、項目1に記載の薬物コンジュゲート。

#### (項目4)

Pがフィトステロールまたはフィスタノール成分である、項目1に記載の薬物コンジュゲート。

#### (項目5)

Pがスチグマステロール、カンペステロール、24(S), 25-エポキシコレステロール、または5-6-エポキシカンペステロールである、項目4に記載の薬物コンジュゲート。

#### (項目6)

Dが、抗炎症薬、グルココルチコイド、LXRアゴニスト、TNF 阻害剤、NF- $\kappa$ B 阻害剤またはアゴニスト、選択的COX-2阻害剤、非選択的非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、メトトレキサート、レフルノミド、メサラミン、バルサラジド、オサラジン、スルファサラジン、アミノサリチラート、シクロスポリン、メルカプトプリン、アザチオプリン、アトロピン、ミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質(MTP)阻害剤、アシルCoA:コレステロールアシルトランスフェラーゼ-2(ACAT2)阻害剤、ファルネソイドX受容体(FXR)アゴニスト、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ(DGAT)阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)アゴニスト、回

10

20

30

40

50

腸型胆汁酸輸送 ( I B A T ) 阻害剤、抗生物質、および抗ウイルス剤からなる群から選択される、項目 1 に記載の薬物コンジュゲート。

( 項目 7 )

D がグルココルチコイドまたは L X R アゴニスト成分である、項目 6 に記載の薬物コンジュゲート。

( 項目 8 )

前記グルココルチコイドがブデソニドであり、前記 L X R アゴニストが G W - 3 9 6 5 または T O - 9 0 1 3 1 7 である、項目 7 に記載の薬物コンジュゲート。

( 項目 9 )

L が結合である、項目 1 に記載の薬物コンジュゲート。

10

( 項目 1 0 )

L が、エーテル、アミド、スルホンアミド、およびエステルからなる群から選択される少なくとも 1 つの化学官能基を含む、項目 1 に記載の薬物コンジュゲート。

( 項目 1 1 )

L が少なくとも 3 個の原子を含む、項目 1 に記載の薬物コンジュゲート。

( 項目 1 2 )

L が少なくとも 1 0 個の原子を含む、項目 1 1 に記載の薬物コンジュゲート。

( 項目 1 3 )

カンペステロール / ブデソニド薬物コンジュゲート ; 2 4 ( S ) , 2 5 - エポキシコレステロール / ブデソニド薬物コンジュゲート ; カンペステロール / G W - 3 9 6 5 薬物コンジュゲート ; カンペステロール / T O - 9 0 1 3 1 7 薬物コンジュゲート ; 2 4 ( S ) , 2 5 - エポキシコレステロール / G W - 3 9 6 5 薬物コンジュゲート ; および 2 4 ( S ) , 2 5 - エポキシコレステロール / T O - 9 0 1 3 1 7 薬物コンジュゲートからなる群から選択される、項目 1 に記載の薬物コンジュゲート。

20

( 項目 1 4 )

植物ステロイドおよび薬物を含む化合物であって、前記植物ステロイドが前記薬物に結合している、化合物。

( 項目 1 5 )

前記結合が共役結合またはアミン結合である、項目 1 4 に記載の化合物。

( 項目 1 6 )

30

前記薬物が、抗炎症薬、グルココルチコイド、L X R アゴニスト、T N F 阻害剤、N F - B 阻害剤またはアゴニスト、選択的 C O X - 2 阻害剤、非選択的非ステロイド性抗炎症薬 ( N S A I D ) 、メトトレキサート、レフルノミド、メサラミン、バルサラジド、オサラジン、スルファサラジン、アミノサリチラート、シクロスポリン、メルカプトプリン、アザチオプリン、アトロピン、ミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質 ( M T P ) 阻害剤、アシル C o A : コレステロールアシルトランスフェラーゼ - 2 ( A C A T 2 ) 阻害剤、ファルネソイド X 受容体 ( F X R ) アゴニスト、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ ( D G A T ) 阻害剤、グルカゴン様ペプチド - 1 ( G L P - 1 ) アゴニスト、回腸型胆汁酸輸送 ( I B A T ) 阻害剤、抗生物質、および抗ウイルス剤からなる群から選択される、項目 1 4 に記載の化合物。

40

( 項目 1 7 )

前記薬物がプレドニゾンである、項目 1 6 に記載の化合物。

( 項目 1 8 )

前記植物ステロイドが、フィトステロールおよびフィスタノールからなる群から選択されるステロールである、項目 1 4 に記載の化合物。

( 項目 1 9 )

前記ステロールが、スチグマステロール、ブラシカステロール、カンプレステノール、およびカンペステロールからなる群から選択される、項目 1 8 に記載の化合物。

( 項目 2 0 )

コレステロールおよび薬物を含む化合物であって、前記コレステロールが前記薬物に結合

50

している、化合物。

(項目 2 1)

コレステロールレベルを低下させるための方法であって、それを必要としている哺乳類にオキシフィタスタノールを投与する工程を含む、方法。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】図1は、どのようにして、フィステロールおよびフィタスタノールを用いて、薬物を腸管細胞へ送達するかを示す。

【図2】図2は、Caco-2細胞のステロール結合体化プレドニゾンでの処理に関連した遺伝子発現変化のVolcanoプロットの例を示す。

10

【図3A】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図3B】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図3C】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図3D】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図3E】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

20

【図3F】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図3G】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図3H】図3A～Fは、様々なステロール結合体化プレドニゾン化合物で処理されたCaco-2細胞における遺伝子発現変化を示す。

【図4】図4は、2.5 μMのプレドニゾン、SE-22-II、SE-24-II、およびSE-41-IIに対する主要遺伝子ファミリーの遺伝子応答を示す。

【図5】図5は、プレドニゾン、SE-22、SE-24、およびSE-41により影響を及ぼされる核内ホルモン受容体を示す。

30

【図6】図6は、Caco-2細胞における核内ホルモン受容体に影響を及ぼす遺伝子応答を示す。

【図7】図7は、古典的およびオーファンホルモン受容体ならびにそれらのリガンドのリストを示す。

【図8】図8は、核内ホルモン受容体の概略図を示す。典型的な核内受容体は、数個の機能性ドメインで構成される。可変NH2末端領域(A/B)は、リガンド非依存性AF-1トランス活性化ドメインを含有する。保存されたDNA結合ドメイン(DBD)または領域Cは、特定のDNA配列の認識に関与する。可変リンカー領域Dは、リガンド結合ドメイン(LBD)および二量体形成表面を含有する保存されたE/F領域へDBDを結合する。リガンド非依存性転写活性化ドメインは、A/B領域内に含有され、リガンド依存性AF-2コアトランス活性化ドメインは、LBDのCOOH末端部分内に含有される。

40

【図9A】図9Aおよび9Bは、プレドニゾン、SE-22、SE-24、およびSE-41により影響されるインターロイキン関連遺伝子の参照リストを示す。

【図9B】図9Aおよび9Bは、プレドニゾン、SE-22、SE-24、およびSE-41により影響されるインターロイキン関連遺伝子の参照リストを示す。

【図10】図10は、影響されたインターロイキンおよびインターロイキン受容体の視覚的プロットを示す。

【図11A】図11A～Lは、SE-24-II(図11A～CおよびJ～L)、SE-22-II(図11D～FおよびM～O)、およびSE-41-II(図11G～IおよびP～R)の構造を確認するスペクトルデータを示す。

50

【図 1 1 R】図 1 1 A ~ L は、S E - 2 4 - I I ( 図 1 1 A ~ C および J ~ L )、S E - 2 2 - I I ( 図 1 1 D ~ F および M ~ O )、および S E - 4 1 - I I ( 図 1 1 G ~ I およ

50

びP～R)の構造を確認するスペクトルデータを示す。

【発明を実施するための形態】

【0008】

本発明者らは、植物ステロイド薬物コンジュゲートを用いて、全身性薬物循環の有害作用なしに、腸の疾患の処置のために腸管細胞を標的とすることができるという、または腸での代謝に影響を及ぼすことができるという驚くべき発見をしている。具体的には、消化に対して一時的、または(いくらか、または完全に)永久的に抵抗性である結合によって、薬物を植物ステロイドに結合させることは、結果として、血流へとほとんど全身性に吸収されることなく、治療薬の腸管細胞への標的化送達をもたらすことができる。

【0009】

1. 定義

他に規定がない限り、本明細書で用いられる全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されているのと同じ意味を有する。矛盾する場合、定義を含む本文書が支配するものとする。

【0010】

本明細書に用いられる用語法は、特定の実施形態のみを記載することを目的とし、限定することを意図するものではない。用語「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈が明らかに他に指図しない限り、単数形および複数形の指示対象を含む。したがって、例えば、「1つの薬物」を送達するための組成物への言及は、1つ、2つ、またはそれより多くの薬物への言及を含む。本明細書で用いられる場合、用語「含む(comprise(s))」、「含む(include(s))」、「有すること(having)」、「有する(has)」、「できる(can)」、「含有する(contain(s))」、およびそれらの変形は、追加の行為、化合物、または構造の可能性を排除しない、非制限的な移行句、用語、または語であるものとする。本発明はまた、明確に示されていようが示されていまいが、本明細書に提示された実施形態または要素「を含む」、「からなる」、および「から本質的になる」他の実施形態も企図する。

【0011】

本明細書における数の範囲の列挙について、同じ正確度でそれらの間にあるそれぞれの数は、明確に企図される。例えば、6～9の範囲について、6および9に加えて、7および8の数が企図され、範囲6.0～7.0について、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、および7.0の数が明確に企図される。

【0012】

本明細書で用いられる場合、用語「薬物」、「薬物部分」、「薬物成分」、「治療薬」、「治療剤」、およびそれらの変形は、ターゲットされる細胞または組織への送達を意図される任意の薬物または他の作用物質(agent)を指す。

【0013】

本明細書で用いられる場合、用語「連結」、「リンカー」、およびそれらの変形は、植物ステロイド成分と薬物成分を結合する任意の部分指す。連結は、薬物と植物ステロイドを直接、結合する共有結合または化学官能基であり得る。連結は一連の共有結合した原子およびそれらの置換基を含有し得、それらは集合的に連結と呼ばれる。特定の実施形態において、連結は、薬物をリンカーの第1端に結合する第1の共有結合または化学官能基、およびリンカーの第2端を植物ステロイドに結合する第2の共有結合または化学官能基によって特徴づけることができる。

【0014】

疾患からの動物の保護を指す場合の「処置」または「処置すること」は、疾患を予防すること、抑制すること、抑圧すること、または完全に排除することを意味する。疾患を予防することは、疾患の発症より前に、本発明の組成物を動物に投与することを含む。疾患を抑制することは、疾患の誘発後であるが、その臨床的出現の前に、本発明の組成物を動物に投与することを含む。疾患を抑圧することは、疾患の臨床的出現の後に本発明の組

10

20

30

40

50

成物を動物に投与することを包含する。

【 0 0 1 5 】

## 2. 本発明の化合物

標的化薬物送達のための化合物が本明細書に提供される。特に、植物ステロイドおよび薬物を含む作用物質または薬物コンジュゲートが本明細書に提供される。本発明の薬物コンジュゲートは、以下の式 ( I ) の化合物を含む：

D - L - P ( I )

式中、Dは薬物成分であり、Lは連結であり、Pは植物ステロイド成分である。

【 0 0 1 6 】

特定の実施形態において、植物ステロイド ( P ) は、フィトステロールまたはフィスタノールであり得る。フィトステロール、およびフィスタノールと名付けられたそれらの飽和型は、植物に天然で存在する一群のステロイドアルコールである。これらの化合物は、ヒトによって合成され得ず、したがって、常に、食事に由来する。フィトステロールは、腸において吸収されにくい ( 0 . 4 ~ 3 . 5 % )、フィスタノール吸収はさらに低い ( 0 . 0 2 ~ 0 . 3 % )。これらの植物に基づいた化合物は、食事の中に豊富にあり、ステロールトランスポータNPC 1 L 1によって腸管細胞へ入る。いったん腸管細胞に入ると、植物ステロールおよびスタノールは、LXRなどの核内受容体を制御し、他の潜在的代謝効果を有する。しかしながら、腸コレステロールとは違って、これらの植物ステロールおよびスタノールは、ACAT (リンパへの吸収のためにステロールをオレアートへ変換するのに必要とされる酵素) に対する弱い基質であり、ABCG5およびABCG8によって、腸管細胞から外へ能動的に輸送され、管腔へ戻る。このため、フィトステロールおよびスタノールは、典型的には、血流へほとんど吸収されない。したがって、フィトステロールおよびスタノールは、循環へと全身性に導入することのない、治療薬の腸管細胞への標的化送達に用いるのに適している。

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態において、生じたステロイド - リンカー - 薬物コンジュゲートは、徐々に、または部分的に、その成分の1つまたは複数 (ステロイド成分、リンカー成分、薬物成分、ステロイド - リンカー成分、もしくはリンカー - 薬物成分、またはそれらの代謝誘導体のいずれか) へ代謝される。特定の実施形態において、この種のコンジュゲートは、初期GI消化段階を越えての、コンジュゲートにおける活性部分の送達媒体として有用である。いったん下流へ送達されたならば、そのようなコンジュゲートは、代謝されて、標的部位において活性部分を遊離し得る。そのようなコンジュゲートは、プロドラッグの特徴を有し得る。コレステロールは、そのような部分的に安定なコンジュゲートにおける成分として用いられ得るが、被験体においてコレステロールを上昇させるリスクがあるため、フィトステロールが、そのようなコンジュゲートにおける成分として好ましくあり得る。他の実施形態において、生じたステロール - リンカー - 薬物のコンジュゲートは、極めて安定であり、身体において、限られた程度まで代謝される。そのような相対的に安定なステロール - リンカー - 薬物のコンジュゲートについて、コレステロールを凌ぐフィトステロールの限定的な選択性がある。

【 0 0 1 8 】

植物ステロイド成分として用いるのに適したフィトステロールには、 $\beta$ -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール (スチグマスタ - 5 , 2 2 - ジエン - 3 - オール)、およびブラシカステロール (エルゴスタ - 5 , 2 2 - ジエン - 3 - オール) が挙げられるが、それらに限定されない。植物ステロイド成分として用いるのに適切なフィスタノールには、シトスタノール、カンブエスタノール、ブラシカスタノール、およびスチグマスタノールが挙げられるが、それらに限定されない。特定の実施形態において、フィスタノールは、スタノールエステルを提供するように、エステル化型として存在してもよい。あるいは、植物ステロイド成分は、酸化されている植物ステロールであってもよく、したがって、オキシフィトステロールまたはオキシフィスタノールであってもよい。



## 【 0 0 1 9 】

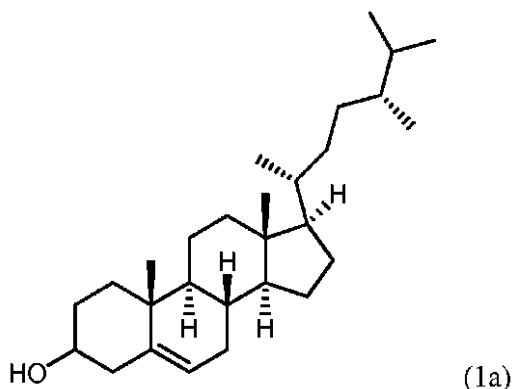
別の実施形態において、植物ステロイド（P）は、コレステロールで置き換えられてもよい。コレステロールは、本明細書において植物ステロールについて記載されたのと同じリンカー（L）を介して同じ様式で薬物（D）に結合し得る。コレステロールもまた、本明細書において植物ステロールについて記載されているように官能化されてもよい。

## 【 0 0 2 0 】

好ましい実施形態において、薬物コンジュゲートの植物ステロイド成分は、カンペステロールとも呼ばれる、式（1a）の化合物である。

## 【 0 0 2 1 】

## 【化1】

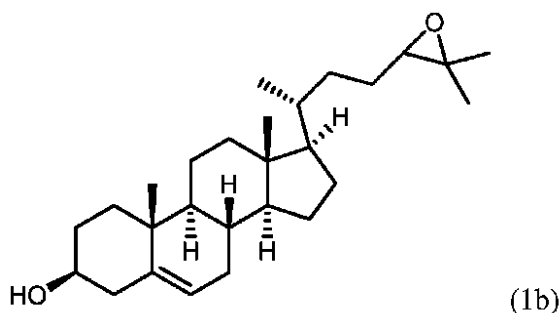


## 【 0 0 2 2 】

特定の実施形態において、ステロールのアミノ誘導体、イオウ誘導体、および他の誘導体が用いられてもよく、それらには、24（S），25 - エポキシコレステロール（式1b）または5 - 6 - エポキシカンペステロールなどの酸化ステロールが挙げられるが、それらに限定されない。

## 【 0 0 2 3 】

## 【化2】



## 【 0 0 2 4 】

本発明のいくつかの実施形態において、ステロイドは、薬物に直接、連結してもよい。例として、ステロイド上の - OH 基は、薬物上のカルボキシ基と反応して、エステル結合を形成し得る。他の実施形態において、リンカー分子を用いて、ステロイド成分と薬物成分の間に結合を提供し、その薬物送達特性または代謝的安定特性を最適化するように調整され、加えて、所望の型の分子の合成を最適化することができる。他の実施形態において、- OH 基は、アミン、イオウ、または他の官能基で置換されてもよい。

## 【 0 0 2 5 】

本開示の薬物コンジュゲートの薬物成分（D）として用いるのに適した薬物には、標的とする細胞または組織への送達を意図される任意の薬物または治療剤が挙げられる。特定の実施形態において、治療剤は、腸の疾患を処置するための、または腸での代謝に影響を及ぼす薬物であってもよい。例えば、薬物は、炎症性腸疾患を処置するために用いられてもよく、または腸がんまたは結腸がんなどのがんに対する化学療法剤であってもよい。特

10

20

30

40

50

定の実施形態において、治療剤は、例えば、グルココルチコイド、LXRアゴニスト、TNF阻害剤、NF- $\kappa$ B阻害剤もしくはアゴニスト、選択的COX-2阻害剤、または非選択的非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)などの抗炎症剤である。治療剤はまた、メトトレキサート、レフルノミド、メサラミン、バルサラジド、オサラジン、スルファサラジン、アミノサリチレート、シクロスポリン、メルカプトプリン、アザチオプリン、アトロピン、ミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質(MTP)阻害剤、アシルCoA:コレステロールアシルトランスフェラーゼ-2(ACAT-2)阻害剤、ファルネソイドX受容体(FXR)アゴニスト、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ(DGAT)阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)アゴニスト、回腸型胆汁酸輸送(IBAT)阻害剤、抗生物質、または抗ウイルス剤でもよい。

10

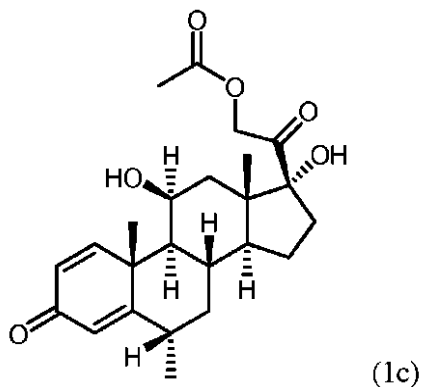
## 【0026】

グルココルチコイドには、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバル酸チキソコルトール、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン(式(1c))、プレドニゾン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ハルシノニド、ベタメタゾン、リン酸ベタメタゾンナトリウム、デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン-17-ブチレート、ヒドロコルチゾン-17-パレレート、ジプロピオン酸アルクロメタゾン(acclometasone)、吉草酸ベタメタゾン、ジプロピオン酸ベタメタゾン、プレドニカルバート、クロベタゾン-17-ブチレート、クロベタゾール-17-プロピオナート、カプロン酸フルオコルトロン、ピバル酸フルオコルトロン、および酢酸フルプレドニデンが挙げられるが、それらに限定されない。

20

## 【0027】

## 【化3】



30

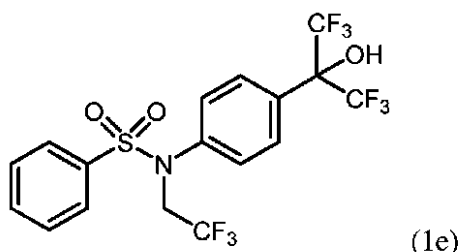
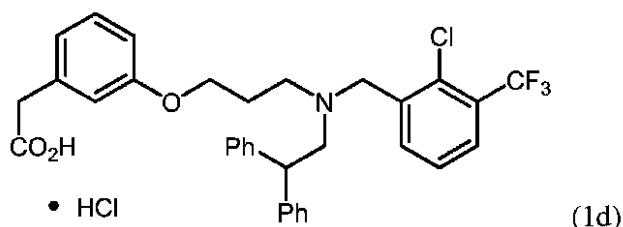
## 【0028】

肝臓X受容体アゴニスト(LXRアゴニスト)には、非限定的に、式(1d)として描かれたGW-3965(GlaxoSmithKline)、式(1e)として描かれたTO-901317(Tularik)、MBX-102(Metabolex)、NO-1886(Otsuka)、およびGemcabene(Pfizer)が挙げられる。

40

## 【0029】

## 【化 4】



## 【 0 0 3 0 】

選択的シクロオキシゲナーゼ - 2 阻害剤 (COX - 2 阻害剤) には、非限定的に、ロフェコキシブ、商標 VIOXX (商標) (Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, N. J., USA); セレコキシブ、商標 CELEBREX (商標) (Pfizer); バルデコキシブ、商標 BEXTRA (商標) (Pharmacia Corp., Peapack, N. J., USA); パレコキシブ (paracoxib)、商標 DYNASTAT (商標) (Pharmacia Corp.); エトリコキシブ、商標 ARCOXIA (商標) (Merck & Co., Inc.); および NS - 398 ((N - (2 - シクロヘキシルオキシ - 4 - ニトロフェニル)メタン

## 【 0 0 3 1 】

本発明に従う改変として企図される NSAID には、アセトアミノフェン (Tylenol、Datril など)、アスピリン、イブプロフェン (Motrin、Advil、Rufen 他)、サリチル酸コリンマグネシウム (Triasate)、サリチル酸コリン (Anthropan)、ジクロフェナク (voltaren、cataflam)、ジフルニサル (dolobid)、エトドラク (lodine)、フェノプロフェンカルシウム (nalfon)、フルルピプロフェン (ansaid)、インドメタシン (indocin、indometh、他)、ケトプロフェン (orudis、oruvail)、カルプロフェン、インドプロフェン、ケトロラクトロメタミン (toradol)、サリチル酸マグネシウム (Doan's、magan、mobidin、他)、メクロフェナム酸ナトリウム (meclomen)、メフェナム酸 (relafan)、オキサプロジン (daypro)、ピロキシカム (feldene)、サリチル酸ナトリウム、スリンダク (clinoril)、トルネチン (tolectin)、メロキシカム、ナブメトン、ナプロキセン、ロルノキシカム (lomoxicam)、ニメスリド、インドプロフェン、レミフェンゾン、サルサラート、チアプロフェン酸、およびフロスリドなどが挙げられる。本発明の実施に用いられる、現在好ましい NSAID には、ナプロキセン、アスピリン、イブプロフェン、フルルピプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、およびカルプロフェンなどが挙げられる。

## 【 0 0 3 2 】

MTP 阻害剤には、非限定的に、インブリタピド、BMS - 201038、R - 103757、および JTT - 130 などが挙げられる。ACAT - 2 阻害剤には、非限定的に、脂肪酸アニリド誘導体、尿素由来化合物、CI976、エフルシミベ (F - 1251)、CP113、818、グリベンクラミド、アバシミベ (CI - 1011)、パクチミベ、リモナバント、AM251、SR144528、ピリピロベンA、CP113、PD -

10

20

30

40

50

138142 - 15、PD - 156759、XD - 793 - 11、AEGR - 733、およびDuP128などが挙げられる。FXRアゴニストには、非限定的に、GW4064、INT - 747、MFA - 1、フェキサミン、WAY - 362450、T0901307、6 - エチルケノデオキシコール酸、AGN29、AGN31、およびググルステロンなどが挙げられる。DGAT阻害剤には、非限定的に、T863、LCQ - 908、PF - 04620110、A - 922500、H128、JTT - 553、PF - 4415060、およびキサントフモールなどが挙げられる。GLP - 1アゴニストには、非限定的に、エクセナチド、リラグルチド、タスポグルチド(taspaglutide)、AVE - 0010、アルビグルチド、およびR1583などが挙げられる。IBAT阻害剤には、非限定的に、A3309、SC - 435、S - 8921、2164U90、およびBRL 39924Aなどが挙げられる。

10

#### 【0033】

好ましくは、フィトステロールまたはフィスタノールなどの植物ステロイド成分は、消化に対して抵抗性の結合(複数可)を通して治療成分に連結される。特定の実施形態において、連結(L)は、結合でもよく、それにより、薬物成分(D)を植物ステロイド成分(P)へ直接、連結する。あるいは、植物ステロイドと治療薬の間の連結は、1個または複数の原子を含む。好ましくは、連結は、特に、薬物成分のステロール/スタノール成分との相対的な近接が、腸管細胞の、その細胞からの除去のためにステロール/スタノール成分を認識/結合する能力に干渉する可能性がある場合、および/またはステロール/スタノール成分の治療薬との相対的な近接が、薬物の治療活性に干渉する可能性がある場合、10個またはそれより多くの原子を含む。

20

#### 【0034】

植物ステロイドと治療薬の間の連結(L)は、1つまたは複数のエーテル結合、アミド結合、スルホンアミド結合、および/またはエステル結合を含んでもよい。エーテル結合は、生物システムにおいて高度の安定性を有し、したがって、特定の実施形態において好ましい場合がある。アミド結合およびスルホンアミド結合は、エステラーゼおよびプロテアーゼによる典型的消化に抵抗するが、肝臓代謝に抵抗性ではない場合が多い。したがって、特定の実施形態において、アミド結合またはスルホンアミド結合は、薬物コンジュゲートのわずかな程度の吸収が肝臓代謝によって中和され、それゆえに、循環中の蓄積を避けることができるため、エーテル結合と比較して、追加の安全手段を提供する。特定の実施形態において、連結は、相対的に消化に対して安定であり得る、1つまたは複数のエステル結合を含んでもよい。その連結は、トリエチレングリコール(trisethylene glycol)、コハク酸、それらの複数ユニット、または前述の組み合わせを含んでもよい。

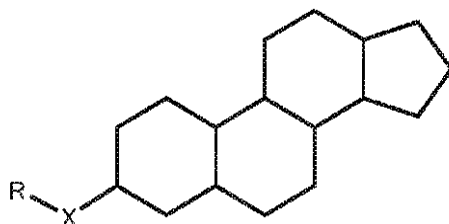
30

#### 【0035】

植物ステロイドは、以下のような機能性結合(functional linkage)を用いて薬物に結合体化されてもよい:

#### 【0036】

#### 【化5】



40

#### 【0037】

式中、XはO、S、N、NH、SO、SO<sub>2</sub>、またはSONHなどであり、RはH、または薬物結合体化に適した少なくとも1つの官能基を有する、置換アルキルもしくは置換アラルキルである。上記のステロイド核構造物は、本明細書に記載された任意の植物ステロ

50

イド構造物によって置き換えられてもよい。

【 0 0 3 8 】

特定の実施形態において、フィトステロールまたはフィトスタノールは、典型的なフィトステロールまたはフィトスタノールのヒドロキシル基を通して薬物成分に連結することができる。植物ステロイドのヒドロキシル基への結合は、植物ステロイドの吸収性欠如の特徴を犠牲にすることなく、達成することができる。例えば、フィトステロールおよびフィトスタノールの脂肪酸エステルは、LDL-コレステロールレベルを低下させるための作用物質として以前、用いられていた。フィトステロールまたはフィトスタノールのヒドロキシル基の脂肪酸エステルへの化学修飾にも関わらず、植物ステロイドの吸収性欠如の特徴は保持される。したがって、典型的なフィトステロールまたはフィトスタノールのヒドロキシル基は、植物ステロイドの薬物成分への結合において化学修飾のターゲットとなり得る。

10

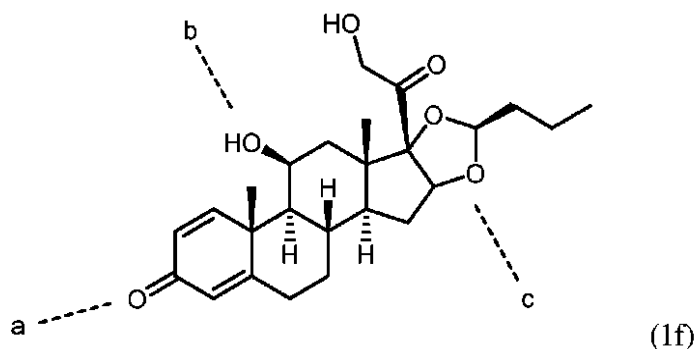
【 0 0 3 9 】

一実施形態において、植物ステロイド成分は、グルココルチコイドに結合し得る。植物ステロイドは、グルココルチコイドに、例えば、グルココルチコイドのケトン官能基またはヒドロキシル官能基を介して、連結されてもよい。しかしながら、幅広い範囲の天然および合成のグルココルチコイドを比較した場合、遠位（左側）のケトン基（=O）および中央のヒドロキシル基（-OH）は、その範囲にわたって高度に保存されている。例えば、ブデソニドに対応する式（1f）のグルココルチコイドは、遠位（左側）のケトン基（「a」と指し示されている）および中央のヒドロキシル基（「b」と指し示されている）を含む。これらの基は、特定のグルココルチコイドを別の成分へ連結するための優れた官能性を提供するが、そのような連結は、抗炎症活性を低下させ得、または消失させる可能性がある。それゆえに、特定の実施形態において、遠位のケトン基および中央のヒドロキシル基は保存され、グルココルチコイド内の他の官能基が、植物ステロイドへの結合のターゲットにされる。

20

【 0 0 4 0 】

【 化 6 】



30

【 0 0 4 1 】

合成グルココルチコイドのサブグループは、グルココルチコイド分子の反対の遠位側（右側）の典型的なグルココルチコイドのシクロペンタン環に融合した1,3-ジオキサラン（dioxolane）環を含む。式（1f）の化合物、ブデソニドは、遠位（右側）の1,3-ジオキサラン環（「c」と指し示されている）を含む。この1,3-ジオキサラン環は、合成グルココルチコイドのサブグループにわたって結合する置換基においてかなりのバリエーションを示す。したがって、特定の実施形態において、アセトニド環上のこれらの可変部位は、グルココルチコイド薬物成分を植物ステロイド成分へ連結するために用いることができる。

40

【 0 0 4 2 】

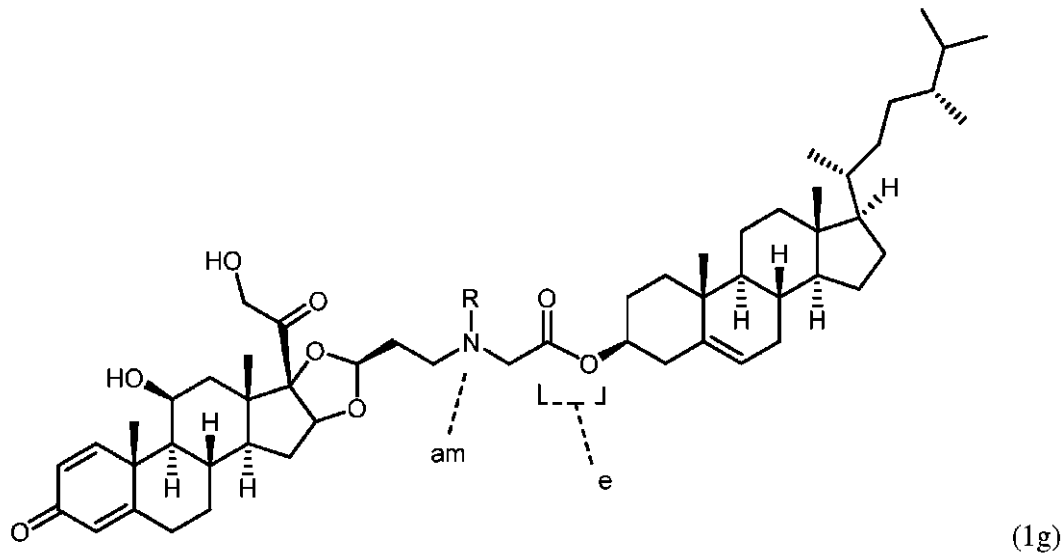
例えば、本明細書で式（1g）として描かれた、本発明の1つの例示的な薬物コンジュゲートは、ブデソニドへ、ブデソニドの1,3-ジオキサラン環を介して連結されたカンベステロールを含み、式中、Rは、水素、置換もしくは非置換アルキル、または置換もし

50

くは非置換アラルキルである。式(1g)のカンペステロール/ブデソニド薬物コンジュゲートは、植物ステロイドとグルココルチコイドの間に連結(L)を含む。連結は、カンペステロールにおけるエステル官能基(「e」と指し示されている)、およびグルココルチコイドにおけるアミン官能基(「am」と指し示されている)を含む。

【0043】

【化7】

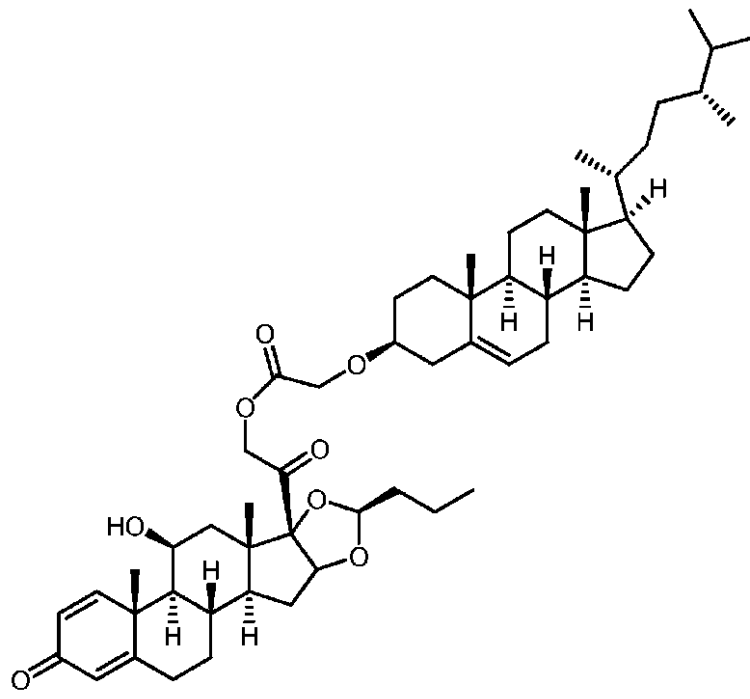


【0044】

合成グルココルチコイドの全範囲にわたって、グルココルチコイド分子の反対の遠位側(右側)の典型的なシクロペンタン環の北側に結合した亜分子群内にかなりのバリエーションが見出される。これらの亜分子群は、典型的には、グルココルチコイドを植物ステロイド成分に結合させるのに適しているヒドロキシル官能基およびケトン官能基を含有する。例えば、本明細書に式(1h)として描かれた、本発明の1つの例示的な薬物コンジュゲートは、カンペステロールにおけるエーテル官能基、およびグルココルチコイドにおけるエステル官能基を通して連結されたブデソニドおよびカンペステロールを含む。グルココルチコイドは、グルココルチコイドのシクロペンタン環と1,3-ジオキサラン環の縮合環炭素に結合した亜分子群( - ヒドロキシケトン ) を介して、植物ステロイドに連結している。

【0045】

## 【化 8】



10

20

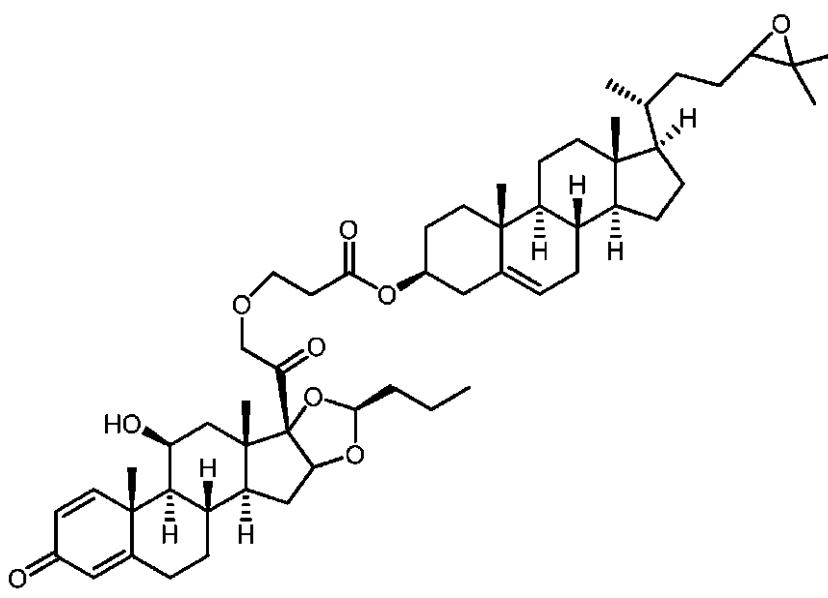
## 【 0 0 4 6 】

別の例において、本明細書で式(1i)として描かれた、本発明の例示的な薬物コンジュゲートは、ブデソニドの近位にあるエーテル官能基、および植物ステロイド成分におけるエステル官能基を介して24(S), 25-エポキシコレステロールに連結されたブデソニドを含む。グルココルチコイドは、グルココルチコイドのシクロペンタン環と1,3-ジオキサラン環の縮合環炭素に結合した亜分子群(-ヒドロキシケトン)を介して、植物ステロイドに連結している。

## 【 0 0 4 7 】

## 【化 9】

30



40

(1i)

## 【 0 0 4 8 】

特定の例示的实施形態において、植物ステロイド成分は、LXRアゴニストに結合して

50

【 0 0 4 9 】

10

【化 1 0】



【化 1 1】

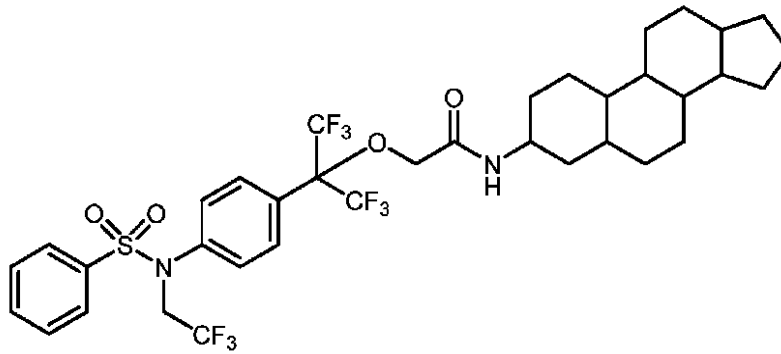


40

【 0 0 5 4 】



## 【化 1 2】



(1m)

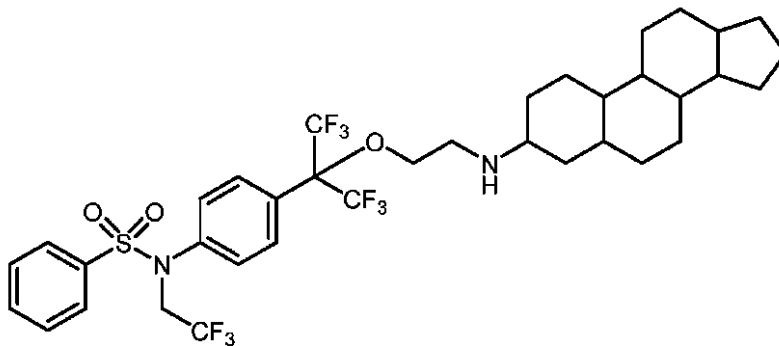
10

## 【 0 0 5 5】

本明細書で式(1n)として描かれた、別の例示的な薬物コンジュゲートには、TO-901317ヒドロキシル基および植物ステロイドの左側ヒドロキシル基を介して、フィトステロールまたはフィスタノール成分に連結したTO-901317が挙げられ、そのLXRアゴニストと植物ステロイドの間の連結が、LXRアゴニストにおけるエーテル官能基および植物ステロイドにおけるアミン官能基を含む。

## 【 0 0 5 6】

## 【化 1 3】



(1n)

20

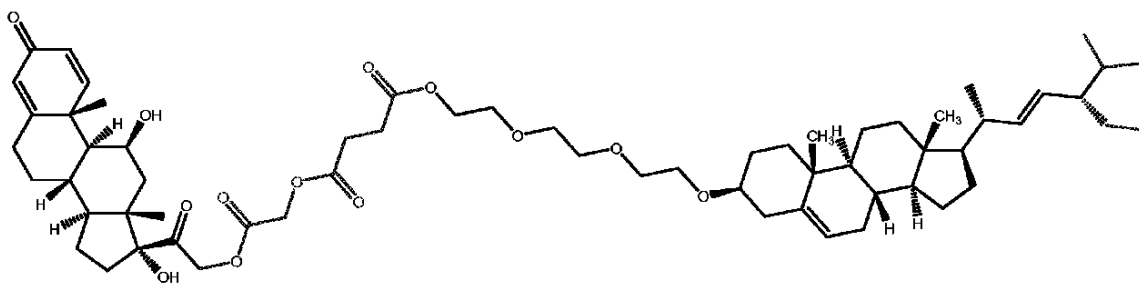
30

## 【 0 0 5 7】

他の例示的な薬物コンジュゲートには、プレドニゾロンステグマステロールトリエチレングリコールアルコールスクシナート(prednisolone stigmastroltriset ethyleneglycol alcohol succinate)(式(1o))、プレドニゾロンステグマステロールスクシナート(式(1p))、およびプレドニゾロンステグマステロールトリエチレングリコールアセタート(prednisolone stigmastroltriset ethyleneglycol acetate)(式(1q))が挙げられる。

## 【 0 0 5 8】

## 【化 1 4】

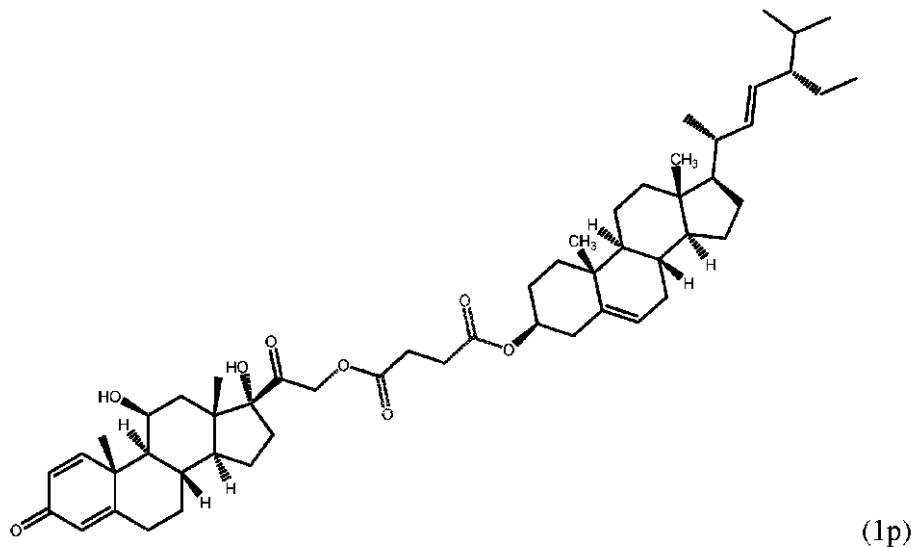


(1o)

40

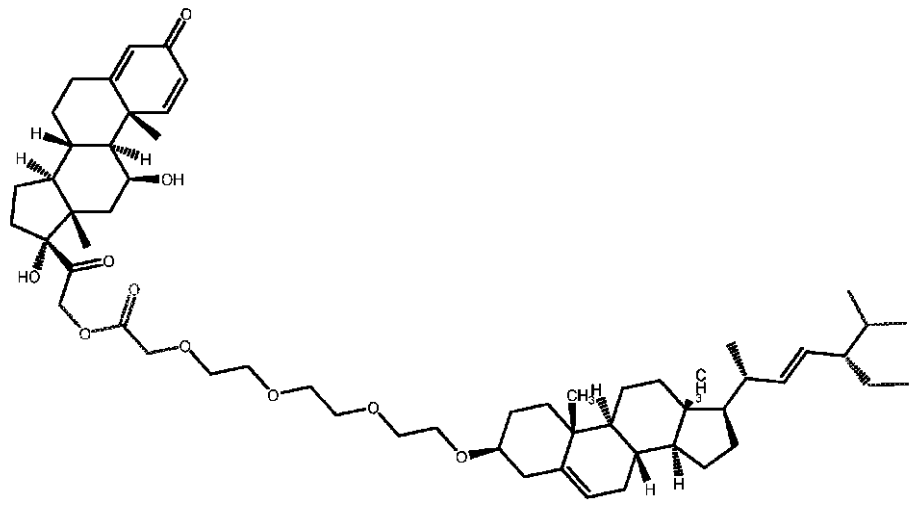
【 0 0 5 9 】

【 化 1 5 】



(1p)

SE-24-II



(1q)

SE-41-II

【 0 0 6 0 】

## 3. 処置の方法

別の態様において、疾患を処置する方法であって、それを必要としている哺乳類に、本発明による薬物コンジュゲートを投与することによる方法が、本明細書に提供される。薬物コンジュゲートは、図1に示されているように、腸管細胞へ特異的に送達され得る。

【 0 0 6 1 】

植物ステロイドを投与することによりLDL-Cなどのコレステロールレベルを調節する方法もまた本明細書に提供される。調節されるコレステロールは、血清コレステロールまたは血漿コレステロールであり得る。例えば、オキシフィトスタノールは、LXRに対する強力なリガンドであり得、それは、非酸化植物ステロールおよびスタノールより大きいLDL-C低下を生じ、腸管由来HDL代謝を有意に増大させ得る。薬物コンジュゲートは、腸がんもしくは結腸がんなどのがん、炎症性腸疾患（IBD）、セリアック病、過敏性腸症候群、脂質代謝異常、アテローム性動脈硬化、肥満、高トリグリセリド血症（hypertriglyceridemia）、糖尿病、または腸感染症を処置するために

10

20

30

40

50

用いられてもよい。

【0062】

薬物コンジュゲートはまた、胃腸疾患を処置するために用いられてもよく、その胃腸疾患には、非限定的に、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、過敏性腸疾患、過敏性腸症候群（下痢または便秘のいずれかを伴う）、セリアック病、食物アレルギーまたは自閉症圏障害に関連した胃腸炎症、胃炎（萎縮性、メネトリエ病、胃腸炎）、催吐（悪心および嘔吐）、幽門狭窄、無酸症、胃不全麻痺、門脈圧亢進性胃疾患、胃前庭部毛細血管拡張症、胃のダンピング症候群、HMF（Human Mullular Fibrillation syndrome）、腸炎（十二指腸炎、空腸炎、回腸炎）、潰瘍（消化性潰瘍、十二指腸潰瘍、またはカーリング潰瘍）、ドゥルロフォイ病変、吸収障害（シリアック病、熱帯性スプルー、ウィップル病、脂肪便、ミルロイ病が挙げられるが、それらに限定されない）、大腸炎（偽膜性、潰瘍性、虚血性、顕微鏡的、コラーゲン蓄積、リンパ球性）、巨大結腸ノ中毒性巨大結腸、腸炎、壊死性腸炎、機能性大腸疾患、腸偽閉塞、およびオジルヴィ症候群が挙げられる。

10

【0063】

薬物コンジュゲートはまた、炎症状態を処置するために用いられてもよく、その炎症状態には、非限定的に、関節炎、変形性関節症、喘息、COPD、アレルギー、季節性アレルギー、食物アレルギー、そう痒症（pruritis）、蕁麻疹、アトピー性アレルギー、および（アトピー性）皮膚炎が挙げられる。

20

【0064】

薬物コンジュゲートはまた、自己免疫疾患を処置するために用いられてもよく、その自己免疫疾患には、非限定的に、急性散在性脳脊髄炎（ADEM）、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、抗合成酵素症候群、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性心筋症、自己免疫性腸疾患、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性リンパ球増殖性症候群、自己免疫性末梢神経障害、自己免疫性脾炎、自己免疫性多内分泌腺症候群、自己免疫性プロゲステロン皮膚炎、自己免疫性血小板減少性紫斑病、自己免疫性蕁麻疹、自己免疫性ブドウ膜炎、パロー病（パロー同心円性硬化症）、ベーチェット病、バージャー病、ピッカースタッフ型脳炎、ブラウ症候群、水疱性類天疱瘡、キャスルマン病、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパシー、慢性再発性多巣性骨髄炎、チャグ・ストラウス症候群、癰痕性類天疱瘡、コーガン症候群、寒冷凝集素症、補体成分2欠損症、接触性皮膚炎、頭蓋動脈炎、CREST症候群、クッシング症候群、皮膚白血球破砕性脈管炎、ドゴー病、ダーカム病、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、びまん性皮膚全身性硬化症、ドレスラー症候群、薬剤誘発性ループス、円板状エリテマトーデス、湿疹、子宮内膜症、腱付着部炎関連関節炎、好酸球性筋膜炎、好酸球性胃腸炎、後天性表皮水疱症、結節性紅斑、胎児赤芽球症、本態性混合性クリオグロブリン血症、エヴァンス症候群、進行性骨化性線維形成異常症、線維化肺炎（または特発性肺線維症）、胃炎、胃腸類天疱瘡、巨細胞性動脈炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群（GBS）、橋本脳症、橋本甲状腺炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹（妊娠性類天疱瘡）、化膿性汗腺炎、ヒューズ・ストーヴィン症候群、低ガンマグロブリン血症、特発性炎症性脱髄性疾患、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病（自己免疫性血小板減少性紫斑病）、IgA腎症、封入体筋炎、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、間質性膀胱炎、若年性特発性関節炎（若年性関節リウマチ）、川崎病、ランバート・イートン筋無力症候群、白血球破砕性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、線状IgA病（LAD）、ルー・ゲーリック病、ルポイド肝炎（自己免疫性肝炎）、エリテマトーデス、マジード症候群、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、ミラー・フィッシャー症候群（ギラン・バレー症候群）、混合性結合組織疾患、モルフェア、ムッハ・ハーバーマン病（急性痘瘡状苔癬状皰瘡疹）、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎（ドビック病）、ニューロミオトニア、眼癰痕性類天疱瘡（ocular cicatricial pemphigoid）、オブソクロノス・ミオクロノス症候群

30

40

50

、オード甲状腺炎、回帰性リウマチ、PANDAS（レンサ球菌に関連した小児自己免疫性神経精神障害）、腫瘍随伴性小脳変性症、発作性夜間血色素尿症（PNH）、パリー・ロンベルク症候群、パーソネージ・ターナー症候群、扁平部炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、静脈周囲脳脊髄炎、POEMS症候群、結節性多発性動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、多発筋炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、進行性炎症性ニューロパチー、乾癬、乾癬性関節炎、壊疽性膿皮症、真性赤血球無形成症、ラスムッセン脳炎、レイノー現象、再発性多発性軟骨炎（*relapsing polychondritis*）、ライター症候群、不穏下肢症候群、後腹膜線維症、関節リウマチ、リウマチ熱、サルコイドーシス、シュミット症候群、シュニッツラー症候群、強膜炎、強皮症、血清病、シェーグレン症候群、脊椎関節症、スチル病、スティッフパーソン症候群、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、スザック症候群、スウィート症候群、シデナム舞蹈病、交感性眼炎、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎、血小板減少症、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、脊椎関節症、蕁麻疹様血管炎、血管炎、白斑、およびウェゲナー肉芽腫症が挙げられる。

10

#### 【0065】

薬物コンジュゲートはまた、脂質代謝異常および心血管疾患を処置するために用いられてもよく、それらの疾患には、非限定的に、高コレステロール血症（原発性および家族性）、高トリグリセリド血症（*hypertriglyceridemia*）（高い、および非常に高い）、混合型脂質異常症、フレドリックソンI型、II型、III型、IV型、およびV型脂質異常症、アテローム性動脈硬化、冠動脈疾患、冠動脈心疾患、脳血管疾患、末梢動脈疾患が挙げられる。

20

#### 【0066】

薬物コンジュゲートはまた、糖尿病および関連状態を処置するために用いられてもよく、それらには、非限定的に、インスリン抵抗性、インスリン非依存性糖尿病（NIDDM）、2型糖尿病、および1型糖尿病が挙げられる。

#### 【0067】

薬物コンジュゲートはまた、細菌感染症、ウイルス感染症、寄生虫感染症、または真菌感染症を処置するために用いられてもよく、それらの感染症には、非限定的に、胃腸感染症、皮膚感染症、眼感染症、呼吸器系感染症、耳感染症、性行為感染症、空気伝播疾患、昆虫伝播疾患、輸血または移植伝播感染症、および母子間伝播感染症が挙げられる。

30

#### 【0068】

薬物コンジュゲートはまた、がんを処置するために用いられてもよく、そのがんには、非限定的に、結腸がん、胃がん、膵臓がん、皮膚がん、肝臓がん、骨髄腫、黒色腫、肉腫、口腔がん、直腸がん、中皮腫、リンパ腫、および他のがんが挙げられる。

#### 【0069】

本発明は、以下の非限定的実施例によって例証された複数の態様を有する。

#### 【実施例】

#### 【0070】

##### （実施例1）

植物ステロイド結合体化合物を作製する方法

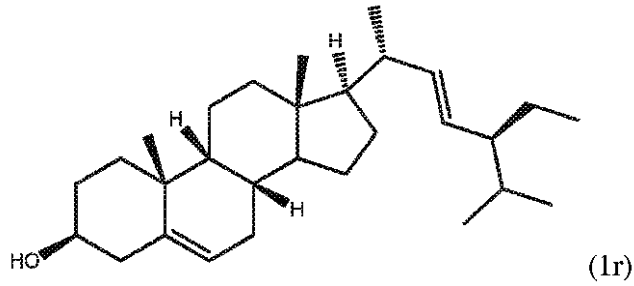
40

メシル酸スチグマステロール（SE-09-II）

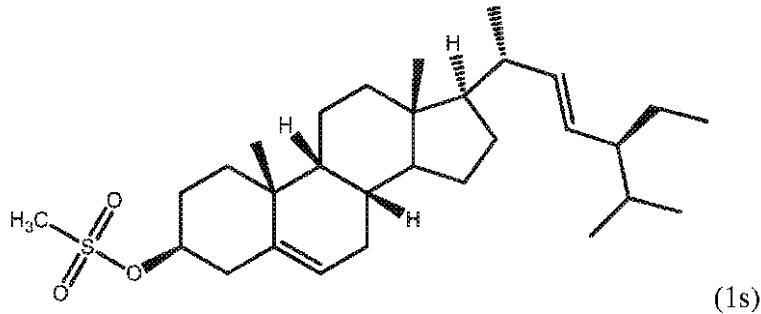
25 mlの塩化メチレン中のスチグマステロール（式（1r））（1.78 g）の溶液を、約4℃まで冷却し、0.9 gのトリエチルアミンを加え、続いて、3～4 mlのTHF中の0.69 gの塩化メタンスルホニルを滴下して加えた。反応混合物を4℃で3時間、攪拌し、冷却槽を外し、反応混合物を、外界温度で一晩、攪拌した。反応を水で停止させ、相を分離した。有機相を、5% NaHCO<sub>3</sub>で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で蒸発させて、そのまま次のステップで用いられる所望の生成物（メシル酸スチグマステロール；式（1s））を得た。

#### 【0071】

## 【化 16】



10



## 【0072】

スチグマステロールトリエチレングリコールエーテル (SE-16-II)

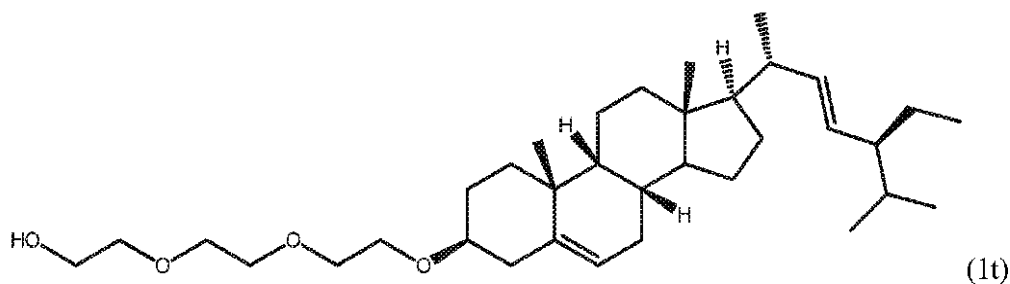
20

メシル酸スチグマステロール (3.0 g) およびトリエチレングリコール (21.0 g) を、約 15 ml の 1,4-ジオキサランに溶解し、反応混合物を、還流させながら、窒素下、3~4 時間、加熱した。反応混合物を室温まで冷却し、真空下で溶媒を除去した。残留物を、塩化メチレンと水の間で分配し、相を分離した。有機相を、飽和  $\text{NaHCO}_3$ 、水、および塩水で逐次的に、洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、溶媒を真空下で除去した。残留物を、カラムクロマトグラフィ (MTBE で溶離させるシリカゲル) によって精製した。生じた生成物 (スチグマステロールトリエチレングリコールエーテル; 式 (1t)) を次のステップに用いた。

## 【0073】

## 【化 17】

30



SE-16-II

40

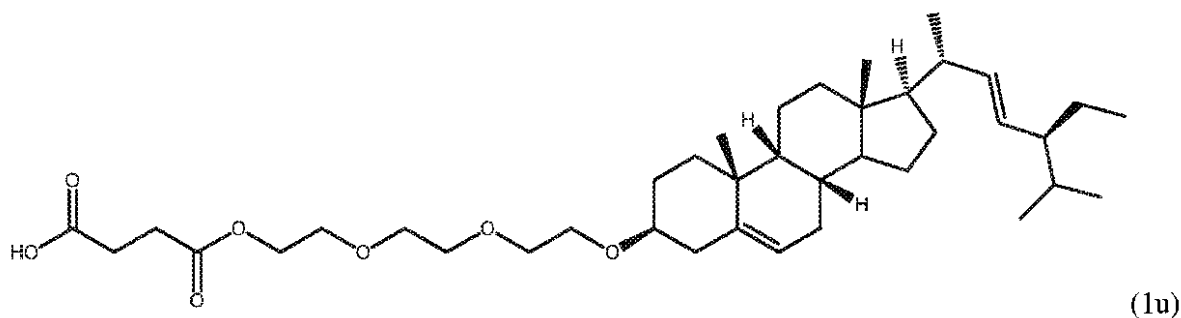
## 【0074】

スチグマステロールトリエチレングリコールスクシナート酸 (SE-19-II)

スチグマステロールトリエチレングリコールエーテル (0.55 g)、無水コハク酸 (0.12 g)、トリエチルアミン (0.20 g)、および DMA P (20 mg) を、15 ml の THF に溶解した。反応混合物を、外界温度で一晩、攪拌し、酢酸エチルおよび水を加えた。相を分離し、有機層を、5% HCl、続いて、水で洗浄した。有機層を乾燥させ、溶媒を真空下で除去した。粗生成物 (スチグマステロールトリエチレングリコールスクシナート; 式 (1u)) を、そのまま用いた。

## 【0075】

## 【化 18】



10

## SE-19-II

## 【0076】

スチグマステロールトリエチレングリコールブレドニゾンスクシナート (SE-22-I)

スチグマステロールトリエチレングリコールスクシナート酸 (0.65 g) を、トルエン (15 ml) に溶解し、0℃まで冷却し、塩化オキサリル (0.5 ml) を滴下して加えた。反応混合物を、外界温度で1時間、60℃で1時間、撹拌し、外界温度まで冷却し、減圧下で乾燥状態まで蒸発させた。

## 【0077】

THFおよびTEAの混合物中の0.36 gブレドニゾンの冷却 (0~4℃) した溶液に、上記で調製された粗酸塩化物を加えた。反応混合物を、外界温度で一晩、撹拌し、その後、1~3時間、還流させた。反応混合物を冷却し、酢酸エチルを加えた。有機相を分離し、水、1% NaHCO<sub>3</sub> で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、乾燥状態まで蒸発させて、粗生成物を得た。塩化メチレン、その後、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 9:1で分離されるシリカゲルにおけるカラムクロマトグラフィによって、粗生成物を精製した。生じた生成物は、スチグマステロールトリエチレングリコールブレドニゾンスクシナート (SE-22-I; 式(1o)) であった。

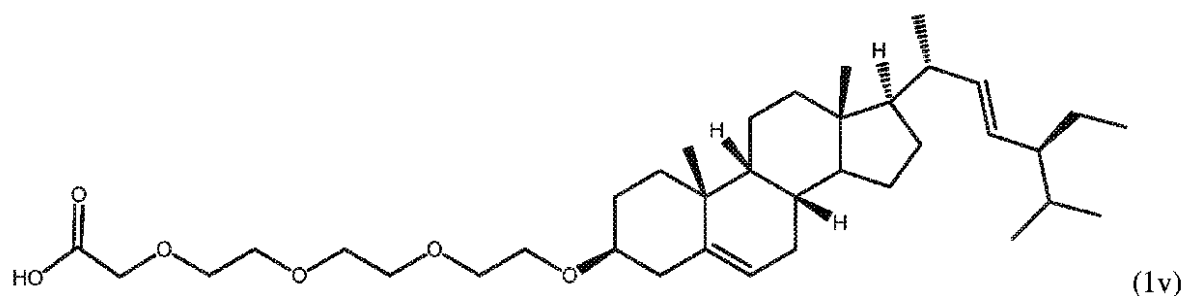
## 【0078】

スチグマステロールトリエチレングリコールオキシ酢酸 (SE-39-II)

THF中のスチグマステロールトリエチレングリコール (1 g) に、ミネラルオイル中60重量%の懸濁液として水素化ナトリウム (0.26 g、無水ベース) および0.51 gプロモ酢酸を加え、反応混合物を、外界温度で一晩、撹拌した。0℃まで冷却後、過剰の水素化ナトリウムを、水をゆっくり加えることにより、破壊した。THFを、減圧下で蒸発させ、その水溶液を、6N HClで酸性化し、塩化メチレンで抽出した。塩化メチレン抽出物を、水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、減圧下で乾燥状態まで蒸発させて、蠟様固体を得た。この材料 (スチグマステロールトリエチレングリコールオキシ酢酸; 式(1v)) を、さらに精製することなしに用いた。

## 【0079】

## 【化 19】



## SE-39-II

40

50

## 【0080】

スチグマステロールトリエチレングリコールオキシ酢酸プレドニゾロンエステル (SE-41-II)

上記のスチグマステロールトリエチレングリコールプレドニゾロンジエステルの合成についての手順を参照されたい。粗生成物を、溶離剤として  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{EtOAc}$  9 : 1、8 : 2 および  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$  95 : 5 を用いるシリカゲルのカラムクロマトグラフィによって精製した。

## 【0081】

コハク酸スチグマステロール (SE-21-II)

スチグマステロール (0.83 g)、無水コハク酸 (0.32 g)、ピリジン (1.5 %)、およびトルエン (15 ml) の溶液を 24 時間、還流し、室温まで冷却した。トルエン溶液を、水、0.5 N HCl、水で洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、減圧下で乾燥状態まで蒸発させた。粗生成物をそのまま用いた。

## 【0082】

スチグマステロールプレドニゾロンスクシナートジエステル (SE-24-II)

スチグマステロールプレドニゾロンスクシナートジエステルを、スチグマステロールトリエチレングリコールプレドニゾロンジエステルと同じ様式で、スチグマステロールトリエチレングリコールスクシナート酸の代わりにスチグマステロールスクシナート酸に置き換えて、調製した。粗生成物を、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{EtOAc}$  9 : 1、8 : 2 で溶離されるシリカゲルのカラムクロマトグラフィによって精製した。

## 【0083】

生成物の構造を確認するスペクトルデータ

図 11A ~ L は、SE-24-II (図 11A ~ C および J ~ L)、SE-22-II (図 11D ~ F および M ~ O)、および SE-41-II (図 11G ~ I および P ~ R) の構造を確認するスペクトルデータを示す。

## 【0084】

(実施例 2)

植物ステロイド結合体化プレドニゾンは、非結合体化薬物と類似した様式で遺伝子発現パターンを変化させる

この実施例は、全身性に最小限で吸収される植物ステロイド結合体化薬物が、非結合体化薬物と同じ潜在的治療応答を腸管細胞において誘発し得ることを示している。具体的には、有意な全身性吸収なしに、腸管細胞へ抗炎症効果をもたらすために、最も吸収されにくい植物ステロールの 1 つであるスチグマステロールに、プレドニゾンを結合体化させた。Caco-2 腸管細胞を用いた。これらの種類の細胞は、薬物の効果を評価するための、細胞に基づいたアッセイとして用いられている。

## 【0085】

遺伝子発現プロファイルを、2.5  $\mu\text{M}$  および 25  $\mu\text{M}$  処理の Caco-2 細胞 (ATCC) から作製した。処理は、参照化合物 (プレドニゾン) および 3 つの実験化合物 : SE-22-II、SE-24-II、および SE-41-II からなった。これらの化合物の活性型は、それぞれ、式 1 (o)、1 (p)、および 1 (q) を有した。

## 【0086】

全ての化合物を個々に、Caco-2 細胞 (250,000 / ウェル) に適用した。各処理からの RNA を単離後、単離 RNA を個々に、cDNA プローブとして標識し、Illumina HT-12 アレイチップに適用した。遺伝子アレイアッセイからの結果により、全ての化合物 (参照化合物および試験化合物) が、未処理 Caco-2 細胞と比較して、遺伝子発現に影響を及ぼしたことが明らかにされた。統計アルゴリズムおよび可視化アルゴリズムの Inforsense Suite (Volcano プロット) を用いて、幅広い数の遺伝子クラスが、化合物処理によって影響されたことが観察された。特に、試験された化合物処理の全部について、> 1 倍の遺伝子変化が、統計的に有意な様式で幅広い範囲の遺伝子において認められた。炎症、免疫系応答、細胞表面および核内ホルモ

10

20

30

40

50

ンシグナル伝達、脂肪代謝、ならびに細胞周期／細胞分化／増殖に關与するいくつかの遺伝子が影響された。特に、化合物SE-22およびSE-24は、化合物SE-41より、プレドニゾンにより類似した遺伝子プロファイルを示した。

#### 【0087】

遺伝子クラスあたりの影響された主要遺伝子：Inforsense Suite of Data Analysisツール(IDBS)を用いて、合計36個のVolcanoプロットを、36個の遺伝子アレイアッセイに対して作製した(化合物の未処理および処理あたり3連のアレイアッセイ)。各化合物データセットについてVolcanoプロットを作製し、上方制御および下方制御された主要遺伝子を統計的に同定した(図2における例を参照)。各アレイ実験についてのvolcanoプロットから、最もはっきりしている上方制御および下方制御された遺伝子を同定した。遺伝子は、 $p < 0.05$ の相関係数における、(図2において灰色で陰影を付けた)volcanoプロットの両側で同定された。この様式で同定された遺伝子は、 $2.5 \mu\text{M}$ の各化合物で処理されたCaco-2細胞について図3A~Fにおいて列挙されている。 $25 \mu\text{M}$ 処理が遺伝子発現プロファイルに細胞傷害性効果を示したことも見出された。加えて、プロファイルにおいて影響された、いくつかの主要遺伝子(例えば、HNF-4、グリピカン、およびホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ1)を調べると、 $2.5 \mu\text{M}$ 処理は、はるかに線形性が高い(用量依存性)応答を示した。

#### 【0088】

##### 方法

##### 1. 細胞培養：化合物セットで処理されたCaco-2細胞

ヒト結腸腺癌細胞系Caco-2を、1%(体積/体積)非必須アミノ酸、1%ピルビン酸ナトリウム、1%ペニシリン/ストレプトマイシン、および10%(体積/体積)熱失活ウシ胎仔血清(全てGibco BRLから購入)を補充した、 $4.5 \text{ g/l}$  グルコース、L-グルタミン、 $\text{NaHCO}_3$ 、およびピリドキシンHClを含むDulbecco's Modified Eagle's Medium(Sigma-Aldrich)中で培養した。細胞培養物を、毎週、トリプシン処理によって移し、5%CO<sub>2</sub>を含有する加湿インキュベータ内で、37℃でインキュベートした。4週間の細胞培養後、プレドニゾン、SE-22-II、SE-24-II、およびSE-41-IIをそれぞれ、別々の3連のウェル(250,000細胞/ウェル)に、それぞれ、 $2.5 \mu\text{M}$ および $25 \mu\text{M}$ の最終有効濃度で加えた。細胞を、各化合物に、それぞれ、24時間、曝露させた。

#### 【0089】

##### 2. 細胞収集およびRNA単離

全RNAを、TRIzol製造会社の指示(Invitrogen)に従って単離した。RNAの品質を、2100 Bioanalyzer(Agilent)で評価した。様々な細胞処理からのプールした3連分由来のRNAは、全て、7より大きいRNA完全性数を有し、Qiagen RNeasyカラムでさらに精製した。300ngの全RNAから、Illumina TotalPrep RNA Amplificationキット(Ambion)を用いて、Eberwine手順による逆転写後、増幅ビオチン化cRNAを作製した。cRNA(900ng)を、Illumina HT-12 Bead Arrayに一晩、ハイブリダイズさせ、それを、その後、洗浄し、Illuminaプロトコールに従って、ストレプトアビジン-Cy3(Amersham-Pharmacia Biotech)で染色した。アレイを、Bead Array Reader(Illumina)でスキャンした。

#### 【0090】

ビオチン化cRNA内の特定の転写産物を、HT-12ビーズアレイへの直接的ハイブリダイゼーション後、蛍光イメージングにより測定した。そのHT-12ビーズアレイは、スライドあたり12個のアレイを含有し、それぞれは、37,846個のアノテートされた遺伝子および追加の転写産物を測定する48,803個のプロープのそれぞれについ



て平均 15 個のビーズを有した。各ビーズの強度の生測定値が直接、獲得され、下記のように、試料についての「ビーズレベル」として処理された。処理試料および未処理試料の両方について、測定値は、Genome Studio ソフトウェア (Illumina) により「プローブレベル」データとして処理された。ソフトウェアは、プローブが、アレイ上に存在する 3 個のビーズを有することをチェックし (そうでない場合には、そのプローブは欠けているとみなされた)、各ビーズについてローカルバックグラウンド引き算を行い、その後、中央値から > 3 の中央値絶対偏差である域外値を除外し、残りの値の平均を再計算することにより、プローブあたりの単一のプローブレベル値へビーズレベルデータを凝縮した。生プローブレベル値を、ソフトウェアから、その補正または正規化のオプションを用いないが、欠損値を補完する (imputing) ためのそのオプションを用いて、抽出した。

10

#### 【0091】

##### 3. データ解析

ANOVA 統計解析を、全ての Illumina 遺伝子発現アレイファイルに実施した。Volcano プロットを、InforSense 5.1 Suite (IDBS) を用いて、全てのプールされたビーズアレイデータについて作製した。

#### 【0092】

##### 4. 結果

図 4 は、2.5  $\mu$ M のプレドニゾン、SE-22-II、SE-24-II、および SE-41-II に対する主要遺伝子ファミリーの遺伝子応答を示す。

20

#### 【0093】

##### 5. 考察

Caco-2 細胞を、様々な試験化合物 (プレドニゾン、SE-22-II、SE-24-II、および SE-41-II) で処理し、結果を、プレドニゾンで処理された細胞からの結果と比較した。2.5  $\mu$ M および 25  $\mu$ M の薬物処理後 (24 時間後) に、未処理細胞および処理細胞を、それらの遺伝子発現プロファイルについて評価した。Caco-2 細胞は、25  $\mu$ M 処理と比較して、各 2.5  $\mu$ M 処理のリプリケート内で一貫した結果を明らかに示した。試験された化合物の全てが、生物活性を示した。130 個の遺伝子が、統計的に有意な > 1 倍の応答を示した ( $p < 0.005$ )。影響された遺伝子の主要なクラスは、炎症、免疫系、核 - 転写 - 翻訳、および細胞接着を含んだ。プレドニゾン曝露に関連した複数の遺伝子の上方制御および下方制御は、影響された遺伝子のプロモータ領域における特定の転写因子および / または転写因子結合モチーフ (TFBM) の存在に依存する可能性がある。特に、最高レベルの遺伝子応答 (> 3.0 倍の遺伝子発現レベル変化) が、核内ホルモン受容体遺伝子 (図 5 における概略図参照)、サイトカインおよびケモカイン受容体遺伝子、ならびにそれらの対応する受容体について認められた。図 6 は、Caco-2 細胞における核内ホルモン受容体に影響を及ぼす遺伝子応答を示す。

30

#### 【0094】

本明細書に記載された遺伝子プロファイリングアッセイにおいて、特定の核内ホルモン受容体遺伝子が、試験された化合物の全てにわたって影響された。具体的には、このクラスのいくつかの遺伝子 (例えば、肝臓受容体ホモログ-1、NR5A2、エストロゲン様受容体 NR3C2、肝臓 X 受容体様 NR1H2、ビタミン D 受容体 NR1I1、RAR 関連オーファン受容体、NR1F2、および肝細胞核因子-4 受容体) について、上方制御および下方制御効果が認められた。これらの遺伝子のタンパク質因子は、細胞周期、免疫機能、細胞接着、および代謝に関与する広範な一連の標的遺伝子に幅広い影響を有し得る。

40

#### 【0095】

##### 核内ホルモン受容体

核内受容体は、大きなスーパーファミリーへ分類され、進化的に、共通の祖先に由来すると考えられる。古典的ホルモン受容体およびオーファンホルモン受容体ならびにそれらのリガンドのリストは図 7 に示されている。受容体の進化学的分析により、6 つの異なるサブファミリーにおける細分 (subdivision) がもたらされている。1つ

50

の大きなファミリーは、甲状腺ホルモン受容体 (TR)、レチノイン酸受容体 (RAR)、ビタミンD受容体 (VDR)、およびペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR)、加えて異なるオーファン受容体によって形成される。これらの受容体の一部についてのリガンドは、最近、同定されている (図7参照)。第2のサブファミリーは、ニワトリ卵白アルブミン上流刺激因子 (Coup)、肝細胞核因子4 (HNF4)、精巢受容体 (TR2)、および眼の発生に關与する受容体 (TLXおよびPNR) と共にレチノイドX受容体 (RXR) を含有する。RXRは、9-シス-レチノイン酸を結合し、ヘテロダイマーとしてDNAに結合する異なる受容体についてのパートナーであるため、核内受容体シグナル伝達において重要な役割を果たす。他の受容体についてのリガンドは同定されていないが、長鎖脂肪酸アシルCoAチオエステルは、HNF4についての内因性リガンドである可能性がある。第3のファミリーは、ステロイド受容体、および高度に関連したオーファン受容体、エストロゲン関連受容体 (ERR) により形成される。第4、第5、および第6のサブファミリーは、それぞれ、オーファン受容体NGFI-B、FTZ-1/SF-1、およびGCNFを含む。たいていのサブファミリーは、既知のホモログをもたないステロイド受容体を例外として、それらが節足動物ホモログを有することから、古代からであるようである。祖先受容体は、リガンドを結合する能力およびヘテロダイマー化する能力を独立して獲得するように進化した構成的ホモダイマー転写因子であったことが示唆されている。しかしながら、祖先受容体がリガンド依存性であったという可能性、および変異が、進化の間に、リガンド結合特異性を変化させ、またはリガンド結合の喪失をもたらしたという可能性は、排除することはできない。

#### 【0096】

このクラスを受容体のメンバーは、いくつかの組織型 (肝臓、腸、脳) において見出される。核内受容体は、サイトゾルにおいて (クラスI)、または核において (クラスII)、リガンドに結合する。ステロールへの結合の前に、核内ホルモン受容体ファミリーの一部のメンバーは、不活性状態で、他のタンパク質因子 (例えば、熱ショックタンパク質 (シャペロニン)) に結合しているが、いったん、ステロールに結合すると、核内ホルモン受容体は、ホモダイマーまたはヘテロダイマーとして結合することができる。その後、活性化核内ホルモン受容体 (ホモダイマーまたはヘテロダイマー) は、標的遺伝子におけるホルモン応答エレメント (HRE) に結合する。いったん結合すると、これらの遺伝子は、転写的に、または翻訳的に、上方制御または下方制御され得る。

#### 【0097】

他の転写制御因子のように、核内受容体は、機能の喪失なしに関連受容体間で交換することができる自律的機能ドメインに対応する異なる領域を有するモジュラー構造を示す。典型的な核内受容体は、可変性NH2末端領域 (A/B)、保存されたDNA結合ドメイン (DBD)、または領域C、リンカー領域D、およびリガンド結合ドメイン (LBD) を含有する保存されたE領域からなる。いくつかの受容体はまた、未知の機能のCOOH末端領域 (F) を含有する。核内受容体の概略図は図8に示されている。受容体はまた、転写活性化に必要とされる領域を含有する。多くの受容体の超可変A/F領域は、AF-1と呼ばれる、自律的転写活性化機能を含み、それは、その受容体による構成的リガンド非依存性活性化に寄与する。AF-2と名付けられた、第2の転写活性化ドメインは、LBDのCOOH末端に位置するが、AF-1ドメインと違って、AF-2は、厳密にリガンド依存性であり、かつ核内受容体スーパーファミリーのメンバーの間で保存されている。

#### 【0098】

##### インターロイキン

いくつかのインターロイキン受容体およびインターロイキンは、試験された化合物 (ブレドニゾロン、SE-22、SE-24、およびSE-41) の全てによって影響を及ぼされた。インターロイキンは、T細胞、B細胞、および造血細胞の発生および分化を促進する。この一連のアッセイにおいて、影響された主要なインターロイキンは下記に示されている。インターロイキンの大部分は、ヘルパーCD4+ Tリンパ球により、加えて単

球、マクロファージ、および内皮細胞を通して、合成される。このクラスの影響された標的の参照リストは、図9 AおよびBに提示されている。また、影響されたインターロイキンおよびインターロイキン受容体の視覚的プロットは図10に提示されている。

#### 【0099】

インターロイキン - 1 受容体、1 型遺伝子によってコードされるタンパク質は、インターロイキン - 1 受容体ファミリーに属するサイトカイン受容体である。このタンパク質は、インターロイキン (IL1A)、インターロイキン (IL1B)、およびインターロイキン1 受容体、I 型 (IL1R1 / IL1RA) を結合し、そのリガンドの活性を阻害するデコイ受容体として働く。インターロイキン - 4 (IL4) は、このサイトカインの発現および放出を誘導することにより、インターロイキン - 1 の活性をアンタゴ

10

#### 【0100】

インターロイキン - 7 受容体。インターロイキン - 7 受容体は、リンパ球と呼ばれる免疫細胞の発生において、具体的には、V(D)J 組換えとして知られた過程において、重要な役割を果たすことが示されている。このタンパク質はまた、STAT5 によるT細胞受容体 遺伝子を含むゲノムの領域の到達性 (accessibility) およびヒストンアセチル化を調節することも見出されている。マウスにおけるノックアウト研究は、アポトーシスをブロックすることが、Tリンパ球の分化および活性化中におけるこのタン

20

#### 【0101】

インターロイキン - 1、(プレドニゾロン、SE - 22、およびSE - 24において上方制御される；SE - 41において下方制御される)。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、インターロイキン1 サイトカインファミリーのメンバーである。このサイトカインは、活性化マクロファージによりプロタンパク質として産生され、そのプロタンパク質は、カスパーゼ1 (CASP1 / ICE) によりその活性型へタンパク質分解的にプロセッシングされる。インターロイキン - 1 は、炎症応答の重要なメディエータであり、細胞増殖、分化、およびアポトーシスを含む様々な細胞活性に関与している。中枢神

30

#### 【0102】

インターロイキン - 7 受容体。インターロイキン - 7 受容体は、リンパ球と呼ばれる免疫細胞の発生において、具体的には、V(D)J 組換えとして知られた過程において、重要な役割を果たすことが示されている。このタンパク質はまた、STAT5 によるT細胞受容体 遺伝子を含むゲノムの領域の到達性およびヒストンアセチル化を調節することも見出されている。マウスにおけるノックアウト研究は、アポトーシスをブロックすること

40

#### 【0103】

化合物処理 (プレドニゾロン、SE - 22、SE - 24、およびSE - 41) による他の主要遺伝子応答

インスリン誘導遺伝子1。インスリン誘導遺伝子1 は、細胞におけるコレステロール濃度を制御することに重要な役割を果たす小胞体 (ER) 膜タンパク質をコードする。そのタンパク質は、SREBP 切断 - 活性化タンパク質 (SCAP) およびHMG CoAリダクターゼのステロール感知性ドメインに結合し、その2つのタンパク質のステロール媒

50

介性輸送にとって必須である。別個のアイソフォームをコードする選択的にスプライシングされた転写産物バリエーションが観察されている。

#### 【0104】

オキシステロール (Oysterol)。オキシステロールは、肝臓 X 受容体 (LXR) およびステロール制御エレメント結合タンパク質 (SREBP) 媒介性シグナル伝達経路を通してコレステロール恒常性を制御する。遺伝子プロファイリング実験において、プレドニゾン、SE-22、および SE-24 は、インスリン誘導遺伝子 1 (induced insulin gene 1) を、10 倍を超えて上方制御した。SE-41 は、1.5 倍だけ、上方制御した。

#### 【0105】

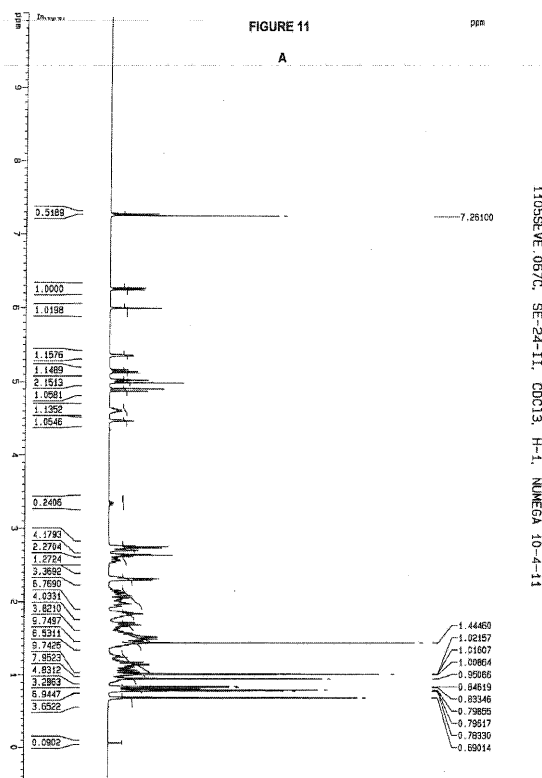
溶質輸送体ファミリー 36 メンバー 1。膜輸送タンパク質の溶質輸送体 (SLC) 群は、51 個のファミリーへと組織化される 300 個を超えるメンバーを含む。SLC 群のうちのメンバーは、細胞膜に位置する。SLC 遺伝子命名法システムは、最初に、HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) によって提案され、これらのトランスポーターをコードする遺伝子の公式の HGNC 名の基準である。様々な SLC 群メンバーによって輸送される溶質は、並外れて多様であり、それらには、荷電した有機分子と荷電していない有機分子の両方、加えて無機イオンおよび気体アンモニアが挙げられる。

#### 【0106】

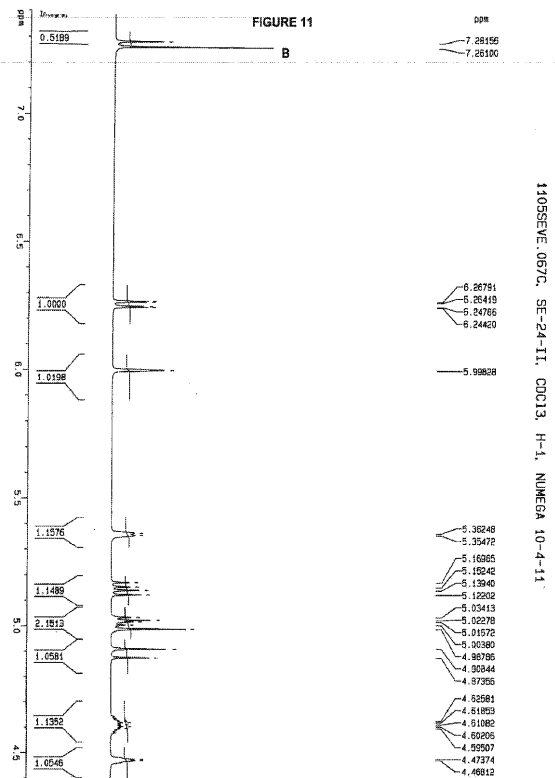
### 6. 結論

全体的に見て、結果は、その化合物が、生物活性があることを示している。その遺伝子応答は、様々な細胞過程 (細胞分化、免疫細胞および / または免疫応答、細胞接着、脂質代謝、核内ホルモン受容体活性化、転写および翻訳の改変) と密接に関係する。

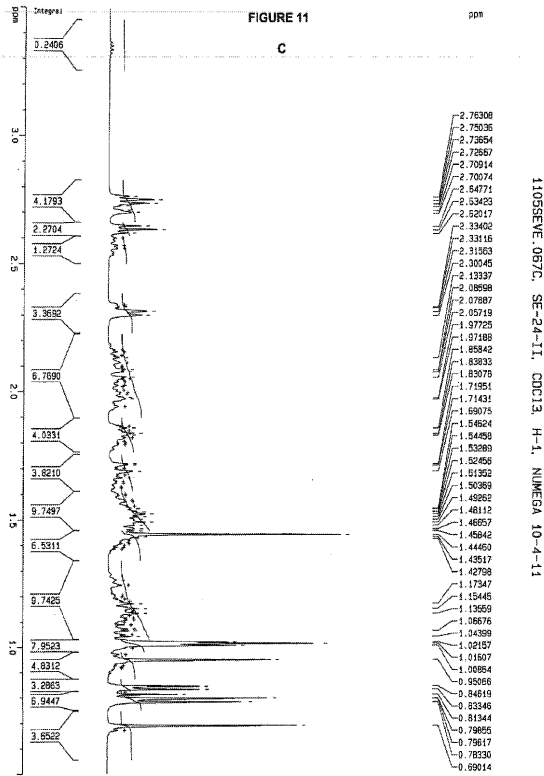
【図 11A】



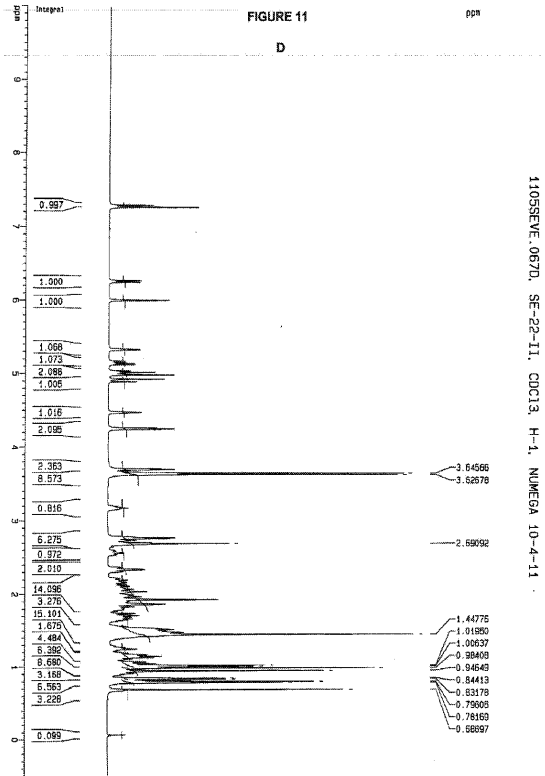
【図 11B】



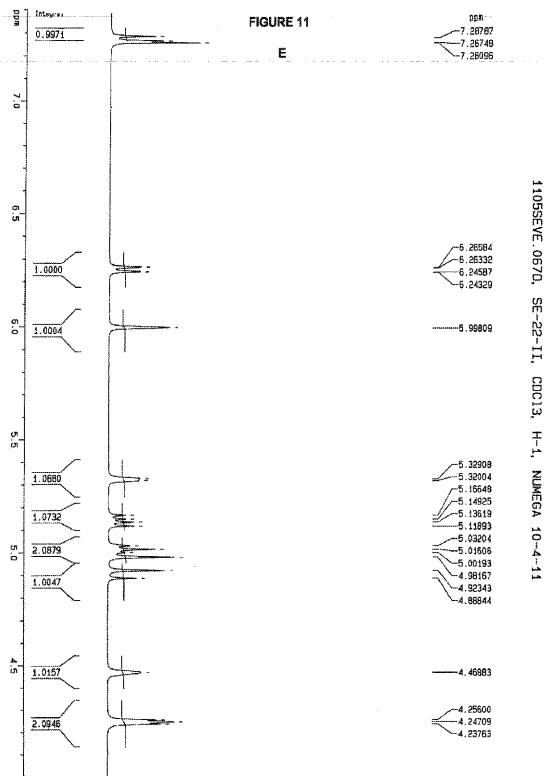
【 1 1 C 】



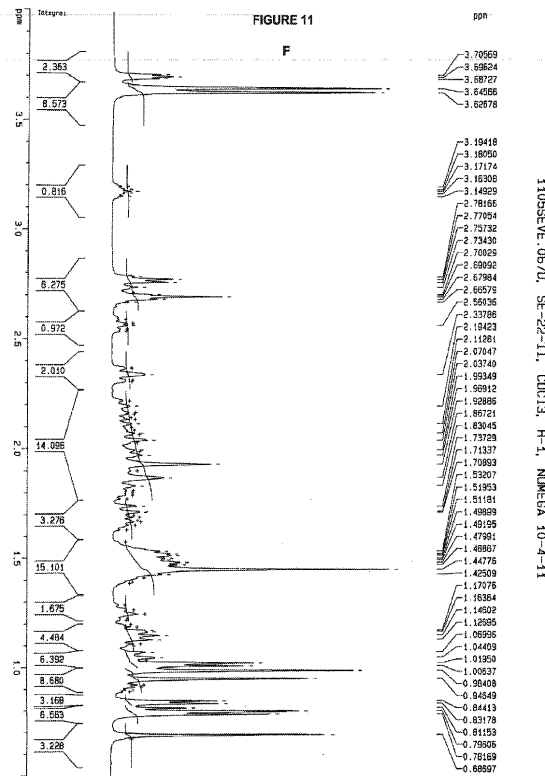
【 1 1 D 】



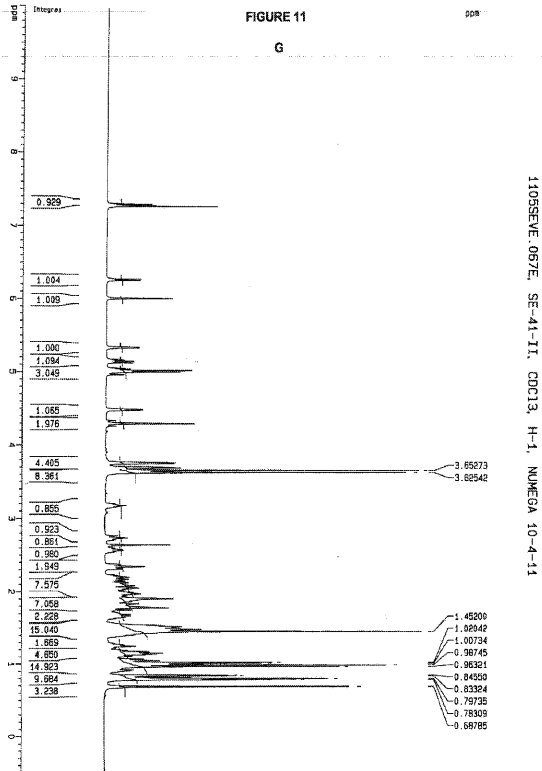
【 1 1 E 】



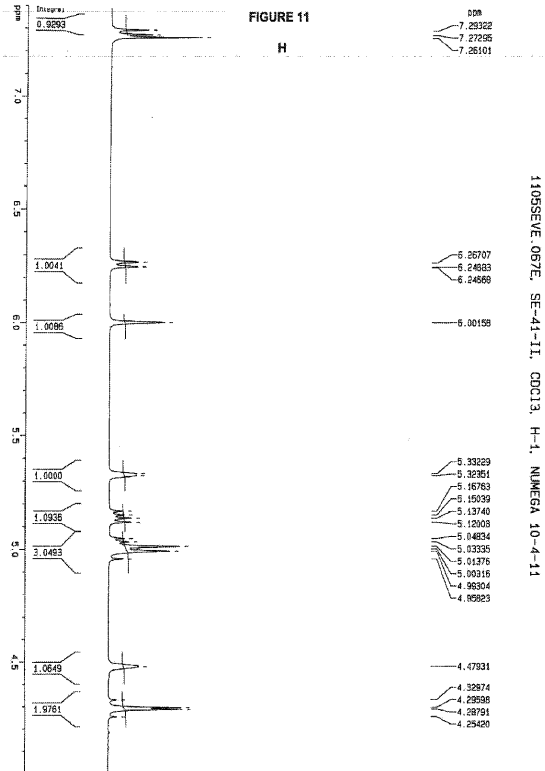
【 1 1 F 】



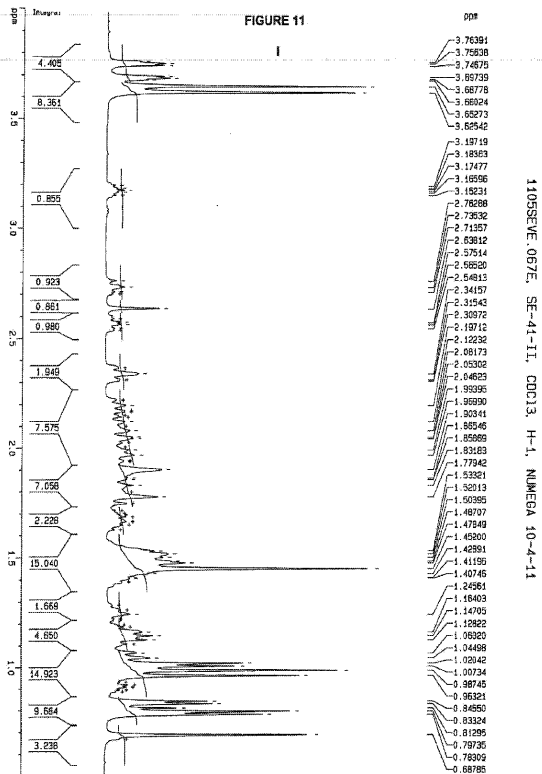
【 1 1 G 】



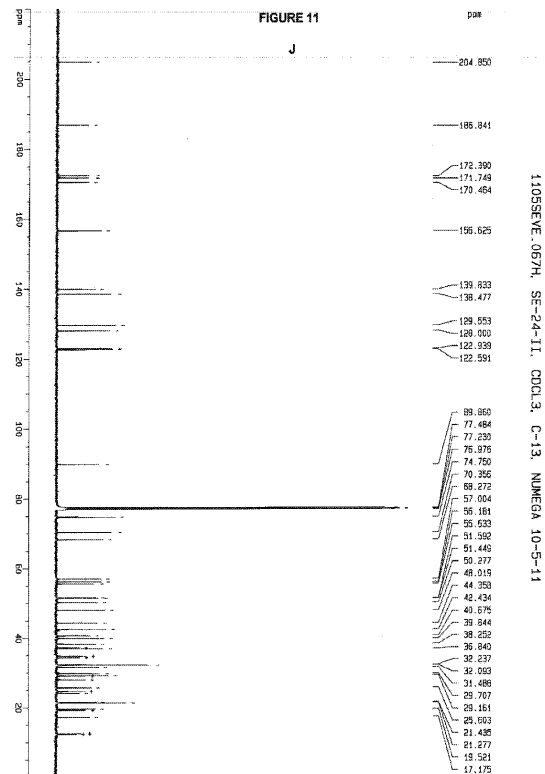
【 1 1 H 】



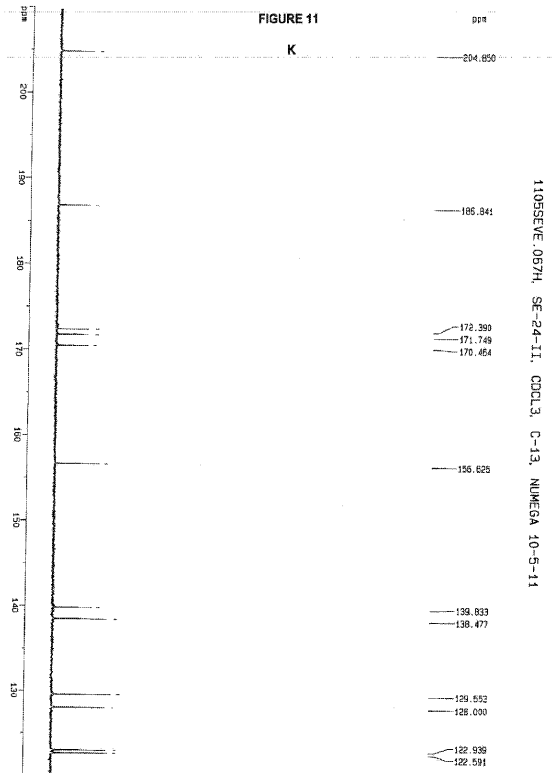
【 1 1 I 】



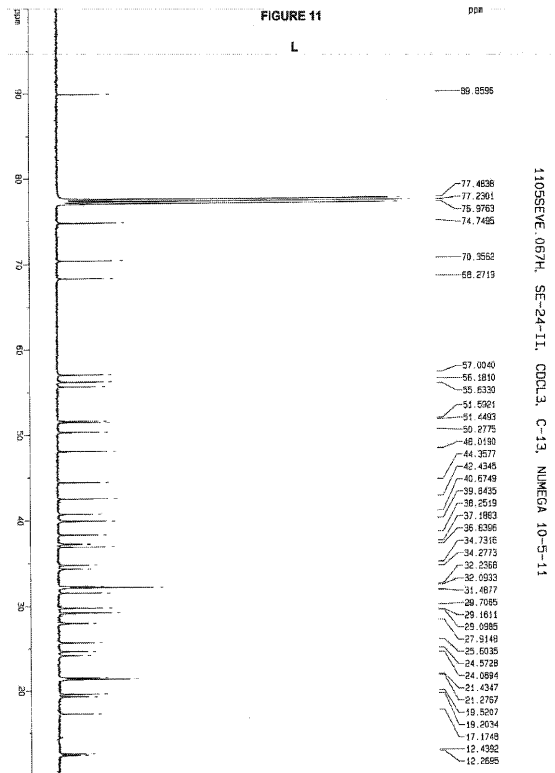
【 1 1 J 】



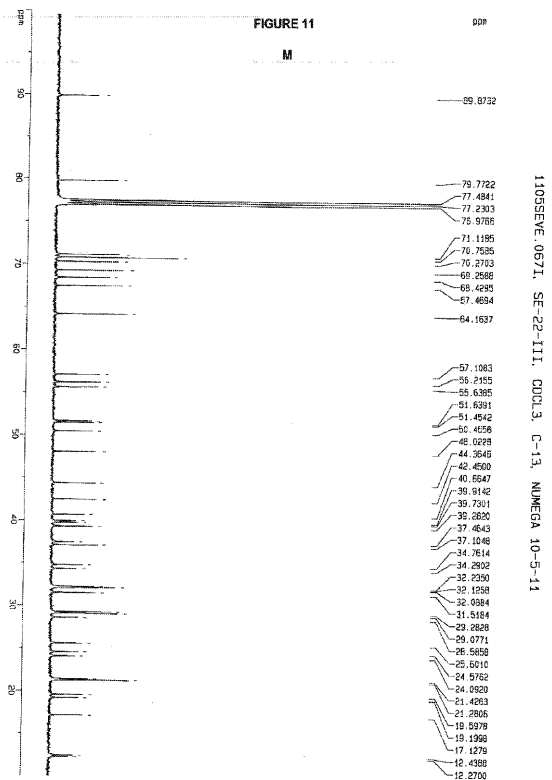
【 1 1 K 】



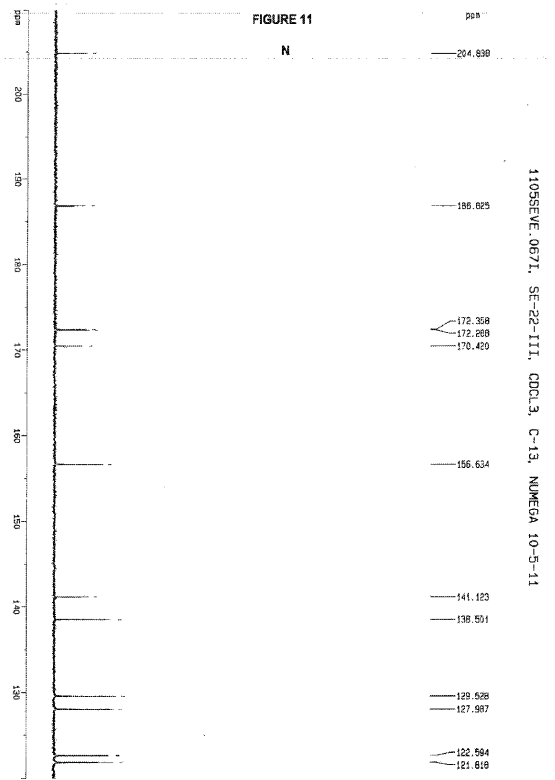
【 1 1 L 】


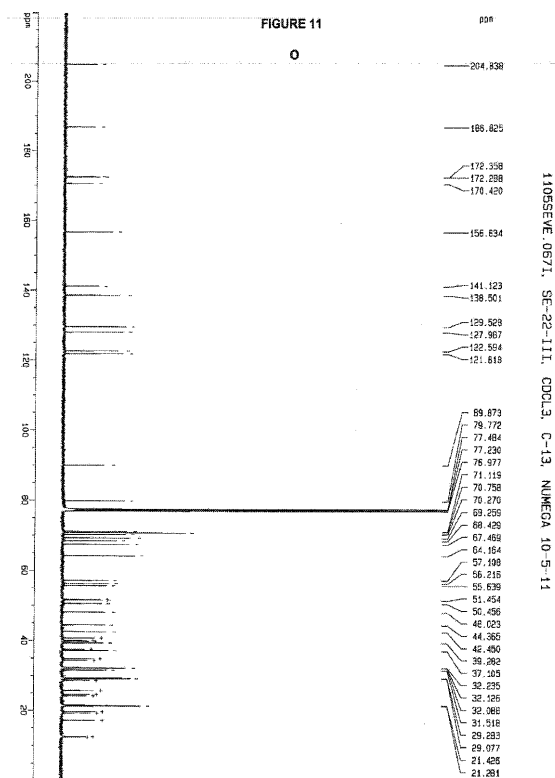

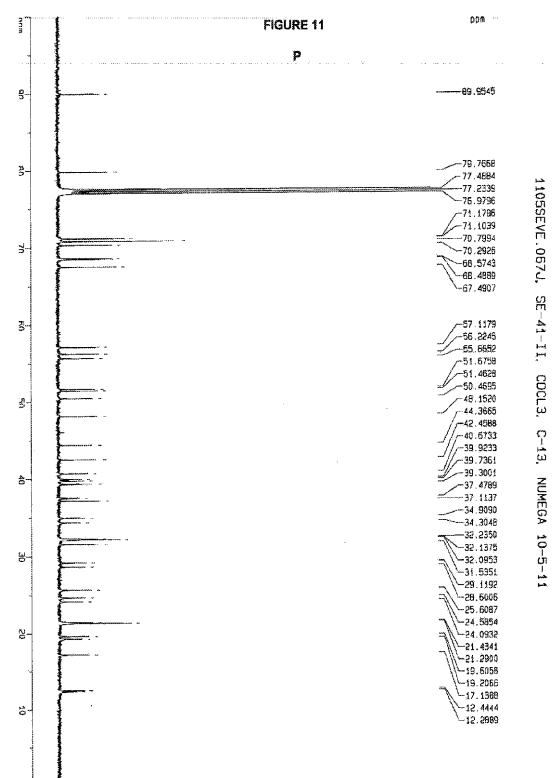

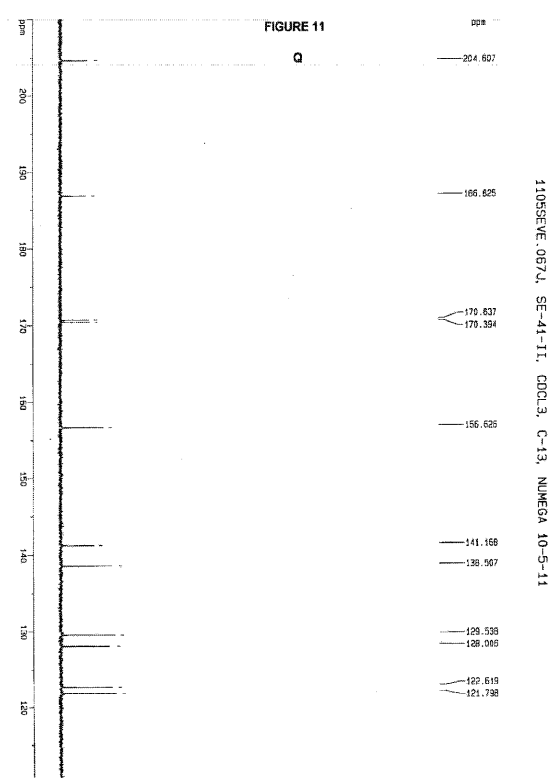

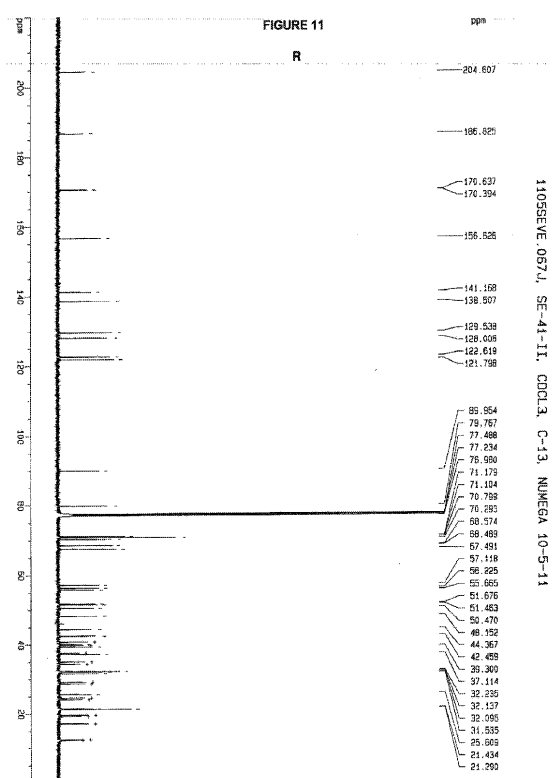


【 1 1 M 】



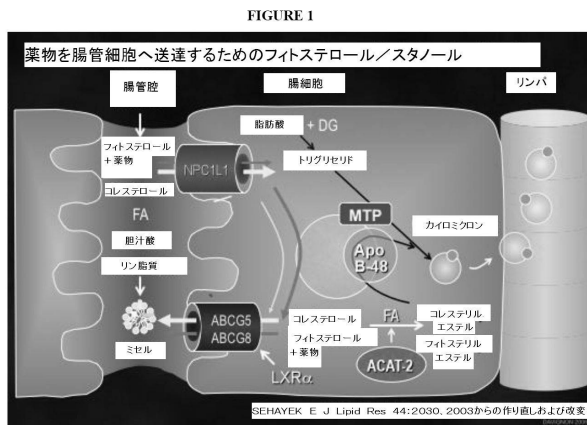
【 1 1 N 】



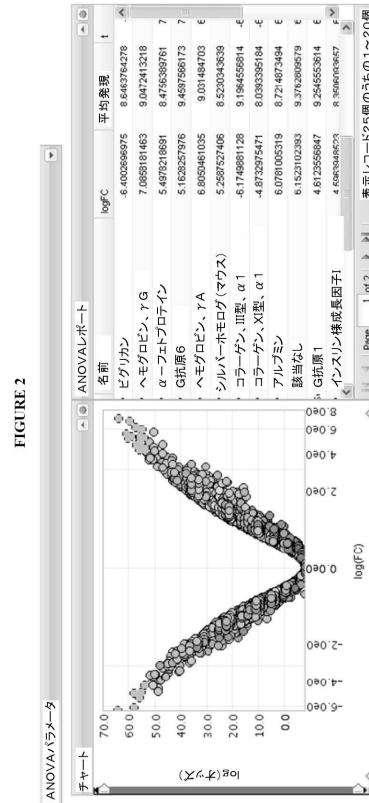
【 1 1 O】【 1 1 P】【 1 1 Q】【 1 1 R】



【圖 1】



【 図 2 】



【 図 3 A 】

FIGURE 3A

化合物処理から影響された遺伝子(上方制御は緑色で示され、  
下方制御は赤色で示されている)

制御された遺伝子	処理 (2.5 $\mu$ M) にける3通アッセイに ついての遺伝子倍数変化), n=3			
	フレドニ ゾン	SE-22	SE-24	SE-41
チューブリン $\beta$	4.2	3.1	2.75	1.2
ケラチン18	4.4	7.1	7.7	3.3
低密度リポタンパク質受容体	5.7	3.3	4.23	1.3
インスリン誘導遺伝子1	10.3	14.4	13.3	1.5
前方勾配2ホモログ (Anterior gradient 2 homolog) ( <i>Xenopus laevis</i> )	3	6.2	1.2	1.97
ケラチン8	5.5	4.3	2.5	1.8
NAD(P) 依存性 ステロイド デヒドロゲナーゼ様	3.1	3.3	5.45	1.1
チューブリン、 $\alpha$ 、 ユビキタス型 脂肪酸シターゼ	4.5	4.7	3.38	2
脂肪酸シターゼ	6.9	5.51	2.9	1.3
DNA結合のインヒター1	7.3	6.8	3.8	2.4
$\alpha$ -2-HS-一種タンパク質	4.2	4.4	6.4	1.1
アポリポタンパク質D	8.9	7.4	6.8	2.2
Wnt相互作用因子	7.6	4.5	4.5	1.3
肝細胞癌因子4 NR2A1	6.4	10.7	6.6	1.2
チモゲン顆粒 タンパク質16	14	6.5	2.3	1.5
$\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) A受容体、 $\alpha$ 2	11.7	4.5	5.5	3.39
溶質輸送体ファミリー 36メンバー1	15.3	3.5	4.3	3.5
カルピジンD9K	4.6	7.7	4.7	7.7
エストロゲン様受容体、 グルコルチコイド受容体	3.3	6	4.1	2.1
RAR関連オファン 受容体NR1F2	4.6	3.2	3.4	1.3
溶質輸送体ファミリー 36メンバー1 ポンプ	3.1	3.2	3.71	1.6

【 図 3 B 】

**FIGURE 3B**

α-フェットロテイン	7.7	9.7	1.3	4.1
アポリポタンパク質H	5.5	2.3	3.4	1.34
フィブリノーゲン、 γポリペプチド	4.1	4.3	3.5	4.3
セリン(またはシステイン) プロテイナーゼインヒビター、 分岐群A、メンバー6	6.9	5.2	3.6	3.1
トランスサイレチン	6.2	4.7	4.9	2.2
ビトロネクチン	4.4	6.6	4.2	2.3
インターα(グロブリン) インヒビター、H2	4.3	3.4	5.5	1.4
ポリペプチド レチノール結合 タンパク質4	4.2	5.2	8.8	5.2
メタロチオネイン1F	4.1	3.8	4.5	3.8
グリピカソ3	3.2	4.6	2.77	0
オルニチン デカルボキシルーゼ1	3.1	3.5	2.76	0
ヘテロ核 リボヌクレオタンパク質A3	3.5	3.4	2.4	2.17
ヒト肝臓ジドロ ジオールデヒドロゲナーゼ	3.7	3.8	4.3	3.8
リポ多糖誘導性TNF因子	3.1	2.4	5.97	4.4
推定タンパク質MAC	3.1	2.1	1.4	3.2
肝臓受容体 ホモログ1、NR6A2	3.4	2.5	3.8	3.1
補体に対する 崩壊促進因子 (CD55、Cromer 血液型システム)	3.3	1.4	7.7	5.5
ビタミンD受容体NR1	3.5	3.6	1.4	5.5
二重特異性 ホスファターゼ1 ホスホエーノールビルビン酸 カルボキシキナーゼ1 (可溶性)	3.2	3.7	4.3	0
Rasホモログ伝達因子ファミリー、 メンバーB	3.4	4.88	4.1	3.1
アポリポタンパク質A-IV APOA4	3.3	3.4	3.9	0.97

## 【図 3 C】

FIGURE 3C

二重特異性	3.3	2.2	3.2	1.1
ホスファターゼ5				
がん胎児抗原	3.1	6.4	1.1	3.1
関連分子1				
(胆汁糖タンパク質)				
クローディン4	5.3	0	1.5	1.5
コアプロモーター	3.1	2.4	1.2	1.4
エレメント結合				
タンパク質				
3-ヒドロキシ-3-	8.7	4.9	2.2	4.9
メチルグルタルル				
コエンザイムA				
シターゼ2				
(ミトコンドリア)				
インテグリン、 $\alpha 6$	5.3	4.3	1.7	6
膜貫通4	5.6	4.5	3.4	0
スーパーファミリー				
メンバー1				
凝固III因子	7.3	4.5	1.3	0
(トロンピン)				
受容体様1				
ウロプラキン1B				
3-ヒドロキシ-3-	4.4	3.7	3.9	1.4
メチルグルタルル				
コエンザイムA				
シターゼ1(可溶性)				
インスリン誘導伝子1	4.7	3.2	1.2	1.32
シンデカン結合	4.4	3.7	2.6	1.7
タンパク質(シンテニン)				
アネキシンA13	3.7	4	4.7	2.3
jun Dがん原伝子	3.5	7	1.7	2.4
プラスミノーゲン	3.1	5	3.4	3.23
アクチベータ				
ウロキナーゼ受容体				
サイクリン依存性	3.1	6.3	4.1	2.25
キナーゼインヒビター1C				
(p57, Kip2)				
レチノイン酸誘導性3	4.1	3.2	4.9	1.2
前立腺分化因子	3.2	3.4	1.66	1.1
チロシン3-	3.7	1.1	3.1	1.6
モノオキシゲナーゼ/				
トリプトファン				
5-モノオキシゲナーゼ				
活性化タンパク質				

## 【図 3 E】

FIGURE 3E

コロニー刺激因子2				
受容体、 $\alpha$ 、低親和性				
(顆粒球マクロファージ)				
(CSF2ra)	4	2.05	1.1	2.3
ケモカイン(Cモチーフ)				
XCR受容体1(XCR1)				
インターロイキン11	4.6	2.4	6.3	5.6
受容体、 $\alpha$ 鎖1				
(IL 11ra)				
形質転換成長因子、	3.9	5.5	7.3	3.5
$\beta 2$ (TGF $\beta 2$ )				
ケモカイン(C-Cモチーフ)	3.4	2.3	3.3	1.11
受容体7(CCR7)				
インターロイキン12受容体、	3.1	2.9	3.2	4.8
$\beta 2$ (IL 12rb2)				
ケモカイン(C-X-C	3.4	8	7	1.2
モチーフ)リガンド1(CXCL1)				
ケモカイン(C-Cモチーフ)	3.5	3.8	6.7	2.88
受容体1様1				
(CCR11)				
ケモカイン(C-Cモチーフ)	3.2	0	1.2	2.2
リガンド11				
(CCL11/エオタキシン)				
ケモカイン(C-X-Cモチーフ)	4.7	2.1	2.9	1.64
受容体4(CXCR4)				
低密度リボタンパク質受容体	3.53	3.44	1.75	1.73
脂肪分化関連タンパク質	4.5	5.7	7.9	11.5
アポリポタンパク質C-III	4.9	4.3	2.12	1.1
クローディン3	4.6	8.55	7.73	3.2
細胞レチノイン酸	3.6	0	3.3	1.66
結合タンパク質2				
セクレストーム1	4.1	1.3	2.2	3.1
肝臓X受容体様NR1H2	3.8	4.7	1.5	7.3
アルデヒドデヒドロゲナーゼ	4.2	3.3	6.42	8.9
1ファミリー、メンバーA1				

## 【図 3 D】

FIGURE 3D

ミクロソーム	7.2	5.6	5.9	1.1
トリグリセリド輸送				
タンパク質				
(太ポリペプチド、88kda)				
ケラチン20	5.2	3.5	1.4	2.7
チモシン、 $\beta 10$	3.7	3.9	2.4	4.4
31481_s_at TMSB10				
低密度リボタンパク質受容体	1.4	5.7	3.1	3.3
脂肪分化関連タンパク質	4.9	6.6	1.3	2.6
アポリポタンパク質C-III	4.6	3.3	2.2	2.3
外胚葉由来神経皮膚質	3.8	1.4	4.3	1.1
(BTB様ドメインを有する)				
肝臓ジヒドロジオール	3	2.6	4.6	2.5
デヒドロゲナーゼ	4.2	4.4	2.6	4.2
プロフィリン2				
腫瘍拒絶抗原(gp96)	3	2.29	0.29	1.33
X線修復補完欠損修復	3	3.3	4.3	0
エストロゲン様	4.2	4.5	7.5	1.33
受容体NR3C2				
カゼインキナーゼ2、	3	1.34	1.44	2.75
$\beta$ ポリペプチド				
インターロイキン13	5.1	4.3	1.88	4.3
受容体、 $\alpha 2$ (IL 13ra2)				
インターロイキン7	14.8	5.7	5.7	5.7
受容体(IL 7r)				
ケモカイン(C-X-C	11.4	6.4	8	9.2
モチーフ)リガンド12				
形質転換成長因子、	9.3	5.6	8.5	4.56
$\beta$ 受容体1				
(TGF $\beta$ R1)	6.2	2.1	3.5	3.6
ケモカイン(C-Cモチーフ)	6.4	5.1	2.1	1.6
受容体5(CCR5)				
インターロイキン2受容体、	5	3.4	4.6	2.7
$\alpha$ 鎖(IL 2ra)				
ケモカイン(C-X-Cモチーフ)	4.5	3.3	5.6	1.3
リガンド15(CXCL15)				

## 【図 3 F】

FIGURE 3F

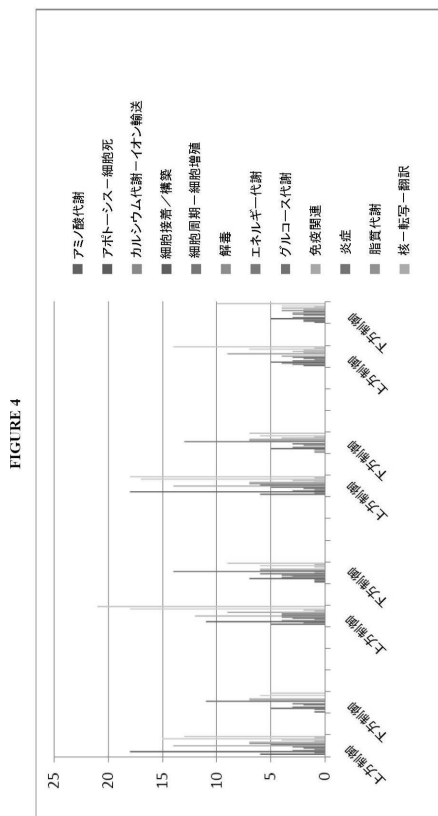
熱ショック10kdaタンパク	3.7	6.5	4.22	1.38
質1(シャペロニン10)				
サイクリンD1(PRAD1:	3.2	1.43	3.3	3.7
副甲状腺腫瘍症1)				
7番染色体オープン	4.1	1.2	2.66	4.4
リーディングフレーム24				
アルデヒドデヒドロゲナーゼ	3	5.6	9.86	5.6
3ファミリー、メンバーB1				
ホスファチジル	3	4	2.5	6.3
セリンシターゼ1				
アクチビンA受容体、1B型	4.4	6	8.55	3.91
ケモカイン(C-Cモチーフ)	3.8	3.5	0	3.13
リガンド25(CCL25)				
腫瘍壊死因子(TNF)	5.7	2.3	5.5	2.3
インターロイキン21	3.5	8.9	5.3	6
受容体(IL 21r)				
ケモカイン(C-Cモチーフ)	6	6	2.22	1.28
受容体様2(CCR12)				
インターロイキン10受容体、	7	2.64	3.55	4.4
$\beta$ (IL 10rb)				
インターロイキン15受容体、	3.7	4.5	5.5	5.5
$\alpha$ 鎖(IL 15ra)				
インターロイキン13(IL 13)	4.5	8.3	4.6	9.4
インターロイキン1受容体、	6	2.7	1.7	4.9
II型(IL 1r2)				
インターロイキン2受容体、	4	2.1	0	2.1
$\gamma$ 鎖(IL 2rg)				
インターロイキン1受容体	3.1	4.5	0	1.82
アンタゴニスト(IL 1m)				
インターロイキン6シグナル	3.1	9.5	0	9.5
伝達因子(IL 6st)				
インターロイキン9受容体	3.4	7.4	2.3	0.55
(IL 9r)				
形質転換成長因子、	4.1	2.7	4.9	3.44
$\beta$ 受容体III(TGF $\beta$ R3)				

【 図 3 G 】

FIGURE 3G

インターロイキン5受容体、 $\alpha$ (IL 5ra)	3.3	4.1	5.9	7
コロニー刺激因子3受容体 (顆粒球) (CSF3r)	0	0	1.33	0
リンボキシンA (LTA)	3.9	0	1.5	0
コロニー刺激	3.2	0	5.5	5.5
因子2受容体、 $\beta$ 2、 低親和性 (顆粒球マクロ ファージ) (CSF2rb2)	3.2	4.4	4.8	4.4
ケモカイン(C-Cモチ フ)リガンド7 (CCL7)	1.9	3.4	0	3.05
コロニー刺激 因子2 (顆粒球 マクロファージ) (CSF2)				
ケモカイン(C-X-Cモ チフ)リガンド5 (CXCL 5)	4.4	2.3	1.2	5.4
インターロイキン1受容体、 1型 (IL 1r1)	13	6.1	5.7	3.3
ケモカイン(C-Cモチ フ)リガンド17 (CCL17)	3.11	4.09	1.13	4.3
IL-13受容体 $\alpha$ 鎖 (IL 13ra1)	3.8	4.34	2.5	1.07
ケモカイン(C-Cモチ フ)リガンド1 (CCL1)	3.1	4.25	4.5	1
インターロイキン18受容 体アクセサリタンパク質 (IL 18rap)	3.1	8.22	3.8	1.88
ケモカイン(C-Cモチ フ)リガンド9 (CCL9)	2.1	6.59	5.14	3.48
ケモカイン(C-Cモチ フ)リガンド12 (CCL12)	3	4.5	4.5	13.44
ケモカイン(C-Cモチ フ)リガンド8 (CCL8)	3	7.32	1.74	4.79

【 図 4 】

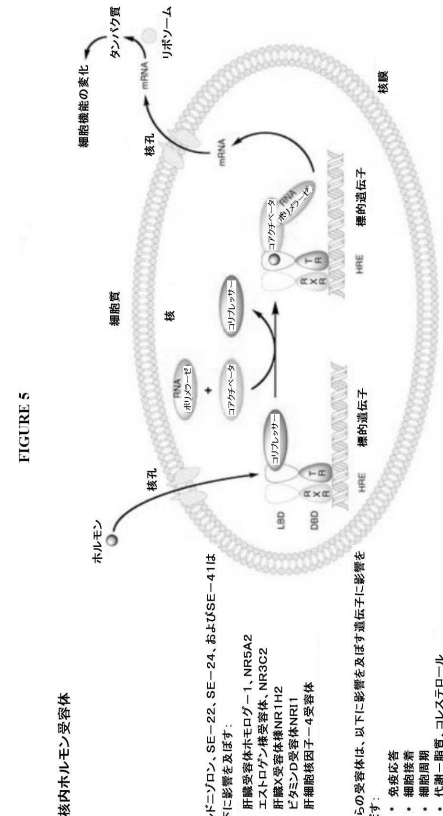


【 図 3 H 】

FIGURE 3H

インターロイキン1 $\beta$ (IL 1b)	3	2.5	7.47	6.16
------------------------------	---	-----	------	------

【 図 5 】

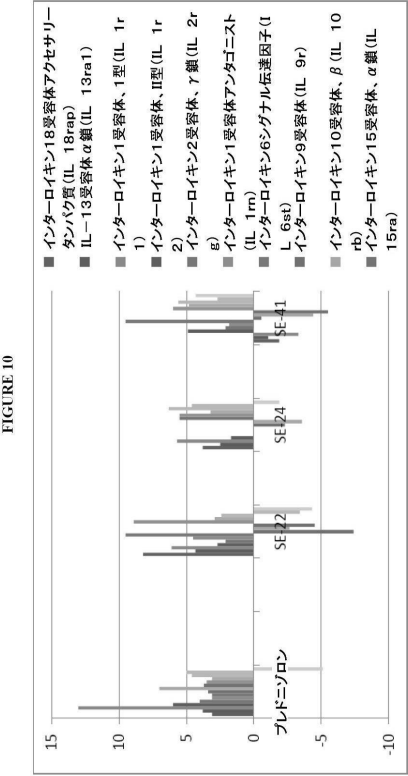




【図 9 B】

FIGURE 9			
B.			
L22	-	L22R	STAT1およびSTAT3を活性化し、かつ抑制性T細胞増殖系において、血管内皮細胞、α1-アンチトリプシン、およびインターロビンなどの急性期タンパク質の産生を増加させる
L33	-	L22R	血管管形成を増大させるが、CD95 1細胞死誘導を低下させる
L24	-	L22R	腫瘍発生に寄与することにより腫瘍抑制、創傷治癒、および妊娠において重要な役割を果たす
L25	-	L22R	IL-4、IL-5、およびIL-13の産生を誘導、それによりアレルギー増強を促進する
L26	-	L22R1	IL-10およびIL-8の分泌、ならびに上皮細胞上のCD54の細胞表面発現を増強する
L27	-	L27SA	トリノバ細胞およびトリノバ細胞の活性を抑制する
L28	-	L22R	ウイルスに対する免疫防御において役割を果たす
L29	-	-	微生物に対する宿主防御において役割を果たす
L38	-	-	IL-27の1つの産生を促進する
L31	-	L31SA	皮膚の炎症において役割を果たしている可能性がある
L32	-	-	TNF-α、IL-6、およびIL-8の産生を促進するように増強およびマクロファージを誘導する
L33	-	-	2型サイトカインを産生するようにヘルパーT細胞を誘導する
L38	抑制性T細胞	-	Tヘルパー細胞活性化の抑制

【図 10】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
 A 6 1 P 1/00 (2006.01) A 6 1 P 1/00  
 A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00

- (72)発明者 デイビッドソン, マイケル  
 アメリカ合衆国 イリノイ 6 0 0 3 5, ハイランド パーク, ベル アベニュー 1 4 0
- (72)発明者 アルネット, ジョン エフ.  
 アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 0, ミルストーン タウンシップ, ノラン ド  
 ライブ 4
- (72)発明者 エルシャニ, サディック  
 アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 1 3 6, フィラデルフィア, トレスデール アベニュー  
 ー 7 4 2 2
- (72)発明者 ロンジェン, ロエロフ  
 アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 7 8 3 0, カリフォン, フェアーマウント ロード  
 イースト 1 3 1

審査官 金田 康平

- (56)参考文献 特表 2 0 1 0 - 5 0 9 3 5 5 ( J P , A )  
 特表 2 0 0 3 - 5 2 2 1 2 4 ( J P , A )  
 YAKUGAKU ZASSHI, 2 0 0 7 年, Vol. 127, No. 12, p. 1997-2014

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4  
 A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 4 8  
 A 6 1 K 4 5 / 0 0 - 4 5 / 0 8  
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
 C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )