

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5930573号  
(P5930573)

(45) 発行日 平成28年6月15日(2016.6.15)

(24) 登録日 平成28年5月13日(2016.5.13)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 45/00	(2006.01)
A 61 K 31/4164	(2006.01)
A 61 K 31/4178	(2006.01)
A 61 K 31/4184	(2006.01)
A 61 K 31/428	(2006.01)

A 61 K 45/00  
A 61 K 31/4164  
A 61 K 31/4178  
A 61 K 31/4184  
A 61 K 31/428

請求項の数 20 (全 129 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2009-551208 (P2009-551208)
(86) (22) 出願日	平成20年2月28日 (2008.2.28)
(65) 公表番号	特表2010-520168 (P2010-520168A)
(43) 公表日	平成22年6月10日 (2010.6.10)
(86) 國際出願番号	PCT/EP2008/052411
(87) 國際公開番号	W02008/104580
(87) 國際公開日	平成20年9月4日 (2008.9.4)
審査請求日	平成23年2月25日 (2011.2.25)
審判番号	不服2014-3869 (P2014-3869/J1)
審判請求日	平成26年2月28日 (2014.2.28)
(31) 優先権主張番号	60/892,265
(32) 優先日	平成19年3月1日 (2007.3.1)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	11/685,881
(32) 優先日	平成19年3月14日 (2007.3.14)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	505403119 プロビオドルグ エージー ドイツ連邦共和国 06120 ハルレ/ サアレ ウエインベルグウエグ 22
(74) 代理人	100097456 弁理士 石川 徹
(72) 発明者	ステブハン スチルリング ドイツ連邦共和国 06130 ハルレ/ サアレ グロクケンウエグ 4
(72) 発明者	ホルゲル クイニス ドイツ連邦共和国 06110 ハルレ/ サアレ スteinウエグ 39
(72) 発明者	トルステン ホフフマン ドイツ連邦共和国 06114 ハルレ/ サアレ コエルネルストラスセ 8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】グルタミニルシクラーゼ阻害剤の新規使用

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

軽度認知障害(MCI)、再狭窄、及び膵炎から選択される炎症性疾患、若しくは状態を治療し、及び/又は予防するための医薬の製造のためのQC阻害剤の使用。

## 【請求項 2】

前記疾患が軽度認知障害(MCI)である、請求項1記載の使用。

## 【請求項 3】

前記QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、請求項1又は2記載の使用。

10

## 【請求項 4】

前記疾患が再狭窄、及び膵炎から選択される、請求項1記載の使用。

## 【請求項 5】

前記疾患が再狭窄である、請求項1又は4記載の使用。

## 【請求項 6】

前記QC阻害剤がアンジオテンシン変換酵素の阻害剤(ACE)；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬(CCB)；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質(HDL)を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロ

20

イド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される請求項1、4又は5のいずれかに記載の使用。

【請求項 7】

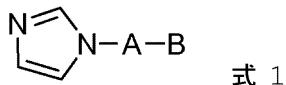
前記疾患、及び／又は状態がヒトを苦しめる、請求項1～6のいずれかに記載の使用。

【請求項8】

前記QC阻害剤がその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、及び立体異性体を含む式1の化合物である、請求項1～7のいずれか1項記載の使用：

【化 1】

10



式中、

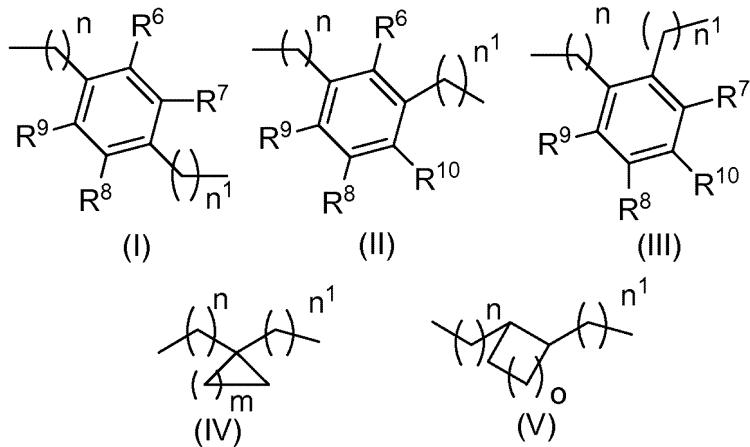
Aは：

アルキル鎖、アルケニル鎖、若しくはアルキニル鎖か；

、又はAは：

【化 2】

20



から選択される基であり：

式中：

$R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、及び $R^{10}$ は、独立してH、又はアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、ヘテロアリール、若しくは複素環であり；

$n$ 、及び $n^1$ は、独立して1～5であり；

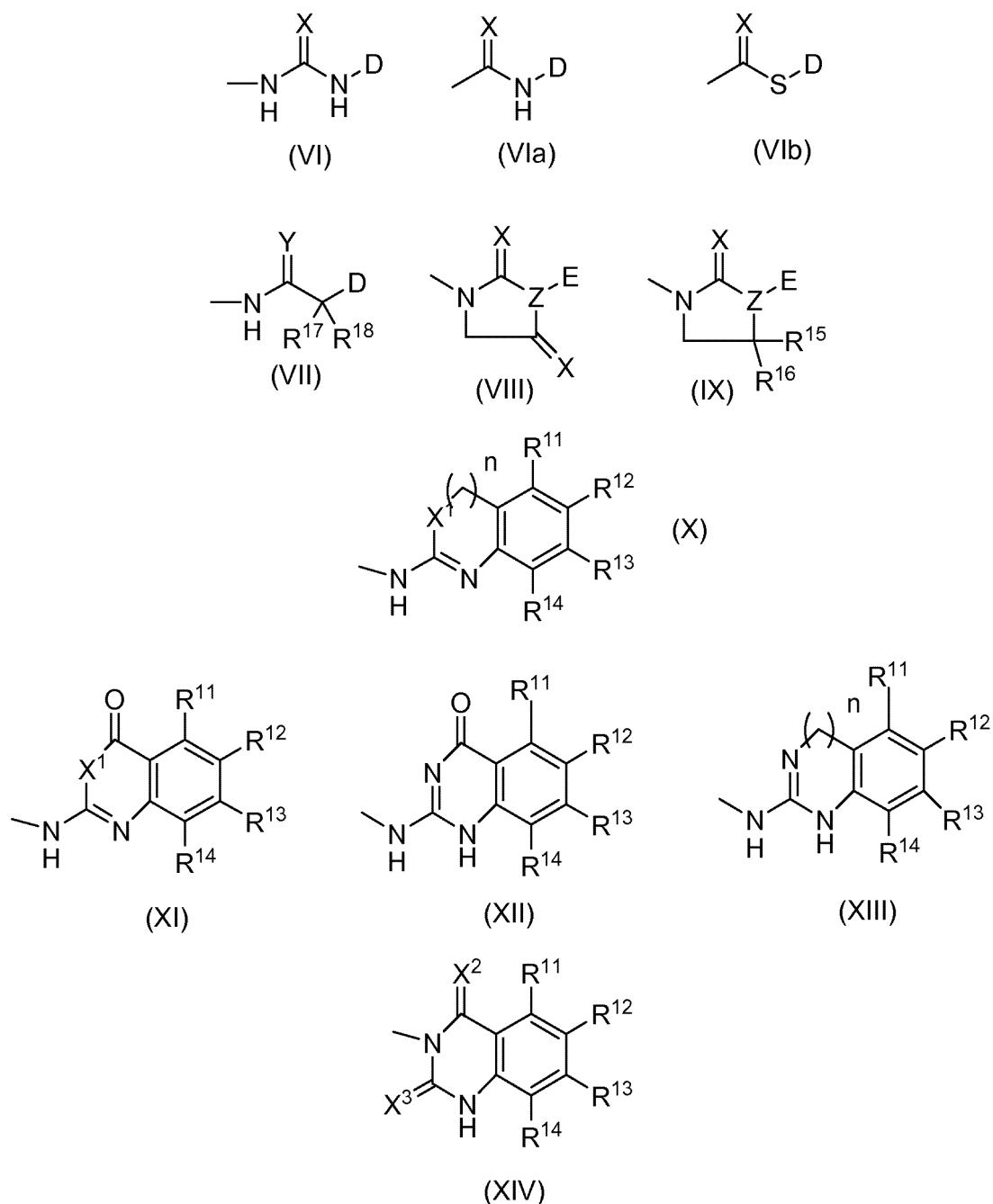
$m$ は、1～5であり；

○は、0～4であり；

かつ、Bは：

40

【化3】



から選択される基であり、

式中：

D、及びEは、独立してアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、-アルキルアリール、ヘテロアリール、-アルキルヘテロアリール、アシリル、又は複素環を表す。

Zは、CH、又はNであり；

Xは、 $\text{CR}^{20}\text{R}^{21}$ 、O、S、 $\text{NR}^{19}$ を表し、ただし、式(VIII)、及び(IX)については、Z = CHである場合、XがO、又はSであることを条件とし；

$\text{R}^{19}$ は、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、-オキシアルキル、-オキシアリール、カルボニル、アミド、ヒドロキシ、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、CNからなる群から選択され；

$\text{R}^{20}$ 、及び $\text{R}^{21}$ は、独立してH、アルキル、シクロアルキル、複素環、アリール、ヘテロ

50

アリール、-オキシアルキル、-オキシアリール、カルボニル、アミド、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、CN、 $\text{CF}_3$ から選択され；

$X^1$ 、 $X^2$ 、及び $X^3$ は、独立してO、又はSであるが、 $X^2$ 、及び $X^3$ は、両方ともが0ではないことを条件とし；

Yは、O、又はSであり、ただし、Yは、 $R^{17}$ 、及び $R^{18}$ によって形成された炭素環が該環に3員を有するときに、Oでなくともよく；

Zは、CH、又はNであり；

$R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ 、及び $R^{14}$ は、独立してH、アルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、ヘテロアリール、複素環、ハロ、アルコキシ-、-チオアルキル、カルボキシリ、カルボン酸エステル、カルボニル、カルバミド、カルビミド、チオカルバミド、又はチオカルボニル、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NO}_2$ から選択することができ；

$R^{15}$ 、及び $R^{16}$ は、独立して、互いにH、又は分枝、若しくは分枝のないアルキル鎖、又は分枝、若しくは分枝のないアルケニル鎖であり；

$R^{17}$ 、及び $R^{18}$ は、H、若しくはアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、炭素環、アリール、ヘテロアリール、ヘテロアルキルから独立して選択されるか、又は6つの環原子まで炭素環を形成するように結合することができ；

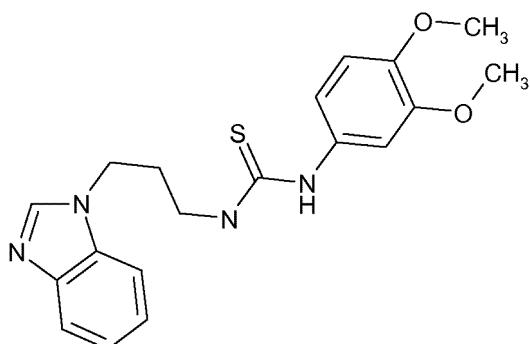
nは、0、又は1である。

#### 【請求項9】

前記QC阻害剤、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、若しくは立体異性体が以下から選択される、請求項1~8のいずれか1項記載の使用；

式1\*の化合物：

#### 【化4】

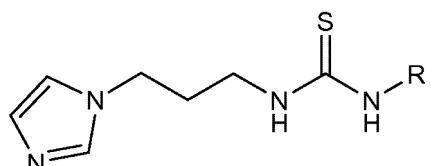


式1\*

又は

式1aの化合物、

#### 【化5】



(1a)

式中、Rは、実施例1~53において定義してある：

【表1】

実施例	R	
1	メチル	
2	<i>tert</i> -ブチル	
3	ベンジル	
4	フェニル	
5	4-(フルオロ)-フェニル	10
6	4-(クロロ)-フェニル	
7	4-(エチル)-フェニル	
8	4-(トリフルオロメチル)- フェニル	
9	4-(メトキシカルボニル)- フェニル	
10	4-(アセチル)-フェニル	20
11	4-(メトキシ)-フェニル	
12	ビシクロ[2.2.1]ヘプト-5-エン- 2-イル	
13	3,4-(ジメトキシ)-フェニル	
14	2,4-(ジメトキシ)-フェニル	
15	3,5-(ジメトキシ)-フェニル	
16	2-(メトキシカルボニル)- フェニル	30
17	4-(オキサゾール-5-yl)-フェニル	
18	4-(ピラゾール-1-イル)- フェニル	
19	4-(イソプロピル)-フェニル	
20	4-(ピペリジン-1-スルホニル)- フェニル	40
21	4-(モルフォリン-4-イル)- フェニル	
22	4-(シアノ)-フェニル	

実施例	R	
23	2, 3-ジヒドロベンゾ[1, 4] ジオキシン-6-イル	
24	ベンゾ[1, 3]ジオキソール-5- イル	
25	3, 4, 5(トリメトキシ)-フェニル	10
26	3-(メトキシ)-フェニル	
27	4-(エトキシ)-フェニル	
28	4-(ベンジルオキシ)-フェニル	
29	4-(メトキシ)-ベンジル	
30	3, 4-(ジメトキシ)-ベンジル	
31	2-(メトキシカルボニル)- チオフェン-3-イル	20
32	3-(エトキシカルボニル)- 4, 5, 6, 7-テトラヒドロベンゾ[b] チオフェン-2-イル	
33	2-(メトキシカルボニル)-4- (メチル)-チオフェン-3-イル	
34	ベンゾ[c][1, 2, 5]チアゾール-4- イル	
35	ベンゾ[c][1, 2, 5]チアゾール-5- イル	30
36	5-(メチル)-3-(フェニル)- イソオキサゾール-4-イル	
37	3, 5-(ジメチル)- イソオキサゾール-4-イル	
38	4-(ヨード)-フェニル	
39	4-(ブロモ)-フェニル	40
40	4-(メチル)-フェニル	
41	ナフタレン-1-イル	
42	4-(ニトロ)-フェニル	

実施例	R
43	ブチル
44	シクロオクチル
45	フラン-2-イルメチル
46	テトラヒドロフラン-2-イルメチル
47	ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチル
48	2-(モルフォリン-4-イル)-エチル
49	4-(メチルスルファニル)-フェニル
50	4-(ジメチルアミノ)-フェニル
51	4-(トリフルオロメトキシ)-フェニル
52	ベンゾイル
53	ピリジン-4-イル

10

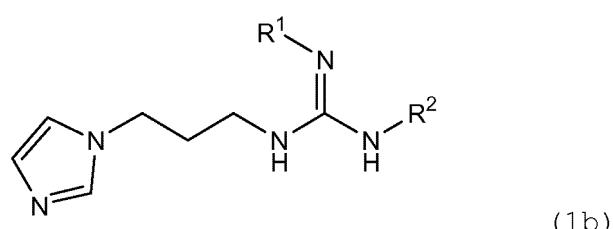
20

30

又は、

式1bの化合物、

【化6】



式中、R<sup>1</sup>、及びR<sup>2</sup>は、実施例54～95において定義してある。

【表2】

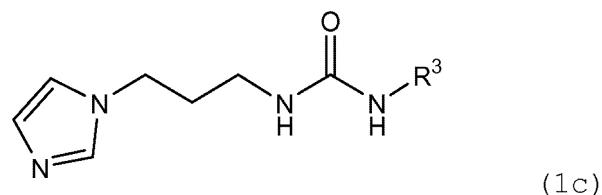
実施例	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	
54	シアノ	メチル	
55	シアノ	3, 4-(ジメトキシ)-フェニル	
56	シアノ	2, 4-(ジメトキシ)-フェニル	
57	シアノ	3, 5-(ジメトキシ)-フェニル	
58	シアノ	2, 3-ジヒドロベンゾ[b][1, 4]ジオキシン-7-イル	10
59	シアノ	ベンゾ[d][1, 3]ジオキソール-6-イル	
60	シアノ	3, 4, 5-(トリメトキシ)-フェニル	
61	シアノ	3-(メトキシ)-フェニル	
62	シアノ	4-(エトキシ)-フェニル	
63	シアノ	4-(ベンジルオキシ)-フェニル	20
64	シアノ	フェニル	
65	シアノ	4-(メトキシ)-フェニル	
66	シアノ	4-(アセチル)-フェニル	
67	シアノ	4-(ニトロ)-フェニル	
68	シアノ	ベンジル	
69	シアノ	ナフタレン-1-イル	
70	シアノ	4-(フルオロ)-フェニル	30
71	シアノ	4-(ヨード)-フェニル	
72	シアノ	4-(ブロモ)-フェニル	
73	シアノ	シクロオクチル	
74	シアノ	<i>tert</i> -ブチル	
75	シアノ	4-(メチル)-フェニル	
76	シアノ	4-(メチルチオ)-フェニル	
77	シアノ	4-(エチル)-フェニル	40
78	シアノ	4-(ジメチルアミノ)-フェニル	
79	シアノ	ブチル	

実施例	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
80	シアノ	トリチル
81	シアノ	(ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-6 イル)メチル
82	シアノ	(テトラヒドロフラン-2 イル)メチ ル
83	シアノ	4-(トリフルオロメチル)-フェニル
84	シアノ	(フラン-2-イル)メチル
85	シアノ	2-(モルフォリン-4-イル)-エチル
86	シアノ	4-(オキサゾール-5 イル)-フェニ ル
87	シアノ	ピリジン-3-イル
88	シアノ	4-(シアノ)-フェニル
89	シアノ	4-(トリフルオロメトキシ)-フェニ ル
90	シアノ	4-(ピペリジノスルホニル)-フェニ ル
91	シアノ	4-(1H-ピラゾール-1-イル)フェニ ル
92	H	3,4-(ジメトキシ)-フェニル
93	メチル	3,4-(ジメトキシ)-フェニル
94	シアノ	2,3,4-(トリメトキシ)-フェニル
95	シアノ	シクロヘプチル

又は、

式1cの化合物、

【化7】



式中、R<sup>3</sup>は、実施例96～102において定義してある。

【表3】

実施例	R <sup>3</sup>
96	エチル
97	6-フルオロ-4H-ベンゾ[d][1,3]ジオキシン-8-イル
98	3-(シクロヘキソキシ)-4-(メトキシ)-フェニル
99	4-(ヘプチルオキシ)-フェニル
100	3,4-ジヒドロ-2H-ベンゾ[b][1,4]ジオキセピン-7-イル
101	4-(ブロキシ)-フェニル
102	3,4-(ジメトキシ)-フェニル

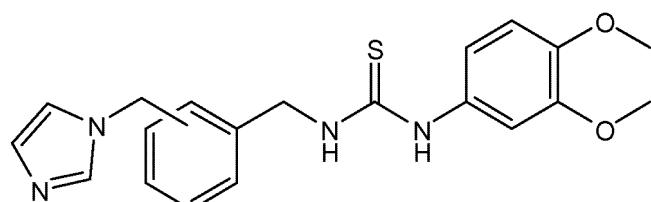
10

又は、

式1dの化合物、

【化8】

20



(1d)

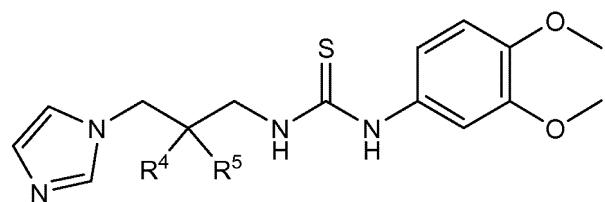
式中、環上の位置は、実施例103～105において定義してある。

又は、

式1eの化合物

【化9】

30



(1e)

式中、R<sup>4</sup>、及びR<sup>5</sup>は、実施例106～109において定義してある。

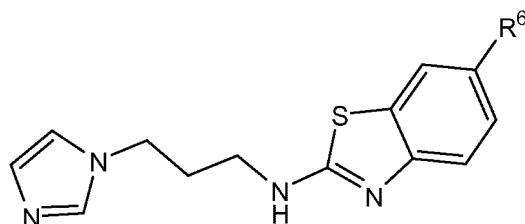
【表4】

40

実施例	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
106(S)	H	メチル
107(R)	メチル	H
108	メチル	メチル
109	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	

50

又は、  
式1fの化合物、  
【化10】



(1f)

10

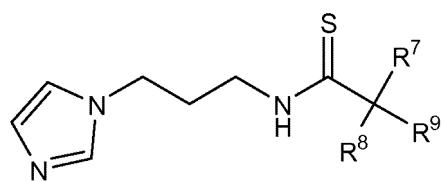
式中、R<sup>6</sup>は、実施例110～112において定義してある。

【表5】

実施例	R <sup>6</sup>
110	H
111	クロロ
112	メトキシ

20

又は、  
式1gの化合物、  
【化11】



(1g)

式中、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、及びR<sup>9</sup>は、実施例113～132において定義してある。

30

【表6】

実施例	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>
113	フェニル	H	H
114	チオフェン-2-イル	H	H
115(R)	フェニル	メチル	H
116(S)	フェニル	H	メチル
117	フェニル	H	エチル
118	フェニル	H	フェニル
119	3,4-(ジメトキシ)- フェニル	H	H
120	3,4-(ジメトキシ)- フェニル	メチル	メチル
121	4-(クロロ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
122	4-(クロロ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{C}_2\text{H}_4-\text{CH}_2-$	
123	4-(メトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{C}_3\text{H}_6-\text{CH}_2-$	
124	4-(メトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
125	3,4-(ジメトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
126	3,4,5- (トリメトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
127	2,3,4- (トリメトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
128	2-(メトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	

10

20

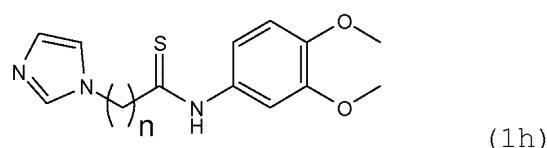
30

40

実施例	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>
129	3-(メトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
130	2, 3-(ジメトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
131	3, 5-(ジメトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
132	2, 5-(ジメトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -

10

又は、  
式1hの化合物、  
【化12】



20

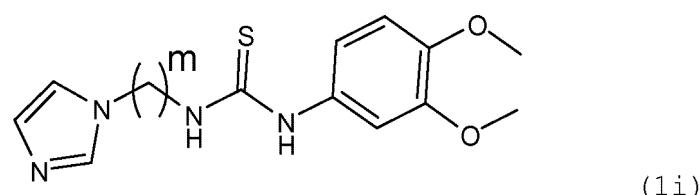
式中、nは、実施例133～135において定義してある。

【表7】

実施例	n
133	3
134	4
135	5

30

又は、  
式1iの化合物、  
【化13】



40

式中、mは、実施例136、及び137において定義してある。

【表8】

実施例	m
136	2
137	4

又は、

実施例138～141から選択される化合物。

【表9】

10

実施例	構造
138	
139	
140	
141	

20

30

#### 【請求項10】

前記QC阻害剤が、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素である、請求項1～9のいずれか1項記載の使用。

#### 【請求項11】

QC阻害剤を含む、軽度認知障害(MCI)、再狭窄、及び膵炎から選択される炎症性疾患、若しくは状態を治療及び／又は予防するための医薬組成物。

#### 【請求項12】

前記疾患が軽度認知障害(MCI)である、請求項11記載の医薬組成物。

#### 【請求項13】

40

向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬からなる群から選択されるさらなる薬剤を含む、請求項11又は12記載の医薬組成物。

#### 【請求項14】

前記疾患が再狭窄、及び膵炎から選択される、請求項11記載の医薬組成物。

#### 【請求項15】

前記疾患が再狭窄である、請求項11又は14記載の医薬組成物。

#### 【請求項16】

アンジオテンシン変換酵素の阻害剤(ACE)；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬(CCB)；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロー

50

ル吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リボタンパク質(HDL)を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤を含む、請求項11、14又は15のいずれかに記載の医薬組成物。

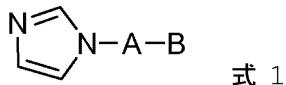
【請求項 17】

前記疾患、及び／又は状態がヒトを苦しめる、請求項11～16のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項18】

前記QC阻害剤がその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、及び立体異性体を含む式1の化合物である、請求項11～17のいずれか1項記載の医薬組成物：

【化 1 4】



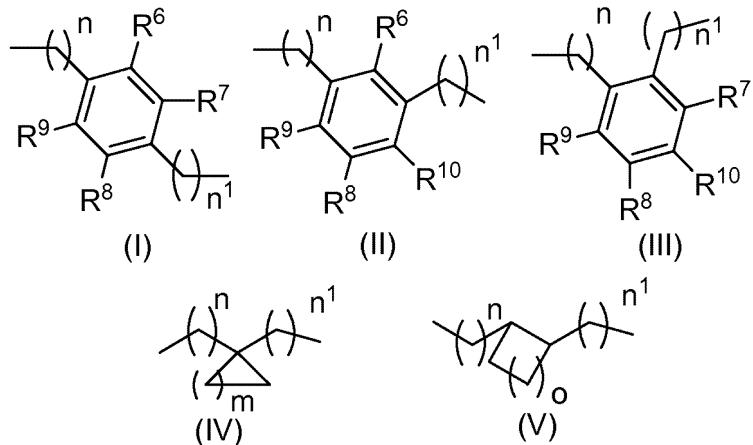
式中、

Aは：

アルキル鎖、アルケニル鎖、若しくはアルキニル鎖か；

、又はAは：

【化 1 5】



から選択される基であり：

式中：

$R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、及び $R^{10}$ は、独立してH、又はアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、ヘテロアリール、若しくは複素環であり；

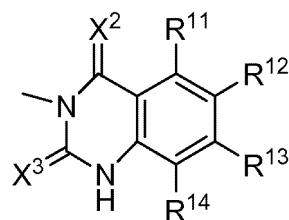
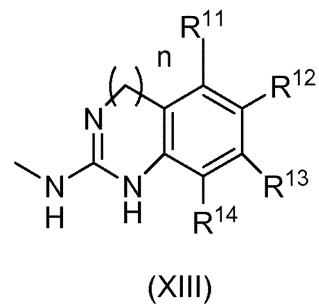
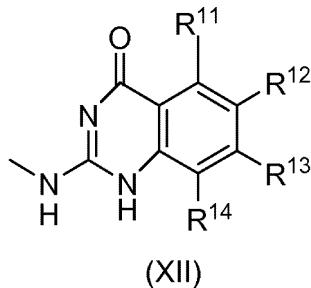
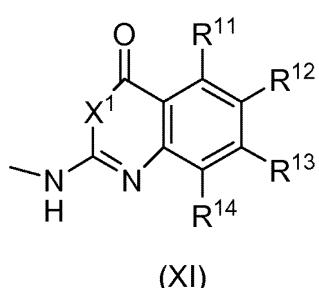
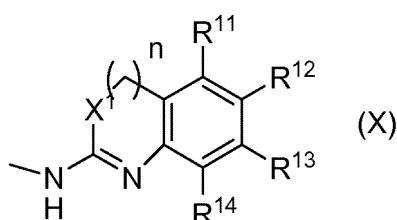
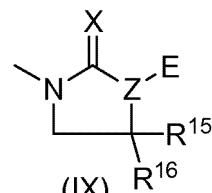
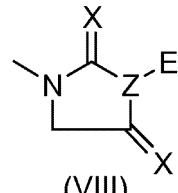
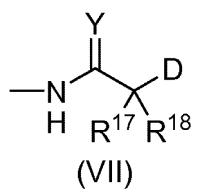
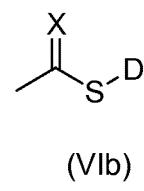
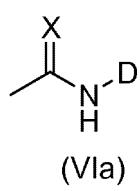
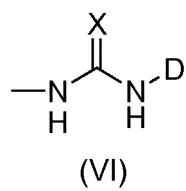
$n$ 、及び $n^1$ は、独立して1～5であり；

mは、1～5であり；

○は、0～4であり；

かつ、Bは：

【化16】



(XIV)

から選択される基であり、

式中：

D、及びEは、独立してアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、-アルキルアリール、ヘテロアリール、-アルキルヘテロアリール、アシリル、又は複素環を表す。

Zは、CH、又はNであり；

Xは、 $\text{CR}^{20}\text{R}^{21}$ 、O、S、 $\text{NR}^{19}$ を表し、ただし、式(VIII)、及び(IX)については、Z = CHである場合、XがO、又はSであることを条件とし；

$\text{R}^{19}$ は、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、-オキシアルキル、-オキシアリール、カルボニル、アミド、ヒドロキシ、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、CNからなる群から選択され；

$\text{R}^{20}$ 、及び $\text{R}^{21}$ は、独立してH、アルキル、シクロアルキル、複素環、アリール、ヘテロ

10

20

30

40

50

アリール、-オキシアルキル、-オキシアリール、カルボニル、アミド、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、CN、 $\text{CF}_3$ から選択され；

$X^1$ 、 $X^2$ 、及び $X^3$ は、独立してO、又はSであるが、 $X^2$ 、及び $X^3$ は、両方ともが0ではないことを条件とし；

Yは、0、又はSであり、ただし、Yは、 $R^{17}$ 、及び $R^{18}$ によって形成された炭素環が該環に3員を有するときに、0でなくともよく；

Zは、CH、又はNであり；

$R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ 、及び $R^{14}$ は、独立してH、アルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、ヘテロアリール、複素環、ハロ、アルコキシ-、-チオアルキル、カルボキシリル、カルボン酸エステル、カルボニル、カルバミド、カルビミド、チオカルバミド、又はチオカルボニル、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NO}_2$ から選択することができ； 10

$R^{15}$ 、及び $R^{16}$ は、独立して、互いにH、又は分枝、若しくは分枝のないアルキル鎖、又は分枝、若しくは分枝のないアルケニル鎖であり；

$R^{17}$ 、及び $R^{18}$ は、H、若しくはアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、炭素環、アリール、ヘテロアリール、ヘテロアルキルから独立して選択されるか、又は6つの環原子まで炭素環を形成するように結合することができ；

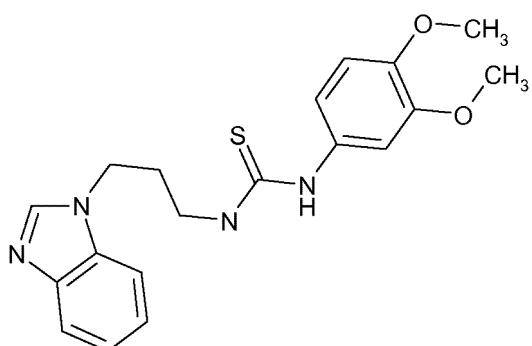
nは、0、又は1である。

#### 【請求項 19】

前記QC阻害剤、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、若しくは立体異性体が以下から選択される、請求項11～18のいずれか1項記載の医薬組成物： 20

式1\*の化合物：

#### 【化 17】

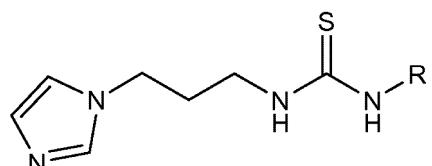


式1\*

又は

式1aの化合物、

#### 【化 18】



(1a)

式中、Rは、実施例1～53において定義してある：

【表10】

実施例	R	
1	メチル	
2	<i>tert</i> -ブチル	10
3	ベンジル	
4	フェニル	
5	4-(フルオロ)-フェニル	
6	4-(クロロ)-フェニル	
7	4-(エチル)-フェニル	
8	4-(トリフルオロメチル)- フェニル	
9	4-(メトキシカルボニル)- フェニル	
10	4-(アセチル)-フェニル	20
11	4-(メトキシ)-フェニル	
12	ビシクロ[2.2.1]ヘプト-5-エン- 2-イル	
13	3,4-(ジメトキシ)-フェニル	
14	2,4-(ジメトキシ)-フェニル	
15	3,5-(ジメトキシ)-フェニル	
16	2-(メトキシカルボニル)- フェニル	30
17	4-(オキサゾール-5-yl)-フェニル	
18	4-(ピラゾール-1-イル)- フェニル	
19	4-(イソプロピル)-フェニル	
20	4-(ピペリジン-1-スルホニル)- フェニル	40
21	4-(モルフォリン-4-イル)- フェニル	
22	4-(シアノ)-フェニル	

実施例	R	
23	2, 3-ジヒドロベンゾ[1, 4] ジオキシン-6-イル	
24	ベンゾ[1, 3]ジオキソール-5- イル	
25	3, 4, 5(トリメトキシ)-フェニル	10
26	3-(メトキシ)-フェニル	
27	4-(エトキシ)-フェニル	
28	4-(ベンジルオキシ)-フェニル	
29	4-(メトキシ)-ベンジル	
30	3, 4-(ジメトキシ)-ベンジル	
31	2-(メトキシカルボニル)- チオフェン-3-イル	
32	3-(エトキシカルボニル)- 4, 5, 6, 7-テトラヒドロベンゾ[b] チオフェン-2-イル	20
33	2-(メトキシカルボニル)-4- (メチル)-チオフェン-3-イル	
34	ベンゾ[c][1, 2, 5]チアゾール-4- イル	
35	ベンゾ[c][1, 2, 5]チアゾール-5- イル	30
36	5-(メチル)-3-(フェニル)- イソオキサゾール-4-イル	
37	3, 5-(ジメチル)- イソオキサゾール-4-イル	
38	4-(ヨード)-フェニル	
39	4-(ブロモ)-フェニル	40
40	4-(メチル)-フェニル	
41	ナフタレン-1-イル	
42	4-(ニトロ)-フェニル	

実施例	R
43	ブチル
44	シクロオクチル
45	フラン-2-イルメチル
46	テトラヒドロフラン-2-イルメチル
47	ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチル
48	2-(モルフォリン-4-イル)-エチル
49	4-(メチルスルファニル)-フェニル
50	4-(ジメチルアミノ)-フェニル
51	4-(トリフルオロメトキシ)-フェニル
52	ベンゾイル
53	ピリジン-4-イル

10

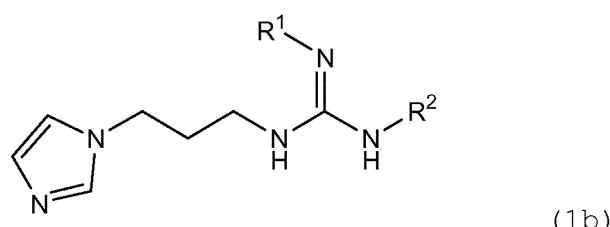
20

30

又は、

式1bの化合物、

【化19】



式中、R<sup>1</sup>、及びR<sup>2</sup>は、実施例54～95において定義してある。

【表 1 1】

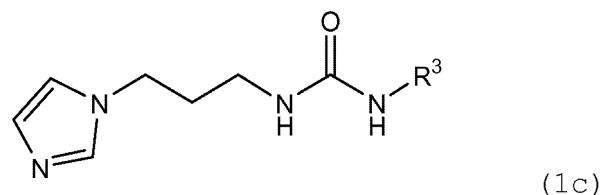
実施例	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	
54	シアノ	メチル	
55	シアノ	3, 4-(ジメトキシ)-フェニル	
56	シアノ	2, 4-(ジメトキシ)-フェニル	
57	シアノ	3, 5-(ジメトキシ)-フェニル	
58	シアノ	2, 3-ジヒドロベンゾ[b][1, 4]ジオキシン-7-イル	10
59	シアノ	ベンゾ[d][1, 3]ジオキソール-6-イル	
60	シアノ	3, 4, 5-(トリメトキシ)-フェニル	
61	シアノ	3-(メトキシ)-フェニル	
62	シアノ	4-(エトキシ)-フェニル	
63	シアノ	4-(ベンジルオキシ)-フェニル	20
64	シアノ	フェニル	
65	シアノ	4-(メトキシ)-フェニル	
66	シアノ	4-(アセチル)-フェニル	
67	シアノ	4-(ニトロ)-フェニル	
68	シアノ	ベンジル	
69	シアノ	ナフタレン-1-イル	
70	シアノ	4-(フルオロ)-フェニル	30
71	シアノ	4-(ヨード)-フェニル	
72	シアノ	4-(ブロモ)-フェニル	
73	シアノ	シクロオクチル	
74	シアノ	<i>tert</i> -ブチル	
75	シアノ	4-(メチル)-フェニル	
76	シアノ	4-(メチルチオ)-フェニル	
77	シアノ	4-(エチル)-フェニル	40
78	シアノ	4-(ジメチルアミノ)-フェニル	
79	シアノ	ブチル	

実施例	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
80	シアノ	トリチル
81	シアノ	(ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-6 イル)メチル
82	シアノ	(テトラヒドロフラン-2 イル)メチ ル
83	シアノ	4-(トリフルオロメチル)-フェニル
84	シアノ	(フラン-2-イル)メチル
85	シアノ	2-(モルフォリン-4-イル)-エチル
86	シアノ	4-(オキサゾール-5 イル)-フェニ ル
87	シアノ	ピリジン-3-イル
88	シアノ	4-(シアノ)-フェニル
89	シアノ	4-(トリフルオロメトキシ)-フェニ ル
90	シアノ	4-(ピペリジノスルホニル)-フェニ ル
91	シアノ	4-(1H-ピラゾール-1-イル)フェニ ル
92	H	3,4-(ジメトキシ)-フェニル
93	メチル	3,4-(ジメトキシ)-フェニル
94	シアノ	2,3,4-(トリメトキシ)-フェニル
95	シアノ	シクロヘプチル

又は、

式1cの化合物、

【化20】



式中、R<sup>3</sup>は、実施例96～102において定義してある。

【表 1 2】

実施例	R <sup>3</sup>
96	エチル
97	6-フルオロ-4H-ベンゾ[d][1,3]ジオキシン-8-イル
98	3-(シクロヘキソキシ)-4-(メトキシ)-フェニル
99	4-(ヘプチルオキシ)-フェニル
100	3,4-ジヒドロ-2H-ベンゾ[b][1,4]ジオキセピン-7-イル
101	4-(ブロキシ)-フェニル
102	3,4-(ジメトキシ)-フェニル

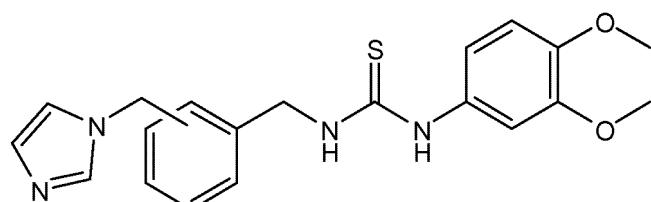
10

又は、

式1dの化合物、

【化 2 1】

20



(1d)

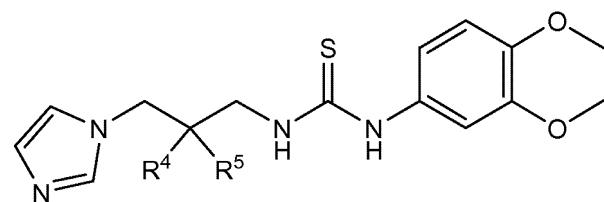
式中、環上の位置は、実施例103～105において定義してある。

又は、

式1eの化合物

【化 2 2】

30



(1e)

式中、R<sup>4</sup>、及びR<sup>5</sup>は、実施例106～109において定義してある。

【表 1 3】

40

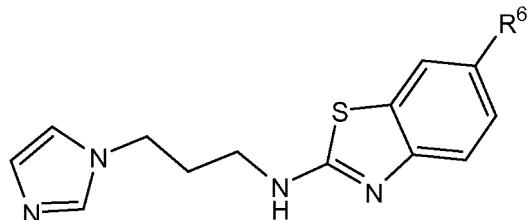
実施例	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
106(S)	H	メチル
107(R)	メチル	H
108	メチル	メチル
109	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	

50

又は、

式1fの化合物、

【化23】



(1f)

10

式中、R<sup>6</sup>は、実施例110～112において定義してある。

【表14】

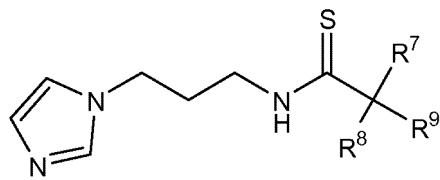
実施例	R <sup>6</sup>
110	H
111	クロロ
112	メトキシ

20

又は、

式1gの化合物、

【化24】



(1g)

式中、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、及びR<sup>9</sup>は、実施例113～132において定義してある。

30

【表 15】

実施例	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>
113	フェニル	H	H
114	チオフェン-2-イル	H	H
115(R)	フェニル	メチル	H
116(S)	フェニル	H	メチル
117	フェニル	H	エチル
118	フェニル	H	フェニル
119	3, 4-(ジメトキシ)- フェニル	H	H
120	3, 4-(ジメトキシ)- フェニル	メチル	メチル
121	4-(クロロ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
122	4-(クロロ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{C}_2\text{H}_4-\text{CH}_2-$	
123	4-(メトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{C}_3\text{H}_6-\text{CH}_2-$	
124	4-(メトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
125	3, 4-(ジメトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
126	3, 4, 5- (トリメトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
127	2, 3, 4- (トリメトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
128	2-(メトキシ)- フェニル	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	

10

20

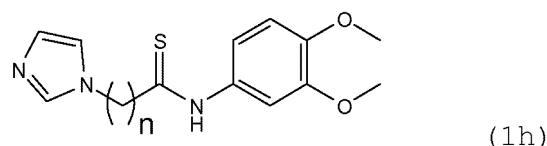
30

40

実施例	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>
129	3-(メトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
130	2, 3-(ジメトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
131	3, 5-(ジメトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
132	2, 5-(ジメトキシ)- フェニル		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -

10

又は、  
式1hの化合物、  
【化25】



20

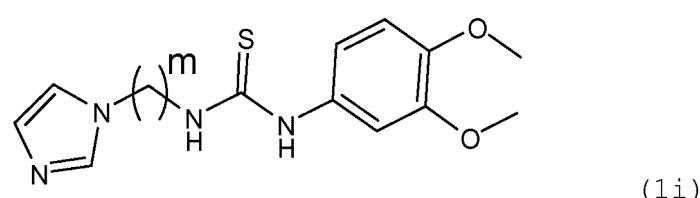
式中、nは、実施例133～135において定義してある。

【表16】

実施例	n
133	3
134	4
135	5

30

又は、  
式1iの化合物、  
【化26】



40

式中、mは、実施例136、及び137において定義してある。

【表17】

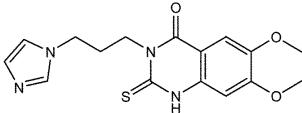
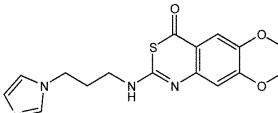
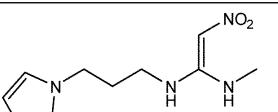
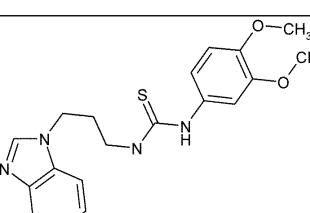
実施例	m
136	2
137	4

又は、

実施例138～141から選択される化合物。

【表18】

10

実施例	構造
138	
139	
140	
141	

20

30

#### 【請求項20】

前記QC阻害剤が、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素である、請求項11～19のいずれか1項記載の医薬組成物。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【技術分野】

##### 【0001】

本発明は、一般にグルタミルペプチドシクロトランスクレアーゼの阻害剤、並びにリウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症、脾炎、軽度認知障害、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、神経障害性疼痛、移植片拒絶／移植片不全／移植片血管障害、高血圧症、HIV感染症／AIDS、妊娠中毒症、癌／血管内皮腫増殖、結節硬化症、及び胃癌腫瘍からなる群から選択される疾患、若しくは障害の治療、並びに／又は予防のためのその使用に関する。

40

##### 【0002】

更に、本発明は、グルタミルシクラーゼ阻害剤の使用に基づいた診断キット、及び方法に属する。

#### 【背景技術】

##### 【0003】

グルタミルシクラーゼ (QC、EC 2.3.2.5) は、アンモニアの遊離下におけるN末端の

50

グルタミル残基のピログルタミン酸(5-オキソ-プロリン、 $\text{pGlu}^*$ )への分子内環化、及び水の遊離下におけるN末端のグルタミル残基のピログルタミン酸への分子内環化を触媒する。

#### 【0004】

QCは、Messerによって1963年に熱帯植物パパイアのラテックスから最初に単離された(Messer, M. 1963 *Nature* 4874、1299)。24年後、対応する酵素活性が動物下垂体において発見された(Busby, W. H. J. らの文献、1987 *J Biol Chem* 262、8532-8536; Fischer, W. H. 及びSpiess, J. の文献 1987 *Proc Natl Acad Sci U S A* 84、3628-3632)。哺乳動物QCについては、QCによるGlnのpGluへの変換を、TRH、及びGnRHの前駆体について示すことができた(Busby, W. H. J. らの文献、1987 *J Biol Chem* 262、8532-8536; Fischer, W. H. 及びSpiess, J. の文献 1987 *Proc Natl Acad Sci U S A* 84、3628-3632)。加えて、QCの初期の局在化実験では、示唆されたペプチドホルモン成熟における機能を更に改善するウシ視床下部-下垂体路におけるその推定上の触媒作用の産物との共局在を明らかにした(Bockers, T. M. らの文献、1995 *J Neuroendocrinol* 7、445-453)。対照的に、植物QCの生理機能は、あまり明らかではない。C.パパイア由来の酵素の場合、病原微生物に対する植物防御における役割が示唆された(EI Moussaoui, A. らの文献、2001 *Cell Mol Life Sci* 58、556-570)。その他の植物由来の推定上のQCが、配列比較によって最近同定された(Dahl, S. W. らの文献、2000 *Protein Expr Purif* 20、27-36)。しかし、これらの酵素の生理機能は、いまだあいまいである。

#### 【0005】

植物、及び動物由来の公知のQCは、基質のN末端の位置のL-グルタミンに対して厳密な特異性を示し、これらの動力学的挙動は、ミカエリス メンテンの式に従うことが見いだされた(Pohl, T. らの文献、1991 *Proc Natl Acad Sci U S A* 88、10059-10063; Consalvo, A. P. らの文献、1988 *Anal Biochem* 175、131-138; Gololobov, M. Y. らの文献、1996 *Biol Chem Hoppe Seyler* 377、395-398)。しかし、C.パパイア由来のQCの一次構造と哺乳類由来の高度に保存されたQCのものとの比較では、何ら配列相同性は明らかにならなかつた(Dahl, S. W. らの文献(2000) *Protein Expr Purif* 20、27-36)。植物QCは、新たな酵素ファミリーに属すると思われるのに対して(Dahl, S. W. らの文献(2000) *Protein Expr Purif* 20、27-36)、哺乳動物QCは、細菌アミノペプチダーゼに対して明白な配列相同性を有することが見いだされ(Bateman, R. C. らの文献、2001 *Biochemistry* 40、11 246-11250)、植物、及び動物由来のQCが異なる進化の起源を有するという結論に至った。

#### 【0006】

EP 02 011 349.4は、昆虫グルタミルシクラーゼをコードするポリヌクレオチド、並びにこれによりコードされるポリペプチドを開示する。この出願は、本発明のポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む宿主細胞を更に提供する。単離されたポリペプチド、及び昆虫QCを含む宿主細胞は、グルタミルシクラーゼ活性を減少させる薬剤をスクリーニングする方法に有用である。このような薬剤は、殺虫薬として有用であることが記述されている。

#### 【0007】

走化性サイトカイン(ケモカイン)は、白血球を誘引して活性化するタンパク質であり、炎症において基本的役割を担うと考えられる。ケモカインは、N末端のシステイン残基の様相によって分類される4群に分けられる(「C」-; 「CC」-; 「CXC」-、及び「CX3C」-ケモカイン)。「CXC」-ケモカインは、好中球に対して優先して作用する。対照的に、「CC」-ケモカインは、優先して単球を炎症部位に誘引する。単球浸潤は、多数の疾患状態における重要なイベントであると考えられる(Gerard, C. 及びRollins, B. J. の文献(2001) *Nat. Immunol* 2、108-115; Bhatia, M. らの文献(2005) *Pancreatology* 5、132-144; Kitamoto, S., Egashira K. 及びTakeshita, A. の文献(2003) *J Pharmacol Sci.* 9 1, 192-196)。ケモカインの1つのファミリーとしてのMCPファミリーは、4つのメンバー(MCP-1~4)からなり、単球を誘引することに対して好性を示すが、それらの潜在性に相

10

20

30

40

50

違を示す (Luini, W. らの文献 (1994) Cytokine 6, 28-31 ; Uguccioni, M. らの文献、(1995) Eur J Immunol 25, 64-68)。以下に、MCP-1~4のcDNA、並びにアミノ酸配列の両方を示してある：

【0008】

【化1】

**ヒトMCP-1 (CCL2) (GeneBank アクセッション: M24545)**

cDNA (300 bp)

配列番号 2

1 atgaaagtct ctgcgcgcct tctgtgcctg ctgctcatag cagccacctt  
cattccccaa

10

61 gggctcgctc agccagatgc aatcaatgcc ccagtcacct gctgttataaa  
cttcaccaat

121 aggaagatct cagtcagag gctcgcgagc tatagaagaa tcaccagcag  
caagtgtccc

181 aaagaagctg tgatttcaa gaccattgtg gccaggaga tctgtgctga  
ccccaaagcag

20

241 aagtgggttc aggattccat ggaccacctg gacaagcaaa cccaaactcc  
gaagacttga

タンパク質 (太字体のシグナル配列 : 23 aa ; 成熟MCP-1 : 76 aa)

配列番号 1

**MKVSAALLCLLLIAATFIPQGLAQPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCP**  
KEAVIFKTIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQTQTPKT

## 【化2】

ヒトMCP-2 (CCL8) (GeneBankアクセスション: Y10802)

cDNA (300 bp)

配列番号 12

1 atgaaggttt ctgcagcgct tctgtgcctg ctgctcatgg  
cagccacttt cagccctcag

61 ggacttgctc agccagattc agtttccatt ccaatcacct gctgctttaa  
cgtgatcaat 10

121 aggaaaattc ctatccagag gctggagagc tacacaagaa tcaccaacat  
ccaatgtccc

181 aaggaagctg tgatttcaa gacccaacgg ggcaaggagg tctgtgctga  
ccccaaaggag

241 agatgggtca gggattccat gaagcatctg gaccaaatat ttcaaaatct  
gaagccatga

20

タンパク質（太字体のシグナル配列：23 aa；成熟MCP-2：76 aa）

配列番号 11

**MKVSAALLCLLLMAATFSPQGLAQPDSVSIPITCCFNVINRKIPIQRLESYTRITNIQCP**  
KEAVIFKTQRGKEVCADPKERWVRDSMKHLDQIFQNLKP

## 【化3】

ヒトMCP-3 (CCL7) (GeneBankアクセスション:X71087)

cDNA (300 bp)

配列番号 14

1 atgaaagcct ctgcagcact tctgtgtctg ctgctcacag  
cagctgcttt cagcccccaag

61 gggcttgctc agccagttgg gattaatact tcaactacct gctgctacag  
atttatcaat

10

121 aagaaaatcc ctaaggcagag gctggagagc tacagaagga ccaccagtag  
ccactgtccc

181 cggaaagctg taatcttcaa gaccaaactg gacaaggaga tctgtgctga  
ccccacacacag

241 aagtgggtcc aggactttat gaagcacctg gacaagaaaa cccaaactcc  
aaagcttga

タンパク質（太字体のシグナル配列：23 aa；成熟MCP-3：76 aa）

20

配列番号

13

**MKASAALLCLLLTAAAFSPQGLA**QPVGINTSTTCCYRFINKKIPKQRLESYRRTSSH  
CP  
REAVIFKTKLDKEICADPTQK WVQDFMKHLDKKTQTPKL

## 【化4】

ヒトMCP-4 (CCL13) (GeneBankアクセスション: U46767)cDNA (297 bp)  
番号 16

配列

1 atgaaaagtct ctgcagtgct tctgtgcctg ctgctcatga cagcagcttt  
caaccccccag61 ggacttgctc agccagatgc actcaacgtc ccatctactt gctgcttcac  
atttagcagt 10121 aagaagatct ccttgcagag gctgaagagc tatgtgatca ccaccagcag  
gtgtccccag181 aaggctgtca tcttcagaac caaactgggc aaggagatct gtgctgaccc  
aaaggagaag241 tgggtccaga attatatgaa acacctgggc cgaaaaagctc acaccctgaa  
gacttga

タンパク質（太字体のシグナル配列：23 aa；成熟MCP-4：75 aa）

15

配列番号

**MKVSAVLLCLLMTAAFPQGLAQPDALNVPSTCCFTFSSKKISLQRLKSYVITTSRCPO**

KAVIFRTKLGEICADPKEKWVQNYMKHLGRKAHTLKT

## 【0009】

多数の研究が、特に、アテローム性動脈硬化症 (Gu, L. らの文献 (1998) Mol. Cell 2、275-281 ; Gosling, J. らの文献 (1999) J Clin. Invest 103, 773-778) ; リウマチ様関節炎 (Gong, J. H. らの文献 (1997) J Exp. Med 186, 131-137 ; Ogata, H. らの文献 (1997) J Pathol. 182, 106-114) ; 膵炎 (Bhatia, M. らの文献 (2005) Am. J Physiol Gastrointest. Liver Physiol 288, G1259-G1265) ; アルツハイマー病 (Yamamoto M. らの文献 (2005) Am. J Pathol. 166, 1475-1485) ; 肺線維症 (Inoshima, I. らの文献 (2004) Am. J Physiol Lung Cell Mol. Physiol 286, L1038-L1044) ; 腎臓線維症 (Wada, T. らの文献 (2004) J Am. Soc. Nephrol. 15, 940-948) 、及び移植片拒絶 (Saiura, A. らの文献 (2004) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 24, 1886-1890) の発症に関するMCP-1の重要な役割を強調してきた。更にまた、MCP-1も、妊娠中毒症において (Katabuchi, H. らの文献 (2003) Med Electron Microsc. 36, 253-262) 、腫瘍発症 (Ohta, M. らの文献 (2003) Int. J Oncol. 22, 773-778 ; Li, S. らの文献 (2005) J Exp. Med 202, 617-624) 、神経障害性疼痛 (White, F. A. らの文献 (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.) 、及びAIDS (Park, I. W., Wang, J. F. 及びGroopman, J. E. (2001) Blood 97, 352-358 ; Colli, B. らの文献 (2006) Cytokine 34, 51-55) におけるパラ分泌因子として、役割を担っているかもしれない。

## 【0010】

ヒト、及び齧歯類MCP-1の成熟形態は、グルタミルシクラーゼ (QC) によって、N末端のピログルタミル (pGlu) 残基を有するように翻訳後修飾される。MCP-1の走化性能は、そのN末端によって媒介されるため (Van Damme, J. らの文献 (1999) Chem Immunol 72, 42-56) 、N末端のpGlu修飾は、アミノペプチダーゼによるN末端分解に対するタンパク質耐性を生じ、これは重要なものである。人工的な伸長、又は分解は、機能喪失を引き起こす

30

40

50

20

が、MCP-1は、なおもその受容体（CCR2）に結合する（Proost, P.らの文献（1998）J Immunol 160、4034-4041；Zhang, Y. J.らの文献、1994、J Biol. Chem 269、15918-15924；Masure, S.らの文献、1995 J Interferon Cytokine Res. 15、955-963；Hemmerich, S.らの文献（1999）Biochemistry 38、13013-13025）。

#### 【0011】

多数の疾患状態におけるMCP-1の主要な役割のため、抗MCP-1ストラテジーが必要とされる。従って、MCP-1の作用を阻害する小さな経口的に利用できる化合物は、薬物開発のための有望な候補である。グルタミニルシクラーゼの阻害剤は、MCP-1のN末端におけるpGlu-形成の重要な工程をターゲットする小さな経口的に利用できる化合物である。（Cynis, H.らの文献（2006）Biochim. Biophys. Acta 1764、1618-1625；Buchholz, M.らの文献（2006）J Med Chem 49、664-677）。結果として、QC阻害によって生じた、MCP-1のN末端は、pGlu-残基によって保護されない。その代わりに、N末端は、ジペプチジルペプチダーゼ、例えばジペプチジルペプチダーゼ4、及び線維芽細胞活性化タンパク質（FAP、Seprase）によって切断されやすい、内皮上、及び血液循環中で豊富であるグルタミン-プロリンモチーフを有する。この切断により、N末端が切断されたMCP-1の形成を生じる。これらの分子は、次に、CCR2受容体における拮抗作用を展開し、従って、単球に関連した疾患状態が効率的に阻害される。  
10

#### 【0012】

冠血流を制限し、又は妨げる動脈硬化病変は、虚血性心疾患に関連した死亡率の主要な原因であり、毎年500,000～600,000人の死を生じる。閉塞した動脈を開放するための経皮的冠動脈形成術（PTCA）は、1996年に米国において550,000人以上の患者、及び世界中で945,000+の患者において行われた（Lemaitreら、1996）。この技術の主要な制限は、PTCAの直後（急性閉塞）、及び長期間（再狭窄）の両方の、PTCA後の血管閉鎖の問題であり：30%の部分的病変患者、及び50%の慢性総病変患者は、血管形成術の後に再狭窄に進行するであろう。加えて、再狭窄は、伏在静脈バイパス移植を受けている患者においても重大な問題である。急性閉塞のメカニズムには、いくつかの因子が関与するようであり、新たに開放された血管のダメージを受けた長さに沿って結果として生じる動脈の閉鎖、及び／又は血小板の堆積を伴う血管反跳、続くフィブリン／赤血球血栓の形成により生じ得る。  
20

#### 【0013】

血管形成術後の再狭窄は、よりゆっくりとした過程であり、細胞由来成長因子の粘着性血小板からの放出を伴い、その後の内膜平滑筋細胞の増殖、及び血管過形成に寄与する炎症細胞の局所浸潤を伴う、決定的とまではいかない血栓症の初期の形成に関与する。これらの血栓症、細胞増殖、細胞遊走、及び炎症のうちの複数の過程が、それぞれ再狭窄過程に寄与するようあることに留意することが重要である。  
30

#### 【0014】

米国では、30～50%の再狭窄の割合は、再狭窄によるリスクのある120,000～200,000人の米国患者と解釈される。このような患者の80%のみが、繰り返し血管形成術を選び（残りの20%が、冠状動脈バイパス移植を選ぶ）、これが残りの20%のための冠状動脈バイパス移植の費用に付加される場合、再狭窄治療のための合計費用は、米国において容易に何10億ドルもの金額になる。従って、再狭窄をうまく予防することにより、有意な治療的利益だけでなく、有意な保健医療の節約をもたらすことができる。  
40

#### 【0015】

単球化学誘引物質タンパク質1（MCP-1、CCL2）は、炎症の部位への白血球、特に単球、マクロファージ、及びT細胞の輸送を調節する強力な走化性サイトカイン（CCケモカイン）のファミリーに属する（Charo, I.F. 及びTaubman, M. B. (2004) Circ. Res. 95, 858-866）。その役割の他に、例えば血管疾患において、説得力のある証拠が、アルツハイマー病（AD）におけるMCP-1の役割を示す（Xia, M.Q. 及びHyman, B.T. (1999) J Neuropathol. 5, 32-41）。老人斑における、及び反応性ミクログリアにおけるMCP-1の存在、CNSの常在性マクロファージが、ADに罹患している患者の脳において観察された（Ishizuka, K.らの文献（1997）Psychiatry Clin. Neurosci. 51, 135-138）。アミロイド- タンパ  
50

ク質（A）での単球、及びミクログリアの刺激は、インビトロにおいてケモカイン分泌を誘導し（Meda, L. らの文献（1996）J Immunol 157, 1213-1218；Szczepanik, A.M. らの文献（2001）J Neuroimmunol. 113, 49-62）、マウス海馬へのA<sub>(1-42)</sub>の脳室内注入は、インビオにおいて有意にMCP-1を増加させる。その上、A沈着は、ミクログリア細胞を誘引して、活性化し、これらにMCP-1などの炎症性メディエーターを産生させて、これが次にさらなる走化性、活性化、及び組織損傷を誘導するようにフィードバックを引き起こす。A沈着の部位では、また、活性化されたミクログリアがAペプチドを貪食して、活性化の増幅を引き起こす（Rogers, J. 及びLue, L.F.（2001）Neurochem. Int. 39, 333-340）。

## 【0016】

10

ADのための3xTgマウスモデルにおけるケモカイン発現の試験では、ニューロン炎症がブラーク形成に先行すること、及びMCP-1が11倍にアップレギュレートされることが明らかになった。更にまた、MCP-1のアップレギュレーションは、最初の細胞内A沈着の発生と相関するようである（Janelsins, M.C. らの文献（2005）J Neuroinflammation. 2, 23）。MCP-1を過剰発現するマウスモデルとADのためのTg2575マウスモデルの交雑では、A沈着周辺のミクログリア蓄積の増加を示し、この蓄積は、単一のトランスジェニックTg2576同腹仔と比較して、散在性ブラークの量の増加を伴った（Yamamoto, M. らの文献（2005）Am. J Pathol. 166, 1475-1485）。

## 【0017】

20

MCP-1レベルは、AD患者、及び軽度認知障害（MCI）を示す患者のCSFにおいて増加される（Galimberti, D. らの文献（2006）Arch. Neurol. 63, 538-543）。更にまた、MCP-1は、MCI、及び初期AD患者の血清においてレベルの増加を示す（Clerici, F. らの文献（2006）Neurobiol. Aging 27, 1763-1768）。

## 【発明の概要】

## 【0018】

## （発明の要旨）

本発明は、グルタミニルペプチドシクロトランスクフェラーゼの阻害剤、並びに以下から選択される炎症性疾患からなる群から選択される疾患、若しくは障害の治療、及び／又は予防のためのその使用に関する：

- a. 神経変性疾患、例えば軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウント候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症、
- b. 慢性、及び急性の炎症、例えばリウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、膵炎、
- c. 線維症、例えば肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症、
- d. 癌、例えば癌／血管内皮腫増殖、胃癌腫、
- e. 代謝病、例えば高血圧症、
- f. 及び、他の炎症性疾患、例えば神経障害性疼痛、移植片拒絶／移植片不全／移植片脈管障害、HIV感染症／AIDS、妊娠中毒症、結節硬化症。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0019】

40

【図1】N末端グルタミニル（A）、又はピログルタミル（5-オキソ-L-プロリル）残基（B）を有するMCP-1<sub>(1-76)</sub>の24時間の組換えヒトDP4とのインキュベーションを示す。N末端グルタミンのピログルタミン酸への環化については、MCP-1をアッセイ開始の3時間前に組換えヒトQCと共にインキュベートした。DP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、4時間、及び24時間後に解析した。

【図2】N末端グルタミニル（A）、又はピログルタミル（5-オキソ-L-プロリル）残基を有するMCP-1<sub>(1-76)</sub>の24時間のヒト滑膜線維芽細胞MMP-1とのインキュベーションを示す。N末端グルタミンのピログルタミン酸への環化については、MCP-1をアッセイ開始の3時間前に組換えヒトQCと共にインキュベートした。MMP-1切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

50

【図3】N末端グルタミニル(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基を有するMCP-1<sub>(1-76)</sub>の24時間のヒト滑膜線維芽細胞MMP-1、及び組換えヒトDP4とのインキュベーションを示す。N末端のグルタミンピログルタミン酸への環化については、MCP-1をアッセイ開始の3時間前に組換えヒトQCと共にインキュベートした。生じるMMP-1切断産物は、Mass-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

【図4】ヒト神経芽細胞腫株化細胞SH-SY5YからのヒトMCP-1の単離を示す。(M: bpでのDNA標準；1: SH-SY5Yから単離された全長ヒトMCP-1)。

【図5】SH-SY5Yから単離されたヒトMCP-1(上のレーン)、及びヒトMCP-1 GenBankアクセシションM24545(下のレーン)のヌクレオチド(A)、及びアミノ酸(B)整列を示す。  
一塩基多型は、太字体で示してある。C: ベクターをトランスフェクトした対照(pcDNA)と比較した、トランスフェクトされたHEK293細胞の上清におけるヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>(WT)、及びN末端pGlu残基を欠いた(=Q1)突然変異体ヒトMCP-1の濃度を示す。(n.s.:有意差なし、スチューデントt検定；n=6)。D: 希釀1:1、1:3、1:10、及び1:30でトランスフェクトしたHEK293細胞の產生された上清の方へ向かうTHP-1単球の遊走。(\*, P < 0.05; \*\*, P < 0.01; \*\*\*, P < 0.001; スチューデントt検定, n=3)。

【図6】A: ベクターをトランスフェクトした対照(pcDNA)と比較した、トランスフェクトしたHEK293細胞の上清におけるヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>(WT)、及び2つのN末端アミノ酸を欠いた(Q1P2)突然変異体ヒトMCP-1の濃度を示す。(\*\*, P < 0.01; スチューデントt検定；n=6)。B: 希釀1:1、1:3、1:10、及び1:30でトランスフェクトしたHEK293細胞の產生された上清の方へ向かうTHP-1単球の遊走。(\*, P < 0.05; \*\*, P < 0.01; \*\*\*, P < 0.001; スチューデントt検定, n=3)。

【図7】A: ベクターをトランスフェクトした対照(pcDNA)と比較した、10 μM 塩酸1-(3-(H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の非存在、及び存在におけるトランスフェクトしたHEK293細胞の上清におけるヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>(WT)の濃度を示す。(n.s.: 有意差なし；スチューデントt検定；n=6)。B: 1:1、1:3、1:10、及び1:30の希釀での10 μM 塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の非存在、及び存在におけるトランスフェクトしたHEK293細胞の產生された上清の方へ向かうTHP-1単球の遊走。(\*\*, P < 0.01; スチューデントt検定, n=3)。

【図8】未処置のApoE3 Leidenマウス(黒棒)、及び塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素で処理したマウス(白棒)のカフをつけた(cuffed)血管壁セグメントの血管再造形の定量化を示す。マウスは、カフ配置の14日後に屠殺した。血管周囲(A)すなわち血管セグメントの外径内の総領域、及び残りの内腔(B)を μm<sup>2</sup>で表してある。

【図9】未処置のApoE3 Leidenマウス(黒棒)、又は塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素で処理したマウス(白棒)のカフをつけた血管壁セグメントの血管再造形の定量化を示す。マウスは、カフ配置の14日後に屠殺した。内腔狭窄Aを%で、及び新生内膜Bの領域を μm<sup>2</sup>で表してある。(\*, P < 0.05、スチューデントt検定)。

【図10】未処置のApoE3 Leidenマウス(黒棒)、又は塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素で処理したマウス(白棒)のカフをつけた血管壁セグメントの血管再造形の定量化を示す。マウスは、カフ設置の14日後に屠殺した。中膜Aの領域を μm<sup>2</sup>で、及び内膜/中膜比Bを表してある(\*, P < 0.05、スチューデントt検定)。

【図11】塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素処理の非存在(黒棒)、又は存在(白棒)における断面あたりの接着細胞、及び浸潤細胞を示す。断面あたりの接着細胞の総数は、カフ設置の2日後に収集したカフをつけた大腿動脈の断面において計数した。接着細胞の総集団の中で、単球/マクロファージの特異的染色を使用して接着単球、及び浸潤単球を同定した。(\*, P < 0.05、スチュード

デントt検定)。

【図12】未処置のマウス(対照)、及び塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素で処理したマウスにおける初期の時点(2日)、及び後期の時点(14日)における病変の免疫組織化学によるMCP-1染色の例を示す。

【図13】塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素処理の非存在(黒棒)、及び存在(白棒)における中膜、及び新生内膜内の、2日(初期の時点)A、又は14日(後期時点)B後に屠殺したマウスの断面におけるMCP-1染色の定量化を示す。(\*, P<0.05; スチューデントt検定)。

【図14】塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素処理の非存在(黒棒)、及び存在(白棒)における中膜、及び新生内膜内の、2日(初期時点)(A)、又は14日(後期時点)(B)後に屠殺したマウスの断面におけるMCP-1染色の相対量を示す(%).(\*, P<0.05; スチューデントt検定)。

【図15】マーカーAIA31240を使用して染色する単球/マクロファージの定量化に基づいた、血管壁におけるアテローム性動脈硬化症の促進の定量化を示す。塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の非存在(黒棒)、及び存在(白棒)において処理した後期時点(14日)にて屠殺したマウスの断面を示してある。泡沢細胞蓄積は、(A)%で泡沢細胞陽性領域/断面、及び(B)μm<sup>2</sup>で泡沢細胞陽性領域/断面として図示してある。

【図16】24時間の組換えヒトアミノペプチダーゼPによるN末端グルタミニル(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基(B)を有するヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>の切断を図示する。N末端におけるピログルタミン酸形成は、アッセイの3時間前に組換えヒトQCと共にMCP-1をインキュベーションすることによって達成した。DP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

【図17】4時間の組換えヒトDP4によるN末端グルタミニル(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基(B)を有するヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>の切断を図示する。N末端におけるピログルタミン酸形成は、アッセイの3時間前に組換えヒトQCと共にMCP-1をインキュベーションすることによって達成した。加えて、組換えヒトQCとのGln<sup>1</sup>-MCP-1のインキュベーションは、10 μM QC-特異的阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の存在において実施した。DP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、及び4時間後に解析した。

【図18】それぞれ7、及び24時間のヒト血清におけるN末端グルタミニル残基(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基(B)を有するヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>の分解を示す。N末端グルタミン残基のピログルタミン酸への環化については、MCP-1をアッセイ開始の3時間前に組換えヒトQCと共にインキュベートした。加えて、Gln<sup>1</sup>-MCP-1を9.6 μM DP4阻害剤であるイソロイシル-チアゾリジド(P32/98)の存在において24時間の間ヒト血清中でインキュベートした(C)。切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して、Gln<sup>1</sup>-MCP-1については、0分、10分、30分、1時間、2時間、3時間、5時間、及び7時間後に、pGlu 1-MCP-1については、0分、30分、1時間、2時間、3時間、5時間、7時間、及び24時間後に、並びにイソロイシル-チアゾリジドと組み合わせたGln<sup>1</sup>-MCP-1については、0分、1時間、2時間、3時間、5時間、7時間、及び24時間後に解析した。

【図19】24時間の組換えヒトDP4によるN末端グルタミニル(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基(B)を有するヒトMCP-2<sub>(1-76)</sub>の分解を示す。N末端グルタミンのピログルタミン酸への環化については、MCP-2をアッセイ開始の3時間前に組換えヒトQCでインキュベートした。DP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して、0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

【図20】24時間の組換えヒトDP4によるN末端グルタミニル(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基(B)を有するヒトMCP-3<sub>(1-76)</sub>の分解を示す。N末端グルタミンのピログルタミン酸への環化については、MCP-3をアッセイ開始の3時間前に組換え

10

20

30

40

50

ヒトQCでインキュベートした。DP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して、0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

【図21】4時間の組換えヒトDP4によるN末端グルタミル(A)、又はピログルタミル(5-オキソ-L-プロリル)残基(B)を有するヒトMCP-4<sub>(1-75)</sub>の切断を図示する。N末端グルタミンのピログルタミン酸への環化については、MCP-4をアッセイ開始の3時間前に組換えヒトQCでインキュベートした。DP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して、0分、15分、30分、1時間、2時間、及び4時間後に解析した。

【図22】N末端グルタミン(Gln<sup>1</sup>-MCP-1)、ピログルタミン酸(pGlu<sup>1</sup>-MCP-1)(5-オキソ-L-プロリン)で始まる、プロリン2(Pro<sup>2</sup>-MCP-1、アミノペプチダーゼP切断産物)で始まる、アスパラギン酸3(Asp<sup>3</sup>-MCP-1、DP4切断産物)で始まる、及びイソロイシン5(Ile<sup>5</sup>-MCP-1、MMP-1切断産物)で始まる、ヒトN末端MCP-1変異体のヒトTHP-1単球に対する走化性能力を示す。  
10

【図23】QCを媒介したpGlu形成の存在(Gln<sup>1</sup>-MCP-1 + QC + DP4)、及び非存在(Gln<sup>1</sup>-MCP-1 + DP4)においてヒト組換えDP4と共にインキュベートしたヒトMCP-1の走化性能力の解析を示す。加えて、QC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素(QCI)(10 μM)のN末端pGlu-残基の形成、続くその後のDP4切断(Gln<sup>1</sup>-MCP-1 + QC + QCI + DP4)に対する影響を示してある。

【図24】N末端ピログルタミル残基の非存在、又は存在におけるヒトMCP-1(A)、MCP-2(B)、MCP-3(C)、及びMCP-4(D)の走化性能力を示す。

【図25】N末端グルタミンで始まる全長ヒトMCP-1(A)、MCP-3(B)、MCP-2(C)、及びMCP-4(D)の走化性能力を、これらのそれぞれのDP4切断産物と比較して示す。  
20

【図26】ラットにおいてLPSで誘導した敗血症モデルにおける、QC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の適用後のTNF レベルの有意な減少を示す(ANOVA、P < 0.05)。

【図27】QC阻害剤によって生じる、マウスにおいてチオグリコラートで誘導される腹膜炎のモデルにおける腹膜への単球の浸潤の用量依存的な減少を示す。チオグリコラート、及びQCI(塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素)を25mg/kg、50mg/kg、及び100mg/kgの3つの異なる濃度で注射した。腹膜浸潤細胞は、腹膜炎を誘導した4時間後にFACS解析を使用して分類した。( \*、P < 0.05、スチューデントt検定)。  
30

【図28】QC-特異的阻害剤であるQCI(1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素)と組み合わせてチオグリコラート曝露を受けたマウスの腹膜洗浄液におけるMoma2-陽性細胞の減少を、QCIを受けていない動物と比較して示す(\*、P < 0.05、スチューデントt検定)。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0020】

(発明の詳細な説明)

特に、本発明は、以下の項目に属する：

1. 以下から選択される炎症性疾患、若しくは状態の治療、及び／又は予防のためのQC阻害剤：  
40

- a. 軽度認知障害(MCI)、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、家族性認知症、家族性デンマーク認知症、及び多発性硬化症を含む神経変性疾患、
- b. リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び肺炎を含む、慢性並びに急性の炎症、
- c. 肺線維症、肝臓線維症、及び腎臓線維症を含む線維症
- d. 癌／血管内皮腫増殖、及び胃癌腫を含む癌、
- e. 高血圧症を含む代謝病、
- f. 並びに、神経障害性の疼痛、移植片拒絶／移植片不全／移植片脈管障害、HIV感染症／AIDS、妊娠中毒症、結節硬化症を含むその他の炎症性疾患。

##### 【0021】

10

20

30

40

50

2. 神経変性疾患が軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウント候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症から選択される、項目1記載のQC阻害剤。

【0022】

3. 疾患が軽度認知障害である、項目1、又は2記載のQC阻害剤。

【0023】

4. QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目1～3のいずれか記載のQC阻害剤。 10

【0024】

5. 疾患が、リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び肺炎から選択される慢性、又は急性の炎症である、項目1記載のQC。

【0025】

6. 疾患が再狭窄、及び肺炎から選択される、項目1、又は5記載のQC阻害剤。

【0026】

7. QC阻害剤が、アンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬（CCB）；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質（HDL）を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目1、5、又は6記載のQC阻害剤。 20

【0027】

8. 以下から選択される炎症性疾患、若しくは状態を治療し、及び／又は予防するためのQC阻害剤の使用：

a. 軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウント候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症を含む神経変性疾患、

b. リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、肺炎を含む、慢性並びに急性の炎症、 30

c. 肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症を含む線維症

d. 癌／血管内皮腫増殖、胃癌腫を含む癌、

e. 高血圧症を含む代謝病、

f. 並びに、神経障害性の疼痛、移植片拒絶／移植片不全／移植片脈管障害、HIV感染症／AIDS、妊娠中毒症、結節硬化症を含むその他の炎症性疾患。

【0028】

9. 疾患が、軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウント候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症から選択される神経変性疾患である、項目8記載の使用。 40

【0029】

10. 疾患が軽度認知障害（MCI）である、項目8、又は9記載の使用。

【0030】

11. QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目8～10のいずれか記載の使用。

【0031】

12. 疾患がリウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び肺炎から選択される慢性、又は急性の炎症である、項目8記載の使用。 50

## 【0032】

13. 疾患が再狭窄、及び膵炎から選択される、項目8、又は12記載の使用。

## 【0033】

14. QC阻害剤がアンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬（CCB）；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質（HDL）を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目8、12、又は13記載の使用。10

## 【0034】

15. 以下から選択される炎症性疾患、若しくは状態を治療し、及び／又は予防するための医薬の製造のためのQC阻害剤の使用：

a. 軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、及び多発性硬化症を含む神経変性疾患、20

b. リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、膵炎を含む、慢性並びに急性の炎症、20

c. 肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症を含む線維症

d. 癌／血管内皮腫増殖、胃癌腫を含む癌、20

e. 高血圧症を含む代謝病、20

f. 並びに、神経障害性の疼痛、移植片拒絶／移植片不全／移植片脈管障害、HIV感染症／AIDS、妊娠中毒症、結節硬化症を含むその他の炎症性疾患。

## 【0035】

16. 疾患が軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症から選択される神経変性疾患である、項目15記載の使用。

## 【0036】

17. 疾患が軽度認知障害（MCI）である、項目15、又は16記載の使用。

## 【0037】

18. QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目15～17のいずれか記載の使用。30

## 【0038】

19. 疾患が、リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び膵炎から選択される慢性、又は急性の炎症である、項目15記載の使用。

## 【0039】

20. 疾患が再狭窄、及び膵炎から選択される、項目15、又は19記載の使用。

## 【0040】

21. QC阻害剤が、アンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬（CCB）；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質（HDL）を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目15、19、又は20のいずれか記載の使用。40

## 【0041】

22. a. 軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、50

家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、及び多発性硬化症を含む神経変性疾患、

b. リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、膵炎を含む、慢性並びに急性の炎症、

c. 肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症を含む線維症

d. 癌 / 血管内皮腫増殖、胃癌腫を含む癌、

e. 高血圧症を含む代謝病、

f. 並びに、神経障害性の疼痛、移植片拒絶 / 移植片不全 / 移植片脈管障害、HIV感染症 / AIDS、妊娠中毒症、結節硬化症を含むその他の炎症性疾患

から選択される炎症性疾患、若しくは状態の治療、及び / 又は予防の方法であって、QC阻害剤の有効量がその必要のある対象に投与される、前記方法。

10

#### 【 0 0 4 2 】

23. 疾患が軽度認知障害 (MCI) 、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症から選択される神経変性疾患である、項目22記載の治療、及び / 又は予防の方法。

#### 【 0 0 4 3 】

24. 疾患が軽度認知障害 (MCI) である、項目23、又は24記載の治療、及び / 又は予防の方法。

#### 【 0 0 4 4 】

25. QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目23～25のいずれか記載の治療、及び / 又は予防の方法。

20

#### 【 0 0 4 5 】

26. 疾患が、リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び膵炎から選択される慢性、若しくは急性の炎症である項目23記載の治療、及び / 又は予防の方法。

#### 【 0 0 4 6 】

27. 疾患が再狭窄、及び膵炎から選択される、項目23、若しくは26記載の治療、及び / 又は予防の方法。

#### 【 0 0 4 7 】

28. QC阻害剤が、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬 (CCB) ；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質 (HDL) を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目23、26、若しくは27記載の治療、及び / 又は予防の方法。

30

#### 【 0 0 4 8 】

29. 疾患、及び / 又は状態がヒトを苦しめる、項目7～21のいずれか記載の使用。

#### 【 0 0 4 9 】

30. 疾患、及び / 又は状態がヒトを苦しめる、項目22～28のいずれかの方法。

40

#### 【 0 0 5 0 】

31. 前記QC阻害剤が式1、1\*、1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、及び1iから選択される阻害剤である、前述の項目のいずれか1つに記載の使用、又は方法。

#### 【 0 0 5 1 】

32. 前記QC阻害剤が実施例1～141から選択される阻害剤である、項目1～31のいずれか1つに記載の使用、又は方法。

#### 【 0 0 5 2 】

33. 前記QC阻害剤が塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシ-フェニル)チオ尿素である、項目1～32のいずれか1つに記載の使用、又は方法。

50

## 【0053】

34. QC阻害剤を含む診断アッセイ。

## 【0054】

35. 前記QC阻害剤が式1、1\*、1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、及び1iから選択される阻害剤である、項目34記載の診断アッセイ法。

## 【0055】

36. 前記QC阻害剤が例1～141から選択される阻害剤である、項目34、又は35記載の診断アッセイ法。

## 【0056】

37. 前記QC阻害剤が塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシ-フェニル)チオ尿素である、項目34～36のいずれか記載の診断アッセイ法。 10

## 【0057】

38. 項目1において定めた疾患、及び／又は状態のいずれか1つを診断する方法であって；

- 前記疾患、及び／又は状態で苦しめられていることが疑われる対象から試料を収集する工程、

- 前記試料をQC阻害剤と接触させる工程、及び

- 前記対象が前記疾患、及び／又は状態によって苦しめられているか否かを決定する工程、

を含む、前記方法。 20

## 【0058】

39. 前記対象がヒトである、項目38記載の方法。

## 【0059】

40. 前記QC阻害剤が式1、1\*、1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、及び1iから選択される阻害剤である、項目38、又は39記載の方法。

## 【0060】

41. 前記QC阻害剤が実施例1～141から選択される阻害剤である、項目38～40のいずれか記載の方法。

## 【0061】

42. 前記QC阻害剤が塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシ-フェニル)チオ尿素である、項目38～41のいずれか記載の方法。 30

## 【0062】

43. 前記試料が血液試料、血清試料、脳脊髄の溶液の試料、又は尿試料である、項目38～42のいずれか記載の方法。

## 【0063】

44. 検出手段として項目34、又は37のいずれか記載の診断アッセイ、及び決定手段を含む、項目38～42の方法を実施するための診断キット。

## 【0064】

45. 項目1～7、又は31～33のいずれか記載のQC阻害剤を含む医薬組成物。

## 【0065】

特に好ましい実施態様において、本発明は、リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び膵炎、特に再狭窄、及び膵炎、最も好ましくは再狭窄から選択される慢性、又は急性の炎症を治療する方法におけるQC阻害剤の使用に関する。 40

## 【0066】

リウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び膵炎から選択される慢性、又は急性の炎症を治療するためのQC阻害剤の効果は、本発明の実施例3、7、及び8において記述したインビボアッセイを使用して試験することができる。

## 【0067】

本発明に従って、更に好ましくは、軽度認知障害（MCI）を治療する方法におけるQC阻害剤の使用である。 50

## 【0068】

従って、本発明は、より好ましくは、以下の項目に属する：

1. 軽度認知障害（MCI）、再狭窄、及び脳炎から選択される炎症性疾患、若しくは状態の治療、及び／又は予防のためのQC阻害剤。

## 【0069】

2. 軽度認知障害（MCI）、再狭窄、及び脳炎から選択される炎症性疾患、若しくは状態の治療、及び／又は予防のためのQC阻害剤の使用。

## 【0070】

3. 軽度認知障害（MCI）、再狭窄、及び脳炎から選択される炎症性疾患、若しくは状態を治療し、及び／又は予防するための医薬の製造のためのQC阻害剤の使用。 10

## 【0071】

4. 疾患が軽度認知障害（MCI）である、項目1～3のいずれか記載のQC阻害剤、又は使用。

## 【0072】

5. QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目1～4のいずれか記載のQC阻害剤、又は使用。

## 【0073】

6. 疾患が再狭窄、及び脳炎から選択される、項目1～3のいずれか記載のQC阻害剤、又は使用。 20

## 【0074】

7. 疾患が再狭窄である、項目1～3、若しくは6のいずれか記載のQC阻害剤、又は使用。

## 【0075】

8. QC阻害剤が、アンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬（CCB）；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質（HDL）を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目1～3、6、若しくは7のいずれか記載のQC阻害剤、又は使用。 30

## 【0076】

9. 軽度認知障害（MCI）、再狭窄、及び脳炎から選択される炎症性疾患、若しくは状態の治療、及び／又は予防の方法であって、QC阻害剤の有効量がその必要のある対象に投与される、前記方法。

## 【0077】

10. 疾患が軽度認知障害（MCI）である、項目9記載の治療、及び／又は予防の方法。

## 【0078】

11. QC阻害剤が、向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目9、若しくは10記載の治療、及び／又は予防の方法。 40

## 【0079】

12. 疾患がリウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、及び脳炎から選択される慢性、又は急性の炎症である、項目9記載の治療、及び／又は予防の方法。

## 【0080】

13. 疾患が再狭窄、及び脳炎から選択される、項目9、若しくは12記載の治療、及び／又は予防の方法。

## 【0081】

14. 疾患が再狭窄である、項目9、12、若しくは13のいずれか記載の治療、及び／又は予防の方法。

【0082】

15. QC阻害剤が、アンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャンネル遮断薬（CCB）；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質（HDL）を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤からなる群から選択されるさらなる薬剤と組み合わせて投与される、項目9、若しくは12～14のいずれか記載の治療、及び／又は予防の方法。 10

【0083】

16. 疾患、及び／又は状態がヒトを苦しめる、項目2～8のいずれか記載の使用。

【0084】

17. 疾患、及び／又は状態がヒトを苦しめる、項目9～15のいずれかの方法。

【0085】

18. 前記QC阻害剤が式1、1\*、1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、及び1iから選択される阻害剤である、項目1～17のいずれか1つに記載のQC阻害剤、使用、又は方法。 20

【0086】

19. 前記QC阻害剤が実施例1～141から選択される阻害剤である、項目1～18のいずれか1つに記載のQC阻害剤、使用、又は方法。 20

【0087】

20. 前記QC阻害剤が塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシ-フェニル)チオ尿素である、項目1～19のいずれか1つに記載のQC阻害剤、使用、又は方法。 30

【0088】

21. QC阻害剤を含む診断アッセイ。

【0089】

22. 前記QC阻害剤が式1、1\*、1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、及び1iから選択される阻害剤である、項目21記載の診断アッセイ。 30

【0090】

23. 前記QC阻害剤が実施例1～141から選択される阻害剤である、項目21、又は22記載の診断アッセイ。 30

【0091】

24. 前記QC阻害剤が塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシ-フェニル)チオ尿素である、項目21～23のいずれか記載の診断アッセイ。 40

【0092】

25. 項目1において定めた疾患、及び／又は状態のいずれか1つを診断する方法であって；

-前記疾患、及び／又は状態で苦しめられていることが疑われる対象から試料を収集する工程、

-前記試料をグルタミルペプチドシクロトランスフェラーゼの阻害剤と接触する工程、及び

-前記対象が前記疾患、及び／又は状態によって苦しめられているか否かを決定する工程、

を含む、前記方法。

【0093】

26. 前記対象がヒトである、項目26記載の方法。

【0094】

27. 前記QC阻害剤が式1、1\*、1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、及び1iから選択され 50

る阻害剤である、項目26、又は27記載の方法。

【0095】

28. 前記QC阻害剤が実施例1～141から選択される阻害剤である、項目25～27のいずれか記載の方法。

【0096】

29. 前記QC阻害剤が塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシ-フェニル)チオ尿素である、項目25～28のいずれか記載の方法。

【0097】

30. 前記試料が血液試料、血清試料、脳脊髄の溶液の試料、又は尿試料である、項目25～29のいずれかの方法。

10

【0098】

31. 検出手段として項目21～24のいずれか記載の診断アッセイ、及び決定手段を含む、項目25～30の方法を実施するための診断キット。

【0099】

32. 項目1、4～6、又は18～20のいずれか記載のQC阻害剤を含む医薬組成物。

【0100】

(定義)

(酵素阻害剤、特にQCの阻害剤)

(可逆的酵素阻害剤)：競合阻害剤、非競合的可逆的阻害剤、緩慢(slow)結合、又は緊密(tight)結合阻害剤、遷移状態類似体、及び多基質類似体を含む。

20

【0101】

競合阻害剤は、

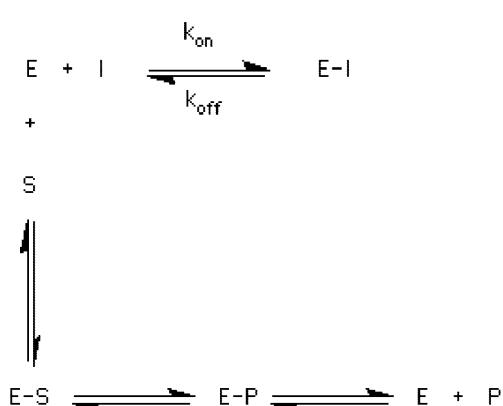
- i ) 酵素との非共有結合性の相互作用、
- ii ) 酵素活性部位に対する基質との競合、

を示す。

【0102】

可逆的酵素阻害剤の主要な作用機序、及び解離定数の定義は、以下の通りに視覚化することができる：

【化5】



30

$$K_D = K_i = \frac{k_{off}}{k_{on}}$$

【0103】

酵素阻害剤 [ $E-I$ ] 複合体の形成により、基質の結合を妨げ、従って、反応は、正常な生理学的産物 ( $P$ ) へ進むことができない。阻害剤濃度 [ $I$ ] が高いほど、より高い [ $E-I$ ] を生じて、基質が結合することができる遊離酵素が少ししか残らなくなる。

【0104】

50

### 非競合的可逆的阻害剤

- i ) 活性部位以外の部位（アロステリックな結合部位）に結合する
- ii ) 触媒活性を減少し、又は止める酵素の高次構造上の変化を生じさせる。

### 【0105】

#### 緩慢結合、又は緊密結合阻害剤

- i ) 阻害剤と酵素との間の平衡がゆっくりと達成される競合阻害剤である、
- ii ) ( $k_{on}$ が、緩徐である) おそらく、酵素、又は阻害剤において生じなければならぬ高次構造上の変化に起因する
- a ) たいてい遷移状態類似体である
- b ) 酵素濃度と同様の濃度にて有効である (nM以下のKD値)
- c )  $k_{off}$ 値が非常に低いため、この種の阻害剤は、「ほぼ」不可逆的である。

### 【0106】

#### 遷移状態類似体

酵素で触媒される反応の遷移状態を模倣する競合阻害剤である。従って、酵素触媒作用は、遷移状態のエネルギーの低下によって生じ、従って、基質結合よりも遷移状態結合が選択される。

### 【0107】

#### 多基質類似体

2つ以上の基質を含む反応については、2つ以上の基質に似ている構造的特徴を含む競合阻害剤、又は遷移状態類似体をデザインすることができる。

### 【0108】

(不可逆的酵素阻害剤)：結合していない酵素、及び阻害剤と酵素阻害剤複合体との間の平衡 ( $E + I \rightleftharpoons EI$ ) を完全に共有結合で  $E - I$  側にドライプし (~100 kcal/モル)、不可逆的阻害を生じる。

### 【0109】

#### 親和標識薬剤

・活性部位定方向 (directed) 不可逆阻害剤（競合的不可逆阻害剤）は、酵素（可逆的な、特異的結合）によって、続いて共有結合形成によって認識され、かつ、

i ) 基質、遷移状態、又は産物に構造的に類似し、薬物と標的酵素との間で特異的に相互作用することができる

ii ) 反応性官能基（例えば、求核試薬、-COCH<sub>2</sub>Br）を含み、共有結合を形成することができる。

### 【0110】

下記の反応スキームは、その標的酵素との活性部位定方向試薬を記述し、式中、 $K_D$ は、解離定数であり、かつ $k_{inactivation}$ は、共有結合形成の速度である。

### 【化6】



### 【0111】

メカニズムに基づいた酵素不活性化剤（自殺阻害剤とも呼ばれる）は、これらが酵素の触媒の能力によって反応性の形態（活性化される）に形質転換される酵素活性部位に結合する活性部位定方向試薬（非反応性）である。一旦活性化されたら、阻害剤と酵素との間に共有結合が形成される。

### 【0112】

下記の反応スキームは、メカニズムに基づいた酵素不活性化剤の作用機序を示し、式中  $K_D$  は、解離複合体であり、 $k_2$  は、一旦酵素に結合した阻害剤の活性化の速度であり、 $k_3$  は、活性化された阻害剤 P の酵素からの（産物は、なおも反応性であり得る）解離の速度であり、かつ  $k_4$  は、活性化された阻害剤と酵素との間の共有結合形成の速度である。

10

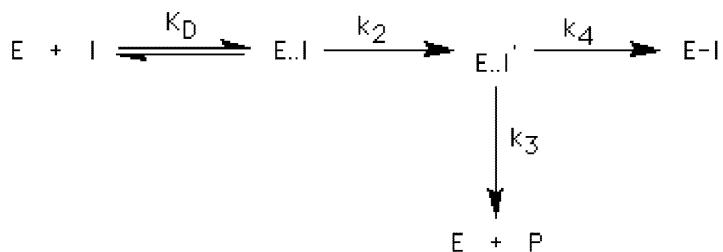
20

30

40

50

【化7】



【0113】

10

不活性化（共有結合形成、 $k_4$ ）は、解離（ $k_3$ ）の前に生じなければならず、さもなければ、ここで、反応性の阻害剤は、環境に放出される。分配比、 $k_3/k_4$ ：不活性化に対する放出された産物の比は、系の効率的な不活性化、及び最小の望ましくない副反応のために最小化されるべきである。

【0114】

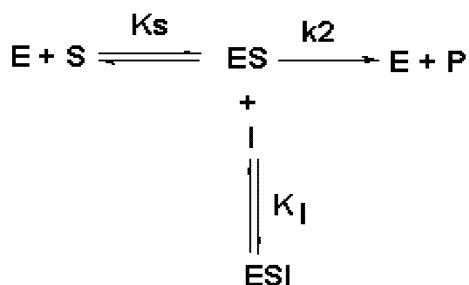
大きな分配比では（解離を選択する）、非特異的反応を引き起こす。

【0115】

（不競合的酵素阻害剤）：不競合的阻害剤（ES複合体に対してのみ結合する阻害剤）の定義として、以下の平衡方程式を想定することができる：

【化8】

20



30

【0116】

ES複合体は、 $K_s$ と同じ解離定数で基質を分離するが、ESI複合体は、それを分離しない（すなわち、ゼロに等しい $K_s$ 値を有する）。ミカエリス-メンテン型酵素の $K_m$ は、低下されることが予想される。基質濃度を増加するとESI濃度の増加を引き起こし（反応産物へと進行することができない複合体）、従って、阻害は、除去することができない。

【0117】

競合的酵素阻害剤が、本発明では好ましい。

【0118】

競合的可逆的酵素阻害剤は、最も好ましい。

【0119】

40

「 $K_i$ 」、又は「 $K_i$ 」、及び「 $K_D$ 」という用語は、酵素に対する阻害剤の結合、及びその後の遊離を記述する結合定数である。別の尺度は、「 $IC_{50}$ 」値であり、これは、阻害剤濃度を反映し、かつ所与の基質濃度にて、50%の酵素活性を生じる。

【0120】

（QC）

本明細書に使用される「QC」という用語は、グルタミニルシクラーゼ（QC）、及びQC様酵素を含む。QC、及びQC様酵素は、同一、又は同様の酵素活性を有し、QC活性として更に定義される。この点に関しては、QC様酵素は、それらの分子構造において基本的にQCとは異なり得る。

【0121】

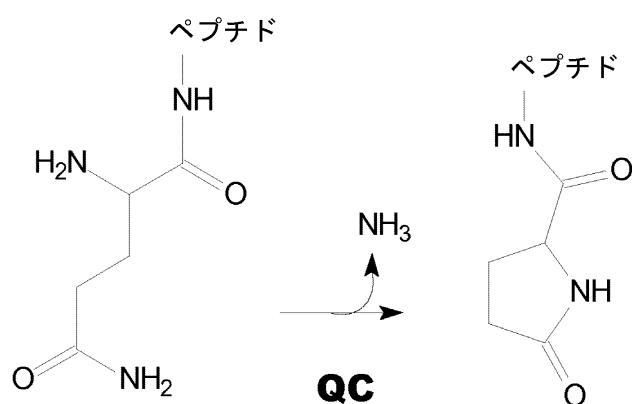
50

本明細書に使用される「QC活性」という用語は、アンモニアの遊離下で、N末端グルタミル残基のピログルタミン酸(pGlu<sup>\*</sup>)への、又はN末端L-ホモグルタミル、若しくはL-ホモグルタミルの環状ピロ-ホモグルタミン誘導体への分子内環化として定義される。この点に関しては、スキーム1、及び2を参照されたい。

【0122】

【化9】

スキーム1：QCによるグルタミンの環化



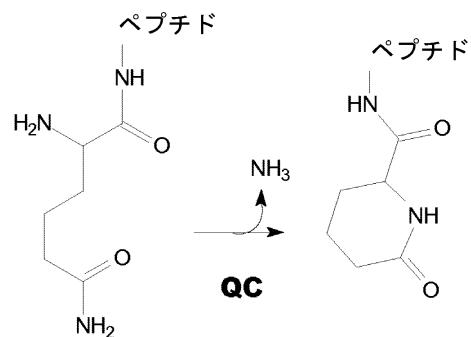
10

20

【0123】

【化10】

スキーム2：QCによるL-ホモグルタミンの環化



30

本明細書に使用される「EC」という用語は、EC活性として更に定義される、グルタミン酸シクラーゼ(EC)としてのQC、及びQC様酵素の副活性を含む。

【0124】

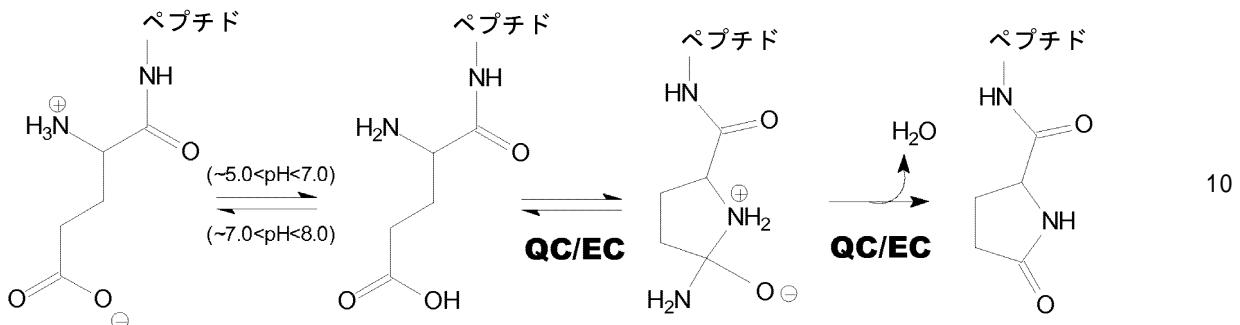
40

本明細書に使用される「EC活性」という用語は、QCによるピログルタミン酸(pGlu<sup>\*</sup>)へのN末端グルタミル残基の分子内環化として定義される。この点に関してはスキーム3を参照されたい。

【0125】

## 【化11】

スキーム3：QC (EC) による無電荷グルタミルペプチドのN末端環化



## 【0126】

「QC阻害剤」、「グルタミニルシクラーゼ阻害剤」という用語は、一般に当業者に公知であり、グルタミニルシクラーゼ (QC)、又はそのグルタミルシクラーゼ (EC) 活性の触媒活性を阻害する、一般に上記で定義されるとおりの酵素阻害剤を意味する。

## 【0127】

(QC阻害の能力)

QC阻害との相関を考慮すると、好ましい実施態様において、本方法、及び医療用途では、 $10 \mu\text{M}$ 以下の、より好ましくは $1 \mu\text{M}$ 以下の、更により好ましくは $0.1 \mu\text{M}$ 以下、若しくは $0.01 \mu\text{M}$ 以下の、又は最も好ましくは $0.001 \mu\text{M}$ 以下のQC阻害に対する $K_i$ 、をもつ薬剤を利用する。実際に、マイクロモル、好ましくはナノモル、及び更により好ましくはピコモルの範囲以下の $K_i$ 値をもつ阻害剤が、想定される。従って、便宜のために、「QC阻害剤」として活性薬剤が本明細書に記述されているが、このような命名法は、いかなる形であれ本発明の主題を限定することは意図されないことが理解されるであろう。

## 【0128】

(QC阻害剤の分子量)

一般に、本方法、又は医療用途のQC阻害剤は、例えば $1000\text{g}/\text{モル}$ 以下、 $500\text{g}/\text{モル}$ 以下、好ましくは $400\text{g}/\text{モル}$ 以下、及び更により好ましくは $350\text{g}/\text{モル}$ 以下、及び更に $300\text{g}/\text{モル}$ 以下の分子量をもつ小分子であるだろう。

## 【0129】

本明細書に使用される「対象」という用語は、治療、観察、若しくは実験の目的とされ、及び／又は項目において定めた疾患、及び／又は状態で苦しめられることが疑われる、動物、好ましくは哺乳類、最も好ましくはヒトをいう。

## 【0130】

本明細書に使用される「治療上有効量」という用語は、治療される疾患、又は障害の症候の軽減を含む、研究者、獣医師、医学博士、若しくはその他の臨床家が求める組織系、動物、又はヒトにおいて生物学的、若しくは医学的反応を誘発する活性化合物、又は医薬品の量を意味する。

## 【0131】

本明細書に使用される「医薬として許容し得る」という用語は、ヒト、及び獣医的使用を包含し：例えば、「医薬として許容し得る」という用語には、獣医学的に許容し得る化合物、又はヒト医薬、及び保健医療において許容し得る化合物を包含する。

## 【0132】

医薬として許容し得る塩：

遊離化合物とこれらの塩、又は溶媒和物の形態の化合物との間の緊密な関係からみて、化合物、又は阻害剤が、それぞれ、この状況において言及されるときはいつでも、対応する塩、又は溶媒和物も意図されるが、ただし、このようなものが本状況下で可能であり、

10

20

30

40

50

又は適切であることを条件とする。

**【0133】**

本発明の阻害剤の塩、及び溶媒和物、並びに医薬に使用するために適したその生理的に機能的な誘導体は、対イオン、又は付随する溶媒が医薬として許容し得るものである。しかし、医薬として許容されない対イオン、又は付隨する溶媒を有する塩、及び溶媒和物も、例えはその他の化合物、並びにそれらの医薬として許容し得る塩、及び溶媒和物の製造における中間体として使用するために、本発明の範囲内である。

**【0134】**

本発明に従った適切な塩には、有機、及び無機の酸、又は塩基の両方と形成されたものを含む。医薬として許容し得る酸付加塩には、以下から形成されたものを含む：塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、クエン酸、酒石酸、リン酸、乳酸、ピルビン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフェニル酢酸、スルファミン酸 (sulphamic)、スルファン酸 (sulphanilic)、コハク酸、シュウ酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、オキサロ酢酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、アリールスルホン酸（例えは、p-トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、又はナフタレンジスルホン酸）、サリチル酸、グルタル酸、グルコン酸、トリカルバリリック酸 (tricarballylic)、ケイ皮酸、置換されたケイ皮酸（例えは、4-メチル、及び4-メトキシケイ皮酸を含むフェニル、メチル、メトキシ、又はハロ置換されたケイ皮酸）、アスコルビン酸、オレイン酸、ナフト工酸、ヒドロキシナフト工酸（例えは1-、又は3-ヒドロキシ-2-ナフト工酸）、ナフタレンアクリル酸（例えは、ナフタレン-2-アクリル酸）、安息香酸、4-メトキシ安息香酸、2-、又は4-ヒドロキシ安息香酸、4-クロロ安息香酸、4-フェニル安息香酸、ベンゼンアクリル酸（例えは1,4-ベンゼンジアクリル酸）、イセチオン酸、過塩素酸、プロピオン酸、グリコール酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、パモ酸、シクロヘキサンスルファミン酸、サリチル酸、サッカリン酸、及びトリフルオロ酢酸。医薬として許容し得る塩基塩は、アンモニウム塩、ナトリウム、及びカリウムのものなどのアルカリ金属塩、カルシウム、及びマグネシウムのものなどのアルカリ土類金属塩、並びにジシクロヘキシリアミン、及びN-メチル-D-グルタミンなどの有機塩基との塩を含む。

**【0135】**

本発明の阻害剤の全ての医薬として許容し得る酸付加塩形態は、本発明の範囲によって包含されることが意図される。

溶媒和物の例には、水和物を含む。

**【0136】**

多形結晶形：

更にまた、阻害剤の結晶形のいくつかは、多形として存在してもよく、従って本発明に含まれることが意図される。加えて、化合物のいくつかは、水（すなわち、水和物）、又は共通の有機溶媒との溶媒和物を形成するであろうし、このような溶媒和物も、また本発明の範囲内に包含されることが意図される。阻害剤には、それらの塩を含み、それらの水和物の形態でまた得ることができる、又はこれらの結晶化のために使用されるその他の溶媒を含む。

**【0137】**

プロドラッグ：

本発明は、その範囲内に本発明の阻害剤のプロドラッグを更に含む。一般に、このようなプロドラッグは、インビボで所望の治療的に活性な阻害剤に容易に変換できる阻害剤の機能的誘導体であるだろう。従って、これらの場合、本発明の治療の方法において、「投与すること」という用語には、項目に挙げた阻害剤の1つ、又は複数のプロドラッグバージョンで記述したが、しかし、対象に投与後にインビボで上記の特定された阻害剤に変換する種々の障害の治療を包含するであろう。例えは、適切なプロドラッグ誘導体の選択、及び製造のための従来の手順は、例えは「プロドラッグのデザイン」 ("Design of Prodrugs")，編 H. Bundgaard, Elsevier, 1985、及び特許出願DE 198 28 113, DE 198 28 1150

4、WO99/67228、及びWO99/67279に記述されており、これらは、参照により完全に本明細書に組み込まれる。

**【0138】**

**保護基：**

本発明の阻害剤の製造のための方法のいずれの間にも、関係する分子のいずれかに対し感受性の基、若しくは反応性の基を保護することが必要であり、及び／又は望ましいかもしだれない。これは、有機化学における保護基（Protective Groups in Organic Chemistry）、編J.F.W. McOmie、Plenum Press、1973；及びT.W. Greene、及びP.G.M. Wuts、有機合成における保護基（Protective Groups in Organic Synthesis）、John Wiley & Sons、1991において記述したものなどの、従来の保護基によって達成してもよく、参考により完全に本明細書に組み込まれる。保護基は、当該技術分野において公知の方法を使用して都合の良いその後の段階で除去してもよい。10

**【0139】**

本明細書に使用される「組成物」という用語は、治療上有効量の、項目に挙げた化合物を含む産物、並びに直接、又は間接的に項目に挙げた化合物の組み合わせから生じる任意の産物を包含することが意図される。

**【0140】**

**本草薬製剤のための担体、及び添加物：**

例えば懸濁液、エリキシル、及び溶液などの液体経口製剤については、適切な担体、及び添加物には、水、グリコール、油、アルコール、調味料薬剤、防腐剤、着色剤等を都合よく含んでいてもよく；例えば粉末、カプセル、ジェルキャップ、及び錠剤などの固体経口製剤については、適切な担体、及び添加物には、デンプン、糖、希釈剤、造粒剤、潤滑剤、結合剤、崩壊剤等を含む。20

**【0141】**

混合物に添加することができる担体には、適切な結合剤、懸濁剤、潤滑剤、フレーバー剤、甘味料、防腐剤、コーティング、崩壊剤、色素、及び着色剤を含むが、限定されない必要かつ不活性な医薬賦形剤を含む。

**【0142】**

標的可能な薬物担体としての可溶性重合体には、パルミトイyl残基（類）で置換された、ポリビニルピロリドン、ピラン共重合体、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミドフェノール、ポリヒドロキシエチルアスパルトアミドフェノール、又はポリエチレンオキシドポリリジンを含むことができる。更に、本発明の阻害剤は、薬物の徐放性／持効性を達成するのに有用な生分解性重合体の種類、例えばポリ乳酸、ポリ-イブシロンカプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアノアクリル酸、及び架橋されたか、又は両親媒性のヒドロゲルのブロック共重合体に結合されていてもよい。30

**【0143】**

適切な結合剤には、デンプン、ゼラチン、グルコース、又は-乳糖などの天然の糖、トウモロコシ甘味料、アカシア、トラガカンタ、又はオレイン酸ナトリウム天然、及び合成ゴム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム等を含むが、限定されない。40

**【0144】**

崩壊剤には、デンプン、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサンタンガム等を含むが、限定されない。

**【0145】**

**(QC阻害剤の例)**

本発明に従った使用、及び方法のために適しているQC阻害剤は、QC阻害剤の構造、合成、及び使用方法に関して、その全体が本明細書に組み込まれるWO2005/075436において開示されている。

**【0146】**

10

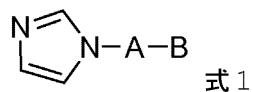
20

30

40

50

本発明は、式1のQC (EC) の新規阻害剤を提供する、  
【化12】



式中、

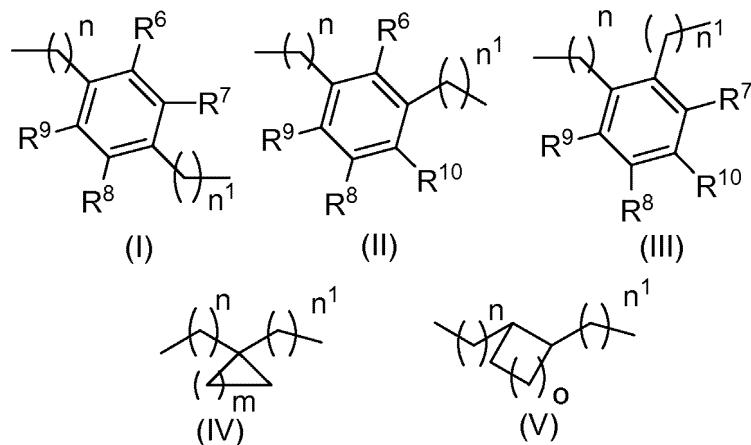
Aは：

アルキル鎖、アルケニル鎖、若しくはアルキニル鎖か；

10

又はAは：

【化13】



から選択される基であり：

式中：

$R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、及び $R^{10}$ は、独立してH、又はアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、ヘテロアリール、若しくは複素環であり；

30

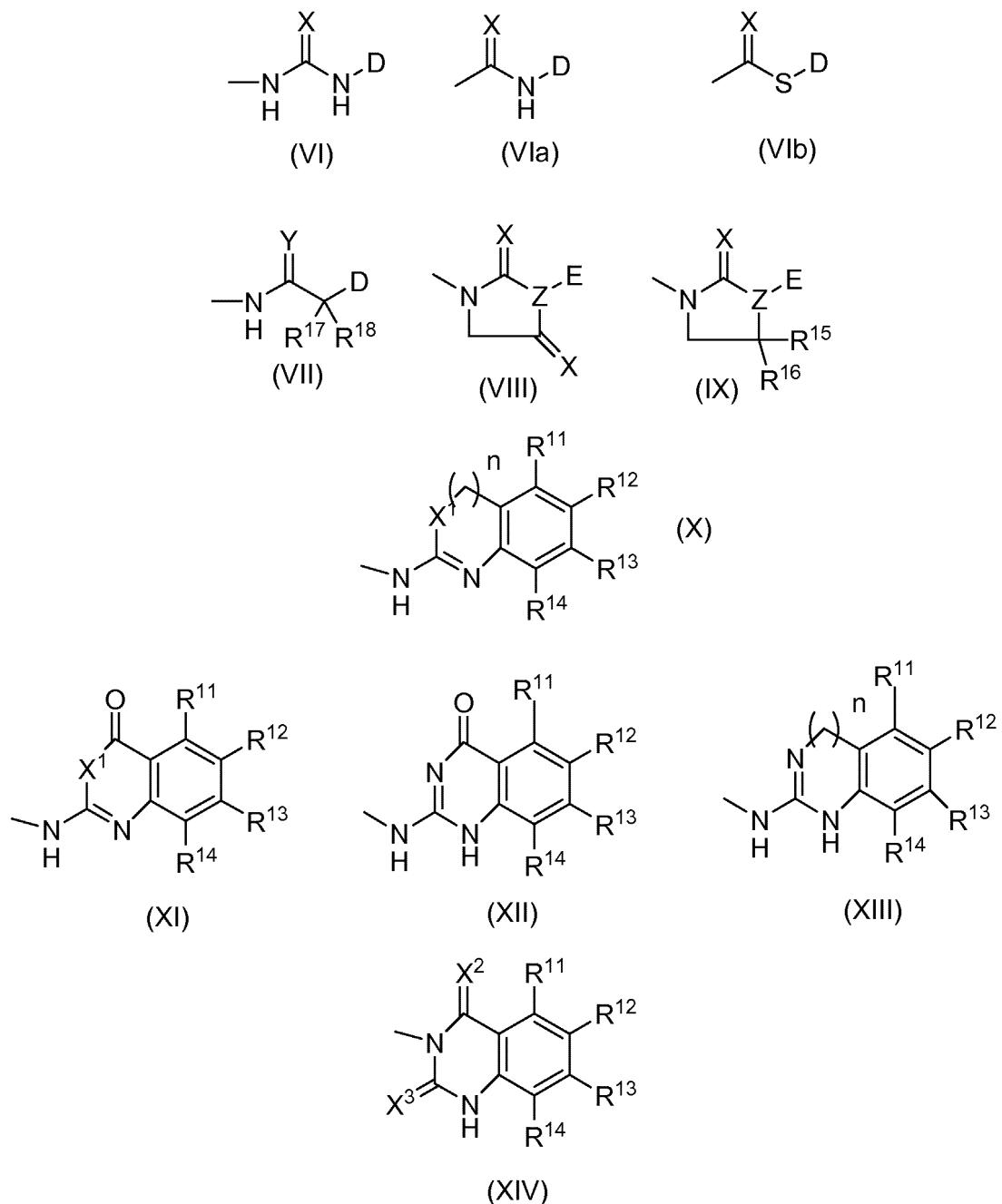
$n$ 、及び $n^1$ は、独立して1~5であり；

$m$ は、1~5であり；

$o$ は、0~4であり；

かつ、Bは：

【化14】



から選択される基であり、

式中：

D、及びEは、独立してアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、-アルキルアリール、ヘテロアリール、-アルキルヘテロアリール、アシリル、又は複素環を表す。

【0147】

Xは、 $\text{CR}^{20}\text{R}^{21}$ 、O、S、 $\text{NR}^{19}$ を表し、ただし、式(VIII)、及び(IX)については、Z = CHである場合、XがO、又はSであることを条件とし；

$\text{R}^{19}$ は、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、-オキシアルキル、-オキシアリール、カルボニル、アミド、ヒドロキシ、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、CNからなる群から選択され；

$\text{R}^{20}$ 、及び $\text{R}^{21}$ は、独立してH、アルキル、シクロアルキル、複素環、アリール、ヘテロアリール、-オキシアルキル、-オキシアリール、カルボニル、アミド、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、CN、 $\text{CF}_3$ から選択され；

40

50

$X^1$ 、 $X^2$ 、及び $X^3$ は、独立して0、又はSであるが、 $X^2$ 、及び $X^3$ は、両方ともが0ではないことを条件とし；

Yは、0、又はSであり、ただし、Yは、 $R^{17}$ 、及び $R^{18}$ によって形成された炭素環が該環に3員を有するときに、0でなくてもよく；

Zは、CH、又はNであり；

$R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ 、及び $R^{14}$ は、独立してH、アルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、シクロアルキル、炭素環、アリール、ヘテロアリール、複素環、ハロゲン、アルコキシ-、-チオアルキル、カルボキシリル、カルボン酸エステル、カルボニル、カルバミド、カルビミド、チオカルバミド、又はチオカルボニル、 $NH_2$ 、 $NO_2$ から選択することができ；

$R^{15}$ 、及び $R^{16}$ は、独立して、互いにH、又は分枝、若しくは分枝のないアルキル鎖、又は分枝、若しくは分枝のないアルケニル鎖であり；

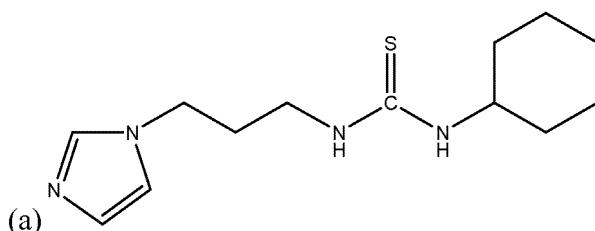
$R^{17}$ 、及び $R^{18}$ は、独立してH、若しくはアルキル鎖、アルケニル鎖、アルキニル鎖、炭素環、アリール、ヘテロアリール、ヘテロアルキルから選択され、又は6つの環原子までで炭素環を形成するように結合することができ；

nは、0、又は1である。

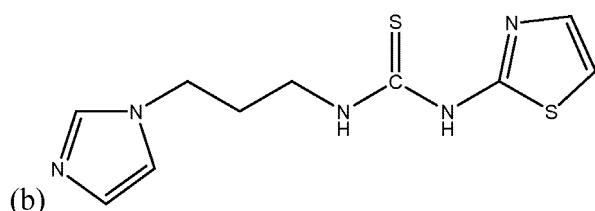
【0 1 4 8】

一つの条件において、以下の化合物：

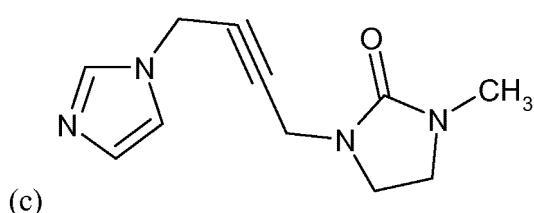
【化15】



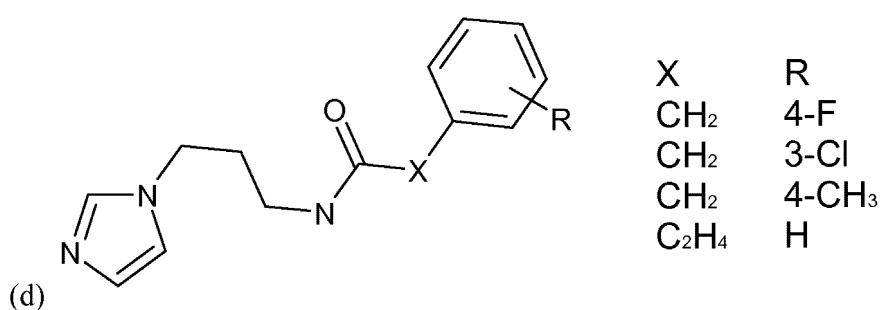
及び



及び



及び



は、式1から除外される。

**【0149】**

Aが、アルキル鎖、アルケニル鎖、又はアルキニル鎖から選択されるとき、好ましくは、Aは、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>アルキル鎖、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>アルケニル鎖、又はC<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>アルキニル鎖である。本発明の一つの実施態様において、Aは、分枝のないC<sub>2-5</sub>アルキル鎖、特に分枝のないC<sub>3-4</sub>アルキル鎖、特に分枝のないC<sub>3</sub>アルキル鎖である。本発明の第2の実施態様において、Aは、1つ(すなわちS、又はR配置で)、又は2つのメチル基によって2つの位置で置換されたC<sub>3</sub>アルキル鎖を表す。

**【0150】**

Aが、式(I)～(V)から選択されるとき、好ましくは、Aは、基(I)～(IV)から選択される。本発明の一つの実施態様において、Aは、式(IV)の基を表し、式中、n<sup>1</sup>は、それぞれ1に等しく、m=1～4、特にm=1である。本発明の第2の実施態様において、Aは、式(I)、(II)、又は(III)の基を表し、式中、n、及びn<sup>1</sup>は、それぞれ1に等しく、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、及びR<sup>10</sup>は、Hを表す。

10

**【0151】**

好ましくは、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、及びR<sup>10</sup>は、H、又はメチルを表す。

**【0152】**

本発明の一つの実施態様において、基Bは、(VI)、(VIa)、(VIb)、(VII)、(X)、(XI)、(XII)、(XIII)、及び(XIV)から選択される。本発明の第2の実施態様において、基Bは、式(VI)を表す。本発明の第3の実施態様において、基Bは、式(VIa)を表す。本発明の第4の実施態様において、基Bは、式(VIb)を表す。本発明の第5の実施態様において、基Bは、式(VII)を表す。本発明の第6の実施態様において、基Bは、式(X)を表す。本発明の第7の実施態様において、基Bは、式(XI)を表す。本発明の第8の実施態様において、基Bは、式(XII)を表す。本発明基の別の実施態様において、基Bは、式(XIII)を表す。本発明のさらなる実施態様において、基Bは、式(XIV)を表す。本発明の好ましい実施態様において、Bは、式(VI)、又は(VII)の基を表す。

20

**【0153】**

Bが適切に基(IX)を表すとき、Aは、アルキニルを表さない。

**【0154】**

好ましくは、D、及びEは、独立してベンジル、アリール、ヘテロアリール、又は複素環を表す。

30

**【0155】**

本発明の一つの実施態様において、D、及びEは、アリール、特にフェニル、又はナフチル、特に置換されたフェニルを表す。Dがフェニルを表すときの好ましい置換基には、アルコキシ-、-チオアルキル、ハロゲン、又はカルボン酸アルキル、若しくはアリールエステルを含む。また、好ましくは、フルオロ、クロロ、プロモ、ヨード、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、メトキシ、エトキシ、ベンジルオキシ、シアノ、アセチル、ジメチルアミノ、メチルスルファニル、ニトロ、オキサゾリル、ピラゾリル、イソプロピル、エチル、及びカルボメトキシリである。フェニル基が一置換の場合、置換は、4-位であることが好ましい。D、及びEが表してもよいその他の適切なアリール基には、ジヒドロベンゾダイオキシン、ベンゾジオキソール、ベンゾジチオールジヒドロベンゾジチイン(dihydrobenzodithiine)、ベンゾオキサチオール、及びジヒドロベンゾオキサチイン(dihydrobenzoxathiine)を含む。D、又はEが表してもよい特に好ましい基は、3,4-(ジメトキシ)-フェニルである。

40

**【0156】**

好ましくは、R<sup>20</sup>、及びR<sup>21</sup>は、NO<sub>2</sub>、CN、CF<sub>3</sub>を表すか、又はR<sup>20</sup>がHである場合、R<sup>21</sup>は、NO<sub>2</sub>、CN、CF<sub>3</sub>であるか、又はR<sup>21</sup>がHである場合、R<sup>20</sup>は、NO<sub>2</sub>、CN、CF<sub>3</sub>である。

**【0157】**

一つの実施態様において、X、又はYは、S、O、又はNR<sup>1</sup>である。好ましくは、X、又はYは、Sである。

50

**【0158】**

好ましくは、Zは、Nを表す。

**【0159】**

好ましい実施態様において、R<sup>11</sup>、及びR<sup>14</sup>は、Hである。

**【0160】**

さらなる好ましい実施態様において、R<sup>12</sup>、及びR<sup>13</sup>は、独立してオキシアルキル、又はチオアルキル、ハロゲン、又はカルボン酸アルキルエステル、若しくはフェニルから選択される。

**【0161】**

好ましい実施態様において、R<sup>15</sup>、及びR<sup>16</sup>の少なくとも1つはHであり、より好ましくはR<sup>15</sup>、及びR<sup>16</sup>は、両方ともHである。 10

**【0162】**

好ましい実施態様において、R<sup>17</sup>、及びR<sup>18</sup>の一方は、Hであり、かつ他方は、Meである。また、好ましくは、R<sup>17</sup>、及びR<sup>18</sup>の一方は、Hであり、かつ他方は、フェニルである化合物である。加えて、好ましくは、R<sup>17</sup>、及びR<sup>18</sup>が環原子において6員までをもつ炭素環を形成する化合物である。

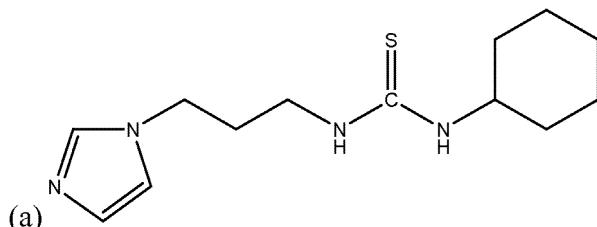
**【0163】**

好ましい化合物には、下記の実施例13、119、及び125によって定義したものを含む。

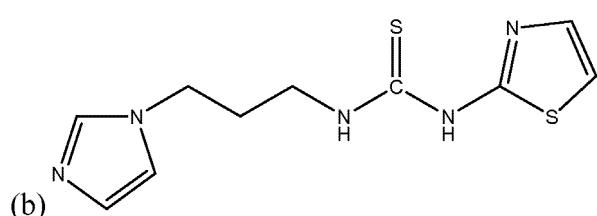
**【0164】**

本発明は、医薬品として使用するための式1の化合物を提供する。一つの実施態様において、医薬品としての式1の化合物の使用に関して、化合物： 20

## 【化16】

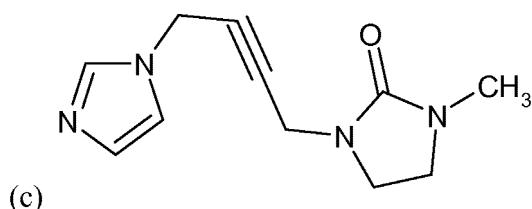


及び



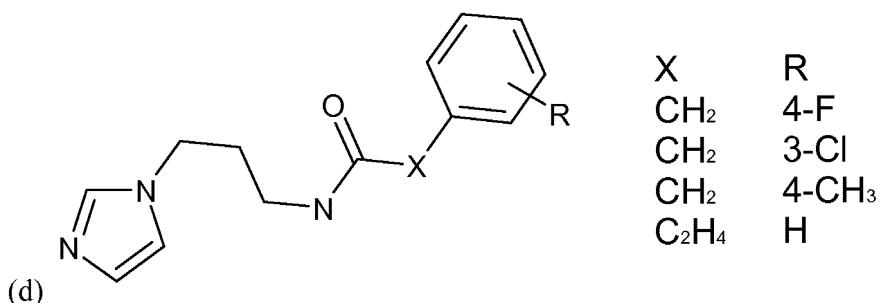
10

及び



20

及び



30

は、式1から除外される。

## 【0165】

上記の条件の化合物(a)は、Ganellinらの文献(1995)J Med Chem 38(17)3342-3350において化合物7として開示されている。本論文は、ヒスタミンH3受容体の弱い阻害剤として、前記化合物を開示する。

40

## 【0166】

条件(b)の化合物は、Venkatachalamらの文献(2001)Bioorganic Med Chem Lett 11、523-528において化合物7として開示されている。これは、HIV1逆転写酵素阻害剤として前記化合物を開示する。

## 【0167】

条件(c)の化合物は、Moonらの文献(1991)J Med Chem 34、2314-2327において化合物19bとして開示されている。本論文は、アルツハイマー病の治療における潜在的使用があるコリン作動性アゴニストとして、前記化合物を開示する。

## 【0168】

条件(d)の化合物は、Wrightらの文献(1986)J Med Chem 29、523-530において化合

50

物99、100、及び102-103として開示されている。本論文は、スロモキサン (thromoxane) シンテターゼ阻害剤として前記化合物を開示する。

## 【0169】

式1によって包含されるであろう特定の化合物は、「 $X^2$ 、及び $X^3$ は両方ともが0ではないことを条件とする」という条件のない場合、Wrightらの文献(1987) J Med Chem 30、227-2283においてトロンボキサンシンテターゼ阻害剤として開示されている。

## 【0170】

式1によって包含されるであろう特定の化合物は、「 $R^{17}$ 、及び $R^{18}$ によって形成される炭素環が該環に3員を有するときに、Yは0ではなくてもよい」という条件のない場合、トロンボキサンシンテターゼ阻害剤としてEP 0 117 462 A2において開示される。

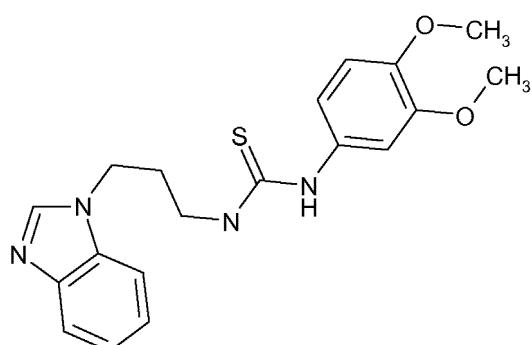
10

## 【0171】

特に：

式1\*のものを下記に示した、適切な化合物は、QCの阻害剤である：

## 【化17】



式 1\*

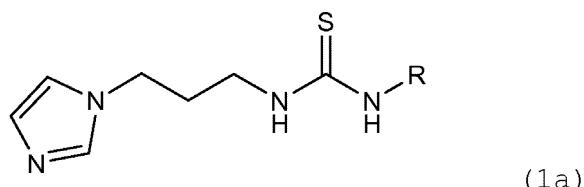
20

## 【0172】

さらなる実施態様において、QC(EC)の阻害剤は、式1aのものであり、

## 【化18】

30



(1a)

式中、Rは、実施例1~53において定義してある。

【表1】

実施例	R	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
1	メチル	199. 3	4. 3		13
2	<i>tert</i> -ブチル	241. 4	60. 7		14. 7
3	ベンジル	275. 4	60. 9		5. 67
4	フェニル	261. 4	42. 3		4. 4
5	4-(フルオロ)-フェニル	279. 35	42. 0		4. 73
6	4-(クロロ)-フェニル	295. 80			1. 2
7	4-(エチル)-フェニル	289. 41	28. 7		2. 78
8	4-(トリフルオロメチル)- フェニル	329. 4	38. 5		3. 93
9	4-(メトキシカルボニル)- フェニル	319. 4			1. 19
10	4-(アセチル)-フェニル	303. 4	17. 0		1. 70
11	4-(メトキシ)-フェニル	291. 4	9. 7		0. 70
12	ビシクロ[2.2.1]ヘプト-5-エン- 2-イル	277. 5	16. 0		
13	3, 4-(ジメトキシ)-フェニル	321. 5	0. 7	0. 22	0. 06
14	2, 4-(ジメトキシ)-フェニル	321. 5	2. 2		0. 57
15	3, 5-(ジメトキシ)-フェニル	321. 5	2. 86		0. 75
16	2-(メトキシカルボニル)- フェニル	319. 4			
17	4-(オキサゾール-5-yl)-フェニル	328. 5	3. 64		0. 86
18	4-(ピラゾール-1-イル)- フェニル	327. 4			
19	4-(イソプロピル)-フェニル	303. 5	8. 7		
20	4-(ピペリジン-1-スルホニル)- フェニル	408. 6	8. 5		2. 27
21	4-(モルフォリン-4-イル)- フェニル	346. 5	9. 0		

10

20

30

40

実施例	R	ESI-MS (M+H) <sup>+</sup>	Res. Act. (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
22	4-(シアノ)-フェニル	286.4	9.0		2.89
23	2,3-ジヒドロ-ベンゾ[1,4]ジオキシン-6-イル	319.4	4.17		1.12
24	ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イル	305.4	16.7		5.66
25	3,4,5(トリメトキシ)-フェニル	351.5	1.7		0.34
26	3-(メトキシ)-フェニル	291.4	6.8		1.86
27	4-(エトキシ)-フェニル	305.5	7.2		0.89
28	4-(ベンジルオキシ)-フェニル	367.5			0.98
29	4-(メトキシ)-ベンジル	305.5			3.93
30	3,4-(ジメトキシ)-ベンジル	335.5			1.55
31	2-(メトキシカルボニル)-チオフェン-3-イル	325.5			
32	3-(エトキシカルボニル)-4,5,6,7-テトラヒドロベンゾ[b]チオフェン-2-イル	392.6			
33	2-(メトキシカルボニル)-4-(メチル)-チオフェン-3-イル	339.5			
34	ベンゾ[c][1,2,5]チアゾール-4-イル	319.5			
35	ベンゾ[c][1,2,5]チアゾール-5-イル	319.5	4.4		1.37
36	5-(メチル)-3-(フェニル)-イソオキサゾール-4-イル	342.5			
37	3,5-(ジメチル)-イソオキサゾール-4-イル	280.4			
38	4-(ヨード)-フェニル	387.3	23.5		2.12
39	4-(ブロモ)-フェニル	340.3			2.52

10

20

30

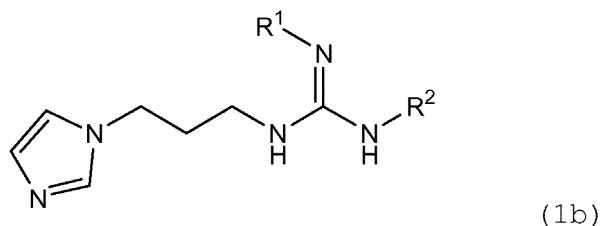
40

実施例	R	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
40	4-(メチル)-フェニル	275.4	31.3		2.14
41	ナフタレン-1-イル	311.5	26.7		2.79
42	4-(ニトロ)-フェニル	306.4	31.1		2.68
43	ブチル	241.4	53.8	14.0	
44	シクロオクチル	295.5	33.1	9.1	
45	フラン-2-イルメチル	265.4	61.4	10.0	
46	テトラヒドロフラン-2-イルメチル	269.4	46.0	12.8	
47	ベンゾ[1,3]ジオキソール-5-イルメチル	319.4	42.7		6.1
48	2-(モルフォリン-4-イル)-エチル	298.5	55.0	13.3	
49	4-(メチルスルファニル)-フェニル	307.5	19.1		1.66
50	4-(ジメチルアミノ)-フェニル	304.5			2.03
51	4-(トリフルオロメトキシ)-フェニル	345.4	14.2		
52	ベンゾイル	288.3			
53	ピリジン-4-イル	261.1			

## 【0173】

QC (EC) のさらなる適切な阻害剤は、式1bのものであり、

## 【化19】



式中、R<sup>1</sup>、及びR<sup>2</sup>は、実施例54～95において定義してある。

【表2】

実施例	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
54	シアノ	メチル	207.3		1.5
55	シアノ	3,4-(ジメトキシ)-フェニル	329.4		1.36
56	シアノ	2,4-(ジメトキシ)-フェニル	329.4		
57	シアノ	3,5-(ジメトキシ)-フェニル	329.4		0.91
58	シアノ	2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-7-イル	327.4		0.64
59	シアノ	ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-6-イル	313.4		0.73
60	シアノ	3,4,5-(トリメトキシ)-フェニル	359.4		0.88
61	シアノ	3-(メトキシ)-フェニル	299.4		
62	シアノ	4-(エトキシ)-フェニル	313.4		
63	シアノ	4-(ベンジルオキシ)-フェニル	375.5		
64	シアノ	フェニル	269.4		1.02
65	シアノ	4-(メトキシ)-フェニル	299.4		0.70
66	シアノ	4-(アセチル)-フェニル	311.4		
67	シアノ	4-(ニトロ)-フェニル	314.4		
68	シアノ	ベンジル	283.4	22.5	8.17
69	シアノ	ナフタレン-1-イル	319.4		
70	シアノ	4-(フルオロ)-フェニル	387.3		
71	シアノ	4-(ヨード)-フェニル	395.3		
72	シアノ	4-(ブロモ)-フェニル	348.3		
73	シアノ	シクロオクチル	289.4		
74	シアノ	tert-ブチル	249.3		
75	シアノ	4-(メチル)-フェニル	283.3		1.34
76	シアノ	4-(メチルチオ)-フェニル	315.5		
77	シアノ	4-(エチル)-フェニル	297.4		
78	シアノ	4-(ジメチルアミノ)-フェニル	312.4		

10

20

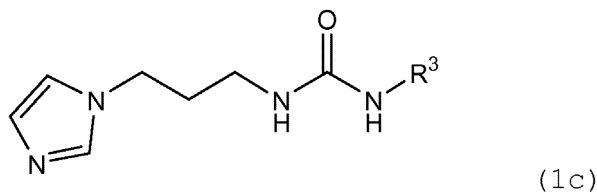
30

40

実施例	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
79	シアノ	ブチル	249.4		
80	シアノ	トリチル	435.6		
81	シアノ	(ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-6 イル)メチル	327.4		1.53
82	シアノ	(テトラヒドロフラン-2イル) メチル	277.4		
83	シアノ	4-(トリフルオロメチル)-フェニル	334.4		
84	シアノ	(フラン-2-イル)メチル	273.4		
85	シアノ	2-(モルフォリン-4-イル)-エチル	306.4		
86	シアノ	4-(オキサゾール-5イル)- フェニル	336.4		
87	シアノ	ピリジン-3-イル	270.4		
88	シアノ	4-(シアノ)-フェニル	294.4		
89	シアノ	4-(トリフルオロメトキシ)- フェニル	353.4		
90	シアノ	4-(ピペリジノスルホニル)- フェニル	416.6		
91	シアノ	4-(1H-ピラゾール-1-イル)- フェニル	335.4		
92	H	3,4-(ジメトキシ)-フェニル	304.4		204.5
93	メチル	3,4-(ジメトキシ)-フェニル	318.4		3.62
94	シアノ	2,3,4-(トリメトキシ)-フェニル	358.1		
95	シアノ	シクロヘプチル	288.2		

## 【0174】

QC (EC) のさらなる適切な阻害剤は、式1cのものであり、  
【化20】



式中、R<sup>3</sup>は、実施例96～102において定義してある。

【表3】

実施例	R <sup>3</sup>	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
96	エチル	197.3			19.2
97	6-フルオロ-4H-ベンゾ[d] [1, 3]ジオキシン-8-イル	321.4	19.0	12.0	
98	3-(シクロヘンチルオキシ)-4- (メトキシ)-フェニル	359.4	2.87		0.62
99	4-(ヘプチルオキシ)-フェニル	359.5	5.6	9.9	
100	3, 4-ジヒドロ-2H-ベンゾ [b][1, 4]ジオキセピン-7-イル	317.4			
101	4-(ブトキシ)-フェニル	317.4			
102	3, 4-(ジメトキシ)-フェニル	305.4			0.46

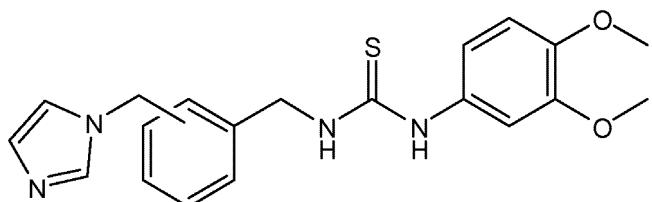
10

20

【0175】

QC(EC)のさらなる適切な阻害剤は、式1dのものであり、

【化21】



30

(1d)

式中、環上の位置は、実施例103～105において定義してある。

【表4】

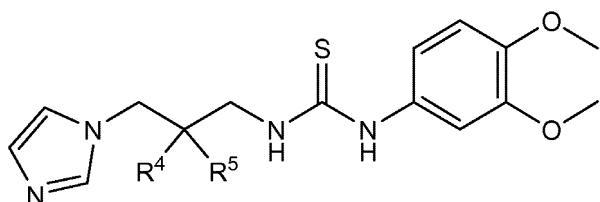
実施例	ベンジル置換の位置	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
103	2	383.5	16.27	4.84
104	3	383.5		3.52
105	4	383.5		1.86

40

【0176】

QC(EC)のさらなる適切な阻害剤は、式1eのものであり、

## 【化22】



(1e)

式中

 $R^4$ 、及び $R^5$ は、実施例106～109において定義してある。

## 【表5】

実施例	$R^4$	$R^5$	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$IC_{50}$ ( $\mu M$ )	$K_i$ ( $\mu M$ )
106(S)	H	メチル	335.5			0.76
107(R)	メチル	H	335.5			0.35
108	メチル	メチル	349.5			
109	$-CH_2-CH_2-$		347.5			7.85

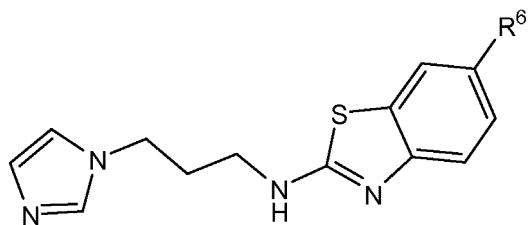
10

20

## 【0177】

QC(EC)のさらなる適切な阻害剤は、式1fのものであり、

## 【化23】



(1f)

30

式中

 $R^6$ は、実施例110～112において定義してある。

## 【表6】

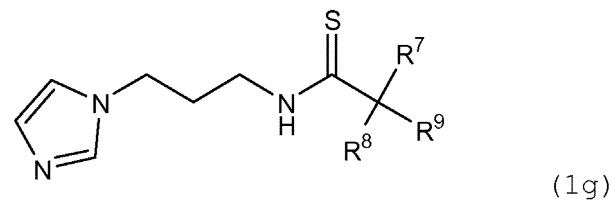
実施例	$R^6$	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$IC_{50}$ ( $\mu M$ )	$K_i$ ( $\mu M$ )
110	H	259.4			3.00
111	クロロ	293.8			3.35
112	メトキシ	289.4			1.57

40

## 【0178】

QC(EC)のさらなる適切な阻害剤は、式1gのものであり、

【化 2 4】



式中

R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、及びR<sup>9</sup>は、実施例113～132において定義してある。

10

【表7】

実施例	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>	ESI-MS (M+H) <sup>+</sup>	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
113	フェニル	H	H	260.4		4.62
114	チオフェン-2-イル	H	H	266.5		3.29
115(R)	フェニル	メチル	H	274.5	21.2	7.34
116(S)	フェニル	H	メチル	274.5	8.1	3.51
117	フェニル	H	エチル	288.5		3.57
118	フェニル	H	フェニル	336.5	13.5	4.48
119	3,4-(ジメトキシ)- フェニル	H	H	320.5		0.39
120	3,4-(ジメトキシ)- フェニル	メチル	メチル	347.2		
121	4-(クロロ)-フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		334.9		4.88
122	4-(クロロ)-フェニル	-CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> -		349.0		7.3
123	4-(メトキシ)- フェニル	-CH <sub>2</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -		358.6		2.78
124	4-(メトキシ)- フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		316.5		0.39
125	3,4-(ジメトキシ)- フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346.5		0.09
126	3,4,5-(トリメトキシ)-フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		376.6		
127	2,3,4-(トリメトキシ)-フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		376.6		
128	2-(メトキシ)- フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		316.5		
129	3-(メトキシ)- フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		316.5		
130	2,3-(ジメトキシ)- フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346.5		

10

20

30

40

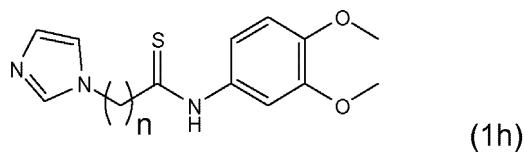
実施例	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
131	3, 5-(ジメトキシ)-フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346. 5		
132	2, 5-(ジメトキシ)-フェニル	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346. 5		

10

## 【0179】

QC (EC) のさらなる適切な阻害剤は、式1hのものであり、

## 【化25】



式中、nは、実施例133～135において定義してある。

## 【表8】

20

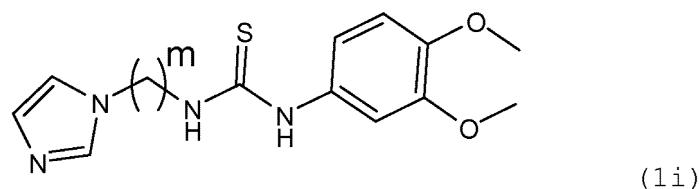
実施例	N	ESI-MS (M+H)	K <sub>i</sub> (μM)
133	3	306. 4	
134	4	320. 5	0. 99
135	5	334. 5	

## 【0180】

30

QC (EC) のさらなる適切な阻害剤は、式1iのものであり、

## 【化26】



式中、mは、実施例136、及び137において定義してある。

## 【表9】

40

実施例	m	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
136	2	307. 4		17. 6
137	4	335. 5	2. 19	0. 55

## 【0181】

QC (EC) のさらなる適切な阻害剤は、式138～141のものである。

50

【表10】

実施例	構造	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
138		347.5			
139		347.2			
140		226.3	13.8		20.5
141		370.4			

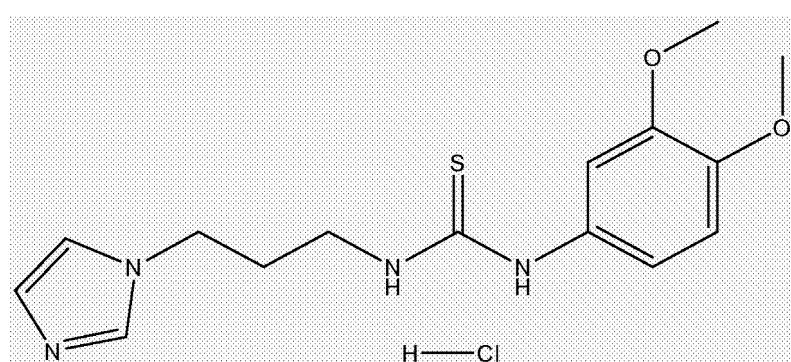
10

20

## 【0182】

好ましいグルタミルペプチドシクロトランスクレアーゼの阻害剤は、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素(更にQCIとしても命名される)である。

## 【化27】



30

## 【0183】

好ましい実施態様において、本発明は、少なくとも1つのQC阻害剤を、任意に向知性薬、神経保護薬、抗パーキンソン病薬、アミロイドタンパク質沈着阻害剤、アミロイド合成阻害剤、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、及び抗多発性硬化症薬物からなる群から選択される少なくとも1つのその他の薬剤と組み合わせて含む組成物、好ましくは医薬組成物を提供する。

## 【0184】

より具体的には、上述したその他の薬剤は、以下からなる群から選択される： -アミロイド抗体、システインプロテアーゼ阻害剤、PEP-阻害剤、LiCl、アセチルコリンエスチラーゼ(AChE)阻害剤、PIMTエンハンサー、セクレターゼの阻害剤、セクレターゼの

40

50

阻害剤、中性エンドペプチダーゼの阻害剤、ホスホジエステラーゼ-4 (PDE-4) の阻害剤、TNF 阻害剤、ムスカリンM1受容体アンタゴニスト、NMDA受容体アンタゴニスト、シグマ-1受容体阻害剤、ヒスタミンH3アンタゴニスト、免疫調節薬、免疫抑制剤、MCP-1アンタゴニスト、又はアンテグレン (antegren) (ナタリズマブ)、ノイレラン (Neurelan) (ファムプリジン-SR)、キャンパス (campath) (アレムツズマブ)、IR 208、NBI 5788/MSP 771 (チプリモチド (tiplimotide))、パクリタキセル、アネルジクス.MS (Anergix.MS) (AG 284)、SH636、ジフェリン (Differin) (CD 271、アダプレネ)、BAY 361677 (インターロイキン-4)、マトリックス-メタロプロテイナーゼ-阻害剤 (例えばBB 76163)、インターフェロン- $\alpha$  (トロホプラスチン)、及びSAIK-MSからなる群から選択される薬剤。

10

## 【0185】

更にまた、その他の薬剤は、例えば、以下からなる群から選択される抗不安剤、又は抗うつ薬であってもよい：

(a) ベンゾジアゼピン、例えばアルプラゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼブ酸、ジアゼパム、フルジアゼパム、ロフラゼパテ (loflazepate)、ロラゼパム、メタカロン、オキサゼパム、プラゼパム、トラキセン (traxene)、

(b) 選択的セロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI)、例えばシタロプラム、フルオキセチン、フルボキサミン、エスシタロプラム (escitalopram)、セルトラリン、パロキセチン、

20

(c) 三環系抗うつ薬、例えばアミトリピチリン、クロミプラミン、デシプラミン、ドキセピン、イミプラミン、

(d) モノアミン酸化酵素 (MAO) 阻害剤、

(e) アザピロン (Azapirones)、例えばブスピロン、タンドプシリロン (tandospirone)、

(f) セロトニン-ノルエピネフリン再取り込み阻害剤 (SNRI)、例えばベンラファキシン、デュロキセチン、

(g) ミルトラザピン、

(h) ノルエピネフリン再取り込み阻害剤 (NRI)、例えばレボキセチン (reboxetine)、

30

(i) ブプロピオン、

(j) ネファゾドン、

(k) 遮断薬、

(l) NPY-受容体リガンド：NPYアゴニスト、又はアンタゴニスト。

## 【0186】

さらなる実施態様において、その他の薬剤は、例えば、以下からなる群から選択される抗多発性硬化症薬物でもよい：

a) ジヒドロオロット酸デヒドロゲナーゼ阻害剤、例えばSC-12267、テリフルノミド (teriflunomide)、MNA-715、HMR-1279 (syn. to HMR-1715、MNA-279)、

b) 自己免疫抑制薬、例えばラクイニモド (laquinimod)、

40

c) パクリタキセル、

d) 抗体、例えばAGT-1、抗顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) モノクローナル抗体、Nogo受容体モジュレーター、ABT-874、アレムツズマブ (CAMPATH)、抗OX 40抗体、CNTO-1275、DN-1921、ナタリズマブ (syn. to AN-100226、アンテグレン (Antegren)、VLA-4 Mab)、ダクリズマブ (syn. to ゼネパクス (Zenepax) Ro-34-7375、SMART抗Tac)、J-695、プリリキシマブ (priliximab) (syn. to センタラ (Centara)、CEN-000029、cM-T412)、MRA、ダンテス (Dantes)、抗-IL-12-抗体、

e) ペプチド核酸 (PNA) 製剤、例えばレチキュロース (reticulose)、

f) インターフェロン、例えばアルファフェロン (Alfaferone)、ヒト インターフェロン (syn. to オムニフェロン (Omniferon)、アルファロイコフェロン (Alpha Leuko

50

feron) )、

g) インターフェロン、例えばフロン (Frone)、アボネクス (Avonex) のようなインターフェロン -1a、ベトロン (Betron) (レビフ (Rebif) )、インターフェロン 類似体、インターフェロン -トランスフェリン融合タンパク質、ベータセロン (Betaseron) のような組換えインターフェロン -1b、

h) インターフェロン、

i) ペプチド、例えばAT-008、アネルギクス.MS (AnergiX.MS)、イムノカイン (Immuno kine) (-イムノカイン-NNS03)、ZD-7349のような環状ペプチド、

j) 治療的酵素、例えば可溶性CD8 (sCD8)、

k) 多発性硬化症特異的自己抗原をコードするプラスミド、及びサイトカインをコードするプラスミド、例えばBHT-3009； 10

l) TNF の阻害剤、例えばBLX-1002、サリドマイド、SH-636、

m) TNFアンタゴニスト、例えばソリマstatt (solimastat)、レネルセプト (lenerc ept) (syn. to R0-45-2081、テネフセ (Tenefuse) )、オネルセプト (oncept) (sTN FR1)、CC-1069

n) TNF 、例えばエタナーセプト (syn. to エンブレル、TNR-001)

o) CD28アンタゴニスト、例えばアバタセプト (abatacept)、

p) Lckチロシンキナーゼ阻害剤、

q) カテプシンK阻害剤、

r) ニューロン-ターゲティング膜輸送タンパク質タウリン、及び植物由来カルパイン阻害剤ロイペプチんの類似体、例えばニューロデュール (Neurodur)、 20

s) ケモカイン受容体-1 (CCR1) アンタゴニスト、例えばBX-471、

t) CCR2アンタゴニスト、

u) AMPA受容体アンタゴニスト、例えばER-167288-01、及びER-099487、E-2007、タラムパネル (talampanel) 、

v) カリウムチャネル遮断薬、例えばファムプリジン、

w) VLA-4/VCAM相互作用のトリル-プロリン-フェニルアラニン小分子アンタゴニスト、例えばTBC-3342、

x) 細胞接着分子阻害剤、例えばTBC-772、

y) アンチセンスオリゴヌクレオチド、例えばEN-101、 30

z) 肥満細胞受容体に結合する遊離免疫グロブリン軽鎖 (IgLC) のアンタゴニスト、例えばF-991、

aa) アポトーシス誘導抗原、例えばアポゲン (Apogen) MS、

bb) -2アドレナリン受容体アゴニスト、例えばチザニジン (syn. toゼナフレックス (Zanaflex)、テルネリン、シルダルボ (Sirdalvo)、シルダルド (Sirdalud)、ミノニジン (Mionidine) )、

cc) L-チロシン、L-リジン、L-グルタミン酸、及びL-アラニンの共重合体、例えばグラチラマーアセテート (syn. to Copaxone、COP-1、共重合体-1)、

dd) トポイソメラーゼIIモジュレーター、例えば塩酸ミトキサントロン、

ee) アデノシンデアミナーゼ阻害剤、例えばクラドリビン (syn. to ロイスタチン (Le ustatin)、ミリナクス (Mylinax) 、RWJ-26251) 40

ff) インターロイキン-10、例えばイロデキカン (ilodecakin) (syn. to テノビル (Tenovil)、Sch-52000、CSIF)、

gg) インターロイキン-12アンタゴニスト、例えばリソフィリン (lisofylline) (syn. to CT-1501R、LSF、リソフィリン (lysofylline) )、

hh) エタナニウム (Ethanaminum)、例えばSRI-62-834 (syn. to CRC-8605、NSC-61438 3)、

ii) 免疫調節物質、例えばSAIK-MS、PNU-156804、 -フェトプロテインペプチド (AFP) 、IPDS、

jj) レチノイド受容体アゴニスト、例えばアダプレネ (syn. to ディフェリン (Differ 50

in)、CD-271)、

kk) TGF- 、例えばGDF-1(成長、及び分化因子1)、

ll) TGF- -2、例えばベータカイン(BetaKine)、

mm) MMP阻害剤、例えばグリコメド(glycomed)、

nn) ホスホジエステラーゼ4(PDE4)阻害剤、例えばRPR-122818、

oo) プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、例えば9-(3-ピリジルメチル)-9-デアザグアニン、ペルデシン(syn. to BCX-34、T0-200)

pp) -4/-1インテグリンアンタゴニスト、例えばISIS-104278、

qq) アンチセンス 4インテグリン(CD49d)、例えばISIS-17044、ISIS-27104、

rr) サイトカイン誘導薬、例えばヌクレオシド、ICN-17261、

10

ss) サイトカイン阻害剤、

tt) 熱ショックタンパク質ワクチン、例えばHSPPC-96、

uu) ニューレグリン成長因子、例えばGGF-2(syn. to ニューレグリン、グリア成長因子2)

vv) カテプシンS-阻害剤、

ww) プロピリミン類似体、例えばPNU-56169、PNU-63693、

xx) 単球化学誘引物質タンパク質-1阻害剤、例えばベンゾイミダゾール誘導体様MCP-1阻害剤、LKS-1456、PD-064036、PD-064126、PD-084486、PD-172084、PD-172386。

#### 【0187】

更に、本発明は、少なくとも1つのQC阻害剤を、任意にその他の上述した薬剤と少なくとも1つのものと組み合わせて含む、例えば非経口的、経腸、又は経口投与のための医薬組成物を提供する。

20

#### 【0188】

これらの組み合わせは、特に有益な効果を提供する。従って、このような組み合わせは、上述した疾患の治療のために有効かつ有用なことが示される。従って、本発明は、これらの状態の治療のための方法を提供する。

#### 【0189】

本方法は、少なくとも1つのQC阻害剤、及びその他の薬剤の少なくとも1つの同時投与、又はその逐次投与のいずれをも含む。

#### 【0190】

30

同時投与には、少なくとも1つのQC阻害剤、及びその他の薬剤の少なくとも1つを含む製剤の投与、又はそれぞれの薬剤の別々の製剤の本質的に同時の投与を含む。

#### 【0191】

同じものを含んでいる -アミロイド抗体、及び組成物は、例えば

## 【数1】

10

20

30

40

50

WO 2006/137354, WO 2006/118959, WO  
 2006/103116, WO 2006/095041, WO 2006/081171, WO 2006/066233, WO  
 2006/066171, WO 2006/066089, WO 2006/066049, WO 2006/055178, WO  
 2006/046644, WO 2006/039470, WO 2006/036291, WO 2006/026408, WO  
 2006/016644, WO 2006/014638, WO 2006/014478, WO 2006/008661, WO  
 2005/123775, WO 2005/120571, WO 2005/105998, WO 2005/081872, WO  
 2005/080435, WO 2005/028511, WO 2005/025616, WO 2005/025516, WO  
 2005/023858, WO 2005/018424, WO 2005/011599, WO 2005/000193, WO  
 2004/108895, WO 2004/098631, WO 2004/080419, WO 2004/071408, WO  
 2004/069182, WO 2004/067561, WO 2004/044204, WO 2004/032868, WO  
 2004/031400, WO 2004/029630, WO 2004/029629, WO 2004/024770, WO  
 2004/024090, WO 2003/104437, WO 2003/089460, WO 2003/086310, WO  
 2003/077858, WO 2003/074081, WO 2003/070760, WO 2003/063760, WO  
 2003/055514, WO 2003/051374, WO 2003/048204, WO 2003/045128, WO  
 2003/040183, WO 2003/039467, WO 2003/016466, WO 2003/015691, WO  
 2003/014162, WO 2003/012141, WO 2002/088307, WO 2002/088306, WO  
 2002/074240, WO 2002/046237, WO 2002/046222, WO 2002/041842, WO  
 2001/062801, WO 2001/012598, WO 2000/077178, WO 2000/072880, WO  
 2000/063250, WO 1999/060024, WO 1999/027944, WO 1998/044955, WO  
 1996/025435, WO 1994/017197, WO 1990/014840, WO 1990/012871, WO  
 1990/012870, WO 1989/006242

に記述されている。

## 【0192】

-アミロイド抗体は、例えば、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、又はヒト化された抗体から選択してもよい。更にまた、前記抗体は、能動的、及び受動的な免疫療法（すなわちワクチン、及びモノクローナル抗体）を開発するために有用であろう。

## 【0193】

-アミロイド抗体の適切な例は、ACU-5A5、huC091 (Acumen/Merck) ; PF-4360365、RI-1014、RI-1219、RI-409、RN-1219 (Rinat Neuroscience社 (Pfizer Inc)) ; Ablynx/Behringer Ingelheimのナノ体治療；Intellect Neurosciences/IBLの -アミロイド-特異的ヒト化モノクローナル抗体；m266、m266.2 (Eli Lilly & Co.) ; AAB-02 (Elan) ; バピネウズマブ (bapineuzumab) (Elan) ; BAN-2401 (Bioarctic Neuroscience AB) ; ABP-102 (Abiogen Pharma SpA) ; BA-27、BC-05 (Takeda) ; R-1450 (Roche) ; ESBA-212 (ESBATech AG) ; AZD-3102 (AstraZeneca) 、及びMindset BioPharmaceuticals Inc. の -アミロイド抗体を含む。

## 【0194】

特に好ましくは、A ペプチドのN末端を認識する抗体である。A -N-末端を認識する適切な抗体は、例えばAcI-24 (AC immune CA) である。 -アミロイドペプチドに対するモノクローナル抗体は、WO 2007/068412に開示されている。それぞれのキメラ、及びヒト化抗体は、WO 2008/011348に開示されている。アミロイド関連疾患を治療するためのワクチン組成物を產生するための方法は、WO 2007/068411に開示されている。

## 【0195】

適切なシステインプロテアーゼ阻害剤は、例えばカテプシンBの阻害剤である。カテプシンBの阻害剤、及びこのような阻害剤を含む組成物は、例えば

**【数2】**

WO

2006/060473, WO 2006/042103, WO 2006/039807, WO 2006/021413, WO 2006/021409, WO 2005/097103, WO 2005/007199, WO2004/084830, WO 2004/078908, WO 2004/026851, WO 2002/094881, WO 2002/027418, WO 2002/021509, WO 1998/046559, WO 1996/021655

10

に記述されている。

**【0196】**

適切なPIMTエンハンサーの例は、それぞれ、WO 98/15647、及びWO 03/057204に記述された、10-アミノアリファチル-ジベンズ[b,f]オキセピンである。WO 2004/039773に記述されたPIMT活性のモジュレーターは、本発明では更に有用である。

**【0197】**

このような阻害剤を含んでいる セクレターゼの阻害剤、及び組成物は、例えば

**【数3】**

WO 03/059346, WO 2006/099352,

20

WO 2006/078576, WO 2006/060109, WO 2006/057983, WO 2006/057945, WO 2006/055434, WO 2006/044497, WO 2006/034296, WO 2006/034277, WO 2006/029850, WO 2006/026204, WO 2006/014944, WO 2006/014762, WO 2006/002004, US 7,109,217, WO 2005/113484, WO 2005/103043, WO 2005/103020, WO 2005/065195, WO 2005/051914, WO 2005/044830, WO 2005/032471, WO 2005/018545, WO 2005/004803, WO 2005/004802, WO 2004/062625, WO 2004/043916, WO 2004/013098, WO 03/099202, WO 03/043987, WO 03/039454, US 6,562,783, WO 02/098849、及び WO 02/096897

30

に記述されている。

**【0198】**

本発明のために セクレターゼ阻害剤の適切な例は、WY-25105 (Wyeth) ; ポジフェン (Posiphen) 、 (+)-フェンセリン (TorreyPines/NIH) ; LSN-2434074、LY-2070275、LY-2070273、LY-2070102 (Eli Lilly & Co.) ; PNU-159775A、PNU-178025A、PNU-17820A、PN U-33312、PNU-38773、PNU-90530 (Elan/Pfizer) ; KMI-370、KMI-358、kmi-008 (Kyoto University) ; OM-99-2、OM-003 (Athenagen Inc.) ; AZ-12304146 (AstraZeneca/Astex) ; GW-840736X (GlaxoSmithKline plc.) 、及びDNP-004089 (De Novo Pharmaceuticals Ltd.) 。

40

**【0199】**

セクレターゼの阻害剤、及びこのような阻害剤を含んでいる組成物は、例えば

## 【数4】

WO 2005/008250, WO  
 2006/004880, US 7,122,675, US 7,030,239, US 6,992,081, US  
 6,982,264, WO 2005/097768, WO2005/028440, WO 2004/101562, US  
 6,756,511, US 6,683,091, WO 03/066592, WO 03/014075, WO  
 03/013527, WO 02/36555, WO 01/53255, US 7,109,217, US 7,101,895,  
 US 7,049,296, US 7,034,182, US 6,984,626, WO 2005/040126, WO  
 2005/030731, WO 2005/014553, US 6,890,956, EP 1334085, EP  
 1263774, WO 2004/101538, WO 2004/00958, WO 2004/089911, WO  
 2004/073630, WO 2004/069826, WO 2004/039370, WO 2004/031139, WO  
 2004/031137, US 6,713,276, US 6,686,449, WO 03/091278, US  
 6,649,196, US 6,448,229, WO 01/77144、及び WO 01/66564

10

に記述されている。

## 【0200】

本発明の目的のための適切なセクレターゼ阻害剤は、GSI-953、WAY-GSI-A、WAY-GSI-B (Wyeth) ; MK-0752、MRK-560、L-852505、L-685-458、L-852631、L-852646 (Merck & Co. Inc.) ; LY-450139、LY-411575、AN-37124 (Eli Lilly & Co.) ; BMS-299897、BMS-433796 (Bristol-Myers Squibb Co.) ; E-2012 (Eisai Co. Ltd.) ; EHT-0206、EHT-206 (ExxonHit Therapeutics SA) ; 及びNGX-555 (TorreyPines Therapeutics Inc.) である。

## 【0201】

本発明の目的のための適切なアミロイド合成阻害剤は、例えばBisnorcymserine (Axonyx Inc.) ; (R)-フルルビプロフェン (MCP-7869 ; フルリザン (Flurizan)) (Myriad Genetic) ; ニトロフルルビプロフェン (Nic0x) ; BGC-20-0406 (Sankyo Co. Ltd.) 、及びBGC-20-0466 (BTG plc.) である。

## 【0202】

本発明の目的のための適切なアミロイドタンパク質沈着阻害剤は、例えばSP-233 (Samarian Pharmaceuticals) ; AZD-103 (Ellipsis Neurotherapeutics Inc.) ; AAB-001 (Bapineuzumab) 、AAB-002、ACC-001 (Elan Corp plc.) ; コロストリニン (Colostrinin) (ReGen Therapeutics plc.) ; Tramiprosate (Neurochem) ; AdPEDI-(アミロイド-1-6)11) (Vaxin Inc.) ; MPI-127585、MPI-423948 (Mayo Foundation) ; SP-08 (Georgetown University) ; ACU-5A5 (Acumen / Merck) ; トランスクレチン (State University of New York) ; PTI-777、DP-74、DP 68、Exebryl (ProteoTech Inc.) ; m266 (Eli Lilly & Co.) ; EGb-761 (Dr. Willmar Schwabe GmbH) ; SPI-014 (Satori Pharmaceuticals Inc.) ; ALS-633、ALS-499 (Advanced Life Sciences Inc.) ; AGT-160 (ArmaGen Technologies Inc.) ; TAK-070 (Takeda Pharmaceutical Co. Ltd.) ; CHF-5022、CHF-5074、CHF-5096、及びCHF-5105 (Chiesi Farmaceutici SpA.) である。

## 【0203】

本発明の目的のための適切なPDE-4阻害剤は、例えばドキソフィリン (Doxofylline) (Instituto Biologico Chemioterapica ABC SpA.) ; イデュジラスト (idudilast) 点眼、チペルカスト (tipelukast) 、イブジラスト (Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd.) ; テオフィリン (Elan Corp.) ; シロミラスト (cilmilast) (GlaxoSmithKline plc.) ; アトピク (Atopik) (Barrier Therapeutics Inc.) ; トフィミラスト (tofimilast) 、CI-1044、PD-189659、CP-220629、PDE 4d阻害剤BHN (Pfizer Inc.) ; アロフィリン (arofylline) 、LAS-37779 (Almirall Prodesfarma SA.) ; ロフルミラスト (roflumilast) 、ヒドロキシプロマフェント

40

50

リン (hydroxypumafentrine) (Altana AG) 、テトミラスト (tetomilast) (Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd.) ; チペルカスト (tipelukast) 、イブジラスト (Kyorin Pharmaceutical) 、CC-10004 (Celgene Corp.) ; HT-0712、IPL-4088 (Inflazyme Pharmaceuticals Ltd.) ; MEM-1414、MEM-1917 (Memory Pharmaceuticals Corp.) ; オグレミラスト (oglemilast) 、GRC-4039 (Glenmark Pharmaceuticals Ltd.) ; AWD-12-281、ELB-353、ELB-526 (Elbion AG) ; EHT-0202 (ExonHit Therapeutics SA.) ; ND-1251 (Neuro3d SA.) ; 4AZA-PDE4 (4 AZA Bioscience NV.) ; AVE-8112 (Sanofi-Aventis) ; CR-3465 (Rottapharm SpA.) ; GP-0203、NCS-613 (Centre National de la Recherche Scientifique) ; KF-19514 (Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd.) ; Ono-6126 (Ono Pharmaceutical Co. Ltd.) ; OS-0217 (Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd.) ; IBFB-130011、IBFB-150007、IBFB-130020、IBFB-140301 (IBFB Pharma GmbH) ; IC-485 (ICOS Corp.) ; RBx-14016、及びRBx-11082 (Ranbaxy Ory Ltd.) である。好ましいPDE-4-阻害剤は、ロリプラム (Ropivapine) である。  
10

#### 【0204】

MAO阻害剤、及びこのような阻害剤を含む組成物は、例えば  
【数5】

WO 2006/091988, WO 2005/007614, WO  
2004/089351, WO 01/26656, WO 01/12176, WO 99/57120, WO 99/57119,  
WO 99/13878, WO 98/40102, WO 98/01157, WO 96/20946, WO 94/07890  
20  
、及びWO 92/21333

に記述されている。

#### 【0205】

本発明の目的のための適切なMAO阻害剤は、例えばリネゾリド (Linezolid) (Pharmacia Corp.) ; RWJ-416457 (RW Johnson Pharmaceutical Research Institute) ; ブジピン (budipine) (Altana AG) ; GPX-325 (BioResearch Ireland) ; イソカルボキサジド；フェネルジン；トラニルシプロミン；インダンタドール (indantadol) (Chiesi Farmaceutici SpA.) ; モクロベミド (Roche Holding AG) ; SL-25.1131 (Sanofi-Synthelabo) ; CX-1370 (Burroughs Wellcome Co.) ; CX-157 (Krenitsky Pharmaceuticals Inc.) ; デスオキシペガニン (desoxypheganine) (HF Arzneimittelforschung GmbH & Co. KG) ; ビフェメラン (Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals Inc.) ; RS-1636 (Sankyo Co. Ltd.) ; エスプロン (esoprone) (BASF AG) ; ラサギリン (rasagiline) (Teva Pharmaceutical Industries Ltd.) ; ラドスチギル (ladostigil) (Hebrew University of Jerusalem) ; サフィナミド (safinamide) (Pfizer) 、及びNW-1048 (Newron Pharmaceuticals SpA.) である。  
30

#### 【0206】

本発明の目的のための適切なヒスタミンH3アンタゴニストは、例えばABT-239、ABT-834 (Abbott Laboratories) ; 3874-H1 (Aventis Pharma) ; UCL-2173 (Berlin Free University) 、UCL-1470 (BioProjet, Societe Civile de Recherche) ; DWP-302 (Daewoong Pharmaceutical Co Ltd) ; GSK-189254A、GSK-207040A (GlaxoSmithKline Inc.) ; シプラリサント (cipralisant) 、GT-2203 (Glaxotech Inc.) ; シプロキシファン (Ciproxifan) (INSERM) 、1S,2S)-2-(2-アミノエチル)-1-(1H-イミダゾール-4-イル)シクロプロパン (Hokkaido University) ; JNJ-17216498、JNJ-5207852 (Johnson & Johnson) ; NNC-0038-0000-1049 (Novo Nordisk A/S) ；及びSch-79687 (Schering-Plough) である。  
40

#### 【0207】

このような阻害剤を含むPEP阻害剤、及び組成物は、例えば

## 【数6】

JP 01042465, JP 03031298, JP 04208299, WO 00/71144, US 5,847,155; JP 09040693, JP 10077300, JP 05331072, JP 05015314, WO 95/15310, WO 93/00361, EP 0556482, JP 06234693, JP 01068396, EP 0709373, US 5,965,556, US 5,756,763, US 6,121,311, JP 63264454, JP 64000069, JP 63162672, EP 0268190, EP 0277588, EP 0275482, US 4,977,180, US 5,091,406, US 4,983,624, US 5,112,847, US 5,100,904, US 5,254,550, US 5,262,431, US 5,340,832, US 4,956,380, EP 0303434, JP 03056486, JP 01143897, JP 1226880, EP 0280956, US 4,857,537, EP 0461677, EP 0345428, JP 02275858, US 5,506,256, JP 06192298, EP 0618193, JP 03255080, EP 0468469, US 5,118,811, JP 05025125, WO 9313065, JP 05201970, WO 9412474, EP 0670309, EP 0451547, JP 06339390, US 5,073,549, US 4,999,349, EP 0268281, US 4,743,616, EP 0232849, EP 0224272, JP 62114978, JP 62114957, US 4,757,083, US 4,810,721, US 5,198,458, US 4,826,870, EP 0201742, EP 0201741, US 4,873,342, EP 0172458, JP 61037764, EP 0201743, US 4,772,587, EP 0372484, US 5,028,604, WO 91/18877, JP 04009367, JP 04235162, US 5,407,950, WO 95/01352, JP 01250370, JP 02207070, US 5,221,752, EP 0468339, JP 04211648, WO 99/46272, WO 2006/058720、及び WO 2006/120104

に記述されている。

## 【0208】

本発明の目的のための適切なプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤は、例えばFmoc-Ala-Pyrr-CN、Z-Phe-Pro-ベンゾチアゾール(Probiodrug)、Z-321(Zeria Pharmaceutical Co Ltd.)；ONO-1603(Ono Pharmaceutical Co Ltd)；JTP-4819(Japan Tobacco Inc.)、及びS-17092(Servier)である。

## 【0209】

QC阻害剤と組み合わせて本発明に従って使用することができるその他の適切な化合物は、NPY、NPY擬態、又はNPYアゴニスト、若しくはアンタゴニスト、又はNPY受容体のリガンドである。

## 【0210】

NPY受容体のアンタゴニストは、本発明では好ましい。

## 【0211】

NPY受容体の適切なリガンド、又はアンタゴニストは、WO 00/68197に開示したような、3a,4,5,9b-テトラヒドロ-1H-ベンズ[e]インドール-2-イルアミン由来の化合物である。

## 【0212】

言及してもよいNPY受容体アンタゴニストは、

## 【数7】

欧州特許出願 EP 0 614 911、EP 0 747 357、  
 EP 0 747 356、及び EP 0 747 378；国際特許出願公開第 WO 94/17035、WO 97/19911、WO 97/19913、  
 WO 96/12489、WO 97/19914、WO 96/22305、WO 96/40660、WO 96/12490、WO 97/09308、WO 97/20820、  
 WO 97/20821、WO 97/20822、WO 97/20823、WO 97/19682、WO 97/25041、WO 97/34843、WO 97/46250、  
 WO 98/03492、WO 98/03493、WO 98/03494、及び WO 98/07420；WO 00/30674、US 特許第 5,552,411  
 号、第 5,663,192 号、及び第 5,567,714 号；第 6,114,336 号、日本特許出願 JP 09157253；  
 国際特許出願公開番号 WO 94/00486、W093/12139、W095/00161、及び W099/15498；米国特  
 許第 5,328,899 号；ドイツ特許出願 DE 393 97 97；欧州特許出願 EP 355 794、及び EP 355  
 793；並びに日本特許出願 JP 06116284、及び JP 07267988

に開示されたものを含む。好ましいNPYアンタゴニストは、これらの特許文献に具体的に開示されている化合物を含む。より好ましい化合物は、アミノ酸、及び非ペプチドに基づいたNPYアンタゴニストを含む。言及してもよいアミノ酸、及び非ペプチドに基づいたNPYアンタゴニストは、

## 【数8】

10

欧州特許出  
 願 EP 0 614 911、EP 0 747 357、EP 0 747 356、及び EP 0 747 378；国際特許出願公開番  
 号 WO 94/17035、WO 97/19911、WO 97/19913、WO 96/12489、WO 97/19914、WO 96/22305、WO 96/40660、  
 WO 96/12490、WO 97/09308、WO 97/20820、WO 97/20821、WO 97/20822、WO 97/20823、WO 97/19682、  
 WO 97/25041、WO 97/34843、WO 97/46250、WO 98/03492、WO 98/03493、WO 98/03494、WO 98/07420、  
 及び WO 99/15498；US 特許第 5,552,411 号、第 5,663,192 号、及び第 5,567,714 号；並びに  
 日本特許出願 JP 09157253

20

に開示されたものを含む。好ましいアミノ酸、及び非ペプチドに基づいたNPYアンタゴニストは、これらの特許文献に具体的に開示されている化合物を含む。

## 【0213】

特に好ましい化合物は、アミノ酸に基づいたNPYアンタゴニストを含む。言及してもよいアミノ酸に基づいた化合物は、国際特許出願公開番号 WO 94/17035、WO 97/19911、WO 97/19913、WO 97/19914、又は好ましくは、WO 99/15498 に開示されたものを含む。好ましいアミノ酸に基づいたNPYアンタゴニストは、これらの特許文献、例えばBIBP3226に具体的に開示されているもの、及び特に、(R)-N2-(ジフェニルアセチル)-(R)-N-[1-(4-ヒドロキシ-フェニル)エチル]アルギニンアミド（国際特許出願公開番号 WO 99/15498 の実施例4）を含む。

40

## 【0214】

M1受容体アゴニスト、及びこのような阻害剤を含む組成物は、例えば WO 2004/087158、W 091/10664 に記述されている。

## 【0215】

本発明の目的のための適切なM1受容体アンタゴニストは、例えばCDD-0102 (Cognitive Pharmaceuticals)；セビメリン (Cevimeline) (Evoxac) (Snow Brand Milk Products Co. Ltd.)；NGX-267 (TorreyPines Therapeutics)；サボコメリン (sabcomeline) (GIAx SmithKline)；アルバメリン (alvameline) (H Lundbeck A/S)；LY-593093 (Eli Li

50

Ily & Co.) ; VRTX-3 (Vertex Pharmaceuticals Inc.) ; WAY-132983 (Wyeth)、及びCI-1017/ (PD-151832) (Pfizer Inc.) である。

【0216】

アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、及びこのような阻害剤を含む組成物は、例えば  
【数9】

10

WO 2006/071274, WO  
2006/070394, WO 2006/040688, WO 2005/092009, WO 2005/079789, WO  
2005/039580, WO 2005/027975, WO 2004/084884, WO 2004/037234, WO  
2004/032929, WO 03/101458, WO 03/091220, WO 03/082820, WO  
03/020289, WO 02/32412, WO 01/85145, WO 01/78728, WO 01/66096,  
WO 00/02549, WO 01/00215, WO 00/15205, WO 00/23057, WO 00/33840,  
WO 00/30446, WO 00/23057, WO 00/15205, WO 00/09483, WO 00/07600,  
WO 00/02549, WO 99/47131, WO 99/07359, WO 98/30243, WO 97/38993,  
WO 97/13754, WO 94/29255, WO 94/20476, WO 94/19356, WO 93/03034  
、及び WO 92/19238

に記述されている。

20

【0217】

本発明の目的のための適切なアセチルコリンエステラーゼ阻害剤は、例えばドネペジル (Donepezil) (Eisai Co. Ltd.) ; リバスチグミン (Novartis AG) ; (-)-フェンセリン (TorreyPines Therapeutics) ; ラドスチギル (Iadostigil) (Hebrew University of Jerusalem) ; ヒュペルジン (huperzine) A (Mayo財団) ; ガランタミン (Johnson & Johnson) ; メモクイン (Memoquin) (Universita di Bologna) ; SP-004 (Samaritan Pharmaceuticals Inc.) ; BGC-20-1259 (Sankyo Co. Ltd.) ; フィゾスチグミン (Forest Laboratories Inc.) ; NP-0361 (Neuropharma SA) ; ZT-1 (Debiopharm) ; タクリン (Warner-Lambert Co.) ; メトリホネット (Bayer Corp.)、及びINM-176 (WhanIn) である。

【0218】

30

NMDA受容体アンタゴニスト、及びこのような阻害剤を含む組成物は、例えば

## 【数10】

WO 2006/094674, WO  
 2006/058236, WO 2006/058059, WO 2006/010965, WO 2005/000216, WO  
 2005/102390, WO 2005/079779, WO 2005/079756, WO 2005/072705, WO  
 2005/070429, WO 2005/055996, WO 2005/035522, WO 2005/009421, WO  
 2005/000216, WO 2004/092189, WO 2004/039371, WO 2004/028522, WO  
 2004/009062, WO 03/010159, WO 02/072542, WO 02/34718, WO  
 01/98262, WO 01/94321, WO 01/92204, WO 01/81295, WO 01/32640, WO  
 01/10833, WO 01/10831, WO 00/56711, WO 00/29023, WO 00/00197, WO  
 99/53922, WO 99/48891, WO 99/45963, WO 99/01416, WO 99/07413, WO  
 99/01416, WO 98/50075, WO 98/50044, WO 98/10757, WO 98/05337, WO  
 97/32873, WO 97/23216, WO 97/23215, WO 97/23214, WO 96/14318, WO  
 96/08485, WO 95/31986, WO 95/26352, WO 95/26350, WO 95/26349, WO  
 95/26342, WO 95/12594, WO 95/02602, WO 95/02601, WO 94/20109, WO  
 94/13641, WO 94/09016、及び WO 93/25534

10  
20

に記述されている。

## 【0219】

本発明の目的のための適切なNMDA受容体アンタゴニストは、例えばメマンチン (Memantine) (Merz & Co. GmbH) ; トピラメート (Johnson & Johnson) ; AVP-923 (Neurodex) (Center for Neurologic Study) ; EN-3231 (Endo Pharmaceuticals Holdings Inc.) ; ネラメキサン (neramexane) (MRZ-2/579) (Merz and Forest) ; CNS-5161 (CeNeS Pharmaceuticals Inc.) ; デキサナビノール (dexanabinol) (HU-211 ; シンナビドール (Sinnabidol) ; PA-50211) (Pharmos) ; EpiCept NP-1 (Dalhousie University) ; インダントドール (indantadol) (V-3381 ; CNP-3381) (Vernalis) ; ペルジンフォテル (perzin fotel) (EAA-090、WAY-126090、EAA-129) (Wyeth) ; RGH-896 (Gedeon Richter Ltd.) ; トラキソプロジル (traxoprodil) (CP-101606) 、ベソンプロジル (besonprodil) (PD-196860、CI-1041) (Pfizer Inc.) ; CGX-1007 (Cognetix Inc.) ; デルセミン (delcemeine) (NPS-1506) (NPS Pharmaceuticals Inc.) ; EVT-101 (Roche Holding AG) ; (Synchroneuron LLC.) ; アカムプロサート (acamprosate) 、CR-3991、CR-2249、CR-3394 (Rottapharm SpA.) ; AV-101 (4-CI-キヌレニン (4-CI-KYN)) 、7-クロロ-キヌレン酸 (7-CI-KYNA) (VistaGen) ; NPS-1407 (NPS Pharmaceuticals Inc.) ; YT-1006 (Yaupon Therapeutics Inc.) ; ED-1812 (Sosei R&D Ltd.) ; ヒマンタン (himantane) (塩酸N-2-(アダマントリ)-ヘキサメチレン-イミン) (RAMS) ; ランシセミン (Lancicemine) (A-R-R-15896) (AstraZeneca) ; EVT-102、Ro-25-6981、及びRo-63-1908 (Hoffmann-La Roche Ag/Evotec) である。

30  
40

## 【0220】

更にまた、本発明は、それぞれの単独療法成分単独を上回る有益、又は相乗的な治療有効性を提供する、以下からなる群から選択される別の治療薬と組み合わせてQC阻害剤を投与する、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、膵炎、又は関節炎の治療のために有用な併用療法に関する：アンジオテンシン変換酵素 (ACE) の阻害剤；アンジオテンシンII受容体遮断薬；利尿剤；カルシウムチャネル遮断薬 (CCB) ；遮断薬；血小板凝集阻害剤；コレステロール吸収モジュレーター；HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤；高密度リポタンパク質 (HDL) を増加させる化合物；レニン阻害剤；IL-6阻害剤；抗炎症性副腎皮質ステロイド；抗増殖薬；一酸化窒素ドナー；細胞外基質合成の阻害剤；成長因子、又はサイトカイン

50

ンシグナル伝達阻害剤；MCP-1アンタゴニスト、及びチロシンキナーゼ阻害剤。

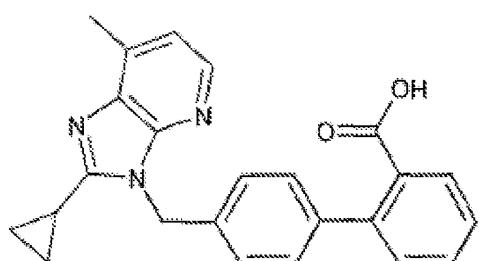
【0221】

アンジオテンシンII受容体遮断薬は、アンジオテンシンII受容体のAT1-受容体サブタイプに結合する活性薬剤であるが、受容体の活性化を生じないことが理解される。AT1受容体の遮断の結果として、これらのアンタゴニストは、例えば降圧薬として使用することができる。

【0222】

本発明の組み合わせに使用してもよい適切なアンジオテンシンII受容体遮断薬は、異なる構造的な特徴を有するAT1受容体アンタゴニストを含み、好ましくは、非ペプチド性の構造をもつものである。例えば、以下からなる群から選択される化合物の言及がなされるであろう：バルサルタン（EP 443983）、ロサルタン（EP 253310）、カンデサルタン（EP 459136）、エプロサルタン（EP 403159）、イルベサルタン（EP 454511）、オルメサルタン（EP 503785）、タソサルタン（EP 539086）、テルミサルタン（EP 522314）、式

【化28】



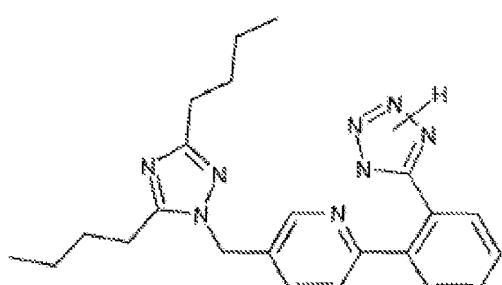
10

20

の名称E-41 77

以下の式

【化29】

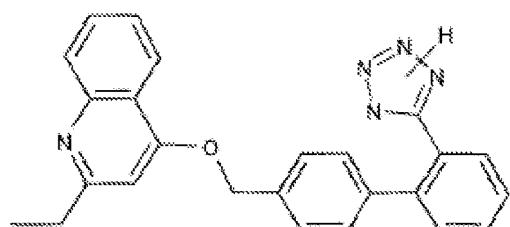


30

の名称SC-52458をもつ化合物、

及び式

【化30】



40

の名称ZD-8731をもつ化合物、

又はいずれの場合においても、これらの医薬として許容し得る塩。

【0223】

50

好ましいAT1-受容体アンタゴニストは、承認され、かつ販売に達した薬剤であって、最も好ましくは、バルサルタン、又はその医薬として許容し得る塩である。

【0224】

ACE阻害剤によるアンジオテンシンIIに対するアンジオテンシンの酵素的分解の妨害は、血圧の制御のための良好な変種であり、及び従って、高血圧症の治療のための治療方法に利用することができる。

【0225】

本発明の組み合わせにおいて使用される適切なACE阻害剤は、例えば以下から選択される化合物である：アラセブリル、ベナゼブリル、ベナゼブリラート、カプトブリル、セロナブリル(ceronapril)、シラザブリル、デラブリル、エナラブリル、エナブリラート(enaprilat)、フォシノブリル(fosinopril)、イミダブリル、リシノブリル、モベルトブリル(moveltopril)、ペリンドブリル、キナブリル、ラミブリル、スピラブリル、テモカブリル、及びトランドラブリル、又は、それぞれの場合、その医薬として許容し得る塩。

【0226】

好ましいACE阻害剤は、市販されている薬剤であり、最も好ましくは、ベナゼブリル、及びエナラブリルである。

【0227】

利尿薬は、例えば、クロロチアジド、ヒドロクロロチアジド、メチルクロロチアジド、及びクロロサリドンからなる群から選択されるチアジド誘導体である。最も好ましい利尿薬は、ヒドロクロロチアジドである。利尿剤には、アミロライド、若しくはトリアメテリン(triameterine)などのカリウム保持性利尿薬、又はその医薬として許容し得る塩を更に含む。

【0228】

CCBの種類には、本質的にジルチアゼム-型、及びベラパミル-型CCBなどのジヒドロピリジン(DHP)、並びに非DHPを含む。

【0229】

前記組み合わせに有用なCCBは、好ましくはアムロジピン、フェロジピン、リヨシジン(ryosidine)、イスラジピン、ラシジピン、ニカルジピン、ニフェジピン、ニグルジピン、ニルジピン、ニモジピン、ニソルジピン、ニトレングジピン、及びニバルジピンからなる群から選択されるDHP代表例であり、及び好ましくは、フルナリジン、プレニルアミン、ジルチアゼム、フェンジリン、ガロパミル、ミベフラジル、アニパミル、チアパミル、及びベラパミルからなる群から選択される非DHP代表例、並びにそれぞれの場合の、その医薬として許容し得る塩である。これらの全てのCCBは、例えば降圧薬、抗狭心症、又は抗不整脈薬として、治療的に使用される。

【0230】

好ましいCCBには、アムロジピン、ジルチアゼム、イスラジピン、ニカルジピン、ニフェジピン、ニモジピン、ニソルジピン、ニトレングジピン、及びベラパミル、又は例えば具体的CCBに応じて、その医薬として許容し得る塩を含む。特にDHPとして好ましくは、アムロジピン、又はその医薬として許容し得る塩、特にベシル酸塩である。非DHPの特に好ましい代表例は、ベラパミル、又は医薬として許容し得る塩、特に塩酸塩である。

【0231】

本発明に使用するために適した遮断薬は、ベータアドレナリン受容体に対してエピネフリンと競合し、かつエピネフリンの作用を妨げるアドレナリン作動性遮断薬(遮断薬)を含む。好ましくは、遮断薬は、アルファアドレナリン受容体と比較して、ベータ受容体に対して選択的であり、従って、有意な-阻害効果を有しない。適切な遮断薬には、アセブトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、カルテオロール、カルベジロール、エスマロール、ラベタロール、メトプロロール、ナドロール、オクスピレノロール、ペンブトロール、ピンドロール、プロプラノロール、ソタロール、及びチモロールから選択される化合物を含む。遮断薬が酸、若しくは塩基、又はさもなけ

10

20

30

40

50

れば医薬として許容し得る塩、又はプロドラッグを形成することができる場合、これらの形態は、本明細書に包含されるものとみなされ、化合物は、生理的に加水分解性の、及び許容し得るエステルなどの、遊離型で、又は医薬として許容し得る塩、若しくはプロドラッグの形態で投与されてもよいことが理解される。例えば、メトプロロールは、その酒石酸塩として適切に投与され、プロプラノロールは、塩酸塩、その他として適切に投与される。

#### 【 0 2 3 2 】

血小板凝集阻害剤には、PLAVIX（登録商標）（重硫酸クロピドグレル）、PLETAL（登録商標）（シロスタゾール）、及びアスピリンを含む。

#### 【 0 2 3 3 】

コレステロール吸収モジュレーターには、ZETIA（登録商標）（エゼチミブ）、及びKT6-971（Kotobuki Pharmaceutical Co. Japan）を含む。

#### 【 0 2 3 4 】

HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤（-ヒドロキシ- -メチルグルタリル-コ-酵素-Aレダクターゼ阻害剤、又はスタチンとも呼ばれる）は、血中のコレステロールを含む脂質レベルを低下させるために使用され得る活性薬剤であることが理解される。

#### 【 0 2 3 5 】

HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤の種類には、異なる構造的特徴を有する化合物を含む。例えば、アトルバスタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、及びシンバスタチンからなる群から選択される化合物、又はそれぞれの場合の、その医薬として許容し得る塩を挙げることができる。

#### 【 0 2 3 6 】

好ましいHMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤は、市販された薬剤であり、最も好ましくは、アトルバスタチン、ピタバスタチン、若しくはシンバスタチン、又はこれらの医薬として許容し得る塩である。

#### 【 0 2 3 7 】

HDLを増加する化合物には、コレステロールエステル転移タンパク質（CETP）阻害剤を含むが、限定されない。CETP阻害剤の例は、2002年7月30日に発行された米国特許第6,426,365号の実施例26に開示されたJTT705、及びその医薬として許容し得る塩を含む。

#### 【 0 2 3 8 】

インターロイキン6を媒介した炎症の阻害は、内因性コレステロール合成、及びイソブレノイド枯渇の制御を介して間接的に、又はインターロイキン-6阻害剤／抗体、インターロイキン-6受容体阻害剤／抗体、インターロイキン-6アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASON）、gp130タンパク質阻害剤／抗体、チロシンキナーゼ阻害剤／抗体、セリン／スレオニンキナーゼ阻害剤／抗体、分裂促進因子活性化されたタンパク質（MAP）キナーゼ阻害剤／抗体、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）阻害剤／抗体、核因子B（NF-B）阻害剤／抗体、I Bキナーゼ（IKK）阻害剤／抗体、活性化タンパク質-1（AP-1）阻害剤／抗体、STAT転写因子阻害剤／抗体、変化させたIL-6、IL-6、若しくはIL-6受容体の部分ペプチド、又はSOCS（サイトカインシグナリングの抑制因子）タンパク質、PPAR、及び／若しくはPPAR／デルタ活性化因子／リガンド、又はこれらの機能的断片を利用するシグナル伝達経路の直接抑制によって達成してもよい。

#### 【 0 2 3 9 】

適切な抗炎症性副腎皮質ステロイドは、デキサメサゾンである。

#### 【 0 2 4 0 】

適切な抗増殖薬は、クラドリビン、ラパマイシン、ピンクリスチン、及びタキソールである。

#### 【 0 2 4 1 】

細胞外基質合成の適切な阻害剤は、ハロフジノンである。

#### 【 0 2 4 2 】

適切な成長因子、又はサイトカインシグナル伝達阻害剤は、例えばras阻害剤R115777で

10

20

30

40

50

ある。

【0243】

適切なチロシンキナーゼ阻害剤は、チロホスチンである。

【0244】

適切なレニン阻害剤は、例えばWO2006/116435に記述されている。好ましいレニン阻害剤は、好ましくはそのヘミフル酸塩の形態の、アリスキレンである。

【0245】

MCP-1アンタゴニストは、例えば抗-MCP-1抗体、好ましくはモノクローナル、又はヒト化モノクローナル抗体、MCP-1発現阻害剤、CCR2-アンタゴニスト、TNF- 阻害剤、VCAM-1遺伝子発現阻害剤、及び抗C5aモノクローナル抗体から選択される。

10

【0246】

MCP-1アンタゴニスト、及びこのような阻害剤を含む組成物は、例えば

【数11】

WO 02/070509, WO 02/081463, WO 02/060900,  
US 2006/670364, US 2006/677365, WO 2006/097624, US 2006/316449,  
WO 2004/056727, WO 03/053368, WO 00/198289, WO 00/157226, WO  
00/046195, WO 00/046196, WO 00/046199, WO 00/046198, WO  
00/046197, WO 99/046991, WO 99/007351, WO 98/006703, WO  
97/012615, WO 2005/105133, WO 03/037376, WO 2006/125202, WO  
2006/085961, WO 2004/024921, WO 2006/074265

20

に記述されている。

【0247】

適切なMCP-1アンタゴニストは、例えばC-243 (Telik Inc.) ; NOX-E36 (Noxxon Pharma AG) ; AP-761 (Actimis Pharmaceuticals Inc.) ; ABN-912、NIBR-177 (Novartis AG) ; CC-11006 (Celgene Corp.) ; SSR-150106 (Sanofi-Aventis) ; MLN-1202 (Millenium Pharmaceuticals Inc.) ; AGI-1067、AGIX-4207、AGI-1096 (AtherioGenics Inc.) ; PRS-211095、PRS-211092 (Pharmos Corp.) ; 抗C5aモノクローナル抗体、例えばニュートラツマブ (neutrastumab) (G2 Therapies Ltd.) ; AZD-6942 (AstraZeneca plc.) ; 2-メルカプトイミダゾール (Johnson & Johnson) ; TEI-E00526、TEI-6122 (Deltagen) ; RS-5043 30 93 (Roche Holding AG) ; SB-282241、SB-380732、ADR-7 (GlaxoSmithKline) ; 抗-MCP-1 モノクローナル抗体 (Johnson & Johnson) である。

30

【0248】

MCP-1アンタゴニストとQC阻害剤の組み合わせは、一般に神経変性疾患を含む炎症性疾患の治療のために有用であろう。

【0249】

MCP-1アンタゴニストとQC阻害剤の組み合わせは、アルツハイマー病の治療のために好ましい。

【0250】

40

最も好ましくは、QC阻害剤は、以下の群から選択される1つ、又は複数の化合物と組み合わせられる：PF-4360365、m266、バピニューツマブ (bapineuzumab) 、R-1450、ポジフェン (Posiphen) 、(+) - フェンセリン、MK-0752、LY-450139、E-2012、(R)-フルルビプロフェン、AZD-103、AAB-001 (バピニューツマブ) 、トラミプロサート (Tramiprosate) 、EGb-761、TAK-070、ドキソフィリン、テオフィリン、シロミラスト、トフィミラスト (tofimilast) 、ロフルミラスト、テトミラスト、チペルカスト (tipelukast) 、イブジラスト、HT-0712、MEM-1414、オグレミラスト、リネゾリド、ブジピン、イソカルボキサジド、フェネルジン、トラニルシプロミン、インダンタドール (indantadol) 、モクロベミド、ラサギリン、ラドスチギル (ladostigil) 、サフィナミド (safinamide) 、ABT-239 50 、ABT-834、GSK-189254A、シプロキシファン (Ciproxifan) 、JNJ-17216498、Fmoc-Ala-P

yrr-CN、Z-Phe-Pro-ベンゾチアゾール、Z-321、Ono-1603、JTP-4819、S-17092、BIBP3226  
；(R)-N2-(ジフェニルアセチル)-(R)-N-[1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル]アルギニンアミド、セビメリン、サブコメリン(sabcomeline)、(PD-151832)、ドネペジル、リバスチグミン、(-)-フェンセリン、ラドスチギル、ガランタミン、タクリン、メトリホネート、メマンチン、トピラメート、AVP-923、EN-3231、ネラメキサン(neramexane)、バルサルタン、ベナゼプリル(benazepril)、エナラプリル、ヒドロクロロチアジド、アムロジピン、ジルチアゼム、イスラジピン、ニカルジピン、ニフェジピン、ニモジピン、ニソルジピン、ニトレングリピン、ベラパミル、アムロジピン、アセブトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、カルテオロール、カルベジロール、エスマロール、ラベタロール、メトプロロール、ナドロール、オクスピレノロール、ベンブトロール、ピンドロール、プロプラノロール、ソタロール、チモロール、PLAVIX(登録商標)(重硫酸クロピドグレル)、PLETAL(登録商標)(シロスタゾール)、アスピリン、ZETIA(登録商標)(エゼチミブ)、及びKT6-971、スタチン、アトルバスタチン、ピタバスタチン、又はシンバスタチン；デキサメサゾン、クラドリピン、ラパマイシン、ビンクリスチン、タキソール、アリスキレン、C-243、ABN-912、SSR-150106、MLN-1202、及びベータフェロン。

## 【0251】

特に、以下の組み合わせが、考えられる：

- アテローム性動脈硬化症の治療、及び／又は予防のためのアトルバスタチンと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
20
- 再狭窄の予防、及び／又は治療のための、免疫抑制剤、好ましくはラパマイシンと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
20
- 再狭窄の予防、及び／又は治療のための、免疫抑制剤、好ましくはパクリタキセルと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
30
- アルツハイマー病の予防、及び／又は治療のための、AChE阻害剤、好ましくはドネペジルと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
30
- 多発性硬化症の予防、及び／又は治療のための、インターフェロン類、好ましくはアロネクス(Aronex)と組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
30
- 多発性硬化症の予防、及び／又は治療のための、インターフェロン類、好ましくはベータフェロンと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
30
- 多発性硬化症の予防、及び／又は治療のための、インターフェロン類、好ましくはレビフ(Rebif)と組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
30
- 多発性硬化症の予防、及び／又は治療のための、コパキソン(Copaxone)と組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
40
- 再狭窄の予防、及び／又は治療のための、デキサメサゾンと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
40
- アテローム性動脈硬化症の予防、及び／又は治療のための、デキサメサゾンと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
40
- リウマチ疹関節炎の予防、及び／又は治療のための、デキサメサゾンと組み合わせた、QC阻害剤、特にQCI、  
40
- 再狭窄の予防、及び／又は治療のための、HMG-Co-A-レダクターゼ阻害剤と組み合わせた、QC阻害剤、特にQCIであって、該HMG-Co-A-レダクターゼ阻害剤がアトルバスタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、及びシンバスタチンから選択されるもの、  
50
- アテローム性動脈硬化症の予防、及び／又は治療のための、HMG-Co-A-レダクターゼ阻害剤と組み合わせた、QC阻害剤、特にQCIであって、該HMG-Co-A-レダクターゼ阻害剤がアトルバスタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、及びシンバスタチンから選択されるもの、  
50
- リウマチ様関節炎の予防、及び／又は治療のための、HMG-Co-A-レダクターゼ阻害剤と組み合わせた、QC阻害剤、特にQCIであって、該HMG-Co-A-レダクターゼ阻害剤がアトルバ

スタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、及びシンバスタチンから選択されるもの。

【0252】

このような併用療法は、AD、FAD、FDD、及びダウン症候群における神経変性、並びにアテローム性動脈硬化症、リウマチ様関節炎、再狭窄、及び膵炎のために特に有用である。

【0253】

このような併用療法は、いずれの薬剤単独でも生じるであろうよりも優れた治療効果（より少ない増殖、並びにより少ない炎症、増殖のための刺激）を生じるかもしれない。

【0254】

具体的なQCの阻害剤とさらなる化合物との組み合わせに関しては、特に、この点について、参考により本明細書に組み込まれるWO2004/098625を参照されたい。 10

【0255】

さらなる実施態様において、本発明は、以下から選択される炎症性疾患からなる群から選択される、疾患、又は状態を予防し、又は治療するための方法を提供する：

- a. 神経変性疾患、例えば軽度認知障害（MCI）、アルツハイマー病、ダウン症候群における神経変性、家族性英國認知症、家族性デンマーク認知症、多発性硬化症、
- b. 慢性、及び急性の炎症、例えばリウマチ様関節炎、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、膵炎、
- c. 線維症、例えば肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症、
- d. 癌、例えば癌／血管内皮腫増殖、胃癌腫、
- e. 代謝病、例えば高血圧症、
- f. 及びその他の炎症性疾患、例えば神経障害性の疼痛、移植片拒絶／移植片不全／移植片脈管障害、HIV感染症/AIDS、妊娠中毒症、結節硬化症。 20

【0256】

加えて、本発明は、任意の上記の疾患、又は状態の予防、又は治療のための医薬の製造のための本発明の化合物、及びこれらの対応する医薬として許容し得る酸性塩形態の使用を含む。

【0257】

最も好ましくは、本QC阻害剤は、上述の神経変性疾患の治療のために使用される。更に好ましくは、再狭窄、膵炎、リウマチ様関節炎、及びアテローム性動脈硬化症から選択される疾患、最も好ましくは再狭窄、又は膵炎の治療のための本発明のQC阻害剤の使用である。 30

【0258】

化合物は、経静脈、経口、皮下、筋肉内、皮内、非経口的、及びこれらの組み合わせを含むが、限定されない任意の従来の投与経路によって患者に投与してもよい。

【0259】

実施のさらなる好ましい形態において、本発明は、少なくとも1つの本発明の化合物、又はその塩を、任意に1つ、又は複数の医薬として許容し得る担体、及び／又は溶媒と組み合わせて含む、医薬組成物、すなわち医薬に関する。

【0260】

医薬組成物は、例えば、非経口的、又は経腸製剤の形態であっても、適切な担体を含んでいてもよく、又はこれらは、経口投与のために適した適切な担体を含んでいてもよい経口製剤の形態でもよい。好ましくは、これらは、経口製剤の形態である。 40

【0261】

本発明に従って投与されるQC活性の阻害剤は、阻害剤として、又は阻害剤、基質、偽基質、QC発現の阻害剤、結合タンパク質、若しくは哺乳類におけるQCタンパク質濃度を減少させる酵素タンパク質の抗体と組み合わせて医薬としてに投与可能な（administrable）製剤、又は製剤複合体に使用してもよい。本発明の化合物は、個々に治療を患者、及び疾患に合わせることができ、特に、個々の不耐性、アレルギー、及び副作用を回避することができる。 50

## 【0262】

また、本化合物は、時間の関数として、異なる程度の活性を示す。これにより、治療を提供する医師は、患者の個々の状況に対して異なる応答をする機会が与えられ：彼は、正確に、一方では、作用開始の速度、及び一方では、作用の期間、及び特に作用の強度を調整することができる。

## 【0263】

化合物は、例えば従来技術から知られている希釈剤、賦形剤、及び／又は担体のような慣習的な添加物と組み合わせて活性成分を含む医薬品製剤の形態で、都合よく投与してもよい。例えば、これらは、非経口的に（例えば、生理的食塩水中のi.v.）、又は経腸的に（例えば経口的に、慣習的な担体と共に処方される）投与することができる。

10

## 【0264】

それらの内因的安定性、及びそれらの生物学的利用能に応じて、所望のMCP活性の減少を達成するために、1つ、又は複数の化合物の用量を1日あたりに与えることができる。例えば、ヒトにおけるこのような用量範囲は、1日あたり約0.01mg～250.0mgでの範囲、好ましくは1日あたり体重キログラムあたり約0.01～100mgの化合物の範囲であってもよい。

## 【0265】

本発明に従って使用される化合物は、公知の様式に従って、それ自体を、例えば錠剤、（かむことができる）カプセル、糖衣錠、丸剤、坐薬、顆粒、エアロゾル、シロップ、ドロップ、液体、固体、及びクリーム様の乳剤、並びに懸濁液などの従来の製剤に、並びに／又はまた坐薬として、若しくは鼻内噴霧溶液として、不活性な、無毒の、医薬としてに適切な担体、及び添加物、又は溶媒を使用して、変換することができる。これらの製剤のそれぞれにおいて、治療的に有効な化合物は、好ましくは総混合物のおよそ0.1～80重量%、より好ましくは1～50重量%濃度で、言及した投薬量の許容範囲が得られるほど十分な量で存在する。

20

## 【0266】

製剤は、例えば溶媒、及び／又は担体と共に活性成分を伸ばすことによって、任意に乳化剤、及び／又は分散剤を用いて、都合よく調製してもよく、例えば、水が希釈剤として使用される場合、有機溶媒を任意に補助的な溶媒として使用することができる。

## 【0267】

本発明と関連して有用な賦形剤の例には、以下を含む：水、パラフィン（例えば天然の油留分）、植物油（例えば、菜種油、落花生油、ゴマ油）、アルコール（例えばエチルアルコール、グリセロール）、グリコール（例えばプロピレン glycol、ポリエチレン glycol）などの無毒の有機溶媒；固体担体、例えば、天然の粉末状ミネラル（例えば、高度に分散されたシリカ、ケイ酸）、糖（例えば、粗糖、乳糖、及びデキストロース）；非イオン性、及び陰イオン性の乳化剤などの乳化剤（例えば、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル、スルホン酸アルキル、及びアリールスルホナート）、分散剤（例えば、リグニン、亜硫酸蒸煮液、メチルセルロース、デンプン、及びポリビニルピロリドン）、及び潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、滑石、ステアリン酸、及びラウリル硫酸ナトリウム）、及び任意に調味料。

30

## 【0268】

投与は、好ましくは経腸的、又は非経口的に、特に経口的に通常の様式で実施してもよい。経腸投与の場合、錠剤は、言及した担体に加えて、デンプン、好ましくはジャガイモデンプン、ゼラチン等などの、種々の添加物と共に、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、及びリン酸カルシウムなどのさらなる添加物を言及した担体に加えて、含んでいてもよい。更にまた、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、及び滑石などの潤滑剤を、錠剤化するために同時に使用することができる。経口投与が意図される水性懸濁液、及び／又はエリキシルの場合、種々の味調整剤、又は着色剤を、上述の賦形剤に加えて活性成分に添加することができる。

40

## 【0269】

非経口投与の場合、適切な液体担体を使用して、活性成分の溶液を使用することができ

50

る。一般に、静脈内投与の場合、有効な結果を得るために1日あたりおよそ0.01～2.0mg/kg、好ましくはおよそ0.01～1.0mg/kgの体重の量を投与することが有利であることが見いだされており、経腸投与の場合、投薬量は、1日あたりおよそ0.01～2mg/kgに、好ましくはおよそ0.01～1mg/kgの体重である。

#### 【0270】

それにもかかわらず場合によっては、実験動物、若しくは患者の体重に応じて、又は投与経路のタイプにより、しかし、動物の種、及び医薬に対するその個々の反応、又は投与が実施される間隔に基づいて、明示された量から逸脱することが必要であってもよい。従って、一部の場合では、上述した最小量未満の使用で十分かもしれないが、他の場合には、言及した上限を上回られなければならないであろう。相対的に多くの量が投与される場合、これらの量を1日にわたって数回の単一用量に分けることが望ましいであろう。ヒト医薬における投与のためには、同じ投薬量の許容範囲が提供される。上記の所見は、その場合に類似して適用される。10

#### 【0271】

上記の開示は、全般的に本発明を記述する。より完全な理解は、以下の図、及び実施例を参照することによって得ることができる。これらの実施例は、単に例証のみのために記述してあり、本発明の範囲を限定することは意図されない。具体的用語を本明細書に使用したが、このような用語は、説明的な意味で、かつ限定のためではないことが意図される。20

#### 【実施例】

#### 【0272】

(参考実施例1：ヒトQCの調製)

宿主株、及び培地

ヒトQCの発現のために使用したピチア・パストリス (*Pichia pastoris*) 株X33 (AOX1、AOX2) は、製造業者の説明書 (Invitrogen) に従って、培養し、形質転換し、及び解析した。P. パストリス (*P. pastoris*) のために必要とされる培地、すなわち緩衝したグリセロール (BMGY) 複合培地、又はメタノール (BMMY) 複合培地、及び発酵基礎塩培地は、製造業者の推奨に従って調製した。20

#### 【0273】

(ヒトQCをコードするプラスミドベクターの分子クローニング)

全てのクローニング手順は、標準的な分子生物学技術を適用して行った。酵母における発現のためには、ベクターpPICZ B (Invitrogen) を使用した。pQE-31ベクター (Qiagen) を使用して大腸菌 (*E. coli*) においてヒトQCを発現した。コドン38で開始する成熟QCのcDNAを6×ヒスチジンタグをコードするプラスミドとインフレームで融合した。プライマ-pQCCyc-1、及びpQCCyc-2 (WO2004/098625) を利用する増幅、及びサブクローニングの後、断片をSphI、及びHindIIIの制限部位を使用して発現ベクターに挿入した。30

#### 【0274】

(*P. pastoris* の形質転換、及びミニスケール発現)

プラスミドDNAを大腸菌 (*E. coli*) JM109において増幅して、製造業者 (Qiagen) の推奨に従って精製した。使用した発現プラスミド (pPICZ B) では、3つの制限部位が直線化のために提供される。SacI、及びBstXIは、QC内のcDNAを切断したので、PmeIを直線化のために選択した。20-30 μgプラスミドDNAをPmeIで直線化して、エタノールによって沈殿して、無菌の脱イオン水に溶解した。次いで、10 μgのDNAを、製造業者の説明書 (Biorad) に従って、電気穿孔法によってコンピテントな*P. pastoris* (*P. pastoris*) 細胞の形質転換のために適用した。選択は、150 μg/ml Zeocinを含むプレートを使用して行った。直線化プラスミドを使用する1回の形質転換により、数百の形質転換体を得た。40

#### 【0275】

組換え酵母クローンをQC発現について試験するために、組換え体を、2mlのBMGYを含む10mlの円錐チューブにおいて24時間培養した。その後、酵母を遠心分離して、0.5%のメタノールを含む2mlのBMMYに再懸濁した。この濃度を24時間毎にメタノールを添加すること50

によって72時間まで維持した。その後、上清中のQC活性を決定した。融合タンパク質の存在は、 $6\times$ ヒスチジンタグ (Qiagen) に向けられた抗体を使用して、ウエスタンプロット分析によって確認した。最高のQC活性を示したクローニングを追実験、及び発酵のために選択した。

#### 【0276】

##### (発酵槽における大規模発現)

本質的に「ピチア属 (Pichia) 発酵過程指針」(Invitrogen) に記載されているように、QCの発現は、5lの反応器 (Biostat B, B. Braun biotech) において行った。簡潔には、細胞を微量塩と、及び唯一の炭素源 (pH 5.5) としてのグリセロールとを補った発酵基礎塩培地において培養した。約24時間の初期バッチ相、及びその後の約5時間の供給バッチ相の間に、大量の細胞が蓄積した。一旦200g/lの細胞湿重量が達成されたら、メタノールを使用して、およそ60時間の全ての発酵時間の間に3工程フィードプロフィールを適用して、QC発現の誘導を行った。その後、細胞を $6000\times g$ 、4にて15分間の遠心分離によってQCを含む上清から除去した。NaOHの添加によってpHを6.8に調整し、生じる濁った溶液を $37000\times g$ 、4にて40分間、再び遠心分離した。濁りが続く場合には、セルロース膜 (孔幅0.45 μm) を使用して、さらなる濾過工程を適用した。

#### 【0277】

##### (P. pastoris) に発現させた $6\times$ ヒスチジンタグを付けたQCの精製)

Hisタグを付けたQCは、最初に固定された金属アフィニティークロマトグラフィー (IMAC) によって精製した。典型的な精製では、1000mlの培養上清を、750mM NaClを含む50mM リン酸緩衝液pH 6.8で平衡化したNi<sup>2+</sup>を充填したChelating Sepharose FFカラム (1.6 x 20 cm, Pharmacia) に、5ml/分の流速で、適用した。10カラム容積の平衡緩衝液、及び5カラム容積の5mMヒスチジンを含む平衡緩衝液で洗浄後、結合したタンパク質を、150mM NaCl、及び100mMヒスチジンを含む50mMリン酸緩衝液、pH 6.8に交換することによって溶出させた。生じる溶出液を20mM Bi-Tris/HCl (pH 6.8) に対して4にて一晩透析した。その後、QCを、透析緩衝液で平衡化した陰イオン交換クロマトグラフィーMono Q6カラム (Biorad) によって更に精製した。QCを含む画分を、4ml/分の流速を使用してカラムに充填した。次いで、カラムを、100mM NaClを含む平衡緩衝液で洗浄した。溶出は、それぞれ30、又は5カラム容積の240mM、及び360mM NaClを含む平衡緩衝液を生じる2つの勾配によって行った。6mlの画分を収集して、純度をSDS-PAGEによって解析した。均質なQCを含む画分を限外濾過によってプールして、濃縮した。長期貯蔵 (-20) のために、グリセロールを50%の終濃度に添加した。タンパク質は、Bradford、又はGill、及びvon Hippelの方法に従って定量化した (Bradford, M. M. 1976 Anal Biochem 72, 248-254; Gill, S.C. 及びvon Hippel, P.H. 1989 Anal Biochem 182, 319-326)。

#### 【0278】

##### (大腸菌 (E. coli) におけるQCの発現、及び精製)

QCをコードする構築物をM15細胞 (Qiagen) に形質転換して、37にて選択的LB塞天プレートを培養した。タンパク質発現は、1%のグルコース、及び1%のエタノールを含むLB培地において室温にて実施した。培養がおよそ0.8のOD<sub>600</sub>に達したときに、発現を0.1 mMのIPTGで一晩誘導した。凍結解凍の1サイクル後、細胞を、300mM NaCl、及び2mMヒスチジンを含む50mMリン酸緩衝液、pH 8.0中の2.5mg/mlのリゾチームの添加によって、4にておよそ30分間溶解した。溶液を $37000\times g$ 、4にて30分間遠心分離によって浄化し、続いてガラスフリット (DNA分離) を適用する濾過、並びに粗製、及び微細な沈殿物に対してセルロースフィルターを適用する2回のさらなる濾過工程を行った。上清 (約500ml) を1ml/分の流速でNi<sup>2+</sup>-親和性カラム (1.6 x 20cm) に適用した。QCの溶出は、150mM NaCl、及び100mMヒスチジンを含む50mMリン酸緩衝液で実施した。QCを含む画分を、限外濾過によって濃縮した。

#### 【0279】

##### (参照実施例2 : MALDI-TOF質量分析)

マトリックス支援レーザー脱離 / イオン化質量分析は、リニア飛行時間分析器を備えた

10

20

30

40

50

Voyager De-Pro (Applied Biosystems、Darmstadt) を使用することによって実施した。本機器は、337nm室素レーザー、電位加速供与源、及び1.4m飛行管を備えた。検出器の操作は、陽イオンモードであった。試料(5μl)を同容積のマトリックス溶液と混合した。マトリックス溶液については、本発明者らは、1mlのアセトニトリル中の20mgシナピン酸(Sigma-Aldrich) / 水中の0.1%のTFA(1/1, v/v)を溶解することによって調製したシナピン酸を使用した。小容積(1μl)のマトリックス-分析物-混合物をプローブ先端部へ移した。

#### 【0280】

Glu<sup>1</sup>-環化の長期試験のために、A由来ペプチドを100μl 0.1M酢酸ナトリウム緩衝液、pH 5.2、又は0.1M Bis-Tris緩衝液pH 6.5中で30にてインキュベートした。ペプチドは、0.5mM[A 3-11a]、又は0.15mM[A 3-21a]の濃度で適用し、0.2UのQCを全て24時間添加した。A 3-21aの場合には、アッセイには1%DMSOを含めた。異なる時点にて、試料をアッセイチューブから除去して、製造業者の推奨に従ってZipTips (Millipore)を使用してペプチドを抽出し、マトリックス溶液(1:1 v/v)と混合し、その後に質量スペクトル記録した。ネガティブ対照には、QC、又は熱非活性化した酵素のいずれも含めなかつた。阻害剤研究のためには、試料組成は、添加した阻害性化合物(5mMベンズイミダゾール、又は2mM 1,10-フェナントロリン)を除き、上記と同じであった。

#### 【0281】

(実施例1：哺乳動物細胞培養におけるヒトMCP-1の調製、及び発現)

##### 株化細胞、及び培地

ヒト神経芽細胞腫株化細胞SH-SY5Y、ヒト胚腎臓株化細胞HEK293、及びヒト単球株化細胞THP-1を適切な細胞培地(DMEM、SH-SY5Y、及びHEK293のための10%のFBS)(RPMI1640、THP-1のための10%のFBS)において、5% CO<sub>2</sub>(HEK293、THP-1)、又は10% CO<sub>2</sub>(SH-SY5Y)の加湿された雰囲気において、37にて培養した。

#### 【0282】

##### ヒトMCP-1の単離

ヒトMCP-1の全長cDNAは、RT-PCRを使用してSH-SY5Y細胞から単離した。SH-SY5Y細胞の総RNAをSuperScript II (Invitrogen)によって逆転写して、その後にヒトMCP-1を、プライマーhMCP-1-1(センス)、及びhMCP-1-2(アンチセンス)(表1)を使用して、Pfu-DNA-Polymerase(Promega)で、25μl反応において産生したcDNA産物の1:12,5希釈で増幅させた。生じるPCR産物は、HindIII、及びNotI制限部位、及び配列を使用してベクターpcDNA A 3.1にクローン化し、DNAシーケンシングによって確認した。

#### 【0283】

##### ヒトMCP-1の部位特異的変異誘発

成熟ヒトMCP-1の第1の(Q1)並びに第1、及び第2の(Q1P2)アミノ酸の検出は、Q1(表1)のためにプライマー Q1-1、及び Q1-2、並びに Q1P2(表1)のためにプライマー Q1P2-1、及び Q1P2-2を使用して、部位特異的変異誘発によって産生した。親DNAは、Dpn Iで消化した。成熟ヒトMCP-1の欠失 Q1、及び Q1P2をもつpcDNA 3.1プラスミドを、大腸菌(E. coli)JM109に形質転換した。アンピシリン耐性クローンをシーケンシングによって確認して、その後EndoFree Maxi Kit (Qiagen)を使用して細胞培養目的のために単離した。

#### 【0284】

##### HEK293細胞におけるヒトMCP-1のN末端変異体の発現

ヒトMCP-1のN末端変異体の発現のためには、HEK293細胞をコラーゲンIコーティングした6穴ディッシュにおいて培養して、80%の集密度まで培養し、製造業者のマニュアルに従ってLipofectamin2000(Invitrogen)を使用してトランスフェクトし、トランスフェクション溶液において5時間インキュベートした。その後、細胞を通常の成長培地に一晩回収させた。その翌日、細胞を成長培地において更に24時間インキュベートした。QC阻害の有効性の解析のためには、細胞を特異的阻害剤の非存在、又は存在において24時間インキュベートした。24時間後、ヒトMCP-1変異体を含む培地を収集して、走化性能について遊走

10

20

30

40

50

アッセイで調査した。更にまた、細胞培養上清の一定分量を、ヒトMCP-1-ELISA ( Pierce ) を使用するヒトMCP-1濃度の定量化のために、-80 にて貯蔵した。

#### 【 0 2 8 5 】

##### トランスウェル走化性アッセイ

走化性アッセイは、 $5\text{ }\mu\text{m}$ の孔径をもつ24穴TransWellプレート ( Corning ) を使用して行った。HEK293に発現されたヒトMCP-1変異体を含む培地を化学誘引物質として使用した。これを助けるために、 $600\text{ }\mu\text{l}$ のN末端ヒトMCP-1変異体の培地をRPMI1640の無希釈、又は1 : 3、1 : 10、及び1 : 30希釈で、TransWellプレートの下部チャンバに適用した。更にまた、ベクター対照をトランスフェクトしたHEK293細胞の無希釈培地を、ネガティブ対照として下部チャンバに適用した。THP-1細胞を収集して、 $1 \times 10^6$ 細胞/ $100\text{ }\mu\text{l}$ の濃度でRPMI1640中に再懸濁して、 $100\text{ }\mu\text{l}$ の一定分量で上部チャンバに適用した。細胞を37 にて2時間化学誘引物質の方へ移動させた。その後に、上部チャンバからの細胞を廃棄して、下部チャンバを $50\text{ }\mu\text{l}$ のPBS中の70mM EDTAと混合して、37 にて15分間インキュベートして、膜に接着した細胞を遊離させた。その後、下部チャンバに遊走した細胞を、細胞カウンタ系 ( Schrfe System ) を使用して計数した。走化性インデックスは、刺激に遊走した細胞をネガティブ対照に遊走した細胞で割ることによって算出した。

#### 【 0 2 8 6 】

##### ( 実施例2：ヒトMCP-1<sub>( 1 - 76 )</sub> のタンパク質分解に対する研究 )

###### 方法

###### 組換えヒトDP4によるN末端分解

N末端グルタミン ( Peprotech ) で開始する、上記の実施例1において得られた、配列番号：2に示したとおりの核酸配列によってコードされる全長組換えヒトMCP-1<sub>( 1 - 76 )</sub> ( 配列番号：1 ) を $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ の濃度で25mM Tris/HCl pH 7.6に溶解した。MCP-1溶液は、組換えヒトQC ( $0.0006\text{mg/ml}$ ) ( 上記参照実施例1に従って得た、核酸配列については配列番号3 : 及びアミノ酸配列については配列番号：4 ) と30 にて3時間プレインキュベートし、その後に組換えヒトDP4 ( $0.0012\text{mg/ml}$ ) と30 にてインキュベートするか ( 図1を参照されたい ) 、又は事前にQC適用しないDP4とインキュベートした。生じるDP4切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、4時間、及び24時間後に解析した。

#### 【 0 2 8 7 】

##### ヒトリウマチ様滑膜線維芽細胞MMP-1によるN末端分解

ピログルタミル残基 ( Peprotech ) の代わりにN末端グルタミニルを有するヒト組換えMCP-1を $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ の濃度で25mM Tris/HCl ( pH 7.6 ) に溶解した。ヒトリウマチ様滑膜線維芽細胞からのMMP-1酵素前駆体 ( Calbiochem ) を25mM p-アミノフェニル水銀アセテート ( APMA ) を使用して活性化し、10 : 1のAPMA : 酵素混合物中に、37 にて3時間0.1N NaOHに溶解した。MCP-1は、組換えヒトQC ( $0.0006\text{mg/ml}$ ) と30 にて3時間間プレインキュベートして、その後にMMP-1と30 にてインキュベートしたか、又は事前にQC適用することなくMMP-1とインキュベートした。生じるMMP-1切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

#### 【 0 2 8 8 】

##### ヒトリウマチ様滑膜線維芽細胞MMP-1、及び組換えヒトDP4によるN末端分解

N末端グルタミンで開始するヒト組換えMCP-1 ( Peprotech ) を、 $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ の濃度で25mM Tris/HCl ( pH 7.6 ) に溶解した。ヒトリウマチ様滑膜線維芽細胞からのMMP-1酵素前駆体 ( Calbiochem ) を0.1N NaOH中で溶解した25mM p-アミノフェニル水銀アセテート ( APMA ) を使用して活性化した。10 : 1のAPMA : 酵素混合物を37 にて3時間インキュベートした。MCP-1溶液は、組換えヒトQC ( $0.0006\text{mg/ml}$ ) と30 にて3時間プレインキュベートして、その後にMMP-1、及びDP4と30 にてインキュベートしたか、又はQC適用することなくMMP-1、及びDP4とインキュベートした。生じるMMP-1切断産物は、Maldi-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

#### 【 0 2 8 9 】

##### ( 実施例3：ApoE3\*Leidenマウスにおけるカフで誘導されるアテローム性動脈硬化症の

10

20

30

40

50

促進に対する、QC特異的阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素(以下QCIとも命名した)の効果

#### タイムライン

30匹の雄ApoE3<sup>+</sup>Leidenマウス(12週齢)には、外科的カフ設置の前に3週間、軽く高コレステロール血症食餌を与えた。

#### 【0290】

3週後に、マウスは、外科的非収縮カフ設置を受け(0日)、血漿コレステロールレベルについてマッチした2群に分けた。マウスは、対照(酸性化した)飲料水、又はQC特異的阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素を含む飲料水のいずれかを2.4mg/mlの濃度で受けた。治療開始の7日後に、阻害剤濃度は、1.2mg/mlまで減少した。それぞれの群の5匹のマウスを単球接着、及び浸潤の解析のために2日後に屠殺して、並びに10匹のマウスを組織形態計測的解析のために2週後に屠殺して、アテローム硬化型病変の促進、及び新生内膜形成の阻害を定量化した。  
10

#### 【0291】

##### カフ設置の外科的手技

外科手術時に、マウスは、5mg/kgのドルミカム、0.5mg/kgのドミトル(Domitor)、及び0.05mg/kgのフェンタニルの腹腔内注射で麻酔した。このカクテルは、少なくとも1時間完全に麻酔させ、アンチセダン(Antisedan)2.5mg/kg、及びアネキサート(Anexate)0.5mg/kgで迅速にアンタゴナイズすることができる。

#### 【0292】

縦1cmの切開を脚の内側に作製して、大腿動脈を大腿神経、及び大腿静脈から3mmの長さで解剖する。大腿動脈は、結紮法で環状にして、非収縮性の微細な孔ポリエチレン管(0.4mmの内径、0.8mmの外径、2mmの長さ)を長軸方向に開いて、及び、大腿動脈の周辺にゆるくスリーブをつける。カフは、2つの結紮結び目で上に閉じる。皮膚を連続縫合で閉じる。  
20

#### 【0293】

手術後に、動物を数時間アンタゴナイズして、加温パッド上の清潔なケージに置いた。

#### 【0294】

##### 動物の屠殺

組織学的解析のために、動物をカフ設置の2日、又は14日後に屠殺した。麻酔後、胸を開いて、4%のホルムアルデヒドでの軽度の圧力-灌流(100mmHg)を、心臓穿刺によって3分間行った。灌流後、縦2cmの切開を脚の内側に作製して、カフをつけた大腿動脈を全体として収集して、4%のホルムアルデヒド中で一晩固定して、プロセスパラフィンに加工した。  
30

#### 【0295】

##### 単球接着、及びMCP-1発現の解析

一般の白血球の、及び特に単球/マクロファージのカフをつけた血管壁の活性化された内皮に対する接着は、カフ設置の2日後に収集した断面の顕微鏡分析によって解析した。接着及び/又は浸潤する、血管セグメントの管腔側に接着する細胞として同定される一般的の白血球の数、及び特に単球/マクロファージの数を計数して、横断切片あたりの細胞として、又は横断面あたりの定義された領域として示した。単球は、単球、及びマクロファージを認識するポリクローナルウサギAIA31240抗体による特異的な免疫組織化学的染色によって同定した。これらの切片に加えて、MCP-1に対して特異的な免疫組織化学的染色を行った。  
40

#### 【0296】

##### 血管再造形、及びアテローム性動脈硬化症の促進の解析

欠陥壁再造形、アテローム性動脈硬化症の促進、及び新生内膜形成は、14日後に屠殺した全てのマウスにおいて、形態計測学的に解析した。全ての関連した血管壁パラメーター(新生内膜形成、血管の周囲(すなわち、外部再造形)、培地厚、内腔狭窄)について、2つの群間の完全な比較を行った。アテローム性動脈硬化症の促進は、AIA31240抗体によ  
50

る病変領域におけるマクロファージ及び泡沫細胞に対する免疫組織化学的染色、によって解析した。更にまた、これらの切片は、MCP-1についても染色された。

#### 【0297】

(実施例4：ジペプチジル-ペプチダーゼ4(DP4)、アミノペプチダーゼPによる、及びヒト血清に存在するプロテアーゼによるヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>のタンパク質分解)

組換えヒトアミノペプチダーゼPによるN末端分解

ピログルタミル残基(Peprotech)の代わりにN末端グルタミニルを有するヒト組換えMCP-1を10 μg/mlの濃度で25mM Tris/HCl、pH 7.6に溶解した。MCP-1は、30 μg/ml アミノペプチダーゼP(R&D Systems)と30分にてインキュベートした。Gln<sup>1</sup>-MCP-1は、pGlu-修飾なしで使用するか、又はpGluを産生するために組換えヒトQC(6 μg/ml)と30分にて3時間プレインキュベートした。生じるアミノペプチダーゼP切断産物は、Mass-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。  
10

#### 【0298】

QC特異的阻害剤の非存在、及び存在における組換えヒトDP4によるMCP-1のN末端分解

N末端グルタミン(Peprotech)から開始する、上記の実施例1において得られた、配列番号：2に示したとおりの核酸配列によってコードされる組換えヒトMCP-1<sub>(1-76)</sub>(配列番号：1)を10 μg/mlの濃度で25mM Tris/HCl pH 7.6に溶解した。MCP-1溶液は、組換えヒトQC(0.0006mg/ml)(上記の参考実施例1に従って得た)と30分にて3時間プレインキュベートして、その後に組換えヒトDP4(0.0012mg/ml)と30分にてインキュベートするか(図1を参照されたい)、又は事前にQC適用なしでDP4とインキュベートした。加えて、組換えヒトQCとGln<sup>1</sup>-MCP-1のインキュベーションは、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の10 μMの存在において実施した。生じるDP4切断産物は、Mass-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、及び4時間後に解析した。  
20

#### 【0299】

ヒト血清におけるヒトMCP-1のN末端分解

ピログルタミル残基の代わりにN末端グルタミニルを有するヒト組換えMCP-1(Peprotech)を100 μg/mlの濃度で25mM Tris/HCl(pH 7.6)に溶解した。MCP-1は、組換えヒトQC(0.006mg/ml)と30分にて3時間プレインキュベートして、その後に30分にてヒト血清とインキュベートするか、又はQCを添加することなくヒト血清とインキュベートした。切断産物は、Mass-TOF質量分析法を使用してGln<sup>1</sup>-MCP-1について0分、10分、30分、1時間、2時間、3時間5時間、及び7時間、並びにpGlu<sup>1</sup>-MCP-1について0分、30分、1時間、2時間、3時間5時間、7時間、及び24時間後に解析した。  
30

#### 【0300】

(実施例5：ヒトMCP-2、MCP-3、及びMCP-4の分解)

DP4によるヒトMCP-2のN末端分解

ピログルタミル残基の代わりにN末端グルタミニルを有するヒト組換えMCP-2(Peprotech)を10 μg/mlの濃度で25mM Tris/HCl(pH 7.6)に溶解した。MCP-2は、組換えヒトQC(0.0006mg/ml)と30分にて3時間プレインキュベートして、その後に組換えヒトDP4(0.0012mg/ml)と30分にてインキュベートするか、又はQCとプレインキュベーションすることなく組換えヒトDP4(0.0012mg/ml)とインキュベートした。生じるDP4切断産物は、Mass-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。  
40

#### 【0301】

DP4によるヒトMCP-3のN末端分解

ピログルタミル残基の代わりにN末端グルタミニルを有するヒト組換えMCP-3(Peprotech)を10 μg/mlの濃度で25mM Tris/HCl(pH 7.6)に溶解した。MCP-3は、組換えヒトQC(0.0006mg/ml)と30分にて3時間プレインキュベートして、その後に組換えヒトDP4(0.00012mg/ml)と30分にてインキュベートするか、又は事前にQC適用することなく組換えヒトDP4(0.00012mg/ml)とインキュベートした。生じるDP4切断産物は、Mass-TOF質量分析法  
50

を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

### 【0302】

#### DP4によるヒトMCP-4のN末端分解

ピログルタミル残基の代わりにN末端グルタミニルを有するヒト組換えMCP-4 (Peprotech) を $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ の濃度で25mM Tris/HCl (pH 7.6) に溶解した。MCP-4は、組換えヒトQC ( $0.0006\text{mg/ml}$ ) と30 分にて3時間インキュベートして、その後に組換えヒトDP4 ( $0.00006\text{mg/ml}$ ) と30 分にてインキュベートするか、又は事前にQC適用することなく組換えヒトDP4 ( $0.000006\text{mg/ml}$ ) とインキュベートした。生じるDP4切断産物は、Mass-TOF質量分析法を使用して0分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、及び24時間後に解析した。

### 【0303】

#### (実施例6：ヒトMCP-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4の異なるN末端変異体の走化性能)

##### ヒトMCP-1のN末端変異体の走化性能

グルタミン1 (Gln<sup>1</sup>-MCP-1) (Peprotech) で開始するMCP-1を(i) pGlu<sup>1</sup>-MCP-1を產生するための組換えヒトQC、(ii) Asp<sup>3</sup>-MCP-1を產生するためのヒト組換えDP4、(iii) Lys<sup>5</sup>-MCP-1を產生するためのヒト滑膜線維芽細胞MMP-1、及びPro<sup>2</sup>-MCP-1を產生するためのヒト組換えアミノペプチダーゼPとインキュベートした。1、5、10、50、100、500、及び1000 ng/mlの濃度の產生されたMCP-1変異体を、THP-1走化性アッセイを使用して試験した( $n=3$ )。

### 【0304】

#### QC阻害剤の非存在、又は存在におけるヒトMCP-1の走化性能

N末端グルタミン (Gln<sup>1</sup>-MCP-1) (Peprotech) をもつMCP-1を組換えヒトQC、及びDP4 (Gln<sup>1</sup>-MCP-1 +QC +DP4) と共に、ヒト組換えDP4単独で (Gln<sup>1</sup>-MCP +DP4)、及び $10\text{ }\mu\text{M}$ のQC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素、及びDP4と組み合わせた組換えヒトQC (Gln<sup>1</sup>-MCP-1 +QC +QCI +DP4) と共にインキュベートした。1、5、10、50、100、500、及び1000 ng/mlの濃度の產生されたMCP-1変異体を、走化性アッセイを使用して試験した( $n=3$ )。

### 【0305】

#### N末端グルタミニル、又はピログルタミル残基を有するヒトMCP-1、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4の変異体の走化性能の比較

N末端グルタミン (Peprotech)、又はピログルタミル-残基をもつヒトMCP-1、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4を(ヒト組換えQCとGln<sup>1</sup>-MCPの、1:100の希釈での30 分にて2時間のインキュベーション)走化性能について試験した。1、5、10、50、100、500、及び1000 ng/mlの濃度の特定のMCPを、走化性アッセイ法を使用して試験した( $n=3$ )。

### 【0306】

#### N末端グルタミニル残基を有するヒトMCP-1、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4の変異体の走化性能のそれぞれのDP4切断産物との比較

N末端グルタミン (Peprotech) で開始するヒトMCP-1、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4を走化性アッセイに直接適用して、MCP-1、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4のDP4切断産物の走化性能と比較した。DP4切断産物の產生のためには、それぞれのMCPを、1:100希釈にてヒト組換えDP4とアッセイの前に30 分にて2時間インキュベートした。1、5、10、50、100、500、及び1000 ng/mlの濃度の特定のMCPを、走化性アッセイを使用して試験した( $n=3$ )。

### 【0307】

#### (実施例7：ラットにおけるLPSで誘導される敗血症のモデルに対するQC阻害剤の適用)

##### 調製

QC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素は、必要とされる最高の濃度で、0.9% (w/v) の生理食塩水を使用して処方した。より低い用量は、0.9% (w/v) の生理食塩水を使用する段階希釈によって得た。加えて、LPSの保存液 (1mg/mL) は、0.9% (w/v) の生理食塩水を使用して調製し、0.9% (w/v) の生理食塩水を使用して希釈して、投薬のために必要とされる濃度を提供した。

### 【0308】

10

20

30

40

50

## 濃度

用量レベルは、純度、又は活性な含量に関係なく、投与される阻害剤の量に関して表した。

### 【0309】

#### 種

雄Hanウィスターラットは、Charles River (UK) Ltd., Margate, Kentから得た。

### 【0310】

#### 順化、及び健康手順

到着次第、全ての動物を不健康について調べた。動物は、投薬前に少なくとも5日の期間の間、順化させた。この間、動物は、それらのケージラベルによって同定した。獣医学的検査を、任意の実験手順の開始前に行って、研究に対するそれらの適合性を確認した。 10

### 【0311】

#### 実験計画

研究は、2日にわたって行った（それぞれの日に、それぞれの処理群からの5匹の動物）。食物、及び水は、動物が研究手順のためにホームケージから除去される場合を除き、適宜利用できた。それぞれの動物には、ゆっくりとしたボーラス投与として2mL/kgの特定の用量容積を使用して、低、中、及び高用量で（表2）、LPS投与の3.5時間、及び0.5時間前に、媒体、又はQC阻害剤である1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の2回の単一静脈内投与を受けた。媒体、又は試験品の最後の投与の30分後、それぞれの動物には、5mL/kgの特定の用量容積を使用して、LPS、又は生理食塩水の腹腔内注射を受けた。個々の用量容積は、投薬日に得られた個々の体重に基づいた。研究のために使用した処理群を表2に示してある。 20

### 【0312】

#### サンプリング、及びTNF 決定

抹消血液試料は、LPSの2時間後に収集した。血液試料を2300×gにて4にて10分間遠心分離して、その後TNFについて解析した。試料は、定量的サンドイッチ酵素免疫アッセイを使用して解析した。

### 【0313】

（実施例8：チオグリコラートで誘導される腹膜炎のマウスモデルにおけるQC阻害剤の評価） 30

#### 動物

それぞれの実験について、C57/Bl6J野生型マウスは、Charles River Laboratories Inc.から購入された。それぞれの実験について、マウスは、年齢、及び性別がマッチしていた。

### 【0314】

#### チオグリコラートで誘導された腹膜炎の誘導

腹膜炎の誘導のために、マウスには、25mL/kg体重の無菌の8% (w/v) のチオグリコラートを腹腔内に (i.p.) 注射した (Sigma-Aldrich; 時間 : t=0)。チオグリコラート適用の前後の異なる時点にて、マウスには、種々の濃度のQC阻害剤をi.p.注射した。腹膜の洗浄のために、動物を、2%のイソフルランを使用して麻酔した。腹膜浸出物を、8mLの無菌のリン酸塩緩衝食塩水 (PBS) で腹膜を洗浄することによって、チオグリコラート注射後の時点 (4、24時間) にて収集した。その後、洗浄液を遠心分離して、細胞をペレットにして、FACS解析のために染色した。 40

### 【0315】

#### FACS解析を使用する収集した滲出液の細胞構成の解析

試料は、製造業者の説明書に従って、BD Trucountチューブを染色した (BD Trucountチューブ；カタログ番号 340334；BD Biosciences)。細胞をCD16/32 (Caltag) でブロックして、以下の抗体で15分間染色した : CD3-FITC (Caltag) / CD13-PE (BD) / F4/80-APC (Caltag) ; Moma2-FITC (Acris)、及びアイソタイプ対照としてIgG1-PE (BD) / IgG2a-APC (Caltag)。染色後に、細胞を暗がりで室温にて15分間BD FACSLyse (BD) で溶解した。参 50

照標準として試料につき5000ビーズのフローサイトメトリー解析をBD FACSCalibur ( BD Biosciences ) で行った。

### 【0316】

#### 結果

##### 哺乳動物細胞培養におけるヒトMCP-1の調製、及び発現

ヒト神経芽細胞腫株化細胞SH-SY5Y RNAからのヒトMCP-1の増幅により、300bpのPCR産物を生じた。単離されたcDNAのシーケンシングにより、システイン35をコードするコドン105の無変化の一塩基多型が明らかになった。

### 【0317】

HEK293におけるヒトMCP-1変異体の発現は、ヒトMCP-1 ELISAによってモニターすると、細胞培養上清内で高レベルに至る。これによると、MCP-1 ( WT ) 、及びMCP-1 ( Q1 ) ( 図5C ) の発現と、10 μM 塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素 ( 図7A ) の非存在、又は存在におけるMCP-1 ( WT ) との間のレベルは、著しく変わらない。しかし、MCP-1 ( Q1P2 ) の発現は、MCP-1 ( WT ) と比較して、28 %減少される。上清を収集して、TransWell遊走アッセイに適用した ( この点は、図4、及び5C、及びDを参照されたい ) 。

### 【0318】

#### TransWell走化性アッセイ

精製したヒトMCP-1は、誘引されるときに、釣鐘状の走化性用量応答曲線を示し、例えば、単球は、約1-50ng/mlにて最適を示す。従って、THP-1単球を誘引する走化性アッセイのためのMCP-1の最適な作用濃度を達成するために、産生されたMCP-1変異体を含む細胞培養上清を連続希釈した。

### 【0319】

MCP-1 ( WT ) 、及びMCP-1 ( Q1 ) の発現後、MCP-1変異体の濃度は、有意に異ならなかった ( 図5C ) 。走化性アッセイに対するMCP-1 ( WT ) の適用では、THP-1細胞の走化性反応を引き起こし ( 図5D ) 、高い走化性インデックスによって示された。しかし、MCP-1 ( Q1 ) は、THP-1の走化性を誘導することができず、約1の走化性インデックスによって示唆された ( 図5D ) 。これらの結果は、N切断されたMCP-1が不活性であるという以前の結果をサポートする。この知見は、MCP-1 ( Q1P2 ) がTHP-1細胞の走化性を誘導することができないことによって、更に立証される ( 図6B ) 。HEK293細胞におけるMCP-1 ( WT ) の発現は、走化性サイトカイン ( ケモカイン ) の非存在、又は存在におけるMCP-1濃度に対して影響を有しない。しかし、ケモカインの適用は、1 : 3に、及び1 : 10希釈にてTHP-1細胞の有意に低い走化性を引き起こす ( 図7B ) 。これは、QC-特異的阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素によるMCP-1 ( WT ) のN末端pGlu-形成の阻止、及び従ってN末端タンパク質分解性の分解による、又はpGlu形成の唯一の阻止によるMCP-1 ( WT ) の不活性化に示唆する。

### 【0320】

#### ヒトMCP-1 ( 1-76 ) のタンパク質分解性の分解についての研究

循環内で、MCP-1は、アミノペプチダーゼ、例えばDP4によるN末端切断に対して耐性を与えるN末端pGlu-残基によって保護される。QC阻害剤投与の結果、保護されていないN末端基は、DP4によって容易に切断される。N末端切断は、次に、ヒトMCP-1の不活性化を引き起こす ( 図5、及び6 ) 。MMP-1は、4つのN末端アミノ酸 ( pE/Q-P-D-A ) の切断によって、成熟したMCP-1を不活性化する。反応は、N末端pGlu残基の存在から独立している。このプロセスは、循環内でのMCP-1不活性化の状況を反映する。生じる切断産物MCP-1 ( 5-76 ) は、血漿内に存在することが示されており、天然に存在するCCR2受容体アンタゴニストに似ている。本実験は、MMP-1切断がN末端グルタミン残基の場合にわずかに速いという知見を示す ( 図2A : 2時間、4時間対2B : 2時間、4時間 ) 。更にまた、N末端Gln残基 ( 図3A ) を有するヒトMCP-1のヒトDP4、及びヒトMMP-1とのインキュベーションは、pGlu-MCP-1 ( 図3B ) と比較して、分解促進を示す。

### 【0321】

10

20

30

40

50

合わせて考えると、結果は、N末端pGlu形成が保護機構を表し、プロリン後切断酵素、例えばDP4、アミノペプチダーゼによるN末端分解に対して、かつMMP-1での結果によって暗示されるように、一定程度でエンドプロテアーゼにも耐性を与えることを暗示する。QC阻害剤適用によるN末端pGlu形成の阻止は、ヒトMCP-1のより迅速な不活性化を引き起こす。

### 【0322】

ApoE3<sup>+</sup>Leidenマウスにおける血管再造形、及びアテローム性動脈硬化症の促進の解析

ApoE3<sup>+</sup>Leidenマウスにおけるカフで誘導されるアテローム性動脈硬化症の促進の治療は、血管セグメントの外径内の総領域に対して効果を有さず（図8A）、残りの内腔において軽度の上昇を観察することができるが、残りの内腔に対しても統計学的に有意な効果を有さなかった（図8B）。しかし、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素は、内腔狭窄の割合に対して40%の十分な減少（図9A）、及び新生内膜形成の領域の45%の減少（図9B）を示す。両方の値は、統計学的に有意である。更にまた、阻害剤は、中膜の領域（図10A）、及び内膜／中膜比（図10B）を減少させたが、内膜／中膜比の減少は、統計学的に有意性を欠いた（P<0.102）。

10

### 【0323】

特定の血管壁層における細胞構成の解析では、2日、及び14日後に、中膜、及び周膜の両方の組成に対する、平滑筋細胞、及びマクロファージ／泡沫細胞の相対寄与に相違を示さない（図15）。MCP-1に対する、従って、単球誘引に対する塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の効果により、血管壁における単球／マクロファージ含量に対してより特異的な効果を予想することができるが、最近発見され、かつSchepers, A. 2006 Arterioscler Thromb Vasc Biol. 26, 2063～2069によって公開されたように、MCP-1は、また平滑筋細胞増殖に対しても直接的効果を有することに留意すべきである。

20

### 【0324】

単球接着、及びMCP-1発現の解析

塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素での穏和な高コレステロール血症のApoE3<sup>+</sup>Leidenマウス（血漿コレステロールレベル12-15mM）の治療は、2日後に45%の総接着細胞の十分な減少を生じた（p<0.05）。接着する単球の特異的解析により、治療されたカフをつけた血管セグメントに対し、67%の更により強力な減少（p<0.05）が明らかになった（図11）。

30

### 【0325】

MCP-1発現は、使用したモデルにおけるMCP-1発現の最高の上昇の瞬間である手術の2日後の塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素で治療したマウスの血管セグメントにおいて減少していた（図12、13A、14A）。これらの結果は、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素が投与されると、病変内の血管損傷後の早期に、血管壁セグメントの中膜、及び内膜（すなわち、内弾性板の内部）の両方においてMCP-1発現の減少を検出することができる事を示す。MCP-1について陽性の断面の相対的な領域の解析により、中膜におけるMCP-1発現の52%（P=0.01）の減少、及び内膜（図14A）における36%（P=0.001）の減少が明らかになった。MCP-1について陽性の絶対領域の解析（断面につき  $\mu\text{m}^2$  陽性で表してある）により、中膜（41%の減少、p=0.09）、及び内膜（40%の減少、p=0.05）におけるMCP-1発現の同様の減少が明らかになるが、中膜内の減少は、統計学的に有意でない（スチューデントT検定）（図13A）。

40

### 【0326】

14日後の時点では、新生内膜形成／アテローム性動脈硬化症の促進が進行したときに、全体のMCP-1発現は、初期時点について観察されるよりも低く、かつ対照的に、MCP-1発現の減少は、中膜において、又は新生内膜において、モニターすることができず（図13B、14B）、MCP-1の強力な誘導の時間についてのみの塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の効果を示唆する。

50

## 【0327】

合わせて考えると、これらのデータは、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の経口服用が、ApoE3\*Leidenカフモデルにおける介入後の血管再造形、及びアテローム性動脈硬化症の促進に対して有益な効果を有することを示す。

## 【0328】

QC-特異的阻害剤と組み合わせたヒトアミノペプチダーゼ、及びヒト血清によるヒトMCP-1(1-76)のタンパク質分解

N末端pGlu-残基の產生、及びそのその後のタンパク質分解の安定性に対する影響に対するQC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の効果のさらなる実施例証のために、N末端グルタミン(図17 A)、又はピログルタミン酸(図17 B)を有するヒトMCP-1をDP4とインキュベートした。N末端pGlu-形成は、生理学的な成熟過程を反映する、ヒトQCと前駆体のプレインキュベーションによって達成した。予想通りに、ヒトQCとのプレインキュベーションの非存在では、MCP-1は、DP4切斷に感受性である(図17 A)。対照的に、ヒトQCとのプレインキュベーションにより、N末端pGlu-残基の形成を、及び従って、DP4切斷に対するその保護を引き起こす(図17 B)。加えて、QC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の存在におけるヒトQCとのヒトMCP-1のプレインキュベーションにより、QCの阻害を、及び従って、pGlu-MCP-1形成の阻止を生じる。塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素によるpGlu-MCP-1形成の阻止は、MCP-1ペプチドをDP4切斷に対して再び感受性にさせる(図17 C)。従って、QCの阻害は、インビトロ、及びインビボでのMCP-1のN-末端の不安定化を引き起こす。

## 【0329】

DP4によるヒトMCP-1のN末端切斷に類似して、組換えヒトアミノペプチダーゼPとGln<sup>1</sup>-MCP-1のインキュベーションにより、保護されていないN-末端の切斷を引き起こす。これにより、アミノペプチダーゼPは、N末端アミノ酸をGln<sup>1</sup>とPro<sup>2</sup>との間で切斷して、N末端グルタミニル残基を遊離する(図16 A)。しかし、ヒトQCとのGln<sup>1</sup>-MCP-1のプレインキュベーションでは、N末端pGlu-残基の形成を生じさせ、従ってアミノペプチダーゼP切斷に対する保護を生じる(図16 B)。従って、N末端pGlu-残基の形成は、またアミノペプチダーゼP切斷に対する、及びおそらく他の全てのプロリン特異的アミノペプチダーゼの切斷に対する保護メカニズムである。ヒトMCP-1のタンパク質分解安定性についてのさらなる研究のために、精製したプロテアーゼとMCP-1のインキュベーションによって得られたデータを、ヒト血清とヒトMCP-1のインキュベーションによって立証した。ヒト血清とヒトGln<sup>1</sup>-MCP-1のインキュベーションは、基質のN末端切斷、及び最初の2つのアミノ酸(Gln<sup>1</sup>Pro<sup>2</sup>)の遊離を示す。加えて、血漿におけるQC活性は、N末端タンパク質分解と競合し、MCP-1を安定化し、約60%の切斷されたAsp<sup>3</sup>-MCP-1、及び40%の全長pGlu<sup>1</sup>-MCP-1の最終比で終わる(図18 A)。更にまた、ヒトQCとヒトMCP-1のプレインキュベーションにより、N末端pGlu-残基の形成を、及び従って、ヒトMCP-1の安定化を引き起こす。少なくとも選んだ時間枠、及び血清の希釈では、pGlu<sup>1</sup>-MCP-1の分解は、観察されなかった(図18 B)。加えて、9.6 μMのDP4-阻害剤であるイソロイシル-チイゾリジド(Thiyolidide)の存在における血清中でのMCP-1のインキュベーションもN末端分解を妨げ、これはMCP-1がDP4、又はヒト血清におけるDP4様の活性によって分解されることを証明している(図18 C)。

## 【0330】

ヒトMCP-2、MCP-3、及びMCP-4のタンパク質分解

ヒトMCP-1のN末端分解と同様に、DP4によるN末端切斷に対するその他のヒトMCP、すなわち、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4の感受性を調査した。以前にMCP-1について観察されたように、N末端pGlu-残基は、DP4によってMCP-2(図19 B)、MCP-3(図20 B)、及びMCP-4(図21 B)をタンパク質分解から保護する。しかし、N末端グルタミンで開始する環化されていない変異体は、Gln<sup>1</sup>-MCP-2(図19 A)、Gln<sup>1</sup>-MCP-3(図20 A)、及びGln<sup>1</sup>-MCP-4(図

21 A)について示したように、DP4によって容易に切断される。従って、N末端pGlu-残基は、DP4などのアミノペプチダーゼによる切断に対して全てのMCPを安定化する。従って、代謝回転の促進、並びに走化性、及び受容体活性化を引き起こすために、インビボにおいてQC活性を減少させるための提示した概念は、MCP-ファミリーの全てのメンバーに対して適用される。

### 【0331】

ヒトMCP-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4の異なるN末端変異体の走化性能

ヒトTHP-1単球を誘引する能力に対するMCP-1の異なるN末端変異体の影響を調査するために、Gln<sup>1</sup>-MCP-1、pGlu<sup>1</sup>-MCP-1、アミノペプチダーゼP切断産物Pro<sup>2</sup>-MCP-1、DP4切断産物Asp<sup>3</sup>-MCP-1、及びMMP-1切断産物Ile<sup>5</sup>-MCP-1をインビトロ走化性アッセイで試験した。N末端グルタミニル、又はピログルタミル-残基を有する全長MCP-1は、50ng/ml～100ng/mlの間の最大反応で、THP-1単球を誘引するのに同程度に強力であることが見いだされた。  
対照的に、アミノペプチダーゼP(Pro<sup>2</sup>-MCP-1)、及びDP4(Asp<sup>3</sup>-MCP-1)によるMCP-1の切断は、それぞれの変異体の能力の喪失を引き起こす。用量反応曲線がより高濃度に変化すると、最大反応を誘発することを必要とし、これは、N末端切断によるMCP-1の不活性化に対応する。MMP-1切断産物(Ile<sup>5</sup>-MCP-1)は、50ng/ml～100ng/mlの間でGlu<sup>1</sup>-MCP-1、及びpGlu<sup>1</sup>-MCP-1と同等の最大を有するか、しかし全長MCP-1と比較して、この変異体に移動する細胞の量(すなわち、走化性能)は、非常に低い(図22)。

### 【0332】

MCP-1を安定化する際のQCの役割、及びTHP-1単球の遊走に対するその影響を更に調査するために、Gln<sup>1</sup>-MCP-1をヒトDP4とインキュベートした。平行した試料において、MCP-1をDP4適用の前にヒトQCとプレインキュベートした。予想通り、得られた用量反応曲線は、50～100ng/mlにおける最大反応によって反映されるpGlu<sup>1</sup>-MCP-1のタンパク質分解の安定性を暗示する。対照的に、QCの非存在では、Gln<sup>1</sup>-MCP-1は、DP4によって切断され、これにより、最大反応を誘発するために必要とされるより高いMCP-1濃度(500-1000ng/ml)への用量反応曲線の変化を引き起こす。加えて、pGlu<sup>1</sup>-MCP-1と比較して、より高いMCP-1濃度への用量反応曲線の変化によって観察されるように(図23)、QC、及びQC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素とGln<sup>1</sup>-MCP-1のプレインキュベーションは、pGlu-形成を妨げ、及び従って、DP4切断に対して脆弱なペプチドを与える。従って、QCの阻害は、DP4による分解を介してMCP-1のN末端不安定化を、及び従って、単球走化性の活性に関するその不活性化を引き起こす。

### 【0333】

加えて、N末端グルタミン、又はピログルタミン酸を有するMCP-2、MCP-3、及びMCP-4がヒトTHP-1単球を誘引する能力を調査した。MCP-1と同様に、MCP-2、及びMCP-3のN末端におけるpGlu-形成は、それぞれのグルタミン-前駆体と比較して、能力に対して影響を有さない。しかし、MCP-4については、pGlu-形成は、ペプチドの能力をわずかに増加させる(図24)。しかし、グルタミニル-前駆体は、DP4によって切断されるので(図19、20、21)、また、MCP-2、MCP-3、及びMCP-4のN切断されたDP4切断産物の能力を、走化性アッセイを使用して調査した。全ての3つの変異体について、2つのアミノ酸による切断により、ケモカインの部分的な不活性化を引き起こす(図25)。従って、全ての公知のMCPのN末端におけるpGlu-形成は、N末端切断から保護するだけでなく、走化性能の喪失からも保護する。従って、N末端成熟の抑制によってMCP-1の活性を軽減するための提示したアプローチは、ヒトにおけるMCPファミリーの全てのメンバーに対して適用される。

### 【0334】

ラットにおけるLPSで誘導される敗血症のモデルに対するQC阻害剤の適用

塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の一般的な抗炎症性を調査するために、阻害剤をラットにおいてLPSで誘導される敗血症のモデルに適用した。炎症反応が開始したことのマーカーとして、サイトカインTNFのレベルを、QC阻害剤治療に応じて決定した。図26に図示したように、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素の適用は、低薬量

(5mg/kg)から中間用量(20mg/kg)までの範囲のTNF レベルの用量依存的な減少を引き起こす。加えて、最高用量(80mg/kg)でも、血漿におけるTNF -レベルを減少させるが、しかし、中間用量と比較してわずかな上昇が観察された。従って、QC阻害剤適用は、有意に、TNF を例にして本明細書に示した炎症性反応を減少させることができる。実験では、QC阻害剤の効果がMCPのN末端の不安定化のために高度に特異的であるが、このケモカインの不活性化は、TNF などのその他の炎症性パラメーターに対しても影響を有することを示す。従って、その他の炎症誘発性サイトカインの抑制は、MCPを不安定にする提示した概念のさらなる結果である。従って、本アプローチは、MCP作用の程度を変化させる異なる炎症性障害に対する薬物療法を開発するために適している。

#### 【0335】

10

マウスにおけるチオグリコラートで誘導される腹膜炎のモデルに対するQC阻害剤の適用 インビボでの免疫細胞の遊走に対するQC阻害剤投与の効果を更に調査するために、塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素をマウスのチオグリコラートで誘導される腹膜炎のモデルに適用した。腹膜透析液の細胞構成は、チオグリコール酸誘発の4時間、及び24時間後に、浸潤する単球に特に重点を置いて決定した。図27に示したように、QC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素は、4時間後に用量依存的に腹膜に浸潤する単球の数を減少させた。加えて、Moma2-陽性単球 / マクロファージの存在をチオグリコラート適用の24時間後に評価した。図28に図示したように、QC阻害剤である塩酸1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素は、有意にMoma2-陽性細胞の数も減少させた。従って、QCの阻害は、インビボでMCPのN-末端を不安定にする。

20

#### 【0336】

本実験は、治療効果を観察するための、QC阻害によるMCP不安定化の適用性を証明する。いくつかの炎症性障害、例えば、しかし限定されないアテローム性動脈硬化症、及び再狭窄の一般的特徴である単球の漸増は、抑制される。従って、本実験は、異なる炎症性障害におけるこれらの適用性についてQC阻害剤を特徴付けるための方法を提供する。

#### 【0337】

表1：利用したプライマー

【表11】

プライマー	配列 (5' → 3')	適用	配列番号
hMCP-1-1	ATAT AAGCTT ATGAAAGTCTCTGCCGCCCTTC	ヒト MCP-1の単離	5
hMCP-1-2	ATAT GCGGCCGC TCAAGTCTCGGAGTTGGG	ヒト MCP-1の単離	6
ΔQ1-1	CATTCCCCAAGGGCTCGCTCCAGATGCAATCAATGCC	部位特異的突然変異 ΔQ1	7
ΔQ1-2	GGCATTGATTGCATCTGGAGCGAGCCCTGGGAATG	部位特異的突然変異 ΔQ1	8
ΔQ1P2-1	CATTCCCCAAGGGCTCGCTGATGCAATCAATGCCAG	部位特異的突然変異 ΔQ1P2	9
ΔQ1P2-2	CTGGGGCATTGATTGCATCAGCGAGCCCTGGGAATG	部位特異的突然変異 ΔQ1P2	10

【0338】

表2：ラットにおいてLPSで誘導される敗血症におけるQC阻害剤の投薬

【表12】

群	静脈内治 療1	用量レベ ル (mg/kg)	製剤濃度 (mg/mL)	腹膜内治療 2	用量レベ ル (μg/kg)	製剤濃度 (μg/mL)	動物の数
1	媒体	-	-	生理食塩水	-	-	10
2	媒体	-	-	LPS	100	20	10
3	QCI	5	2.5	LPS	100	20	10
4	QCI	20	10	LPS	100	20	10
5	QCI	80	40	LPS	100	20	10

【0339】

(QC阻害剤の合成)

(合成スキーム1)：実施例1-53、96-102、136-137の合成

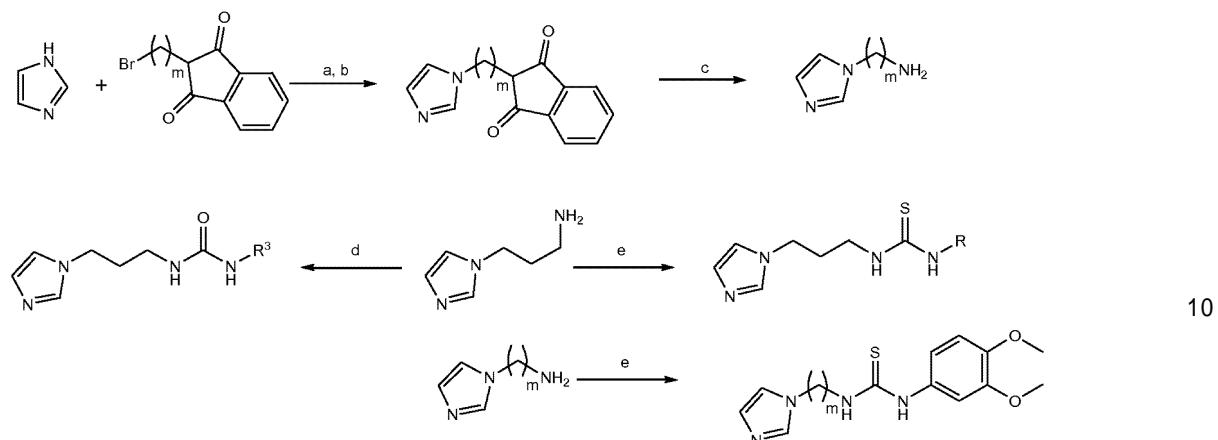
10

20

30

40

## 【化31】



## 【0340】

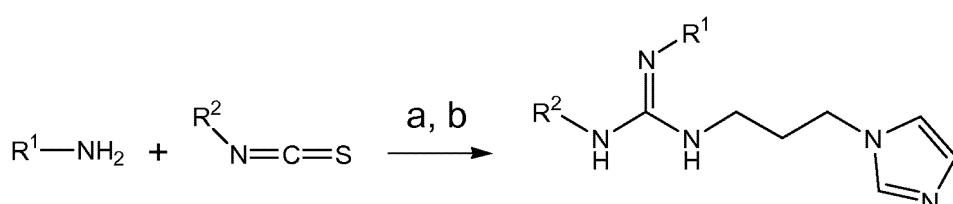
試薬、及び条件：(a) NaH、DMF、4時間、室温；(b) 8時間、100℃；(c) H<sub>2</sub>N-NH<sub>2</sub>、EtOH、8時間、還流、次いで4N HCl、6時間、還流、(d) R<sup>3</sup>-NCO、EtOH、6時間、還流、(e) 3,4ジメトキシ-フェニル-イソチオシアナート。

## 【0341】

(合成スキーム2)：実施例54-95の合成

20

## 【化32】



## 【0342】

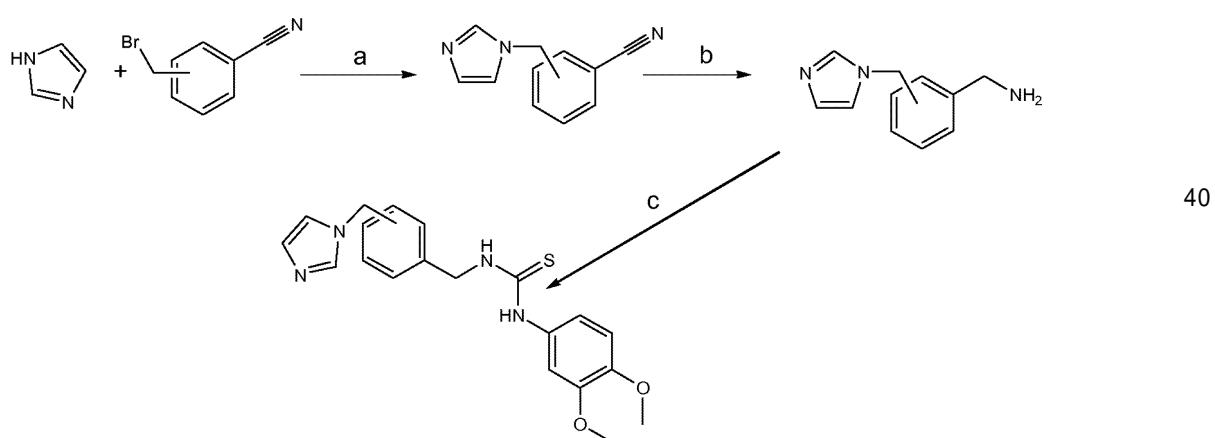
試薬、及び条件：(a) R-NCS、EtOH、6時間、還流；(b) WSCD、1H-イミダゾール-1-ブロパンアミン、DMF、2時間、室温。

30

## 【0343】

(合成スキーム3)：実施例103-105の合成

## 【化33】



## 【0344】

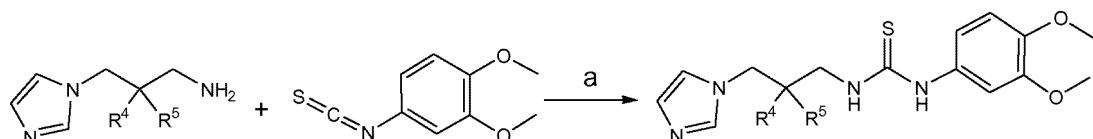
試薬、及び条件：(a) NaH、DMF、室温、3時間；(b) LiAlH<sub>4</sub>、ジオキサン、還流、1時間；(c) R-NCS、EtOH、還流、6時間。

50

## 【0345】

(合成スキーム4) : 実施例106-109の合成

## 【化34】



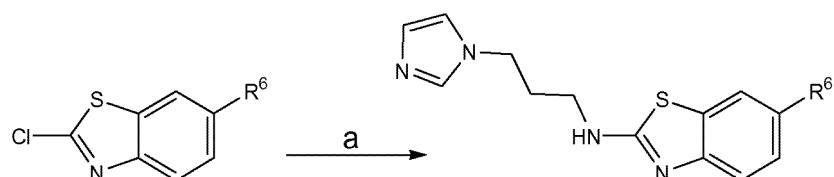
10

試薬、及び条件 : (a) EtOH、2時間、還流。

## 【0346】

(合成スキーム5) : 実施例110-112の合成

## 【化35】



20

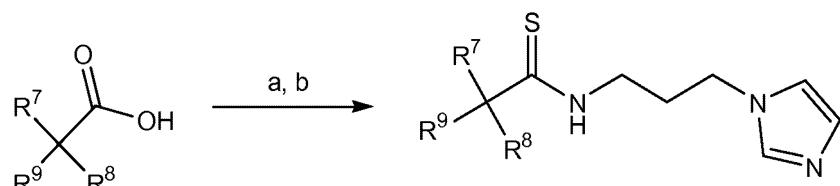
## 【0347】

試薬、及び条件 : (a) 1H-イミダゾール-1-プロパンアミン、トリエチルアミン、トルエン、12時間、還流。

## 【0348】

(合成スキーム6) : 実施例113-132の合成

## 【化36】



30

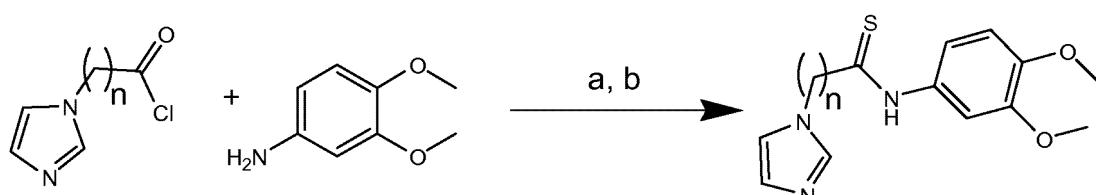
## 【0349】

試薬、及び条件 : (a) CAIBE、1H-イミダゾール-1-プロパンアミン、ジオキサン、0、12時間；(b) Lawesson試薬、EtOH、還流、8時間。

## 【0350】

(合成スキーム7) : 実施例133-135の合成

## 【化37】



40

## 【0351】

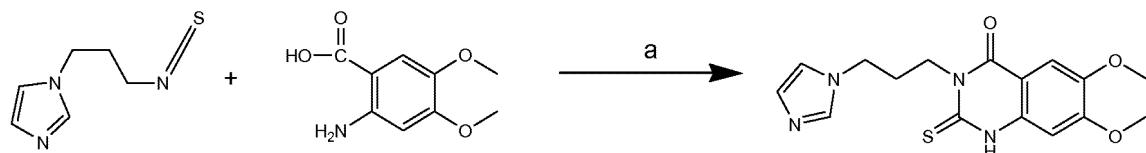
試薬、及び条件 : (a) 1H-イミダゾール-1-プロパン酸性塩化物、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、-10、1時間；(b) Lawesson試薬、ジオキサン、還流、8時間。

## 【0352】

(合成スキーム8) : 実施例138の合成

50

【化38】



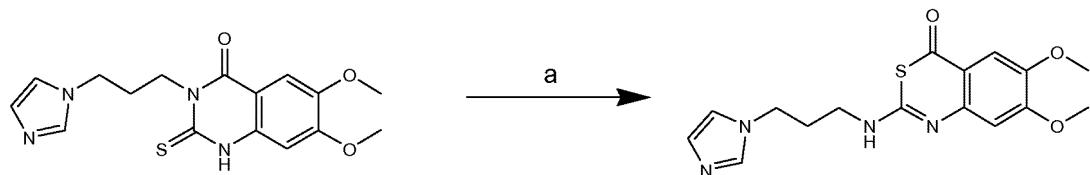
【0353】

試薬、及び条件：(a) EtOH、還流、8時間。

【0354】

(合成スキーム9)：実施例139の合成

【化39】



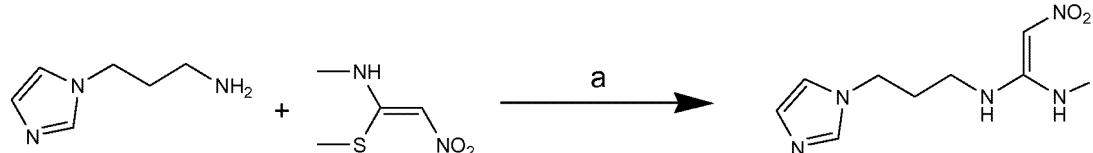
【0355】

試薬、及び条件：(a) 75%濃H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、4時間。

【0356】

(合成スキーム10)：実施例140の合成

【化40】



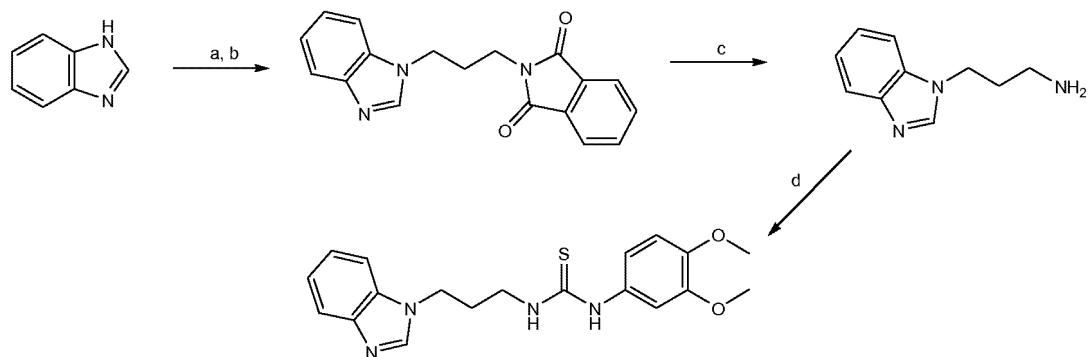
【0357】

試薬、及び条件：(a) アセトニトリル、還流、2時間。

【0358】

(合成スキーム11)：実施例141の合成

【化41】



【0359】

試薬、及び条件：(a) NaH、DMF、4時間、室温；(b) 8時間、100°C；(c) H<sub>2</sub>N-NH<sub>2</sub>、EtOH、8時間、還流、次いで4N HCl、6時間、還流、(d) 3,4ジメトキシ-フェニル-イソチオシアナート、EtOH、6時間、還流。

10

20

30

40

50

**【0360】**

(解析条件)

ESI-Massスペクトルは、SCIEX API 365分光計(Perkin Elmer)で得た。<sup>1</sup>H-NMR(500MHz)データは、溶媒としてDMSO-D<sub>6</sub>を使用してBRUKER AC 500で記録した。化学シフトは、テトラメチルシランから低磁場あたりの百万分率として表してある。分裂したパターンは、以下の通りに命名した：s(一重項)、d(二重項)、dd(二重項の二重項)、t(三重項)、m(多重項)、及びbr(広範なシグナル)。

**【0361】**

(詳細な合成記述)。

実施例1-12、及び14-53

10

1H-イミダゾール-1-プロパンアミンを8時間、還流下でエタノール中の対応するイソチオシアナートと反応させた。その後、溶媒を除去して、残りの油を塩化メチレンに溶解した。有機層をNaHCO<sub>3</sub>の飽和溶液、続いてNaHSO<sub>4</sub>、及び鹹水で2回洗浄し、乾燥させ、次いで蒸発させた。残りの固体を酢酸エチルから再結晶して、80~98%の収率で実施例のチオ尿素を得た。

**【0362】**

実施例13

1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素 4.0mmolの3,4-ジメトキシフェニルイソチオシアナート、及び4.0mmolの3-(1H-イミダゾール-1-イル)アルキル-1-アミンを10mLの無水エタノールに溶解した。還流下で2時間攪拌した後、溶媒を蒸発させて、生じる固体をエタノールから再結晶した。

20

**【0363】**

収率：0.66 g (51.3%) ; mp : 160.0 - 161.0

**【化42】**

<sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.7 - 6.8 (m, 1H), 6.9 (br m, 2H), 6.95 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.55 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.3 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

**【0364】**

実施例96-102

1H-イミダゾール-1-プロパンアミンを8時間、還流下でエタノール中の対応するイソシアナートと反応した。その後、溶媒を除去して、残りの油を塩化メチレンに溶解した。有機層をNaHCO<sub>3</sub>の飽和溶液、続いてNaHSO<sub>4</sub>、及び鹹水で2回洗浄し、乾燥させ、次いで蒸発させた。残りの固体を酢酸エチルから再結晶して、85~90%の収率で実施例の尿素を得た。

。

**【0365】**

実施例136、137

40

1H-イミダゾール-1-アルキルアミンは、文献に従って-ブロム-アルキル-フタルイミド、及びイミダゾリウム塩、及びその後のヒドラジン分解から調製した。生じる生成物を実施例1-53に従ってチオ尿素に変換して、88%(実施例136)、及び95%(実施例137)の収率を与えた。

**【0366】**

実施例54-95

全ての実施例は、乾燥ジメチルホルムアミド中で水溶性-カルボジイミド(WSGD)、及び1H-イミダゾール-1-プロパンアミンと室温にて2時間反応することによって、対応するチオ尿素から作製し、40~87%の収率で三置換グアニジンを与えた。

**【0367】**

50

## 実施例103-105

イミダゾールを、1当量のNaHを利用して、DMF中の対応するプロムメチルフェニルシアニドと室温下で3時間反応させて、1H-イミダゾール-1-メチルフェニルシアニドを与えた。溶媒を除去して、生じる油をジオキサンに再融解した。シアニドを、1当量のLiAlH<sub>4</sub>を使用して対応するアミンに変換した。KHSO<sub>4</sub>の飽和溶液を添加した後、ジオキサンを蒸発させて、水層をCHCl<sub>3</sub>によって抽出した。有機層を真空中で濃縮して、アミンを実施例1～53に従って対応するチオ尿素に変換し、78%（実施例103）、及び65%（実施例104）、及び81%（実施例105）を与えた。

## 【0368】

## 実施例106-109

10

対応するメタンスルホナート-2-メチルプロピル-フタルイミドから開始して、アミンを実施例136-137のアミンについて記述したとおりに合成した。生じる産物を実施例1-53に従ってチオ尿素に変換して、25～30%の全収率で実施例106～109を与えた。

## 【0369】

## 実施例110-112

1H-イミダゾール-1-プロパンアミンを130 の温度にて、24時間トルオール中の対応する2-クロロベンゾ[d]チアゾールと反応した。溶媒を除去し、メタノールから再結晶した後、実施例110～112を55～65%の量で得た。

## 【0370】

## 実施例113-118、120-124、及び126-132

20

1H-イミダゾール-1-プロパンアミンを0 の温度にて1当量のCAIBE、及びN-メチルモルホリンを添加することによって、乾燥ジオキサン中の対応する2-フェニル酢酸と反応させた。2時間後、混合物を室温に温めて、混合物を12時間攪拌した。溶媒を除去後、生じる油を塩化メチレンに再融解して、有機層をNaHCO<sub>3</sub>の水溶液、及び水によって洗浄し、乾燥させて、溶媒を蒸発させた。残りの油をジオキサンに溶解して、Laweson試薬を添加した。12時間攪拌した後、NaHCO<sub>3</sub>の飽和溶液を添加した。ジオキサンを蒸発させて、水層を酢酸エチルによって抽出した。有機層を分離して、乾燥させ、溶媒を蒸発させた。残りの固体をアセチルアセテート／エーテルから結晶化して、62～85%の全収率で113-118、120-124、及び126-132を与えた。

## 【0371】

30

## 実施例119

1 N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エタンチオアミド

4.0mmolトリエチルアミン、及び4.0mmolの3-(1H-イミダゾール-1-イル)アルキル-1-アミン、20mLのジオキサンの混合物を氷冷した30mLのジオキサン中の4.0mmolの2-(3,4-ジメトキシフェニル)アセチルクロライドの攪拌溶液に滴加した。混合物を室温に温めて、次いで、1時間攪拌した。減圧によって溶媒を除去させた後、残渣を50mLのジクロロメタンに再融解した。有機層をNaHCO<sub>3</sub>、及び水の30mLの飽和水性溶液によって洗浄した。有機溶液を乾燥させて、濾過して、溶媒を圧下で除去した。50mLの乾燥ジオキサンに再融解後、2.2mmolのLawesson試薬を添加して、混合物を90 まで加熱して、8時間攪拌した。溶媒を減圧によって除去して、残渣を50mLのジクロロメタンに再融解した。有機層をNaHCO<sub>3</sub>の飽和水性溶液によって3回、続いて水によって3回洗浄し、乾燥させて、濾過し、次いで、有機溶媒を除去した。化合物を、2mmの厚さの層のシリカブレート、及び溶出系としてのCHCl<sub>3</sub>/MeOH勾配を利用する遠心力-クロマトグラフィー装置（Harrison Research Ltd.）を使用して、クロマトグラフィーによって精製した。

40

収率：0.14 g (10.6%)；融点：148.0 - 150.0

## 【化43】

<sup>1</sup>H NMR δ 2.0 - 2.15 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.7 (s, 6H), 6.75 - 6.8 (m, 2H), 4.1 - 4.2 (m, 2H), 6.8 - 6.9 (m, 2H), 6.95 - 7.0 (m, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.75 - 7.85 (br m, 1H), 8.6 (s, 1H), 10.2 (s, 1H); MS m/z 320.2 (M+H), 252.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0372】

実施例125

10

N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-1-(3,4-ジメトキシフェニル)シクロプロパンカルボチオアミド

11.06mmolの3,4-ジメトキシフェニルアセトニトリル、34.8mmolの2-ブロモ-1-クロロエタノール、及び1.16mmolの塩酸トリエチルベンジルアンモニウムを、10mLのKOH(60%)水溶液に溶解した。混合物を超音波浴に移して、室温で3時間勢いよく攪拌した。生じる懸濁液を40mLの水で希釈して、20mLのジクロロメタンによって3回抽出した。合わせた有機層を塩酸の水溶液(1N)によって洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させて、溶媒を減圧下で除去した。残りの油を、シリカゲル、及び溶出系として酢酸エチル/ヘプタンを使用するフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、0.81g(34.4%)の1-(3,4-ジメトキシフェニル)シクロプロパンカルボニトリルを生じた。

20

## 【0373】

3.9mmolの1-(3,4-ジメトキシフェニル)シクロプロパンカルボニトリル、及び11.2mmolのKOHを80mLのエチレングリコールに懸濁した。混合物を還流下で12時間攪拌した。次いで、80mLの水を添加して、水層をエーテルで2回抽出した。HCl(1N)を使用してpH=4~5の値までpHを調整後、水層をエーテルによって3回抽出し、次いで合わせた有機層をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させて、溶媒を除去し、0.81g(93.5%)の1-(3,4-ジメトキシフェニル)シクロプロパンカルボン酸を生じた。

## 【0374】

3.44 mmol 1-(3,4-ジメトキシフェニル)シクロプロパンカルボン酸、3.5mmolのN-メチルモルホリン、及び3.5mmolのイソブチルクロロホルミアト(chloroformiat)を乾燥テトラヒドロフランに溶解して、-15℃にて15分間攪拌した。次いで、3.5mmolの3-(1H-イミダゾール-1-イル)アルキル-1-アミンを添加して、混合物を0℃に温めて、12時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去して、残りの油をクロロホルムに再融解した。次いで、有機層をNaHCO<sub>3</sub>の飽和水性溶液によって2回洗浄し、次いでNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させて、溶媒を除去した。2mmの厚さの層のシリカプレート、及び溶出系としてCHCl<sub>3</sub>/MeOH勾配を利用するクロマトトロン(登録商標)装置(Harrison Research Ltd.)を使用する遠心による強制的なクロマトグラフィーにより、精製を行い、0.671g(59.3%)のN-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-1-(3,4-ジメトキシフェニル)シクロプロパンカルボキサミドを生じた。

30

## 【0375】

30mLの乾燥ジオキサンに再融解後、1.43mmolのLawesson試薬を添加して、混合物を90℃まで加熱して、8時間攪拌した。溶媒を減圧によって除去して、残りであった残渣を50mLのジクロロメタンに溶解した。有機層をNaHCO<sub>3</sub>の飽和水性溶液によって3回、続いて水によって3回洗浄し、乾燥させて、濾過し、次いで、有機溶媒を除去した。化合物を、2mmの厚さの層のシリカプレート、及び溶出系としてCHCl<sub>3</sub>/MeOH勾配を利用する遠心力-クロマトグラフィー装置(Harrison Research Ltd.)を使用してクロマトグラフィーによって精製した。

40

収率: 0.33 g (46.2%) ; 融点: 127.0 - 127.5

## 【化44】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.1 - 1.2 (t, 2H), 1.55 - 1.6 (t, 2H), 2.0 - 2.1 (m, 2H), 3.5 - 3.6 (m, 2H), 3.7 - 3.8 (s, 6H), 4.1 - 4.2 (t, 2H), 6.8 - 6.9 (m, 3H), 7.65 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 8.8 (m, 1H), 9.05 (s, 1H); MS m/z 346.0 (M+H), 278.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•), 177.1 (M-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>S•)

。

## 【0376】

実施例133-135

10

ジオキサン中の1当量のトリエチルアミン、及び3,4-ジメトキシアニリンの混合物を対応する-ブロモアルキル酸塩化物の攪拌溶液に0°の温度にて添加した。溶液を室温に温めて、2時間攪拌した。溶媒を蒸発させて、残りの油をジクロロメタンに再融解した。有機層を水によって洗浄させて、乾燥させて、濾過して、溶媒を減圧下で除去した。

## 【0377】

イミダゾール、及び水素化ナトリウムを中で懸濁して、混合物を3時間室温にて不活性条件下で攪拌した。-ブロモ-N-(3,4-ジメトキシ-フェニル)アルキルアミドを添加して、混合物を100°まで加熱して、8時間攪拌した。その後、溶媒を蒸発させ、熱いトルエンを添加して、溶液を濾過した。次いで、溶媒を減圧下で除去した。例えば実施例113-132に記述したように、Laweson試薬によるチオアミドへの変換を行って、13~20%の全収率で133-135を与えた。

20

## 【0378】

上記の一般的合成スキームに従って合成されるさらなる実施例のための解析データは、以下の通りである：

## 【0379】

実施例1：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-メチルチオ尿素  
融点：122 - 122.5

## 【化45】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.85 - 1.95 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 3.2 - 3.5 (br d, 2H), 3.8 - 3.9 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.3 - 7.5 (br d, 2H), 7.65 (s, 1H); MS m/z 199.1 (M+H), 221.3 (M+Na), 131.0 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

## 【0380】

実施例2：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-tert-ブチルチオ尿素  
融点：147.0 - 147.5

## 【化46】

40

<sup>1</sup>H NMR δ 1.3 - 1.4 (s, 9H), 1.85 - 1.95 (m, 2H), 3.5 (t, 2H), 3.8 (t, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.3 - 7.5 (br d, 2H), 7.65 (s, 1H); MS m/z 241.1 (M+H), 173.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0381】

実施例3：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-ベンジルチオ尿素  
融点：127.0 - 128.0

## 【化47】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.85 - 1.95 (m, 2H), 3.2 - 3.5 (br d, 2H), 3.8 - 3.9 (m, 2H), 4.6 (s, 2H), 6.8 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.19 - 7.35 (m, 5H), 7.5 - 7.6 (br d, 2H), 7.85 (s, 1H); MS m/z 275.3 (M+H), 207.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0382】

実施例5: 1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-フェニルチオ尿素

10

融点: 166.5 - 167.0

## 【化48】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.95 - 2.05 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.05 (m, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.25 (m, 2H), 7.35 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.8 (br s, 1H), 9.5 (br s, 1H); MS m/z 261.1 (M+H), 193.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

20

## 【0383】

実施例6: 1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-フルオロフェニル)チオ尿素

融点: 147.0 - 148.0

## 【化49】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.95 - 2.05 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.05 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.05 - 7.15 (m, 3H), 7.3 - 7.4 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.7 - 7.8 (br s, 1H), 9.4 (br s, 1H); MS m/z 279.3 (M+H), 211.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

## 【0384】

実施例7: 1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-エチルフェニル)チオ尿素

融点: 100.0 - 100.5

## 【化50】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.15 - 1.2 (t, 3H), 1.9 - 2.0 (m, 2H), 2.5 - 2.6 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.05 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.1 - 7.2 (m, 3H), 7.25 - 7.3 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.7 - 7.8 (br s, 1H), 9.4 (br s, 1H); MS m/z 289.3 (M+H), 221.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

40

。

## 【0385】

実施例8: 1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)チオ尿素

融点: 154.5 - 155.0

## 【化51】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 3.4 - 3.6 (br d, 2H), 3.95 - 4.1 (br m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.6 - 7.8 (m, 5H), 8.2 (br s, 1H), 9.9 (br s, 1H); MS m/z 329.3 (M+H), 261.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0386】

実施例10：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-アセチルフェニル)チオ尿素 10

融点：170.0 - 171.0

## 【化52】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 2.4 - 2.5 (s, 3H), 3.2 - 3.5 (br m, 2H), 3.9 - 4.1 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.5 - 7.65 (br m, 3H), 7.8 - 7.9 (m, 2H), 8.1 (m, 2H), 9.8 (br s, 1H); MS m/z 303.2 (M+H), 235.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0387】

実施例11：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-メトキシフェニル)チオ尿素

融点：125.0 - 125.5

## 【化53】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.0 (br m, 2H), 3.2 - 3.5 (br m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.7 - 6.9 (m, 3H), 7.1 - 7.2 (m, 3H), 7.5 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.2 (s, 1H); MS m/z 291.1 (M+H), 223.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0388】

実施例14：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(2,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素

融点：120.0 - 120.5

## 【化54】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.5 (d, 1H), 6.6 (s, 1H), 6.9 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.3 (d, 1H), 7.5 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.75 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0389】

実施例15：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,5-ジメトキシフェニル)チオ尿素

融点：142.0 - 143.0

10

20

30

30

40

## 【化55】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.6 (s, 6H), 3.95 - 4.0 (m, 2H), 6.25 (m, 1H), 6.6 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0390】

実施例23：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-7-イル)-チオ尿素

融点：103.0 - 103.5

## 【化56】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.0 (br m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 4.2 - 4.3 (m, 4H), 6.7 (m, 1H), 6.8 - 6.8 (m, 1H), 6.9 (m, 2H), 7.2 (s, 1H), 7.6 (m, 2H), 9.3 (s, 1H); MS m/z 319.3 (M+H), 251.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

20

## 【0391】

実施例24：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-6-イル)チオ尿素

融点：115.0 - 115.6

## 【化57】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br d, 2H), 4.05 - 4.15 (m, 2H), 6.0 (s, 2H), 6.7 (m, 1H), 6.8 - 6.85 (m, 1H), 6.95 (d, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.7 (br s, 1H), 8.5 (br s, 1H), 9.4 (br s, 1H); MS m/z 305.2 (M+H), 237.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

## 【0392】

実施例25：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4,5-トリメトキシフェニル)チオ尿素

融点：124.5 - 125.5

## 【化58】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.6 (s, 3H), 3.7 (s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.65 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.7 (br s, 1H), 9.4 (s, 1H); MS m/z 351.3 (M+H), 283.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

40

。

## 【0393】

実施例26：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3-メトキシフェニル)チオ尿素

融点：89.5 - 90.0

## 【化59】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.6 - 6.7 (m, 1H), 6.8 - 6.9 (m, 2H), 7.1 (m, 2H), 7.15 - 7.25 (br m, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.8 (br s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 291.1 (M+H), 223.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0394】

実施例27：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-エトキシフェニル)チオ尿素 10

融点：126.0 - 126.5

## 【化60】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.5 (br m, 3H), 1.9 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.9 - 4.0 (br m, 4H), 6.8 - 6.9 (m, 2H), 6.95 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.55 - 7.6 (br s, 1H), 7.8 (s, 1H), 9.3 (s, 1H); MS m/z 305.2 (M+H), 237.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0395】

実施例33：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-(メチルチオ)フェニル)チオ尿素

融点：140.0 - 140.5

## 【化61】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.05 (br m, 2H), 2.5 (s, 3H), 3.3 - 3.5 (br m, 2H), 3.9 - 4.1 (m, 2H), 6.9 (m, 1H), 7.1 - 7.3 (br m, 5H), 7.6 (s, 1H), 7.75 (br s, 1H), 9.4 (s, 1H); MS m/z 307.2 (M+H), 239.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0396】

実施例42：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-ニトロフェニル)チオ尿素

融点：165.0 - 166.0

## 【化62】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.05 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.95 - 4.05 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.6 (d, 1H), 7.7 (m, 2H), 8.1 (m, 2H), 8.3 (br s, 1H), 10.1 (br s, 1H); MS m/z 306.2 (M+H), 237.9 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0397】

実施例50：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(4-(ジメチルアミノ)フェニル)チオ尿素

融点：146.5 - 147.0

10

20

30

40

## 【化63】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.0 (m, 2H), 2.9 (s, 6H), 3.4 (m, 2H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.7 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.05 - 7.1 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.4 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.2 (s, 1H); MS m/z 304.2 (M+H), 236.0 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0398】

実施例102：1-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)  
尿素 10

融点：114.5 - 115.0

## 【化64】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.7 - 1.9 (m, 2H), 2.9 - 3.1 (m, 2H), 3.7 (2s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.1 (t, 1H), 6.7 (s, 2H), 6.8 (s, 1H), 7.15 (d, 2H), 7.6 (s, 1H), 8.2 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

20

。

## 【0399】

実施例106：1-((S)-3-(1H-イミダゾール-1-イル)-2-メチルプロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)-チオ尿素

融点：150.5 - 151.5

## 【化65】

<sup>1</sup>H NMR δ 0.9 (d, 3H), 2.3 - 2.4 (m, 2H), 2.5 (s, 1H), 3.7 (d, 6H), 4.0 - 4.1 (br m, 1H), 4.15 - 4.25 (br m, 1H), 6.75 - 6.8 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.9 - 7.0 (m, 1H), 7.65 (s, 1 H), 7.75 (s, 2H), 9.1 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 335.6 (M+H), 267.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

## 【0400】

実施例107：1-((R)-3-(1H-イミダゾール-1-イル)-2-メチルプロピル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)-チオ尿素

融点：155.0 - 157.5

## 【化66】

40

<sup>1</sup>H NMR δ 0.9 (d, 3H), 2.3 - 2.4 (m, 2H), 2.5 (s, 1H), 3.7 (d, 6H), 4.0 - 4.1 (br m, 1H), 4.15 - 4.25 (br m, 1H), 6.75 - 6.8 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.9 - 7.0 (m, 1H), 7.65 (s, 1 H), 7.75 (s, 2H), 9.1 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 335.4 (M+H), 267.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

## 【0401】

50

実施例109：1-((1H-イミダゾール-1-イル)メチル)シクロプロピル)メチル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素

融点：166.5 - 168.5

### 【化67】

<sup>1</sup>H NMR δ 0.7 - 0.8 (br m, 2H), 1.85 - 1.9 (m, 1H), 2.15 - 2.2 (m, 1H), 2.2 - 2.3 (m, 1H), 3.4 - 3.5 (m, 1H), 3.7 (d, 6H), 4.2 (s, 1H), 4.95 (s, 1H), 6.75 - 6.8 (br m, 1H), 6.85 - 6.9 (br m, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.6 (m, 1H), 7.7 (s, 0.5H), 7.8 (s, 0.5H), 8.85 (s, 0.5 H), 9.1 (s, 0.5H), 9.35 (s, 0.5H), 9.45 (s, 0.5H); MS m/z 347.2 (M+H), 279.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•), 137.5 (M-C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>S•)

10

。

### 【0402】

実施例110：N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)ベンゾ[d]チアゾール-2-アミン

### 【化68】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.95 - 2.15 (m, 2H), 3.25 - 3.35 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (t, 2H), 6.9 (s, 1H), 6.95 - 7.05 (t, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 2H), 7.35 - 7.4 (d, 1H), 7.60 - 7.70 (m, 2H), 8.0 - 8.1 (br s, 1H); MS m/z 259.4 (M+H), 191.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

20

。

### 【0403】

実施例111：N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-6-クロロベンゾ[d]チアゾール-2-アミン

### 【化69】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.95 - 2.15 (m, 2H), 3.25 - 3.35 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (t, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.1 - 7.2 (d, 2H), 7.3 - 7.4 (d, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 8.2 (s, 1H); MS m/z 293.3 (M+H), 225.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

### 【0404】

実施例112：N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-6-メトキシベンゾ[d]チアゾール-2-アミン

### 【化70】

40

<sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.05 (m, 2H), 3.2 - 3.3 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 4.0 - 4.1 (t, 2H), 6.7 - 6.8 (d, 1H), 6.9 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (s, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.8 (s, 1H); MS m/z 289.1 (M+H), 221.4 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

### 【0405】

実施例115：(R)-N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-2-フェニルプロパンチオ

50

アミド

融点 : 82.0 - 82.5

【化71】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.4 - 1.55 (d, 3H), 1.9 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.85 - 3.95 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (q, 1H), 6.8 - 6.9 (s, 1H), 7.1 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.35 - 7.4 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 10.1 (s, 1H); MS m/z 274.4 (M+H), 206.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

10

。

【0406】

実施例116 : (S)-N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-2-フェニルプロパンチオアミド

融点 : 82.5 - 83.5

【化72】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.4 - 1.55 (d, 3H), 1.9 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.85 - 3.95 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (q, 1H), 6.8 - 6.9 (s, 1H), 7.1 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.35 - 7.4 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 10.1 (s, 1H); MS m/z 274.4 (M+H), 206.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

20

。

【0407】

実施例121 : N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-1-(4-クロロフェニル)シクロブタンカルボ-チオアミド

融点 : 137.5 - 139.0

【化73】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.55 - 1.75 (br m, 2H), 1.85 - 1.95 (br m, 2H), 2.4 - 2.5 (br m, 2H), 2.7 - 2.85 (br m, 2H), 3.3 - 3.5 (br m, 2H), 3.8 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.3 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.5 (m, 2H), 9.6 (t, 1H); MS m/z 334.3 (M+H), 266.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

【0408】

実施例122 : N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-1-(4-クロロフェニル)シクロブタンカルボ-チオアミド

40

融点 : 140.0 - 141.0

【化74】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.5 - 1.65 (br m, 4H), 1.8 - 1.9 (m, 2H), 2.0 - 2.1 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.7 - 3.8 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.4 (m, 2H), 7.5 (s, 1H), 9.4 (t, 1H); MS m/z 348.2 (M+H), 280.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

【0409】

50

実施例123 : N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-1-(4-メトキシフェニル)シクロブタンカルボ-チオアミド

融点 : 162.5 - 164.0

【化75】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.2 - 1.3 (m, 1H), 1.35 - 1.5 (br m, 5H), 1.85 - 2.0 (br m, 4H), 2.4 - 2.6 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.8 (m, 2H), 6.8 (m, 3H), 7.0 (s, 1H), 7.3 (m, 2H), 7.5 (s, 1H), 9.2 (t, 1H); MS m/z 358.3 (M+H), 290.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

10

。

【0410】

実施例124 : N-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロピル)-1-(4-メトキシフェニル)シクロブタンカルボ-チオアミド

融点 : 129.0 - 129.5

【化76】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.0 - 1.1 (m, 2H), 1.5 - 1.6 (m, 2H), 1.9 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.9 (m, 2H), 6.9 (m, 3H), 7.1 (s, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 8.9 (br s, 1H); MS m/z 316.0 (M+H), 248.4 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

20

。

【0411】

実施例134 : 5-(1H-イミダゾール-1-イル)-N-(3,4-ジメトキシフェニル)ペンタンチオアミド

融点 : 128.0 - 128.5

【化77】

<sup>1</sup>H NMR δ 1.65 - 1.70 (m, 2H), 1.75 - 1.80 (m, 2H), 2.7 - 2.75 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 4.0 - 4.05 (t, 2H), 6.9 - 7.0 (m, 2H), 7.2 (s, 1H), 7.3 (d, 1H), 7.5 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 11.0 (s, 1H); MS m/z 320.2 (M+H), 252.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

30

。

【0412】

実施例136 : 1-(2-(1H-イミダゾール-1-イル)エチル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)チオ尿素

融点 : 157.5 - 159.0

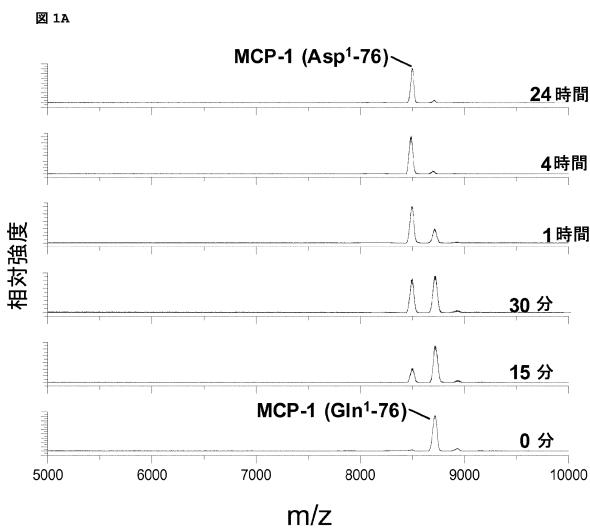
【化78】

40

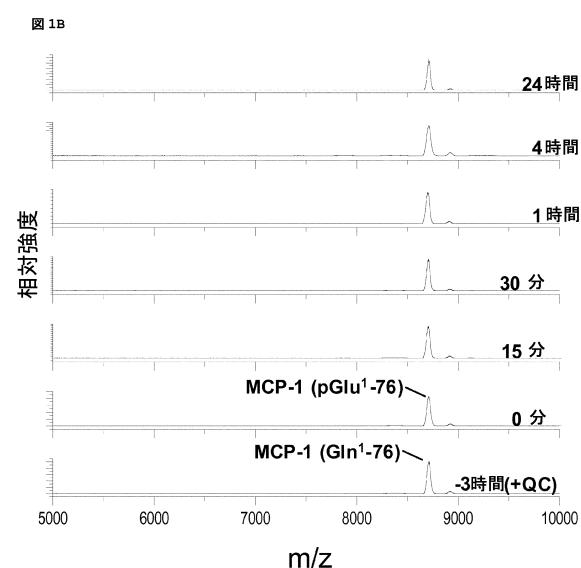
<sup>1</sup>H NMR δ 3.7 (2 s, 6H), 3.8 (m, 2H), 4.2 (m, 2H), 6.7 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.9 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.5 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 307.2 (M+H), 239.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>•)

。

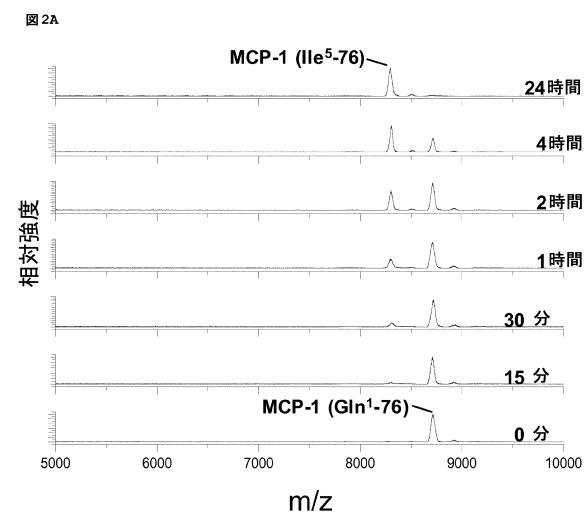
【図1-A】



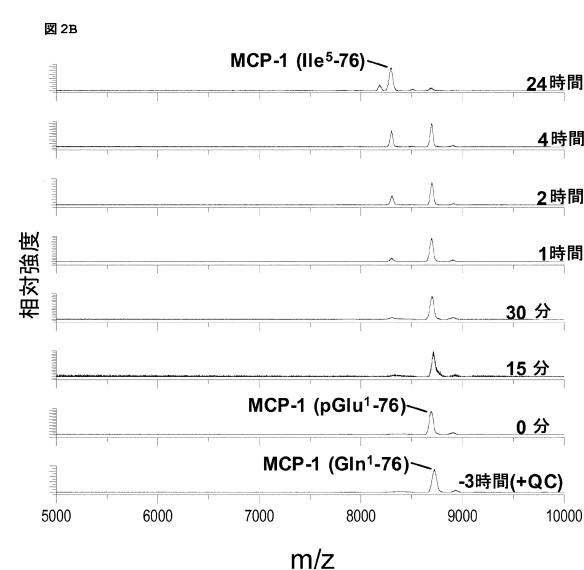
【図1-B】



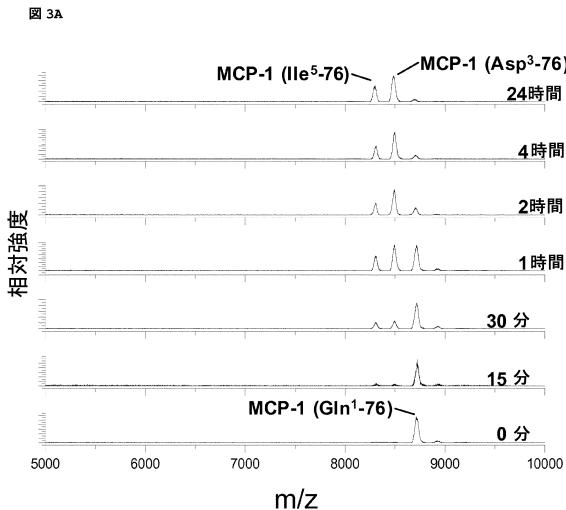
【図2-A】



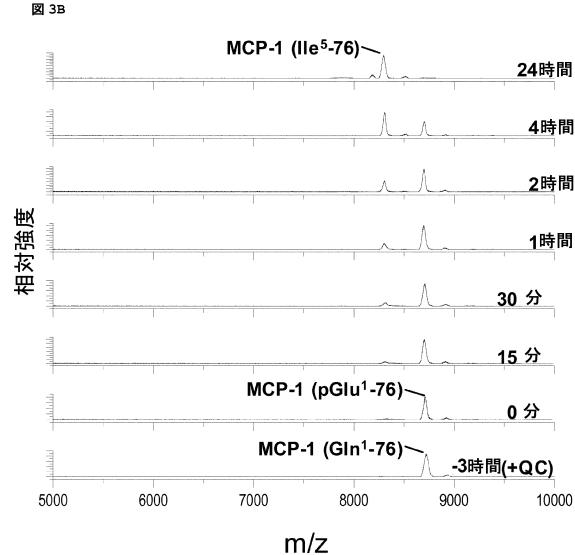
【図2-B】



【図3-A】

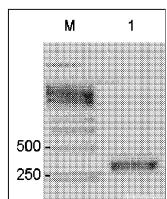


【図3-B】



【図4】

Figure 4



【図5-A】

図5A

```

ATGAAAGTCCTCTGCCGCCCTCTGTGCCT
::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::
ATGAAACTCTCTGCCGCCCTCTGTGCCT

GCTGCTCATAGCAGGCCACCTTCATTCCCCAAGGGCTCGCTCAGCCAGATGCAATCAATGC
::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::
GCTGCTCATAGCAGGCCACCTTCATTCCCCAAGGGCTCGCTCAGCCAGATGCAATCAATGC

CCCAGTCACCTGCTGCTATAACTTCACCAATAGGAAGATCTCAGTGCAGAGGCTCGCGAG
::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::
CCCAGTCACCTGCTGTTATAACTTCACCAATAGGAAGATCTCAGTGCAGAGGCTCGCGAG

CTATAGAAAATCACCAAGCACAGTGTCCCCAAGAGAGCTGTGATCTCAAGACATTGT
::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::
CTATAGAAAATCACCAAGCACAGTGTCCCCAAGAGAGCTGTGATCTCAAGACATTGT

GGCCAAGGAGATCTGTGCTGACCCCAAGCAGAAAGTGGGTCAGGATTCCATGGACCACCT
::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::
GGCCAAGGAGATCTGTGCTGACCCCAAGCAGAAAGTGGGTCAGGATTCCATGGACCACCT

GGACAAGCAAACCCAAACTCCGAAGACTTGA
::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::
GGACAAGCAAACCCAAACTCCGAAGACTTGA (配列番号2)

```

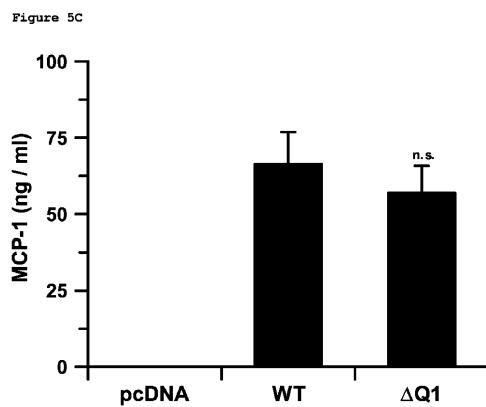
【図5-B】

図5B

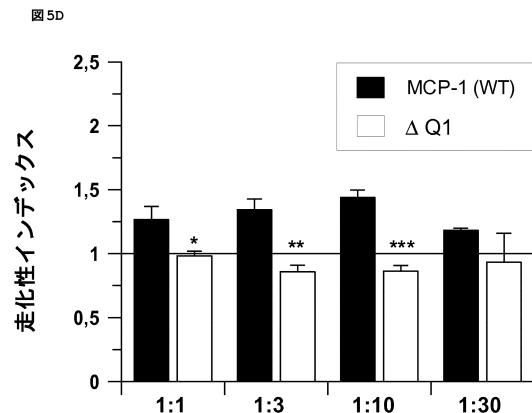
SY5Y	MKVSALLCLLLIAATFIPQGLAQPDAINAPVTCYNTNRKISVQLR
WT	*****
SY5Y	ASYRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKEICADPKQKWQDSMDHLDKQTQTPKT
WT	ASYRRITSSKCPKEAVIFKTIIVAKEICADPKQKWQDSMDHLDKQTQTPKT

\*\*\*\*\*  
(配列番号1)

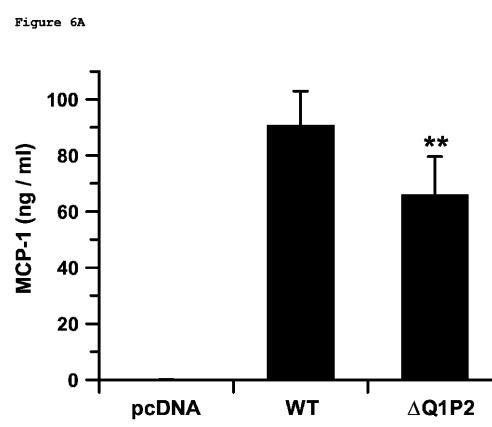
【図5-C】



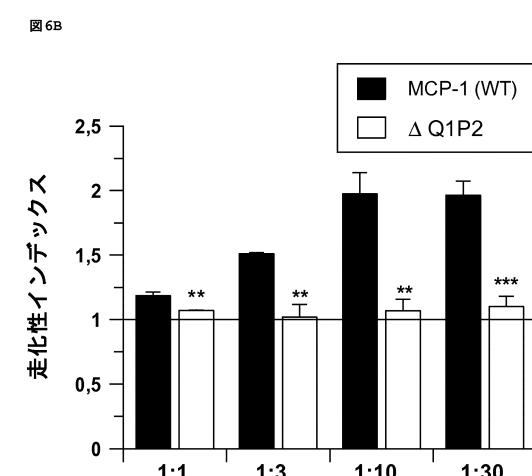
【図5-D】



【図6-A】

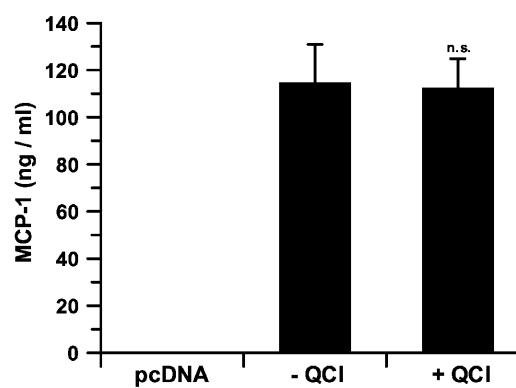


【図6-B】



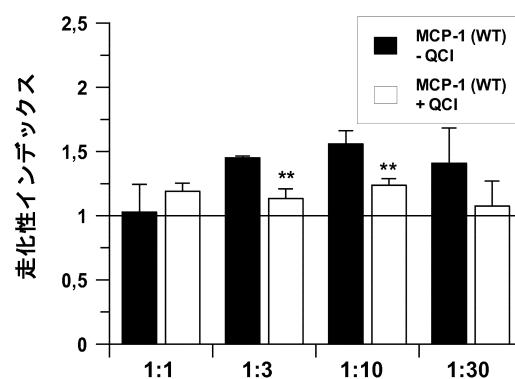
【図7A】

Figure 7A



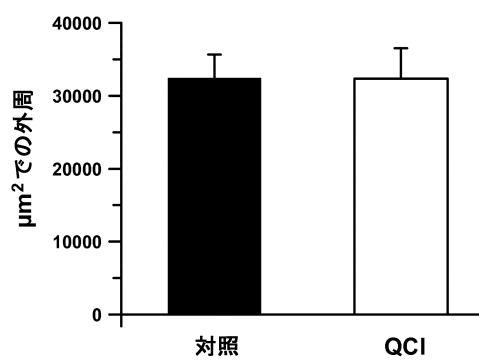
【図7B】

図7B



【図8】

図8A



【図9】

図9A

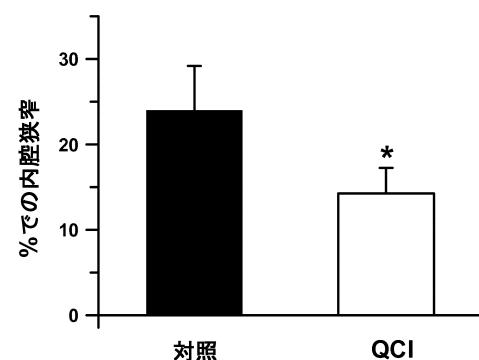


図8B

図8B

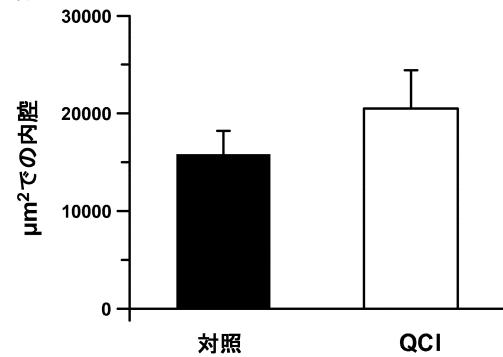
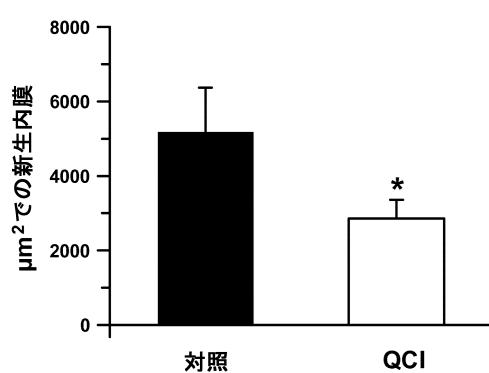


図9B

図9B



【図10】

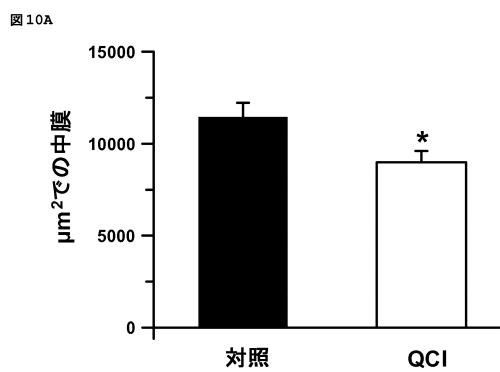
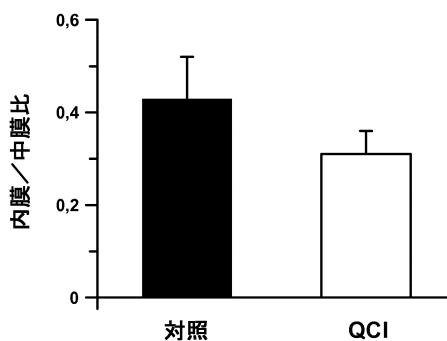
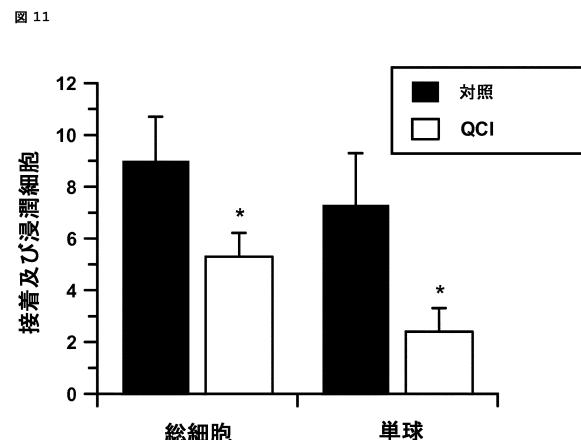


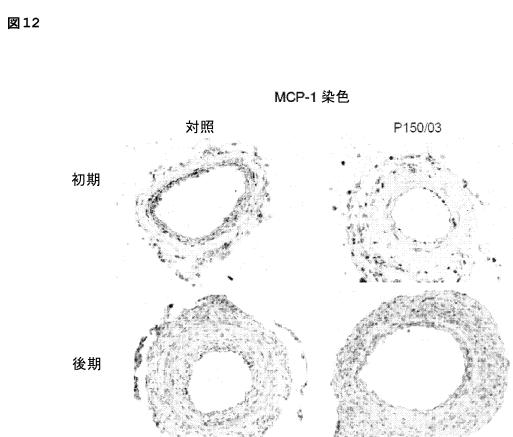
図10B



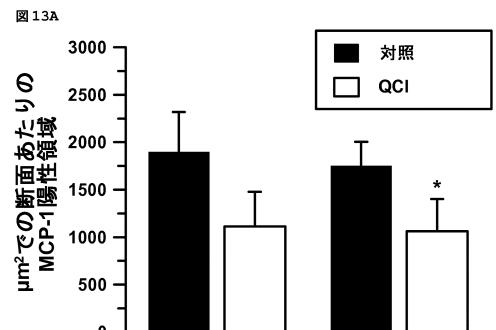
【図11】



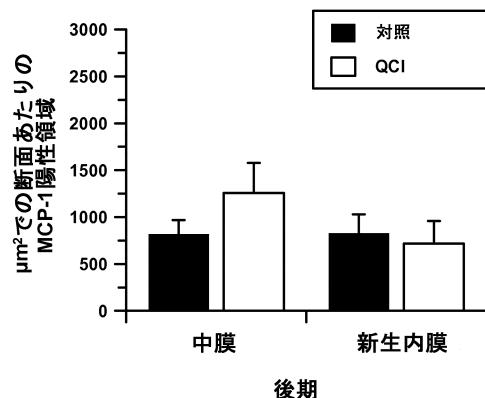
【図12】



【図13】

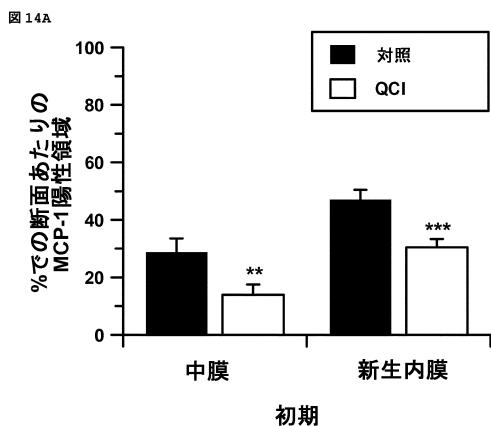


初期  
中膜  
新生内膜

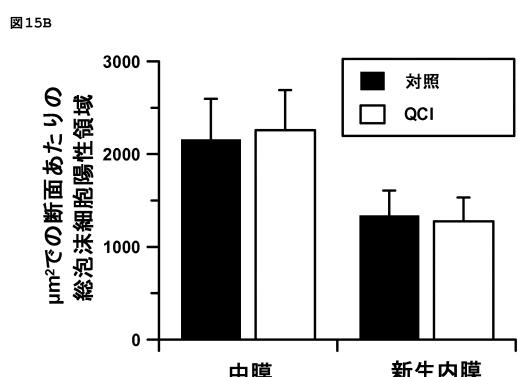
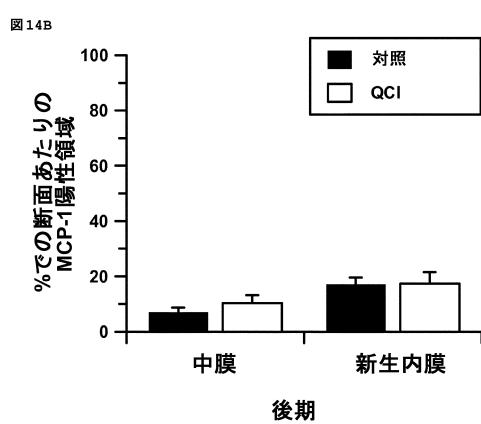
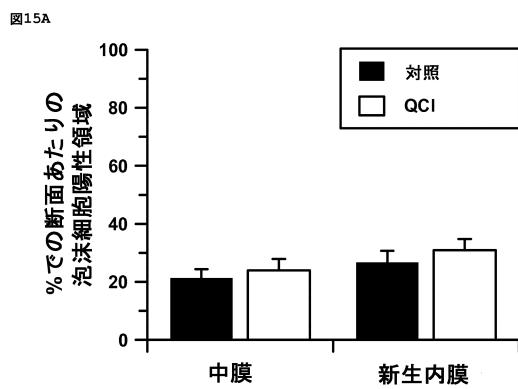


後期

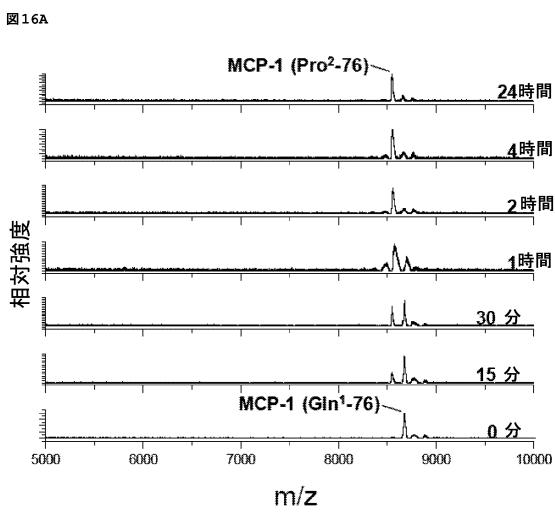
【図14】



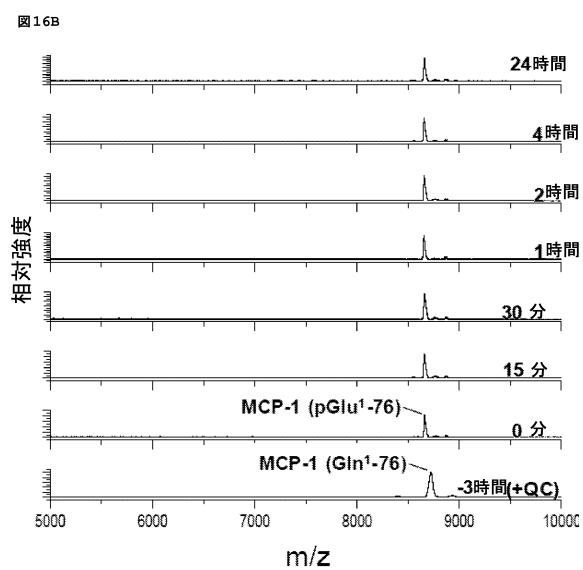
【図15】



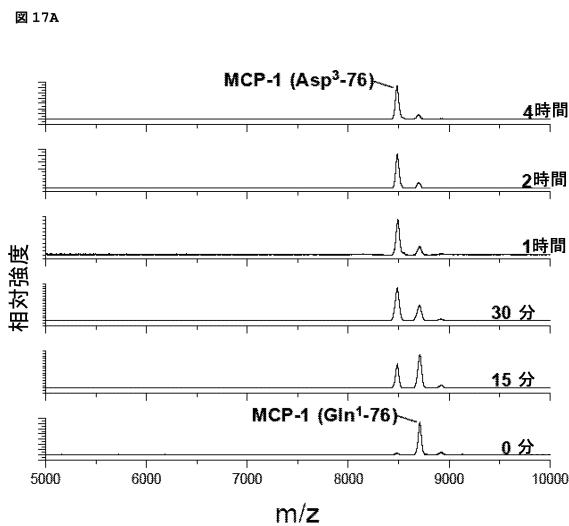
【図16-A】



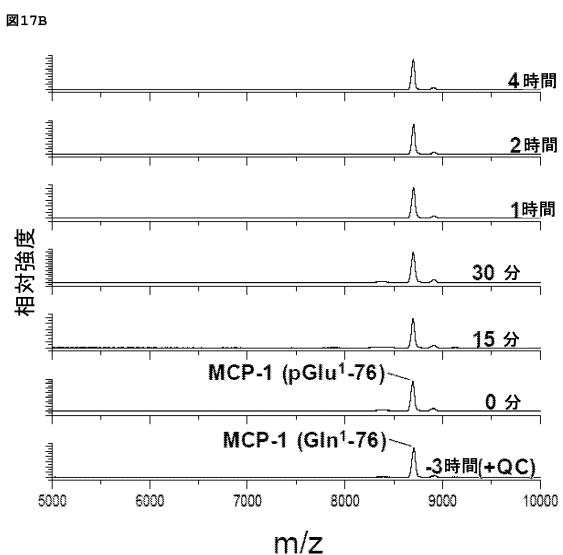
【図16-B】



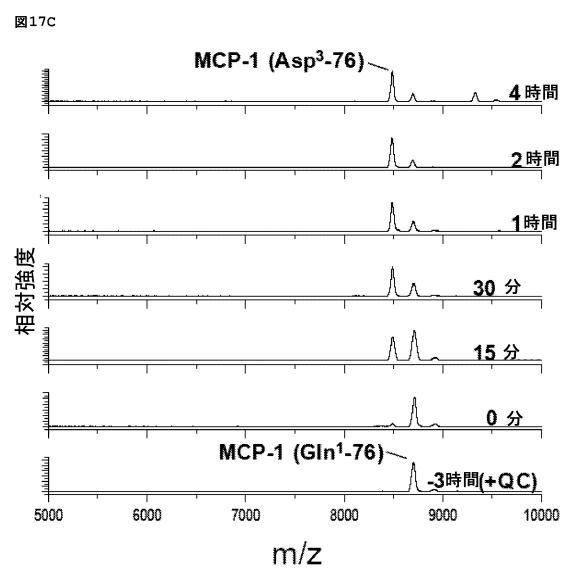
【図17-A】



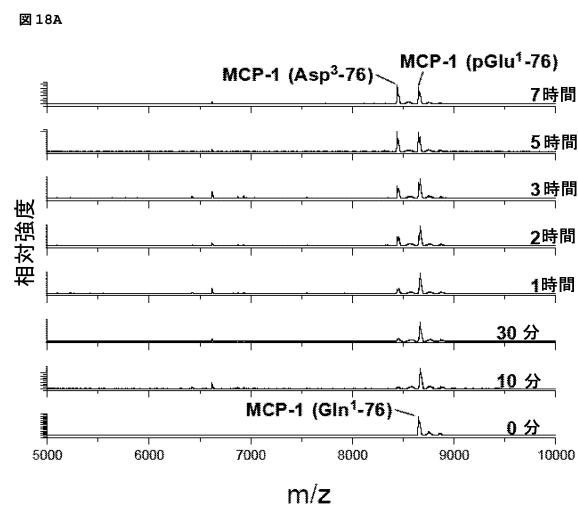
【図17-B】



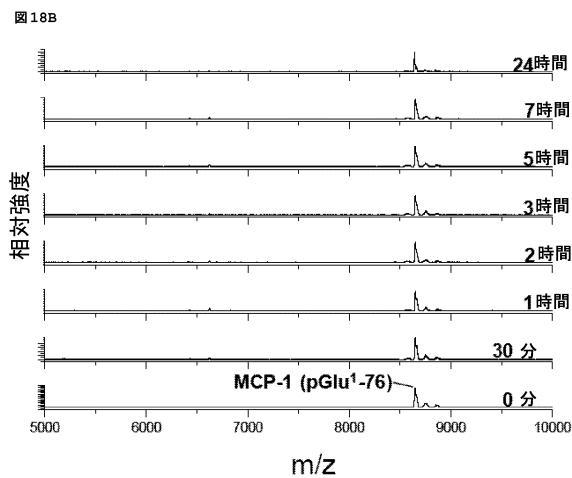
【図17-C】



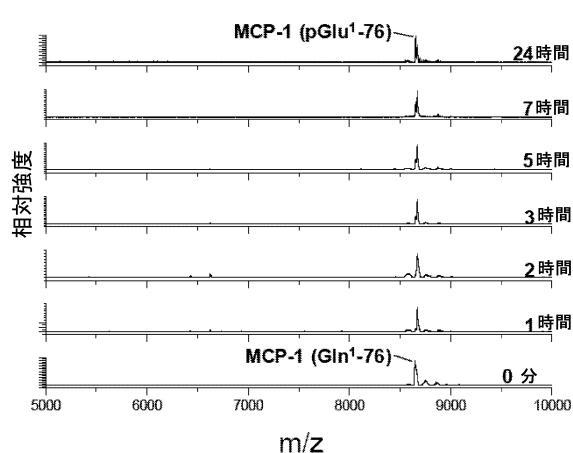
【図18-A】



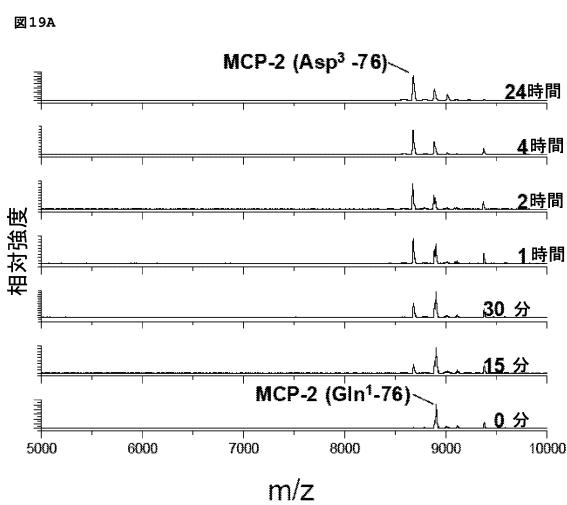
【図18-B】



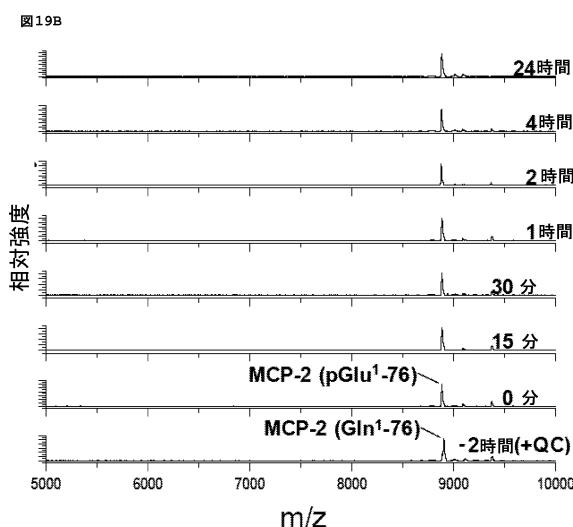
【図18-C】



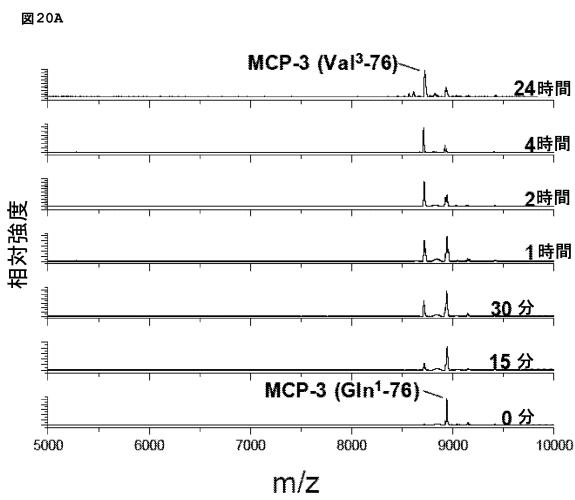
【図19-A】



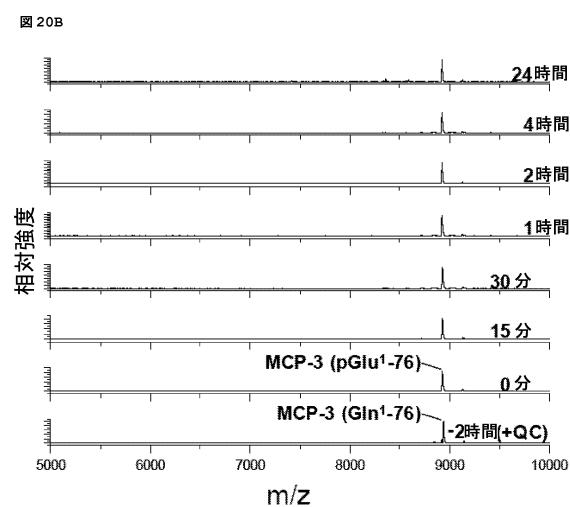
【図19-B】



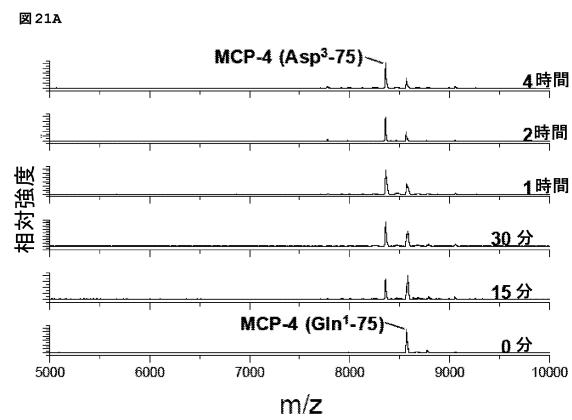
【図20-A】



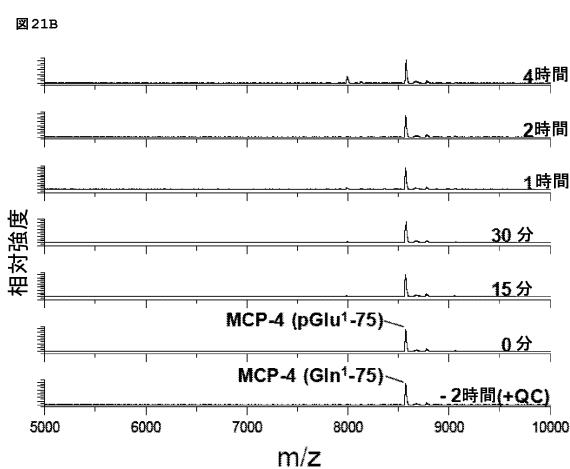
【図20-B】



【図21-A】

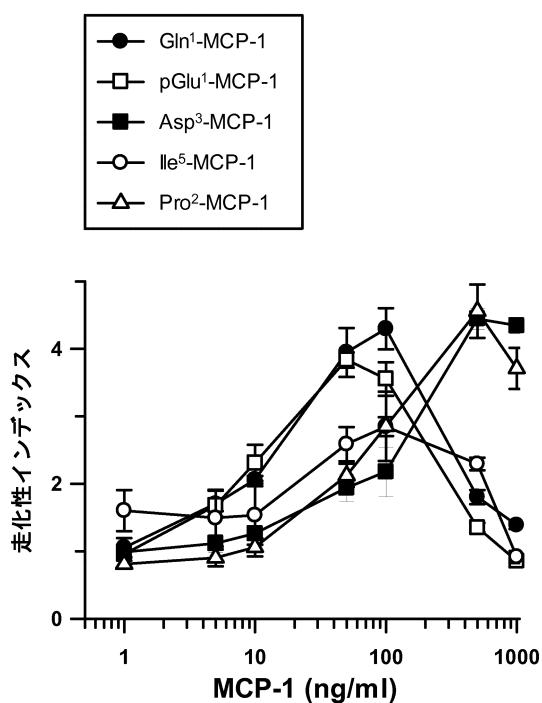


【図21-B】



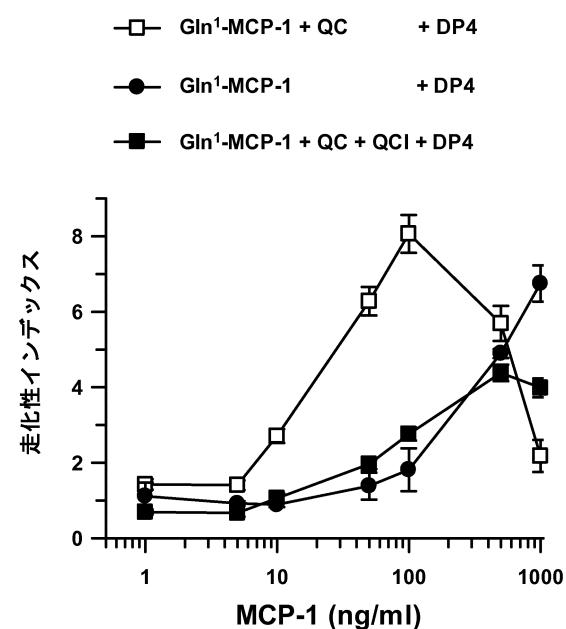
【図22】

図22



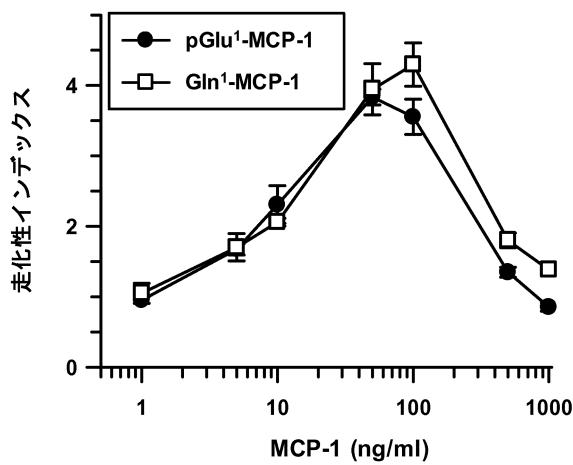
【図23】

図23



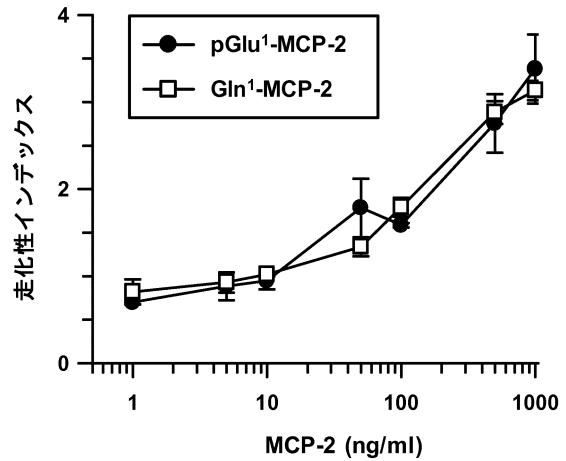
【図24-A】

図24A



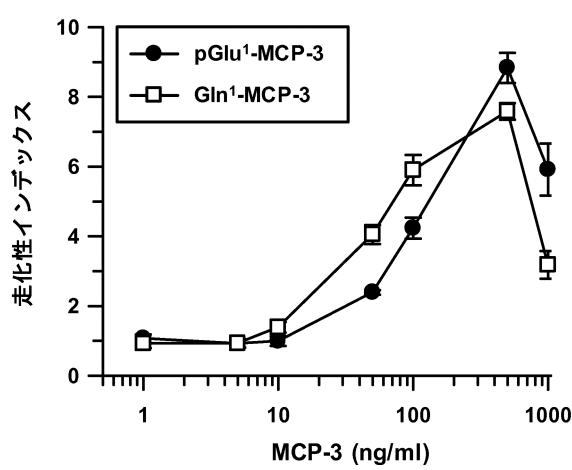
【図24-B】

図24B



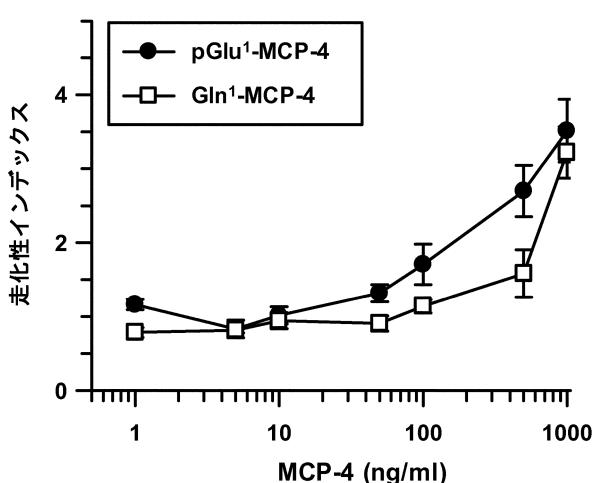
【図24-C】

図24C



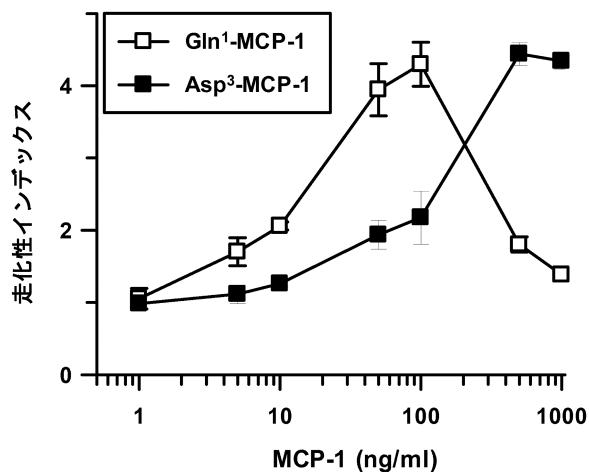
【図24-D】

図24D



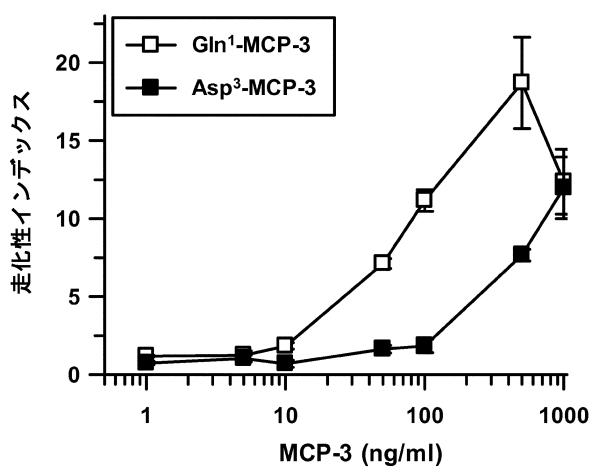
【図25-A】

図25A

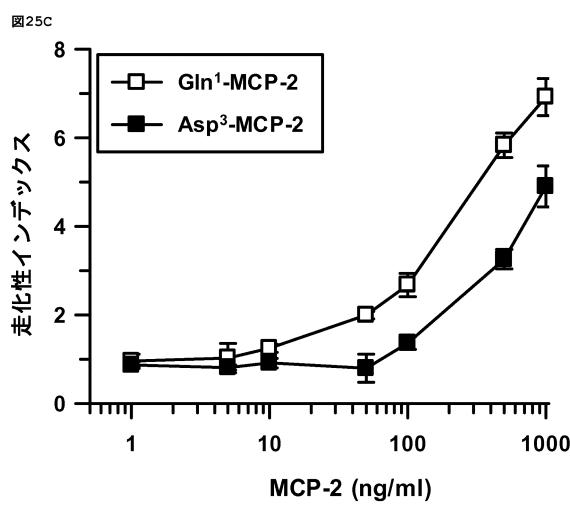


【図25-B】

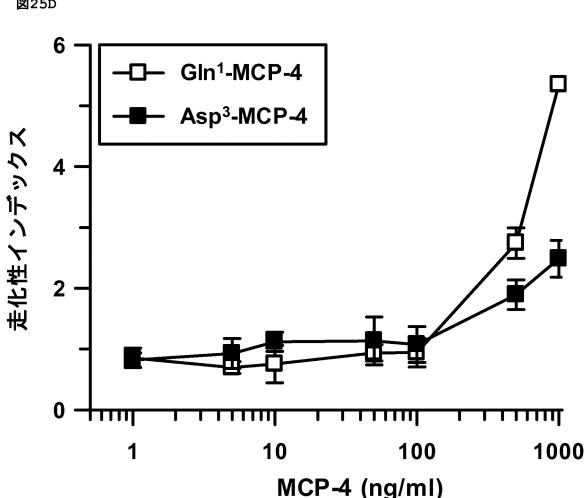
図25B



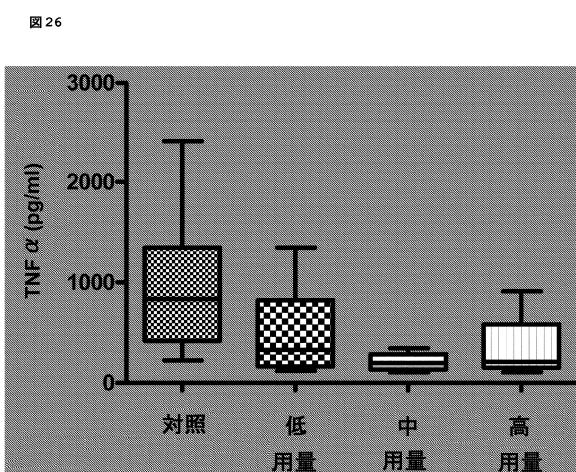
【図25-C】



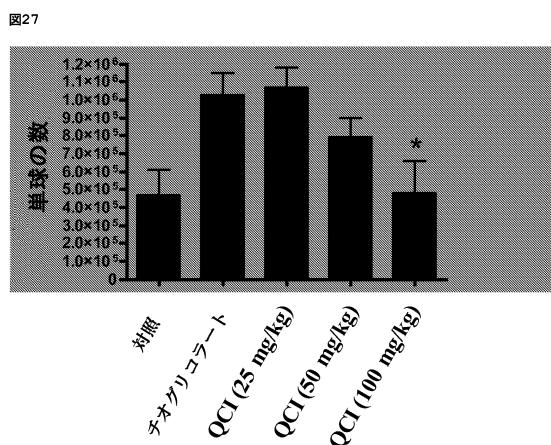
【図25-D】



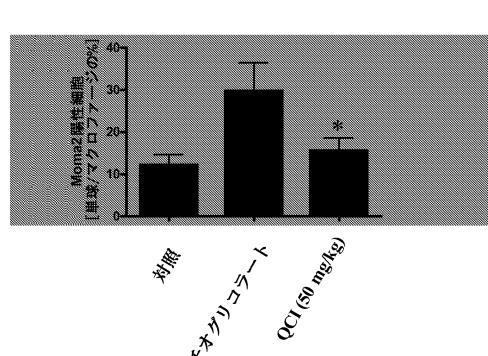
【図26】



【図27】



【図28】



【配列表】

0005930573000001.app

0005930573000002.xml

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/517 (2006.01)	A 6 1 K 31/517
A 6 1 K 31/541 (2006.01)	A 6 1 K 31/541
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 1/18
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28
C 0 7 D 233/61 (2006.01)	C 0 7 D 233/61 102
C 0 7 D 235/14 (2006.01)	C 0 7 D 235/14
C 0 7 D 401/12 (2006.01)	C 0 7 D 401/12
C 0 7 D 405/12 (2006.01)	C 0 7 D 405/12
C 0 7 D 409/12 (2006.01)	C 0 7 D 409/12
C 0 7 D 413/12 (2006.01)	C 0 7 D 413/12

(72)発明者 ハンス ウルリクフ デムトフ  
ドイツ連邦共和国 0 6 1 2 0 ハルレ/サアレ アム ワルドランド 13エー

合議体

審判長 大宅 郁治  
審判官 斎藤 恵  
審判官 新留 素子

(56)参考文献 特表2006-525276 (JP, A)  
国際公開第2005/075436 (WO, A2)  
Biochimica et Biophysica Acta、2006年発行、Vol. 1764、pp. 1618-1625

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K45