

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-514336

(P2005-514336A)

(43) 公表日 平成17年5月19日(2005.5.19)

(51) Int. Cl.⁷

C07K 5/06
A61K 38/00
A61P 3/00
A61P 3/06
A61P 3/10

F I

C O 7 K 5/06
 A 6 1 P 3/00
 A 6 1 P 3/06
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 9/00

テーマコード (参考)

4 C O 8 4
 4 H O 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-536263 (P2003-536263)
 (86) (22) 出願日 平成14年8月9日(2002.8.9)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年6月9日(2004.6.9)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2002/008929
 (87) 国際公開番号 W02003/033524
 (87) 国際公開日 平成15年4月24日(2003.4.24)
 (31) 優先権主張番号 101 50 203.6
 (32) 優先日 平成13年10月12日(2001.10.12)
 (33) 優先権主張国 ドイツ(DE)

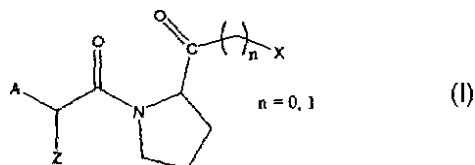
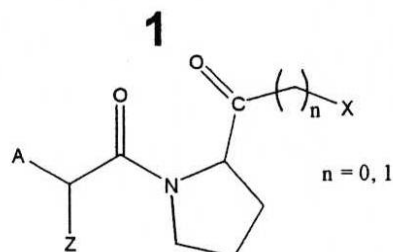
(71) 出願人 304038378
 プロビオドルグ アーゲー
 ドイツ連邦共和国, 06120 ハレ/ザ
 ーレ, ヴァインベルクベッグ 22
 (74) 代理人 100090941
 弁理士 藤野 清也
 (74) 代理人 100076244
 弁理士 藤野 清規
 (74) 代理人 100113837
 弁理士 吉見 京子
 (74) 代理人 100127421
 弁理士 後藤 さなえ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 DP1V阻害剤としてのペプチジルケトン

(57) 【要約】

本発明は、一般式(I)の化合物、



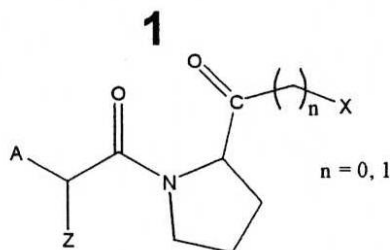
およびそれらの薬学的に許容可能な塩に関し、哺乳類での、グルコース耐性障害、糖尿、高脂血症、代謝性アシドーシス、真性糖尿病、糖尿病性神経障害および腎障害ならびに真性糖尿病により引き起こされる続発症の治療への化合物の使用に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式の化合物およびその薬学的に許容可能な塩：

【化 1】

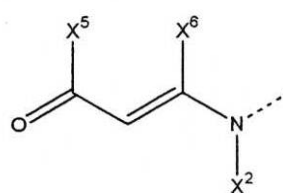
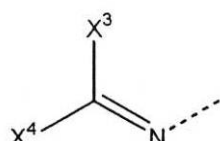
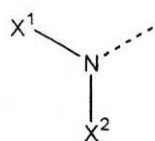


10

式中、

A は、以下から選択される：

【化 2】



20

ここで X^1 は、H、またはアミノ酸残基、N - 保護アミノ酸残基、ペプチド残基および N - 保護ペプチド残基を含むアシルもしくはオキシカルボニル基であり、

X^2 は、H、 $-(CH)_m-NH-C_5H_3N-Y$ ($m = 2 \sim 4$) または C_5H_3N-Y (二価ピリジル残基) であり、かつ Y は、H、Br、Cl、I、 NO_2 または CN から選択され、

X^3 は、H、あるいはアルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシで置換されたフェニル残基から、またはアルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシ残基で置換されたピリジル残基から選択され、

30

X^4 は、H、あるいはアルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシで置換されたフェニル残基から、また、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシ残基で置換されたピリジル残基から選択され、

X^5 は、H、あるいはアルキル、アルコキシまたはフェニル残基であり、

X^6 は、H またはアルキル残基であり、

$n = 1$ に関して、

X は、H、 OR^2 、 SR^2 、 NR^2R^3 、 $N^+R^2R^3R^4$ から選択される：

ここで、 R^2 は、アルキル、シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール残基で置換されていてもよいアシル残基、あるいはアミノ酸残基またはペプチド残基、あるいはアルキル、シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール残基で置換されていてもよいアルキル残基を表し、

40

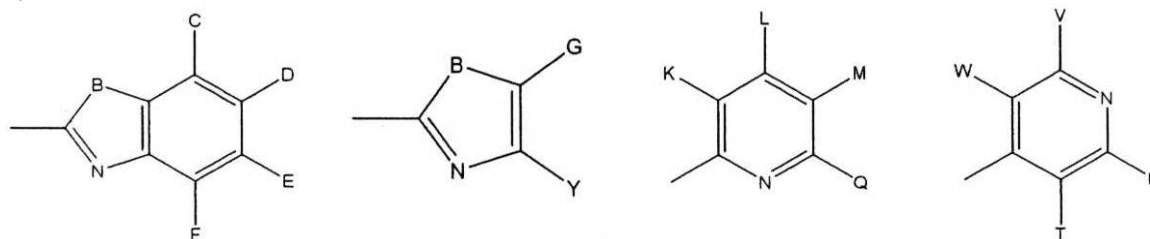
R^3 は、アルキルまたはアシル残基を表し、ここで R^2 および R^3 は、飽和または不飽和炭素環式もしくは複素環式の一部であってもよく、

R^4 は、アルキル残基を表し、ここで R^2 および R^4 または R^3 および R^4 は、飽和または不飽和炭素環式もしくは複素環式の一部であってもよい)

$n = 0$ に関して、

X は、以下から選択される：

【化 3】



ここで、Bは、O、S、NR⁵（ここで、R⁵は、H、アルキルまたはアシルである）を表し、

C、D、E、F、G、Y、K、L、M、Q、T、U、VおよびWは独立して、アルキルおよび置換されたアルキル残基、オキシャルキル、チオアルキル、アミノアルキル、カルボニルアルキル、アシル、カルバモイル、アリールおよびヘテロアリール残基である）Zは、H、あるいはC₁～C₉の分岐もしくは直鎖アルキル残基、C₂～C₉の分岐しくは直鎖アルケニル残基、C₃～C₈のシクロアルキル残基、C₅～C₇のシクロアルケニル残基、アリールまたはヘテロアリール残基、あるいはすべての天然アミノ酸もしくはそれらの誘導体のすべての側鎖から選択される側鎖から選択される。

【請求項 2】

2 - メチルカルボニル - 1 - N [(L) - アラニル - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジンヒドロプロミド ; 2 - メチルカルボニル - 1 - N [(L) - バリニル - (L) - プロリル - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジンヒドロプロミド ; 2 - [(アセチル - オキシ - メチル) カルボニル] - 1 - N [(L) - アラニル - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジンヒドロプロミド ; 2 - [(ベンゾイル - オキシ - メチル) カルボニル] - 1 - N - [{ (L) - アラニル } - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジンヒドロプロミド ; 2 - { [(2 , 6 - ジクロロベンジル) チオメチル] カルボニル } - 1 - N - [{ (L) - アラニル } - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジン ; 2 - [(ベンゾイル - オキシ - メチル) カルボニル] - 1 - N - [グリシル - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジンヒドロプロミド ; 2 - [([1 , 3] - チアゾール - 2 - イル) カルボニル] - 1 - N - [{ (L) - アラニル } - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジントリフルオロアセテート ; 2 - [(ベンゾチアゾール - 2 - イル) カルボニル] - 1 - N - [N - { (L) - アラニル } - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジントリフルオロアセテート ; 2 - [(ベンゾチアゾール - 2 - イル) カルボニル] - 1 - N - [{ (L) - アラニル } - グリシル] - (2 S) - ピロリジントリフルオロアセテート ; 2 - [(ピリジン - 2 - イル) カルボニル] - 1 - N - [N - { (L) - アラニル } - (L) - バリニル] - (2 S) - ピロリジントリフルオロアセテートからなる群より選ばれる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

必要に応じ従来の (customary) キャリアまたは賦形剤と組み合わせて、請求項 1 または 2 のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 種の化合物を含むことを特徴とする、非経口、経腸、または経口投与用薬学的組成物。

【請求項 4】

DPiV または / および DPiV 様酵素の *in vivo* 阻害用薬物の調製のための、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物または薬学的組成物の使用。

【請求項 5】

哺乳類の DPiV 活性の調節により治療することができる哺乳類の疾患の治療用薬物の調製のための、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物または薬学的組成物の使用。

【請求項 6】

ヒトにおける代謝性疾患の治療のための、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 7】

グルコース耐性障害、糖尿、高脂血症、代謝性アシドーシス、真性糖尿病、糖尿病性神

10

20

30

40

50

経障害および腎障害、ならびに真性糖尿病により引き起こされる続発症、神経変性疾患、ならびにランゲルハンス島の細胞でのシグナル作用の障害、および哺乳類の食後期の末梢組織でのインスリン感受性の治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

【請求項 8】

哺乳類での、代謝関連高血圧および高血圧により引き起こされる心血管系統発症の治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

【請求項 9】

皮膚疾患および粘膜の疾患、自己免疫疾患、および炎症状態の予防または治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

【請求項 10】

心身性疾患、慢性神経精神医学的疾患、および抑鬱性の疾患（例えば、不安、抑鬱、睡眠障害、慢性疲労、統合失調症、てんかん、栄養障害、痙攣、および慢性的痛みなど）の治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

10

【請求項 11】

ヒトにおける慢性代謝性疾患の慢性治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

【請求項 12】

慢性的グルコース耐性障害、慢性糖尿病、慢性高脂血症、慢性代謝性アシドーシス、慢性真性糖尿病、慢性糖尿病性神経障害および腎障害、ならびに真性糖尿病により引き起こされる慢性続発症、慢性神経変性疾患、ならびにランゲルハンス島の細胞でのシグナル作用の慢性障害および哺乳類の食後期の末梢組織での慢性インスリン感受性の慢性治療のため

20

【請求項 13】

哺乳類での、慢性代謝関連高血圧および慢性高血圧により引き起こされる慢性心血管系統発症の慢性治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

【請求項 14】

慢性心身性疾患、慢性神経精神医学的疾患、および抑鬱性の疾患（例えば、慢性不安、慢性抑鬱、慢性睡眠障害、慢性疲労、慢性統合失調症、慢性てんかん、慢性栄養障害、痙攣、および慢性的痛みなど）の慢性治療のための、請求項 5 または 6 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

本発明は、本明細書中以下ペプチジルケトンと称されるペプチジルケトンおよびその塩に、および D P I V または / および D P I V 様酵素を *in vivo* 阻害するための薬物調製への該化合物の使用に関する。

【0002】

本発明は、特に、哺乳類におけるグルコース耐性障害、糖尿病、高脂血症、代謝性アシドーシス、真性糖尿病、糖尿病性神経障害および腎障害の、および真性糖尿病により引き起こされる続発症の治療用、哺乳類における、代謝関連高血圧のおよび高血圧により引き起こされる心血管系統発症の治療用、皮膚疾患および粘膜の疾患、自己免疫疾患、および炎症状態の予防または治療用、ならびに心身性、神経精神医学的、および抑鬱性の疾患（不安、抑鬱、睡眠障害、慢性疲労、統合失調症、てんかん、栄養障害、痙攣、および慢性的痛みなど）の治療用の、薬物調製への該化合物の使用に関する。

40

【0003】

ジペプチジルペプチダーゼ I V (D P I V) は、腎臓、肝臓、および腸を含む様々な組織で見いだされるプロリン後（より少ない程度で、アラニン後、セリン後またはグリシン後）切断性セリンプロテアーゼであり、それは、プロリンまたはアラニンがその配列中 N 末端アミノ酸と隣接して残基を生成している場合に、生物活性なペプチドの N 末端から高い特異性でジペプチドを除去する。

【0004】

D P I V 様酵素という用語は、構造的および / または機能的に D P I V / C D 2 6 に関

50

連した酵素タンパク質に関する (Sedo & Malik, ジペプチジルペプチダーゼ I V 様分子 : 相同タンパク質または相同活性? (Dipeptidyl peptidase IV-like molecules: homologous protein or homologous activities?) Biochimica et Biophysica Acta 2001, 36506: 1-10)。本質的に、酵素のこの小群は、オリゴまたはポリペプチドの N 末端から H - X a a - P r o ジペプチドおよび H - X a a - A l a ジペプチドを放出するように進化中に進化されてきた。D P I V 様酵素は、P r o 位置に A l a、S e r、T h r および G l y または V a l のような小さな疎水性側鎖を有する他のアミノ酸をも収容するという共通の特徴を示す。加水分解効率は、P r o > A l a >> S e r、T h r >> G l y、V a l と並べられる。同じタンパク質は、P r o 後または A l a 後切断を確立させることができるような少量で利用可能であるに過ぎなかった。タンパク質 : D P I V、D P I I、F A P (セブラーゼ)、D P 6、D P 8 および D P 9 は、構造的に関連し、かつ高い配列相同性を示す一方で、アトラクチンは、類似の活性および阻害パターンを特徴とする強烈な機能的 D P I V 様酵素である。

10

【0005】

さらに、D P I V 様酵素は、W O 0 1 / 1 9 8 6 6 号、W O 0 2 / 3 4 9 0 0 号および W O 0 2 / 3 1 1 3 4 号に開示されている。W O 0 1 / 1 9 8 6 6 号は、D P I V および線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P) に対して構造的および機能的類似性を有する新規ヒトジペプチジルアミノペプチダーゼ 8 (D P P 8) を開示している。W O 0 2 / 3 4 9 0 0 号は、D P I V および D P P 8 のアミノ酸配列と有意な相同性を有する新規ジペプチジルペプチダーゼ 9 (D P P 9) を開示している。W O 0 2 / 3 1 1 3 4 号は、3 つの D P I V 様酵素、すなわち D P R P 1、D P R P 2 および D P R P 3 を開示している。配列解析により、D P R P 1 は W O 0 1 / 1 9 8 6 6 号に開示されている D P P 8 と同一であり、D P R P 2 は D P P 9 と同一であり、D P R P 3 は W O 0 2 / 0 4 6 1 0 号に開示されている K I A A 1 4 9 2 と同一であることが明らかとなった。

20

【0006】

同様に、D P I V は、グルカゴン様ペプチド - 1 (G L P - 1) およびグルコース依存性インスリン向性ペプチド (胃抑制性ペプチド (G I P) としても既知である) の不活性化の原因であることが発見されている。G L P - 1 は膵インスリン分泌の主要な刺激剤であり、かつグルコース処理に直接有益な効果を有することから、W O 9 7 / 4 0 8 3 2 号および米国特許第 6, 3 0 3, 6 6 1 号において、D P I V および D P I V 様酵素活性の阻害が非インスリン依存性真性糖尿病 (N I D D M) の治療の魅力的アプローチを代表するものであることが示された。

30

【0007】

i n v i v o でそのような基質を切断するそのような D P I V および D P I V 様酵素活性の減少は、実験室条件下および哺乳類の病理学的状態での両方で、効果的に望ましくない酵素活性を抑制するために使用し得る。例えば、I I 型真性糖尿病 (高齢の糖尿病もまた) は、とりわけタンパク質分解性で決定されるインクレチン濃度の異常にもとづく、インスリン分泌の減少または受容体機能の障害に基づく。

【0008】

高血糖ならびにそれにもなう原因および続発症 (真性糖尿病もまた) は、当該技術分野の現在の状況に従って、インスリン (例えば、ウシ膵臓から単離された材料、または同じ遺伝子操作により得られた材料) をこれらの患者 (affected) へ、様々な投与形態で投与することにより治療される。全ての以前から既知の方法、およびより最近の方法もまた、材料への高い出費、高コストにより、およびしばしば患者の生活の質の重大な低下により、特徴付けられる。古典的方法 (30代からの常習的な毎日の静脈内へのインスリン注射) は、疾患の急性症状を治療するが、長期使用後、とりわけ重篤な血管変化 (動脈硬化) および神経損傷を招く。

40

【0009】

D P I V 阻害剤は、グルコース耐性障害および真性糖尿病の治療に有用である可能性があることが示されている (国際特許出願公開公報 W O 9 9 / 6 1 4 3 1 号、Pederson RA

50

et al, Diabetes, 47 (8), pp.1253-8 (1998 Aug)、および Pauly RP et al, Metabolism, 48 (3), pp.385-9 (1999 Mar))。特に、WO 99 / 6 1 4 3 1号は、アミノ酸残基およびチアゾリジンまたはピロリジン基を含むDPIV阻害剤、ならびにその塩、特にL-トレオ-イソロイシルチアゾリジン、L-アロ-イソロイシルチアゾリジン、L-トレオ-イソロイシルピロリジン、L-アロ-イソロイシルチアゾリジン、L-アロ-イソロイシルピロリジン、およびそれらの塩を開示する。

【0010】

また、低分子量ジペプチジルペプチダーゼIV阻害剤の例は、テトラヒドロイソキノリン-3-カルボキサミド誘導体、N-置換2-シアノピロールおよびピロリジン、N-(N'-置換グリシル)-2-シアノピロリジン、N-(置換グリシル)-チアゾリジン、N-(置換グリシル)-4-シアノチアゾリジン、アミノ-アシル-ボロノ-プロリル阻害剤、シクロプロピル融合ピロリジンである。ジペプチジルペプチダーゼIVの阻害剤についてはUS 6,011,155号、US 6,107,317号、US 6,110,949号、US 6,124,305号、US 6,172,081号、WO 99 / 6 1 4 3 1号、WO 99 / 6 7 2 7 8号、WO 99 / 6 7 2 7 9号、DE 198 34 591号、WO 97 / 4 0 8 3 2号、DE 196 16 486 C2号、WO 98 / 1 9 9 9 8号、WO 00 / 0 7 6 1 7号、WO 99 / 3 8 5 0 1号、WO 99 / 4 6 2 7 2号、WO 99 / 3 8 5 0 1号、WO 01 / 6 8 6 0 3号、WO 01 / 4 0 1 8 0号、WO 01 / 8 1 3 3 7号、WO 01 / 8 1 3 0 4号、WO 01 / 5 5 1 0 5号、WO 02 / 0 2 5 6 0号およびWO 02 / 1 4 2 7 1号に記載されており、これらの教示は、阻害剤、それらの使用、定義、およびそれらの生産についての全体が参照により本明細書に援用される。

【0011】

さらに最近では、皮下デポインプラントの設置(インスリンは定量で放出されるので、毎日の注射が必要ない)ならびに機能障害性膵臓および他の器官および組織への無処置のランゲルハンス細胞の埋没(移植)が、提案されている。そのような移植は、技術的観点から複雑である。そのうえさらに、それはレシピエントへの危険な外科的介入を意味し、そして細胞移植の場合、免疫系の抑制またはバイパス法も必要とする。

【0012】

それゆえ、本発明の課題は、例えば、哺乳類におけるグルコース耐性障害、糖尿、高脂血症、代謝性アシドーシス、真性糖尿病、糖尿病性神経障害および腎障害の、および真性糖尿病により引き起こされる続発症の治療用、哺乳類における、代謝関連高血圧のおよび高血圧により引き起こされる心血管系統発症の治療用、皮膚疾患および粘膜の疾患、自己免疫疾患、および炎症状態の予防または治療用、ならびに心身性、神経精神医学的、および抑鬱性の疾病(例えば、不安、抑鬱、睡眠障害、慢性疲労、統合失調症、てんかん、栄養障害、痙攣、および慢性的痛みなど)の治療用の新しい化合物及びこれらの疾患の簡単な治療方法を提供することである。

【0013】

その問題は、一般式1の化合物およびその薬学的に許容可能な塩(それらのすべての立体異性体およびその薬学的に許容可能な塩を含む)を提供することにより、本発明によって解決される。

【0014】

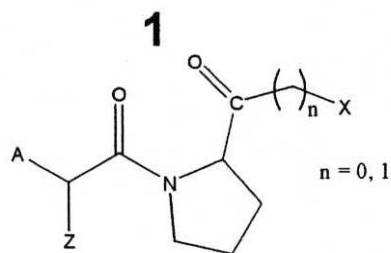
10

20

30

40

【化4】

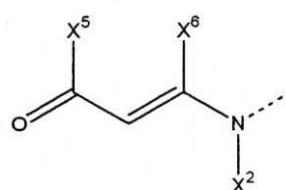
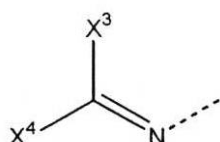
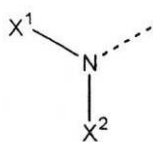


10

ここでAは、以下の構造から選択され、

【0015】

【化5】



20

ここで X^1 は、H、またはアミノ酸残基、N-保護アミノ酸残基、ペプチド残基およびN-保護ペプチド残を含むアシルもしくはオキシカルボニル基であり、

X^2 は、H、 $-(CH)_m-NH-C_5H_3N-Y$ ($m = 2 \sim 4$) または C_5H_3N-Y (二価ピリジル残基) であり、かつYは、H、Br、Cl、I、 NO_2 またはCNから選択され、

X^3 は、H、あるいはアルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシで置換されたフェニル残基から、またはアルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシ残基で置換されたピリジル残基から選択され、

30

X^4 は、H、あるいはアルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシで置換されたフェニル残基から、また、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノまたはカルボキシ残基で置換されたピリジル残基から選択され、

X^5 は、H、あるいはアルキル、アルコキシまたはフェニル残基であり、

X^6 は、Hまたはアルキル残基であり、

$n = 1$ に関して、

Xは、H、 OR^2 、 SR^2 、 NR^2R^3 、 $N^+R^2R^3R^4$ から選択される：

ここで、 R^2 は、アルキル、シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール残基で置換されていてもよいアシル残基、あるいはアミノ酸残基またはペプチド残基、あるいはアルキル、シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール残基で置換されていてもよいアルキル残基を表し、

40

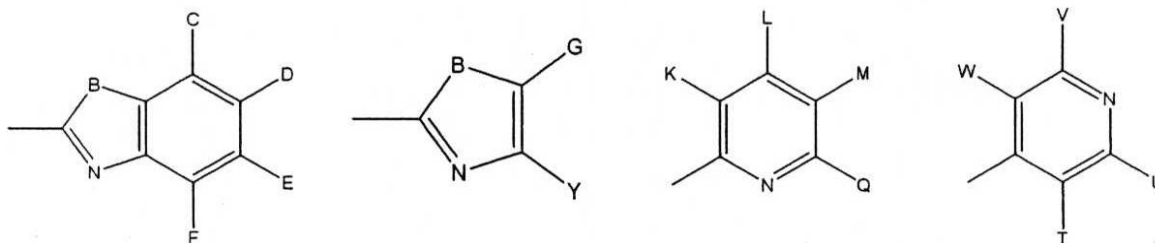
R^3 は、アルキルまたはアシル残基を表し、ここで R^2 および R^3 は、飽和または不飽和炭素環式もしくは複素環式の一部であってもよく、

R^4 は、アルキル残基を表し、ここで R^2 および R^4 または R^3 および R^4 は、飽和または不飽和炭素環式もしくは複素環式の一部であってもよい

$n = 0$ に関して、Xは、以下から選択され、

【0016】

【化6】



ここで、Bは、O、S、NR⁵（ここで、R⁵は、H、アルキルまたはアシルである）を表し、

C、D、E、F、G、Y、K、L、M、Q、T、U、VおよびWは独立して、アルキルおよび置換されたアルキル残基、オキシアルキル、チオアルキル、アミノアルキル、カルボニルアルキル、アシル、カルバモイル、アリールおよびヘテロアリール残基であるZは、H、あるいはC₁~C₉の分岐もしくは直鎖アルキル残基、C₂~C₉の分岐しくは直鎖アルケニル残基、C₃~C₈のシクロアルキル残基、C₅~C₇のシクロアルケニル残基、アリールまたはヘテロアリール残基、あるいはすべての天然アミノ酸もしくはそれらの誘導体のすべての側鎖から選択される側鎖から選択される。

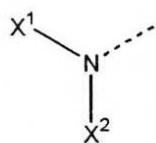
【0017】

式1の好ましい化合物では、

Aは、以下であり、

【0018】

【化7】



(式中、

X¹は、H、あるいはアミノ酸残基、N-アシル化アミノ酸残基、ジ~ペンタペプチドである-ペプチド残基、好ましくはジペプチド残基、またはジ~ペンタペプチドであるN-保護ペプチド残基、好ましくはN-保護ジペプチド残基を含むアシルもしくはオキシカルボニル基であり、

X²は、H、-(CH)_m-NH-C₅H₃N-Y (m=2~4) またはC₅H₃N-Y (二価ピリジル残基)であり、かつYは、H、Br、Cl、I、NO₂ またはCNから選択され、

n=1に関して、

Xは好ましくはH、OR²、SR²、NR²R³から選択され、ここで、

R²は、アルキル、シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール残基で置換されていてもよいアシル残基、あるいはアミノ酸残基またはペプチド残基、あるいはアルキル、シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール残基で置換されていてもよいアルキル残基を表し、

R³は、アルキルおよびアシル残基を表し、ここでR²およびR³は、飽和または不飽和炭素環もしくは複素環式の一部であってもよく、

n=0に関して、

Xは、好ましくは以下から選択され、

【0019】

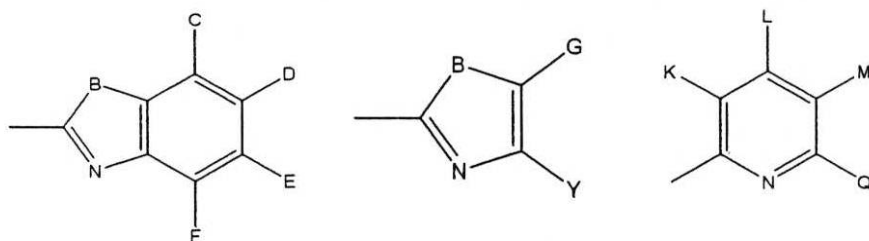
10

20

30

40

【化8】



式中、

Bは、O、S、NR⁵（ここで、R⁵は、H、アルキルまたはアシルである）を表し

10

C、D、E、F、G、Y、K、L、M、およびQは独立して、アルキルおよび置換アルキル残基、オキシアルキル、チオアルキル、アミノアルキル、カルボニルアルキル、アシル、カルバモイル、アリールおよびヘテロアリール残基から選択される、

Zは、H、あるいはC₁～C₉（好ましくはC₂～C₆）の分岐もしくは直鎖アルキル残基、C₂～C₉の分岐もしくは直鎖アルケニル残基、C₃～C₈のシクロアルキル残基、C₅～C₇のシクロアルケニル残基、アリールまたはヘテロアリール残基、あるいはすべての天然アミノ酸もしくはそれらの誘導体のすべての側鎖から選択される側鎖から選択される）

20

である。

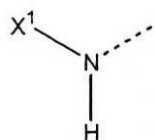
【0020】

式1のさらに好ましい化合物では、

Aは、以下であり、

【0021】

【化9】



30

式中、

X¹は、Hであるか、あるいはアミノ酸残基、N-アシル化アミノ酸残基、ジ～ペプチドである-ペプチド残基、好ましくはジペプチド残基、またはジ～ペプチドであるN-保護ペプチド残基、好ましくはN-保護ジペプチド残基を含むアシルもしくはオキシカルボニル基であり、

n = 1に関して、

Xは好ましくは、H、OR²、SR²から選択され、ここで、

40

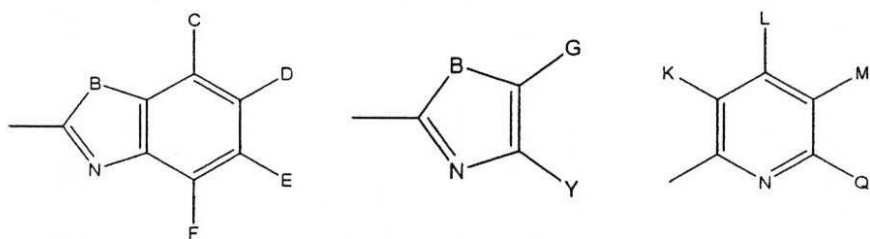
R²は、アルキルまたはアリル残基で置換されていてもよいアシル残基を表し、

n = 0に関して、

Xは、以下から選択され、

【0022】

【化10】



式中、

Bは、O、Sまたは NR^5 （ここで、 R^5 は、H、アルキルまたはアシルである）を表し、

C、D、E、F、G、Y、K、L、M、およびQは独立して、アルキルおよび置換アルキル残基、オキシアルキル、チオアルキル、アミノアルキル、カルボニルアルキル、アシル、カルバモイル、アリールおよびヘテロアリール残基である、

Zは、H、あるいは $\text{C}_1 \sim \text{C}_9$ （好ましくは $\text{C}_2 \sim \text{C}_6$ ）の分岐もしくは直鎖アルキル残基、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_9$ の分岐もしくは直鎖アルケニル残基、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ のシクロアルキル残基、 $\text{C}_5 \sim \text{C}_7$ のシクロアルケニル残基、アリールまたはヘテロアリール残基、あるいはすべての天然アミノ酸もしくはそれらの誘導体のすべての側鎖から選択される側鎖から選択される）

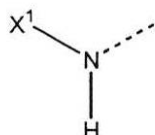
である。

【0023】

式1の最も好ましい化合物では、Aは、以下であり、

【0024】

【化11】



式中、

X^1 は、H、あるいは前末端位置にProまたはAlaを有するアミノ酸残基、N-アシル化アミノ酸残基またはジペプチド残基を含む、または前末端位置にProまたはAlaを有するN-保護ジペプチド残基を含むアシルまたはオキシカルボニル基で、であり、

n = 1に関して、

XはHであり

n = 0に関して、

Xは好ましくは以下から選択され、

【0025】

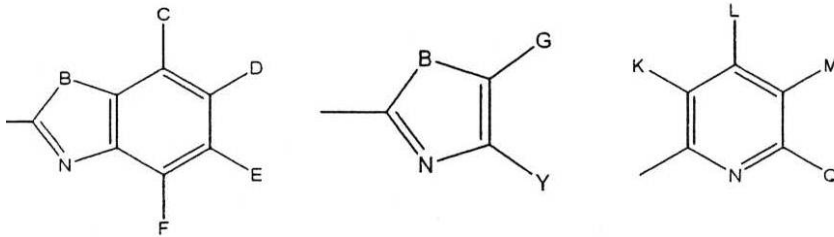
10

20

30

40

【化 1 2】



式中、

B は、O または S、最も好ましくは S を表し、

C、D、E、F、G、Y、K、L、M、Q は H であり、

Z は、H、あるいは $C_3 \sim C_5$ の分岐もしくは直鎖アルキル残基、 $C_2 \sim C_9$ の分岐もしくは直鎖アルケニル残基、 $C_5 \sim C_7$ のシクロアルキル残基、 $C_5 \sim C_7$ のシクロアルケニル残基、アリールまたはヘテロアリール残基、あるいはすべての天然アミノ酸もしくはそれらの誘導体のすべての側鎖から選択される側鎖から選択される。

Z に対して最も好ましいのは H である。

【0026】

好ましい実施形態によれば、アシル基は $C_1 \sim C_6$ アシル基である。

【0027】

さらに好ましい実施形態によれば、アルキル基は $C_1 \sim C_6$ アルキル基であり、これは分岐していても分岐していなくてもよい。

【0028】

さらに好ましい実施形態によれば、アルコキシ基は $C_1 \sim C_6$ アルコキシ基である。

【0029】

さらに好ましい実施形態によれば、アリール残基は $C_5 \sim C_{12}$ アリール残基であり、これは縮合環であってもよい。

【0030】

さらに好ましい実施形態によれば、シクロアルキル残基（炭素環）は $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル残基である。

【0031】

さらに好ましい実施形態によれば、ヘテロアリール残基は $C_4 \sim C_{11}$ アリール残基であり、これは縮合環であってもよく、そして少なくとも 1 つの環において、さらに 1 個 ~ 4 個、好ましくは 1 個または 2 個のヘテロ原子（O、N および / または S など）を有する。

【0032】

さらに好ましい実施形態によれば、ペプチド残基は 2 個 ~ 50 個のアミノ酸を含む対応する残基である。

【0033】

さらに好ましい実施形態によれば、複素環残基は $C_2 \sim C_7$ シクロアルキルラジカルであり、これはさらに 1 個 ~ 4 個、好ましくは 1 個または 2 個のヘテロ原子（O、N および / または S など）を有する。

【0034】

さらに好ましい実施形態によれば、カルボキシ基は $C_1 \sim C_6$ カルボキシ基であり、これは分岐していても分岐していなくてもよい。

【0035】

さらに好ましい実施形態によれば、オキシカルボニル基は式 $-O-(CH_2)_{1-6}COOH$ の基である。

【0036】

アミノ酸は天然または合成アミノ酸であってもよいが天然 - アミノ酸であることが好

10

20

30

40

50

ましい。

【0037】

本発明で使用することができるアミノ酸例は、LおよびD-アミノ酸、N-メチル-アミノ酸、IleおよびThrのアロおよびトレオ形態であり、例えば、
-アミノ酸、
-アミノ酸または -アミノ酸であり得て、それらのうち -アミノ酸が好ましい。

【0038】

アミノ酸の例としては、アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)、アルギニン (Arg)、リシン (Lys)、ヒスチジン (His)、グリシン (Gly)、セリン (Ser)、およびシステイン (Cys)；スレオニン (Thr)、アスパラギン (Asn)、グルタミン (Gln)、チロシン (Tyr)、アラニン (Ala)、プロリン (Pro)、バリン (Val)、イソロイシン (Ile)、ロイシン (Leu)、メチオニン (Met)、フェニルアラニン (Phe)、トリプトファン (Trp)、ヒドロキシプロリン (Hyp)、
-アラニン (-Ala)、2-アミノオクタン酸 (Aoa)、アゼチジン - (2) -カルボン酸 (Ace)、ピペコリン酸 (Pip)、3-アミノプロピオン酸、4-アミノ酪酸等、
-アミノイソ酪酸 (Aib)、サルコシン (Sar)、オルニチン (Orn)、シトルリン (Cit)、ホモアルギニン (Har)、t-ブチルアラニン (t-ブチル-Ala)、t-ブチルグリシン (t-ブチル-Gly)、N-メチルイソロイシン (N-Melle)、フェニルグリシン (Phg)、シクロヘキシルアラニン (Cha)、ノルロイシン (Nle)、システイン酸 (Cya)、およびメチオニンスルホキシド (MSO)、アセチル-Lys；ホスホリル-セリン (Ser(P))、ベンジル-セリン (Ser(Bzl))、およびホスホリル-チロシン (Tyr(P))等の変性アミノ酸；2-アミノ酪酸 (Abu)、アミノエチルシステイン (AECys)、カルボキシメチルシステイン (Cmc)、デヒドロアラニン (Dha)、デヒドロアミノ-2-酪酸 (Dhb)、カルボキシグルタミン酸 (Gla)、ホモセリン (Hse)、ヒドロキシリシン (Hyl)、シス-ヒドロキシプロリン (cisHyp)、トランス-ヒドロキシプロリン (トランスHyp)、イソバリン (Iva)、ピログルタミン酸 (Pyr)、ノルバリン (Nva)、2-アミノ安息香酸 (2-Abz)、3-アミノ安息香酸 (3-Abz)、4-アミノ安息香酸 (4-Abz)、4-(アミノメチル)安息香酸 (Amb)、4-(アミノメチル)シクロヘキサンカルボン酸 (4-Amc)、ペニシラミン (Pen)、2-アミノ-4-シアノ酪酸 (Cba)、シクロアルカン-カルボン酸、
が挙げられる。

【0039】

-アミノ酸としては、例えば5-Ara (アミノライリン酸 (aminoraleic acid))、6-Ahx (アミノヘキサ酸)、8-Aoc (アミノオクタン酸)、9-Anc (アミノパン酸)、10-Adc (アミノデカン酸)、11-Aun (アミノウンデカン酸)、および12-Ado (アミノドデカン酸)が挙げられる。

【0040】

他のアミノ酸としては、インダニルグリシン (Igl)、インドリン-2-カルボン酸 (Idc)、オクタヒドロインドール-2-カルボン酸 (Oic)、ジアミノプロピオン酸 (Dpr)、ジアミノ酪酸 (Dbu)、ナフチルアラニン (1-Nal)、(2-Nal)、4-アミノフェニルアラニン (Phe(4-NH₂))、4-ベンゾイルフェニルアラニン (Bpa)、ジフェニルアラニン (Dip)、4-ブromoフェニルアラニン (Phe(4-Br))、2-クロロフェニルアラニン ((Phe(2-Cl))、3-クロロフェニルアラニン ((Phe(3-Cl))、4-クロロフェニルアラニン ((Phe(4-Cl))、3,4-クロロフェニルアラニン ((Phe(3,4-Cl₂))、3-フルオロフェニルアラニン (Phe(3-F))、4-フルオロフェニルアラニン (Phe(4-F))、3,4-フルオロフェニルアラニン (Phe(3,4-F₂))、ペンタフルオロフェニルアラニン (Phe(F₅))、4-グアニジノフェニルアラニン (Phe(4-グアニジノ))、ホモフェニルアラニン (hPhe)、3-ヨードフェニルアラニン (Phe(3-I))、4-ヨードフェニルアラニン (Phe(4-I))、4-

メチルフェニルアラニン (P h e (4 - M e))、4 - ニトロフェニルアラニン (P h e (4 - N O ₂))、ビフェニルアラニン (B i p)、4 - ホスホノメチルフェニルアラニン (P m p)、シクロヘキサグリシン (G h g)、3 - ピリジニルアラニン (3 - P a l)、4 - ピリジニルアラニン (4 - P a l)、3, 4 - デヒドロプロリン (A - P r o)、4 - ケトプロリン (P r o (4 - K e t o))、チオプロリン (T h z)、イソニペコチン酸 (I n p)、1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (T i c)、プロバルギルグリシン (P r a)、6 - ヒドロキシノルロイシン (N U (6 - O H))、ホモチロシン (h T y r)、3 - ヨードチロシン (T y r (3 - I))、3, 5 - ジヨードチロシン (T y r (3, 5 - I ₂))、ジ - メチル - チロシン (T y r (M e))、3 - N O ₂ - チロシン (T y r (3 - N O ₂))、ホスホチロジン (T y r (P O ₃ H ₂))、アルキルグリシン、1 - アミノインダン - 1 - カルボン酸、2 - アミノインダン - 2 - カルボン酸 (A i c)、4 - アミノ - メチルピロール - 2 - カルボン酸 (P y)、4 - アミノ - ピロリジン - 2 - カルボン酸 (A b p c)、2 - アミノテトラリン - 2 - カルボン酸 (A t c)、ジアミノ酢酸 (G l y (N H ₂))、ジアミノ酪酸 (D a b)、1, 3 - ジヒドロ - 2 H - イソイノール - カルボン酸 (D i s c)、ホモシクロヘキサアラニン (h C h a)、ホモフェニルアラニン (h P h e または H o f)、トランス - 3 - フェニル - アゼチジン - 2 - カルボン酸、4 - フェニル - ピロリジン - 2 - カルボン酸、5 - フェニル - ピロリジン - 2 - カルボン酸、3 - ピリジルアラニン (3 - P y a)、4 - ピリジルアラニン (4 - P y a)、スチリルアラニン、テトラヒドロイソキノリン - 1 - カルボン酸 (T i q)、1, 2, 3, 4 - テトラヒドロノルハルメイン - 3 - カルボン酸 (T p i)、および (2 - チエニル) - アラニン (T h a) が挙げられる。

【 0 0 4 1 】

これらの化合物の哺乳類への投与 好適には経口 において、例えば、内因性 (または追加して外因的に投与された) インスリン向性ペプチド G I P _{1 - 4 2} および G L P - 1 _{7 - 3 6} (または G L P - 1 _{7 - 3 7} もしくはその類似体) は、D P I V または D P I V 様酵素により、より低次に分解され、したがってこれらのペプチドホルモンおよびその類似体の濃度減少が、減少されるかまたは遅延される。それゆえ、本発明は、血流での D P I V または D P I V 様酵素活性の減少が血糖レベルへの影響をもたらすという発見に基づく。

【 0 0 4 2 】

本発明の高親和性低分子量の酵素阻害剤の経口投与は、例えば、病理症状の治療における観血外科手術技法に対して、よりコスト効果のある代替法である。安定性、輸送、およびクリアランス性の化学的設計により、それらの作用方法は変更され、そして個々の特徴に合わせられ得る。

【 0 0 4 3 】

本発明の化合物の塩は、基本的性質を保持していれば、無機でも有機でもよい。

【 0 0 4 4 】

本発明の化合物は、酸付加塩、特に薬学的に許容可能な酸付加塩に変換して、使用することができる。薬学的に許容可能な塩は概して、塩基性側鎖が無機塩または有機塩でプロトン化された形態をとる。代表的な有機塩または無機塩としては、塩化水素酸、臭化水素酸、過塩素酸、硫酸、硝酸、リン酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、シュウ酸、パモ酸 (p a m o i c a c i d)、2 - ナフタレンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、シクロヘキサンスルファミン酸、サリチル酸、サッカリン酸またはトリフルオロ酢酸が挙げられる。本発明の化合物の薬学的に許容可能な酸付加塩形態はすべて、本発明の範囲により包含されると意図される。

【 0 0 4 5 】

遊離化合物とそれらの塩の形態の化合物との間の密接な関係を考慮すれば、化合物が本文において言及される場合はいつでも、相当する塩がその状況下で可能または適切であればそれもまた意図される。

【0046】

本発明による化合物が少なくとも1つのキラル中心を有する場合、本発明による化合物はしたがって、エナンチオマーとして存在し得る。本発明による化合物が2つ以上のキラル中心を保有する場合、化合物はさらにジアステレオマーとして存在し得る。かかる異性体およびそれらの混合物はすべて本発明の範囲内に包含されることが理解されよう。さらに、化合物の幾つかの結晶形態が多形として存在してもよく、その場合それらは本発明に包含されることが意図される。さらに、化合物の幾つかは、水（すなわち、水和物）または一般的な有機溶媒と溶媒和物を生成してもよく、かかる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。

【0047】

化合物（それらの塩を含む）はまた、それらの水和物の形態で得ることができ、あるいはそれらの結晶化に使用した他の溶媒を含むことができる。

10

【0048】

したがって、本発明は、エフェクター、特にジペプチジルペプチダーゼIV（DPPIV）およびDPPIV様酵素活性の阻害剤、ならびに哺乳類の血清中で高血糖に特徴的なグルコース濃度未満に血糖レベルを低下させるための阻害剤の使用に関する。本発明は、特に、哺乳類の病理学的代謝異常（例えば、哺乳類における、グルコース耐性障害、糖尿、高脂血症、代謝性アシドーシス、真性糖尿病、糖尿病性神経障害および腎障害、ならびに真性糖尿病により引き起こされる続発症など）を予防または軽減するために、DPPIVおよびDPPIV様酵素活性を調節するために本発明の化合物を使用することに関する。本発明はさらに、神経変性障害および高血圧を予防または軽減するために、DPPIVおよびDPPIV様酵素活性を調節するために本発明の化合物を使用することに関する。本発明の化合物の慢性投与の場合、本発明は、ランゲルハンス島の細胞でのシグナル作用および食後期の末梢組織でのインスリン感受性の改善に関する。

20

【0049】

本発明はさらに、ヒトにおける慢性代謝性疾患の慢性治療；慢性的グルコース耐性障害、慢性糖尿、慢性高脂血症、慢性代謝性アシドーシス、慢性真性糖尿病、慢性糖尿病性神経障害および腎障害、ならびに真性糖尿病により引き起こされる慢性続発症、慢性神経変性疾患、ならびにランゲルハンス島の細胞でのシグナル作用の慢性障害および哺乳類の食後期の末梢組織での慢性インスリン感受性の慢性治療；哺乳類での、慢性代謝関連高血圧および高血圧により引き起こされる慢性心血管系統発症の慢性治療；慢性心身性、慢性神経精神医学的、および抑鬱性の疾病（例えば、慢性不安、慢性抑鬱、慢性睡眠障害、慢性疲労、慢性統合失調症、慢性てんかん、慢性栄養障害、痙攣、および慢性的痛みなど）の慢性治療のために、本発明の化合物を使用することに関する。

30

【0050】

本発明の化合物は、DPPIV阻害剤のプロドラッグとして作用する。本発明に従って、化合物は、エフェクターとして、特にDPPIVおよびDPPIV様酵素の阻害剤として使用され得、かつそれらの作用部位、それらの作用開始時間、および作用時間を詳細に規定することが可能である。

【0051】

本発明のかかる化合物の投与では、例えば好適な酵素によって切断されて、活性な阻害剤が放出される。活性な阻害剤は、化学および酵素機構の両方により放出されうる。例えば、エステラーゼ、プロテアーゼおよびペプチダーゼは、本発明による化合物から活性な阻害剤を放出するように作用する。このようなエステラーゼ、プロテアーゼ等は、例えばWO97/45117号、US5433955号、US5614379号およびUS5624894号に開示されている。好ましいプロテアーゼは、アミノペプチダーゼ、ジペプチジルアミノペプチダーゼ、エンドプロテアーゼおよびエンドペプチダーゼである。本発明の化合物からの活性な阻害剤の放出に特に好ましいプロテアーゼは、アミノペプチダーゼN、アミノペプチダーゼP、ピログルタミンアミノペプチダーゼ、ジペプチジルペプチダーゼIVおよびジペプチジルペプチダーゼIV様酵素である。

40

50

【0052】

放出された活性阻害剤は、D P I VおよびD P I V様酵素と相互作用し得る。直接の結果として、例えば、上記に記載されるインスリン向性ペプチドがより低次のものに分解され、それによりインスリンの有効性が増加する。

【0053】

不安定なD P I V阻害剤それ自体の投与は不利益を有する、なぜならそれらは *i n v i v o* で非常に迅速に分解され、したがって特にヒト身体での、阻害剤の均一配布は不可能だからである。特に、経口投与の際、そのような阻害剤はあまりに不安定であるため、実質上作用しない。したがって特に真性糖尿病の治療には今まで、安定な阻害剤が使用されてきた。

10

【0054】

本発明は、不安定阻害剤をプロドラッグ形態にマスキングすることにより、それらを安定化させるという考えを用いる。

【0055】

本発明による活性阻害剤の性質は、プロドラッグからD P I V阻害剤が放出された後のそれらの不活化時間（例えば分子内環化による）が規定可能であるような方法で設計され得る。

【0056】

詳細には、本発明による化合物は、D P I VおよびD P I V様酵素の活性阻害剤が個々の患者の必要に応じて放出されるという利点を有する。

20

【0057】

本発明による化合物がD P I V分子またはアミノペプチダーゼN分子と相互作用する時、化合物はこれらの酵素により開裂して活性阻害剤が放出される。活性阻害剤は、規定された時間の間D P I V自身が本発明の化合物をさらに開裂することができないように、D P I Vおよび/またはD P I V様酵素を阻害するだろう。残存する化合物は、この規定された時間の間分解されず、したがって、D P I V分子またはアミノペプチダーゼN分子の濃度が再び上昇するか、または活性阻害剤分子が排除もしくは不活化されるまで、阻害剤貯蔵所を構成する。

【0058】

本発明は、各生物がD P I V分子のその量（これはそれぞれの生物の身体に存在する）を阻害するために必要である活性阻害剤のまさにその量を放出するというさらなる利点を有する。

30

【0059】

したがって、本発明はセリンプロテアーゼジペプチジルペプチダーゼI VまたはD P I V様酵素の不安定な阻害剤の新規化合物に関し、これは様々な障害、特に真性糖尿病に伴う代謝障害の治療に使用され得る。

【0060】

驚くべきことに、そのようなマスキング阻害剤はそのうえ、非マスキング阻害剤よりもさらに顕著に有効である：同一量の非マスキングD P I V阻害剤および本発明による化合物が使用される場合、本発明による化合物は糖尿病Z u c k e rラットでグルコース耐性に著しい改善をもたらす。

40

【0061】

本発明による化合物は、小腸（*intestine*）の粘膜を通じて、遅れることなく、例えば、栄養摂取と同時に、輸送される。

【0062】

そのうえ、活性D P I V阻害剤が放出される作用部位もまた、それらの構造により制御され得る。

【0063】

要約すると、本発明の化合物を使用すると、全く驚くべきことに、以下の事項が可能であることが明言され得る：

50

1. 阻害剤の作用の増大を達成すること、
2. 患者の必要性に応じて活性な阻害剤を放出すること、
3. 時間的に制御された方法で活性な阻害剤を放出すること、
4. 部位特異的方法で活性な阻害剤を放出すること、および
5. D P I V 阻害剤の貯蔵所を提供すること。

【0064】

上述のように、本発明の化合物、ならびにそれらの相当する薬学的に許容可能な酸付加塩形態は、D P I V および D P I V 様酵素活性を阻害するのに有用である。本発明の化合物、ならびにそれらの相当する薬学的に許容可能な酸付加塩形態の D P I V および D P I V 様酵素活性を阻害する能力は、実施例 2 および実施例 3 に記載するように、*in vivo* での K_i 値および $I C_{50}$ 値測定のための D P I V 活性アッセイを用いて実証され得る。 10

【0065】

本発明およびそれらの相当する薬学的に許容可能な酸付加塩形態の化合物の *in vivo* で D P I V を阻害する能力は、実施例 6 に記載するように、Wistar ラットへの経口または血管内投与により実証され得る。本発明の化合物は、Wistar ラットへの経口投与および血管内投与両方の後に、*in vivo* で D P I V 活性を阻害する。

【0066】

D P I V は、多種多様の哺乳類器官および組織、例えば腸の刷子縁 (Gutschmidt, S., et al., "In situ"- measurements of protein contents in the brush border region along rat jejunal villi and their correlations with four enzyme activities, *Histochemistry*, 72(3), pp.467-79 (1981))、外分泌上皮、肝細胞、腎細管、内皮、筋線維芽細胞 (Feller, A.C., et al., "A monoclonal antibody detecting dipeptidylpeptidase I V in human tissue", *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.*, 409(2), pp.263-73 (1986))、神経細胞、ある特定の表面上皮 (例えば、ファローピウス管、子宮および精嚢腺) の外面膜、例えば精嚢腺上皮の管腔細胞質における外側膜、およびブルンナー腺の粘液細胞における外側膜 (Hartel, S., et al., "Dipeptidyl peptidase (DPP) IV in rat organs. Comparison of immunohistochemistry and activity histochemistry, *Histochemistry*, 89 (2), pp.151-61 (1988))、生殖器官 (例えば、精巢上体尾および膨大部、精嚢およびそれらの分泌物 (Agrawal & Vanha-Perttula, "Dipeptidyl peptidases in bovine reproductive organs and secretions, *Int. J. Androl.*, 9(6), pp.435-52 (1986)) に存在する。ヒト血清では、2つの分子形態のジペプチジルペプチダーゼが存在する (Krepela, E., et al., "Demonstration of two molecular forms of dipeptidyl peptidase IV in normal human serum" *Physiol. Bohemoslov.*, 32(6), pp.486-96 (1983))。血清中の高分子量形態の D P I V は、活性化 T 細胞の表面上で発現される (Duke-Cohan, J.S., et al., "Serum high molecular weight dipeptidyl peptidase IV (CD26) is similar to a novel antigen DPPT-L released from activated T cells" *J. Immunol.*, 156 (5), pp.1714-21 (1996))。 20 30

【0067】

本発明の化合物、ならびにそれらの相当する薬学的に許容可能な酸付加塩形態は、*in vivo* で D P I V を阻害することができる。本発明の一実施形態では、すべての哺乳類組織および器官由来の D P I V のすべての分子形態、相同体およびエピトープ、ならびにこれらのうちでまだ発見されていないものも、本発明の範囲に包含されると意図される。 40

【0068】

プロリン特異的プロテアーゼの希少群の中で、D P I V はもともとポリペプチド鎖のアミノ末端にある末端から 2 番目の残基としてプロリンに特異的な唯一の膜結合酵素であると考えられていた。しかしながら、D P I V と構造的に非相同的であっても、相当する酵素活性を有する他の分子が最近同定された。今日までに同定されている D P I V 様酵素は、例えば、線維芽細胞活性化タンパク質、ジペプチジルペプチダーゼ I V、ジペプ 50

チジルアミノペプチダーゼ様タンパク質、N-アセチル化 - 結合酸性ジペプチダーゼ、静止細胞プロリンジペプチダーゼ、ジペプチジルペプチダーゼII、アトラクチンおよびジペプチジルペプチダーゼIV関連タンパク質(DPP8)であり、Sedo & Malikによる総論に記載されている(Sedo & Malik, "Dipeptidyl peptidase IV-like molecules: homologous proteins or homologous activities?", Biochimica et Biophysica Acta, 3650 6, pp.1-10 (2001))。さらに、DPIV様酵素は、WO01/19866号、WO02/34900号およびWO02/31134に開示されている。WO01/19866号は、DPIVおよび線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)に対して構造的および機能的類似性を有する新規ヒトジペプチジルアミノペプチダーゼ8(DPP8)を開示している。WO02/34900号は、DPIVおよびDPP8のアミノ酸配列に有意な相同性を有する新規ジペプチジルペプチダーゼ9(DPP9)を開示している。WO02/31134号は、3つのDPIV様酵素、すなわちDPRP1、DPRP2およびDPRP3を開示している。

10

【0069】

本発明の別の好適な実施形態において、全ての哺乳類組織および器官からの、DPIV様酵素活性を含むタンパク質の全ての分子型、相同体およびエピトープ、ならびに未だ発見されていないものもまた、本発明の範囲に包含されることが意図される。

【0070】

本発明の化合物、およびそれらの対応する薬学的に許容可能な酸付加塩型のDPIV様酵素を阻害する能力は、実施例4に記載されるとおり、*in vitro*で K_i 値を決定する酵素活性アッセイを用いることで実証され得る。

20

【0071】

別の実施形態において、本発明の化合物、およびそれらの対応する薬学的に許容可能な酸付加塩型は、非DPIVおよび非DPIV様プロリン特異的酵素に対して阻害活性があったとしても、低くしか有さない。したがって実施例5を参照。

【0072】

DPIVおよびDPIV様酵素活性を阻害するそれらの能力の点から見て、本発明の化合物、およびそれらの対応する薬学的に許容可能な酸付加塩型は、上記酵素活性により媒介される状態を治療するのに有用である。本発明の実施例に、および文献に記載される発見に基づいて、本明細書中に開示される化合物が、免疫障害、自己免疫障害、または発作、腫瘍、虚血、パーキンソン病および片頭痛からなる群より選択される中枢神経系障害などの状態の治療に有用であることが示され得る。

30

【0073】

本発明のさらに好適な実施形態において、本発明の化合物、およびそれらの対応する薬学的に許容可能な酸付加塩型は、経口グルコースチャレンジに反応して上昇した血液グルコースレベルを低減させることによりグルコース耐性を改善し、したがって、非インスリン依存性真性糖尿病の治療に有用である。本発明の化合物、およびそれらの対応する薬学的に許容可能な酸付加塩型の、経口グルコースチャレンジに反応してグルコース耐性を改善する能力は、糖尿病Zuckerラットで測定することが可能である。この方法は実施例7で記載される。

40

【0074】

したがって、本発明は、それを必要としている被検体でDPIVまたはDPIV様酵素活性の調節により媒介される状態の予防法または治療法を提供し、これは本発明の化合物またはそれらの薬学的組成物のいずれかを、状態を治療するのに薬学的に有効な量および投薬レジメンで投与することを含む。さらに、本発明は、被検体のDPIV活性の調節により媒介される状態の予防または治療のための薬物の調製への、本発明の化合物、およびそれらの対応する薬学的に許容可能な酸付加塩型の使用を含む。化合物は、任意の従来の投与経路により患者へ投与され得、静脈内、経口、皮下、筋肉内、皮内、非経口、およびそれらの組合せを含むが、これらに限定されない。

【0075】

50

実施態様のさらに好適な形態において、本発明は、少なくとも1種の本発明の化合物またはその塩を、随意に1種または複数の薬学的に許容可能なキャリアおよび/または溶媒と組み合わせて含む薬学的組成物、すなわち薬物に関する。

【0076】

薬学的組成物は、例えば、非経口または経腸処方形態であるか、または適切なキャリアを含んでもよく、あるいはそれらは経口投与に適した適切なキャリアを含み得る経口処方形態であってもよい。好ましくは、それらは経口処方形態である。

【0077】

薬学的組成物は、さらに1種または複数のそれ自体既知の、活性成分であり得る低血糖作用のある成分を含んでもよい。

【0078】

本発明に従って投与されるDPIVおよびDPIV様酵素のエフェクターは、阻害剤として、または阻害剤、基質、偽基質、DPIV発現阻害剤、哺乳類のDPIVおよびDPIV様タンパク質濃度を減少させるそれらの酵素タンパク質の結合蛋白質または抗体と組み合わせて、薬学的に投与可能な処方または処方複合物に用いられ得る。本発明の化合物は、治療を患者および疾患に個別に合わせることを可能にし、特に、個々の不耐性、アレルギー、および副作用を回避することが可能になる。

【0079】

本発明の化合物はまた、異なる度合いの活性を時間の関数として示す。それにより、治療を行う医者は、患者の個別の状況に異なる対応をする機会を与えられる。彼は、一方では作用開始までの時間を、もう一方では作用の持続時間を、そして特に作用強度を正確に調整することができる。

【0080】

本発明による方法は特に、哺乳類の血清中の上昇した血液グルコース濃度を減少させる新規アプローチを表す。これは、単純で、商業的に応用しやすく、かつ哺乳類での、および特にヒト医薬での、特に、平均を上回る血液グルコース値、神経変性障害または高血圧に基づく疾患の治療に使用するのに適している。

【0081】

化合物は、例えば、先行技術で既知の希釈剤、賦形剤および/またはキャリアのような通常の添加物と組み合わせて活性成分を含む薬学的調製物の形態で投与される。例えば、それらは、非経口で（例えば、生理食塩水溶液に入れて静脈内に）、または経腸で（例えば、グルコースなどの通常のキャリアと配合されて経口で）投与される。

【0082】

それらの内在安定性およびそれらのバイオアベイラビリティに依存して、血液グルコース値の所望の正常化を達成するために、1日1回または複数回本発明の化合物が与えられ得る。例えば、ヒトでのそのような投薬量は、1日当たり化合物0.01mg~250.0mgの範囲、好ましくは体重1キログラムあたり0.01mg~100mgの範囲が可能である。

【0083】

ジペプチジルペプチダーゼIVおよびDPIV様酵素活性のエフェクターを哺乳類の血中に投与することにより、付随する一時的な活性減少がもとで、内因性（または追加的に外因的に投与された）インスリン向性ペプチドである胃阻害性ポリペプチド1-42（GIP₁₋₄₂）およびグルカゴン様ペプチドアミド-1₇₋₃₆（GLP-1₇₋₃₆）（または他のGLP-1₇₋₃₇あるいはその類似体）は、結果として、DPIVまたはDPIV様酵素により、より低次に分解され、したがってこれらのペプチドホルモンおよびその類似体の濃度減少が、減少されるかまたは遅延されることが見いだされている。（内因性または外因的に補充された）インクレチンまたはそれらの類似体の安定性の増加は、DPIVエフェクターの作用がもとで達成され、そしてそれらが大量に利用可能になるので膵臓のランゲルハンス細胞のインクレチン受容体のインスリン向性刺激が変化し、とりわけ身体自身のインスリンの有効性を変更させ、それとともに治療される被検体の炭水化物

10

20

30

40

50

代謝の刺激をもたらす。

【0084】

結果として、血糖レベルは、治療される被検体の血清で高血糖に特徴的なグルコース濃度未満に下がる。したがって、代謝異常（哺乳類における、グルコース耐性障害、糖尿、高脂血症、代謝性アシドーシス、真性糖尿病、糖尿病性神経障害、および腎障害、ならびに真性糖尿病により引き起こされる続発症など）、哺乳類における、代謝関連高血圧および高血圧により引き起こされる心血管系統発症、皮膚疾患および粘膜の疾患、自己免疫疾患、高血圧および炎症状態、ならびに心身性、神経精神医学的、および抑鬱性の疾病（不安、抑鬱、睡眠障害、慢性疲労、統合失調症、てんかん、栄養障害、痙攣、および慢性的痛みなど）を予防または軽減することが可能になる。

10

【0085】

様々な抗糖尿病薬の血糖減少作用を向上させるために、様々な経口活性抗糖尿病薬の組合せがしばしば用いられる。本発明の化合物の抗高血糖作用は、他の既知の経口投与可能な抗糖尿病薬と独立して作用するので、本発明の活性成分は、所望の血糖正常効果を達成するため、適切な生薬形態で、組合せ治療に使用するのに同じように適する。

【0086】

したがって、本発明に従って使用される化合物は、不活性で、無毒性の、薬学的に適したキャリアおよび添加物または溶媒を使用して、それ自身既知である方法で、従来の処方（例えば、錠剤、カプセル剤、ドラジェ、丸剤、坐剤、顆粒、エーロゾル、シロップ、液体、固体、およびクリーム様乳濁液および懸濁液、ならびに溶液など）に変換され得る。これらの処方のそれぞれにおいて、治療上有効な化合物は、好ましくは、全混合物の約0.1重量%～80重量%、好ましくは1重量%～50重量%、の濃度で、換言すれば、得られるべき前述の服用量範囲に対して十分な量で、存在する。

20

【0087】

本発明に従って使用される化合物は胃腸管の粘膜によって良好に吸収されるので、多くの生薬調製物に使用され得る。

【0088】

本物質（substances）は、ドラジェ、カプセル剤、咀嚼可能な（bitable）カプセル剤、錠剤、ドロップ、シロップの形態の薬物として、または坐剤としてもしくは鼻スプレーとしても使用され得る。

30

【0089】

配合物は、例えば、随意に乳化剤および/または分散剤を使用して、活性成分を溶媒および/またはキャリアで薄めることにより調製され、例えば、水が希釈剤として使用される場合、有機溶媒を補助溶媒として随意に使用することが可能である。

【0090】

例を挙げると、賦形剤として水、無毒性有機溶媒、例えばパラフィン（例えば、天然油のフラクション）、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、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）など、固体キャリアとして、例えば、天然の粉末鉱物（例えば、高分散シリカ、ケイ酸塩）、糖類（例えば、原料糖、ラクトース、およびブドウ糖）など、乳化剤として、非イオン性およびアニオン性乳化剤（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、およびスルホン酸アリアル）など、分散剤（例えば、リグニン、亜硫酸液（sulphite liquors）、メチルセルロース、デンプン、およびポリビニルピロリドン）、および潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルカム、ステアリン酸、およびラウリル硫酸ナトリウム）、ならびに随意に風味剤があり得る。

40

【0091】

投与は、通常の方法で、好ましくは経腸でまたは非経口で、特に経口で、行われる。経腸投与の場合、錠剤は、上述のキャリアに加えて、さらなる添加物（クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、およびリン酸カルシウムなど）を、様々な添加物（デンプン、好まし

50

くはジャガイモデンプン、ゼラチンなど)と一緒に含んでもよい。そのうえさらに、潤滑剤(ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびタルカムなど)が、錠剤化に同時に使用され得る。経口投与用の水性懸濁液および/またはエリキシル剤の場合、上記の賦形剤に加えて、様々な風味改善剤(taste correctives)または着色料が、活性成分に加えられ得る。

【0092】

非経口投与の場合、適した液体キャリアを用いた活性成分溶液が使用され得る。一般に、静脈内投与の場合、有効な結果を得るために1日当たり体重1kg当たり約0.01mg~2.0mg、好ましくは約0.01mg~1.0mgの量を、および経腸投与の場合、1日当たり体重1kg当たり約0.01mg~2mg、好ましくは約0.01mg~1mgの投薬量を投与することが有利であることが見いだされている。

【0093】

それにもかかわらず、場合によっては、実験動物または患者の体重によって、または投与径路の型によって、それだけでなく動物の種、および薬物もしくは投与が行われる間隔に対するそれらの個々の反応に基づいて、上述の量から外れることが必要になることもある。したがって、場合によっては、上記の最少量よりも少ない量を使用することで十分なこともあるが、一方、他の場合では上述の上限を超えなければならないだろう。比較的大量が投与される場合、一日の中で、そのような量を数回に分割して服用することが賢明かもしれない。ヒト医薬での投与について、同じ服用量範囲が提供される。その場合に上記の記載は同様に適用される。

【実施例】

【0094】

薬学的処方の実施例

1. 1カプセル当たり100mgの本発明の化合物を含有するカプセル剤:

約10,000カプセル剤用に、以下の組成の溶液を調製する。

本発明の化合物	1.0kg
グリセロール	0.5kg
ポリエチレングリコール	3.0kg
水	0.5kg
	5.0kg

溶液を、それ自身既知である方法で、柔らかいゼラチンカプセルに導入する。このカプセル剤は、咀嚼(chewing)または嚥下に適している。

2. 100mgの本発明の化合物を含有する錠剤もしくは被覆錠剤(tables)または糖衣錠(ドラジェ):

以下の量は、100,000個の錠剤の調製を示す。

本発明の化合物、微粉末	10.0kg
グルコース	4.35kg
ラクトース	4.35kg
デンプン	4.50kg
セルロース、微粉末	4.50kg

上記の成分を混合し、次いで

ポリビニルピロリドン	2.0kg
ポリソルベート	0.1kg
および水	約5.0kg

から調製した溶液を加え、公知の方法で湿った塊をすりおろして0.2kgのステアリン酸マグネシウムを加えてからをれを乾燥させることにより、顆粒化する。30.0kgの出来上がった錠剤混合物を加工処理して、300mgの重さの凸面錠剤を生成する。錠剤は、それ自体が既知である方法で被覆または糖衣され得る。

本発明の実施例

実施例4:ペプチジルケトンの合成

10

20

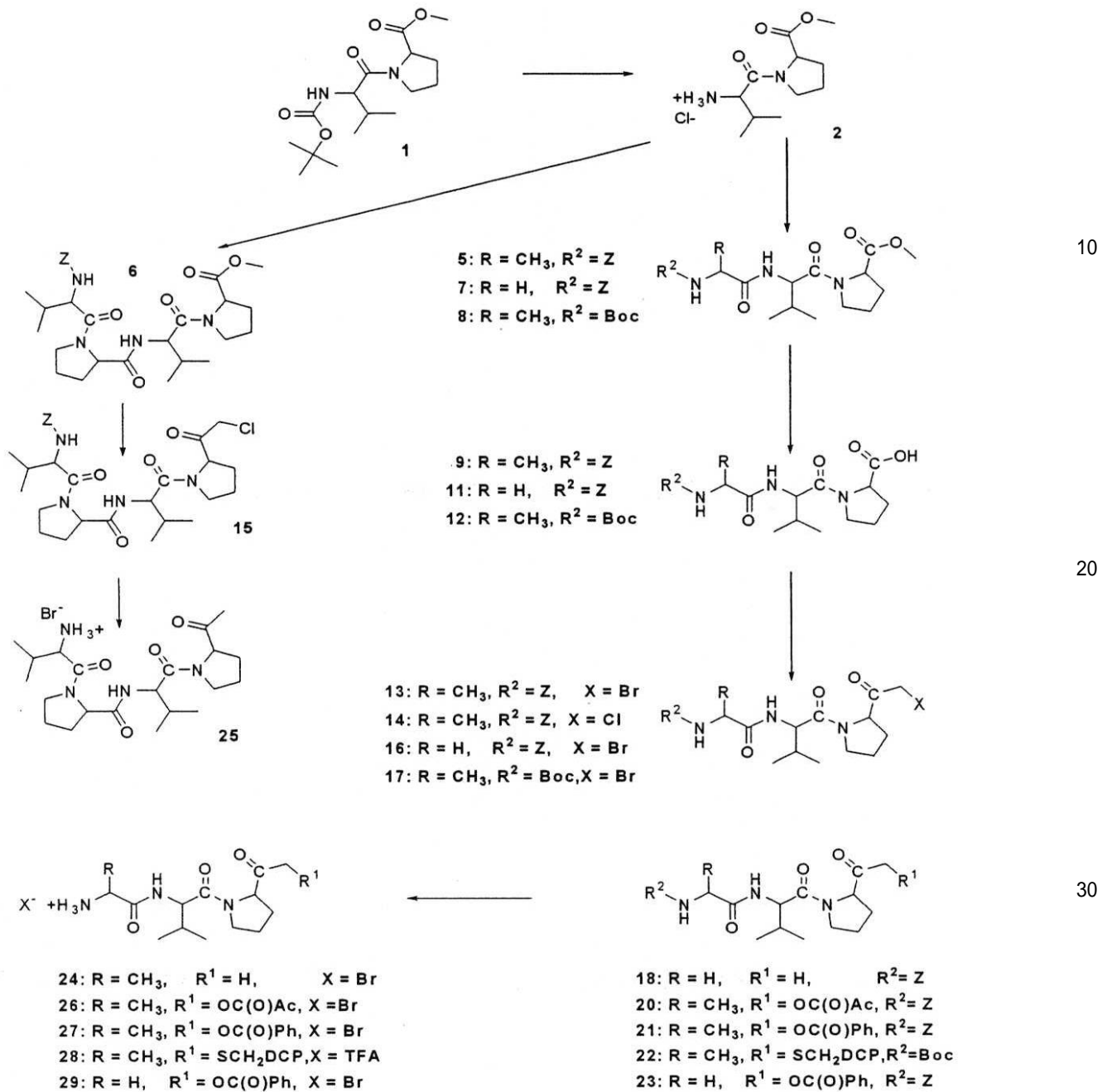
30

40

50

【 0 0 9 5 】

【 化 1 3 】

H-Val-Pro-OMe^{*} HCl 2

Boc-Val-OH (3.00 g、13.8 mmol) を 10 ml の乾燥 THF に溶解し、15 に冷却した。混合物に、CAIBE (1.80 ml、13.8 mmol) および NMM (1.52 ml、13.8 mmol) を加え、そして混合無水物の生成が完了するまで溶液を攪拌した。次いで、混合物を -10 にし、そして NMM (1.52 ml、13.8 mmol) を加え、続いて H-Pro-OMe^{*} HCl (2.29 g、13.8 mmol) を加えた。混合物を室温まで昇温させて一晩放置した。

【 0 0 9 6 】

溶媒の除去および通常の後処理後、得られたエステル 1 をさらに特性決定することなく用いた。

【 0 0 9 7 】

1 を HCl / HOAc (5 ml、6 N) に溶解し、そして Boc 基の除去が完了するま

10

20

30

40

50

で0 に置いた。次いで、溶媒を除去し、そして得られる油状物をジエチルエーテルで処理して白色固体2を得た。

収率：2.5 g、80%

Z-Val-Pro-OMe 3

Z-Val-OH (3.5 g、13.9 mmol) および H-Pro-OMe* HCl (2.14 g、13.9 mmol) を、上記の1についてと同じ方法で処理して、3を白色固体として得た。

収率：3.76 g、80%

Z-Val-Pro-OH 4

3 (3.76 g、10.4 mmol) を30 mlの水/アセトン(体積比1/5)に溶解し、11.4 mlのNaOH(1N)を加えた。反応完了後、蒸発により有機溶媒を除去し、得られる溶液を15 mlのNaHCO₃溶液(飽和)で希釈した。次いで、混合物を10 mlの酢酸エチルエステルで3回抽出した。その後、溶液にHCl(15%水溶液)を加えてpH2にした。得られる混合物を30 mlの酢酸エチルエステルで3回抽出した。有機層を分離し、そしてブラインで3回洗い、乾燥させ(Na₂SO₄)、そして蒸発させた。

収率：3.25 g、90%

Z-Ala-Val-Pro-OMe 5

Z-Ala-OH (3.5 g、15.7 mmol) および 2 (4.18 g、15.7 mmol) を、上記の1についてと同じ方法で処理して、3を白色固体として得た。

収率：4.2 g、64%

Z-Ala-Pro-Val-Pro-OMe 6

4 (3.76 g、10.08 mmol) および 2 (2.19 g、10.08 mmol) を、上記の1についてと同じ方法で処理して、6を白色固体として得た。

収率：4.21 g、70%

Z-Gly-Val-Pro-OMe 7

Z-Gly-OH (1.55 g、7.45 mmol) および 2 (1.51 g、7.45 mmol) を、上記の1についてと同じ方法で処理して、7を油状物として得た。

収率：2.99 g、96%

Boc-Ala-Val-Pro-OMe 8

Boc Ala (1.29 g、6.80 mmol) および 2 (1.80 g、6.80 mmol) を、上記の1についてと同じ方法で処理して、8を白色固体として得た。

収率：2.24 g、83.1%

Z-Ala-Val-Pro-OH 9

5 (4.15 g、9.6 mmol) を、上記の4についてと同じ方法で処理して、7を白色固体として得た。

収率：3.5 g、87%

Z-Val-Pro-Val-Pro-OH 10

6 (4.21 g、7.5 mmol) を、上記の4についてと同じ方法で処理して、7を白色固体として得た。

収率：3.89 g、95%

Z-Gly-Val-Pro-OH 11

7 (2.99 g、7.15 mmol) を、上記の4についてと同じ方法で処理して、7を白色固体として得た。

収率：1.88 g、65%

Boc-Ala-Val-Pro-OH 12

8 (1 g、2.50 mmol) を、上記の4についてと同じ方法で処理して、7を白色固体として得た。

収率：0.88 g、89.1%

Z-Ala-Val-Pro-CH₂-Br 13

10

20

30

40

50

9 (2 . 0 0 g、 4 . 7 6 m m o l) を、 1 5 m l の 乾 燥 T H F に 溶 解 し、 C A I B E (0 . 6 2 3 m l、 4 . 7 6 m m o l) お よ び N M M (0 . 5 2 5 m l、 4 . 7 6 m m o l) を 用 い て 混 合 無 水 物 (化 合 物 1 を 参 照 の こ と) に 変 換 し た。 生 成 し た 沈 殿 を 濾 別 し て、 - 1 5 に 冷 却 し た。 次 い で、 ア ル ギ ン 雰 囲 気 下、 ジ ア ゾ メ タ ン (3 0 m l の エ ー テ ル 中 2 3 . 8 m m o l) を 溶 液 に 滴 下 し た。 混 合 物 を 0 で 1 時 間 放 置 し た 後、 1 . 2 7 m l の H B r (A c O H 中 3 3 %) を 加 え、 溶 液 を 室 温 で 3 0 分 間 攪 拌 し た。 そ の 後、 7 0 m l の エ ー テ ル を 加 え、 そ し て 混 合 物 を 2 0 m l の 水 で 洗 っ た。 有 機 層 を 分 離 し、 乾 燥 し (N a ₂ S O ₄)、 そ し て 蒸 発 さ せ た。

収 率 (粗) : 1 . 8 g、 8 0 %

Z - A l a - V a l - P r o - C H ₂ - C l 1 4

9 (1 . 0 2 g、 2 . 4 3 m m o l) を、 上 記 の 1 3 に つ い て 述 べ た よ う に、 C A I B E (0 . 3 1 5 m l、 2 . 4 3 m m o l)、 N M M (0 . 2 6 7 m l、 2 . 4 3 m m o l)、 ジ ア ゾ メ タ ン (1 6 m l の エ ー テ ル 中 に 1 2 . 2 m m o l)、 お よ び ジ オ キ サ ン (7 . 6 M) 中 の H C l 5 m l を 用 い て、 処 理 し た。

収 率 (粗) : 1 g、 9 1 %

Z - V a l - P r o - V a l - P r o - C H ₂ - C l 1 5

1 0 (1 . 1 g、 2 . 0 1 m m o l) を、 上 記 の 1 3 に つ い て 述 べ た よ う に、 C A I B E (0 . 2 6 3 m l、 2 . 0 1 m m o l)、 N M M (0 . 2 2 3 m l、 2 . 0 2 m m o l)、 ジ ア ゾ メ タ ン (1 3 . 3 m l の エ ー テ ル 中 に 1 0 m m o l)、 お よ び ジ オ キ サ ン (7 . 6 M) 中 の H C l 5 m l を 用 い て、 処 理 し た。

収 率 (粗) : 1 . 1 g、 9 5 %

Z - G l y - V a l - P r o - C H ₂ - B r 1 6

1 1 (2 . 0 4 g、 5 . 0 5 m m o l) を、 上 記 の 1 3 に つ い て 述 べ た よ う に、 C A I B E (0 . 6 5 6 m l、 5 . 0 5 m m o l)、 N M M (0 . 5 5 6 m l、 5 . 0 5 m m o l)、 ジ ア ゾ メ タ ン (1 3 . 3 m l の エ ー テ ル 中 に 1 0 m m o l)、 お よ び ジ オ キ サ ン (7 . 6 M) 中 の H C l 5 m l を 用 い て、 処 理 し た。

収 率 (粗) : 2 . 1 0 g、 9 0 . 4 %

B o c - A l a - V a l - P r o - C H ₂ B r 1 7

1 2 (0 . 8 8 g、 2 . 2 8 m m o l) を、 上 記 の 1 3 に つ い て 述 べ た よ う に、 C A I B E (2 . 2 8 m m o l、 0 . 3 7 m l)、 N M M (2 . 2 8 m l、 0 . 3 1 m m o l)、 ジ ア ゾ メ タ ン (1 5 m l の エ ー テ ル 中 に 1 4 . 3 m m o l)、 お よ び H B r / 氷 酢 酸 (3 3 %) : 4 . 2 4 m m o l、 1 . 0 4 m l を 用 い て、 処 理 し た。

収 率 : 0 . 8 8 g、 8 3 . 4 %

Z - 保 護 メ チ ル ケ ト ン

A - A l a - V a l - P r o - C H ₃ 1 8

1 4 (1 g、 2 . 2 1 m m o l) を、 5 . 3 0 m l の 温 酢 酸 に 溶 解 し、 攪 拌 溶 液 に 1 . 3 3 g の 垂 鉛 末 を 少 し づ つ 分 け て 加 え た。 2 4 時 間 後、 残 っ て い る 固 体 を 濾 別 し、 そ し て 溶 液 を 蒸 発 さ せ た。 残 っ た 油 状 物 を 酢 酸 エ チ ル 中 に 取 り、 N a H C O ₃ お よ び プ ラ イ ン で 2 回 洗 っ た。 次 い で、 有 機 層 を 乾 燥 し 蒸 発 さ せ て、 ヘ プ タ ン / ク ロ ロ ホ ル ム / メ タ ノ ー ル の 勾 配 を 用 い て カ ラ ム ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー に よ り 精 製 し た。

収 率 : 0 . 2 3 0 g、 2 4 . 8 %

Z - V a l - P r o - V a l - P r o - C H ₃ 1 9

1 5 (1 . 1 g、 1 . 9 1 m m o l) を、 上 記 の 1 8 に つ い て 述 べ た よ う に、 酢 酸 (5 . 3 m l) お よ び 垂 鉛 (1 . 3 1 g) を 用 い て、 処 理 し た。

収 率 : 0 . 1 9 0 g、 1 6 %

N - 保 護 ア シ ル オ キ シ メ チ レ ン ケ ト ン

酸 (2 当 量) を D M F 中 に 溶 解 し て、 等 量 の K F を 添 加 し た。 懸 濁 液 を 室 温 で 1 時 間 攪 拌 し た。 次 に、 プ ロ ム メ チ レ ン (1 当 量) 成 分 を 添 加 し て、 溶 液 を 一 晩 攪 拌 放 置 し た。 そ の 後、 溶 媒 を 真 空 下 で 除 去 し て、 得 ら れ た 油 状 物 質 を ク ロ ロ ホ ル ム 中 に 溶 解 し て、 プ ラ イ ン で 洗 浄 し た。 続 い て、 有 機 層 を 分 離 し て、 乾 燥 し (N a ₂ S O ₄)、 溶 媒 を 除 去 し た。

10

20

30

40

50

シリカゲルおよびヘプタン/クロロホルムを用いたカラムクロマトグラフィにより生成物を精製した。

Z - Ala - Val - Pro - CH₂O - C(O) - CH₃ 20

酢酸 (230 μl、4.02 mmol)、KF (0.234 g、4.02 mmol)、13 (1.00 g、2.01 mmol)

収率: 0.351 g、36%

Z - Ala - Val - Pro - CH₂O - C(O) - Ph 21

安息香酸 (0.275 g、2.25 mmol)、KF (0.131 mg、2.25 mmol)、13 (0.56 g、1.13 mmol)

収率: 0.34 g、56%

10

Boc - Ala - Val - Pro - CH₂ - S - CH₂ - ジクロロフェニル 22

ジクロロベンジルメルカプタン (0.30 ml、2.09 mmol)、KF (0.250 g、4.19 mmol)、17 (0.88 g、1.9 mmol)

収率: 0.56 g、51%

Z - Gly - Val - Pro - CH₂O - C(O) - Ph 23

安息香酸 (1.19 g、9.78 mmol)、KF (0.568 g、9.78 mmol)、16 (2.35 g、4.89 mmol)

収率: 0.89 g、34.8%

脱保護

方法 A

20

Z 保護化合物を HBr / AcOH 中に溶解して、攪拌した。反応が完了したら、エーテルを添加して、生成した白色沈殿物を濾別して、乾燥した。

方法 B

Boc 保護化合物を TFA に溶解して、攪拌した。反応が完了したら、エーテルを添加して、生成した白色沈殿物を濾別して、乾燥した。

H - Ala - Val - Pro - CH₃ * HBr 24

方法 A

18 (0.230 g、0.54 mmol)

収率: 0.124 g、80%

H - Val - Pro - Val - Pro - CH₃ * HBr 25

30

方法 A

19 (0.190 g、0.20 mmol)

収率: 0.114 g、82.3%

H - Ala - Val - Pro - CH₂O - C(O)CH₃ * HBr 26

方法 A

20 (0.351 g、0.73 mmol)

収率: 0.252 g、98%

H - Ala - Val - Pro - CH₂O - C(O)Ph * HBr 27

方法 A

21 (0.34 g、0.63 mmol)

40

収率: 0.251 g、99%

H - Ala - Val - Pro - CH₂ - S - CH₂ - ジクロロフェニル * TFA 28

方法 B

22 (0.56 g、0.97 mmol)

収率: 0.027 g、5%

H - Gly - Val - Pro - CH₂O - C(O)Ph * HBr 29

方法 A

23 (0.156 g、0.26 mmol)

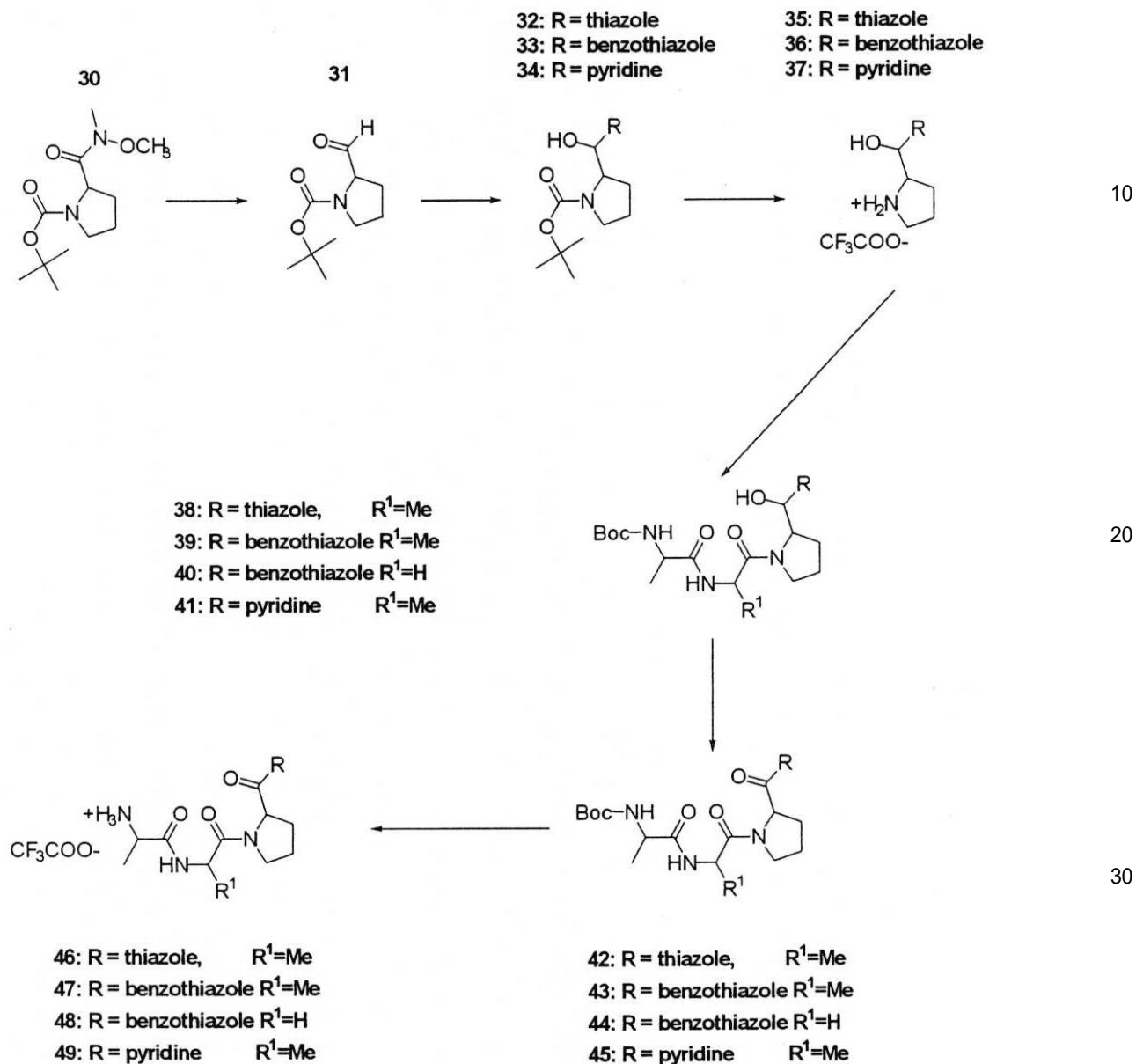
収率: 0.115 g、99%

【0098】

50

【化 1 4】

Scheme 2



Boc-Pro-N(Me)OMe 30

Boc-Prolin (2.00 g、9.29 mmol)、塩酸N,O-ジメチルヒドロキシルアミン (0.91 g、9.29 mmol) を、上記の1について述べたように、
NMM (2 ml、18.4 mmol) およびCAIBE (1.47 ml、9.29 mmol) を用いて、処理した。

収率: 2.1 g、87.5%

Boc-プロリナール 31

0 で、10 mmol の30を20 mlの無水エーテルに溶解した。12.5 mmol のリチウムアラナートを加えた。7分攪拌した後、10 mlの飽和KHSO₄溶液を滴下して加えた。次いで、混合物に50 mlのエーテルを加えて希釈し、そして有機層を分離した。これを、1 NのHCl、水、飽和NaHCO₃溶液、ブラインで洗い、そして乾燥させた。

30 (1.43 g、5.54 mmol)、LiAlH₄ (0.26 g、6.92 mmol) 50

o 1)

収率：0.78 g、70.8%

2 - (ヘテロシクロ-ヒドロキシメチル-N-Boc-(2S)-ピロリジン

アルゴン雰囲気下、1.1当量のヘテロ環化合物を5mlの乾燥THFに溶解し、65にした。1.1当量のn-ブチルリチウム(ヘキサン中1.6M)を加え、溶液を-65で1時間攪拌した。2mlの乾燥THFに溶解した1当量の31を、攪拌した溶液に滴下し、そして混合物を-65で2時間攪拌した。その後、2mlの水を加え、そして塩化メチレンを用いて溶液を3回抽出した。有機層を分離し、乾燥させ、そして蒸発させた。

【0099】

2 - [([1,3]-チアゾール-2-イル)ヒドロキシメチル] - 1 - N - (tert-ブトキシカルボニル) - (2S) - ピロリジン 32

31 (1.0 g、5.02 mmol)、チアゾール(0.39 ml、5.52 mmol)、n-BuLi(1.6 M)(3.45 ml、5.52 mmol)

収率：1.02 g、71.0%

2 - [(ベンゾチアゾール-2-イル)ヒドロキシメチル] - 1 - N - (tert-ブトキシカルボニル) - (2S) - ピロリジン 33

31 (1.0 g、5.02 mmol)、ベンゾチアゾール(0.6 ml、5.52 mmol)、n-BuLi(1.6 M)(3.45 ml、5.52 mmol)

収率：1.73 g、78.0%

2 - [(ピリジン-2-イル)ヒドロキシメチル] - 1 - N - (tert-ブトキシカルボニル) - (2S) - ピロリジン 34

31 (1.3 g、6.54 mmol)、2-ブロムピリジン(0.70 ml、7.19 mmol)、n-BuLi(1.6 M)(4.5 ml、7.19 mmol)

収率：1.68 g、92.2%

2 - (ヘテロシクロ-ヒドロキシメチル(2S)-ピロリジン

32、33および34を、上記の2について述べたように処理した。

2 - [([1,3]-チアゾール-2-イル)ヒドロキシメチル] - (2S) - ピロリジン塩酸塩 35

32 (0.46 g、1.62 mmol)

収率：0.34 g、94.9%

2 - [(ベンゾチアゾール-2-イル)ヒドロキシメチル] - (2S) - ピロリジン塩酸塩 36

33 (0.6 g、1.79 mmol)

収率：0.436 g、90%

2 - [(ピリジン-2-イル)ヒドロキシメチル] - (2S) - ピロリジン塩酸塩 37

34 (0.95 g、3.41 mmol)

収率：0.71 g、96.8%

N保護 2 - (ヘテロシクロ-ヒドロキシメチル-N-ペプチジル-(2S)-ピロリジン

1当量のBoc-Ala-Val-OHまたはBoc-Ala-Gly-OH、および1当量のN-ヒドロキシコハクイミドを、ジオキサンに溶解した。0で、1当量のジシクロヘキシルカルボジイミドを加え、そして溶液を2時間攪拌した。室温で一晩攪拌後、沈殿物を除去した。有機相を、NaHCO₃飽和溶液およびブラインで洗った。乾燥後、溶媒を除去した。

【0100】

活性エステルを1当量の35とともに、乾燥THFに溶解し、そして0にした。1当量のトリエチルアミンを加え、そして0で2時間攪拌した。溶媒を除去し、そして残った油状物を酢酸エチルに溶解した。1NHCl、水、NaHCO₃飽和溶液、およびブラインで洗った後、乾燥させてから溶媒を除去した。

【0101】

10

20

30

40

50

混合物をヘプタン/クロロホルムの勾配を用いて、カラムクロマトグラフィーにより精製した。

2 - [([1 , 3] - チアゾール - 2 - イル) ヒドロキシメチル] - 1 - { N - [N - (tert-ブチルオキシカルボニル) (L) - アラニル] - (L) - バリニル } - (2 S) - ピロリジン 3 8

3 5 (0 . 4 4 g , 1 . 5 4 m m o l) 、 N - ヒドロキシコハクイミド (0 . 1 7 g 、 1 . 5 4 m m o l) 、 D C C (0 . 3 2 g 、 1 . 5 4 m m o l) 、 B o c - A l a - V a l - O H (0 . 3 4 g 、 1 . 5 4 m m o l) 、 T E A (0 . 2 2 m l 、 1 . 5 4 m m o l)

収率 : 0 . 3 g 、 4 2 . 9 %

10

1 当量の B o c - A l a - V a l - O H または B o c - A l a - G l y - O H 、 および 0 . 9 当量の 3 6 または 3 7 、 1 . 1 当量の H O B t 、 ならびに 1 . 1 当量の W S C D を、乾燥 A C N に溶解した。0 . 9 当量の T E A を加えた後、混合物を一晩攪拌した。溶媒を除去し、そして残った油状物を酢酸エチルに溶解した。溶液をブラインで洗い、そして乾燥させた。

2 - [(ベンゾチアゾール - 2 - イル) ヒドロキシメチル] - 1 - { N - [N - (tert-ブチルオキシカルボニル) (L) - アラニル] - (L) - バリニル } - (2 S) - ピロリジン 3 9

3 6 (0 . 4 3 g 、 1 . 2 3 m m o l) 、 H O B t (0 . 1 8 3 g 、 1 . 3 5 m m o l) 、 W S C D (0 . 2 5 9 g 、 1 . 3 5 m m o l) 、 B o c - A l a - V a l - O H (0 . 3 5 g 、 1 . 2 3 m m o l) 、 T E A (0 . 1 7 2 m l 、 1 . 5 4 m m o l)

20

収率 : 0 . 3 g 、 4 2 . 9 %

2 - [(ベンゾチアゾール - 2 - イル) ヒドロキシメチル] - 1 - { N - [N - (tert-ブチルオキシカルボニル) (L) - アラニル] グリシル } - (2 S) - ピロリジン 4 0

3 6 (0 . 4 3 g 、 1 . 2 3 m m o l) 、 H O B t (0 . 1 8 3 g 、 1 . 3 5 m m o l) 、 W S C D (0 . 2 5 9 g 、 1 . 3 5 m m o l) 、 B o c - A l a - V a l - O H (0 . 3 0 3 g 、 1 . 2 3 m m o l) 、 T E A (0 . 1 7 2 m l 、 1 . 5 4 m m o l)

収率 : 0 . 4 1 g 、 7 2 %

2 - [(ピリジン - 2 - イル) ヒドロキシメチル] - 1 - { N - [N - (tert-ブチルオキシカルボニル) (L) - アラニル] - (L) - バリニル } - (2 S) - ピロリジン 4 1

30

3 7 (0 . 1 5 g 、 0 . 5 2 m m o l) 、 B o c - A l a - V a l - O H (0 . 1 g 、 0 . 4 7 m m o l) 、 H O B T (0 . 0 8 g 、 0 . 5 7 m m o l) 、 W S C D (0 . 1 1 g 、 0 . 5 7 m m o l) 、 T E A (0 . 0 7 m l 、 0 . 4 7 m m o l)

収率 : 0 . 2 2 g 、 9 4 . 9 %

N 保護 2 - (ヘテロシクロ-カルボニル-N-ペプチジル-(2 S) -ピロリジン

アルゴン雰囲気下、1 . 8 当量の塩化オキサリルを 5 m l の乾燥ジクロロメタンに溶解して - 7 8 にした。2 . 5 当量の D M S O の 2 m l ジクロロメタン溶液を加えて、2 0 分間 - 7 8 に保った。1 当量の 3 8 、 3 9 、 4 0 、 または 4 1 を、5 m l のジクロロメタンに溶解して、滴下して加えた。混合物を、- 7 8 で 2 0 分間攪拌した。その後、4 当量の T E A を加え、そして混合物を室温まで昇温させた。3 0 m l のヘキサン/酢酸エチル混合物 (体積比 2 / 1) および 1 0 m l の 2 % H C l (m / V) を加えた。有機層を分離して乾燥し、そして溶媒を除去した。

40

【 0 1 0 2 】

ヘプタン/クロロホルム勾配を用いて、カラムクロマトグラフィーにより混合物を精製した。

2 - [([1 , 3] - チアゾール - 2 - イル) カルボニル] - 1 - { N - [N - (tert-ブチルオキシカルボニル) (L) - アラニル] - (L) - バリニル } - (2 S) - ピロリジン 4 2

3 8 (0 . 1 5 g 、 0 . 3 3 m m o l) 、 塩化オキサリル (0 . 0 5 m l 、 0 . 5 9 m

50

mol)、DMSO(0.06ml、0.82mmol)、TEA(0.12ml、1.32mmol)

収率:0.13g、89%

2-[(ベンゾチアゾール-2-イル)カルボニル]-1-{N-[N-(tert-ブチルオキシカルボニル)(L)-アラニル]-L)-バリニル}-(2S)-ピロリジン
43

39 (0.72g、0.14mmol)、塩化オキサリル(0.221ml、2.57mmol)、DMSO(2.53ml、3.57mmol)、TEA(0.80ml、5.71mmol)

収率:0.049g、70%

2-[(ベンゾチアゾール-2-イル)カルボニル]-1-{N-[N-(tert-ブチルオキシカルボニル)(L)-アラニル]-グリシル}-(2S)-ピロリジン 44

40 (0.62g、0.134mmol)、塩化オキサリル(0.207ml、2.41mmol)、DMSO(2.37ml、3.35mmol)、TEA(0.75ml、5.35mmol)

収率:0.38g、62%

2-[(ピリジン-2-イル)カルボニル]-1-{N-[N-(tert-ブチルオキシカルボニル)(L)-アラニル]-L)-バリニル}-(2S)-ピロリジン 45

41 (0.29g、0.64mmol)、塩化オキサリル(0.10ml、1.15mmol)、DMSO(0.11ml、1.59mmol)、TEA(0.36ml、2.55mmol)

収率:0.14g、49.2%

2-(ヘテロシクロ-カルボニル-N-ペプチジル)-(2S)-ピロリジン

42、43、44、および45を脱保護方法Bで述べたように処理した。

2-[[1,3]-チアゾール-2-イル)カルボニル]-1-N-[N-{(L)-アラニル}-L)-バリニル}-(2S)-ピロリジントリフルオロアセテート 46

42 0.13g、0.29mmol

収率:0.04g、30.1%

2-[(ベンゾチアゾール-2-イル)カルボニル]-1-N-[N-{(L)-アラニル}-L)-バリニル}-(2S)-ピロリジントリフルオロアセテート 47

43 0.49g、0.97mmol

収率:0.24g、60.3%

2-[(ベンゾチアゾール-2-イル)カルボニル]-1-N-[N-{(L)-アラニル}-グリシル}-(2S)-ピロリジントリフルオロアセテート 48

44 0.38g、0.82mmol

収率:0.187g、60.1%

2-[(ピリジン-2-イル)カルボニル]-1-N-[N-{(L)-アラニル}-L)-バリニル}-(2S)-ピロリジントリフルオロアセテート 49

45 0.14g、0.31mmol

収率:0.054g、37.7%

本発明の化合物の生物学的活性データを調査した。その結果は下記の実施例で説明される。特に、その化合物は

【0103】

10

20

30

40

【表 1】

化合物番号	略記名	フルネーム
24	H-Ala-Val-Pro-Me*HBr	2-メチルカルボニル-1-N [(L)-アラニル-(L)-バリニル] - (2S) -ピロリジンヒドロブロミド
25	H-Val-Pro-Val-Pro-Me*HBr	2-メチルカルボニル-1-N [(L)-バリニル-(L)-プロリル-(L)-バリニル] - (2S) -ピロリジンヒドロブロミド
26	H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-CH ₃ *HBr	2- [(アセチル-オキシ-メチル) カルボニル] - 1-N [(L)-アラニル-(L)-バリニル] - (2S) -ピロリジンヒドロブロミド
27	H-Ala-Val-Pro-CO-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	2- [ベンゾイル-オキシ-メチル) カルボニル] - 1-N - [(L)-アラニル] - (L)-バリニル] - (2S) -ピロリジンヒドロブロミド
28	H-Ala-Val-Pro-CO-CH ₂ -S-CH ₂ -ジクロロフェニル*TFA	2- [(2, 6-ジクロロベンジル) チオメチル] カルボニル] - 1-N - [(L)-アラニル] - (L)-バリニル] - (2S) -ピロリジン
29	H-Gly-Val-Pro-CO-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	2- [ベンゾイル-オキシ-メチル) カルボニル] - 1-N - [グリシル-(L)-バリニル] - (2S) -ピロリジンヒドロブロミド
46	H-Ala-Val-Pro-CO-チアゾール*TFA	2- [(1, 3) -チアゾール-2-イル) カルボニル] - 1-N - [(L)-アラニル] - (L)-バリニル] - (2S) -ピロリジントリフルオロアセテート
47	H-Ala-Val-Pro-CO-ベンゾチアゾール*TFA	2- [(ベンゾチアゾール-2-イル) カルボニル] - 1-N - [N- [(L)-アラニル] - (L)-バリニル] - (2S) -ピロリジントリフルオロアセテート
48	H-Ala-Gly-Pro-CO-ベンゾチアゾール*TFA	2- [(ベンゾチアゾール-2-イル) カルボニル] - 1-N - [N- [(L)-アラニル] - グリシル] - (2S) -ピロリジントリフルオロアセテート
49	H-Ala-Val-Pro-CO-(2-ピリジン)*TFA	2- [(ピリジン-2-イル) カルボニル] - 1-N - [N- [(L)-アラニル] - (L)-バリニル] - (2S) -ピロリジントリフルオロアセテート

10

20

30

40

実施例 2 : K_i - 測定

K_i 測定に関して、37.5 U/mg のグリシルプロリル-4-ニトロアニリンに対する特異的活性およびストック溶液中 1.41 mg/ml の酵素濃度を有するブタの腎臓由来のジペプチジルペプチダーゼ I V を使用した。

アッセイ混合物：

500 μl の試験化合物を、 1×10^{-5} M ~ 1×10^{-11} M の濃度範囲で、500 μl の HEPES 緩衝液 (40 mM、pH 7.6 ; イオン強度 = 0.125) および 20 μ

50

1の希釈DPIVと混合した。10 μ lのAPNストック溶液(4.9mg/ml、Sigma, Taufkirchen, Germany)と250 μ lの基質(Gly-Pro-pNA、0.05~4mM)の混合物を加えて、プロドラッグからの阻害剤放出ならびに反応(DPIV触媒でのGly-Pro-pNAの加水分解)のモニタリングを開始した。4-ニトロアニリン放出による黄色の発色を、UV1分光計(ThermoSpectronic)を使用して、 $\lambda = 405$ nmで、上限180分まで、モニタリングした。

【0104】

K_i 値を、Graphit(v.4.0.13、Erithacus Software, Ltd, UK)および不安定競合阻害剤の方程式を用いて、時間経過曲線の一次微分をフィッティングすることにより算出した。

【0105】

$$v = (V_{max} \times S_0) / \{S_0 + K_m [1 + (I \times e^{-k \cdot t}) / (K_i)]\}$$

半減期($t_{1/2}$)を、酵素活性対反応時間をプロットすることにより算出した。

【0106】

【表2】

2.1 結果-DPIV阻害の K_i 値

	K_i [M]	$T_{1/2}$ [min]
H-Ala-Val-Pro-Me*HBr	4.76×10^{-8}	12.4
H-Val-Pro-Val-Pro-Me*HBr	n. d.	n. d.
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-CH ₃ *HBr	1.05×10^{-9}	10.8
H-Ala-Val-Pro-CO-CH ₂ O-CO-P h*HBr	5.36×10^{-10}	15.1
H-Gly-Val-Pro-CO-CH ₂ O-CO-P h*HBr	阻害なし	n. d.
H-Ala-Val-Pro-CO-ベンゾチアゾール* TFA	3.73×10^{-8}	17.0
H-Ala-Gly-Pro-CO-ベンゾチアゾール* TFA	1.0×10^{-7}	5.1
H-Ala-Val-Pro-CO-チアゾール*TFA	3.32×10^{-8}	15.1
H-Ala-Val-Pro-CO-(2-ピリジニル) *TFA	n. d.	n. d.
H-Ala-Val-Pro-CO-CH ₂ -S-CH ₂ -ジクロロフェニル*TFA	$< 1.0 \times 10^{-7}$	n. d.

n. d = 決定されていない

実施例3: IC50値の測定

阻害剤ストック溶液100 μ lを緩衝液(HEPES pH7.6)100 μ lおよび希釈ブタのDPIV20 μ lと混合し、30 $^{\circ}$ でプレインキュベートした。基質(Gly-Pro-pNA、最終濃度0.4mM)50 μ lとAPNストック溶液2 μ lの混合物の添加により反応を開始させた。生成物pNAの生成は、HTS7000Plusプレートリーダー(Perkin Elmer)を用いて405nmにて30 $^{\circ}$ で10分以上測定し、傾きを算出した。最終阻害剤濃度は、1mM~30nMの範囲であった。IC50の算出に関して

10

20

30

40

50

、GraFit 4.0.13 (Erithacus Software)を使用した。

【0107】

【表3】

3.1 結果 - IC₅₀値の測定

化合物	IC ₅₀ [M]
H-Ala-Val-Pro-Me*HBr	5, 79 x 10 ⁻⁷
H-Val-Pro-Val-Pro-Me*HBr	n. d.
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-CH ₃ *HBr	1, 02 x 10 ⁻⁸
H-Ala-Val-Pro-CO-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	1, 79 x 10 ⁻⁸
H-Gly-Val-Pro-CO-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	4, 94 x 10 ⁻⁶
H-Ala-Val-Pro-CO-ベンゾチアゾール*TFA	n. d.
H-Ala-Gly-Pro-CO-ベンゾチアゾール*TFA	n. d.
H-Ala-Val-Pro-CO-チアゾール*TFA	阻害なし
H-Ala-Val-Pro-CO-(2-ピリジニル)*TFA	1, 10 x 10 ⁻³
H-Ala-Val-Pro-CO-CH ₂ -S-CH ₂ -ジクロロフェニル*TFA	7, 97 x 10 ⁻⁵

n. d = 決定されていない

10

実施例4：DPIV様酵素 - ジペプチジルペプチダーゼII (DP II) の阻害

DP II (3.4.14.2) は、N末端がプロトン化されていない場合にオリゴペプチドからN末端ジペプチドを放出する (McDonald, J.K., Ellis, S. & Reilly, T.J., J. Biol. Chem., 241, pp.1494-1501 (1996))。P₁位におけるProおよびAlaは好ましい残基である。酵素活性はDPIV様活性として記載されるが、DP IIは酸性pHの最適条件を有する。使用する酵素は、ブタの腎臓から精製した。

20

アッセイ：

1 x 10⁻⁴ M ~ 5 x 10⁻⁸ Mの濃度範囲の阻害剤100 μlを、緩衝溶液 (40 mM HEPES、pH 7.6、0.015% Brij、1 mM DTT) 100 μl、リシルアラニルアミノメチルクマリン溶液 (5 mM) 50 μlおよびブタDP II (緩衝溶液de 250倍希釈) 20 μlと混合した。プレートリーダー (HTS 7000 plus、Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) を用いて30、(励起) = 380 nm、(放出) = 465 nmで25分間、蛍光測定を実施した。Ki値は、GraFit 4.0.15 (Erithacus Software, Ltd, UK) を用いて算出された。

30

結果

DP IIに対して化合物H-Ala-Val-Pro-CO-CH₂O-CO-Ph*HBrを例として試験した。H-Ala-Val-Pro-CO-CH₂O-CO-Ph*HBrの阻害は見られなかった。

アトラクチン

100 μlの阻害剤ストック溶液を、100 μlの緩衝液 (HEPES pH 7.6) および20 μlの希釈アトラクチンと混合し30でプレインキュベートした。50 μlの基質 (Gly-Pro-pNA、最終濃度0.4 mM) および2 μlのAPNストック溶液の混合物を加えて、反応を開始した。生成物pNAの生成を、HTS 7000 Plusプレートリーダー (Perkin Elmer) を使用して405 nmおよび30で、10分間にわたり測定し、そして傾きを算出した。最終阻害剤濃度は、1 mM ~ 30 nMの範囲であった。IC₅₀値の算出のため、GraFit 4.0.13 (Erithacus Software) を使用した。

40

結果：

アトラクチンに対して化合物H-Ala-Val-Pro-Me*HBrを例として試験した。H-Ala-Val-Pro-Me*HBrによるアトラクチン阻害は見いだされなかった。

実施例5：交差反応性酵素

阻害剤を、ジペプチジルペプチダーゼI、プロリルオリゴペプチダーゼおよびプロリダ

50

ーゼに対するそれらの交差反応性能力について試験した。

ジペプチジルペプチダーゼ I (DP I、カテプシン C) :

DP Iすなわちカテプシン Cは、それらの基質のN末端からジペプチドを切り離すリソソームシステインプロテアーゼである(Gutman, H.R., & Fruton, J.S., J. Biol: Chem., 174, pp.851-858 (1948))。DP Iはシステインプロテアーゼとして分類される。使用する酵素は、Qiagen(Qiagen GmbH, Hilden, Germany)から購入した。十分に活性な酵素を獲得するために、酵素をMES緩衝液(pH 5.6)(40 mM MES、4 mM DTT、4 mM KCl、2 mM EDTA、0.015% Brij)中1000倍希釈し、30 で30分間プレインキュベートした。

アッセイ :

$1 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-7} \text{ M}$ の濃度範囲の試験化合物溶液 $50 \mu\text{l}$ を、緩衝液 - 酵素混合物 $110 \mu\text{l}$ と混合した。アッセイ混合物を30 で15分間、プレインキュベートした。プレインキュベートした後、ヒスチジルセリル - ニトロアニリン ($2 \times 10^{-5} \text{ M}$) $100 \mu\text{l}$ を添加して、プレートリーダー (HTS 7000 plus, Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) を用いて30、(励起) = 380 nm 、(放出) = 465 nm で10分間、ニトロアニリン放出に起因する黄色発色の測定を実施した。

【0108】

IC_{50} 値は、Graphit 4.0.15 (Erithacus Software, Ltd., UK) を用いて算出した。

プロリダーゼ (X-Proジペプチダーゼ)

プロリダーゼ (EC 3.4.13.9) は、Bergmann & Frutonにより最初に記載された(Bergmann, M., & Fruton, J.S., J. Biol. Chem., pp.189-202(1937))。プロリダーゼは、Xaa-ProジペプチドからN末端アミノ酸を放出させ、6~9のpH最適条件を有する。

【0109】

ブタの腎臓由来のプロリダーゼ(ICN Biomedicals, Eschwege, Germany)をアッセイ緩衝液(20 mM $\text{NH}_4(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、3 mM MnCl_2 、pH 7.6)に溶解した(1 mg/ml)。十分に活性な酵素を獲得するために、溶液を室温で60分間インキュベートした。

アッセイ :

$5 \times 10^{-3} \text{ M} \sim 5 \times 10^{-7} \text{ M}$ の濃度範囲の試験化合物 $450 \mu\text{l}$ 溶液を、緩衝溶液(20 mM $\text{NH}_4(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、pH 7.6) $500 \mu\text{l}$ および Ile-Pro-OH (アッセイ混合物中0.5 mM) $250 \mu\text{l}$ と混合した。アッセイ混合物を30で5分間、プレインキュベートした。プレインキュベートした後、プロリダーゼ(アッセイ緩衝液中に1:10で希釈) $75 \mu\text{l}$ を添加して、UV/Vis光度計UV 1 (Thermo Spectronic, Cambridge, UK)1を用いて30、 $\lambda = 220 \text{ nm}$ で20分間、測定を実施した。

【0110】

IC_{50} 値は、Graphit 4.0.15 (Erithacus Software, Ltd., UK) を用いて算出した。

アンジオテンシン-I変換酵素(ACE)

アンジオテンシン-I変換酵素(ACE; ペプチジル-ジペプチダーゼA)は、亜鉛メタロペプチダーゼであり、これはアンジオテンシンIからC末端ジペプチドを切断して強力な血管収縮オクタペプチドアンジオテンシンIIを産生し(Skeggs L.T., Kahn J.R., & Shumway N. P., "The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme", J. Exp. Med., 103, pp.295-299 (1996))、2つのC末端ジペプチドの連続除去によりブラジキニンを不活化する(Yang H. Y.T., Edos E.G., & Levin Y., "A dipeptidyl carboxypeptidase that converts angiotensin I and inactivates bradykinin", Biochim. Biophys. Acta, 214, pp.374-376 (1970))。血圧調節ならびに水および塩代謝に

10

20

30

40

50

関係するこれらの2つの主要な生理基質に加えて、ACEは、遊離C末端を有するさまざまなオリゴペプチドからC末端ジペプチドを切断する。ACEはまた、C末端ジペプチドアミドを切断し得る。

アッセイ：

ACEの IC_{50} 測定のため、Sigmaにより製造された酵素を使用した（製品番号A-6778）。製造者により記載されるアッセイ手順および活性の計算を、記載される量の半分で実施した。

【0111】

Graphit 4.0.15 (Erithacus Software, Ltd., UK)を用いて、 IC_{50} 値を算出した。

10

アシルアミノ酸放出酵素 (AARE)

アシルアミノアシルペプチダーゼ (EC 3.4.19.1) はまた、アシルペプチド加水分解酵素 (Gade W, & Brown J.L., "Purification and partial characterization of a-N-acylpeptide hydrolase from bovine liver", J. Biol. Chem., 253, pp.5012-5018. (1978)); Jones W.M., & Manning J.M., "Acylpeptide hydrolase activity from erythrocytes", Biochem. Biophys. Res. Commun., 126, pp.933-940 (1985); Kobayashi K., Lin L.-W., Yeadon J.E., Klickstein L. B., & Smith J.A., "Cloning and sequence analysis of a rat liver cDNA encoding acylpeptide hydrolase", J. Biol. Chem., 264, pp.8892-8899 (1989)、アシルアミノ酸放出酵素 (Tsunasawa S., Narita K., & Ogata K., "Purification and properties of acylamino acid-releasing enzyme from rat liver", J. Biochem., 77, pp.89-102 (1975); Mitta M., Asada K., Uchimura Y., Kimizuka F., Kato I., Sakiyama F., & Tsunasawa S., "The primary structure of porcine liver acylamino acid-releasing enzyme deduced from cDNA sequences", J. Biochem., 106, pp.548-551 (1989).)、およびアシルアミノアシルペプチド加水分解酵素 (Radhakrishna G., & Wold F., "Purification and characterization of an N-acylaminoacyl-peptide hydrolase from rabbit muscle", J. Biol. Chem., 264, pp.11076-11081 (1989)) という名前でも呼ばれてきた。アシルアミノアシルペプチダーゼは、ブロック化ペプチド: Block-Xaa Xbb-Xcc... からN-アシル化アミノ酸を除去するのを触媒する。反応生成物は、遊離アシルアミノ酸およびアミノ酸1個分短くなった遊離N末端を有するペプチドである。酵素は、アセチル、クロロアセチル、ホルミル、およびカルバミルを含む異なるN-末端アシル基を有するさまざまなペプチドに作用する (Jones W. M., Scaloni A., Bossa F., Popowicz A.M., Schneewind O., & Manning J.M., "Genetic relationship between acylpeptide hydrolase and acylase, two hydrolytic enzymes with similar binding but different catalytic specificities", Proc. Natl Acad. Sci. USA, 88, pp.2194-2198 (1991))。

20

30

アッセイ：

1×10^{-4} M ~ 5×10^{-8} Mの濃度範囲で阻害剤を含む100 μ lの溶液を、100 μ lの緩衝溶液 (200 mMのリン酸ナトリウム、pH 7.2) および20 μ lのAARE溶液と混合した。アッセイ混合物を、30°Cで15分間プレインキュベートした。プレインキュベーション後、50 μ lのアセチル-Met-AMC溶液 (0.54 mM) を加えた。AMCの放出を、Novovostar蛍光マイクロプレートリーダー (BMG) を使用して、380/460 nmの励起/発光波長を用いて30°Cで測定した。

40

【0112】

Graphit 4.0.15 (Erithacus Software, Ltd., UK) を使用して、経過曲線の傾きから IC_{50} 値を算出した。

【0113】

【表 4】

5. 1 結果—交差反応性酵素に対するの IC₅₀ 値の測定

化合物	DP I IC ₅₀ [M]	プロリダーゼ IC ₅₀ [M]	ACE IC ₅₀ [M]	AARE IC ₅₀ [M]
H-A l a - V a l - P r o - M e * H B r	阻害なし	4. 1 3 x 1 0 ⁻⁴	阻害なし	阻害なし
H - A l a - V a l - P r o - C H 2 O - C O - C H 3 *H B r	1. 2 0 x 1 0 ⁻⁴	阻害なし	阻害なし	阻害なし
H - A l a - V a l - P r o - C O - C H 2 O - C O - P h *H B r	3. 1 6 x 1 0 ⁻⁴	4. 1 4 x 1 0 ⁻⁴	阻害なし	阻害なし

10

実施例 6 : W i s t a r ラットへの血管内および経口投与後の D P I V 阻害活性の測定
動物

250 ~ 350 g の体重の雄 W i s t a r ラット (Shoe: Wist(Sho)) を Tierzucht Schonwalde (Schonwalde, Germany) から購入した。

収容条件

20

動物は、12 / 12 時間の明 / 暗サイクル (午前 6 時に点灯) と制御された温度 (22 ± 2) のもと従来条件下にて一匹ずつケージに入れた。標準的なペレット化飼料 (s s n i f f (商標)、Soest, Germany) および H C l で酸性化した水道水を随意に与えた。

頸動脈へのカテーテル挿入

1 週以上かけて収容条件に適應させた後、全身麻酔 (R o m p u n (商標) [2%] (BayerVital, Germany) 0.25 ml / kg (体重) およびケタミン 10 (Atarost GmbH & Co., Twistringen, Germany) 0.5 ml / kg (体重) の腹腔内注射) 下で W i s t a r ラットの頸動脈にカテーテルを埋没させた。動物を 1 週間回復させた。カテーテルにヘパリン生理食塩水 (100 IU / ml) を 1 週間につき 3 回流した。カテーテル故障の場合、第 2 のカテーテルを各々のラットの対側性の側方頸動脈に挿入した。手術から 1 週間回復させた後、この動物を研究に再度組み込んだ。第 2 のカテーテルの故障の場合には、その動物を研究から撤退させた。新たな動物を補充して、カテーテル埋没後少なくとも 7 日後から、計画した順序で実験を続行した。

30

実験設計

損なわれていないカテーテル機能を有するラットに、経口および血管内 (動脈内) 経路によりプラセボ (生理食塩水 1 ml、0.154 mol / l) または試験化合物を投与した。一晚絶食させた後、ヘパリン処理した動脈血試料 100 μl を - 30 分、- 5 分および 0 分で収集した。試験物質は、生理食塩水 (0.154 mol / l) 1.0 ml 中に新たに溶解させて、供給用チューブ (75 mm、Fine Science Tools, Heidelberg, Germany) により経口的に、あるいは血管内経路により、0 分時に投与した。経口投与の場合、さらに 1 ml の生理食塩水を動脈カテーテルに注入した。動脈内投与の場合、カテーテルを生理食塩水 30 μl で直ちに流して、さらに生理食塩水 1 ml を供給用チューブにより経口的に与えた。

40

【0114】

プラセボまたは試験物質の適用後、動脈血試料を意識のある拘束していないラットの頸動脈カテーテルから 2.5、5、7.5、10、15、20、40、60 および 120 分に採取した。血液試料はすべて、血漿 D P I V 活性測定用の 1 M クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 3.0) 10 μl を充填した氷冷エッペンドルフチューブ (Eppendorf-Netheler-Hinz, Hamburg, Germany) に集めた。エッペンドルフチューブを直ちに遠心分離した (12000 rpm で 2 分間、H e t t i c h Z e n t r i f u g e E B A 12、Tutt

50

lingen, Germany)。血漿分画は、分析するまで氷上で保管するか、分析するまで - 20 で凍結させた。血漿試料にはすべて、以下のデータをラベルした：

- ・コード番号
- ・動物番号
- ・サンプリングの日付
- ・サンプリングの時間

分析方法

血漿 D P I V 活性の測定のためのアッセイ混合物は、試薬 80 μ l および血漿試料 20 μ l から構成された。基質グリシルプロピル - 4 - ニトロアニリンからの黄色生成物 4 - ニトロアニリンの生成の動態測定を、30 で 2 分間プレインキュベートした後、390 nm にて同じ 30 で 1 分間実施した。D P I V 活性は m U / m l で表した。 10

統計学的方法

P R I S M (商 標) 3 . 0 2 (GraphPad Software, Inc.)により統計学的評価および表示を行った。パラメータはすべて、平均値および標準偏差を含む記述様式で分析された。

6 . 1 結果 - t_{max} での *in vivo* D P I V 阻害

【 0 1 1 5 】

【表 5】

6 . 1 結果 - T_{max} での *in vivo* D P I V 阻害

化合物	投与量 (mg / kg)	i . v . (%)	p . o . (%)
H - A l a - V a l - P r o - C H ₂ O - C O - C H ₃ * H B r	1 0 0	8 9	8 7
H - A l a - V a l - P r o - C O - C H ₂ O - C O - P h * H B r	1 0 0	9 5	6 8

20

実施例 7：糖尿病性の Z u c k e r ラットでの耐糖能に対する置換アミノケトンの影響
研究設計

動物

30 匹の Z u c k e r ラット (f a / f a) 平均齢 11 週 (5 ~ 12 週)、平均体重 350 g (150 ~ 400 g)、を Charles River (Sulzfeld, Germany) から購入した。ほぼすべての脂肪性 Z u c k e r ラットが明白な真性糖尿病の特徴を有するまで、ラットを 12 週間以上飼育した。 30

収容条件

動物は、12 / 12 時間の明 / 暗サイクル (午前 6 時に点灯) と制御された温度 (22 \pm 2) のもと標準条件下にて一匹ずつケージに入れた。標準的なペレット (s s n i f f (商 標)、Soest, Germany) および H C l で酸性化した水道水を随意に与えた。

頸動脈のカテーテル法

収容条件で適応させた 17 ~ 24 週齢の脂肪性 Z u c k e r ラットは試験のために十分に準備ができていた。全身麻酔 (R o m p u n (商 標) [2 %] (BayerVital, Germany) 0 . 25 m l / k g (体重) およびケタミン 10 (Atarost GmbH & Co., Twistringen, Germany) 0 . 5 m l / k g (体重) の腹腔内注射) 下で脂肪性 Z u c k e r ラットの頸動脈にカテーテルを埋没させた。動物を 1 週間回復させた。カテーテルにヘパリン生理食塩水 (100 I U / m l) を 1 週間につき 3 回流した。 40

【 0 1 1 6 】

カテーテル故障の場合、第二のカテーテルを各々のラットの対側性の側方頸動脈に挿入した。手術から 1 週間回復させた後、この動物を研究に再度組み込んだ。第二のカテーテルの故障の場合には、その動物を研究から撤退させた。新たな動物を補充して、カテーテル埋没後少なくとも 7 日目に開始して、計画した順序で実験を続行した。

実験設計

損なわれていないカテーテル機能を有する肥満 Z u c k e r ラットに、ランダムに、プ 50

ラセボ（1 ml 生理食塩水、0.154 mol/l；対照として9匹の動物）、または1 ml の生理食塩水に溶解した試験物質（各試験群で6匹の動物）を与えた。

【0117】

一晩絶食させた後、プラセボまた試験物質を供給用チューブ（15 G、75 mm、Fine Science Tools, Heidelbergm Germany）によりそれぞれ脂肪性 Zuckerラットへ - 10 分に経口投与した。2 g / kg（体重）のグルコースを40%溶液（B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany）にして用いた経口グルコース耐性試験（OGTT）を、±0分 で施した。グルコースは第二の供給用チューブによって投与した。頸動脈のカテーテルから 10 分の動脈血試料を、-30分、-15分、±0分、ならびに5、10、15、20、30、40、60、90および120分に20 μl のガラスキャピラリーに収集した。20 μl のガラスキャピラリーは、溶血反応（血中グルコース測定）のための溶液1 ml を充填した標準的なチューブに入れられた。

10

【0118】

また、動脈血試料を、意識のある拘束していない肥満 Zuckerラットの頸動脈カテーテルから、-30分、20分、40分、60分、および120分に採取して、血漿DP 活性測定用のクエン酸ナトリウム緩衝液（pH 3.0）10 μl を充填した氷冷エッペンドルフチューブ（Eppendorf-Netheler-Hinz, Hamburg, Germany）中に入れた。エッペンドルフチューブを直ちに遠心分離した（12000 rpmで2分間、Hettich Zentrifuge EBA 12、Tuttlingen, Germany）。血漿分画は、分析するまで氷上で保管した。

20

分析法

血液グルコース：グルコース酸化酵素法を使用して、グルコースレベルを測定した（Super G Glukosemebrgerat；Dr. Muller Geratebau, Freital, Germany）。

【0119】

in vivoアッセイで試験した本発明の化合物は、Zuckerラットで経口投与後OGTTの間グルコース耐性を顕著に改善した（7.1を参照）。

【0120】

【表 6】

結果 - Zucker ラットの OGTT 中に置換アミノケトン投与後の耐糖能の改善

化合物	投与量 (mg / kg b . w.)	投与 方法	AUC制御 (mmol* min/l)	ACU試験 化合物 (m mol*m in/l)	改善 (%)
H-Ala-Val-Pro-Me*HBr	100	経口	766.2	394.4	48.5
H-Val-Pro-Val-Pro-Me*HBr ¹	100	経口	118.8	66.4	44.1
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-CH ₃ *HBr	5	経口	561.5	309.1	44.9
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-CH ₃ *HBr	15	経口	561.5	300.9	46.4
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-CH ₃ *HBr	50	経口	561.5	254.7	54.6
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	5	経口	517.3	209.1	59.5
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	15	経口	517.3	245.4	52.6
H-Ala-Val-Pro-CH ₂ O-CO-Ph*HBr	50	経口	517.3	160.5	69.0

¹Wistar ラットにも同様の実験条件で試験した

10

20

30

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/08929

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K5/06 C07K5/08 A61K38/05 A61K38/06 A61P25/00 A61P3/10		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 67279 A (SCHMIDT JOERN ; GLUND KONRAD (DE); DEMUTH HANS ULRICH (DE); HOFFMAN) 29 December 1999 (1999-12-29) page 11, paragraph 1.1 -page 17, last line; claims; table I ---	1,3-8, 11,12
A	EP 0 525 420 A (MITSUBISHI CHEM IND) 3 February 1993 (1993-02-03) page 3, line 9 -page 5, line 53; claims; table 1 ---	1-12
A	US 4 643 991 A (DIGENIS GEORGE A ET AL) 17 February 1987 (1987-02-17) column 2, line 25 -column 6, line 34; claims; examples --- -/--	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 December 2003	Date of mailing of the international search report 19. 01. 04	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Authorized officer Döpfer, K-P	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/EP 02/08929

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 468 469 A (JAPAN TOBACCO INC ;YOSHITOMI PHARMACEUTICAL (JP)) 29 January 1992 (1992-01-29) page 3, line 8 -page 6, line 9 page 34, line 55 -page 38, line 56 claims; tables	1-12
A	US 4 705 778 A (ALMQUIST RONALD G ET AL) 10 November 1987 (1987-11-10) the whole document	1-3
A	WO 95 15749 A (PROTOTEK INC) 15 June 1995 (1995-06-15) claims; examples	1-12
A	EP 0 623 606 A (STERLING WINTHROP INC) 9 November 1994 (1994-11-09) the whole document	1-3
A	WO 98 13343 A (GUILFORD PHARM INC) 2 April 1998 (1998-04-02) the whole document	1,3
A	US 6 218 424 B1 (HAMILTON, GREGORY S. ET AL) 17 April 2001 (2001-04-17) the whole document	1-3
X	TSUTSUMI SEIJI ET AL: "Synthesis and structure-activity relationships of peptidyl alpha-keto heterocycles as novel inhibitors of prolyl endopeptidase" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 37, no. 21, 1994, pages 3492-3502, XP002265524 ISSN: 0022-2623 Compounds: 7a,b,c; 12a,b; 14a; 20 tables 1,2	1,3-5,7, 10,14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application No.
PCT/EP 02/08929

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 02 08929

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1-12 (all partially)

Peptidylketones of the general formula AZCH-CO-Pro-CH₂-X (with X=N(+), R'R'R', e.g. pyridinium), pharmaceutical compositions containing said methylketones and their use as medicaments

2. Claims: 1-12 (all partially)

Peptidylketones of the general formula AZCH-CO-Pro-CH₂-X (with X=OAcyl, SAcy), pharmaceutical compositions containing said methylketones and their use as medicaments

3. Claims: 1-12 (all partially)

Peptidylketones of the general formula AZCH-CO-Pro-CH₂-X (with X=H), pharmaceutical compositions containing said methylketones and their use as medicaments

4. Claims: 1-12 (all partially)

Peptidylketones of the general formula AZCH-CO-Pro-X (with X=2-thiazolyl, 2-benzthiazolyl, 2-pyridyl, 4-pyridyl), pharmaceutical compositions containing said methylketones and their use as medicaments

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/08929

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date			
WO 9967279	A	29-12-1999	DE 19828114 A1	27-01-2000			
			AU 758843 B2	03-04-2003			
			AU 4777299 A	10-01-2000			
			BR 9911415 A	20-03-2001			
			CA 2335978 A1	29-12-1999			
			CN 1306541 T	01-08-2001			
			WO 9967279 A1	29-12-1999			
			EP 1090030 A1	11-04-2001			
			HU 0102250 A2	28-11-2001			
			JP 2002518518 T	25-06-2002			
			NO 20006483 A	19-12-2000			
			NZ 508721 A	30-06-2003			
			PL 345060 A1	19-11-2001			
			US 2001020006 A1	06-09-2001			
			EP 0525420	A	03-02-1993	AT 179974 T	15-05-1999
						CA 2072834 A1	02-01-1993
DE 69229151 D1	17-06-1999						
DE 69229151 T2	25-11-1999						
DK 525420 T3	01-11-1999						
EP 0525420 A1	03-02-1993						
ES 2132096 T3	16-08-1999						
GR 3030837 T3	30-11-1999						
JP 3190431 B2	23-07-2001						
JP 5246968 A	24-09-1993						
KR 228505 B1	01-11-1999						
US 5639783 A	17-06-1997						
US 5834508 A	10-11-1998						
US 4643991	A	17-02-1987				NONE	
EP 0468469	A	29-01-1992	CA 2048010 A1	28-01-1992			
			EP 0468469 A2	29-01-1992			
			JP 2089489 C	02-09-1996			
			JP 5025125 A	02-02-1993			
			JP 7108897 B	22-11-1995			
			KR 151783 B1	15-10-1998			
			US 5506256 A	09-04-1996			
US 4705778	A	10-11-1987	NONE				
WO 9515749	A	15-06-1995	US 5486623 A	23-01-1996			
			AU 1266495 A	27-06-1995			
			CA 2177495 A1	15-06-1995			
			EP 0731696 A1	18-09-1996			
			JP 9506368 T	24-06-1997			
			US 6147188 A	14-11-2000			
			WO 9515749 A1	15-06-1995			
			US 6297277 B1	02-10-2001			
			US 5714484 A	03-02-1998			
			US 5663380 A	02-09-1997			
			US 2002065264 A1	30-05-2002			
			US 5925772 A	20-07-1999			
			US 2002128434 A1	12-09-2002			
			EP 0623606	A	09-11-1994	US 5462939 A	31-10-1995
AT 161849 T	15-01-1998						
AU 668465 B2	02-05-1996						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/08929

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 0623606	A	AU 6190694 A	10-11-1994	
		CA 2123055 A1	08-11-1994	
		CZ 9401083 A3	15-12-1994	
		DE 69407654 D1	12-02-1998	
		DE 69407654 T2	21-01-1999	
		DK 623606 T3	07-09-1998	
		EP 0623606 A2	09-11-1994	
		ES 2113606 T3	01-05-1998	
		FI 942107 A	08-11-1994	
		GR 3026556 T3	31-07-1998	
		HK 1008146 A1	30-04-1999	
		HU 68791 A2	28-07-1995	
		JP 7025839 A	27-01-1995	
		NO 941675 A	08-11-1994	
		NZ 260477 A	21-12-1995	
		PH 30362 A	02-04-1997	
		RU 2133251 C1	20-07-1999	
		SK 50994 A3	08-02-1995	
US 5585486 A	17-12-1996			
WO 9813343	A	02-04-1998	US 5786378 A	28-07-1998
			US 5990131 A	23-11-1999
			AU 739361 B2	11-10-2001
			AU 4259097 A	17-04-1998
			BG 103233 A	30-11-1999
			BR 9713202 A	04-04-2000
			CA 2263927 A1	02-04-1998
			CN 1275977 A	06-12-2000
			CZ 9900556 A3	16-06-1999
			EA 2982 B1	26-12-2002
			EP 0934263 A1	11-08-1999
			ID 19615 A	23-07-1998
			JP 2001506231 T	15-05-2001
			KR 2000048591 A	25-07-2000
			NO 991432 A	25-05-1999
			NZ 334315 A	24-11-2000
			NZ 507720 A	29-04-2003
			PL 332205 A1	30-08-1999
			SK 26599 A3	13-03-2000
			WO 9813343 A1	02-04-1998
			US 2002193420 A1	19-12-2002
			US 6218424 B1	17-04-2001
			US 2001056103 A1	27-12-2001
ZA 9707900 A	03-05-1999			
HU 0001112 A2	28-09-2000			
US 6218424	B1	17-04-2001	US 5990131 A	23-11-1999
			US 5786378 A	28-07-1998
			AU 7086900 A	04-06-2001
			CA 2391575 A1	31-05-2001
			EP 1233945 A1	28-08-2002
			JP 2003514893 T	22-04-2003
			WO 0138304 A1	31-05-2001
			US 2002193420 A1	19-12-2002
			US 2001056103 A1	27-12-2001
			AU 739361 B2	11-10-2001
			AU 4259097 A	17-04-1998
			BG 103233 A	30-11-1999

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/08929

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6218424	B1	BR 9713202 A	04-04-2000
		CA 2263927 A1	02-04-1998
		CN 1275977 A	06-12-2000
		CZ 9900556 A3	16-06-1999
		EA 2982 B1	26-12-2002
		EP 0934263 A1	11-08-1999
		HU 0001112 A2	28-09-2000
		JP 2001506231 T	15-05-2001
		NO 991432 A	25-05-1999
		NZ 334315 A	24-11-2000
		NZ 507720 A	29-04-2003
		PL 332205 A1	30-08-1999
		SK 26599 A3	13-03-2000
		WO 9813343 A1	02-04-1998
		ID 19615 A	23-07-1998
		KR 2000048591 A	25-07-2000
		ZA 9707900 A	03-05-1999

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 25/04	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 25/24	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 43/00	A 6 1 K 37/02	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ハイザー, ウルリッヒ
 ドイツ連邦共和国, 0 6 1 0 8 ハレノザーレ, フランツ - シューベルト - シュトラーゼ 5

(72) 発明者 ニエストロフ, アンドレ
 ドイツ連邦共和国, 0 6 1 1 4 ハレノザーレ, ゲール . ブルンネンシュトラーゼ 3 1

(72) 発明者 ホフマン, トルステン
 ドイツ連邦共和国, 0 6 1 1 4 ハレノザーレ, ケルナーシュトラーゼ 8

(72) 発明者 デムス, ハンス - ウルリッヒ
 ドイツ連邦共和国, 0 6 1 1 4 ハレノザーレ, ヘーゲルシュトラーゼ 1 4

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA15 BA23 CA62 NA14 ZA01 ZA05
 ZA06 ZA08 ZA12 ZA15 ZA36 ZA81 ZA89 ZB02 ZB11 ZC21
 ZC33 ZC35
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA11 DA56 EA20 EA27 EA50 FA10