(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7655933号
(P7655933)

(45)発行日　令和7年4月2日(2025.4.2)

(24)登録日　令和7年3月25日(2025.3.25)

(51)国際特許分類

C07C 65/24 (2006.01)	C07C	65/24
A61K 31/192 (2006.01)	A61K	31/192
C07D 257/04 (2006.01)	C07D	257/04
C07D 235/18 (2006.01)	C07D	235/18
A61K 31/4184 (2006.01)	A61K	31/4184

FI

ECSP

請求項の数　24　（全214頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-554951(P2022-554951)
(86)(22)出願日　令和3年3月8日(2021.3.8)
(65)公表番号　特表2023-517693(P2023-517693A)
(43)公表日　令和5年4月26日(2023.4.26)
(86)国際出願番号　PCT/EP2021/055791
(87)国際公開番号　WO2021/180655
(87)国際公開日　令和3年9月16日(2021.9.16)
審査請求日　令和6年1月15日(2024.1.15)
(31)優先権主張番号　20162558.9
(32)優先日　令和2年3月11日(2020.3.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)

(73)特許権者　508265549
オーエム ファーマ エスエー
OM PHARMA SA
スイス、シーエイチ－１２１７ メイリン２、ピー．オー．ボックス ８４、リュデュ ボアーデュ－ラン、２２
22, rue du Bois-du-Lan, P.O. Box 84, CH-1217 Meyrin 2, SWITZERLAND
(74)代理人　100103034
弁理士　野河 信久
(74)代理人　100159385
弁理士　甲斐 伸二
(74)代理人　100163407

最終頁に続く

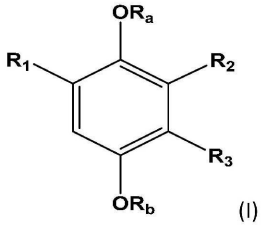
(54)【発明の名称】　新規ハイドロキノン誘導体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

式(I)：

【化１】



(I)

(式中、

R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；

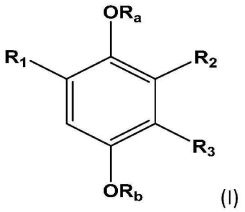
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H又はCONH-R_{10}；

R_2及びR_3はH又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がHであり、他方はR_5であり；

R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グ

アイアコールエステル)；
R_5＝R_6、R_7又はR_8；
R_6＝CONH-R_9、CONHCOR_9、CONH$(CH_2)_n$-R_9、CONHCH$(COOR_4)(CH_2)_kR_9$（式中、k＝０～４）；
R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、OR_4、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾ$(C_5$-$C_{14})$ヘテロアリール；
R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
X＝O、S、SO_2、NH、NAc又はN$(CH_2)_qR_9$；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール、フッ素、C＝O又はNHCO-R_{10}から選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニル基より選択される、６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；R_9及びR_{10}のヘテロアリールは、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
n、m、p及びqは独立して１～４である。）
の置換ハイドロキノン(但し、エチル 4-{[2-(3-フルオロフェニル)エチル]カルバモイル}-2,5-ジヒドロキシベンゾエート(CAS番号1260505-92-7)を除く)。

【請求項２】
式(I)：
【化２】



(I)

(I)
(式中、
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H又はCONH-R_{10}；
R_2及びR_3はH又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がHであり、他方はR_5であり；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_5＝R_6又はR_7；
R_6＝CONH-R_9、CONHCOR_9、CONH$(CH_2)_n$-R_9又はCONHCH$(COOR_4)(CH_2)_kR_9$（式中、k＝０～４）；
R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、OR_4、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾ$(C_5$-$C_{14})$ヘテロアリール；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール、フッ素、C＝O又はNHCO-R_{10}より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフ

ッ素より選択される少なくとも１又は２以上基で置換されたアリール、ヘテロアリール、
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニル基より選択される６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；R_9及びR_{10}のヘテロアリールは、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
nは独立して１～４である。)
の化合物(但し、エチル 4-{[2-(3-フルオロフェニル)エチル]カルバモイル}-2,5-ジヒドロキシベンゾエート(CAS番号1260505-92-7)を除く)。
【請求項３】
(A)
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
であるか、又は下記：
4-(2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸；
4-(3-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸；
4-(4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸；
4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシベンゾイルアミノ)安息香酸；
3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸；
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；

2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸；
6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸；
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸；
3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸；
4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
4-(4-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(3-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(3-(1-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル)フェニルアミノカルボニル)安息香酸；
4-(2-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；エチル 4-(2-(エトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジアセトキシベンゾエート；
エチル 4-(2-(エトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート；
エチル 4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジアセトキシベンゾエート；
エチル 4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート；
エチル 2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)ベンゾエート；
エチル 3,5-ビス(2,5-ジアセトキシ-4-エトキシカルボニルベンゾイルアミノ)ベンゾエート；
エチル 3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-エトキシカルボニルベンゾイルアミノ)ベンゾエート；
エチル 3-(4-(エトキシカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチネート；
エチル 4-(4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート；
3-(2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸；
3-(3-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸；
3-(4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸；
3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシベンゾイルアミノ)安息香酸；
3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸；

2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸；
6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸；
3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸；
4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
3-(4-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(3-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(3-(1-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル)フェニルアミノカルボニル)安息香酸；
3-(2-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；エチル 3-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート；及び
エチル 3-(2-(エトキシカルボニルメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項４】
(A)
R_a、R_b＝H；
R_1＝SO_3H；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝SO_3H；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
であるか、又は下記：
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸；
3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸；

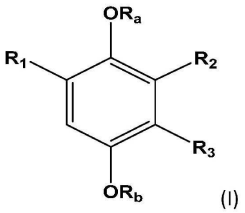
3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フタル酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)テレフタル酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソフタル酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フタル酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソフタル酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソニコチン酸；
6-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
6-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸；
6-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソニコチン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
(4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸；
(3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸；
(2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フタル酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)テレフタル酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソフタル酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フタル酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソフタル酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソニコチン酸；
6-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
6-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸；
6-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソニコチン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸；

4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸；
(4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸；
(3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸；及び
(2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項５】
(A)
R_a、Rb＝H；
R_1＝$(CH_2)_n$$COOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H又はR_5、R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝$(CH_2)_n$$COOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
であるか、又は下記：
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸；
(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(2,5-ジヒドロキシ-4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸；
(2,5-ジヒドロキシ-4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸；
3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシメチルベンゾイルアミノ)安息香酸；
3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
6-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
6-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；

2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸；
6-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸；2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸；3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸；4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
(4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸；
(3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸；
(2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸；
メチル 2-(4-(エトキシカルボニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ベンゾエート；
エチル (4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)アセテート；
ジエチル 5-(4-(エトキシカルボニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタレート；
メチル 3,5-ビス(4-(エトキシカルボニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ベンゾエート；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸；
(2,5-ジヒドロキシ-3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸；
(2,5-ジヒドロキシ-3-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸；
(2,5-ジヒドロキシ-3-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸；
3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシメチルベンゾイルアミノ)安息香酸；
3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸；
5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
6-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
6-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸；
6-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸；2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸；3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸；
5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸；4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸；
4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸；
(4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸；

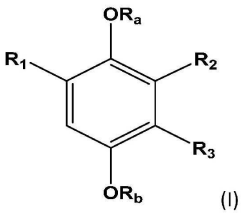
(3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸；及び
(2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項６】
(A)
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝CONH-R_{10}；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝CONH-R_{10}；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
であるか、又は下記：
5-(4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
N_1,N_4-ビス(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル)-2,5-ジヒドロキシテレフタルアミド；
5-(4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゼンスルホン酸；
4-(4-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-4-(3-ヒドロキシ-4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゼンスルホン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシベンゼンスルホン酸；
メチル 5-(4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゾエート；
メチル 5-(2,5-ジアセトキシ-4-(4-アセトキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-アセトキシベンゾエート；
メチル 5-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゾエート；
メチル 2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシベンゾエート；
1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エチル 5-［［4-［3-［1-(2,2-ジメチルプロパノイ

ルオキシ)エトキシカルボニル］-4-ヒドロキシ-フェニル］アミノカルボニル］-2,5-ジヒドロキシ-ベンゾイル］アミノ］-2-ヒドロキシベンゾエート；
5-(3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
5-(2,5-ジヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシ-3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゼンスルホン酸；
4-(3-(3-ヒドロキシ-4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸；
4-(2,5-ジヒドロキシ-3-(3-ヒドロキシ-4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゼンスルホン酸；
2-(3-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシル安息香酸；及び
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシ-2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシベンゼンスルホン酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項７】
式(I)：
【化４】



(I)

(I)
(式中、
R_a、R_b＝H；
R_1＝CONH-R_{10}；
R_{10}＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
R_2＝H；
R_3＝CONH-R_9；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；及び
R_4＝H)
を有する化合物であって、
5-(4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸である、請求項２に記載の化合物。
【請求項８】
式(I)：
【化５】



(I)

(I)
(式中、
R_a、R_b＝H；

R_1＝CONH-R_{10}；
R_{10}＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
R_2＝CONH-R_9；
R_3＝H；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；及び
R_4＝H)
を有する化合物であって、
5-(3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸である、請求項２に記載の化合物。
【請求項９】
(A)
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝$CONHCOR_9$
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝$CONHCOR_9$
であるか、又は下記：
N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；

N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド；
N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド；
及び
N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項１０】
(A)
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝$CONH(CH_2)_n$-R_9
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝$CONH(CH_2)_n$-R_9
であるか、又は下記：
4-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-4-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルアミノカルボニル)安息香酸；
4-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；

3-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
2,5-ジヒドロキシ-3-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルアミノカルボニル)安息香酸；
3-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
(4-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(4-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(4-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(2,5-ジヒドロキシ-4-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルアミノカルボニル)フェニル)酢酸；
(4-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(4-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(4-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(3-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(3-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(3-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(2,5-ジヒドロキシ-3-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルカルボニルアミノ)フェニル)酢酸；
(3-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
(3-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；
及び
(3-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。

【請求項１１】

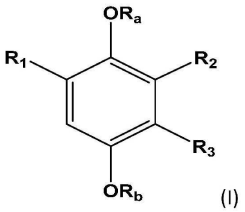
R_a、R_b＝H；
R_1＝SO_3H；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝$CONH(CH_2)_n$-R_9
であるか、又は下記：
2-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)メチル)安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)メチル)安息香酸；及び
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)メチル)安息香酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。

【請求項１２】

(A)
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキ

シカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONHCH(COOR$_4$)(CH$_2$)$_k$R$_9$
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝COOR$_4$；(CH$_2$)$_n$COOR$_4$；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONHCH(COOR$_4$)(CH$_2$)$_k$R$_9$
であるか、又は下記：
4-(1-カルボキシ-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(1-カルボキシ-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
(4-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸；及び
(3-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項１３】
(A)
R_a、R_b＝H；
R_1＝COOR$_4$、(CH$_2$)$_n$COOR$_4$、SO$_3$H、(CH$_2$)$_n$SO$_3$H、CONH-R_{10}；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_7＝COOR$_4$、(CH$_2$)$_n$COOR$_4$、SO$_3$H、OR$_4$、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾ(C_5-C_{14})ヘテロアリール
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝COOR$_4$、(CH$_2$)$_n$COOR$_4$、SO$_3$H、(CH$_2$)$_n$SO$_3$H、CONH-R_{10}；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グ

アイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、OR_4、五員N含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾ(C_5-C_{14})ヘテロアリール
であるか、又は下記：
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボン酸；
メチル 2-(4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボキシレート；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボン酸；
2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-5-カルボン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-5-カルボン酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボン酸；
2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-5-カルボン酸；
2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-5-カルボン酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボン酸；
2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-5-カルボン酸；
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-4-カルボン酸；及び
2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ［d］イミダゾール-5-カルボン酸
からなる群より選択される、請求項２に記載の化合物。
【請求項１４】
式(I)：
【化３】

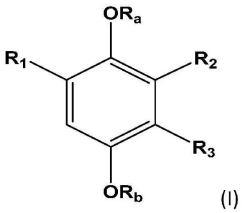


(I)
(式中、
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H又は$CONH-R_{10}$；
R_2及びR_3はH又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がHであり、他方はR_5であり；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_5＝R_8；

R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
X＝O、S、SO_2、NH、NAc又は$N(CH_2)_qR_9$；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール、フッ素、Ｃ＝Ｏ又はNHCO-R_{10}より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル又はビフェニル基より選択される、６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；
ヘテロアリールR_9及びR_{10}は１～14の炭素原子と１又は２以上の窒素とを含む芳香族基であり；
n、m、p及びqは独立して１～４である。)の化合物。
【請求項１５】
(A)
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、CONH-R_{10}；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
ここで、X＝O、S、SO_2、NH、NAc又は$N(CH_2)_qR_9$
若しくは
(B)
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、CONH-R_{10}；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$(式中、X＝O、S、SO_2、NH、NAc又は$N(CH_2)_qR_9$)；
であるか、又は下記：
ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル)アミン；
N,N-ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド；
N-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル) N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド；
N-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル) N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド；
N,N-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル)アセトアミド；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；

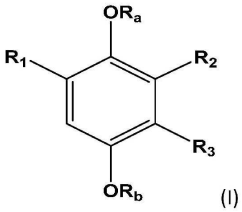
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸；
トリス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン；
トリス(4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン；
ビス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル)アミン；
N,N-ビス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド；
N-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル) N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド；
N-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル) N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド；
N,N-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル)アセトアミド；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸；3-

((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸；
メチル 3-((2,5-ジアセトキシ-3-メトキシカルボニルフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジアセトキシベンゾエート；
メチル 3-((2,5-ジヒドロキシ-3-メトキシカルボニルフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ヒドロキシベンゾエート；
2-モルフォリノエチル 3-((2,5-ジヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ヒドロキシベンゾエート；
トリス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン；及び
トリス(3-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン
からなる群より選択される、請求項１４に記載の化合物。
【請求項１６】
式(I)：
【化６】



(I)

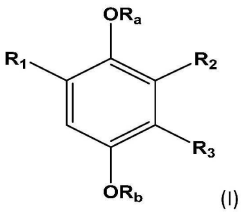
(I)
(式中、
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；
R_2＝H；
R_3＝R_8；
R_4＝H；
R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
X＝$N(CH_2)_qR_9$；及び
m、p及びq＝１)
を有する化合物であって、
トリス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミンである、請求項１４に記載の化合物。
【請求項１７】
式(I)：
【化７】



(I)

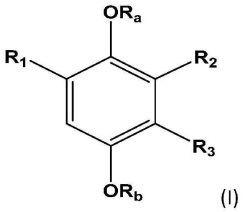
(I)
(式中、
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；
R_2＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；

R_3＝Ｈ；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
R_4＝Ｈ；
Ｘ＝SO_2；及び
ｍ及びｐ＝１）
を有する請求項１４に記載の化合物であって、
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸である、請求項１４に記載の化合物。
【請求項１８】
式(I)：
【化８】



(I)

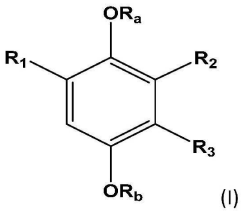
(I)
(式中、
R_a、R_b＝Ｈ；
R_1＝$COOR_4$；
R_2＝Ｈ；
R_3＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
R_4＝Ｈ；
Ｘ＝ＮＨ；及び
ｍ及びｐ＝１）
を有する化合物であって、
ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミンである、請求項１４に記載の化合物。
【請求項１９】
式(I)：
【化９】



(I)

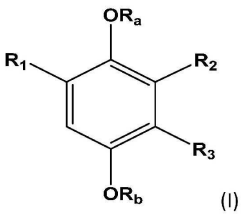
(I)
(式中、
R_a、R_b＝Ｈ；
R_1＝$COOR_4$；
R_2＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
R_3＝Ｈ；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
R_4＝Ｈ；
Ｘ＝Ｓ；及び

m及びp＝１）
を有する化合物であって、
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸である、請求項１４に記載の化合物。
【請求項２０】
式(I)：
【化１０】



(I)

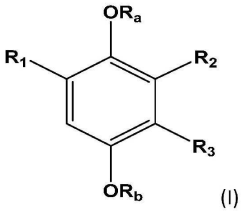
(I)
(式中、
R_a、R_b＝H；
R_1＝$COOR_4$；
R_2＝H；
R_3＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
R_9＝$COOR_4$及びOR_4で置換されたフェニル；
R_4＝H；
X＝$NH(COCH_3)$；及び
m及びp＝１）
を有する化合物であって、
N,N-ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミドである、請求項１４に記載の化合物。
【請求項２１】
請求項１～２０のいずれか１項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩の治療有効量と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。
【請求項２２】
自己免疫疾患、免疫疾患、リウマチ疾患、血管疾患、眼科疾患、線維性疾患、代謝及び胃腸疾患、神経炎症性及び神経変性疾患、新生物及び癌関連疾患、ホルモン関連疾患、又はウイルス及び/又は細菌感染症に起因する免疫疾患、並びに/或いはそれらの合併症を処置及び/又は予防する方法において使用するための化合物であって、下記の式(I)：
【化１１】



(I)

(I)
(式中、
R_a、R_b＝H又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H又は$CONH-R_{10}$；
R_2及びR_3はH又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がHであり、他方はR_5であり；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C

$_1$-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_5＝R_6、R_7又はR_8；
R_6＝CONH-R_9、CONHCOR_9、CONH$(CH_2)_n$-R_9、CONHCH$(COOR_4)(CH_2)_kR_9$（式中、k＝０～４）；
R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、OR_4、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾ(C_5-C_{14})ヘテロアリール；
R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
X＝Ｏ、Ｓ、SO_2、ＮＨ、ＮＡｃ又は$N(CH_2)_qR_9$；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール、フッ素、Ｃ＝Ｏ、NHCO-R_{10}から選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニル基より選択される、６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；R_9及びR_{10}のヘテロアリールは、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
n、ｍ、p及びqは独立して１～４である。)
で表される化合物。
【請求項２３】
2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸、2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタルアルデヒド、2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタル酸、エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(ヒドロキシメチル)ベンゾエート又はエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシルメチル)ベンゾエートから選択される、請求項２に記載の化合物の合成における中間体。
【請求項２４】
急性膵臓癌、膵臓癌及び腎臓癌、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、糖尿病、糖尿病性創傷治癒、糖尿病性網膜症及び糖尿病性腎症、糖尿病性腎疾患及び肺線維症を処置及び/又は予防する方法において使用するための化合物であって、下記の式(I)：
【化１２】



(I)

(式中、
R_a、R_b＝Ｈ又はC_{1-4}アシル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H又はCONH-R_{10}；
R_2及びR_3はＨ又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がＨであり、他方はR_5であり；
R_4＝Ｈ、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、Ｎ-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、(オキソジオキソリル)メチル又はo-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)；
R_5＝R_6、R_7又はR_8；

R_6＝CONH-R_9、CONHCOR_9、CONH$(CH_2)_n$-R_9、CONHCH$(COOR_4)(CH_2)_kR_9$（式中、k＝０～４）；
R_7＝COOR_4、$(CH_2)_n$COOR_4、SO_3H、OR_4、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾ$(C_5$-$C_{14})$ヘテロアリール；
R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
X＝Ｏ、Ｓ、SO_2、ＮＨ、ＮＡｃ又はＮ$(CH_2)_qR_9$；
R_9＝COOR_4、$(CH_2)_n$COOR_4、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール、フッ素、Ｃ＝Ｏ、NHCO-R_{10}から選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝COOR_4、$(CH_2)_n$COOR_4、OR_4、SO_3H、五員Ｎ含有複素環であるアゾール又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニル基より選択される、６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；R_9及びR_{10}のヘテロアリールは、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
n、m、p及びqは独立して１～４である。）
で表される化合物。

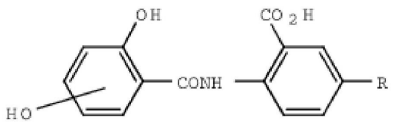
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、一般に、新規ハイドロキノン誘導体、それらの調製、及び必要とする温血動物へのそのような化合物を投与することによって疾患を処置する方法に関する。本発明はまた、自己免疫疾患、免疫疾患、リウマチ疾患、血管疾患、眼科疾患、線維性疾患、代謝及び胃腸疾患、神経炎症性及び神経変性疾患、新生物及び癌関連疾患、ホルモン関連疾患、並びにウイルス及び細菌感染症に起因する免疫疾患、並びにそれらの合併症の予防及び/又は処置において有用である化合物に関する。
【背景技術】
【０００２】
いくつかのハイドロキノン系誘導体、例えば、2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸誘導体、特にカルシウムドベシレート、エタンシラート及びペルシレート(persilate)は、単独及び他の薬剤との組み合わせの両方で、男性性機能不全及び内皮起源の他の血管疾患の処置のための作用薬として当技術分野で公知である。例えば、米国特許第6,147,112号は、2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸誘導体、好ましくはカルシウムドベシレート、エタンシラート及びペルシレートの使用方法を記載している。カルシウムドベシレート又はハイドロキノンカルシウムスルホネートは、その化学名は2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸カルシウムであるが、Dexium(Delalande)及びDoxium(Carrion)として販売されており、その製造プロセスは米国特許第3,509,207号に記載されている。
【０００３】
フェノール基又はカテコール基を含有する多くの薬物が存在し、これらは経口投与後の吸収の間にヒドロキシ基で早期代謝を受ける。ヒドロキシ基を保護するためのこれまでの努力は、採用した保護基があまりにも不安定(O＝COR又はO＝CR)又は安定すぎる(CH_3)ため、一般に成功していない。したがって、本発明の目的は、ハイドロキノンの新規誘導体、それらの薬学的に許容される塩及び製剤を提供することである。これらの新規ハイドロキノン誘導体は、特に強力な抗線維化特性、抗炎症特性及び抗血管新生特性を有する。
【０００４】
国際公開第WO2018160618A1号は、新興技術、例えば、媒介型燃料電池又は有機メディエータフロー電池においてレドックスメディエータとして使用するための、特定の置換ハイドロキノン、1,4-キノン、カテコール、1,2-キノン、アントラキノン、及びアントラハイドロキノンを開示している。
【０００５】

Richterらは、Synthesis, 1976, 1976(3), 192-194において、ビス-N-アリールカルバメート及び2,5-ジヒドロキシ-3,6-ビス[N-アリールカルボキサミド]-1,4-ベンゾキノン、ならびに2,5-ジヒドロキシ-1,4-ベンゾキノン及びアリールイソシアネートからのそれらの製造を開示している。

【０００６】

日本公開JP51026839Aは、抗結核活性、鎮痛活性、抗炎症活性、及び尿酸排出活性を有するとしてベンズアニリドI(R=H、OH)を開示している。

【化１】

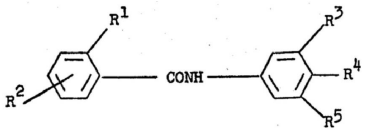


ベンズアニリドI

【０００７】

米国特許第3,973,038号もまた、一般式:

【化２】



(式中、R1=OH、アシルオキシ;R2=H、OH、低級アルキル、ハロ、アシルオキシ;R3=Cl、Br、低級アルキル;R4=OH、NH2、低級アルコキシ、アシルオキシ;R5=H、ハロ、CO2H、低級アルキル、アシルオキシ)

を有し、インビボ酵素阻害特性、特にヒスタミン脱アセチル化酵素及びキサンチンオキシダーゼを有するベンゾイルアニリン化合物を開示している。

【０００８】

しかしながら、先行技術文献のいずれも、自己免疫疾患、免疫疾患、リウマチ疾患、血管疾患、眼科疾患、線維性疾患、代謝及び胃腸疾患、神経炎症性及び神経変性疾患、新生物及び癌関連疾患、ホルモン関連疾患、並びにウイルス及び細菌感染症に起因する免疫疾患、並びにそれらの合併症を含む様々な疾患の予防及び/又は処置に特に有用である、本発明の新規クラスのハイドロキノン誘導体化合物を開示していない。

【０００９】

本発明はまた、代謝疾患、例えば、糖尿病及び肥満の処置、予防、及び軽減に関する。血糖値が食後に上昇すると、インスリンが分泌され、末梢組織(骨格筋及び脂肪)の細胞を刺激して、エネルギー源として血液からグルコースを積極的に取り込む。インスリン分泌又はインスリン作用の異常によるグルコース恒常性の喪失は、代表的には代謝疾患、例えば、糖尿病をもたらし、これは肥満によって同時に引き起こされるか、又はさらに悪化するおそれがある。これらの病的状態はしばしば致命的であるため、血流からの十分なグルコースクリアランスを回復させる戦略が必要とされる。代謝疾患、特にグルコース及び脂質調節疾患は、先進工業国の人口の高齢化及び座りがちなライフスタイルの普及に伴い、ますます蔓延してきている。このような疾患は、頻繁に相互に関連し、しばしば互いの予測因子又は結果である。

【００１０】

例えば、糖尿病は、インスリン抵抗性と膵臓β細胞によるインスリンの分泌不全の組合せによって引き起こされる。インスリン抵抗性を有する個体は、腹部肥満、脂質異常症、高血圧、耐糖能障害及びプロトロンビン状態(メタボリックシンドローム)を有していることが多い。それに応じて、肥満個体は全体としてインスリン抵抗性を獲得するリスクがより高い。したがって、代謝経路の破壊は、無数の疾患、例えば、高脂血症、肥満、糖尿病、インスリン抵抗性、耐糖能障害、高血糖症、メタボリックシンドローム及び高血圧を引き起こす可能性があり、これらはひいては、さらなる代謝機能不全を引き起こし、全身性

の問題をもたらし、個体はさらなる合併症及び早期罹患のリスクにさらされるおそれがある。グルコース及び脂質レベルは、グルコース、タンパク質及び脂質の合成、貯蔵、分泌、変換及び分解を担う肝臓によって部分的に調節される。疾病又は外傷は、これらの正常な活動を行う肝臓の能力を大きく低減させる可能性がある。したがって、肝機能不全の臨床症状のほとんどは、細胞損傷及び正常な肝臓能力の減退に起因する。肝機能不全は、遺伝的状態、炎症性疾患、毒素、例えば、薬物及びアルコール、免疫疾患、血管疾患又は代謝性の病的状態から生じる可能性がある。原因にかかわらず、肝損傷は、代謝プロセスの機能ならびに血糖及び血清脂質レベルの調節に対して全身作用がある可能性があり、慢性疾患状態を悪化させ、さらなる疾病及び罹患率のリスクの増加つながる。血糖値の上昇及び低下の両方が、グルコース恒常性を回復するように設計されたホルモン応答を誘発する。低血糖は、膵α細胞からのグルカゴンの放出を誘発する。高血糖は、膵β細胞からのインスリンの放出を誘発する。下垂体から放出されるACTH及び成長ホルモンは、肝外組織による取込みを阻害することによって血糖を増大させるように作用する。グルココルチコイドはまた、グルコースの取込みを阻害することによって血糖値を増大させるように作用する。副腎皮質から放出される主要なグルココルチコイドであるコルチゾールは、循環ACTHの増大に応答して分泌される。副腎髄質ホルモンであるエピネフリンは、ストレス刺激に応答してグリコーゲン分解を活性化し、グルコースの産生を刺激する。グルコース及び脂質代謝に影響を及ぼす代謝疾患、例えば、高脂血症、肥満、糖尿病、インスリン抵抗性、高血糖症、耐糖能障害、メタボリック症候群、及び高血圧は、心血管疾患及び早期罹患を含む慢性疾患につながる長期の健康影響を及ぼす。そのような代謝疾患及び心血管疾患は、相互に関連し、互いを悪化させるか、又は誘発し、中断することが困難なフィードバック機構を発生させるおそれがある。代謝疾患及び心血管疾患の現在の薬学的処置としては、脂質低下薬、血糖降下薬、抗高血圧薬、食事及び運動の組合せが挙げられる。しかしながら、複雑な治療レジメンは、副作用の増大、薬物-薬物相互作用、アドヒアランスの失敗、及び投薬過誤の増大という多剤併用の問題を引き起こす可能性がある。したがって、代謝疾患及び心血管疾患ならびに代謝疾患に関連する病的状態を安全かつ有効に処置するための新たな化合物、製剤、及び方法を特定するという、当該技術分野では満たされていない切実なニーズがある。

【００１１】

代謝状態の例としては、疼痛、創傷治癒、発熱、神経炎症性及び神経変性状態、炎症、熱産生、恒温性、トリグリセリドの分解、解糖、クレブス回路、発酵、光合成、代謝速度、生物的及び非生物的ストレス、分泌、酸化ストレス、ストレス、新生物増殖、皮膚状態、心血管状態、神経炎症性及び神経変性状態、精神疾患及び行動障害が挙げられるが、これらに限定されない。このようなプロセス又は病的状態は、細胞、細胞群、または生物全体で発生する可能性がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【００１２】

近年の分子医学の進歩により、新生物疾患の診断及び処置において一定の改善がもたらされてきた。このように部分的な成功はあるものの、これらの病態は依然としてかなりの難題である。あるタイプの癌では、現在の治療はいくつかの理由で失敗する場合がある。一方では、それは腫瘍細胞の固有の抵抗性、それらの定常性変異及び治療回避の能力であり、他方では、それは腫瘍環境の異質性でもある。同じタイプの腫瘍でも、ゲノムプロファイルの観点から、個々の対象によって大きく異なることが示され、このことは、いわゆる「個別」治療の必要性を示す。さらに大きな問題は、腎腫瘍について最近示されたように、同じ腫瘍における変異の異質性であり、この状況は他のタイプの腫瘍についても同様に予想することができる。そのため、新しいアプローチ、及び腫瘍における全て又はほとんどの悪性細胞に共通であり、好ましくは癌細胞における必須機能に影響を及ぼす不変の介入点を探すことが必要である。このような介入点は、代謝レベルでは、例えば、ミトコンドリア、すなわち、細胞における全ての生理学的プロセス及び病態生理学的プロセスに

必要なエネルギーの生成の基礎となる細胞小器官であり得るようである。腫瘍細胞は、大部分から、エネルギー生成のためのいわゆる好気性解糖を利用するが、ミトコンドリア呼吸(すなわち、ATP形成に関連する酸素の消費)は、(全てではないが)ほとんどのタイプの腫瘍に固有である。したがって、そのような新生物疾患を安全かつ効果的に処置するための新たな化合物、製剤、及び方法を特定するという、当該技術分野において満たされていない切実なニーズがある。

【課題を解決するための手段】

【００１３】

本発明は、新規ハイドロキノン誘導体、新規製造プロセス、及び新規主要中間体を提供する。本発明はまた、治療有効量の該ハイドロキノン誘導体及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【００１４】

本発明はさらに、抗線維化、抗炎症及び抗血管新生作用を有することから、血管新生(血管)、炎症及び/又は線維化の病態を処置及び/又は予防する方法を提供する。したがって、本発明は、最終的に、免疫/リウマチ/血管疾患、眼科疾患、線維性疾患、代謝及び胃腸疾患、新生物及び癌関連疾患を含む疾病又は疾患を処置及び/又は予防する方法であって、必要とする対象に、治療有効用量の上記の本発明の化合物及び/又は医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。特に、本発明は、自己免疫疾患、免疫疾患、リウマチ疾患、血管疾患、眼科疾患、線維性疾患、代謝及び胃腸疾患、神経炎症性及び神経変性疾患、新生物及び癌関連疾患、ホルモン関連疾患、並びにウイルス及び細菌感染症に起因する免疫疾患、並びにそれらの合併症の疾病又は疾患を処置及び/又は予防する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００１５】

【図１】(A)各実験群からの代表的なマウスにおける網膜全組織標本におけるエバンスブルー色素の漏出によって評価された血管透過性の共焦点免疫蛍光画像。矢印は血管外遊出の位置を示す。スケールバー、30μm。(B)視野(0.44 mm2)当たりの血管外遊出の数を評価することによる血管漏出の定量化。Ic-007a点眼液の効果は、血管漏出を非糖尿病対照群で起こるのと同じレベルまで減少させることによって有意であった。*他の群と比較してp〈0.01。

【図２】(A)シュミットスコアは、4つのパラメータについての以下のスコア(括弧内の数字)に基づいて膵損傷を説明する4つの組織病理学判定基準に基づく、化合物の効力の評価である。(a)(0)なし、(1)小葉間、(2)小葉が関与する、(3)孤立した島様腺房細胞のスコアを有する間質性浮腫。(b)炎症性浸潤=(0)なし、(1)〈20%、(2)20%～50%、(3)〉50%のスコアを有する白血球浸潤。(c)実質壊死=(0)なし、(1)〈5%、(2)5%～20%、(3)〉20%のスコアを有する腺房細胞壊死。(d)(0)なし、(1)1～2ポイント、(2)3～5ポイント、(3)〉5ポイントのスコアを有する出血。シュミット最高スコア=10はセルレイン誘導+ビヒクル処置であり、最低スコア=0は非誘導動物である。シュミットスコアは、a+b+c+dスコアの合計であり、****は、図2に示すように、セルレイン誘導群との統計的有意差を意味する。全ての生成物において、セルレイン対照動物と比較してシュミットスコアの改善が認められた。

【図３】図3A～Bは、選定疾病に関与する主要なサイトカインを含む疾病リストを示し(Akdis M.ら，J Allergy Clin Immunol 2016;138:984-1010)、図3Cは、スコアによってランク付けされ、かつ、https://www.targetvalidation.org/での検索の結果「糖尿病性網膜症」例として示された選定疾病に関与する可能性が高いサイトカイン及び遺伝子を含む検索結果の一部を示す。図3Dでは、VEGFAが言及されている疾病のリストを見つけるために、VEGFAをサイトカインとして使用して検索を行った。VEGFAが関与している疾病の一部のみを図3Dに示す。参考文献：Open Targets Platform: new developments and updates two years on. Denise Carvalhoら(Nucleic Acids Research, Volume 47, Issue D1, 08 January 2019, D1056-D1065, https://doi.org/10.1093/nar/gky1133)。

【図４】実施例1.1～1.4に記載のタイプIa～Idの化合物の条件及び収率をリストにした表を示す。全収率は出発物質2,5-ジヒドロキシテレフタル酸から算出した。
【図５】実施例1.5～1.7に記載のタイプIIa～IIcの化合物の条件及び収率をリストにした表を示す。
【図６】実施例1.8及び1.9に記載のタイプIIIa及びIIIbの化合物の条件及び収率をリストにした表を示す。
【図７】実施例1.10に記載のタイプIIIcの化合物の条件及び収率をリストにした表を示す。
【図８】タイプV化合物に関する実施例1.12に記載の脱保護手順をリストにした表である。
【図９】投薬前0日目の後、並びに静脈内経路又は経口経路による7日間及び14日日間の連続投薬後にサンプル採取した各群の全ての動物におけるSTZ誘発糖尿病モデルにおける非空腹時血糖値(全ての動物の平均±標準偏差)を示す。
【図１０】静脈内経路又は経口経路による7日間の連続投薬後に動物3匹/群をサンプル採取したSTZ誘発糖尿病モデルにおける創傷治癒の促進を示す。
【図１１】図11Aは、処置21日目の肺線維症の代表的な画像を示す；(A1)非誘導(健常)；A2、ビヒクル処置で誘導されたブレオマイシン；A3、ピルフェニドン100mg/kg処置で誘導されたブレオマイシン；A4、IVc-059a処置で誘導されたブレオマイシン。図11Bは、健常なブレオマイシン誘導非処置対ピルフェニドン対IVc-059aのアシュクロフトスコアを示す。
【発明を実施するための形態】
【００１６】
疾病、疾患又は機能不全に罹患している対象の処置に有用な新規化合物を本明細書に開示する。そのような疾病、疾患又は機能不全の例としては、限定されないが、自己免疫疾患、代謝疾患、炎症性疾患、変性疾患及び新生物疾患、特に炎症性病態、血管新生疾患及び/又は線維性疾患、例えば糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症、強直性脊椎炎、慢性膵炎、肝線維症、腎線維症、及び膵臓機能不全によって引き起こされる代謝疾患が挙げられる。
【００１７】
以下、別段の指定がない限り、本明細書において開示された新規化合物を利用して処置し得る疾病、疾患、又は機能不全の集合をまとめて「医学的病的状態」と呼ぶ。
【００１８】
本明細書において使用される「対象」との用語は、ありとあらゆる生物を含み、「患者」との用語を含む。本明細書において記載の方法に従って処置される対象は、医師によって医学的病的状態に罹患していると診断された者であってもよい。診断は、任意の好適な手段によって行ってよい。当業者であれば、本開示に従って処置される対象が、医学的病的状態を診断するための標準的な試験を受けている可能性があることを理解するであろう。当業者に公知であるように、本明細書に開示されるタイプの医学的病的状態の臨床像は、病理機序に応じて変化する。
【００１９】
本明細書において、「処置する」とは、開示された化合物を治療目的で利用することを指す。治療的処置は、例えば、対象の病的状態を改善又は安定化するために、医学的病的状態に罹患している対象に施してもよい。したがって、本明細書において記載される特許請求の範囲及び実施形態において、処置するとは、対象が本明細書に開示される方法論を治療目的で受けることを指す。
【００２０】
本明細書において使用されるプロドラッグは、任意の広範なプロドラッグ戦略を指す。例えば、プロドラッグ戦略は、1958年にAdrian Albertによって正式に認識されたが(Albert, A. Chemical aspects of selective toxicity. Nature, 1958, 182, 421-422)、メテナミン、フェナセチン及びプロントジルに例示されるように、前世紀初頭に始まっていた。プロドラッグは、一般に、薬理活性が殆ど又は全くない分子であるが、偶然によ

るか又は設計によるかに関係なく、インビボで活性薬物への生物変換を可能にする組み込まれた構造的不安定性を有する。当該変換は、化学的プロセス若しくは酵素的プロセス又はこの2つの組合せによって起こり得る。活性分子は、適切な生物学的標的への送達に大きな課題を伴う、望ましくない物理化学的性質に関連付けられることが多い。プロドラッグは、代表的には肝代謝に起因する代謝不安定性を改善することができる。同様に、薬物の望まれない腸代謝は、選択的プロドラッグ戦略によって克服することができる。この不安定性は、体循環及びその標的に到達する薬物の総量を大幅に低減させる可能性がある。プロドラッグは、代謝的に不安定であるが薬理学的に必須の官能基、例えば、フェノールをマスクして急速な代謝を回避することによって、この初回通過効果から活性薬物を保護するために使用することができる。

【００２１】

薬物の構造的修飾を介して得られるプロドラッグは、分子の固有の物理化学的性質に影響を与えてその送達を可能にするように設計されている。これらの事情は、創薬段階での新しい新規分子の設計に必ずしも統合されていない。多くの場合、アナログ的な最適化が今後の好ましい方向性(path forward)である。初期のプロドラッグ戦略を実施することは、より迅速な臨床開発及び最終的には薬物製品の商業化をもたらし得る。

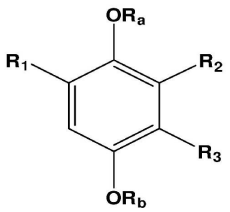
【００２２】

多くのプロドラッグ戦略を適用して、親薬物の親油性に影響を与えることができる。薬物の親油性は、短鎖炭化水素プロ部分(promoieties)によってその極性及びイオン化官能性をマスキングすることによって改善されてきた。親水性のヒドロキシル基、カルボキシル基、リン酸基又はアミン基、及びその他負又は正の電荷を持つ基を、より親油性のアルキル若しくはアリールエステル又はN-アシル誘導体に変換することに成功したが、これらはユビキタスなエステラーゼ又はペプチダーゼによって体内で迅速に親薬物に加水分解されて戻る。

【００２３】

したがって、本発明は、式(I)：

【化３】



式(I)

(式中、

R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、$HOOC(CH_2)_nCO$、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；

R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$又はCONH-R_{10}；

R_2及びR_3はH又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がR_5であるとき、他方はHであり、R_2及びR_3の一方がHであるとき、他方はR_5であり；

R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_5＝R_6、R_7又はR_8；

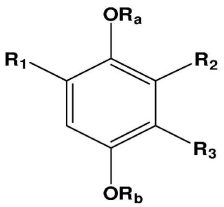
R_6＝CONH-R_9、$CONHCOR_9$、$CONH(CH_2)_n$-R_9又は$CONHCH(COOR_4)(CH_2)_kR_9$、へ

テロアリール-R_9(式中、k＝０～４)；
R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、アゾール［五員Ｎ含有複素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾヘテロアリール；
R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
Ｘ＝Ｏ、Ｓ、SO_2、ＮＨ、ＮＡｃ又は$N(CH_2)_qR_9$；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、SO_3H、アゾール［五員Ｎ含有複素環］、フッ素、Ｃ＝Ｏ、$NHCO-R_{10}$から選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール又はヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、SO_3H、アゾール［五員Ｎ含有複素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール又はヘテロアリール；
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニル基より選択される、６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；ヘテロアリールR_9及びR_{10}は、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
ｎ、ｍ、ｐ及びｑは独立して１～４である。)
の化合物を提供する。

【００２４】

本発明はさらに、式(I)：

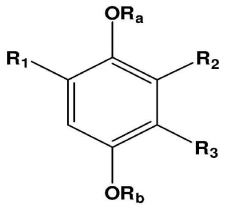
【化４】



(I)

(式中、
R_a、R_b＝Ｈ、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールＣＯ、$HOOC(CH_2)_nCO$、C_1-C_7アルキルＮＨＣＯ、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$又は$CONH-R_{10}$；
R_2及びR_3はＨ又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がR_5であるとき、他方はＨであり、R_2及びR_3の一方がＨであるとき、他方はR_5であり；
R_4＝Ｈ、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、Ｎ-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、ｏ-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；
R_5＝R_6又はR_7；
R_6＝$CONH-R_9$、$CONHCOR_9$、$CONH(CH_2)_n-R_9$又は$CONHCH(COOR_4)(CH_2)_kR_9$ (式中、k＝０～４)；
R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、アゾール［五員Ｎ含有複素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾヘテロアリール：；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、SO_3H、アゾール［五員Ｎ含有複素環］、フッ素、Ｃ＝Ｏ、$NHCO-R_{10}$から選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、SO_3H、アゾール［五員Ｎ含有複

素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上基で置換されたアリール、ヘテロアリール、ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニルより選択される６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；R_9及びR_{10}のヘテロアリールは、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
nは独立して１～４である。)
化合物を提供する。
【００２５】
本発明はまた、式(I)：
【化５】



(I)
(式中、
R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、$HOOC(CH_2)_nCO$、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；
R_1＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$又はCONH-R_{10}；
R_2及びR_3はH又はR_5であり、ただし、R_2及びR_3の一方がR_5であるとき、他方はHであり、R_2及びR_3の一方がHであるとき、他方はR_5であり；
R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；
R_5＝R_8；
R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$；
X＝O、S、SO_2、NH、NAc又は$N(CH_2)_qR_9$；
R_9＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、SO_3H、アゾール［五員N含有複素環］、フッ素、C＝O、NHCO-R_{10}から選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
R_{10}＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、SO_3H、アゾール［五員N含有複素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたアリール、ヘテロアリール；
ここで、R_9及びR_{10}のアリールは、フェニル、ナフチル、ビフェニル基より選択される、６～14の炭素原子を含む芳香族基であり；ヘテロアリールR_9及びR_{10}は、１～14の炭素原子及び１又は２以上の窒素を含む芳香族基であり；
n、m、p及びqは独立して１～４である。)
の化合物を提供する。
【００２６】
「アルキル」との表現は、1～20の炭素原子、好ましくは1～12の炭素原子、特に1～6(例えば、1、2、3又は4)の炭素原子を含有する飽和、直鎖状又は分枝状炭化水素基、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソ-プロピル、n-ブチル、イソ-ブチル、sec-ブチル又はtert-ブチルを指す。さらに、アルキルとの用語は、１又は２以上の水素原子がハロゲン原子(好ましくはF又はCl)で置換された基、例えば、2,2,2-トリクロロエチル基又はトリフルオロメチル基を指す。

【００２７】
「アシル」との表現は、(アルキル)-C(O)-基、(アリール)-C(O)-基、(ヘテロアリール)-C(O)-基、(ヘテロアルキル)-C(O)-基、及び(ヘテロシクロアルキル)-C(O)-基を指し、当該基はカルボニル官能基を介して親構造に結合している。いくつかの実施形態において、アシルはC_1～C_4アシル基であり、C_1～C_4とは、アシル基のアルキル、アリール、ヘテロアリール又はヘテロシクロアルキル部分の鎖又は環の炭素原子とカルボニル炭素との総和、例えば、３つの環原子又は鎖原子＋カルボニルをいう。
【００２８】
「アリール」との表現は、6～14の環炭素原子、好ましくは6～10(特に6)の環炭素原子を含有する１又は２以上の環を含有する芳香族基を指す。
【００２９】
「アラルキル」又は「アリールC_{1-4}アルキル」との表現は、上記定義に従ってアリールとアルキル、アルケニル、アルキニル及び/又はシクロアルキル基との両方を含有する基を指すが、ベンジル、2-フェニルエチル、3-フェニルプロピル及び2-ナフト-2-イルエチルに限定されない。アラルキル基は、好ましくは、6～10の炭素原子を含有する1又は2の芳香族環系(1又は2の環)と、1又は2～6の炭素原子を含有する1又は2のアルキル、アルケニル及び/若しくはアルキニル基、並びに/又は5又は6の環炭素原子を含有するシクロアルキル基とを含有する。
【００３０】
「ヘテロアリール」との表現は、5～14の環原子、好ましくは5～10(特に5又は6又は9又は10)の環原子を含有する１又は２以上の環を含有し、１又は２以上(好ましくは1、2、3又は4)の酸素、窒素、リン又は硫黄環原子(好ましくはO、S又はN)を含有する芳香族基を指す。例として、ピリジル(例えば、4-ピリジル)、イミダゾリル(例えば、2-イミダゾリル)、フェニルピロリル(例えば、3-フェニルピロリル)、チアゾリル、イソチアゾリル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、インドリル、インダゾリル、テトラゾリル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、イソオキサゾリル、インダゾリル、インドリル、ベンズイミダゾリル、ベンズオキサゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズチアゾリル、ピリダジニル、キノリニル、イソキノリニル、ピロリル、プリニル、カルバゾリル、アクリジニル、ピリミジル、2,3-ビフリル、ピラゾリル(例えば、3-ピラゾリル)及びイソキノリニル基が挙げられる。
【００３１】
「ベンゾヘテロアリール」又は「ベンゾヘテロ芳香族」との表現は、単環式ヘテロ芳香族環に縮合したフェニル環を含む二環式環を指す。ベンゾヘテロアリールの例としては、ベンズイソキサゾリル、ベンゾキサゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾフリル、ベンゾチエニル(S-オキシド及びジオキシドを含む)、キノリル、イソキノリル、インダゾリル、インドリル等が挙げられる。
【００３２】
「アゾール」との用語は、窒素環原子及びN、O又はSから選択される0～3個のさらなる環ヘテロ原子を有する5員ヘテロアリール基を指す。イミダゾール、オキサゾール、チアゾール及びテトラゾールは、代表的なアゾール基である。
【００３３】
「シクロアルキル」との表現は、１又は２以上の環(好ましくは1又は2)を含有し、3～14の環炭素原子、好ましくは3～10(特に3、4、5、6又は7)の環炭素原子を含有する飽和又は部分不飽和(例えばシクロアルケニル基)環式基を指す。シクロアルキル基の具体例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル基が挙げられる。
【００３４】
「置換されていてもいなくてもよい」との表現は、少なくとも1、又は任意に2、3若しくは４以上の水素原子が、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素原子によってか、又はOH、=O、SH、=S、NH_2、=NOH、N_3もしくはNO_2基によって置き換えられていてもよい基を指す。

この表現はさらに、少なくとも1、2、3又は４以上の非置換C_1-C_{10}アルキル、C_2-C_{10}アルケニル、C_2-C_{10}アルキニル、ヘテロアルキル、C_3-C_{18}シクロアルキル、C_2-C_{17}ヘテロシクロアルキル、C_4-C_{20}アルキルシクロアルキル、C_2-C_{19}ヘテロアルキルシクロアルキル、C_6-C_{18}アリール、C_1-C_{17}ヘテロアリール、C_7-C_{20}アラルキル又はC_2-C_{19}ヘテロアラルキル基によって置換されていてもよい基を指す。この表現はさらに、1、2、3又は４以上の非置換C_1-C_6アルキル、C_2-C_6アルケニル、C_2-C_6アルキニル、C_1-C_6ヘテロアルキル、C_3-C_{10}シクロアルキル、C_2-C_9ヘテロシクロアルキル、C_7-C_{12}アルキルシクロアルキル、C_2-C_{11}ヘテロアルキルシクロアルキル、C_6-C_{10}アリール、C_1-C_9ヘテロアリール、C_7-C_{12}アラルキル又はC_2-C_{11}ヘテロアラルキル基によって置換されていてもよい基を特に指す。

【００３５】

好ましい実施形態によれば、本明細書において記載される全てのアルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アラルキル及びヘテロアラルキル基は、置換されていてもいなくてもよい。

【００３６】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、HOOC$(CH_2)_n$CO、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、

R_1＝$COOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝CONH-R_9

又は

(B)

R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、HOOC$(CH_2)_n$CO、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル、

R_1＝$COOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_3＝H；R_2＝R_5；及び

R_5＝R_6＝CONH-R_9

である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

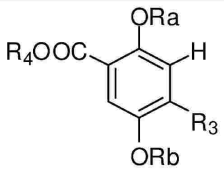
【００３７】

第1の実施形態において、本発明は、このように、表1に従う化合物を含む。

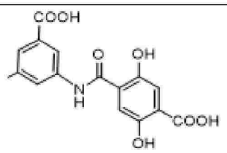
【００３８】

【表１－１】

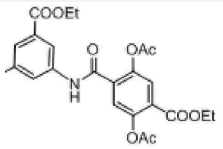
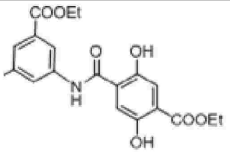
表１

A.	 R3 = R5 = CONHR9				
化合物 No.	化合物 化学名	Ra	Rb	R4	R9
Ia-001a	4-(2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-カルボキシフェニル
Ia-001a-Tz	4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル-アミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ia-001c	2,5-ジヒドロキシ-4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	2-スルホフェニル
Ia-002a	4-(3-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-カルボキシフェニル
Ia-002a-Tz	4-(3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル-アミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ia-002c	2,5-ジヒドロキシ-4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	3-スルホフェニル
Ia-003a	4-(4-カルボキシフェニル-アミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-カルボキシフェニル
Ia-003a-Tz	4-(4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル-アミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ia-003c	2,5-ジヒドロキシ-4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	4-スルホフェニル
Ia-004a	4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
Ia-005a	4-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
Ia-056a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
Ia-006a	4-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル

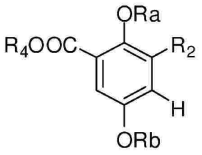
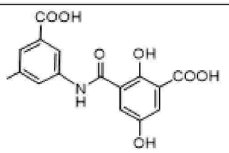
【表１－２】

Ib-010a	3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシベンゾイルアミノ)安息香酸	H	H	H	
Ia-011a	3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸;	H	H	H	2,3-ジカルボキシフェニル
Ia-012a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸	H	H	H	2,5-ジカルボキシフェニル
Ia-013a	化合物 36: 2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	H	H	H	2,6-ジカルボキシフェニル
Ia-014a	化合物 38: 4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	H	H	H	3,4-ジカルボキシフェニル
Ia-015a	5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	H	H	H	3.5-ジカルボキシフェニル
Ia-016a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	3-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-017a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	H	4-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-018a	6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	5-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-019a	6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	6-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-020a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸	H	H	H	3-カルボキシ-5-フルオロピリジン-2-イル
Ia-021a	6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸	H	H	H	3,6-ジカルボキシピリジン-2-イル
Ia-022a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸	H	H	H	3,5-ジカルボキシピリジン-2-イル
Ia-023a	3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	H	4-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-024a	5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	5-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-025a	5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	6-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-026a	3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-027a	5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸	H	H	H	4-カルボキシ-6-フルオロピリジン-3-イル

【表１－３】

Ia-028a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	3-カルボキシピリジン-4-イル
Ia-029a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-032a	4-(4-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-(カルボキシメチル)フェニル
Ia-033a	4-(3-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-(カルボキシメチル)フェニル
Ia-033a-HyP	2,5-ジヒドロキシ-4-(3-(1-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル)フェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	3-(1-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル) フェニル
Ia-034a	4-(2-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-(カルボキシメチル)フェニル
Ia-001a-E2-A2	エチル 4-(2-(エトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジアセトキシベンゾエート	Ac	Ac	Et	2-(エトキシカルボニル)フェニル
Ia-001a-E2	エチル 4-(2-(エトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート	H	H	Et	2-(エトキシカルボニル)フェニル
Ia-001a-Tz-E1-A2	エチル 4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジアセトキシベンゾエート	Ac	Ac	Et	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ia-001a-Tz-E1	エチル 4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート	H	H	Et	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ia-004a-E2	エチル 2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル)ベンゾエート	H	H	Et	4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル
Ib-010a-E3-A4	エチル 3,5-ビス(2,5-ジアセトキシ-4-エトキシカルボニルベンゾイルアミノ)ベンゾエート	Ac	Ac	Et	
Ib-010a-E3	エチル 3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-エトキシカルボニルベンゾイルアミノ)ベンゾエート	H	H	Et	
Ia-023a-E2	エチル 3-(4-(エトキシカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチネート	H	H	Et	4-エトキシカルボニルピリジン-3-イル
Ia-056a-E2	化合物 390: エチル 4-(4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート	H	H	Et	4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニル

【表１－４】

B.	 R2 = R5 = CONHR9				
IIa-001a	3-(2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-カルボキシフェニル
IIa-001a-Tz	3-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
IIa-001c	2,5-ジヒドロキシ-3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	2-スルホフェニル
IIa-002a	3-(3-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-カルボキシフェニル
IIa-002a-Tz	3-(3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
IIa-002c	2,5-ジヒドロキシ-3-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	3-スルホフェニル
IIa-003a	3-(4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-カルボキシフェニル
IIa-003a-Tz	3-(4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
IIa-003c	2,5-ジヒドロキシ-3-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	4-スルホフェニル
IIa-004a	3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIa-005a	3-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
IIa-006a	3-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIb-010a	3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシベンゾイルアミノ)安息香酸	H	H	H	
IIa-011a	3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	H	H	H	2,3-ジカルボキシフェニル
IIa-012a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸	H	H	H	2,5-ジカルボキシフェニル

【表１－５】

IIa-013a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	H	H	H	2.6-ジカルボキシフェニル
IIa-014a	4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	H	H	H	3.4-ジカルボキシフェニル
IIa-015a	5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	H	H	H	3,5-ジカルボン酸
IIa-016a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	3-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-017a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	H	4-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-018a	6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	5-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-019a	6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	6-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-020a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸	H	H	H	3-カルボキシ-5-フルオロピリジン-2-イル
IIa-021a	6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸	H	H	H	3,6-ジカルボキシピリジン-2-イル
IIa-022a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸	H	H	H	3,5-ジカルボキシピリジン-2-イル
IIa-023a	3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	H	4-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-024a	5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	5-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-025a	5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	6-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-026a	3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	H	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-027a	5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸	H	H	H	4-カルボキシ-6-フルオロピリジン-3-イル
IIa-028a	4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	H	H	H	3-カルボキシピリジン-4-イル
IIa-029a	化合物 172: 4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸;	H	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-032a	3-(4-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	4-(カルボキシメチル)フェニル
IIa-033a	3-(3-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	3-(カルボキシメチル)フェニル

【表１－６】

IIa-033a-Hyp	2,5-ジヒドロキシ-3-(3-(1-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル)フェニルアミノカルボニル)安息香酸	H	H	H	3-(1-ヒドロキシ-1H-ピラゾール-4-イル)フェニル
IIa-034a	3-(2-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	H	H	H	2-(カルボキシメチル)フェニル
IIa-001aTz-E1	エチル 3-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート	H	H	Et	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
IIa-034a-E2	エチル 3-(2-(エトキシカルボニルメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンゾエート	H	H	Et	2-(2-エトキシカルボニルメチル)フェニル

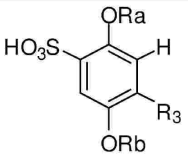
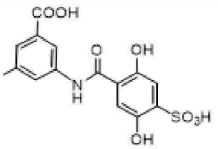
【００３９】

好ましくは、本発明は、

(A)
R_a、R_b＝H；
R_1＝SO_3H；
R_2＝H；R_3＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
又は
(B)
R_a、R_b＝H；
R_1＝SO_3H；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
である、式(I)の化合物を提供する。
【００４０】
第2の実施形態において、本発明は、表2に従う化合物を含む。
【００４１】

【表２－１】

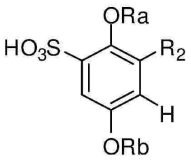
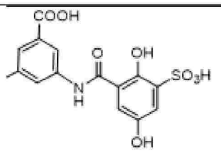
表2

A.	 R3 = R5 = CONHR9			
化合物 No.	化合物 化学名	Ra	Rb	R9
Ia-001b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	2-カルボキシフェニル
Ia-001d	2,5-ジヒドロキシ-4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸	H	H	2-スルホフェニル
Ia-002b	3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	3-カルボキシフェニル
Ia-002d	2,5-ジヒドロキシ-4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸	H	H	3-スルホフェニル
Ia-003b	4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	4-カルボキシフェニル
Ia-003d	2,5-ジヒドロキシ-4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸	H	H	4-スルホフェニル
Ia-004b	5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
Ia-005b	4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
Ia-006b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
Ib-010b	3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	
Ia-011b	3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フタル酸	H	H	2,3-ジカルボキシフェニル
Ia-012b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)テレフタル酸	H	H	2,5-ジカルボキシフェニル
Ia-013b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソフタル酸	H	H	2,6-ジカルボキシフェニル
Ia-014b	4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フタル酸	H	H	3.4-ジカルボキシフェニル
Ia-015b	5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソフタル酸	H	H	3.5-ジカルボキシフェニル
Ia-016b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	3-カルボキシピリジン-2-イル

【表２－２】

Ia-017b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	4-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-018b	6-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	5-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-019b	6-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	6-カルボキシピリジン-2-イル
Ia-020b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸	H	H	3-カルボキシ-5-フルオロピリジン-2-イル
Ia-021b	6-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸	H	H	3,6-ジカルボキシピリジン-2-イル
Ia-022b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸	H	H	3,5-ジカルボキシピリジン-2-イル
Ia-023b	3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	4-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-024b	5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	5-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-025b	5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	6-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-026a	3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-027b	5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸	H	H	4-カルボキシ-6-フルオロピリジン-3-イル
Ia-028b	4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	3-カルボキシピリジン-4-イル
Ia-029b	4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
Ia-032b	(4-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸	H	H	4-(カルボキシメチル)フェニル
Ia-033b	(3-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸	H	H	3-(カルボキシメチル)フェニル
Ia-034b	(2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸	H	H	2-(カルボキシメチル)フェニル

【表２－３】

B.	 R2 = R5 = CONHR9			
IIa-001b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	2-カルボキシフェニル
IIa-001d	2,5-ジヒドロキシ-3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸	H	H	2-スルホフェニル
IIa-002b	3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	3-カルボキシフェニル
IIa-002d	2,5-ジヒドロキシ-3-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸	H	H	3-スルホフェニル
IIa-003b	4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	4-カルボキシフェニル
IIa-003d	2,5-ジヒドロキシ-3-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンゼンスルホン酸	H	H	4-スルホフェニル
IIa-004b	5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIa-005b	4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸;	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
IIa-006b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIb-010b	3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-5-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)安息香酸	H	H	
IIa-011b	3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フタル酸;	H	H	2,3-ジカルボキシフェニル
IIa-012b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)テレフタル酸	H	H	2,5-ジカルボキシフェニル
IIa-013b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソフタル酸	H	H	2,6-ジカルボキシフェニル
IIa-014b	4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フタル酸	H	H	3.4-ジカルボキシフェニル
IIa-015b	5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソフタル酸	H	H	3.5-ジカルボキシフェニル
IIa-016b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	3-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-017b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	4-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-018b	6-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	5-カルボキシピリジン-2-イル

【表２－４】

IIa-019b	6-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	6-カルボキシピリジン-2-イル
IIa-020b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸	H	H	3-カルボキシ-5-フルオロピリジン-2-イル
IIa-021b	6-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸;	H	H	3,6-ジカルボキシピリジン-2-イル
IIa-022b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸	H	H	3,5-ジカルボキシピリジン-2-イル
IIa-023b	3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)イソニコチン酸	H	H	4-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-024b	5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	5-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-025b	5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	6-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-026b	3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-027b	5-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸	H	H	4-カルボキシ-6-フルオロピリジン-3-イル
IIa-028b	4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ニコチン酸	H	H	3-カルボキシピリジン-4-イル
IIa-029b	化合物 173: 4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)ピコリン酸	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IIa-032b	(4-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸	H	H	4-(カルボキシメチル)フェニル
IIa-033b	(3-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸	H	H	3-(カルボキシメチル)フェニル
IIa-034b	(2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホベンズアミド)フェニル)酢酸	H	H	2-(カルボキシメチル)フェニル

【００４２】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝CONH-R_9

又は

(B)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

【００４３】

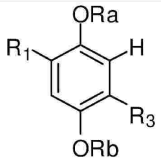
第3の実施形態において、本発明は、表3に従う化合物を含む。

【００４４】

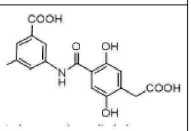
【表３－１】

表3

A.



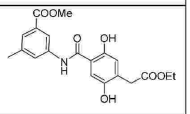
R3 = R5 = R6 = CONH-R9

化合物 No.	化合物 化学名	R1	Ra	Rb	R9
IIIa-001a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸	CH2COOH	H	H	2-カルボキシフェニル
IIIa-001a-Tz	(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
IIIa-001c	(2,5-ジヒドロキシ-4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	2-スルホフェニル
IIIa-002a	3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸;	CH2COOH	H	H	3-カルボキシフェニル
IIIa-002c	(2,5-ジヒドロキシ-4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸;	CH2COOH	H	H	3-スルホフェニル
IIIa-003a	4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸;	CH2COOH	H	H	4-カルボキシフェニル
IIIa-003c	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸;	CH2COOH	H	H	4-スルホフェニル
IIIa-004a	化合物 216: 5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIIa-005a	4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
IIIa-006a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIIb-010a	3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシメチルベンゾイルアミノ)安息香酸	CH2COOH	H	H	
IIIa-011a	3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	CH2COOH	H	H	2,3-ジカルボキシフェニル
IIIa-012a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸	CH2COOH	H	H	2,5-ジカルボキシフェニル

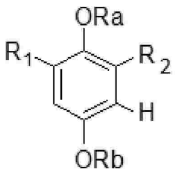
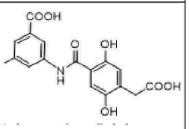
【表３－２】

IIIa-013a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	CH2COOH	H	H	2,6-ジカルボキシフェニル
IIIa-014a	4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	CH2COOH	H	H	3,4-ジカルボキシフェニル
IIIa-015a	5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	CH2COOH	H	H	3,5-ジカルボキシフェニル
IIIa-016a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシピリジン-2-イル
IIIa-017a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシピリジン-2-イル
IIIa-018a	6-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	5-カルボキシピリジン-2-イル
IIIa-019a	6-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	6-カルボキシピリジン-2-イル
IIIa-020a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシ-5-フルオロピリジン-2-イル
IIIa-021a	6-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸	CH2COOH	H	H	3,6-ジカルボキシピリジン-2-イル
IIIa-022a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸	CH2COOH	H	H	3,5-ジカルボキシピリジン-2-イル
IIIa-023a	3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸;	CH2COOH	H	H	4-カルボキシピリジン-3-イル
IIIa-024a	5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	5-カルボキシピリジン-3-イル
IIIa-025a	5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	6-カルボキシピリジン-3-イル
IIIa-026a	3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IIIa-027a	5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシ-6-フルオロピリジン-3-イル
IIIa-028a	4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸;	CH2COOH	H	H	3-カルボキシピリジン-4-イル
IIIa-029a	4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸;	CH2COOH	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IIIa-032a	(4-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	4-(カルボキシメチル)フェニル
IIIa-033a	(3-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	3-(カルボキシメチル)フェニル

【表３－３】

IIIa-034a	(2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	2-(カルボキシメチル)フェニル
IIIa-001a-E2	メチル 2-(4-(エトキシカルボニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ベンゾエート	CH2COOEt	H	H	2-(メトキシカルボニル)フェニル
IIIa-001aTz-E1	化合物 383: エチル (4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)アセテート;	CH2COOEt	H	H	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
IIIa-015a-E3	ジエチル 5-(4-(エトキシカルボニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタレート	CH2COOEt	H	H	3,5-di エトキシカルボニルフェニル
IIIb-010a-E3	メチル 3,5-ビス(4-(エトキシカルボニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ベンゾエート	CH2COOEt	H	H	

【表３－４】

B.	 R2 = R5 = R6 = CONHR9				
IVa-001a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸	CH2COOH	H	H	2-カルボキシフェニル
IVa-001c	(2,5-ジヒドロキシ-3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	2-スルホフェニル
IVa-002a	3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシフェニル
IVa-002c	(2,5-ジヒドロキシ-3-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	3-スルホフェニル
IVa-003a	4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシフェニル
IVa-003c	(2,5-ジヒドロキシ-3-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	4-スルホフェニル
IVa-004a	5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IVa-005a	4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
IVa-006a	化合物 295: 2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸;	CH2COOH	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IVb-010a	3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシメチルベンゾイルアミノ)安息香酸	CH2COOH	H	H	
IVa-011a	3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	CH2COOH	H	H	2,3-ジカルボキシフェニル
IVa-012a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸	CH2COOH	H	H	2,5-ジカルボキシフェニル
IVa-013a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	CH2COOH	H	H	2,6-ジカルボキシフェニル
IVa-014a	4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸	CH2COOH	H	H	3.4-ジカルボキシフェニル
IVa-015a	5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸	CH2COOH	H	H	3.5-ジカルボキシフェニル

【表３－５】

IVa-016a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシピリジン-2-イル
IVa-017a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシピリジン-2-イル
IVa-018a	6-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	5-カルボキシピリジン-2-イル
IVa-019a	6-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	6-カルボキシピリジン-2-イル
IVa-020a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-フルオロニコチン酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシ-5-フルオロピリジン-2-イル
IVa-021a	6-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-2,5-ジカルボン酸	CH2COOH	H	H	3,6-ジカルボキシピリジン-2-イル
IVa-022a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピリジン-3,5-ジカルボン酸	CH2COOH	H	H	3,5-ジカルボキシピリジン-2-イル
IVa-023a	3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシピリジン-3-イル
IVa-024a	5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	5-カルボキシピリジン-3-イル
IVa-025a	5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	6-カルボキシピリジン-3-イル
IVa-026a	3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IVa-027a	5-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-フルオロイソニコチン酸	CH2COOH	H	H	4-カルボキシ-6-フルオロピリジン-3-イル
IVa-028a	4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ニコチン酸	CH2COOH	H	H	3-カルボキシピリジン-4-イル
IVa-029a	4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)ピコリン酸	CH2COOH	H	H	2-カルボキシピリジン-3-イル
IVa-032a	(4-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	4-(カルボキシメチル)フェニル
IVa-033a	(3-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	3-(カルボキシメチル)フェニル
IVa-034a	(2 -(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フェニル)酢酸	CH2COOH	H	H	2-(カルボキシメチル)フェニル

【００４５】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、$HOOC(CH_2)_n$CO、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；

R_1＝CONH-R_{10}；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

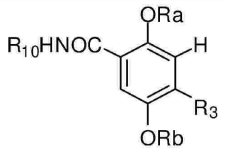
R_5＝R_6＝CONH-R_9

又は

(B)
R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、$HOOC(CH_2)_n$CO、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；
R_1＝CONH-R_{10}；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。
【００４６】
第4の実施形態において、本発明は、表4に従う化合物を含む。
【００４７】

【表４－１】

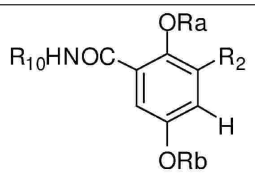
表4

A.	 R3 = R5 = R6 = CONH-R9				
化合物 No.	化合物 化学名	Ra	Rb	R10	R9
Ic-001a-Tz/1-004a	5-(4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ 安息香酸	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ic-001a-Tz(2)	N_1,N_4-ビス(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル)-2,5-ジヒドロキシテレフタルアミド	H	H	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ic-007a	5-(4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ 安息香酸;	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
Ic-007b	5-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシ ベンゼンスルホン酸	H	H	4-ヒドロキシ-3-スルホニルフェニル	4-ヒドロキシ-3-スルホニルフェニル
Ic-008a	4-(4-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ 安息香酸	H	H	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル	4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル
Ic-008b	4-(2,5-ジヒドロキシ-4-(3-ヒドロキシ-4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシ ベンゼンスルホン酸	H	H	3-ヒドロキシ-4-スルホニルフェニル	3-ヒドロキシ-4-スルホニルフェニル
Ic-009a	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシ 安息香酸	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
Ic-009b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-スルホフェニルアミノカルボニル)	H	H	4-ヒドロキシ-2-スルホフェニル	4-ヒドロキシ-2-スルホフェニル

【表４－２】

	ベンズアミド)-5-ヒドロキシ ベンゼンスルホン酸				
Ib-001a-Tz/1-004a-E1	メチル 5-(4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゾエート;	H	H	4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル-	2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル
Ic-007a-E2-A4	メチル 5-(2,5-ジアセトキシ-4-(4-アセトキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル) ベンズアミド)-2-アセトキシベンゾエート;	Ac	Ac	4-アセトキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル	4-アセトキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル
Ic-007a-E2	メチル 5-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル) ベンズアミド)-2-ヒドロキシベンゾエート;	H	H	4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル	4-ヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル
Ic-007a-pive2	1-(2,2-di メチルプロパノイルオキシ)エチル 5-[[4-[[3-[1-(2,2-di メチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-4-ヒドロキシ-フェニル]カルバモイル]-2,5-ジヒドロキシ-ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシベンゾエート	H	H	3-[1-(2,2-di メチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-4-ヒドロキシフェニル	3-[1-(2,2-di メチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-4-ヒドロキシ-フェニル
Ic-009a-E2	: メチル 2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-(メトキシカルボニル)フェニルアミノカルボニル) ベンズアミド)-5-ヒドロキシベンゾエート	H	H	4-ヒドロキシ-2-(メトキシカルボニル)フェニル	4-ヒドロキシ-2-(メトキシカルボニル)フェニル

【表４－３】

B.	 R2 = R5 = R6 = CONH-R9				
IIc-007a	5-(3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ 安息香酸	H	H	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル	3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIc-007b	5-(2,5-ジヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシ-3-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシ ベンゼンスルホン酸	H	H	4-ヒドロキシ-3-スルホフェニル	4-ヒドロキシ-3-スルホフェニル
IIc-008a	4-(3-(3-ヒドロキシ-4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ 安息香酸	H	H	3-ヒドロキシ-4-カルボキシフェニル	3-ヒドロキシ-4-カルボキシフェニル
IIc-008b	4-(2,5-ジヒドロキシ-3-(3-ヒドロキシ-4-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-2-ヒドロキシ ベンゼンスルホン酸	H	H	3-ヒドロキシ-4-スルホフェニル	3-ヒドロキシ-4-スルホフェニル
IIc-009a	2-(3-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシ l 安息香酸	H	H	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル	2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル
IIc-009b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシ-2-スルホフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシ ベンゼンスルホン酸	H	H	4-ヒドロキシ-2-スルホフェニル	4-ヒドロキシ-2-スルホフェニル

【００４８】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝$CONHCOR_9$

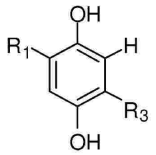
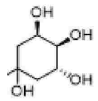
又は

(B)

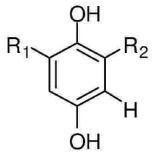
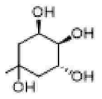
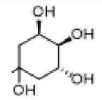
R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジ

オキソリル)メチル；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝CONH-R_9
である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。
【００４９】
第5の実施形態において、本発明は、表5に従う化合物を含む。
【００５０】
【表５－１】
表5

A.	 R3 = R5 = R6 = CONHCOR9		
化合物 No.	化合物 化学名	R1	R9
Ia-040a	N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	COOH	
Ia-041a	N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	COOH	2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル
Ia-042a	N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	COOH	2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル
Ia-043a	N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	COOH	3,4-ジヒドロキシフェニル
Ia-044a	N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	COOH	3,5-ジヒドロキシフェニル
IIIa-040a	N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	CH2COOH	
IIIa-041a	N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	CH2COOH	2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル
IIIa-042a	N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	CH2COOH	2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル
IIIa-043a	N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	CH2COOH	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIIa-044a	N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	CH2COOH	3,5-ジヒドロキシフェニル

【表５－２】

B.	 R2 = R5 = R6 = CONHCOR9		
IIa-040a	N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	COOH	
IIa-041a	N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	COOH	2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル
IIa-042a	N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	COOH	2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル
IIa-043a	N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	COOH	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIa-044a	N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	COOH	3,5-ジヒドロキシフェニル
IVa-040a	N-(1,3,4,5-テトラヒドロキシシクロヘキシルカルボニル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	CH2COOH	
IVa-041a	N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	CH2COOH	2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル
IVa-042a	N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシ-ベンズアミド	CH2COOH	2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル
IVa-043a	N-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	CH2COOH	3,4-ジヒドロキシフェニル
IVa-044a	N-(3,5-ジヒドロキシベンゾイル) 3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシベンズアミド	CH2COOH	3,5-ジヒドロキシフェニル

【００５１】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝$CONH(CH_2)_n$-R_9

又は

(B)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_6＝$CONH(CH_2)_n$-R_9
である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

【００５２】

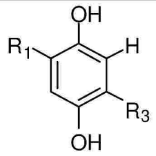
第6の実施形態において、本発明は、表6に従う化合物を含む。

【００５３】

【表６－１】

表6

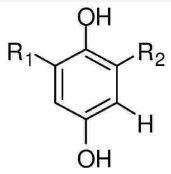
A.



R3 = R5 = R6 = $CONH(CH_2)_n$-R_9

化合物 No.	化合物 化学名	R1	n	R9
Ia-035a	4-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	COOH	1	3,4-ジヒドロキシフェニル
Ia-035a-2	4-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	COOH	2	3,4-ジヒドロキシフェニル
Ia-037a	4-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	COOH	1	3,5-ジヒドロキシフェニル
Ia-038a	4-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	COOH	1	4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)
Ia-039a	2,5-ジヒドロキシ-4-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルアミノカルボニル)安息香酸	COOH	1	3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)
Ia-053a	4-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	1	2-カルボキシフェニル
Ia-054a	4-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	1	3-カルボキシフェニル
Ia-055a	4-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル) 2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	1	4-カルボキシフェニル
IIIa-035a	3-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	1	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIIa-037a	3-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	1	3,5-ジヒドロキシフェニル
IIIa-038a	3-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	1	4-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)
IIIa-039a	3-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	1	3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)
IIIa-053a	2,5-ジヒドロキシ-3-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルアミノカルボニル)安息香酸	CH2COOH	1	2-カルボキシフェニル
IIIa-054a	3-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	1	3-カルボキシフェニル
IIIa-055a	3-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH2COOH	1	4-カルボキシフェニル

【表６－２】

B.	 R2 = R5 = R6 = CONH(CH2)n-R9			
IIa-035a	3-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	1	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIa-035a-2	(4-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	COOH	2	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIa-037a	(4-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	COOH	1	3,5-ジヒドロキシフェニル
IIa-038a	(4-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル) 酢酸	COOH	1	4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)
IIa-039a	化合物 191: (2,5-ジヒドロキシ-4-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルアミノカルボニル)フェニル)酢酸	COOH	1	3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル
IIa-053a	(4-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	COOH	1	2-カルボキシフェニル
IIa-054a	(4-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	COOH	1	3-カルボキシフェニル
IIa-055a	(4-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	COOH	1	4-カルボキシフェニル
IVa-035a	(3-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH2COOH	1	3,4-ジヒドロキシフェニル
IVa-037a	(3-(3,5-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH2COOH	1	3,5-ジヒドロキシフェニル
IVa-038a	(3-((4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル) 酢酸	CH2COOH	1	4,5-ジヒドロキシ-3-オキソシクロヘキサ-1-エニル)
IVa-039a	(2,5-ジヒドロキシ-3-((3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル)メチルカルボニルアミノ)フェニル)酢酸	CH2COOH	1	3,4,5-トリヒドロキシシクロヘキシル
IVa-053a	(3-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH2COOH	1	2-カルボキシフェニル
IVa-054a	(3-(3-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH2COOH	1	3-カルボキシフェニル
IVa-055a	(3-(4-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH2COOH	1	4-カルボキシフェニル

【００５４】

好ましくは、本発明は、

R_a、R_b＝Ｈ；

R_1＝SO_3H；

R_2＝Ｈ；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝$CONH(CH_2)_n$-R_9

である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

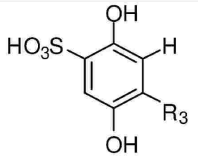
【００５５】

第7の実施形態によれば、本発明は、以下の表7に従う化合物を含む。

【００５６】

【表７】

表7



R3 = R5 = $CONH(CH_2)_n$-R9

化合物 No.	化合物 化学名	n	R9
Ia-053b	2-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)メチル)安息香酸	1	2-カルボキシフェニル
Ia-054b	3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)メチル)安息香酸	1	3-カルボキシフェニル
Ia-055b	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホベンズアミド)メチル)安息香酸	1	4-カルボキシフェニル

【００５７】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝$CONHCH(COOR_4)(CH_2)_k$-R_9；

又は

(B)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_3＝H；R_2＝R_5；及び

R_5＝R_6＝$CONHCH(COOR_4)(CH_2)_k$-R_9

である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物に関する。

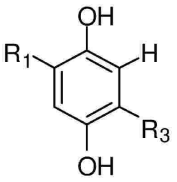
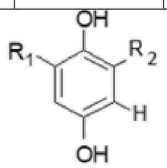
【００５８】

第8の実施形態によれば、本発明は、以下の表8に従う化合物を含む。

【００５９】

【表８】

表8

A.	 $R_3 = R_5 = R_6 = CONHCH(COOR_4)(CH_2)_kR_9$				
化合物 No.	化合物 化学名	R1	R4	k	R9
Ia-035a-3	4-(1-カルボキシ-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	1	3,4-ジヒドロキシフェニル
Ia-036a	4-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	0	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIIa-036a	3-(1-カルボキシ-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	CH_2COOH	H	0	3,4-ジヒドロキシフェニル
B.	 $R_2 = R_5 = R_6 = CONHCH(COOR_4)(CH_2)_kR_9$				
IIa-035a-3	3-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	1	3,4-ジヒドロキシフェニル
IIa-036a	(4-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	COOH	H	0	3,4-ジヒドロキシフェニル
IVa-036a	(3-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸	CH_2COOH	H	0	3,4-ジヒドロキシフェニル

【００６０】

特定の実施形態において、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、又は$CONH\text{-}R_{10}$；

R_4＝H、$C_{1\text{-}4}$アルキル、アリール$C_{1\text{-}4}$アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_6＝ヘテロアリール-R_9

又は

(B)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、又は$CONH\text{-}R_{10}$；

R_4＝H、$C_{1\text{-}4}$アルキル、アリール$C_{1\text{-}4}$アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジ

ノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_3＝H；R_2＝R_5；及び

R_5＝R_6＝ヘテロアリール-R_9

である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

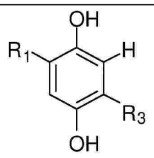
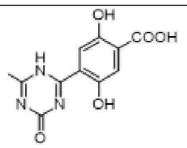
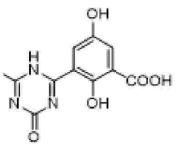
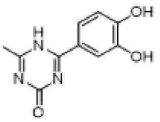
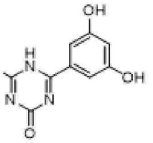
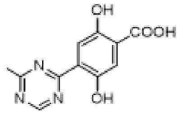
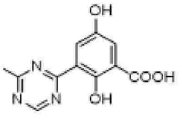
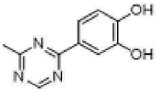
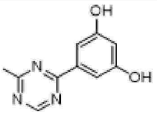
【００６１】

第9の実施形態によれば、本発明は、表9に従う化合物を含む。

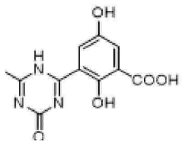
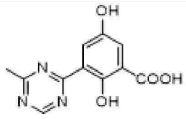
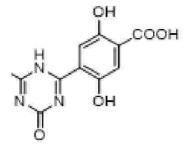
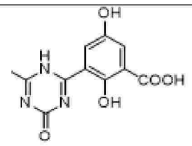
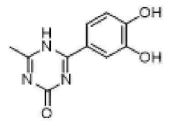
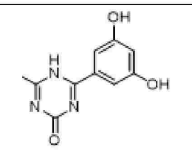
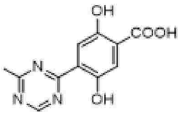
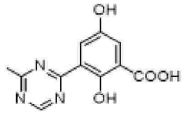
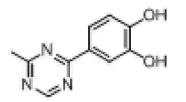
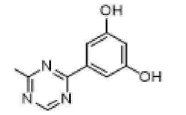
【００６２】

【表９－１】

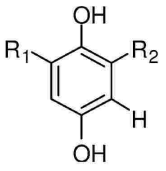
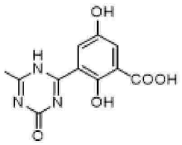
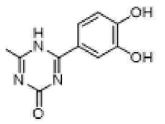
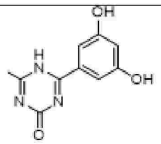
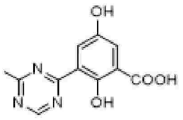
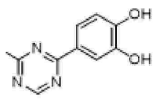
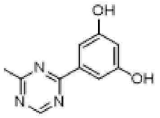
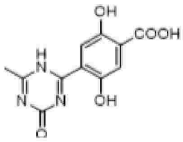
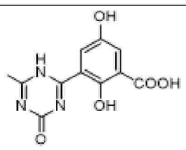
表9

A.	 R3 = R5 = R6 = ヘテロアリール-R9		
化合物 No.	化合物 化学名	R1	ヘテロアリール-R9
Ia-045a	4,6-ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
Ia-046a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
Ia-047a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
Ia-048a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
Ia-049a	4,6-ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
Ia-050a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
Ia-051a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
Ia-052a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	

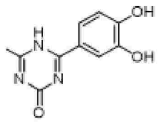
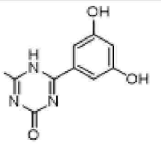
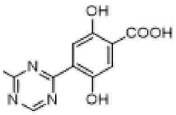
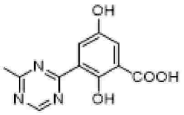
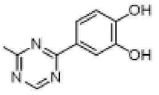
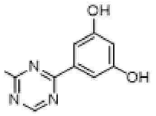
【表９－２】

IIa-046a	4,6-ビス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
IIa-050a	4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
IIIa-045a	4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	CH2COOH	
IIIa-046a	4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	CH2COOH	
IIIa-047a	4,6-ビス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IIIa-048a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IIIa-049a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IIIa-050a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IIIa-051a	2-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IIIa-052a	2-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	

【表９－３】

B.	 R2 = R5 = R6 = ヘテロアリール-R9		
IIa-045a	4-(4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
IIa-047a	4-(4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	COOH	
IIa-048a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
IIa-049a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
IIa-051a	2-(4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
IIa-052a	2-(4-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	COOH	
IVa-045a	4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	CH2COOH	
IVa-046a	4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	CH2COOH	

【表９－４】

IVa-047a	4-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	CH2COOH	
IVa-048a	4-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-6-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-オン	CH2COOH	
IVa-049a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IVa-050a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IVa-051a	2-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	
IVa-052a	2-(3-カルボキシメチル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-4-(3,5-ジヒドロキシフェニル)-1,3,5-トリアジン	CH2COOH	

【００６３】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、CONH-R_{10}；

R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、アゾール［五員Ｎ含有複素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾヘテロアリール

又は

(B)

R_a、R_b＝H；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、又はCONH-R_{10}；

R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_3＝H；R_2＝R_5；及び

R_5＝R_7＝$COOR_4$、$(CH_2)_nCOOR_4$、SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、OR_4、アゾール［五員Ｎ含有複素環］又はフッ素より選択される少なくとも１又は２以上の基で置換されたベンゾヘテロアリール

である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

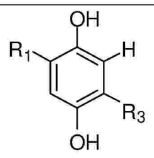
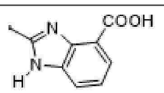
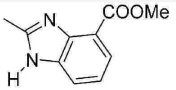
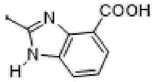
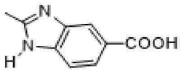
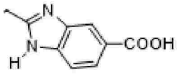
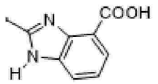
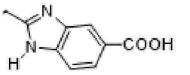
【００６４】

第10の実施形態によれば、本発明は、表10に従う化合物を含む。

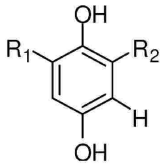
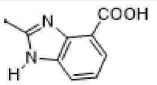
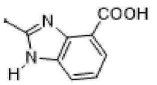
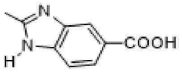
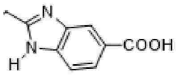
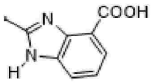
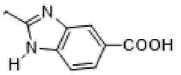
【００６５】

【表１０－１】

表10

A.	 R3 = R5 = R7		
化合物 No.	化合物 化学名	R1	R3
Id-030a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸	COOH	
Id-030a-E2	メチル 2-(4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボキシレート	COOEt	
Id-030b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸	SO3H	
Id-031a	2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸	COOH	
Id-031b	2-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸	SO3H	
IIId-030a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸	CH2COOH	
IIId-031a	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸	CH2COOH	

【表１０－２】

B.	 R2 = R5 = R7		
IId-030a	2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸	COOH	
IId-030b	2-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸	SO3H	
IId-031a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸	COOH	
IId-030a	2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸	SO3H	
IVd-030a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸	CH2COOH	
IVd-031a	2-(3-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボン酸	CH2COOH	

【００６６】

好ましくは、本発明は、

(A)

R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、$HOOC(CH_2)_n$CO、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、又はCONH-R_{10}；

R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；

R_2＝H；R_3＝R_5；及び

R_5＝R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$

(式中、X＝O、S、SO_2、NH、NAc又は$N(CH_2)_qR_9$)；

又は

(B)

R_a、R_b＝H、C_{1-4}アシル、アリールC_{1-4}アルキル、C_6-C_{10}アリールCO、$HOOC(CH_2)_n$CO、C_1-C_7アルキルNHCO、ホスホノ、ホスホノオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル又はC_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル；

R_1＝$COOR_4$；$(CH_2)_nCOOR_4$；SO_3H、$(CH_2)_nSO_3H$、又はCONH-R_{10}；

R_4＝H、C_{1-4}アルキル、アリールC_{1-4}アルキル、モルホリノ-C_1-C_6アルキル、ピロリジノ-C_1-C_6アルキル、N-メチルピペラジノ-C_1-C_6アルキルを含む官能化C_1-C_6アルキル、o-メトキシフェニル(グアイアコールエステル)を含むC_6-C_{10}アリール、C_1-C_6アシルオキ

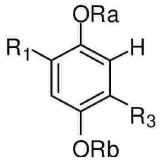
シメチル、C_1-C_6アシルオキシ-1-エチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシメチル、C_1-C_6アルコキシカルボニルオキシ-1-エチル又は(オキソジオキソリル)メチル；
R_3＝H；R_2＝R_5；及び
R_5＝R_8＝$(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$
(式中、X＝O、S、SO_2、NH、NAc又は$N(CH_2)_qR_9$)
である、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物を提供する。

【００６７】

第11の実施形態によれば、本発明は、表11に従う化合物を含む。

【表１１－１】

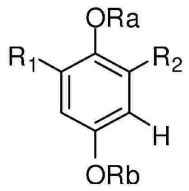
表11

A.	 R3 = $(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$							
No.	化合物 化学名	R1	Ra	Rb	m	X	p	R9
IIIc-056a	ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン	COOH	H	H	1	NH	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-056b	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	SO3H	H	H	1	NH	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-056c	化合物 267: 4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	NH	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IIIc-056d	ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル)アミン	SO3H	H	H	1	NH	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IIIc-057a	N,N-ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド	COOH	H	H	1	NH(COCH3)	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-057b	N-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル) N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル) アセトアミド	SO3H	H	H	1	NH(COCH3)	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-057c	N-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル) N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル) アセトアミド	COOH	H	H	1	NH(COCH3)	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IIIc-057d	N,N-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル)アセトアミド	SO3H	H	H	1	NH(COCH3)	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IIIc-058a	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	S	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-058b	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	SO3H	H	H	1	S	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-058c	4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	S	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IIIc-058d	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸;	SO3H	H	H	1	S	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IIIc-059a	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	COOH	H	H	1	SO2	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル

【表１１－２】

IIIc-059b	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	SO3H	H	H	1	SO2	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-059c	4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	SO2	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IIIc-059d	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸	SO3H	H	H	1	SO2	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IIIc-060a	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	O	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-060b	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸;	SO3H	H	H	1	O	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-060c	4-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	O	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IIIc-060d	4-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸	SO3H	H	H	1	O	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IIIc-061a	トリス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン	COOH	H	H	1	N(CH2)qR9 q = 1: R9 = 4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル	1	4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IIIc-061a-E3	トリス(4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン	COOEt	H	H		(CH2)qR9 q = 1: R9 = 4-エトキシカルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル	1	4-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニル

【表１１－３】

B.	 R2 = $(CH_2)_mX(CH_2)_pR_9$							
IVc-056a	ビス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン	COOH	H	H	1	NH	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-056b	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	SO3H	H	H	1	NH	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-056c	3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチルアミノ)メチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	NH	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IVc-056d	ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル)アミン	SO3H	H	H	1	NH	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IVc-057a	N,N-ビス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド	COOH	H	H	1	NH(COCH3)	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-057b	N-(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル) N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル) アセトアミド	SO3H	H	H	1	NH(COCH3)	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-057c	N-(2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニルメチル) N-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル) アセトアミド	COOH	H	H	1	NH(COCH3)	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IVc-057d	N,N-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニルメチル)アセトアミド	SO3H	H	H	1	NH(COCH3)	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IVc-058a	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	S	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-058b	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	SO3H	H	H	1	S	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-058c	3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	S	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IVc-058d	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸	SO3H	H	H	1	S	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IVc-059a	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	SO2	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-059b	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	SO3H	H	H	1	SO2	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル

【表１１－４】

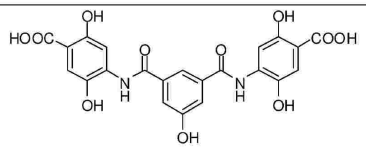
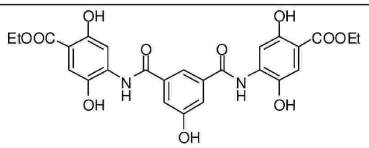
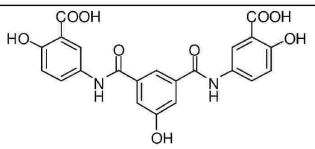
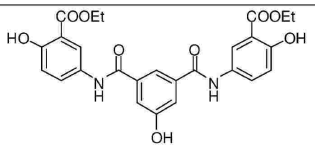
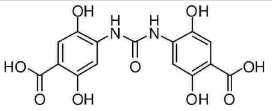
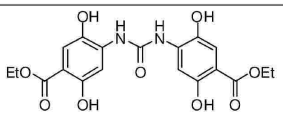
IVc-059c	3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	SO2	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IVc-059d	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸	SO3H	H	H	1	SO2	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IVc-060a	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	O	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-060b	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	SO3H	H	H	1	O	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-060c	3-((2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸	COOH	H	H	1	O	1	2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル
IVc-060d	3-((2,5-ジヒドロキシ-3-スルホフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンゼンスルホン酸	SO3H	H	H	1	O	1	2,5-ジヒドロキシ-4-スルホフェニル
IVc-061a	トリス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン	COOH	H	H	1	$N(CH_2)qR_9$ q = 1: R_9 = 3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル	1	3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル
IVc-059a-E2-A4	メチル 3-((2,5-ジアセトキシ-3-メトキシカルボニルフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジアセトキシベンゾエート	COOMe	Ac	Ac	1	SO2	1	2,5-ジアセトキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル
IVc-059a-E2	メチル 3-((2,5-ジヒドロキシ-3-メトキシカルボニルフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ヒドロキシベンゾエート	COOMe	H	H	1	SO2	1	2,5-ジヒドロキシ-3-(メトキシカルボニル)フェニル
IVc-059a-mpe2	2-モルホリノエチル 3-((2,5-ジヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ヒドロキシベンゾエート	COOR R=2-モルホリノエチル	H	H	1	SO2	1	2,5-ジヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル
IVc-061a-E3	トリス(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン	COOEt	H	H	1	$N(CH_2)qR_9$ q = 1: R_9 = 3-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシ-フェニル	1	3-エトキシカルボニル-2,5-ジヒドロキシフェニル

【００６８】

さらに別の実施形態によれば、本発明は、表12に従う化合物を含む。

【表１２】

表12

化合物 No.	化合物 化学名	構造
V-001a	4-(3-(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニルカルバモイル)-5-ヒドロキシベンズアミド)-2,5-ジヒドロキシ 安息香酸	
V-001a ジエチル エステル	4-(3-(4-(エトキシカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニルカルバモイル)-5-ヒドロキシベンズアミド)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸 エチル エステル	
V-002a	2-ヒドロキシ-5-(3-ヒドロキシ-5-(4-ヒドロキシ-3-カルボキシフェニルカルバモイル)ベンズアミド)安息香酸	
V-002a ジエチル エステル	5-(3-(3-(エトキシカルボニル)-4-ヒドロキシフェニルカルバモイル)-5-ヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ 安息香酸 エチル エステル	
V-003a	4,4'-カルボニルビス(アザンジイル)ビス(2,5-ジヒドロキシ安息香酸)	
V-003a ジエチル エステル	ジエチル 4,4'-カルボニルビス(アザンジイル)ビス(2,5-ジヒドロキシベンゾエート)	

【００６９】

本発明はまた、

工程(a)：フェノール性官能基が保護されたハイドロキノン由来カルボン酸と、多様な官能基を有するアニリンとを、対応するアシルクロリドを介してか、又はNMIの存在下でアミドカップリング剤、例えば、TCFHを用いてカップリングすること；

工程(b)：代表的には鹸化反応により、エステル官能基を脱保護すること；及び

工程(c)：代表的には接触水素化により、フェノール官能基を脱保護すること、

或いは、

工程(d)：フェノール性官能基が保護されたハイドロキノン由来カルボン酸を還元してベンジルアルコールを生成すること、

(e)ベンジルアルコール官能基を活性化し、多様な官能基を有するベンジル求核試薬(アルコール、チオール、第一級又は第二級アミン)で置換すること；

(f)代表的には鹸化反応により、エステル官能基を脱保護すること；及び

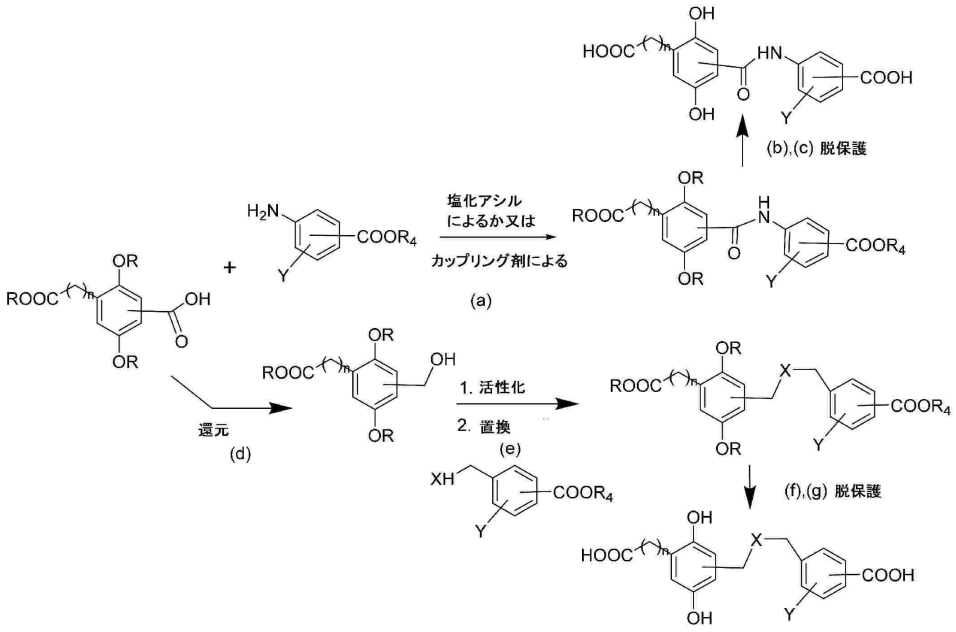
(g)代表的には接触水素化により、フェノール官能基を脱保護すること、

を含む、式(I)のハイドロキノン誘導体化合物の製造プロセスに関する。

【００７０】

当該プロセスを以下に概略的に示す：

【化６】



【００７１】

本発明のハイドロキノン誘導体化合物は、光学活性な形態(立体異性体)、そのE/Z異性体、光学異性体、ラセミ体、ジアステレオ異性体、並びにその水和物及び溶媒和物として存在してもよい。化合物の溶媒和物は、当該化合物の分子と使用する不活性溶媒との間の相互引力によるものである。溶媒和物は、例えば一水和物、二水和物又はアルコラートである。

【００７２】

本発明のハイドロキノン誘導体はまた、薬学的に許容される塩として存在してもよく、ここで、親ハイドロキノン誘導体は、その酸性塩又は塩基性塩を製造することによって改変されている。

【００７３】

薬学的に許容される塩の例としては、とりわけ、塩基性残基（例えば、アミン）の鉱酸塩又は有機酸塩;及び酸性残基(例えば、カルボン酸)のアルカリ塩又は有機塩等が挙げられる。薬学的に許容される塩には、例えば、非毒性の有機酸又は無機酸由来の、化合物の全ての投与経路に適した従来の非毒性塩又は第四級アンモニウム塩が含まれていてもよい。例えば、前記従来の非毒性塩には、無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸等から誘導されるもの；及び有機酸、例えば、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パモ酸、マレイン酸、ヒドロキシ酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル、2-アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンジスルホン酸、シュウ酸、イセチオン酸、トリフルオロ酢酸等から製造される塩が含まれる。

【００７４】

薬学的に許容される塩は、カチオン及びアニオンについて説明されている。「Pharmaceutical salts: A summary on doses of salt formers from the Orange Book. Saal C, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 49, 614-623.」カチオンの例として、アルミニウム、アルギニン、ベンザチン、カルシウム、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、ジエチルアミン、エタノールアミン、エチレンジアミン、リジン、マグネシウム、ヒスチジン、リチウム、メグルミン、カリウム、プロカイン、ナトリウム、トリエチルアミン、亜鉛を挙げることができる。アニオンの例として、酢酸、アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、ベシル酸、炭酸水素、酒石酸水素、臭化物、カンシラート、炭酸、塩化物イオン、クエン酸、デカン酸、エデト酸、エシレー

ト、フマル酸、グルセプト酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヘキサン酸、ヒドロキシナフトエ酸、ヨウ化物、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、リンゴ酸、マレイン酸、マンデル酸、メシル酸、メチル硫酸、ムケート、ナプシレート、硝酸、オクタン酸、オレイン酸、パモ酸、パントテン酸、リン酸、ポリガラクツロ酸、プロピオン酸、サリチル酸、ステアリン酸、酢酸、コハク酸、硫酸、酒石酸、テオクル酸、トシレートを挙げることができる。あるいは、双性イオンを、塩、例えば、カチオン性対イオンとしての遊離アミノ酸アルギニン又はリジンとアニオン性対イオンとしてのグルタミン酸又はアスパラギン酸との塩として使用してもよい。アルギニン又はリジンとの反復単位及びそれらと他の中性アミノ酸との組合せとしての短いペプチド(2～20アミノ酸)。これらのカチオン性細胞透過性ペプチド(CPP)は、薬物の細胞への浸透のためのエンハンサーとして使用してもよい。

【００７５】

本発明において有用な化合物の薬学的に許容される塩は、例えば、従来の化学的手順によって、塩基性部分又は酸性部分を含有する親化合物から合成してもよい。一般に、当該塩は、これらの化合物の遊離酸又は塩基性形態を、化学量論量の適切な塩基又は酸と、水中若しくは有機溶媒中で、又はこれら2つの混合物中で反応させることによって製造することができる。一般に、非水性媒体、例えば、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、又はアセトニトリルが好ましい。Remington’s Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418(その開示内容は参照により本明細書に組み込まれる)において、好適な塩のリストが提示されている。

【００７６】

本明細書において様々な実施形態において記載される、本発明による好適な投薬量は、対象の病的状態、年齢及び種に応じて変化してもよく、当業者によって容易に決定することができる。獣医学及びヒト医学の両方で使用される１日の総投薬量は、好適には0.01～2000mg/kg体重、好ましくは0.1～1000mg/kg体重、好ましくは1～100mg/kgの範囲であり、これらは単一用量又は分割用量として投与してもよく、また、そのことが示唆される場合には、上限を超える可能性がある。そのような投薬量は、投与される特定の化合物、投与経路、処置される病的状態、及び処置される患者を含む、各症例における個々の要件に合わせて調整してもよい。しかしながら、化合物は、デポ剤(植込錠、徐放性製剤等)として、毎週、毎月、又はさらに長い間隔で投与することもできる。このような場合、投薬量は、1日の投薬量よりもはるかに多くてもよく、投与形態、体重、及び具体的な徴候に適合させてもよい。適切な投薬量は、従来のモデル試験、好ましくは動物モデルを行うことによって決定することができる。一般に、体重約70kgの成人への経口又は非経口投与の場合、約10mg～約10.000mg、好ましくは約200mg～約1000mgの1日投薬量が適切であるはずであるが、必要に応じて上限を超えてもよい。上記の治療上有効な投薬量は、単一投与の結果である必要はなく、通常、複数の単位用量の投与の結果であることが理解されるべきである。これらの単位用量は、ひいては、1日又は1週間の投薬量の一部を含むことができ、したがって、治療有効用量は、処置(接触)の期間にわたって決定される。例えば、経口投与の場合、1日用量は、約0.04～約1.0mg/kg体重、より好ましくは約0.04～約0.20mg/kg/日、さらにより好ましくは約0.05～約0.15mg/kg/日、最も好ましくは約0.1mg/kg体重とすることができる。一般に、投与される活性物質の量は、所望の血漿濃度を達成し、好ましくは維持するために、比較的広い範囲にわたって変えることができる。活性成分の単位剤形は、その約0.1ミリグラム～約15ミリグラムを含有することができる。好ましい単位剤形は、約0.1～約1ミリグラムの薬剤を含有し、1日に2～5回投与することができる。しかしながら、上記の血漿濃度を維持するように設計された速度での持続注入のような他の代替経路も企図されることに留意すべきである。特定処置の期間はまた、疾病の重症度、処置が急性症状発現を対象とするのか又は予防目的であるのか、及び同様の考慮すべき事項に応じて変動する可能性がある。代表的な投与期間は、約5日間から約14日間であり、通常、7日間を1クールとしている。

【００７７】

投与のクール(サイクル)は、毎月の間隔で繰り返すこともでき、又は、非経口単位投薬量は、毎週の間隔で送達することができる。経口単位投薬量は、決定した治療有効用量を提供するために、1日から数日の間隔で投与することができる。本発明の化合物の適切な投薬量は、処置される疾病のタイプ、疾病の重症度及び経過、薬剤が予防目的又は治療目的のいずれで投与されるのか、患者の病歴、及び化合物に対する応答、並びに担当医師の基準に依存する。適切な用量又は投与経路の決定は、明らかに現職医師の能力の範囲内である。動物実験は、ヒト治療のための有効用量の決定のための信頼できる指針を提供する。有効用量の種間スケーリングは、Mordenti, J.及びChappell, W. "The use of interspecies scaling in toxicokinetics", in Toxicokinetics and New Drug Development, editors Yacobiら, Pergamon Press, New York, 1989, pp. 42-96によって確立された原理に従って実施することができる。

【００７８】

本発明はさらに、(i)治療有効量の式(I)のハイドロキノン誘導体化合物又はその薬学的に許容される塩、若しくはプロドラッグ、若しくは立体異性体、及び(ii)薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【００７９】

本発明による医薬賦形剤は、従来の賦形剤、例えば、これに限定されないが、可溶化剤、結合剤、充填剤、崩壊剤、滑沢剤、pH調整剤、透過促進剤、放出調整剤、保存剤、コーティング剤、担体、矯味剤及びそれらの組合せからなる群より選択してもよい。

【００８０】

1又は２以上の医薬成分を含む本発明の化合物の医薬組成物は、液体医薬品、固体又は半固体医薬品、及び/又は気体医薬品として該賦形剤と共に製剤化してもよい。

【００８１】

それらが固体製剤中に存在する場合、固体製剤としては、顆粒、ペレット、錠剤、カプセル、散剤、フィルム、ロゼンジ(lozenge)、破砕性錠剤、溶解性錠剤、崩壊性錠剤、分散性錠剤、フィルムコート錠、及び上述の固体形式のいずれかの制御放出、持続放出、延長放出、又は修飾放出(modified release)形式が挙げられるが、これらに限定されない。そのような製剤は、速放型放出、遅延型放出、又は修飾放出の形態であってもよい。さらに、速放型放出組成物は、従来の、分散性製剤、咀嚼可能製剤、口で溶解する製剤又はフラッシュメルト(flash melt)製剤であって、且つ、マトリックス若しくはリザーバー又はマトリックス及びリザーバー系の組合せを形成するための親水性若しくは疎水性の放出速度制御物質、又は親水性及び疎水性の放出速度制御物質の組合せを含み得る修飾放出組成物であってもよい。

【００８２】

当該組成物は、直接混合、乾式造粒、湿式造粒、均質化、粉砕、微粒子化、押出及び球形化等の技術のいずれか１又は２以上を使用して製造してもよい。組成物は、コーティングされていないもの、フィルムコーティングされたもの、糖衣のもの、パウダーコーティングされた(powder coated)もの、腸溶性のもの、及び修飾放出コーティングされた(modified release coated)ものとして提示してもよい。それらが液体製剤で存在する場合、液体製剤としては、任意の液体形態、例えば、溶液、懸濁物、ナノ懸濁物、分散液、コロイド、エマルジョン、ローション、クリーム、軟膏、チンキ、及び凍結乾燥組成物が挙げられるが、これらに限定されない。それらが気体製剤で存在する場合、気体製剤としては、粉砕粉末若しくはブレンド、微粉化粉末若しくはブレンド、ナノ懸濁物、エアロゾル、スプレー、液滴、ミスト、噴霧溶液(nebulised solution)、又は懸濁物、及び/又は霧化(atomized)蒸気が挙げられるが、これらに限定されない。

【００８３】

本発明による医薬組成物は、必要に応じて、任意の添加剤、例えば、ビヒクル、結合剤、香料、香味料、甘味料、着色剤、防腐剤、抗酸化剤、安定化剤、及び界面活性剤をさらに含んでいてもよい。

【００８４】

本発明による医薬組成物及び化合物は、経腸経路、例えば、経口経路；注射、例えば、静脈内、皮下、眼内、筋肉内、又は腹腔内注射による非経口経路；局所経路、例えば、舌下/頬側経路を含む眼経路、粘膜及び経粘膜経路；及び肺、鼻、鼻腔内、気管支内、肺内経路による投与のために製剤化されていてもよい。眼投与経路には、局所眼投与、眼内、硝子体内、又は球後投与が含まれる。

【００８５】

本発明による化合物の好ましい製剤には、液体経口製剤、眼科用製剤、並びに静脈内及び腹腔内製剤が含まれる。

【００８６】

液体経口製剤は溶液であり、経口薬投与のための懸濁物形式は一般的で、便利であり、安全であると考えられている。それらは、比較的大量の薬物を送達するために使用することができ、小児集団及び錠剤又はカプセルを飲み込むことが困難な人々に頻繁に使用されている。消化管を介した導入は、迅速な溶解及び薬物吸収をもたらすが、忍容性及び消化管における他の物質との相互作用を考慮しなければならない。有効活性成分(API)の特性は、単純な水性ベースの経口溶液で製剤化するのに向いている可能性があるが、APIが難溶性である場合、製剤は、溶解度及びバイオアベイラビリティを増強するために、その分子を中核として設計する必要がある。界面活性剤、溶媒、緩衝剤、及び油の導入は、溶解度を増大させ、胃液との相互作用による沈殿及び/又は分解を低減させる。懸濁物が必要とされる場合、粒径をしばしば低減し、薬物溶解度、浸透及び最終的には薬物吸収を増強するように制御する。製剤開発が進むにつれて、保存剤及び香味を導入して、患者への適合性及び貯蔵寿命の妥当性を有効にする。

【００８７】

眼科用製剤は、眼に直接送達される点眼用製剤であり、溶液又は懸濁物形式の液体であることが多い。眼への投与は、消化管による代謝を回避し、経口投与では吸収されにくい薬物に使用することができる。点眼液は無菌であり、眼の刺激を回避するために4～8の公称(nominal)pHで等張である。可溶化剤、キレート剤、ポリマー、界面活性剤、透過促進剤及びシクロデキストリンを含む賦形剤を製剤に添加して、安定性を改善するか、粘度を改変するか、又は難溶性薬物の溶解度、透過性及びバイオアベイラビリティを増大させる。

【００８８】

静脈内製剤は、全用量の薬物を非経口的に送達した後、迅速に吸収させて即時応答のために患者の全身に到達することを可能にする。この導入様式は、消化管による代謝を回避し、経口投与では吸収されにくい薬物に使用することができる。注射剤は、代表的には無菌の等張水性溶液であり、投与時に疼痛を誘発しないように設計されている。難溶性薬物については、製剤は、有機共溶媒、界面活性剤、及び緩衝剤で改変して、溶解度を増大させ、ナノ懸濁物製剤もまた許容される。溶液中で不安定な分子については、使用時に希釈するために製剤を凍結乾燥することができる。

【００８９】

本発明はまた、治療有効用量の１又は２以上の本発明の化合物又はその製剤を含む組成物、及び前記組成物又は製剤の投与のための送達デバイスを含み、使用のためのマニュアル指示を組み込んだ添付文書をさらに含むキットを提供する。

【００９０】

本医薬組成物を製造するために、本発明による活性成分を、従来の医薬調剤技術に従って、薬学的に許容される担体、アジュバント及び/又は賦形剤と混合してもよい。本組成物において使用することができる薬学的に受容される担体は、任意の標準的な医薬担体、例えば、リン酸緩衝食塩水、水、及びエマルジョン、例えば、油/水エマルジョン又は水/油エマルジョン、並びに種々のタイプの湿潤剤を包含する。組成物は、固体医薬賦形剤、例えば、デンプン、セルロース、タルク、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク等をさらに含有することができる。液体及び半固体賦形剤は、グリセロール、プロピレングリコ

ール、ポリエチレングリコール、水、エタノール、及び種々の油（石油、動物、植物又は合成由来の油、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱物油、ゴマ油等を含む)から選択してもよい。液体担体、特に注射用溶液のための液体担体としては、水、生理食塩水、デキストロース水、及びグリコールが挙げられる。担体、安定剤、及びアジュバントの例については、Remington's Pharmaceutical Sciences, edited by E. W. Martin (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990)を参照されたい。

【００９１】

組成物はまた、安定剤及び保存剤を含むことができる。本組成物において使用してもよい薬学的に許容される溶媒の例は、参考書籍、例えば、Handbook of Pharmaceutical Excipients (Ninth Edition, Pharmaceutical Press, London and American Pharmacists Association, Washington, 2020), Aulton's Pharmaceutics, The Design and Manufacture of Medicines. (第５版、編集者：Kevin Taylor及びMichael Aulton, Elsevier, 2017)," Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6th Ed." (various editors, 1989-1998, Marcel Dekker)及び" Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems" (ANSELら，1994及び2011, WILLIAMS & WILKINS)において見出され得る。本組成物において使用してもよい薬学的に許容される溶媒の非限定的な例としては、プロピレングリコール（1,2-ジヒドロキシプロパン、2-ヒドロキシプロパノール、メチルエチレングリコール、メチルグリコール又はプロパン-1,2-ジオールとしても知られている）、エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、グリセロール、ポリエチレングリコール(PEG)、グリコール、クレモフォール EL(Cremophor EL)又は任意の形態のポリエトキシ化ヒマシ油、ジプロピレングリコール、ジメチルイソソルビド、プロピレンカーボネート、N-メチルピロリドン、グリコフロール、テトラエチレングリコール、プロピレングリコール脂肪酸エステル、及びこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。

【００９２】

本発明による化合物は、抗線維化効果、抗炎症効果及び抗血管新生効果を示した。以下に列挙したいくつかの疾病は、1つだけでなく2つ、又はそれどころか3つの標的に関与している。優勢血管新生(血管)の、炎症性の及び/又は線維化の病態を示す疾病カテゴリー。

いくつかの実施形態では、本発明は、本発明による化合物のプロドラッグに関する。このようなプロドラッグの利点は、当業者に公知の方法によって、例えば、非経口送達又は経口送達のために、例えば、より良好な水溶解度を生じさせる、適切な切断可能な官能基を付加することによって得られる。

【００９３】

極性が高く荷電特性を示す本発明の分子のプロドラッグは、これらの官能基が生体膜を横切る受動的透過性に積極的に影響を与え得るので、特に好ましい。極性薬物及び荷電薬物の主な障害は、それらの膜透過性が乏しいことであり、これはしばしば、経口吸収率が低く且つ変わりやすいことと、経口バイオアベイラビリティが低いこととにつながる。さらに、極性薬物及び荷電薬物の経口吸収は、しばしば、実質的な種間変動性と関連付けられている。透過性に乏しい薬物はまた、局所投与後でさえ、特定の標的器官において曝露レベルが低い。膜透過性の改善は、これまでのプロドラッグ研究の中で最も実りある領域の1つであった。

本発明による薬物が、眼への局所経路バリア、口腔粘膜バリア、トランスポーター効果又は他の局所使用を克服するために、異なるプロドラッグ戦略が開発されてきた。

【００９４】

プロドラッグ戦略は、1958年にAdrian Albertによって正式に認識されたが(Albert, A. Chemical aspects of selective toxicity. Nature, 1958, 182, 421-422)、メテナミン、フェナセチン及びプロントジルに例示されるように、前世紀初頭に始まっていた。プロドラッグは、薬理活性が殆ど又は全くない分子であるが、偶然によるか又は設計によるかに関係なく、インビボで活性薬物への生物変換を可能にする組み込まれた構造的不安定性を有する。当該変換は、化学的プロセス若しくは酵素的プロセス又はこの2つの組

合せによって起こり得る。活性分子は、適切な生物学的標的への送達に大きな課題を伴う、望ましくない物理化学的性質に関連付けられることが多い。

【００９５】

薬物の構造的修飾を介して得られるプロドラッグは、分子の固有の物理化学的性質に影響を与えてその送達を可能にするように設計されている。これらの事情は、創薬段階での新しい分子の設計に必ずしも統合されていない。多くの場合、アナログ的な最適化が今後の好ましい方向性(path forward)である。初期のプロドラッグ戦略を実施することは、より迅速な臨床開発及び最終的には薬物製品の商業化をもたらし得る。

親薬物の最も一般的な官能基についてのプロドラッグ戦略は、Rautio J, 2018 (Jarkko Rautioら，Nature Reviews Drug Discovery, 2018, 17, 559-587)に記載されている。この総説では、現代の医薬品設計・開発におけるプロドラッグの拡大する役割と、親薬剤の最も一般的な官能基についてのプロドラッグ戦略が記載されている。

【００９６】

プロドラッグの利点は、非経口送達又は経口送達のために、例えば、より良好な水溶解度を生じさせる、適切な切断可能な官能基を付加することによって得られる。一方、極性が高く且つ荷電した分子については、これらの官能基は、生体膜を横切る受動的透過性に明確に影響を与え得る。極性薬物及び荷電薬物の主な障害は、それらの膜透過性が乏しいことであり、これはしばしば、経口吸収率が低く且つ変わりやすいことと、経口バイオアベイラビリティが低いこととにつながる。

【００９７】

さらに、極性薬物及び荷電薬物の経口吸収は、しばしば、実質的な種間変動性と関連付けられている。透過性に乏しい薬物はまた、局所投与後でさえ、特定の標的器官において曝露レベルが低い。膜透過性の改善は、これまでのプロドラッグ研究の中で最も実りある領域の1つであった。多くのプロドラッグ戦略を適用して、親薬物の親油性に影響を与えることができる。薬物の親油性は、短鎖炭化水素プロ部分によってその極性及びイオン化官能性をマスキングすることによって改善されてきた。親水性のヒドロキシル基、カルボキシル基、リン酸基又はアミン基、及びその他負又は正の電荷を持つ基は、より親油性のアルキル若しくはアリールエステル又はN-アシル誘導体に変換することに成功したが、これらはユビキタスなエステラーゼ又はペプチダーゼによって体内で迅速に親薬物に加水分解されて戻る。

【００９８】

親油性プロドラッグの大多数は、膜透過性および経口吸収を改善するために開発されてきた。同じプロドラッグ戦略を適用して、皮膚又は眼を通して吸収される親薬物の局所投与を改善することができる。眼への局所投与中に、プロドラッグは、点眼後に角膜に容易に浸透し、そこで主に眼カルボキシルエステラーゼによって加水分解される。

プロドラッグはまた、担体輸送を利用することができる。これらのトランスポーターは、極めて重要な極性の内在性栄養素の摂取及び流出を制御する際に重要な役割を果たす膜タンパク質である。それらの特異性は内在性物質に限定されず、内在性物質に密接な構造的類似性を有する薬物もまた、トランスポーターによって細胞膜を横切って運搬される可能性がある。担体輸送は、極性薬物及び荷電薬物にとって特に重要である。なぜなら、それらは、生体膜を横切る受動拡散が無視できるほど小さいからである。担体輸送機構を利用することができるプロドラッグは、薬物設計において興味深い標的を提供する。同様に、プロドラッグは、改善された代謝安定性をもたらすことができる。

【００９９】

プロドラッグは、代表的には肝代謝に起因する代謝不安定性を改善することができる。同様に、薬物の望まれない腸代謝は、選択的プロドラッグ戦略によって克服することができる。この不安定性は、体循環及びその標的に到達する薬物の総量を大幅に低下させる可能性がある。プロドラッグは、代謝的に不安定であるが薬理学的に必須の官能基、例えば、フェノールをマスクして急速な代謝を回避することによって、この初回通過効果から活性薬物を保護するために使用することができる。

【０１００】
不十分な血漿レベルの問題を解決し、作用の持続時間を延長するために、薬物は通常、薬物放出を制御し、ピーク効果を回避し、それらの作用を延長する製剤、例えば、懸濁物及び高分子マトリックスによって制御される。プロドラッグは、活性薬物の放出率、吸収率又はその組織分布に影響を及ぼすように、その水溶解度及び溶解特性を改変することによって、活性薬物の制御放出を達成するために使用することができる。
【０１０１】
プロドラッグは、親薬物の治療的な血漿レベルを数週間から数ヶ月間維持する、いくつかの皮下又は筋肉内の持続放出デポ注射剤の開発において特に有用である。これらのプロドラッグは、代表的には脂肪酸エステル、例えば、デカノエート、パルミテート、エナンセート、シピオネート又は吉草酸エステルであり、これらはオイルベースのビヒクルに製剤化されており、プロドラッグの徐放をもたらし、したがって親薬物の動態をモジュレートする。これらのプロドラッグは親油性が高いため、血液及び組織タンパク質と結合し、酵素的変換が遅くなり、その結果、体循環において活性薬物がゆっくりと現れることになる。
【０１０２】
より優れたターゲティング及び低い副作用は、酸に不安定なプロドラッグを用いた、腫瘍組織の酸性環境、エンドソーム又はリソソームにおいて切断されるプロドラッグターゲティングにより達成されることが多い。同様のアプローチはまた、部位特異的酵素を使用して達成され、プロドラッグは、酵素が最高濃度である所望の器官又は組織において優勢に切断される。荷電薬物に関しては、細胞内で切断されることにより、負又は正に荷電した薬物の細胞内濃度が高くなり、標的細胞に留まることになる。
【０１０３】
本発明による薬物が、眼への局所経路バリア、口腔粘膜バリア、トランスポーター効果又は他の局所使用を克服するために、異なるプロドラッグ戦略が開発されてきた。
本発明による薬物は、荷電極性基を有する。決解すべき問題は、投与経路及び長期又は短期の薬物作用の必要性に依存する。マウス及びヒトの組織及び血液エステラーゼによって切断されるプロドラッグの合成に成功した例がある。
【０１０４】
本発明の化合物は、カルボン酸官能基及びフェノール基を担持する。これらの官能基から誘導される多種多様なプロドラッグを考慮することができる；例えば、カルボン酸は最も頻繁にエステルに変換されている：単純なアルキルエステル(メチル、エチル、イソプロピル及びより長鎖)、官能化アルキルエステル、例えば、モルホリノアルキルエステル、ピロリジノアルキルエステル、N-メチルピペラジノ-アルキルエステル、また、アリールエステル、例えば、グアイアコール誘導エステル；混合アセタールエステル、例えば、アシルオキシメチル(又は1-エチル)又はアルコキシカルボニルオキシメチル(又は1-エチル)エステルおよび(オキソジオキソリル)メチルエステルも、カルボン酸の効率的なプロドラッグ官能基である。多様なエステル及び官能化エーテルが、以下のフェノールに基づくプロドラッグとして使用されてきた：単純な脂肪族エステル、芳香族エステル、ジカルボン酸のヘミエステル、アミノ酸エステル、カルバメートエステル、リン酸モノエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、アシルオキシメチル(又は1-エチル)エーテル、アルコキシカルボニルオキシメチル(又は1-エチル)エーテル、アミノアシルオキシメチルエーテル等。
【０１０５】
したがって、本発明は、治療有効用量の上記の本発明の化合物及び/又は医薬組成物を必要とする対象に投与することを含む、自己免疫疾患、免疫疾患、リウマチ疾患、血管疾患、眼科疾患、線維性疾患、代謝及び胃腸疾患、神経炎症性及び神経変性疾患、新生物及び癌関連疾患、ホルモン関連疾患、並びにウイルス及び細菌感染症に起因する免疫疾患、並びにそれらの合併症の疾病又は疾患を処置及び/又は予防する方法を提供する。
本発明による医薬組成物及び方法は、ヒト又は非ヒト動物対象である対象に特に好適である。

【０１０６】

本発明による化合物は、いくつかの化合物について提供されるバイオデータに記載されているように、その個々のサイトカインプロファイルに基づいて疾病をターゲティングしてもよい(図3A～D参照)。以下のWebサイトOpen Targets Platform(URL: https://www.targetvalidation.org/, Denise Carvalhoら, Nucleic Acids Research, Volume 47, Issue D1, 08 January 2019, D1056-D1065, https://doi.org/10.1093/nar/gky1133)では、現在の書誌情報に基づく全貌がわかり、疾病やサイトカインで検索が可能である。

【０１０７】

2つの代表的な例がある：(A)糖尿病性網膜症の疾病別検索では、当該疾病と相関の高い以下のサイトカインが記述されている（図3C）。3つの上位サイトカインは、糖尿病性網膜症検索の例として、VEGFAスコア=1(血管内皮増殖因子A)、HFEスコア=1(恒常性鉄制御因子)及びTNFスコア=0.86(腫瘍壊死因子)を示し、(b)図3Dに示される神経系疾患、血管疾患、眼疾患、網膜症及びいくつかの他の疾病につながるVEGFAを検索する。

炎症性サイトカインの小グループに対する化合物の能力を説明するために、化合物の効果をヒト全血(実施例3.6)及びLPS誘発炎症の阻害に対するそれらのIC50値(表13、μM単位)について評価した。

【０１０８】

【表１３】

表13：

化合物	GM-CSF	IFN-	IL-1b	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-9	IL-10	IL-12p70	IL-13	IL-17A	IL-17F	IL-18	IL-21	IL-33	TGFbeta	TNF-	TNF-
Ia-001a	100	30.5	34.4	94.3	100	100	1.24	5.63	100	1.5	26.4	0.1	14.7	100	100	19.3	100	0.02	13.20
Ia-001a-Tz	100	100	100	7.99	100	100	0.75	8.63	26.1	32.4	32.1	0.11	46.5	100	100	23.6	100	0.63	53.00
Ia-001a-Tz/004a	3.4	0.61	100	4.91	100	100	3.04	8.48	19.5	12.2	1.5	0.02	2.4	46.6	0.3	1.67	100	0.002	3.02
Ic-001a-Tz2	100	1.38	100	9.45	100	100	0.52	9.13	100	29.1	0.12	0.31	0.15	33.9	32	0.23	100	0.1	0.41
Ia-001c	100	0.44	100	12.8	100	100	0.95	46.9	1.9	0.44	86.1	0.09	89.7	100	100	100	100	0.05	29.70
Ia-003a-Tz	100	2.95	100	43	100	100	1.41	3.62	6.94	1.26	89.6	0.07	83.9	100	1.49	72.2	100	0.18	55.00
Ic-007a	100	1.44	100	100	100	100	0.09	27.1	12.5	0.49	30.1	0.04	22.9	100	1.9	18.4	100	0.27	6.52
Ib-010a	100	2.22	33.3	2.74	100	100	1.02	11.58	100	0.27	100	0.42	100	100	67.8	31.3	100	0.31	49.30
Ib-010a-E3	100	2.79	100	36.2	100	100	0.24	26.8	100	0.84	33	0.52	34.2	100	100	20	100	0.98	38.20
Ia-015a	2.76	100	100	7.08	100	100	0.77	1.47	5.27	0.12	0.15	0.05	0.15	100	57.2	0.24	100	0.17	0.30
IIc-007a	26	0.11	100	12.8	100	100	0.05	2.14	17.9	3.37	0.25	0.01	0.26	100	9.41	0.18	100	0.03	0.29
IIc-009a	100	0.54	100	19.6	100	100	0.27	18.9	11.31	100	0.13	0.001	0.13	2.95	8.01	0.29	100	0.11	6.94
IIa-053a	100	1.04	100	1.67	100	100	2.2	1.41	100	0.27	29.9	100	28.8	100	100	12.1	100	0.02	91.50
IIIa-001aTz	100	18.9	100	100	100	100	1.98	3.01	7.78	0.48	0.15	0.17	0.16	27.7	3	0.14	100	0.31	0.23
IIIa-013a	27.8	0.15	100	57.1	100	100	3.55	11.9	37.3	0.5	0.37	0.15	0.41	100	1.63	1.11	100	0.51	0.89
IIIc-057a	100	0.9	16.2	24.2	100	100	0.19	11.1	100	0.73	4.73	1.32	5.06	100	1.56	2.93	100	0.15	1.58
IIIc-061a	31.2	2.48	100	100	100	100	0.18	8.85	17.9	37.2	0.31	0.04	0.32	32.4	6.38	0.31	100	0.03	0.81
IVc-058a	100	10.6	27.5	3.82	100	100	0.21	31.1	16.4	4.23	55.9	0.1	86.8	100	3.2	33.9	100	0.18	59.30
IVc-059a	100	4.34	38.6	21.2	100	100	0.11	0.4	1.31	42	100	0.16	100	100	1.87	27.5	100	0.16	0.33
IVc-059a-E2-A4	1.83	3.5	14.1	10.4	100	100	0.99	2.9	16.8	51.4	18.7	0.02	25.8	100	100	23.2	100	0.3	19.40

【０１０９】

免疫/リウマチ/血管疾患には、例えば、腹膜炎、川崎病(KD)、高安動脈炎(TA)、顕微鏡的多発血管炎(MP)、側頭動脈炎(GCA)、抗リン脂質抗体症候群(APS)、ベーチェット病(B

D)、多発血管炎性肉芽腫症(GPA)又はウェゲナー肉芽腫症(WG)、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、チャーグ・ストラウス症候群(EGPA)、及び酒さ(RO)が含まれていてもよい。

リウマチ性疾患は、特に、疼痛、運動の喪失、及び炎症を伴って関節、腱、靭帯、及び骨に症状が出る。これらには、多くのタイプの関節炎、例えば、骨関節症(OA)、関節リウマチ(RA)、狼瘡、脊椎関節症：強直性脊椎炎(AS)及び乾癬性関節炎(PsA)、シェーグレン症候群、通風、強皮症、感染性関節炎、若年性特発性関節炎、リウマチ性多発筋痛が含まれる。

【０１１０】

腹膜炎は、通常、細菌感染又は真菌感染による腹膜の炎症である。腹膜炎には2つのタイプがある。第1のタイプは、硬変等の肝疾患又は腎疾患の合併症として発症し得る自発性腹膜炎である。続発性腹膜炎は、腹部穿孔から、又は他の医学的病的状態の合併症として生じ得る。腹膜炎を処置せず放置すると、重篤な、ともすれば生命を脅かす感染症につながる可能性がある。

川崎病は、全身の中型動脈の壁に炎症を引き起こす。これは主に小児に発症する。当該炎症は、心筋に血液を供給する冠動脈に影響を及ぼす傾向がある。川崎病は、感染中に膨張するリンパ節、皮膚、並びに口、鼻及び咽喉の内側の粘膜にも症状が出るため、皮膚粘膜リンパ節症候群と呼ばれることがある。

【０１１１】

高安動脈炎は、稀なタイプの血管炎であり、血管の炎症を引き起こす疾患群である。高安動脈炎では、大動脈及びその主枝に損傷を与える。当該疾病は、動脈の狭窄若しくは閉塞、又は動脈瘤につながる可能性がある。高安動脈炎はまた、腕又は胸の疼痛、高血圧、及び最終的には心不全又は卒中につながる可能性がある。薬物療法は、動脈における炎症を制御し、合併症を予防するために必要とされる。

多発血管炎性肉芽腫症は、鼻、副鼻腔、咽喉、肺及び腎臓における血管の炎症を引き起こす珍しい疾患である。以前はウェゲナー肉芽腫症と呼ばれていたこの病的状態は、血管炎と呼ばれる血管疾患群の1つである。それは、一部の器官への血流を悪くする。罹患した組織は、肉芽腫と呼ばれる炎症領域に発展する可能性があり、これらの器官がどのように機能するかに影響を及ぼす可能性がある。処置なしでは、この病的状態は死に至る可能性がある。

【０１１２】

薬物療法

側頭動脈炎は、動脈の内層の炎症である。ほとんどの場合、それは頭部の動脈、特にこめかみに症状が出る。このため、側頭動脈炎は、巨細胞動脈炎と呼ばれることもある。側頭動脈炎はしばしば頭痛、頭皮圧痛、顎痛及び視力の問題を引き起こす。処置しないと、失明に至る可能性がある。

抗リン脂質抗体症候群は、血を凝固させやすくする抗体を免疫系が誤って生成する場合に起こる。これは、脚、腎臓、肺及び脳において危険な血液凝固を引き起こす可能性がある。妊婦において、抗リン脂質抗体症候群はまた、流産及び死産を招く可能性がある。抗リン脂質抗体症候群の治療法はない。利用可能な薬物療法のみが、血液凝固のリスクを低減することができる。

【０１１３】

ベーチェット病は、ベーチェット症候群とも呼ばれ、血管炎症を引き起こす稀な疾患である。当該疾病は、最初は無関係と思われ得る多数の徴候及び症状につながる可能性がある。それらには、口の糜爛、眼炎、皮膚の発疹及び病変、並びに性器の糜爛が含まれる可能性がある。現在の処置は、ベーチェット病の症状を軽減し、重篤な合併症、例えば、失明を予防するのに役立ち得る。

チャーグ・ストラウス症候群は、血管炎症を特徴とする疾患である。この炎症は、器官及び組織への血流を制限する可能性があり、それらに永久的な損傷を与えることもある。この病的状態は、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症(EGPA)としても知られている。気管支喘息は、チャーグ・ストラウス症候群の最も一般的な徴候である。当該疾患はまた、他の問

題、例えば、花粉症、発疹、胃腸出血、並びに手及び足の疼痛及び知覚減退を引き起こす可能性がある。チャーグ・ストラウス症候群には治療法がない。現在の薬物療法には、症状の制御を助けるためのステロイド及び他の強力な免疫抑制薬が含まれる。

【０１１４】

酒さは、顔において発赤を引き起こし、血管が見えるようになる一般的な皮膚の病的状態である。それはまた、小さな、赤い、膿で満たされたこぶを生成し得る。これらの徴候及び症状は数週間から数ヶ月にわたって再燃し、その後しばらくの間消失し得る。酒さは、ざ瘡、他の皮膚トラブル又は自然な赤みと間違えられる可能性がある。酒さの治療法はないが、処置により徴候及び症状が制御及び軽減することができる。骨関節症は、関節炎の最も一般的な形態であり、世界中で何百万人もの人々に発症している。それは、保護軟骨が時間とともにすり減るときに起こる。骨関節症は任意の関節を損傷する可能性があるが、当該疾患は、最も一般的には、手、膝、股関節及び脊椎の関節に症状が出る。骨関節症は、関節への損傷を元に戻すことはできないが、通常症状を管理することができる。

狼瘡は自己免疫疾患である。それは、免疫系に自己抗体と呼ばれるタンパク質を産生させ、それが腎臓を含む自己の組織及び器官を攻撃する。ループス腎炎は、全身性エリテマトーデス(一般に狼瘡として知られている)を有する人々において頻繁に起こる合併症である。ループス腎炎は、狼瘡自己抗体が腎臓の構造に影響を及ぼす場合に起こる。これは、腎臓の炎症を引き起こし、尿中の血液、尿中のタンパク質、高血圧、腎機能障害、又はさらには腎不全につながり得る。

【０１１５】

強皮症は、皮膚及び結合組織の硬結及び引き締めを伴う稀な疾病群である。多くの異なるタイプの強皮症が存在する。一部の人々では、強皮症は皮膚のみに発症する。しかし、多くの人々において、強皮症はまた、皮膚を超えた構造、例えば、血管、内臓及び消化管を害し(全身性強皮症)、強皮症には治療法がない。

シェーグレン症候群は、ドライアイ及びドライマウスという最も一般的な症状によって同定される免疫系の疾患である。この状態は、しばしば、他の免疫系障害、例えば、関節リウマチ及び狼瘡を伴う。シェーグレン症候群では、眼及び口の粘膜及び水分分泌腺が通常最初に影響を受け、涙及び唾液の減少をもたらす。

【０１１６】

感染性又は敗血性関節炎は、身体の別の部分から血流を通って移動する病原菌に由来する可能性のある関節における有痛性感染症である。敗血性関節炎はまた、穿通性損傷、例えば、動物の咬創又は外傷が病原菌を関節に直接送達する場合にも起こる可能性がある。人工関節を使用している人々もまた敗血症性関節炎のリスクがある。膝が最も一般的に影響を受けるが、敗血性関節炎は股関節、肩及び他の関節にも影響を及ぼす可能性がある。当該感染症は、関節内の軟骨及び骨を急速かつ重度に損傷する可能性があるので、迅速な処置が極めて重要である。

以前は若年性関節リウマチとして知られていた若年性特発性関節炎は、16歳未満の小児における最も一般的なタイプの関節炎である。若年性特発性関節炎は、持続性の関節痛、腫脹及び硬直を引き起こす可能性がある。数ヶ月間しか症状を経験しない小児もいれば、何年間も症状が続く小児もいる。いくつかのタイプの若年性特発性関節炎は、重篤な合併症、例えば、成長問題、関節損傷、及び眼炎を引き起こす可能性がある。

【０１１７】

リウマチ性多発筋痛は、特に肩及び臀部における筋肉の疼痛及び硬直を引き起こす炎症性疾患である。リウマチ性多発筋痛の徴候及び症状は、通常、急速に始まり、朝に悪化する。リウマチ性多発筋痛にかかるほとんどの人は65歳より高齢である。この病的状態は、側頭動脈炎と呼ばれる別の炎症性の病的状態に関連する。

眼科疾患としては、例えば、加齢黄斑変性(ＡＭＤ又はＡＲＭＤ、萎縮型及び滲出型)、翼状片(ＰＴＥ)、糖尿病性網膜症(ＤＲ)、糖尿病性黄斑浮腫(ＤＭＥ)、シュタルガルト病(ＳＤ)、増殖硝子体網膜症(ＰＶＲ)、ドライアイ症候群(ＤＹＳ)、眼内炎、中心性漿液性網膜症(ＣＳＣ)、網膜色素変性症(ＲＰ)、緑内障及び緑内障関連合併症、並びにぶどう膜炎(ＵＶＥ)が挙げられるが

、これらに限定されない。

【０１１８】

滲出型黄斑変性症は、視野における霧視又は盲点を引き起こす慢性眼疾患である。それは一般に、異常な血管が黄斑内に体液又は血液を漏出させることによって引き起こされる。黄斑は、網膜の中心視力を担う部分にある。滲出型黄斑変性症は、2つのタイプの加齢黄斑変性症のうちの1つである。湿性タイプは常に乾性タイプとして始まる。萎縮型黄斑変性症、より一般的であり、重症度が低い。それはまた、黄斑の菲薄化に起因して、中心視力のぼやけ又は低下を引き起こす。萎縮型黄斑変性症は、最初に片眼又は両眼に発症し、次いで両眼を冒し得る。視力喪失は、代表的には中心性であるが、周辺視において保持される。

糖尿病性網膜症は、眼に症状が出る糖尿病合併症である。それは、網膜の血管への損傷によって引き起こされる。糖尿病性網膜症は、初期には症状がないか、又は軽度の視力障害しか引き起こさないかもしれない。最終的にはそれは失明を引き起こす可能性がある。この病的状態は、1型又は2型糖尿病の任意の人において現われる可能性がある。ＤＭＥは、微細動脈瘤が血管壁から突出する場合に起こる重篤な眼の合併症であり、体液及び血液を網膜に漏出又は滲出させ、それによって黄斑に浮腫を引き起こす。

【０１１９】

シュタルガルト病は、小児及び若年成人において視力喪失を引き起こす眼疾患である。それは遺伝性疾患であり、よって親から子へと受け継がれる。シュタルガルト病は黄斑変性症の一形態であり、しばしば若年性黄斑変性症と呼ばれる。

ＰＶＲは、裂孔原性網膜剥離の合併症として発症する疾病である。ＰＶＲは、一次網膜剥離手術を受けている患者の約8～10％に生じ、裂孔原性網膜剥離の外科的修復の成功を妨げる。ＰＶＲは、剥離した網膜を再付着させる手術で処置することができるが、手術の視力転帰は非常に悪い。

【０１２０】

ドライアイ疾患は、涙液が眼の十分な潤滑を提供することができない場合に生じる一般的な病的状態である。涙液は、多くの理由で不十分且つ不安定である可能性がある。例えば、ドライアイは、十分な涙液を産生しない場合、又は質の悪い涙液を産生する場合に起こり得る。このように涙が不安定になると、眼の表面に炎症が起き及び損傷を受けることになる。

眼内炎は、眼の注射又は手術後に起こり得る眼の内側の炎症である。徴候は、代表的には、霧視若しくは視力の他の変化、眼痛、眼の発赤、光に対する眼の感受性、又は流涙である。

【０１２１】

網膜色素変性症(ＲＰ)は、眼の後部を裏打ちする光感受性組織である網膜における細胞の崩壊及び喪失を伴う稀な遺伝性障害の群である。一般的な症状としては、夜間に見ることが困難であること、及び側方(周辺)視力の喪失が挙げられる。

緑内障は、視神経を損傷する眼の病的状態の一群であり、視神経の健康は良好な視力にとって極めて重要である。この損傷はしばしば、異常に高い眼圧によって引き起こされる。緑内障は、60歳を超える人々の失明の代表的な原因の1つである。それは任意の年齢で起こる可能性があるが、高齢者においてより一般的である。緑内障の多くの形態は、警告徴候を有さない。この効果は、病的状態が進行した段階になるまで視力の変化を伴わず、漸進的である。

ぶどう膜炎は、眼炎の一形態である。それは、眼壁又はぶどう膜における組織の中間層に症状が出る。ぶどう膜炎の警告徴候、しばしば突然現れ、急速に悪化する。それらには、眼の発赤、疼痛、及び霧視が含まれる。ぶどう膜炎の考えられる原因は、感染症、損傷、又は自己免疫疾患若しくは炎症性疾患である。ぶどう膜炎は重篤となる可能性があり、永久的な視力喪失につながる。

【０１２２】

本発明による化合物及び医薬組成物はまた、糖尿病性網膜症、加齢性黄斑変性症、緑内

障、及び網膜色素変性症からなる群より選択される網膜神経変性症を処置及び/又は予防する方法において使用してもよい。

網膜神経変性症は、進行性神経細胞死を特徴とする網膜の病的状態を指す。糖尿病性網膜症、加齢黄斑変性症、緑内障、及び網膜色素変性症は、神経変性が本質的本質的な役割を果たす網膜疾患と考えられている。

【０１２３】

この好ましい実施形態によれば、本発明による化合物は、眼の局所処置及び/又は網膜神経変性症の予防における使用のために、他の作用薬と組み合わせて処置される病的状態の治療効力を増強してもよく、特にジペプチジルペプチダーゼ-4阻害剤(DPPIV)又はその薬学的に許容される塩と組み合わせてもよい。DPPIV阻害剤は、シタグリプチン、サキサグリプチン、ビルダグリプチン、リナグリプチン、アナグリプチン、テネリグリプチン、アログリプチン、トレラグリプチン、ゲミグリプチン(gemigliptin)、オマリグリプチン、その薬学的に許容される塩、及びそれらの混合物からなる群より選択してもよい。

【０１２４】

本発明による化合物は、患者が必要とする抗VEGF抗体眼内注射の回数を低減するために、抗VEGF処置と有利に併用してもよい。網膜神経変性症、例えば、糖尿病性網膜症、加齢性黄斑変性症の患者への投与は、これらの疾病の進行を遅らせ、患者が必要とする抗VEGF薬物療法を縮小する。

【０１２５】

線維性疾患としては、例えば、嚢胞性線維症、後腹膜線維症、特発性肺線維症、肺気腫合併肺線維症(CPFE)、好酸球性血管中心性線維症、腸線維症、卵巣線維症、腎性全身性線維症、口腔粘膜下線維症(OSMF)及び肝線維症が挙げられるが、これらに限定されない。

嚢胞性線維症(CF)は、肺、消化器系、及び体内の他の器官に重度の損傷を引き起こす遺伝性疾患である。それは、粘液、汗及び消化液を産生する細胞に発症する。滑沢剤として作用する代わりに、分泌物は、特に肺及び膵臓における、管、導管、及び通路を塞ぐ。

【０１２６】

肺線維症は、肺組織が損傷し瘢痕化した場合に生じる肺疾患である。この厚く硬い組織は、肺が適切に機能することをより困難にする。肺線維症に関連する瘢痕は、多数の因子によって引き起こされる可能性がある。肺線維症によって引き起こされる肺損傷は修復することができないが、薬物療法及び治療が、症状を緩和し、生活の質を改善するのに役立つ場合がある。

肺気腫は、息切れを引き起こす肺の病的状態である。肺胞は損傷を受け、時間が経つにつれて、肺胞の内壁が弱くなって破裂し、多くの小さな気腔ではなく、より大きな気腔を作り出す。これは、肺の表面積を減少させ、ひいては、血流に到達する酸素の量を減少させる。損傷した肺胞は適切に機能せず、古い空気が閉じ込められ、新鮮な酸素に富んだ空気が入る余地がなくなってしまう。

【０１２７】

代謝性疾患及び胃腸疾患としては、例えば、糖尿病誘発性合併症：糖尿病性腎症(DN)、糖尿病性網膜症(DR)、糖尿病性心筋症(DCDM)、又は糖尿病性足部潰瘍(DFU)が挙げられ得るが、これらに限定されない。肝疾患は、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、原発性胆汁性胆管炎(PBC)、肝線維症又は肝硬変(HF)、炎症性腸疾患(IBD):潰瘍性大腸炎、クローン病、腸線維症を含み得る。糖尿病性腎症に加えて、他の腎疾患には、多発性嚢胞腎疾患(PKD)、慢性腎疾患(CKD)、腎性全身性線維症(NSF)、及び膵炎(急性及び慢性)が含まれ得る。

糖尿病性腎症は、1型糖尿病及び2型糖尿病の重篤な腎臓関連合併症である。これは糖尿病性腎疾患とも呼ばれる。糖尿病患者の約25%が最終的に腎臓疾患にかかる。糖尿病性腎症は、身体から老廃物及び余分な体液を除去する通常の働きを行う腎臓の能力に影響を及ぼす。長年にわたって、この病的状態は、腎臓の繊細な濾過系を徐々に損傷し、末期腎疾患とも呼ばれる腎不全に進行し得る。腎不全は生命を脅かす病的状態である。

【０１２８】

非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)は、アルコールをほとんど又は全く飲まない人々に影響を及ぼす範囲の肝臓の病的状態に対する包括的用語である。その名称が示すように、NAFLDは、肝細胞に貯蔵された脂肪が多すぎることが主な特徴である。慢性肝疾患の最も一般的な形態である。NAFLDの人の一部は、肝臓の炎症によって特徴付けられ、進行した瘢痕(硬変)及び肝不全に進行し得る、脂肪性肝疾患の侵襲性形態である非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)にかかる可能性がある。この損傷は、大量のアルコール摂取によって引き起こされる損傷と似ている。

原発性胆汁性胆管炎は、肝臓の胆管が徐々に破壊される慢性自己免疫疾患である。胆管が損傷を受けると、胆汁が肝臓に逆流し、時には不可逆性硬変につながる可能性がある。遺伝的要因と環境要因との組合せが当該疾病を誘発する。

【０１２９】

IBDは、消化管の慢性炎症を伴う疾患を指す。IBDのタイプには、結腸及び直腸の表層に沿った潰瘍を伴う潰瘍性大腸炎、並びに、多くの場合、消化管の深層部まで巻き込まれる消化管の内層の炎症を特徴とするクローン病が含まれる。潰瘍性大腸炎及びクローン病の双方とも、通常、下痢、直腸出血、腹痛、疲労、体重減少を特徴とし、時には、生命を脅かす合併症につながる。

新生物及び癌関連疾患としては、例えば、膵臓癌：主に線維性、腎細胞癌、放射線誘発線維症、原発性骨髄線維症、線維増生、線維肉腫、肝細胞癌、網膜神経膠腫、眼内リンパ種、及びメラノーマ(線維形成性、結膜、ぶどう膜)が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３０】

本発明はまた、ウイルスタンパク質ヘパラン硫酸結合部位への結合を介したウイルス感染症の処置、予防、及び軽減に関する。本発明による化合物は、増殖因子(FGF、VEGF及び他の増殖因子)及び増殖因子受容体(FGFR、VEGFR及びその他)のヘパラン硫酸結合領域と相互作用する。多くのウイルスが、細胞膜に結合したヘパラン硫酸部分に対するそれらの親和性を利用して哺乳動物細胞と相互作用することが知られている。その表面タンパク質にヘパラン硫酸(HS)結合ドメインを有するウイルスは、細胞に接近して感染し、細胞に付着したヘパラン硫酸に結合するための主要な入口扉の1つとして、このHS親和性を使用する。HSに結合すると、ウイルスは、各ウイルスに特異的な種々の侵入機構を使用して細胞に感染することができる。本発明による化合物と、タンパク質、特にウイルスタンパク質のヘパラン結合ドメインとの強い相互作用は、血球、血管及び器官を裏打ちする内皮細胞、並びに口、鼻粘膜及び肺並びに消化管に存在する表面上皮細胞のウイルス感染を予防する。ヘパラン硫酸に対して高い親和性を有するいくつかのウイルス種が知られており、例えば、呼吸器合胞体ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、インフルエンザ(H1N1等)、ヒトライノウイルス(HRV)、ライノシンシチウム(rhinosyncitial)ウイルス(RV)、チクングンヤウイルス、コロナウイルス、例えばCoV、SARS-CoV、MERS-Cov、COVID-19(SARS-CoV-2及びそれらの変異体)が挙げられるが、これらに限定されない。HSは、SARS-CoV-2感染に必要な補因子である。HSは、ACE2に隣接するSARSCoV-2スパイク糖タンパク質の受容体結合ドメインと相互作用し、スパイク構造を開構造にシフトさせて、ACE2結合を促進する。ウイルス性及び細菌性感染性症はまた、敗血症性ショック、眼の炎症、例えば、手術又は感染に起因する眼内炎を含み得る。

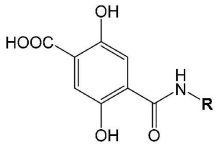
【実施例】

【０１３１】

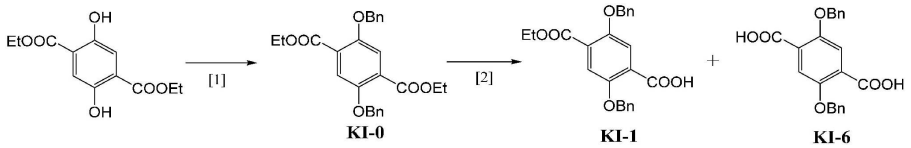
実施例１：化合物及び中間体の合成

実施例1.1：タイプIaの分子：モノアミド、25例

【化７】

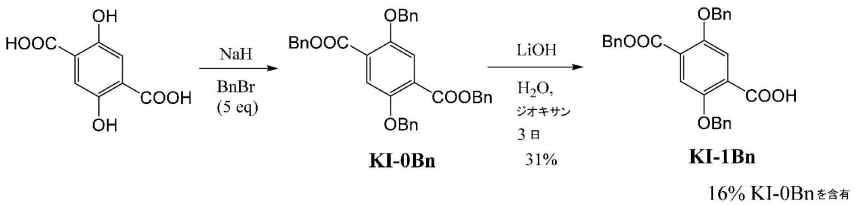


【０１３２】
前駆体の合成
スキーム１．合成中間体KI-1及びKI-6
【化８】



【０１３３】
手順：
KI-1及びKI-6の合成（工程[1]、[2]）
ジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタレート(KI-0)（工程[1]）炭酸カリウム-325メッシュ(326.1g、2.4mol)を、DMF(800.0mL)中のジエチル2,5-ジヒドロキシテレフタレート(200.0g、0.79mol)の撹拌溶液に、周囲温度で15分間かけて少しずつ加えた。次いで、臭化ベンジル(280.0mL、2.4mol)を反応フラスコに30分間かけて滴下して加え、得られた混合物を100℃で2時間加熱すると、濃いクリーム色の沈殿物が形成された。反応混合物を周囲温度に冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液(2L)で処理した。得られた懸濁物を30分間撹拌し、次いで濾過した。固体物質を飽和塩化アンモニウム水溶液(2×200mL)で洗浄した。次いで、固体をエタノール(400mL)中に懸濁させ、濾過し、減圧オーブン中で乾燥させて、所望の生成物を白色固体(341.0g、0.785mol、99.8%)として得た。
【０１３４】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.36分, イオン化観察されず, ピーク面積 〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.51-7.44 (m, 6H), 7.44-7.36 (m, 4H), 7.36-7.28 (m, 2H), 5.17 (s, 4H), 4.29 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 6H).
【０１３５】
2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1)及び2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタル酸(KI-6)(工程[2])
水(200.0mL)中の水酸化ナトリウム(14.2g、0.25mol)の溶液を、1,4-ジオキサン(1L)中のジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタラート(100g、0.23mol)の溶液に迅速に加え、得られた混合物を周囲温度で一晩撹拌した。溶媒を減圧下で除去すると、白色のスラリーが形成された。粗製物をEtOH(500mL)中に懸濁させ、濾過し、収集した固体を減圧オーブン中で乾燥させて、純ジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタレート(23.0g、0.053mol、23%)を得た。
【０１３６】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.36分, イオン化観察されず, ピーク面積 98%
【０１３７】
エタノール性の濾液を濃縮して油状物を得た。酢酸エチル(500mL)を加えて沈殿物を形成し、これを濾過し、酢酸エチル(200 mL)で洗浄して、2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタル酸(KI-6)を白色固体(18.9g、0.042mol、18%)として得た。
【０１３８】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.22分, m/z 377.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.52-7.45 (m, 4H), 7.41-7.33 (m, 4H), 7.33-7.26 (m, 4H), 5.13 (s, 4H).
【０１３９】
濾液を飽和炭酸ナトリウム水溶液(200mL)、1M塩酸(500mL)及び塩水(500mL)で洗浄し、次いで乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、濃縮乾固させて、2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1)を白色固体として得た(53g、0.130mol、57.0%)。

【０１４０】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.22分, m/z 405.3 $[M-H]^-$, ピーク面積 96%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.52-7.27 (m, 13H), 5.17 (s, 4H), 4.28 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０１４１】
KI-1合成のための大規模プロトコル
10Lのジャケット付き容器に、ジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタレート(500.00g、1.15mol)、1,4-ジオキサン(2.5L)、水酸化カリウム(71.00g、1.26mol)及び水(500mL)を充填した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。LCMS分析は、反応が半分完了したことを示し、(ジエステル：一酸：二酸=28：58：14)の比の副生成物(二酸)及び出発物質(ジエステル)も示した。(二酸：4.44rt、一酸：5.08rt、ジエステル：5.68rt)。この段階で、溶媒を減圧下で除去した。粗生成物を、10Lのジャケット付き容器中でエタノールと水の２：１混合物(3L)に取り込み、一晩撹拌し、濾過して、以下を得た：
固体：（ジエステル：一酸：二酸=86：12：2、110.00g、無色固体）
濾液：（ジエステル：一酸：二酸　3：63：34）
【０１４２】
濾液を減圧下で濃縮して油状物を得た。この油状物を酢酸エチル(2.5L)に取り、10Lのジャケット付き容器中で一晩撹拌し、濾過して白色固体(150.00g)を得た。
固体：（ジエステル：一酸：二酸=微量：40：60）。
濾液を収集し、重炭酸ナトリウムの飽和水溶液(100mL)、1N塩酸(200mL)及び塩水(200mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。溶媒を減圧下で除去して、所望の生成物2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1)を白色固体として得て、これを減圧オーブン中50℃で48時間乾燥させた（225.00g、収率49%）（収率は49～65%の間で変動する)。
【０１４３】
スキーム２：合成中間体KI-1Bn
【化９】



【０１４４】
手順：
KI-1Bnの合成：
2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(ベンジルオキシカルボニル)安息香酸(KI-1Bn)0℃のDMF(20mL)中の2,5-ジヒドロキシテレフタル酸(1.97g、10mmol)の溶液に、水素化ナトリウム(2.0g、50mmol)を撹拌下で添加し、次いで臭化ベンジル(5.95mL、50mmol、5当量)を5分間かけて滴下し、得られた混合物を室温で2時間維持した。次いで、混合物を60℃で18時間加熱した。反応混合物を周囲温度に冷却し、MeOH(5mL)で慎重に処理した。混合物を減圧下で濃縮し、残留物をヘプタンと共蒸発させた(3×)。残渣をDCM(30mL)に取り、有機相を1MHCl(25mL)で洗浄し、分離した水層をDCM(3×30mL)で抽出し、合わせた有機相を乾燥させ(MgSO4)、濃縮した。粗固体をEtOH(約30mL)から再結晶化して、純KI-0Bn(2.286g、41%)を得た。KI-0Bn(282mg、0.5mmol)のサンプルを1,4-ジオキサン(10mL)と水酸化リチウム水和物(22mg、0.52mmol)との混合物に添加し、混合物を80℃に3日間加熱した。混合物を室温に冷却し、AcOEt(30mL)中に取り、溶液を1MHCl(2mL)で洗浄した。有機相を乾燥させ、濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーに供して、約16%のジエステルKI-0Bnが混入したモノエステルKI-1Bnを得た。
【０１４５】

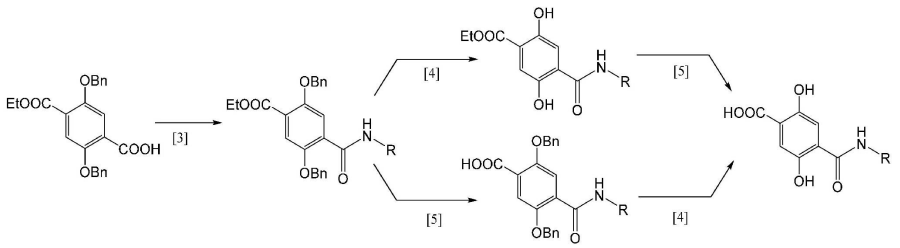
KI-0Bn: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.51 (s, 2H), 7.36-7.30 (m, 20H), 5.34 (s, 4H), 5.11 (s, 4H).
KI-1Bn: ^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ 7.86 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.41-7.30 (m, 20H), 5.36 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 5.16 (s, 2H).

【０１４６】

モノアミドの合成

スキーム３．モノアミドIaの合成

【化１０】



【０１４７】

アミドカップリングのための基本手順A[3A]

KI-1又はKI-6からのアシルクロリドを介したカップリング

モデル反応(Ia-013a)

ジメチル2-(2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)ベンゾイルアミノ)イソフタレート2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1、1.1g、2.8mmol)を塩化チオニル(6mL)に溶解し、得られた混合物を5分間撹拌した。数滴のDMFを添加し、得られた混合物を周囲温度で18時間撹拌した。過剰の塩化チオニルを減圧下で除去し、残渣をトルエン(3×20mL)と共蒸留して、アシルクロリドを得た。DCM(10mL)中のアシルクロリドの溶液を、周囲温度でDCM(10mL)中のアミン(ジメチル2-アミノイソフタレート、210mg、3.1mmol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.53mL、3.045mmol)の溶液に迅速に添加し、反応物を18時間撹拌した。反応物をDCM(70mL)で希釈し、1M塩酸(100mL)、水(100mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、濃縮して粗生成物を得、これをイソヘキサン中の酢酸エチル(0～25%)の勾配で溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、所望の生成物を白色固体(1.24g、2.075mmol、75%)として得た。

【０１４８】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.37分; m/z = 598.2 $[M+H]^+$, ピーク面積〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.60 (s, 1H), 8.02 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.69 (s, 1H), 7.59 - 7.23 (m, 12H), 5.49 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 4.28 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.71 (s, 6H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

【０１４９】

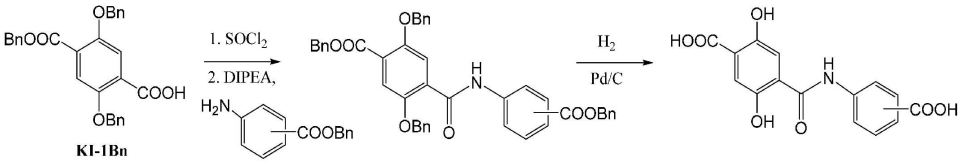
アミドカップリングのための基本手順B[3B]

KI-1又はKI-6からの、縮合剤を用いたカップリング

モデル反応(Ia-001a)

メチル2-(2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)ベンゾイルアミノ)ベンゾエート1-メチルイミダゾール(13.0mL、163mmol)を、MeCN(150mL)中の2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1、12.95g、32mmol)とメチルアントラニレート(5.729g、38mmol、1.190当量)との混合物に周囲温度で添加した。クロロ-N,N,N',N'-テトラメチルホルムアミジニウムヘキサフルオロホスフェート(TCFH)(10.728g、0.038mol)を30分かけて少しずつ添加し、得られた混合物を周囲温度で一晩撹拌した。反応混合物を1M塩酸水溶液(700mL)で処理した。得られた懸濁物を10分間撹拌し、次いで濾過した。固体物質を水(2×200mL)で洗浄した。次いで、固体をエタノール(200mL)中に懸濁させ、濾過し、エーテル(100mL)で洗浄し、減圧オーブン中で乾燥させて、所望の生成物を白色固体(14.7g、27mmol、86%)として得た。

【０１５０】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.43分; m/z = 540.2 $[M+H]^+$, ピーク面積〉99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.87 (s, 1H), 8.65 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.98 (dd, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.81 - 7.61 (m, 2H), 7.59 - 7.12 (m, 12H), 5.41 (s, 2H), 5.20 (s, 2H), 4.28 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3H).0
【０１５１】
一般的な脱保護手順[4]、[5]
鹸化
モデル反応(Ia-013a)
2-(2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-カルボキシベンゾイルアミノ)イソフタル酸水(4mL)中の水酸化リチウム(42mg、1mmol)の溶液を、THF(6mL)中のジメチル2-(2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)ベンゾイルアミノ)イソフタレート(100mg、0.167 mmol)の溶液に添加し、得られた混合物を周囲温度で18時間撹拌した。水(4mL)中の追加のLiOH(6当量)を反応混合物に添加し、これをさらに23時間撹拌した。完了後、水(50mL)を反応物に添加し、混合物を酢酸エチル(50mL)で洗浄した。水層を1M塩酸水溶液でpH=2に酸性化し、酢酸エチル(2×50mL)で抽出した。有機層を収集し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、濃縮して、表題の化合物を白色固体(82mg、0.151mmol、91%)として得た。
【０１５２】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.02分; m/z = 542.1 $[M+H]^+$, ピーク面積〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.18 (s, 2H), 11.74 (s, 1H), 8.00 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.71 (s, 1H), 7.58 - 7.43 (m, 5H), 7.40 - 7.24 (m, 7H), 5.47 (s, 2H), 5.14 (s, 2H).
【０１５３】
脱ベンジル化
モデル反応(Ia-013a)
2-(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシベンゾイルアミノ)イソフタル酸(Ia-013a)Pd/C(94mg、10%)を、EtOHとDCMとの10：30混合物中の2-（2，5-ビス（ベンジルオキシ）-4-カルボキシベンゾイルアミノ）イソフタル酸(0.94g,1.74mmol)の溶液に添加した。混合物を周囲温度で大気圧の水素下に置き、18時間撹拌した。完了後、混合物をセライトで濾過し、これをDCM及びMeOHで洗浄した。濾液及び洗浄液を合わせ、減圧下で濃縮して、所望の生成物Ia-013aを黄色固体(644mg、1.69mmol、98%)として得た。
【０１５４】
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.91分; m/z =362.0 $[M+H]^+$, ピーク面積〉98%
^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ: 13.11 (s, 2H), 11.70 (s, 1H), 11.13 (s, 1H), 7.97 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.38 (t, J = 7.7 Hz, 1H)
【０１５５】
スキーム4a．KI-1Bnからのモノアミドlaの合成
【化１１】



【０１５６】
KI-1Bnからの基本手順
アシルクロリドを介したカップリング
モデル反応：Ia-032aの合成
ベンジル4-(2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(ベンジルオキシカルボニル)ベンゾイルアミノ)フェニルアセテートDCM(10mL)中のKI-1Bn(233mg、純度84%)の溶液に、$SOCl_2$(1.8mL、60当量)を添加し、混合物を50℃で3時間加熱した。溶媒を蒸発させ、残渣をトル

エン(3×10mL)と共蒸発させて、粗アシルクロリド(237mg、99%)を得た。この物質をDCM(3mL)に溶解し、ジイソプロピルエチルアミン(0.08mL、1.15当量)を添加し、続いてDCM(3mL)中のベンジル4-アミノフェニルアセテート(92mg、0.95当量)の溶液を添加した。最終反応体積は10mLであった。反応混合物を室温で18時間撹拌した。混合物をDCM(15mL)で希釈し、飽和塩化アンモニウム水溶液(12mL)で洗浄した。分離した水相をDCM(2×2mL)で抽出し、有機相を合わせ、乾燥させ(MgSO4)、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィー(Pet.Et./DCM 1:1、次いで100%DCMへの勾配)に供して、純KI-0Bnの第1の画分、及び純粋な所望の生成物を含有する第2の画分(237mg、86%、KI-1Bnの純度について補正)を得た。

【０１５７】

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 10.10 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.53-7.30 (m, 20H), 7.22-7.13 (br AB, 4H), 5.39, 5.22, 5.21, 5.12 (4s, 4x 2H), 3.61 (s, 2H).

【０１５８】

4-(4-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸(Ia-032a)上記で製造した前駆体(225mg、0.33mmol)のDCM(20mL)溶液に、5%Pd/木炭(72mg)、続いてEtOH(20mL)を添加した。フラスコをAr(3×)でフラッシュし、次いで水素(大気圧)で満たし、混合物を室温にて2時間撹拌した。触媒をミリポアフィルター上で濾過して除去し、濾液を蒸発させ、残渣を乾燥させて、生成物Ia-032aを淡黄色固体として得た(107mg、99%)。

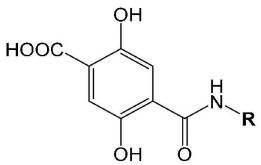
【０１５９】

^{1}H NMR (250 MHz, DMSO-d_6): δ 12.28 (br, 1H), 10.92 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 7.65 (br d, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.25 (br d, 2H), 3.55 (s, 2H).

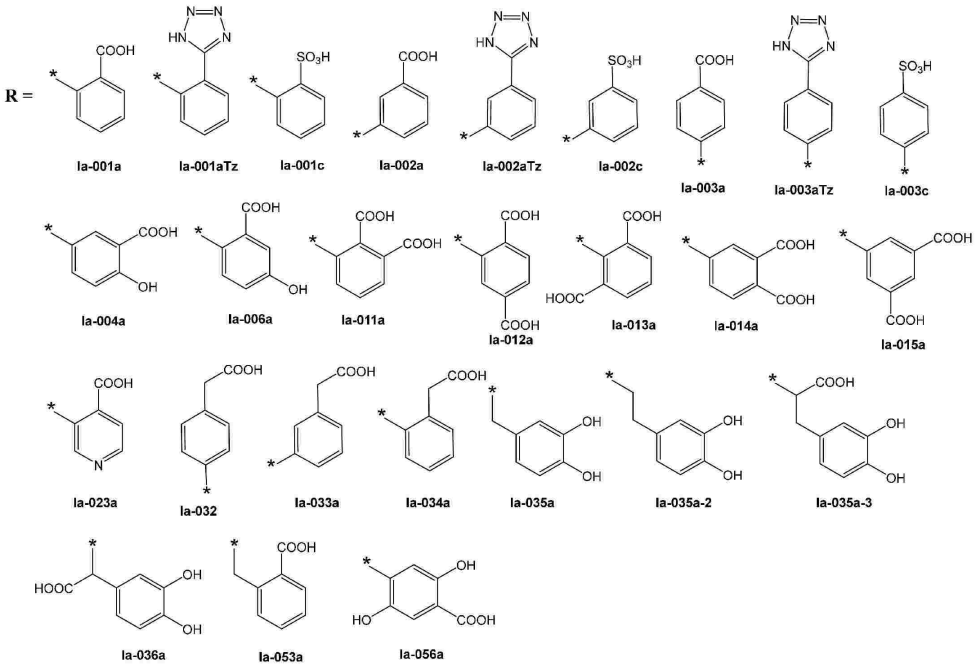
【０１６０】

例:

【化１２】



【化１３】



【０１６１】
条件及び収率については以下の通りである：図4A～D参照。
【０１６２】
１）4-(2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-001a
UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 0.95分, m/z = 316 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.22 (s, 1H), 10.85 (s, 1H), 8.65 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.01 (dd, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.71 - 7.56 (m, 1H), 7.41 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.22 (t, J = 7.6 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}NO_7$: 318.06083, found: 318.06080.
バイオデータ：Ia-001a: FGF-1 IC50 [μM] = 41; FGF-2 IC50 [μM] = 39; VEGF-A1 IC50 [μM] = 7.3; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =2.25; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 48; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.355; 好中球接着阻害 [%] = 44.3; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 30.5; IL-1β IC50 [μM] = 34.4; IL-2 IC50 [μM] = 94.3; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 1.24; IL-9 IC50 [μM] = 5.63; IL-10 IC50 [μM] = 〉100; IL-12p70 IC50 [μM] = 1.5; IL-13 IC50 [μM] = 26.4; IL-17A IC50 [μM] = 0.1; IL-17F IC50 [μM] = 14.7; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 〉100; IL-33 IC50 [μM] = 19.3; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.02; TNFβ IC50 [μM] = 13.2
【０１６３】
ジエチルエステル：
UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.39分, m/z = 372.2 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉 98%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.96 (s, 1H), 11.05 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 8.57 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.65 (ddd, J = 8.7, 7.3, 1.7 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.25 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 4.35 (m, 4H), 1.33 (m, 6H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{19}H_{20}NO_7$: 374.12342, found: 374.12354
バイオデータ：Ia-001a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 9.2; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 123; VEGFR-リン酸化阻害IC50 [μM] =1.25; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 51.47; PMN ROS阻害IC50 [μM] = 2.58; 好中球接着阻害 [%] = 50.5
【０１６４】
２）4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-001aTz：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.17分; m/z =342.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉96%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.60 (s, 1H), 10.90 (s, 2H), 8.47 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.61 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.50 - 7.32 (m, 3H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}N_5O_5$: 342.08329, found: 342.08318
バイオデータ：Ia-001a-Tz: FGF-1 IC50 [μM] = 6.2; FGF-2 IC50 [μM] = 20; VEGF-A1 IC50 [μM] = 17; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.23; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 54.33; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.54; 好中球接着阻害 [%] = 69.75; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 〉100; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 7.99; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.75; IL-9 IC50 [μM] = 8.63; IL-10 IC50 [μM] = 26.1; IL-12p70 IC50 [μM] = 32.4; IL-13 IC50 [μM] = 32.1; IL-17A IC50 [μM] = 0.11; IL-17F IC50 [μM] = 46.5; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 〉100; IL-33 IC50 [μM] = 23.6; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.63; TNFβ IC50 [μM] = 53
【０１６５】
エチルエステル：

UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.08分, m/z = 370.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.48 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 8.46 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.89 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.62 (ddd, J = 8.6, 7.4, 1.6 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.42 - 7.34 (m, 2H), 4.37 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.34 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{17}H_{16}N_5O_5$: 370.11460, found: 370.11458
バイオデータ：Ia-001a-Tz-E1: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =3.8; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 75.97; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 98.88

【０１６６】

エチルエステルジアセテート：

UPLC-MS (酸性法, 4分): r.t = 1.57分, m/z = 454.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.23 (s, 1H), 8.23 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.96 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.64 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.43 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 4.32 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.32 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{21}H_{20}N_5O_7$: 454.13572, found: 454.13542
バイオデータ：Ia-001a-Tz-E1-A2: FGF-1 IC50 [μM] = 60; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 49.85; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 98.2

【０１６７】

３）2,5-ジヒドロキシー4-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸、化合物Ia-001c：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.73分; m/z =352.0 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.54 (s, 1H), 10.99 (s, 1H), 8.34 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.74 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.42 - 7.28 (m, 3H), 7.12 (td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{14}H_{12}NO_8S$: 354.02781, found: 354.02754.
バイオデータ：Ia-001c: FGF-1 IC50 [μM] = 21; FGF-2 IC50 [μM] = 13; VEGF-A1 IC50 [μM] = 100; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =3.31; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 40.36; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.4; 好中球接着阻害 [%] = 31.33; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 0.44; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 12.8; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.95; IL-9 IC50 [μM] = 46.9; IL-10 IC50 [μM] = 1.9; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.44; IL-13 IC50 [μM] = 86.1; IL-17A IC50 [μM] = 0.09; IL-17F IC50 [μM] = 89.7; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 〉100; IL-33 IC50 [μM] = 〉100; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.05; TNFβ IC50 [μM] = 29.7

【０１６８】

４）4-(3-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-002a：

^{1}H-NMR (250 MHZ, DMSO-d_6) δ ～13 (v br, 1H), 10.82 (br s, 1H), 10.60 (br s, 1H), 8.38 (s, 1H). 7.92 (d, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.49 (t, 1H), 7.39 (s, 2H)
バイオデータ：1a-002a: FGF-1 IC50 [μM] = 20; FGF-2 IC50 [μM] = 59; VEGF-A1 IC50 [μM] = 71; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =5.7; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 42.1; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.312; 好中球接着阻害 [%] = 27.92

【０１６９】

５）4-(3-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-002aTz：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.13分; m/z =342.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉99%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.81 (s, 1H), 10.67 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.91 - 7.84 (m, 1H), 7.79 (dt, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 2.2 Hz, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}N_5O_5$: 342.08329, found: 342.08317
バイオデータ：Ia-002a-Tz: FGF-1 IC50 [μM] = 10; FGF-2 IC50 [μM] = 53; VEGF-A1 IC50 [μM] = 57; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 66.61; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.86; 好中球接着阻害 [%] = 38.5
【０１７０】
６）2,5-ジヒドロキシー4-(3-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸、化合物Ia-002c：
^{1}H-NMR (250 MHZ, DMSO-d_6) δ 11.04 (s, 1H), 10.53 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.69 (d, 1H), 7.43 (s, 2H)及び7.40-7.28 (m, 2H)
バイオデータ：Ia-002c: FGF-1 IC50 [μM] = 14; FGF-2 IC50 [μM] = 150; VEGF-A1 IC50 [μM] = 150; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 38.9; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.405; 好中球接着阻害 [%] = 1.87
【０１７１】
７）4-(4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-003a：
^{1}H-NMR (250 MHz, DMSO-d_6) δ 12.8 (br, 1H), 10.73 (s, 1H), 10.68 (s, 1H), 7.94 (d of AB, 2H), 7.84 (d of AB, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.34 (s, 1H)
HRMS (AX033)
バイオデータ：Ia-003a: FGF-1 IC50 [μM] = 12; FGF-2 IC50 [μM] = 34; VEGF-A1 IC50 [μM] = 150; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 44.4; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.414; 好中球接着阻害 [%] = 39.1
【０１７２】
８）4-(4-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-003aTz：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.79分; m/z =342.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.77 (s, 1H), 10.70 (s, 1H), 8.04 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.96 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.37 (s, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}N_5O_5$: 342.08329, found: 342.08326
バイオデータ：Ia-003a-Tz: FGF-1 IC50 [μM] = 6.7; FGF-2 IC50 [μM] = 45; VEGF-A1 IC50 [μM] = 13; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =6.4; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 62.21; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.49; 好中球接着阻害 [%] = 30.33; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 2.95; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 43; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 1.41; IL-9 IC50 [μM] = 3.62; IL-10 IC50 [μM] = 6.94; IL-12p70 IC50 [μM] = 1.26; IL-13 IC50 [μM] = 89.6; IL-17A IC50 [μM] = 0.07; IL-17F IC50 [μM] = 83.9; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 1.49; IL-33 IC50 [μM] = 72.2; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.18; TNFβ IC50 [μM] = 55.
【０１７３】
９）2,5-ジヒドロキシー4-(4-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸、化合物Ia-003c：
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.90 (s, 1H), 10.51 (s, 1H), 7.66 (d of AB, 2H), 7.58 (d of AB, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.39 (S, 1H)
バイオデータ：Ia-003c: FGF-1 IC50 [μM] = 35; FGF-2 IC50 [μM] = 150; VEGF-A1 IC50 [μM] = 150; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.4; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = N.D.; PMN ROS阻害 IC50 [μM]-; 好中球接着阻害[%] = N.D.
【０１７４】

１０）4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-004a：
UPLC-MS (酸性法, 6.5分): rt = 1.40分; m/z =332.0 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉96%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.94 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.20 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.74 (dd, J = 8.9, 2.8 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.93 (d, J = 8.9 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}NO_8$: 334.05574, found: 334.05572
バイオデータ：Ia-004a: FGF-1 IC50 [μM] = 32; FGF-2 IC50 [μM] = 15; VEGF-A1 IC50 [μM] = 28; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =7.7; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 64.61; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0; 好中球接着阻害 [%] = 28.38

【０１７５】
エチルメチルエステル：
UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.16分, m/z = 376.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.90 (s, 1H), 10.50 (s, 1H), 10.36 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 8.26 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 8.9, 2.8 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.01 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.37 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.34 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{18}H_{18}NO_8$: 376.10269, found: 376.10259
バイオデータ：Ia-004a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 35; FGF-2 IC50 [μM] = 36; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =6.1; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 85.34; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 97.65

【０１７６】
１１）4-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-006a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.81分; m/z =334.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉96%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.33 (s, 1H), 11.86 (s, 1H), 10.90 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 8.39 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.03 (dd, J = 9.0, 3.0 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}NO_8$: 334.05574, found: 334.05562.
バイオデータ：Ia-006a: FGF-1 IC50 [μM] = 89; FGF-2 IC50 [μM] = 224; VEGF-A1 IC50 [μM] = 100; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =11.8; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 60.56; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.2; 好中球接着阻害 [%] = 25.33

【０１７７】
１２）3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸、化合物Ia-011a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.69分; m/z = 360.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉89%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.46 (s, 2H), 11.37 (s, 1H), 10.97 (s, 1H), 8.33 (dd, J = 8.2, 1.3 Hz, 1H), 7.63 (dd, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.44 (s, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05065, found: 362.05036
バイオデータ：Ia-011a: FGF-1 IC50 [μM] = 35; FGF-2 IC50 [μM] = 110; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 57.71; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 42.32

【０１７８】
１３）2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸、化合物Ia-012a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.12分; m/z = 362.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉96%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.41 (brs, 2H), 12.29 (s, 1H), 10.94 (s, 1H), 9.26 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.73 (dd, J = 8.2, 1.7 Hz, 1H), 7.42 (s, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05065, found: 362.05046.
バイオデータ：Ia-012a: FGF-1 IC50 [μM] = 38; FGF-2 IC50 [μM] = 36; VEGF-A1

IC50 [μM] = 30; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 59.52; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.85; 好中球接着阻害 [%] = 28.5

【０１７９】

１４）2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸、化合物Ia-013a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.91分; m/z = 362.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 98%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.11 (s, 2H), 11.70 (s, 1H), 11.13 (s, 1H), 7.97 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.38 (t, J = 7.7 Hz, 1H)

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05065, found: 362.05041

バイオデータ：Ia-013a: FGF-1 IC50 [μM] = 29; FGF-2 IC50 [μM] = 18; VEGF-A1 IC50 [μM] = 17; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 38.52; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.38; 好中球接着阻害 [%] = 27.67

【０１８０】

１５）4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸、化合物Ia-014a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.98分; m/z = 362.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 94%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.76 (s, 1H), 10.70 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.94 - 7.84 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.30 (s, 1H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05065, found: 362.05047

バイオデータ：Ia-014a: FGF-1 IC50 [μM] = 20; FGF-2 IC50 [μM] = 20; VEGF-A1 IC50 [μM] = 88; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 61.3; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1; 好中球接着阻害 [%] = 9.667

【０１８１】

１６）5-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸、化合物Ia-015a：

^{1}H NMR (250 MHz, DMSO-d_6) δ 10.74 (s, 1H), 8.56 (narrow d, 2H), 8.22 (narrow t, 1H), 7.41 (s, 1H)及び7.37 (s, 1H)

バイオデータ：Ia-015a: FGF-1 IC50 [μM] = 20; FGF-2 IC50 [μM] = 9.3; VEGF-A1 IC50 [μM] = 19; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.15; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 43.8; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.387; 好中球接着阻害 [%] = 17.38; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 2.76; IFNγ IC50 [μM] = 〉100; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 7.08; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.77; IL-9 IC50 [μM] = 1.47; IL-10 IC50 [μM] = 5.27; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.12; IL-13 IC50 [μM] = 0.15; IL-17A IC50 [μM] = 0.05; IL-17F IC50 [μM] = 0.15; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 57.2; IL-33 IC50 [μM] = 0.24; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.17; TNFβ IC50 [μM] = 0.3.

【０１８２】

１７）3-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソニコチン酸、化合物Ia-023a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.63分; m/z = 319.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 93%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.17 (s, 1H), 11.03 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 8.46 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.43 (s, 1H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{14}H_{11}N_2O_7$: 319.05608, found: 319.05610

バイオデータ：Ia-023a: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 63; VEGF-A1 IC50 [μM] = 143; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 61.95; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0; 好中球接着阻害 [%] = 13.37

【０１８３】

ジエチルエステル：

UPLC-MS (酸性法, 4分): r.t = 1.87分, m/z = 375.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 98%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.79 (s, 1H), 11.23 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 8.50 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.81 (dd, J = 5.1, 0.7 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 4.46 - 4.27 (m, 4H), 1.41 - 1.25 (m, 6H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{18}H_{19}N_2O_7$: 375.11867, found: 375.11867
バイオデータ：Ia-023a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 76; VEGF-A1 IC50 [μM] = 141; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =6.6; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 69.47; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0; 好中球接着阻害 [%] = 34
【０１８４】
１８）4-(4-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-032a：
^{1}H NMR (250 MHz, DMSO-d6): δ 12.28 (br, 1H), 10.92 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 7.65 (br d, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.25 (br d, 2H), 3.55 (s, 2H).
バイオデータ：Ia-032a: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 91; VEGF-A1 IC50 [μM] = N.D.; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = N.D.; PMN ROS阻害 IC50 [μM]-; 好中球接着阻害 [%] = N.D.
【０１８５】
１９）4-(3-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-033a：
UPLC-MS (酸性法, 6.5分): rt = 1.71分; m/z = 332.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.89 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.59 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.03 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.57 (s, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07647, found: 332.07644
バイオデータ：Ia-033a: FGF-1 IC50 [μM] = 60; FGF-2 IC50 [μM] = 165; VEGF-A1 IC50 [μM] = 281; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 57.73; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.32; 好中球接着阻害 [%] = 38
【０１８６】
２０）4-(2-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-034a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.82分; m/z = 332.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 98%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.78 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 3.0 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.15 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 3.63 (s, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07648, found: 332.07641
バイオデータ：Ia-034a: FGF-1 IC50 [μM] = 79; FGF-2 IC50 [μM] = 14; VEGF-A1 IC50 [μM] = 102; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 49.07; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.28; 好中球接着阻害 [%] = 15
【０１８７】
２１）4-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-035a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.02分; m/z = 320.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 91%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.56 (s, 1H), 9.21 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.72 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.57 (dd, J = 8.0, 2.1 Hz, 1H), 4.32 (d, J = 5.8 Hz, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{14}NO_7$: 320.07648, found: 320.07650
バイオデータ：Ia-035a: FGF-1 IC50 [μM] = 20; FGF-2 IC50 [μM] = 71; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =36; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 75.13; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.41; 好中球接着阻害 [%] = 27
【０１８８】
２２）4-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-035a-2：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.77分; m/z = 332.0 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉 99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.50 (s, 1H), 8.85 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.67 -6.60 (m, 2H), 6.48 (dd, J

= 8.0, 2.1 Hz, 1H), 3.44 (q, J = 6.8 Hz, 2H), 2.67 (dd, J = 8.6, 6.0 Hz, 2H). δ 11.56 (s, 1H), 9.21 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.72 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.57 (dd, J = 8.0, 2.1 Hz, 1H), 4.32 (d, J = 5.8 Hz, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{16}NO_7$: 334.09213, found: 334.09242
バイオデータ：Ia-035a-2: FGF-1 IC50 [μM] = 10; FGF-2 IC50 [μM] = 65; VEGF-A1 IC50 [μM] = 109; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =10; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 58.81; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.1; 好中球接着阻害 [%] = 21.5

【０１８９】

２３）4-(1-カルボキシ-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-035a-3：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.70分; m/z = 376.0 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.90 (s, 1H), 11.11 (s, 1H), 8.98 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 8.73 (d, J = 13.1 Hz, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.61 (dd, J = 5.1, 2.9 Hz, 2H), 6.47 (dd, J = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 3.01 (dd, J = 13.9, 4.9 Hz, 1H), 2.96 - 2.84 (m, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{17}H_{16}NO_9$: 378.08196, found: 378.08195
バイオデータ：Ia-035a-3: FGF-1 IC50 [μM] = 34; FGF-2 IC50 [μM] = 207; VEGF-A1 IC50 [μM] = 198; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =10; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 79.62; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.66; 好中球接着阻害 [%] = 22

【０１９０】

２４）4-(カルボキシ(3,4-ジヒドロキシフェニル)メチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-036a:
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.62分; m/z = 362.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉92%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.00 (s, 1H), 9.32 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.81 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.75 - 6.64 (m, 2H), 5.29 (d, J = 6.6 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_9$: 364.06630, found: 364.06615
バイオデータ：Ia-036a: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 37; VEGF-A1 IC50 [μM] = 123; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =1.6; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 87.17; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 30.77

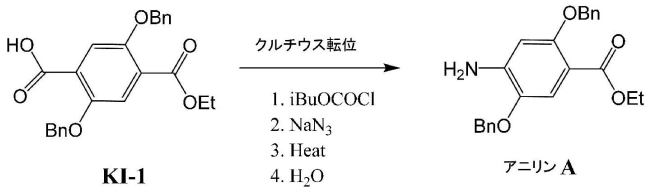
【０１９１】

２５）4-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-053a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.08分; m/z = 332.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.09 (s, 1H), 11.19 (s, 1H), 9.34 - 9.27 (m, 1H), 7.91 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.55 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.39 (td, J = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 4.82 (d, J = 5.9 Hz, 2H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07648, found: 332.07622
バイオデータ：Ia-053a: FGF-1 IC50 [μM] = 150; FGF-2 IC50 [μM] = 124; VEGF-A1 IC50 [μM] = 210; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 52.92; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.5; 好中球接着阻害 [%] = 18.67

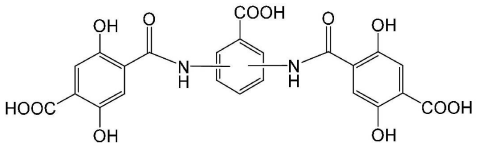
【０１９２】

スキーム4b．エチル4-アミノ-2,5-ジベンジルオキシベンゾエート（アニリンA）の合成

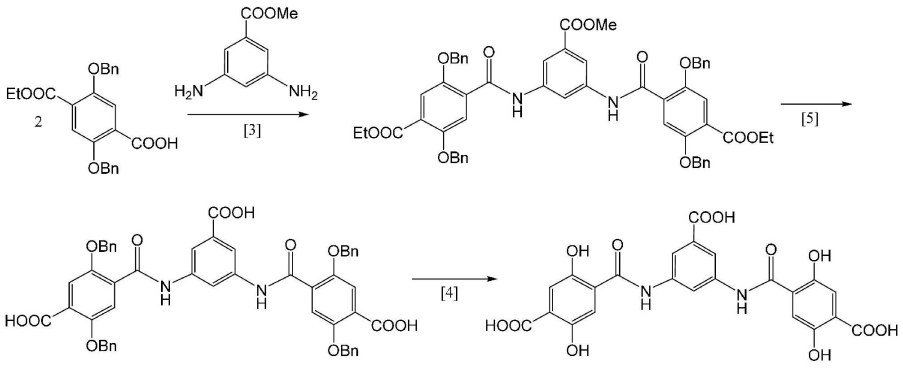
【化１４】



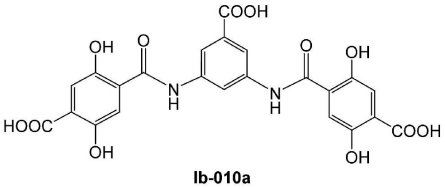
【０１９３】
プロトコール：アニリンAの合成
エチル4-アミノ-2,5-ジベンジルオキシベンゾエート(アニリンA)。THF(25mL)中の2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1)(2.0g、4.9mmol)及びEt_3N(1.6mL、11.3mmol)の冷却溶液(氷浴)に、不活性雰囲気(N_2)下で、DPPA(1.1mL、5.2mmol)をゆっくり添加した。混合物をゆっくりと室温に温め、この温度で3時間撹拌した。次いで、水(8mL)を添加し、反応混合物を70℃に2時間加熱した。反応混合物を炭酸水素ナトリウムの飽和溶液(250mL)に注ぎ、5分間撹拌した後、EtOAc(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、無色油状物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(イソヘキサン/EtOAc、1：0、次いで30%EtOAcへ勾配)により精製して、表題の化合物アニリンA(1.0g、53%)をオフホワイト固体として得た。
【０１９４】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.26分; m/z = 378.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 94%
^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.54 -7.46 (m, 4H), 7.44 - 7.36 (m, 4H), 7.35 - 7.25 (m, 3H), 6.46 (s, 1H), 5.65 (s, NH_2), 5.06 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.16 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０１９５】
２６）4-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物Ia-056a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.90分; m/z = 348.0 $[M-H]^-$, ピーク面積 97%
1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.28 (brs, 1H), 11.26 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.26 (s, 1H).
【０１９６】
ジエチルエステル：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.86分; m/z = 404.2 $[M-H]^-$, ピーク面積 92%
^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.48 (brs, 1H), 11.32 (brs, 1H), 10.28 (s, 1H), 10.07 (brs, 1H), 9.88 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.46 - 4.27 (m, 4H), 1.46 - 1.12 (m, 6H).
【０１９７】
実施例1.2-タイプIbの分子：ジアミンからのジアミド、１例
【化１５】



【０１９８】
スキーム５．タイプIbのジアミドの合成
【化１６】



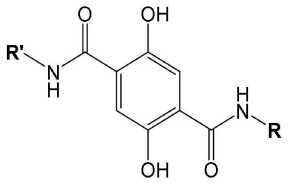
【０１９９】
合成手順：基本手順、工程[3]、[4]、[5]を参照。
例：
【化１７】



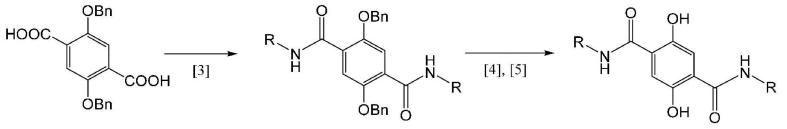
Ib-010a

【０２００】
条件及び収率については以下の通りである：図4A～D参照。
【０２０１】
２７）3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシベンゾイルアミノ)安息香酸、化合物Ib-010a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.98分; m/z = 511.0 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉 93%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.81 (s, 2H), 10.65 (s, 2H), 8.38 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 2.3 Hz, 4H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{23}H_{17}N_2O_{12}$: 513.07760, found: 513.07736,
バイオデータ：Ib-010a: FGF-1 IC50 [μM] = 14; FGF-2 IC50 [μM] = 3.8; VEGF-A1 IC50 [μM] = 15; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =1.6; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 71.84; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.06; 好中球接着阻害 [%] = 1.5; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉 100; IFNγ IC50 [μM] = 2.22; IL-1β IC50 [μM] = 33.3; IL-2 IC50 [μM] = 2.74; IL-4 IC50 [μM] = 〉 100; IL-5 IC50 [μM] = 〉 100; IL-6 IC50 [μM] = 1.02; IL-9 IC50 [μM] = 11.58; IL-10 IC50 [μM] = 〉 100; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.27; IL-13 IC50 [μM] = 〉 100; IL-17A IC50 [μM] = 0.42; IL-17F IC50 [μM] = 〉 100; IL-18 IC50 [μM] = 〉 100; IL-21 IC50 [μM] = 67.8; IL-33 IC50 [μM] = 31.3; TGFβ IC50 [μM] = 〉 100; TNFα IC50 [μM] = 0.31; TNFβ IC50 [μM] = 49.3
【０２０２】
トリエチルエステル：
UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.29分, m/z = 597.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 96%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.80 (s, 2H), 10.68 (s, 2H), 9.95 (s, 2H), 8.40 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.42 (s, 2H), 7.39 (s, 2H), 4.42 - 4.33 (m, 6H), 1.38 - 1.33 (m, 9H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{29}H_{29}N_2O_{12}$: 597.17150, found: 597.17131
バイオデータ：Ib-010a-E3: FGF-1 IC50 [μM] = 26; FGF-2 IC50 [μM] = 226; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.09; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 36.41; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 6.52; 好中球接着阻害 [%] = 79.5; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉 100; IFNγ IC50 [μM] = 2.79; IL-1β IC50 [μM] = 〉 100; IL-2 IC50 [μM] = 36.2; IL-4 IC50 [μM] = 〉 100; IL-5 IC50 [μM] = 〉 100; IL-6 IC50 [μM] = 0.24; IL-9 IC50 [μM] = 26.8; IL-10 IC50 [μM] = 〉 100; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.84; IL-13 IC50 [μM] = 33; IL-17A IC50 [μM] = 0.52; IL-17F IC50 [μM] = 34.2; IL-18 IC50 [μM] = 〉 100; IL-21 IC50 [μM] = 〉 100; IL-33 IC50 [μM] = 20; TGFβ IC50 [μM] = 〉 100; TNFα IC50 [μM] = 0.98; TNFβ IC50 [μM] = 38.2.
【０２０３】
トリエチルエステル　テトラアセテート：
UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.19分, m/z = 782.1 $[M+NH_4]^+$, ピーク面積 91%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.84 (s, 2H), 8.40 (m, 1H), 8.08 (d, J = 2.0

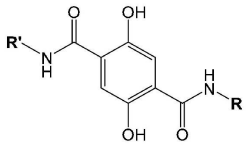
Hz, 2H), 7.80 (s, 2H), 7.63 (s, 2H), 4.45 - 4.22 (m, 6H), 2.32 (s, 6H), 2.23 (s, 6H), 1.38 - 1.27 (m, 9H).
バイオデータ：Ib-010a-E3-A4: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.54; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 54.86; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.49; 好中球接着阻害 [%] = 96
【０２０４】
実施例1.3．タイプIcの分子：ジアミンからの二酸、４例
【化１８】



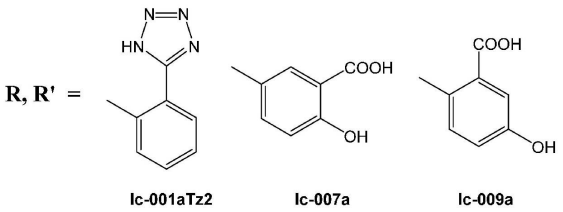
【０２０５】
スキーム６．R=R'であるタイプIcのアミドの合成
【化１９】



【０２０６】
手順：KI-6[3]、[4]、[5]からの基本手順を参照。
例：
【化２０】



【化２１】



【０２０７】
条件及び収率については以下の通りである：図4A～D参照。
【０２０８】
２８）N_1,N_4-ビス(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニル)-2,5-ジヒドロキシテレフタルアミド、化合物Ic-001aTz2：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.97分; m/z = 485.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.53 (s, 1H), 10.98 (s, 1H), 8.49 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 7.90 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.62 (ddd, J = 8.7, 7.4, 1.6 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.37 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{22}H_{17}N_{10}O_4$: 485.14287, found: 485.17274
バイオデータ：Ic-001aTz2: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 70; VEGF-A1 IC50 [μM] = 45; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =2.2; PMN ROS [阻害 at

0.3 μM [%] = 60.64; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 97.15; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 1.38; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 9.45; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.52; IL-9 IC50 [μM] = 9.13; IL-10 IC50 [μM] = 〉100; IL-12p70 IC50 [μM] = 29.1; IL-13 IC50 [μM] = 0.12; IL-17A IC50 [μM] = 0.31; IL-17F IC50 [μM] = 0.15; IL-18 IC50 [μM] = 33.9; IL-21 IC50 [μM] = 32; IL-33 IC50 [μM] = 0.23; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.1; TNFβ IC50 [μM] = 0.41.

【０２０９】

２９）5-(4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸、化合物Ic-007a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.80分; m/z = 469.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉91%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.08 (s, 2H), 7.65 (s, 2H), 7.59 (s, 2H), 7.30 - 6.89 (m, 5H), 6.79 (d, J = 8.8 Hz, 2H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 172.1, 165.2, 158.3, 150.1, 130.2, 129.2 (CH), 122.8, 122.6 (CH), 117.7 (CH), 117.3 (CH), 113.3.

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{22}H_{17}N_2O_{10}$: 469.08777, found: 469.08739

バイオデータ：Ic-007a: FGF-1 IC50 [μM] = 13; FGF-2 IC50 [μM] = 5.4; VEGF-A1 IC50 [μM] = 3.2; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.09; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 57.99; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.7; 好中球接着阻害 [%] = 57.5; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 1.44; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 〉100; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.09; IL-9 IC50 [μM] = 27.1; IL-10 IC50 [μM] = 12.5; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.49; IL-13 IC50 [μM] = 30.1; IL-17A IC50 [μM] = 0.04; IL-17F IC50 [μM] = 22.9; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 1.9; IL-33 IC50 [μM] = 18.4; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.27; TNFβ IC50 [μM] = 6.52

【０２１０】

ジメチルエステル：

UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.13分, m/z = 497.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 95%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.08 (s, 2H), 10.48 (s, 2H), 10.38 (s, 2H), 8.27 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 7.89 - 7.74 (m, 2H), 7.56 (s, 2H), 7.03 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 3.93 (s, 6H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{24}H_{21}N_2O_{10}$: 497.11907, found: 497.11874.

バイオデータ：Ic-007a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 23; FGF-2 IC50 [μM] = 49; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.25; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 21.33; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 7.9; 好中球接着阻害 [%] = 2

【０２１１】

Ic-007aの代替的な大規模合成

a) 5-(4-(3-メトキシカルボニル-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジベンジルオキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸メチルエステル

5Lフランジフラスコに、2,5-ビス(ベンジルオキシ)テレフタル酸(KI-6、141.00g、0.373mol)、塩化ベンジルトリエチルアンモニウム(850mg、3.73mmol、0.01当量)及びクロロホルム(2.5L)を充填した。次いで、それに窒素入口、温度計、均圧滴下漏斗、空のDreschelボトルへの出口及び水酸化ナトリウムバブラーを取り付けた。撹拌溶液を55℃に温め、塩化チオニル(59mL、0.802mol、2.15当量)を40分間かけて滴下添加した。溶液を55℃で6時間保持した後、一晩かけて室温に冷却した。アリコートをエタノール中で5分間超音波処理し、次いでLCMS分析により分析したところ、ジエチルエステルのみが示された。混合物を2つの丸底フラスコに移し、揮発性物質を減圧下で除去し;酸塩化物をトルエン(各フラスコ中800mL)と共沸させた。10Lのジャケット付き容器に、メチル5-アミ

ノ-2-ヒドロキシベンゾエート(137.00g、0.819mol、2.2当量)及びジクロロメタン(2.5L、18vol)を充填し、溶液を15℃に冷却した。酸塩化物をジクロロメタン(2.5L、18vol)に溶解し、撹拌した反応物に添加した。反応物は直ちに大量の固体を形成し、撹拌が困難になる；また、反応物は30℃まで発熱する。しかしながら、長時間撹拌すると、混合物はピンク色/紫色の微細な懸濁物になる。混合物を25℃で72時間撹拌した。懸濁物を濾過し、ジクロロメタン(2L、14vol)で洗浄し、得られた固体を減圧オーブン中で乾燥させて、240.00gの生成物(収率94%)を得た。

【０２１２】

b) 5-(4-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸、Ic-007a

鹸化：5Lの三つ口丸底フラスコに、新たに粉砕した5-(4-(3-メトキシカルボニル-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジベンジルオキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ-安息香酸メチルエステル(150.00g、0.22mol)及びイソプロパノール(1.5L、10vol)を充填した。混合物を50℃まで温め、水酸化テトラブチルアンモニウム(444mL、0.67mol、3当量)及び水(1.1L、7体積)を添加した。1時間後、一部の固体が残ったので、さらに60mLの水酸化テトラブチルアンモニウム溶液を水(120mL)と一緒に添加し、混合物を50℃で6時間撹拌し、次いで一晩かけて室温に冷却した。追加の水酸化テトラブチルアンモニウム(80mL)を添加し、固体が残らなくなるまで、混合物を60℃で1時間さらに撹拌した。

【０２１３】

水素化分解：反応物を脱気し(N_2で3サイクル)、次いで触媒(30.00g、10%Pd/C)を水(100mL)中のスラリーとして添加した。反応物をさらに脱気し(N_2で3サイクル、H_2で2サイクル)、H_2(バルーン圧)下、50℃で一晩置いた。反応物に水素を再充填し、50℃でさらに4時間保持し、その後、LCMS分析は反応の完了を示した。反応混合物を脱気し(N_2で3サイクル)、セライトパッドを通して濾過し、温水/イソプロパノール(1L、1：1、60℃)で洗浄した。体積を減圧下で約1.2Lに低減した。混合物を、水(約3L)を含む5Lフランジフラスコに移した。フラスコにオーバーヘッドスターラー(大型アンカータイプ)を取り付け、塩酸(35%)で酸性化した。添加中に、重い沈殿物が形成した。混合物を55℃で6時間加熱し、次いで72時間かけて室温に冷却した。混合物を濾過し、固体を1MHCl水溶液(3L)中でスラリー化し、50℃に3時間加熱した後、一晩かけて室温に冷却した。混合物を濾過し、1MHCl水溶液(2L)、水(1.5L)及びアセトン(1L)で洗浄した。固体を減圧オーブン中で乾燥させて、約5mol%のテトラブチルアンモニウム塩(NMR)がまだ混入している100.00gの生成物を得た。この固体を1M塩酸水溶液(3L)中、70℃で8時間撹拌し、次いで一晩かけて室温に冷却した。固体を濾過し、水で洗浄し、減圧オーブン中で乾燥させた。テトラブチルアンモニウムの量を約0.62モル%に低減した。(85.90g、収率82%)(褐色粉末)。

【０２１４】

３０）2-(2,5-ジヒドロキシ-4-(4-ヒドロキシ-2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)ベンズアミド)-5-ヒドロキシ安息香酸、化合物Ic-009a:

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.85分; m/z = 469.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 98%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.31 (s, 2H), 11.93 (s, 2H), 10.85 (s, 2H), 9.64 (s, 2H), 8.41 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.55 (s, 2H), 7.39 (d, J = 3.0 Hz, 2H), 7.03 (dd, J = 9.0, 3.0 Hz, 2H).

HRMS: calc. for $C_{22}H_{17}N_2O_{10}$: 469.08777, found: 469.08755

バイオデータ：Ic-009a: FGF-1 IC50 [μM] = 32; FGF-2 IC50 [μM] = 202; VEGF-A1 IC50 [μM] = 208; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 72.85; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 72.21

【０２１５】

ジメチルエステル：

UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.03分, m/z = 497.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 92%

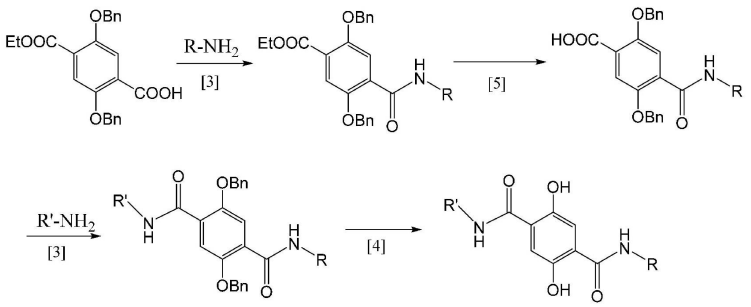
^1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.69 (s, 2H), 11.01 (s, 2H), 9.75 (s, 2H), 8.36 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.62 (s, 2H), 7.37 (d, J = 3.0 Hz, 2H), 7.07 (dd, J = 9.

0, 3.0 Hz, 2H), 3.87 (s, 6H).
HRMS: calc. for $C_{24}H_{21}N_2O_{10}$: 497.11907, found: 497.11913
バイオデータ：Ic-009a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 23; FGF-2 IC50 [μM] = 30; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.02; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 24.12; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 41.05

【０２１６】

スキーム７．R≠R'であるタイプIcのアミドの合成

【化２２】

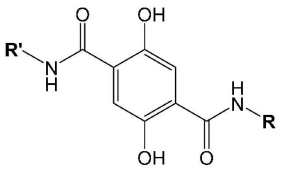


【０２１７】

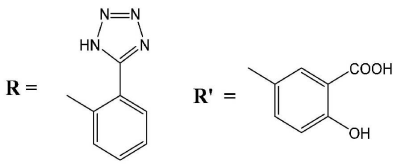
合成手順: KI-1からの基本手順を参照。

例：

【化２３】



【化２４】



【０２１８】

条件及び収率については以下の通りである：図4A～D参照。

【０２１９】

３１）5-(4-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸、化合物Ic-001aTz/004a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.40分; m/z = 477.2 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉 99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.92 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 8.47 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.98 - 7.88 (m, 1H), 7.76 (dd, J = 8.9, 2.8 Hz, 1H), 7.63 - 7.56 (m, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.37 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.9 Hz, 1H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{22}H_{17}N_6O_7$: 477.11532, found: 477.11475
バイオデータ：Ic-001a-Tz/004a: FGF-1 IC50 [μM] = 19; FGF-2 IC50 [μM] = 87; VEGF-A1 IC50 [μM] = 25; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =2.6; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 82.83; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 96.99; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 3.4; IFNγ IC50 [μM] = 0.61; IL-1β IC50 [μM] = 〉 100; IL-2 IC50 [μM] = 4.91; IL-4 IC50 [μM] = 〉 100; IL-5 IC50 [μM] = 〉 100; IL-6 IC50 [μM] = 3.04; IL-9 IC50 [μM] = 8.48; IL-10 IC50 [μM] = 1

9.5; IL-12p70 IC50 [μM] = 12.2; IL-13 IC50 [μM] = 1.5; IL-17A IC50 [μM] = 0.02; IL-17F IC50 [μM] = 2.4; IL-18 IC50 [μM] = 46.6; IL-21 IC50 [μM] = 0.3; IL-33 IC50 [μM] = 1.67; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.002; TNFβ IC50 [μM] = 3.02

【０２２０】

メチルエステル：

UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.06分, m/z = 491.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 89%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.55 (s, 1H), 10.90 (s, 1H), 10.45 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.47 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.91 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 8.9, 2.7 Hz, 1H), 7.63 (ddd, J = 8.7, 7.4, 1.6 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.38 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.93 (s, 4H).

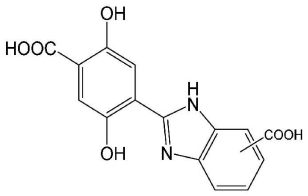
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{23}H_{19}N_6O_7$: 491.13097, found: 491.13071

バイオデータ：Ic-001a-Tz/004a-E1: FGF-1 IC50 [μM] = 104; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 35; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.1; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 73.97; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 97.56

【０２２１】

実施例1.4．タイプIdの分子：ベンズイミダゾール結合型、１例

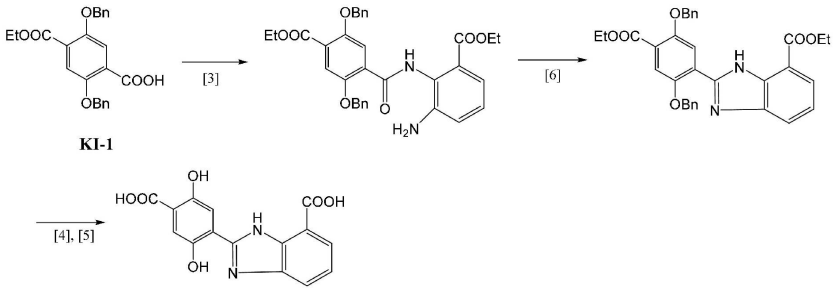
【化２５】



【０２２２】

スキーム８．タイプIdの化合物の合成

【化２６】



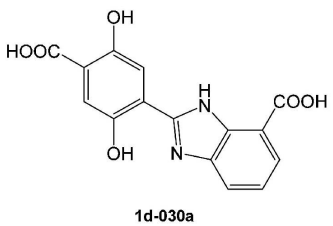
【０２２３】

合成手順：KI-1[3]、[4]、[5]からの基本手順を参照。

環化工程：図4A～Dを参照。

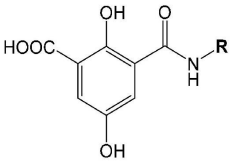
例：

【化２７】

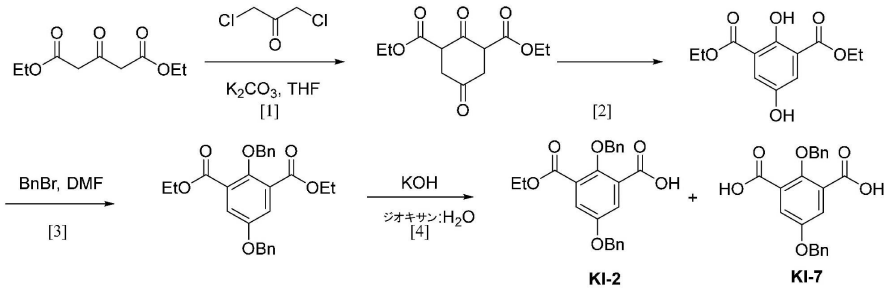


1d-030a

【０２２４】
３２）2-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-カルボン酸、化合物Id-030a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.99分; m/z = 313.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.10 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.68 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H)
バイオデータ：DMSO中で不安定
【０２２５】
エチルメチルエステル：
UPLC-MS (酸性法, 4分): r.t = 2.09分, m/z = 357.1 [M+H]$^+$, ピーク面積 〉 89%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6+D_2O 10%) δ 7.97 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.90 - 7.83 (m, 2H), 7.44 - 7.36 (m, 2H), 4.35 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 1.33 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{18}H_{17}N_2O_6$: 357.10811, found: 357.10827
バイオデータ：Id-030a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 115; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.33; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 0; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0; 好中球接着阻害 [%] = 43
【０２２６】
実施例1.5．タイプIIaの分子：モノアミド、16実施例
【化２８】



【０２２７】
前駆体の合成
スキーム9a．中間体KI-2及びKI-7の合成
【化２９】



【０２２８】
手順：
KI-2及びKI-7の合成
2,6-ジ(エトキシカルボニル)シクロヘキサン-1,4-ジオン[工程1][参考文献：Rodriguezら，Synth. Comm. 28 (1998) 2259-69]：THF(500mL)中の1,3-ジクロロアセトン(12.5g、0.1mol)を、THF(1L)中のジエチル1,3-アセトンジカルボキシレート(18mL、0.1mol)及び炭酸カリウム-325メッシュ(21.5g、0.15mol)の懸濁物に還流温度で30分間かけて滴下添加した。２時間後、反応が完了し、混合物を室温に冷却し、次いでCelite(登録商標)を通して濾過し；固体残渣をTHF(200mL)で洗浄し、次いで溶媒を減圧下で除去した。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc 0～20%)により精製して、表題の化合物(9.3g、収率37%)を得た。
【０２２９】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.01分; m/z = 257.1 $[M+H]^-$, ピーク面積 〉74%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) エノール及びシス/トランスアイソマーの複雑な混合物 δ12.10 (s), 4.23 (q, J = 7.1 Hz), 4.11 (m), 3.85 - 3.77 (m), 3.70 (s), 3.10 - 2.89 (m), 2.89 - 2.80 (m), 2.62 - 2.58 (m), 1.25 (t, J = 7.1 Hz), 1.22 - 1.15 (m, 9H).

【０２３０】

2,5-ジヒドロキシイソフタル酸ジエチル[工程2]：
1668040188778_32
AcOH(17mL)中の2,6-ジ(エトキシカルボニル)-シクロヘキサン-1,4-ジオン(5.0g、20mmol)の撹拌溶液に、室温で、NBS(3.5g、20mmol)を30分かけて分割して添加した。さらに20分後、水(100ml)を加えて反応をクエンチした。所望の生成物を固体として分離した。濾過及び乾燥後、表題の化合物を白色固体として単離した(4.6g、収率93%)。

【０２３１】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.00分; m/z = 253.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉90%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.85 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 7.39 (s, 2H), 4.32 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.31 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

【０２３２】

ジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタレート[工程３]：DMF(83mL)中の2,5-ジヒドロキシイソフタル酸ジエチル(19.0g、75mmol)及び炭酸カリウム-325メッシュ(82.6g、598mmol)の懸濁物に、臭化ベンジル(43.0mL、362mmol)を10分かけて滴下添加した。反応混合物を100℃で2時間加熱した。室温に冷却した後、溶媒を減圧下で除去した。次いで、水(500mL)を残渣に添加した。混合物をEtOAc(3×250mL)で抽出し、集めた有機層を塩水(300mL)で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、次いで減圧下で濃縮した。粗物質をフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc 0～15%)により精製して、表題の化合物(29.4g、収率90%)を得た。

【０２３３】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.38分; m/z = 435.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉90%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.50 (s, 2H), 7.49 - 7.45 (m, 2H), 7.44 - 7.37 (m, 5H), 7.37 - 7.29 (m, 3H), 5.17 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

【０２３４】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-2)[工程4]：水(66mL)中の水酸化カリウム(4.4g、79mmol)の溶液を、1,4-ジオキサン(430mL)中のジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタレート(31.3g、72mmol)の溶液に迅速に添加した。反応混合物を室温で1.5時間撹拌した。1,4-ジオキサンを減圧下で除去し、次いでNa_2CO_3の飽和水溶液(1L)を添加し、水層をEtOAc(3×500mL)で抽出し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を、溶離液としてヘキサン/EtOAc(1/1)、次いでEtOAc(1%v/v AcOH)を使用したシリカパッドでの濾過により精製して、2つの異なる画分を得た。

【０２３５】

出発物質：ジエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタレート(20.4g、収率65%)
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.38分; m/z = 435.2 $[M+H]^+$, ピーク面積〉78%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.50 (s, 2H), 7.49 - 7.45 (m, 2H), 7.44 - 7.37 (m, 5H), 7.37 - 7.29 (m, 3H), 5.17 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

【０２３６】

所望の生成物2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(エトキシカルボニル)安息香酸を白色のふわふわした固体として得た(KI-2)(3.5g、収率12%)。
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.22分; m/z = 405.1 $[M-H]^-$, ピーク面積〉90%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.30 (s, 1H), 7.48 (t, J = 3.0 Hz, 2H), 7.46 - 7.42 (m, 5H), 7.39 (m, 3H), 7.37 - 7.31 (m, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.

25 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

次いで、元のNa_2CO_3飽和水溶液を、濃塩酸を用いてpH約7に酸性化した。次いで、EtOAc(2×500mL)で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、KI-2及びKI-7の混合物(3.0g、収率11%)を得た。

【０２３７】

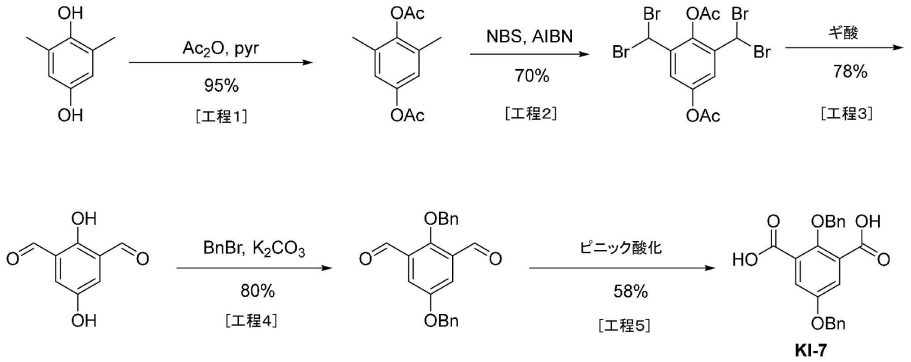
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.00分; m/z = 377.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 25%, rt = 1.22分; m/z = 405.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 56%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.23 (s, 2H), 7.52 - 7.29 (m, 12H), 5.17 (s, 2H), 4.97 (s, 2H).

【０２３８】

スキーム9b：KI-7の代替合成

【化３０】



【０２３９】

2,6-ジメチル-1,4-フェニレンジアセテート[工程1]：ピリジン(10mL)中の2,6-ジメチルハイドロキノン(5.0g、36mmol)の撹拌溶液に、無水酢酸(10mL)を迅速に添加した。当該溶液を室温で18時間攪拌した。次いで、溶媒を減圧下で除去し、残渣をEtOAc(250mL)で溶解し、続いて、塩酸水溶液(1M、250mL)、$NaHCO_3$飽和水溶液(250mL)及び水(250mL)で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、溶媒を減圧下で除去して、表題の化合物(7.4g、92%)を白色固体として得た。

【０２４０】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.07分; m/z = 240.2 $[M+NH_4]^+$, ピーク面積 〉 90%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6.88 (H_{Ar}, 2H), 2.37 - 2.30 (m, 3H), 2.27 - 2.21 (m, 3H), 2.12 - 2.02 (m, 6H).

【０２４１】

2,6-ビス(ジブロモメチル)-1,4-フェニレンジアセテート[工程2]：1,2-ジクロロエタン(130mL)中の2,6-ジメチル-1,4-フェニレンジアセテート(6.34g、29mmol)の撹拌溶液に、2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオニトリル)(AIBN)(0.93g、6mmol)及びN-ブロモスクシンイミド(NBS)(25.39g、143mmol)を順次添加した。追加の2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオニトリル)(AIBN)(0.93g、6mmol)及びN-ブロモスクシンイミド(NBS)(5.08g、28.6mmol)を添加し、反応混合物を還流下でさらに24時間撹拌した。反応物を室温に冷却し、残留固体を濾過によって除去し、DCM(250mL)で洗浄した。濾液を炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(250mL)、塩酸水溶液(1M、250mL)及び塩水(250mL)で洗浄した。次いで、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、表題の化合物(9.38g、61%)を橙色油状物として得た。

【０２４２】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.23分; m/z = 553.1 $[M+NH_4]^+$, ピーク面積 〉 88%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.69 (s, 2H), 7.31 (s, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.32 (s, 3H).

【０２４３】

2,5-ジヒドロキシイソフタルアルデヒド[工程３]：蟻酸(50mL)中の2,6-ビス(ジブロモ

メチル)-1,4-フェニレンジアセテート(3.89g、7.23mmol)の撹拌懸濁物に、水(5mL)を添加した。混合物を還流下で18時間撹拌した。次いで、反応混合物を炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(300mL)にゆっくりと注いだ。次いで、形成された沈殿物を濾過によって単離して、表題の化合物(0.94g、78%)を褐色固体として得た。

【０２４４】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.74分; m/z = 165.0 $[M-H]^-$, ピーク面積〉98%

【０２４５】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタルアルデヒド[工程4]：炭酸カリウム-325メッシュ(2.34g、17.0mmol)を、周囲温度でDMF(6mL)中の2,5-ジヒドロキシイソフタルアルデヒド(0.94g、5.7mmol)の撹拌溶液に添加した。次いで、臭化ベンジル(2.0mL、17.0mmol)を反応フラスコに添加し、得られた混合物を100℃で18時間加熱した。反応混合物を周囲温度に冷却し、塩化アンモニウム飽和水溶液(100mL)で処理した。得られた懸濁物を30分間撹拌し、次いで濾過した。固体物質を飽和塩化アンモニウム水溶液(2×50mL)で洗浄した。次いで、固体をエタノール(5mL)でトリチュレートし、吸引により乾燥させて、所望の生成物を褐色固体(1.58g、68%)として得た。

【０２４６】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.28分, イオン化観察されず, ピーク面積78%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.14 (s, 2H), 7.63 (s, 2H), 7.53 - 7.28 (m, 10H), 5.23 (s, 2H), 5.21 (s, 2H).

【０２４７】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタル酸(KI-7)[工程5]：2,5-ビス(ベンジルオキシ)イソフタルアルデヒド(1.58g、4.5mmol)をTHF中の2-メチル-2-ブテン溶液(2.0M、25mL)に溶解した。次いで、水(25mL)中の亜塩素酸ナトリウム(5.1g、45.0mmol)及びリン酸二水素カリウム(4.6g、33.8mmol)の溶液を添加し、反応混合物を室温で18時間撹拌した。次いで、反応混合物を$NaHCO_3$飽和水溶液(400mL)に注いだ。水層をEtOAc(3×100mL)で洗浄し、続いて濃塩酸(pH約１)で酸性化した。次いで、水層をDCM(2×150mL)及びEt_2O(2×200mL)で抽出し、集めた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。次いで、残渣をn-ペンタン(3×50mL)でトリチュレートして、表題の化合物KI-7を白色固体(0.98g、58%)として得た。

【０２４８】

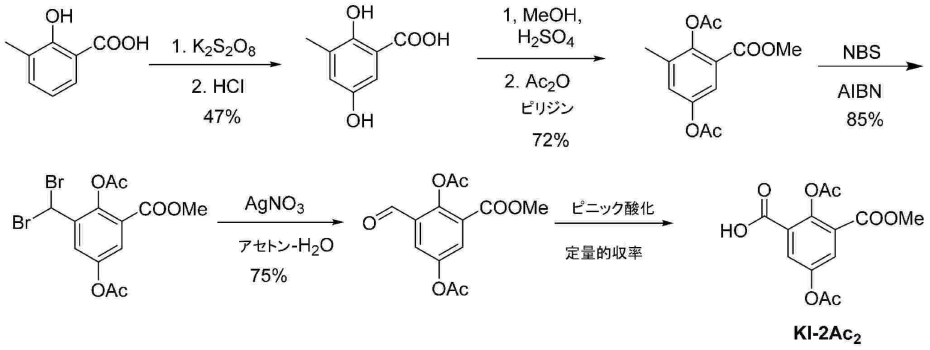
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.03分, m/z = 379.1 $[M+H]^+$, ピーク面積〉96%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.23 (s, 2H), 7.57 - 7.28 (m, 12H), 5.17 (s, 2H), 4.97 (s, 2H).

【０２４９】

スキーム9c：KI-2Ac_2の合成

【化３１】



【０２５０】

メチル2,5-ジアセトキシ-3-メチルベンゾエート3-メチルサリチル酸を、Nudenbergら(J. Org. Chem. 1943, 8, 500-508)によって報告されているように、過硫酸塩で酸化した。3-メチルサリチル酸(15.0 g, 98.6 mmol)を、水(37.5 mL)中水酸化ナトリウム(15.

0 g, 375 mmol, 3.8 eq.)の溶液に溶解した。

【０２５１】

3-メチルサリチル酸(15.0g、98.6mmol)を、水(37.5mL)中の水酸化ナトリウム(15.0g、375mmol、3.8当量)の溶液に溶解した。淡褐色溶液を20℃に冷却し、撹拌しながら、7.75mL部の40%水酸化ナトリウム及び33.8mL部の10%過硫酸カリウム溶液で、当該水酸化物から開始して、30～35℃の温度が維持されるような速度で、各々10部が添加されるまで処理した。添加が完了した後、撹拌を1時間継続し、混合物を室温で16～20時間放置し、次いで濃HClを青色がコンゴー(Congo)になるまで添加した。未反応の3-メチルサリチル酸をこの時点で固体として分離し、濾過により除去した。濾液をエーテルで数回(5×50mL)抽出して、残りの3-メチルサリチル酸を回収した。次いで、水溶液を濃HCl(100mL)で処理し、その後、2時間還流して中間体の一硫酸塩を分解した。温かい溶液を室温に冷却し、沈殿したほとんど黒色の結晶性固体を濾過し、水で洗浄し、乾燥させた。水性濾液をエーテルで抽出して、追加バッチの2,5-ジヒドロキシ-3-メチル安息香酸を褐色固体として得た(合計：7.71g、47%)。Mp 212-214℃;^{1}H NMR (250 MHz, DMSO): δ 10.94 (br. s., 1H), 7.00 (dd, J = 3.0及び0.75, 1H$_{ar}$), 6.86 (dd, J = 3.0及び0.75, 1H$_{ar}$), 2.12 (s, 3H).

【０２５２】

エステル化濃硫酸(0.7mL)を、0℃で且つ窒素下で、MeOH(7mL)中の2,5-ジヒドロキシ-3-メチル安息香酸(2.05g、12.2mmol)の溶液に注意深く添加した。次いで、反応混合物を100℃で6時間撹拌した。室温に冷却した後、溶媒を減圧下で除去した。得られた粗生成物を酢酸エチル(50mL)に溶解し、溶液を水(20mL)、10%$NaHCO_3$水溶液(20mL)、5%HCl水溶液(20mL)及び塩水(20mL)で洗浄し、次いで乾燥させた($MgSO_4$)。濾過後、有機層を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル=9/1)により精製して、メチル2,5-ジヒドロキシ-3-メチルベンゾエートを白色固体(370mg、75%)として得た。Mp 101-103℃; ^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ 10.56 (d, J = 0.50 Hz, 1H), 7.12 (dd, J = 3.25及び0.50 Hz, 1H$_{ar}$), 6.90 (dt, J = 3.00及び0.50 Hz, 1H$_{ar}$), 4.45 (s, 3H), , 2.24 (s, 3H); HRMS (ESI$^+$): m/z calcd for $C_9H_{11}O_4[M+H]^+$: 183.0652; found 183.0651.

【０２５３】

アセチル化過剰の無水酢酸(10mL)を、ピリジン(10mL)中のメチル2,5-ジヒドロキシ-3-メチル-ベンゾエート(4.43g、24.3mmol)の溶液にアルゴン下で添加した。室温で12時間撹拌した後、ピリジン及び無水酢酸を、減圧下でトルエン(25mL)と共蒸発させることによって取り除いた。次いで、粗生成物を酢酸エチル(15mL)に溶解し、溶液を、2%HCl水溶液(5mL)、$NaHCO_3$飽和水溶液(5mL)及び塩水(5mL)で続けて洗浄した。有機相を乾燥させ($MgSO_4$)、溶媒を減圧下で蒸発させた。得られた無色油状物をシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル=8/2)により精製して、アセチル化した表題の生成物(2,5-アセトキシ-3-メチル-ベンゾエート)を白色固体(6.25g、97%)として得た。Mp 69-71℃; ^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ 7.58 (dd, J = 3.00及び0.50 Hz, 1H$_{ar}$), 7.18 (dd, J = 3.00及び0.75 Hz, 1H$_{ar}$), 3.85 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.22 (s, 3H); HRMS (ESI$^+$): m/z calcd for $C_{13}H_{18}NO_6[M+NH_4]^+$: 284.1129; found 284.1128.

【０２５４】

メチル2,5-ジアセトキシ-3-ジブロモメチルベンゾエート四塩化炭素(45mL)中のメチル2,5-アセトキシ-3-メチル-ベンゾエート(2.15g、8.08mmol)、N-ブロモスクシンイミド(2.87mg、16.2mmol、2.0当量)及びアゾビスイソブチロニトリル(AIBN、27.0mg、0.162mmol、0.02当量)の溶液を、白色固体が表面上に浮くまで約12時間還流した。冷却後、混合物を濾過し、次いで濾液を減圧下で濃縮した。得られた無色油状物をシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル=9/1)により精製して、二臭素化生成物を白色固体(3.29g、84%)として得た。Mp 117-119℃; ^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ 7.86 (d, J = 2.75 Hz, 1H$_{ar}$), 7.78 (d, J = 2.75 Hz, 1H$_{ar}$), 6.81 (s,

1H), 3.86 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.33 (s, 3H);HRMS (ESI^+): m/z calcd for $C_{13}H_{12}Br_2NaO_6$ $[M+Na]^+$: 444.8893; found 444.8896.

【０２５５】

メチル2,5-ジアセトキシ-3-ホルミルベンゾエートアセトン-H_2O混合物(4.7:1、40mL)中のメチル2,5-ジアセトキシ-3-ジブロモ-メチルベンゾエート(2.30g、5.42mmol)及び硝酸銀(2.29g、13.5mmol、2.5当量)の溶液を室温及び暗所で12時間撹拌した。次いで、混合物を濾過し、濾液を酢酸エチル(2×20mL)で抽出した。合わせた有機相を塩水(5mL)で洗浄し、乾燥させ($MgSO_4$)、減圧下で濃縮した。このようにして得られた無色油状物をシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル=9/1)により精製して、アルデヒドを黄色固体(1.14g、75%)として得た。Mp 102-104℃; 1H NMR (250 MHz, CDCl3): δ 10.17 (s, 1H), 8.00 (d, J = 3.00 Hz, 1Har), 7.82 (d, J = 3.00 Hz, 1Har), 3.90 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H).

【０２５６】

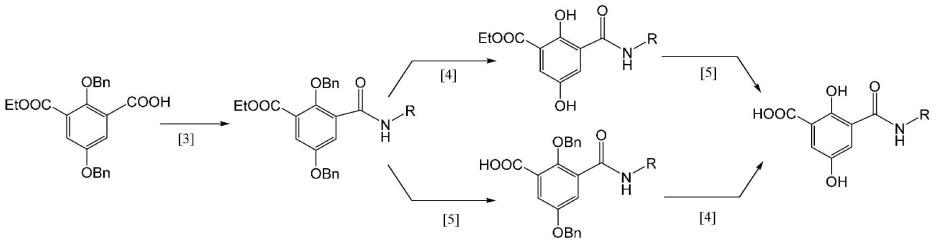
2,5-ジアセトキシイソフタル酸モノメチルエステル(KI-2Ac_2)水(3.5mL)中のリン酸水素ナトリウム(1.35g、9.81mmol、2.5当量)の溶液を、DMSO(14mL)中のメチル2,5-ジアセトキシ-3-ホルミルベンゾエート(1.10g、3.93mmol)の溶液に滴下添加した。次いで、混合物を0℃に冷却し、水(3.5mL)中の亜塩素酸ナトリウム(1.06g、9.34mmol、2.4当量)の溶液をゆっくり添加した。室温で72時間撹拌した後、混合物を$NaHCO_3$飽和水溶液(10mL)でクエンチし、酢酸エチル(2×30mL)で抽出した。次いで、水相を1MHClでpH=1に酸性化し、酢酸エチル(2×30mL)で抽出した。合わせた有機相を塩水(5mL)で洗浄し、乾燥させ($MgSO_4$)、減圧下で濃縮した。得られた橙色油状物を精製せずに次の工程で使用した。

【０２５７】

モノアミドの合成

スキーム10．モノアミドIIaの合成

【化３２】



【０２５８】

プロトコル：モノアミドの合成

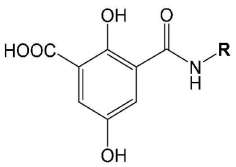
アミドカップリング及び脱保護手順。

KI-1及びKI-6、工程[3]、[4]、[5]からの基本手順、KI-2、KI-2Ac_2及びKI-7からの同手順を参照。

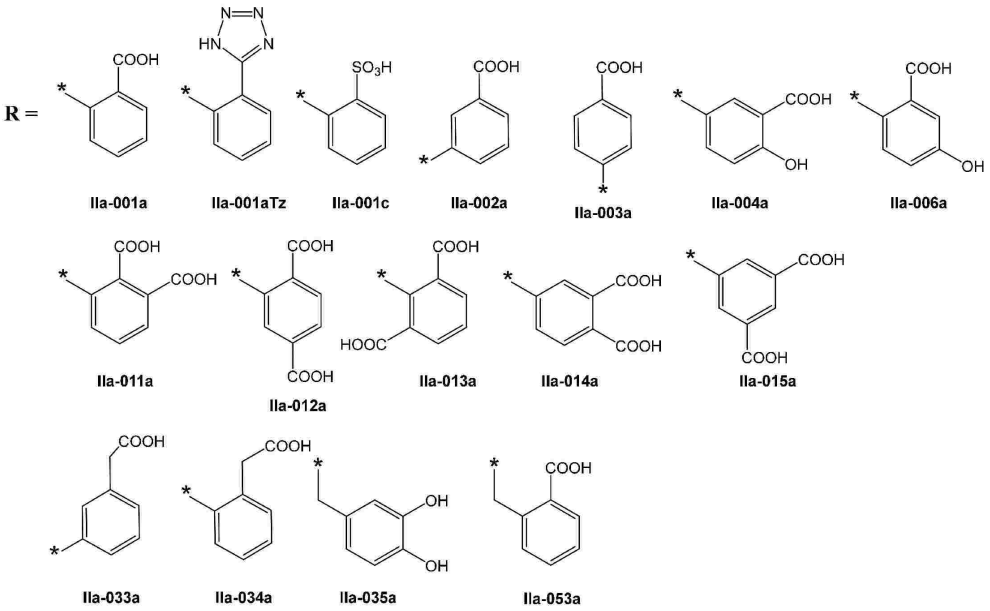
【０２５９】

例

【化３３】



【化３４】



【０２６０】

条件及び収率については以下の通りである：表２(図５A～C)を参照。

【０２６１】

３３）3-(2-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-001a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.86分; m/z = 318.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉92%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.49 (s, 1H), 12.16 (s, 1H), 9.54 (s, 1H), 8.70 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.70 - 7.51 (m, 2H), 7.42 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.20 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}NO_7$: 318.06083, found: 318.06082

バイオデータ：IIa-001a: FGF-1 IC50 [μM] = 8.6; FGF-2 IC50 [μM] = 11; VEGF-A1 IC50 [μM] = 150; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 30.5; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.408; 好中球接着阻害 [%] = 36.24

【０２６２】

３４）3-(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-001aTz：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.71分; m/z = 342.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉99%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.40 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 8.51 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.72 - 7.51 (m, 2H), 7.51 - 7.26 (m, 2H)

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}N_5O_5$: 342.08329, found: 342.08317

バイオデータ：IIa-001a-Tz: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 9.8; VEGF-A1 IC50 [μM] = 187; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 74.15; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 24.18

【０２６３】

エチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.46分; m/z = 370.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉92%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.51 (s, 1H), 11.37 (s, 1H), 9.63 (s, 1H), 8.47 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.92 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.66 -7.57 (m, 2H), 7.43 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.38 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 4.40 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, 3H),

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{17}H_{16}N_5O_5$: 370.11460, found: 370.11444

バイオデータ：IIa-001aTz-E1: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 42;

VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 68.86; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 81.94

【０２６４】

３５）2,5-ジヒドロキシー3-(2-スルホフェニルアミノカルボニル)安息香酸、化合物IIa-001c：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.63分; m/z = 354.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 80%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.18 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.34 - 8.27 (m, 1H), 7.72 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.41 - 7.31 (m, 2H), 7.08 (td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{14}H_{12}NO_8S$: 354.02781, found: 354.02781

バイオデータ：IIa-001c: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 71; VEGF-A1 IC50 [μM] = 283; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 72.62; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 43.53

【０２６５】

３６）3-(3-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-002a：

^{1}H NMR (250 MHz, CD_3OD): δ 8.37 (t, 1H), 7.93 (br d, 1H), 7.81 (br d, 1), 7.76 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.48 (t, 1H).

HRMS (ESI-): $[M-H]^-$, calc. for $C_{15}H_{10}NO_7$: 316.0461, found: 318.0463

バイオデータ：IIa-002a: FGF-1 IC50 [μM] = 19; FGF-2 IC50 [μM] = 131; VEGF-A1 IC50 [μM] = 150; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 43.3; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.299; 好中球接着阻害 [%] = 17.39

【０２６６】

３７）3-(4-カルボキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸)アミド、化合物IIa-003a：

^{1}H NMR (250 MHz, CD_3OD): δ 8.06 (BB’ of AA’BB’, 2H), 7.85 (AA’ of AA’BB’, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.58 (d, 1H)

HRMS (ESI-): calcd for $C_{15}H_{10}NO_7[M-H]^-$: 316.0461; found 316.0462

バイオデータ：IIa-003a: FGF-1 IC50 [μM] = 22; FGF-2 IC50 [μM] = 13; VEGF-A1 IC50 [μM] = 150; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =2.5; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 59.3; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 35.27

【０２６７】

３８）3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-004a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.76分; m/z = 334.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 99%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 14.02 (brs, 1H), 11.07 (brs, 1H), 10.32 (s, 1H), 9.47 (brs, 1H), 8.27 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 8.9, 2.7 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.9 Hz, 1H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}NO_8$: 334.05574, found: 334.05571

バイオデータ：IIa-004a: FGF-1 IC50 [μM] = 47; FGF-2 IC50 [μM] = 33; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 63.5; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.002; 好中球接着阻害 [%] = 36

【０２６８】

３９）3-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-006a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.65分; m/z = 334.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 99%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.36 (s, 1H), 11.83 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.47 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 9.1, 3.0 Hz, 1H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{15}H_{12}NO_8$: 334.05574, found: 334.05548

バイオデータ：IIa-006a: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 43; VEGF-A1 IC50 [μM] = 121; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =2.9; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 84.29; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 20.29

【０２６９】

４０）3-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸、化合物IIa-011a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.72分; m/z = 360.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉77%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.83 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 8.43 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.63 - 7.53 (m, 2H), 7.46 (d, J = 3.3 Hz, 1H),

HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05066, found: 362.05045,

バイオデータ：IIa-011a: FGF-1 IC50 [μM] = 141; FGF-2 IC50 [μM] = 123; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 58.1; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.18; 好中球接着阻害 [%] = 26

【０２７０】

４１）2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)テレフタル酸、化合物IIa-012a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.73分; m/z = 362.0 [M+H], ピーク面積 〉97%

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ: 13.81 (s, 1H), 13.34 (s, 1H), 12.23 (s, 1H), 9.50 (s, 1H), 9.30 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (dd, J = 8.2, 1.7 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 3.3 Hz, 1H),

HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05066, found: 362.05046,

バイオデータ：IIa-012a: FGF-1 IC50 [μM] = 150; FGF-2 IC50 [μM] = 150; VEGF-A1 IC50 [μM] = 32; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =3.31; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 44.8; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.313; 好中球接着阻害 [%] = 7.5

【０２７１】

４２）2-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸、化合物IIa-013a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.68分; m/z = 362.0 [M+H]$^+$, ピーク面積 〉96%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.12 (brs, 3H), 11.71 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.66 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.8 Hz, 1H).

HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05066, found: 362.05047

バイオデータ：IIa-013a: FGF-1 IC50 [μM] = 137; FGF-2 IC50 [μM] = 12; VEGF-A1 IC50 [μM] = 34; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 57.68; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.54; 好中球接着阻害 [%] = 15.75

【０２７２】

４３）4-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)フタル酸、化合物IIa-014a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.63分; m/z = 362.1 [M+H]$^+$, ピーク面積 〉88%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.80 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.01 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.86 (dd, J = 8.5, 2.2 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.45 - 7.33 (m, 2H),

HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{12}NO_9$: 362.05066, found: 362.05048

バイオデータ：IIa-014a: FGF-1 IC50 [μM] = 40; FGF-2 IC50 [μM] = 61; VEGF-A1 IC50 [μM] = 91; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =17.6; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 73.94; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 21.5

【０２７３】

４４）5-(3-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸、化合物IIa-015a：

^{1}H NMR (250 MHz, CD_3OD): δ 8.60 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 8.44 (t, J = 1.5 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 3.2 Hz, 1)

HRMS (ESI+): m/z calcd for C16H12NO9 [M+H]+: 362.0507; found 362.0505 [LM-163]

バイオデータ：IIa-015a: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 125; VEGF-A1 IC50 [μM] = N.D.; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = N.D.; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = N.D.

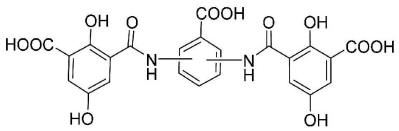
【０２７４】
４５）(3-(3-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-033a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.78分; m/z = 330.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉 98%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.40 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 7.66 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.63 - 7.57 (m, 1H), 7.45 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.29 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.05 - 6.95 (m, 1H), 3.56 (s, 2H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07648, found: 332.07644,
バイオデータ：IIa-033a: FGF-1 IC50 [μM] = 35; FGF-2 IC50 [μM] = 32; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =4.9; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 50.64; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.914; 好中球接着阻害 [%] = 11.75
【０２７５】
４６）3-(2-(カルボキシメチル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-034a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.74分; m/z = 332.0 [M+H]$^+$, ピーク面積 〉 95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.48 (s, 1H), 10.65 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.33 - 7.26 (m, 2H), 7.13 (td, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 3.70 (s, 2H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07648, found: 332.07653
バイオデータ：IIa-034a: FGF-1 IC50 [μM] = 22; FGF-2 IC50 [μM] = 5.7; VEGF-A1 IC50 [μM] = 86; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =100; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 69.2; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 26.58
【０２７６】
ジエチルエステル
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.12分; m/z = 388.1 [M+H]$^+$, ピーク面積 〉 99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.81 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 7.77 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.36 - 7.31 (m, 2H), 7.20 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 4.39 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.05 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.77 (s, 2H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.13 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{20}H_{22}NO_7$: 388.13907, found: 388.13887
バイオデータ：IIa-034a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 164; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 68.73; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 11.86
【０２７７】
４７）3-(3,4-ジヒドロキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-035a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.69分; m/z = 318.0 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉 99%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.38 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.55 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 4.34 (d, J = 5.7 Hz, 2H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{15}H_{14}NO_7$: 320.07647, found: 320.07625.
バイオデータ：IIa-035a: FGF-1 IC50 [μM] = 16; FGF-2 IC50 [μM] = 61; VEGF-A1 IC50 [μM] = 45; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.52; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 76.99; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1; 好中球接着阻害 [%] = 36.67
【０２７８】
４８）3-(2-カルボキシフェニルメチルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIa-053a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.08分; m/z = 332.0 [M+H]$^+$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ: 13.13 (brs, 1H), 12.73 (brs, 1H), 9.40 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 7.91 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.65 - 7.29 (m, 5H), 4.80 (d, J = 6.1 Hz, 2H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07648, found: 332.07626
バイオデータ：IIa-053a: FGF-1 IC50 [μM] = 84; FGF-2 IC50 [μM] = 18; VEGF-A 1 IC50 [μM] = 37; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.27; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 63.13; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.62; 好中球接着阻害 [%] = 20; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 1.04; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 1.67; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 2.2; IL-9 IC50 [μM] = 1.41; IL-10 IC50 [μM] = 〉100; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.27; IL-13 IC50 [μM] = 29.9; IL-17A IC50 [μM] = 〉100; IL-17F IC50 [μM] = 28.8; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 〉100; IL-33 IC50 [μM] = 12.1; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.02; TNFβ IC50 [μM] = 91.5.

【０２７９】

実施例1.6．タイプIIbの分子：ジアミンからのジアミド、１例

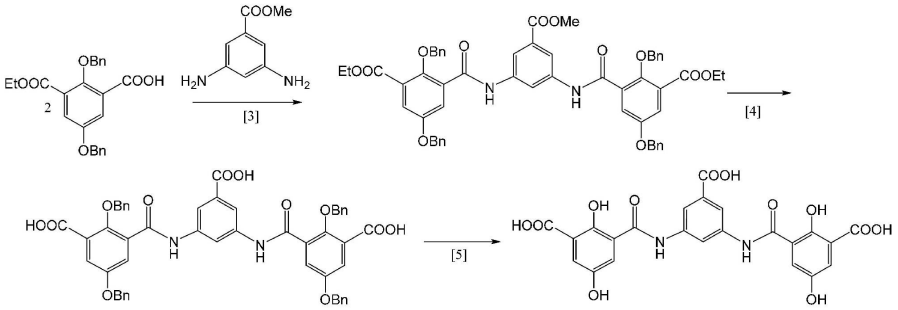
【化３５】



【０２８０】

スキーム11．タイプIIbのジアミドの合成

【化３６】



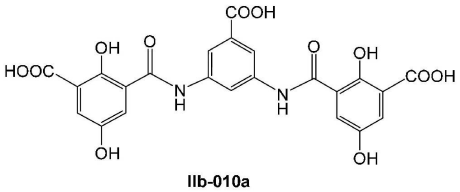
【０２８１】

手順：KI-1[3]、[4]、[5]からの基本手順を参照。

【０２８２】

例えば：

【化３７】



IIb-010a

【０２８３】

条件及び収率については以下の通りである：表２(図５A～C)を参照。

【０２８４】

４９）3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシベンゾイルアミノ)安息香酸、化合物IIb-010a：

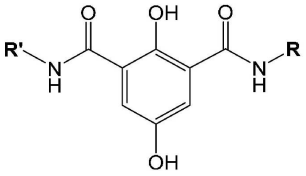
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.98分; m/z = 511.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉93%
^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.81 (s, 2H), 10.65 (s, 2H), 8.38 (m, 1H), 8.12 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 2.3 Hz, 4H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{23}H_{17}N_2O_{12}$: 513.07760, found: 513.07774

バイオデータ：IIb-010a: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 102; VEGF-A1 IC50 [μM] = 28; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 81.87; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 59.84

【０２８５】

実施例1.7．タイプIIcの分子：ジアミンからの二酸、2例

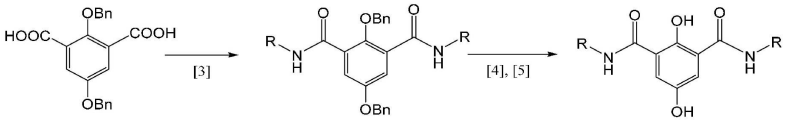
【化３８】



【０２８６】

スキーム12．R=R'であるタイプIIcのアミドの合成

【化３９】

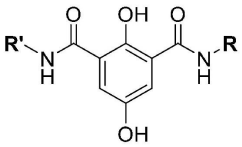


【０２８７】

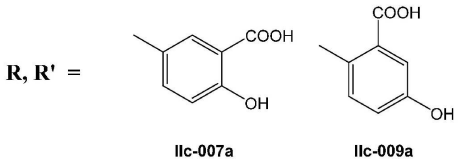
手順：KI-6[3]、[4]、[5]からの基本手順を参照。

例えば

【化４０】



【化４１】



IIc-007a IIc-009a

【０２８８】

条件及び収率については以下の通りである：表２(図５A～C)を参照。

【０２８９】

５０）5-(3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸、化合物IIc-007a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.20分; m/z = 469.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 91%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.41 (s, 2H), 9.51 (s, 1H), 8.22 (d, J = 2.7 Hz, 2H), 7.79 (dd, J = 9.0, 2.7 Hz, 2H), 7.58 (s, 2H), 6.98 (d, J = 8.9 Hz, 2H),

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 172.1, 166.1, 158.3, 152.0, 149.4, 130.2, 129.5 (CH), 122.8 (CH), 120.3, 119.8 (CH), 117.7 (CH). 113.0.

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{22}H_{17}N_2O_{10}$: 469.08777, found: 469.08803

バイオデータ：IIc-007a: FGF-1 IC50 [μM] = 11; FGF-2 IC50 [μM] = 91; VEGF-A1 IC50 [μM] = 8.2; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.44; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 93.04; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 64.61; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 26; IFNγ IC50 [μM] = 0.11; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 12.8; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉1

00; IL-6 IC50 [μM] = 0.05; IL-9 IC50 [μM] = 2.14; IL-10 IC50 [μM] = 17.9; IL-12p70 IC50 [μM] = 3.37; IL-13 IC50 [μM] = 0.25; IL-17A IC50 [μM] = 0.01; IL-17F IC50 [μM] = 0.26; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 9.41; IL-33 IC50 [μM] = 0.18; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.03; TNFβ IC50 [μM] = 0.29

【０２９０】

IIc-007aの代替的な大規模合成

2,5-ジベンジルオキシイソフタル酸(KI-7)

5Lのジャケット付き容器に、2,5-ジベンジルオキシイソフタルアルデヒド(スキーム9b)(300g、866mmol)、レゾルシノール(286g、2.60mol)、KH_2PO_4(354g、2.60mol)、アセトン(1.5L)及び水(516ml)を充填した。スラリーを15～25℃で撹拌した。水(1L)中の80%$NaClO_2$(294g、2.60mol)の溶液を15～30℃で90分かけて充填した(発熱)。添加が完了した後、反応物を15～25℃で1時間撹拌した。水(1175ml)中の85%H_3PO_4(85ml、1.24mol)の溶液[約1M]を、T〈30℃(発熱)で10分間かけて充填し、沈殿物を得た。バッチを0～5℃に冷却し、濾過した。固体を水(3×1.2L)で洗浄し、オーブン乾燥させて(50℃)、325.6gの二酸KI-7を得た。 HPLC: 98.9%; NMR 〉95%. 補正収率(90.6%)。

【０２９１】

5-(3-(3-メトキシカルボニル-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジベンジルオキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸メチルエステル2Lのジャケット付き容器に、二酸KI-7(80g、211mmol)、HBTU(2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)(176.8g、466mmol)及びTHF(560ml)を充填した。バッチを15～25℃で撹拌し、N-メチルイミダゾール(50.6ml、635mmol)を充填した。30分後、メチル5-アミノ-2-ヒドロキシベンゾエート(77.8g、466mmol)を充填し、反応物を25℃で一晩かけて撹拌した。水(1.2L)を充填し、バッチを20℃で30分間撹拌した。バッチを濾過し、水(2×480ml)、次いでMeCN(320ml)で洗浄した。得られた固体(236g)をMeCN(800ml)と共に容器に戻し入れた。スラリーを50℃に40分間加熱し、次いで20℃に冷却した。バッチを濾過し、MeCN(320ml)で洗浄した。固体(156g)のNMR分析では、TMU、HOBt、NMI又はHBTUは示されなかった。物質を50℃で一晩乾燥させて、125gのジアミドを得た。HPLC：98.2%、NMR：〉97%、収率：88%。

【０２９２】

5-(3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジベンジルオキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸2Lのジャケット付き容器に、先のジアミド(110g、163mmol)、THF(550ml)及び水(1100ml)を充填した。バッチを15～25℃で撹拌し、85%KOH(32.2g、488mmol)を充填した(わずかな発熱)。溶液を50℃に4時間加熱し、次いで20℃に冷却し、一晩かけて撹拌した。次に、6MAcOH水溶液(550ml、3.3mol)を15～25℃で30分間かけて充填した。添加が完了した後、バッチを30分間撹拌し、次いで濾過した。固体を水(3×550ml)で洗浄し、次いで50℃でオーブン乾燥させた。これにより102gの遊離二酸を得た。HPLC：98.9%(0.3%モノアミド、0.19%一酸)。NMR:〉97%。収率:97%。

【０２９３】

5-(3-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸、IIc-007a2Lのジャケット付き容器に、N_2下で、10%Pd/C(10g、50%湿潤、87Lタイプ)、続いて先の二酸(100g、154mmol)、AcOH(5ml、88mmol)及びTHF(1200ml)を充填した。バッチを撹拌し、次いでH_2でスパージし、40℃に2時間加熱した。バッチをN_2でスパージし、次いで濾過した(GF/F)。容器をTHF(300ml)でリンスし、リンス液を使用してフィルター上の触媒を洗浄した。濾液を容器に充填し、容量をTHF(400ml)で2Lに調整した。溶液を30℃に温め、SPM32(10g)を充填し、バッチを30℃で一晩撹拌した。SPM32を濾別し、THF(200ml)で洗浄した。溶媒を減圧下で除去して、淡黄色固体(110g)を得た。NMR分析では、28%THFが示された。物質をEtOH(1L)中、20℃で2時間スラリー化し、次いで濾別した。固体をEtOH(400ml)で洗浄

し、60℃で一晩オーブン乾燥させた。NMRでは、8.7%EtOHが示され、THFは示されなかった。この物質を80℃で4晩さらに乾燥させて、66.5gのIIc-007aをオフホワイトの固体として収率92%で得た。HPLC:99.5%(0.31%モノアミド)。NMR：4.6%EtOH、THFなし。ICP-OESによるPd：〈2ppm。

【０２９４】

IIc-007a-THF溶媒和物：THF濾液を濃縮すると、代表的にはNMRにより25～30%のTHFを含有する黄色固体が得られ、これは乾燥によって除去することができず、非化学量論的溶媒和物を示している。

【０２９５】

THF溶媒和物の少量サンプル(1.45g)をTHF(10ml)中で50℃に1時間加熱し、室温に冷却し、単離し、3mlのTHFで洗浄した。これにより、1.13gのIIc-007a-THFを得た。NMR：27%THF。HPLC:99.6%(0.1%モノアミド)。濾過によるTHF溶媒和物の単離により、純度が増大し、主要な不純物(モノアミド、IIa-004a)が0.7%から0.1%へ効果的にパージされるようになった。回収率：78%。THF中のTHF溶媒和物溶解度は、20℃で約25mg/mlと計算された。

【０２９６】

脱溶媒和試験を、アセトン、EtOH及びEtOAc中の物質に対して行った。各バッチを20体積の溶媒中、50℃で1時間加熱し、次いで室温で単離し、オーブン乾燥させた(60℃)。乾燥後の生成物中に取り込まれるEtOHのレベルが低く、系からのTHFのパージが優れていることから、エタノールを脱溶媒和溶媒として選択した。脱溶媒和工程を12.1gの生成物(25%THF)に対して行った。当該物質にEtOH(20体積)を充填し、バッチを室温で一晩撹拌した。サンプルを濾別し、これは室温で脱溶媒和が成功したことを示している。全収率：8.67gHPLC：99.4%NMR：〉97%(0.8%EtOH)。XRPDは、単離された生成物の結晶化度が高いことを示した。

【０２９７】

生成物IIc-007aもDMSO溶媒和物を形成する(DMSO：生成物の比は3：2)。

【０２９８】

５１）2-(3-(2-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)-5-ヒドロキシル安息香酸、化合物IIc-009a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.79分; m/z = 469.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉95%

^{1}H NMR (400 MHz, DMF-d7) δ 10.11 (s,1H), 10.01 (s,2H), 8.71 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.01 (s, 2H), 7.82 (d, J = 3.0 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 8.9 Hz, 2H).

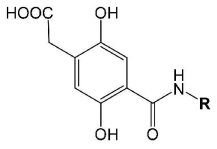
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{22}H_{17}N_2O_{10}$: 469.08777, found: 469.08714

バイオデータ：IIc-009a: FGF-1 IC50 [μM] = 30; FGF-2 IC50 [μM] = N.D.; VEGF-A1 IC50 [μM] = 182; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =1.7; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 75.31; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 53.15; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 0.54; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 19.6; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.27; IL-9 IC50 [μM] = 18.9; IL-10 IC50 [μM] = 11.31; IL-12p70 IC50 [μM] = 〉100; IL-13 IC50 [μM] = 0.13; IL-17A IC50 [μM] = 0.001; IL-17F IC50 [μM] = 0.13; IL-18 IC50 [μM] = 2.95; IL-21 IC50 [μM] = 8.01; IL-33 IC50 [μM] = 0.29; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.11; TNFβ IC50 [μM] = 6.94.

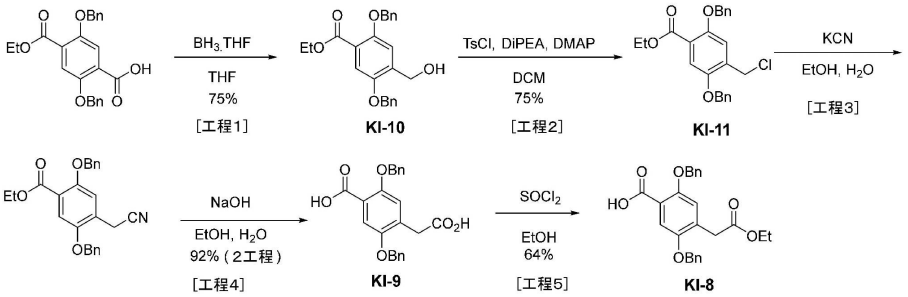
【０２９９】

実施例1.8．タイプIIIaの分子：モノアミド、4例

【化４２】



【０３００】
前駆体の合成
スキーム13．合成中間体：KI-1からのKI-8及びKI-9
【化４３】



【０３０１】
合成プロトコル
中間体KI-8及びKI-9(KI-10及びKI-11経由)
エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(ヒドロキシメチル)ベンゾエート(KI-10)[工程1]：THF(700mL)中のKI-1(62.3g、153mmol)の-20℃の冷却溶液に、不活性ガス(N_2)の正の流れ下で、BH_3・THF(615.0mL、615mmol)の予冷溶液を(-10℃で)ゆっくり添加した。添加は、反応物の内部温度が-15℃を決して超えないように行った。反応物をわずかに温め、内部温度が-7℃を超えないようにした。混合物をこの温度で2.5時間維持した。次いで、反応混合物を氷/水(8L)中に注いだ。得られたぼやけた白色の混合物を室温で2時間撹拌し、残留した白色懸濁物をフリット漏斗(多孔度3)を通して濾過した。このようにして得られた白色固体を減圧オーブン中で40℃で一晩さらに乾燥させて、エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(ヒドロキシメチル)ベンゾエート(KI-10)(60.5g、収率97%)を白色固体として得た。
【０３０２】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.25分; m/z = 391.2 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉 68%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.54 - 7.48 (m, 2H), 7.48 - 7.43 (m, 2H), 7.43 - 7.35 (m, 4H), 7.35 - 7.27 (m, 4H), 5.28 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 4.58 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 4.25 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０３０３】
あるいは、中間体KI-10は、混合無水物(トリエチルアミンの存在下、THF中のクロロギ酸イソブチルによるKI-1の処理)経由、続いてTHF中の水素化ホウ素ナトリウムによる混合無水物の還元によって、KI-1から得ることができる(収率85～90%、150gスケール)。
【０３０４】
エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(クロロメチル)ベンゾエート(KI-11)[工程2]：塩化トシル(17.0g、70mmol)を、DCM(260mL)中のKI-10(25.0g、64mmol)、DIPEA(12.2mL、70mmol)及びDMAP(0.778g、6mmol)の冷却溶液(氷浴)にゆっくり添加した。反応混合物を60℃で30時間撹拌したところ、反応完了と判断した。DCM(100mL)を添加し、有機層を分離し、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(4×50mL)、水(2×50mL)及び塩水(50mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc 0～20%)に供して、エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-（クロロメチル）ベンゾエート(KI-11)(23.5g、75%)を得た。
【０３０５】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.39分; m/z = no ion, ピーク面積 〉 84%.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.54 - 7.44 (m, 4H), 7.43 - 7.36 (m, 6H), 7.36 - 7.28 (m, 2H), 5.18 (s, 2H), 5.13 (s, 2H), 4.76 (s, 2H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０３０６】

あるいは、中間体KI-11は、KI-10を-10℃でジクロロメタン中の塩化チオニル(1.14当量)で処理し、次いで溶媒を蒸発させ、ヘプタンから沈殿させることによって得ることができる(収率90%、300gスケール)。

【０３０７】

エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(シアノメチル)ベンゾエート[工程3]：EtOH(90mL)とH_2O(45mL)との混合物中のKI-11(7.5g、18.2mmol)の懸濁物を、シアン化カリウム(1.8g、27.4mmol)で処理した。反応混合物を75℃に加熱し、この温度で16時間撹拌した。反応混合物を水(500mL)で希釈し、EtOAc(2×200mL)で抽出し、次いで合わせた有機相を塩水(200mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(シアノメチル)ベンゾエートと2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(シアノメチル)安息香酸との混合物(7.1g)として単離し、生成物をさらに精製することなく次の工程で使用した。

【０３０８】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.30分; m/z = 402.2 $[M+H]^+$, ピーク面積〉65%及びrt = 1.15分; m/z = 374.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉8%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.56 - 7.27 (m, 12H), 5.19 (s, 2H), 5.14 (s, 2H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.95 (s, 2H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

【０３０９】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(カルボキシメチル)安息香酸(KI-9)[工程4]：EtOH(20mL)中のエチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(シアノメチル)ベンゾエート(7.1g、13.2mmol)の懸濁物に、水(50mL)中の水酸化ナトリウム(8.5g、212.5mmol)の溶液を添加し、当該反応混合物を還流下で18時間撹拌した。反応混合物を水(100mL)で希釈し、得られた溶液をEtOAc(2×100mL)で洗浄し、このようにして得られた有機層を水(100mL)で抽出し、全ての水層を集めた。次いで、水層をクエン酸の飽和水溶液でpH約3に酸性化し、形成された沈殿物を濾過し、減圧下で乾燥させた。固体をさらに40℃の減圧オーブンで一晩乾燥させて、2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(カルボキシメチル)安息香酸(KI-9)(6.4g、収率92%)を黄色がかった固体として得た。

【０３１０】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.07分; m/z = 393.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉74%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 12.46 (s, 2H), 7.55 - 7.27 (m, 11H), 7.19 (s, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 3.61 (s, 2H).

【０３１１】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(2-エトキシカルボニルメチル)安息香酸(KI-8)[工程5]：KI-9(5.5g、14.0mmol)をEtOH(30mL)に懸濁させ、この懸濁物を塩化チオニル(0.52mL、7.1mmol)で処理し、反応混合物を室温で24時間撹拌した。次いで、反応混合物を重炭酸ナトリウム飽和溶液(1L)に注ぐと、白色懸濁液となった。固体を濾過によって単離し、Et_2O(2×20mL)でさらにトリチュレートした。固体をさらに減圧オーブン中で一晩乾燥させて、2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(2-エトキシカルボニルメチル)安息香酸(KI-8)(4.2g、64%)を白色固体として得た。

【０３１２】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.23分; m/z = 419.3 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉79%.

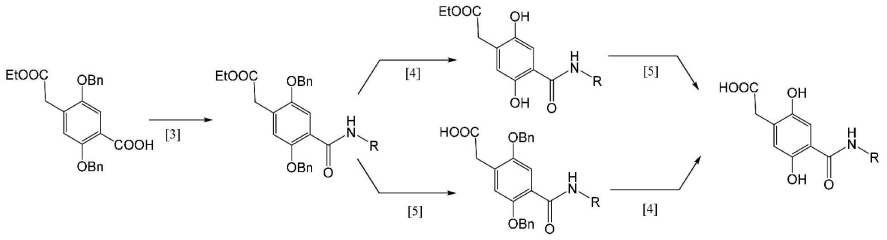
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.68 (brs, 1H), 7.58 - 7.27 (m, 11H), 7.19 (s, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 4.01 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.66 (s, 2H), 1.11 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

【０３１３】

モノアミドの合成

スキーム14．モノアミドIIIaの合成

【化４４】



【０３１４】

合成プロトコル

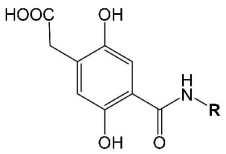
アミドカップリング及び脱保護手順：:

KI-1及びKI-6、工程[3]、[4]、[5]からの基本手順を参照。

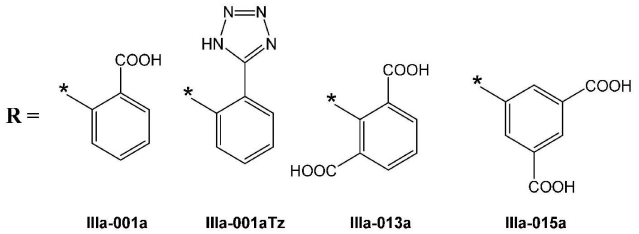
【０３１５】

例

【化４５】



【化４６】



【０３１６】

条件及び収率については以下の通りである：表3(図６)を参照。

【０３１７】

５２）2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)安息香酸、化合物IIIa-001a：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.89分; m/z = 332.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 98%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.38 (s, 1H), 12.17 (s, 1H), 10.67 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.64 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 8.00 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.62 (ddd, J = 8.7, 7.3, 1.7 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.19 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 3.49 (s, 2H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}NO_7$: 332.07648, found: 332.07666

バイオデータ：IIIa-001a: FGF-1 IC50 [μM] = 62; FGF-2 IC50 [μM] = 10; VEGF-A1 IC50 [μM] = 32; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 74.79; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 30.4

【０３１８】

エチルメチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.14分; m/z = 374.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 96%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 11.91 (s, 1H), 10.78 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.60 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.97 (dd, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.64 (ddd, J = 8.7, 7.3, 1.7 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.26 - 7.18 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.08 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 1.19 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{19}H_{20}NO_7$: 374.12342, found: 374.12333

バイオデータ：IIIa-001a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 33; VEGF-A1 IC50 [μM] = 43; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 69.66; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 44.46

【０３１９】

５３）(2-(1H-テトラゾール-5-イル)フェニルアミノカルボニル)-2,5-ジヒドロキシフェニル)酢酸、化合物IIIa-001aTz：

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.87分; m/z = 356.1 [M+H], ピーク面積 〉95%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.22 (s, 1H), 11.43 (s, 1H), 10.74 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.46 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.60 (td, J = 8.6, 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.39 - 7.30 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 3.48 (s, 2H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{14}N_5O_5$: 356.09894, found: 356.09889

バイオデータ：IIIa-001aTz: FGF-1 IC50 [μM] = 51; FGF-2 IC50 [μM] = 14; VEGF-A1 IC50 [μM] = 12; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.71; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 69.35; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 39.74; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγIC50 [μM] = 18.9; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 〉100; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 1.98; IL-9 IC50 [μM] = 3.01; IL-10 IC50 [μM] = 7.78; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.48; IL-13 IC50 [μM] = 0.15; IL-17A IC50 [μM] = 0.17; IL-17F IC50 [μM] = 0.16; IL-18 IC50 [μM] = 27.7; IL-21 IC50 [μM] = 3; IL-33 IC50 [μM] = 0.14; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.31; TNFβ IC50 [μM] = 0.23.

【０３２０】

エチルエステル：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.56分; m/z = 384.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉95%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.34 (s, 1H), 10.73 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.45 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.61 (ddd, J = 8.7, 7.4, 1.6 Hz, 1H), 7.39 - 7.30 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 4.08 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.56 (s, 2H), 1.19 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{18}H_{18}N_5O_5$: 384.13024, found: 384.12999

バイオデータ：IIIa-001aTz-E1: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.32; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 70.03; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 91.76

【０３２１】

５４）2-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸、化合物IIIa-013a:

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.82分; m/z = 376.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉89%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.67 - 11.48 (m, 3H), 10.82 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 7.95 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.33 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.79 (s, 1H), 3.48 (s, 2H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{17}H_{14}NO_9$: 376.06630, found: 376.06638

バイオデータ：IIIa-013a: FGF-1 IC50 [μM] = 17; FGF-2 IC50 [μM] = 31; VEGF-A1 IC50 [μM] = 43; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =1.3; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 76.55; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 30.667; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 27.8; IFNγ IC50 [μM] = 0.15; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 57.1; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 3.55; IL-9 IC50 [μM] = 11.9; IL-10 IC50 [μM] = 37.3; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.5; IL-13 IC50 [μM] = 0.37; IL-17A IC50 [μM] = 0.15; IL-17F IC50 [μM] = 0.41; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 1.63; IL-33 IC50 [μM] = 1.11; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.51;

TNFβ IC50 [μM] = 0.89.

【０３２２】

５５）5-(4-(カルボキシメチル)-2,5-ジヒドロキシベンズアミド)イソフタル酸、化合物IIIa-015a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.93分; m/z = 376.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉96%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6+10% D_2O) δ 8.34 (s, 2H), 8.18 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 3.39 (s, 2H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{17}H_{14}NO_9$: 376.06630, found: 376.06665

バイオデータ：IIIa-015a: FGF-1 IC50 [μM] = 16; FGF-2 IC50 [μM] = 114; VEGF-A1 IC50 [μM] = 202; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.89; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 78.76; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 12.13

【０３２３】

エチルジメチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.69分; m/z = 432.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉97%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.23 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.23 - 8.21 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.08 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.91 (s, 6 H), 3.58 (s, 2H), 1.19 (t, J = 7.1 Hz, 3H),

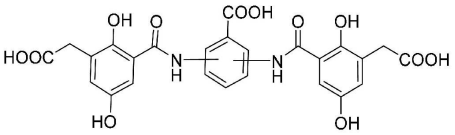
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{21}H_{22}NO_9$: 432.12891, found: 432.02903

バイオデータ：IIIa-015a-E3: FGF-1 IC50 [μM] = N.D.; FGF-2 IC50 [μM] = 191; VEGF-A1 IC50 [μM] = 87; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =7.2; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 91.37; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 61.22

【０３２４】

実施例1.9．タイプIIIaの分子：ジアミンからのジアミド、１例

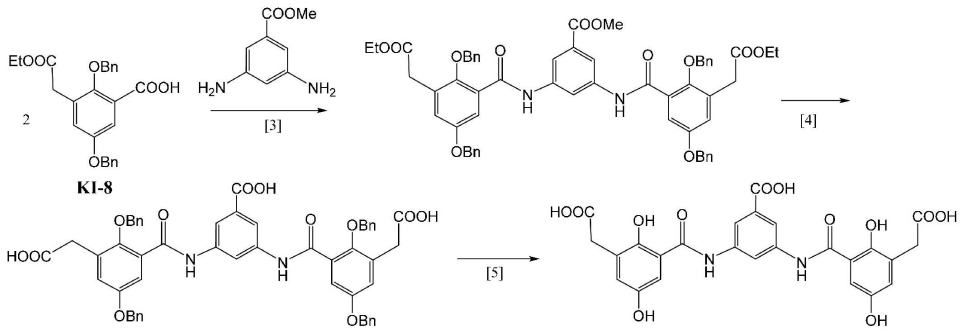
【化４７】



【０３２５】

スキーム15．タイプIIIbのジアミドの合成

【化４８】

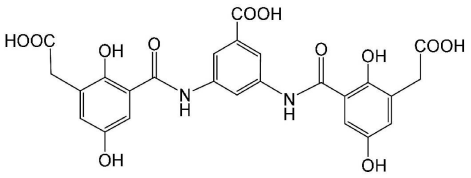


【０３２６】

手順：KI-1、工程[3]、[4]、[5]からの基本手順を参照。

例えば：

【化４９】



IIIb-010a

IIIb-010a

【０３２７】

条件及び収率については以下の通りである：表3(図６)を参照。

【０３２８】

５６）3,5-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシメチルベンゾイルアミノ)安息香酸、化合物IIIb-010a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.08分; m/z = 539.2.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 80%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.85 (brs, 2H), 10.57 (brs, 2H), 9.20 (s, 2H), 8.26 (m, 1H), 8.09 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.36 (s, 2H), 6.82 (s, 2H), 3.50 (s, 4H).

HRMS: [M+H]+, calc. for C23H17N2O12: 513.07760, found: 513.07774

【０３２９】

トリエチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.81分; m/z = 623.3 [M-H]$^-$, ピーク面積 94%.

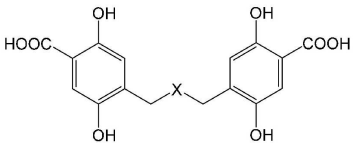
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.87 (s, 2H), 10.65 (s, 2H), 9.23 (s, 2H), 8.31 - 8.28 (m, 1H), 8.10 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.35 (s, 2H), 6.81 (s, 2H), 4.35 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.08 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 3.58 (s, 4H), 1.35 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.19 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

バイオデータ：IIIb-010a-E3: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害IC50 [μM] =0.65; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = N.D.; PMN ROS阻害IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 0

【０３３０】

実施例1.10．タイプIIIcの分子二量体、6例

【化５０】

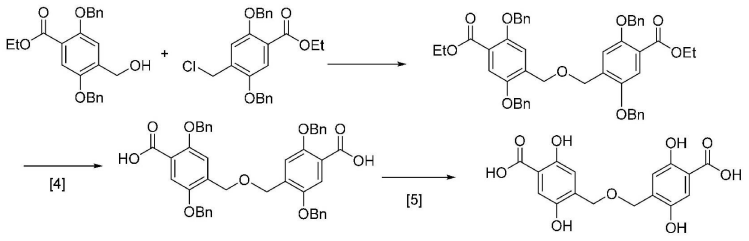


【０３３１】

合成スキーム及び手順

スキーム16：X=O

【化５１】



【０３３２】

合成手順

KI-10及びKI-11からのエーテル結合の形成

エチル2,5-ジベンジルオキシ-4-[(2,5-ジベンジルオキシ-4-エトキシカルボニルフェニル)メトキシメチル]ベンゾエート[工程1]：DMF(6mL)中のKI-11(340mg,0.83mmol)及びKI-10(250mg,0.64mmol)の溶液に、氷浴中で冷却して、水素化ナトリウム(76mg,1.9mmol)を少しずつ添加した。1時間後、反応混合物を塩化アンモニウム飽和水溶液(50mL)に注ぎ、物質をEtOAc(3×30mL)で抽出し、有機相をさらに水(2×50mL)及び塩水(50mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc 0～20%)により精製して、表題の化合物(161mg、収率33%)を褐色固体として得た。

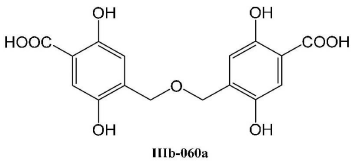
【０３３３】

脱保護手順：

基本手順[4]、[5]を参照。

例えば

【化５２】



IIIb-060a

【０３３４】

条件及び収率については以下の通りである：表4(脱保護)(図7)を参照。

【０３３５】

５７）4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メトキシメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIIc-060a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.94分; m/z = 349.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉 90%.

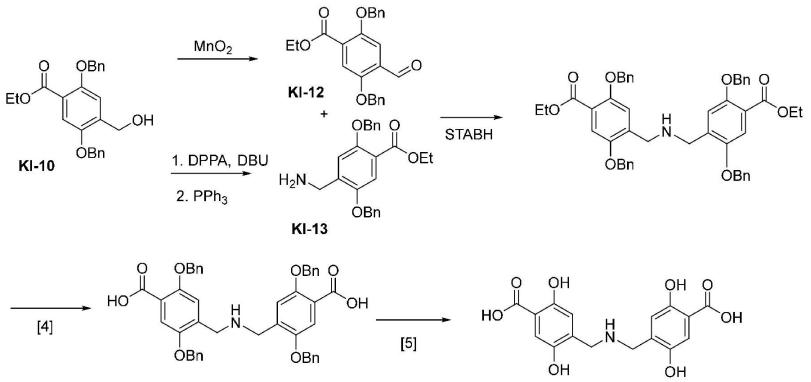
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.20 (s, 2H), 6.92 (s, 2H), 4.56 (s, 4H),

バイオデータ：IIIc-060a: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 51; VEGF-A1 IC50 [μM] = 114; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =1.3; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 86.84; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 41.38

【０３３６】

スキーム17：X = NH

【化５３】



【０３３７】

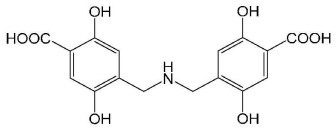
合成手順

KI-10及びKI-11を介したKI-12及びKI-13からのアミン結合の形成

エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-ホルミルベンゾエート(KI-12)：ジクロロメタン(50mL)中のKI-10(3.4g、8.6mmol)の溶液に、二酸化マンガン(4.5g、51.9mmol)を添加した。得られた懸濁物を還流下で4時間撹拌した。反応物をCelite(登録商標)のパッドを通して濾過し、固体をジクロロメタン(300mL)で洗浄し、次いで溶媒を減圧下で除去して、表題の化合物(3.2g、収率94%)を黄色がかった固体として得た。

【０３３８】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.33分; m/z = no ion, ピーク面積 〉 93%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.39 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.54 - 7.26 (m, 11H), 5.28 (s, 2H), 5.20 (s, 2H), 4.30 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０３３９】
エチル4-(アジドメチル)-2,5-ビス(ベンジルオキシ)ベンゾエート: トルエン(30mL)中のKI-10(3.0g、7.6mmol)及び1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン(DBU)(1.5mL、9.9mmol)の懸濁物に、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)(2mL、9.1mmol)を添加した。得られた混合物を室温で18時間撹拌した。1M塩酸水溶液(200mL)を添加し、生成物をEtOAc(3×100mL)で抽出し、合わせた有機層を水(2×50mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc、0～20%)により精製して、表題の化合物(3.1g、98%)を無色油状物として得たが、これは時間の経過とともに白色固体となった。
【０３４０】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.37分; m/z = 390.2, $[M+H-N_2]^+$, ピーク面積 〉 93%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.53 - 7.46 (m, 4H), 7.44 - 7.26 (m, 8H), 5.16 (s, 2H), 5.14 (s, 2H), 4.48 (s, 2H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０３４１】
エチル4-(アミノメチル)-2,5-ビス(ベンジルオキシ)ベンゾエート(KI-13)：THF(60mL)及び水(6 mL)中のエチル4-(アジドメチル)-2,5-ビス(ベンジルオキシ)ベンゾエート(2.8g、6.7mmol)の溶液に、ポリマー結合トリフェニルホスフィン(4.7g、約3mmol/g負荷)を添加し、得られた混合物を室温で18時間撹拌した。樹脂を濾過によって除去し、水(100mL)及びEtOAc(2×100mL)で洗浄した。相を分離し、水層をEtOAc(100mL)でさらに抽出し、集めた有機層を塩水(200mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して、表題の化合物(KI-13)(1.8g、収率70%)を白色固体として得た。
【０３４２】
UPLC-MS (塩基性法, 2分): rt = 1.20分; m/z = 392.2, $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 93%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.60 - 7.22 (m, 12H), 5.14 (s, 2H), 5.10 (s, 2H), 4.24 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.75 (s, 2H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０３４３】
エチル2,5-ジベンジルオキシ-4-[(2,5-ジベンジルオキシ-4-エトキシカルボニルフェニル)メチルアミノメチル]ベンゾエートKI-12(500mg、1.3mmol)及びKI-13(641mg、1.6mmol)をDCM(35mL)に溶解し、続いて活性化モレキュラーシーブ(10ビーズ)を添加した。得られた混合物を、室温で5時間撹拌した。次いで、ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド(654mg、3.1mmol)を添加し、得られた混合物を室温で18時間撹拌した。DCM(25mL)を添加し、反応混合物を分液漏斗にデカントし、水(50mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc、0～50%)により精製して、表題の化合物(631mg、収率64%)を無色油状物として得たが、これは時間の経過とともに固体となった。
【０３４４】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.37分; m/z = 766.3, $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 92%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.47 - 7.42 (m, 4H), 7.38 - 7.25 (m, 20H), 5.08 (s, 4H), 5.04 (s, 4H), 4.25 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 3.76 (s, 4H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 6H).
【０３４５】
脱保護手順：基本手順[4]、[5]を参照。
条件及び収率については以下の通りである：図７参照。
例えば

【化５４】



【０３４６】

５８）ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン、化合物IIIc-056a：

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.57分; m/z = 350.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 96%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.97 (s, 2H), 9.08 (s, 2H), 7.31 (s, 2H), 7.02 (s, 2H), 4.11 (s, 4H).

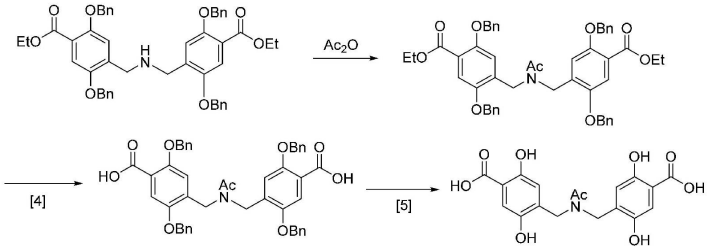
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{16}H_{16}NO_8$: 350.08704, found: 350.08706

バイオデータ：IIIc-056a: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 35; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 90.07; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 35

【０３４７】

スキーム18：X = NAc

【化５５】



【０３４８】

合成手順

N,N-ビス-[2,5-ジベンジルオキシ-4-エトキシカルボニルフェニルメチル]アセトアミド：DCM(6mL)中のN,N-ビス-[2,5-ジベンジルオキシ-4-エトキシカルボニルフェニルメチル]アミン(300mg、0.39mmol)及びピリジン(0.2mL、2.4mmol)の溶液に、窒素雰囲気下で無水酢酸(0.2mL、2.1mmol)を添加した。反応混合物を室温で1時間撹拌し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/EtOAc、0～50%)により精製して、表題の化合物(316mg、収率92%)を無色油状物として得た。

【０３４９】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.44分; m/z = 808.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 95%.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.49 - 7.17 (m, 22H), 6.92 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 5.03 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.46 (s, 4H), 4.31 -4.16 (m, 4H), 1.96 (s, 3H), 1.28 - 1.20 (m, 6H).

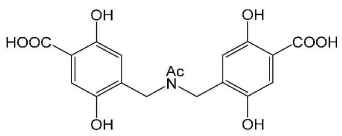
【０３５０】

脱保護手順：

基本手順[4]、[5]を参照。

例えば

【化５６】



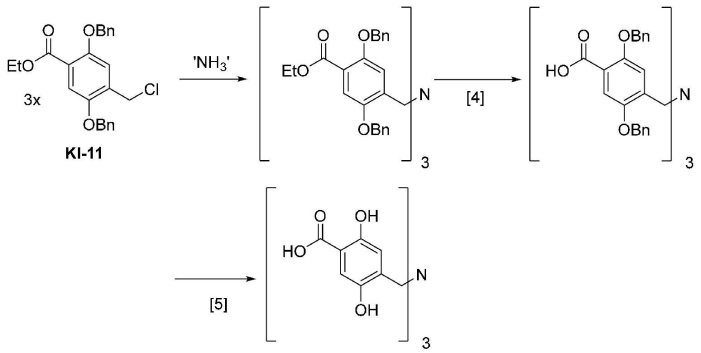
【０３５１】

条件及び収率については以下の通りである：図７を参照（脱保護）。

【０３５２】

５９）N,N-ビス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アセトアミド、化合物IIIc-057a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.84分; m/z = 392.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 99%.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.50 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 2.11 (s, 3H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{18}H_{18}NO_9$: 392.09761, found: 392.09766
バイオデータ：IIIc-057a: FGF-1 IC50 [μM] = 87; FGF-2 IC50 [μM] = 77; VEGF-A1 IC50 [μM] = 38; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.2; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 90.34; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 40.04; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉 100; IFNγ IC50 [μM] = 0.9; IL-1β IC50 [μM] = 16.2; IL-2 IC50 [μM] = 24.2; IL-4 IC50 [μM] = 〉 100; IL-5 IC50 [μM] = 〉 100; IL-6 IC50 [μM] = 0.19; IL-9 IC50 [μM] = 11.1; IL-10 IC50 [μM] = 〉 100; IL-12p70 IC50 [μM] = 0.73; IL-13 IC50 [μM] = 4.73; IL-17A IC50 [μM] = 1.32; IL-17F IC50 [μM] = 5.06; IL-18 IC50 [μM] = 〉 100; IL-21 IC50 [μM] = 1.56; IL-33 IC50 [μM] = 2.93; TGFβ IC50 [μM] = 〉 100; TNFα IC50 [μM] = 0.15; TNFβ IC50 [μM] = 1.58.

【０３５３】
スキーム19：X = $NCH_2C_6H_3(OH)_2COOH$
【化５７】



【０３５４】
合成手順
KI-11及びNH_3からの第三級アミンの形成
トリス(4-エトキシカルボニル-2,5-ジベンジルオキシフェニルメチル)アミン：封管に、KI-11(32.5g、79mmol)、ヨウ化ナトリウム(0.79g、5mmol)、MeOH中のアンモニアの溶液(7N)(38mL、264mmol)及びEtOAc(80mL)を充填した。次いで、管を密封し、反応混合物を60℃で24時間加熱した。24時間後、出発物質(KI-11)は消費され、反応混合物は所望の生成物を含有していたが、単量体及び二量体構造も含有していた。水(100mL)を添加し、得られた混合物をEtOAc(3×100mL)で抽出し、集めた有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた残渣をEtOAc(165mL)に溶解し、KI-11(2.5g、6mmol)、ヨウ化ナトリウム(0.79g、5mmol)、DIPEA(10mL、58mmol)を添加し、得られた溶液を60℃で加熱した。18時間後、水(100mL)を添加し、得られた混合物をEtOAc(3×100mL)で抽出し、集めた有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。残渣を、溶媒としてEtOH/EtOAc95/5(20mL)を使用する再結晶により精製して、表題の化合物(15.0g、50%)を白色結晶として得た。
【０３５５】
UPLC-MS (塩基性法, 2分): rt = 1.71分; m/z = 1140.3 $[M+H]^+$, ピーク面積〉99%.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6.56 -6.49 (m, 12H), 6.48 - 6.38 (m, 24H), 4.22 (s, 6H), 4.04 (s, 6H), 3.42 (q, J = 7.1 Hz, 6H), 3.00 (s, 6H), 0.42 (t, J = 7.1 Hz, 9H).
【０３５６】

あるいは、生成物は、シリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製することができる：スケール、270gまで；機器：Combiflash Torrent；カートリッジ: RediSepカラム、シリカ3kg；ローディングタイプ：1Lのヘプタン：トルエン(1：1)に溶解した粗製物。酢酸エチル/ヘプタンで溶出。検出：UV-240nm。

【０３５７】

脱保護手順：基本手順[4]、[5]を参照。

条件及び収率については、図7(脱保護)を参照。

【０３５８】

代替的な大規模脱保護手順：

鹸化。トリス(4-エトキシカルボニル-2,5-ジベンジルオキシフェニルメチル)アミン(95.00g、0.083mol)、水酸化ナトリウム(40.00g、0.99mol)、水(570mL)及びテトラヒドロフラン(1.9 L)を5L丸底フラスコに添加した。反応混合物を、温度ブロックを使用して、80℃(還流温度は65℃であった)で48時間加熱し、次いで室温で24時間撹拌した。次いで、溶媒を減圧下で除去した。粗製物を収集し、水(2.85L)でさらに希釈した。別の10Lフラスコ中で、酢酸(180mL)及び水(950mL)の混合物を室温で撹拌した。水中の粗生成物の混合物を、オーバーヘッドスターラーで撹拌しながら30分間かけて酢酸混合物に添加し、クリーム色の固体が沈殿した。反応混合物をさらに1時間撹拌し、固体を濾過して単離した：母液のpHは4.2であった。単離した固体を水(1425mL)と共に1時間撹拌し、次いで濾過した。母液のpHは4.5であった。回収した固体をさらなる水(1425mL)と共に1時間撹拌し、次いで濾過した；母液のpHは4.5であった。上記固体をアセトン(950mL)と共に1時間撹拌し、濾過した。クリーム色の固体を減圧オーブン中で50℃にて48時間乾燥させた後、分析した(82.00g、収率93%)(収率は90～95%の間で変動する)。

【０３５９】

注: pHは、生成物を遊離酸形態に保ち、過剰の酢酸を生成物から除去するために、洗浄中の重要なパラメータである。

理想的なpH：4.2～4.5(最終ナトリウム含有量は2ppm～20ppmの間で変動する)。

【０３６０】

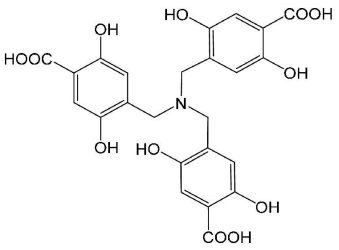
水素化分解及び単離。トリス(4-カルボキシ-2,5-ジベンジルオキシフェニルメチル)アミン(58.00g、54.00mmol、1当量)及びテトラヒドロフラン(1160mL)を2Lの丸底フラスコに充填した。混合物を窒素で脱気し、次いで水素/真空サイクルで4～5回フラッシュした。パラジウム炭素(JM 10%424 Pd/C、70g、15%ローディング)を反応混合物に添加し、25℃で5～6時間撹拌した。次いで、反応物を脱気し、セライトパッドを通して濾過することによって触媒を除去し、これをテトラヒドロフラン(3×1160mL)で洗浄した。最後に、濾液を減圧下で濃縮した。粗固体を収集し、ヘプタン(1160mL)と共に撹拌し、濾過して灰色固体を得、これを減圧オーブン中で50℃にて一晩乾燥させた(32.50g、〉収率100%（粗製物基準）)。収集した粗製材料をエタノール(325mL)に溶解し、60℃に加熱した(透明溶液)。次いで、水(325mL)を60℃で(添加中、温度を少なくとも50℃に維持しながら)15～20分間かけてゆっくりと添加した。この段階で、濁った液体が観察された。濁った反応混合物を還流温度で30分間撹拌した。

【０３６１】

この後、反応混合物をさらに30分間室温に冷却した。沈殿した固体を濾過した直後に単離し、エタノール：水の1：1混合物(66mL)で洗浄した。固体を分析前に減圧オーブンで50℃にて少なくとも72時間乾燥させ、所望の生成物IIIc-061a(22.00g、収率76%)を得た(収率は65～75%の間で変動する)。LCMS：〉95%、NMR：〉95%純度。

【０３６２】

【化５８】



【０３６３】

トリス(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニルメチル)アミン、化合物IIIc-061a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.74分; m/z = 516.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 86%.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.27 (s, 3H), 6.83 (s, 3H), 4.33 (s, 6H).
^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 172.0, 154.3, 148.3, 134, 117.8 (CH), 114.9 (CH), 112.4, 53.6 (CH_2).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{24}H_{22}NO_{12}$: 516.11365, found: 516.11389
バイオデータ：IIIc-061a: FGF-1 IC50 [μM] = 9; FGF-2 IC50 [μM] = 7.6; VEGF-A1 IC50 [μM] = 21; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =4.3; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 92.5; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 58.69; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 31.2; IFNγ IC50 [μM] = 2.48; IL-1β IC50 [μM] = 〉100; IL-2 IC50 [μM] = 〉100; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.18; IL-9 IC50 [μM] = 8.85; IL-10 IC50 [μM] = 17.9; IL-12p70 IC50 [μM] = 37.2; IL-13 IC50 [μM] = 0.31; IL-17A IC50 [μM] = 0.04; IL-17F IC50 [μM] = 0.32; IL-18 IC50 [μM] = 32.4; IL-21 IC50 [μM] = 6.38; IL-33 IC50 [μM] = 0.31; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.03; TNFβ IC50 [μM] = 0.81

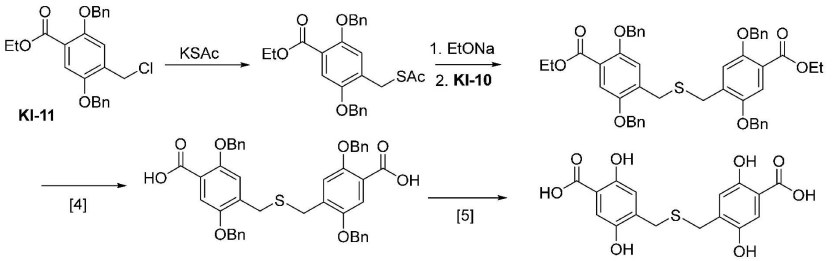
【０３６４】

トリエチルエステル
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.05分; m/z = 600.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 82%.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.02 (s, 3H), 9.54 (s, 3H), 7.17 (s, 3H), 7.00 (s, 3H), 4.33 (q, J = 7.1 Hz, 6H), 3.59 (s, 6H), 1.31 (t, J = 7.1 Hz, 9H).
HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{30}H_{34}NO_{12}$: 600.20755, found: 600.20790
バイオデータ：IIIc-061a-E3: FGF-1 IC50 [μM] = 200; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.34; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = N.D.; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = N.D.; 好中球接着阻害 [%] = 10.4

【０３６５】

スキーム20：X = S

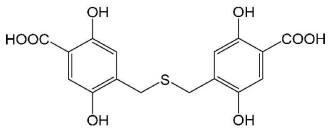
【化５９】



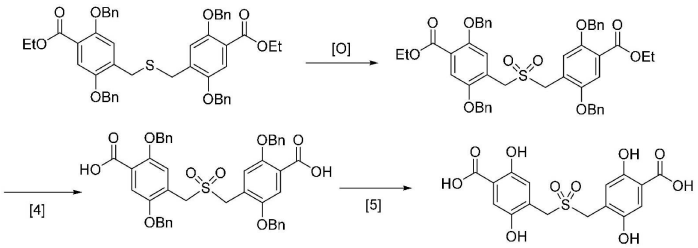
【０３６６】

合成手順
KI-11からのチオエーテル結合の形成
　スキーム21を参照。チオエーテル結合を生成するための同じ条件。

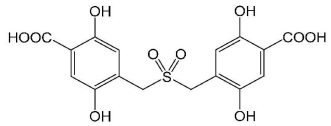
【０３６７】
脱保護手順：基本手順[4]、[5]を参照。
例えば
【化６０】



条件及び収率については以下の通りである：図７を参照（脱保護）。
【０３６８】
６０）4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIIc-058a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.84分; m/z = 365.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉 79%
^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 7.25 (s, 2H), 6.83 (s, 2H), 3.69 (s, 4H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{15}O_8S$: 367.04822, found: 367.04768,
バイオデータ：IIIc-058a: FGF-1 IC50 [μM] = 12; FGF-2 IC50 [μM] = 12; VEGF-A1 IC50 [μM] = 124; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.29; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 61.22; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1.17; 好中球接着阻害 [%] = 23
【０３６９】
スキーム２１：X=SO_2
【化６１】



【０３７０】
合成手順
チオエーテル結合の酸化
IVc-059aの製造を参照：酸化条件は同様。
【０３７１】
脱保護手順：基本手順[4]、[5]を参照。
例えば
【化６２】



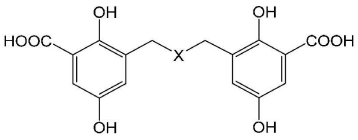
【０３７２】
条件及び収率については、図7(脱保護)を参照。
【０３７３】
６１）4-((2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IIIc-059a:
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.72分; m/z = 397.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉 97%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.94 (brs, 2H), 10.63 (brs, 2H), 9.71 (s, 2H), 7.27 (s, 2H), 6.91 (s, 2H), 4.44 (s, 4H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{15}O_{10}S$: 399.03804, found: 399.03768

バイオデータ：IIIc-059a: FGF-1 IC50 [μM] = 47; FGF-2 IC50 [μM] = 50; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =3.61; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 66.39; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 1; 好中球接着阻害 [%] = 14.67

【０３７４】

実施例1.11．タイプIVcの化合物

【化６３】

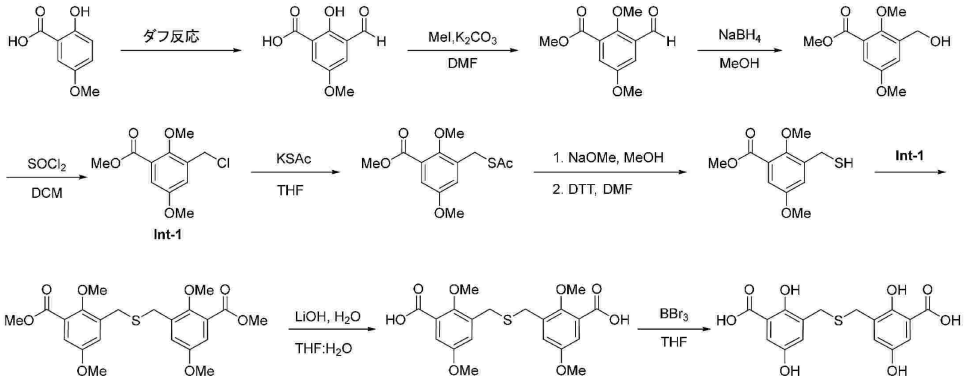


【０３７５】

スキーム22：X=S

ジメチルエーテルによる合成

【化６４】



【０３７６】

合成手順

5-O-メチルゲンチジン酸からの合成

3-ホルミル-2-ヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸ヘキサメチレンテトラミン(40.019g、0.285mol)を、トリフルオロ酢酸(190.0mL)中の2-ヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸(24.0g、0.143mol)の混合物に添加した。反応物を18時間還流した。完了後、反応物を周囲温度に冷却し、2M塩酸(700mL)を混合物に添加し、これを周囲温度で24時間撹拌した。沈殿物を濾過し、水(500mL)で洗浄し、減圧オーブン中で乾燥させて、3-ホルミル-2-ヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸を淡黄色固体として得た(21.30g、0.11mol、77.0%)。

【０３７７】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.69分; m/z = 195.1 $[M-H]^-$, ピーク面積〉98%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.36 (s, 1H), 7.62 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H).

【０３７８】

メチル3-ホルミル-2,5-ジメトキシベンゾエートヨウ化メチル(6.7mL、0.107mol)を、DMF(100.0mL)中の3-ホルミル-2-ヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸(10.0g、0.05mol)及び炭酸カリウム-325メッシュ(28.18g、0.20mol)の混合物に添加した。得られた混合物を周囲温度で18時間撹拌した。反応物を周囲温度に冷却し、冷水(400mL)で処理すると、沈殿物が形成された。得られた懸濁物を10分間撹拌し、次いで濾過し、減圧オーブン中で乾燥させて、メチル3-ホルミル-2,5-ジメトキシベンゾエートを黄色固体(8.90g、0.04mol、78.0%)として得た。

【０３７９】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.95分; m/z = 225.1 $[M+H]^+$, ピーク面積〉98%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.27 (s, 1H), 7.55 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.41

(d, J = 3.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.83 (s, 3H).

【０３８０】

メチル3-(ヒドロキシメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート水素化ホウ素ナトリウム(16.198g、0.428mol)を、MeOH(900mL)中のメチル3-ホルミル-2,5-ジメトキシベンゾエート(48.0g、0.214mol)の溶液に0℃でゆっくり添加し、得られた混合物を周囲温度で15分間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をDCM(200mL)に溶解し、次いで水(200mL)で洗浄した。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、メチル3-(ヒドロキシメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエートを白色固体として得た(45.6g、0.20mol、95.0%)。

【０３８１】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.84分; イオン化なし, ピーク面積〉98%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.20 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 5.24 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.54 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.68 (s, 3H).

【０３８２】

メチル3-(クロロメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート塩化チオニル(17.2mL、0.235mol)をメチル3-(ヒドロキシメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート(45.60g、0.20mol)の溶液に周囲温度で30分かけて滴下添加した。得られた混合物を周囲温度で18時間撹拌した。完了後、反応混合物を炭酸ナトリウムの飽和水溶液(3×500mL)及び塩水(500mL)で洗浄した。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、メチル3-(クロロメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエートを褐色固体として得た(49.1g、0.18mol、90%)。

【０３８３】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.10分; イオン化なし, ピーク面積〉92%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.29 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 4.74 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.76 (s, 3H).

【０３８４】

メチル3-(アセチルチオメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエートチオ酢酸カリウム(15.54g、0.136mol)を、THF(500.0mL)中のメチル3-(クロロメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート(22.20g、0.091mol)の溶液に周囲温度で添加した。反応混合物を75℃で18時間撹拌した。完了後、溶媒を減圧下で除去して赤色油状残渣を得、これを飽和塩水溶液(500mL)で処理し、次いでジエチルエーテル(2×250mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固して、メチル3-(アセチルチオメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエートを褐色固体として得た(25.50g、0.09mol、99%)。

【０３８５】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.10分; イオン化なし, ピーク面積〉92%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.12 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 4.10 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 2.35 (s, 3H).

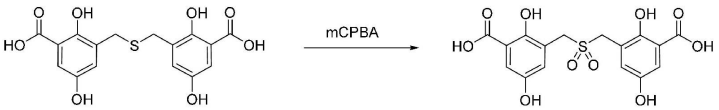
【０３８６】

メチル3-(メルカプトメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート乾燥メタノール(800mL)中のメチル3-(アセチルチオメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート(25.5g、89.68mmol)の溶液に、0℃で滴下方式で、ナトリウムメタノラート(sodium methanolate)(5.81g、107.62mmol)の溶液を窒素雰囲気下で添加した。混合物を室温で45分間撹拌した後、Dowex X8(H^+)イオン交換樹脂でクエンチし、15分間撹拌した。濾過後、溶媒を減圧下で蒸発させて、粗生成物を褐色油状物として得た(これは、所望の生成物及び対応するジスルフィド化合物を2：1の比で含有していた)。残渣をDMF(400.0mL)に溶解し、窒素雰囲気下でジチオスレイトール(DTT)(33.95g、0.26mol)で処理した。当該反応混合物を75℃で18時間撹拌した。ジスルフィドからチオールへの変換の完了後、溶媒を蒸発させた。得られた残渣をDCM(1L)に溶解し、塩水(7×500mL)で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、均質なメチル3-(メルカプトメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエートを褐色油状物として得た(21.40g、88.32mmol、99%)。

【０３８７】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.05分; m/z = 243.1 $[M+H]^+$, ピーク面積〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.19 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.71 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 2.93 (t, J = 8.0 Hz, 1H).
【０３８８】
ジメチル3,3'-(チオビス(メチレン))ビス(2,5-ジメトキシベンゾエート)トリエチルアミン(19.0mL、136.61mmol)を、メチル3-(メルカプトメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート(21.40g、88.32mmol)及びメチル3-(クロロメチル)-2,5-ジメトキシベンゾエート(22.69g、92.74mmol)の溶液に窒素雰囲気下で添加した。反応物を周囲温度で18時間撹拌した。完了後、溶媒を減圧下で除去して褐色油状残渣を得、これを水(1L)で処理し、次いでジエチルエーテル(3×500mL)で抽出した。有機相を合わせ、塩水(5×250mL)で洗浄し、Na_2SOで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、粗生成物を褐色油状物として得、これをシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した；溶出は、イソヘキサン中の酢酸エチル(0～20%)の勾配で行って、ジメチル3,3'-(チオビス(メチレン))ビス(2,5-ジメトキシベンゾエート)を褐色固体(29.9g、66.37mmol、76%)として得た。
【０３８９】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.22分; m/z = 451.2 $[M+H]^+$, ピーク面積〉92%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.12 - 7.08 (m, 4H), 3.83 (s, 6H), 3.76 (s, 4H), 3.73 (s, 6H), 3.67 (s, 6H).
【０３９０】
3,3'-(チオビス(メチレン))ビス(2,5 - ジメトキシ安息香酸)水(30.0mL)中の水酸化リチウム一水和物(1.0g、23.83mmol)の溶液を、THF(100.0mL)中のジメチル3,3'-(チオビス(メチレン))ビス(2,5-ジメトキシベンゾエート)(2.0g、4.44mmol)の溶液に添加した。反応物を周囲温度で48時間撹拌した。完了後、水(100mL)を反応物に添加し、混合物を酢酸エチル(100mL)で洗浄した。水層を1M塩酸水溶液でpH=2に酸性化し、酢酸エチル(3×100mL)で抽出した。有機層を収集し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、濃縮して、3,3'-(チオビス(メチレン))ビス(2,5-ジメトキシ安息香酸)を褐色固体として得た(1.91g、4.11mmol、93%)。
【０３９１】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.93分; m/z = 421.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.96 (s, 2H), 7.10 (d, J = 3.3 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 3.76 (s, 4H), 3.73 (s, 6H), 3.69 (s, 6H).
【０３９２】
3- [(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルチオメチル] -2,5-ジヒドロキシ安息香酸DCM(200.0mL)中の先のチオエーテル(5.0g、0.01mol)の溶液に、DCM(100.7mL、0.101mol)中のトリブロモボランの1M溶液を0℃でゆっくりと添加し、反応混合物を48時間還流した。この後、固体を濾過し、DCM(500mL)で洗浄し、次いで1M塩酸(50mL)に懸濁した。得られた混合物を2時間還流した。得られた褐色懸濁物を濾過し、乾燥させて粗生成物を得、これを逆相カラムクロマトグラフィー(25g、12CVにわたってMeCN：H_2O 5%～95%)により精製して、2,5-ジヒドロキシ-3-[(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルチオメチル]安息香酸を白色固体(1.1g、0.003mol、26%)として得た。
【０３９３】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.70分; m/z = 365.1 $[M-H]^-$, ピーク面積〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.86 (s, 2H), 11.09 (s, 2H), 9.14 (s, 2H), 7.08 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 7.02 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 3.65 (s, 4H).
【０３９４】
例：
６２）3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルチオメチル)-2,5-ジヒドロキ

シ安息香酸、化合物IVc-058a：
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.70分; m/z = 365.1 [M-H]$^-$, ピーク面積〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.86 (s, 2H), 11.09 (s, 2H), 9.14 (s, 2H), 7.08 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 7.02 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 3.65 (s, 4H).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{15}O_8S$: 367.04822, found: 367.04734
バイオデータ：IVc-058a: FGF-1 IC50 [μM] = 36; FGF-2 IC50 [μM] = 4.9; VEGF-A1 IC50 [μM] = 83; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =0.53; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 77.04; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.29; 好中球接着阻害 [%] = 43.5; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 10.6; IL-1β IC50 [μM] = 27.5; IL-2 IC50 [μM] = 3.82; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.21; IL-9 IC50 [μM] = 31.1; IL-10 IC50 [μM] = 16.4; IL-12p70 IC50 [μM] = 4.23; IL-13 IC50 [μM] = 55.9; IL-17A IC50 [μM] = 0.1; IL-17F IC50 [μM] = 86.8; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 3.2; IL-33 IC50 [μM] = 33.9; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.18; TNFβ IC50 [μM] = 59.3.

【０３９５】
スキーム23：X=SO_2
【化６５】



【０３９６】
化合物IVc-058aからの合成
3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸DMF(20.0mL)中のチオエーテルIVc-058a(4.25g、9.28mmol)の溶液に、DMF(20.0mL)中の3-クロロベンゼン-1-カルボペルオキシ酸(carboperoxy acid)(mCPBA純度≦77%、5.80g、25.88mmol)の溶液をゆっくり添加した。反応混合物を周囲温度で18時間撹拌した。粗生成物をHPLC精製(一般的条件を参照)に供して、白色固体(3.20g)を得、これを1MHCl(50mL)でトリチュレートして、所望の生成物を白色固体(2.55g、6.40mmol、56%)として得た。
【０３９７】
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.68分; m/z = 397.1 [M-H]$^-$, ピーク面積 〉95%
【０３９８】
６３）3-((2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル)-2,5-ジヒドロキシ安息香酸、化合物IVc-059a：
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.68分; m/z = 397.1 [M-H]$^-$, ピーク面積〉95%
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.24 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 7.21 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 4.44 (s, 2H).
^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 172.4, 153.4, 149.2, 117.4, 116.1 (CH), 113.3 (CH), 53.6 (CH_2).
HRMS: [M+H]$^+$, calc. for $C_{16}H_{15}O_{10}S$: 399.03804, found: 399.03775
バイオデータ：IVc-059a: FGF-1 IC50 [μM] = 6.7; FGF-2 IC50 [μM] = 2.7; VEGF-A1 IC50 [μM] = 12; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =4.8; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 74; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 0.147; 好中球接着阻害 [%] = 10; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 〉100; IFNγ IC50 [μM] = 4.34; IL-1β IC50 [μM] = 38.6; IL-2 IC50 [μM] = 21.2; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.11; IL-9 IC50 [μM] = 0.4; IL-10 IC50 [μM] = 1.31; IL-12p70 IC50 [μM] = 42; IL-13 IC50 [μM] = 〉100; IL-17A IC50 [μM] = 0.16; IL-17F IC50 [μM] = 〉100; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 1.87; IL

-33 IC50 [μM] = 27.5; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.16; TNFβ IC50 [μM] = 0.33

【0399】

ジメチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.94分; m/z = 427.1 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉95%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.28 (s, 2H), 9.43 (s, 2H), 7.21 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 4.47 (s, 4H), 3.91 (s, 6H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{18}H_{19}O_{10}S$: 427.06934, found: 427.06942

バイオデータ：IVc-059a-E2: FGF-1 IC50 [μM] = 78; FGF-2 IC50 [μM] = 94; VEGF-A1 IC50 [μM] = 200; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =2.7; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 45.67; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 2.64; 好中球接着阻害 [%] = 50.5

【0400】

ジメチルエステルテトラアセテート

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.05分; m/z = 593.1 $[M-H]^-$, ピーク面積〉95%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.75 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 2.9 Hz, 2H), 4.65 (s, 4H), 3.81 (s, 6H), 2.31 (s, 6H), 2.23 (s, 6H).

HRMS: $[M+H]^+$, calc. for $C_{26}H_{27}O_{14}S$: 595.11160, found: 595.11149

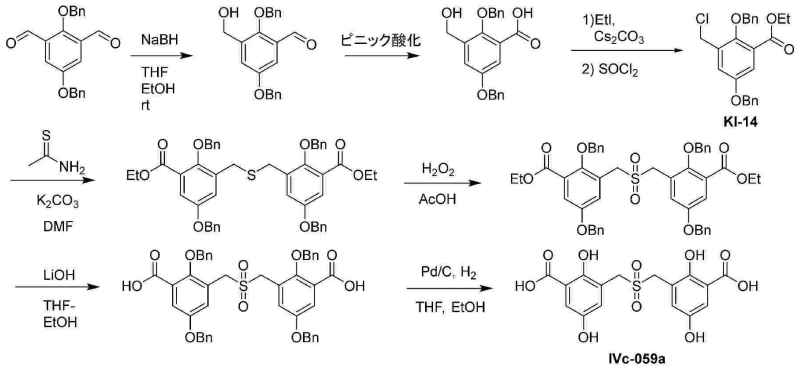
バイオデータ：IVc-059a-E2-A4: FGF-1 IC50 [μM] = 54; FGF-2 IC50 [μM] = 200; VEGF-A1 IC50 [μM] = 25; VEGFR-リン酸化阻害 IC50 [μM] =ND; PMN ROS [阻害 at 0.3 μM [%] = 29.17; PMN ROS阻害 IC50 [μM] = 4.13; 好中球接着阻害 [%] = 87.5; 全血: GM-CSF IC50 [μM] = 1.83; IFNγ IC50 [μM] = 3.5; IL-1β IC50 [μM] = 14.1; IL-2 IC50 [μM] = 10.4; IL-4 IC50 [μM] = 〉100; IL-5 IC50 [μM] = 〉100; IL-6 IC50 [μM] = 0.99; IL-9 IC50 [μM] = 2.9; IL-10 IC50 [μM] = 16.8; IL-12p70 IC50 [μM] = 51.4; IL-13 IC50 [μM] = 18.7; IL-17A IC50 [μM] = 0.02; IL-17F IC50 [μM] = 25.8; IL-18 IC50 [μM] = 〉100; IL-21 IC50 [μM] = 〉100; IL-33 IC50 [μM] = 23.2; TGFβ IC50 [μM] = 〉100; TNFα IC50 [μM] = 0.3; TNFβ IC50 [μM] = 19.4

【0401】

IVc-059aの代替のスケーラブル合成

スキーム24：2,5-ジベンジルオキシフタルアルデヒドからのIVc-059aの合成

【化66】



【0402】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシメチル)ベンズアルデヒド[工程1]：2,5-ビス(ベンジルオキシ)-イソフタルアルデヒド(25.0g、72.1mmol)(スキーム9b参照)をTHF(150mL)に溶解し、EtOH(15mL)を添加した。褐色溶液を窒素の正流下に保ち、室温で10分間撹拌し、次いで固体$NaBH_4$(695mg、18.37mmol)を20分間かけて少しずつ加え、反応物の内部温度が25℃を超えないようにした(水浴を使用)。反応混合物を室温で30分間撹拌し、次いで出発物質が完全に変換されるまで15分毎に追加の$NaBH_4$を添加した(合計：107mg、2回に分けて)。次いで、反応混合物を水(1.2L)に注ぎ、20分間撹拌した。こ

のようにして形成された褐色沈殿物を濾過によって単離し、得られた固体を減圧オーブン中で40℃にて恒量になるまでさらに乾燥させて、表題の化合物(22.9g、補正収率76%)を褐色油状物として得た。NMRプロファイルは、83%の所望の生成物、15%の過還元ジオール、2%の出発物質を示し、この物質をさらに精製することなく次の工程に持ち越した。

【０４０３】

UPLC-MS (酸性法, 2分): r.t = 1.19分, 86%, m/z = 347.2 [M-H]-

1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.11 (s, 1H), 7.52 - 7.28 (m, 11H), 7.19 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 5.34 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.99 (s, 2H), 4.60 (d, J = 5.6 Hz, 2H).

【０４０４】

2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシメチル)安息香酸[工程2]：2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシ-メチル)ベンズアルデヒド(44.3g、103mmol、純度81%)及びKH_2PO_4(25.9g、190mmol)をアセトン(440mL)及び水(130mL)に溶解した。レゾルシノール(21.0g、191mmol)を加え、反応混合物を室温で10分間撹拌した。水(60mL)中の亜塩素酸ナトリウム(21.5g、191mmol)の溶液を、内部温度が25℃を超えないように、30分かけてゆっくりと加えた。反応混合物を室温で3時間撹拌し、H_3PO_4の2M水溶液(95mL)を添加した。混合物を20分間撹拌し、氷浴で6℃に冷却した後、濾過した。濾液のpHが約6になるまで、固体を水でさらに洗浄した。得られた固体を水(約300mL)に懸濁し、予め冷却した(5～10℃)水(200mL)中のNaOH(17g、412mmol)溶液を添加した。懸濁物を室温で30分間撹拌した後、焼結式漏斗で濾過した。単離した固体を、1MNaOH水溶液(2×50mL)及び水(50mL)でさらに洗浄した。次いで、当該アルカリ液を、予め冷却した(5～10℃)6NHCl水溶液を使用してpH約1まで酸性化した。得られた懸濁物を20分間磁気撹拌した後に濾過し、得られた固体を恒量になるまで40℃の減圧オーブン中でさらに乾燥させて、表題の化合物をライトベージュ色の固体として得た(34.8g、88%)。

【０４０５】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.06分, 99%, m/z = 363.2 $[M-H]^-$.

1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.02 (s, 1H), 7.51 - 7.31 (m, 10H), 7.28 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.88 (s, 2H), 4.53 (s, 2H).

【０４０６】

エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシルメチル)ベンゾエート[工程3]：2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシメチル)安息香酸(32.5g、89.3mmol)及びCs_2CO_3(32.3g、99.2mmol)をDMF(200mL)に懸濁し、ヨウ化エチル(9.0mL、112mmol)を反応混合物に添加した。室温で3時間撹拌した後、反応混合物をNH4Clの飽和水溶液(1L)に注ぎ、固体NaCl(約30g)を添加した。10分間撹拌した後、物質をEtOAc(2×500mL)で抽出した。合わせた有機層を塩水(2×500mL)で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、褐色油状残渣(42.0g、粗製物、89.3mmol)を得た。粗製材料をさらに精製することなく次の工程に持ち越した。

【０４０７】

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.24分, 93%, m/z = 弱いイオン化.

1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.51 -7.32 (m, 10H), 7.31 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 5.24 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.87 (s, 2H), 4.54 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3H)

【０４０８】

エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(クロロメチル)ベンゾエート(KI-14)[工程4]：エチル2,5-ビス(ベンジルオキシ)-3-(ヒドロキシメチル)ベンゾエート(前の工程からの粗製材料42g、89.3mmol)を不活性雰囲気(N_2)下でDCM(200mL)に溶解し、次いで$SOCl_2$(9.8mL、133.9mmol)を0℃(氷浴)で添加し、当該反応混合物を室温まで昇温させた。2時間後、揮発性物質を減圧下で除去し、続いてトルエン(3×100mL)を使用した共沸蒸留により半固体の褐色油状物(38.0g、粗製物、89.3mmol)を得た。

【０４０９】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.40分, 91%, m/z = 弱いイオン化.
1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.54 -7.26 (m, 12H), 5.14 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 4.28 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.28 - 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3H).
【０４１０】
ビス(2,5-ジベンジルオキシ-3-エトキシカルボニルフェニルメチル)スルフィド[工程5]：DMF(420mL)中のKI-14(38.0g、粗製材料、89.3mmol)の溶液に、チオアセトアミド(8.4g、111.8mmol)を添加し、続いてK_2CO_3-325メッシュ(16.7g、120.8mmol)を添加した。反応物を45℃で48時間加熱した。反応物を室温に冷却し、続いてチオアセトアミド(2.5g、33.3mmol)及びK_2CO_3-325メッシュ(5.0g、36.1mmol)を添加し、45℃で18時間さらに撹拌して反応を完了させた。反応混合物を水(4L)中に注いだ。反応混合物を20分間撹拌した後、EtOAc(2L)、続いて固体NaCl(約60g)を添加した。相を分離し、続いてEtOAc(1.5L)を用いてさらに抽出した。合わせた有機層を塩水(1.5L)で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、粗製の表題の化合物(39.8g、44.6mmol)を褐色油状物として得て、それを精製せずに次の工程で用いた。
【０４１１】
UPLCMS (酸性法, 2min): rt = 1.57分, m/z = 800.5 [M+NH4]+, ピーク面積 77%.
1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.46 -7.17 (m, 24H), 5.05 (s, 4H), 4.83 (s, 4H), 4.23 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 3.73 (s, 4H), 1.20 (t, J = 7.1 Hz, 6H).
【０４１２】
ビス(2,5-ジベンジルオキシ-3-エトキシカルボニルフェニルメチル)スルホン[工程6]：酢酸(850mL)中のビス(2,5-ジベンジルオキシ-3-エトキシカルボニルフェニルメチル)スルフィド(39.8g粗製物、44.6mmol)の溶液に、過酸化水素の30重量%溶液(50mL、490mmol)をゆっくり添加した。反応物を室温で18時間撹拌した。反応混合物を氷/水(5L)に注ぎ、室温で30分間撹拌し、続いてEtOAc(2L)及び固体NaCl(約40g)を添加した。相を分離した後、水層をEtOAc(1L)でもう1回抽出した。集めた有機層を塩水(1.5L)で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、褐色固体を得た。固体をMTBE(250mL)に懸濁させ、30分間磁気撹拌し、続いて濾過し、MTBE(150mL)でさらにトリチュレートして、表題の化合物を得た(23.56g、28.9mmol、4工程かけて収率64%)を得た。
【０４１３】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.48分; m/z = 832.5 [M+NH4]+, ピーク面積 96%
1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.50 -7.24 (m, 24H), 5.08 (s, 4H), 4.85 (s, 4H), 4.50 (s, 4H), 4.26 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.25 - 1.17 (m, 6H).
【０４１４】
ビス(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシフェニルメチル)スルホン[工程7]：水(100mL)中の水酸化リチウム(9.7g、233mmol)の溶液を、THF(350mL)中のビス(2,5-ジベンジルオキシ-3-エトキシカルボニルフェニルメチル)スルホン(33.3g、38.8mmol)の溶液に添加し、得られた混合物を還流下で18時間撹拌した。この後、大部分のTHFを減圧下で除去すると、白色の懸濁物となった。水(3L)及び水酸化ナトリウム水溶液(1M、1L)を添加しても、混合物は懸濁物のままである。懸濁物を室温で18時間撹拌し、水層を6M塩酸水溶液の添加によりpH約1に酸性化し、得られた固体を濾過により収集し、液体が中性になるまで水で洗浄し、このようにして得られた白色固体を減圧オーブン中で40℃にて恒量になるまでさらに乾燥させて、表題の化合物を白色固体として得た(29.4g、38.7mmol、99%)。
【０４１５】
UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.39分; m/z = 757.1 [M-H]-, ピーク面積 100%
1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.23 (s, 2H), 7.47 - 7.25 (m, 24H), 5.08 (s, 4H), 4.88 (s, 4H), 4.48 (s, 4H).
【０４１６】
ビス(2,5-ジヒドロキシ-3-カルボキシフェニルメチル)スルホン[工程8]、IVc-059a：E

tOH(140mL)及びTHF(140mL)中のビス(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシフェニルメチル)スルホン(10.08g、13.28mmol)の懸濁物に、パラジウムチャコール(20重量%、2g)を水(20mL)中の懸濁物として添加した。数回の真空/水素サイクルの後、混合物をH_2雰囲気下で25℃にて維持し、20時間撹拌した。完了後、混合物を、THFを使用してCelite(登録商標)を通して濾過した。：濾液を減圧下で濃縮して、オフホワイトの固体を得た。次いで、残渣をアセトニトリル(100mL)に懸濁させ、磁気撹拌下で加熱還流し、次いで、混合物を-5℃に冷却した後、濾過し、冷アセトニトリルでさらに洗浄した。生成物を減圧オーブン中で40℃にて恒量になるまでさらに乾燥させて、所望の生成物を白色固体として得た(5.35g、12.78mmol、96%)。

【０４１７】

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.67分; m/z = 397.1 [M-H]-, ピーク面積 100%

【０４１８】

NMRデータ：上記参照。

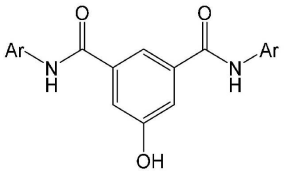
【０４１９】

実施例1.12．タイプVの分子：基準化合物

5-ヒドロキシイソフタル酸から誘導されるジアミド

２例

【化６７】

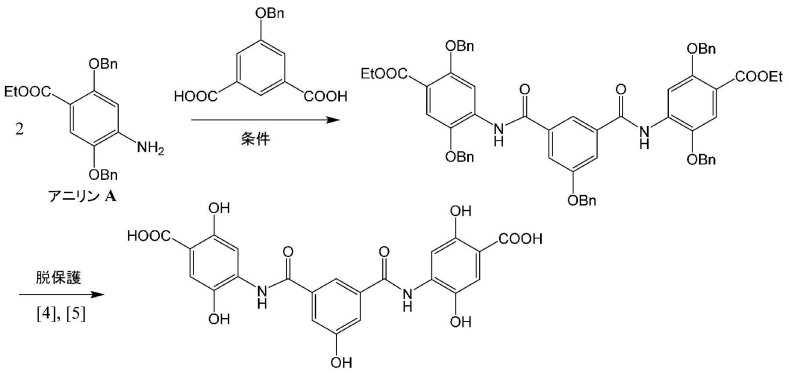


【０４２０】

合成スキーム及び手順

スキーム25：V-001aの合成

【化６８】



【０４２１】

アミド結合の形成

アニリンA(2モル)又はメチル5-アミノサリチレートを使用するアミドカップリング[3B]についての一般手順Bを参照。

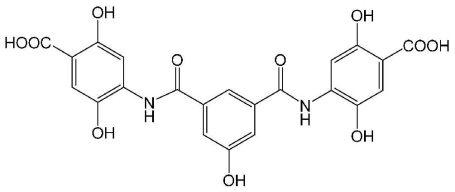
【０４２２】

脱保護手順：基本手順[4]、[5]を参照。

詳細は図8を参照。

例えば

【化６９】



V-001a

【０４２３】

６４）5-ヒドロキシイソフタル酸ビス-N-(4-カルボキシ-2,5-ジヒドロキシフェニル)アミド(V-001a)

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 0.72分; m/z = 483.0 $[M+H]^+$, ピーク面積 〉 95%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.28 (s, 1H), 9.83 (s, 2H), 9.48 (s, 2H), 7.92 (s, 1H), 7.68 (s, 2H), 7.52 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 7.30 (s, 2H).

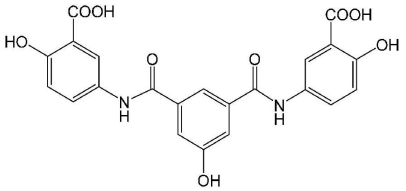
【０４２４】

ジエチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 2分): rt = 1.09分; m/z = 539.2 $[M-H]^-$, ピーク面積 94%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.23 (s, 2H), 9.92 (s, 2H), 9.49 (s, 2H), 7.91 (s, 1H), 7.73 (s, 2H), 7.51 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 7.32 (s, 2H), 4.35 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.34 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

【化７０】



V-002a

【０４２５】

６５）5-ヒドロキシイソフタル酸ビス-N-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル)アミド(V-002a)

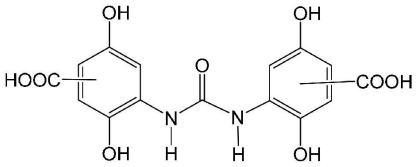
UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.00分; m/z = 451.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 97%

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.31 (s, 2H), 10.11 (s, 1H), 8.28 (d, J = 2.7 Hz, 2H), 7.98 (m, 1H), 7.89 (dd, J = 9.0, 2.7 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 9.0 Hz, 2H).

【０４２６】

尿素結合ゲンチシン酸単位 １例

【化７１】

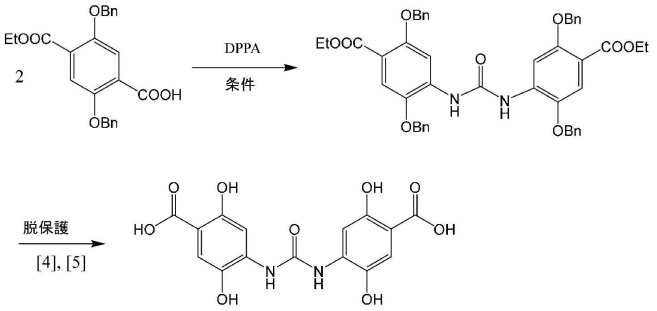


【０４２７】

合成スキーム及び手順

スキーム26：V-003aの合成

【化７２】



【０４２８】

尿素結合の形成

KI-1からの手順:

N,N'-ビス(2,5-ジベンジルオキシ-4-エトキシカルボニルフェニル)尿素THF(25mL)中の2,5-ビス(ベンジルオキシ)-4-(エトキシカルボニル)安息香酸(KI-1)(2.0g、4.9mmol)及びEt_3N(1.6mL、11.3mmol)の冷却溶液(氷浴)に、不活性雰囲気(N_2)下で、DPPA(1.1mL、5.2mmol)をゆっくり添加した。混合物をゆっくり室温.まで温め、この温度で3時間撹拌した。次いで、tBuOH(8mL)を添加し、反応混合物を室温で18時間撹拌した。反応プロファイルでは、所望のBoc-アニリンでなく、尿素結合生成物が大部分を占めた。混合物を炭酸水素ナトリウムの飽和溶液(250mL)に注ぎ入れ、5分間撹拌した後、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、無色油状物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(イソヘキサン/EtOAc、1：0、次いで30%EtOAcへ勾配)により精製して、表題の化合物(1.1g、56%)をオフホワイト固体として得た。

【０４２９】

UPLC-MS (塩基性法, 2分): rt = 1.50分; m/z = 781.2 $[M+H]^+$, ピーク面積 85%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.49 (s, 2H), 8.18 (s, 2H), 7.58 - 7.45 (m, 8H), 7.43 - 7.35 (m, 8H), 7.35 - 7.28 (m, 6H), 5.27 (s, 4H), 5.11 (s, 4H), 4.22 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

【０４３０】

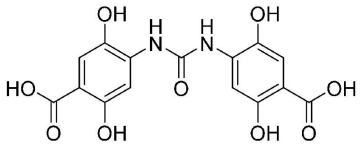
脱保護手順：基本手順[4]、[5]を参照。

詳細は図8を参照。

例えば

６６）N,N'-ビス(2,5-ジヒドロキシ-4-カルボキシフェニル)尿素(V-003a)

【化７３】



V-003a

【０４３１】

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 0.90分; m/z = 363.1 $[M-H]^-$, ピーク面積 93%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.36 (s, 2H), 10.86 (s, 2H), 9.64 (s, 2H), 9.48 (s, 2H), 7.77 (s, 2H), 7.17 (s, 2H).

【０４３２】

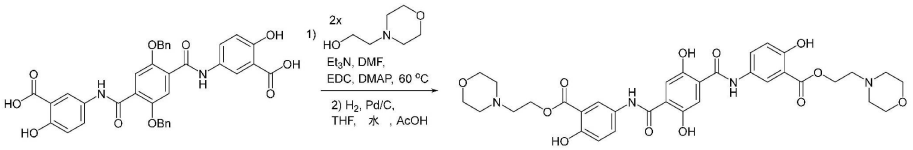
ジエチルエステル

UPLC-MS (酸性法, 4分): rt = 1.79分; m/z = 419.2 $[M-H]^-$, ピーク面積 97%

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.26 (s, 2H), 9.74 (s, 2H), 9.53 (s, 2H), 7.81 (s, 2H), 7.20 (s, 2H), 4.32 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 1.33 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

【０４３３】
実施例1.13．塩の形成
a)固体
一般的プロトコル：適切な当量数の塩基を、水中の所望の化合物の溶液又は懸濁物に添加し、完全に溶解するまで超音波処理し、必要に応じてHCl水溶液又は過剰な塩基を添加することによってpHを7.0～7.4の値に調整し、次いで当該溶液を凍結乾燥することによって、塩を固体として得た。或いは、特定の塩は、DMSOに溶解し、続いてEtOHで沈殿させることによって得ることができた(IIc-007a)。以下の塩基から固体を生成した：水酸化ナトリウム、ジエチルアミン(DEA)、リジン(Lys)、メグルミン(Meg)、トリエタノールアミン(TEA)。
【０４３４】
例:
固体としてのIc-007a、IIc-007a、IIIc-061aのナトリウム及びジエチルアンモニウム(DEA)塩を、pHを調整することなく一般的プロトコルに従って得た。
【０４３５】
-水に対する近似溶解度:
Ic-007a-DEA2:〈10mg/mL
Ic-007a-DEA3:〉20mg/mL
IIc-007a-DEA1:〉10mg/mL
IIc-007a-DEA2:〉20mg/mL
IIIc-061a-DEA3:〉25mg/mL
【０４３６】
-固体としての遊離酸及び塩の安定性:
遊離酸Ic-007a、IIc-007a、IIIc-061a、及び以下の塩Ic-007a-DEA2、IIc-007a-DEA2、IIIc-061a-DEA3は、4℃、20℃及び40℃の温度で最長56日間固体として安定であった；塩Ic-007a-DEA3は、同じ温度で最長36日間安定であった。
【０４３７】
b)溶液
一般的プロトコル：適切な当量数の塩基を、水中の所望の化合物の溶液又は懸濁物に添加し、完全に溶解するまで超音波処理し、必要に応じてHCl水溶液又は過剰な塩基を添加することによってpHを7.0～7.4の値に調整することによって、塩を溶液として得た。以下の塩基を調査した：エチルアミン、トリエチルアミン、エチレンジアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、コリン、メグルミン、リジン及びアルギニン。
【０４３８】
例えば：
Ic-007aの塩：
混合物を40℃で2日間撹拌した後、メグルミン、リジン及びジエタノールアミンを用いて可溶性塩を得た。エタノールを用いた沈殿によって、DMSOから固形のIc-007a-Lys2塩を得た。当該塩は水溶液として室温で少なくとも7日間安定であった。
【０４３９】
IIc-007aの塩：
DEA1-塩：小規模では、pHを調整することなく基本手順によってモノジエチルアンモニウム塩を得た。溶解度：親二酸について、17.4mg/mL対1.8mg/mL
【０４４０】
大規模プロセス及びキャラクタリゼーション：
IIc-007a(20g、42.7mmol)に、EtOH(200ml)を充填した。反応物を室温で撹拌してスラリーを得た。DEA(4.4ml、42.7mmol)を充填し、反応物を50℃で2時間加熱した。バッチを室温に冷却し、固体を濾別した。濾過ケーキをEtOH(50mL)で洗浄し、40℃でオーブン乾燥させて、21.5gのモノ-DEA塩を黄色固体として収率98%で得た。 NMR: 1.6% EtOH, 1.04eq DEA. HPLC: 99.6%.

【０４４１】
IIc-007aのモノ-DEA塩の固体データは、XRPD分析において明確な結晶パターンを示した。TGAトレースは、120℃未満の少量のEtOHの損失を示し、EtOHが60～80℃で乾燥され得ることを示した。次いで、DSCにおける融解吸熱(273.8℃でピーク)に伴うDEAの損失(1：1塩について理論上13.5重量%)、続いて遊離酸形態の融解が観察された。
【０４４２】
DEA2-塩、pHを調整：pH調整を伴う基本手順により得た（pH=7.25に達するために0.51当量のEt_2NHを追加で必要とした）。溶液中の塩は、40℃で21日後に明らかな分解を示し、80℃で24時間後に広範な分解を示す。
DEA2-塩、pHを調整せず：pH調整せずに基本手順により得た。溶液のpH=5.87。溶液中の塩は、4℃、20℃、及び40℃で21日後に分解を示さなかった。
Lys2-塩、pHを調整せず：2当量のL-リジンを用いて基本手順により得た。溶液のpH=5.74。
【０４４３】
注：2-ヒドロキシイソフタル酸のビス(N-メチル)アミド(フェノールのpKa=6.81)との類似性によって、IIc-007aのイソフタル酸ビス-アミドコアの2-OH基は著しく酸性であり、そのイオン化は分子の分解につながる。この効果はIc-007aでは観察されない(フェノール官能基の予想pKaは9.8～10.0の範囲にある)。したがって、IIc-007aのジカチオン塩の溶液のpHを調整しないことが重要である。
【０４４４】
IIIc-061aの塩:
DEA3-塩、pHを調整：pH調整を伴う3当量のEt_2NHを使用する基本手順により得た（最終pH=7.22に達するために0.8当量のHCl(0.5 M)を追加で必要とした）。溶液中の塩は、4℃、20℃で21日後には分解を示さず、40℃で33日後にわずかな分解を示した。
Meg3-塩、pHを調整：最終pH=7.22(HCl0.5M)に達するようにpH調整しながら3当量のメグルミンを使用する基本手順により得た。溶液中の塩は、4℃、20℃では21日後に分解を示さず、40℃では14日後に分解を示さなかった。
【０４４５】
IVc-059aの塩
DEA2-塩、pHを調整：pH調整を伴う基本手順により得た（pH=7.3に達するために0.32当量のEt_2NHを追加で必要とした）。溶液中の塩は、4℃、20℃、及び40℃で26日後に安定性を示す。
【０４４６】
実施例1.14．プロドラッグ
Ic-007aのプロドラッグ
１）2-モルホリノエチル5-[[2,5-ジヒドロキシ-4-[[4-ヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル]カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-ベンゾエート(Ic-007a-mpe2)。
【化７４】



【０４４７】
エステル化N,N-ジメチルホルムアミド(4ml)中の5-[[2,5-ジベンジルオキシ-4-[(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル)カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ安息香酸(130mg、0.2mmol)の懸濁物を室温で撹拌した。N,N-ジメチルピリジン-4-アミン(49mg、0.4mmol)とN,N-ジメチルホルムアミド(0.5ml)中の2-モルホリノエタノール(53mg、0.4mmol)の溶液とを添加した。1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド

塩酸塩(115mg、0.6mmol)を添加し、反応混合物をマイクロ波リアクター中、60℃で1.5時間加熱した。反応混合物を濾過し、濾液をテトラヒドロフランで希釈し、溶媒を蒸発させた。残渣を、ジクロロメタン中0～40%メタノールで溶出を行うシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、表題の生成物を白色固体として得た(80mg、45%)。LCMS (m/z) [M+H] 875.1.

【０４４８】

水素化分解：テトラヒドロフラン(12ml)及び水(4ml)中の上記で得られたジエステル(80mg、0.092mmol)の溶液を調製し、10%パラジウム炭素(50mg、10%ペースト)を添加した。反応混合物を水素雰囲気下で17時間撹拌した。触媒を濾過により除去し、溶媒を蒸発させた。残渣を、10～97%(アセトニトリル+0.1%ギ酸)：(水+0.1%ギ酸)の勾配を用いるC18カラムでの逆相分取HPLCにより精製した。残渣をジエチルエーテルでトリチュレートし、減圧下で乾燥させて、表題の生成物Ic-007a-mpe2を黄色固体(22mg、35%)として得た。

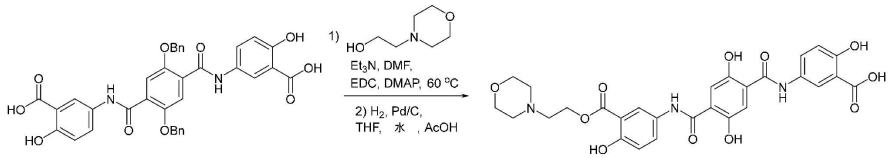
【０４４９】

^{1}H NMR (d6-DMSO ppm) δ 11.16-11.00 (br s, 1H), 10.46 (s, 1H), 10.45-10.15 (br s, 1H), 8.25 (d, J=2.7 Hz, 1H), 7.77 (dd, J=9.0, 2.7Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.01 (d, J=9.0 Hz, 1H), 4.46 (t, J=5.4 Hz, 2H), 3.62-3.56 (m, 4H), 2.77-2.69 (m, 2H), 2.56-2.50 (m, 4H, partly obscured by DMSO peak). LCMS (m/z) [M+H] 695.0.

【０４５０】

２）5-[[2,5-ジヒドロキシ-4-[[4-ヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル]カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(Ic-007a-mpe1)

【化７５】



【０４５１】

エステル化。N,N-ジメチルホルムアミド(7ml)中の5-[[2,5-ジベンジルオキシ-4-[(3-カルボキシ-4-ヒドロキシ-フェニル)-カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(324mg、0.5mmol)及びトリエチルアミン(101mg、0.15ml、1mmol)の溶液を室温で撹拌した。N,N-ジメチルホルムアミド(1ml)及びN,N-ジメチルピリジン-4-アミン(122mg、1mmol)中の2-モルホリノエタノール(66mg、0.5mmol)の溶液を添加した。1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(115mg、0.6mmol)を添加し、反応混合物を室温で2時間撹拌し、次いでマイクロ波中、60℃で4時間加熱した。反応を同様の規模で繰り返し、反応混合物を合わせた。溶媒を蒸発させ、残渣をジエチルエーテルでトリチュレートして、モノとジエステルとの混合物(230mg)を得た。LCMS(m/z) [M+H]762.0 (モノエステル)

【０４５２】

水素化分解上記で得られたモノとジエステルとの混合物(230 mg)を酢酸(10ml)、テトラヒドロフラン(15ml)及び水(5ml)に溶解し、10%パラジウム炭素(150mg、10%ペースト)を添加した。反応混合物を水素雰囲気下で16時間撹拌した。触媒を濾過により除去し、溶媒を蒸発させて黄色ガム状物(140mg)を得た。残渣を、10～70%(アセトニトリル+0.1%ギ酸)：(水+0.1%ギ酸)の勾配を用いるC18カラムでの逆相分取HPLCによって精製した。残渣をジエチルエーテルでトリチュレートし、減圧下で乾燥させて、表題のモノエステルIc-007a-mpe1を黄色固体(11mg)として得た。

【０４５３】

^{1}H NMR (d6-DMSO ppm) δ 11.33-11.29 (br s, 1H), 11.13-10.08 (br s, 1H), 10.50-10.44 (br s, 2H), 10.36-10.30 (br s, 1H), 8.25 (d, J=2.4 Hz, 1H), 8.06-8.

02 (m, 1H), 7.78 (dd, J=9.0, 2.4Hz, 1H), 7.69-7.60 (m, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.01 (d, J=9.0 Hz, 1H), 6.75 (d, J=8.7 Hz, 1H), 4.50-4.45 (m, 2H), 3.65-3.55 (m, 4H), 2.81-2.71 (m, 2H), 2.60-2.50 (m, 4H, partially obscured by DMSO peak). LCMS (m/z) [M+H] 582.0.

【０４５４】

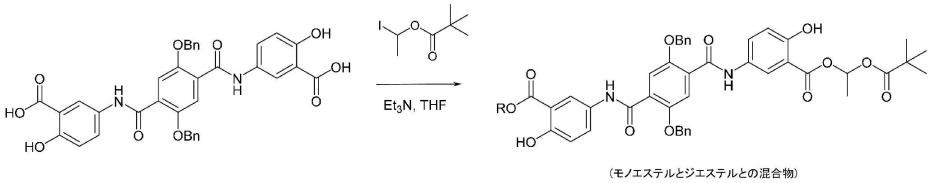
3)1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エチル5-[[4-[[3-[1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-4-ヒドロキシ-フェニル]カルバモイル]-2,5-ジヒドロキシ-ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-ベンゾエート(Ic-007a-pive2)

及び

【０４５５】

4)5-[[4-[[3-[1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-4-ヒドロキシ-フェニル]カルバモイル]-2,5-ジヒドロキシ-ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(Ic-007a-pive1)

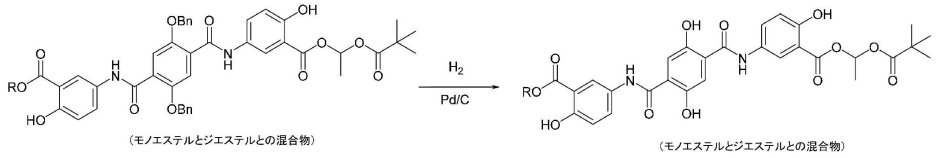
【化７６】



【０４５６】

エステル化N,N-ジメチルホルムアミド(10mL)中の5-[[2,5-ジベンジルオキシ-4-[(3-カルボキシ-4-ヒドロキシ-フェニル)カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(324mg、0.5mmol)及びトリエチルアミン(152mg、0.21mmol)の溶液を0℃で撹拌し、1-ヨードエチル2,2-ジメチルプロパノアート(572mg、2mmol)を添加した。反応混合物を室温に温め、室温にて24時間撹拌した。ジメチルホルムアミドを蒸発させ、残渣をジクロロメタンと二亜硫酸ナトリウム水溶液との間で分配した。有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、蒸発させて、モノとジエステルとの1：1混合物(187mg)を得た。反応を繰り返し、エステルの1：1混合物を合わせた。LCMS(m/z) [M+H]777.0(モノエステル)及び905.1(ジエステル)。

【化７７】



【０４５７】

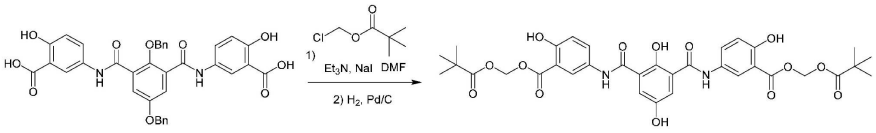
水素化分解

上記で得られたモノとジエステルとの混合物(320mg)をテトラヒドロフラン(50ml)及び水(5ml)に溶解し、10%パラジウム炭素(300mg、10%ペースト)を添加した。反応混合物を水素雰囲気下で20時間撹拌した。触媒を濾過により除去し、溶媒を蒸発させた。LCMSは、部分的な脱保護のみが達成されたことを示した。残渣をテトラヒドロフラン(36ml)及び水(6ml)に溶解し、10%パラジウム炭素(600mg、10%ペースト)を添加した。反応混合物を水素雰囲気下で22時間撹拌した。触媒を濾過により除去し、溶媒を蒸発させた。残渣を、40～97%(アセトニトリル+0.1%ギ酸)：(水+0.1%ギ酸)の勾配を用いるC18カラムでの逆相分取HPLCによって精製した。残渣をジエチルエーテルでトリチュレートし、減圧下で乾燥させて、表題の生成物を得た。

【０４５８】

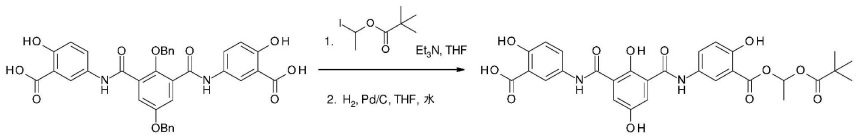
ジエステル(Ic-007a-pive2)：黄色固体(60mg)。^{1}H NMR (d6-DMSO ppm) δ 11.05 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.18 (br s, 1H), 7.83-7.77 (m, 1H), 7.52

(s, 1H), 7.05-6.96 (m, 2H), 1.58 (d, J=5.5 Hz, 3H), 1.17 (s, 9H). LCMS (m/z) [M+H] 724.9.
バイオデータ：$T_{1/2}$ (マウス血漿): 62.2分 (エステル切断; １時間後に65% 残存); $T_{1/2}$ (ヒト血漿): 〉 180分.
【０４５９】
モノエステル(Ic-007a-pive1)：黄色の固体(35mg)。^{1}H NMR (d6-DMSO ppm) δ 11.13 (s, 1H), 11.06 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.21-8.18 (m, 2H), 8.78-8.72 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.03-6.92 (m, 3H), 1.58 (d, J=5.5 Hz, 3H), 1.17 (s, 9H). LCMS (m/z) [M+H] 596.9
バイオデータ：$T_{1/2}$ (マウス血漿): 44.6分 (エステル切断 ; １時間後に49% 残存); $T_{1/2}$ (ヒト血漿): 〉 180分.
【０４６０】
IIc-007aのプロドラッグ
1)2,2-ジメチルプロパノイルオキシメチル5-[[3-[[3-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシメトキシカルボニル)-4-ヒドロキシ-フェニル]カルバモイル]-2,5-ジヒドロキシ-ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-ベンゾエート(IIc-007a-pivm2)
【化７８】



【０４６１】
エステル化N,N-ジメチルホルムアミド中の5-[[2,5-ジベンジルオキシ-3-[(3-カルボキシ-4-ヒドロキシ-フェニル)カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(280mg、0.432mmol)の溶液を調製し、クロロメチル2,2-ジメチルプロパノアート(137μL、0.95mmol)、続いてトリエチルアミン(167μL、1.2mmol)及びヨウ化ナトリウム(143mg、0.95mmol)を添加した。撹拌溶液を50℃で18時間加熱した。次いで、溶液を冷却し、塩化アンモニウム飽和溶液と酢酸エチルとの間で分配した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させた。残渣を、100%イソヘキサンから50%酢酸エチル、50%イソヘキサンの勾配を使用するシリカカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、ジエステルを無色ガム状物として得た(192mg、51%)。LCMS(m/z)[M+H]876.9.
【０４６２】
水素化分解：テトラヒドロフラン(4.5mL)中の上記で得られたジエステル(192mg、0.219mmol)の溶液を調製し、水(1.5mL)中の10%パラジウム炭素(40mg、0.04mmol)の攪拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に18時間置いた。反応物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させてクリーム色の固体(142mg)を得た。固体を、60%アセトニトリル、40%水から100%アセトニトリル(0.1%ギ酸)の勾配を使用するC18カラムでのHPLCにより精製して、表題のジエステルIIc-007a-pivm2を白色固体(75mg、49%)として得た。 ^{1}H NMR (DMSO-D_6 ppm) δ 13.03 (br s, 1H), 10.43 (br s, 2H), 10.16 (s, 2H), 9.52 (br s, 1H), 8.17 (d, J=2.7Hz, 2H), 7.82 (dd, J=8.9Hz, 2.7Hz, 2H), 7.55 (s, 2H), 7.02 (d, J=8.9Hz, 2H), 5.98 (s, 4H), 1.17 (s, 18H). LCMS (m/z) [M-H] 694.9.
【０４６３】
2)5-[[3-[[3-[1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-4-ヒドロキシ-フェニル]カルバモイル]-2,5-ジヒドロキシ-ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(IIc-007a-pive1)

【化７９】



【０４６４】

エステル化N,N-ジメチルホルムアミド(10ml)中の5-[[2,5-ジベンジルオキシ-3-[(3-カルボキシ-4-ヒドロキシ-フェニル)カルバモイル]ベンゾイル]アミノ]-2-ヒドロキシ-安息香酸(324mg、0.5mmol)及びトリエチルアミン(101mg、0.14ml、1.0mmol)の溶液を0℃で撹拌した。1-ヨードエチル2,2-ジメチルプロパノアート(154mg、0.6mmol)を添加した。反応混合物を室温で21時間撹拌した。追加のトリエチルアミン(0.14ml、1.0mmol)及び1-ヨードエチル2,2-ジメチルプロパノアート(154mg、0.6mmol)を添加し、反応混合物を室温で1時間撹拌した。溶媒を蒸発させた。残渣をジクロロメタンと二亜硫酸ナトリウム溶液との間で分配した。有機抽出物を合わせ、塩水で洗浄し、溶液を疎水性フリットに通すことによって乾燥させた。濾液を蒸発させて、モノとジエステルとの混合物を得た。残渣を、イソヘキサン中5～100%酢酸エチル、続いてジクロロメタン中10%メタノールで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、モノエステルを黄色固体として得た(121mg)。LCMS (m/z) [M+H] 777.

【０４６５】

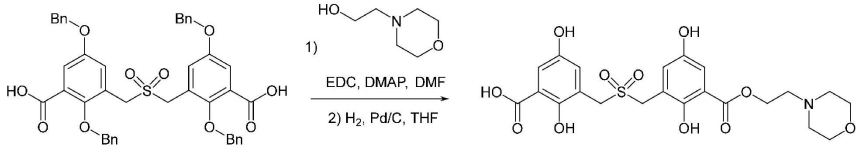
水素化分解10%パラジウム炭素(250mg、10%ペースト)を含有するテトラヒドロフラン(16ml)及び水(4ml)中の上記で得られたモノエステル(121mg、0.15mmol)の溶液を、水素雰囲気下で18時間撹拌した。触媒を濾過により除去し、溶媒を蒸発させた。残渣を、40～97%(アセトニトリル+0.1%ギ酸)：(水+0.1%ギ酸)の勾配を使用する逆相分取HPLCにより精製して、モノエステルIIc-007a-pive1を黄色固体(34mg)として得た。^{1}H NMR (DMSO-D6” ppm) δ 13.15 (br s, 1H), 10.47 (br s, 2H), 10.18 (s, 1H), 9.47 (br s, 1H), 8.21 (d, J=3 Hz 1H), 8.17 (d, J=3 Hz 1H), 7.82 (dd, J=9, 3 Hz 1H), 7.78 (dd, J=9, 3 Hz 1H), 7.59-7.55 (m, 2H), 7.03 (d, J=9 Hz 1H), 6.99 (q, J=5.4 Hz 1H), 7.96 (d, J=9 Hz 1H), 1.58 (d, J=5.4 Hz, 3H), 1.17 (s, 9H). LCMS (m/z) [M-H] 595.1.

【０４６６】

IVc-059aのプロドラッグ

1)2,5-ジヒドロキシ-3-[[2,5-ヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル]メチルスルホニル-メチル]安息香酸(IVc-059a-mpe1)

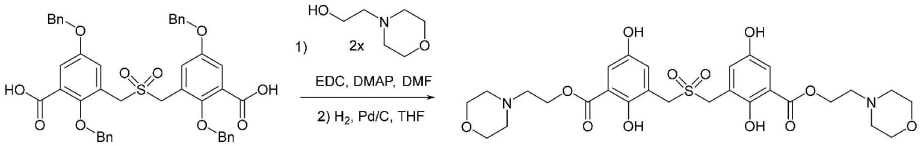
【化８０】



【０４６７】

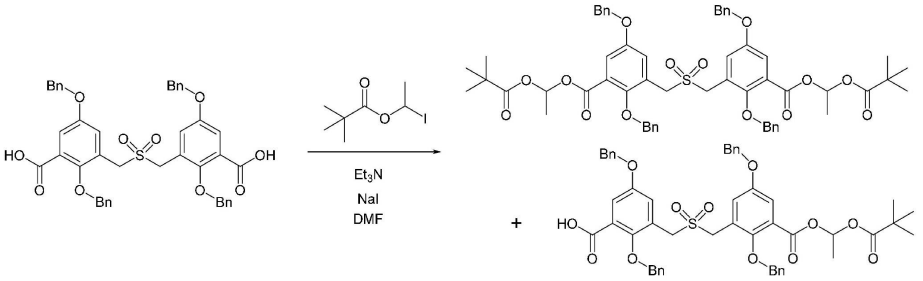
エステル化N,N-ジメチルホルムアミド(93mL)中の2,5-ジベンジルオキシ-3-[(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニル-メチル]安息香酸(300mg、0.40mmol)及び2-モルホリノエタノール(53mg、0.40mmol)の溶液を調製し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC、93mg、0.48mmol)及びN,N-ジメチルピリジン-4-アミン(10mg、0.08mmol)を添加した。反応混合物を室温にて18時間撹拌した。得られた溶液を蒸発乾固させ、残渣を、30%アセトニトリル、70%水から100%アセトニトリル(0.1%ギ酸)の勾配を使用するC18カラムでのHPLCにより精製して、モルホリノエチルエステルを無色ガム状物(111mg、32%)として得た。LCMS (m/z) [M+H] 872.1.

【０４６８】
水素化分解テトラヒドロフラン(3mL)中の上記モノエステル(111mg、0.127mmol)の溶液を、水(1mL)中の10%パラジウム炭素(20mg、0.019mmol)の撹拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に18時間置いた。
【０４６９】
反応物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させて褐色固体を得た。固体を、10%アセトニトリル、90%水から60%アセトニトリル、40%水(0.1%ギ酸)の勾配を使用するC18カラムでのHPLCにより精製して、白色固体(20.5mg)を得た。固体をジエチルエーテルでトリチュレートし、減圧下で乾燥させて、表題の生成物IVc-059a-mpe1を白色固体(5mg、8%)として得た。
【０４７０】
^{1}H NMR (DMSO-d6 ppm) δ 10.33 (br s, 1H), 9.30 (s, 1H) 8.92 (s, 1H), 7.08-7.15 (m, 3H), 6.91 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.40 (t, J=5.0Hz, 2H), 4.36 (s, 2H), 3.65-3.72 (m, 4H), 3.05 (t, J=5.0Hz, 2H), 2.78-2.87 (m, 4H). LCMS (m/z) [M+H] 511.9.
バイオデータ：マウス血漿中60分間まで安定
【０４７１】
2)2,5-ジヒドロキシ-3-[[2,5-ヒドロキシ-3-(2-モルホリノエトキシカルボニル)フェニル]メチルスルホニル-メチル]安息香酸2-モルホリノエチルエステル(IVc-059a-mpe2)
【化８１】

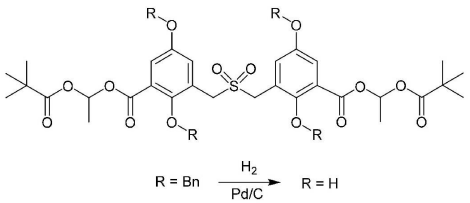


【０４７２】
N,N-ジメチルホルムアミド(1mL)中の2,5-ジベンジルオキシ-3-[(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル]安息香酸(69mg、0.091mmol)及び2-モルホリノエタノール(25mg、0.19mmol)の溶液を調製し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(42 mg, 0.48 mmol)及びN,N-ジメチルピリジン-4-アミン(5mg、0.04mmol)を添加した。反応混合物を室温にて18時間撹拌した。得られた溶液を蒸発乾固させ、残渣を、10%メタノール、90%ジクロロメタンを用いるシリカカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、表題の生成物を無色ガム状物(58mg、65%)として得た。LCMS (m/z) [M+H] 985.0.
【０４７３】
テトラヒドロフラン(1.5mL)中の上記で得られたジエステル(58mg、0.059mmol)の溶液を調製し、水(0.5mL)中の10%パラジウム炭素(5mg、0.005mmol)の撹拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に18時間置いた。反応物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させて褐色固体を得た。固体を、10%アセトニトリル、90%水から60%アセトニトリル、40%水(0.1%ギ酸)の勾配を使用するC18カラムでのHPLCにより精製して、白色固体(13.7mg)を得た。
固体をジエチルエーテルでトリチュレートし、減圧下で乾燥させて、表題の生成物IVc-059a-mpe2を白色固体(9.1mg、25%)として得た。
【０４７４】
^{1}H NMR (CD_3OD ppm) δ 8.34 (br s, 2H), 7.32 (d, J=3.1Hz, 2H), 7.16 (d, J=3.1Hz, 2H), 4.52 (t, J=5.5Hz, 4H), 4.45 (s, 4H), 3.68-3.73 (m, 8H), 2.83 (t, J=5.5Hz, 4H), 2.58-2.65 (m, 8H). LCMS (m/z) [M+H] 625.0.
バイオデータ：マウス血漿中で60分まで安定；$T_{1/2}$(ヒト血漿)：〉180分。
【０４７５】
3)3-[[3-[1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-2,5-ジヒドロキシ-フェニル]メチル-スルフォニル-メチル]-2,5-ジヒドロキシ-安息香酸1-(2,2-ジメチルプロ

パノイルオキシ)エチルエステル(IVc-059a-pive2)
【化８２】

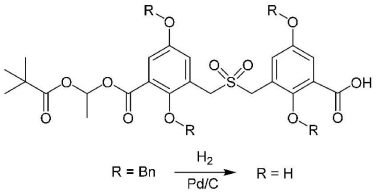


【０４７６】
エステル化無水N,N-ジメチルホルムアミド(5mL)中の2,5-ジベンジルオキシ-3-[(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシ-フェニル)メチル-スルホニルメチル]安息香酸(200mg、0.263mmol)の溶液を調製し、トリエチルアミン(88μL、0.63mmol)、ヨウ化ナトリウム(8mg、0.053mmol)及び粗1-ヨードエチル2,2-ジメチルプロパノアート(約4.2mmol)を添加した。反応混合物を室温にて18時間撹拌した。得られた溶液を蒸発させて少量にし、残渣をジクロロメタンとチオ硫酸ナトリウム溶液との間で分配した。有機層を疎水性フリットに通して濾過し、蒸発させた。残渣を、100%イソヘキサンから50：50酢酸エチル/イソヘキサンの勾配で溶出するシリカゲルカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、ジエステルを無色ガム状物として得た(110mg、41%)。LCMS(m/z)[M+Na] 1037.0
モノエステルも同じカラムから無色ガム状物として単離した(90mg、40%)。 LCMS (m/z) [M+Na] 909.6.
【０４７７】
水素化分解：
【化８３】



【０４７８】
テトラヒドロフラン(3mL)中の上記で単離したジエステル(110mg、0.108mmol)の溶液を、水(1mL)中の10%パラジウム炭素(20mg、0.02mmol)の撹拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に48時間置いた。当該反応混合物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させ、残渣を、100%ジクロロメタンから10%メタノール、90%ジクロロメタンの勾配で溶出するシリカカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、表題の生成物IVc-059a-pive2をクリーム色固体として得た(55mg、78%)。
【０４７９】
^{1}H NMR ($CDCl_3$ppm) δ 10.55 (s, 2H), 7.24-7.28 (m, 2H), 7.14-7.18 (m, 2H), 7.05 (q, J=5.4Hz, 2H), 6.18 (br s, 2H), 4.30-4.50 (m, 4H), 1.60 (d, J=5.4Hz, 6H), 1.21 (s, 18H). LCMS (m/z) [M-H] 653.9.
バイオデータ：マウス及びヒト血漿中で迅速に加水分解された。
【０４８０】
4)3-[[3-[1-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシ)エトキシカルボニル]-2,5-ジヒドロキシ-フェニル]メチルスルホニル-メチル]-2,5-ジヒドロキシ-安息香酸(IVc-059a-pive1)
水素化分解：

【化８４】



【０４８１】

テトラヒドロフラン(3mL)中の上記で単離したモノエステル(90mg、0.104mmol)の溶液を、水(1mL)中の10%パラジウム炭素(20mg、0.02mmol)の撹拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に48時間置いた。当該反応物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させ、残渣を、100%ジクロロメタンから20%メタノール、80%ジクロロメタンの勾配で溶出するシリカカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、表題の生成物IVc-059a-pive1をクリーム色固体として得た(22.5mg、43%)。

【０４８２】

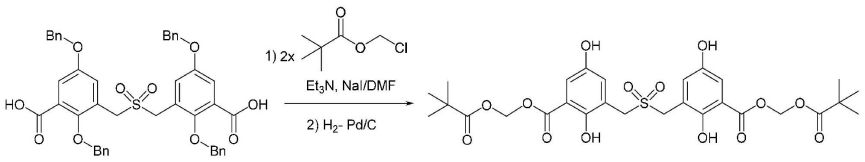
1H NMR (CD_3OD ppm) δ 7.39 (d, , J=3.1Hz, 1H), 7.25 (d, J=3.1Hz, 1H), 7.18 (d, J=3.1Hz, 1H), 7.05 (q, J=5.4Hz, 1H), 6.96 (d, J=3.1Hz, 1H), 4.40-4.45 (m, 4H), 1.61 (d, J=5.4Hz, 3H), 1.21 (s, 9H). LCMS (m/z) [M-H] 524.9.

バイオデータ：マウス血漿中で迅速に加水分解した。

【０４８３】

5)2,2-ジメチルプロパノイルオキシメチル2,5-ジヒドロキシ-3-[[2,5-ジヒドロキシ-3-(2,2-ジメチル-プロパノイルオキシメトキシカルボニル)フェニル]メチルスルホニルメチル]ベンゾエート(IVc-059a-pivm2)

【化８５】



【０４８４】

エステル化無水N,N-ジメチルホルムアミド(1mL)中の2,5-ジベンジルオキシ-3-[(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシ-フェニル)メチルスルホニル-メチル]安息香酸(100mg、0.131mmol)の溶液を調製し、クロロメチル2,2-ジメチルプロパノアート(91μL、0.631mmol)、続いてトリエチルアミン(110μL、0.789mmol)及びヨウ化ナトリウム(87mg、0.579mmol)を添加した。反応混合物を50℃で6.5時間加熱した。得られた溶液を蒸発させ、残渣を酢酸エチルと水との間に分配した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させた。残渣を、100%イソヘキサンから50%酢酸エチル、50%イソヘキサンの勾配で溶出するシリカゲルカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、ジエステル生成物を無色ガム状物として得た(85mg、66%)。LCMS(m/z)[M+Na]1010.0

【０４８５】

水素化分解：テトラヒドロフラン(3mL)中の上記で得られたジエステル(85mg、0.086mmol)の溶液を、水(1mL)中の10%パラジウム炭素(20mg、0.02mmol)の攪拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に18時間置いた。当該反応物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させ、残渣を、100%イソヘキサンから60%酢酸エチル、40%イソヘキサンの勾配で溶出するシリカゲルカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、ジエステルIVc-059a-pivm2を白色固体として得た(31mg、57%)。

【０４８６】

^1H NMR ($CDCl_3$ppm) δ 7.29 (d, J=2.9Hz, 2H), 7.19 (d, J=2.9Hz, 2H), 5.97 (s, 4H), 4.42 (s, 4H), 1.22 (s, 18H). LCMS (m/z) [M-H] 624.8.

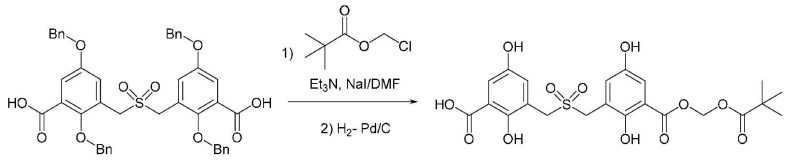
バイオデータ：マウス血漿中で迅速に加水分解した、$T_{1/2}$=14.1分；$T_{1/2}$(ヒト血漿)：〉

180分。

【０４８７】

6)2,5-ジヒドロキシ-3-[[2,5-ジヒドロキシ-3-(2,2-ジメチルプロパノイルオキシメトキシカルボニル)フェニル]メチル-スルホニルメチル]安息香酸(IVc-059a-pivm1)

【化８６】



【０４８８】

エステル化：無水N,N-ジメチルホルムアミド(3mL)中の2,5-ジベンジルオキシ-3-[(2,5-ジベンジルオキシ-3-カルボキシフェニル)メチルスルホニルメチル]安息香酸(300mg、0.395mmol)の溶液を調製し、クロロメチル2,2-ジメチルプロパノアート(57μL、0.395mmol)、続いてトリエチルアミン(68μL、0.489mmol)及びヨウ化ナトリウム(129mg、0.870mmol)を添加した。反応混合物を50℃で4時間加熱した。得られた溶液を冷却し、次いで蒸発させた。残渣を、20%酢酸エチル、80%イソヘキサンから80%酢酸エチル、20%イソヘキサンの勾配で溶出するシリカカラムでのクロマトグラフィーにより精製して、モノエステル生成物を白色固体として得た(121mg、35%)。LCMS (m/z) [M-H] 871.0.

【０４８９】

水素化分解：テトラヒドロフラン(3mL)中の上記で得られたモノエステル(121mg、0.138mmol)の溶液を、水(1mL)中の10%パラジウム炭素(20mg、0.02mmol)の攪拌した懸濁物に添加した。撹拌した反応混合物を水素雰囲気下に48時間置いた。反応物を濾過して触媒を除去し、溶液を蒸発させ、残渣を、30%アセトニトリル、70%水から100%アセトニトリル(0.1%ギ酸)の勾配で溶出するC18カラムでのHPLCにより精製して、モノエステルIVc-059a-pivm1を白色固体として得た(30mg、42%)。

【０４９０】

^{1}H NMR (CD_3OD ppm) δ 7.34 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.27 (d, J=3.1Hz, 1H), 7.20 (d, J=3.1Hz, 1H), 7.08 (d, J=3.0Hz, 1H) , 6.01 (s, 2H), 4.45 (s, 4H), 1.22 (s, 9H). LCMS (m/z) [M-H] 510.9.

バイオデータ：マウス血漿中で迅速に加水分解，$T_{1/2}$ = 6.7分; $T_{1/2}$ (ヒト血漿): 〉 180分.

【０４９１】

実施例２．一般的な実験方法

NMR分光法

^{1}H NMRスペクトルは、Bruker Advance III NMR分光計で400 MHzで記録した。サンプルを重水素化クロロホルム($CDCl_3$)又はジメチルスルホキシド(DMSO-d_6)中で調製し、生データをMnova NMRソフトウェアを用いて処理した。高分解能質量スペクトルは、MaXIs ESI qTOF超高分解能質量分析計で記録した。

【０４９２】

UPLC-MS分析

UPLC-MS分析は、Acquity I-Class Sample Manager-FL、Acquity I-Class Binary Solvent Manager及びAcquity I-Class UPLC Column ManagerからなるWaters Acquity UPLCシステムで行った。UV検出は、Acquity I-Class UPLC PDA検出器(210～400nmから走査)を使用して達成したが、質量検出は、Acquity QDa検出器(100～1250Daから質量走査；ポジティブモードとネガティブモードを同時)を使用して達成した。Waters Acquity UPLC BEH C18カラム(2.1×50mm、1.7mm)を使用して、分析物の分離を達成した。

【０４９３】

サンプルは、H_2O中のMeCN1：1(v/v)混合物1mLに溶解(超音波処理あり又はなし)す

ることによって調製した。得られた溶液を、0.45μmシリンジフィルターを通して濾過し、その後分析に供した。使用した全ての溶媒(ギ酸及び36%アンモニア溶液を含む)は、HPLCグレードとして使用した。

4つの異なる分析方法をこの研究のために使用したが、その詳細を以下に示す。

酸性ラン(2分)：水中0.1%v/vギ酸[溶離液A]；MeCN中0.1%v/vギ酸[溶離液B]；流速0.8mL/分；注入量2μL及びサンプル間の平衡化時間1.5分。

【０４９４】

【表１４】

表14:

時間 (分)	溶出液 A (%)	溶出液 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
1.55	5	95
1.65	95	5
2.00	95	5

【０４９５】

酸性ラン(4分)：水中0.1%v/vギ酸[溶離液A]；MeCN中0.1%v/vギ酸[溶離液B]；流速0.8mL/分；注入量2μL及びサンプル間の平衡化時間1.5分。

【０４９６】

【表１５】

表15:

時間 (分)	溶出液 A (%)	溶出液 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
2.75	5	95
3.25	5	95
3.35	95	5
4.00	95	5

【０４９７】

酸性ラン(6.5分)：10mMギ酸アンモニウム+0.1%v/vギ酸[溶離液A]；MeCN中の0.1%v/vギ酸[溶離液B]；流速0.6mL/分；注入量2μL。

【０４９８】

【表１６】

表16:

時間 (分)	溶出液 A (%)	溶出液 B (%)
0.00	95	5
0.50	95	5
4.00	5	95
4.50	5	95
4.52	95	5
6.50	95	5

【０４９９】

塩基性ラン(2分)：水中0.1%アンモニア[溶離液A]；MeCN中0.1%アンモニア[溶離液B]

；流速0.8mL/分；注入量2μL及びサンプル間の平衡化時間1.5分。

【０５００】

【表１７】

表17:

時間 (分)	溶出液 A (%)	溶出液 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
1.55	5	95
1.65	95	5
2.00	95	5

【０５０１】

塩基性ラン(4分)：水中0.1%アンモニア[溶離液A]；MeCN中0.1%アンモニア[溶離液B]；流速0.8mL/分；注入量2μL及びサンプル間の平衡化時間1.5分。

【０５０２】

【表１８】

表18:

時間 (分)	溶出液 A (%)	溶出液 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
2.75	5	95
3.25	5	95
3.35	95	5
4.00	95	5

【０５０３】

塩基性ラン(6.5分)：10mM重炭酸アンモニウム+0.1%v/v35%アンモニア溶液[溶離液A]；MeCN中の0.1%v/vギ酸[溶離液B]；流速0.6mL/分；注入量2μL。

【０５０４】

【表１９】

表19:

時間 (分)	溶出液 A (%)	溶出液 B (%)
0.00	95	5
0.50	95	5
4.00	5	95
4.50	5	95
4.52	95	5
6.50	95	5

【０５０５】

分取HPLC精製

分取HPLCは、XBridge Prep C18カラム(19×150mm)を備えたWaters autopurification systemを使用して実施した。Watersシステムは、Waters 2545 Binary Prep Pump、Waters 2767 Sample Manager、Waters SFO Column Organizer、Waters 2998 DAD、Waters 515 Make up Pump及びAcquity QDa質量分析計からなっていた。

精製システムを、Open Access Loginモジュールを備えたMassLynxソフトウェア(バ

ージョン4.2)によって制御した。

【０５０６】

移動相は、(A)10mMギ酸アンモニウム(+0.1%v/vギ酸)及び(B)アセトニトリル(+0.1%v/vギ酸)からなっていた。

サンプルを、DMSO中の10%v/v水に溶解することにより調製して、約150 mg/mLの濃度を得た。体積320mLの調製したサンプルをカラムにロードし、25mL/分の流速で室温にて勾配溶出を利用して精製した。注入の間に1.5分間の平衡化がある。

【０５０７】

【表２０】

表20:グラジエント:

時間 (分)	% (A)
0.0	95
0.5	95
14.5	0
17.4	0
17.5	95
18.0	95

【０５０８】

実施例３．インビトロスクリーニング方法

実施例3.1．インビトロHUVEC細胞FGF1、FGF2及びVEGF-A阻害方法

このインビトロ方法の目的は、スフェロイドベースの細胞血管新生アッセイにおいて、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)のFGF-2、FGF-1、又はVEGF-A誘導性発芽に対する化合物の効果を評価することである。増殖因子を細胞に添加する前に、それらを化合物と共にプレインキュベートした。スニチニブを対照(プレインキュベーションなし)として試験した。

スニチニブ対照は、予想通り、FGF-2、FGF-1及びVEGF-A誘導性HUVEC発芽を阻害した。試験化合物について決定したIC50値は、マイクロM[μM]で表され、FGF-1、FGF2及びVEGF-A誘導性増殖(発芽)の阻害についての値は、化学的キャラクタリゼーション後の実施例における各化合物の後に列挙する。

【０５０９】

発芽試験を、100倍濃縮ストック溶液に達するようにDMSOに溶解し、培養培地に溶解した化合物に対して行った。基準化合物としてのスニチニブは、ProQinase GmbHによって提供された。増殖因子は、rhFGF-basic (FGF-2), Peprotech, New Jersey, USA, #100-18C, Lot# 0415571から購入し；rhFGF-acidic (FGF-1), Peprotech, New Jersey, USA, #100-17A, Lot# 031207; hVEGF-A165 (ProQinase GmbH, Freiburg, Germany; 05.02.2010)を、HUVEC細胞増殖の刺激のために使用した。

試験システム：プールしたドナーからのヒト臍帯静脈(HUVEC)由来の内皮細胞を、70%培地、20%FCS、10%DMSOを用いて、約1×10^6細胞/アンプルで凍結保存した。HUVEC細胞、初代ヒト臍帯静脈内皮細胞(PromoCell,Heidelberg,Germany)を、3～4継代後に使用した。当該細胞の形態は接着性であり、単層として玉石状(cobblestone-like)に増殖し、内皮細胞増殖培地及び基本培地(ECGM/ECBM、PromoCell)中で培養した。継代培養物を1:3に分割し、3～5日毎に約1×10^4細胞/cm^2で播種し、37℃、5%CO_2で、24～48時間の倍加時間でインキュベートした。

【０５１０】

試験化合物の希釈：各試験化合物の100倍濃縮溶液(最終アッセイ濃度に関して)を、適切な溶媒を用いて(DMSO又は水で)調製した。これらの100倍化合物溶液を、内皮細胞増

殖及び基本培地(ECBM)1：7.5でさらに希釈して、13.33倍濃縮溶液を得た。75μlの13,33×溶液を続いて25μlの40×濃縮刺激(ECBMに溶解)と混合し、10×濃縮刺激/化合物混合物を得た。この混合物(100μl)を37℃で30分間インキュベートし、次いで、HUVECスフェロイドを含有する900μlのゲルに添加した(その結果、最終アッセイ濃度になった)。

試験方法：当初公開されたプロトコールを改変して実験を行った(Korff及びAugustin: J Cell Sci 112: 3249-58, 1999)。簡単に言うと、スフェロイドは、プラスチック皿上の懸滴中の400 HUVECをピペッティングして一晩スフェロイド凝集させることによって、記載されるように調製した(Korff及びAugustin: J Cell Biol 143: 1341-52, 1998)。50個のHUVECスフェロイドを0.9mlのコラーゲンゲルに播種し、24ウェルプレートの個々のウェルにピペットで移して重合させた。試験化合物を増殖因子(FGF-1、FGF-2又はVEGF-A最終濃度25ng/mL)と共に10倍濃縮溶液中でプレインキュベートし、続いてこの溶液100μlを重合ゲルの上部に添加した。全ての化合物を、まず100xストックとして溶媒(DMSO又は水)中で希釈した(これは、各最終アッセイ濃度の100×ストックを溶媒で調製したことを意味する)。続いて、これらのストックを培地でさらに希釈し(その結果、各最終アッセイ濃度の13.33×ストックになった)、最終濃度：100、50、25、12.5、6.25、3.13及び1.56×10^{-6}Mを試験した。プレートを37℃で24時間インキュベートし、4%PFA(Roth,Karlsruhe,Germany)を添加することによって固定した。

【０５１１】

増殖因子阻害の定量化：増殖因子及び阻害剤で処理したHUVECスフェロイドの発芽強度を、累積発芽長/スフェロイド(CSL)を決定する画像解析システムによって定量した。倒立顕微鏡及びデジタルイメージングソフトウェアNIS-Elements BR 3.0(Nikon)を使用して、単一スフェロイドの写真を撮影した。続いて、スフェロイド写真を、画像解析のためにWimasis社のホームページにアップロードした。各スフェロイドの累積発芽長を、画像解析ツールWimSproutを使用して決定した。10個の無作為に選択されたスフェロイドの累積発芽長の平均を個々のデータ点として分析した。IC50決定のために、生データを、100%に設定された溶媒対照(刺激を含む)及び0%に設定された基底対照(刺激なし)に対するHUVEC発芽のパーセントに変換した。IC50値は、GraphPad Prism 5ソフトウェアを用いて、可変ヒルスロープでフィッティングした非線形回帰曲線を用いてボトムを0に、トップを100に制約して決定した。

【０５１２】

結果：内皮細胞の増殖因子誘導性発芽についての用量反応関係を、全ての化合物について評価した。IC50値は、最大制約(100%HUVEC発芽)としての溶媒対照のシグナル及び最小制約(0%)としてのベース対照シグナルに基づく標準パラメータを使用して決定した。FGF1、FGF2及びVEGFAについての各化合物のそれぞれのIC50値を、バイオデータの段落におけるそれらの化学的キャラクタリゼーションの下の各化合物の下にまとめた。

【０５１３】

実施例3.2．静的条件下でのインビトロ好中球接着方法

健常ドナーのバフィーコートから得られたヒト好中球を、接着緩衝剤(1mM CaCl2/MgCl2及び10%FCSを含有するPBS、pH7.2)中に3×10^{6}/mlで懸濁した。好中球を、40μM及び80μMの化合物と共に37℃で30分間プレインキュベートした。

接着アッセイを、ヒトフィブリノゲン(エンドトキシンフリーPBS中20μg/ウェル)で4℃にて18時間コーティングした18ウェルガラススライド上で実施した；20μlの細胞懸濁物を各ウェルに添加し、5μlのfMLP 1nM最終濃度で37℃にて1分間刺激した。洗浄後、接着細胞をPBS中のグルタルアルデヒド1.5%中で固定し、コンピュータ支援エニュメレーション(enumeration)によって計数した。統計分析は、平均及び標準偏差(SD)を計算することによって実施した；有意性は、対応のないt検定によって計算した。全ての統計分析は、GraphPad Prism 6(GraphPad Software)を使用して行った。

各化合物について[%]で表される好中球接着のそれぞれの阻害を、バイオデータの段落におけるそれらの化学的キャラクタリゼーションの下の各化合物の下にまとめた。

【０５１４】
実施例3.3：ヒト好中球における活性酸素種(ROS)産生の阻害についてのインビトロ試験
原形質膜及び特定顆粒の膜に位置するNADPHオキシダーゼは、スーパーオキシドアニオンを産生し、それからROS、例えば、過酸化水素、一重項酸素、次亜塩素酸塩、及び活性ヒドロキシル基が生じる。ROSは、周囲の培地又は膜に囲まれた細胞内小器官に放出される。これらの代謝産物の生成を迅速かつ高感度に測定するための1つの方法は、化学発光(CL)である。イソルミノール(isoluminol)増幅CL法は非常に高感度であり、好中球において誘導される呼吸バースト(主にROSの細胞外産生)を研究するために広く使用されている。
【０５１５】
ヒト好中球を、健康なドナーから得たバフィーコートから単離した。単離した好中球(3×10^6/ml)を、カルシウム及びマグネシウムを含むハンクス平衡塩溶液(HBSS)に懸濁した。好中球を異なる濃度(0.1、0.3、1、3及び10μM)の化合物と共に37℃で30分間プレインキュベートした。黒色の96ウェル細胞培養プレートをヒトフィブリノゲン(PBS中0.25mg/ml)でコーティングし、4℃で一晩又は37℃で2時間インキュベートした。次いで、プレートをエンドトキシンフリーPBSで洗浄した。好中球をTNF-α(20ng/ml)と共に37℃で10分間インキュベートした(プライミング)。その後、75μlの細胞懸濁物及び75μl(イソルミノール+HRP溶液)を各ウェルに添加した。fMLP(1μM)活性化後、Multilabel Reader victor3(Perkin Elmer、USA)を用いて化学発光を記録した(25秒毎に250秒間)。HBSSで希釈したイソルミノールの平均化学発光値として定義されるバックグラウンド値を、全ての読取り値(CPS、カウント/秒)から減算した。アッセイを二重又は三重に行った。
【０５１６】
イソルミノール増幅CLアッセイから得られた結果は、fMLP+TNF-α刺激PMNにおいて、化合物が濃度依存的にROSレベルを強く低減させることを明らかにした。
[%]で表される0.3μMでのPMN ROS阻害及びIC50[μM]を、バイオデータの段落におけるそれらの化学的キャラクタリゼーションの下の各化合物の下にまとめた。
【０５１７】
実施例3.4：インビトロでのヒト好中球及びヒト単球炎症性サイトカイン生成、方法
好中球及び単球を、エンドトキシンフリー条件下で、健常なドナーのバフィーコートから単離した。簡潔に述べると、バフィーコートをFicoll-Paque PLUS勾配上に重層し、次いで400×gで30分間、室温で遠心分離した。次いで、好中球を収集し、デキストラン沈降に供し、続いて低張溶解に供して赤血球を除去した。代わりに、単球は、パーコール勾配で遠心分離した後、PBMCから単離した。ヒト好中球及び単球を、10%低エンドトキシンFBS(〈0.5EU/ml；BioWhittaker-Lonza,Basel,Switzerlandから)を補ったRPMI 1640培地中に、それぞれ5×106/ml及び2.5×106/mlで懸濁し、次いで、異なる濃度(20～40μM)の化合物の存在下又は非存在下で、37℃、5%CO2雰囲気で、24ウェル組織培養プレートに播種した。薬物で1時間処理した後、単球を0.1μg/mlで刺激し、好中球をE.coli0111：B4株(InvivoGen)由来の1μg/mlの超高純度LPSで刺激した。LPS刺激の6時間後、好中球及び単球を収集し、300×gで5分間回転させた。細胞フリーの上清を直ちに-80℃で凍結した。
【０５１８】
細胞フリーの上清中のサイトカイン濃度を、ヒトに特異的な市販のELISAキットによって測定した。CXCL8、IL-6、TNF-(Mabtech,Sweden)。これらのELISAの検出限界は以下の通りであった。CXCL8については4pg/ml、IL-6については10pg/ml、及びTNF-αについては4pg/ml。
統計分析は、平均及び標準偏差(SD)を計算することによって実施した；有意性は、対応のないt検定によって計算した。全ての統計分析は、GraphPad Prism 6(GraphPad Software)を使用して行った。
サイトカイン値を各化合物についてng/mlで表し、各化合物について、バイオデータの段落におけるそれらの化学的キャラクタリゼーションの下にまとめた。
【０５１９】

実施例3.5．一次ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)上のVEGF受容体のVEGF-165誘導性リン酸化に対する化合物によるインビトロ阻害、方法

細胞培養：初代ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を、0.1%ゼラチンで予めコーティングされたフラスコ又は皿において、継代6代目まで規定通りに培養した。異なる濃度(0、1.25、2.5、5、10及び20μM)での化合物単独の細胞生存率に対する効果を、Tecan Microplate Reader(Genios)を使用してCCK-8キットにより評価した。VEGF誘導性細胞生存率に対する化合物の効果を測定するために、HUVEC(1×10^4細胞/ウェル)を、血清及び増殖因子を含まない培養培地(飢餓培地)中で様々な濃度の化合物(0、1.25、2.5、5、10及び20μM)と予め混合したVEGF(25ng/ml)で24時間及び48時間処理した。この濃度範囲の化合物は、細胞生存率に影響を及ぼさなかった。

【０５２０】

VEGFR-2、p-Tyr1175に対するウサギ一次抗体は、Cell Signaling Technology(Leiden,The Netherlands)から入手した。Phospho-VEGFR-2 (Tyr1175) Sandwich ELISAキットは、Cell Signaling Technology社製であった。

HUVECを、0、0.16、0.31、0.63、1.25、2.5、5、10及び20μMの化合物と共に60分間プレインキュベートし、続いて温かい培地で3回洗浄した後、VEGF165(25ng/mL)で2分間刺激した。抗phospho-VEGFR-2抗体を用いてウェスタンブロット解析を行い、膜ストリッピング後に総VEGFR-2をローディング対照として用いた。

【０５２１】

VEGFR-2リン酸化の阻害の結果を、阻害化合物を含まない、VEGF処理HUVEC対照に対するIC50[μM]として表す。

各化合物について[μM]値で表されるそれぞれのIC50を、バイオデータの段落におけるそれらの化学的キャラクタリゼーションの下の各化合物の下にまとめた。

【０５２２】

実施例3.6．ヒト全血に対するLPS誘導後の化合物によるインビトロサイトカイン放出阻害

このインビトロ方法の目的は、リポ多糖(LPS)誘導性炎症反応後の全血からのサイトカインのパネルの放出に対する化合物の効果を評価することである。全血を化合物と共に1時間インキュベートした後、LPS誘導した。血中のサイトカインレベルを、マルチプレックスFACSベースのパネルを使用して測定した。

試験化合物について決定したIC50値を[μM]で表し、サイトカインの阻害についての値を各化合物について列挙した。

LPS誘導後のサイトカイン放出に対する効果を、10倍濃縮ストック溶液に達するようにDMSO又はH_2Oに溶解し培養培地に溶解した化合物について評価した。

【０５２３】

試験システム：全血を単一ドナーから(リチウムヘパリンコーティングされたチューブ中に；BD Vacutainer；367886)取り出し、RPMI 1640 (Thermo Fisher, 61870036)で1：5に希釈した。サンプリングの30分以内に、血液を化合物と1時間インキュベートし、その後LPS刺激(O111:B4-Sigma　L4391；最終濃度10ng/ml)に供した。刺激を標準細胞培養条件下(37℃、5%CO_2)で一晩(18時間)継続し、その後、プレートを遠心分離し、上清を除去し、分析に使用するまで-80℃で凍結した。

試験化合物の希釈：各試験化合物の10×濃縮溶液(最終アッセイ濃度に関して)を、適切な溶媒を用いて(DMSO又は水で)調製した。次いで、これらの10×化合物溶液(10μl)を90μlの予め希釈した全血(全血：RPMI1640、1：5)に添加すると、最終アッセイ濃度となった。

試験方法：希釈全血(80μl)を化合物(10μl)とプレインキュベートして、100、30、10、3、1、0.3及び0.1×10^{-6}Mの最終アッセイ濃度を得た。血液を37℃、5%CO_2で1時間インキュベートした。LPSを細胞培養培地中で110ng/mlの濃度に希釈し；10μlを全血に添加して10ng/mlの最終濃度を得た。プレートを37℃で18時間インキュベートした。プレートを3,000RPMで5分間、4℃にて遠心分離し、上清を除去し、FACS解析を行うまで-80℃で凍結した。

【０５２４】
カスタムマルチプレックスシステム(ELISA Genie)を製造業者の指示に従って使用して、サイトカイン放出を測定した。調製したサンプルをAttune NxTフローサイトメーター(Thermo Fisher)にかけた。
サイトカイン放出阻害の定量化：各サンプル中の各サイトカイン濃度の定量化を可能にするために、サイトカインパネルの一部として既知濃度の標準物質を流した。これは、FCAP Array v3.0ソフトウェアを使用して行った。IC50決定のために、生データを、100%に設定された溶媒対照に対するパーセント濃度に変換した。IC50値は、GraphPad Prism 8ソフトウェアを用いて、可変ヒルスロープでフィッティングした非線形回帰曲線を用いてボトムを0に、トップを100に制約して決定した。

【０５２５】
結果：全血中における炎症反応のLPS誘導後のサイトカイン放出に対する用量反応関係を、全ての化合物について評価した。IC50値を、サイトカインのパネル(GM-CSF、IFN-gamma、IL-1beta、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12p40、IL-13、IL-17A、IL-17F、IL-18、IL-21、IL-22、IL-33、TGF-beta、TNF-alpha、TNF-beta)について各化合物について決定した。
各化合物について[μM]値で表されるそれぞれのサイトカインIC50を、バイオデータの段落におけるそれらの化学的キャラクタリゼーションの下の各化合物の下に、また表13にまとめた。

【０５２６】
実施例４．化合物製剤
実施例4.1．化合物Ic-007aの経口製剤
5種の製剤を開発し、適合性について検討した。これらは、懸濁物及び溶液の両方であり、その詳細を以下の表に示す。

【０５２７】
【表２１】
表21:化合物 Ic-007a の懸濁液及び溶液についての処方詳細

	懸濁液 A	溶液 D	溶液 A	溶液 B	溶液 C
成分	量 (%)				
API	1% w/v (10 mg/mL)	0.1% w/v (1 mg/mL)	1% w/v (10 mg/mL)	1% w/v (10 mg/mL)	1% w/v (10 mg/mL)
DMSO	5% v/v	5% v/v	5% v/v	5% v/v	5% v/v
PEG 400	10% v/v	10% v/v	10% v/v	10% v/v	10% v/v
ソルトール HS15	10% w/v	10% w/v	10% w/v	10% w/v	10% w/v
水酸化ナトリウム 1M	n/a	n/a	pH 6まで	pH 8まで	pH 9まで
水	100%まで	100%まで	100%まで	100%まで	100%まで

【０５２８】
製造：懸濁物A及び溶液D：
100mLについての方法例(必要とされる最終体積に適切なスケール)溶媒ストックは、5mLのDMSOを清浄な容器に量り入れることによって調製した。正確な量の化合物Ic-007aを秤量し、シェーカー、ボルテックス又は超音波処理器で混合しながらDMSO溶液に徐々に添加した。ソルトール(Solutol)を清浄な乾燥容器中で60℃の水浴中で融解した。ソルトールは室温で凝固したので、溶融したソルトールを、製剤調製の間、60℃の水浴中に保持した。10g(10%w/v)の溶融したソルトールを、(最終体積100mLまで)好適にマークされた温めた容器に添加した。10mLのPEG 400を、温めた100mL容器中のソルトールに添加した。DMSO薬物ストック溶液をソルトールとPEG400との混合物に添加し、内容物を即座に混合し、35mLの脱イオン水を添加し、40℃の浴槽中で断続的にボルテックスし

ながら混合して、大きな粒子を溶解した。製剤を室温に冷却し、脱イオン水で最終体積100mLにした。

【０５２９】

溶液A、B及びCの製造:

100mLについての方法例(必要とされる最終体積に適切なスケール)溶媒ストックは、5mLのDMSOを清浄な容器に量り入れることによって調製した。1gの化合物Ic-007aを秤量し、必要に応じてシェーカー、ボルテックス又は超音波処理で混合しながらDMSO溶液に徐々に添加した。.ソルトール(Solutol)を清浄な乾燥容器中で60℃の水浴中で融解した。ソルトールは室温で凝固するので、溶融したソルトールを、製剤調製の間、60℃の水浴中に保持した。10g(10%w/v)の溶融したソルトールを、(最終体積100mLまで)好適にマークされた温めた容器に秤量して入れた。10mLのPEG400を、温めた100mL容器中のソルトールに添加した。DMSO薬物ストック溶液を、ソルトールとPEG400との混合物のマークされた容器に添加し、即座に内容物に混合した。35mLの脱イオン水を添加し、内容物に混合し、断続的にボルテックスしながら40℃の浴槽に入れて、大きな粒子を溶解した。製剤を室温まで冷却し、1M水酸化ナトリウム(NaOH)溶液を用いて製剤のpHをpH6、7、8及び9に調整した。最初の製剤は1mLスケールで作製し、開始pHは4.3であった。3μLの体積の1MNaOHを添加してpH6(溶液A)を、22μLを添加してpH8(溶液B)を、43μLを添加してpH9(溶液C)を達成した。これらの製剤は製造直後に投薬された。

10mg/mL懸濁物製剤及び1mg/mL溶液製剤は、周囲条件で2週間にわたって物理的に安定であることが見出された。

【０５３０】

実施例4.2．化合物Ia-001a-Tzの経口製剤

化合物Ia-001a-Tzを、以下の表に示されるビヒクル組成の製剤で10mg/mL経口溶液として調製した。

ビヒクルは、医薬活性剤を製剤化及び/又は投与する溶媒(又は希釈剤)として使用される担体または不活性媒体であった。

【０５３１】

【表２２】

表22:化合物 Ia-001aTz の経口製剤についての処方詳細

ビヒクル	組成
A	40% PEG400, 10% トランスキトール, 10% ソルトール HS15, 40% タイプ1 水
B	40% PEG400, 10% トランスキトール, 10% ソルトール HS15, 40% 0.5% HPMC 606水溶液
C	40% PEG400, 10% トランスキトール, 10% ソルトール HS15, 40% 0.5%コリドン VA 64水溶液
D	40% PEG400, 10% トランスキトール, 10% クレモフォール RH40, 40% タイプ1 水
E	40% PEG400, 10% トランスキトール, 10% ビタミン E TPGS, 40% タイプ1 水
F	40% PEG400, 10% トランスキトール, 5% ソルトール HS15, 45% タイプ1 水
G	40% PEG400, 10% トランスキトール, 5% ソルトール HS15, 45% 1%コリドン VA 64水溶液

【０５３２】

製造方法

10mg/g溶液を調製するために、10mgの化合物をバイアルに正確に秤量して入れ、1mlのビヒクルをAPI上に直接添加し、ボルテックスして溶液を得た。

【０５３３】

ビヒクルの調製

製剤A：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトール(Transcutol)を添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、1gのソルトールHS15を添加し、続いて4gのタイプ1の水を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５３４】

製剤B：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトールを添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、1gのソルトールHS15を添加した。0.5%HPMC606水溶液は、50mgのHPMC606を清浄なガラスバイアルに秤量して入れることによって調製した。これに、9.95gのタイプ1の水を添加した。成分を確実に十分に混合するために、室温で1時間撹拌した。0.5%HPMC606を含む4gの水溶液を、次いで、PEG400と、トランスキトールと、ソルトールHS15との溶液に加えた。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５３５】

製剤C：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトールを添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、1gのソルトールHS15を添加した。0.5%KollidonVA64水溶液は、50mgのKollidonVA64を清浄なガラスバイアルに秤量して入れることによって調製した。これに、9.95gのタイプ1の水を添加した。成分を確実に十分に混合するために、室温で1時間撹拌した。KollidonVA64を含む4gの水溶液を、次いで、PEG400と、トランスキトールと、ソルトールHS15との溶液に加えた。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。製剤D：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトールを添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、1gのクレモフォール(Cremophor)RH40を添加し、続いて4gのタイプ1の水を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５３６】

製剤E：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトールを添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、1gのビタミンE TPGSを添加し、続いて4gのタイプ1の水を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５３７】

製剤F：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトールを添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、0.5gのソルトールHS15を添加し、続いて4.5gのタイプ1の水を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５３８】

製剤G：4gのPEG400を清浄な20mLガラス容器に秤量して入れることによって、10gのビヒクルを調製した。1gのトランスキトールを添加し、成分を撹拌によって混合した。これに、0.5gのソルトールHS15を添加した。1%KollidonVA64水溶液は、100mgのKollidonVA64を清浄なガラスバイアルに秤量して入れることによって調製した。これに、9.9gのタイプ1の水を添加した。成分を確実に十分に混合するために、室温で1時間撹拌した。KollidonVA64を含む4.5gの水溶液を、次いで、PEG400と、トランスキトールと、ソルトールHS15との溶液に加えた。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５３９】

実施例4.3．化合物IIc-007a、IVc-059a、IIIc-061aの経口製剤

化合物IIc-007a、IVc-059a、IIIc-061aを、以下の表に詳述する成分を使用して経口製剤として調製した。

【０５４０】

【表２３】

表23:化合物 IIc-007a, IVc-059a, IIIc-061a の経口製剤に関する詳細

成分	量 (%w/w)	
	製剤 1	製剤 2
PEG 400	40.0	31.0
トランスキトール HP	3.5	10.0
メグルミン	4.0	4.0
クレモフォール RH 40	12.5	15.0
DMSO	5.0	5.0
15% SLS 水溶液	35.0	35.0

【０５４１】

50mLスケールでの15%SLS水溶液の調製：

7.5gのSLSを50mLメスフラスコ中で正確に秤量した。水を50mL容量に添加し、完全に可溶化するまで撹拌した。

【０５４２】

製剤ビヒクルの調製：

製剤1：40gのPEG400(40.0%)をプラスチックビーカーに秤量することによって、100gのビヒクルを調製した。3.5gのトランスキトール(3.5%)、12.5gのクレモフォールRH40(12.5%)、4.0gのメグルミン(4.0%)、5gのDMSO(5.0%)、及び35gの15%SLS水溶液(35.0%、最終SLS5.25%)。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５４３】

製剤2：40gのPEG400(40.0%)をプラスチックビーカーに秤量することによって、100gのビヒクルを調製した。10.0gのトランスキトール(10.0%)、15.0gのクレモフォールRH40(15.0%)、4.0gのメグルミン(4.0%)、5gのDMSO(5.0%)、及び35gの15%SLS水溶液(35.0%、最終SLS5.25%)。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５４４】

ビヒクルを各化合物に直接添加した後、ボルテックスし、10分間超音波処理した。必要に応じて、製剤のpHを1M水酸化ナトリウム又は1M塩酸で調整して、経口投薬に好適なpH範囲に到達させた。IIc-007a溶液を70mg/mL以下の濃度で作製した。IIIc-061a溶液を40mg/mL以下の濃度で作製した。IVc-059a溶液を150mg/mL以下の濃度で作製した。

【０５４５】

実施例4.4．静脈内(IV)製剤

化合物Ia-001a、Ia-001a-Tz、Ia-001a-Tz/004a、Ic-007a、Ib-010a、IVc-059a、IIIc-061aを静脈内製剤として調製した。

以下の表24に示される製剤詳細を、異なる前臨床インビボモデルにおけるIV投与に使用した。溶液が得られるまで水酸化ナトリウム溶液でpHを調整することによって、各化合物の溶液を製造した。

【０５４６】

【表２４】

表24:IV 製剤の組成

成分	量(%)
API 原薬	1 % w/v
DMSO	5 % v/v
PEG 400	10 % v/v
ソルトール HS15	10 % w/v
水酸化ナトリウム 1M	適量
生理食塩水 0.9%	100 %まで

【０５４７】

製造方法

10mLについての方法例(必要とされる最終体積に適切なスケール)溶媒ストックは、0.5mLのDMSOを清浄な容器に量り入れることによって調製した。100mgの各化合物を秤量し、必要に応じてシェーカー、ボルテックス又は超音波処理で混合しながらDMSO溶液に徐々に添加した。ソルトールを清浄な乾燥容器中で60℃の水浴中で融解した。ソルトールは室温で凝固するので、溶融したソルトールを、製剤調製の間、60℃の水浴中に保持した。1g(10%w/v)の溶融したソルトールを、(最終体積10mLまで)好適にマークされた温めた容器に秤量して入れた。1mLのPEG400を、温めた10mL容器中のソルトールに添加した。DMSO薬物ストック溶液を、ソルトールとPEG400との混合物のマークされた容器に添加し、即座に内容物に混合した。0.9%生理食塩水*を添加して標的体積の85%を達成し、内容物を40℃の浴槽中で断続的にボルテックスしながら混合して、大きな粒子を溶解した。製剤を室温に冷却し、0.9%生理食塩水*で最終標的体積(10mL)にし、1M水酸化ナトリウム(NaOH)溶液を使用して製剤のpHをpH7.4に調整した。製剤を、0.2μmフィルターを使用して、クラスII生物学的フード内の無菌バイアルへと濾過した。製剤を動物への投薬に使用した。

*いくつかの化合物については、0.9%生理食塩水をpH7.4のPBS溶液の代わりに用いた。

【０５４８】

実施例4.5．静脈内(IV)及び腹腔内(IP)製剤

化合物Ic-007a、IIc-007a、IVc-059a、IIIc-061aを、静脈内投与及び腹腔内投与のための製剤として調製した。製剤は、表25に詳述されるように、各対応する化合物のモル当量で、水及びジエチルアミンを含有した。これらの製剤を、異なる前臨床インビボモデルにおけるIV及びIP投与に使用した。

【０５４９】

製造方法

1mLについての方法例(必要とされる最終体積に適切なスケール)10mgの各化合物を清浄なバイアルに正確に秤量して入れた。対応する量のジエチルアミンをバイアルに添加した。次いで、水を添加して1mL容量にした。内容物をボルテックス又は超音波処理して溶液を形成した。必要であれば、1M塩酸を用いて溶液のpHを変化させ、IV又はIP投薬に好適な範囲にした。

【０５５０】

【表２５】

表25: IV 及び IP 製剤中の化合物に必要なジエチルアミンモル当量

化合物	Ic-007a	IIc-007a	IIIc-061a	IVc-059a
必要なジエチルアミンのモル当量	2.0	2.0	3.1	2.0
1 mL の IV 製剤の作製に必要なジエチルアミン	44 μL	44 μL	62 μL	51.9 μL

【０５５１】
実施例4.6：眼科用製剤
本発明によるいくつかの化合物を、眼用へ製剤開発した。化合物、それらの最終濃度及び形態を以下の表26に示す。
【０５５２】
【表２６】
表26:眼科製剤

化合物	濃度 (% w/v)	懸濁液/溶液
IVc-059a	5 mg/mL (0.5)	溶液
Ia-001a-Tz/004a	5 mg/mL (0.5)	溶液
Ia-001a-Tz	10 mg/mL (1.0)	溶液
IIIc-061a	10 mg/mL (1.0)	溶液
Ia-001a	10 mg/mL (1.0)	溶液
Ic-007a	5 mg/mL (0.5)	懸濁液
Ib-010a	10 mg/mL (1.0)	懸濁液

【０５５３】
組成物：製剤組成物を以下の表27に詳述する。APIの濃度及びそれらの得られる様式は様々であった。
【０５５４】
【表２７】
表27:眼科製剤の組成

成分	量 (%)
API 原薬	上記表を参照
コリフォール EL	5 % w/v
ポビドン	0.5 % w/v
HPMC	0.5 % w/v
ポリソルベート 80	0.1 % v/v
pH 7.4 PBS 緩衝液 (NaOH 1M で pH を調整)	所定体積まで

【０５５５】
製造方法
溶液を生成した化合物については、以下の製造方法に従った。
合計50mgのコリフォール ELを清浄な乾燥容器に量り取った。正確な量の化合物を秤量し、マグネチックスターラで混合しながらコリフォール ELに徐々に添加した。30℃への加熱は、薬物をコリフォール調製物に混合するのに役立った。別の容器において、pH7.4のリン酸緩衝食塩水(PBS)緩衝剤中の0.5%w/vのHPMCと、0.5%w/vのポビドンと、0.1%のポリソルベート80との水溶液を調製した。600μLの体積の当該水溶液をコリフォールEL及び薬物に混合しながら添加し、直ちにボルテックスした。混合しながら、製剤において1MNaOHを用いてpHを7.4に調整した。この水溶液を用いて体積を標的体積に調整した。製剤を、0.2μmフィルターを使用して、クラスII生物学的フード内の無菌バイアルへと濾過した。製剤はすぐに投薬できる状態になっている。
【０５５６】
懸濁物を生成した化合物については、以下の製造方法に従った。50mgの量のコリフォールELを清浄な乾燥容器に秤量して入れた。正確な量の異なる化合物を秤量し、マグネチックスターラで混合しながらコリフォール ELに徐々に添加した。30℃への加熱は、薬物をコリフォールに混合するのに役立った。別の容器において、pH7.4のリン酸緩衝食塩水(

PBS)緩衝剤中の0.5%w/vのHPMCと、0.5%w/vのポビドンと、0.1%のポリソルベート80との水溶液を調製した。水溶液を0.22μmフィルターを用いて濾過した。600μLの体積の当該水溶液をコリフォール及び薬物に混合しながら添加し、次いで直ちにボルテックスした。製剤を連続的に混合しながら、濾過した1MNaOHを用いてpHを7.4に調整した。この水溶液を用いて体積を標的体積に調整した。製剤を投薬前に超音波処理して、凝集物を破壊及び分散させた。

【０５５７】

化合物Ic-007a、IIc-007aの眼科用製剤

【表２８】

表28:Ic-007a及びIIc-007aを含む眼科製剤の組成

	1	2
成分	量(%)	
Ic-007a	0.5 %w/v (5 mg/mL)	-
IIc-007a	-	0.5 %w/v (5 mg/mL)
コリフォール EL	5 % w/v	5 % w/v
ポビドン	0.5 % w/v	0.5 % w/v
HPMC	0.5 % w/v	0.5 % w/v
ポリソルベート 80	0.1 % v/v	0.1 % v/v
pH 7.4 PBS 緩衝液 (NaOH 0.5M で pH を調整)	所定体積まで	所定体積まで

【０５５８】

製造方法

合計50mgのコリフォール ELを清浄な乾燥容器に量り取った。正確な量の化合物を秤量し、マグネチックスターラで混合しながらコリフォール ELに徐々に添加した。30℃への加熱は、薬物をコリフォール調製物に混合するのに役立った。別の容器において、pH7.4のリン酸緩衝食塩水(PBS)緩衝剤中の0.5%w/vのHPMCと、0.5%w/vのポビドンと、0.1%のポリソルベート80との水溶液を調製した。600μLの体積の当該水溶液をコリフォールEL及び薬物に混合しながら添加し、直ちにボルテックスした。混合しながら、製剤において1MNaOHを用いてpHを7.4に調整した。この水溶液を用いて体積を標的体積に調整した。製剤を、0.2μmフィルターを使用して、クラスII生物学的フード内の無菌バイアルへと濾過した。

【０５５９】

化合物IIc-007aの溶液: 合計50mgのコリフォール ELを清浄な乾燥容器に量り取った。正確な量の化合物(標的濃度5mg/mL)を秤量し、マグネチックスターラで混合しながらコリフォール ELに徐々に添加した。30℃への加熱は、薬物をコリフォール調製物に混合するのに役立った。別の容器において、pH7.4のリン酸緩衝食塩水(PBS)緩衝剤中の0.5%w/vのHPMCと、0.5%w/vのポビドンと、0.1%のポリソルベート80との水溶液を調製した。600μLの体積の当該水溶液をコリフォール EL及び薬物に混合しながら添加し、直ちにボルテックスした。混合しながら、製剤において0.5MNaOHを用いてpHを7.4に調整した。この水溶液を用いて体積を標的体積に調整した。製剤を、0.2μmフィルターを使用して、クラスII生物学的フード内の無菌バイアルへと濾過した。製剤はすぐに投薬できる状態になっている。使用前に、化合物Iic-007a溶液を2分間ボルテックスし、10分以内に使用する。

*ゲル/コロイド構造の様相が観察され得るが、ボルテックス後に再分散される。

【０５６０】

化合物Ic-007aの懸濁物　合計50mgのコリフォール ELを清浄な乾燥容器に量り取った。正確な量の化合物(標的濃度5mg/mL)を秤量し、マグネチックスターラで混合しながら

コリフォール ELに徐々に添加した。30℃への加熱は、薬物をコリフォール調製物に混合するのに役立った。別の容器において、pH7.4のリン酸緩衝食塩水(PBS)緩衝剤中の0.5%w/vのHPMCと、0.5%w/vのポビドンと、0.1%のポリソルベート80との水溶液を調製した。

【０５６１】

水溶液を0.22μmフィルターを用いて濾過した。600μLの体積の当該水溶液をコリフォール EL及び薬物に混合しながら添加し、直ちにボルテックスした。混合しながら、製剤において0.5MNaOHを用いてpHを7.4に調整した。この水溶液を用いて体積を標的体積に調整した。

【０５６２】

使用前に、化合物Ic-007aの懸濁物を超音波処理して、以下のプロトコルを使用して凝集物/凝集体を破壊した：小さなペトリ皿/ビーカーを超音波処理器内で水で満たした。バイアルをビーカー/ペトリ皿内に置き、40℃で10分間超音波処理した。10分後、バイアルを取り出し、2分間ボルテックスし、再び10分間超音波処理した。当該プロセスを合計50分間繰り返した。

【０５６３】

Iic-007aの眼科用製剤

ビヒクルの組成及び化合物濃度を表29に示す。

【０５６４】

【表２９】

表29:製剤 A、B 及び C の組成

製剤	組成	IIc-007a 濃度
A	H_2O 中に 0.4% *w/w* TRIS 0.5% *w/w* HPMC 0.5% *w/w* PVP K30 0.1% *w/w* tween 80	5 mg/g
B	H_2O 中に 0.4% *w/w* TRIS 5% *w/w* クレモフォール EL	5 mg/g
C	H_2O 中に 5% *w/w* クレモフォール EL 1.2% *w/w* PVP K90 0.9%w/w TRIS	10 mg/g
D	H_2O 中に ジエチルアミン 0.3% w/v	10 mg/g

【０５６５】

10mg/g溶液を調製するために、10mgの化合物を正確に秤量しバイアルに入れ、1mlのビヒクルをAPI上に直接添加し、ボルテックスして溶液を得た。

5mg/g溶液を調製するために、5mgの化合物を正確に秤量しバイアルに入れ、1mlのビヒクルをAPI上に直接添加し、ボルテックスして溶液を得た。

【０５６６】

ビヒクルの調製

製剤A：0.25gのHPMC(0.5%w/w)を秤量し100mLのデュランガラス瓶内に入れることによって、50gのビヒクルを調製した。次いで、49.25gのタイプ1の水をボトルに添加し、続いて0.200gのTRIS(0.4%w/w)、50mgのTween80(0.1%w/w)及び0.25gのPVPK30(0.5%w/w)を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５６７】

製剤B：2.5gのクレモフォールEL(5%w/w)を秤量し100mLのデュランガラス瓶内に入れることによって、50gのビヒクルを調製した。次いで、47.3gのタイプ1の水をボトルに添加し、続いて200mgのTRIS(0.4%w/w)を添加した。

【０５６８】

製剤C：2.5gのクレモフォールEL(5%w/w)を秤量し100mLのデュランガラス瓶内に入れることによって、50gのビヒクルを調製した。次いで、46.45gのタイプ1の水をボトルに添加し、続いて450mgのTRIS(0.9%w/w)及び600mgのPVPK90(1.2%w/w)を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５６９】

製剤D：ジエチルアミン0.3%w/v：9869μLのタイプ1の水を14mLガラスバイアル中に添加することによって、9.9gジエチルアミンビヒクルを調製した。次いで、44.2μL(31.3mg)のジエチルアミンを、ピペットを使用してバイアルに添加した。溶液を5分間撹拌して、確実に均質にした。

【０５７０】

IVc-059aの眼科用製剤

ビヒクルの組成及び化合物濃度を表30に示す。

【０５７１】

【表３０】

表30: 製剤 A、B 及び C の組成

製剤	組成	IVc-059a 濃度
A	H_2O 中に 5% *w/w* クレモフォール EL 1.2% *w/w* PVP K90 0.9%w/w TRIS	10 mg/g
B	H_2O 中に ジエチルアミン 0.3% w/v ジエチルアミンで pH 調整	10 mg/g
C	PBS 中に 0.5% w/w HPMC, 0.5% w/w PVP K30, 0.1% w/w tween 80 NaOH で pH 調整	10 mg/g

【０５７２】

10mg/g溶液を調製するために、10mgの化合物を正確に秤量しバイアルに入れ、1mlのビヒクルをAPI上に直接添加し、ボルテックスして溶液を得た。

【０５７３】

ビヒクルの調製

【０５７４】

製剤A：2.5gのクレモフォールEL(5%w/w)を秤量し100mLのデュランガラス瓶内に入れることによって、50gのビヒクルを調製した。次いで、46.45gのタイプ1の水をボトルに添加し、続いて450mgのTRIS(0.9%w/w)及び600mgのPVPK90(1.2%w/w)を添加した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５７５】

製剤B：ジエチルアミン0.3%v/v：9869μLのタイプ1の水を14mLガラスバイアル中に添加することによって、9.9gジエチルアミンビヒクルを調製した。次いで、44.2μL(31.3mg)のジエチルアミンを、ピペットを使用してバイアルに添加した。溶液を5分間撹拌して、確実に均質にした。

【０５７６】

製剤C：49.45gのPBS(調製方法は以下の通り)を100mLのデュランガラス瓶内に秤量して入れることによって、50gのビヒクルを調製した。続けて、250mgのHPMC(0.5%w/w)、250mgのPVPK30(0.5%w/w)、及び50μL(リキッドディスプレイスメントピペット)のtween80(0.1%w/w)をガラス瓶に加えた。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５７７】

PBSの調製：799.1mgのNaCl、21.6mgのKCl、24.9mgのKH2PO4、180.4mgのNa2HPO4・2H2Oを正確に秤量し、100mLのタイプ1の水に溶解した。溶液のpHは7.6で

あった。

【０５７８】

Ic-007a及びIIc-007aの眼科用製剤

化合物を、表31に示すビヒクル中の溶液として製剤化した。

【０５７９】

【表３１】

表31:製剤 A、B、C 及び D の組成

成分	量 (% w/w)			
	ビヒクル A	ビヒクル B	ビヒクル C	ビヒクル D
クレモフォール EL	5.0	5.0	5.0	5.0
PEG 400	0	0	0.4	0
TRIS	0.9	0.9	0.9	0.9
メグルミン	0	0	0	1.0
コリフォール RH40	0	0.2	0.2	0.2
水	94.1	93.9	93.5	92.9

【０５８０】

50gスケールでのビヒクル調製

ビヒクルA：50gのビヒクルを、0.45gのTRIS(0.9%w/w)及び2.5gのクレモフォール(Cremphor)EL(5.0%w/w)を47.05gの水(94.1%w/w)に添加することによって調製した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５８１】

ビヒクルB：50gのビヒクルを、0.45gのTRIS(0.9%w/w)、2.5gのクレモフォールEL(5.0%w/w)、続いて0.1gのコリフォールRH40(0.2%w/w)を46.95の水(93.9%w/w)に添加することによって調製した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５８２】

ビヒクルC：50gのビヒクルを、0.45gのTRIS(0.9%w/w)、2.5gのクレモフォールEL(5.0%w/w)、続いて0.1gのコリフォールRH40(0.2%w/w)及び0.2gのPEG400を46.75の水(93.5%w/w)に添加することによって調製した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５８３】

ビヒクルD：50gのビヒクルを、0.45gのTRIS(0.9%w/w)、0.5gのメグルミン(1.0%w/w)、2.5gのクレモフォールEL(5.0%w/w)、続いて0.1gのコリフォールRH40(0.2%w/w)を46.45の水(92.9%w/w)に添加することによって調製した。混合物を室温で1時間撹拌して、全ての成分を溶解させた。

【０５８４】

ビヒクルをAPIに直接添加して、表32に列挙される濃度とした。サンプルをボルテックスし、溶液が得られるまで超音波処理した。

【０５８５】

【表３２】

表32:ビヒクル A、B、C 及び D を用いる製剤中の化合物濃度

	API 濃度 (mg/mL)			
	ビヒクル A	ビヒクル B	ビヒクル C	ビヒクル D
Ic-007a	10	10	10	20
IIc-007a	10	10	10	20

【０５８６】
10mg/g溶液を調製するために、10mgの化合物を正確に秤量しバイアルに入れ、1mlのビヒクルをAPI上に直接添加し、ボルテックスして溶液を得た。
【０５８７】
20mg/g溶液を調製するために、20mgの化合物を正確に秤量しバイアルに入れ、1mlのビヒクルをAPI上に直接添加し、ボルテックスして溶液を得た。
【０５８８】
実施例５．化合物の治療活性
実施例5.1．急性膵炎の処置及び/又は予防
本発明による化合物の治療効力を、急性膵炎マウスモデルで評価した。組織サンプルを得て、膵炎パラメータのポストインライフ(post in-life)解析を可能にした。血漿サンプルも得て、化合物投与後の動物曝露レベルを評価した。
【０５８９】
動物：8～10週齢、体重約20～25gの合計70匹の雌Balb/cマウスを研究に使用した(Charles River)。7日間の順化後、それらを異なる群に割り当てた。マウスをIVCケージに収容し(最大5匹のマウス/ケージ)、個々のマウスを尾のマークによって識別した。ケージ、床敷、及び水は使用前に消毒した。動物にコーンコブ(Corn-o-cobs)強化床敷を提供して、環境強化及びネスティング材(nesting material)を提供した。全ての動物は、標準的な認可市販の食餌及び水を自由に摂取した。動物保持室を以下のように維持した：室温20～24℃、湿度30～70%及び12時間の明/暗サイクルを用いた。この研究で使用した動物はイムノコンピテントであったが、投薬溶液の調製及び動物の投薬/秤量は、無菌バイオセイフティキャビネット内で行った。
【０５９０】
試験物質及び製剤：第1の実験では、化合物Ia-001a、Ia-001aTz、Ic-001aTz/004a、Ic-007a、Ib-010a、IIIc-061a、IVc-059aを秤量し、DMSO中に可溶化した。最終製剤は、DMSO 5%、ソルトール 10%、PEG400 10%、0.9%生理食塩水 75%中にあり、0.5MNaOH溶液でpHを7に調整した。
【０５９１】
第2の実験では、化合物Ic-001aTz2、IIc-007a、IIIa-001aTz、IIIc-061a、IIIc-061a-E3、IVc-059aを秤量し、DMSOに可溶化した。最終製剤は、DMSO 5%、ソルトール 10%、PEG400 10%、0.9%生理食塩水 75%中にあり、0.5M NaOH溶液でpHを7に調整した。経口(PO)投薬のために、IVc-059aを水中で製剤化する。薬物溶液を投薬日に製剤化した。
【０５９２】
この研究の目的は、急性膵炎モデル(14日)における化合物の効力を評価すること、膵炎パラメータの生存後分析を可能にするために組織サンプルを生成すること、並びに4つの血漿サンプルを生成して最初及び最後の注射の1時間後及び24時間後に採取された血液サンプルから得られた最初及び最後の注射後の動物曝露レベルを評価することであった。
【０５９３】
研究設計：研究初日に、動物を無作為に処置群に割り当て、体重が均等になるようにした。マウス(陰性対照群を除く)を、セルレイン投薬の5分前に試験化合物で処置し、続いて、試験中毎日、セルレインを2μg/kgで腹腔内経路(IP)を介して注射した。
【０５９４】

【表３３】

表33:第1の実験

群	動物数	薬剤	用量レベル; 経路
1	3	陰性対照 (非誘導)	ビヒクル (tbc); IV
2	3	陰性対照 (誘導)	ビヒクル (tbc); IV
3	8	ピルフェニドン	40mg/kg; IV
4	8	Ia-001a	15mg/kg; IV
5	8	Ia-001aTz	15mg/kg; IV
6	8	Ic-001aTz/004a	15mg/kg; IV
7	8	Ic-007a	15mg/kg; IV
8	8	Ib-010a	150mg/kg; PO
9	8	IIIc-061a	15mg/kg; IV
10	8	IVc-059a	150mg/kg; PO

【０５９５】

【表３４】

表34:第2の実験

群	動物数	化合物	用量レベル; 経路
1	3	陰性対照 (非誘導)	ビヒクル (tbc); IV
2	3	陰性対照 (誘導)	ビヒクル (tbc); IV
3	8	ピルフェニドン	40mg/kg; IV
4	8	Ic-001aTz2	15mg/kg; IV
5	8	IIc-007a	15mg/kg; IV
6	8	IIIa-001aTz	15mg/kg; IV
7	8	IIIc-061a	15mg/kg; IV
8	8	IIIc-061a-E3	150mg/kg; PO
9	8	IVc-059a	15mg/kg; IV
10	8	IVc-059a	150mg/kg; PO

【０５９６】

試験化合物の処置は、セルレイン投薬の5分前に行った。

【０５９７】

【表３５】

表35:研究スケジュール

時間 (日)	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14
化合物 I.V.	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	投薬	犠牲
セルレイン I.P.	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th	9th	10th	11th	12th	13th	14th	
PK 用血液サンプリング	T0+1h T0+24h													T12+24h T13+1h	
器官分析															膵臓

【０５９８】

連続観察

体重：研究中の全てのマウスの体重を毎日測定し、記録した；この情報を使用して、各動物についての正確な投薬量を算出した。

全身徴候及び症状：マウスを毎日観察し、全身状態に対する苦痛の徴候又は変化、例えば、毛が逆立つ、動きが鈍い、呼吸困難があれば記録した。

【０５９９】

サンプリング及びポストインライフ解析：上記に示した時点で、全血サンプル(60μl)を外側尾静脈からK2-EDTAでコーティングしたチューブに採取した。血漿サンプルを調製し、-20℃で凍結保存した。血漿サンプルを、化合物の定量化のためにクライアントバイオアナリシスプロバイダEurofins(FR)に送った。

【０６００】

終末期サンプリング：終末前に、動物を秤量した。終末期の研究動物を、CO2吸入により選別した。終末期の血液サンプルを心臓穿刺によって採取し、血漿を調製した。リパーゼ及びアミラーゼ活性を、市販のELISAキットを用いてELISAによって測定した。残りの血漿を将来のサイトカイン解析のために保存した。膵臓組織を切除し、秤量し、切片(50μg)を急速凍結し、膵臓サンプル中の化合物の定量化のために分析した。切片(50μg)を、ELISAによるMPO活性、IL-33及びTGF-Bレベルの測定のために加工処理した。残りをホルマリンで固定し、パラフィンワックスに包埋した。H&E染色を行い、シュミット標準スコアリングシステムを用いて切片を評価し、浮腫、炎症浸潤、実質壊死、出血を検査した。マッソン・トリクローム(Massons’Trichrome)染色を行い、線維性組織によって覆われた領域を、QuPathソフトウェアを使用してデジタル的に定量化した。終末血清サンプルを使用して、IdeXX CHEM15及びLYTE4クリップ(4匹の動物/処置群)を使用して血液化学を評価した。

【０６０１】

急性膵炎15日間のIV処置後の結果

4つの基準に基づく膵損傷の組織病理学評価：浮腫、炎症浸潤、実質壊死、出血を下記のようにスコア化した。

【０６０２】

【表３６】

表36:4つの基準に基づくスコアレベル

項目	スコアレベル			
	0	1	2	3
間質性浮腫	なし	小葉間	小葉を含む	孤立島様腺房細胞
白血球浸潤	なし	< 20%	20% - 50%	> 50%
腺房細胞 壊死	なし	< 5%	5% - 20%	> 20%
出血	なし	1-2点	3-5点	> 5点

【０６０３】

【表３７】

表37:動物群についてのスコアレベルの結果

	スコアの概要			
	間質性浮腫	白血球浸潤	腺房細胞壊死	出血
スコア	1	2	3	4
陰性対照 (非誘導)	0-0-0	0-0-0	0-0-0	0-0-0
陰性対照 (セルレイン 誘導)	2-3-3	3-3-3	2-2-3	2-2-2
Ia-001a (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-1-2-2	3-3-3-3-3-3-3	0-1-1-1-1-1-1	1-1-1-1-1-1-2
Ia-001aTz (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-2-2-2-2	2-3-3-3-3-3-3-3	0-0-0-0-1-1-1-1	0-1-1-1-1-1-1-1
Ic-001aTz/004a (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-2-2-2-3	1-3-3-3-3-3-3-3	1-1-1-1-2-2-2-2	1-1-1-1-1-1-1-1
Ic-007a (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-1-1-1-1	3-3-3-3-3-3-3-3	1-1-1-1-1-1-1-1	1-1-1-1-1-1-1-1
Ib-010a (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-2-2-2-2	3-3-3-3-3-3-3-3	1-1-1-1-1-1-1-1	0-0-1-1-1-1-1-1
IIIc-061a (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-1-1-1-1	1-1-1-1-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1-1-1	1-1-1-1-1-1-1-1
IVc-059a (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-1-1-1-1	1-1-1-1-1-1-1-1	0-0-1-1-1-1-2-2	1-1-1-1-1-1-1-1
ピルフェニドン (セルレイン 誘導)	1-1-1-1-1-1-1-1	2-2-2-2-2-2-2-2	0-0-1-1-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1-1-1

【０６０４】

シュミットスコア

【０６０５】

シュミットスコアは、以下の表に記載の4つの組織病理学基準に基づいた化合物の効力の評価である。シュミットスコアが高い化合物の順序（最高スコア=10はセルレイン誘導+ビヒクル処置であり、最低スコア=0は非誘導動物である)。図2の化合物についてのシュミットスコアのグラフは、全ての生成物において、セルレイン対照動物と比較してシュミットスコアの改善が認められた。

【０６０６】

【表３８】

表38:シュミットスコア及び4つのパラメータの表

試験化合物	間質性浮腫	白血球浸潤	腺房細胞 壊死	出血	シュミットスコア(H&E)	
非誘導＋ビヒクル	0	0	0	0	**0**	インタクトな上縁 分泌顆粒を豊富に有する健常な腺房 壊死の兆候なし 浮腫の兆候なし 出血の兆候なし
誘導＋IIIc-061a	1.0	1.0	0.5	1.0	**3.5**	軽度浮腫を観察 軽度出血を観察 軽度腺房細胞壊死を観察 軽度白血球浸潤を観察 正常な膵島形態を観察 他の処置群とは異なり、領域は比較的正常な全体的病理を示したが、軽度浮腫を観察
誘導＋IVc-059a	1.0	1.0	1.0	1.0	**4.0**	少数の軽度浮腫を観察 少数の軽度出血を観察 軽度腺房細胞壊死を観察 軽度白血球浸潤を観察 幾つかの膵臓島過形成を観察 好塩基性領域の崩壊
誘導＋ピルフェニドン	1.0	2.0	0.8	0.4	**4.1**	軽度浮腫を観察 軽度出血を観察 軽度腺房細胞 壊死を観察 白血球浸潤を観察 幾らかの領域で正常な膵島形態を観察
誘導＋Ib-001aTz	1.5	2.9	0.6	0.9	**5.9**	膵臓全体にわたって浮腫を観察 軽度出血を観察 軽度腺房細胞壊死を観察 全体にわたる白血球浸潤 異常な膵島形態を観察(痕跡) 好塩基性領域の崩壊
誘導＋Ic-007a	1.0	3.0	1.0	1.0	**6.0**	軽度浮腫を観察 軽度出血を観察 軽度腺房細胞壊死を観察 白血球浸潤を観察 好塩基性領域の崩壊
誘導＋Ib-010a	1.5	3.0	1.0	0.8	**6.3**	膵臓全体にわたって及び腺房細胞内で浮腫を観察 軽度出血を観察 軽度腺房細胞壊死を観察 白血球浸潤を観察 好塩基性領域の崩壊
誘導＋Ia-001a	1.3	3.0	0.9	1.1	**6.3**	膵臓全体にわたって浮腫を観察 出血を観察 少数の軽度腺房細胞壊死を観察 全体にわたる白血球浸潤 異常な膵島形態を観察 好塩基性領域の崩壊
誘導＋Ic-001aTz/004a	1.6	2.8	1.5	1.0	**6.9**	膵臓全体にわたって浮腫を観察 軽度出血を観察 腺房細胞壊死を観察 全体にわたる白血球浸潤 好塩基性領域の崩壊
誘導＋ビヒクル	2.7	3.0	2.3	2.0	**10.0**	膵臓全体にわたって浮腫を観察 出血を観察(特に、膵頭部内) 腺房細胞壊死を観察 全体にわたる白血球浸潤 好塩基性領域の崩壊

【０６０７】

以下の表に示されるように、全ての化合物Ia-001a、Ia-001aTz、Ic-001aTz/004a、Ic-007a、Ib-010a、IIIc-061a、IVc-059aは、「誘導」群と比較して、IL33の膵臓組織レベルの顕著な減少を示した。TGF-Bレベルは、Ic-007a、Ib-010a、IIIc-061a、IVc-059aについて顕著に減少した。グローバルシュミットスコアは、全ての化合物で特に改善したが、特に化合物IIIc-061a, IVc-059aで改善した。

【０６０８】

以下の表39及び40に、膵臓組織サンプル中のMPOの終末期の膵臓濃度、IL33組織濃度及びTGF-B濃度を示す。

【０６０９】

【表３９】

表39:

試験化合物	平均 終時 BW (当初の%)	平均 終時膵臓 重量 (g)	膵臓 MPO 活性	膵臓 IL33 レベル	p-値 対 誘導	膵臓 TGF-B レベル	p-値 対 誘導
ビヒクル	93.8	0.148	2.81	76 ± 19	---	184 ± 107	---
Ia-001a	90.3	0.083	3.76	330 ± 162	0.017	592 ± 358	0.984
Ia-001aTz	89.1	0.084	2.68	154 ± 49	0.000	507 ± 289	0.663
Ic-001aTz/004a	93.5	0.104	2.15	180 ± 54	0.000	369 ± 195	0.113
Ic-007a	91.2	0.109	1.65	147 ± 47	0.000	188 ± 77	0.000
Ib-010a	91	0.091	1.83	157 ± 70	0.000	219 ± 140	0.00035
IIIc-061a	91.4	0.086	2.13	177 ± 80	0.000	295 ± 146	0.015
IVc-059a	93.3	0.09	2.88	86 ± 23	0.000	231 ± 199	0.020
ピルフェニドン	97.6	0.136	1.26	78 ± 23	0.000	289 ± 170	0.024
誘導	93.8	0.148	2.81	628 ± 57	0.000	592 ± 358	0.015

【０６１０】

【表４０】

表40:

試験化合物	血清 アミラーゼ レベル	血清 リパーゼ レベル	血清 IL33 レベル	血清 TGF-B レベル	製剤用の生理食塩水/PBS	シュミットスコア (H&E)
ビヒクル	43.69	11.66	37.22	10.88	-	1.0
Ia-001a	34.07	6.72	39.52	8.69	生理食塩水	6.3
Ia-001aTz	35.35	8.57	37.02	8.69	生理食塩水	5.9
Ic-001aTz/004a	36.51	8.21	35.43	8.99	PBS	6.9
Ic-007a	34.86	9.28	34.93	6.17	PBS	6.0
Ib-010a	37.46	9.06	35.36	6.87	PBS	6.3
IIIc-061a	38.38	9.79	33.72	4.65	生理食塩水	3.5
IVc-059a	38.56	10.21	46.54	5.69	生理食塩水	4.0
ピルフェニドン	37.71	7.65	39.16	5.5	-	4.1
誘導	43.69	11.66	37.22	10.88		10.0

【０６１１】

第2の実験において、化合物Ic-001a-TZ(2)、IIc-007a、Ia-015a、IIIc-061a、IVc-059aを、ピルフェニドン100mg/kgを陽性対照として使用して同じモデルにおいて15mg/kgで評価した。

【０６１２】

【表４１】

表41: 結果

群 (経路及び用量 mg/kg)	アミラーゼ mU/mL	リパーゼ mU/mL	MPO U/mg	IL-33 ng/mL	TGF-B ng/mL	シュミットスコア	トリクローム染色 (線維症 % 面積)
非誘導	25.887 ± 0.63	3.216 ± 0.212	1.37 ± 0.39	88 ± 37	355 ± 67	11.3 ± 0.6	0.33 ± 0.168
誘導	60.858 ± 7.088	9.027 ± 1.33	2.66 ± 0.28	719 ± 97	1292 ± 263	5.9 ± 1.3	5.313 ± 2.089
ピルフェニドン (100 mg/kg)	45.171 ± 6.008	4.541 ± 1.457	1.68 ± 0.44	226 ± 151	578 ± 230	8 ± 1	1.277 ± 0.888
Ic-001a-Tz(2) (IV, 15 mg/kg)	50.912 ± 5.074	8.305 ± 3.036	2.63 ± 0.63	493 ± 126	696 ± 448	3.9 ± 0.8	1.366 ± 0.562
IIc-007a (IV, 15 mg/kg)	45.325 ± 6.579	6.481 ± 2.908	2.74 ± 0.76	340 ± 211	500 ± 195	8.3 ± 1.6	1.821 ± 1.12
Ia-015a (IV, 15 mg/kg)	51.669 ± 12.029	5.31 ± 2.219	2.68 ± 0.6	398 ± 148	547 ± 373	4.6 ± 0.8	1.704 ± 1.621
IIc-061a (IV, 15 mg/kg)	40.889 ± 6.556	5.038 ± 0.874	1.72 ± 0.21	240 ± 119	514 ± 227	10.9 ± 1.6	0.714 ± 0.452
IVc-059a (IV, 15 mg/kg)	41.149 ± 5.42	4.324 ± 1.121	1.813 ± 0.405	215 ± 84	403 ± 84	10.63 ± 2.33	1.048 ± 0.449

【０６１３】

アミラーゼ：Ia-015aを除く全ての試験化合物は、誘導ビヒクル処理対照よりも有意に低いアミラーゼ活性レベルをもたらしたが、レベルは非誘導動物のレベルに達しなかった。リパーゼ：血清中のリパーゼ活性は、ビヒクルで誘導及び処理された動物において、非誘導動物より高かった。陽性対照のピルフェニドン、Ia-015a、IIIc-061a及びIVc059aで処置すると、リパーゼ活性は、ビヒクル処理動物よりも顕著に低くなった。

【０６１４】

ミエロペルオキシダーゼ(MPO)：ビヒクルで誘導及び処理された動物由来の膵臓組織におけるMPO活性は、非誘導動物由来のものよりも顕著に高く、膵炎を示唆した。陽性対照のピルフェニドン、IIIc-061a及びIVc-059aで処理すると、MPO活性レベルは、ビヒクル処理対照よりも顕著に低くなった。

【０６１５】

IL-33及びTGF-B：PO投薬したIIIc-061a及びIVc-059aを除く全ての処置は、誘導ビヒクル処理対照よりも低い膵臓IL-33レベルをたらした。血清TGF-Bレベルと同様に、誘導ビヒクル処理対照よりも顕著に低いTGF-Bレベルをもたらした。

【０６１６】

間質性浮腫、白血球浸潤、腺房細胞壊死及び出血に基づく臨床的に使用されるシュミットスコアリング基準を使用して、H&Eで染色した膵臓組織の切片を評価した。全ての試験化合物は、誘導ビヒクル処理対照よりも顕著に低いシュミットスコアをもたらし、IIIc-061a(IV)及びIVc-059a(IV)は、陽性対照ピルフェニドンよりも低いスコアであって。

【０６１７】

線維症染色: 市販の染色キット(Abcam; ab150686, Trichrome Stain)を使用して、コラーゲンについて膵臓組織切片を染色した。QuPathデジタルイメージングソフトウェアを使用して、コラーゲン(青色)染色によって覆われた面積百分率を定量化した。全ての試験化合物は、誘導ビヒクル処理対照よりもトリクローム染色の面積を顕著に減少させた。

【０６１８】

実施例5.2．膵臓癌及び腎臓癌の処置及び/又は予防：

この研究の目的は、雌C57BL/6マウスにおける皮下投与によるマウス膵臓癌シンジェニックモデル(Pan02)及び雌BALB/cマウスにおける腎臓癌シンジェニックモデル(Renca)の処置のための本発明による化合物のインビボ治療効力の研究を前臨床で評価することであった。

【０６１９】

動物：C57BL/6マウス雌(Pan02モデル用)；BALB/cマウス雌(Rencaモデル用)、6～8週齢、〉17g、最大5匹のマウス/ケージ。

【０６２０】
Pan02モデルの処置及び群：化合物Ia-001a-Tz、Ic-007a、Ib-010a、IVc-059a、IIc-007aを、15mg/kgの用量でのIVボーラス注入で、2週間にわたって5日間/週で毎日。
【０６２１】
Rencaモデルの処置及び群：化合物Ia-001a-Tz、Ic-007a、Ib-010a、IVc-059a、IIc-007aを、15mg/kgの用量でのIVボーラス注入で、3週間にわたって7日間/週で毎日。
【０６２２】
細胞培養：Renca腫瘍細胞を、空気中5%CO2の雰囲気中、37℃で、10%ウシ胎仔血清を補充したDMEM培地を用いてインビトロで維持した。指数関数的発育期の細胞を回収し、腫瘍接種前にセルカウンターによって定量化した。
【０６２３】
細胞培養：Pan02腫瘍細胞を、空気中5%CO2の雰囲気中、37℃で、10%ウシ胎仔血清を補充したRPMI1640培地を用いてインビトロで維持した。指数関数的発育期の細胞を回収し、腫瘍接種前にセルカウンターによって定量化した。
【０６２４】
Rencaモデルのための腫瘍接種：各マウスに、腫瘍発生のために、0.1mLのPBS中のRenca腫瘍細胞(1×10^6)を右後側腹部領域に皮下接種した。
【０６２５】
Pan02モデルのための腫瘍接種：各マウスに、腫瘍発生のために、0.1mLのPBS中のPan02腫瘍細胞(3×10^6)を右前側腹部領域に皮下接種した。
【０６２６】
無作為化：平均腫瘍サイズが約100(80～110)mm^3に達したときに無作為化を開始した。両モデルについて、48匹のマウスを研究に登録した。全ての動物を無作為に6つの研究群に割り当てた。無作為化は、マルチタスク法(StudyDirectorTM software, version 3.1.399.19)を用いた「マッチド分布（Matched distribution）」法に基づいて行った。無作為化の日を0日目として示した。
【０６２７】
観察及びデータ収集: 腫瘍細胞接種後、動物を罹患率及び死亡率について毎日確認した。日常的なモニタリングの間、動物を、行動、例えば、運動性、食物及び水の消費、体重増加/減少(体重は無作為化後に週に2回測定した)、目/毛の艶消し並びに任意の他の異常に対する腫瘍増殖及び処置の任意の効果について確認した。死亡率及び観察された臨床徴候を個々の動物について詳細に記録した。
【０６２８】
無作為化後週に2回、キャリパーを使用して2次元で腫瘍体積を測定し、次式を使用して体積をmm3で表した：“ V=(L×W×W)/2、式中、Vは腫瘍体積であり、Lは腫瘍長さ(最長腫瘍寸法)であり、Wは腫瘍幅(Lに垂直な最長腫瘍寸法)である。腫瘍重量を研究の最後に測定した。投薬並びに腫瘍及び体重の測定は、層流キャビネット中で行った。
【０６２９】
研究エンドポイント:腫瘍増殖阻害(TGI)：TGI%を抗腫瘍活性の指標として使用し、以下のように表した：TGI(%)=100*(1-T/C)、T及びCは、それぞれ、所与の日における処置群及び対照群の平均腫瘍体積(又は重量)であった。
【０６３０】
以下の方法の1つを用いて、群間の平均腫瘍体積の差の統計分析を行った。
【０６３１】
個々の終末日が多様であるにもかかわらず、各単一群について最後の投薬/観察日に収集されたデータを使用する。
【０６３２】
研究に登録された全て/大部分のマウスについてTGIを導出することができるように、ビヒクル群の平均腫瘍体積が人道的エンドポイントに達した日に収集したデータを使用する。
【０６３３】

残りの群が予定通りに処置されていても、処置群又は対照群のいずれかを終了させた日に収集したデータを使用する。

【０６３４】

AUCの差(AUC)=線形混合効果回帰モデルを用いて行った統計分析。

【０６３５】

研究終了：効力調査を3週間行った。

【０６３６】

統計分析：予め指定された日の異なる群の腫瘍体積を比較するために、Bartlett検定を最初に使用して、全ての群にわたる分散の均質性の仮定を確認した。Bartlett検定のp値が≧0.05である場合、一元配置分散分析を使用して、全ての群にわたる平均の全体的な同等性を検定した。一元配置分散分析のp値が〈0.05である場合、全てのペアワイズ比較についてテューキーのHSD(Tukey's honest significant difference)検定を実行することによる事後検定、及び各処置群をビヒクル群と比較するためのダネット(Dunnett)検定を行った。Bartlett検定のp値が≧0.05である場合、Kruskal-Wallis検定を使用して、全ての群間の中央値の全体的な同等性を検定した。Kruskal-Wallis検定のp値が〈0.05である場合、全てのペアワイズ比較についてか、又は各処置群をビヒクル群と比較するためのConoverのノンパラメトリック検定を実行することによる事後検定を、いずれもシングルステップp値調整を伴って行った。全ての統計分析は、R-a言語並びに統計計算及びグラフィックスの環境(バージョン3.3.1)で行った。別段の指定がない限り、全ての検定は両側検定であり、〈0.05のp値は統計的に有意であると見なされる。

【０６３７】

結果

【表４２】

表42:試験物の抗腫瘍活性(13日目に収集したデータ)

群	処置	腫瘍体積 ± SEM (mm^3)	TGI (%)
対照	ビヒクル, 5 µL/g, I.V., QD*5 2週間	187.91 ± 11.19(8)	-
化合物 IVc-059a	IVc-059a, 15 mg/kg, 5 µL/g, I.V., QD*5 2週間	148.49 ± 7.05(8)	20.98%

【０６３８】

【表４３】

表43:13日目に収集したデータを用いた腫瘍体積の統計分析

検定	p-値	有意性レベル
分散の同質性及び正規性の検定		
バートレット検定	2.76E-05	***
群間での全体等質性の検定		
クラスカル-ウォリス検定	0.00965	**
個々の群間での等価性検定 (コノバーのノンパラメトリック多対一比較検定)		
群 対照 対 化合物 IVc-059a	0.0226	*

【０６３９】

結果概要

この研究では、雌C57BL/6マウスにおける皮下投与によるマウス膵臓癌シンジェニックモデル(Pan02)の処置のための試験化合物IVc-059aのインビボ治療効力を評価した。15 Mg/kgで静脈内投与された化合物IVc-059aは、腫瘍増殖を顕著に抑制し、TGI値は20.98%(P〈0.05)であった。

【０６４０】

【表４４】

表44:腫瘍体積の平均%阻害 Pan02モデル

日数	0	3	6	9	13
IVc-059a	-0.11%	19.86%	18.64%	18.49%	20.98%

平均 % 阻害 = (平均(対照 NaCl)-平均(Cpd Treated))/平均(C 対照 NaCl) * 100%

【０６４１】

【表４５】

表45:腫瘍体積の平均%阻害 Renca モデル

日数	0	3	6	9	13	16
IVc-059a	0.05%	-0.90%	5.02%	14.83%	23.07%	19.42%

【０６４２】

実施例5.3．糖尿病性網膜症(DR)の処置及び/又は予防

動物モデル：db/dbマウスモデルを使用し、非糖尿病対照としてのdb/+マウスと比較した。db/dbマウスはレプチン受容体遺伝子に突然変異を有し、肥満誘発性2型糖尿病のモデルであった。Bogdanovら，PLoS One, 2014, 9, e97302は、db/dbマウスが、ヒト糖尿病性眼疾患において生じる神経変性プロセスの特徴を再現することを報告した。加えて、このモデルは、糖尿によって誘発された早期細小血管異常(血管漏出)にかかった(Hernandezら，Diabetes 2016, 65, 172-187; Hernandezら，Diabetologia 2017, 60, 2285-2298)。したがって、このモデルは、初期の糖尿病性網膜症(DR)の処置のための本発明の化合物の効力を試験するための適切なモデルと考えられた。

【０６４３】

糖尿病によって誘発された血管漏出に対する、Ia-007aを含有する点眼剤の効果を、db/dbマウスモデルにおいて試験した。8週齢の、db/db(BKS.Cg-Dock7m+/+Leprdb/J)マウス及び非糖尿病(db/+)マウスは、Charles River Laboratories (Calco, Italy)から購入した。

【０６４４】

動物には、飼料(ENVIGO Global Diet Complete Feed for Rodents, Mucedola, Milan, Italy)及び濾過水を自由に摂取させた。温度(20℃)且つ湿度(60%)の厳しい環境条件下でマウスを維持した。さらに、12時間/12時間の明/暗サイクルで飼育した。

【０６４５】

介入研究：db/dbマウスが10週齢になったとき、Ia-007a点眼剤又はビヒクル点眼液を、シリンジを使用して各眼の上角膜表面に直接無作為に投与した。1滴(5μL)のIa-007a(5mg/mL)を各眼に、又はビヒクル(5μLの0.9%塩化ナトリウム)を各眼に14日間1日2回投与した。15日目に、剖検の約1時間前に、動物の眼に1滴のIa-007a又はビヒクルを点眼した。全ての実験は、ヨーロッパ共同体(86/609/CEE)の主義に従って行った。

【０６４６】

網膜脈管系の透過性を、エバンスブルーアルブミン法を使用して血管から網膜へのアルブミン漏出を評価することによってエクスビボで調べた。この目的のために、4匹の動物/群に、エバンスブルー(E2129 SIGMA, Sant Louis, Missouri, USA)(5mg/mL、PBS中に溶解、pH7.4)の溶液を腹腔内注射した。注射後、動物は青色に変わり、色素の取り込み及び分布が確認された。2時間後、マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、眼を摘出した。各動物の網膜を単離し、秤量し、迅速に光から保護した。フラットマウントスライド(flat-mounted slide)を得て、封入剤Prolong Gold退色防止試薬(Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Oregon, USA)の液滴でカバースリップをかけた。全ての網膜の異なるランダムな視野からのデジタル画像を、共焦点レーザー走査顕微鏡(FV1000; Olympus, Hamburg, Germany)を用いて、561nmレーザー線を用いて×60で取得し、各画像を、1024ピクセル×1024ピクセルのサイズで同一のビーム強度で記録した。アルブミン結合エ

バンスブルーの定量分析のために、0.44mm^{2}の視野当たりの血管外遊出の数を計数した。この分析は、マウスが受けた処置を知らない研究者によって行われた。

【０６４７】

結果

処置終了時の血糖濃度及び体重は、ビヒクルで処置したdb/dbマウスよりもIa-007a点眼液で処置したdb/dbマウスにおいて同様であった。エバンスブルーの血管外位置は、糖尿病マウスの網膜において同定された(図1、白色矢印)。Ia-007aでの局所処置により、血管外遊出の数/視野を顕著に減少させることができ、したがって、血液網膜関門の破壊による血管漏出を防止することができた。

【０６４８】

実施例5.4．腹膜炎の処置及び/又は予防

本発明の化合物の治療効力を、Cook ADら(J Immunol. 2003;171(9):4816-4823)及びTsai JMら(Blood Adv. 2019;3(18):2713-2721. doi:10.1182/bloodadvances.2018024026)に記載されるようにチオグリコレート誘導性腹膜炎マウスモデルを使用して評価した。

【０６４９】

C57BL/6Jマウスに、腹膜炎の誘発の1時間前に、50mg/kgで化合物1mLを腹腔内(i.p.)注射した。次いで、腹膜炎を、1mlの滅菌チオグリコレートブロス4%(wt/vol)又は対照としてのPBSで誘発した。3時間後、マウスを、5mg/mlケタミン及び1mg/mlキシラジンを含有するPBS溶液を腹腔内注射することによって麻酔し、腹膜腔を、EDTA2mMを含有する5mlの氷冷滅菌Ca2+/Mg2+フリーHBSS1Xで洗浄した。腹腔滲出細胞(PEC)を4℃で5分間1200rpmで遠心分離し、赤血球を溶解した。PECを洗浄し、PBS10%FBS中に再懸濁し、抗CD16/CD32及びmIgG FcRブロッカーと共にインキュベートし、次いで蛍光コンジュゲート抗体で染色して、遊走した白血球を特徴付けた(抗CD45、抗CD11b、抗Ly6G、抗CD8a、抗CD4、抗CD3)。細胞生存率を7-AAD排除によって測定した。MACSQuant Analyzer (Miltenyi Biotec)を使用してフローサイトメトリーによって検体を取得し、FlowJoソフトウェアを使用して分析した。

【０６５０】

動物：各化合物についてC57BL/6Jマウス4匹/群対ビヒクル処置マウス4匹。

化合物による処置：化合物50mg/kgを腹腔内注射。

― Ic-007a：注入量：Ic-007a 68,5μlのDMSO中の化合物(1,375mg)+431,5μlのPBS(全量500μl、5,87mM) マウス約28g

― IIc-007a：注入量：67,25μlのDMSO中の化合物(1,345mg)+431,5μlのPBS(全量500μl、5,74mM) マウス約27g

― IIIc-061a：注入量：58,75μlのDMSO中の化合物(1,175mg)+441,25μlのPBS(全量500μl、4,56mM) マウス約23.5g

― IVc-059a：注入量：52,25μlのDMSO中の化合物(1,045mg)+447,75μlのPBS(全量500μl、5,25mM) マウス約20.9g

【０６５１】

生成物Ic-007a、IIc-007a、IIIc-061a、IVc-059aによる処理をチオグリコレート誘発性腹膜炎の６０分前に行った。チオグリコレート注射の1時間後に読出しを行った。

【０６５２】

読出し方法：抗CD45、抗CD11b、抗Ly6G、抗CD8a、抗CD4、抗CD3を使用して遊走した白血球を特徴付けるフローサイトメトリー

【０６５３】

結果及び統計分析：結果は、FlowJoソフトウェアを使用して分析した。データは平均±SEMとして示した。0.05の有意水準を使用する両側スチューデントt検定を統計分析に使用する。

【０６５４】

結果

【表４６】

表46:化合物 Ic-007a のデータ例

細胞数	ビヒクル処置マウス	C76/24 処置マウス	%減少
白血球 (CD45+ 細胞)	60.8×10^4 ($\pm 10.8 \times 10^4$)	31.3×10^4 ($\pm 6.66 \times 10^4$)	48 %
PMNs (CD11b-Ly6G 二重+細胞)	10.4×10^4 ($\pm 7.75 \times 10^4$)	2.03×10^4 ($\pm 0.36 \times 10^4$)	80 %
CD4+ リンパ球	1.58×10^4 ($\pm 0.54 \times 10^4$)	1.03×10^4 ($\pm 0.15 \times 10^4$)	35 %
CD8+ リンパ球	1.86×10^4 ($\pm 0.59 \times 10^4$)	0.54×10^4 ($\pm 0.15 \times 10^4$)	71 %

【０６５５】

【表４７】

表47:４つの化合物の結果のまとめ

読取値	C20処置マウス 対 ビヒクル処置マウス %減少			
細胞数	Ic-007a	IIc-007a	IIIc-061a	IVc-059a
白血球 (CD45+ 細胞)	48.0%	11.8%	-2.4%	4.0%
PMNs (CD11b-Ly6G 二重+細胞)	80.0%	27.3%	-8.3%	-13.0%
CD4+ リンパ球	35.0%	40.0%	42.9%	6.0%
CD8+ リンパ球	71.0%	20.0%	33.3%	23.0%

化合物 Ic-007a は、最も強力な抗炎症効果を有し、白血球の動員を減少させ(48%)、PMN(80%)、CD8+リンパ球(71%)及び CD4+リンパ球(35%)に対して非常に強力な効果を有していた。

【０６５６】

実施例5.5．糖尿病性心筋症の処置及び/又は予防

本発明の化合物の治療効力を、Li Cら(Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):15. Published 2019 Feb 2. doi:10.1186/s12933-019-0816-2)に記載された糖尿病性心筋症マウスモデルを使用して試験する。

【０６５７】

動物　手順及び薬物処置：30匹の8週齢のKK-Ayマウス(遺伝性2型糖尿病モデル)及びC57BL/6Jマウスをケージ(4～6匹/ケージ)に収容し、飲料/飼料箱に自由にアクセスできるようにする。マウスを、12:12時間の明/暗サイクルで24℃に保たれた部屋に収容する。

【０６５８】

2型糖尿病モデルマウスには高脂肪食を与える。血糖を毎日測定する。血糖濃度が2週間連続して15mM(200mg/dL)を超えるマウスを以下の実験に使用する。続いて、動物を無作為に群に分け(15匹/群)、8週間飼育する。当該群には、対照群が含まれる。(1)無処置の健常なC57BL/6Jマウス；(2)無処置の2型糖尿病性KK-Ayマウス；及び(3)本発明の化合物で処置した2型糖尿病性KK-Ayマウス。

【０６５９】

心エコー評価：心エコー測定を、実験的介入の前と研究期間の終わりとに行う。17.5MHzリニアアレイトランスデューサシステム(Vevo 2100(商標) High Resolution Imaging System; Visual Sonics)を備えたMモード心エコー図法を使用する。心拍数(HR)及び以下の構造変数を評価する：拡張期における左心室内径(LVIDD)、収縮期における左心室内径(LVIDS)、収縮期(IvsS)及び拡張期(IVSd)における心室中隔厚、並びに収縮期(LVPWs)及び拡張期(LVPWd)におけるLV後壁厚。LV質量は、式[(LVIDd+LVPWd+IVSd)^3-(LVIDd)^3×1.04×0.8+0.6]を使用して計算する。LV機能を、短縮率(FS)、駆出率(EF)、及びE/A比を含む以下のパラメータによって評価する。全ての測定は、実験群に対して盲検

化された一人の研究者が行う。

【０６６０】

心筋ヒドロキシプロリン濃度：左心室の心筋ヒドロキシプロリン濃度を測定して、心筋コラーゲン含量を推定する。測定は、市販のキット(BioVision, Mountain View, CA, USA)を製造業者のプロトコルに従って使用し、分光光度計によって行う。

【０６６１】

血清脂質、グルコース、インスリン及びHbA1cレベルの検出：研究の最後に、マウスを空気中3%イソペンタンの吸入により麻酔する。空腹時血液検体を、各動物から舌下静脈を介して抗凝固薬としてリチウムヘパリンを含有する市販のチューブに収集し、3000rpm/分で6分間遠心分離する。血漿をプレーンチューブに保持し、分析まで-20℃で保存する。総コレステロール(TC)、トリグリセリド(TG)、低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)、及び高密度リポタンパク質コレステロール(HDL-C)血漿濃度を、分光光度法によって決定する。血糖値は、グルコメーター(ACCU-CHEK, Roche, USA)を用いて測定する。一晩の絶食後、空腹時インスリン及びプロインスリンレベルを、それぞれマウスインスリン及びプロインスリン酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)キット(Nanjing Jiancheng Biotech, China)を使用して決定する。また、血液は、クロマトグラフィー-分光光度-イオン交換キットクロマトグラフィー-分光光度計-イオン交換キット(Biosystems, Spain)によるHbA1cの測定のために保持する。

【０６６２】

心臓組織における酸化ストレスの評価：動物を安楽死させ、心臓を取り出し、研究の最後にクレブス・リンゲル液(115mM NaCl、5mM KCl、1.2mM KH_2PO_4、25mM $NaHCO_3$、1.2mM $MgSO_4$、1.25mM $CaCl_2$及び11mM グルコース)で逆行的にリンスする。灌流溶液の温度を37℃に維持する。次いで、心臓を秤量し、心組織を氷上で、1mM EDTAを含有するpH7.4の冷却リン酸緩衝食塩水(PBS)中でホモジナイズする。ホモジネートを冷生理食塩水中で7000rpm/分で10分間遠心分離する。上清のタンパク質濃度を、ウシ血清アルブミンキットによって標準として決定する。上清を、脂質ヒドロペルオキシドレベル並びにグルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Px)、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、及びマロンジアルデヒド(MDA)レベルの分析のために使用する。測定は、市販のキット(Solarbio, China)を製造業者のプロトコルに従って使用し、分光光度計によって行う。脂質ヒドロペルオキシドレベルは、nmol/mgタンパク質で表されている。GSH-Px、SOD、及びMDAレベルは、それぞれμmol/mgタンパク質、nmol/mgタンパク質、及びmmol/mgタンパク質で表されている。NOX4の発現レベルをウェスタンブロッティングによって測定する。マウスモノクローナル抗Nox4(1:1000、Abcam)及びホースラディッシュペルオキシダーゼ接合２次抗体(CWBIO)を使用する。β-アクチン(1:1000、Abcam)を参照化合物として使用する。

【０６６３】

組織学的及び免疫組織化学的解析：心臓組織を0.1Mリン酸緩衝剤中の4%パラホルムアルデヒド中で48時間固定し、脱水し、パラフィンに包埋し、４μm厚に切片化し、スライドガラス上に載せる。マッソン・トリクローム染色を使用して、心筋における線維症の程度を評価する。

【０６６４】

抗原賦活化のために、脱パラフィンしたスライドを10mMクエン酸ナトリウム(pH6.0)の溶液中に100℃で10分間保持する。次いで、切片を、内因性ペルオキシダーゼ活性をブロッキングするための3%過酸化水素中でインキュベートし、一次抗体(TGF-β１、コラーゲンI及びコラーゲンIIIに対するマウスモノクローナル抗体；Abcam)と共に1.5時間、続いて対応する二次抗体と共に室温で2.5時間インキュベートする。続いて、切片をPBSで3回洗浄し、0.02%ジアミノベンジジン溶液中で2～8分間インキュベートする。ヘマトキシリンで対比染色した後、スライドを簡単に洗浄し、レジネン(resinene)と共にマウントし、光学顕微鏡で観察する。

【０６６５】

ウェスタンブロッティングによるNrf2/ARE及びTGF-β/SMAD経路の分析：ウェスタンブロッティングプロトコールは、本発明者らの以前の研究に記載されている。簡潔に述べると、心筋組織を、総タンパク質抽出のために氷冷RIPA緩衝剤(150mM塩化ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、0.5%デオキシコール酸ナトリウム、1.0%NP-40、PMSF1mM、及び50mM Tris、pH8.0)中で溶解する。総タンパク質濃度をBCA Protein Assay Kit(Medchem Express, USA)によって定量化する。等量のタンパク質を12% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)により分離する。次いで、タンパク質をゲルからポリフッ化ビニリデン膜に転写する。5%スキムミルクでブロッキングした後、当該膜を一次抗体(Nrf2、HO-1、TGF-β1、p-Smad2、Smad2、p-Smad3、Smad3、Smad7、α-SMA 1：1000、Abcam)中で一晩インキュベートする。バンドを特異的ホースラディッシュペルオキシダーゼ接合2次抗体(CWBIO)で検出し、β-アクチン(1:1000、Abcam)を全細胞タンパク質の参照化合物として使用する。

【０６６６】

実施例5.6．糖尿病の治療及び/又は予防並びに糖尿病性創傷治癒

ストレプトゾトシン(STZ誘発糖尿病)を使用する糖尿病マウスモデルを使用して、糖尿病性創傷治癒に対する本発明の化合物の効力を評価し、皮膚組織のポストインライフ解析を可能にする組織サンプルを生成した。

【０６６７】

動物：5～7週齢、体重約25～30gの合計104匹の雌CD-1マウスを研究のために移植した。これらはCharles Riverから購入し、到着後7日間順化させた。

【０６６８】

動物収容：マウスをIVCケージに収容し(最大5匹のマウス/ケージ)、個々のマウスを尾のマークによって識別した。ケージ、床敷、及び水は使用前に消毒した。動物にCorn-o-cobs強化床敷を提供して、環境強化及びネスティング材(nesting material)を提供した。各ケージには、動物の数、性別、系統、DOB、研究番号及び開始日及び処置を示すカードで明確にラベル表示した。ケージは週に1回交換し、餌及び水を必要に応じて交換した。

【０６６９】

動物保持室を以下のように維持した：室温20～24℃、湿度30～70%及び12時間の明/暗サイクルを用いた。

【０６７０】

無菌技術及び投薬：この研究で使用する動物はイムノコンピテントであるが、投薬溶液の調製及び動物の投薬/秤量は、無菌バイオセイフティキャビネット内で行った。IV投薬：化合物は5%DMSO：10%ソルトール：10%PEG400：75%PBSで製剤化し、0.5MNaOH溶液でpHを7に調整した。PO投薬：製剤は水に溶かして使用する。

【０６７１】

投薬の日に薬物溶液を製剤化し、投薬の最後に残ったものを-20℃で保存する。

【０６７２】

研究設計：マウス(陰性対照群を除く)に、STZ(55mg/kg；IP)を5日間連続して毎日注射した。注射前にマウスを6時間飢餓状態にした。誘導完了の1週間後、グルコースレベルをモニターし、レベルが15mml/L(280mg/gL)未満のマウスは、理想的な糖尿病の重症化を起こしていないとして、研究から除外した。動物を麻酔し、滅菌生検パンチを用いて全厚6mmの創傷を作った。創傷を画像化した(0日目)。動物を処置し、14日目まで2日毎に画像化した(対照、非糖尿病マウス創傷が治癒した時)。創傷画像を、創傷面積についてデジタル的に評価し、時間に対する閉鎖率をグラフにプロットした。

【０６７３】

【表４８】

表48:

群	動物数	試験 ed 化合物	用量レベル; 経路
1	3 (3)	陰性対照 (非誘導)	ビヒクル; IV
2	3 (3)	陰性対照 (誘導)	ビヒクル; IV
3	8 (3)	ピルフェニドン	250mg/kg; PO
4	8 (3)	Ia-001a	15mg/kg; IV
5	8 (3)	Ia-001aTZ	15mg/kg; IV
7	8 (3)	Ib-010a	15mg/kg; IV
8	8 (3)	IIIc-061a	15mg/kg; IV
9	8 (3)	IVc-059a	15mg/kg; IV
10	8 (3)	IVc-059a	150mg/kg; PO

【０６７４】

処置を2週間(14日間)継続する。括弧内の動物番号は、7日間投薬され、次いで、研究途中のPD解析のためにサンプル採取されたものである。

【０６７５】

【表４９】

表49:研究スケジュール:

時間 (週)	W1	W2	W3	W4	W5
STZ	投薬 (5日)	---	----	---	---
試験項目		血中グルコース	血中グルコース	血中グルコース 2日毎の撮像直後に傷を撮像	血中グルコース 2日毎に傷を撮像
化合物	---	---	---	IV 投薬, 毎日 PO 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日 PO 投薬, 毎日
器官				7日間投薬後に群あたり3動物をサンプリング。皮膚組織サンプル採取。	

【０６７６】

連続観察

【０６７７】

体重：研究中の全てのマウスの体重を毎日測定し、記録した；この情報を使用して、各動物についての正確な投薬を計算する。

【０６７８】

全身徴候及び症状：マウスを毎日観察し、全身状態に対する苦痛の徴候又は変化、例えば、毛が逆立つ、動きが鈍い、呼吸困難があれば記録する。

【０６７９】

研究途中のサンプリング：7日間投薬した後、3匹の動物/群を　　殺し、創傷組織を取り出し、2つの切片(A)及び(B)に分割した。

【０６８０】

(A)第1の切片はFFPEであり、以下で染色されている：H&E、マッソン・トリクローム、CD31、TGF-β。

【０６８１】

(B)第2の切片は、ホモジナイズし、以下のELISAに使用する：SOD、GTPx、カタラーゼ、TNFα、IL-6、TGF-βレベル。

【０６８２】

終末：終末期の研究動物を、CO_2吸入により選別する。終末前に、動物を秤量する。早期終末：動物の早期終末は、≧20%の体重減少が測定された場合、及び、重大な徴候及び

症状又は飲食不能を示す易感染性動物に対して実施する。

【０６８３】

結果：

【０６８４】

血糖：STZによる誘導は、非誘導ビヒクル対照と比較して、血糖の有意な増大をもたらした。Ia-001a、IIIc-061a及びIVc-059aIVによる処置は、誘導ビヒクル対照と比較して、血糖値の有意な低減をもたらした。7日後、既に全ての化合物が、STZ誘発糖尿病モデルにおいて、ある程度の創傷治癒の促進を示した(図10、7日間の投薬後に3匹の動物/群をサンプル採取した)。皮膚組織をサンプル採取した。

【０６８５】

実施例5.7．糖尿病性足潰瘍の処置及び/又は予防

本発明の化合物を、Zhang Yら(J Diabetes Res. 2016, 2016, 5782904. doi:10.1155/2016/5782904)に記載されるように糖尿病性潰瘍のラットモデルを使用して試験する。

【０６８６】

皮膚及び他の粘膜組織における創傷治癒は、凝固の症例、急性及び慢性炎症、再上皮化、肉芽組織形成、創傷収縮、並びに結合組織リモデリングを含む複雑な一連の事象を伴う。しかしながら、いくつかの遺伝的及び後天的な病的状態、例えば、加齢、栄養不良(例えば、ビタミンC及びタンパク質の欠乏)、感染症、低酸素症、及び遺伝性疾患、例えば、エーラー・ダンロス症候群は、この修復プロセスを損なう可能性がある。これらの病的状態の中で、真性糖尿病は、障害性の又は非治癒の創傷の最も一般的な原因である。一例として、長期高血糖症の臨床的意義は、非治癒の糖尿病性足潰瘍の85%が最終的に切断を必要とすることを示す驚くべきデータによって強調される。「慢性創傷への経路」は、最近の研究の著者によって概説さるように、炎症性サイトカイン、活性酸素種、マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)、及び他の中性プロテイナーゼ(例えば、エラスターゼ)のレベルの上昇をもたらすマクロファージの活性化(及び好中球の蓄積)によって特徴付けられる遷延性又は慢性の炎症に焦点を当てたものである。これは、内因性プロテイナーゼ阻害剤の欠乏と相まって、全て「過剰なマトリックス分解、増殖因子の分解、及び上皮化障害」につながる。

【０６８７】

第1の実験では、15匹の成体雄Sprague-Dawleyラット(体重300～325g、Charles River Laboratories International, Inc., Wilmington, MA)に、10mMクエン酸生理食塩水緩衝剤pH4.5(非糖尿病対照、NDC)又はストレプトゾトシン(STZ；ENZO Life Sciences, Inc., Plymouth Meeting, PA；70mg/kg体重)を含有する同溶液のいずれかを尾静脈から注射して、I型糖尿病を誘発する。次いで、ラットを以下に記載する5つの実験群に区分する(n=ラット3匹/群)。全てのラットに、餌及び水への無制限のアクセスを与える。STZを注射したラットは、48時間以内に尿中のグルコースレベルが著しく上昇した。糖尿病を誘発してから3週間後に、全てのラットの背中の皮膚を剃り、ラット1匹につき連続して6つの標準的な創傷（それぞれ直径6mm）を、外科用トレフィンを用いて作製する。以下の5つの実験群を確立する(この最初の実験において、全ての群における処置は7日間であった；より長期の研究は、以下の実験3に記載する)；白色ワセリンゼリー(「ビヒクル」)の毎日の局所適用によって処置された非糖尿病コントロール(NDC)ラット；ビヒクル単独で毎日局所的に処置された糖尿病ラット(D群)；試験化合物で処置された糖尿病ラット。

【０６８８】

この期間の終わりに、ラット1匹当たり6個の円形創傷を、キャリパーを用いて創傷の直径をミリメートル単位で測定することによって臨床的に評価し、血液サンプルを収集し、ラットを　　殺し、皮膚サンプルを、以下に記載するような組織学的/組織化学的及び生化学的評価のために解剖する。

【０６８９】

標準化された創傷を作製した後7日目に、全ての動物を麻酔し、血液サンプルを血糖(On

e Touch Ultra Glucometer; Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ)及びHbA1c(Bayer A1CNow Selfcheck, Sunnyvale, CA)測定のために収集し、以下の手順が完了した後、ラットをCO2吸入によって　　殺する。

【０６９０】

臨床測定のために写真を撮って創傷閉鎖を評価する(18個の創傷/実験群)。創傷表面の縮小パーセントを、処置プロトコルの前後に各創傷の直径(ミリメートル単位)を測定することによって計算する。

【０６９１】

7日目の創傷組織を、2箇所/ラットから切除し、生化学的解析のためにプールする。組織の各プールをホモジナイズし、0.2M NaCl及び5mM CaCl2を含有する50mM Tris-HCl緩衝剤(pH7.8)中の5M尿素を用いて4℃で一晩抽出し、次いで、本発明者らが先に記載したように、11,000×gで1時間遠心分離する。上清をTris-HCl、NaCl、及びCaCl2緩衝剤に対して透析し、60%飽和まで添加した硫酸アンモニウムによって、プロテイナーゼを部分的に精製する。沈殿したプロテイナーゼを、コラゲナーゼMMP-8(Sigma-Aldrich Life Sciences Inc., St. Louis, MO)及びMMP-13(TSZ Scientific LLC, Framingham, MA)についてELISAによって分析する。

【０６９２】

周囲の非創傷組織を含む2つの創傷部位のそれぞれの生検を採取し、10%中性緩衝ホルマリン中で24時間固定し、次いで50%エタノールに移した後、肉眼検査、アルコール脱水、キシレン透徹、パラフィン包埋、及び切片化を行う。5ミクロン切片をH&E及びマッソン・トリクロームで染色し、創縁間の距離を較正接眼ミクロメーターを用いて組織形態計測的に測定し、画像分析を確認する。ラット1匹当たり最後の2つの創傷を切開し、加水分解し、下記のようにヒドロキシプロリンについて分析する。

【０６９３】

14日間及び30日間の処置プロトコルの終わりにおける、物理的測定並びに組織学的及び組織化学的評価は、7日間の実験について上に記載されたものと同じである。加えて、3つ期間全てにおいて、6mmパンチ生検からの組織サンプルを、2N NaOH中、120℃で各回1時間、2回加水分解する。次いで、皮膚組織の加水分解物の50μLアリコートを、本来コラーゲン中にのみ見出されるアミノ酸であるヒドロキシプロリンについて分析する。

【０６９４】

実施例5.8．糖尿病性網膜症及び糖尿病性腎症の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、糖尿病のSTZ誘発及び次に続く腎臓損傷を含む糖尿病性網膜症を伴うDBA/2マウス系統を使用した糖尿病性マウスモデルを使用して評価した。連続5日間の低用量STZ注射による糖尿病の誘発の5週間後、尿中アルブミン：Cr比は、年齢が一致した対照の36.9と比較して424倍である。

【０６９５】

糖尿病性腎症の処置のために、DBA/2マウスをSTZ(連続5日間低用量)で誘発した。誘導完了の1週間後、グルコースレベルをモニターし、レベルが15mml/L(280mg/0.1L)未満のマウスは、腎損傷をもたらすのに十分な重症度の糖尿病を発症していないとして、研究から除外した。グルコースレベルを毎週モニターし、STZ誘導の5週間後に、尿アルブミン及びクレアチニンレベルを測定し、それらが所望の範囲内にあることを確認することによって、腎損傷の生化学的評価を行った。この段階が成功裏に完了した後、動物を処置群に割り当てた。

【０６９６】

処置を4週間実施し(IV投与)、血糖及び尿アルブミン/クレアチニンレベルを毎週評価した。動物の処置期間の終わりに、以下のサンプルを採取した：

【０６９７】

―グルコース及び血中尿素窒素(BUN)測定のための血液

―血清クレアチニン測定のための血液

―最終アルブミン/クレアチニン比のための尿

―腎臓を切除し、FFPE：Picro-Sirius Red、マッソン・トリクローム及びH&E染色を実施して、線維症の領域を、メサンギウム硬化症、細動脈ヒアリン症、糸球体基底膜(GBM)肥厚の証拠と共に特定した。

【０６９８】

糖尿病性網膜症に対する化合物の効果を評価するために、動物は、眼底カメラを介して毎週画像を撮影した。　　殺の直前に、動物に尾静脈を介してFITC-デキストランを注射した。サンプリングの間、眼をサンプル採取し、ホルマリンで固定した。網膜フラットマウントを調製し、血管分布及び血管の漏出性(高いバックグラウンド染色によって示される)に対する化合物の効果を蛍光観察した。動物群(n=マウス8匹/群)：

【０６９９】

【表５０】

表 50:

群	動物数	化合物
1	3	陰性対照 (非誘導)
2	3	陽性対照 (誘導)
3	8	Captopril 50mg/kg
4	8	Ia-001a 15 mg/kg I.V.
5	8	Ia-001aTZ 15 mg/kg I.V.
6	8	Ic-007a 15 mg/kg I.V.
7	8	Ib-010a 15 mg/kg I.V.
8	8	IIIc-061a 15 mg/kg I.V.
9	8	IVc-059a 15 mg/kg I.V.
10	8	IVc-059a 150 mg/kg P.O.

【０７００】

処置を4週間(28日間)続け、血糖及び尿アルブミン/クレアチニンを毎週測定した。

【０７０１】

最後の化合物(薬剤)投薬後の　　殺、臓器、及び血液サンプリング

【０７０２】

【表５１】

表 51:研究スケジュール

時間 (週)	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W9終時 犠牲
STZ	投薬 (5日)	---	----	---	---	---	---	---	---	---
試験項目		血中グルコースv	血中グルコース		血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA
化合物	---	---	---	---	---	IV 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日	---
器官										血液(血漿) 腎臓 眼

【０７０３】

連続観察

体重：研究中の全てのマウスの体重を毎日測定し、記録した；この情報を使用して、各

動物についての正確な投薬を計算した。

【０７０４】

全身徴候及び症状：マウスを毎日観察し、全身状態に対する苦痛の徴候又は変化、例えば、毛が逆立つ、動きが鈍い、呼吸困難があれば記録した。

【０７０５】

サンプリング及びポストインライフ解析

・ 終末期サンプリングの直前に、網膜フラットマウント評価のために、4匹の動物/群にFITC-デキストランを注射した。

・ 終末期サンプリング：

○ 終末期血液サンプルを心臓穿刺によって採取し、血漿/血清を各動物から調製した。

■ 血糖測定

■ 血清クレアチニン測定

■ BUN測定

■ 尿ALB/クレアチニン

■ CRP、TNF-、IL-6及びTGF-βについてのELISA

■ 残りの血漿をサイトカイン解析のために保存した。

○ 腎臓組織を切除し、秤量した。

■ 想定されるバイオアナリシス又は他の分析のために、1つの腎臓を急速凍結した。

■ １つの腎臓をホルマリンで固定し、パラフィンワックスに包埋した。

・ 以下に対するH&E及びマッソントリクローム染色スクリーニング：

○ メサンギウム及び糸球体硬化症、

○ 細動脈ヒアリン症

○ GBM肥厚

○ FFPEとなる眼組織

■ 他の眼(4つ/処置群)を網膜フラットマウント分析に使用して、血管パターニングを測定した。

■ 血管によって覆われた領域

■ 血管漏出の評価

【０７０６】

終末：終末期の研究動物を、CO_2吸入により選別した。終末前に、動物を秤量した。

【０７０７】

結果：化合物Ia-001a、IIIc-061及びIVc-059aは、図9に示すように、糖尿病のSTZ誘発を伴うDBA/2マウス系統において血糖値を顕著に低下させた(1週間及び2週間を示す)。

【０７０８】

実施例5.9．ベーチェット病(BD)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、ZHENGら(Acta Derm Venereol 2015; 95: 952-958)に記載されるようにベーチェット病マウスモデルを使用して試験する。

【０７０９】

ベーチェット病は、主に口腔及び泌尿生殖器の粘膜ならびに眼球血管膜に症状が出る慢性、再発性、多系統の炎症性疾患である。ベーチェット病の病因論及び病理発生は知られていないが、環境因子、感染性因子、及び免疫因子を含む多数の病因論が提唱されており、循環免疫複合体及び補体活性化によって特徴付けられる自己免疫の根拠がますます受け入れられている。ベーチェット病の免疫病原性を試験し、理解するために、環境汚染物質、細菌性及びヒト熱ショックタンパク質由来ペプチド、及びウイルス注射に基づいて動物モデルを開発する。これらの動物モデルを別々に及び/又は同時に用いることにより、ベーチェット病のより効果的な調査が可能になる。

【０７１０】

動物モデルは、効率的且つ安全な処置選択肢を見出すために近年開発されている。好中球活性化は、BDの免疫病原性局面の1つである。好中球は、自然免疫応答において中心的役割を担う。代表的なBD病変、例えば、膿疱性毛包炎、パテルギー反応、及び前房蓄膿で

は好中球の浸潤が顕著であるため、好中球機能及び活性化状態が調査されている。BDにおける増加した、正常な、又は減少した基底及びfMLP誘導スーパーオキシド産生、食作用、走化性、及び好中球-内皮接着の相反する報告がある。BDのモデルと推定されるHLAトランスジェニックマウスにおいて見られた唯一の異常は、fMLPに応答したスーパーオキシド放出の増加である。高いスーパーオキシド応答はまた、同研究におけるHLA-B51+患者及び健常対照においても存在する。

【０７１１】

ベーチェット病様マウスモデルは、4-5週齢の雄Institute of Cancer Research(ICR)マウスに、Vero細胞中で増殖させたHSVタイプ1を接種することによって開発する。簡潔に述べると、実験マウスの耳たぶを針で引っ掻いて、10日間隔でウイルスを2回接種する。感染したマウスを最終接種後16週間観察する。少なくとも2匹のベーチェット様症状を示すHSV接種マウスを、BD様マウスモデルとして使用する(n=5)。非感染性のICRマウス(n=2)及びHSV接種したが無症候性のマウスの両方。

【０７１２】

実施例5.10：ぶどう膜炎(UVE)の処置及び/又は予防

本発明の化合物の治療効力は、Fruchon Sら(Molecules. 2013;18(8):9305-9316. Published 2013 Aug 5. doi:10.3390/molecules18089305)に記載されるように、ラットにおけるエンドトキシン誘発性ぶどう膜炎(EIU)を含む自己免疫ぶどう膜炎の動物モデルを使用して試験する。このモデルは、ヒト前部ぶどう膜炎の臨床的に関連したモデルと考えられている。これは、リポ多糖(LPS)の全身投与からなり、血液眼関門の破壊及び炎症細胞の浸潤を伴う眼の前部及び後部における急性炎症反応をもたらす。EIUの臨床徴候は、ヒト疾病において観察される変化を反映する。したがって、本発明の化合物の治療効果を、「ゴールドスタンダード」であるデキサメタゾンと比較して、ラットにおけるEIUのモデルにおいて試験する。

【０７１３】

動物：目に見える眼の異常の徴候がない動物のみを登録する。予備試験期間中に動物を検査し、眼に対して特に注意を払う。それらを実験前に1週間観察する。動物を個々に標準ケージに収容し、食餌及び水道水を自由に摂取させた。

【０７１４】

眼に関する忍容性研究：この研究は、3匹の雄Sprague-Dawleyラットの3つの群からなった。0日目に、動物を秤量し、麻酔し、両眼に5μLの硝子体内注射を単回投与する。第1群は、生理食塩水ビヒクル(NaCl0.9%)を受け、他の群は、異なる用量の本発明の化合物を受ける。次いで、各動物を臨床的観察及び目の検査によって評価する。眼検査には、眼底検査、McDonald-Shadduckスコアリングを可能にするフルオレセイン色素を使用する角膜の細隙灯検査(SLE)が含まれる。McDonald-Shadduckスコアリングシステムは、結膜パラメータ(鬱血、腫脹及び分泌)、血液房水関門の破壊の推定証拠としての房水フレア(チンダル現象の強度)；虹彩における二次及び三次血管の注射；混濁、その相対面積、角膜の血管新生及び上皮統合性(フルオレセイン標識)；水晶体の統合性に取り組んでいる。最後の眼の検査の後、全ての動物を　　殺する。眼を剖検時に収集し、改変Davidson液中で12時間固定し、続いて10%中性緩衝ホルマリンで固定し、組織学的検査のために加工処理する。ヘマトキシリン・エオシン染色した組織切片を、有資格の獣医病理学者によって光学顕微鏡を介して評価する。

【０７１５】

エンドトキシン誘発性ぶどう膜炎(EIU)ラットモデル：36匹の雌アルビノルイスラットを、各々6匹の動物の6つの群に無作為に分ける。EIUは、200μgのLPS(サルモネラ・チフィリウム由来のリポ多糖、Sigma-Aldrich, Saint-Quentin, France)を含有する滅菌パイロジェンフリー生理食塩水を100μL足蹠注射することによって誘発される。EIU誘発の直前に、活性成分を含有しない生理食塩水(NaCl0.9%)、又は試験化合物、又は20μgのデキサメタゾンを両眼に5μL硝子体内注射することによって動物を処置する。動物を、24時間(すなわち、このモデルにおける当該疾病の臨床ピーク)で、細隙灯(SLE)によって検査

する。臨床的眼炎症の強度を、各眼について0～5のスケールでスコア化する。グレード0は、炎症がないことを示す。グレード1は、最小限の虹彩及び結膜血管拡張があるが、前房(AC)におけるフレア又は細胞は観察されないことを示す。グレード2は、中程度の虹彩及び結膜血管拡張があるが、ACにおける明白なフレア又は細胞はないことを示す。グレード3は、強い虹彩血管の拡張、ACにおけるフレア及び細隙灯視野あたり10個未満の細胞があることを示す。グレード4は、グレード3よりも重篤な臨床徴候があり、ACにおいて細隙灯視野あたり10個を超える細胞を有し、前房蓄膿の形成を伴うか又は伴わないことを示す。グレード5は、強い炎症反応、ACにおけるフィブリン形成、及び瞳孔の完全な閉鎖があることを示す。実験の終わりに、すなわち、LPSチャレンジの24時間後に、ラットをペントバルビタール(30mg/kg)の腹腔内注射によって麻酔し、次いで致死量のペントバルビタールで　　殺する。

【０７１６】

眼液中のサイトカイン濃度の測定：　　殺後、各動物の両眼から眼房水及び硝子体を採取する。炎症促進性Tヘルパーサイトカイン$TNF\alpha$、$IL\text{-}1\beta$、IL-2、IL-6、IL-17及び$IFN\gamma$並びに抗炎症性サイトカインIL-4及びIL-10の量をマルチプレックス解析によって決定する。

【０７１７】

血清中のサイトカイン濃度の測定：ラットの3つの群(生理食塩水ビヒクル、化合物10μg及びデキサメタゾン)からの血清を実験の終わりに収集し、-80℃で保存する。それらを、製造業者の指示に従って、FACS Caliburフローサイトメーター(BD Biosciences)上のCytometric Bead Array(rat CBA Flex set,BD Biosciences,San Jose,CA,USA)を用いた5つのサイトカイン($IFN\gamma$、$TNF\alpha$、IL-2、IL-4及びIL-10)レベルの同時決定のために使用する。各サイトカインの量を、FCAP Arrayソフトウェア(BD Biosciences)を用いて標準曲線に関連して分析する。

【０７１８】

実施例5.11．糖尿病性感覚運動多発ニューロパチー及び糖尿病性ニューロパチーの処置及び/又は予防

本発明の化合物の治療効力を、糖尿病性末梢性ニューロパチーのラットモデルを使用して試験する(Kambiz S.ら(PLoS One. 2015;10(6):e0131144]; PLoS One. 2015;10(5):e0126892. Published 2015 May 18. doi:10.1371/journal.pone.0126892)。

【０７１９】

動物：WAG/RijHsd雌ラット(n=27、10週齢、体重130～150グラム)をCharles River(l'Arbresle,France)から購入する。動物をフード付きケージに室温で12時間の明/暗スケジュールでペアで収容し、水及び食物を自由に与える。

【０７２０】

糖尿病の誘発：先に記載したように、0.05mol/Lのクエン酸ナトリウム緩衝剤(pH4.5)中65mg/kg体重の用量のSTZ(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)を単回腹腔内注射することによって、21匹のラットにおいて糖尿病を誘発する。ラットを無作為に3つの群：A、B及びC(各群n=7)に割り当てる。糖尿病誘発後、A群は4週間後に、B群は6週間後に、C群は8週間後に　　殺する。対照群は、STZを含まない等容量のビヒクルの単回腹腔内注射を受ける6匹のラットからなる。対照ラットを8週間追跡する。血糖を、グルコメーター(OneTouch, LifeScan, Milpitas, California, USA)によって尾静脈血液から測定する。ラットにおける糖尿病は、血糖値が糖尿病の誘発後全4週間にわたって20mmol/Lより高い場合に診断される。

【０７２１】

足底後肢の皮膚の血流及び酸素化：レーザードプラ流量測定及び分光光度測定システム(O2C, LEA Medizintechnik, Giessen, Germany)の組合せを使用して、無毛足底後肢の血流及び酸素飽和度を非侵襲的に測定する。糖尿病ラット及び対照ラットの両方において、酸素飽和度及び皮膚血流の量を4、6及び8週目に評価する。

【０７２２】

寒冷曝露後の復温率：皮膚の温度を、1Hzデータ取得システム(ThermaCAM Researcher 2001 HS; FLIR Systems, Berchem, Belgium)による内蔵赤外線デジタルビデオカメラ(320×240ピクセル)を使用して評価し、全てのデータをラップトップによって連続的に収集する。カメラと後肢との間の距離は13cm±2cmである。温度記録のピクセルサイズは0.8×0.8mmである。動物を14℃のプレート上に5秒間置いた後に動物を固定した状態で、足底後肢全体の皮膚温度を記録する。ThermaCAM Researcher Pro (version 2001-HS; FLIR Systems, Wilsonville, Oregon, USA)を使用して、足底後肢の最低温度をテキストファイルにエクスポートする。対象領域は、足底後肢全体を囲む線を引くことによって選択される。平均復温率は、120秒当たりの皮膚温度の上昇として示される。

【０７２３】

熱感度：熱過敏症の発生を決定するために、コールド及びホットプレート試験を先に記載したように実施する。約言すれば、ラットを、表面温度が5℃(コールドプレート)又は50℃(ホットプレート)のいずれかである透明な壁を有する開放式チャンバーに入れる。これらの実験は、干渉を防ぐために別々の日に行う。後肢を引っ込めるか又は舐めるまでの時間を観察する。

【０７２４】

Von Frey試験：侵害受容についての機械的感受性閾値を決定するために使用されるvon Frey試験において、各ラットをメッシュ状の金属製の床を有するチャンバーに入れる。次いで、2～300グラムの範囲のvon Freyの毛を5回当て、先に記載したように、最低3回の足のフリック(動物の反射性引っ込め反応)が観察された場合に陽性とした。対照群を参照群とした。

【０７２５】

筋電図検査(EMG)：筋肉における運動軸索の神経支配を、糖尿病群及び対照動物における腓腹筋の誘発CMAPピーク-ピーク振幅及び潜時を記録することによって評価する。CMAPピーク-ピーク振幅及び潜時を記録し、20回分の応答について平均をとる。各糖尿病群における平均振幅を対照群と比較する。MNCVを、刺激電極から記録電極までの距離(mm)/潜時(ms)として計算する。

【０７２６】

組織調製：4、6、又は8週間後、動物をペントバルビタール(100mg/kg ip)の過量投与によって　　殺する。各ラットについて、後肢の足底皮膚を切開し、2%パラホルムアルデヒド-リジン-過ヨウ素酸塩(PLP)中に4℃で24時間直接浸漬固定する。皮膚をさらに加工処理し、先に記載したようにゼラチン中に包埋する。最後に、包埋した皮膚を凍結ミクロトームで40μmに切片化し、-20℃での長期保存のためにグリセロール中に収集する。

【０７２７】

ラットの膵臓組織を回収し、10%中性緩衝ホルマリン溶液中で固定し、パラフィン中に包埋する。続いて、これらの検体をヘマトキシリン及びエオシン(H&E)で染色する。各検体を明視野顕微鏡で評価し、デジタルスライド(Nanozoomer 2.0 series, Hamamatzu, Japan)にスキャンする。

【０７２８】

免疫組織化学：皮膚切片の免疫組織化学を先に記載したように実施して、皮膚を神経支配する感覚神経線維の密度を半定量化し、CD-31陽性内皮細胞の存在を評価する。皮膚切片を、希釈した一次抗体Protein Gene Product 9.5(PGP9.5, 1/10.000, anti-rabbit, Enzo Life Sciences, New York, USA)又は抗CD31+(1/5000, anti-rabbit, Spring Bioscience, California, USA)を含有する2%BSAのカクテル中、4℃で48時間インキュベートする。続いて、皮膚切片を、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)で標識した適切な二次ビオチン化抗体(1/200, Biotine, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)と共に、室温で90分間インキュベートする。次いで、3, -3'ジアミノベンジジン(DAB)反応を利用して、一次抗体の抗原結合部位を明らかにする。その後、切片をスライドに載せ、CD31+染色切片を0.05%チオニンで4分間染色し、ケラチノサイトを青色に着色した。最後に、全ての皮膚切片を無水エタノール(〈0.01%メタノール)を用いて脱水し、キシレン

に移し、パーマウント(Permount)(Fisher Scientific, Hampton, NH)でカバースリップをかける。

【０７２９】

各皮膚切片を、Nanozoomer 2.0シリーズ(Nanozoomer 2.0 series, Hamamatzu, Japan)によって、各々8μmの3層でスキャンする。ImageScopeソフトウェア(Aperio ImageScope v11.1.2.760)の40倍対物レンズを使用して、後足底の中心部分(80.000μm2)の表皮神経線維について、後足底の4つの近位皮膚切片及び4つの遠位皮膚切片を定量化する。平均標識神経線維/mm2及び平均表皮厚を各ラットについて計算する。CD31陽性細胞の割合を、Leica Cell-D(Olympus, Imaging software for life science microscopy, USA)によって、後足底の上部真皮全体にわたる4つの近位皮膚切片及び4つの遠位皮膚切片において計算する。

【０７３０】

実施例5.12．腸線維症の処置及び/又は予防

本発明の化合物の治療効力を、Pham BTら(Physiol Rep. 2015;3(4):e12323. doi:10.14814/phy2.12323)に記載されているようにラット又はマウスモデルを使用して試験する。

【０７３１】

ラット及びマウスの腸コアの調製：成体非絶食雄Wistarラット及びC57BL/6マウスを使用する(Harlan PBC, Zeist, The Netherlands)。ラット及びマウスを12時間の明/暗サイクルで、温度及び湿度調節された部屋に収容し、食餌 (Harlan chow no 2018, Horst, The Netherlands)及び水を自由に摂取させる。動物を、実験の開始前に少なくとも7日間順応させる。

【０７３２】

ラット及びマウスをイソフルレン/O2(Nicholas Piramal, London, UK)で麻酔する。ラット空腸(胃から約25cm遠位、長さ15cm)及びマウス空腸(胃から約15cm遠位、長さ10cm)を切除し、25mm d-グルコース(Merck,Darmstadt,Germany)、25mm NaHCO3(Merck)、10mm HEPES(MP Biomedicals,Aurora,OH)を補充した氷冷Krebs-Henseleit緩衝剤(KHB)中で保存し、カルボゲン(95% O2/5% CO2)で飽和させ、pH7.4に調整する。空腸を、内腔を通してKHBをフラッシュすることによって浄化し、続いて2cmのセグメントに分割する。これらのセグメントを、37℃で0.9%NaCl中の3%(w/v)アガロース溶液で満たし、アガロースコア包埋ユニットに包埋する。

【０７３３】

ヒト腸コアの調製：膵十二指腸切除術を受けた患者から切除された腸から健常なヒト空腸組織を得る。

【０７３４】

健常な空腸を、包埋手順まで氷冷KHB中で保存する。粘膜下組織、筋層及び漿膜を、組織の採取後1時間以内に粘膜から注意深く除去する。粘膜を0.4cm×1cmのシートに分割する。これらのシートを、37℃で0.9%NaCl中の3%アガロース(w/v)溶液に包埋し、包埋ユニットに挿入する。

【０７３５】

PCISの調製：PCISを氷冷KHB中でKrumdieck組織スライサー(Alabama Research and Development)によって調製する。湿重量が3～4mgであるスライスは、300～400μmの推定厚を有していた。スライスを、実験の開始まで氷冷KHB中で保存する。

【０７３６】

腸管スライスのインキュベーション：ヒトPCIS(hPCIS)及びラットPCIS(rPCIS)については12ウェルプレート中で、又はマウスPCIS(mPCIS)については24ウェルプレート中で、スライスをインキュベートする。hPCIS及びrPCISは個々に1.3mLの、mPCISは0.5mLの、25mmグルコース、50μg/mLゲンタマイシン(Invitrogen)及び2.5μg/mLアムホテリシン-B(Invitrogen)を補充したL-グルタミン(Invitrogen, Paisly, UK)を含むWilliams Medium E中で、インキュベートする。インキュベーター(MCO-18M、Sanyo)中で

のインキュベーション(37℃且つ80% O2/5% CO2)の間、プレートを90rpm(振幅2cm)で水平に振盪する。rPCISを24時間までインキュベートし、mPCIS及びhPCISを、1～10ng/mLの濃度範囲のヒトTGF-β1(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)の存在下及び非存在下で72時間までインキュベートする。全てのインキュベーションは、(別々のウェル中で個々にインキュベートされた3～6スライスを使用して)マニホールド(manifold)に行い、3～16の異なるヒト、ラット、又はマウス由来の腸で繰り返す。

【０７３７】

生存率及び形態学：生存率は、PCISのアデノシン三リン酸(ATP)含量を測定することによって評価する。簡潔に述べると、インキュベーション後、スライスを1mLの超音波処理溶液(70%エタノール及び2mmEDTAを含有する)に移し、液体窒素中で瞬間凍結し、-80℃で保存する。生存率を決定するために、ATPバイオルミネセンスキット(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)を使用して、45秒間超音波処理し、4℃にて16.000×gで2分間遠心分離したサンプルの上清中のATPレベルを測定する。ATP値(pmol)を、ローリー法(BIO-rad RC DC Protein Assay, Bio Rad, Veenendaal, The Netherlands)によって推定されたPCISの総タンパク質含量(μg)に対して正規化する。

【０７３８】

形態を評価するために、インキュベートしたスライスを4%ホルマリン中で固定し、パラフィンに包埋する。4μmの切片を切断し、ヘマトキシリン及びエオシン(HE)で染色する。HE切片を、虚血及び再灌流後の腸における組織損傷の発生順序を説明する修正Parkスコアに従ってスコア付けする。PCISの7つのセグメントの統合性を、0～3のスケールでスコア付けする。上皮、間質、陰窩、及び筋層の生存率を、壊死が存在しない場合には0、広範囲の壊死が存在する場合には3として別々にスコア付けする。腸管スライスの他の部分は以下のように評価する：上皮の形状：0=立方上皮、3=細胞の2/3以上が平らである、絨毛の平坦化：0=正常、3=絨毛の2/3以上が平坦化されている、浮腫の量：0=浮腫なし、3=重度の浮腫。最大スコア21は、重度の損傷を示す。ヒトサンプルにおいて、粘膜筋板の形態学的スコアは、「筋層」切片において決定する。B.T.P.、W.T.V.H及びJ.N.がブラインドスコアリングを行い、3人の合計スコアの平均を算出する。

【０７３９】

遺伝子発現：線維症遺伝子、すなわちCOL1A1、αSMA、HSP47、CTGF、FN2、TGF-β1、PAI-1、及びSYNの発現を、Taqman又はSYBRgreen法のいずれかによって決定した。hPCISでは、ELA遺伝子発現もSYBRgreen法によって測定した。

【０７４０】

腸線維症は、炎症性腸疾患(IBD)の患者における重篤であるが一般的な転帰である。IBDに特徴的な慢性腸炎症を制御するための新規処置モダリティの開発における進歩にもかかわらず、有効な抗線維化療法は今日まで存在しない。したがって、腸線維症の根底にある分子機構をより深く理解し、関連する動物モデルの利用可能とすることが、この研究領域を前進させるために重要である。

【０７４１】

IL-17及び関連メディエーター：Th17細胞は、主にIL-17Aを産生するがIL-17F、IL-21、及びIL-22も産生するTヘルパー細胞のサブセットを定義し、IBD(7)を含むいくつかの慢性炎症性疾患において最も重要であるとますます認識されている。IL-17Aは、肺（8）、肝臓（9）及び心臓（10）を含む複数の臓器の線維化に関与している；最近の研究では、腸におけるその役割も支持されており、IL-17/Th17免疫応答及び他の関連メディエーターを腸線維症の病理発生に結びつけている。

【０７４２】

腸線維症の他の動物モデルについては、本明細書において以下に記載する。

【０７４３】

【表５２】

表52:

カテゴリー	モデル	投与様式/転帰
化学的誘導	DSS	飲水中に投与、上皮損傷並びに結腸粘膜の透過性亢進及びその後の急性炎症を引き起こす;DSS の繰返し投与は慢性炎症及びその後の線維症を引き起こす。
	TNBS	TNBS/エタノールの結腸注腸投与は、上皮障壁を損傷し、T 細胞依存性貫壁性炎症を引き起こす;長期投与は結腸線維症をもたらす。
微生物	PG-PS	盲腸又は小腸壁への直接注射は、顕著な線維症を伴う肉芽腫性腸炎を誘導する。
	糞便注射	結腸腸壁への糞便懸濁液の直接注射は、悪性結腸炎及び貫壁性線維症を引き起こす。
	慢性 *Salmonella* 感染	ストレプトマイシンでの前処置後の経口投与は、顕著な線維症を伴う結腸粘膜性及び貫壁性炎症を引き起こす。
	AIEC 感染	ストレプトマイシンでの前処置後の AIEC のヒト CD 単離株(NRG857)の強制投与は、回腸-結腸炎症並びに Th1-及び Th17-媒介、線維症を引き起こす。
遺伝子操作マウス	TGFβ1-Tg TβRIIΔk-fib-Tg	TGFβ を過剰発現するこれらアデノウイルスベクターの結腸への浣腸投与は、急性及び慢性炎症、ECM 沈着並びにを筋層の肥厚に至る。
	MCP-1-Tg	MCP-1を有するアデノウイルスの直腸への壁内注射は、貫壁性炎症、コラーゲン沈着及び線維症に至る。
	IL-10欠損	IL-10の遺伝子欠失は results in 結腸の貫壁性炎症性傷害、陰窩膿腫及び腸壁の肥厚を生じる;回腸-盲腸切除後の小腸における術後線維症の発症に対する感受性増大の証拠
免疫媒介	T 細胞移入	免疫不全レシピエントマウスへのドナーCD4^{+}/CD45RB^{high} T 細胞の移入は、消耗性疾患、結腸炎及び軽度線維症を生じる。
自然発症	SAMP1/YitFc マウス系統	自然発症性の回腸末端炎及びその後の線維症を発症する

【０７４４】

実施例5.13．卵巣線維症の処置及び/又は予防

本発明の化合物の治療効力を、実験設定において卵巣過剰刺激症候群(OHSS)における卵巣組織病理学、血清中VEGF、及びエンドセリン1のレベルに対する試験化合物の効果を調べるために、Pala Sら(Drug Des Devel Ther. 2015;9:1761-1766. Published 2015 Mar 24. Doi:10.2147/DDDT.S75266)によって記載された卵巣過剰刺激症候群(OHSS)マウスモデルを用いて試験する。

【０７４５】

動物：22日齢の雌Wistarアルビノラットを使用し、無作為に群に分ける。卵胞刺激ホルモン10IUを4日間連続して15匹のラットに皮下投与し、ヒト絨毛性ゴナドトロピンの30IUによって5日目にOHSSを誘導する。群1は35日齢の対照ラットを含み、群2は35日齢のOHSSラットを含み、群3は試験化合物を7日間受けた27日齢のOHSSラットを含む。次いで、全てのラットを35日目に断頭する。血清VEGF、エンドセリン1、及び卵巣卵胞予備能を全てのラットにおいて評価する。

【０７４６】

13日目にヘマトクリット及び体重の測定を行い、ケタミン(75mg/kg)及びキシラジン(10mg/kg)の腹腔内投与による全身麻酔下で、35日目に断頭を行う。

【０７４７】

酵素結合免疫吸着アッセイ：断頭した各ラットから約3mLの血液サンプルを得た。血液サンプルを2,500rpmで4分間遠心分離することによって血清を分離し、VEGF及びエンドセリン1アッセイまで-20℃で維持する。VEGFは、マウスVEGF酵素結合免疫吸着アッセイキット(ELM-VEGF-001; RayBio, USA)を用いてアッセイし、エンドセリンは、エンドセリン1E/キット(EK-023-01; Phoenix Pharmaceuticals, USA)を用いて測定する。

【０７４８】
卵巣形態学：開腹後、卵巣を取り出し、培養培地中の付着組織を洗浄し、秤量する。卵巣組織を10%ホルムアルデヒドで固定し、次いで、平均卵胞数の推定のためにパラフィン包埋組織サンプルを4μmの断面に切断する。切片をマッソン・トリクロームで染色して、光学顕微鏡(Olympus BX-50)下でOFRを決定する。先に記載の方法に従って、同じ構造体が2回計数されるのを防ぐために、4μm厚の断面を50μm間隔で顕微鏡スライド上に載せる。12個の卵胞を、始原、一次、二次、及び三次として分類する。閉鎖卵胞(AF)は、10個を超える核濃縮核を提示する卵胞として定義され、最小の卵胞については、閉鎖の基準は、変性卵母細胞、早発性幽門洞形成、又はその両方である。
【０７４９】
主な評価項目：主な評価項目は、齢(日)、体重(g)、ヘマトクリット(%)、卵巣の重量(mg)、VEGF(pg/mL)及びエンドセリン1(ng/mL)の血清レベル、並びに原始卵胞数、一次卵胞数、二次卵胞数及び三次卵胞数の決定を伴う総卵胞数である。
【０７５０】
実施例5.14．多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の処置及び/又は予防
本発明の化合物の治療効力を、Wang Dら(J Ovarian Res. 2018;11(1):6. Published 2018 Jan 10. Doi:10.1186/s13048-017-0375-7)に記載されたDHEA-誘発性卵巣高線維症(ovarian hyperfibrosis)動物モデルを使用して試験する。
【０７５１】
多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)は、病態機構が不明のままである一般的な代謝及び内分泌疾患である。以下の研究では、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)誘発性多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)ラットモデルにおける形質転換成長因子-β(TGF-β)シグナル伝達経路を介した卵巣高線維症形成を調査する。
【０７５２】
動物：30匹の雌Sprague-Dawley(SD)ラット(21日齢、体重約50g)を、このアッセイに使用する。動物を、22±1℃の温度、50±1%の相対湿度、及び12/12時間の明/暗サイクルの特定病原体フリー(SPF)環境に収容する。食物及び水を自由に摂取できるようにする。
【０７５３】
方法：30匹の雌Sprague-Dawleyラットを無作為に、ブランク群(n=6)、油群(n=6)、及び油+DHEA誘発モデル群(n=6+12)に分ける。35日間連続してDHEAを皮下注射することによってモデル群を確立する。ラットをさらにビヒクル群(n=6)及び処置群(n=6)に分ける。処置を1日1回行い、処置は35日間継続する。処置後18日目に、それらの発情周期を毎日決定するために、14日間にわたって細胞型を判定することによって、膣スミアを全てのラットから毎日収集する。36日目に、ブランク及び油処置群の全てのラット並びにDHEA誘発モデル群の6匹のラットを(過剰の5%抱水クロラールの腹腔内注射を利用して)安楽死させ、血液を(上大静脈から)収集し、両側の卵巣及び子宮を解剖する。
【０７５４】
卵巣を4%パラホルムアルデヒド中、4℃で24時間固定し、次いでパラフィンに包埋する。残りの組織を、さらなるウェスタンブロッティング及びリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)解析のために-80℃で凍結する。
【０７５５】
DHEA誘発モデル群からの残りの12匹のラットを、さらなる以下の2つの群に無作為化する：処置群及びビヒクル処置群(対照群)(6匹のラット/群)。この処置の間、DHEAはもはやラットに投与されていない。処置を2週間続け、その後、全ての動物を安楽死させ、血液を収集し、両側の卵巣及び子宮を上記の指示に従って解剖する。
【０７５６】
卵巣形態、卵巣におけるフィブリン及びコラーゲンの局在化及び発現を、H&E染色、免疫組織化学及びシリウスレッド染色を用いて検出する。卵巣タンパク質及びRNAを、ウェスタンブロット及びRT-PCRを使用して検査する。

【０７５７】
発情周期：DHEA処置後18日目に、全てのラットから膣スミアを収集する。次いで、サンプルをトルイジンブルーで30分間処理し、その結果、細胞形態及び発情周期を光学顕微鏡(Leica Microsystems, Germany)下で検査する。
【０７５８】
血清ホルモンレベル：血液サンプルを上大静脈から収集する。血清を直ちに分離し、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)(テストステロン(T)、エストラジオール(E2)、黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH))(rat T, E2, LH and FSH ELISA Kits, USCN, Wuhan, China)によるさらなるホルモン決定のために-20℃で保存する。
【０７５９】
実施例5.15．原発性胆汁性胆管炎(PBC)の処置及び/又は予防
本発明の化合物の治療効力を、Hohenester Sら(Cells. 2020, 9(2), 281. Doi: 10.3390/cells9020281)に記載されているように、PBCマウスモデルを使用して評価する。
【０７６０】
胆汁うっ滞性肝疾患、例えば、原発性胆汁性胆管炎(PBC)又は原発性硬化性胆管炎(PSC)は、その後の合併症を伴う肝硬変を頻繁にもたらす慢性進行型疾患である。疎水性胆汁酸塩は、胆汁うっ滞における肝線維症を促進すると考えられている。しかしながら、この広く受け入れられている仮説についての証拠は乏しいままである。
【０７６１】
例えば、Mdr2ノックアウトによる胆汁うっ滞の樹立された動物モデルにおいて、胆汁うっ滞及び線維症は、両方とも胆道損傷に続発する。
【０７６２】
したがって、胆汁うっ滞性疾患における肝線維症への胆汁酸塩の蓄積の特異的な寄与を試験するために、コール酸塩給餌Atp8b1G308V/G308Vマウスにおける誘導性肝細胞胆汁うっ滞のユニークモデルを使用する。グリコケノデオキシコレート(GCDCA)を補充して、HPLCによって確認されるように、マウス胆汁酸塩プールをヒト化する。胆汁うっ滞及び肝線維症のバイオマーカーを定量化する。野生型マウスから単離された肝星細胞(HSC)を胆汁酸塩で刺激する。HSCの増殖、細胞蓄積、及びコラーゲン沈着を決定する。胆汁うっ滞性Atp8b1G308V/G308VマウスにおけるαSMA及びコラーゲン1amRNAの肝臓発現の増加並びに肝臓コラーゲンの過剰沈着は、GCDCA補充時のみ肝線維症が進行することを示す。インビトロで、筋線維芽細胞の数及びコラーゲンの沈着は、疎水性であるが親水性ではない胆汁酸塩とのインキュベーション後に増加し、EGFR及びMEK1/2活性化に関連する。胆汁酸塩は、HSCに対する直接的な線維化促進効果を有し得、EGFR及びMEK1/2シグナル伝達を伴うとみなされている。
【０７６３】
動物実験：8週齢の雄動物をインビボ研究に使用する。動物を12時間の明-暗サイクルで飼育し、食餌及び水を自由に摂取できるようにした強化環境で飼育する。
【０７６４】
血清生化学及び血清胆汁酸塩測定　アルカリホスファターゼ、ビリルビン、及びアラニンアミノトランスフェラーゼの血清レベルを、respons(登録商標)910全自動アナライザー(DiaSys, Holzheim, Germany)において新鮮な血清から定量化する。総血清胆汁酸塩レベルを、Diazyme総胆汁酸塩キット(Diazyme Laboratories, Poway, CA, USA)を製造者の指示に従って使用して酵素的に定量化する。
【０７６５】
肝臓組織学、免疫組織化学、及びヒドロキシプロリンの定量化　パラフィンブロックを4μm厚のスライスに切断し、顕微鏡スライド(Superfrost plus, Thermo Scientific/Menzel, Braunschweig, Germany)上に載せる。段階的な脱パラフィン及び再水和化の後、スライドを標準的な手順に従ってヘマトキシリン及びエオシンで染色する。免疫組織化学は、モノクローナルウサギ抗α平滑筋アクチン抗体(Abcam, Cambridge, UK)を使用して、α-SMAに対して行う。コラーゲン定量化のために、スライドをDirect Red 80(Sirius

Red, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany)で1時間染色し、エタノール中で2回、キシロール中で1回脱染する。細胞数の代用として全DNAを定量化するために、HSCをPico Green(登録商標)(Invitrogen,Carlsbad,CA,USA)と共にインキュベートし、蛍光シグナルをCytoFluor 4000システム(PerSeptive Biosystems, Framingham, MA, USA)で検出する。HSCの増殖を、BrdUアッセイキット(Roche, Penzberg, Germany)を製造業者の説明書に従って使用して定量化する。総細胞数を定量化するために、Lab-Tek II Chamber Slides(Nunc, Rochester, NY, USA USA)に播種したHSCを、DAPI(Vector, Burlingame, CA, USA)を含むVectashield封入剤を用いてカバースライド上にマウントする。スライドをPannoramic Midi Slide Scanner(3D)(istech, Budapest, Hungary)でスキャンし、完全なスライド(0,7cm2)上でImageJ2ソフトウェアを用いて核の計数を行う。

【０７６６】
インビトロでのコラーゲンの定量化　細胞をPBSで洗浄し、飽和ピクリン酸中の0.1%シリウスレッドで1時間染色する。次いで、細胞を100%エタノールで3回洗浄し、結合した色素を50%メタノール/水酸化ナトリウム(50mmol/L)に溶解し、吸収を540nmで測定する。

【０７６７】
実施例5.16．肝線維症又は硬変(HF)の処置及び/又は予防
Fransen Petterssonら(PloS One. 2018; 13(9): e0203228. Doi: 10.1371/journal.pone.0203228)に記載されるように、樹立したNOD-Inflammation Fibrosis(N-IF)マウスモデルを使用して、自然発症慢性肝炎及び線維症を阻害するための本発明による化合物の治療効力を評価する。

【０７６８】
動物：N-IFマウスは、免疫不全NOD.Rag2-/-マウスにおいて生成されたT細胞受容体(TCR)トランスジェニックナチュラルキラーT(NKT)-II細胞によって引き起こされる慢性炎症及び肝線維症を自発発症する。N-IFマウスにおける肝臓病理のいくつかの構成要素は、進行性慢性炎症が線維症の発症に先行する、ヒトの病的状態のそれと重なる。さらに、N-IFマウス肝臓において発症する線維症は、α-SMA発現肝星細胞の蓄積に関連することが実証されている。これらの表現型の類似性は、N-IFマウスモデルを肝線維症のための他の利用可能なげっ歯類モデルと比較して独特なものにし、抗線維化薬物候補の効力を試験するための新規ツールを提供する。

【０７６９】
動物を健康不良の徴候について毎日観察し、尿を収集し、尿中のタンパク質を測定する。肝臓及び腎臓の重量を解剖時に記録する。肝臓及び腎臓を各動物から切除し、固定し、切片化し、シリウスレッド及びH&Eで染色する。各肝臓片をヒドロキシプロリン測定に使用する。

【０７７０】
ヒドロキシプロリン測定：Hydroxyproline Colorimetric Assay Kit(BioVision,Milpitas,CA,USA)を使用して、肝臓及び脾臓のヒドロキシプロリン含量を決定する。

【０７７１】
組織学：処置後、マウスを麻酔し、心臓内穿刺を介してPBSで灌流する。肝臓及び脾臓を秤量し、器官生検を4%中性緩衝ホルマリン中で固定し、パラフィンに包埋し、切片化する。

【０７７２】
実施例5.17．非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の処置及び/又は予防
本発明による化合物の治療効力を、Barbara Ulmasov B.ら(Hepatology Communications, 2018, 3(2) -
1668040188778_90.1298
)に記載されているように、NASHマウスモデルを使用して評価する。

【０７７３】

マウス：C57BL/6J 5週齢雄マウスを、温度、湿度、及び12時間/12時間の明/暗サイクルの制御された条件下の標準的な施設に収容し、水を自由に摂取させる。

【０７７４】

コリン欠損、Lアミノ酸規定、高脂肪のNASHマウスモデル：コリン欠損、アミノ酸規定、高脂肪食(CDAHFD)22は、Research Diets (A06071309; New Brunswick, NJ)から入手する。この食餌は、0.1%メチオニン及び45%Kcal%脂肪(20%ラード、25%ダイズ油)を含む高脂肪コリン欠損食餌として処方されている。対照食は、脂肪由来のカロリーを13.6%含有する標準的なげっ歯類用固形飼料である。6週齢から開始して、30匹のマウスにCDAHFDを、30匹のマウスに標準食を与える。6週間の終わりに、各食餌群から10匹のマウスを5時間絶食させ、　　殺する。血液及び肝臓サンプルを収集する。肝臓を切片に分割し、これを10%リン酸‐緩衝ホルマリン中で固定するか、液体窒素中で凍結するか、又は将来の評価のためにRNA安定化溶液中に入れる。残りのマウスは、さらに4週間、計10週間、食餌を維持し、次いで絶食させ、　　殺し、サンプルを収集する。

【０７７５】

生化学的解析：Triglyceride Colorimetricアッセイキット(Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI)を製造業者の指示に従って使用して、肝臓のトリグリセリド含量を測定した。アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、グルコース、インスリン、トリグリセリド、及びコレステロールの血漿レベルは、Advanced Veterinary Laboratory (Saint Louis, MO)によって商業的に測定された。

【０７７６】

RT-PCR：リアルタイム定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応を実施して、mRNA存在量の変化を計算する。

【０７７７】

組織病理学：ホルマリン固定した肝臓切片をパラフィンに包埋し、５μｍに切片化し、顕微鏡評価のための標準的なプロトコールを用いてヘマトキシリン及びエオシン(H&E)により染色する。肝臓のコラーゲン含量を評価するために、パラフィン包埋肝臓切片をシリウスレッド/ファストグリーン色素で染色する。シリウスレッドは全てのタイプのコラーゲンに結合するが、ファストグリーンは非コラーゲン性タンパク質を染色する。

【０７７８】

肝臓切片を前処理してパラフィンを除去し、ワイゲルト鉄ヘマトキシリン溶液を用いて核を染色する。洗浄後、組織を飽和ピクリン酸中の0.1%シリウスレッド(Direct Red 80; Sigma, Saint Louis, MO)、0.1%fast green FCF certified(Sigma)で2時間染色する。次いで、スライドを水で洗浄し、エタノール及びキシレンで脱水し、最後にPermaslip (Alban Scientific, Inc., Saint Louis, MO)で乗せる。コラーゲン蓄積の程度を形態計測分析によって評価する。

【０７７９】

肝ヒドロキシプロリン含量の決定：ヒドロキシプロリン含量は、肝臓に存在する総コラーゲン量の尺度として決定される。肝組織を蒸留水中でホモジナイズし、トリクロロ酢酸で沈殿させ、12NHCl中、105℃で48時間加水分解する。サンプルを蒸発させ、乾燥ペレットを蒸留水中で再構成する。再構成したサンプルを13,000gで10分間遠心分離し、上清を12NHClで希釈して、最終サンプル中の4NHCl濃度を達成する。肝臓のヒドロキシプロリン含量を、Sensitive Tissue Hydroxyproline Assayを使用して決定する。

【０７８０】

免疫組織化学：ホルマリン固定された肝組織は、標準的な方法によってパラフィンを除去するために前処理する。内因性ペルオキシダーゼ活性を、室温で1時間、メタノール中の3.3%過酸化水素中でインキュベートすることによってブロックする。

【０７８１】

肝組織におけるアポトーシス細胞の検出：ApopTag Peroxidase Detectionキット(Millipore, Temecula, CA)を使用して、末端デオキシヌクレオチドトランスフェラーゼ媒介デオキシウリジントリホスフェートニックエンドラベリング法(TUNEL)でDNA鎖切断を標

識及び検出することによって、肝組織中のアポトーシス細胞を同定する。肝細胞形態を有する染色されたアポトーシス細胞を計数する。HSC形態を有するアポトーシス細胞を検出するために、TUNEL染色した肝組織を続いてデスミン(HSCのマーカー)に対する抗体を用いて染色し、但し、二次抗体ペルオキシダーゼの活性は、ImmPACT VIP Peroxidase Substrate kit (Vector Laboratories)を用いて検出する。

【０７８２】

ウェスタンブロット：以下の一次抗体を使用して、記載されるようにウェスタンブロッティングを行う：anti‐phosphorylated mothers against decapentaplegic homolog 3 (p‐SMAD3), ab52903, 1:1,000 (Abcam); anti‐glyceraldehyde 3‐phosphate dehydrogenase (anti‐GAPDH), sc‐25778 (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Dallas, TX)。

【０７８３】

実施例5.18．糖尿病性腎症又は糖尿病性腎疾患(DN又はDKD)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、I型糖尿病マウスモデル(STZ-誘発糖尿病)を使用してインビボで調査する。

【０７８４】

動物モデル：雄の10週齢の129/SVマウス(Charles River,Germany)を個々に換気したケージに保持し、水道水を自由に摂取させながら標準的な食餌を与える。体重を一致させた129/SVマウスに、50mMクエン酸ナトリウム(pH4.5)中の125mg/kg体重のSTZ(Sigma-Aldrich)又はクエン酸ナトリウム緩衝剤(非糖尿病対照群)のいずれかを、高血糖症(グルコース〉15mmol/l)の誘導のために1日目及び4日目に腹腔内に与える。マウスには試験中インスリンを与えない。

【０７８５】

糖尿病マウスにプラセボ(生理食塩水)を12週間又は試験化合物を投与する。体重及びグルコースレベルを毎週測定する。HbA1c(Olympus AU400)及び腎機能(血清クレアチニン)を6週目及び12週目に測定する。アルブミン尿は、マウスアルブミンELISAキットを使用して評価する。

【０７８６】

感覚神経伝導速度(NCV)の研究を、6週目及び12週目に2%イソフルランで麻酔したマウスにおいて行う。尾感覚NCVは、3cmの記録された距離で尾に沿って近位に刺激することによって決定する。測定には、Toennies Inc.製のニューロスクリーンを使用する。12週間の追跡調査後、マウスを安楽死させ、両側方開胸及び開腹術を行い、左心室を介して腎臓を氷冷生理食塩水で灌流する。

【０７８７】

免疫組織化学：免疫蛍光法のために、パラホルムアルデヒド固定及びパラフィン包埋組織切片(2μm)を加工処理する。10%ウサギ血清でブロッキングした後、パラフィン切片をpP38及びF4/80に対する抗体、並びにCy3に接合した二次抗体で染色する。

【０７８８】

実施例5.19：STZ誘発糖尿病モデルにおける糖尿病性腎症、糖尿病性腎疾患及び糖尿病性網膜症の処置及び/又は予防

5～7週齢、体重約25～30gの合計70匹の雌CD-1マウスを研究に使用した。これらはCharles River, UKから購入し、7日間の順化期間を経たものである。動物をIVCケージに収容し(最大5匹/ケージ)、個々のマウスを尾のマークによって識別した。全ての動物は、研究の間、標準的な認可市販の食餌及び消毒水を自由に摂取可能にした。保持室を標準条件下に維持した。18～24℃、湿度55～70%及び12時間の明/暗サイクル。

【０７８９】

本研究で使用した全てのプロトコールは、Animal Welfare and Ethical Review Committeeによって承認されており、全ての手順は、Animal (Scientific Procedures) Act 1986のガイドラインの下で行った。

マウス(陰性対照群を除く)に、STZ(55mg/kg；IP)を5日間連続して毎日注射した。注

射前にマウスを6時間飢餓状態にした。誘導完了の1週間後、グルコースレベルをモニターし、レベルが15mml/L(280mg/gL)未満のマウスは、理想的な糖尿病の重症化を起こしていないとして、研究から除外した。グルコースレベルを毎週モニターし、STZ誘導の5週間後に、尿アルブミン及びクレアチニンレベルを測定して腎損傷の生化学的評価を行い、それらが所望の範囲内にあることを確認した。この段階が成功裏に完了した後、動物を処置群に割り当てた。

【０７９０】

【表５３】

表53:

群	動物数	薬剤	用量レベル; 経路
1	3	陰性対照 (非誘導)	ビヒクル; IV
2	3	陰性対照 (誘導)	ビヒクル; IV
33	8	Ia-001a	15mg/kg; IV
4	8	Ia-001a-TZ	15mg/kg; IV
5	8	Ic-001a-Tz/1-004a	15mg/kg; IV
6	8	Ic-007a	15mg/kg; IV
7	8	Ib-010a	15mg/kg; IV
8	8	IIIc-061a	15mg/kg; IV
9	8	IVc-059a	15mg/kg; IV
10	8	Captopril	50mg/kg; PO

【０７９１】

処置を4週間(28日間)続け、血糖及び尿アルブミン/クレアチニンを毎週測定した。毎週(5～9週目)の血糖値、尿アルブミンクレアチニン比、並びに終末期(9週目)の血液化学及びサイトカイン、腎臓組織学並びに眼-網膜漏出を見て、研究スケジュールを以下に詳述する。

【０７９２】

【表５４】

表54:

時間 (週)	第1週	第2週	第3週	第4週	第5週	第6週	第7週	第8週	第9週	第9週の終時 犠牲
STZ	5日間 毎日	---	----	---	---	---	---	---	---	---
試験項目		血中グルコース	血中グルコース		血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA	血中グルコース 尿 ALB/CREA
化合物	---	---	---	---	---	IV 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日	IV 投薬, 毎日	---
器官										血液(血漿) 腎臓 眼

【０７９３】

結果

臨床徴候：多くの処置群で初期の体重減少が観察され、このことは予想することができ、ほとんどの場合、体重は投薬期間の終わりに向かって徐々に回復した。体重が初期体重の90%を下回る動物もいたが、投薬休止を余儀なくされる動物はいなかった。

【０７９４】

血糖：STZによる誘導は、非誘導ビヒクル対照と比較して、血糖の有意な増大をもたらした(表５５)。IVc-059aIVによる処置は、２８日目の誘導ビヒクル対照と比較して、血糖値の有意な低減**をもたらした28。IIIc-061aIVによる処置もまた、血糖値の低減をもたらしたが、これは統計学的な有意性には至らなかった。

【０７９５】
【表５５】

表55:STZ-誘導糖尿病モデルにおける雌性 ICR-CD1マウスの0日目及び28日目の平均血中グルコース濃度。示された値は平均±SD である;非誘導及び誘導ビヒクル群については n=3;他の全ての処置群については n=8

処置群	処置	n	0日目での平均濃度 (mmol/L) (SD)	28日目での平均濃度 (mmol/L) (SD)	ビヒクル対照と比較したときの p-値
1	陰性対照 (非誘導)	3	6.7 (0.2)	8.9 (1.8)	n/a
2	陰性対照 (誘導)	3	24.9 (1.8)	33.0 (-)	n/a
3	Ia-001a	8	25.7 (6.3)	31.6 (3.8)	0.7082
4	Ia-001a-TZ	8	24.9 (7.4)	30.8 (6.2)	0.5618
5	Ic-001a-Tz/1-004a	8	25.8 (5.7)	29.6 (7.8)	0.3745
6	Ic-007a	8	25.5 (5.7)	31.1 (4.6)	0.6241
7	Ib-010a	8	25.1 (6.1)	31.1 (3.4)	0.6110
8	IIIc-061a	8	24.8 (6.2)	26.3 (7.8)	0.0775
9	IVc-059a	8	24.3 (6.4)	23.7 (6.6)	0.0159
10	Captopril	8	23.7 (6.9)	32.2 (2.3)	0.8256

【０７９６】
腎臓重量：腎臓湿重量又は動物体重の百分率としての腎臓重量のいずれにおいても統計的な差はなかった。
尿アルブミン：クレアチニン(ALB：CRE)：尿を毎週収集し、各処置群毎にプールした。Ib-010a、IIIc-061a及びIVc-059aによる処置は、　　殺前の最後の処置28日目(スケジュールの9週目)にALB：CREAの減少をもたらした(表56)。
【０７９７】
血中尿素窒素(BUN)：Ic-007、Ib-010a、IIIc-061a及びIVc-059aで処置すると、血中尿素窒素レベルは、誘導ビヒクル対照よりも顕著に低くなった。
ELISAs：処置期間の終わりに、血液を収集し、血清に加工処理した。CRP、TGF-β、IL-6及びTNF-αの血清レベルを、市販のELISAキットを用いて定量化し、結果を表56に示す。
【０７９８】
血清CRP：28日間の処置後のSTZ誘発糖尿病モデルにおける雌ICR-CD1マウスの血清CRPレベル　血清CRPレベルは、STZ誘発動物において有意に増大した。Ia-001a、Ia-001aTz及び対照カプトプリルで処置すると、血清CRPレベルは、ビヒクル誘導対照と比較して、顕著に低下した（それぞれ**p=0.0074、*p=0.0304及び**p=0.0026、一元配置分散分析、表56)。
【０７９９】
血清TGF-β：血清TGF-βレベルは、STZ誘発対照において有意に上昇した。Ic-007a及びIIIc-061aを除く全ての化合物で処置すると、TGF-βレベルは、ビヒクル誘導対照よりも顕著に低くなった(p≦0.05；一元配置分散分析、表56)。
【０８００】
血清IL-6レベルは、STZ誘発対照において有意に上昇した。IVc-059a及び対照化合物カプトプリルを除く全ての化合物で処置すると、IL-6レベルは、ビヒクル誘導対照よりも顕著に低くなった(p≦0.05；一元配置分散分析、表56)。
【０８０１】
血清TNF-αレベルは、STZ誘発対照において有意に上昇した。Ia-001a、Ia-001aTz、Ic-001aTz/1-004a及びIIIc-061aで処置すると、TNF-αレベルは、ビヒクル誘導対照よりも顕著に低くなった(p≦0.05；一元配置分散分析、表56)。

【０８０２】
腎臓組織学：投薬期間の終わりにコラーゲンの定量化を行い、動物を　　殺し、腎臓を切除した。組織をホルマリン固定し、パラフィンワックス包埋し、次いで、製造者の指示に従ってマッソン・トリクロームで染色した。コラーゲンは、Chenら, 2017によって公開された方法を用いて定量化した。コラーゲン被覆率は、非誘導ビヒクル対照と比較して、STZ-誘導ビヒクル対照において顕著に増大した。IIIc-061a及びIVc-059aで処置すると、コラーゲンレベルは、誘導ビヒクル対照と比較して顕著に減少した(それぞれp=0.0210及びp=0.0134；一元配置分散分析、表56)。
【０８０３】
疾病スコア：腎疾患スコアを、H&E染色並びにメサンギウム及び糸球体硬化症、細動脈ヒアリン症及びGBM肥厚の評価を使用して定量化した。明らかに、疾病スコアは、非誘導ビヒクル対照と比較して、STZ-誘導ビヒクル対照において顕著に増大した。Ic-001aTz/1-004aを除く全ての化合物で処置すると、疾病スコアは、誘導ビヒクル対照と比較して顕著に減少した(p≦0.005；一元配置分散分析、表56)。
【０８０４】
眼網膜組織学：投薬期間の終わりに、4匹の動物/群を終末期サンプリングする直前に、網膜フラットマウント評価のためにFITC-デキストランを注射し、　　殺し、眼を切除した。網膜フラットマウントを調製し、蛍光顕微鏡(EVOS、Thermo Fisher)を使用して画像化した。脈管系によって覆われた面積は、非誘導ビヒクル対照と比較して、STZ-誘導ビヒクル対照において顕著に増大した。Ic-007a、IIIc-061a及びIVc-059aで処置すると、脈管系被覆率は、誘導ビヒクル対照と比較して顕著に減少した(それぞれp=0.0432、p=0.0337及びp=0.0131；一元配置分散分析、表56)。
【０８０５】
【表５６】

表56:処置28日目(第9週のスケジュール)での尿アルブミンクレアチニン比(ALB:CRE)、血中 BUN、血中 CRP、血中 TGFβ、血中 IL-6、血中 TNFα、トリクローム染色(腎線維症)、疾患スコア及び眼面積

群	処置 28 日	n	ALB: CRE	BUN	CRP	TGF-β	IL-6	TNF-α	トリクローム染色	疾患スコア	眼面積
1	陰性対照 (非誘導)	3	1.45	15.8 ± 0.4	3558 ± 106	11.64 ± 0.81	70.56 ± 1.25	261.7 ± 21	0.48 ± 0.4	1 ± 0	6.7 ± 1.2
2	陰性対照 (誘導)	3	37.04	28.6 ± 0.9	6759 ± 993	19.64 ± 1.97	151.4 ± 15.59	389 ± 24	2.63 ± 0.5	11 ± 2	11.2 ± 1
3	Ia-001a	8	35.68	25.1 ± 3.1	4759 ± 1181	15.54 ± 2.8	114.16 ± 29.96	342.3 ± 15.6	1.87 ± 0.65	7 ± 1	9.9 ± 1.9
4	Ia-001a-TZ	8	29.86	25.3 ± 3.1	5191 ± 993	14.76 ± 2.95	112.35 ± 20.01	327 ± 40.7	2.6 ± 0.98	8 ± 3	11.8 ± 1
5	Ic-001a-Tz/1-004a	8	35.10	24.1 ± 4.1	6077 ± 863	15.48 ± 1.73	104.66 ± 22.89	322.8 ± 40.1	2.48 ± 0.46	9 ± 1	10.7 ± 2.1
6	Ic-007a	8	38.10	21.7 ± 3.0	5707 ± 892	16.66 ± 2.11	109.27 ± 19.03	326.8 ± 63	2.23 ± 0.61	7 ± 1	9.1 ± 1.1
7	Ib-010a	8	24.28	20.5 ± 3.4	5915 ± 1352	13.17 ± 3.11	102.72 ± 25.4	395.6 ± 46.7	1.97 ± 0.8	6 ± 1	11.8 ± 1
8	IIIc-061a	8	24.12	22.5 ± 4.1	5963 ± 849	17.35 ± 2.09	117.59 ± 29.21	324.6 ± 43.6	1.54 ± 0.55	8 ± 1	9.1 ± 1.1
9	IVc-059a	8	18.85	22.5 ± 2.8	5691 ± 1395	13.47 ± 3.33	120.88 ± 23.05	350.2 ± 41.4	1.48 ± 0.73	7 ± 1	8.7 ± 1.2
10	カプトプリル	8	24.40	28.5 ± 7.6	4534 ± 821	14.55 ± 2.86	125.56 ± 15.75	415 ± 51.7	1.98 ± 0.47	6 ± 1	11.8 ± 1.4

【０８０６】
実施例5.20．多発性嚢胞腎疾患(PKD又はPCKD)の処置及び/又は予防
本発明による化合物の治療効力を、Lee ECら(Nat Commun 10, 4148 (2019)に記載されるようにPcyマウスモデルを使用してインビボで調査する。
【０８０７】
前臨床モデル：遺伝的に関連するげっ歯類PKDモデルであるpcyマウスは、新規薬剤の効力評価における使用のためのヒト疾病と密接な相関を有する。このモデルは、ヒト疾病を引き起こす遺伝子に関連付けられたPKDを発症し、ヒトPKDの発症を忠実に反映した翻訳可能なげっ歯類モデルとなっている。これは、疾病の進行及び処置に対する応答につい

て徹底的に特徴付けられており、創薬研究について高いレベルの信頼性を与えている。
【０８０８】
動物モデル：ヒトネフロン癆3型を引き起こす同じ遺伝子に関連付けられている遺伝子変異を有するpcyマウス、CD-I-pcy^{lusm}系統(CrownBio)。疾病の症状及び進行は、集合管において発症する嚢胞を伴ったゆっくりと進行する嚢胞性腎疾患であり、ネフロンの他のセグメントは、疾患が進行するにつれて嚢胞性になる。雄及び雌のマウスも同様に当該疾病に罹患する。マウスは5週齢であり、通常食、ビヒクルを含む通常食(陰性対照)、それぞれ陽性対照及び試験化合物を全て通常食に混合したもののいずれかを摂取する。対照：化合物のために使用されるビヒクルを1つの動物群において陰性対照として使用し、トルバプタン、バソプレッシン受容体-2(V2)アンタゴニストを、1つの動物群において陽性対照として使用する。
【０８０９】
読出し及びエンドポイント：腎臓における嚢胞体積及び線維症(組織学的検証、腎臓重量、血清BUN、血中の被験物質の濃度、体重及び食物摂取量を含む)を毎週記録する。
【０８１０】
実施例5.21．放射線誘発性線維症(RIF)の処置及び/又は予防
本発明による化合物の治療効力を、Ryu SHら(Oncotarget. 2016, 7(13), 15554-15565, doi:10.18632/oncotarget.6952)に記載されるようにRIFマウスモデルを使用してインビボで調査する。
【０８１１】
放射線誘発性線維症(RIF)は、放射線治療の最も一般的な後期合併症の1つである。RIFマウスモデルにおいて、脚拘縮アッセイを使用して、化合物のインビボ効力を試験する。
【０８１２】
放射線誘発性線維症(RIF)は、皮膚及び軟組織における細胞外マトリックスの過剰な蓄積によって特徴付けられ、線維芽細胞の増殖は、放射線治療の最も一般的な後期合併症の1つである。また、RIFは、死んだ線維組織に対する不可逆過程であり、再活性化された筋線維芽細胞による瘢痕組織のリモデリングに関連する動的プロセスである。
【０８１３】
RIFマウスモデル：雄BALB/cマウスをRIFマウスモデルに使用する。麻酔下で、各マウスの右後肢に、直線加速器を使用して44Gy(22Gy×2回、2週間)の放射線量を照射する。特別に設計されたシールドを使用して身体の残りの部分を保護し、厚さ1cmのボーラスを皮膚の上に塗布して、後肢の表面に十分な放射線量を確保する。照射後、マウスを無作為に2つの群に分割する。各群を、生理食塩水(対照群)又は化合物(処置群)で1日1回処置する。照射も薬物も受けなかったマウスを陰性対照群として使用する。
【０８１４】
照射された脚の皮膚及び軟組織における化合物の抗線維化効果を実証するために、表皮の表面から真皮の基部までの上皮厚を、H&E染色を使用して測定する。
【０８１５】
実施例5.22．シュタルガルト病(SD)の処置及び/又は予防
本発明による化合物の治療効力を、Fang Y.ら(Faseb Journal, 2020, DOI: 10.1096/fj.201901784RR)に記載されるようにSDマウスモデルを使用してインビボで調査する。
【０８１６】
動物：マウス色素性Abca4-/-マウス(129S4/SvJae-Abca4tm1Ght)をThe Jackson Laboratory(Bar Harbor, Maine, USA)から購入する。色素性野生型(WT)マウス(129S2/SvPas)をJanvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France)から入手する。各群において、雄対雌の比は1:1である。マウスを12:12時間の明(ケージ内で約50ルクス)-暗サイクルで飼育し、餌及び水は自由に摂取できるようになっている。
【０８１７】
青色光照明(BLI)：年齢が一致した色素性Abca4-/-及びWTマウス(9ヶ月齢)を、0.05mg/kgのフェンタニル、5mg/kgのミダゾラム、及び0.5mg/kgのメデトミジンを含む3成

分麻酔で腹腔内麻酔する。瞳孔を0.5%トロピカミド及び2.5%フェニレフリン塩酸塩の混合物で散大させる。METHOCEL (Omni Vision, Puchheim, Germany)を適用して、角膜を湿らせる。光照射の間、ガラススリップを露光した眼の角膜上に置く。各マウスの照射された眼を、50mW/cm2の強度の青色光(波長：430nm)に15分間曝露する。対照としての照射されていない眼は、迷光から遮蔽するために注意深く覆われている。

【０８１８】

光干渉断層撮影(OCT)、光学顕微鏡法及び透過電子顕微鏡法(TEM)、HPLCによるビスレチノイドの定量化、並びにBLIの前及び7日後の全視野網膜電図検査ERGを含む一連の試験を行う。

【０８１９】

実施例5.23．増殖性硝子体網膜症(PVR)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、Hou Hら(Ophthalmic Res 2018;60:195-204. doi: 10.1159/000488492)又はMarkus B.ら(FEBS Open Bio. 2017;7(8):1166-1177. Published 2017 Jun 29. doi:10.1002/2211-5463.12252)に記載されるようにPVRマウスモデルを使用してインビボで調査する。

【０８２０】

動物サンプル：タンパク質分解酵素であるディスパーゼの硝子体内注射を適用したPVRのマウスモデルを使用する。このモデルは、グリア活性化及びエピ膜と網膜下膜との両方の形成を誘導することが知られている。

【０８２１】

雌の4～6ヶ月齢の野生型を、ペントバルビタール(90mg・kg-1、i.p.)で麻酔し、局所麻酔のために1%プロカイン塩酸塩(Novocaine, EGIS, Budapest, Hungary)1滴及び虹彩拡張のためにトロピカミド(Mydrum, Chauvin Aubeans, Montpellier, France)1滴も投与する。4マイクロリットルのディスパーゼ(Sigma-Aldrich；0.4U・μL-1、滅菌生理食塩水に溶解)を、自動ピペットを使用して立体顕微鏡制御下で右眼に硝子体内注射する(対照)。対照動物には、4μLの滅菌生理食塩水を投与する。Stratus光干渉断層撮影画像(OCT; Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA)を注射後に撮影して、PVR誘導を確認し、疾病進行をモニターする。対照及びディスパーゼ処置マウスは、注射後14日目にPVR形成の徴候（OCT検査での網膜上膜及び/又は網膜剥離の存在）が明らかになった場合　殺する。

【０８２２】

サンプル調製及び精製：マウスの硝子体を、外科用メスの刃を使用して強膜と一緒に角膜をギロチン除去し、続いて水晶体を除去した後に単離する。7m尿素、30mMトリス、2mチオ尿素及び4%CHAPSを含有する溶解緩衝剤(pH8.5)で硝子体を可溶化した後、溶解物を氷冷水浴中で5分間超音波処理し、4℃で10分間16 900gで遠心分離する。上清をLo Bind Eppendorfチューブに移し、製造者のプロトコールに従ってReady‐Prep 2‐D CleanUpキット(Bio‐Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)によって精製する。簡潔に述べると、沈殿及び遠心分離の後、ペレットを乾燥させ、7m尿素、2mチオ尿素、4%w/v CHAPS、1%ジチオスレイトール(DTT)、2%v/v BioLyte(Bio‐Rad)及び0.001%ブロモフェノールブルーを含有する240μLの再水和緩衝剤に再懸濁し、直ちに等電点電気泳動に使用する。

【０８２３】

2Dゲル電気泳動：各群に由来する3つの硝子体サンプルを2 DEに供した。最初に、IPG(24cm、pH4～7；Bio‐Rad)を有する固定化pH勾配(IPG)ストリップを、20℃で一晩の受動的再水和を利用して、抽出された硝子体タンパク質で再水和した。これに続いて、300Vを3時間印加し、これを5時間で3500Vまで徐々に増大させ、次いで3500Vで18時間保持することによって等電点電気泳動を行う。等電点電気泳動の後、IPGストリップを、平衡化まで直ちに-70℃に置く。IPGストリップを、0.6%DTTを含有する平衡化緩衝剤(500mmトリス/HCl、pH8.5、6m尿素、2%SDS、20%グリセロール)中で15分間、及び1.2%ヨードアセトアミドを含有する平衡化緩衝剤中で15分間平衡化した。二次元では、ス

トリップを12%ポリアクリルアミドゲルの上に置き、アガロースで覆う。Protean Plus Dodeca Cell(Bio‐Rad)を使用して、電気泳動を100mA/ゲルで24時間、ブロモフェノールブルー色素がゲルの底部に達するまで行う。12個のゲル全てを同じ条件下で一緒に泳動する。インハウス調製したルテニウムIIトリス(バソフェナントロリンジスルホネート)蛍光色素25を用いてタンパク質を染色し、Pharos FX Plus Molecular Imager (Bio‐Rad)を用いてゲル画像を記録する。全てのケースで3つの生物学的複製物を分析し、Ctrl群及びディスパーゼ処置群のサンプルを同じ日に一緒に加工処理する。

【０８２４】

実施例5.24．滲出型及び萎縮型加齢黄斑変性症(ARMD又はAMD)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、Matsuda Yら(Mol Ther Nucleic Acids. 2019;17:819-828. doi:10.1016/j.omtn.2019.07.018)に記載されるようにAMDマウスモデルを使用してインビボで調査する。

【０８２５】

動物：雌C57BL/6JマウスをCharles River Laboratories Japanから入手する。雄のBNラットを得る。雄New Zealand White(NZW)ウサギをKitayama Labes, Japanから入手する。マウス、ラット、及びウサギを特別な病原体フリー条件下で維持する。

【０８２６】

RPE細胞のEMTアッセイ：37℃で培養したRPE細胞を、96ウェルマイクロタイター培養プレートに1×105細胞/ウェルで播種する。24時間のインキュベーション後、細胞を、本発明による化合物の存在下及び非存在下で、FGF2(2ng/mL)及びTGF-β2(3ng/mL)で3日間処理する。EMTバイオマーカーα-SMA及びI型コラーゲンのmRNA発現レベルを、定量的リアルタイムPCRで評価する。

【０８２７】

マトリゲルプラグアッセイ：0.5mLのマトリゲルマトリックスGFR(増殖因子低減)-PRF(フェノールレッドフリー)(BD Biosciences)溶液を1μgのFGF2と混合し、雌C57BL/6Jマウス(8週齢、n=3)の右側腹部に皮下移植する。本発明による化合物を腹腔内投与し、移植後7日目にマトリゲルプラグを取り出して写真撮影する。血管新生の類別は、製造者の指示に従ってシアンメトヘモグロビン法を用いて、マトリゲルプラグ中のヘモグロビン濃度によって決定される。サンプルの540nmでの光学密度(OD540)値をマイクロプレートリーダーで測定し、ヘモグロビン濃度をヘモグロビン標準(Sigma-Aldrich)に従って計算する。

【０８２８】

マウスレーザー誘導性CNVモデル：ミドリン-P点眼用溶液を雄C57BL/6Jマウスの眼に点眼して、瞳孔を散大させる。次いで、スリットランプ(SL-130)及びマルチカラーレーザー光凝固装置(MC-300)を使用して、大きな網膜毛細血管を避けて、眼の６箇所にレーザー照射(波長532nm；スポットサイズ50μm；照射時間0.1秒；レーザー出力120mW)を行う。レーザー照射によるCNV誘発の直後に、本発明による試験化合物及び対照を硝子体内注射によって投与する。レーザー照射の7日後、4%FITC-デキストラン溶液を0.5ml/動物の容量で尾静脈に投与する。FITC-デキストランの投与から1～5分後、動物を頸部脱臼により安楽死させる。眼球を摘出し、4%パラホルムアルデヒド-リン酸緩衝剤で12～24時間固定する。実体顕微鏡下で脈絡膜フラットマウントを作製する。共焦点顕微鏡を用いてCNV部位の写真を撮影する。レーザー誘発CNV動物実験を通して、照射の成功は、各照射毎に動物モデルの眼に気泡が形成されることで確認される。

【０８２９】

ラットレーザー誘導性CNV及び網膜下線維症モデル：同じ技術を、雄BNラットを使用するラットモデルにおいて採用する。CNVモデルについては、レーザー設定は、スポットサイズ80μm及び網膜-脈絡膜における8箇所で120mWにて照射時間0.05秒である。網膜下線維症CNVモデルについては、使用されるレーザー出力は240mWである。レーザー照射直後に、対照及び本発明による試験化合物を用いて硝子体内注射を行う。網膜下線維症CNV研究については、(1)生理食塩水ビヒクル及び(2)本発明の化合物(15μg/眼で、単回投

与、又は2週間間隔で2回若しくは3回投与)を使用する。レーザー照射後、CNV研究のために、レーザー照射の14日後に上記のようなFITC-デキストランプロトコルを使用し、フラットマウント脈絡膜の共焦点顕微鏡法のために摘出眼を調製する。網膜下線維症研究については。6週間後、動物を　　殺し、組織病理学的研究のために摘出眼を調製して、光学顕微鏡を使用して網膜下線維症を定量化する。眼をパラフィンブロックに包埋し、切片化し、常法に従ってマッソン・トリクロームで染色する。線維症は、以下のスケールに従って、2人又は3人の独立した研究者によって盲検様式で類別される：グレード0、なし；グレード1、最小；グレード2、軽度；グレード3、中等度；グレード4、重度。

【０８３０】

実施例5.25．翼状片(PTE)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、脈絡膜血管新生マウスモデル(CNV)、直接インビボ血管新生アッセイ(DIVAA)及び翼状片マウスモデルを使用して、脈絡膜血管新生及び翼状片成長について評価する。

【０８３１】

翼状片は、眼表面の良性の線維血管性増殖物であり、一般に眼の不快感及び充血を伴い、疾病が進行するにつれて、視力減退(局所乱視)及び重度の場合には眼球運動制限につながることが多い。線維形成性増殖因子、酸化ストレス及びDNAメチル化によって誘導される多種多様な炎症促進性サイトカインが翼状片の病理発生に関与している。これらの要因の一部は、紫外(UV)光への曝露に影響されるので、複数の情報源からの現在の証拠は、日光への曝露量が多い個体は翼状片のリスクが高いことを示唆している。広範な研究がなされているものの、翼状片の病理発生の明確な理解は得られていないが、UV光曝露に伴う角膜縁幹細胞の腫瘍性変化及び発癌性ウイルス(ヒトパピローマウイルス)の関与が考えられることが、病理発生に寄与する最も重要な要因の1つである。

【０８３２】

現在までに、ウサギ及びマウスにおいてヒト上皮翼状片細胞の注射、外因性細胞外マトリックス又はUV散乱放射線を用いた翼状片の3つの動物モデルが説明されている。UV散乱光を使用するウサギモデルの結果は、組織成長のサイズ及び形状を計算で予測することに焦点を当てており、組織学的な解析は行っていない。マウスモデルはヒト翼状片の組織学的特徴を示したが、眼の構造及びサイズがヒトのものにより類似していることを考慮すると、眼科的手順のためのウサギの操作はより容易である。

【０８３３】

方法：マウスに、試験化合物を含むか又は含まない水を与える。CNVについては、新生血管病変体積を、レーザー誘導の7日後に共焦点顕微鏡を使用して脈絡膜-網膜色素上皮(RPE)フラットマウントにおいて決定する。DIVAAについては、10,000個のヒト翼状片上皮細胞を含有するシリコーンカプセルを、マウスの側腹部に皮下移植する。11日後、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)標識デキストランをマウス尾静脈に注射した後に分光蛍光分析を使用して血管新生(NV)を定量化する。翼状片上皮細胞モデルは、10,000個のヒト翼状片上皮細胞を無胸腺マウスの鼻結膜下腔に注射することによって開発する。

【０８３４】

主な評価項目：スチューデントt検定を使用して、CNV及びDIVAAモデルについてのデータを評価し、組織学的調製物を使用して翼状片病変を評価する。

【０８３５】

実施例5.26．中心性漿液性網脈絡膜症(CSC)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、Wei-Da Chioら，Life Sci J 2019;16(12):115-126]. ISSN: 1097-8135)に記載されるようにCSC動物モデルを使用してインビボで調査する。

【０８３６】

中心性漿液性網膜症 (CSC)の病理発生はまだ完全には理解されていない。コルチコステロイドの関与は明白であるが、それらの正確な役割は明らかにされていない；CSCの根底にある機構の他の部分は、イメージング技術、例えば、フルオレセイン及びインドシアニ

ングリーン血管造影法によって主に解明されている。CSCのほとんどの症例は自己制限的であるが、重度のかつ再発性の経過が存在し、これらの患者には、限られた数の処置選択肢しか利用可能でない：暗点及び脈絡膜血管新生のリスクを伴うレーザー光凝固、並びに光力学療法。

【０８３７】

方法：処置は、CSCRを伴う雄SDラットを用いて行われる。症例の右眼を無作為に2つの群(対照群及び試験化合物群)に分け、これらの群に、間接眼底検査法及びOCT走査を含む一連の検査を毎週行う。全てのSDラットを最初にCSCRモデルに導入する。CSCRがOCTイメージング下で消失する場合、その化合物は有効であると考えられる。

【０８３８】

実施例5.27．肺だけでなく膵臓、肝臓、腎臓、及び腸に影響を及ぼす嚢胞性線維症(CF)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、McCarron Aら(Respir Res. 2018;19(1):54. Published 2018 Apr 2. doi:10.1186/s12931-018-0750-y)に記載されるようにCFマウスモデルを使用してインビボで調査する。

【０８３９】

ヒトにおいて、嚢胞性線維症(CF)肺疾患は、慢性感染症、炎症、気道リモデリング、及び粘液閉塞を特徴とする。CFマウスモデルでは肺の症状が見られないため、気道疾患の病理発生の研究、並びに潜在的な治療薬の開発及び試験の妨げとなっている。しかしながら、ラット、フェレット及びブタモデルを含む最近作製されたCF動物モデルでは、様々な重症度の、ある範囲の十分に特徴付けられた肺疾患表現型が示されている。現在利用可能なCF動物モデルの異なる気道表現型が利用可能であり、気道関連CF研究における各モデルの応用の可能性を提示する。特に、マウスCFTR配列に導入された一般的なヒトCF誘発性突然変異(例えば、Phe508del又はGly551Asp)を含む変異対立遺伝子が開発されている。

【０８４０】

実施例5.28．特発性肺線維症(IPF)の処置及び/又は予防

本発明による化合物の治療効力を、Chen SSら(J Thorac Dis. 2017;9(1):96-105. doi:10.21037/jtd.2017.01.22)に記載されるようにIPF動物モデルを使用してインビボで調査する。

【０８４１】

IPFは、重度の肺線維症を伴う慢性進行性間質性肺疾患である。IPFの病因は不明のままである。患者は通常、IPFと診断された後、2～3年しか生存しない。IPFの発病率及び発症は、上皮細胞損傷、線維細胞増殖、炎症反応、及び細胞外マトリックス沈着に関連付けられている。IPFの病理学的症状は通常型間質性肺炎(UIP)である。現在、IPF患者の死亡率は非常に高い。しかしながら、IPFに対する有効な治療はまだない。IPF関連死の主な原因は、IPFの急性増悪(AE-IPF)であり、これは、IPF関連死の50%超を占める。AE-IPFの患者のほとんどは、その重篤な状態のために、気管支鏡検査又は肺生検に耐えることができない。AE-IPFの生検の欠如は、AE-IPFの徹底的な調査を実質的に制限する。AE-IPFを模倣し得る実験動物モデルは、AE-IPFを研究するための有用なツールであろう。

【０８４２】

ブレオマイシン(BLM)誘発性IPFの動物モデルを使用する。IPFのラットモデルは、BLMでの気管内灌流によって開発する。理論的には、BLMを用いた第2の気管内灌流は、第1の灌流から既に肺線維症を発症しているラットにおいてさらなる肺損傷を誘導するはずである。さらなる肺損傷は、AE-IPFの病理学的特徴に似ている可能性がある。

【０８４３】

Sprague Dawley(SD)ラットを異なる群に無作為化する：化合物単独で処置した対照群、化合物+BLM+BLMを伴うAE-IPFモデル群、AE-IPFモデル群(cpd+BLM+BLM群)、化合物で処置したIPFモデル群(Cpd+BLM群)、IPFモデル群(BLM群)、及びBLMを伴わない正常対照群。

【０８４４】

BLM+BLM群のラットは、BLMによる1回目の灌流後28日目にBLMによる2回目の灌流を受ける。他の2群のラットには、2回目の灌流として生理食塩水を与える。各群6匹のラットを、最初の灌流後、それぞれ31日目、35日目、及び42日目に　　殺する。

【０８４５】

BLM+BLM群におけるラットの病態生理学的特徴は、AE-IPF患者の病態生理学的特徴に類似しており、Chen SS, J Thorac Dis 2017;9(1):96-105に記載されているように、BLMによる第2の灌流は、肺線維症の急性増悪を誘導するようであり、ラットにおけるAE-IPFをモデル化するために使用し得る。

【０８４６】

単回及びそれぞれ2回の気管内ブレオマイシン灌流を使用して誘導されたAE-IPFを使用するこのラットモデルにおける化合物製剤の効果は、組織病理学所見(急性肺損傷について分析及びスコアリングされたH&E及びマッソン染色切片)及び生存を改善するはずである。

【０８４７】

実施例5.29．21日間のC57BL/6マウスにおけるブレオマイシン誘発性肺線維症

8～10週齢の合計40匹の雄Balb/cマウスを研究に使用した。これらはCharles River, UKから購入し、7日間の順化期間を経たものである。動物をIVCケージに収容し(最大5匹/ケージ)、個々のマウスを尾のマークによって識別した。全ての動物は、研究の間、標準的な認可市販の食餌及び消毒水を自由に摂取可能にした。保持室を標準条件下に維持した。18～24℃、湿度55～70%及び12時間の明/暗サイクル。

【０８４８】

本研究で使用した全てのプロトコールは、Animal Welfare and Ethical Review Committeeによって承認されており、全ての手順は、Animal (Scientific Procedures) Act 1986のガイドラインの下で行った。

【０８４９】

キシラジン及びケタミンのIP注射を用いてマウスを麻酔した。適切なレベルの麻酔が達成されたら、動物に気管内経路を介して1.0U/kgのブレオマイシン硫酸塩を点眼した。液体の総体積は50μLであった。以下の表57に示すように、マウスを無作為に処置群に割り当てた。

【０８５０】

【表５７】

表57:

群番号	IT 誘導	処置	動物数	終了	投薬レジメン
1	生理食塩水	1日目からビヒクル	6	21日目	QD (IV)
2	ブレオマイシン – 0日目に 1U/kg	1日目からビヒクル	12	21日目	QD (IV)
3	ブレオマイシン – 0日目に 1U/kg	1日目からピルフェニドン 100 mg/kg	12	21日目	QD (PO)
4	ブレオマイシン – 0日目に 1U/kg	1日目から IVc-059a 15 mg/kg	12	21日目	QD (IV)

【０８５１】

IV及び陽性対照(ピルフェニドン)の投薬は、ブレオマイシン点眼の24時間後に開始した。

投薬直前に薬物溶液を製剤化した。15mg/kg(30gのマウス12匹に対して十分)の用量のために、4.5mgの化合物を秤量した。75μl(5%)DMSOを添加し、薬物が溶液になるまで混合した。150μl(10%)のソルトールを添加し、穏やかにボルテックスし、150μl(10

%)のPEG400を添加し、穏やかにボルテックスした。1000μlのPBS(pH7)を添加し、マトリックスを測定してpH7.0が確実に維持されるようにした。残りのPBS(合計1500μlまで)を添加した。化合物は溶液のままであった。

【０８５２】

終末後のサンプリング(最終投薬日): サンプリング日、最終投与の2時間後に、マウスを麻酔の過剰投与によって　　殺した。動物を以下のためにサンプル採取した。

血清：　　殺直後に、心臓穿刺によって血液を採取し、エッペンドルフチューブに入れた。チューブを室温で少なくとも20分間保存した後、6,000rpmで5分間遠心分離した。サンプルを-80℃で保存した。

【０８５３】

肉眼剖検：終末後、内臓を露出させて観察した。異常は認められなかった。

肺：肺を、切除する前にホルマリンで膨張させた。簡潔に述べると、マウスの気管を露出させ、ブレードを用いて小さな切開を行った。縫合材料を、切開部の下の気管の後部の周りに静かに配置し、緩く縛った。ホルマリンを肺に静かに挿入し、縫合をしっかり閉じてインフレーション（inflation）を確実にした。肺をホルマリンに入れ、コラーゲン沈着及び疾病進行(アシュクロフトスコア)の分析のためにトリクローム及びH&E染色で染色した。肺組織の切片を急速凍結した。

【０８５４】

アシュクロフトスコアリング：

０正常な肺

１肺胞又は細気管支血管の線維症肥厚が最小

２最小から中等度の間

３肺構造に明らかな損傷はなく、壁に中等度の肥厚がある

４肺構造に損傷を伴った中等度線維症から高度線維症の間

５肺構造に明確な損傷と線維帯又は小線維塊の形成とを伴った高度線維症

６高度線維症から肺構造の重度の歪みの間

７構造の重度の歪み及び大きな線維性領域がある；「蜂窩肺」

８フィールドの全繊維性閉塞

【０８５５】

結果

臨床徴候：体重の変化は認められず、研究中に投薬休止を余儀なくされた動物はいなかった。

アシュクロフト(Ashcroft)スコア：各動物からの肺をFFPEし、切片化し、インハウスプロトコルに従ってH&Eで染色した。スライドをGlisandoスライドスキャナーで画像化して、全スライド画像を得た。各肺は、アシュクロフト類別システムを使用してスコア化して、Hubnerら，2008に従って炎症/線維症の程度を測定した。スコア化は盲検様式で行った。100mg/kgのピルフェニドン及び15mg/kgのIVc-059aの両方が、マウス肺における線維症の発症を減少させた(それぞれp=0.0018及び0.0130、分散分析)。ピルフェニドンによる処置は、線維症の発症に対して、IVc-059aによる処置と同じ効果を及ぼした(p=0.4441、両側T検定)。代表的な画像を図11Aに示す。

【０８５６】

図11Aは、処置21日目の肺線維症の代表的な画像を示す。結合組織のトリクローム染色の画像例(×20)；(A1)非誘導(健常)；A2、ビヒクル処置で誘導されたブレオマイシン(bleomycine)；A3、ピルフェニドン100mg/kg処置で誘導されたブレオマイシン；A4、IVc-059a処置で誘導されたブレオマイシン。図11Bは、健常なブレオマイシン誘導非処置対ピルフェニドン対IVc-059aのアシュクロフト(Ashcroft)スコアを示す。

【０８５７】

各動物からの肺全体をホルマリン固定し、70%エタノール中で保存した。これらの切片を、パラフィンワックスに包埋する前に、エタノールの濃度を増加させながら脱水した。切片を5μMに切断し、Superfrostスライド上で2時間ベークした。市販の結合組織用キ

ット(Abcam ab150686)を使用して切片を染色した。トリクローム染色によって覆われた面積の割合を、Qupath及びImageJソフトウェアを使用して定量化した。

【０８５８】

実施例5.30．インビトロ結果及びADME-毒性学

化合物Ic-007a、IIc-007a、IIIc-061a及びIVc-059aについてADME-毒性学の包括的評価を実施した。

心臓イオンチャネルアッセイ(CiPA)コアQPatchパネルを、Ic-007a、IIc-007a、IIIc-061a及びIVc-059aについて評価した。以下の3つのアッセイをCiPAに使用した：Nav1.5 Human Sodium Ion Channel Cell Based QPatch CiPA Assay、hERG Human Potassium Ion Channel Cell Based QPatch CiPA Assay、Cav1.2 (L type) Human Calcium Ion Channel Cell Based QPatch CiPA Assay。

【０８５９】

肝細胞ミクロソーム及びヒト肝細胞代謝を評価した。結合アッセイ、酵素及び取り込みアッセイの包括的なセット並びに溶液特性、インビトロ吸収、代謝及び毒性を評価した。AMES*及び小核アッセイを用いて遺伝毒性を評価した。

*Amesは、遺伝子突然変異を生じさせることができる化合物の同定のための細菌アッセイであり、げっ歯類の発癌性試験で高い予測値を示す。インビトロにて

**染色体損傷を誘導する化合物(異常誘発物質及び異数性誘発物質)の同定のために使用されるインビトロ小核アッセイにて

【０８６０】

結果

高極性化合物は、肝臓ミクロソームにおいて低代謝を示し、半減期は60分超である。生存率を見ると、肝細胞に対する有意な毒性効果は観察されなかった。負に荷電した化合物のほとんどは、血漿タンパク質に高度に結合する。遺伝毒性効果は観察されなかった。化合物は、Ames変動試験*TA100-S9、TA100+S9、TA1535-S9、TA1535+S9、TA1537-S9、TA1537+S9、TA98-S9、TA98+S9に対して、５μＭ～0.1mMの濃度では有意な効果を示さない。TA100-S9、TA1535-S9、TA1537-S9、TA98-S9では細菌毒性は観察されなかった。

【０８６１】

８μＭ～1mMと評価された濃度範囲では、小核アッセイにおいて効果は観察されなかった。

CiPAパネルでは、3つの細胞ベースのアッセイ、Cav1.2(Lタイプ)ヒトカルシウムイオンチャネル細胞ベースの自動パッチクランプCiPAアッセイ、hERGヒトカリウムイオンチャネル細胞ベースの自動パッチクランプCiPAアッセイ及びNav1.5ヒトナトリウムイオンチャネル細胞ベースの自動パッチクランプCiPAアッセイを使用した：全て3つの濃度レベルで評価し、0.1μＭ～10μＭの間で有意な阻害は観察されなかった。

【０８６２】

安全性パネルアッセイにおいて、化合物は、以下の酵素系に対して阻害効果を有さないか、又は非常に低い阻害効果を有し、5-HTトランスポーターヒト(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)に対して良好な安全性プロファイルを示した；5-HT1A(h)(アゴニスト放射性リガンド)；5-HT1B(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；5-HT2A(h)(アゴニスト放射性リガンド)；5-HT2B(h)(アゴニスト放射性リガンド)；5-HT3(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；A2A(h)(アゴニスト放射性リガンド)；アセチルコリンエステラーゼ(h)；alpha1A(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；alpha2A(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；AR(h)(アゴニスト放射性リガンド)；beta1(h)(アゴニスト放射性リガンド)；beta2(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；BZD(中央)(アゴニスト放射性リガンド)；Ca2+チャネル(L、ジヒドロピリジン部位)(アンタゴニスト放射性リガンド)；CB1(h)(アゴニスト放射性リガンド)；CB2(h)(アゴニスト放射性リガンド)；CCK1(CCKA)(h)(アゴニスト放射性リガンド)；D1(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；D2S(h)(アゴニスト放射性リガンド)；delta(DOP)(h)(アゴニスト放射性リガンド)；ドパミントランスポーター(h)(アンタゴ

ニスト放射性リガンド)；ETA(h)(アゴニスト放射性リガンド)；GR(h)(アゴニスト放射性リガンド)；H1(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；H2(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；kappa(h)(KOP)(アゴニスト放射性リガンド)；KVチャネル(アンタゴニスト放射性リガンド)；Lckキナーゼ(h)；M1(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；M2(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；M3(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；MAO-A(アンタゴニスト放射性リガンド)；mu(MOP)(h)(アゴニスト放射性リガンド)；Nneuronal alpha 4beta 2(h)(アゴニスト放射性リガンド)；Na+チャネル(部位2)(アンタゴニスト放射性リガンド)；NMDA(アンタゴニスト放射性リガンド)；ノルエピネフリントランスポーター(h)(アンタゴニスト放射性リガンド)；PDE3A(h)；PDE4D2(h)；カリウムチャネルhERG(ヒト)-[3H]ドフェチリド；V1a(h)(アゴニスト放射性リガンド)。

【０８６３】

化合物の抗炎症効果は、部分的シクロオキシゲナーゼ酵素阻害と一致しており、例えば、Ic-007a、IIc-007a、IIIc-061a及びIVc-059aは、COX2(シクロオキシゲナーゼ-2)の部分的な阻害を示した。

【０８６４】

実施例5.31．BioMap Plusを用いたインビトロプロファイリング

インビボ結果に関連するクロストーク及びフィードバック機構を保存する条件における化合物の表現型プロファイリングのために、複合組織及び器官(脈管系、免疫系、皮膚、肺)の疾病生物学並びに一般的な組織生物学をモデルリングするヒト初代細胞ベースのアッセイを使用して、一連のインビトロアッセイを行った。

【０８６５】

BioMaps Plus表現型細胞アッセイ(Eurofins-DiscoverX, San Francisco, CA, USA)を使用して、以下の細胞系について、化合物Ic-007a、IIc-007a、IIIc-061a、IVc-059aの効力、選択性、安全性、作用機序、及び疾病適応を30μM、10μM、3.3μM、1.1μMの濃度で評価した：

【０８６６】

心血管疾患、慢性炎症、気管支喘息、アレルギー、自己免疫性疾患、アトピー性疾患について評価するための小静脈内皮細胞

心血管疾患、慢性炎症、自己免疫疾患、慢性炎症について評価するための小静脈内皮細胞を伴うPBMC；

自己免疫疾患、炎症について評価するためのPBMCを伴うB細胞；

肺炎症、COPDについて評価するための気管支上皮細胞

心血管炎症、再狭窄について評価するための冠動脈平滑筋細胞

線維症、慢性炎症、創傷治癒、組織リモデリング、マトリックスモジュレーションについて評価するための皮膚線維芽細胞

乾癬、皮膚炎、皮膚生物学について評価するためのケラチノサイト/皮膚線維芽細胞

線維症、慢性炎症、マトリックスリモデリングを評価するための肺線維芽細胞

心血管炎症、再狭窄、慢性炎症について評価するためのマクロファージを伴う小静脈内皮細胞

【０８６７】

BioMpas Plus参考文献：書籍：Phenotypic Drug Discovery, Chapter 2 - Development and Validation of Disease Assays for Phenotypic Screening Ellen L. Berg, Sheryl P. Denker and Alison O'Mahony.
1668040188778_91
ISBN 978-1-83916-072-1

【０８６８】

BioMAPプロファイリングシステムにおける果実及び野菜抽出物の生理活性-露出プロファイルの評価 Wetmore BA, Clewell RA, Cholewa B, Parks B, Pendse SN, Black MB, Mansouri K, Haider S, Berg EL, Judson RS, Houck KA, Martin M, Clewell HJ 3rd, Andersen ME, Thomas RS, McMullen PD. Toxicology in Vitro. 2019,54,41-57.

【０８６９】
結果
Ic-007aは、この研究で試験した濃度では細胞毒性はなかった。Ic-007aは、ヒト初代T細胞(30μM)及び線維芽細胞(30μM、10μM、3.3μM、1.1μM)に対して抗増殖性であった。Ic-007aは、20個のアノテートされたリードアウトで活性であり、重要なバイオマーカー活性における媒介された変化を、生物学的分類及び疾病分類ごとに列挙する。主に、Ic-007aは、炎症関連活性(VCAM-1、sTNFα、MIP-1α、I-TAC、MIGの減少；IL-8の増加；IP-10の調節)、免疫調節活性(CD40、M-CSFの減少)、及び組織リモデリング活性(コラーゲンI、コラーゲンIV、TIMP-1、tPA、コラーゲンIII、PAI-1、uPAR、bFGFの減少)に影響を及ぼした。
【０８７０】
IIc-007aは、この研究で試験した濃度では細胞毒性はなかった。IIc-007aは、試験した濃度でこれらのヒト初代細胞に対して抗増殖効果を示さなかった。
IIc-007aは、12個のアノテートされたリードアウトで活性であり、重要なバイオマーカー活性における媒介された変化を、生物学的分類及び疾病分類ごとに列挙した。主に、IIc-007aは、炎症関連活性(sTNFα、MIP-1αの減少；IL-8の増加；MCP-1の調節)、免疫調節活性(sIL-10、sIL-2の減少)、及び組織リモデリング活性(コラーゲンI、コラーゲンIV、コラーゲンIII、PAI-1の減少)に影響を及ぼした。
【０８７１】
IIIc-061aは、この研究で試験した濃度では細胞毒性はなかった。IIIc-061aは、試験した濃度でこれらのヒト初代細胞に対して抗増殖効果を示さなかった。IIIc-061aは、6個のアノテートされたリードアウトで活性であり、重要なバイオマーカー活性における媒介された変化を、生物学的分類及び疾病分類ごとに列挙した。IIIc-061aは、炎症関連活性(I-TAC、MIGの減少)、免疫調節活性(sIL-17Aの減少)、及び組織リモデリング活性(コラーゲンI、コラーゲンIII、PAI-1の減少)に影響を及ぼした。
【０８７２】
IVc-059aは、この研究で試験した濃度では細胞毒性はなかった。IVc-059aは、ヒト初代内皮細胞に対して抗増殖性であった(1.1μM)。IVc-059aは、3個のアノテートされたリードアウトで活性であり、重要なバイオマーカー活性における媒介された変化を、生物学的分類及び疾病分類ごとに列挙した。IVc-059aは、炎症関連活性(sTNFαの減少)及び免疫調節活性(sIL-10、sIL-2の減少)に影響を与えた。
【０８７３】
実施例5.32．ヒト網膜色素上皮細胞(RPE)ARPE-19及びヒト網膜内皮細胞(HREC)についてのインビトロ結果
化合物Ic-007a、IIc-007a、IVc-059a、及びベバシズマブ(BEVA))を、糖尿病性の病的状態によって誘導される内側及び外側血液網膜関門の破壊に対するそれらの効果について評価した。化合物の2つの異なる濃度、25μM及び50μMのIc-007a、IIc-007a、IVc-059aを評価した。RT-PCRによるそれらのmRNA発現レベルを使用して、蛍光デキストラン及び炎症性サイトカイン産生に対する透過性を評価することによって、試験した処置の抗透過性効果に関与する作用機序を調査した。
【０８７４】
外側血液網膜関門条件：ヒト網膜色素上皮細胞(RPE)培養物ARPE-19は、自発的に不死化されたヒトRPE細胞株であるが、American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)から入手した。ARPE-19細胞及びそれらを、正常血糖条件(D-グルコース(D-Glc)、5.5mmol/L)及び高血糖条件(D-グルコース、25mmol/L)において、5%(vol./vol.)下、37℃で18日間培養した。10%(vol./vol.)を補充した培地(DMEM/F12)中のCO2FBS(Hyclone; Thermo Fisher Scientific, UT, USA)及び1%(vol./vol.)ペニシリン/ストレプトマイシン(Hyclone; Thermo Fisher Scientific)。継代20代目のARPE-19細胞を使用し、培地を3～4日毎に交換した。透過性研究のために、ARPE-19細胞を、0.33cm^2HTS-Transwell(Costar; Corning, NY, USA)中に400,000細胞/ml(80,000RPE細胞/ウェ

ル)で播種した。リアルタイムPCRのために、ウェスタンブロット解析及び免疫蛍光細胞を20,000細胞/mlで播種する。

【０８７５】

実験条件及び処置：正常血糖条件とは別に、18の異なる条件を、25mmol/LD-グルコース下で培養した細胞において試験した。

条件1)対照細胞は、5mMのD-グルコースによる処理を全く受けなかった。

条件2)糖尿病環境によって引き起こされる細胞損傷の予防における効果を評価するために、細胞を糖尿病環境25mMD-グルコース+ビヒクルで処理する(15日目、16日目及び17日目に1回の適用/日)。

条件3、4、5、6、7、8)細胞を25mMD-グルコース及び2種類の濃度の各生成物：Ic-007a(3、4)25μg/mL(=53μM)及び50μg/mL(=107μM)；IIc-007a(5、6)25μg/mL(=53μM)及び50μg/mL(=107μM)；IVc-059a(7、8)20μg/mL(=50μM)及び40μg/mL(=100μM)で72時間処理して(15日目、16日目及び17日目に1回の適用/日)、それらの潜在的な細胞毒性効果を評価した。

【０８７６】

条件9)細胞を25mMのD-グルコース及びベバシズマブ(0.2mg/ml)で72時間処理して(15日目、16日目及び17日目に1回の適用/日)、それらの潜在的な細胞毒性効果を評価した。

条件10)=糖尿病環境；単層の破壊を引き起こすために、細胞を25mMD-グルコース+IL-1β(10ng/ml)+TNF-α(25ng/ml)+VEGF(25ng/ml)で48時間処理した(16日目及び17日目に1回の適用/日)。

条件11、12、13、14、15、16)糖尿病環境によって引き起こされる細胞損傷の予防における効果を評価するために、細胞を糖尿病環境(25mMD-グルコース+IL-1β(10ng/ml)+TNF-α(25ng/ml)+VEGF(25ng/ml))+2種類の濃度の新規化合物(Ic-007a、IIc-007a及びIVc-059a)で処理した(15日目、16日目及び17日目に1回の適用/日)。

条件17)糖尿病環境によって引き起こされる細胞損傷の予防における効果を評価するために、細胞を糖尿病環境(25mMD-グルコース+IL-1β(10ng/ml)+TNF-α(25ng/ml)+VEGF(25ng/ml))+ベバシズマブ(0.2mg/mL)で処理した(15日目、16日目及び17日目に1回の適用/日)。

【０８７７】

ARPE-19透過性の測定：RPE細胞の透過性は、Villarroelら，Exp Eye Res, 2009, 89, 913-920によって以前に報告された手順に従って、FITC-デキストラン(40 kDa)(Sigma, St Louis, MI, USA)の頂端側から基底側への移動を測定することによって18日目に決定した。

【０８７８】

内側血液網膜関門条件：初代ヒト網膜内皮細胞(HRECs)を、Innoprot (Vizcay, Spain)から購入した凍結保存細胞のバイアルから得た。これらの細胞は、0.1mg/mLコラゲナーゼI型を用いて37℃で1時間消化した死体眼のヒト網膜組織から単離した。次に、CD31抗体被覆磁気ビーズ(DynaBeads; Dynal, Oslo, Norway)で、内皮細胞を最終的に選択した。HRECを実験室で解凍し、5.5mMD-グルコース、5%FBS(ウシ胎仔血清)、100U/mLペニシリン、100μg/mLストレプトマイシン、及びECG(内皮細胞増殖サプリメント)サプリメント(Innoprot, Vizcay, Spain)を含有する内皮基本培地(EBM)中で培養した。5μg/mLのヒトフィブロネクチン(MerckMillipore, Madrid, Spain)を細胞接着に使用した。2～3代目の継代細胞を実験に使用する。実験のために、HRECをコンフルエンスまで増殖させ、次いで細胞培養培地を、1%FBSを補充した培地に24時間交換し、次いで異なる処理に曝露した。

【０８７９】

条件/処理：ARPE-19細胞における実験について特定したのと同じ条件を使用した。

HREC透過性の測定：HREC単層における透過性を、透過性支持体上で12×10^5細胞/ウェル(24ウェル、PCFフィルター、Merk Millipore)で得た。インサートを5%CO_2-空気中、37℃で48時間インキュベートして単層を形成した。最後に、処理を進める24時間前

に培地を血清枯渇させた。下部チャンバーには600μLの完全EBM培地を、上部チャンバーには100μLの血清枯渇させた(1%)細胞懸濁物を充填した。

【０８８０】

透過性の変化を検出するために、100μg/mlの蛍光FITC-DEXTRAN(Sigma, Madrid, Spain)をインサートの上側に添加した。基底区画からの200μLのアリコートを、SpectraMax Gemini (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)において、励起/発光485/528nmの波長で30分毎に読み取った。最後に、デキストランの濃度を、標準曲線における蛍光読取り値の外挿によって決定した。各条件を三重に試験した。

【０８８１】

細胞生存率及び増殖：細胞計数及びMTTアッセイをHRECにおいて実施して、試験条件下での細胞の生存率を評価した。HRECの生存率お及び増殖を測定した。簡潔に述べると、細胞をDAPIで染色し、蛍光倒立顕微鏡(Olympus iX71 with V-RFL-T Olympus)で写真を撮影した(20×)。細胞核は、各条件について3つの異なる視野でImage Jソフトウェアを用いて計数した。実験を3回繰り返した。加えて、MTTアッセイ(Sigma, Madrid, Spain)を用いて、細胞の生存率を評価した。簡潔に述べると、PBS中の10μlの5mg/mlMTTを処理後に各ウェルに添加し、37℃でさらに1時間インキュベートした。培地を除去し、得られたホルマザン顆粒を100%ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、ELISAプレートリーダー(ELx800. Bio-Tek Instruments, VT, USA)を用いて562nmで吸光度を検出した。このアッセイにより、異なる条件下での細胞増殖の変化に起因する結果の偏りの可能性を除外した。

【０８８２】

作用機序：

-炎症性サイトカインを、RT-PCRによってARPE-19細胞において評価し、IL-6、TNF-α、IL-1β、IL-18、VEGF、IL-10、FGFについてのmRNAを、二重デルタCT法2-ΔΔCTを使用して、目的の遺伝子及び内在性ヒトB-アクチンについてのCts値を用いて測定してΔCTを得た；mRNA値を、条件25mM D-Glucに対する相対変化として表した。(ref: Livak KJ, Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2-ΔΔCT Method, Methods, 2001, 25(4), 402-408, doi 10.1006/meth.2001.1262)

【０８８３】

-ROS産生を、Cell Biolabs’ OxiSelect(商標) Intracellular ROSアッセイ(緑色蛍光)(Bionova, Madrid, Spain)を使用して評価した。当該アッセイは、細胞透過性蛍光発生プローブ2',7'-ジクロロジヒドロフルオレセインジアセテート(DCFH-DA)を使用し、これは細胞ROSによって高度に蛍光性の2',7'-ジクロロジヒドロフルオレセイン(DCF)に酸化される。

【０８８４】

-エンドセリン-1、PDGF及びVCAM-1発現を、HREC単層において免疫組織化学的解析及びRT-PCRによって分析した。

-TJ発現(ZO)を、ARPE-19及びHREC単層において免疫組織化学的解析によって分析する。

【０８８５】

結果：

外側血液網膜関門(ARPE19単層)及び内側血液網膜関門(HREC)の透過性結果を表58に示す。化合物Ic-007a、IIc-007a、IVc-059aは、外側及び内側の単層の透過性を減少させた。

非糖尿病環境及び糖尿病環境に曝露されたARPE19単層細胞におけるROS並びにTNF-、IL-1、IL6、IL-18及びVEGF-mRNAの産生に対する化合物Ic-007a、IIc-007a、IVc-059aの効果を表59に示す。

【０８８６】

【表５８】

表58：FITC-デキストラン蛍光の漏れ(ng/mL/cm^2)を利用する外側血液網膜障壁及び内側血液網膜障壁の透過性

		ARPE19		HREC	
No	状態	% 透過性	p<0.05	% 透過性	p<0.05
1	DMEN HAM'S F-12 1% 5,5 mM D-Gluc	105.1 ± 34.1		88.3 ± 26.2	
2	DMEN HAM'S F-12 1% 25 mM D-Gluc (#)	94.9 ± 10.3		100.0 ± 15.6	
3	(#) + Ic-007a 25 µg/mL	75.2 ± 11.1		126.3 ± 8.3	
4	(#) + IIc-007a 25 µg/mL	66.1 ± 4.9		136.3 ± 16.7	
5	(#) + IVc-059a 25 µg/mL	70.2 ± 8.8		109.9 ± 24.7	
6	(#) + Ic-007a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1b	107.3 ± 43.9		127.4 ± 2.1	
7	(#) + IIc-007a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	113.1 ± 11.4		147.7 ± 17.6	
8	(#) + IVc-059a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	112.6 ± 19.8		135.4 ± 6.7	
9	(#) + BEVA 0.2 mg/mL	109.5 ± 22.9		127.1 ± 26.2	
10	**(#) + VEGF, TNF-α, IL-1β = 真性糖尿病**	**159.9 ± 5.0**		**170.0 ± 12.0**	
11	(#) + Ic-007a 25 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1b	103.7 ± 15.7	*	111.6 ± 24.2	*
12	(#) + IIc-007a 25 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	114.7 ± 19.0	*	135.8 ± 16.6	*
13	(#) + IVc-059a 25 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	98.5 ± 36.5	*	124.0 ± 6.3	*
14	(#) + Ic-007a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1b	127.1 ± 13.5	*	159.0 ± 23.9	
15	(#) + IIc-007a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	136.8 ± 13.0	*	145.2 ± 8.8	
16	(#) + IVc-059a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	130.4 ± 24.8		115.3 ± 14.7	*
17	(#) + BEVA 0.2mg/mL + VEGF, TNF-α, IL-1β	120.7 ± 30.1		129.0 ± 35.3	

* p<0.05 真性糖尿病(25 mM D-グルコース + VEGF, TNF-α, IL-1β)と比較したときの、90分後に測定した FITC デキストラン漏れ[ng/mL/cm^2]について

【０８８７】

【表５９】

表59：非糖尿病及び真性糖尿病における ARPE19単層細胞による ROS 並びに TNF-a、IL-1b、IL-6、IL-18及び VEGF mRNA 産生

		ROS	IL-1b	IL-6	TNFa	IL-18	VEGF
No	状態	%	R.Q. mRNA	R.Q. mRNA	R.Q. mRNA	R.Q. mRNA	R.Q. mRNA
1	DMEN HAM'S F-12 1% 5.5 mM D-Gluc	86 ± 12	0.11 ± 0.02	0.93 ± 0.01	0.18±0.16	1.08 ± 0.44	1.60 ± 0.05
2	DMEN HAM'S F-12 1% 25 mM D-Gluc (#)	100 ± 9	1.02 ± 0.20	1.00 ± 0.03	1.36±0.86	1.04 ± 0.35	1.54 ± 0.32
3	(#) + Ic-007a 25 µg/mL	32 ± 15	0.12 ± 0.01	0.52 ± 0.49	0.27±0.07	0.45 ± 0.18	0.09 ± 0.02
4	(#) + IIc-007a 25 µg/mL	55 ± 6.4	0.74 ± 0.26	0.73 ± 0.00	0.57±0.18	0.75 ± 0.09	0.06 ± 0.01
5	(#) + IVc-059a 25 µg/mL	62 ± 9	0.20 ± 0.05	0.28 ± 0.11	0.27±0.08	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.01
6	(#) + Ic-007a 50 µg/mL	26 ± 4.6	0.15 ± 0.03	0.20 ± 0.07	0.59±0.33	0.07 ± 0.01	0.12 ± 0.03
7	(#) + IIc-007a 50 µg/mL	72 ± 11	0.24 ± 0.11	0.34 ± 0.08	0.45±0.30	0.04 ± 0.00	0.12 ± 0.03
8	(#) + IVc-059a 50 µg/mL	116 ± 12	0.21 ± 0.13	0.28 ± 0.11	0.27±0.10	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.03
9	(#) + BEVA 0.2 mg/mL	110 ± 54	1.46 ± 0.72	0.64 ± 0.34	0.46±0.63	0.09 ± 0.01	1.68 ± 0.83
10	**(#) + VEGF, TNF-α, IL-1β = 真性糖尿病**	**145 ± 9.3**	**96.07 ± 48.11**	**65.49 ± 21.16**	**9.13±1.84**	**2.22 ± 0.19**	**2.01 ± 0.69**
11	(#) + Ic-007a 25 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1b	33 ± 4.8 *	12.21 ± 1.46 *	0.52 ± 0.49 *	11.26±0.96	0.02 ± 0.00 *	0.06 ± 0.02 *
12	(#) + IIc-007a 25 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	47 ± 7.6 *	41.03 ± 17.57 *	10.83 ± 6.90 *	6.31±0.06 *	0.07 ± 0.01 *	0.11 ± 0.01 *
13	(#) + IVc-059a 25 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	61 ± 40 *	20.81 ± 5.11 *	5.84 ± 1.13 *	5.39±1.01 *	0.03 ± 0.01 *	0.04 ± 0.00 *
14	(#) + Ic-007a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1b	27 ± 13 *	10.66 ± 3.01 *	3.28 ± 1.46 *	5.22±3.96	0.02 ± 0.00 *	0.17 ± 0.05 *
15	(#) + IIc-007a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	74 ± 38 *	11.39 ± 6.52 *	1.50 ± 1.19 *	4.24±0.77 *	0.03 ± 0.00 *	0.13 ± 0.02 *
16	(#) + IVc-059a 50 µg/mL + VEGF, TNF-a, IL-1β	159 ± 32	27.76 ± 5.18 *	9.78 ± 2.30 *	3.61±1.82 *	0.01 ± 0.00 *	0.20 ± 0.03 *
17	(#) + BEVA 0.2mg/mL + VEGF, TNF-α, IL-1β	111 ± 50	31.22 ± 12.65 *	32.35 ± 13.48*	1.37±0.27 *	0.53 ± 0.04 *	3.88 ± 0.68

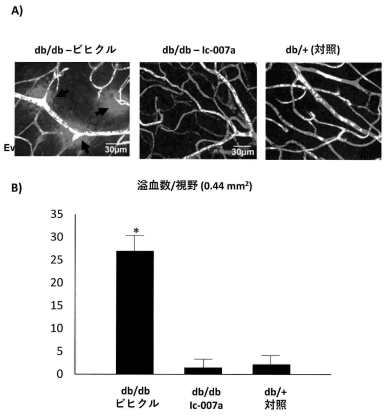
ROS 25 mM D-グルコースに対する%；R.Q. = 状態25mM D-Gluc に関する相対的変化として表すサイトカイン及び成長因子値についての相対的定量 mRNA

* p<0.05 25 mM D-Glc + VEGF + TNF-a + IL-1b (真性糖尿病)と化合物 Ic-007a、IIc-007a、IVc-059との間

【図面】

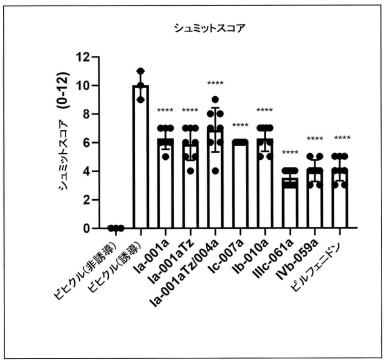
【図１】

Figure 1



【図２】

Figure 2



【図３Ａ】

Figure 3 A

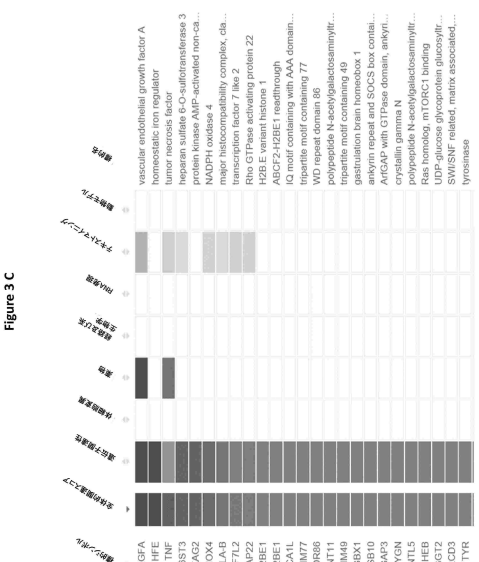
疾患 / サイトカイン	IL-1b	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-9	IL-10	IL-12p70	IL-13	IL-14	IL-15	IL-17A	IL-17F	IL-18	IL-21	IL-22	IL-23	IL-33	IFNγ	IFNb	TNFα	TGFbeta	TNFbeta	MCP-1	MMP8
AML/AML			x					x							x													
アレルギー性喘息			x	x	x	x			x			x		x	x		x						x	x				
アレルギー性鼻炎	x			x						x																		
アルツハイマー																												
強直性脊椎炎															x									x				
アテローム性動脈硬化																												
アトピー性皮膚炎							x		x	x				x	x		x							x				
細菌感染症					x																							
ベーチェット病																		x	x			x						
ガン			x		x				x	x	x							x						x				
心血管病的状態																					x							
CLL				x																								
COPD					x			x																				
クローン病																x	x			x				x				
蕁麻疹性血管炎								x																				
糖尿病							x			x				x			x					x						
好酸球性GI						x																						
実験的自己免疫脳脊髄炎															x							x						
移植症						x			x			x													x			
食物アレルギー																												
COVID									x																			
巨細胞動脈炎						x																		x				
狼瘡						x		x																				
グレーブス病		x																									x	

【図３Ｂ】

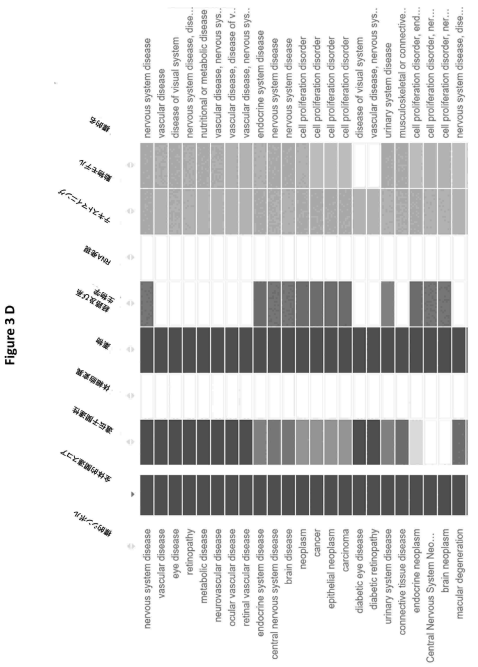
Figure 3 B

疾患 / サイトカイン	IL-1b	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-9	IL-10	IL-12p70	IL-13	IL-14	IL-15	IL-17A	IL-17F	IL-18	IL-21	IL-22	IL-23	IL-33	IFNγ	IFNb	TNFα	TGFbeta	TNFbeta	MCP-1	MMP8
若年黄色肉芽腫	x								x	x	x				x	x			x									
炎症性腸疾患														x			x											
JID 若年性特発性関節炎 AID、スティル病を含む自己炎症性疾患	x		x			x																						
リンパ腫													x															
多発性硬化症							x		x					x			x											
心筋感染症	x																											
骨粗鬆症	x							x																				
膵炎								x							x													
若年全身発症				x																								
乾癬							x			x					x		x							x				
乾癬性関節炎																												
関節リウマチ							x		x						x		x					x						
シェーグレン症候群										x			x															
全身性エリテマトーデス							x			x				x				x						x				
全身性強皮症																												
T細胞媒介性自己免疫疾患																												
潰瘍性結腸炎		x																		x								
血管炎患									x												x							
ウイルス感染	x																						x					

【図３Ｃ】



【図３Ｄ】



【図４Ａ】

Figure 4A

K-1及びK1-6からの生成物

ArCOOH	R-NH$_2$	カップリング条件	収率	脱保護条件 A	収率	脱保護条件 B	収率	精製手順	収率	最終生成物（量、収率 1）)	注釈
K1-1 (12.95 g)		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) MeCN	86%	LiOH (4 eq.) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	89%	H$_2$, Pd/C DCM/EtOH Time = 48 h, T° = 23 °C	84%	MeCN で トリチュレーション		**Ia-001a** (13.4 g, 36%)	
K1-1 (53 g)		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) MeCN	86%	LiOH (4 eq.) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	Quant.	H$_2$, Pd/C THF/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	82%	MeCN 及び Et$_2$O で トリチュレーション		**Ia-001a'** (30 g, 40%)	
K1-1 (1 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops), 50 °C, 1 h 2) DIPEA (2.2 eq), DMF	43%	LiOH (5 eq) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	86%	H$_2$, Pd/C EtOAc Time = 18 h, T° = 23 °C	80%	逆転のトリクップ		**Ia-001c** (85 mg, 17%)	
K1-1 (203 mg)		1) SOCl$_2$ (49 eq) DMA, 50 °C, 4 h 2) DIPEA (1.1 eq) DCM	62%	H$_2$, Pd/C DCM/EtOH Time = 1.5h, T° = 23 °C	57%	NaOH aq (22 eq) 70 °C, 20 h HCl 1N T° = 23 °C	60%	酸の添加後の塩濾及び MeOH中の固体の トリチュレーション		**Ia-002a** (34 mg, 60%)	
K1-1 (1 g)		HATU (1.5 eq) DIPEA (5 eq) DMF	64%	LiOH (6 eq.) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	90%	H$_2$, Pd/C EtOAc/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	91%	MeCN 及びMTBEで トリチュレーション		**Ia-002a'** (285 mg, 30%)	
K1-1 (1.07 g) AX050 + LG043		1) SOCl$_2$ (50 eq) DCM, 50 °C, 3h 2) NaOH aq., 0.5 M (1.1 eq), Na$_2$CO$_3$ (0.6 eq), TBAB (0.1 eq), THF	95% (No LG043)	H$_2$, Pd/C DCM/EtOH Time = 2.5h T° = 23 °C	88%	NaOH aq (18 eq) 70 °C, 20 h HCl 1N T° = 23 °C	50%	酸の添加後の沈澱； 逆転のトリクップ 生成物の分析S1-5		**Ia-002c**	
K1-18n (76 mg)		1) SOCl$_2$ (50 eq) DCM, 50 °C, 3h 2) DIPEA (1.1 eq) DCM	82%	H$_2$, Pd(OH)$_2$ DCM/EtOH Time = 4 h, T° = 23 °C	95%					**Ia-003a** (11 mg, 95%)	精製生成物はESI/APCI(-) 低装置性を有する 精製プロトクップ AcOEt/AcOH 95:5

【図４Ｂ】

Figure 4B

K1-i (1 g)		HATU (1.5 eq) DIPEA (5 eq) DMF	96%	LiOH (6 eq.) THF-H$_2$O Time = 21 h, T° = 23 °C	37%	H$_2$, Pd/C EtOAc/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	37%	MeCN 及び MTBE でのトリチュレーション	82%	**Ia-003zf1** (0.022 g, 7%)
K1-1 (118 mg) (LG 038)		1) SOCl$_2$ (58 eq) DCM, 50°C 2) NaOH aq, 0.5 M (1.1 eq), Na$_2$CO$_3$ (0.5 eq), TBAB (0.12 eq). THF, rt.	69%	H$_2$, Pd/C H$_2$O/EtOH Time = 5.5h T° = 23 °C	88%	NaOH aq, 0.9 M, 2h, 次にHCl 37% (3.5 mL)	82%	溶媒の除去及びEtOH 中での固形物質化 による収率の改善		**Ia-003c** (45 mg, 82%)
K1-1 (1 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops) DCM, 40 °C, 4 h 2) DIPEA (1.1 eq), DCM, DMF	24%	LiOH (6 eq.) THF/DMSO-H$_2$O Time = 2 days, T° = 75 °C	86%	H$_2$, Pd/C DMF/EtOH Time = 24 h, T° = 23 °C	76%	MeCN 及びEt$_2$Oでの トリチュレーション		**Ia-004a** (0.145 g, 9%)
K1-1 (1 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	33%	LiOH (6 eq.) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	94%	H$_2$, Pd/C EtOAc Time = 2 h, T° = 23 °C	84%	逆転のトリクップ		**Ia-005a** (0.155 g, 15%)
K1-1 (1 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM.	75%	LiOH (7 eq.) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	95%	H$_2$, Pd/C EtOAc/EtOH Time = 4 h, T° = 23 °C	66%	逆転のトリクップ		**Ia-011a** (0.46 g, 27%)
K1-1 (1 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	57%	LiOH (6 eq.) THF-H$_2$O Time = 20 h, T° = 23 °C	定量的 収率	H$_2$, Pd/C DCM/EtOH Time = 1 h, T° = 23 °C	88%	逆転のトリクップ		**Ia-012a** (0.414 g, 28%)
K1-1 (1.125 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	75%	LiOH (30 eq.) THF-H$_2$O Time = 96 h, T° = 23 °C	定量的 収率	H$_2$, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	98%	逆転のトリクップ		**Ia-013a** (0.644 g, 42%)
K1-1 (2.11 g)		1) SOCl$_2$ (27 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	43%	LiOH (6 eq.) THF-H$_2$O Time = 18 h, T° = 23 °C	定量的 収率	H$_2$, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	94%	逆転のトリクップ		**Ia-014a** (0.156 g, 22%)

【図４Ｃ】

Figure 4C

KI-1 (1.12 g)		1) $SOCl_2$ (50 eq) DCM, 50°C, 4h 2) DIPEA (1.2 eq) DCM → 12h, rt ホウムクロマトグラフィー PE/AcOEt		H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	98%	NaOH aq (65 eq) 2h, rt, then HCl 37% at 0°C, 濾過, 乾燥 HCl生成物, EtOH 沈殿体	84%	H_2O でセリサルテーション 処理	**Ia-015a** (380 mg, 84%)	isOmH で部分的に可溶な生成物 溶液のためBOM未把握	
KI-1 (0.5 g)		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) MeCN	58%	LiOH (8 eq.) THF-H_2O Time = 42 h, T° = 23 °C	Quant	H_2, Pd/C THF/DCM Time = 18 h, T° = 23 °C	41%	MeCN で トリサルエーション	**Ia-023a** (0.054 g, 13%)		
KI-1Bn (84% + 16% diester)		1) $SOCl_2$ (25 eq) DCM, 50°C, 4h 2) DIPEA (1.2 eq), DCM – 18h, rt ホウムクロマトグラフィー PE/DCM 1:1 → DCM	86%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 2 h, T° = 23 °C	99%			THF で トリサルエーション	**Ia-032a** (107 mg, 99%)	異構配体がベンジルエステルであるので、単一異体属工程	
KI-1 (1 g)		1) $SOCl_2$ (27 eq), DMF (4 drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	73%	H_2, Pd/C EtOAc Time = 18 h, T° = 23 °C	97%	LiOH (8 eq.) THF-H_2O Time = 42 h, T° = 23 °C	83%	通常のワークアップ	**Ia-033a** (0.147 g, 46%)		
KI-1 (1 g)		1) $SOCl_2$ (27 eq), DMF (4 drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DMF	39%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = 23 °C	85%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 20 h, T° = 23 °C	31%	Prep HPLC	**Ia-034a** (0.07 g, 6%)		
KI-1 (1 g)		HOBt (1.5 eq) EDC (1.5 eq) TEA (3.2 eq) DMF	57%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = 23 °C	90%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 2 h, T° = 23 °C	92%	固体分離工程	**Ia-035a** (0.514 g, 22%)	加水分解前のベンジルエステル Brille (2 eq), K_2CO_3 (2 eq), DMF, Time = 24 h T° = 23 °C, Y= 79%	
KI-1 (1 g)		1) $SOCl_2$ (26 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DCM	70%	–	–	$CHCl_3$ (10 mL) AcOH (10 mL)	31%	Prep HPLC	**Ia-035a-2** (0.081 g, 12%)		
KI-1 (1 g)		1) $SOCl_2$ (28 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DCM	12%	LiOH (4 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = 23 °C	92%	H_2, Pd/C EtOH/EtOAc Time = 20 h, T° = 23 °C	34%	Prep HPLC	**Ia-035a-3** (0.05 g, 1%)	加水分解前のベンジルエステル Brille (4 eq), K_2CO_3 (4 eq), DMF, Time = 18 h T° = 23 °C, Y= 99%	
KI-1 (0.5 g)		1) $SOCl_2$ (25 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DMF	39%	LiOH (8 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = 23 °C	96%	H_2, Pd/C DCM/MeOH Time = 20 h, T° = 23 °C	24%	Prep HPLC	**Ia-036a** (0.036 g, 2%)	加水分解前のベンジルエステル Brille (5 eq), K_2CO_3 (8 eq), DMF, Time = 18 h T° = 23 °C, Y= 51% 分取精製後に分解 (80% 純度)	

【図４Ｄ】

Figure 4D

KI-1 (1 g)		1) $SOCl_2$ (27 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DCM	81%	–		$CHCl_3$ (15 mL) AcOH (15 mL) Time = 6 h, T° = 80 °C	–		**Ia-053a** (100 mg, 20%)		
KI-1 (1 g)?		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) アニソ MeCN	92%	LiOH (27 eq.) THF-H_2O DMSO Time = 120 h, T° = 23 °C	93%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	80%	MeCNおよびヘーベクエストリサルエーション	**Ia-056a** (162 mg, 39%)		
KI-1 (35.5 g, 2 eq)		HATU (3 eq) DIPEA (6 eq) DMF	87%	LiOH (6 eq.) THF-DMSO-H_2O Time = 48 h, T° = 23 °C	98%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	98%	MeCN で トリサルエーション	**Ib-010a** (19.3 g, 47%)		
KI-6 (500 mg)		TCFH (3.4 eq) NMI (6 eq) MeCN	74%	–	–	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	41%	EtOHおよび Et_2O で トリサルエーション	**Ic-001a-2t2** (0.151 g, 17%)		
KI-6 (20.3 g)		1) $SOCl_2$ (40 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DCM	85%	LiOH (6 eq.) DMSO-H_2O Time = 18 h, T° = 100 °C	71%	H_2, Pd/C DMF Time = 1 h, T° = 23 °C	quant	MeCN で トリサルエーション	**Ic-007a** (25.7 g, 34%)		
KI-6 (1 g)		1) $SOCl_2$ (23 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DCM/DMF	64%	NaOH (20 eq.) H_2O Time = 6 h, T° = 23 °C	88%	H_2, Pd/C DMF Time = 4 h, T° = 23 °C	24%	アセトン トリサルエーション	**Ic-009a** (41 mg, 8%)		
KI-1 (70 g)		1) $SOCl_2$ (38 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DMF	77%	LiOH (6 eq.) THF-MeOH Time = 96 h, T° = 23 °C	98%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 36 h, T° = 23 °C	80%	Et_2O トリサルエーション	**Ic-001a-17g/004a** (4028 g, 34%)	第1点のプロット(R 1当たり加水分解の条件を1ランク上に設定	
KI-1 (0.5 g)		1) $SOCl_2$ (39 eq) 2) DIPEA (2.2 eq) DMF	98%	LiOH (7 eq.) THF-H_2O Time = 72 h, T° = 23 °C	60%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 24 h, T° = 23 °C	15%	Prep HPLC	**Id-020a** (10 mg, 4%)	ゼニス MsOH (3.3 eq), MeOH, Time = 17 h, T° = 70 °C	

【図５Ａ】

Figure 5A

ArCOOH	R-NH$_2$	カップリング条件	収率	脱保護条件 A	収率	脱保護条件 B	収率	精製手順	遊離生成物 (量、収率)	注釈
KI-2		1) $SOCl_2$ (32 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	72%	–	–	$CHCl_3$ (10 mL) AcOH (10 mL) Time = 18 h, T° = 80 °C	64%	DCM 及び MeOH でトリサルエーション	**IIa-001a** (142 mg, 46%)	
KI-2		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) MeCN	71%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 48 h, T° = r.t.	77%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	53%	MeCN, DCM 及び Et_2O でトリサルエーション	**IIa-001aTz** (125 mg, 29%)	
KI-2		1) $SOCl_2$ (27 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (2.2 eq), DMF	70%	LiOH (4 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = r.t.	15%	H_2, Pd/C EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	54%	MeCN でトリサルエーション	**IIa-001c** (20 mg, 4%)	
KI-2Ac 675 mg		1. $SOCl_2$, DCM, 還流, 5h, 濃縮 2. DCM, アニソ (1 eq), iprNEt (1.1 eq), 12h, rt, 抽出 ホウムクロマトグラフィー	55%	EtOH, NaOH 1M, 0°C 次いで 2h, rt, 酸性化 濃縮	69%	必要なし			**IIa-002a**	2,5-ジヒドロキシ インジル酸メチルエステル のワクセター-トから 作製されたIIa化合物
KI-2Ac 500 mg		1. $SOCl_2$, DCM, 還流, 5h, 濃縮 2. DCM, アニソ (1.1 eq), iprNEt (1.1 eq) DMF (drops), 12h, rt ホウムクロマトグラフィー	16%	EtOH, NaOH 1M, 0°C 次いで 2h, rt, 酸性化 濃縮	69%	必要なし			**IIa-003a**	2,5-ジヒドロキシ インジル酸メチルエステル のワクセター-トから 作製されたIIa化合物
KI-2Ac		1) $SOCl_2$(30 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	75%	–	–	$CHCl_3$ (10 mL) AcOH (10 mL) Time = 18 h, T° = 80 °C	61%	通常のワークアップ	**IIa-004a** (136 mg, 45%)	KI. 2Ac からの化合物
KI-2		1) $SOCl_2$(26 eq), DMF (drops) 2) ピリジン (1.2 eq), DCM	72%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = r.t.	95%	H_2, Pd/C EtOH/EtOAc Time = 24 h, T° = r.t.	71%	通常のワークアップ	**IIa-005a** (209 mg, 51%)	出発アニソ体 tert-ブチルウロエニドリル体 で作製した。

【図５Ｂ】

Figure 5B

KI-2Acs											KI-2Acs からの化合物
KI-2Acs		1) $SOCl_2$(32 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (2.2 eq), DCM	70%	–	–	NaOH aq (60 eq) EtOH, 2h, 0°C HCl 1N T° = r.t.	32%	水性ワークアップ、 次いで Prep HPLC	**IIa-011a** (130 mg, 22%)		
KI-2Acs		1) $SOCl_2$(40 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	33%	–	–	$CHCl_3$ (10 mL) AcOH (10 mL) Time = 18 h, T° = 80 °C	29%	Prep HPLC	**IIa-012a** (58 mg, 9%)	KI. 2Ac からの化合物
KI-2Ac		1) $SOCl_2$(32 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	34%	LiOH (12 eq.) THF-H_2O Time = 96 h, T° = r.t.	74%	H_2, Pd/C EtOH/EtOAc Time = 24 h, T° = r.t.	95%	通常のワークアップ	**IIa-013a** (58 mg, 23%)	アミドカップリング以外の反応で、狙いで正解的メタノリシス及びその後のベンジル保護基での再保護
KI-2		1) $SOCl_2$(61 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	59%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 48 h, T° = r.t.	93%	H_2, Pd/C EtOH/EtOAc Time = 18 h, T° = r.t.	77%	MeCN でトリサルエーション	**IIa-014a** (170 mg, 42%)	
KI-2Acs 673 mg		1. $SOCl_2$, (25 eq), 2h, 還流, 3h, 濃縮 2. DCM, アニソ (1.0 eq), iprNEt (1.1 eq) 12h, rt) ホウムクロマトグラフィー	12%	EtOH, NaOH 1M, 0°C 次いで 2h, rt, 酸性化, 濃縮	77%	必要なし			**IIa-015a**	2,5-ジヒドロキシイン ブタル酸メチルエステル のジアセター-トから作製したIIa化合物
KI-2Ac		1) $SOCl_2$(32 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), DCM	55%	–	–	$CHCl_3$ (9 mL) AcOH (9 mL) Time = 24 h, T° = 100 °C	34%	Prep HPLC	**IIa-033a** (91 mg, 34%)	
KI-2		1) $SOCl_2$(35 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (2.2 eq), DMF	35%	LiOH (8 eq.) THF-H_2O Time = 6 h, T° = r.t.	97%	H_2, Pd/C DCM/EtOAc Time = 24 h, T° = r.t.	26%	MeCN でトリサルエーション	**IIa-034a** (37 mg, 8%)	

【図５Ｃ】

Figure 5C

KI-2		1) $SOCl_2$ (25 eq), DMF (drops), 2) DIPEA (2.2 eq), DMF, 3)cHCl (5 mL)	97%	LiOH (4 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = r.t.	56%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 24 h, T° = r.t.	59%	Prep HPLC	**IIa-035a** (90 mg, 13%)	アミドカップリングは KI-2Ac, 続いて ワークアップにおける cHClで加水分解と、4-ベンジル保護基での保護(43%収率)の除去LiOH加水分解
KI-2Ac$_2$		1) $SOCl_2$ (40 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (2.2 eq), DMF	78%	–	–	cHCl (19 mL) AcOH (19 mL) Time = 17 h, T° = 80 °C	24%	Prep HPLC	**IIa-053a** (104 mg, 24%)	KI-2Ac$_2$ 由来
KI-2Ac$_2$		1) $SOCl_2$ (40 eq), DMF (drops) 2) DIPEA (1.1 eq), 3) TCFH (0.5 eq.), DCM	22%	LiOH (8 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = r.t	34%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 24 h, T° = r.t.	17%	Prep HPLC	**IIb-010a** (8 mg, 5%)	アミドカップリングは KI-2Ac, 続いて ワークアップにおける メタノリシス(98%収率) およびその後の 4-ベンジル保護基での 脱保護(40% 収率) の後にLiOH 加水分解
KI-7		TCFH (2.4 eq) NMI (10 eq) アニリン (2.4 eq) MeCN	定量的収率	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = 80 °C	70%	H_2, Pd/C THF Time = 24 h, T° = r.t.	88%	MeCN 及び Et_2O でトリチュレーション	**IIc-007a** (5.7 g, 61%)	
KI-7		1) $SOCl_2$ (50 eq), DMF (drops) 2) ピリジン (2.2 eq), アニリン (2.2 eq.), DCM	76%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = r.t.	95%	H_2, Pd/C EtOAc/EtOH Time = 24 h, T° = r.t.	3%	Prep により2回精製	**IIc-009a** (11 mg, %)	出発アニリンは tert-ブチルジフェニルシリル(TBDPS)基で保護した。

【図６】

Figure 6

KI-8 及び **KI-9** からの生成物

ArCOOH	R-NH$_2$	カップリング条件	収率	脱保護条件A	収率	脱保護条件B	収率	精製手順	最終生成物 (量、収率)
KI-8		1) (COCl)$_2$ (6 eq.), DMF (drops), DCM 2) DIPEA (1.1 eq), アニリン (1.1 eq), DCM	75%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = r.t.	80%	H_2, Pd/C DCM/EtOH/AcOH Time = 24 h, T° = r.t.	51%	MeCN でトリチュレーション	**IIIa-001a**
KI-8		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) アニリン (1.2 eq) MeCN	75%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = 70 °C	93%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	43%	MeCN でトリチュレーション	**IIIa-001a7z** (27 mg, 29%)
KI-8		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) アニリン (1.2 eq) MeCN	29%	LiOH (16 eq.) THF-H_2O Time = 48 h, T° = r.t.	定量的収率	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	定量的収率	Et_2O でトリチュレーション	**IIIa-013a** (50 mg, 29%)
KI-8		TCFH (1.2 eq) NMI (5 eq) アニリン (1.2 eq) MeCN	71%	LiOH (8 eq.) THF-H_2O Time = 18 h, T° = r.t.	90%	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	26%	Prep HPLC	**IIIa-015a** (26 mg, 16%)
KI-8		TCFH (1.2 eq) NMI (3 eq) アニリン (0.5 eq) MeCN	75%	LiOH (6 eq.) THF-H_2O, DMSO Time = 72 h, T° = 55 °C	85%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	57%	残渣をMeCNに溶解し、遠心後、沸騰状態維持中に水を徐々に加え、	**IIIb-010a** (755 mg, 57%)

【図７】

Figure 7

KI-8 及び **KI-9** からの生成物

	基材	脱保護条件A	収率	脱保護条件B	収率	精製手順	最終生成物 (量、収率)	注釈
脱保護手順		LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 72 h, T° = 70 °C	定量的収率	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	50%	MeCN でトリチュレーション	**IIIc-056a** (44 mg, 50%)	この生成物は、おそらくcHClであるHClのジオキサン錯体はプロトンシフトを示さなかった)
		LiOH (15 eq.) THF-H_2O Time = 96 h, T° = 40 °C	定量的収率	H_2, Pd/C DCM/EtOH Time = 48 h, T° = r.t.	67%	Et_2O でトリチュレーション	**IIIc-057a**	
		同条件		同条件			**IIIc-058a**	
		同条件		同条件			**IIIc-059a**	
		LiOH (6 eq.) THF-H_2O Time = 24 h, T° = 70 °C	定量的収率	H_2, Pd/C DCM Time = 18 h, T° = r.t.	55%	Prep HPLC	**IIIc-060a** (39 mg, 55%)	
		LiOH (18 eq.) THF-H_2O Time = 96 h, T° = 80 °C	87%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 18 h, T° = r.t.	73%	ホップセトン でトリチュレーション	**IIIc-061a** (9.1 g,	大規模合成

【図８】

Figure 8

ArCOOH	R-NH$_2$	カップリング条件	収率	脱保護条件A	収率	脱保護条件B	収率	精製手順	最終生成物 (量、収率)
アニリン **A**		TCFH (4.2 eq) NMI (9 eq) MeCN	58%	LiOH (8 eq.) DMSO-H_2O Time = 18 h, T° = 100 °C	42%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 18 h, T° = 23 °C	88%	MeCN 及び Et_2O でトリチュレーション	**V-001a** (110 mg, 21%)
		TCFH (2.2 eq) NMI (6 eq) MeCN	76%	LiOH (10 eq.) THF-H_2O Time = 48 h, T° = r.t.	77%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 48 h, T° = r.t.	90%	Et_2O でトリチュレーション	**V-002a** (513 mg, 52%)
脱保護手順		LiOH (20 eq.) THF-H_2O Time = 168 h, T° = from r.t to 80 °C	76%	H_2, Pd/C THF/EtOH Time = 72 h, T° = r.t.	67%	Et_2O でトリチュレーション	**V-003a** (48 mg, 50%)	

【図９】

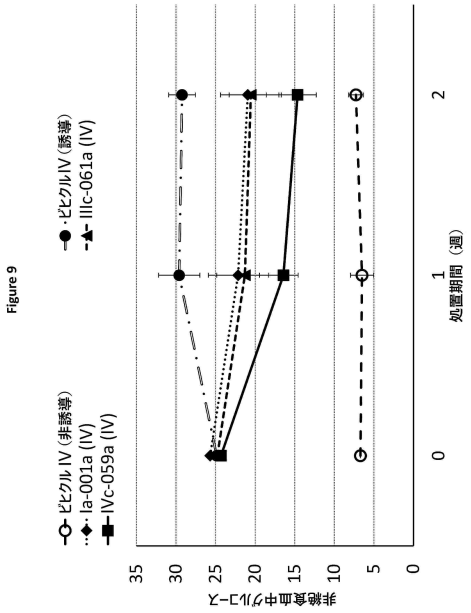


Figure 9
ビヒクルIV（非誘導）
Ia-001a (IV)
IVc-059a (IV)
ビヒクルIV（誘導）
IIIc-061a (IV)
非絶食血中グルコース
35
30
25
20
15
10
5
0
0
1
2
処置期間（週）

【図１０】

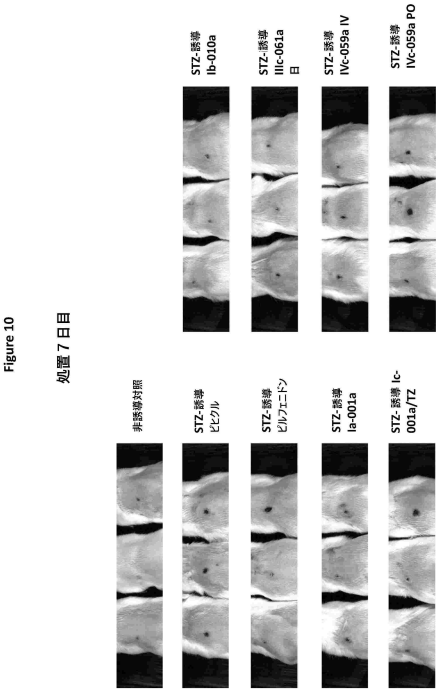


Figure 10
処置７日目
非誘導対照
STZ-誘導 ビヒクル
STZ-誘導 ビルフェニドン
STZ-誘導 Ia-001a
STZ- 誘導 Ic-001a/TZ
STZ-誘導 Ib-010a
STZ-誘導 IIIc-061a 日
STZ-誘導 IVc-059a IV
STZ-誘導 IVc-059a PO

【図１１】

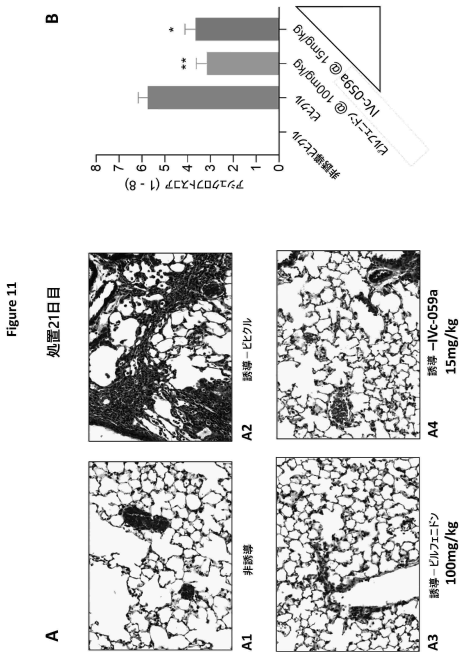


Figure 11
処置21日目
A
A1 非誘導
A2 誘導－ビヒクル
A3 誘導－ビルフェニドン 100mg/kg
A4 誘導 －IVc-059a 15mg/kg
B
非誘導ビヒクル
ビヒクル
ビルフェニドン @ 100mg/kg
IVc-059a @ 15mg/kg
*
**
フィブロネクチン (1 - 8)
8
7
6
5
4
3
2
1
0

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		
A61P 37/02	*(2006.01)*		A61P	37/02	
A61P 29/00	*(2006.01)*		A61P	29/00	101
A61P 9/00	*(2006.01)*		A61P	9/00	
A61P 27/02	*(2006.01)*		A61P	27/02	
A61P 43/00	*(2006.01)*		A61P	43/00	105
A61P 3/00	*(2006.01)*		A61P	3/00	
A61P 1/00	*(2006.01)*		A61P	1/00	
A61P 25/00	*(2006.01)*		A61P	25/00	
A61P 35/00	*(2006.01)*		A61P	29/00	
A61P 5/00	*(2006.01)*		A61P	35/00	
A61P 31/12	*(2006.01)*		A61P	5/00	
A61P 31/04	*(2006.01)*		A61P	31/12	
C07D 213/79	*(2006.01)*		A61P	31/04	
C07C 235/64	*(2006.01)*		C07D	213/79	
C07C 309/46	*(2006.01)*		C07C	235/64	
C07D 213/80	*(2006.01)*		C07C	309/46	
C07C 235/60	*(2006.01)*		C07D	213/80	
C07C 229/38	*(2006.01)*		C07C	235/60	
C07C 235/36	*(2006.01)*		C07C	229/38	
C07C 321/16	*(2006.01)*		C07C	235/36	
C07C 317/46	*(2006.01)*		C07C	321/16	
A61K 31/44	*(2006.01)*		C07C	317/46	
A61K 31/41	*(2006.01)*		A61K	31/44	
C07D 233/02	*(2006.01)*		A61K	31/41	
C07C 275/42	*(2006.01)*		C07D	233/02	
			C07C	275/42	

弁理士　金子 裕輔
(74)代理人　100166936
弁理士　稲本 潔
(74)代理人　100174883
弁理士　冨田 雅己
(74)代理人　100189429
弁理士　保田 英樹
(74)代理人　100213849
弁理士　澄川 広司
(72)発明者　バウアー，ジャック
スイス、サン－プレクス 1162、シュマン ド ラ モレーヌ 31
(72)発明者　マーティン，オリビエ
フランス、サン ティレール サン メマン 45160、リュ デュ オー ミディ 164

審査官　奥谷 暢子

(56)参考文献　特表2017－503737（JP，A）
米国特許第04208328（US，A）
国際公開第2008／130370（WO，A1）
国際公開第2011／146801（WO，A1）
DATABASE REGISTRY [ONLINE] Retrieved from STN，RN 1260505-92-7 REGISTRY，2011年01月26日，検索日： 17 JUL 2024

(58)調査した分野　(Int.Cl.，DB名)
C07C
A61K
C07D
A61P
CAplus／REGISTRY（STN）