

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-519020

(P2006-519020A)

(43) 公表日 平成18年8月24日(2006.8.24)

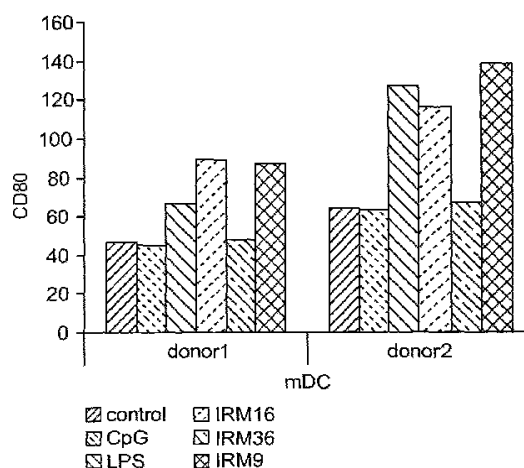
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2006-503921 (P2006-503921)	(71) 出願人	599056437
(86) (22) 出願日	平成16年2月27日 (2004. 2. 27)		スリーエム イノベイティブ プロパティ
(85) 翻訳文提出日	平成17年9月16日 (2005. 9. 16)		ズ カンパニー
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/006115		アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 4 4 -
(87) 国際公開番号	W02004/075865		1 0 0 0, セント ポール, スリーエム
(87) 国際公開日	平成16年9月10日 (2004. 9. 10)		センター
(31) 優先権主張番号	60/450, 484	(74) 代理人	100099759
(32) 優先日	平成15年2月27日 (2003. 2. 27)		弁理士 青木 篤
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100077517
			弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 T L R 介在生物活性の選択的調節

(57) 【要約】

少なくとも1つのT L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物を同定する方法が開示されている。一般に、この方法は、第2のT L R 介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に化合物が1つのT L R 介在細胞活性を調節する場合は、少なくとも1つのT L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物としてその化合物を同定することを含む。こうして同定された化合物およびかかる化合物を含む医薬組成物も開示されている。免疫細胞を選択的に調節する方法および特定の状態を治療する方法も提供される。かかる方法は、T L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物を細胞または対象へ投与することを含む。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物を同定する方法であって、以下のステップ：

(1) 複数の T L R のそれぞれの T L R 介在細胞活性の調節を検出するアッセイを提供するステップ；

(2) 被験化合物を用いて各アッセイを行うステップ；及び、

(3) 前記被験化合物が少なくとも 1 つの第 2 の T L R 介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に第 1 の T L R 介在細胞活性を調節する場合には、少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物として前記被験化合物を同定するステップ；
を含んで成る、前記方法。

10

【請求項 2】

前記化合物が第 1 の T L R 介在細胞活性を調節し、かつ少なくとも 1 つの第 2 の T L R 介在細胞活性を調節することがない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記複数の T L R が T L R 6 を含んで成る、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記複数の T L R が T L R 7 を含んで成る、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記複数の T L R が T L R 8 を含んで成る、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 6】

前記複数の T L R が T L R 9 を含んで成る、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

請求項 1 の記載の方法により同定された化合物。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の方法により同定された化合物またはそのプロドラッグを含んで成る医薬組成物。

【請求項 9】

標的 T L R 調節プロフィールに従う T L R 調節プロフィールを有する標的化合物を同定する方法であって、以下のステップ：

30

(1) 標的 T L R 調節プロフィールを選択するステップ；

(2) 被験化合物の前記 T L R 調節プロフィールを測定するステップ；及び、

(3) 前記被験化合物の前記 T L R 調節プロフィールが前記標的 T L R 調節プロフィールに従う場合には、標的化合物として前記被験化合物を同定するステップ；
を含んで成る、前記方法。

【請求項 10】

少なくとも 1 つの T L R 調節プロフィールが T L R 6 介在細胞活性を含んで成る、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

少なくとも 1 つの T L R 調節プロフィールが T L R 6 介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項 10 に記載の方法。

40

【請求項 12】

少なくとも 1 つの T L R 調節プロフィールが T L R 7 介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

少なくとも 1 つの T L R 調節プロフィールが T L R 7 介在細胞活性を含んで成る、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 14】

少なくとも 1 つの T L R 調節プロフィールが T L R 7 介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項 13 に記載の方法。

50

【請求項 15】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR6介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項14に記載の方法。

【請求項 16】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR8介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項14に記載の方法。

【請求項 17】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR8介在細胞活性を含んで成る、請求項9に記載の方法。

【請求項 18】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR8介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR7介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項18に記載の方法。

【請求項 20】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR9介在細胞活性を含んで成る、請求項9に記載の方法。

【請求項 21】

少なくとも1つのTLR調節プロファイルがTLR9介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

前記標的TLR調節プロファイルが、標的化合物によって検出可能に調節されない1つ以上のTLR介在細胞活性を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 23】

請求項9に記載の方法による標的化合物として同定される化合物。

【請求項 24】

請求項9に記載の方法により同定された標的化合物またはそのプロドラッグを含んで成る医薬組成物。

【請求項 25】

免疫系の細胞を選択的に調節する方法であって、以下のステップ：

(1) 第1の免疫系細胞集団および第2の免疫系細胞集団を同定するステップ；

(2) 前記第2の細胞集団のTLR介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に前記第1の細胞集団のTLR介在細胞活性を調節する化合物を選択するステップ；及び、

(3) 前記免疫系の細胞を、前記細胞集団の少なくとも1つのTLR介在細胞活性を調節するのに有効な量の前記選択された化合物と接触させるステップ；

を含んで成る、前記方法。

【請求項 26】

前記第1の細胞集団のTLR発現プロファイルおよび前記第2の細胞集団のTLR発現プロファイルを測定するステップをさらに含んで成る、請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

化合物を選択する前記ステップが、前記第1の細胞集団のTLR発現プロファイルおよび前記第2の細胞集団のTLR発現プロファイルを前記化合物のTLR調節プロファイルと比較することを含んで成る、請求項26に記載の方法。

【請求項 28】

前記免疫系の細胞を調節することが、前記細胞を検出可能に活性化し、または前記細胞を検出可能に抑制することを含んで成る、請求項25に記載の方法。

【請求項 29】

前記化合物が前記第1の細胞集団を調節し、前記第2の細胞集団を検出可能に調節することがない、請求項25に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 30】

前記化合物が両方の細胞集団を調節する、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 31】

少なくとも 1 つの細胞集団がインビトロで調節される、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 32】

少なくとも 1 つの細胞集団がインビボで調節される、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 33】

少なくとも 1 つの免疫系細胞集団が形質細胞様樹状細胞を含んで成る、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 34】

少なくとも 1 つの免疫系細胞集団が単球由来樹状細胞を含んで成る、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 35】

対象における複数の TLR 介在細胞活性の選択的調節によって治療可能な状態を治療する方法であって、以下のステップ：

(1) 前記状態の治療に有効な標的 TLR 調節プロファイルを同定するステップ；

(2) 前記標的プロファイルに従う TLR 調節プロファイルを有する IRM 化合物を選択するステップ；及び、

(3) 前記状態を治療するために有効な量の前記 IRM 化合物を前記対象に投与するステップ；

を含んで成る、前記方法。

【請求項 36】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 6 介在細胞活性を含んで成る、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 6 介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 7 介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 7 介在細胞活性を含んで成る、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 40】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 7 介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 6 介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 8 介在細胞活性の調節を実質的に含まない、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 43】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 8 介在細胞活性を含んで成る、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 44】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 8 介在細胞活性の調節を含んで成る、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

少なくとも 1 つの TLR 調節プロファイルが TLR 7 介在細胞活性の調節を実質的に含

10

20

30

40

50

【請求項 46】

【請求項 47】

【請求項 48】

10

【請求項 49】

前記 I R M 化合物が T L R 6 選択的化合物である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 50】

前記 I R M 化合物が T L R 7 選択的化合物である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記 I R M 化合物が T L R 8 選択的化合物である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記IRM化合物がTLR9選択的化合物である、請求項35に記載の方法。

【請求項 53】

前記状態が感染症または腫瘍性状態である、請求項 35 に記載の方法。

20

【請求項 54】

前記感染症がウイルス疾患、真菌疾患、寄生虫疾患、細菌疾患、またはプリオン介在疾患である、請求項 53 に記載の方法。

【請求項 55】

前記腫瘍性状態が上皮内腫瘍、前癌腫瘍、または癌である、請求項53に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【 0 0 0 1 】

免疫反応調節剤（「IRM」）の一例としては、抗ウイルスおよび抗腫瘍活性を含むがこれに限定されない強力な免疫調節活性を有する化合物が挙げられる。一部のIRMはサイトカインの産生および分泌を活性化する。例えば、一部のIRM化合物は、例えば、I型インターフェロン、TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、MIP-1、および/またはMCP-1などサイトカインの産生および分泌を誘発する。別の例としては、一部のIRM化合物は、IL-4およびIL-5など一部のT_H2サイトカインの産生および分泌を抑制する。また、一部のIRM化合物は、IL-1およびTNFを抑制すると言われている（米国特許第6,518,265号明細書）。

【 0 0 0 2 】

一部の I R M は、例えば、米国特許第 4 , 6 8 9 , 3 3 8 号明細書、同第 4 , 9 2 9 , 6 2 4 号明細書、同第 4 , 9 8 8 , 8 1 5 号明細書、同第 5 , 0 3 7 , 9 8 6 号明細書、同第 5 , 1 7 5 , 2 9 6 号明細書、同第 5 , 2 3 8 , 9 4 4 号明細書、同第 5 , 2 6 6 , 5 7 5 号明細書、同第 5 , 2 6 8 , 3 7 6 号明細書、同第 5 , 3 4 6 , 9 0 5 号明細書、同第 5 , 3 5 2 , 7 8 4 号明細書、同第 5 , 3 6 7 , 0 7 6 号明細書、同第 5 , 3 8 9 , 6 4 0 号明細書、同第 5 , 3 9 5 , 9 3 7 号明細書、同第 5 , 4 4 6 , 1 5 3 号明細書、同第 5 , 4 8 2 , 9 3 6 号明細書、同第 5 , 6 9 3 , 8 1 1 号明細書、同第 5 , 7 4 1 , 9 0 8 号明細書、同第 5 , 7 5 6 , 7 4 7 号明細書、同第 5 , 9 3 9 , 0 9 0 号明細書、同第 6 , 0 3 9 , 9 6 9 号明細書、同第 6 , 0 8 3 , 5 0 5 号明細書、同第 6 , 1 1 0 , 9 2 9 号明細書、同第 6 , 1 9 4 , 4 2 5 号明細書、同第 6 , 2 4 5 , 7 7 6 号明細書、同第 6 , 3 3 1 , 5 3 9 号明細書、同第 6 , 3 7 6 , 6 6 9 号明細書、同第 6 , 4 5 1 , 8 1 0 号明細書、同第 6 , 5 2 5 , 0 6 4 号明細書、同第 6 , 5 4 1 , 4 8 5 号明細書、同第 6 , 5 4 5 , 0 1 6 号明細書、同第 6 , 5 4 5 , 0 1 7 号明細書、同第 6 , 5 5 8 ,

951号明細書、同第6,573,273号明細書、同第6,656,938号明細書、同第6,660,735号明細書、同第6,660,747号明細書、同第6,664,260号明細書、同第6,664,264号明細書、同第6,664,265号明細書、同第6,667,312号明細書、同第6,670,372号明細書、同第6,677,347号明細書、同第6,677,348号明細書、同第6,677,349号明細書、同第6,683,088号明細書、欧州特許第0394026号明細書、米国特許出願公開第2002/0016332号明細書、同第2002/0055517号明細書、同第2002/0110840号明細書、同第2003/0133913号明細書、同第2003/0199538号明細書、および同第2004/0014779号明細書、および国際特許公開国際公開第01/74343号パンフレット、同第02/46749号パンフレット、同第02/102377号パンフレット、同第03/020889号パンフレット、同第03/043572号パンフレット、同第03/045391号パンフレット、および同第03/103584号パンフレットに開示されているものなど、小さな有機分子（例えば、タンパク質、ペプチド、および同種のものなど大きな生体分子と反対に約1000以下の分子量、好ましくは、約500ダルトンの分子量）である。

【0003】

小さな分子IRMの追加の例としては、一部のプリン誘導体（米国特許第6,376,501号明細書および同第6,028,076号明細書に記載されているものなど）、一部のイミダゾキノリンアミド誘導体（米国特許第6,069,149号明細書に記載されているものなど）、一部のイミダゾピリジン誘導体（米国特許第6,518,265号明細書に記載されているものなど）、一部のベンズイミダゾール誘導体（米国特許第6,387,938号明細書に記載されているものなど）、複素環を含有する5員窒素に融合した4-アミノピリミジンの一部の誘導体（米国特許第6,376,501号明細書、同第6,028,076号明細書、および同第6,329,381号明細書、および国際公開第02/08595号パンフレットに記載されているアデニン誘導体など）、および一部の3-D-リボフランオシルチアゾロ[4,5-d]ピリミジン誘導体（米国特許出願公開第2003/0199461号明細書に記載されているものなど）が挙げられる。

【0004】

他のIRMとしては、オリゴヌクレオチド配列などの大きな生体分子が挙げられる。一部のIRMオリゴヌクレオチド配列は、シトシン-グアニン-ジヌクレオチド(CpG)を含有し、例えば、米国特許第6,194,388号明細書、同第6,207,646号明細書、同第6,239,116号明細書、同第6,339,068号明細書、および同第6,406,705号明細書に記載されている。一部のCpG含有オリゴヌクレオチドは、例えば、米国特許第6,426,334号明細書および同第6,476,000号明細書に記載されているものなど合成免疫活性化体(immunoadjuvant)構造モチーフを含みうる。他のIRMヌクレオチド配列はCpGを欠き、例えば、国際特許公開国際公開第00/75304号パンフレットに記載されている。

【0005】

免疫系の一部の態様を刺激するだけでなく、他の態様を抑制することによって（例えば、米国特許第6,039,969号明細書および同第6,200,592号明細書を参照）、IRMを用いて多くの疾患を治療することができる。例えば、IRM化合物を用いて治療される疾患としては、ヒトパピローマウイルスによって引き起こされる外陰部および肛門周囲のいぼ、基底細胞癌、湿疹、本態性血小板血症、B型肝炎、多発性硬化症、腫瘍性疾患、乾癬、慢性関節リウマチ、I型単純ヘルペス、およびII型単純ヘルペスが挙げられるが、これらに限定されない。

【0006】

IRM化合物は、サイトカインなど特定の免疫系の分泌を誘発することによって細胞介在免疫を調節しうる。例えば、イミキモッドまたはレシキモッドによって誘発されるサイトカインとしては、I型インターフェロン、TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、MIP-1、およびMCP-1が挙げられるが、これらに限

定されない。

【0007】

I R M 化合物は、B 細胞による抗体産生を刺激することによって体液性免疫も調節する。さらに、種々の I R M がワクチン補助薬として有用であることが証明されている（例えば、米国特許第 6, 083, 505 号明細書および同第 6, 406, 705 号明細書を参照）。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物を同定する方法を提供する。一般に、この方法は、複数の T L R のそれぞれの T L R 介在細胞活性の調節を検出するアッセイを提供し、被験化合物を用いて各アッセイを実行し、かつ被験化合物が、少なくとも 1 つの第 2 の T L R 介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に第 1 の T L R 介在細胞活性を調節する場合には、少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性を選択的に調節する化合物として被験化合物を同定するステップを含む。

10

【0009】

本発明は、こうして同定された化合物、およびかかる化合物を含む医薬組成物、またはかかる化合物のプロドラッグをも提供する。

【0010】

別の態様においては、本発明は、標的 T L R 調節プロフィールを有する標的化合物を同定する方法を提供する。一般に、この方法は、標的 T L R 調節プロフィールを選択し、被験化合物の T L R 調節プロフィールを測定し、被験化合物の T L R 調節プロフィールが標的 T L R 調節プロフィールに従う場合は、標的化合物として被験化合物を同定するステップを含む。

20

【0011】

本発明は、こうして同定された化合物、およびかかる化合物を含む医薬組成物、またはかかる化合物のプロドラッグをも提供する。

【0012】

別の態様においては、本発明は、免疫系の細胞を選択的に調節する方法を提供する。一般に、この方法は、第 1 の免疫系細胞集団および第 2 の免疫系細胞集団を同定し、第 2 の細胞集団の T L R 介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に第 1 の細胞集団の T L R 介在細胞活性を調節する化合物を選択し、かつ免疫系の細胞を細胞集団の少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性を調節するのに有効な量の選択された化合物と接触させるステップを含む。

30

【0013】

一部の実施形態においては、免疫系の細胞の T L R 介在細胞活性の調節は、細胞の T L R 介在細胞活性の活性化または細胞の T L R 介在細胞活性の抑制を含みうる。また、細胞の T L R 介在細胞活性は、インビトロまたはインビボで調節されうる。

【0014】

別の態様においては、本発明は、対象における少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性を選択的に調節することによって治療可能な状態を治療する方法を提供する。一般に、この方法は、状態の治療に有効な標的 T L R 調節プロフィールを同定し、標的プロフィールに従う T L R 調節プロフィールを有する I R M 化合物を選択し、かつ状態を治療するために有効な量の I R M 化合物を対象に投与するステップを含む。

40

【0015】

本発明の方法により治療されうる状態としては、腫瘍性疾患、 $T_H 1$ 介在疾患、 $T_H 2$ 介在疾患、および感染症（例えば、ウイルス疾患、真菌疾患、寄生虫疾患、細菌疾患、またはプリオン介在疾患、および同種のもの）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0016】

本発明の種々の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明、実施例、特許請求の範囲、

50

および添付の図面を参考にして容易に明らかになるであろう。明細書の全体を通じて一部の箇所において、実施例のリストにより指針が提供される。それぞれの場合に、開示リストは代表的な群としてのみ役立ち、限定されたリストとして解釈すべきではない。

【発明を実施するための最良の形態】

【0017】

一部のIRMはトル(Toll)様受容体(TLR)作動薬として機能しうる。一部のIRMは選択的に1つもしくはそれ以上のTLR介在細胞活性を調節しうることが発見されている。場合によっては、選択的調節は、1つのTLR介在細胞活性の調節を含むが、別のTLR介在細胞活性の検出可能な調節は含まない。別の場合では、選択的調節は、別のTLR介在細胞活性が調節される程度と異なる程度に1つのTLR介在細胞活性の調節を含む。

10

【0018】

したがって、本発明は、TLR介在細胞活性を選択的に調節する化合物を同定する方法、こうして同定された化合物、およびかかる化合物を含む医薬組成物、特定のTLR調節プロフィールを有する化合物を同定する方法、こうして同定された化合物、およびかかる化合物を含む医薬組成物、免疫細胞の一部の集団を選択的に調節する方法、および少なくとも1つのTLR介在細胞活性を選択的に調節する化合物を対象に投与することによって対象を治療する方法を提供する。

【0019】

本発明のために、以下の用語は以下の意味を有するものとする。

20

【0020】

「活性」およびその変形は、細胞活性における測定可能な増大を指す。

【0021】

「作動薬」は、受容体(例えば、TLR)と結合して細胞活性をもたらす化合物を指す。作動薬が、受容体に直接結合するリガンドであってもよい。あるいは、作動薬は、例えば、(a)受容体に直接結合する別の分子との複合体を形成することによって、または(b)その他の場合に結果として、他の化合物が直接、受容体に結合するように別の化合物の変化をもたらすことによって間接的に受容体に結合しうる。作動薬は、特定のTLR(例えば、TLR6作動薬)または特定のTLRの組合せ(例えば、TLR7/8作動薬、TLR7とTLR8の両方の作動薬)とみなされうる。

30

【0022】

「細胞活性」は、作動薬と受容体の相互作用に起因する生体活性(例えば、サイトカイン産生)を指す。

【0023】

「抑制する」およびその変形は、細胞活性の測定可能な削減を指す。したがって、本明細書で使用される「抑制する」または「抑制」は、活性の正常レベルの割合とみなされうる。

【0024】

「IRM化合物」は、IRM反応性細胞に投与されると、1つもしくはそれ以上の免疫調整分子(例えば、サイトカイン、共刺激マーカー、または成熟マーカー)のレベルを変化させる化合物を指す。反応性IRM化合物としては、上述された小さな有機分子、プリン誘導体、小さな複素環化合物、アミド誘導体、およびオリゴヌクレオチド配列が挙げられる。

40

【0025】

「調節する」およびその変形は、生体活性の実質的な増加または減少を指す。生体活性の実質的な増加または減少は、生体活性における所望の閾値の増加または減少を超える増加または減少である。

【0026】

「プロドラッグ」は、体内に活性親薬物を放出するための化学的または酵素的生体内変化を必要とする薬物分子の誘導体を指す。

50

【0027】

「選択的」およびその変形は、生体活性に対する異なる、または非一般的な衝撃を有することを指す。特定のTLRによる生体活性を選択的に調節する作動薬は、TLR選択的作動薬でありうる。TLR選択性は、特定のTLR（例えば、TLR8選択的）または特定のTLRの組合せ（例えば、TLR7/9選択的）に関して記載されうる。

【0028】

「TLR介在」は、直接または間接にTLR機能に起因する生体または生化学的活性を指す。特定の生体または生化学的活性は、特定のTLRによって介在されるとみなされうる（例えば、「TLR6介在」または「TLR7介在」）。

【0029】

「TLR調節プロファイル」は、IRM化合物を用いて調節されうる1つもしくはそれ以上のTLR介在細胞活性のプロファイルを指す。標的TLR調節プロファイルは、特定の所望のプロファイル、すなわち、スクリーニングアッセイで同定される標的化合物に対する、または特定のやり方で免疫細胞の生体活性を調節することになる化合物に対するなど、理論的または理想的なTLR調節プロファイルを指す。所定の化合物のTLR調節プロファイルは、所定の化合物によって調節されるTLR介在細胞の観察されたプロファイルを指す。観察されたプロファイルは、単一情報源または多重情報源から作成され、例えば、実験的アッセイ結果、臨床的または逸話的観察、または他の適切な情報源由来でありうる。

10

【0030】

1つの態様においては、本発明は、少なくとも1つのTLR介在細胞活性を選択的に調節する化合物を同定する方法を提供する。一般に、この方法は、複数のTLRのそれぞれのTLR介在細胞活性の調節を検出するアッセイを提供し、被験化合物を用いて各アッセイを行い、かつ被験化合物が、少なくとも1つの第2のTLR介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に第1のTLR介在細胞活性を調節する場合には少なくとも1つのTLR介在細胞活性を選択的に調節する化合物として被験化合物を同定するステップを含む。

20

【0031】

この方法は、TLR介在細胞活性の増加、TLR介在細胞活性の減少、または両方を検出することによって少なくとも1つのTLR介在細胞活性の調節を検出する。例えば、一部の実施形態においては、方法を実施するために選択されたアッセイとして、例えば、TLR7介在細胞活性の増加を検出するアッセイ、および、例えば、TLR8介在細胞活性の増加を検出する第2のアッセイが挙げられる。かかる方法により、(a)TLR7介在細胞活性を増加させるが、TLR8介在細胞活性を調節することがない、(b)TLR8介在細胞活性を増加させるが、TLR7介在細胞活性を調節することがない、または(c)TLR7介在細胞活性およびTLR8介在細胞活性を増加させるがその程度が異なる、のいずれかの化合物が同定されうる。追加として、または代わりとして、この方法は、TLR介在細胞活性の抑制を検出する1つもしくはそれ以上のアッセイを含みうる。

30

【0032】

1つのTLRまたはTLRの特定の組合せにより介在される細胞活性を調節するが、他のTLRにより細胞活性を調節することがない化合物は、TLR選択的とみなされうる。例えば、「TLR8選択的」なる用語は、TLR8介在細胞活性を調節するが、別のTLRにより介在される細胞活性を調節することがない化合物を指しうる。同様に、「TLR7選択的」なる用語は、TLR7介在細胞活性を調節するが、別のTLRによって介在される細胞活性を調節することがない化合物を指しうる。

40

【0033】

一部の実施形態においては、TLR選択的化合物は、1つもしくはそれ以上のTLRにより細胞活性を仲介する。かかる場合、「TLR選択的」は、例えば、TLR7およびTLR8など特に興味深い2つもしくはそれ以上のTLR間の選択性を指しうる。また、「TLR8選択的」は、一部の実施形態においては、TLR8介在細胞活性を調節するが、他のTLRにより介在される細胞活性を調節することがない（すなわち、実質的に増加

50

または減少させることがない)化合物を指しうる(すなわち、T L R 8のみ)。しかし、他の実施形態においては、「T L R 8選択的」は、T L R 8介在細胞活性および1つもしくはそれ以上の他のT L Rにより調節される細胞活性を調節するが、1つもしくはそれ以上の特定のT L R、例えば、T L R 7により介在される細胞活性を調節することがない化合物を指しうる(すなわち、T L R 7ではなくT L R 8)。

【0034】

同様に、「T L R 7選択的」は、T L R 7介在細胞活性を調節するが、他のT L Rによる細胞活性を調節することがない化合物を指しうる(T L R 7のみ)。あるいは、「T L R 7選択的」は、T L R 7介在細胞活性および少なくとも1つの他のT L Rによって介在される細胞活性を調節するが、1つもしくはそれ以上の特定のT L R、例えば、T L R 8

10

【0035】

上述のように、T L R選択的化合物は、T L Rの特定の組合せにより細胞活性を仲介しうるが、別のT L Rにより活性を調節することはない。例えば、化合物はT L R 7とT L R 9の両方により細胞活性を仲介しうるが、T L R 8により細胞活性を仲介することはない。化合物など所望の選択性の特定の性質によって、例えば、T L R 7選択的(例えば、T L R 9介在細胞活性が関連性でない場合)、T L R 9選択的(例えば、T L R 7介在細胞活性が関連性でない場合)、またはT L R 7 / 9選択的(例えば、T L R 7介在細胞活性とT L R 9介在細胞活性の両方が関連性である場合)とみなされうる。

20

【0036】

本発明の一部の方法を実施するために有用でありうる、または本発明の一部の方法を実施することによって同定されうる一部の化合物は、T L R 6選択的化合物とみなされうる。他の化合物は、T L R 7選択的化合物とみなされうる。さらに他の化合物はT L R 8選択的化合物とみなされうる。さらに他の化合物はT L R 9選択的化合物とみなされうる。

【0037】

任意のT L Rによって介在される細胞活性の増加または減少を検出しうるアッセイを計画し実行することを可能にする標準の技法が利用可能である。適切な技法は、例えば、米国特許出願公開第US 2004 / 0014779 A 1号明細書、2003年12月10日出願の米国特許出願第10 / 732, 563号明細書、2003年12月10日出願の米

30

国特許出願第10 / 732, 796号明細書、および2003年2月13日出願の米国仮特許出願第60 / 447, 179号明細書に記載されている。

【0038】

別段に規定されていない限り、細胞活性の増加または減少は、適切な対照において観察されたものと比較した特定の細胞活性における増加または減少を指す。アッセイは、適切な対照とともに実行されてもされなくてもよい。経験とともに、当業者は特定のアッセイに十分に精通し(例えば、特定のアッセイ条件下に適切な対照において観察される値の範囲)、その結果、対照を実行することが、化合物が特定のアッセイにおいてT L R介在細胞活性を調節するかどうかを判定するために必ずしも必要ではないかもしれない。

【0039】

それが実質的にみなされる前に増加または減少し、したがって、本発明のために調節されるT L R介在細胞活性の正確な程度は、当技術分野で周知の要因に従って変化しうる。かかる要因としては、例えば、アッセイのエンドポイントとして観察される細胞活性、T L R作動薬の濃度、アッセイのエンドポイントを測定または検出するために使用される方法、アッセイの信号対雑音比、アッセイの精度、および異なるT L Rによって介在される細胞活性の調節を検出するために使用される異なるアッセイの性質が挙げられる。したがって、可能なすべてのアッセイのために特定のT L R介在細胞活性を調節する化合物を同定するために必要なT L R介在細胞活性の限界増加を一般に記載することは実際的ではない。しかし、当業者は、かかる要因を正当に考慮した上で適切な閾値を容易に判定することができる。

40

50

【0040】

例えば、一部の実施形態においては、細胞活性の変化が「実質的」とみなされ、したがって、調節される閾値は、TLR作動薬が所定の濃度で提供されている場合に少なくとも2倍でありうる。他の実施形態においては、細胞活性の変化が実質的とみなされ、したがって、調節される閾値は少なくとも3倍でありうる。さらに他の実施形態においては、閾値の変化は少なくとも5倍でありうる。閾値の変化に合致しないTLR介在細胞活性の増加または減少は、非実質的（すなわち、実質的に変化していない）とみなされ、かつ、したがって、本発明のために調節されていないとみなされうる。したがって、化合物は、2つのTLR間で、例えば、その化合物が各TLRによって介在される細胞活性を増大させるが、1つのTLRにより介在される細胞活性を閾値より大きな程度に増加させる（すなわち、調節される）が、他のTLRにより調節される細胞活性を、実質的とみなされるために必要な閾値よりも小さい程度に調節される（すなわち、調節されない）細胞活性を増加させる場合には、選択的とみなされうる。

10

【0041】

本発明の方法のアッセイにおいて使用される細胞は、1つもしくはそれ以上のTLRを発現し、TLR介在細胞活性の検出を可能にする細胞でありうる。場合によっては、この細胞は自然に1つもしくはそれ以上のTLRを発現しうる。自然に1つもしくはそれ以上のTLRを発現する細胞としては、単球、マクロファージ、ランゲルハンス細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、多核白血球細胞（例えば、好中球、好塩基球、または好酸球）、Bリンパ球、Tリンパ球、および前記のいずれかに由来の細胞などの一次免疫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態においては、これらの細胞は、1つもしくはそれ以上のTLRのその発現を増加するように遺伝子組換えされうる。一部の遺伝子組換え細胞は、自然に1つもしくはそれ以上のTLRを発現するが、1つもしくはそれ以上のTLRの発現を増加させ、または遺伝子組換え細胞によって発現されるTLRの数を増加させるように改変されている宿主細胞由来でありうる。他の遺伝子組換え細胞は、検出可能なTLR介在生体活性が遺伝子組換えによって細胞へ導入される1つもしくはそれ以上のTLRに起因しうるように、検出可能なTLR活性を欠く宿主細胞由来でありうる。

20

【0042】

TLR介在細胞活性を検出するために適切な一部のアッセイとしては、1つもしくはそれ以上のサイトカイン、ケモカイン、共刺激マーカー、または増殖/成熟マーカーの発現および/または産生の検出があげられるが、これに限定されない。かかる細胞活性は、例えば、細胞培養におけるかかる分子の1つもしくはそれ以上の存在下に増加を検出することによって、培養培地または培養の細胞内で隔離されて検出されうる。一部の実施形態においては、TLR介在細胞活性は、例えば、TNF- α 、I型インターフェロン（例えば、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 等）、IFN- δ 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、MIP-1、MCP-1、またはその組合せなどを含む少なくとも1つのサイトカインの産生を含みうる。他の実施形態においては、TLR介在細胞活性は、1つもしくはそれ以上の共刺激マーカー（例えば、CD40、CD80、CD86等）、細胞内付着分子（ICAM、例えば、ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3等）、または、例えば、CD83またはCCR7などの増殖/成熟マーカーの産生を含みうる。

30

40

【0043】

あるいは、TLR介在活性は、1つもしくはそれ以上のサイトカイン、ケモカイン、共刺激マーカー、または成熟マーカーの発現を制御するプロモーターからの遺伝子転写の誘導を検出することによって検出されうる。例えば、アッセイは、NF- κ BプロモーターまたはIFN- γ プロモーターなどプロモーターのTLR介在活性化を検出するように計画されうる。上記のとおり、一部の実施形態においては、これらのプロモーターのTLR介在活性化の検出は、導入遺伝子から産生される遺伝子の検出を含みうる。あるいは、一部のアッセイは、レポーター遺伝子が操作可能にTLR誘発プロモーター（例えば、NF

50

BプロモーターまたはIFN- γ プロモーターに結合され、プロモーターのTLR介在誘導が容易に検出されるように計画されうる。多くの遺伝子発現レポーター構築物が市販されている。1つの実施形態においては、ルシフェラーゼレポーター系は、プロモーターのTLR介在誘導が結果として生じるルシフェラーゼシグナルを検出することによって検出されうるように、NF- κ BプロモーターまたはIFN- γ プロモーターなどTLR誘導性プロモーターに操作可能に結合されうる。

【0044】

実施例1において例示された1つの実施形態においては、TLR7とTLR8との間の選択的調節が、ルシフェラーゼレポーターのTLR介在NF- κ B誘導転写を検出することによって遺伝子組換えHEK293細胞において観察された。結果は表5に示されており、遺伝子組換え細胞がIRM化合物を含まない賦形剤でインキュベートされた対照と比較して指標IRM化合物によるインキュベーションの結果としてNF- κ B誘導ルシフェラーゼシグナルの倍増として表されている。

10

【0045】

化合物は、対照と比較してNF- κ B誘導ルシフェラーゼシグナルの少なくとも2倍の減少が誘発される場合には所定のTLRにより介在される細胞活性の増加として同定された。化合物はさらに、第1のTLRにより活性を調節し(TLR₁ 2×対照)、第2のTLRにより介在される活性を調節(すなわち、実質的に変化させる)ことがなく(TLR₂ 2×対照)、かつ第2のTLRによって介在される活性を増加させるよりも少なくとも2倍、第1のTLRによって介在される活性を増加させる(TLR₁ 2×TLR₂)場合には、2つのTLR間で選択的として同定される。アッセイでは、TLR7選択的化合物(すなわち、TLR7介在活性を調節するが、TLR8介在活性を調節しない)、TLR8選択的化合物(すなわち、TLR8介在活性を調節するが、TLR7介在活性を調節しない)、およびTLR7とTLR8の両方により細胞活性を調節する化合物が同定された。

20

【0046】

表1に示された化合物は、TLR8選択的化合物として同定されている、実施例1(表5)に示されている化合物の一部に加えてこの場合、実施例1のアッセイにおいては、TLR8により介在される細胞活性を調節するが、TLR7による細胞活性を調節することはない化合物である。

30

【0047】

【表1】

表1

化合物名	文献
N-[4-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル]ブチル]キノリン-3-カルボキサミド	米国特許出願公開第2003/0144283号明細書 実施例182
N-[4-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル]ブチル]キノキサリン-2-カルボキサミド	米国特許出願公開第2003/0144283号明細書 実施例183
N-[4-(4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル)ブチル]モルホリン-4-カルボキサミド	米国特許第6,541,485号 明細書 [#]

40

[#]この化合物は、具体的に例示されていないが、引例において開示された合成方法を用いて容易に調製されうる。

【0048】

表2の示された化合物は、TLR7選択的化合物として同定されている、実施例1(表

50

5) に示されている化合物の一部に加えて この場合、実施例 1 のアッセイにおいては、T L R 7 により介在される細胞活性を調節するが、T L R 8 による細胞活性を調節することはない化合物である。

【 0 0 4 9 】

【 表 2 】

表 2

化合物名	文献
N ¹ -[4-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]-4-フルオロ-1-ベンゼンスルホンアミド	米国特許第6, 331, 539号明細書 実施例14
N ¹ -[4-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]-4-フルオロ-1-ベンゼンスルホンアミド	米国特許第6, 331, 539号明細書 実施例121
N-[4-[4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]メタンスルホンアミド	米国特許第6, 677, 349号明細書 実施例235
N-[3-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-2, 2-ジメチルプロピル]ベンズアミド	米国特許出願公開第2003/0144283号明細書 実施例190
N-(2-[2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]エトキシ]エチル)-N-メチルメタンスルホンアミド	米国特許第6, 683, 088号明細書 実施例3
N-(2-[2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]エトキシ]エチル)ベンズアミド	米国特許第6, 660, 747号明細書 実施例6
N-[4-[4-アミノ-2-メチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]シクロペンタンカルボキシアミド	米国特許出願公開第2003/0144283号明細書 実施例201
1-[4-(1, 1-ジオキシドイソチアゾリジン-2-イル)ブチル]-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 677, 349号明細書 実施例266
2-メチル-1-[5-メチルスルホニル]ペンチル-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 667, 312号明細書 実施例75
N-[2-[4-アミノ-2-(エトキシメチル)-6, 7-ジメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-1-イル]-1, 1-ジメチルエチル]-N'-シクロヘキシルウレア	米国特許第6, 545, 017号明細書*
N-[2-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)-1, 1-ジメチルエチル]ベンズアミド	米国特許出願公開第2003/0144283号明細書*
N-[3-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)-2, 2-ジメチルプロピル]メタンスルホンアミド	米国特許第6, 677, 349号明細書*
1-[6-(メタンスルホニル)ヘキシル]-6, 7-ジメチル-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-4-アミン	米国特許出願公開第2004/0010007号明細書 実施例 91
6-[4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-N-メトキシ-N-メチルヘキサミド	米国特許出願第60/524961号明細書 実施例19
1-[2, 2-ジメチル-3-(メチルスルホニル)プロピル]-2-(エトキシメチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第 6, 667, 312号明細書*
N'-[4-[4-アミノ-2-メチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]-N-メチル-N-フェニルウレア	米国特許第6, 541, 485号明細書*
1-[3-[4-アミノ-1-(2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-8-イル]フェニル]エタノン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例120
7-(4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)-2-メチルヘプタン-2-オール	米国特許第4, 689, 338号明細書*

10

20

30

40

【表 3】

(〔表 2〕のつづき)

N-(メチル-4-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブタン-1-スルホンアミド	米国特許出願第60/533465号明細書 実施例 4
N-(4-(メトキシベンジル)-4-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブタン-1-スルホンアミド	米国特許出願第60/533465号明細書 実施例 5
N-(2-[4-アミノ-2-(エトキシメチル)-6, 7-ジメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-1-イル]-1, 1-ジメチルエチル)メタンスルホンアミド	米国特許第6, 525, 064号明細書*
2-エトキシメチル-1-(3-メトキシプロピル)-7-(5-ヒドロキシメチルピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例 167
1-[(2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキサラン-4-イル)メチル]-2-(エトキシメチル)-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例 159
4-[3-(4-アミノ-6, 7-ジメチル-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-1-イル)プロパン-1-スルホニル]-安息香酸エチルエステル	米国特許出願公開第2004/0010007号明細書 実施例 99
2-ブチル-1-[2-[2-(メチルスルホニル)エトキシ]エチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第60/526772号明細書 実施例2
N-(2-[4-アミノ-2-エトキシメチル-7-[6-(メタンスルホニルアミノ)ヘキシルオキシ]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-1, 1-ジメチルエチル)メタンスルホンアミド	米国特許出願第60/508634号明細書 実施例45
N-(6-[4-アミノ-2-エトキシメチル-1-(2-メタンスルホニルアミノ-2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-7-イル]オキシ)ヘキシル)アセトアミド	米国特許出願第60/508634号明細書 実施例46
1-[4-(1, 1-ジオキシドイソチアゾリジン-2-イル)ブチル]-2-エトキシメチル-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例 153
1-[4-(1, 1-ジオキシドイソチアゾリジン-2-イル)ブチル]-2-エトキシメチル-7-(ピリジン-4-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例 154
1-[4-(1, 1-ジオキシドイソチアゾリジン-2-イル)ブチル]-2-エトキシメチル-7-フェニル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例152
2-(エトキシメチル)-1-[(1-(メチルスルホニル)ピペリジン-4-イル)メチル]-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例178
2-(エトキシメチル)-1-[(1-イソブチルピペリジン-4-イル)メチル]-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例179
2-(エトキシメチル)-1-[(1-(モルホリン-4-イルカルボニル)ピペリジン-4-イル)メチル]-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例 180
シクロプロパンカルボン酸 [3-(4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)プロポキシ]アミド	米国特許出願第60/494605号明細書 実施例 2
イソプロピルカルバミン酸 4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-7-イルエステル	米国特許出願第60/508634号明細書 実施例 366
エチル 4-(4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチラート	米国特許出願第60/524961号明細書 実施例 38

10

20

30

40

【表 4】

(〔表 2〕のつづき)

1-[4-アミノ-2-エチル-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-2-メチルプロパン-2-オール	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例143
1-[4-アミノ-2-エチル-7-(5-(ヒドロキシメチル)ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-2-メチルプロパン-2-オール	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例144
1-[3-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-8-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]プロピル]ピロリジン-2-オン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例188
N-(2-[4-アミノ-2-エトキシメチル-7-[6-(メタンスルホニルアミノ)ヘキシルオキシ]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-1, 1-ジメチルエチル)アセトアミド	米国特許出願第60/508634号明細書 実施例49
1-[3-[4-アミノ-7-(3-ヒドロキシメチルフェニル)-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]プロピル]ピロリジン-2-オン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例185
N-[4-[4-アミノ-2-エトキシメチル-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]-N'-プロピルウレア	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例378
N-[4-[4-アミノ-2-エトキシメチル-7-(ピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]ブチルアミド	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例372
5-[4-アミノ-2-プロピル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-4, 4-ジメチルペンタン-2-オン	米国特許出願第60/524961号明細書 実施例36
1-シクロヘキシルメチル-2-エトキシメチル-7-(5-ヒドロキシメチルピリジン-3-イル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/739787号明細書 実施例439
N, N-ジメチル-5-[4-アミノ-2-エトキシメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ペンタン-1-スルホンアミド	米国特許出願第60/533465号明細書 実施例17
N-[3-[4-アミノ-2-エトキシメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]アミノ]プロピル]メタンスルホンアミド	米国特許出願第60/532191号明細書 実施例14
N, N-ジメチル-4-[4-アミノ-2-エトキシメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブタン-1-スルホンアミド	米国特許出願第60/533465号明細書 実施例11

*この化合物は、具体的に例示されていないが、引例において開示された合成方法を用いて容易に調製されうる。

【0050】

別の実施形態は実施例2に例示されており、ここではTLR6とTLR7との間の選択的調節が、ルシフェラーゼレポーターのTLR介在IFN- γ 誘導転写を検出することによって遺伝子組換えNamalwa細胞で観察された。結果は表6に示されており、再び溶媒対照に対するIFN- γ 誘導ルシフェラーゼシグナルの倍増として表されている。

【0051】

化合物は、IFN- γ 誘導ルシフェラーゼシグナルの少なくとも2倍の増加が誘発される場合には所定のTLRにより介在される細胞活性の増加として同定された。化合物はさらに、第1のTLRにより活性を調節し(TLR₁ 2×対照)、第2のTLRにより介在される活性を調節(すなわち、実質的に変化させる)ことがなく(TLR₂ 2×対照)、かつ第2のTLRによって介在される活性を増加させるよりも少なくとも2倍、第1のTLRによって介在される活性を増加させる(TLR₁ 2×TLR₂)場合には、2つのTLR間で選択的として同定される。アッセイでは、TLR6選択的化合物(すなわち、TLR6介在活性を調節するが、TLR7介在活性を調節しない)、TLR7選択的化合物(すなわち、TLR7介在活性を調節するが、TLR6介在活性を調節しない)、

および T L R 6 と T L R 7 の両方により細胞活性を調節する化合物が同定された。

【 0 0 5 2 】

表 3 に示された化合物は、T L R 6 選択的化合物として同定されている、実施例 2 (表 6) に示されている化合物の一部に加えて この場合、実施例 2 のアッセイにおいては、T L R 6 により介在される細胞活性を調節するが、T L R 7 による細胞活性を調節することはない化合物である。

【 0 0 5 3 】

【 表 5 】

表 3

化合物名	文献
N-[2-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル)エチル]-4-メチルベンゼンスルホンアミド	米国特許第6,331,539号 明細書 実施例23*
1-[(1R-1-フェニルエチル)1H-イミダゾ[4,5-c][1,5]ナフチリジン-4-アミン	米国特許第6,194,425号 明細書 [†]
N ⁶ -[4-(4-アミノ-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル)ブチル]-6-キノリンカルボキサミド	米国特許第6,451,810号 明細書 実施例21
N-[4-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-6,7,8,9-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル]ブチル]メタンスルホンアミドメタンスルホン酸塩	米国特許第6,331,539号 明細書 実施例214*
1-[4-(フェニルスルホニル)ブチル]-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6,664,264号 明細書 実施例7
2-(2-メトキシエチル)-1-[2-(3-フェニルプロポキシ)エチル]-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6,670,372号 明細書 実施例121
2-(エトキシメチル)-1-[2-[(3-フェニルプロパ-2-イニル)オキシ]エチル]-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6,670,372号 明細書 実施例122
N ¹ -[4-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル)ブチル]-3-ニトロ-1-ベンゼンスルホンアミド	米国特許第6,331,539号 明細書 実施例7

*実施例 2 3 および 2 1 4 はトリフルオロ酢酸塩。この塩は、従来の方法を用いてリストされた化合物へ変換される。

#この化合物は、具体的に例示されていないが、引例において開示された合成方法を用いて容易に調製されうる。

【 0 0 5 4 】

本発明の方法は、T L R によって介在される細胞活性の調節を含みうる。10 のヒト T L R の構造遺伝子がクローン化され、配列決定されている。したがって、10 のヒト T L R のいずれか 1 つの構造遺伝子は宿主細胞に導入され、本発明による方法におけるアッセイで使用するための遺伝子組換え細胞株を提供しうる。一部の実施形態においては、特定の T L R の構造遺伝子は、例えば、H E K 2 9 3 細胞、N a m a l w a 細胞、マウス R A W 細胞、または線維芽細胞などヒト細胞株へクローン化されうる。このようにして遺伝子組換えされた H E K 2 9 3 細胞および N a m a l w a 細胞を用いて、上記のとおり、クローン化 T L R によって介在される細胞活性の調節を検出しうる。

【 0 0 5 5 】

他の実施形態においては、アッセイにおいて検出される特定の T L R 介在細胞活性は、細胞によって自然に発現される T L R の同定および T L R の活性化に反応したその細胞の自然な生体活性によって判定されうる。例えば、ヒト単球は T L R 8 を発現し、T L R 8 作動薬と接触すると、例えば、サイトカイン I L - 1 2 を産生することによって反応する。したがって、単球による I L - 1 2 産生は、本発明による方法の一環として評価される T L R 8 介在細胞活性のまさに一実施例である。他の細胞型は一般に特徴的なプロファイルで T L R を発現する。多くの場合、特定の T L R の作動薬への曝露に対する細胞の生体反応は周知であり、または容易に測定される。したがって、当業者は、T L R によって介在される細胞活性を検出するアッセイにおいて使用するための特定の T L R に対する検出可能な生体反応を有する適切な細胞集団を選択することができる。

10

【 0 0 5 6 】

一部の実施形態においては、化合物は 2 つもしくはそれ以上の個別の T L R 介在細胞を調節しうるが、一方の活性を別の活性とは異なる程度に調節する。例えば、化合物は、反対のやり方で 2 つの異なる T L R 介在細胞活性を調節、すなわち一方の細胞活性を増加させ、他方の活性を抑制しうる。あるいは、化合物は同じやり方で 2 つの T L R 介在細胞活性を調節しうる（すなわち、両方の活性を増加または抑制する）が、一方の活性を他方の活性より大きな程度に調節する。あるいは、その化合物は 1 つの T L R 介在細胞活性を検出可能に調節しうるが、実質的に第 2 の T L R 介在細胞活性を検出可能な程度に調節することはない。

20

【 0 0 5 7 】

本発明は、上記の方法により同定された化合物も提供する。別段に規定されていない限り、化合物への言及は、任意の異性体（例えば、ジアステレオマーまたはエナンチオマー）、塩、溶媒、多形体、および同種のものを含む薬剤として許容される形態での化合物を含みうる。特に、化合物が光学的に活性である場合には、化合物への言及は、化合物のエナンチオマーおよびエナンチオマーのラセミ混合物のそれぞれを含みうる。

【 0 0 5 8 】

上記の方法は、T L R によって介在される細胞活性の調節を検出するアッセイを使用しうる。したがって、上記の方法は、1 つもしくはそれ以上の活性を選択的に調節する広範囲の化合物を同定する強力な手段でありうる。こうして同定された化合物は、医薬組成物へ組み込まれうる。かかる医薬組成物は以下に詳細に記載されている。

30

【 0 0 5 9 】

別の態様においては、本発明は、特定の T L R 調節プロファイルを有する標的化合物を同定する方法を提供する。一般に、この方法は、標的 T L R 調節プロファイルを選択し、被験化合物の T L R 調節プロファイルを測定し、かつ被験化合物の T L R 調節プロファイルが標的 T L R 調節プロファイルに従う場合には標的化合物として被験化合物を同定するステップを含む。

【 0 0 6 0 】

本明細書で使用される T L R 調節プロファイルは、少なくとも 1 つの T L R 介在細胞活性の調節に特徴的な代表的な効果を含む。標的 T L R プロファイルとの関連で、プロファイルは 1 つもしくはそれ以上の所望の調節された T L R 介在活性を含みうる。例えば、当業者であれば、特定の状態が、例えば、特定の T L R 介在細胞活性（例えば、I L - 1 2 または I F N - の産生）を増加させる薬物を投与することによって有効に治療されることを理解するであろう。

40

【 0 0 6 1 】

他の場合、標的 T L R 調節プロファイルは、2 つもしくはそれ以上の T L R 介在細胞活性に関連した効果を含みうる。例えば、特定の状態は、例えば、1 つの T L R によって介在される細胞活性を増加させるが、第 2 の T L R によって介在される細胞活性を調節することがない薬物を投与することによって有効に治療されうる。さらに別の実施例においては、特定の状態は、例えば、T L R によって介在される細胞活性を増加させ、第 2 の T L

50

Rによって介在される細胞活性を抑制する薬物を投与することによって有効に治療されうる。

【0062】

標的TLR調節プロファイルは、所望の結果を提供するために周知かつ／または必要なほど多いまたは少ない情報を含む。場合によっては、標的TLR調節プロファイルの関連部分は、単一のTLR、例えば、TLR7によって介在される細胞活性の効果を含みうるが、他のTLR、例えば、TLR6またはTLR8によって介在される生体活性の効果には関係ない。これは、例えば、治療される状態に関係した特定の要因またはその生体活性が調節される標的細胞集団のためとみられる。かかる要因としては、標的細胞によって発現されるTLRの同定、標的細胞によって発現されるTLRの発現の相対レベル、標的細胞の位置 インビトロ、インビボ、およびインビボの場合には、標的細胞が位置している組織または器官、および、もしあれば、免疫系の一般状態（例えば、抑制、損傷、刺激）が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、形質細胞様樹状細胞（pDC）はTLR7を発現するが、TLR8の発現を、もしあるとすれば、最小限示す。したがって、TLR8介在細胞活性は、例えば、pDCを活性化するための標的TLR調節プロファイルを考えると概して無意味でありうる。

10

【0063】

被験化合物のTLR調節プロファイルは、適切なやり方で測定されうる。化合物のTLR調節プロファイルを測定する1つの方法は、例えば、被験化合物が特定のTLRによって介在される細胞活性を検出可能に調節するかどうかを判定する詳細に上記されたアッセイなど1つもしくはそれ以上のアッセイを行うことである。あるいは、一部の化合物はすでに1つもしくはそれ以上のTLRの作動薬であることが知られている。例えば、一部の小さな分子IRM化合物はTLR6、TLR7、およびTLR8の1つもしくはそれ以上の作動薬であることが周知である。一部のオリゴヌクレオチドIRM化合物はTLR9の作動薬であることが周知である。場合によっては、被験化合物の少なくとも一部分は、例えば、観察された効果が特定のTLR介在細胞活性と相関しうる場合、化合物を対象に投与する効果の臨床的または逸話的観察に由来しうる。

20

【0064】

被験化合物のTLR調節プロファイルは、標的TLR調節プロファイルと比較のために所望であるほどに多いまたは少ない情報を含む。被験化合物のTLR調節プロファイルに所望の情報の範囲は、少なくとも部分的には、例えば、標的TLR調節プロファイルの判定に対する上記の要因など要因の数に依存しうる。

30

【0065】

特定の標的TLR調節プロファイルを有する被験化合物の同定は、被験化合物のTLR調節プロファイルの標的TLR調節プロファイルとの比較を含む。場合によっては、標的TLR調節プロファイルおよび被験化合物のTLR調節プロファイルは、同じTLR介在細胞活性を含みうるが、それぞれは同じ方向および同じ程度に調節される。かかる場合には、被験化合物は標的TLR調節プロファイルに従うものとして容易に同定されうる。

【0066】

標的TLR調節プロファイルおよび被験化合物のTLR調節プロファイルが同じ程度に異なる一部の場合には、被験化合物は依然として所望のTLR調節プロファイルに従うものとして同定されうる。例えば、被験化合物は、標的TLR調節プロファイルのために、たとえあったとしてもわずかな関連性しか有さない特定のTLR介在細胞活性を調節しうる。例えば、標的TLR調節プロファイルが、TLR7を発現するがTLR8を発現しないpDCの活性化について測定される場合には、TLR7介在細胞活性を調節するが、TLR8介在細胞活性を調節することがない被験化合物は、標的TLR調節プロファイルに従いうる。TLR7介在およびTLR8介在細胞活性を調節する被験化合物も、TLR7介在細胞活性に加えてTLR8介在細胞活性を調節する化合物の能力は特定の用途には適切ではないため、標的TLR調節プロファイルに従うとみなされうる。

40

【0067】

50

あるいは、一部の実施形態においては、本発明の方法は、標的 TLR 調節プロファイルが、被験化合物によって検出可能に調節されない 1 つもしくはそれ以上の TLR 介在細胞活性を含む場合を含む。標的 TLR 調節プロファイルの異なる部分は、被験化合物が、その化合物が標的 TLR 調節プロファイルに正確に従い二次的 TLR 介在細胞活性を調節することがない場合でも、その化合物が一次的 TLR 介在細胞活性を標的 TLR 調節プロファイルに従い調節する場合には、標的 TLR 調節プロファイルに従うものとして同定されうるように、一次的小および二次的に重要であると考えられうる。例えば、標的 TLR 調節プロファイルは、一次的に、TLR 8 介在細胞活性の増加、二次的に、TLR 7 介在細胞活性の減少を含む。TLR 8 介在細胞活性を十分に増加させるが、TLR 7 介在細胞活性を調節することがない化合物は、状況によっては、例えば、TLR 8 介在細胞活性を増加させる利点、TLR 7 介在細胞活性を抑制しない欠点を十分に勝る場合には、標的 TLR 調節プロファイルに従うと考えられうる。

10

【0068】

標的 TLR 調節プロファイルは、標的 TLR 調節プロファイルに従うとして同定された化合物が使用される特定の用途によって変動する。例えば、一部のウイルス感染の治療は、TLR 7 介在細胞活性を増加させる化合物の投与から恩恵を受けることができる。かかる治療は、例えば、I 型インターフェロンの産生を誘発し、一部の抗原提示細胞 (APC) を活性化する。あるいは、一部の腫瘍型の治療は、TLR 8 介在細胞活性を増加させる化合物を用いることから恩恵を受けることができる。かかる TLR 8 作動薬は、例えば、IL-12 分泌の誘導、マクロファージの活性化、マクロファージによる治療部位の浸潤、および強力な炎症反応を含む、TLR 8 が投与される部位に局在される免疫活性を誘導する。さらに別の実施形態においては、一部の腫瘍の治療は、TLR 7 介在および TLR 8 介在細胞反応を増加させる化合物の投与から恩恵を受けることができる。かかる治療は、I 型インターフェロンの産生および IL-12 の産生を誘発するが、これらはともに相乗的に IFN- γ 産生を強化する。IFN- γ 産生は、例えば、黒色腫および腎細胞癌など悪性癌に対する免疫反応の促進を補助する。

20

【0069】

本発明は、上記の方法に従い標的化合物と同定された化合物も提供する。上記の方法は、既知の TLR の任意の数の調節に関係する情報を組込む適切な標的 TLR 調節プロファイルを使用する。したがって、上記の方法は、特定の標的 TLR 調節プロファイルに従う広範囲の化合物を同定するための強力な手段でありうる。こうして同定された化合物は、医薬組成物へ組み込まれる。かかる医薬組成物は以下にきわめて詳細に記載されている。

30

【0070】

別の態様においては、本発明は免疫系の細胞を選択的に調節する方法を提供する。一般に、この方法は、第 1 の免疫系細胞手段および第 2 の免疫系細胞手段を同定し、第 2 の細胞集団の TLR 介在細胞活性を調節するのとは異なる程度に第 1 の細胞集団の TLR 介在細胞活性を調節する化合物を選択し、かつ細胞集団の少なくとも 1 つを調節するのに有効な量で、免疫系の細胞を選択された化合物と接触させるステップを含む。

【0071】

一部の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団は単球を含んで成る。別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団はマクロファージを含んで成る。他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団はランゲルハンス細胞を含んで成る。他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団は、例えば、形質細胞様樹状細胞または単球由来樹状細胞などの樹状細胞を含んで成る。他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団はナチュラルキラー細胞を含んで成る。他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団は、例えば、好中球、好塩基球、または好酸球などの多形核球細胞を含んで成る。他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団は B リンパ球を含んで成る。他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団は T リンパ球を含んで成る。さらに他の別の実施形態においては、少なくとも 1 つの細胞集団は、

40

50

前記細胞型のいずれかの2つもしくはそれ以上の組合せを含んで成る。

【0072】

免疫系は種々の細胞集団を含み、各集団は、免疫チャレンジに対する有効な免疫反応の増加を促進する1つもしくはそれ以上の機能を実行する。種々の細胞集団は、例えば、血液、皮膚、骨髄、胸腺、リンパ系、および間質部位など体の異なる部位に存在する。種々の免疫細胞集団は、異なる程度に種々のTLRも発現する。すなわち、異なるTLR発現プロファイルを有する。例えば、単球は比較的大量のTLR2およびTLR4を発現し、例えば、TLR1およびTLR8発現の顕著なレベル、およびTLR7発現の低レベルも示す。Bリンパ球は、TLR1、TLR6、およびTLR10の比較的高い発現を示すが、例えば、TLR7およびTLR9の発現も示す。形質細胞様樹状細胞(pDC)は主にTLR9を発現するが、一部のTLR1、TLR6、TLR7、およびTLR10も発現する。

10

【0073】

一部の化合物は1つのTLRによって介在される細胞活性を調節しうるが、別のTLRによって介在される細胞活性を調節することができないという発見によって、本発明は、免疫系の細胞を選択的に調節することができる手段を提供する。選択的調節は、免疫細胞の1つの集団を調節する形態をとると同時に、実質的に調節されていない免疫細胞の別の集団の活性を残しうる(すなわち、質的または「オン-オフ」調節)。あるいは、選択的調節は、異なる程度に免疫細胞集団の2つもしくはそれ以上のTLR介在細胞活性の調節を含みうる(すなわち、量的調節)。

20

【0074】

一部の実施形態においては、本発明の方法は、第1の細胞集団のTLR発現プロファイルおよび第2の細胞集団のTLR発現プロファイルの測定を含む。TLR発現プロファイルは、PCR分析、TLRタンパク質合成のパルス-チェース分析、および、免疫組織化学、ウェスタンブロット、またはフローサイトメトリーなどであるがこれらに限定されない分析のためのTLR特異的抗体を用いるTLRの標識化といったTLR発現の検出を含むが、これに限定されない適切な方法によって測定されうる。

【0075】

免疫細胞の選択的調節は、細胞の検出可能な活性化または細胞の検出可能な抑制を含みうる。免疫系の細胞は、インビトロまたはインビボのいずれにかで選択的に調節されうる。インビトロでは、選択的調節は対象からの免疫細胞のサンプルの収集、インビトロでの収集免疫細胞の培養、および細胞培養への選択化合物の添加を含みうる。対象から収集された免疫細胞のサンプルは細胞の異種サンプルでありうる、すなわち、サンプルは2つ以上の免疫細胞集団の細胞を含みうる。細胞が選択的に調節された後、治療細胞は対象へ再導入され、それによって予防的または治療的処置を提供しうる。あるいは、インビトロで選択的に調節された細胞は診断に利用されうる。

30

【0076】

図1は、インビトロで骨髄樹状細胞(mDC)のTLR選択的活性化を示す。2つのドナーのそれぞれから、mDCはTLR7/8作動薬(IRM16)およびTLR8選択的化合物(IRM9)によって活性化されたが、TLR7選択的化合物(IRM36)またはTLR9作動薬(CpG)によっては活性化されなかった。mDC活性化がTLR8選択的である。少なくともTLR7介在細胞活性に関して。という所見は、使用される特定のTLR8選択的作動薬またはTLR7選択的作動薬と無関係である(実施例3、表4)。

40

【0077】

図2は、インビトロで形質細胞様樹状細胞(pDC)のTLR選択的活性化を示す。2つのドナーのそれぞれから、pDCはTLR7/8作動薬(IRM16)、TLR7選択的化合物(IRM36)、およびTLR9作動薬(CpG)によって活性化されたが、TLR8選択的化合物(IRM9)によっては活性化されなかった。

【0078】

50

一部の実施形態においては、インビトロで選択的に調節された細胞は、対象からの収集ではなく遺伝子組換えされうる。かかる細胞は、例えば、TLR介在細胞活性のさらなる解明など実験的手段として利用されうる。

【0079】

インビボでは、選択的調節は、選択された化合物の対象への投与を含みうる。選択された化合物は、局所、注射（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、皮内）、吸入、摂取、経皮、または経粘膜送達を含むが、これらに限定されない適切なやり方で投与されうる。

【0080】

対象において免疫細胞を選択的に調節するために有効な選択された化合物の特定量は、少なくとも部分的に、1つもしくはそれ以上の要因に依存しうる。かかる要因としては、投与される特定の化合物、対象の免疫系の状態（例えば、抑制、損傷、刺激）、調節される細胞の同定および位置、化合物の投与経路、調節される細胞のTLR発現プロファイル、および所望の結果（例えば、予防的または治療的処置）を含むが、これらに限定されない。したがって、すべてのアプリケーションのために、免疫細胞を選択的に調節するために有効な化合物の量を一般に記載することは実際的ではない。しかし、当業者は、かかる要因を正当に考慮した上で適切な量を容易に判定することができる。

10

【0081】

免疫系の細胞を選択的に調節するために有効な選択された化合物の量は、標的細胞集団（例えば、単球、マクロファージ、樹状細胞、B細胞、T細胞等）の少なくとも1つのTLR介在細胞活性（例えば、サイトカイン産生）の変化を誘発するために十分な量である。

20

【0082】

少なくとも1つのTLR介在細胞活性を変化させるために必要な化合物の正確な量は、当技術分野で周知の要因によって変動しうるが、一部の実施形態においては、その量は約100 ng/kg ~ 約50 mg/kg、例えば、約10 µg ~ 約5 mg/kgの用量でありうる。他の実施形態においては、その量は、適切な溶液中で選択された化合物の約0.001 µM ~ 約100 µMの最終濃度を提供するのに十分な量でありうる。選択された化合物の最小量は、上記の要因によって変動しうるが、一部の実施形態においては、0.001 µM、0.003 µM、0.01 µM、0.03 µM、0.1 µM、0.3 µM、1.0 µM、3.0 µM、または10 µMでありうる。同様に、選択された化合物の最大量は、上記の要因によって変動しうるが、一部の実施形態においては、100 µM、30 µM、10 µM、3 µM、1.0 µM、0.3 µM、または0.1 µMでありうる。

30

【0083】

上記のとおり、TLR介在細胞活性を選択的に調節する化合物は、医薬組成物へ組込まれうる。かかる組成物は、1つもしくはそれ以上のTLR介在細胞活性を選択的に調節することによって治療可能な状態の治療に有用でありうる。

【0084】

TLR選択的化合物は、単一の治療薬として治療計画で投与されうる。あるいは、本発明の化合物は、別のTLR選択的化合物と、または、例えば、追加のIRM化合物、免疫原、補助薬、抗ウイルス薬、抗生物質、抗癌剤等など1つもしくはそれ以上の活性剤と組合せて投与されうる。

40

【0085】

したがって、本発明は、複数のTLR介在細胞活性を選択的に調節することによって治療可能な状態を治療する方法も提供する。一般に、この方法は、状態の治療に有効な標的TLR調節プロファイルを同定し、標的TLR調節プロファイルに従うTLR調節プロファイルを有するIRM化合物を選択し、かつ状態を治療するために有効な量のIRM化合物を対象に投与するステップを含む。

【0086】

一部の実施形態においては、標的TLR調節プロファイルは、例えば、TLR6介在細胞活性の調節などのTLR6介在細胞活性を含む。かかる実施形態においては、標的調節

50

プロフィールは実質的に T L R 7 介在細胞活性の調節を含まない。

【 0 0 8 7 】

一部の実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 6 介在細胞活性の調節など T L R 6 介在細胞活性を含む。一部のかかる実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、実質的に T L R 7 介在細胞活性の調節を含まない。

【 0 0 8 8 】

一部の実施形態においては、標的 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 7 介在細胞活性の調節など T L R 7 介在細胞活性を含む。一部のかかる実施形態においては、標的調節プロフィールは実質的に T L R 6 介在細胞活性の調節を含まない。一部の別の実施形態においては、標的 T L R 調節プロフィールは実質的に T L R 8 介在細胞活性の調節を含まない。

10

【 0 0 8 9 】

一部の実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 7 介在細胞活性の調節などの T L R 7 介在細胞活性を含む。一部のかかる実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、実質的に T L R 6 介在細胞活性の調節を含まない。一部の別の実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは実質的に T L R 8 介在細胞活性の調節を含まない。

【 0 0 9 0 】

一部の実施形態においては、標的 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 8 介在細胞活性の調節など T L R 8 介在細胞活性を含む。一部のかかる実施形態においては、標的調節プロフィールは実質的に T L R 7 介在細胞活性の調節を含まない。

20

【 0 0 9 1 】

一部の実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 8 介在細胞活性の調節などの T L R 8 介在細胞活性を含む。一部のかかる実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、実質的に T L R 7 介在細胞活性の調節を含まない。

【 0 0 9 2 】

一部の実施形態においては、標的 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 9 介在細胞活性の調節など T L R 9 介在細胞活性を含む。

30

【 0 0 9 3 】

一部の実施形態においては、I R M 化合物 T L R 調節プロフィールは、例えば、T L R 9 介在細胞活性の調節などの T L R 9 介在細胞活性を含む。

【 0 0 9 4 】

一部の実施形態においては、I R M 化合物は T L R 6 選択的化合物である。別の実施形態においては、I R M 化合物は T L R 7 選択的化合物である。他の別の実施形態においては、I R M 化合物は T L R 8 選択的化合物である。さらに他の別の実施形態においては、I R M 化合物は T L R 9 選択的化合物である。

【 0 0 9 5 】

状態の治療は、予防的または治療的のいずれかの処置を含みうる。本明細書で使用される予防的処置は、状態の症状または徴候の開始前に開始される処置を指す。したがって、予防的処置は一般に、(1) 処置を受ける対象がその状態を獲得する可能性を削減する、(2) 獲得された状態の重症度を削減する、または (3) その両方、のために計画されている。本明細書で使用される治療的処置は、状態の症状または徴候の開始後に開始される処置を指す。したがって、治療的処置は、状態の進行を制限または削減するために計画されている。場合によっては、治療的処置の結果として、完全解決点に至るまで、状態の好転が生じうる。

40

【 0 0 9 6 】

標的 T L R 介在細胞活性プロフィールの同定は、どの免疫系細胞集団が状態の予防的または治療的処置のために適切に提供されているかを判定し、次いで同定された細胞集団の

50

どの TLR 介在細胞活性が所望の治療を提供するために調節されているか判定するステップを含みうる。

【0097】

IRM 化合物の TLR 調節プロファイルは、TLR 介在細胞活性の調節を検出するために計画された 1 つもしくはそれ以上のアッセイを行うことによって測定されうる。あるいは、IRM 化合物の TLR 調節プロファイルは、臨床的または逸話的観察によっても測定されうる。

【0098】

標的 TLR 調節プロファイルに従う TLR 調節プロファイルを有する IRM 化合物の選択は、特定の TLR 調節プロファイルを有する標的化合物を同定するためのアッセイに 10
関係する上記と同じ考慮を含む。

【0099】

TLR 選択的化合物を投与することによって治療されうる状態としては、

(a) ウイルス性疾患、例えば、アデノウイルス、ヘルペスウイルス（例えば、HSV - I、HSV - II、CMV、または VZV）、ポックスウイルス（例えば、痘瘡またはワクシニアなどのオルトポックスウイルス、または伝染性軟属腫）、ピコルナウイルス（例えば、ライノウイルスまたはエンテロウイルス）、オルトミクソウイルス（例えば、インフルエンザウイルス）、パラミクソウイルス（例えば、パラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、および呼吸器合胞体ウイルス（RSV））、コロナウイルス（例えば、SARS）、パポバウイルス（例えば、性器いぼ、通常のいぼ、または 20
足底いぼの原因となるものなどパピローマウイルス）、肝炎ウイルス（例えば、B 型肝炎ウイルス）、フラビウイルス（例えば、C 型肝炎ウイルスまたはデングウイルス）、またはレトロウイルス（例えば、HIV などのレンチウイルス）による感染に起因する疾患など、

(b) 細菌性疾患、例えば、エシェリキア属、エンテロバクター属、サルモネラ属、ブドウ球菌属、赤痢菌属、リステリア属、アエロバクター属、ヘリコバクター属、クレブシエラ属、プロテウス属、シュドモナス属、連鎖球菌属、クラミジア属、マイコプラズマ属、肺炎球菌、ナイセリア属、クロストリジウム属、桿菌、コリネバクテリウム属、ミコバクテリウム属、カンピロバクター属、ビブリオ属、セラチア属、プロビデンシア属、クロモバクテリウム属、ブルセラ属、エルギニア属、ヘモフィルス属、またはボルデテラ属 30
の細菌による感染に起因する疾患など、

(c) 他の感染症、例えば、クラミジア、カンジダ症、アスペルギルス症、ヒストプラズマ症、酵母菌腫を含むがこれらに限定されない真菌性疾患、またはマラリア、ニューモシスティスカリニ肺炎、リーシュマニア症、クリプトスポリジウム症、トキソプラズマ症、およびトリパノソーマ感染症を含むがこれらに限定されない寄生虫性疾患など、および

(d) 腫瘍性疾患、例えば、上皮内腫瘍、子宮頸部形成異常、光線角化症、基底細胞癌、扁平上皮細胞癌、腎細胞癌、カポジ肉腫、黒色腫、腎細胞癌、骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、皮膚 T 細胞リンパ腫、B 細胞リンパ腫、および毛様細胞白血病を含むがこれらに限定されない白血病、および他の癌など、

(e) T_H2 介在、アトピー性疾患、例えば、アトピー性皮膚炎または湿疹、好酸球増加 40
症、喘息、アレルギー、アレルギー性鼻炎、およびオーメン症候群など、

(f) 一部の自己免疫疾患、例えば、全身性エリテマトーデス、本態性血小板血症、多発性硬化症、円板状狼瘡、円形脱毛症など、および

(g) 創傷修復と関連した疾患、例えば、ケロイド形成の抑制、および他の種類の瘢痕（例えば、慢性創傷を含むがこれに限定されない創傷治癒の強化）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0100】

また、TLR 選択的化合物は、体液性および / または細胞介在免疫反応のいずれかを生じる物質、例えば、生ウイルス、細菌、または寄生虫免疫原、不活性化ウイルス、腫瘍由来、原虫、生物由来、真菌、または細菌免疫原、トキシイド、トキシン、自己抗原、多糖 50

類、タンパク質、糖タンパク質、ペプチド、細胞ワクチン、DNAワクチン、自己ワクチン、組換えタンパク質、糖タンパク質、ペプチド、および同種のものなどとともに使用し、例えば、BCG、コレラ、ペスト、チフス、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、インフルエンザA、インフルエンザB、パラインフルエンザ、ポリオ、狂犬病、麻疹、おたふくかぜ、風疹、黄熱病、破傷風、ジフテリア、b型インフルエンザ菌、ヒト型結核菌、髄膜炎菌および肺炎球菌ワクチン、アデノウイルス、HIV、水痘、サイトメガロウイルス、デング熱、猫白血病、家禽ペスト、HSV-1およびHSV-2、豚コレラ、日本脳炎、呼吸器合胞体ウイルス、ロタウイルス、パピローマウイルス、黄熱病、およびアルツハイマー病などとともに使用するワクチン補助薬として有用でありうる。

【0101】

10

一部のTLR選択的化合物は、免疫機能の障害を有する個体において特に有用でありうる。例えば、一部の化合物は、例えば、移植患者、癌患者、およびHIV患者における細胞介在免疫の抑制後に生じる日和見感染症および腫瘍を治療するために使用されうる。

【0102】

一部の実施形態においては、TLR選択的化合物は、上記の小さな有機IRM分子を含む既知のIRM化合物、または上記のプリン誘導体、小さな複素環化合物、アミド誘導体、およびオリゴヌクレオチド配列でありうる。あるいは、本発明の一部の実施形態で使用されるTLR選択的化合物は、本発明による方法の一部を含む、TLR選択的化合物を同定する適切な方法によってTLR選択的化合物と同定された化合物でありうる。

【0103】

20

TLR選択的化合物は、対象に投与するために適した製剤で提供されうる。適切な種類の製剤は、例えば、米国特許第5,736,553号明細書、米国特許第5,238,944号明細書、米国特許5,939,090号明細書、米国特許第6,365,166号明細書、米国特許第6,245,776号明細書、米国特許第6,486,186号明細書、欧州特許第EP0394026号明細書、および米国特許出願公開第2003/0199538号明細書に記載されている。TLR選択的化合物は、溶液、懸濁液、乳剤、または混合物の形を含むがこれらに限定されない適切な形で提供されうる。TLR選択的化合物は、薬剤として許容される賦形剤、担体、または溶媒とともに製剤で提供されうる。例えば、製剤は、例えば、クリーム、軟膏、エアロゾル製剤、非エアロゾルスプレー、ゲル、ローション、および同種のものなど従来の局所剤形で送達されうる。製剤はさらに、例えば、補助薬、皮膚浸透促進薬、着色剤、香料、香味料、保湿剤、増粘剤、および同種のものなど1つもしくはそれ以上の添加剤を含みうる。

30

【0104】

製剤は、例えば、経口的または非経口的など適切なやり方で投与されうる。本明細書で使用される経口的は、経口摂取を含む消化管を通じた投与を指す。非経口的は、例えば、静脈内、筋内、経皮、皮下、経粘膜（例えば、吸入によって）、または局所など消化管を通じたもの以外の投与を指す。

【0105】

一部の実施形態においては、TLR選択的化合物は、対象に対して、例えば、約0.001%～約10%（別段に規定されていない限り、本明細書において提示されたすべての割合は、全製剤に対する重量/重量である）の製剤で対象に投与されうるが、一部の実施形態においては、TLR選択的化合物はこの範囲外の濃度でTLR選択的化合物を提供する製剤を用いて投与されうる。一部の実施形態においては、この方法は、約0.01%～約1%のTLR選択的化合物を含む製剤、例えば、約0.1%～約0.5%のTLR選択的化合物を含む製剤を対象に投与するステップを含む。

40

【0106】

状態を治療するために有効なTLR選択的化合物の量は、所望の治療的または予防的利点を提供するのに十分な量である。状態を治療するためのTLR選択的化合物の正確な量は、状態、TLR選択的化合物の物理的・化学的性質、担体の性質、所定投与計画、対象の免疫系の状態（例えば、抑制、損傷、刺激）、TLR選択的化合物の投与方法、および製

50

剤が投与される種を含むが、これらに限定されない当技術分野で周知の要因によって変動する。したがって、可能なすべてのアプリケーションのために、状態を治療するための TLR 選択的化合物の有効な量を構成する量を一般に記載することは実際的ではない。しかし、当業者は、かかる要因を正當に考慮した上で適切な量を容易に判定することができる。

【0107】

一部の実施形態においては、本発明の方法は、例えば、約 100 ng/kg ~ 約 50 mg/kg の用量を対象に提供するのに十分な TLR 選択的化合物を投与するステップを含むが、一部の実施形態においては、この方法はこの範囲外の濃度で TLR 選択的化合物を投与することによって実行されうる。これらの実施形態の一部においては、この方法は、対象に約 10 µg/kg ~ 約 5 mg/kg の用量、例えば、約 100 µg/kg ~ 約 1 mg/kg の用量を提供するのに十分な TLR 選択的化合物を投与するステップを含む。

10

【0108】

投与計画は、少なくとも部分的に、状態、TLR 選択的化合物の物理的・化学的性質、担体の性質、投与される TLR 選択的化合物の量、対象の免疫系の状態（例えば、抑制、損傷、刺激）、TLR 選択的化合物の投与方法、および製剤が投与される種を含むが、これらに限定されない当技術分野で周知の要因によって変動する。したがって、可能なすべてのアプリケーションのために、状態を治療するために有効な投与計画を一般に記載することは実際的ではない。しかし、当業者は、かかる要因を正當に考慮した上で適切な量を容易に判定することができる。

20

【0109】

本発明の一部の実施形態においては、TLR 選択的化合物は、例えば、1 日 1 回 ~ 複数回投与されうるが、一部の実施形態においては、本発明の方法は、この範囲外の頻度で TLR 選択的化合物を投与することによって実行されうる。一部の実施形態においては、TLR 選択的化合物は週約 1 回 ~ 1 日約 3 回投与されうるが、例えば、TLR 選択的化合物の 1 日 1 回の投与が可能である。

【0110】

状態のために治療される生物は、植物または動物、特に脊椎動物でありうる。好ましくは、疾患のために治療される生物は、ヒト、齧歯類、犬、猫、豚、羊、山羊、または乳牛など哺乳動物であるが、これらに限定されない。

30

【0111】

一部の実施形態においては、選択された化合物は、以下に詳細が記載されている小さな有機 IRM 分子を含む既知の IRM 化合物、または上記のプリン誘導体、小さな複素環化合物、アミド誘導体、およびオリゴヌクレオチド配列でありうる。あるいは、選択された化合物は、あるいは、本発明による方法の一部を含む、かかる化合物を同定する適切な方法によって同定された少なくとも 1 つの TLR 介在細胞活性を選択的に調節することが可能な化合物でありうる。

【0112】

本発明における使用に適した IRM 化合物としては、5 員窒素含有複素環に融合した 2 - アミノピリジンを含む化合物が挙げられる。かかる化合物としては、例えば、アミド置換イミダゾキノリンアミン、スルホンアミド置換イミダゾキノリンアミン、ウレア置換イミダゾキノリンアミン、アリールエーテル置換イミダゾキノリンアミン、複素環エーテル置換イミダゾキノリンアミン、アミドエーテル置換イミダゾキノリンアミン、スルホンアミドエーテル置換イミダゾキノリンアミン、ウレア置換イミダゾキノリンエーテル、チオエーテル置換イミダゾキノリンアミン、および 6 - 、7 - 、8 - 、または 9 - アリールまたはヘテロアリール置換イミダゾキノリンアミンなどの置換イミダゾキノリンアミンを含むがこれらに限定されない、例えば、イミダゾキノリンアミン、アミド置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、スルホンアミド置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、ウレア置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、アリールエーテル置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、複素環エーテル置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、アミ

40

50

ドエーテル置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、スルホンアミドエーテル置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、ウレア置換テトラヒドロイミダゾキノリンエーテル、およびチオエーテル置換テトラヒドロイミダゾキノリンアミンを含むがこれらに限定されないテトラヒドロイミダゾキノリンアミン、アミド置換イミダゾピリジンアミン、スルホンアミド置換イミダゾピリジンアミン、ウレア置換イミダゾピリジンアミン、アリールエーテル置換イミダゾピリジンアミン、複素環エーテル置換イミダゾピリジンアミン、アミドエーテル置換イミダゾピリジンアミン、スルホンアミドエーテル置換イミダゾピリジンアミン、ウレア置換イミダゾピリジンエーテル、およびチオエーテル置換イミダゾピリジンアミンを含むがこれらに限定されないイミダゾピリジンアミン、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン、6, 7 - 融合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン、イミダゾナフチリジンアミン、テトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン、オキサゾロキノリンアミン、チアゾロキノリンアミン、オキサゾロピリジンアミン、チアゾロピリジンアミン、オキサゾロナフチリジンアミン、チアゾロナフチリジンアミン、およびピリジンアミン、キノリンアミン、テトラヒドロキノリンアミン、ナフチリジンアミン、またはテトラヒドロナフチリジンアミンに融合した1H - イミダゾ - 二量体が挙げられる。

10

【0113】

一部の実施形態においては、IRM化合物は、置換イミダゾキノリンアミン、テトラヒドロイミダゾキノリンアミン、イミダゾピリジンアミン、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン、6, 7 - 融合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン、イミダゾナフチリジンアミン、テトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン、オキサゾロキノリンアミン、チアゾロキノリンアミン、オキサゾロピリジンアミン、チアゾロピリジンアミン、オキサゾロナフチリジンアミン、またはチアゾロナフチリジンアミンでありうる。

20

【0114】

本明細書で使用される置換イミダゾキノリンアミンは、アミド置換イミダゾキノリンアミン、スルホンアミド置換イミダゾキノリンアミン、ウレア置換イミダゾキノリンアミン、アリールエーテル置換イミダゾキノリンアミン、複素環エーテル置換イミダゾキノリンアミン、アミドエーテル置換イミダゾキノリンアミン、スルホンアミドエーテル置換イミダゾキノリンアミン、ウレア置換イミダゾキノリンエーテル、チオエーテル置換イミダゾキノリンアミン、または6 - 、7 - 、8 - 、または9 - アリール、またはヘテロアリール置換イミダゾキノリンアミンを指す。本明細書で使用される置換イミダゾキノリンアミンは、具体的かつ明確に、1 - (2 - メチルプロピル) - 1H - イミダゾ[4, 5 - c]キノリン - 4 - アミンおよび4 - アミノ - , - ジメチル - 2 - エトキシメチル - 1H - イミダゾ[4, 5 - c]キノリン - 1 - エタノールを除外する。

30

【実施例】

【0115】

以下の実施例は、本発明の特徴、利点、および他の詳細をさらに例示するためのみに選択されている。しかし、これらの実施例がこの目的に役立つと同時に、使用される特定の材料および量ならびに他の条件および詳細が、本発明の範囲を過度に限定するものと解釈されるべきではないことが明確に理解されるべきである。

【0116】

40

【表 6】

表 4

化合物	化学名	文献
IRM1	2-(エトキシメチル)-1-(2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第5, 389, 640号明細書 実施例40
IRM2	2-メチル-1-[2-(3-ピリジン-3-イルプロポキシ)エチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46193号パンフ レット 実施例34
IRM3	N-(2-[2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]エトキシ)エチル)-N-メチルシクロヘキサ ンカルボキサミド	米国特許出願第10/165, 449号 明細書 実施例73
IRM4	1-[2-(ベンジルオキシ)エチル]-2-メチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46189号パンフ レット 実施例127
IRM5	N-(8-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c] キノリン-1-イル]オクチル)-N'-フェニルウレア	米国特許出願第10/028255号明 細書 実施例148
IRM6	2-ブチル-1-[5-(メチルスルホニル)ペンチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46192号パンフ レット 実施例11
IRM7	N-(3-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c] キノリン-1-イル]プロピル)-4-メチルベンゼンスルホンアミ ド	米国特許第6, 331, 539号明細書 *
IRM8	N-[4-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イ ル)ブチル]シクロヘキサノカルボキサミド	米国特許出願第10/027218号明 細書 実施例 204
IRM9	2-プロピルチアゾロ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 110, 929号明細書 実施例 12
IRM10	N'-[2-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c][1, 5]ナフチ リジン-1-イル)エチル]-2-アミノ-4-メチルペンタンアミド	米国特許第6, 194, 425号明細書 実施例 102
IRM11	N'-[4-(4-アミノ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチ ル]-2-フェンオキシベンズアミド	米国特許第6, 451, 810号明細書 実施例14
IRM12	N'-[2-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1- イル)エチル]-1-プロパンスルホンアミド	米国特許第6, 331, 539号明細書 実施例17
IRM13	N-[2-[2-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1 -イル)エトキシ)エチル]-N'-フェニルウレア	米国特許出願第10/164816号明 細書 実施例 50
IRM14	1-[4-[(3, 5-ジクロロフェニル)チオ]ブチル]-2-エチル-1H-イ ミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/165222号明 細書 実施例44
IRM15	N-[2-[4-アミノ-2-(エトキシメチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノ リン-1-イル]エチル]-N'-(3-シアノフェニル)ウレア	国際公開第00/76518号パンフ レット*
IRM16	4-アミノ-2-エトキシメチル- α , α -ジメチル6, 7, 8, 9-テトラ ヒドロ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-エタノール	米国特許第5, 352, 784号明細書 実施例91
IRM17	4-アミノ- α , α -ジメチル2-メトキシエチル-1H-イミダゾ[4, 5 -c]キノリン-1-エタノール	米国特許第5, 389, 640号明細書 実施例111

10

20

30

40

【表 7】

(〔表 6〕 のつづき)

IRM18	4-アミノ-2-ブチル- α , α , 6, 7-テトラメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-1-エタノール	米国特許第5, 494, 916号明細書 実施例52
IRM19	N-(2-[2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]エトキシ]エチル)-N'-フェニルウレア	国際公開第02/46191号パンフ レット 実施例1
IRM20	1-[4-[3, 5-ジクロロフェニル]スルホニル]ブチル-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許出願第10/165222号明 細書 実施例46
IRM21	N-(2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]エチル)-N'-sec-ブチルチオウレア	国際公開第00/76518号パンフ レット*
IRM22	N-(2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]-1, 1-ジメチルエチル)メタンスルホンアミド	米国特許第6, 331, 539号明細書 *
IRM23	N ² -[2-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c][1, 5]ナフチリジン-1-イル)エチル]-5-ブロモ-2-フルアミド	米国特許第6, 194, 425号明細書 実施例 206
IRM24	N ¹ -[4-(4-アミノ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチル]-1-ナフトアミド	米国特許第6, 451, 810号明細書 実施例 38
IRM25	1-(2-[3-[3-(ジメチルアミノ)フェニル]プロポキシ]エチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46189号パンフ レット 実施例15
IRM26	N-(2-[4-アミノ-2-(エトキシメチル)-6, 7-ジメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-1-イル]エチル)メタンスルホンアミド	米国特許第6, 525, 064号明細書 *
IRM27	2-ブチルチアゾロ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 110, 929号明細書 実施例18
IRM28	N ³ -[4-(4-アミノ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチル]-3-キノリンカルボキサミド	米国特許第6, 451, 810号明細書 実施例40
IRM29	1-([2-(4-ニトロフェノキシ)エトキシ]メチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46189号パンフ レット 実施例83
IRM30	N ² -[4-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチル]-2-ナフタレンスルホンアミド	米国特許第6, 331, 539号明細書 実施例32
IRM31	1-[2-(ベンゾ[b]フラン-2-イルメトキシ)エチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46193号パンフ レット 実施例 12
IRM32	N-[3-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)プロピル]-N'-フェニルウレア	米国特許出願第10/028255号明 細書 実施例 146
IRM33	1-(5-ベンゼンスルホニル-ペンチル)-2, 6, 7-triメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-4-イルアミン	米国特許出願第60/387, 268号 明細書*
IRM34	4-アミノ- α , α , 2-トリメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-エタノール	米国特許第5, 266, 575号明細書 実施例 C1

10

20

30

40

【表 8】

(【表 6】のつづき)

IRM35	1-[2-[3-(3-ピリジル)プロポキシ]エチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	国際公開第02/46193号パンフレット 実施例33
IRM36	N-[4-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチル]メタンスルホンアミド	米国特許第6, 331, 539号明細書*
IRM37	N-[3-[4-アミノ-2-(エトキシメチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]プロピル]-N'-(3-シアノフェニル)チオウレア	国際公開第00/76518号パンフレット*
IRM38	N-[4-(4-アミノ-2-メチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)ブチル]ピペリジン-1-カルボキサミド	米国特許第6, 541, 485号明細書*
IRM39	N-[2-(4-アミノ-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)-1, 1-ジメチルエチル]-N'-フェニルウレア	米国特許第6, 573, 273号明細書*
IRM40	4-アミノ- α , α -ジメチル-2-エトキシメチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-エタノール	米国特許第5, 389, 640号明細書 実施例99
IRM41	1-(2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第4, 689, 338号明細書 実施例99
IRM42	N ² -[2-(4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4, 5-c][1, 5]ナフチリジン-1-イル)エチル]-5-プロモ-2-チオフェンカルボキサミド	米国特許第6, 194, 425号明細書 実施例204
IRM43	N-[8-(4-アミノ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)オクチル]ベンズアミド	米国特許出願公開第2003/0144283号明細書 実施例191
IRM44	2-[4-(4-アミノ-2-ブチル-1-メチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-8-イル)オキシ]-1-モルホリン-1-イルエタノン	米国特許出願第60/508, 634号 明細書 実施例32
IRM45	1-[1-[(3-フェニルプロポキシ)メチル]プロピル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 670, 372号明細書 実施例109
IRM46	4-(4-アミノ-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)-1-フェニルブタン-1-オン	米国特許出願第60/524, 961号 明細書 実施例3
IRM47	2-メチル-1-[2-[(3-フェニルプロパ-2-イニル)]オキシ]エチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 670, 372号明細書 実施例 118
IRM48	N-[4-[4-アミノ-8-(ベンジルオキシ)-2-エチル-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル]ブチル]ベンズアミド	米国特許出願第60/498, 270号 明細書 実施例82
IRM49	N-(2-[2-(4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)エトキシ]エチル)モルホリン-4-カルボキサミド	米国特許第6, 656, 938号明細書 実施例5
IRM50	2-エチル-1-[4-(イソプロピルチオ)ブチル]-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-4-アミン	米国特許第6, 667, 312号明細書 実施例43
IRM51	N, N'-ビス(2-[2-(4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ[4, 5-c]キノリン-1-イル)エトキシ]エチル)テレフタルアミド	米国特許出願第10/670, 957号 明細書 実施例6

*この化合物は、具体的に例示されていないが、引例において開示された合成方法を用いて容易に調製されうる。

10

20

30

40

50

【0117】

細胞

HEK293細胞 - 不死化ヒト胚腎細胞、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(American Type Culture Collection)(バージニア州(VA)、マナッサス(Manassas))より入手可能、ATCC第CRL-1573号。

Namalawa細胞 - パーキットリンパ腫リンパ芽球様細胞、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(American Type Culture Colle

ction) (バージニア州 (VA)、マナッサス (Manassas)) より入手可能、ATCC 第 CRL - 1432 号。

【0118】

実施例 1

HEK293 培地を、1.5 g/L 重炭酸ナトリウム、0.1 mM 非必須アミノ酸、および 1.0 mM ピルビン酸ナトリウムを含有するように調整した 2 mM L-グルタミンおよび Earle 平衡塩液 (インビトロジェン (Invitrogen) 社 (メリーランド州 (MD)、ロックビル (Rockville))、10% 加熱不活性化ウシ胎仔血清を含む 90% 最小必須培地 (MEM) から調製した。HEK293 細胞を HEK293 培地中の細胞を一夜、37、8% CO₂ 下にインキュベートすることによって培養した。

10

【0119】

トランスフェクションの 24 時間前、HEK293 細胞を 10 cm 皿 (コーニング (Corning) 430167 (コーニング (Corning) 社 (ニューヨーク州 (NY)、コーニング (Corning)) に 37、8% CO₂ 下に付着した。細胞を (1) (a) 未修飾 (HEK293 ベクター)、(b) 発現可能なヒト TLR7 遺伝子 (HEK293 - TLR7) 含有、または (c) 発現可能な TLR8 遺伝子 (HEK293 - TLR8) 含有の pIRES (BD バイオサイエンス・クローンテック (Bio Sciences Clontech) (カリフォルニア州 (CA)、パロアルト (Palo Alto))、および (2) NF B - luc レポーター (ストラタジーン (Stratagene) (カリフォルニア州 (CA)、ラ・ホーヤ (La Jolla)) を Fugene 6 トランスフェクション試薬 (ロシュ・ディアグノスティクス (Roche - Diagnostics) 社 (インディアナ州 (IN)、インディアナポリス (Indianapolis)) を用いて 10:1 の比でメーカーの説明書に従い共トランスフェクションした。トランスフェクション後 24 時間、プレートをインキュベートし、次いで 2 週間、G - 418 (400 μg/mL) 中に選択した。発現可能な TLR7 遺伝子、発現可能な TLR8 遺伝子、または空のベクターのいずれかを含有する G - 418 耐性細胞を、刺激実験のために G - 418 を補充した HEK293 培地中に展開した。

20

【0120】

トランスフェクションされた細胞を白色不透明 96 穴プレート (コスター (Costar) 3917、コーニング (Corning) 社 (ニューヨーク州 (NY)、コーニング (Corning)) 中に HEK293 培地 100 μl 中ウェル当り 5 × 10⁴ 細胞の濃度でプレーティングし、37、8% CO₂ 下に 4 時間インキュベートした。DMSO 中 1 mM で IRM 化合物 1 μl (最終 IRM 濃度 10 μM) または対照として 1 μL DMSO で細胞を刺激した。次いで、プレートをさらに 16 時間、37、5% CO₂ 下にインキュベートした。ルックライト (LucLite) キット (パッカード・インスツルメント (Packard Instrument) 社 (カリフォルニア州 (CA)、メリデン (Meriden)) を用いてルシフェラーゼシグナルを読取った。LMAX 照度計 (モレキュラー・デバイシス (Molecular Devices) 社) (カリフォルニア州 (CA)、サニーバール (Sunnyvale)) でルミネセンスを測定した。

30

【0121】

結果は表 5 に示されており、DMSO 対照と比較した NF B 誘発ルシフェラーゼシグナルの倍増として表されている。

40

【0122】

【表 9】

表 5

化合物	TLR7	TLR8
IRM1	4.05	1.02
IRM2	4.16	0.91
IRM3	6.37	1.14
IRM4	4.98	1.06
IRM5	3.38	0.94
IRM6	8.46	0.90
IRM7	6.22	0.86
IRM8	6.04	0.99
IRM9	1.53	10.11
IRM10	0.64	9.24
IRM11	1.44	10.69
IRM12	1.16	8.84
IRM13	0.86	6.25
IRM14	0.67	4.18
IRM15	0.92	5.52
IRM16	5.54	8.64
IRM17	2.53	10.18
IRM18	5.06	2.77
IRM19	2.45	7.25
IRM20	4.22	6.04
IRM21	7.08	5.92
IRM22	6.57	7.37

10

20

30

【0123】

実施例 2

別段に規定されていない限り、すべてのインキュベーションは5%CO₂および98%湿度で37℃下に実施された。

【0124】

培養培地を完全RPMI 1640培地（バイオソース・インターナショナル（BioSource International）株式会社（カリフォルニア州（CA）、カマリロ（Camarillo））から調製した。ウシ胎仔血清（アトラス・バイオロジカル（Atlas Biological）株式会社（コロラド州（CO）、フォート・コリンズ（Fort Collins））を最終濃度7.5%（vol/vol）まで添加し、L-グルタミン（バイオソース・インターナショナル（BioSource International）株式会社）を5mMまで添加し、ピルビン酸ナトリウム（バイオソース・インターナショナル（BioSource International）株式会社）を1mMまで添加した。

40

【0125】

Namalwa細胞を培養培地中で一夜インキュベートすることによって成長させた。卓上遠心分離機で遠心分離（5分間1200RPM）することによって細胞を採取し、次いでリン酸緩衝ショ糖中に再懸濁し、濃度を 1.3×10^7 細胞/mLとした。

【0126】

50

各トランスフェクションのために、細胞懸濁液 750 μ l アリコートを経電ポレーションキュベット中に 4 mm のギャップとともに配置した。pIFN- γ 1-luc ベクター 10 μ g および pCI-TLR6 ベクター 10 μ g を電ポレーションキュベットに添加した。細胞およびベクター混合物を室温下に 5 分間インキュベートした。キャパシタンス 500 μ F および 0.27 ボルトに設定したバイオラッド・ジーン・パルサー (BioRad Gene Pulser) (バイオラッド・ラボラトリーズ (BioRad Laboratories)) (カリフォルニア州 (CA)、ハーキュリーズ (Hercules)) を用いて電ポレーションし、次いで室温で 5 分間インキュベートした。

【0127】

10

電ポレーションした細胞を培養培地 10 mL 中に懸濁し、一夜インキュベートした。MACS 死細胞除去キット (ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec)) (カリフォルニア州 (CA)、オーバーン (Auburn)) を用いて死細胞および残屑を 24 時間後に除去した。培養培地 10 mL 中に細胞を再懸濁し、さらに 24 時間インキュベートした。

【0128】

G418 (プロメガ (Promega) 社 (ウィスコンシン州 (WI)、マディソン (Madison)) を最終濃度が 1 mg/mL になるまで添加することによってトランスフェクションした細胞を選択し、その細胞を 7 日間インキュベートした。

【0129】

20

選択したトランスフェクションされた細胞を計算し、培養培地中に濃度が 1×10^6 細胞/mL になるまで再懸濁した。細胞の 100 μ l アリコートを経電ポレーションキュベット (コーニング (Corning) 株式会社 (ニューヨーク州 (NY)、コーニング (Corning)) のウェル中に配置した。表 1 からの IRM 化合物 1.0 μ L (100% DMSO 中 1 mM で調製) を、IRM 化合物の最終濃度が 10 μ M になるように一部の細胞アリコートに添加した。陽性対照として、一部の細胞アリコートを IRM 化合物の代わりにセンダイウイルスでインキュベートした。陰性対照として、一部の細胞アリコートを IRM 化合物を含有しない DMSO でインキュベートした。すべての場合に、細胞を 18 時間インキュベートした。

【0130】

30

1 体積の再構成ルックライトプラス (LucLight Plus) (パッカー・インスツルメント (Packard Instrument) 社 (カリフォルニア州 (CA)、メリデン (Meriden)) を各アリコートの細胞に添加する前にプレートを室温に平衡化した。プレートの各ウェルを、5 分暗順応で設定した L J L アナリスト (Analyst) (L J L バイオシステムズ (L J L Biosystems) 株式会社 (カリフォルニア州 (CA)、サニーベール)) で読取った。

【0131】

結果は表 6 に示されており、DMSO 対照と比較した IFN- γ 1-誘導ルシフェラーゼシグナルの増倍として表されている。

【0132】

40

【表 1 0】

表 6

化合物	TLR6	TLR7
IRM23	0.90	2.02
IRM24	0.00	3.38
IRM25	0.04	2.89
IRM26	1.50	2.48
IRM42	0.98	3.54
IRM43	1.07	2.17
IRM14	2.73	1.40
IRM27	6.28	1.32
IRM28	2.27	0.96
IRM29	4.57	1.32
IRM30	4.38	1.28
IRM31	3.40	1.63
IRM32	7.47	1.77
IRM33	13.12	1.99
IRM44	6.10	1.60
IRM45	5.56	1.87
IRM46	3.75	1.83
IRM47	9.42	1.91
IRM48	4.56	1.62
IRM49	10.92	1.95
IRM50	8.80	1.91
IRM51	3.67	1.74
IRM1	7.93	2.43
IRM3	10.24	2.86
IRM6	13.61	3.09
IRM8	12.49	2.89
IRM16	12.95	2.96
IRM21	17.98	3.48
IRM22	16.25	3.59
IRM34	10.80	3.37
IRM35	6.72	2.33
IRM19	12.60	2.63

10

20

30

40

【0133】

実施例 3 - TLR 選択的化合物による pDC および mDC の選択的調節

0.5 M EDTA、pH 8.0 (インビトロジェン (Invitrogen) 社 (ニューヨーク州 (NY)、グランドアイランド (Grand Island)) 750 μ L を充填した 60 mL 注射器に全血を収集した。カルシウムまたはマグネシウムを含有しないダルベッコ (Dulbecco) リン酸緩衝生理食塩水 (DPBS、(バイオソース・インターナショナル (Biosource International) 株式会社 (カリフォルニア州 (CA)、カマリロ (Camarillo)) 中で血液を 1:1 に希釈し

50

、ヒストパーク (Histopaque) - 1077 (シグマ・ケミカル (Sigma Chemical) 社 (ミズーリ州 (MO)、セントルイス (St. Louis)) でオーバーレイした。細胞を 2000 RPM で 30 分間、25 °C 下に遠心分離した。軟膜層を単離し、1350 RPM で 10 分間、25 °C 下に DPBS で 3 回洗浄した。

【0134】

ミルテニー・マイクロビーズ・テクノロジー・システム (Miltenyi Microbead technology system) (ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec) (カリフォルニア州 (CA)、オーバーン (Auburn)) を用いて、形質細胞様樹状細胞 (pDC) を PBMC から単離した。PBMC を 4 分離緩衝液 (PBS - pH 7.2、0.5% BSA - 2.5 gm、2 mM 0.5 M EDTA) 中に 10^7 全細胞当り $30 \mu\text{L}$ で再懸濁した。BDCA - 4 マイクロビーズ (カタログ番号 130 - 090 - 532、ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec)) および FcR 遮断試薬 (カタログ番号 130 - 059 - 901、ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec)) を 10^7 全細胞当り $10 \mu\text{L}$ で添加し、15 分間、4 °C 下にインキュベートした。 10^7 細胞当り分離緩衝液 1 mL を添加し、1350 RPM で 10 分間、25 °C 下に遠心分離することによって細胞を洗浄した。 10^8 全細胞当り分離緩衝液 $500 \mu\text{L}$ 中に細胞を再懸濁した。POSSELD ソフトウェアを用いてミルテニー AUTOMACS によって BDCA - 4⁺ pDC を濃縮した。カラムに保持された細胞を滅菌 50 mL ポリスチレン円錐管へ溶出した。BDCA - 4⁺ pDC を 1350 RPM で 10 分間 25 °C 下に遠心分離し、 1×10^6 細胞/mL で IL - 3 (ペプロテック (PeproTech) 株式会社 (ニュージャージー州 (NJ) ロッキーヒル (Rocky Hill)) で補充した X - VIVO 20 (カムブレックス・バイオ・サイエンス・ウォルカービル (Cambrex Bio Science Walkersville) 株式会社 (メリーランド州 (MD)、ウォルカービル (Walkersville)) に再懸濁した。

【0135】

ミルテニー・マイクロビーズ・テクノロジー・システム (Miltenyi Microbead technology system) (ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec) (カリフォルニア州 (CA)、オーバーン (Auburn)) を用いて、BDCA - 4 陰性細胞画分から血液骨髄樹状細胞 (mDC) を単離した。細胞を 4 分離緩衝液 (PBS - pH 7.2、0.5% BSA - 2.5 gm、2 mM 0.5 M EDTA) 中に 10^7 全細胞当り $20 \mu\text{L}$ で再懸濁した。BDCA - 1 - ビオチン抗体、CD19 マイクロビーズ (カタログ番号 130 - 090 - 506、ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec))、および FcR 遮断試薬 (カタログ番号 130 - 059 - 901、ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec)) をそれぞれ 10^7 全細胞当り $10 \mu\text{L}$ で添加し、15 分間、4 °C 下にインキュベートした。 10^7 細胞当り分離緩衝液 1 mL で体積を増加させることによって細胞を洗浄し、1350 RPM で 10 分間、25 °C 下に遠心分離した。 10^8 全細胞当り分離緩衝液 $500 \mu\text{L}$ 中に細胞を再懸濁した。DEPLETES ソフトウェアを用いてミルテニー Automacs (カタログ番号 201 - 01、ミルテニー・バイオテック (Miltenyi Biotec)) で CD19 マイクロビーズ標識細胞を除去した。CD19 陰性画分から細胞を 1350 RPM で 10 分間、25 °C 下に遠心分離し、 10^8 全細胞当り分離緩衝液 $400 \mu\text{L}$ 中に再懸濁した。抗ビオチンマイクロビーズを 10^7 全細胞当り $10 \mu\text{L}$ で添加し、15 分間、4 °C 下にインキュベートした。細胞を 1350 RPM で 10 分間、25 °C 下に遠心分離し、 10^8 全細胞当り分離緩衝液 $500 \mu\text{L}$ 中に再懸濁した。ミルテニー Automacs POSSELD ソフトウェアを用いて BDCA - 1⁺ mDC を濃縮した。カラムに保持された細胞を滅菌 50 mL ポリスチレン円錐管へ溶出した。BDCA - 1⁺ 細胞を 1350 RPM で 10 分間 25 °C 下に遠心分離し、 1×10^6 細胞/mL で X - VIVO 20 (カムブレックス・バイオ・サイエンス・ウォルカービル (Cambrex Bio Science Walkersville) 株式会社 (メリーランド州 (M

10

20

30

40

50

D)、ウォルカービル(Walkersville))に再懸濁した。

【0136】

上記のとおり単離された血液樹状細胞を一夜、0.03% DMSO 溶媒対照、1 μ M IRM9、1 μ M IRM16、1 μ M IRM36、3 μ M CpG2216 (インビボジーン(InvivoGen) (カリフォルニア州(CA)、ダンディエゴ(Dan Diego))、または20 ng/mL 大腸菌(E. coli) LPS (シグマ・ケミカル(Sigma Chemical) 社(ミズーリ州(MO)、セントルイス(St. Louis))で培養した。ジメチルスルホキシド(DMSO、滅菌細胞培養用、シグマ・ケミカル(Sigma Chemical) 社(ミズーリ州(MO)、セントルイス))中に再構成された化合物を2倍の最終濃度で96穴平底滅菌組織培養ポリスチレンプレート (ベントン・ディキンソン・ラブウェア(Benton-Dickinson Labware) (ニュージャージー州(NJ)、フランクリンレイクス(Franklin Lakes))に添加した。次いで、細胞を2倍の最終濃度で添加した(最終濃度は 1×10^6 細胞/mL)。プレートを16~24時間、37、5% CO₂ 下にインキュベートした。インキュベーション後、プレートを1000 RPMで10分間、25 下に遠心分離した。上清を0.75 mL 滅菌ポリプロピレンマトリックス(Matrix) ボックス(マトリックス(Matrix) (ニューヨーク州(NY)、ハドソン(Hudson))に移し、その後のサイトカイン分析のために-20 下に保存した。

10

【0137】

CD80およびHLA-DRに特異的な抗体で細胞を染色し、フローサイトメトリーで分析した。結果は図1および図2に示されている。CD80に対する染色の増加とともにHLA-DRに対して陽性に染色する細胞により、TLR作動薬刺激の結果として活性化した樹状細胞が同定される。

20

【0138】

実施例4

骨髓DCを単離し、溶媒またはIRM化合物(IRM9、IRM36、IRM37、IRM38、IRM39、IRM40、またはIRM41)で、IRM化合物の最終濃度が3.0 μ Mであったことを除き、実施例3に記載したとおりインキュベートした。

【0139】

IGEN分析を用いることによってIL-12分析を行った。分析を行う2時間以上前に、M-280ストレプトアビジン(Streptavidin) ダイナビーズ(Dynabeads)の1:20希釈をIGENバッファー中で調製した。また、IGENバッファー中でビオチン化IL-12抗体(カタログ番号AHC7129、バイオソース・インターナショナル(Biosource International) 株式会社(カリフォルニア州(CA)、カマリロ(Camarillo))の溶液1 μ g/mLを調製した。1:20のダイナビーズ溶液とビオチン化抗体溶液を混合し、30分間、室温下にインキュベートし、次いで分析が行われるまで4 下に保存した。

30

【0140】

分析を行うために、ダイナビーズ/ビオチン化抗体溶液50 μ Lを96穴プレートの各ウェルに添加した。次に、IGENバッファー中のOri-tagged IL-12抗体(カタログ番号8122、バイオソース・インターナショナル(Biosource International) 株式会社(カリフォルニア州(CA)、カマリロ(Camarillo))の溶液1 μ g/mLのうち25 μ Lを各ウェルに添加した。サンプル25 μ Lを各ウェルに添加したが、各サンプルは標準の希釈または実験的サンプルのいずれかを含有した。

40

【0141】

96穴プレートをタップし、各ウェルの内容を混合し、プレートシーラーでカバーし、室温下に2.5時間インキュベートした。インキュベーション後、200 μ Lの全アッセイ体積用にIGEN PBSバッファー100 μ Lを各ウェルに添加し、hIL-12プロトコルを用いてIGEN M-8アナライザー(IGENインターナショナル(IGE

50

N International) 株式会社 (メリーランド州 (MD)、ゲイサースバーグ (Gaithersburg)) で読取った。結果は、IL-12 の pg/mL で表され、表 7 に示されている。

【0142】

【表 11】

表 7

	賦形剤	IRM40	IRM36	IRM38	IRM41	IRM9	IRM37	IRM39
ドナー3	0	517	57	17	17	693	296	280
ドナー4	0	765	77	20	39	1041	491	400

10

【0143】

本発明の種々の変型および改変は、本発明の範囲および精神を逸脱することなく当業者には明らかとなる。例示の実施形態および実施例は、実例としてのみ提供されており、本発明の範囲を限定することは意図されていない。本発明の範囲は、以下に記載された特許請求の範囲によってのみ限定されている。

【図面の簡単な説明】

【0144】

20

【図 1】 骨髄樹状細胞の選択的活性化を示す棒グラフである。

【図 2】 形質細胞様樹状細胞の選択的活性化を示す棒グラフである。

【図 1】

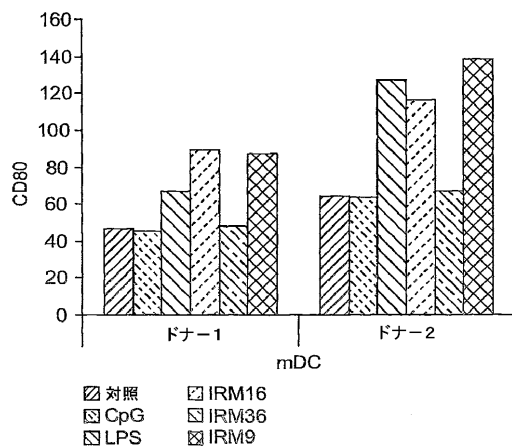


FIG. 1

【図 2】

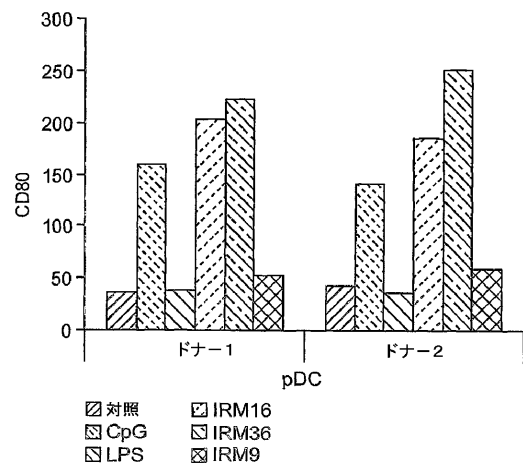


FIG. 2

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US04/06115
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : G01N 33/50; A61K 49/00 US CL : 436/501; 435/7.1; 424/9.2 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 436/501; 435/7.1; 424/9.2 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E, A	US 2004/0023870 A1 (DEDERA et al.) 05 February 2004 (05.02.2004), entire document.	1-6, 9-22, 25-55
Y	US 2003/0022302 A1 (LEWIS et al) 30 January 2003 (30.01.2003), p. 6-7 claim 18.	1-6, 9-22, 25-55
E, Y	WO 03/089602 A2 (YALE UNIVERSITY) 30 October 2003 (30.10.2003), p. 18-21, claims 15-17, 20-22.	1-6, 9-22, 25-55
E, Y	US 2003/0104523 A1 (BAUER et al) 05 June 2003 (05.06.2003), p. 66, Example 21, claims 59, 63-79.	1-6, 9-22, 25-55
A	AKIRA S. et al., Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. Immunol. Letters. 2003, Vol. 85, pages 85-95.	1-6, 9-22, 35-55
A	OZINSKY A. et al., The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. PNAS. 5 December 2000, Vol. 97, No. 25, pages 13766-13771.	1-6, 9-22, 25-55
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 September 2004 (15.09.2004)		Date of mailing of the international search report 07 OCT 2004
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer Rachel K. Hunnicutt Telephone No. (571) 272-1600 <i>J. Roberts for</i>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/06115

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: 7, 8, 23 and 24
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 7, 8, 23, and 24 are drawn to compounds that have yet to be identified. Thus, no meaningful search can be conducted on these claims.
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/06115

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
EAST, MEDLINE, CAPLUS, SCISEARCH, BIOSIS
search terms: TLR, toll like receptor, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, modulation, enhance, inhibit, method, assay

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/10 (2006.01)		A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)		A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 33/00 (2006.01)		A 6 1 P 33/00	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100127085

弁理士 越阪部 倫子

(74)代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72)発明者 フィンク, ジェイソン アール.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 ゴードン, キース ビー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 ゴースキ, ケビン エス.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 グブタ, シャリー ケー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 キウ, シャオホン

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 バシラコス, ジョン ピー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

F ターム(参考) 4B063 QA18 QQ20 QR77 QR80 QS33 QX02

4C084 AA17 MA52 MA55 MA56 MA63 MA65 NA14 ZB262 ZB312 ZB332

ZB352 ZB372