(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2012-149085
(P2012-149085A)
(43)公開日　平成24年8月9日(2012.8.9)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
C07D 213/74	(2006.01)	C07D 213/74	CSP	4C055
A61K 31/4418	(2006.01)	A61K 31/4418		4C086
A61P 1/02	(2006.01)	A61P 1/02		
A61P 1/04	(2006.01)	A61P 1/04		
A61P 1/16	(2006.01)	A61P 1/16		

審査請求 有　請求項の数 1　OL　外国語出願　（全 58 頁）　最終頁に続く

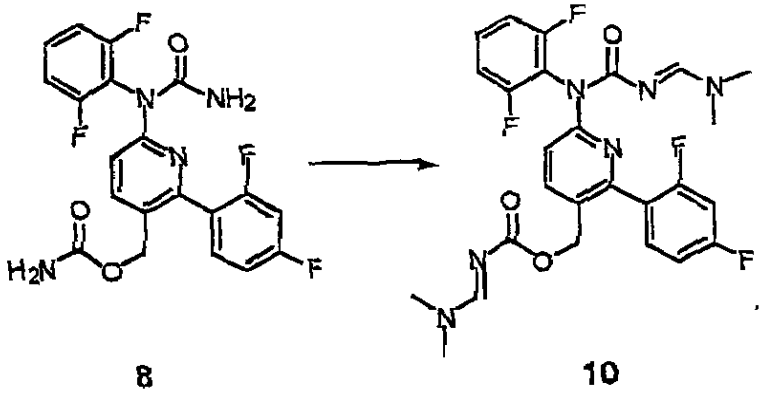
(21)出願番号　特願2012-77626(P2012-77626)
(22)出願日　平成24年3月29日(2012.3.29)
(62)分割の表示　特願2002-519424(P2002-519424)の分割
原出願日　平成13年8月10日(2001.8.10)
(31)優先権主張番号　60/224,719
(32)優先日　平成12年8月11日(2000.8.11)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　598032106
バーテックス　ファーマシューティカルズ　インコーポレイテッド
VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　02139－4242，　ケンブリッジ，　ウェーバリー　ストリート　130
130 Waverly Street, Camridge, Massachusetts 02139－4242, U.S.A.
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｐ３８のインヒビターとしてのピリジン誘導体

(57)【要約】　（修正有）
【課題】細胞増殖、細胞死および細胞外刺激に対する応答に関与する哺乳動物プロテインキナーゼであるP３８のインヒビターとしてのピリジン誘導体の提供。
【解決手段】下記１０に代表される化合物をインヒビターとする薬学的組成物。



8　10

【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
本願明細書に記載された発明。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（発明の分野）
本発明は、細胞増殖、細胞死および細胞外刺激に対する応答に関する哺乳動物のプロテインキナーゼであるｐ３８のインヒビターに関する。本発明はまた、これらのインヒビターの産生方法に関する。本発明はまた、本発明のインヒビターを含む薬学的組成物ならびにこれらの組成物を種々の障害の処置および予防に用いる方法を提供する。
【背景技術】
【０００２】
（発明の背景）
プロテインキナーゼは、細胞外シグナルに対する種々細胞応答に関する。最近、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（ＭＡＰＫ）のファミリーが発見された。このファミリーのメンバーは、これらの基質をリン酸化により活性化するＳｅｒ／Ｔｈｒキナーゼである（Ｂ．Ｓｔｅｉｎら、Ａｎｎ．Ｒｅｐ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．、３１、２８９－９８（１９９６））。ＭＡＰＫは、自身を種々のシグナル（増殖因子、サイトカイン、ＵＶ照射およびストレス誘導因子が挙げられる）により、活性化する。
【０００３】
特に興味を持たれるＭＡＰＫは、ｐ３８である。ｐ３８は、サイトカイン抑制性抗炎症薬結合タンパク質（ＣＳＢＰ）およびＲＫとしても公知である。ｐ３８は、リポ多糖（ＬＰＳ）レセプター（ＣＤ１４）でトランスフェクトされ、ＬＰＳで誘導されたマウスｐｒｅ－Ｂ細胞から単離された。その後ｐ３８は、ヒトおよびマウスにおいてｐ３８をコードするｃＤＮＡとして、単離および配列決定された。活性化ｐ３８は、ストレスによる刺激（例えば、リポ多糖（ＬＰＳ）、ＵＶ、アニソマイシンまたは浸透圧衝撃の処理）およびサイトカインによる刺激（例えば、ＩＬ－１およびＴＮＦ）をうけた細胞において観察された。
【０００４】
ｐ３８キナーゼの阻害は、ＩＬ－１およびＴＮＦの両方の産生の遮断をもたらす。ＩＬ－１およびＴＮＦは、他の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ－６およびＩＬ－８）の産生を刺激し、急性および慢性の炎症性疾患ならびに閉経後骨粗鬆症に関する（Ｒ．Ｂ．Ｋｉｍｂｌｅら、Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ．、１３６、３０５４－６１（１９９５））。
【０００５】
この知見に基づき、ｐ３８は、他のＭＡＰＫと同様に、炎症性刺激（例えば、白血球集積、マクロファージ／単球活性化、組織再吸収、熱、急性期応答および好中球増加症）に対する細胞応答を媒介する役割を有すると考えられる。さらに、ＭＡＰＫ（例えば、ｐ３８）は、癌、トロンビン誘導性血小板凝集、免疫不全障害、自己免疫疾患、細胞死、アレルギー、骨粗鬆症および神経変性障害に関する。ｐ３８のインヒビターはまた、プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ－２の誘導の阻害を介する疼痛管理の領域に関する。ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＩＬ－８またはＴＮＦの過剰発現に関する他の疾患は、ＷＯ９６／２１６５４に示される。
【０００６】
当業者は、既に、ＭＡＰＫを特異的に阻害する薬物開発の試みを始めている。例えば、ＰＣＴ国際公開ＷＯ９５／３１４５１は、ＭＡＰＫ（特に、ｐ３８）を阻害するピラゾール化合物を記載している。しかし、これらのインヒビターのインビボでの有効性は、なお調査中である。
【０００７】
ＷＯ９８／２７０９８、ＷＯ９９／００３５７、ＷＯ９９／１０２９１、ＷＯ９９／５

８５０２、ＷＯ９９／６４４００、ＷＯ００／１７１７５およびＷＯ００／１７２０４に記載されるものを含む、他のｐ３８インヒビターが産生されている。

【０００８】

従って、ｐ３８の他の強力なインヒビター（ｐ３８特異的インヒビターを含む）を開発するべき必要性がなおもおおいに存在し、これらは、ｐ３８活性化に関する種々の状態を処置するのに有用である。

【０００９】

細胞外シグナルに対する細胞応答に関する別のプロテインキナーゼは、ＺＡＰ７０である。Ｔ細胞中のＴ細胞レセプター（ＴＣＲ）が、抗原結合によりトリガーされた場合、次にこれは、ＺＡＰ７０を活性化する。ＺＡＰ７０は、ＴＣＲを、Ｔ細胞分化および増殖に必要な多くの必須シグナル伝達経路に共役するよう作用する。

【００１０】

ＺＡＰ７０の所定の役割は、Ｔ細胞シグナル伝達なので、ＺＡＰ７０は、Ｔ細胞媒介性疾患における役割を有し得る。このような疾患は、以下が挙げられるが、これらに限定されない：移植、自己免疫疾患（例えば、ＲＡ、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、乾癬、シェーグレン症候群、甲状腺炎、肺線維症、閉塞性細気管支炎、溶血性貧血およびヴェーゲナー肉芽腫症、癌（白血病およびリンパ腫を含む）、多発性硬化症、対宿主性移植片病および川崎病。

【００１１】

従って、ＺＡＰ７０活性化に関する種々の状態を処置するの有用な、ＺＡＰのインヒビターを開発すべき大いなる必要性が存在する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１２】

（発明の要旨）

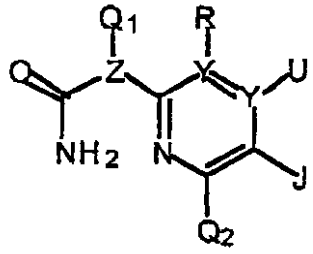
本発明は、ｐ３８および／またはＺＡＰ７０の阻害を示す化合物を提供することにより、この問題に取り組む。

【００１３】

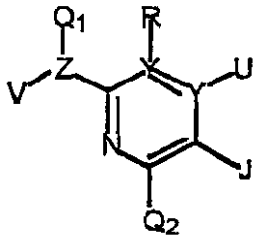
これらの化合物は、以下：

【００１４】

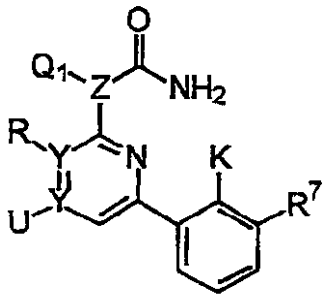
【化１８】



(Ia),

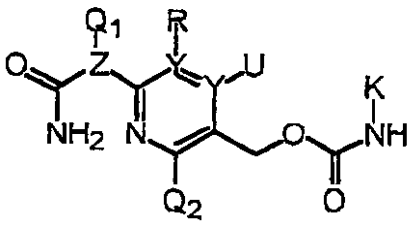


(Ib),



(Ic)

および



(Id),

の一般式を有し、ここでＱ$_1$およびＱ$_2$のそれぞれは、フェニルまたは５～６員環の複素環式芳香族または８～１０員環の二環式（炭素環式芳香族、複素環式芳香族、または炭素環式芳香族および複素環式芳香族の組み合わせを含む）から別個に選択される。

【００１５】

複素環式または複素環は、１～４のヘテロ原子を含み、これらは、Ｎ、Ｏ、Ｓ、ＳＯおよびＳＯ$_2$から別個に選択される。

【００１６】

Ｑ$_1$を構成する環は、１～４の置換基で置換され、これらのそれぞれは、以下から別個に選択される：ハロ；必要に応じてＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’またはＣＯＮＲ’$_2$で置換されるＣ$_1$－Ｃ$_3$アルキル；必要に応じてＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’またはＣＯＮＲ’$_2$で置換されるＯ－（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキル；ＮＲ’$_2$；ＯＣＦ$_3$；ＣＦ$_3$；ＮＯ$_2$；ＣＯ$_2$Ｒ’；ＣＯＮＲ’；ＳＲ’；Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$；ＳＣＦ$_3$；ＣＮ；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）ＯＲ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ$_2$）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ^4）$_2$；ＯＲ^4；ＯＣ（Ｏ）Ｒ^4；ＯＰ（Ｏ）$_3$Ｈ$_2$；またはＮ＝Ｃ－Ｎ（Ｒ’）$_2$。

【００１７】

Ｑ$_2$を構成する環は、必要に応じて、４つまでの置換基で置換され、このそれぞれは、以下から別個に選択される：ハロゲン；必要に応じてＲ’、ＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｎ＝Ｃ－Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｒ$_3$、Ｏ－Ｐ（Ｏ$_3$）Ｈ$_2$またはＣＯＮＲ’$_2$で置換されるＣ$_1$－Ｃ$_3$直鎖または分枝アルキル；Ｏ－（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキル；必要に応じてＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｎ＝ＣＲ’－Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｒ^3、ＯＰ（Ｏ$_3$）Ｈ$_2$、またはＣＯＮＲ’$_2$で置換されるＯ－（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキル；ＮＲ’$_2$；ＯＣＦ$_3$；ＣＦ$_3$；ＮＯ$_2$；ＣＯ$_2$Ｒ’；ＣＯＮＲ’$_2$；Ｒ^3；ＯＲ^3；ＮＲ^3$_2$；ＳＲ^3；Ｃ（Ｏ）Ｒ^3；Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）Ｒ^3；Ｃ（Ｏ）ＯＲ^3；ＳＲ’；Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$；ＳＣＦ$_3$；Ｎ＝ＣＲ’－Ｎ（Ｒ’）$_2$；ＯＲ^4；Ｏ－ＣＯ$_2$Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）ＯＲ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ$_2$）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ^4）$_2$；ＯＲ^4；ＯＣ（Ｏ）Ｒ^4；ＯＰ（Ｏ）$_3$Ｈ$_2$；Ｋ；またはＣＮ。

【００１８】

各Ｒ’は、別個に以下から選択される；水素；（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキル；（Ｃ$_2$－Ｃ$_3$）－アルケニルまたはアルキニル；フェニルまたは以下から選択される１～３の置換基で別個に置換されたフェニル：ハロ、メトキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、メチルまたはエチル；または必要に応じて、以下から選択される１～３の置換基で別個に置換された複素環式５～６員の複素環環：ハロ、メトキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、メチルまたはエチル。

【００１９】

各Ｒは、別個に以下から選択される：－Ｒ^2、－Ｎ（Ｒ^2）$_2$、－ＯＲ^2、ＳＲ^2、－Ｃ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ^2）２、－Ｓ（Ｏ$_2$）－Ｎ（Ｒ^2）$_2$、－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ^{2}または－Ｃ（Ｏ）Ｒ^2。ここで２つの隣接するＲは、必要に応じて、もうひとつに結合し、これらがそれぞれ結合する各Ｙと共に、４～８員環の炭素環または複素環を形成する。

【００２０】

各Ｒ^{2}は、別個に以下から選択される；水素；または（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキルまたは（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルケニル、それぞれ必要に応じて以下で置換されたもの：－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＯＲ’、ＳＲ’、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｃ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｓ（Ｏ$_2$）－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ’、－ＮＳＯ$_2$Ｒ^4、－ＮＳＯ$_2$Ｒ^3、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^3）、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ^4、－Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^3）、－Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^4）、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^3、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^4）、－Ｎ（Ｒ^4）$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（ＮＨ）$_2$またはＲ^3。

【００２１】

各Ｒ^{3}は、別個に以下から選択される；５～８員環芳香族または非芳香族炭素環または複素環式、それぞれ必要に応じて、以下で置換されたもの：Ｒ’、Ｒ^4、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^4、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{4}または－Ｋ；または以下を含む８～１０員環の二環式：炭素環式芳香族、複素環式芳香族、または必要に応じて以下で置換された炭素環式芳香族と複素環式芳香族の組み合わせ：Ｒ’、Ｒ^4、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^4、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{4}または－Ｋ。

【００２２】

各Ｒ^{4}は、別個に以下から選択される；Ｒ’；必要に応じて以下で置換された（Ｃ$_1$－Ｃ$_7$）－直鎖または分枝アルキル：Ｒ’、Ｎ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、ＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$；または必要に応じて以下で置換された５－６員環の炭素環もしくは複素環式：Ｎ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、ＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$。

【００２３】

各Ｒ^{5}は、別個に以下から選択される；水素；または（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキルまたは（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルケニル、それぞれ必要に応じて以下で置換されたもの：－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＯＲ’、ＳＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｓ（０$_2$）－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ’、－Ｎ－Ｓ（Ｏ$_2$）（Ｒ’）、－ＮＳＯ$_2$Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^6）、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^6）、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（ＮＨ）$_2$またはＲ^6。

【００２４】

各Ｒ^{6}は、別個に以下から選択される；５～８員環芳香族または非芳香族炭素環または複素環式、それぞれ必要に応じて、以下で置換されたもの：Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、または－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’；または以下を含む８～１０員環の二環式：炭素環式芳香族、複素環式芳香族、または必要に応じて以下で置換された炭素環式芳香族と複素環式芳香族の組み合わせ：Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、または－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’。

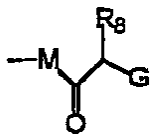
【００２５】

Ｒ^{7}は、以下から選択される：Ｈ、ハロゲンまたは（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）直鎖アルキルもしくは分枝鎖アルキル。

【００２６】

各Ｙは、別個に以下から選択される：ＮまたはＣ。いずれかのＹがＮである場合、Ｙに

結合するＲまたはＵは、孤立電子対である。
【００２７】
Ｚは、ＣＨ、Ｎ、Ｃ（ＯＣＨ$_3$）、Ｃ（ＣＨ$_3$）、Ｃ（ＮＨ$_2$）、Ｃ（ＯＨ）またはＣ（Ｆ）である。
【００２８】
各Ｕは、別個にＲまたはＪから選択される。
【００２９】
各Ｊは、別個に、Ｔで置換された（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$）直鎖または分枝鎖アルキル誘導体から選択される。
【００３０】
各Ｔは、Ｏ（Ｖ）またはＮ（Ｈ）（Ｖ）のいずれかから別個に選択される。
【００３１】
各Ｖは、別個にＣ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（Ｒ）（Ｎ（Ｒ）$_2$）から選択され、ここで窒素上の２つのジェミナルＲは、必要に応じて互いに結合して、４－８員環の炭素環または複素環を形成する。
【００３２】
２つのＲ成分が環を形成する場合、各融合していないＲから末端ハロゲンが失われることは、当業者にとって明白なことである。例えば、環構造がこれら２つのＲ成分（１つは、－ＣＨ$_3$であり、他方は、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$である）を共に結合することによって形成される場合、各Ｒ成分上の１つの末端水素（太字で示される）が失われる。それ故、環構造の生じる部分は、式－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－である。
【００３３】
各Ｋは、別個に以下から選択される：Ｄまたは－ＯＰ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$で置換された（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$）直鎖または分枝鎖アルキル誘導体。
【００３４】
各Ｄは、以下のエナンチオマーから別個に選択される：
【００３５】
【化１９】



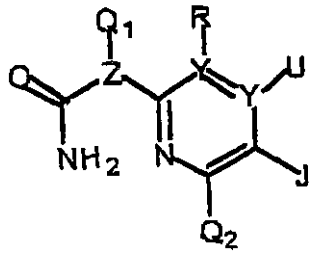
。
【００３６】
各Ｍは、ＯまたはＮＨのいずれかから選択される。
【００３７】
各Ｇは、ＮＨ$_2$、ＯＨまたはＨから別個に選択される。
【００３８】
各Ｒ$_8$は、以下から別個に選択される：Ｈ，ＯＨ、Ｃ（Ｏ）ＯＨ、またはＮ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$もしくはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$で必要に応じて置換された（Ｃ$_1$－Ｃ$_7$）直鎖アルキルまたは分枝鎖アルキル；または５－６員環の炭素環、必要に応じて以下で置換される複素環またはヘテロアリル環式：Ｎ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$。Ｇが、Ｒ$_8$と環を形成する場合、融合していないＧおよびＲ$_8$成分から末端水素が失われることは、当業者に明白である。例えば、環構造は、ＧおよびＲ$_8$成分をとも（１つは、－ＮＨ$_2$であり、他方は、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$である）に結合することによって形成される場合、各Ｒ成分上の１つの末端水素基（太字で示す）が失われる。それ故、環構造の生じる部分は、式－ＨＮ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－である。
【００３９】

別の実施形態において、本発明は、本発明のｐ３８および／またはＺＡＰ７０のインヒビターを含む薬学的組成物を提供する。これらの組成物は、ｐ３８媒介性の種々の障害（例えば、癌、炎症性疾患、自己免疫疾患、崩壊性骨障害、増殖性障害、感染疾患、ウイルス性疾患および神経変性疾患）またはＺＡＰ－７０媒介性障害（移植、自己免疫疾患、癌、多発性硬化症、対宿主性移植片病および川崎病を含む）を処置または予防する方法に利用され得る。これらの組成物はまた、細胞死および過形成を予防する方法に有用であり、従って、発作、心臓発作および器官の低酸素症における再灌流／虚血を処置または予防するのに有用であり得る。この組成物はまた、トロンビン誘導性血小板凝集を予防する方法に有用である。これら上記の方法のそれぞれもまた、本発明の一部である。

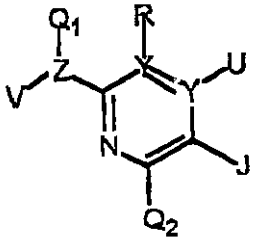
例えば、本願発明は以下の項目を提供する。

（項目１）　以下の式：

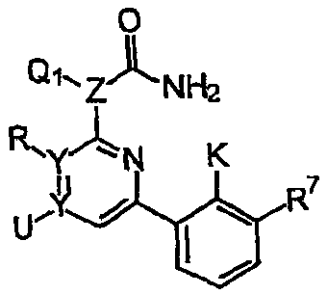
【化１】



(Ia),

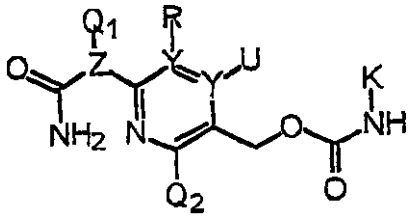


(Ib),



(Ic)

または



(Id),

の化合物であって、

式中、Q_1およびQ_2の各々は、フェニルもしくは５～６員の芳香族複素環式環系、または芳香族炭素環式環、芳香族複素環式環もしくは芳香族炭素環式環と芳香族複素環式環との組合せを含む８～１０員の二環式環系から独立して選択され；

式中、Q_1を構成する環は、１～４つの置換基で置換され、該置換基の各々は、ハロ；NR'_2、OR'、CO_2R'、またはCONR'$_2$で必要に応じて置換されたC_1～C_3アルキル；NR'_2、OR'、CO_2R'、またはCONR'$_2$で必要に応じて置換されたO－（C_1～C_3）－アルキル；NR'_2；OCF_3；CF_3；NO_2；CO_2R'；CONR'；SR'；$S(O_2)N(R')_2$；SCF_3；CN；$N(R')C(O)R^4$；$N(R')C(O)OR^4$；$N(R')C(O)C(O)R^4$；$N(R')S(O_2)R^4$；$N(R')R^4$；$N(R^4)_2$；OR^4；$OC(O)R^4$；$OP(O)_3H_2$；またはN＝C－N（R'）$_2$から独立して選択され；

式中、Q_2を構成する環は、４つまでの置換基で必要に応じて置換され、該値環基の各々は、ハロゲン；R'、NR'_2、OR'、CO_2R'、$S(O_2)N(R')_2$、N＝C－N（R'）$_2$、R^3、O－P（O_3）H_2、またはCONR'$_2$で必要に応じて置換された直鎖または分枝のC_1～C_3アルキル；O－（C_1～C_3－アルキル；NR'_2、OR'、CO_2R'、$S(O_2)N(R')_2$、N＝CR'－N（R'）$_2$、R^3、OP

（O_3）H_2、またはCONR’$_2$で必要に応じて置換されたO－（C_1～C_3）－アルキル；NR'_2；OCF_3；CF_3；NO_2；CO_2R'；CONR’$_2$；R^3；OR^3；$NR^3{}_2$；SR^3；$C(O)R^3$；$C(O)N(R')R^3$；$C(O)OR^3$；SR’；$S(O_2)N(R')_2$；SCF_3；$N=CR'-N(R')_2$；OR^4；$O-CO_2R^4$；$N(R')C(O)R^4$；$N(R')C(O)OR^4$；$N(R')C(O)C(O)R^4$；$N(R')S(O_2)R^4$；$N(R')R^4$；$N(R^4)_2$；OR^4；$OC(O)R^4$；$OP(O)_3H_2$；K；またはCNから独立して選択され；

式中、各R’は、水素；（C_1～C_3）－アルキル；（C_2～C_3）－アルケニルまたはアルキニル；フェニル、またはハロ、メトキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、メチルもしくはエチルから独立して選択される１～３つの置換基で置換されたフェニル；あるいはハロ、メトキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、メチルもしくはエチルから独立して選択される１～３つの置換基で必要に応じて置換された５～６員の複素環式環系、から独立して選択され；

式中、各Rは、水素、$-R^2$、$-N(R^2)_2$、$-OR^2$、SR^2、$-C(O)-N(R^2)_2$、$-S(O_2)-N(R^2)_2$、$-C(O)-OR^2$または$-C(O)R^2$から独立して選択され、ここで２つの隣接したRは、必要に応じて互いに結合し、そしてRがそれぞれ結合している各Yと共に４～８員の炭素環式環または複素環式環を形成し；

式中、各R^2は、水素；または（C_1～C_3）－アルキルもしくは（C_1～C_3）－アルケニル（それぞれが、$-N(R')_2$、－OR’、SR’、$-O-C(O)-N(R')_2$、$-C(O)-N(R')_2$、$-S(O_2)-N(R')_2$、$-C(O)-OR'$、$-NSO_2R^4$、$-NSO_2R^3$、$-C(O)N(R')(R^3)$、$-NC(O)R^4$、$-N(R')(R^3)$、$-N(R')(R^4)$、$-C(O)R^3$、$-C(O)N(R')(R^4)$、$-N(R^4)_2$、$-C(O)N=C(NH)_2$またはR^3で必要に応じて置換される）、から独立して選択され；

式中、各R^3は、５～８員の芳香族もしくは非芳香族の炭素環式環系もしくは複素環式環系（それぞれが、R’、R^4、$-C(O)R'$、$-C(O)R^4$、$-C(O)OR^4$または－Kで必要に応じて置換される）；または芳香族炭素環式環、芳香族複素環式環、もしくは芳香族炭素環式環と芳香族複素環式環の組合せを含む８～１０員の二環式環系（それぞれがR’、R^4、$-C(O)R'$、$-C(O)R^4$、$-C(O)OR^4$または－Kで必要に応じて置換される）、から独立して選択され；

式中、各R^4は、R’；R’、$N(R')_2$、OR’、CO_2R'、$CON(R')_2$、$SO_2N(R')_2$もしくは$SO_2N(R^5)_2$で必要に応じて置換された、（C_1～C_7）－直鎖アルキルもしくは（C_1～C_7）－分枝アルキル；またはN（R’）$_2$、OR’、CO_2R'、$CON(R')_2$、$SO_2N(R')_2$または$SO_2N(R^5)_2$で必要に応じて置換された、５～６員の炭素環式環系もしくは複素環式環系、から独立して選択され；

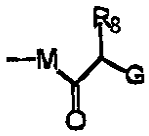
式中、各R^5は、水素、（C_1～C_3）－アルキル、または（C_1～C_3）－アルケニルから独立して選択され；それぞれが、$-N(R')_2$、－OR’、SR’、$-C(O)N(R')_2$、$-S(O_2)-N(R')_2$、$-C(O)-OR'$、$-N-S(O_2)(R')$、$-NSO_2R^6$、$-C(O)N(R')(R^6)$、$-NC(O)R'$，$-N(R')(R^6)$、$-C(O)R^6$、$-C(O)N=C(NH)_2$もしくはR^6で必要に応じて置換され；

式中、各R^6は、それぞれがR’、$-C(O)R'$もしくは$-C(O)OR'$で必要に応じて置換される、５～８員の芳香族もしくは非芳香族の炭素環式環系もしくは複素環式環系；またはそれぞれがR’、$-C(O)R'$もしくは$-C(O)OR'$で必要に応じて置換される、芳香族炭素環式環、芳香族複素環式環もしくは芳香族炭素環式環と芳香族複素環式環との組合せを含む、８～１０員の二環式環系、から独立して選択され；

式中、R^7は、H、ハロゲン、または（C_1～C_3）直鎖アルキルまたは分枝アルキルから選択され；

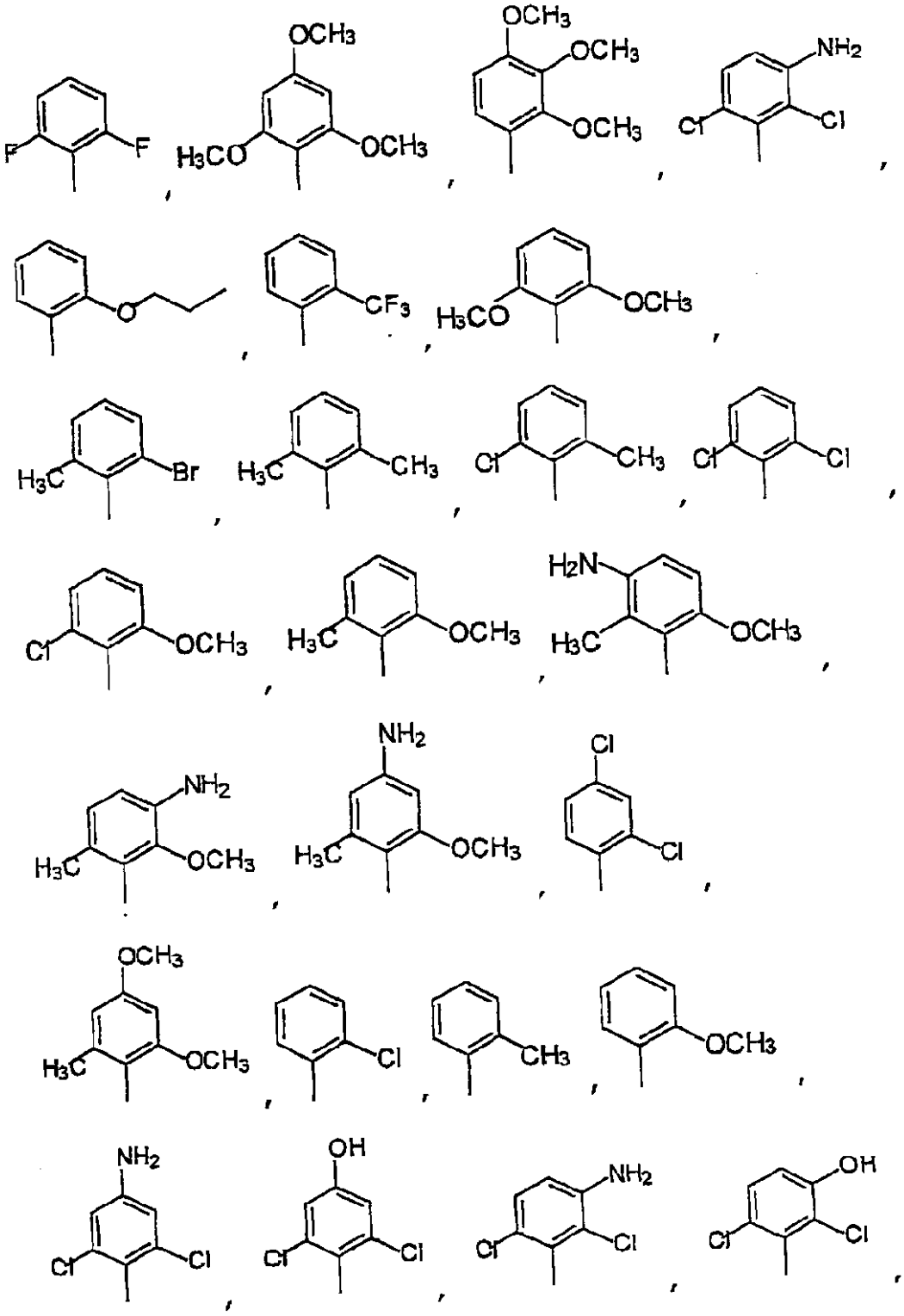
式中、各Yは、NまたはCから独立して選択され、いずれかのYがNである場合、Yに

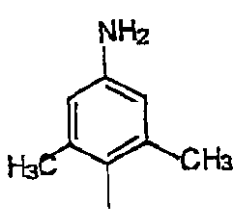
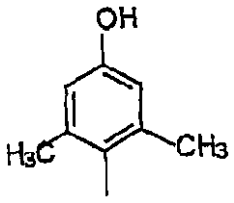
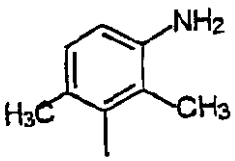
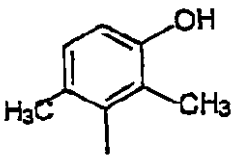
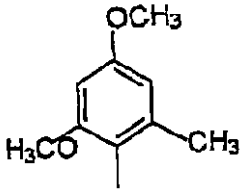
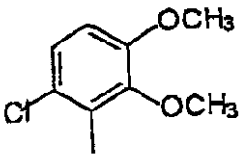
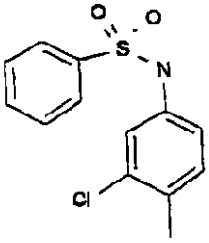
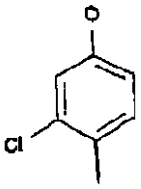
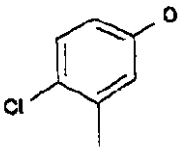
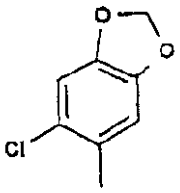
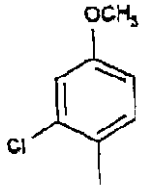
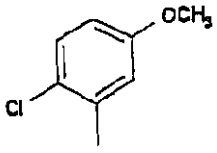
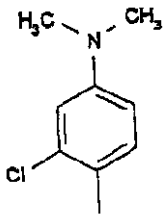
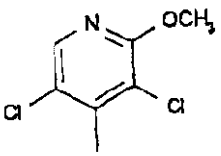
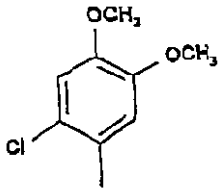
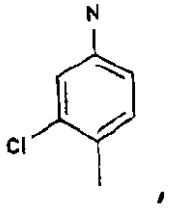
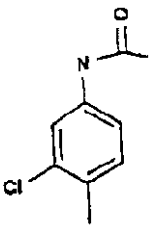
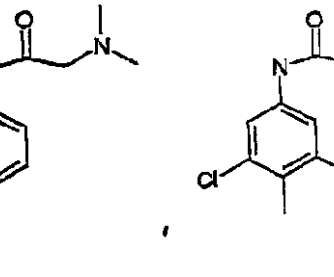
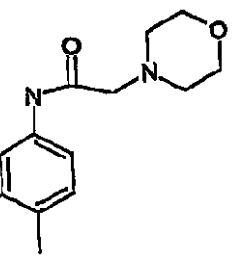
結合しているＲもしくはＵが孤立電子対であり；
式中、Ｚは、ＣＨ、Ｎ、Ｃ（ＯＣＨ$_3$）、Ｃ（ＣＨ$_3$）、Ｃ（ＮＨ$_2$）、Ｃ（ＯＨ）またはＣ（Ｆ）であり；
式中、各Ｕは、ＲまたはＪから独立して選択され；
式中、各Ｊは、Ｔで置換された（Ｃ$_1$～Ｃ$_4$）直鎖もしくは分枝アルキル誘導体から独立して選択され；
式中、各Ｔは、Ｏ（Ｖ）またはＮ（Ｈ）（Ｖ）のいずれかから独立して選択され；
式中、各Ｖは、Ｃ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（Ｒ）（Ｎ（Ｒ）$_2$）から独立して選択され、ここで窒素上の２つのジェミナルＲは、必要に応じて互いに結合して４～８員の炭素環式環もしくは複素環式環を形成し；
式中、各Ｋは、Ｄまたは－ＯＰ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$で置換された（Ｃ$_1$～Ｃ$_4$）直鎖または分枝アルキル誘導体から独立して選択され；
式中、各Ｄは、
【化２】

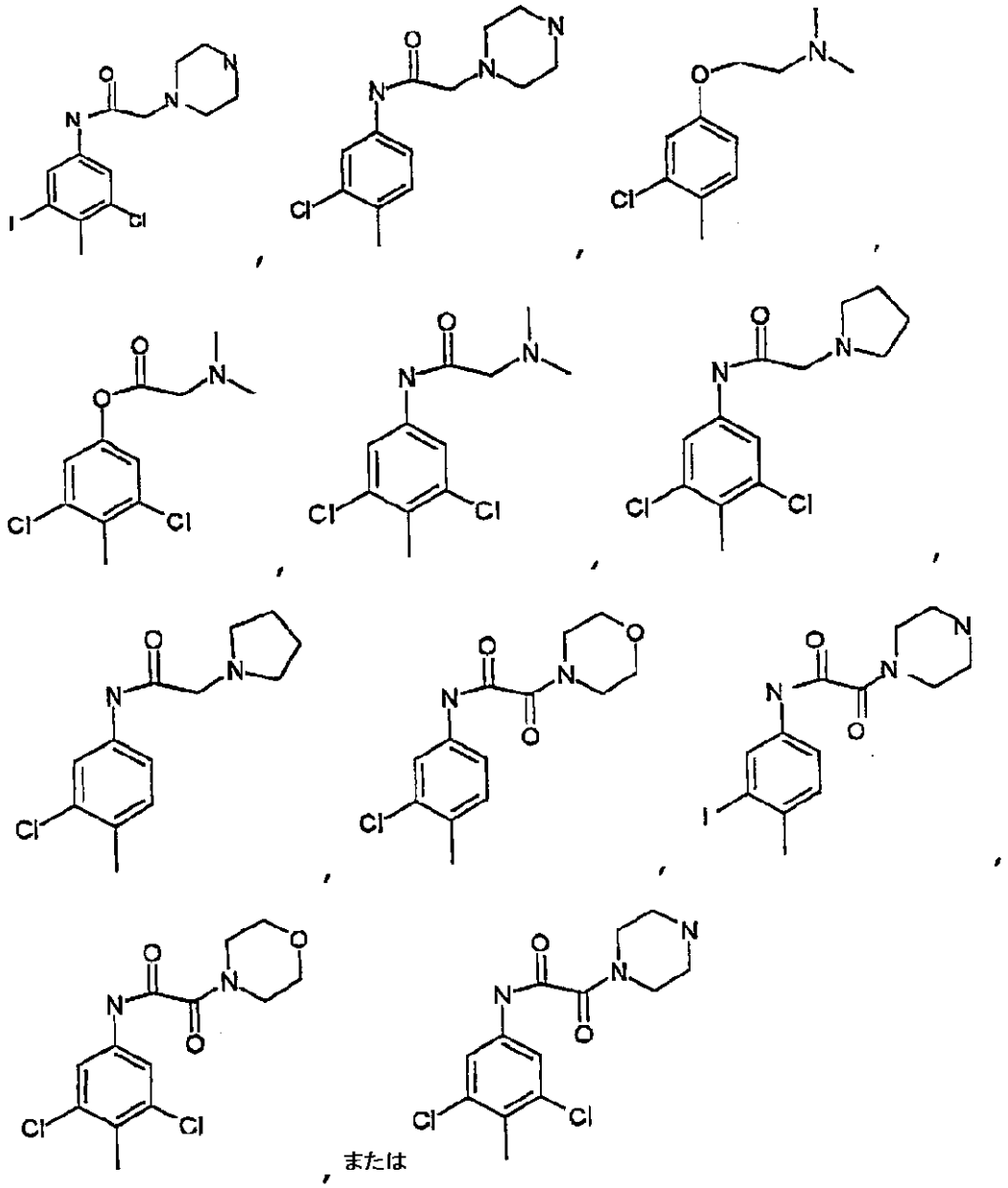


のいずれかの鏡像体から独立して選択され；
式中、各Ｍは、ＯまたはＮＨのいずれかから独立して選択され；
式中、各Ｇは、ＮＨ$_2$、ＯＨ、またはＨから独立して選択され；
式中、各Ｒ$_8$は、Ｈ、ＯＨ、Ｃ（Ｏ）ＯＨ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_7$）－直鎖もしくは分枝アルキル（Ｎ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$で必要に応じて置換される）；またはＮ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$で必要に応じて置換される、５～６員の、炭素環式環系、複素環式環系またはヘテロアリール環系から独立して選択され；ここでＧおよびＲ$_8$は、必要に応じて互いに結合して環を形成する、
化合物。
（項目２）　項目１に記載の化合物であって、ここでＱ$_1$は、クロロ、フルオロ、ブロモ、－ＣＨ$_3$、－ＯＣＨ$_3$、－ＯＨ、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$ＣＨ$_3$、ＮＨ$_2$、３，４－メチレンジオキシ、－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、－ＮＨ－Ｓ（Ｏ）$_2$－フェニル、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ＣＨ$_2$－４－ピリジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－モルホリン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－ピペラジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－ピロリジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）－モルホリン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）－ピペラジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）－ピロリジン、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、または－Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$から独立して選択される１～３つの置換基を含む、フェニルまたはピリジルから選択され、そしてここで該置換基の少なくとも１つは、オルト位にある、化合物。
（項目３）　Ｑ$_1$は、少なくとも２つの置換基を含み、該置換基のうちの２つがオルト位にある、項目２に記載の化合物。
（項目４）　Ｑ$_1$が、以下：

【化３】





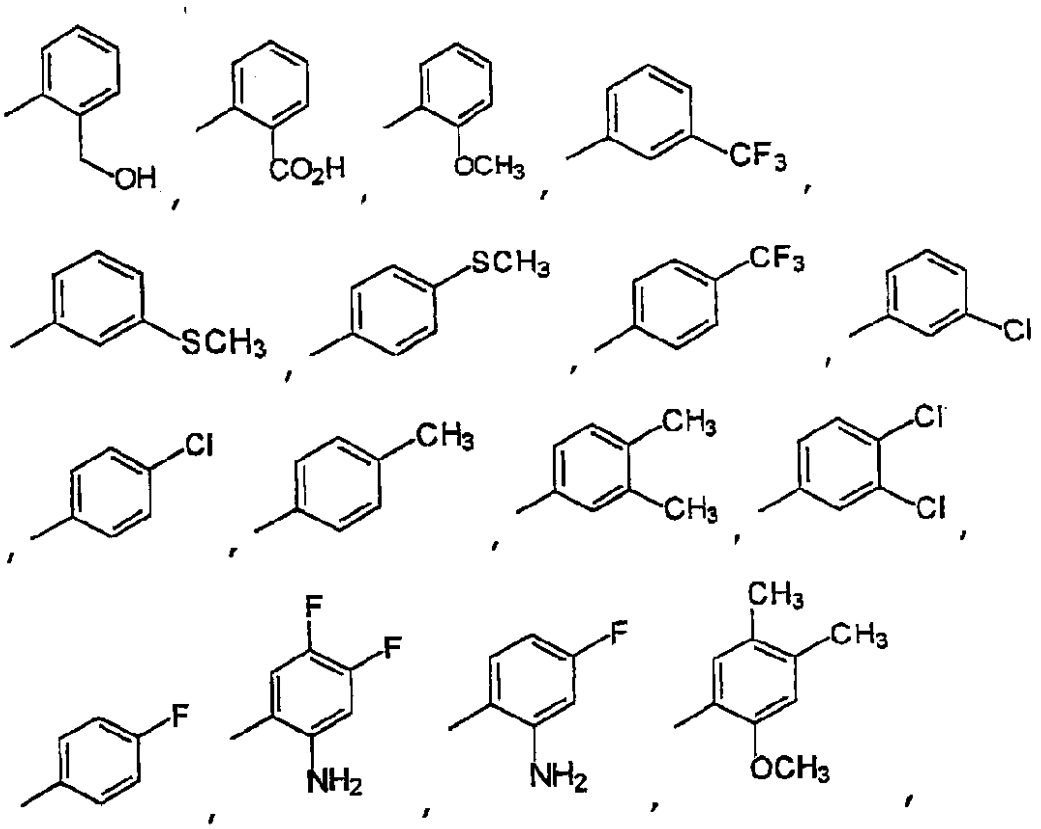
から選択される、項目２に記載の化合物。

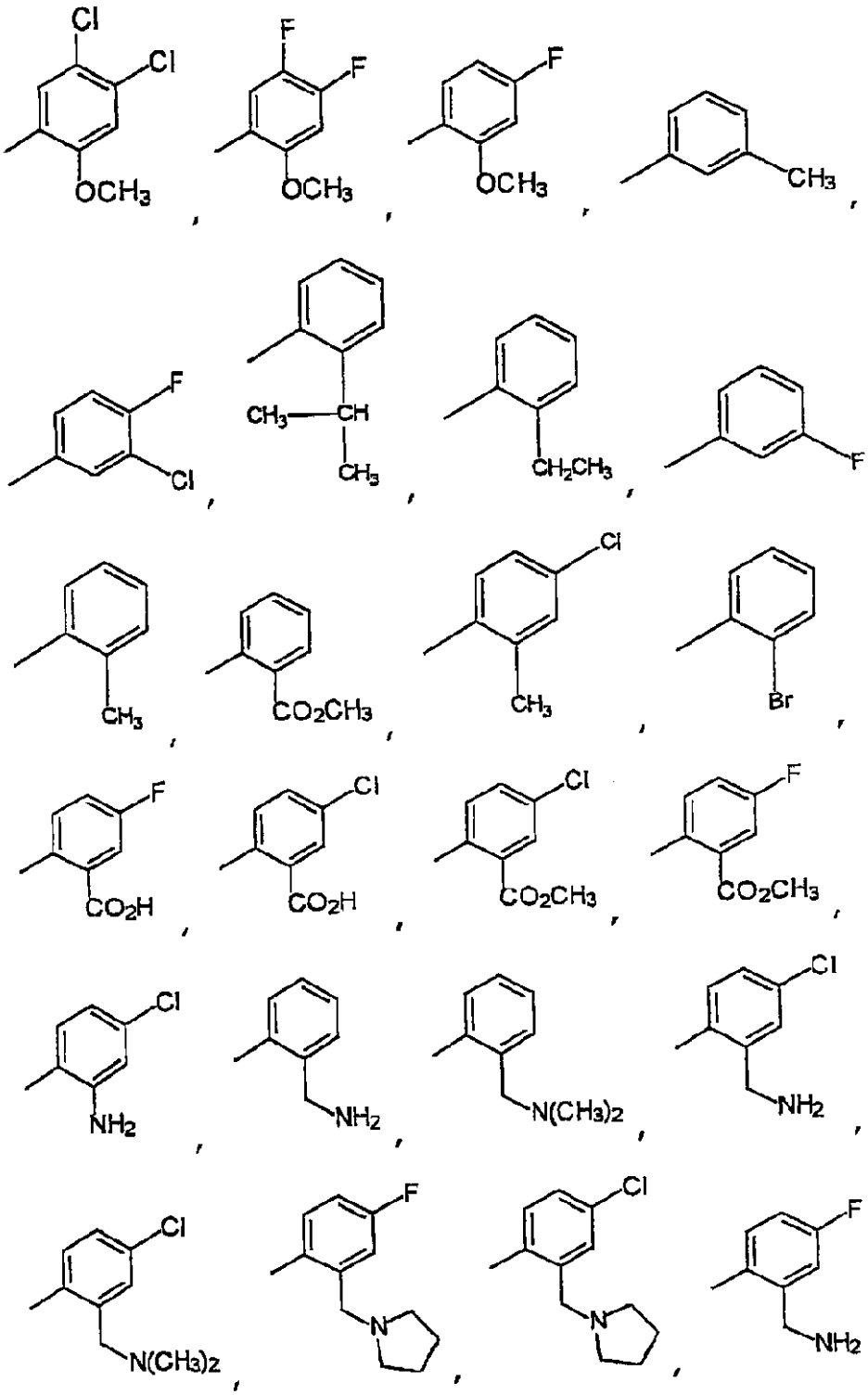
（項目５） Q_1は、２－フルオロ－６－トリフルオロメチルフェニル、２、６－ジフルオロフェニル、２，６－ジクロロフェニル、２－クロロ－４－ヒドロキシフェニル、２－クロロ－４－アミノフェニル、２，６－ジクロロ－４－アミノフェニル、２，６－ジクロロ－３－アミノフェニル、２，６－ジメチル－４－ヒドロキシフェニル、２－メトキシ－３，５－ジクロロ－４－ピリジル、２－クロロ－４，５－メチレンジオキシフェニル、または２－クロロ－４－（Ｎ－２－モルホリノ－アセトアミド）フェニルから選択される、項目４に記載の化合物。

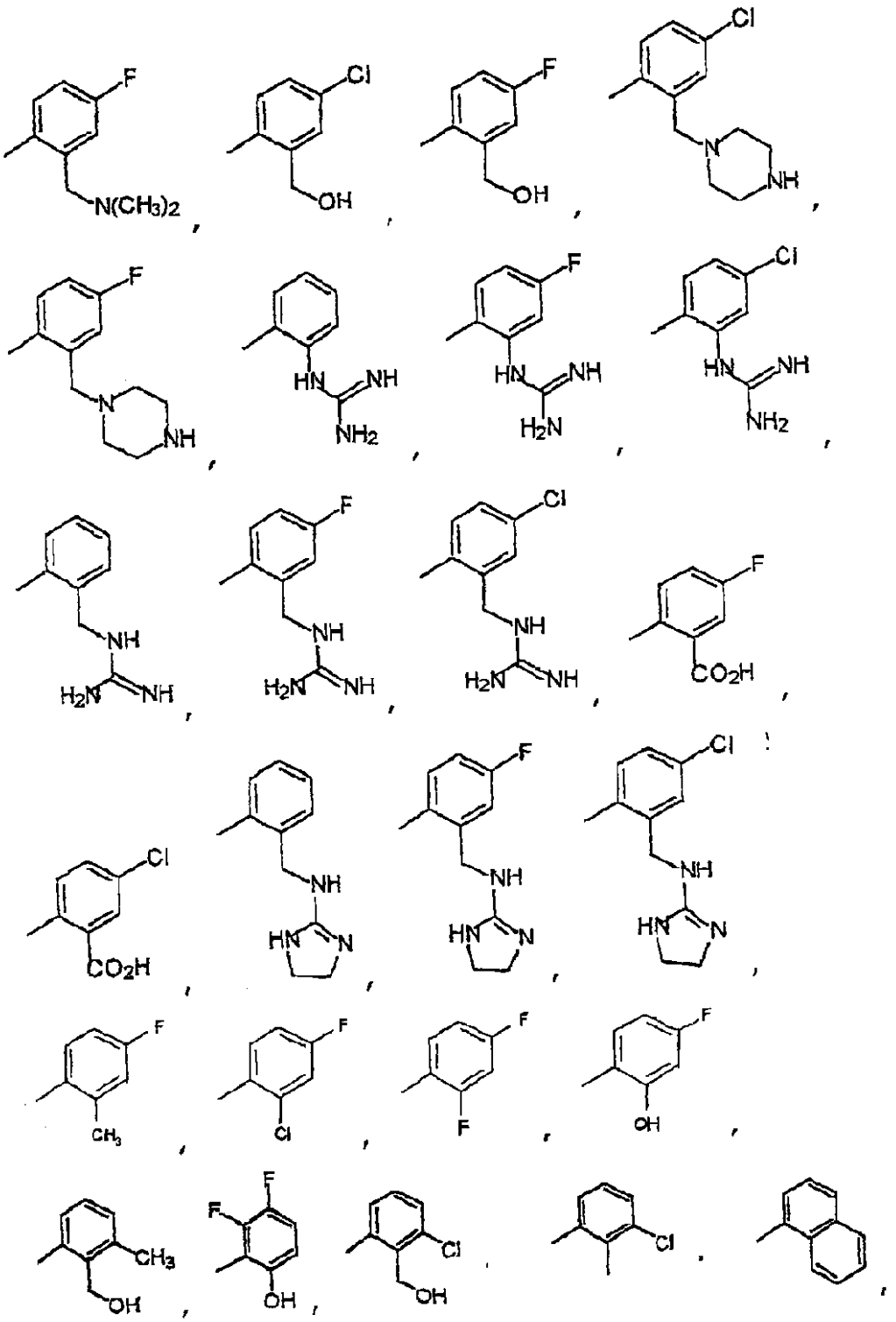
（項目６） Q_2は、フェニル、ピリジルまたはナフチルから選択され、そしてここでQ_2は、必要に応じて３つまでの置換基を含み、該置換基の各々は、クロロ、フルオロ、ブロモ、メチル、エチル、イソプロピル、－OCH_3、－OH、－NH_2、－CF_3、－OCF_3、－SCH_3、－OCH_3、－C（O）OH，－C（O）OCH_3、－CH_2NH_2、－$N(CH_3)_2$、－CH_2－ピロリジンおよび－CH_2OHから独立して選択される、項目１に記載の化合物。

（項目７） Q_2は、以下：

【化４】


OH
CO2H
OCH3
CF3
SCH3
SCH3
CF3
Cl
Cl
CH3
CH3
CH3
Cl
Cl
F
F
NH2
F
NH2
CH3
CH3
OCH3

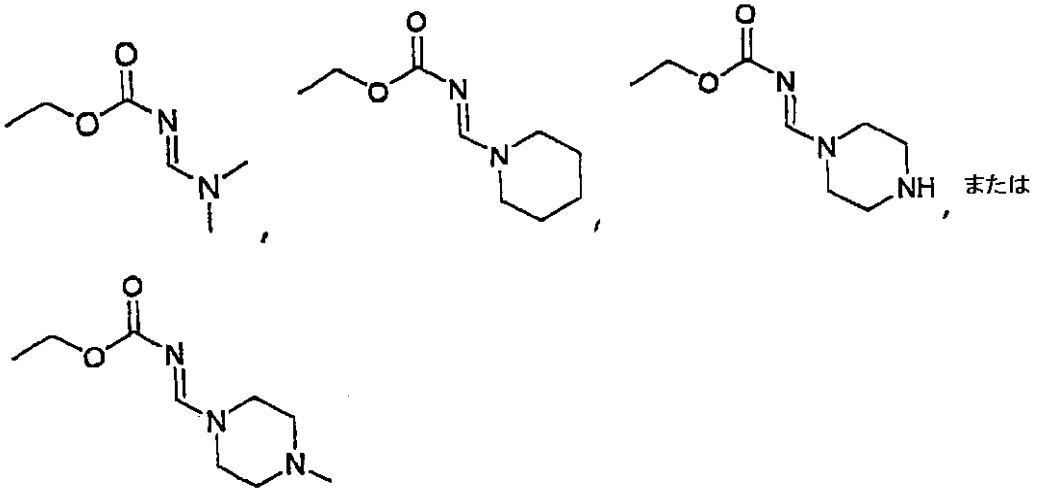

Cl
Cl
OCH3
F
F
OCH3
F
OCH3
CH3
F
Cl
CH3
CH
CH3
CH2CH3
F
CH3
CO2CH3
Cl
CH3
Br
F
CO2H
Cl
CO2H
Cl
CO2CH3
F
CO2CH3
Cl
NH2
NH2
N(CH3)2
Cl
NH2
Cl
N(CH3)2
F
N
Cl
N
F
NH2



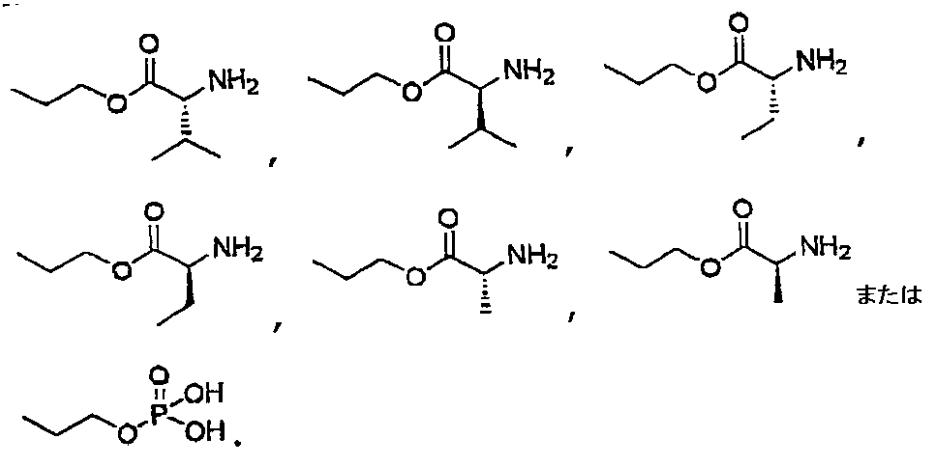
、無置換２－ピリジルまたは無置換フェニルから選択される、項目６に記載の化合物。

（項目８）　Ｑ２は、フェニル、２－イソプロピルフェニル、３，４－ジメチルフェニル、２－エチルフェニル、３－フルオロフェニル、２－メチルフェニル、３－クロロ－４－フルオロフェニル、３－クロロフェニル、２－カルボメトキシフェニル、２－カルボキシフェニル、２－メチル－４－クロロフェニル、２－ブロモフェニル、２－ピリジル、２－メチレンヒドロキシフェニル、４－フルオロフェニル、２－メチル－４－フルオロフェニル、２－クロロ－４－フルオロフェニル、２，４－ジフルオロフェニル、２－ヒドロキシ－４－フルオロフェニルまたは２－メチレンヒドロキシ－４－フルオロフェニル、１－ナフチル、３－クロロ－２－メチレンヒドロキシ、３－クロロ－２－メチル、または４

－フルオロ－２－メチルから選択される、項目７に記載の化合物。
（項目９） 各ＹがＣである、項目１に記載の化合物。
（項目１０） Ｙに結合した前記Ｒが、水素またはメチルから独立して選択される、項目９に記載の化合物。
（項目１１） Ｊは、アルコール、アミン、カルボン酸、エステル、アミド、アミジンまたは複素環を末端とする０～８個の原子の鎖である、項目１に記載の化合物。
（項目１２） Ｊが、以下：
【化５】

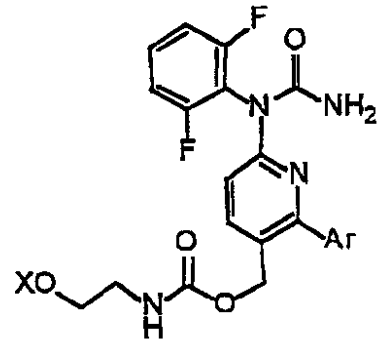


から選択される、項目１１に記載の化合物。
（項目１３） Ｋが、以下：
【化６】



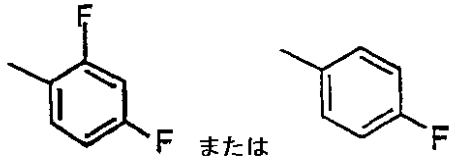
から選択される、項目１に記載の化合物。
（項目１４） 表１～３に示される化合物のいずれか１つから選択される、項目１に記載の化合物。
（項目１５） 前記化合物が、

【化７】



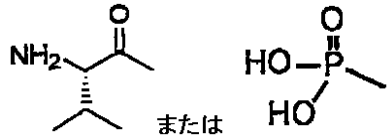
であり、ここでＡｒは、

【化８】



であり、そしてＸは、

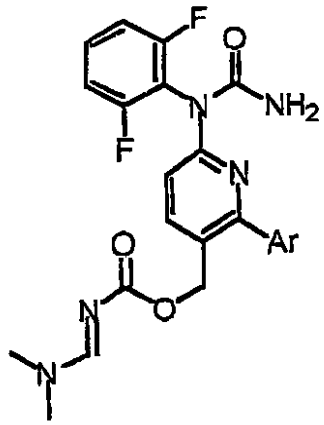
【化９】



である、項目１に記載の化合物。

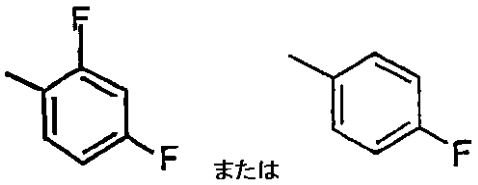
（項目１６）　前記化合物が、

【化１０】



であり、ここでＡｒが

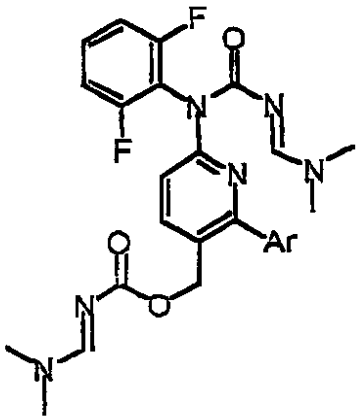
【化１１】



である、項目１に記載の化合物。

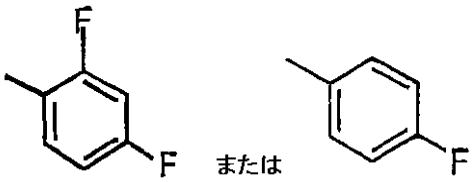
（項目１７）　前記化合物が、

【化１２】



であり、ここでＡｒが、

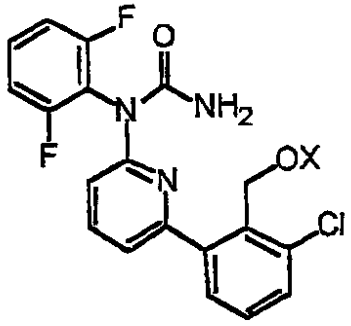
【化１３】



である、項目１に記載の化合物。

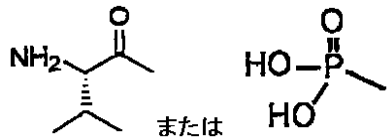
（項目１８）　前記化合物が

【化１４】



であり、ここでＸが

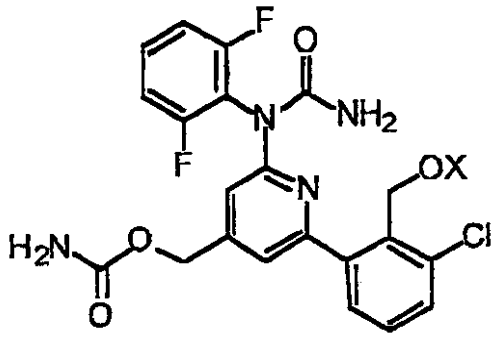
【化１５】



である、項目１に記載の化合物。

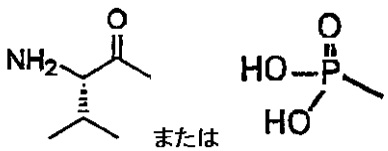
（項目１９）　前記化合物が、

【化１６】



であり、ここでＸが、

【化１７】



である、項目１に記載の化合物。

（項目２０）　ｐ３８を阻害するために有効な量の、項目１～１９のいずれか１項に記載の化合物、および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

（項目２１）　患者における、炎症性疾患、自己免疫疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染症、神経変性疾患、アレルギー、発作の際の再灌流／虚血、心臓発作、脈管形成障害、器官低酸素症、脈管過形成、心臓肥大、トロンビン誘導血小板凝集またはプロスタグランジンエンドペルオキシダーゼシンターゼ－２に関連する状態を、処置または予防する方法であって、該方法は、該患者に項目２０に記載の組成物を投与する工程を包含する、方法。

（項目２２）　項目２１に記載の方法であって、該方法が、急性膵炎、慢性膵炎、ぜん息、アレルギー、または成人呼吸窮迫症候群から選択される炎症性疾患を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２３）　項目２１に記載の方法であって、該方法が、糸球体腎炎、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、強皮症、慢性甲状腺炎、グレーヴズ病、自己免疫性胃炎、糖尿病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少、血小板減少、アトピー性皮膚炎、慢性活動性肝炎、重症筋無力症、多発性硬化症、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、乾癬、または対宿主性移植片病から選択される自己免疫疾患を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２４）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、変形性関節症、骨粗鬆症、または多発性骨髄腫関連骨障害から選択される破壊性骨障害を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２５）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、転移性黒色腫、カポージ肉腫、または多発性骨髄腫から選択される増殖性疾患を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２６）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、敗血症、敗血症性ショック、または細菌性赤痢から選択される感染症を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２７）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、急性肝炎感染、ＨＩＶ感染またはＣＭＶ網膜炎から選択されるウイルス性疾患を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２８）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、アルツハイマー病、パーキンソン病、大脳虚血または外傷によって引き起こされる神経変性疾患から選択される神経変性疾患を処置または予防するために使用される、方法。

（項目２９）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、発作もしくは心筋虚血の際の虚血／再灌流、腎虚血、心臓発作、器官低酸素症またはトロンビン誘導血小板凝集を処置または予防するために使用される、方法。

（項目３０）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、浮腫、発熱、痛覚脱失または疼痛から選択される、プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ－２に関連する状態を処置または予防するために使用される、方法。

（項目３１）　項目３０に記載の方法であって、前記疼痛が、神経筋痛、頭痛、癌による痛み、歯痛または関節痛から選択される、方法。

（項目３２）　項目２１に記載の方法であって、前記方法が、固形腫瘍、眼の新生血管形成、または乳児血管腫から選択される脈管形成障害を処置または予防するために使用される、方法。

（項目３３）　ｐ３８媒介性疾患を処置又は予防する方法であって、該方法は、項目２０に記載の組成物を、前記患者に投与する工程を包含する、方法。

（項目３４）　ＺＡＰ７０を阻害するために有効な量の、項目１～１９のいずれか１項に記載の化合物、および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

（項目３５）　移植、自己免疫疾患、癌、多発性硬化症、対宿主性移植片病、および川崎病と関連した器官拒絶もしくは組織拒絶を処置または予防する方法であって、該方法は、項目３４に記載の組成物を、前記患者に投与する工程を包含する、方法。

（項目３６）　項目３５に記載の方法であって、前記方法は、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、乾癬、シェーグレン症候群、甲状腺炎、肺線維症、閉塞性細気管支炎、溶血性貧血、およびヴェーゲナー肉芽腫症から選択される自己免疫疾患を処置または予防するために使用される、方法。

（項目３７）　項目３５に記載の方法であって、前記方法が、白血病およびリンパ腫から選択される癌を処置または予防するために使用される、方法。

（項目３８）　ＺＡＰ７０媒介性疾患を処置または予防する方法であって、該方法は、項目３４に記載の組成物を前記患者に投与する工程を包含する、方法。

【発明を実施するための形態】

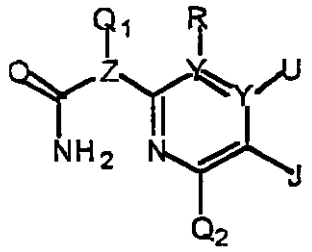
【００４０】

（発明の詳細な説明）

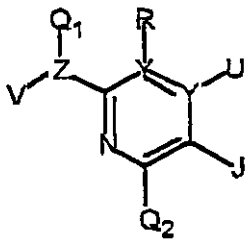
これらの化合物は、以下の一般式を有する：

【００４１】

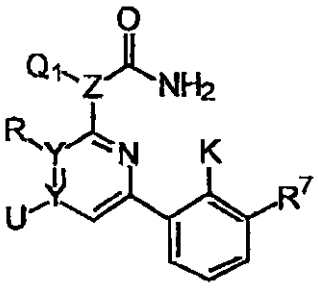
【化２０】



(Ia),

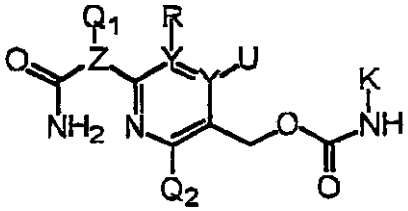


(Ib),



(Ic)

および



(Id),

。ここでＱ１およびＱ２のそれぞれは、以下から別個に選択される：フェニルまたは５～６員環の複素環式芳香族または炭素環芳香族を含む８～１０員環の二環式、複素環式芳香族、または炭素環芳香族および複素環式芳香族の組み合わせ。

【００４２】

Ｑ１を構成する環は、１～４の置換基で置換され、そのそれぞれは、以下から別個に選択される：ハロ；必要に応じて以下で置換されるＣ$_1$－Ｃ$_3$アルキル：ＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’またはＣＯＮＲ’$_2$；必要に応じて以下で置換されるＯ－（Ｃ$_1$－Ｃ$_3$）－アルキル：ＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’またはＣＯＮＲ’$_2$；ＮＲ’$_2$；ＯＣＦ$_3$；ＣＦ$_3$；Ｎ０$_2$；ＣＯ$_2$Ｒ’；ＣＯＮＲ’；ＳＲ’；Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$；ＳＣＦ$_3$；ＣＮ；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）ＯＲ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｓ（０$_2$）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ^4）$_2$；ＯＲ^4；ＯＣ（Ｏ）Ｒ^4；ＯＰ（Ｏ）$_3$Ｈ$_2$；またはＮ＝Ｃ－Ｎ（Ｒ’）$_2$。

【００４３】

Ｑ$_2$を構成する環は、４つまでの置換基で必要に応じて置換され、該置換基の各々は、ハロゲン；Ｒ’、ＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｎ＝Ｃ－Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｒ^3、Ｏ－Ｐ（Ｏ$_3$）Ｈ$_2$、またはＣＯＮＲ’$_2$で必要に応じて置換された直鎖または分枝のＣ$_1$～Ｃ$_3$アルキル；Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_3$）－アルキル；ＮＲ’$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｎ＝ＣＲ’－Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｒ^3、ＯＰ（Ｏ$_3$）Ｈ$_2$、またはＣＯＮＲ’$_2$で必要に応じて置換されたＯ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_3$）－アルキル；ＮＲ’$_2$；ＯＣＦ$_3$；ＣＦ$_3$；ＮＯ$_2$；ＣＯ$_2$Ｒ’；ＣＯＮＲ’$_2$；Ｒ^3；ＯＲ^3；ＮＲ^3$_2$；ＳＲ^3；Ｃ（Ｏ）Ｒ^3；Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）Ｒ^3；Ｃ（Ｏ）ＯＲ^3；ＳＲ’；Ｓ（Ｏ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$；ＳＣＦ$_3$；Ｎ＝ＣＲ’－Ｎ（Ｒ’）$_2$；ＯＲ^4；Ｏ－ＣＯ$_2$Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）ＯＲ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ$_2$）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ’）Ｒ^4；Ｎ（Ｒ^4）$_2$；ＯＲ^4；ＯＣ（Ｏ）Ｒ^4；ＯＰ（Ｏ）$_3$Ｈ$_2$；Ｋ；あるいはＣＮから独立して選択される。

【００４４】

各Ｒ’は、水素；（Ｃ$_1$～Ｃ$_3$）－アルキル；（Ｃ$_2$～Ｃ$_3$）－アルケニルまたはアルキニル；フェニル、またはハロ、メトキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、メチルもしくはエチルから独立して選択される１～３つの置換基で置換されたフェニル；ある

いはハロ、メトキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、メチルもしくはエチルから独立して選択される１～３つの置換基で必要に応じて置換された５～６員の複素環式環系、から独立して選択される。

【００４５】

各Ｒは、水素、－Ｒ^{2}、－Ｎ（Ｒ^{2}）$_{2}$、－ＯＲ^{2}、ＳＲ^{2}、－Ｃ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ^{2}）$_{2}$、－Ｓ（Ｏ$_{2}$）－Ｎ（Ｒ^{2}）$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ^{2}または－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{2}から独立して選択され、ここで２つの隣接したＲは、必要に応じて互いに結合し、そしてＲがそれぞれ結合している各Ｙと共に４～８員の炭素環式環または複素環式環を形成する。

【００４６】

各Ｒ^{2}は、水素；または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$）－アルキルもしくは（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$）－アルケニル（それぞれが、－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－ＯＲ’、ＳＲ’、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－Ｓ（Ｏ$_{2}$）－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ’、－ＮＳＯ$_{2}$Ｒ^{4}、－ＮＳＯ$_{2}$Ｒ^{3}、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^{3}）、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ^{4}、－Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^{3}）、－Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^{4}）、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{3}、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^{4}）、－Ｎ（Ｒ^{4}）$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（ＮＨ）$_{2}$またはＲ^{3}で必要に応じて置換される）、から独立して選択される。

【００４７】

各Ｒ^{3}は、５～８員の芳香族もしくは非芳香族の炭素環式環系もしくは複素環式環系（それぞれが、Ｒ’、Ｒ^{4}、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{4}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{4}または－Ｋで必要に応じて置換される）；または芳香族炭素環式環、芳香族複素環式環、もしくは芳香族炭素環式環と芳香族複素環式環の組合せを含む８～１０員の二環式環系（それぞれがＲ’、Ｒ^{4}、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{4}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{4}または－Ｋで必要に応じて置換される）、から独立して選択される。

【００４８】

各Ｒ^{4}は、Ｒ’；Ｒ’、Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、ＯＲ’、ＣＯ$_{2}$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_{2}$、ＳＯ$_{2}$Ｎ（Ｒ’）$_{2}$もしくはＳＯ$_{2}$Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$で必要に応じて置換された、（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{7}$）－直鎖アルキルもしくは（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{7}$）－分枝アルキル；またはＮ（Ｒ’）$_{2}$、ＯＲ’、ＣＯ$_{2}$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_{2}$、ＳＯ$_{2}$Ｎ（Ｒ’）$_{2}$もしくはＳＯ$_{2}$Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$で必要に応じて置換された、５～６員の炭素環式環系もしくは複素環式環系、から独立して選択される。

【００４９】

各Ｒ^{5}は、水素、（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$）－アルキル、または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$）－アルケニルから独立して選択され；それぞれが、－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－ＯＲ’、ＳＲ’、－Ｃ（Ｏ）－Ｎ－（Ｒ’）$_{2}$、－Ｓ（Ｏ$_{2}$）－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ’、－Ｎ－Ｓ（Ｏ$_{2}$）（Ｒ’）、－ＮＳＯ$_{2}$Ｒ^{6}、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^{6}）、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｎ（Ｒ’）（Ｒ^{6}）、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{6}、－Ｃ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（ＮＨ）$_{2}$もしくはＲ^{6}で必要に応じて置換される。

【００５０】

各Ｒ^{6}は、それぞれがＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’もしくは－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’で必要に応じて置換された、５～８員の芳香族もしくは非芳香族の炭素環式環系もしくは複素環式環系；またはそれぞれがＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’もしくは－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’で必要に応じて置換された、芳香族炭素環式環、芳香族複素環式環もしくは芳香族炭素環式環と芳香族複素環式環との組合せを含む、８～１０員の二環式環系、から独立して選択される。

【００５１】

Ｒ^{7}は、Ｈ、ハロゲン、または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$）直鎖アルキルもしくは分枝アルキルから選択される。

【００５２】

各Ｙは、ＮまたはＣから独立して選択され、いずれかのＹがＮである場合、Ｙに結合しているＲもしくはＵが孤立電子対である。

【００５３】

Ｚは、ＣＨ、Ｎ、Ｃ（ＯＣＨ$_3$）、Ｃ（ＣＨ$_3$）、Ｃ（ＮＨ$_2$）、Ｃ（ＯＨ）またはＣ（Ｆ）である。

【００５４】

各Ｕは、ＲまたはＪから独立して選択される。

【００５５】

各Ｊは、Ｔで置換された（Ｃ$_1$～Ｃ$_4$）直鎖もしくは分枝アルキル誘導体から独立して選択される。

【００５６】

各Ｔは、Ｏ（Ｖ）またはＮ（Ｈ）（Ｖ）のいずれかから独立して選択される。

【００５７】

各Ｖは、Ｃ（Ｏ）Ｎ＝Ｃ（Ｒ）（Ｎ（Ｒ）$_2$）から独立して選択され、ここで窒素上の２つのジェミナルＲは、必要に応じて互いに結合して４～８員の炭素環式環もしくは複素環式環を形成する。

【００５８】

２つのＲ構成要素が、環を形成する場合、縮合していないＲ構成要素のそれぞれから末端水素が失われることは、当業者に明らかである。例えば、環構造が、それらの２つの構成要素（一方は－ＣＨ$_3$であり、そして他方は－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$である）が共に結合することにより形成される場合、各Ｒ構成要素上の１つの末端水素（太字で示す）が失われる。従って、結果として得られるこの環構造の部分は、式－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－を有する。

【００５９】

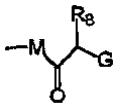
各Ｋは、Ｄまたは－ＯＰ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$で置換された（Ｃ$_1$～Ｃ$_4$）直鎖または分枝アルキル誘導体から独立して選択される。

【００６０】

各Ｄは、

【００６１】

【化２１】



のいずれかの鏡像体から独立して選択される。

【００６２】

各Ｍは、ＯまたはＮＨのいずれかから独立して選択される。

【００６３】

各Ｇは、ＮＨ$_2$、ＯＨ、またはＨから独立して選択される。

【００６４】

各Ｒ$_8$は、Ｈ、ＯＨ、Ｃ（Ｏ）ＯＨ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_7$）－直鎖もしくは分枝アルキル（Ｎ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$で必要に応じて置換される）；またはＮ（Ｒ’）$_2$、ＯＲ’、ＣＯ$_2$Ｒ’、ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、またはＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ^5）$_2$で必要に応じて置換される、５～６員の、炭素環式環系、複素環式環系またはヘテロアリール環系から独立して選択される。ＧがＲ$_8$と共に環を形成する場合、縮合していないＧおよびＲ$_8$の構成要素から末端水素が失われることは、当業者に明らかである。例えば、環構造がＧおよびＲ$_8$の構成要素（一方が－ＮＨ$_2$であり、他方が－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$である）が共に結合することにより形成される場合、各Ｒ構成要素上の１つの末端水素（太字で示される）が失われる。従って、結果として得られる環構造の部分は、式－ＮＨ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－を有する。

【００６５】

複素環式環系または複素環式環は、１～４個のヘテロ原子を含む。このヘテロ原子は、Ｎ、Ｏ、およびＳから独立して選択される。芳香族複素環式環または非芳香族複素環式環上の置換可能な窒素は、必要に応じて置換され得る。ＮまたはＳはまた、ＮＯ、ＳＯ、お

よびＳＯ$_2$のような酸化形態で存在し得る。

【００６６】

当業者は、安定で、化学的に可能な複素環式環中のヘテロ原子の最大数が、その環が芳香族かまたは非芳香族のどちらでも、環の大きさ、不飽和度、およびヘテロ原子の原子価によって決定されることを認識する。一般的に、複素環式環は、その複素環式環が化学的に可能でかつ安定である限り、１～４つのヘテロ原子を有し得る。

【００６７】

用語「化学的に安定な配置」または「化学的に可能でかつ安定な」とは、本明細書中で使用される場合、当該分野で公知の方法による製造および哺乳動物への投与を可能にするように、その化合物を十分安定にする化合物構造をいう。代表的には、このような化合物は、４０℃以下の温度で、湿気または化学的に反応性のその他の状態の非存在下において少なくとも１週間安定である。

【００６８】

好ましい実施形態によれば、Ｑ$_1$は、１～３つの置換基を含む、フェニルまたはピリジルから選択され、ここでこれらの置換基の少なくとも１つは、オルト位にあり、そしてこれらの置換基は、クロロ、フルオロ、ブロモ、－ＣＨ$_3$、－ＯＣＨ$_3$、－ＯＨ、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$ＣＨ$_3$、ＮＨ$_2$、３，４－メチレンジオキシ、－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、－ＮＨ－Ｓ（Ｏ）$_2$－フェニル、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ＣＨ$_2$－４－ピリジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－モルホリン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－ピペラジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－ピロリジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）－モルホリン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）－ピペラジン、－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）－ピロリジン、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、または－Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$から独立して選択される。

【００６９】

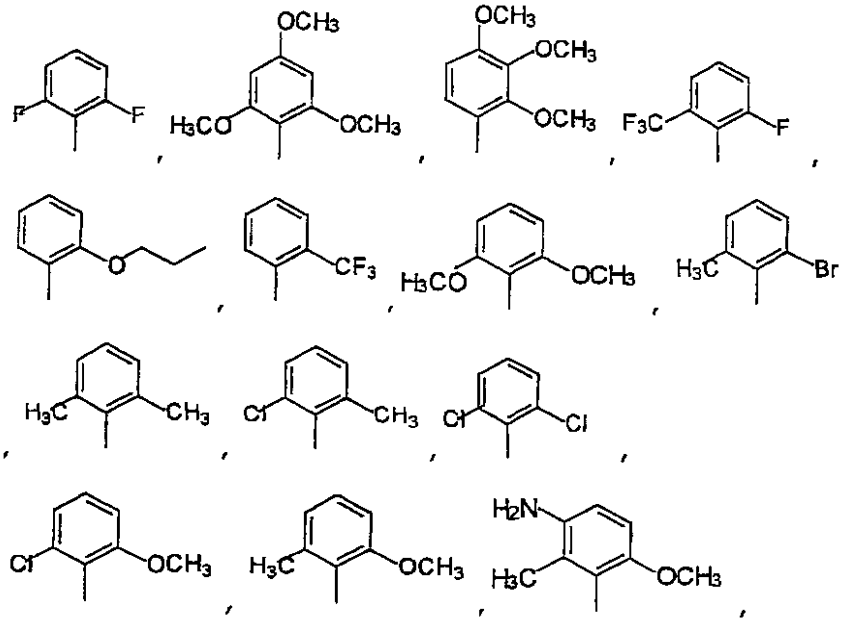
少なくとも２つの上記の置換基を含み、それらの２つがオルト位にあるフェニルまたはピリジルは、さらにより好ましい。

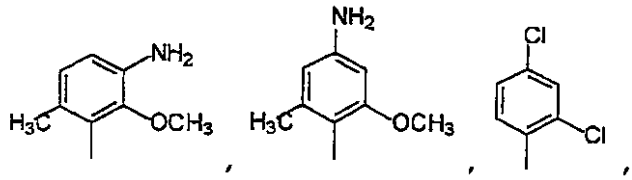
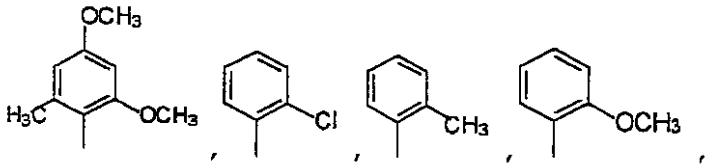
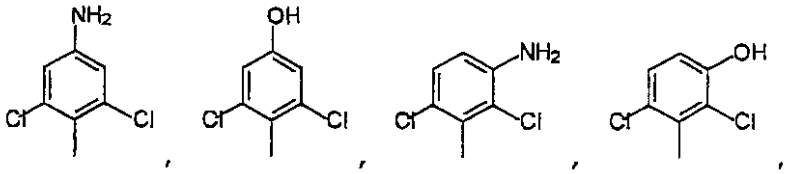
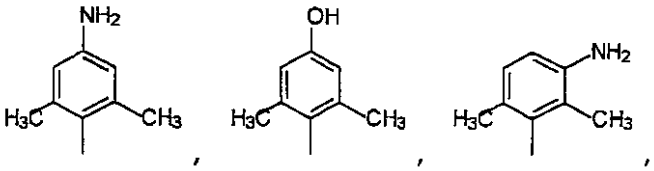
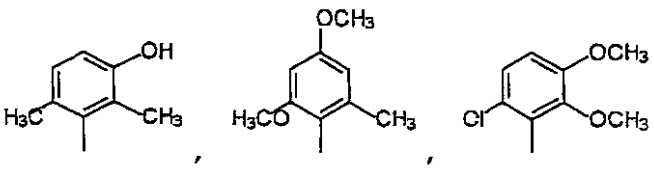
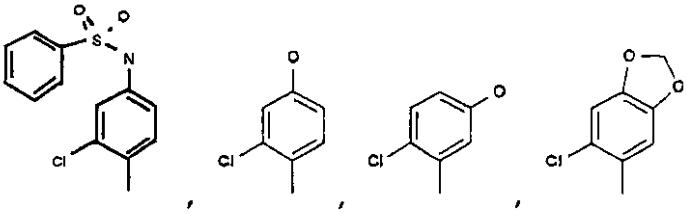
【００７０】

好ましいＱ$_1$のいくつかの具体例は、以下である：

【００７１】

【化２２】

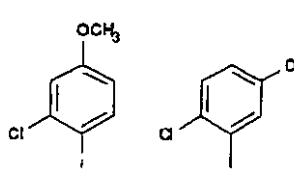


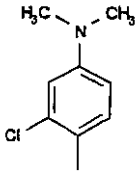
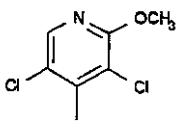
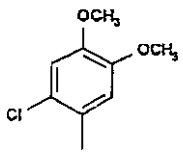
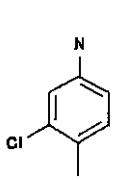
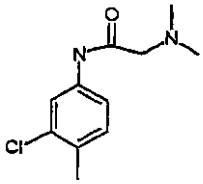
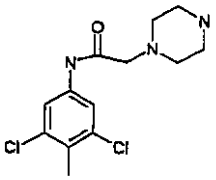
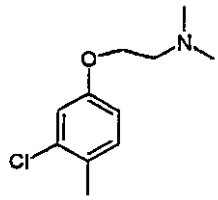
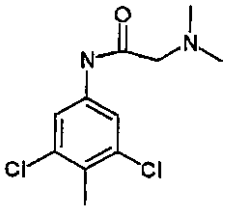
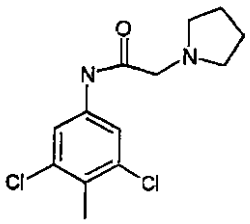
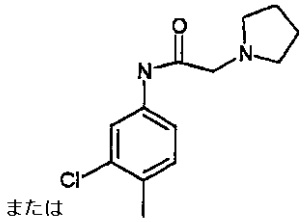







10

20

30



または

最も好ましくは、Q_1は、２－フルオロ－６－トリフルオロメチルフェニル、２、６－ジフルオロフェニル、２，６－ジクロロフェニル、２－クロロ－４－ヒドロキシフェニル、２－クロロ－４－アミノフェニル、２，６－ジクロロ－４－アミノフェニル、２，６－ジクロロ－３－アミノフェニル、２，６－ジメチル－４－ヒドロキシフェニル、２－メトキシ－３，５－ジクロロ－４－ピリジル、２－クロロ－４，５－メチレンジオキシフェニル、または２－クロロ－４－（Ｎ－２－モルホリノ－アセトアミド）フェニルから選択される。

【００７２】

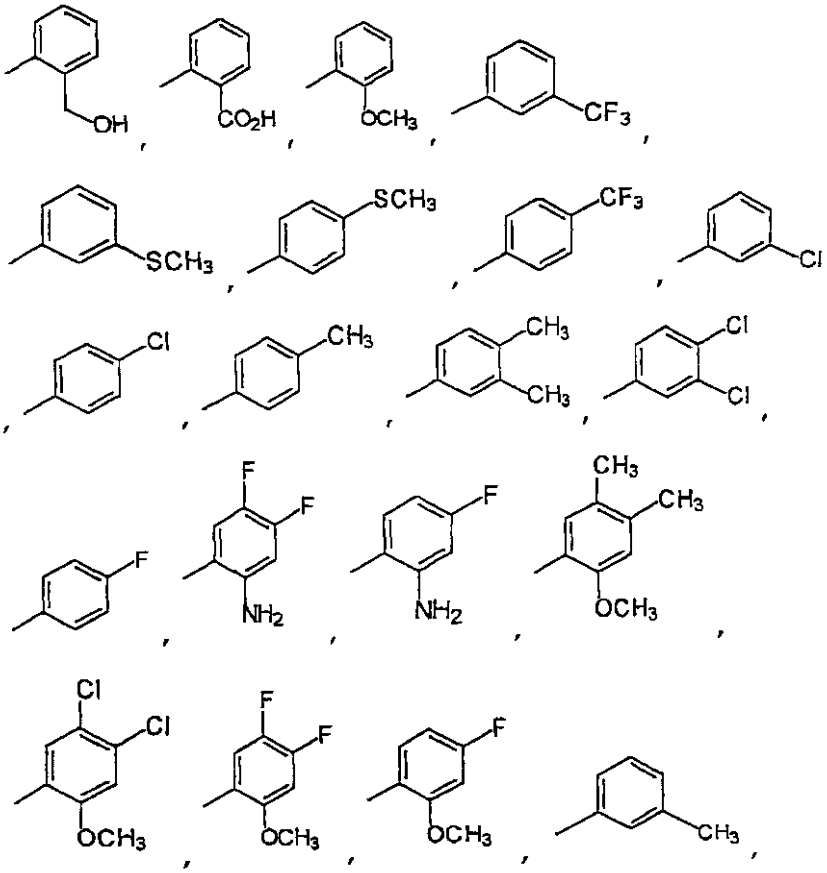
好ましい実施形態によれば、Q_2は、０～３つの置換基を含む、フェニル、ピリジルまたはナフチルであり、ここで置換基の各々は、クロロ、フルオロ、ブロモ、メチル、エチル、イソプロピル、－OCH_3、－ＯＨ、－NH_2、－CF_3、－OCF_3、－SCH_3、－OCH_3、－Ｃ（Ｏ）ＯＨ，－Ｃ（Ｏ）OCH_3、－CH_2NH_2、－Ｎ（CH_3）$_2$、－CH_2－ピロリジンおよび－CH_2OHから独立して選択される。

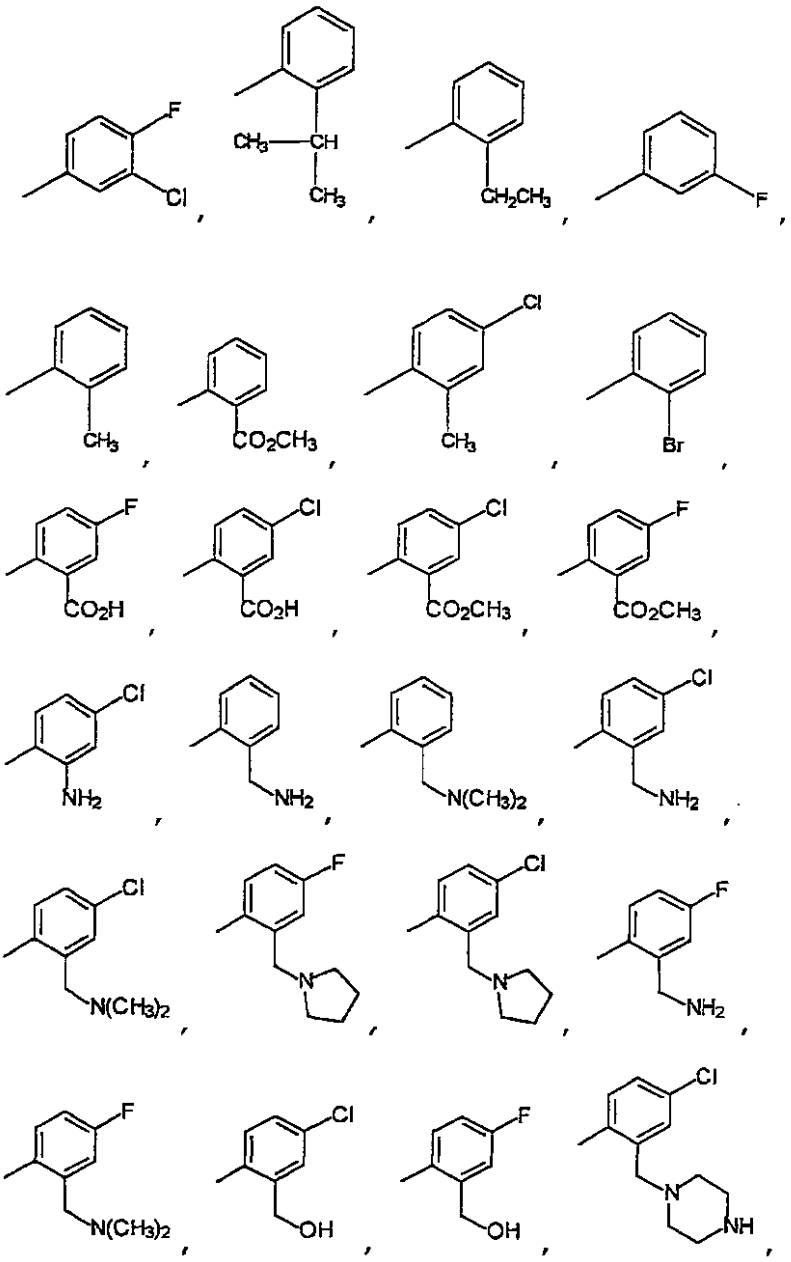
【００７３】

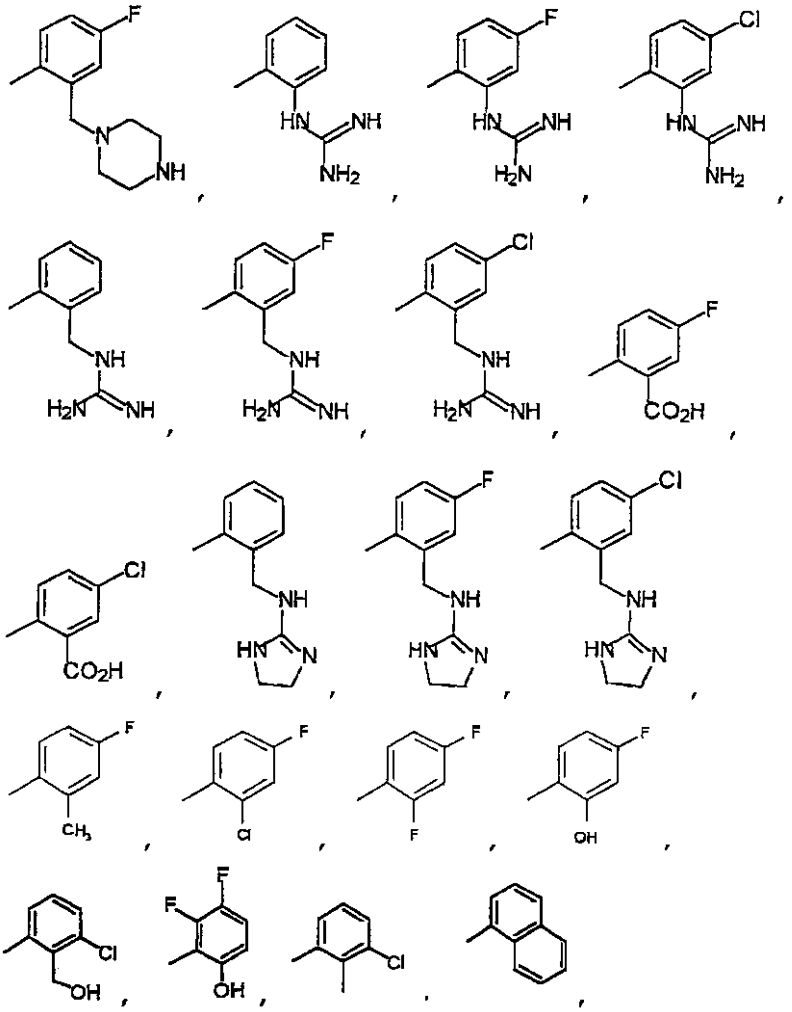
好ましいQ_2のいくつかの具体例は、以下である：

【００７４】

【化２３】


OH
CO2H
OCH3
CF3
SCH3
SCH3
CF3
Cl
Cl
CH3
CH3
CH3
Cl
Cl
F
F
F
NH2
F
NH2
CH3
CH3
OCH3
Cl
Cl
OCH3
F
F
OCH3
F
OCH3
CH3


F
Cl
CH3
CH
CH3
CH2CH3
F
CH3
CO2CH3
Cl
CH3
Br
F
CO2H
Cl
CO2H
Cl
CO2CH3
F
CO2CH3
Cl
NH2
NH2
N(CH3)2
Cl
NH2
Cl
N(CH3)2
F
N
Cl
N
F
NH2
F
N(CH3)2
Cl
OH
F
OH
Cl
N
NH



無置換の２－ピリジル、または無置換のフェニル。

【００７５】

Ｑ$_2$が以下から選択される化合物が最も好ましい：フェニル、２－イソプロピルフェニル、３，４－ジメチルフェニル、２－エチルフェニル、３－フルオロフェニル、２－メチルフェニル、３－クロロ－４－フルオロフェニル、３－クロロフェニル、２－カルボメトキシルフェニル、２－カルボキシフェニル、２－メチル－４－クロロフェニル、２－ブロモフェニル、２－ピリジル、２－メチレンヒドロキシフェニル、４－フルオロフェニル、２－メチル－４－フルオロフェニル、２－クロロ－４－フルオロフェニル、２，４－ジフルオロフェニル、２－ヒドロキシ－４－フルオロフェニル、２－メチレンヒドロキシ－４－フルオロフェニル、１－ナフチル、３－クロロ－２－メチレンヒドロキシ、３－クロロ－２－メチル、または４－フルオロ－２－メチル。

【００７６】

別の好ましい実施形態によれば、Ｒ^{7}はハロゲンである。より好ましい実施形態において、Ｒ^{7}はＣｌである。

【００７７】

別の好ましい実施形態によれば、各ＹはＣである。

【００７８】

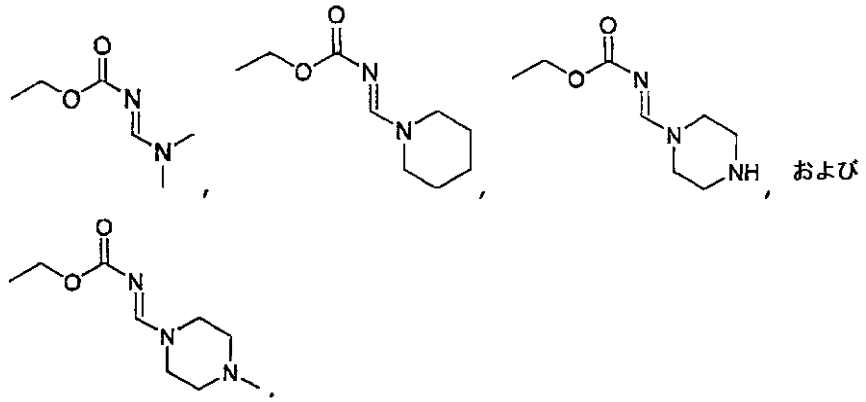
なおより好ましい実施形態によれば、各ＹはＣであり、そして各Ｙ構成要素に結合したＲおよびＵは、水素である。

【００７９】

好ましいＪのいくつかの具体例は、以下である：

【００８０】

【化２４】



および

別の好ましい実施形態によれば、Ｋは、末端がエステルの０～４個の原子鎖である。

【００８１】

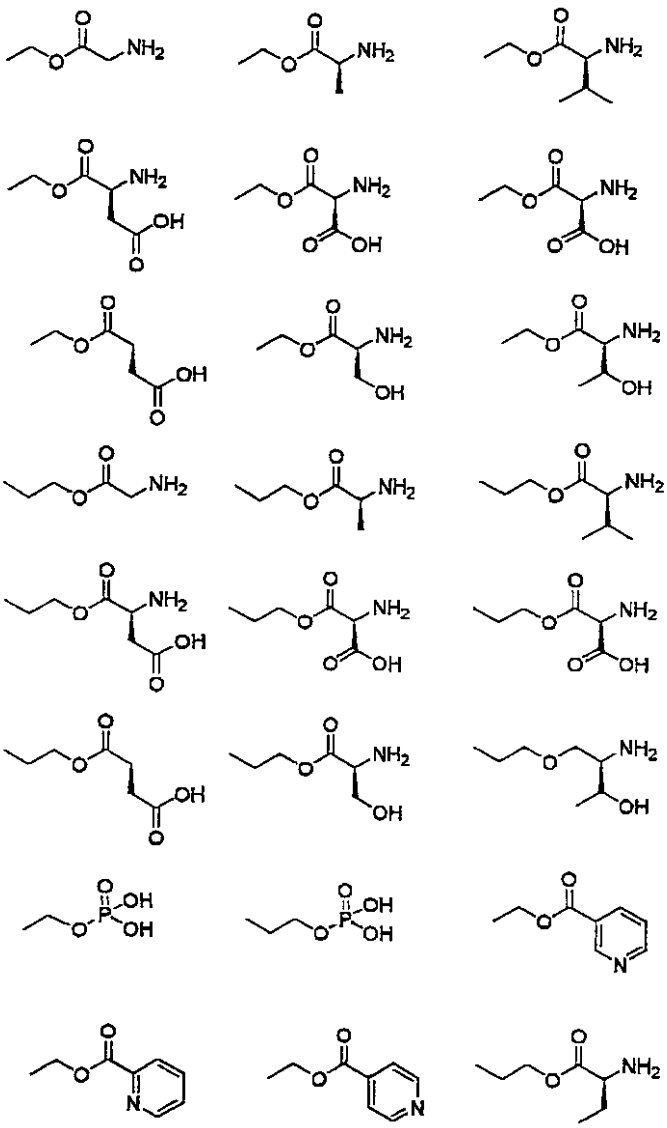
別の好ましい実施形態によれば、ＭはＯである。

【００８２】

好ましいＫのいくつかの具体例は、以下である：

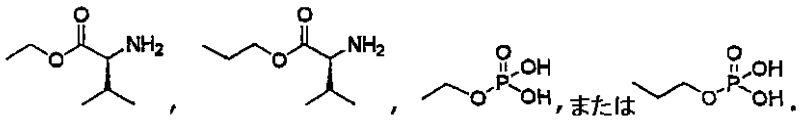
【００８３】

【化２５】



より好ましくは、Ｋは、以下から選択される：

【００８４】
【化２６】



いくつかの好ましい実施形態を、以下の表１～３に示す：
【００８５】
【表１】

表 1.

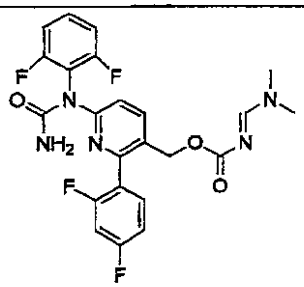
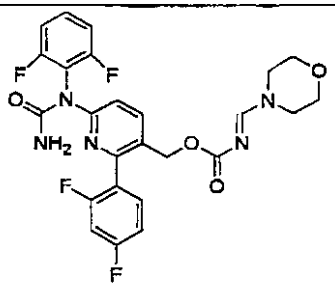
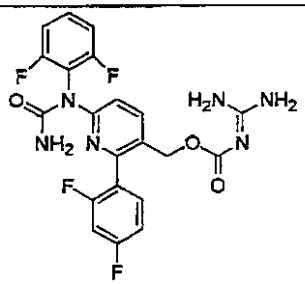
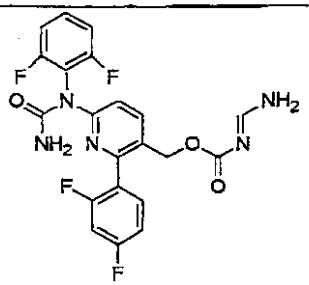
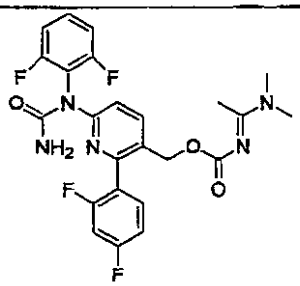
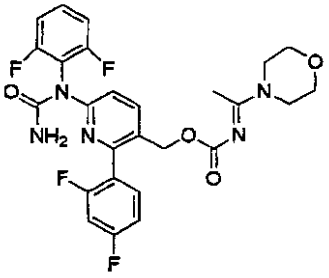
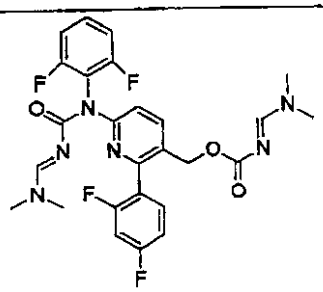
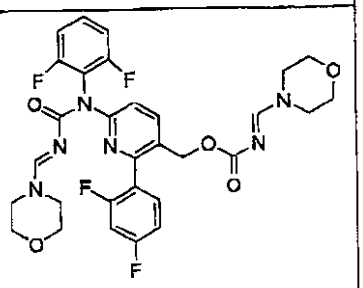
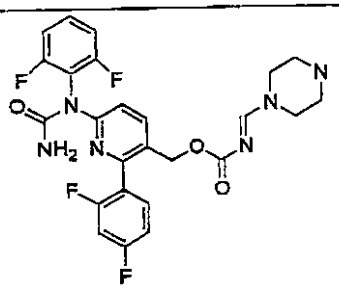
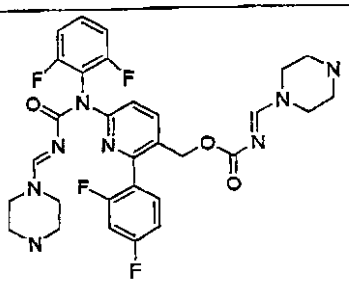
化合物番号	構造	化合物番号	構造
101		102	
103		104	
105		106	

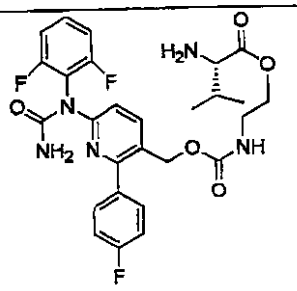
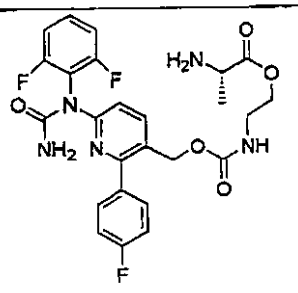
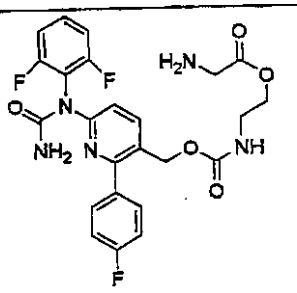
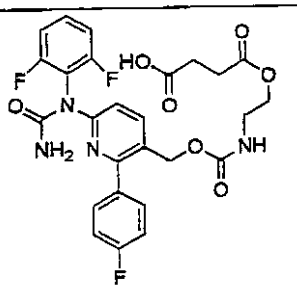
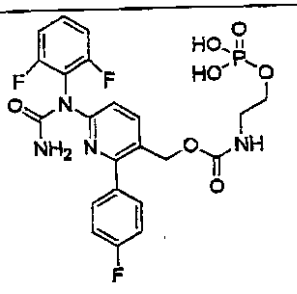
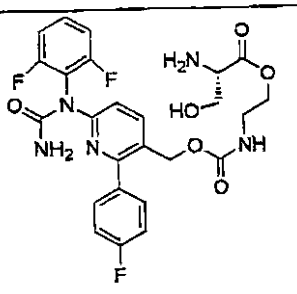
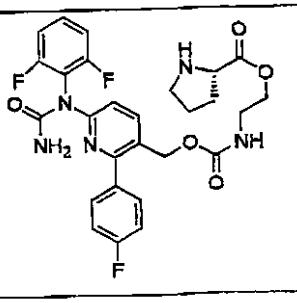
表 1（続き）

化合物番号	構造	化合物番号	構造
107		108	
109		110	

【００８６】

【表２】

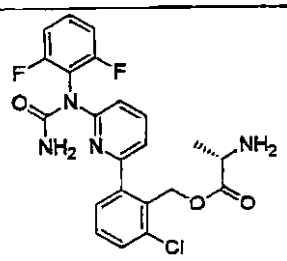
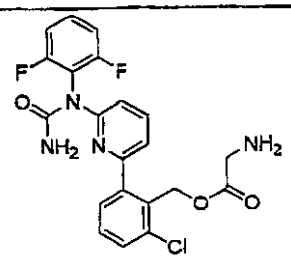
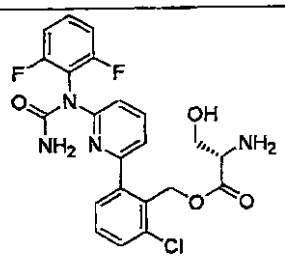
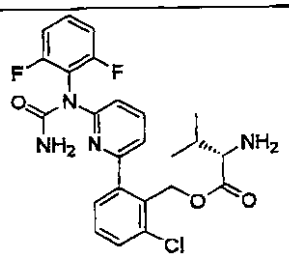
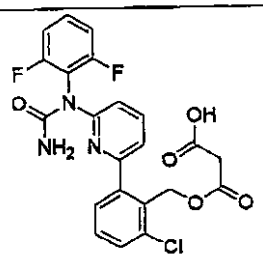
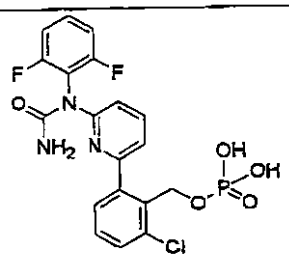
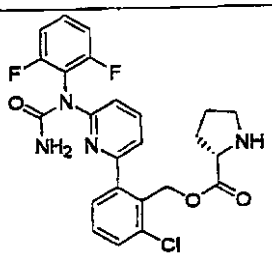
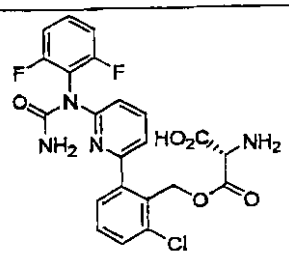
表 2.

化合物番号	構造	化合物番号	構造
111		112	
113		114	
115		116	
117			

【００８７】

【表３】

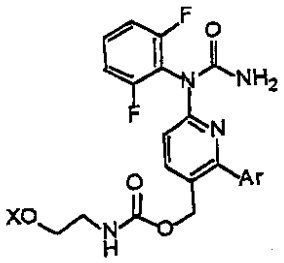
表 3.

化合物番号	構造	化合物番号	構造
118		119	
120		121	
122		123	
124		125	

特に好ましい実施形態は、以下を含む：

【００８８】

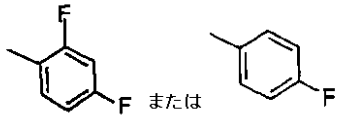
【化２７】



ここでＡｒは、

【００８９】

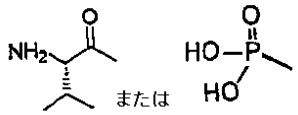
【化２８】



であり、そしてＸは、

【００９０】

【化２９】



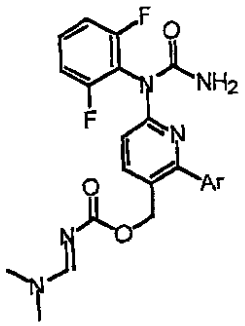
である。

【００９１】

特に好ましい実施形態はまた、以下を含む：

【００９２】

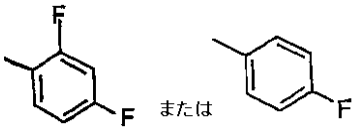
【化３０】



ここでＡｒは

【００９３】

【化３１】



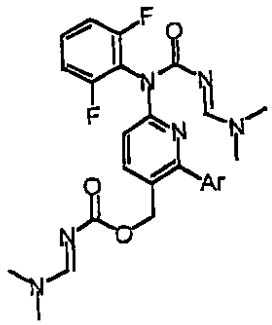
である。

【００９４】

他の特に好ましい実施形態は、以下を含む：

【００９５】

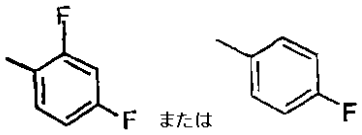
【化３２】



ここでＡｒは、

【００９６】

【化３３】



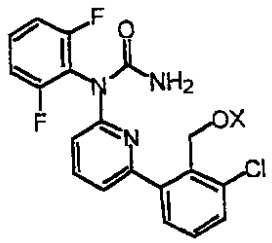
である。

【００９７】

他の特に好ましい実施形態は、以下を含む：

【００９８】

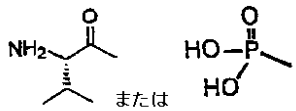
【化３４】



ここでＸは、

【００９９】

【化３５】



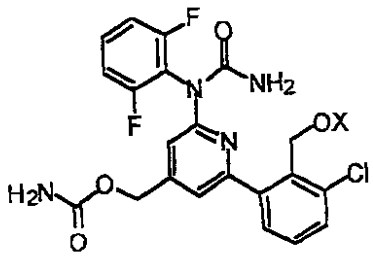
である。

【０１００】

他の特に好ましい実施形態は、以下を含む：

【０１０１】

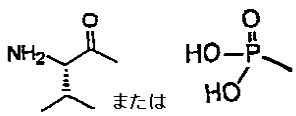
【化３６】



ここでＸは、

【０１０２】

【化３７】



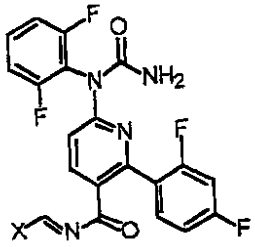
である。

【０１０３】

他の特に好ましい実施形態は、以下を含む：

【０１０４】

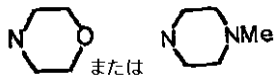
【化３８】



ここでＸは、Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、

【０１０５】

【化３９】



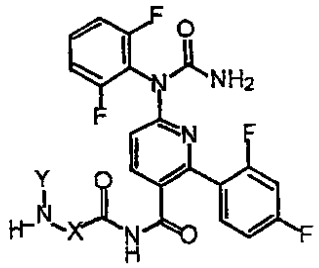
である。

【０１０６】

他の特に好ましい実施形態は、以下を含む：

【０１０７】

【化４０】



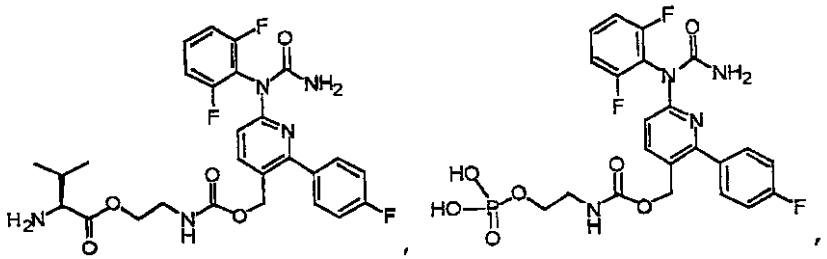
ここでＹはＭｅまたはＨであり；そしてＸは（ＣＨ$_2$）$_3$、ＣＨ$_2$Ｃ（ＣＨ$_3$）$_2$ＣＨ$_2$、ＣＨ$_2$Ｎ（Ｍｅ）Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$である。

【０１０８】

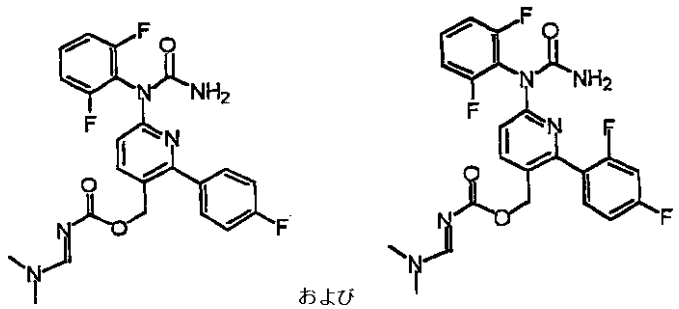
いくつかの最も好ましい実施形態としては、以下が挙げられる：

【０１０９】

【化４１】



および

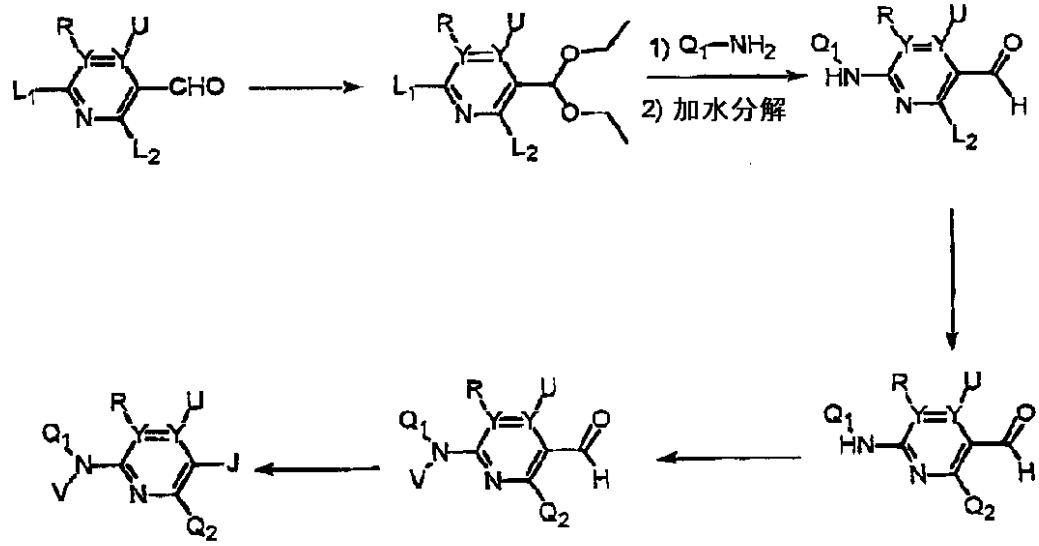


別の実施形態に従って、本発明は、上記で同定される式（Ｉａ）、（Ｉｂ）、（Ｉｃ）または（Ｉｄ）の化合物を生成する方法を提供する。代表的な合成スキームを以下に示す。全てのスキームにおいて、出発物質上のＬ１基およびＬ２基は、複素環式環中の窒素原子に対してオルトである代表的な脱離基を意味する。例えば、化合物Ａは、２，６－ジクロロ－３ニトロピリジンであり得る。

【０１１０】

【化４２】

スキーム1



当業者は、スキーム１が一般式（Ｉａ）、（Ｉｂ）、（Ｉｃ）または（Ｉｄ）を有する化合物を合成するために使用され得ることを認識する。

【０１１１】

本発明の別の実施形態に従って、本発明のｐ３８インヒビターの活性は、インビトロ、インビボ、または細胞株中でアッセイされ得る。インビトロアッセイとしては、活性化さ

れたｐ３８のキナーゼ活性またはＡＴＰａｓｅ活性のいずれかの阻害を決定するアッセイが挙げられる。代替のインビトロアッセイは、ｐ３８に結合するインヒビターの能力を定量する。この代替のインビトロアッセイは、結合の前にこのインヒビターを放射性標識し、インヒビター／ｐ３８複合体を単離し、放射性標識の結合量を決定するか、または新規インヒビターを既知の放射リガンドに結合したｐ３８とインキュベートする競合実験を実行するかのいずれかによって、測定され得る。

【０１１２】

本発明の化合物の阻害効果の細胞培養アッセイは、ネガティブコントロールで処理した細胞と比較した、インヒビターで処理した細胞中の全血またはその細胞画分中に産生されるＴＮＦ、ＩＬ－１、ＩＬ－６またはＩＬ－８の量を決定し得る。これらのサイトカインのレベルは、市販のＥＬＩＳＡの使用を通して決定され得る。

【０１１３】

本発明のｐ３８インヒビターの阻害活性を決定するのに有用なインビボアッセイは、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｂｕｔｙｒｉｃｕｍ誘導性のアジュバント関節炎を有するラットにおける後肢浮腫の抑制である。これは、Ｊ．Ｃ．Ｂｏｅｈｍら、Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，３９、３９２９－３７頁（１９９６）（この開示は、本明細書中に参考として援用される）に記載される。本発明のｐ３８インヒビターはまた、Ａ．Ｍ．Ｂａｄｇｅｒら、Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，２７９、１４５３－６１頁（１９９６）（この開示は、本明細書中に参考として援用される）に記載されるように、関節炎、骨再吸収、エンドトキシンショックおよび免疫機能の動物モデルにおいてアッセイされ得る。

【０１１４】

ｐ３８インヒビターまたはその薬学的な塩は、動物またはヒトへの投与のために薬学的組成物に処方され得る。ｐ３８媒介性の状態を処置または予防するのに有効量のｐ３８インヒビターおよび薬学的に受容可能なキャリアを含むこれらの薬学的組成物は、本発明の別の実施形態である。

【０１１５】

本明細書中に使用される場合、用語「ｐ３８媒介性の状態」とは、ｐ３８がある役割を果たしていることが公知である任意の疾患または他の有害な状態を意味する。これは、ＩＬ－１過剰産生、ＴＮＦ過剰産生、ＩＬ－６過剰産生またはＩＬ－８過剰産生によって引き起こされることが公知の状態を含む。このような状態としては、炎症性疾患、自己免疫疾患、破壊性骨障害（ｄｅｓｔｒｕｃｔｉｖｅ　ｂｏｎｅ　ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、増殖性障害、感染疾患、神経変性疾患、アレルギー、発作中の再灌流／虚血、心臓発作、脈管形成障害、器官低酸素症、脈管の過形成、心肥大、トロンビン誘導性血小板凝集、およびプロスタグランジンエンドペルオキサイドシンターゼ－２と関連する状態が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１６】

本発明の化合物によって処置または予防され得る炎症性疾患としては、急性膵炎、慢性膵炎、喘息、アレルギー、および成人呼吸促進症候群が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１７】

本発明の化合物によって処置または予防され得る自己免疫疾患としては、糸球体腎炎、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、強皮症、慢性甲状腺炎、グレーヴズ病、自己免疫胃炎、糖尿病、自己免疫溶血性貧血、自己免疫好中球減少症、血小板減少症、アトピー性皮膚炎、慢性活動性肝炎（ｃｈｒｏｎｉｃ　ａｃｔｉｖｅ　ｈｅｐａｔｉｔｉｓ）、重症筋無力症、多発性硬化症、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸結腸炎、クローン病、乾癬、または対宿主性移植片病が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１８】

本発明の化合物によって処置または予防され得る破壊性骨障害としては、骨粗鬆症、変形性関節症および多発性骨髄腫関連の骨障害が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１９】
本発明の化合物によって処置または予防され得る増殖性疾患としては、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、転移性黒色腫、カポージ肉腫、および多発性骨髄腫が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２０】
本発明の化合物によって処置または予防され得る脈管形成障害としては、固形腫瘍、眼の新生血管形成（ｏｃｕｌａｒ　ｎｅｏｖａｓｃｕｌｉｚａｔｉｏｎ）、乳児血管種（ｉｎｆａｎｔｉｌｅ　ｈａｅｍａｎｇｉｏｍａｓ）が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２１】
本発明の化合物によって処置または予防され得る感染症としては、敗血症、敗血症性ショック、および細菌性赤痢が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２２】
本発明の化合物によって処置または予防され得るウイルス性疾患としては、急性肝炎の感染（Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎およびＣ型肝炎を含む）、ＨＩＶ感染およびＣＭＶ網膜炎が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２３】
本発明の化合物によって処置または予防され得る神経変性疾患としては、アルツハイマー病、パーキンソン病、大脳虚血、または外傷性傷害によって引き起こされる神経変性疾患が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２４】
「ｐ３８媒介性の状態」としてはまた、発作における虚血／再灌流、心臓発作、心筋虚血、器官低酸素症、脈管の過形成、心肥大、およびトロンビン誘導性血小板凝集が挙げられる。
【０１２５】
さらに、本発明のｐ３８インヒビターはまた、プロスタグランジンエンドペルオキサイドシンターゼ－２（ＰＧＨＳ－２）（シクロオキシゲナーゼ－２（ＣＯＸ－２）とも称される）のような誘導性の炎症前タンパク質の発現を阻害し得る。従って、本発明の化合物によって処置され得る他の「ｐ３８媒介性の状態」としては、浮腫、痛覚脱失、熱および疼痛（例えば、神経筋の疼痛、頭痛、癌の疼痛、歯の疼痛および関節炎の疼痛）が挙げられる。
【０１２６】
本発明のｐ３８インヒビターによって処置または予防され得る疾患としてはまた、その疾患を担うと考えられるサイトカイン（ＩＬ－１、ＴＮＦ、ＩＬ－６、ＩＬ－８）によって簡便に分類され得る。
【０１２７】
従って、ＩＬ－１媒介性の疾患または状態としては、慢性関節リウマチ、変形性関節症、発作、内毒素血症および／またはトキシックショック症候群、エンドトキシンによって誘導される炎症反応、炎症性腸疾患、結核、アテローム性動脈硬化症、筋肉の変性、悪液質、乾癬性関節炎、ライター症候群、痛風、外傷性関節炎、風疹性関節炎、急性滑膜炎、糖尿病、膵臓Ｂ細胞疾患およびアルツハイマー病が挙げられる。
【０１２８】
ＴＮＦ媒介性の疾患または状態としては、慢性関節リウマチ、リウマチ様脊椎炎、変形性関節症、痛風性関節炎、および他の関節炎状態、敗血症、敗血症性ショック、エンドトキシンショック、グラム陰性敗血症、トキシックショック症候群、成人呼吸促進症候群、大脳マラリア、慢性肺炎症性疾患、珪肺症、肺サルコイドーシス、骨再吸収の疾患、再灌流障害、対宿主性移植片反応、同種移植拒絶、感染に起因する熱および筋肉痛、感染に対して二次的な悪液質、ＡＩＤＳ、ＡＲＣまたは悪性疾患、ケロイド形成、瘢痕組織形成、クローン病、潰瘍性大腸結腸炎または不全麻痺（ｐｙｒｅｓｉｓ）が挙げられる。ＴＮＦ媒介性の疾患としてはまた、ウイルス感染（例えば、ＨＩＶ、ＣＭＶ、インフルエンザお

よびヘルペス）；および獣医学的ウイルス感染（例えば、レンチウイルス感染（ウマ伝染性貧血ウイルス、ヤギ関節炎ウイルス、ビスナウイルスまたはマエディウイルスが挙げられるが、これらに限定されない））；あるいはレトロウイルス感染（ネコ免疫不全ウイルス、ウシ免疫不全ウイルス、またはイヌ免疫不全ウイルスが挙げられる）が挙げられる。

【０１２９】

ＩＬ－８媒介性の疾患または状態としては、広範囲の好中球浸潤によって特徴付けられる疾患（例えば、乾癬、炎症性腸疾患、喘息、心臓および腎臓の再灌流傷害、成人呼吸促進症候群、血栓症および糸球体腎炎）が挙げられる。

【０１３０】

さらに、本発明の化合物は、ＩＬ－１またはＴＮＦによって引き起こされるかまたは悪化する状態を処置または予防するために局所的に使用され得る。このような状態としては、炎症性関節、湿疹、乾癬、炎症性皮膚の状態（例えば、日焼け）、炎症性の眼の状態（例えば、結膜炎）、不全麻痺、疼痛および炎症と関連する他の状態が挙げられる。

【０１３１】

別の実施形態に従って、本発明の化合物は、ＺＡＰ７０媒介性の状態（移植に関連する器官または組織の拒絶、自己免疫疾患（例えば、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、乾癬、シェーグレン症候群、甲状腺炎、肺の線維症、閉塞性細気管支炎、溶血性貧血、およびヴェーゲナー肉芽腫症）、癌（白血病およびリンパ腫を含む）、多発性硬化症、対宿主性移植片病および川崎病が挙げられるがこれらに限定されない）を処置するために使用され得る。

【０１３２】

ＺＡＰ７０インヒビターまたはその薬学的な塩は、動物またはヒトへの投与のための薬学的組成物中に処方され得る。ＺＡＰ７０媒介性の状態を処置または予防するのに有効量のＺＡＰ７０インヒビターおよび薬学的に受容可能なキャリアを含むこれらの薬学的組成物は、本発明の別の実施形態である。

【０１３３】

本発明の化合物に加えて、本発明の化合物の薬学的に受容可能な塩もまた、上記の障害を処置または予防するために組成物中に使用され得る。

【０１３４】

本発明の化合物の薬学的に受容可能な塩としては、薬学的に受容可能な、無機酸および有機酸ならびに無機塩基および有機塩基から誘導される塩が挙げられる。適切な酸塩の例としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、ショウノウ酸塩、ショウノウスルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グリコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、グリコール酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩、パルモエート（ｐａｌｍｏａｔｅ）、ペクチネート（ｐｅｃｔｉｎａｔｅ）、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、サリチル酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トシレート、およびウンデカン酸塩が挙げられる。シュウ酸のような他の酸は、それら自体は薬学的に受容可能ではないが、本発明の化合物およびそれらの薬学的に受容可能な酸付加塩を得る工程の中間物として有用な塩の調製において、使用され得る。適切な塩基に由来する塩としては、アルカリ金属（例えば、ナトリウムおよびカリウム）、アルカリ土類金属（例えば、マグネシウム）、アンモニウムおよびＮ－（Ｃ１－４アルキル）４＋塩が挙げられる。本発明はまた、本明細書中に開示される化合物の任意の塩基性窒素含有基の四級化を想定する。水溶性または油溶性あるいは分散可能な生成物は、このような四級化によって得られ得る。

【０１３５】

これらの薬学的組成物において用いられ得る、薬学的に受容可能なキャリアとしては、

イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン）、緩衝物質（例えば、リン酸塩）、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩または電解質（例えば、硫酸プロタミン）、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン－ポリオキシプロピレン－ブロックポリマー、ポリエチレングリコールおよび羊毛脂が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３６】

本発明の組成物は、経口投与、非経口投与、吸引スプレー投与、局所的投与、直腸投与、鼻部投与、頬側投与、膣投与または貯蔵器の移植を介する投与がなされ得る。本明細書中で使用される用語「非経口」とは、皮下、静脈内、筋内、関節内、滑液内、胸骨内、髄腔内、肝内、病変内局、頭蓋内の注射または注入技術が挙げられる。好ましくは、この組成物は、経口、腹腔内または静脈内投与される。

【０１３７】

本発明の組成物の無菌注射可能な形態は、水性懸濁剤または油性懸濁剤であり得る。これらの懸濁剤は、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて当該分野で公知の技術に従って処方され得る。この無菌注射可能な調製物はまた、非毒性の非経口的に受容可能な希釈剤または溶液（例えば、１，３－ブタンジオールの溶液として）において、無菌注射可能な溶液または懸濁剤であり得る。とりわけ使用され得る受容可能なビヒクルおよび溶媒は、水、リンガー溶液および等張性塩化ナトリウム溶液である。さらに、無菌の不揮発性油は、慣用的に溶媒または懸濁媒体として使用される。この目的のために、任意の無刺激の（ｂｌａｎｄ）不揮発性油としては、合成のモノグリセリドまたはジグリセリドが使用され得る。脂肪酸（例えば、オレイン酸およびそのグリセリド誘導体）は、注射可能な調製物において、天然の薬学的に受容可能な油（例えば、オリーブオイルまたはヒマシ油、特にそのポリオキシエチル化バージョン）として有用である。これらの油剤または懸濁剤はまた、長鎖アルコール希釈剤または分散剤（例えば、カルボキシメチルセルロースまたは類似の分散剤）を含み得る。これらは、一般的に、薬学的に受容可能な投薬形態（乳剤および懸濁剤を含む）の処方物において使用され得る。他の一般に使用される界面活性剤（例えば、Ｔｗｅｅｎ、Ｓｐａｎおよび他の乳化剤またはバイオアベイラビリティーエンハンサー（これらは、薬学的に受容可能な固体、液体または他の投薬形態の製造において一般的に使用される））もまた、目的の処方物のために用いられ得る。

【０１３８】

本発明の薬学的組成物は、以下の任意の経口的に受容可能な投薬形態において経口投与され得るが、これらに制限されない：カプセル、錠剤、水性懸濁剤または溶媒。経口使用のための錠剤の場合において、一般的に使用されるキャリアとしては、ラクトースおよびコーンスターチが挙げられる。潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム）もまた、代表的に添加される。カプセル形態における経口投与のために有用な希釈剤としては、ラクトースおよび乾燥されたコーンスターチが挙げられる。水性懸濁剤が経口使用のために必要とされる場合、活性成分は、乳化剤および懸濁剤と組み合わされる。所望の場合、特定の甘味料、香味料または着色剤もまた、添加され得る。

【０１３９】

あるいは、本発明の薬学的組成物は、直腸投与のための坐剤形態で投与され得る。これらは、室温で固体であるが直腸温度では液体であり、従って、直腸で溶解して薬物を放出する適切な非刺激性賦形剤と共にこの薬剤を混合することによって、調製され得る。このような材料としては、ココアバター、蜜蝋およびポリエチレングリコールが挙げられる。

【０１４０】

本発明の薬学的組成物は、特に、処置の標的（眼、皮膚または腸管下部の疾患を含む）が、局所的適用によって容易に接近可能な領域または器官を含む場合に、局所的に投与され得る。適切な局所的処方物は、これらの領域または器官の各々のために容易に調製され

る。

【０１４１】

腸管下部に対する局所的適用は、直腸坐剤処方物（上記を参照のこと）または適切な浣腸処方物でもたらされ得る。局所的な経皮パッチもまた使用され得る。

【０１４２】

局所的適用のために、この薬学的組成物は、１以上のキャリア中に懸濁または溶解された活性成分を含む適切な軟膏中に処方され得る。本発明の化合物の局所的投与のためのキャリアとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：鉱油、流動パラフィン、白色鉱油、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化蝋および水。あるいは、この薬学的組成物は、１以上の薬学的に受容可能なキャリア中に懸濁または溶解された活性成分を含む、適切なクリームまたはローション中に処方され得る。適切なキャリアとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：鉱油、モノステアリン酸ソルビタン、ポリソルベート６０、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、２－オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水。

【０１４３】

眼での使用のために、この薬学的組成物は、等張の、ｐＨ調節した滅菌生理食塩水中の微細化懸濁物として、または好ましくは、塩化ベンザルコニウムのような保存料ありまたはなしのいずれかの、等張の、ｐＨ調節した滅菌生理食塩水中の溶液として処方され得る。あるいは、眼での使用のために、この薬学的組成物は、ペトロラタムのような軟膏中に処方され得る。

【０１４４】

本発明の薬学的処方物はまた、経鼻エアロゾルまたは吸入によって投与され得る。このような組成物は、薬学的組成物の分野で周知の技術に従って調製され、そして生理食塩水中の溶液として、ベンジルアルコールもしくは他の適切な保存料、バイオアベイラビリティを増強するための吸着促進剤、フッ化炭素、および／または他の従来の可溶化剤もしくは分散剤を使用して、調製され得る。

【０１４５】

キャリア材料と組み合わされて単回投薬形態を生じ得るｐ３８またはＺＡＰ７０インヒビターの量は、処置される宿主および投与の特定の様式に依存して異なる。好ましくは、この組成物は、０．０１～１００ｍｇ／ｋｇ体重／日のインヒビターの投薬量がこれらの化合物を受ける患者に投与可能なように、処方されるべきである。

【０１４６】

任意の特定の患者に対する特定の投薬量および処置レジメンが、種々の因子（使用される特定の化合物の活性、年齢、体重、全体的な健康、性別、食餌、投与の時間、排泄速度、薬物の組み合わせ、ならびに処置を行う医師の判断、および処置される特定の疾患の重篤度を含む）に依存する。インヒビターの量もまた、この組成物中の特定の化合物に依存する。

【０１４７】

別の実施形態に従って、本発明は、ｐ３８媒介性の状態を処置または予防するための方法を提供し、この方法は、患者に、上記の薬学的組成物のうち１つを投与する工程を包含する。用語「患者」は、本明細書中で使用される場合、動物、好ましくはヒトを意味する。

【０１４８】

好ましくは、この方法は、以下からなる群より選択される状態を処置または予防するために使用される：炎症疾患、自己免疫疾患、破壊的骨障害、増殖性疾患、感染症、変性疾患、アレルギー、発作における再灌流／虚血、心臓発作、脈管形成障害、器官低酸素症、血管の過形成、心肥大およびトロンビン誘導性血小板凝集。

【０１４９】

別の実施形態に従って、本発明のインヒビターは、ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＩＬ－８もしくはＴＮＦ媒介性の疾患または障害を、処置または予防するために使用される。このよう

な状態は、上に記載される。

【０１５０】

処置または予防されるべき特定のｐ３８媒介性の状態に依存して、この状態を処置または予防するために通常投与されるさらなる薬物が、本発明のインヒビターと共に投与され得る。例えば、化学療法剤または他の抗増殖剤が、本発明のｐ３８インヒビターと組み合わされて、増殖性疾患を処置し得る。

【０１５１】

これらのさらなる薬剤は、複数投薬レジメンの一部として、ｐ３８インヒビター含有組成物とは別に投与され得る。あるいは、これらの薬剤は、単一組成物中でｐ３８インヒビターと一緒に混合された、単回投薬形態の一部であり得る。

【０１５２】

別の実施形態に従って、本発明は、ＺＡＰ７０媒介性の状態を処置または予防するための方法を提供し、この方法は、患者に、上記の薬学的組成物のうち１つを投与する工程を包含する。

【０１５３】

本明細書中で記載される本発明がより完全に理解され得るために、以下の実施例が示される。これらの実施例は、例示の目的のみであり、そしていかなる様式においても本発明を限定するとは解釈されるべきではないことが理解されるべきである。

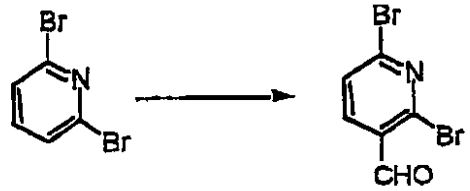
【０１５４】

(実施例１）

（ｐ３８インヒビター化合物７の合成）

【０１５５】

【化４３】

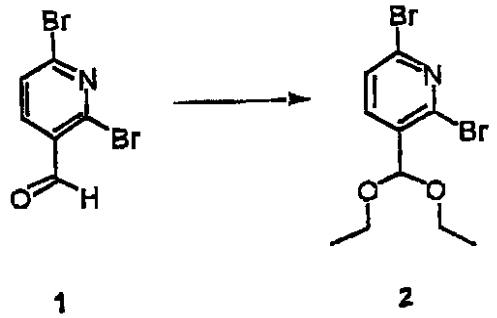


1

ＬＤＡ（６０ｍｍｏｌ、４０ｍＬ）の溶液に、－７８℃で、ＴＨＦ（３０ｍＬ、乾燥）中の２，６－ジブロモピリジン（４０ｍｍｏｌ、９．４８ｇ）を滴下して添加した。この混合物を－７８℃で２０分間攪拌した。蟻酸エチル（４００ｍｍｏｌ、３２．３ｍＬ）を添加し、そして攪拌を－７８℃で２時間続けた。飽和塩化アンモニウム（２００ｍＬ）を添加し、そしてこの混合物を室温まで温めた。この反応混合物を酢酸エチルで希釈し、そして有機層を水性の酸および塩基で洗浄した。この有機層を乾燥させ、そして減圧下でエバポレートした。得られた物質をシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィー、その後のｎ－ヘキサン中１０％の酢酸エチルによって精製し、白色固体として１を得た（３２ｍｍｏｌ、８．４１ｇ）。

【０１５６】

【化４４】

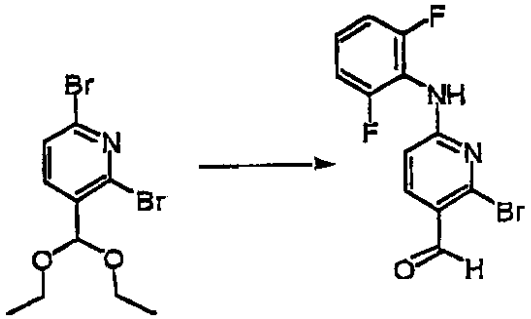


1 2

エタノール（７５０ｍＬ）中に溶解された１（７７６ｍｍｏｌ、２０５．６ｇ）およびトリエチルオルトホルメート（２００ｍＬ）の溶液を、一晩還流した。この反応混合物を冷却し、減圧下でエバポレートした。得られた赤色油をヘキサン中に溶解させ、そしてシリカゲルのプラグで濾過した。このプラグを、５０％のCH_2Cl_2／ヘキサンで溶出した。この濾過物をエバポレートして油として２を得た。

【０１５７】

【化４５】

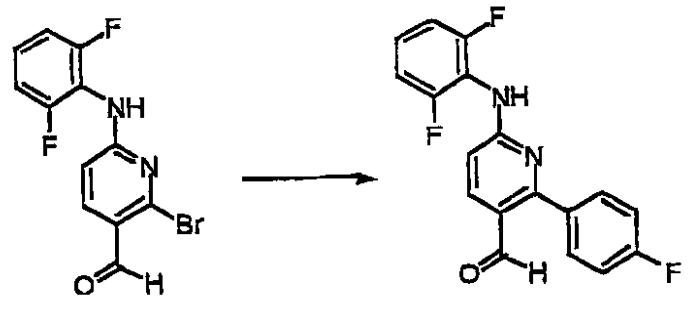


2 3

ＴＨＦ（１００ｍＬ）中の６０％ＮａＨ（１３０ｍｍｏｌ、５．２０ｇ）および２（６１．２ｍｍｏｌ、２０．７６ｇ）の懸濁物に、還流しながら、ＴＨＦ（１００ｍＬ）中の２，６－ジフルオロアニリン（６１．３ｍｍｏｌ、２０ｇ）の溶液を滴下して添加した。アニリンの添加後、$Pd(PPh_3)_4$（１００ｍｇ）を添加した。この混合物を１時間還流し、そして冷却した。塩酸（１Ｎ、１００ｍＬ）を添加し、そして攪拌を１時間続けた。この反応混合物を、CH_2Cl_2で抽出した。この有機抽出物を乾燥させ、そして減圧下でエバポレートした。得られた物質を最少量のCH_2Cl_2中に溶解させ、そしてヘキサンを添加した。この溶液を冷却し、黄色固体として３を沈降させた。

【０１５８】

【化４６】

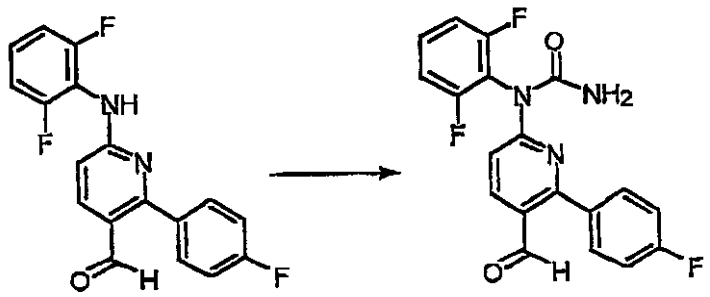


3 4

ｐ－フルオロフェニルボロン酸（５７．５ｍｍｏｌ、８．０５ｇ）および3（４６．９ｍｍｏｌ、１４．７０ｇ）を、ジメトキシエタン（３００ｍＬ）中に溶解させた。フッ化セシウム（６８．６ｍｍｏｌ、１０．４２ｇ）およびテトラキス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（１００ｍｇ）をこの溶液に添加し、そして懸濁物を一晩還流させた。この反応混合物を水中に注ぎ、そしてCH_2Cl_2で抽出した。この有機抽出物を１Ｎ　ＮａＯＨで洗浄し、$MgSO_4$で乾燥させ、そしてシリカゲルのプラグで濾過した。このプラグをCH_2Cl_2で溶出して、そして濾過物を減圧下でエバポレートした。得られた黄色固体を５０％CH_2Cl_2／ヘキサンで粉砕して、黄色固体として４を得た（９．５０ｇ、６２％）。

【０１５９】

【化４７】

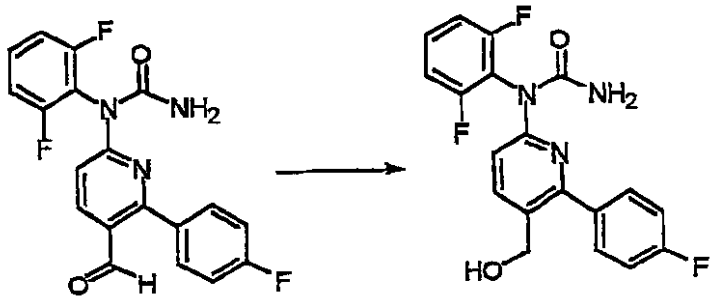


4　　5

トルエン（２５０ｍＬ）中の４（７０．１ｍｍｏｌ、２３．０１ｇ）の溶液を、トルエン中のホスゲンの２０％溶液（１５１ｍｍｏｌ、８０ｍＬ）と合わせ、そして２時間加熱して還流した。この反応物を冷却し、そして水酸化アンモニウム中に注いだ。この混合物を５分間攪拌し、そして塩化メチレンで抽出した。この有機抽出物を乾燥させ、そしてシリカゲルのプラグで濾過した。このプラグを塩化メチレンで溶出して、残渣の出発物質を除去した。次いで、これを、５０％の酢酸エチル／塩化メチレンで溶出して、５を得た。この濾過物を減圧下でエバポレートし、白色固体として５を得た（２１．３８ｇ、８６％）。

【０１６０】

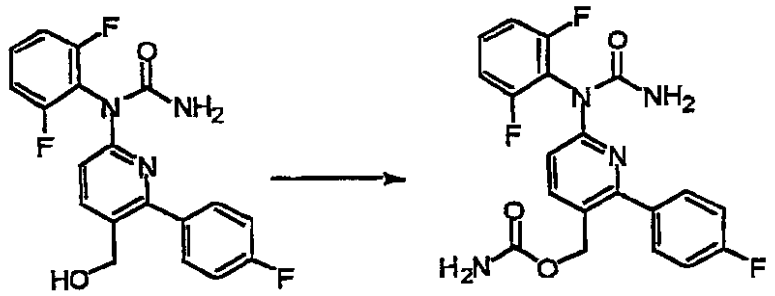
【化４８】



5　　6

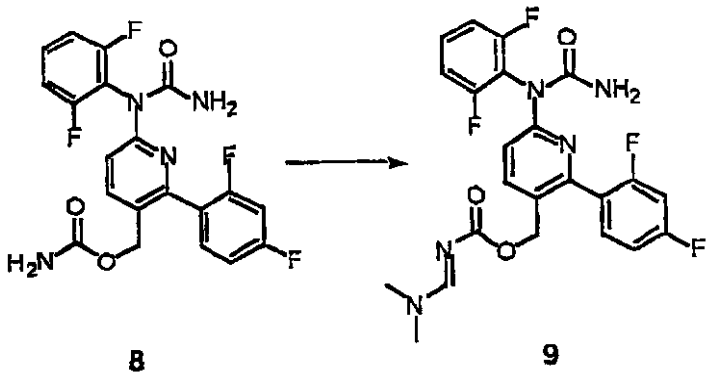
ホウ化水素ナトリウム（３６．５ｍｍｏｌ、１．３８ｇ）を、ＴＨＦ（１００ｍＬ）中の５（６０．０ｍｍｏｌ、２１．３８ｇ）の溶液に添加し、そして０℃で１時間攪拌し、次いで室温で２時間攪拌した。この反応物を１Ｎ　ＨＣｌ中に注ぎ、そして塩化メチレンで抽出した。この有機抽出物を乾燥させ、そしてシリカゲルのプラグで濾過した。このプラグを５％酢酸エチル／塩化メチレンで溶出して、残渣の出発物質を除去した。次いで、これを酢酸エチルで溶出して６を得た。この濾過物をエバポレートして白色固体として６を得た。

【０１６１】
化合物６についてのスペクトルデータは、以下であった：^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．９０（ｄ、１Ｈ）、７．６０（ｄ、２Ｈ）、７．５～７．３（ｍ、５Ｈ）、６．３０（ｄ、２Ｈ）、４．５（ｓ、２Ｈ）、２．３（ｓ、２Ｈ）。
【０１６２】
【化４９】



6　　7

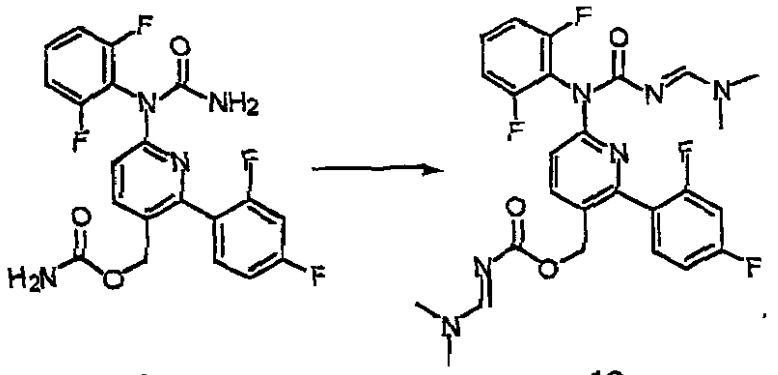
６（２．７９ｍｍｏｌ、１．００ｇ）およびｐ－ニトロフェニルクロロホルメート（５．５６ｍｍｏｌ、１．１２ｇ）の溶液を、０℃まで冷却した。トリエチルアミン（１４．３ｍｍｏｌ、２．０ｍＬ）を添加し、そしてこの溶液を１５分間攪拌し、そして水酸化アンモニウム中に注いだ。この溶液混合物を、水中に注ぎ、そして塩化メチレンで抽出した。この有機抽出物を飽和重炭酸ナトリウム水溶液で洗浄し、乾燥させ、そして減圧下でエバポレートして白色固体として７を得た（７３０ｍｇ、６５％）。
【０１６３】
（実施例２）
（ｐ３８インヒビタープロドラッグ９および１０の合成）
【０１６４】
【化５０】



8　　9

１０ｍＬトルエン中の８（１．０ｇ、２．３０ｍｍｏｌ）およびＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミドジメチルアセタール（１．０１ｇ、６．９１ｍｍｏｌ）の混合物を、８０℃で２０分間加熱した。得られた溶液を室温まで冷却した。シリカゲルでのクロマトグラフィー（ヘキサン／ＥｔＯＡｃ：１０／４）の前の通常の精密検査によって、白色固体としてアミジン９（表１の化合物１０１）を得た。化合物９についてのスペクトルデータは、以下であった：^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．３（ｓ、１Ｈ）、７．７（ｄ、１Ｈ）、７．５～７．４（ｍ、１Ｈ）、７．１～７．０（ｍ、１Ｈ）、６．９５～６．８５（ｔ、２Ｈ）、６．８５～６．７５（ｍ、１Ｈ）、６．４５～６．４（ｄ、１Ｈ）、６．２（ｓ、１Ｈ）、４．９５（ｓ、２Ｈ）、３．０５（ｓ、３Ｈ）、２．９５（ｓ、３Ｈ）。
【０１６５】

【化５１】



8 10

１０ｍＬのトルエン中の８（１．０ｇ、２．３０ｍｍｏｌ）およびＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミドジメチルアセタール（３．３ｇ、２２．４ｍｍｏｌ）の混合物を、８０℃で９０分間加熱した。得られた溶液を室温まで冷却した。シリカゲルでのクロマトグラフィー（ヘキサン／ＥｔＯＡｃ：２／１）の前の通常の精密検査によって、白色固体としてビス－アミド１０（表１の化合物１０７）を得た。化合物１０についてのスペクトルデータは、以下であった：^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．４（ｓ、１Ｈ）、８．３（ｓ、１Ｈ）、８．０５～７．９５（ｓ、１Ｈ）、７．１５～７．０５（ｍ、２Ｈ）、６．８５～６．７５（ｔ、２Ｈ）、６．７５～６．６５（ｍ、４Ｈ）、４．９５（ｓ、２Ｈ）、３．０～２．９５（ｄ、９Ｈ）、２．６５（ｓ、３Ｈ）。

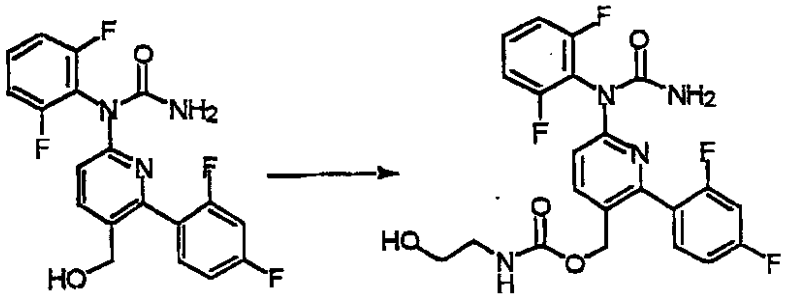
【０１６６】

（実施例３）

（ｐ３８インヒビタープロドラッグ１３の合成）

【０１６７】

【化５２】

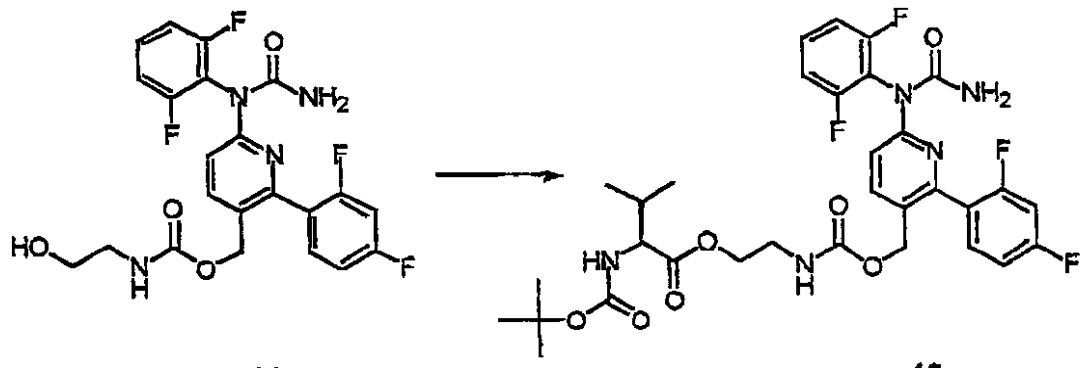


6 11

テトラヒドロフラン（３０ｍＬ）中の６（１．２５ｇ、３．３５ｍｍｏｌ）および４－ニトロフェニルクロロホルメート（０．８１ｇ、４．０２ｍｍｏｌ）の混合物に、トリエチルアミン（１．１６ｍＬ、８．３８ｍｍｏｌ）を、０℃で滴下して添加した。エタノールアミン（０．６ｍＬ、１０．０ｍｍｏｌ）を添加し、そしてこの溶液を０℃で３０分間攪拌した。シリカでのクロマトグラフィー（ヘキサン／アセトン：１０／４）の前の通常の精密検査によって、白色固体として１１を得た（１．０３ｇ、２．２３ｍｍｏｌ）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７５（ｄ、１Ｈ）、７．６５～７．５５（ｍ、２Ｈ）、７．５～７．４（ｍ、１Ｈ）、７．２５～７．１５（ｔ、２Ｈ）、７．１５～７．０５（ｔ、２Ｈ）、６．４（ｄ、１Ｈ）、５．２～５．１（ｄｓ、１Ｈ）、５．１５（ｓ、２Ｈ）、３．７５～３．６５（ｔ、２Ｈ）、３．４～３．３（ｍ、２Ｈ）。

【０１６８】

【化５３】

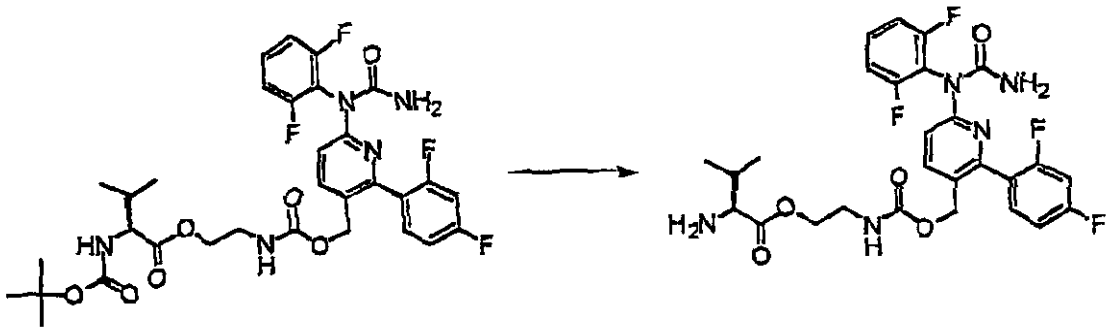


11 12

塩化メチレン（３０ｍＬ）中の１１（１．０３ｇ、２．２３ｍｍｏｌ）、（Ｌ）－ＢＯＣ－Ｖａｌ－ＯＨ（０．９７ｇ、４．４６ｍｍｏｌ）および１－（３－ジメチルアミノプロピル）３－エチルカルボジイミドヒドロクロリドの混合物を、室温で１．５時間攪拌した。シリカでのクロマトグラフィー（ヘキサン／アセトン：１０／４）の前の通常の精密検査によって、白色固体としてＶａｌ誘導体１２を得た（１．３８ｇ、２．０９ｍｍｏｌ）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）７．７５（ｄ、１Ｈ）、７．６５～７．５５（ｍ、２Ｈ）、７．５～７．４（ｍ、１Ｈ）、７．２５～７．１５（ｔ、２Ｈ）、７．１５～７．０５（ｔ、２Ｈ）、６．４（ｄ、１Ｈ）、５．４０～５．３５（ｂｓ、１Ｈ）、５．０５（ｓ、２Ｈ）、５．００～４．９５（ｄ、１Ｈ）、４．４～４．３（ｍ、１Ｈ）、４．２５～４．１５（ｍ、１Ｈ）、４．１５～４．０５（ｍ、１Ｈ）、３．５５～３．４５（ｍ、２Ｈ）、２．１５～２．０５（ｍ、１Ｈ）、１．４５（ｓ、９Ｈ）、１．０～０．８５（ｍ、６Ｈ）。

【０１６９】

【化５４】



12 13

塩化メチレン（２０ｍＬ）中の１２（１．３８ｇ、２．０９ｍｍｏｌ）の溶液に、トリフルオロ酢酸（１０ｍＬ）を添加した。この溶液を室温で１時間攪拌させた。通常の精密検査によって白色固体を得、この白色固体をその塩酸塩に変換して、白色固体として１３（表２の化合物１１１；０．６１ｇ、１．０２ｍｍｏｌ）を得た。化合物１３についてのスペクトルデータは、以下であった：^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）７．６５（ｄ、１Ｈ）、７．５５～７．４５（ｍ、２Ｈ）、７．４～７．３（ｍ、１Ｈ）、７．１５～７．０５（ｍ、２Ｈ）、７．０５～６．９５（ｍ、２Ｈ）、６．３５（ｄ、１Ｈ）、５．０５～５．００（ｂｓ、１Ｈ）、４．９５（ｓ、２Ｈ）、４．１５～４．０５（ｍ、２Ｈ）、３．４５～３．２５（ｍ、２Ｈ）、３．２（ｓ、１Ｈ）、１．９５～１．８５（ｍ、１Ｈ）、０．９０～０．７５（ｍ、６Ｈ）。

【０１７０】

（実施例４）

（昆虫細胞におけるｐ３８キナーゼのクローニング）

ヒトｐ３８キナーゼの２つのスプライス改変体ＣＳＢＰ１およびＣＳＢＰ２を、同定した。特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを用い、テンプレートとしてＨｅＬａ細胞ライブラリー（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）を使用して、ＣＳＢＰ２　ｃＤＮＡのコード領域を増幅させた。ポリメラーゼ連鎖反応産物を、ｐＥＴ－１５ｂベクター（Ｎｏｖａｇｅｎ）中にクローニングした。ｐＥＴ１５ｂ－（Ｈｉｓ）６－ｐ３８のＸｂａＩ－ＢａｍＨＩフラグメントを、プラスミドｐＶＬ１３９２（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）の相補的な部位にサブクローニングすることにより、バキュロウイルス転移ベクターｐＶＬ－（Ｈｉｓ）６－ｐ３８を構築した。

【０１７１】

プラスミドｐＶＬ－（Ｈｉｓ）６－ｐ３８は、２３残基ペプチドからなる組換えタンパク質（ＭＧＳＳＨＨＨＨＨＨＳＳＧＬＶＰＲＧＳＨＭＬＥ）（この配列を、ＤＮＡ配列決定および発現タンパク質のＮ末端配列決定により確認した）の合成を指示する。ここで、ＬＶＰＲＧＳは、ｐ３８のＮ末端にインフレームで融合したトロンビン切断部位を示す。Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（Ｓｆ９）昆虫細胞（ＡＴＣＣ）の単層培養物を、２７℃にて、Ｔフラスコ中の１０％胎仔ウシ血清を添加したＴＮＭ－ＦＨ培地（Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）において維持した。対数期のＳｆ９細胞を、Ｌｉｐｏｆｅｃｔｉｎ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて、Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ　ｃａｌｉｆｏｎｉｃａ核多角体病ウイルスの直鎖ウイルスＤＮＡ（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）および転移ベクターｐＶＬ－（Ｈｉｓ）６－ｐ３８で同時トランスフェクトした。個々の組換えバキュロウイルスクローンを、１％低融点アガロースを用いてプラークアッセイにより精製した。

【０１７２】

（実施例５）

（組換えｐ３８キナーゼの発現および精製）

Ｔｒｉｃｈｏｐｌｕｓｉａ　ｎｉ（Ｔｎ－３６８）Ｈｉｇｈ－Ｆｉｖｅ^{TM}細胞（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を、２７℃にて、振盪フラスコ中のＥｘｃｅｌ－４０５無タンパク質培地（ＪＲＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）中で浮遊状態で増殖させた。１．５×１０^{6}細胞／ｍｌの密度の細胞に、上記の組換えバキュロウイルスを感染効率５で感染させた。組換えｐ３８の発現レベルを、ウサギ抗ｐ３８抗体（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）を用いたイムノブロッティングによりモニターした。細胞塊を、ｐ３８の発現レベルが最大に達する感染後７２時間で収集した。

【０１７３】

（Ｈｉｓ）$_{6}$タグを付加したｐ３８を発現する細胞由来の凍結細胞ペーストを、５容量の緩衝液Ａ（５０ｍＭ　NaH_2PO_4　ｐＨ８．０、２００ｍＭ　ＮａＣｌ、２ｍＭ　β－メルカプトエタノール、１０％　グリセロール、および０．２ｍＭ　ＰＭＳＦ）中で解凍した。マイクロフルーダイザー中で細胞を機械的に破壊した後、溶解物を３０，０００×ｇで３０分間遠心分離した。この上清を、４℃にて３～５時間、Ｔａｌｏｎ^{TM}（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）金属アフィニティー樹脂（２～４ｍｇの推定ｐ３８あたり１ｍｌの樹脂の割合）と共にバッチ式でインキュベートした。この樹脂を、５００×ｇ、５分間の遠心分離により沈殿させ、そして緩衝液Ａによりバッチ式で穏やかに洗浄した。この樹脂をスラリー状にし、カラム（約２．６×５．０ｃｍ）に注ぎ、そして緩衝液Ａ＋５ｍＭ　イミダゾールで洗浄した。

【０１７４】

（Ｈｉｓ）$_{6}$－ｐ３８を、緩衝液Ａ＋１００ｍＭ　イミダゾールを用いて溶出させ、次いで、２リットルの緩衝液Ｂ（５０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．５、２５ｍＭ　β－メルカプトエタノール、５％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ）に対して４℃で一晩透析した。Ｈｉｓ$_{6}$タグを、１ｍｇのｐ３８あたり１．５ユニットのトロンビン（Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ）を添加し、２０℃にて２～３時間インキュベートすることにより除去した。０．２ｍＭ　ＰＭＳＦを添加することによってトロンビンをクエンチし、次いで全サンプルを、２ｍｌ　ベンズアミジンアガロース（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ）カラムに充填した。

【０１７５】
通り抜けた画分（ｆｌｏｗ ｔｈｒｏｕｇｈ ｆｒａｃｔｉｏｎ）を、予め緩衝液Ｂ＋０．２ｍＭ ＰＭＳＦ中で平衡化した２．６×５．０ｃｍ Ｑ－Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）カラムに直接充填した。ｐ３８を、２０カラム容量の０．６Ｍ ＮａＣｌ含有緩衝液Ｂへの直線勾配により溶出させた。溶出されたタンパク質ピークをプールし、そして緩衝液Ｃ（５０ｍＭ ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．５、５％ グリセロール、５０ｍＭ ＮａＣｌ、２ｍＭ ＤＴＴ、０．２ｍＭ ＰＭＳＦ）に対して４℃にて一晩透析した。

【０１７６】
透析したタンパク質を、Ｃｅｎｔｒｉｐｒｅｐ（Ａｍｉｃｏｎ）中で３～４ｍｌまで濃縮し、そして２．６×１００ｃｍ Ｓｅｐｈａｃｒｙｌ Ｓ－１００ＨＲ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）カラムにアプライした。３５ｍｌ／時間の流速で、タンパク質を溶出した。主要なピークをプールし、２０ｍＭ ＤＴＴに調整し、１０～８０ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、そしてアリコートとして－７０℃で凍結するかまたは直ちに使用した。

【０１７７】
（実施例６）
（ｐ３８の活性化）
０．５ｍｇ／ｍｌのｐ３８と０．００５ｍｇ／ｍｌのＤＤ二重変異ＭＫＫ６を、緩衝液Ｂ＋１０ｍＭ $MgCl_2$、２ｍＭ ＡＴＰ、０．２ｍＭ Na_2VO_4中で２０℃にて３０分間混合させることにより、ｐ３８を活性化した。次いで、この活性化混合物を、１．０×１０ｃｍ ＭｏｎｏＱカラム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）に充填し、そして１．０Ｍ ＮａＣｌ含有緩衝液Ｂへの２０カラム容量の直線勾配で溶出させた。活性化ｐ３８を、ＡＤＰおよびＡＴＰの後に溶出させた。活性化ｐ３８のピークをプールし、そして緩衝液Ｂ＋０．２ｍＭ Na_2VO_4に対して透析し、ＮａＣｌを除去した。透析したタンパク質に４．０Ｍストック溶液を添加することにより、１．１Ｍ リン酸カリウムに調整し、そして予め緩衝液Ｄ（１０％グリセロール、２０ｍＭ β－メルカプトエタノール、２．０ｍＭ ＤＴＴ）＋１．１Ｍ K_2HPO_4中で平衡化した１．０×１０ｃｍ ＨＩＣ（Ｒａｉｎｉｎ Ｈｙｄｒｏｐｏｒｅ）カラムに充填した。緩衝液Ｄ＋５０ｍＭ K_2HPO_4への２０カラム容量の直線勾配により、タンパク質を溶出させた。二重リン酸化ｐ３８が、主要ピークとして溶出し、そしてこれを、緩衝液Ｂ＋０．２ｍＭ Na_2VO_4に対する透析のためにプールした。活性化ｐ３８を、－７０℃で保存した。

【０１７８】
（実施例７）
（ｐ３８阻害アッセイ）
（Ａ．ＥＧＦレセプターペプチドのリン酸化の阻害）
このアッセイを、１０ｍＭ $MgCl_2$、２５ｍＭ β－メルカプトエタノール、１０％ グリセロール、および１００ｍＭ ＨＥＰＥＳ緩衝液（ｐＨ７．６）の存在下で実施した。代表的なIC_{50}決定のために、上記成分の全ておよび活性化ｐ３８（５ｎＭ）を含むストック溶液を調製した。このストック溶液を、複数のバイアルに等分した。固定量のＤＭＳＯまたはインヒビター含有ＤＭＳＯ（反応物中のＤＭＳＯの終濃度は５％）を、各バイアルに加え、混合し、そして室温で１５分間インキュベートした。ｐ３８触媒キナーゼ反応（１）において、ＥＧＦレセプターペプチド、ＫＲＥＬＶＥＰＬＴＰＳＧＥＡＰＮＱＡＬＬＲ、ホスホリルアクセプターを、各バイアルに添加した（終濃度２００μＭ）。このキナーゼ反応をＡＴＰ（１００μＭ）により開始させ、そしてこのバイアルを３０℃でインキュベートした。３０分後、等量の１０％ トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）によりこの反応をクエンチした。

【０１７９】
リン酸化ペプチドを、ＨＰＬＣ分析により定量した。非リン酸化ペプチドからのリン酸化ペプチドの分離を、水およびアセトニトリル（各々０．１％ ＴＦＡを含む）の二次元勾配を用いて逆相カラム（Ｄｅｌｔａｐａｋ、５μｍ、Ｃ１８ １００Ｄ、Ｐａｒｔ ｎ

ｏ．０１１７９５）で達成した。ＩＣ$_{50}$（５０％　阻害を生じるインヒビターの濃度）を、インヒビター濃度に対して残存する活性のパーセント（％）をプロットすることにより決定した。

【０１８０】

（Ｂ．ＡＴＰａｓｅ活性の阻害）

このアッセイを、１０ｍＭ　ＭｇＣｌ$_2$、２５ｍＭ　β－メルカプトエタノール、１０％　グリセロール、および１００ｍＭ　ＨＥＰＥＳ緩衝液（ｐＨ７．６）の存在下で実施する。代表的なＫｉ決定のために、活性化ｐ３８反応のＡＴＰａｓｅ活性におけるＡＴＰのＫｍを、インヒビターの非存在下および２つの濃度のインヒビターの存在下で決定する。上記成分の全ておよび活性化ｐ３８（６０ｎＭ）を含むストック溶液を調製する。このストック溶液を、複数のバイアルに等分した。固定量のＤＭＳＯまたはインヒビター含有ＤＭＳＯ（反応物中のＤＭＳＯの終濃度は２．５％）を、各バイアルに加え、混合し、そして室温で１５分間インキュベートする。種々の濃度のＡＴＰを添加することによりこの反応を開始させ、次いで、３０℃でインキュベートする。３０分後、５０μｌのＥＤＴＡ（０．１Ｍ、終濃度）、ｐＨ８．０を用いてこの反応をクエンチする。ｐ３８　ＡＴＰａｓｅ活性の産物であるＡＤＰを、ＨＰＬＣ分析により定量する。

【０１８１】

ＡＴＰからのＡＤＰの分離を、以下の組成の二次元溶媒を用いて、逆相カラム（Ｓｕｐｅｌｃｏｓｉｌ、ＬＣ－１８、３μｍ、ｐａｒｔ　ｎｏ．５－８９８５）で達成する：溶媒Ａ－８ｍＭ　硫酸水素テトラブチルアンモニウム（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．、カタログ番号Ｔ－７１５８）を含む０．１Ｍ　リン酸緩衝液、溶媒Ｂ－３０％メタノールを含む溶媒Ａ。

【０１８２】

Ｋｉを、インヒビターおよびＡＴＰ濃度の関数として、速度データから決定する。

【０１８３】

本発明のｐ３８インヒビターは、ｐ３８のＡＴＰａｓｅ活性を阻害する。

【０１８４】

（Ｃ．ＬＰＳ刺激したＰＢＭＣにおけるＩＬ－１、ＴＮＦ、ＩＬ－６、およびＩＬ－８産生の阻害）

インヒビターを、２０ｍＭストックからのＤＭＳＯ中で連続希釈した。少なくとも６つの連続希釈を調製した。次いで、４μｌのインヒビター希釈液を１ｍｌのＲＰＭＩ１６４０培地／１０％ウシ胎仔血清に添加することにより、４×インヒビターストックを調製した。４×インヒビターストックは、８０μＭ、３２μＭ、１２．８μＭ、５．１２μＭ、２．０４８μＭ、０．８１９μＭ、０．３２８μＭ、０．１３１μＭ、０．０５２μＭ、０．０２１μＭなどの濃度でインヒビターを含んだ。この４×インヒビターストックを、使用するまで３７℃で暖めた。

【０１８５】

新鮮なヒト血液軟膜細胞（ｂｌｏｏｄ　ｂｕｆｆｙ　ｃｅｌｌ）を、Ｖａｃｕｔａｉｎｅｒ　ＣＰＴ（Ｂｅｃｔｏｎ　＆　Ｄｉｃｋｎｓｏｎ）（チューブを満たすために４ｍｌの血液およびMg^{2+}／Ca^{2+}を含まない十分なＤＰＢＳを含む）中で、１５００×ｇで１５分間遠心分離することにより他の細胞から分離した。Ｖａｃｕｔａｉｎｅｒにおける勾配の上部に位置する末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を取り、そしてＲＰＭＩ１６４０培地／１０％ウシ胎仔血清で２回洗浄した。５００×ｇで１０分間遠心分離することにより、ＰＢＭＣを回収した。合計細胞数を、Ｎｅｕｂａｕｅｒ　Ｃｅｌｌ　Ｃｈａｍｂｅｒを用いて決定し、そしてこの細胞を、細胞培養培地（１０％ウシ胎仔血清を含むＲＰＭＩ１６４０）中で４．８×10^6細胞／ｍｌの濃度に調製した。

【０１８６】

あるいは、抗凝血剤を含む全血を、このアッセイに直接使用した。

【０１８７】

１００μｌの細胞懸濁物または全血を、９６ウェル細胞培養プレートの各ウェルにプレ

ートした。次いで、５０μｌの４×インヒビターストックを、細胞に添加した。最後に、５０μｌのリポ多糖（ＬＰＳ）作用ストック溶液（細胞培養培地中に１６ｎｇ／ｍｌ）を添加し、このアッセイにおいて４ｎｇ／ｍｌ　ＬＰＳの終濃度を与えた。また、５０μｌの細胞培養培地を添加することにより、ビヒクルコントロールの総アッセイ量を２００μｌに調製した。次いで、ＰＢＭＣ細胞または全血を、加湿雰囲気下、３７℃／５％CO_2にて一晩（１２～１５時間）インキュベートした。

【０１８８】

次の日、この細胞を、シェーカーで３～５分間混合し、その後、５００×ｇで５分間遠心分離した。細胞培養上清を収集し、そしてＥＬＩＳＡにより、販売元の説明書に従い、ＩＬ－１β（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅキット、＃ＤＢＬ５０）、ＴＮＦ－α（ＢｉｏＳｏｕｒｃｅ、＃ＫＨＣ３０１２）、ＩＬ－６（Ｅｎｄｏｇｅｎ、＃ＥＨ２－ＩＬ６）、およびＩＬ－８（Ｅｎｄｏｇｅｎ、＃ＥＨ２－ＩＬ８）のレベルを分析した。このＥＬＩＳＡデータを用いて、用量応答曲線を作成し、ＩＣ５０値を得た。

【０１８９】

本発明の種々のｐ３８インヒビターについての、ＬＰＳ刺激したＰＢＭＣ（「細胞」）におけるキナーゼアッセイ（「キナーゼ」；上記の小節Ａ）、ＩＬ－１、およびＴＮＦ、ならびに全血（「ＷＢ」）におけるＩＬ－１、ＴＮＦ、およびＩＬ－６の結果を、以下の表７に示す。

【０１９０】

【表４】

表　7

化合物	M.W.	キナーゼ IC50 (uM)	細胞 IL-1 IC50 (uM)	細胞 TNF IC50 (uM)	WB IL-1 IC50 (uM)	WB TNF IC50 (uM)	WB IL-6 IC50 (uM)
13	559.55	0.031	0.012	0.022	0.140	0.055	0.083
9	489.43	1.0	0.05	0.05	12.2	20.0	11.0
10	544.51	5.0			2.2	4.3	0.8

本発明の他のｐ３８インヒビターはまた、ＥＧＦレセプターペプチドのリン酸化を阻害し、そしてＬＰＳ刺激したＰＢＭＣまたは全血におけるＩＬ－１、ＴＮＦ、およびＩＬ－６、ならびにＩＬ－８の産生を阻害する。

【０１９１】

（Ｄ．ＩＬ－１刺激したＰＢＭＣにおけるＩＬ－６およびＩＬ－８産生の阻害）

このアッセイを、５０μｌのＩＬ－１ｂ作用ストック溶液（細胞培養培地中に２ｎｇ／ｍｌ）を、（ＬＰＳ）作用ストック溶液の代わりにこのアッセイに添加することを除いて、上記と正確に同じように、ＰＢＭＣにおいて実施する。

【０１９２】

細胞培養上清を、上記のように収集し、そしてＥＬＩＳＡにより、販売元の説明書に従って、ＩＬ－６（Ｅｎｄｏｇｅｎ、＃ＥＨ２－ＩＬ６）、およびＩＬ－８（Ｅｎｄｏｇｅｎ、＃ＥＨ２－ＩＬ８）のレベルについて分析する。このＥＬＩＳＡのデータを用いて、用量応答曲線を作成し、ＩＣ５０値を得た。

【０１９３】

（Ｅ．ＰＢＭＣにおけるＬＰＳ誘導性プロスタグランジンエンドペルオキシドシンター

ゼ－２（ＰＧＨＳ－２またはＣＯＸ－２）誘導の阻害）
ヒト末梢単核細胞（ＰＢＭＣ）を、Ｖａｃｕｔａｉｎｅｒ　ＣＰＴ（Ｂｅｃｔｏｎ　＆　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）中での遠心分離により、新鮮なヒト血液軟膜コートから単離する。１５×１０^{6}細胞を、１０％ウシ胎仔血清、５０Ｕ／ｍｌペニシリン、５０μｇ／ｍｌストレプトマイシン、および２ｍＭ　Ｌ－グルタミンを含むＲＰＭＩ１６４０を含む6ウェル組織培養皿に播種する。化合物を、ＤＭＳＯ中での終濃度０．２μＭ、２．０μＭ、および２０μＭで添加する。次いで、ＬＰＳを、終濃度４ｎｇ／ｍｌで添加し、酵素の発現を誘導する。培養物の最終容量は、１０ｍｌ／ウェルである。

【０１９４】
３７℃、５％　CO_2での一晩のインキュベーション後、この細胞を、掻き取りることにより収集し、次いで遠心分離して上清を除き、そしてこの細胞を、氷冷ＤＰＢＳ（Ｄｕｌｂｅｃｃｏのリン酸緩衝生理食塩水、ＢｉｏＷｈｉｔｔａｋｅｒ）中で2回洗浄する。この細胞を、氷上で１０分間、１μｌのベンゾナーゼ（ＭｅｒｃｋのＤＮＡｓｅ）を含む、５０μｌの冷やした溶解緩衝液（２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ７．２、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１％　Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ－１００、１％　デオキシコール酸、０．１％　ＳＤＳ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ、２％　アプロチニン（Ｓｉｇｍａ）、１０μｇ／ｍｌ　ペプスタチン、１０μｇ／ｍｌ　ロイペプチン、２ｍＭ　ＰＭＳＦ、１ｍＭ　ベンズアミジン、１ｍＭ　ＤＴＴ）中に溶解する。各サンプルのタンパク質濃度を、ＢＣＡアッセイ（Ｐｉｅｒｃｅ）および標準としてウシ胎仔アルブミンを用いて決定する。次いで、各サンプルのタンパク質濃度を、冷やした溶解緩衝液により１ｍｇ／ｍｌに調製する。１００μｌの溶解物に、等量の２×ＳＤＳ　ＰＡＧＥ充填緩衝液を添加し、そしてサンプルを５分間沸騰させる。タンパク質（３０μｇ／レーン）を、４～２０％ＳＤＳ　ＰＡＧＥ勾配ゲル（Ｎｏｖｅｘ）上でサイズ分画し、次いで、２０％　メタノールを含むＴｏｗｂｉｎ転移緩衝液（２５ｍＭ　Ｔｒｉｓ、１９２ｍＭ　グリシン）中での１００ｍＡ、２時間の電気泳動手段により、ニトロセルロースメンブレンに移す。転移後、このメンブレンを、ブロッキング緩衝液（０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０を添加した５％脱脂粉乳ＤＰＢＳ）を用いて室温にて１時間、前処理し、そしてＤＰＢＳ／０．１％　Ｔｗｅｅｎ－２０中で３回洗浄する。このメンブレンを１：２５０希釈のモノクローナル抗ＣＯＸ－２抗体（Ｔｒａｎｓｄｕｃｔｉｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）と共に、ブロッキング緩衝液中で４℃にて一晩インキュベートする。ＤＰＢＳ／０．１％　Ｔｗｅｅｎ－２０中での３回の洗浄後、このメンブレンをマウスＩｇに対する１：１０００希釈の西洋ワサビペルオキシダーゼ結合ヒツジ抗血清（Ａｍｅｒｓｈａｍ）と共に、ブロッキング緩衝液中で室温にて１時間インキュベートする。次いで、このメンブレンを、ＤＰＢＳ／０．１％　Ｔｗｅｅｎ－２０中で、再度、３回洗浄する。ＥＣＬ検出システム（ＳｕｐｅｒＳｉｇｎａｌ^{TM}　ＣＬ－ＰＲＰ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　Ｓｙｓｔｅｍ、Ｐｉｅｒｃｅ）を用いて、ＣＯＸ－２の発現レベルを決定する。

【０１９５】
（実施例８）
（ＺＡＰ７０阻害アッセイ）
ＺＡＰ７０の活性を、γ－^{33}Ｐ　ＡＴＰ（ＭＥＮ、Ｂｏｓｔｏｎ、ＭＡ）を用いてリン酸化ポリＥ４Ｙ（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ、Ｓｔ　Ｌｏｕｉｓ　ＭＯ）を決定することにより測定する。１００ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．５、１０ｍＭ　$MgCl_2$、２５ｍＭ　ＮａＣｌ、１ｍＭ　ＤＴＴ、および０．０１％　ＢＳＡを含む緩衝液中で、室温にて反応を実施する。ＺＡＰ２０およびポリＥ４Ｙの終濃度は、それぞれ、２０ｎＭおよび５μＭである。ＤＭＳＯ中の試験化合物（化合物の終濃度は、１．５％　ＤＭＳＯ中で３０μＭであった）を、上記の成分を含む反応混合物に添加する。γ－^{33}Ｐ　ＡＴＰ（終濃度２０μＭ、特異的活性＝０．０１８Ｃｉ／ｍｍｏｌ）を添加することにより、この反応を開始させる。この反応を１２分間進行させ、次いで、２００ｍＭ　ＡＴＰを含む１０％　ＴＣＡを添加することによりクエンチする。クエンチした反応物を、Ｔｏｍｔｅｃ　９６００セルハーベスター（Ｔｏｍｔｅｃ、Ｈａｍｄｅｎ、ＣＴ）を用いて、ＧＦ

／Ｃガラス線維フィルタープレート（Ｐａｃｋａｒｄ、Ｍｅｒｉｄｅｎ、ＣＴ）上で収集する。このプレートを、１ｍＭ　ＡＴＰおよび水を含む５％ＴＣＡで洗浄する。５０μｌのシンチレーション液を、このプレートに添加し、次いで、Ｐａｃｋａｒｄシンチレーションカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ、Ｍｅｒｉｄｅｎ、ＣＴ）を用いて計数する。阻害性化合物のＩＣ５０を、同一のアッセイを用いて、一連の化合物濃度で決定した。

【０１９６】

本発明者らは、本明細書中でこれまでに本発明の多くの実施形態を示してきたが、本発明者らの基本的な構成が、本発明の方法を利用する他の実施形態を提供するために変更され得ることは明らかである。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*1/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/18	
Ａ６１Ｐ	*3/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/10	
Ａ６１Ｐ	*5/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	5/14	
Ａ６１Ｐ	*7/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/00	
Ａ６１Ｐ	*7/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/02	
Ａ６１Ｐ	*7/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/04	
Ａ６１Ｐ	*7/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/06	
Ａ６１Ｐ	*7/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/10	
Ａ６１Ｐ	*9/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/00	
Ａ６１Ｐ	*9/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ	*11/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00	
Ａ６１Ｐ	*11/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/06	
Ａ６１Ｐ	*13/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12	
Ａ６１Ｐ	*17/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00	
Ａ６１Ｐ	*17/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/04	
Ａ６１Ｐ	*17/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/06	
Ａ６１Ｐ	*19/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/02	
Ａ６１Ｐ	*19/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/08	
Ａ６１Ｐ	*19/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/10	
Ａ６１Ｐ	*21/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00	
Ａ６１Ｐ	*21/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/04	
Ａ６１Ｐ	*25/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00	
Ａ６１Ｐ	*25/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/02	１０１
Ａ６１Ｐ	*25/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/04	
Ａ６１Ｐ	*25/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/06	
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28	
Ａ６１Ｐ	*27/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/02	
Ａ６１Ｐ	*29/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	
Ａ６１Ｐ	*31/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	１０１
Ａ６１Ｐ	*31/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/00	
Ａ６１Ｐ	*31/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04	
Ａ６１Ｐ	*31/22*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/18	
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/22	
Ａ６１Ｐ	*35/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00	
Ａ６１Ｐ	*37/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02	
Ａ６１Ｐ	*37/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06	
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/08	
			Ａ６１Ｐ	43/00	１０５
			Ａ６１Ｐ	43/00	１１１

(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(72)発明者　ジョン　コクラン
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０１８４５，　ノース　アンドーバー，　ローヤル　クレスト　ドライブ　２４　ナンバー３

(72)発明者　ビンセント　ガルロ
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０１４５１，　ハーバード，　エイヤー　ロード　１８エイ
(72)発明者　ガイ　ベミス
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４７６，　アーリントン，　アップルトン　ストリート
２５６

Ｆターム(参考) 4C055 AA01 BA03 BA08 BA13 BA53 BB17 CA02 CA06 CA17 CB17
DA01 FA32 FA37
4C086 AA01 AA02 AA03 BC17 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA08 ZA15
ZA16 ZA21 ZA33 ZA36 ZA51 ZA53 ZA54 ZA55 ZA59 ZA66
ZA75 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZB08 ZB11 ZB13 ZB15 ZB21
ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZC20

【外国語明細書】
2012149085000001.pdf