

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成25年4月18日 (2013.4.18)

【公表番号】特表2009-539838(P2009-539838A)

【公表日】平成21年11月19日 (2009.11.19)

【年通号数】公開・登録公報2009-046

【出願番号】特願2009-514326(P2009-514326)

【国際特許分類】

C 07 C	251/66	(2006.01)
A 61 K	31/215	(2006.01)
A 61 K	31/27	(2006.01)
A 61 P	43/00	(2006.01)
A 61 P	35/00	(2006.01)
A 61 P	11/00	(2006.01)
A 61 P	39/02	(2006.01)
A 61 P	17/06	(2006.01)
A 61 P	1/04	(2006.01)
A 61 P	1/18	(2006.01)
A 61 P	1/16	(2006.01)
A 61 P	11/06	(2006.01)
A 61 P	37/08	(2006.01)
A 61 P	9/08	(2006.01)
A 61 P	31/04	(2006.01)
A 61 P	29/00	(2006.01)
A 61 P	11/02	(2006.01)
A 61 P	31/16	(2006.01)
A 61 P	31/12	(2006.01)
A 61 P	31/18	(2006.01)
A 61 P	31/22	(2006.01)
A 61 P	31/20	(2006.01)
A 61 P	31/14	(2006.01)
A 61 P	31/10	(2006.01)
A 61 P	33/06	(2006.01)
A 61 P	33/04	(2006.01)
A 61 P	33/02	(2006.01)
A 61 P	17/02	(2006.01)
A 61 P	17/00	(2006.01)
A 61 P	17/16	(2006.01)
A 61 P	9/10	(2006.01)
A 61 P	25/28	(2006.01)
A 61 P	9/04	(2006.01)
A 61 P	25/00	(2006.01)
A 61 P	19/02	(2006.01)
A 61 P	19/08	(2006.01)
A 61 P	19/06	(2006.01)
A 61 P	1/02	(2006.01)
A 61 P	21/04	(2006.01)
A 61 P	37/02	(2006.01)
A 61 P	37/06	(2006.01)

**A 6 1 P 3/10 (2006.01)**  
**C 0 7 C 271/28 (2006.01)**  
**C 0 7 C 271/24 (2006.01)**  
**C 0 7 C 251/68 (2006.01)**

**【 F I 】**

C 0 7 C 251/66	C S P
A 6 1 K 31/215	
A 6 1 K 31/27	
A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 39/02	
A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 9/08	
A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P 31/16	
A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 33/06	
A 6 1 P 33/04	
A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 17/00	1 0 1
A 6 1 P 17/16	
A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 9/04	
A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 19/08	
A 6 1 P 19/06	
A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 21/04	
A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 3/10	
C 0 7 C 271/28	
C 0 7 C 271/24	

C 0 7 C 251/68

## 【誤訳訂正書】

【提出日】平成25年2月27日(2013.2.27)

## 【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】マクロファージ遊走阻止因子阻害剤としてのオキシム誘導体

【技術分野】

【0001】

関連出願に対する相互参照

本願は、2006年6月5日出願の米国仮出願第60/811,258号の利益を請求する。

【0002】

(1) 本発明の分野

本発明は、一般的に、サイトカイン阻害剤に関する。より具体的には、本発明が、複数のマクロファージ転位阻害因子阻害剤に関する。

【背景技術】

【0003】

(2) 関連技術の記述

セブシスは、感染に対する潜在的に致死的な全身炎症反応であるが、およそ700,000人に影響を及ぼし、年に215,000よりも多い人々を死なせ、国民当たりの費用(コスト)\$16,700,000,000である(Martinら、2003年)。セブシス発症は継続して上昇する一方(O'BrienおよびAbraham、2003年)、今日に至るまで、小分子治療剤は、現在、その臨床管理に関してFDAにより全く認められていない。これゆえ、重篤なセブシスは、日常的で費用のかかる、しばしば致命的な病状であり、一年での死者は急性心筋梗塞のそれと同じくらいである(Angusら、2001年)。

【0004】

セブシスは、少なくとも一部、可溶因子により媒介されている。これらの中で、マクロファージ遊走阻止因子(MIF)は炎症経路において重大な役割を果たすことが示されている。MIF生物学では、MIFを炎症促進応答のマクロファージ由来経路に位置させる(Bridhuizenら、2001年;Lueら、2002年;Calandra、2000年;2001年)。MIFは、1960年代早期、培養単球/マクロファージのランダムな動きおよび遊走を阻害した、活性化リンパ球の産物として最初に記載された(GeorgeおよびVaughan、1962年;BloomおよびBennett、1966年;David、1966年)。MIFが、in vitroで研究するに快適であった最初の非免疫グロブリン可溶因子の1種であったため、この発見は有意な興味を生んだ。

【0005】

MIFは、免疫細胞および内分泌細胞などの、多数のタイプの細胞により産生され、現在、グルココルチコイドの抗炎症活性の炎症促進対抗レギュレーター(counter-regulator)として認識されている。In vitroで、MIF発現が、炎症促進サイトカイン(TNF-、IL-1、IL-2、IL-6、およびIL-8)のグルココルチコイド産生の抗炎症および免疫抑制効果を無効にする(CalandraおよびBucala、1997年;Donnellyら、1997年)。マウスにおける、デキサメタゾンを伴う組み替え型MIFの投与が、LPS死へのデキサメタゾンの保護効果を、完全にブロッ

クする (Calandra、1995年)。MIFが、決定的に、種々の炎症疾患の病理に関与している。特に、グラム陽性、グラム陰性、および多くの微生物によるセブシスの動物モデル、ならびにMIFノックアウトモデルが、セブシスのMIFの重大な役割を指し示す (Calandraら、2000年; Bozzaら、1999年; Bernhagenら、1993年)。これゆえ、MIFの多数の炎症促進効果は、免疫細胞活性化およびグルココルチコイドによる炎症促進サイトカインカスケードの通常の生理学的阻害を無効にするか、対抗的に調整する独特の能力と一緒に、敗血症の重大なメディエーターとしてMIFを位置づける。

#### 【0006】

In vivoにおける研究が、MIFは全身炎症の重要な後期作用性メディエーターであることを実証する。ネズミにおけるMIF遺伝子の欠損が致死内毒素血症スタフィロコッカス毒性ショックに対する保護を授ける (Bozzaら、1999年)。加えて、中和MIF抗体の投与が：(a) LPS誘導性致死；(b) E. coli腹腔炎により誘導された致死腹腔炎およびセブシスショック；ならびに(c) TNF- 欠損マウスにおける盲腸結紮および穿孔 (CLP) により誘導された劇症セブシスショックから、マウスを保護した (Calandra、2001年; Bernhagenら、1993年)。TNF- およびIL-1 のような早期メディエーターに対し、MIF放出は、ピークになって、CLP開始5時間後に横ばい状態になり、これにより、治療処置機会の手段を提供する。その結果として、抗MIF治療は、抗TNF- 治療および抗IL-1治療よりも潜在的に有益であり、このことが重篤なセブシス患者にとって限定的な利益であることを実証する (Abraham、1999年)。対照的に、セブシス誘導8時間後の抗MIF抗体の投与が、コントロールのIgGを受けた動物に対して、マウスCLP敗血症モデルにおける有意な保護を授ける。ヒトでの研究も、セブシスショックにおけるMIFに関する役割を裏付ける (Beishuizenら、2001年; Calandraら、2000年)。外傷患者の損傷もしくは感染の重篤さと彼らの血清中MIF濃度との間で相関がある (重篤なセブシス患者 (6倍) およびセブシスショック患者 (15倍) で示される上昇した血中MIF濃度を伴う) ことが立証されている。 (Calandraら、2000年)。まとめると、これらの結果は、MIFアンタゴニストが強力な抗炎症剤 (MIFの直接的な炎症活性を中和することにより、及び内因性副腎皮質ステロイドもしくは投与副腎皮質ステロイドの抗炎症の利益を回復することにより、双方で作用する) であることを示唆する。

#### 【0007】

3次元X線結晶構造解析 (graphic) 研究は、MIFがホモ3量体 (トリマー) として現れることを示す (Suzukiら、1994年; Taylorら、1999年; Sugimotoら、1995年; Katoら、1996年; LolisおよびBucalla、1996年; Sugimotoら、1996年; Sunら、1996年; Suzukiら、1996年; Lubettskyら、1999年; Oritaら、2001年; Lubettskyら、2002年)。MIFは、D, L-ドーパクロームメチルエステルの対応するインドール誘導体への互変異性化を触媒できる独特の能力を保有する (Rosenengrenら、1996年)。ごく最近、フェニルビルビン酸およびp-ヒドロキシフェニルビルビン酸が、MIFの基質であることが見いだされた (Matsunagaら、1999a; Rosenengrenら、1997年; Matsunagaら、1999b)。p-ヒドロキシフェニルビルビン酸と複合体化されたMIFの結晶構造が、該ホモ3量体 (トリマー) の隣接2サブユニット間で形成する疎水空洞中にある活性部位を同定した (Lubettskyら、1999年)。Pro-1をセリン (P1-s) もしくはグリシン (P1-g) に置換する部位特異性変異誘発が、D-ドーパクロームとp-ヒドロキシフェニルビルビン酸との互変異性化酵素 (トートメラーゼ) 活性のない突然変異体を生じるため、プロリン (該活性部位のPro-1) が、酵素活性に関する重要な残基であるようである。 (Lubettskyら、1999年; Bendratら、1997年; Swoppeら、1998年)。

## 【0008】

互変異性化酵素（トートメラーゼ）触媒活性とMIFのサイトカイン活性と相関が、幾つかの研究により裏付けられ、ここで、寄生線虫たる*Brugia malayi*（Bm）由来のヒトMIFの同族体の構造および互変異性化速度が特徴化された。BmのMIF突然変異体P1-gが、その親のBmのMIFおよびヒトのMIFに比べ、TNF-産生およびヒトマクロファージケモスタチック活性の誘導が1/10の活性である（Zangら、2002年）。加えて、P1-g突然変異体は、活性化好中球におけるスーパーオキシドの発生を刺激できる能力を非常に損傷される（Swopeら、1998年）。また、MIFのP1-a突然変異体（その互変異性化酵素（トートメラーゼ）活性を失っている。）は、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）mRNAレベルを高められる能力を失う（Onoderら、2000年）。しかしながら、そのPro-1領域単独の突然変異では、そのグルココルチコイド対抗調節活性およびその単球化学走化性阻害を廃するに充分でなく（Bendratら、1997年；Hermanowski-Vosatkaら、1999年）、欠失MIF突然変異体も、MIF結合/活性におけるそのカルボキシ末端に関する役割を示す（Kleemannら、2000年；Mischkeら、1997年）。

## 【0009】

マクロファージ活性化が、炎症における早期ステップであり、TNFのような炎症誘導サイトカインの増加に至り、組織損傷を生じる。MIFが、当初、この名が示すとおり、マクロファージの遊走を規制すると示された。しかしながら、より最近の研究が、MIFの主要な活性は抗炎症ステロイド応答を抑圧できる能力であることを示している。これゆえ、治療標的としてのMIFに対する合理性は、MIFをブロックするとセブシスおよび内毒素血症における炎症カスケードを弱め、生存率を向上させることである。

## 【0010】

幾つかの研究において、抗MIF中和抗体の投与が、：（a）LPS誘発性致死から；（b）*E. coli*による腹腔炎により誘導された致死腹腔炎およびセブシスショックに対し；そして（c）TNF-欠損マウスにおける盲腸結紮（CLP）および穿刺により誘導された致死敗血症に対し、ネズミを保護する。

## 【0011】

化合物たる（S，R）-3-（4-ヒドロキシフェニル）-4，5-ジヒドロ-5-イソキサゾール酢酸メチルエステル（ISO-1）が、最近、MIF活性阻害剤として設計（デザイン）された（PCT公開WO02/100332）。ISO-1に複合体化されたMIFの結晶構造が、疎水ポケットに結合することを表した。In vitroにおいて、ISO-1は、LPS処理マクロファージによるTNF放出の60%を阻害する。In vivoにおいて、40mg/kgでのISO-1の腹腔内投与が、内毒素血症およびセブシスにおける生存率を増加させた（Al-Abiedら、2005年）。これらの結果が、セブシス動物治療用抗MIFモノクローナル抗体に匹敵する。

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0012】

ISO-1構造は、MIF触媒作用によるドーパクローム互変異性化構造を模倣するように元より設計されたMIF酵素活性シッフ塩基（シッフベース）阻害剤構造を取り込む。ISO-1が、穏やかで中庸な抗炎症活性を有する一方、ISO-1のみの構造の周辺に着目したライブラリーの合成は、有意にMIF阻害剤活性を向上させなかった。これゆえ、新しい分子スキップフォールドが、さらなるMIF阻害剤を同定するのに必要とされている。本発明は、係る必要性を課題とする。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0013】

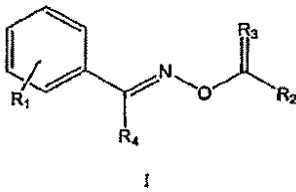
従って、本発明者らはMIFを阻害する化合物を同定した。これらの化合物は哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防するのに有用である。

【 0 0 1 4 】

従って、本発明は、式 I :

【 0 0 1 5 】

【 化 1 】



( 式中、 $R_1$  が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$  が、環構造を含み、ここで、該環構造中の1 原子が、 $R_3$  に結合する炭素に結合しており；

$R_3$  が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；かつ

$R_4$  が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$  が、独立に、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。)

の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）に関する。

【 0 0 1 6 】

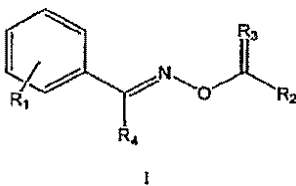
本発明が、医薬として許容可能な賦形剤において、上の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩を含む医薬組成物にも関する。

【 0 0 1 7 】

本発明は、さらに、式 I :

【 0 0 1 8 】

【 化 2 】



( 式中：

$R_1$  が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり、ここで、少なくとも1 つの置換がハロゲンであり；

$R_2$  が、環構造を含み、ここで、該環構造中の1 原子が、 $R_3$  に結合する炭素に結合しており；

$R_3$  が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；かつ

$R_4$  が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$  が、独立して、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。)

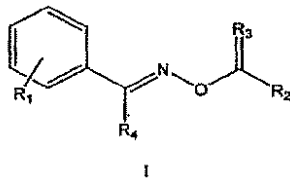
の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）に関する。本発明は、これらの化合物のいずれかを含む医薬組成物をも包含する。

【 0 0 1 9 】

また、本発明は、式 I :

【 0 0 2 0 】

## 【化 3】



( 式中：

$R_1$  が、独立して、単一もしくは多重置換の、 $H$ 、 $OH$ 、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$  が、パラ ( p - ) ヒドロキシメチルフェニルであり；

$R_3$  が、 $O$ 、 $C(R_5)_2$ 、もしくは  $S$  であり；かつ

$R_4$  が、 $H$ 、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$  が、独立して、 $H$ 、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。 )

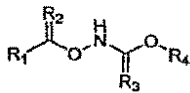
の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体 ( トートマー ) に関する。

## 【 0 0 2 1 】

本発明が、更に、式 I I I：

## 【 0 0 2 2 】

## 【化 4】



( 式中：

$R_1$  が、環構造を含み、ここで、該環構造中の 1 原子が、 $R_2$  に結合する炭素に結合しており；

$R_2$  および  $R_3$  が、独立して、 $O$ 、 $C(R_5)_2$ 、もしくは  $S$  であり；

$R_4$  が、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシであり；

$R_5$  が、独立して、 $H$ 、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。 )

の化合物に関する。本発明は、これらの化合物のいずれかを含む医薬組成物をも包含する

°

## 【 0 0 2 3 】

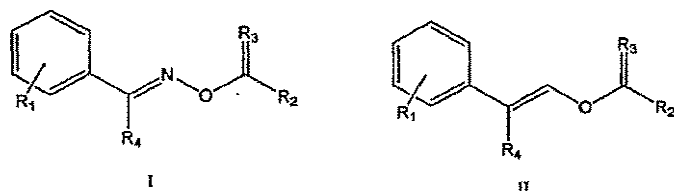
また、本発明は、哺乳類におけるマクロファージ遊走阻止因子 ( M I F ) 活性を阻害する方法に関する。これら方法が、該哺乳類における M I F 活性を阻害するに有効な量で、上で同定された医薬組成物のいずれかを該哺乳類に投与することを含む。

## 【 0 0 2 4 】

加えて、本発明は、哺乳類におけるマクロファージ遊走阻止因子 ( M I F ) 活性を阻害する別の方法にも関する。これら方法は、該哺乳類における M I F 活性を阻害するに有効な量で医薬組成物を該哺乳類に投与することを含む。これらの方法において、該医薬組成物が、医薬として許容可能な賦形剤中に、式 I もしくは式 I I の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体 ( トートマー ) を含み、ここで、式 I および式 I I が：

## 【 0 0 2 5 】

## 【化 5】



であり、式中：

$R_1$ が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$ が、環構造を含み、ここで、該環構造中の1原子が、 $R_3$ に結合する炭素に結合しており；

$R_3$ が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；かつ

$R_4$ が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$ が、独立して、H、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルキル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルカノイル、または直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルコキシである。

## 【0026】

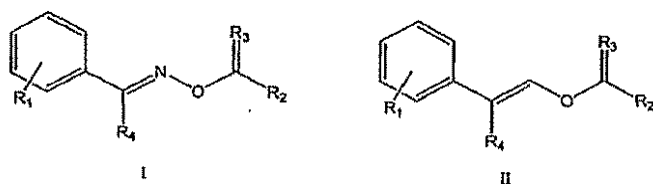
更に、本発明は、哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防する方法に関する。これら方法は、該哺乳類における炎症を治療するかもしくは予防するのに有効な量で、上で同定された医薬組成物のいずれかを該哺乳類に投与することを含む。

## 【0027】

本発明は、哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防する他の方法にも関する。これら方法は、該哺乳類における炎症を治療するかもしくは予防するのに有効な量で、医薬組成物を該哺乳類に投与することを含み、ここで、該医薬組成物は、医薬として許容可能な賦形剤中に、式Iもしくは式IIの化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）を含む。式Iおよび式IIが：

## 【0028】

## 【化 6】



であり、式中：

$R_1$ が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$ が、環構造を含み、ここで、該環構造中の1原子が、 $R_3$ に結合する炭素に結合しており；

$R_3$ が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；かつ

$R_4$ が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$ が、独立に、H、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルキル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルカノイル、または直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルコキシである。

## 【0029】

加えて、本発明は、セプシス、敗血症 (septicemia)、および/または内毒素ショックを有する哺乳類を治療する方法に関する。これら方法は、セプシス、敗血症 (septicemia)、および/または内毒素ショックを治療するのに十分な量で、上で同定された医薬組成物のいずれかを該哺乳類に投与することを含む。

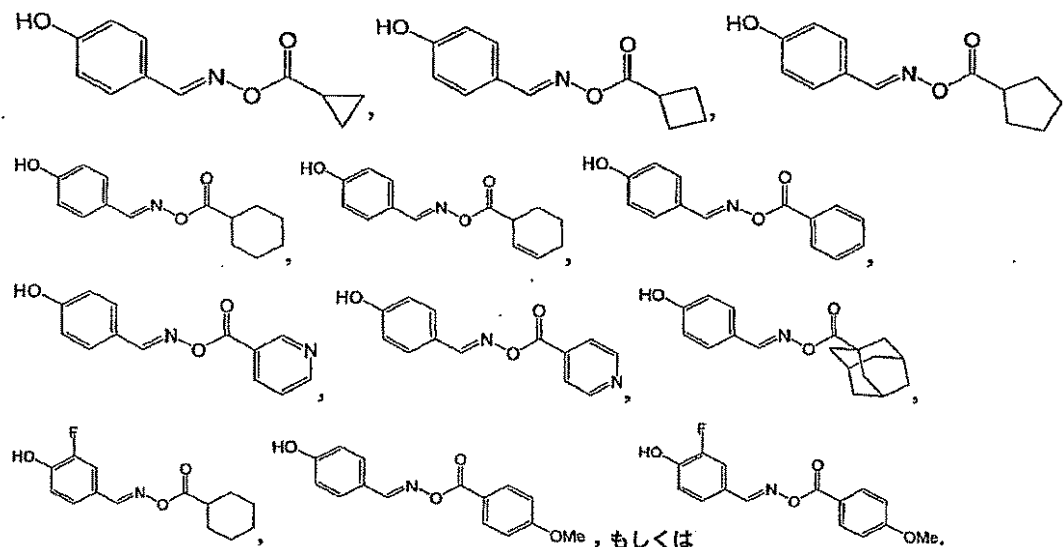
## 【0030】



本発明は、更に、セブシス、敗血症 (septicemia)、および/または内毒素ショックを有する哺乳類を治療する更なる方法に関する。これら方法が、セブシス、敗血症 (septicemia)、および/または内毒素ショックを治療するのに十分な量で、ある化合物を該哺乳類に投与することを含み、ここで、該化合物が：

【0031】

【化7】



である。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】Cyc-Oxi オキシム化合物の合成に関する原理を示す。

【図2】3種のマクロファージ遊走阻止因子(MIF)阻害剤を示す。

【図3】Cyc-Oxi-11が、LPS処理マクロファージにおけるグルココルチコイドを規制できるMIFの能力を抑圧することを樹立している実験結果のグラフである。簡潔に言えば、ヒト末梢血からの単球(モノサイト)誘導巨大食細胞(マクロファージ)が、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  リポ多糖(リポポリサッカライド、LPS)添加前、デキサメタゾン( $10^{-9}$ )、もしくは、デキサメタゾン+MIF(3nM精製天然MIF)と種々の濃度のCyc-Oxi-11(0、0.01、0.1、および1mM)でブレインキュベートされた。TNF- $\alpha$  産生が、次いで、測定された。示されたデータが、2回繰り返された実験における3重のウェルの平均 $\pm$ SDである。

【図4】Cyc-Oxi-11が、LPS刺激マクロファージからのTNF放出のMIF誘導を阻害することを樹立している実験結果のグラフである。簡潔に言えば、ヒト末梢血からの単球(モノサイト)誘導巨大食細胞(マクロファージ)が、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  (LPS)添加10分前に種々の濃度のCyc-Oxi-11を用いて前処理された。TNF- $\alpha$  産生が、次いで、測定された。示されたデータが、2回繰り返された実験における3重のウェルの平均 $\pm$ SDである。

【図5】CLP外科手術後、血清中におけるMIF出現速度論のグラフである。

【図6】セブシス導入24時間後に与えられた場合でさえ、Cyc-Oxi-11が、保護的であることを示しているグラフである。

【図7】化合物3a~3hの合成および活性を示す。IC<sub>50</sub>が、MIF互変酵素(トートメラーゼ)活性阻害を表す。

【図8】化合物4~5の合成および活性を示す。IC<sub>50</sub>が、MIF互変酵素(トートメラーゼ)活性阻害を表す。

【発明を実施するための形態】

【0033】

実施例に記載されたとおり、本発明者らは、MIFを阻害する化合物を同定した。これ

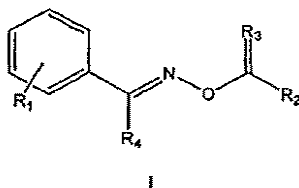
らの化合物が、哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防するのに有用である。

【0034】

これゆえ、本発明は、式 I :

【0035】

【化 8】



( 式中 :

$R_1$  が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり ;

$R_2$  が、環構造を含み、ここで、該環構造中の 1 原子が、 $R_3$  に結合する炭素に結合しており ;

$R_3$  が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくは S であり ; かつ

$R_4$  が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり ; 式中 :

$R_5$  が、独立して、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。)

の化合物に関する。

【0036】

好ましくは、 $R_1$  が、H、OH、もしくはハロゲンである。より好ましくは、 $R_1$  が OH である。 $R_1$  が単一置換である最も好ましい実施形態において、 $R_1$  はパラ ( p - ) 位における OH である。本明細書で他に指定されない場合、式 I の化合物の  $R_1$  置換基の、オルト ( o - )、メタ ( m - )、もしくはパラ ( p - ) の指定は、オキシム部分 ( moiety、 $C=N-O-$  ) に関しての置換基の位置を指定する。

【0037】

$R_1$  が、多重置換である場合、1 つの  $R_1$  が、好ましくは OH であり、最も好ましくは、パラ ( p - ) 位にあり、第 2 の置換が好ましくはハロゲンであり、より好ましくは、フッ素である。最も好ましくは、この第 2 の置換が、メタ ( m - ) 位におけるフッ素である。

【0038】

$R_2$  が、3、4、5、もしくは 6 員の、脂環式環、複素環 ( ヘテロ環 )、もしくは芳香環を含むことも好ましい。 $R_2$  が脂環式環である場合、最も好ましい環が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル - 2, 3 - エン、もしくは 1 - アダマンチルである。 $R_2$  が、複素環 ( ヘテロ環 ) 状環である場合、最も好ましい環が、ピリミジン、ピリダジン、ピラジン、ピリジン、ピラゾール、イミダゾール、ピロール、ピラン、およびフラン環である。 $R_2$  が、芳香環である場合、最も好ましい環が、シクロベンジル、4 - ピリミジル、3 - ピリミジル、もしくはパラ ( p - ) ヒドロキシメチルフェニルである ( 後者は、図 8 の化合物 4 および化合物 5 にあるとおり )。

【0039】

$R_2$  の環構造が、1 よりも多い環を含み得、および / または、置換もしくは非置換であり得る。該環構造が、置換されている場合、好ましくは、少なくとも直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルカノイル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルコキシ、ケト、カルボキシ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ジアゾ、チオ、もしくはヒドロキシアミノで置換されている。 $R_2$  のより好まれた複数の置換基が、少なくとも1 つのニトロ、アミノ、ヒドロキシル、もしくはハロゲンである。

【0040】

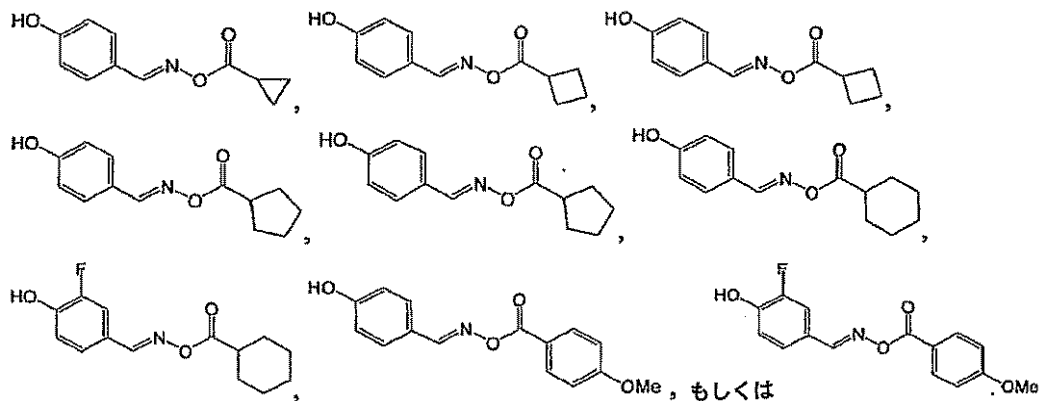
好ましくは、 $R_3$ がOである。 $R_4$ がHであることも好ましい。最も好ましい化合物において、 $R_3$ がOであり、 $R_4$ がHである。最も好ましい化合物内で、 $R_1$ が、好ましくは、OHであり、最も好ましくは、パラ(p-)位にある。また、 $R_3$ がOであり、 $R_4$ がHである最も好ましい化合物内で、 $R_2$ が、最も好ましくは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル-2,3-エン、シクロベンジル、4-ピリミジル、3-ピリミジル、1-アダマンチル、もしくはメトキシフェニルである。

【0041】

特定の好まれた化合物が：

【0042】

【化9】



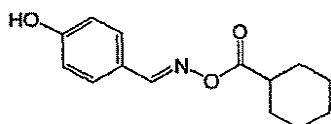
を含む。

【0043】

より好ましくは、本化合物が：

【0044】

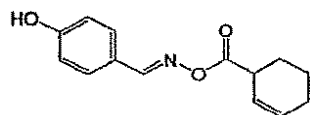
【化10】



を含むか、もしくは、これからなる。本発明の他の好ましい化合物が：

【0045】

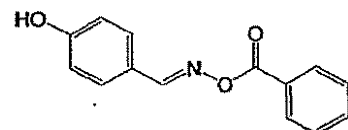
【化11】



を含むか、もしくは、これからなる。本発明のさらなる他の好ましい化合物が：

【0046】

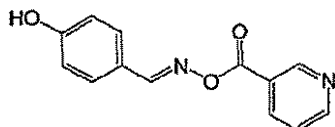
【化12】



を含むか、もしくは、これからなる。追加の好ましい化合物が：

【0047】

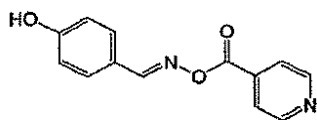
## 【化 1 3】



を含むか、もしくは、これからなる。更なる好ましい化合物が：

## 【0048】

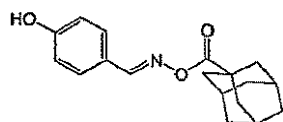
## 【化 1 4】



を含むか、もしくは、これからなる。更なる追加の好ましい化合物が：

## 【0049】

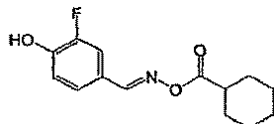
## 【化 1 5】



を含むか、もしくは、これからなる。更なる追加の好ましい化合物が：

## 【0050】

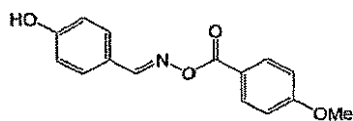
## 【化 1 6】



を含むか、もしくは、これからなる。尚更なる追加の好ましい化合物が：

## 【0051】

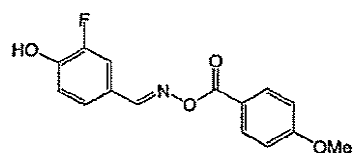
## 【化 1 7】



を含むか、もしくは、これからなる。追加の好ましい化合物が：

## 【0052】

## 【化 1 8】



## 【0053】

上記の化合物はマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) 阻害剤として有用である。これゆえ、本発明が、医薬として許容可能な賦形剤中、上の化合物のいずれか、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体 (トートマー) を含む医薬組成物にも関する。

## 【0054】

「医薬として許容可能な」により、(i) 本組成物の他の成分と混和性があり、その意図された目的に本組成物を不適にすることなく、(ii) 本明細書で規定したような主題を有する使用に適しており、(毒性、刺激、およびアレルギー応答のような) 過度な悪影

響を及ぼす副作用のない物質が意図される。副作用が、「過度」であるのは、そのリスクが、本組成物により与えられた利益より勝る場合である。医薬として許容可能な担体の非限定例が、限定なく、リン酸緩衝生理食塩水溶液のような標準医薬担体、水、油／水エマルション、微小（ミクロ）エマルションなどのエマルション等を包含する。

【0055】

上記化合物が、過度の実験なく、特定の応用に適するよう、ヒトを包含する哺乳類に対する投与用に製剤化され得る。加えて、これら組成物の適正用量が、過度の実験なく、標準用量 - 応答プロトコルを使用して求められ得る。

【0056】

従って、経口、舌、舌下、口、および口内投与用に設計（デザイン）された組成物が、過度の実験なく、当業界においてよく知られた手段、例えば、不活性稀釈剤を用いてもしくは可食担体を用いて調製され得る。これら組成物が、ゼラチンカプセルに封入され、もしくは錠剤（タブレット）に圧縮されてもよい。経口治療投与目的で、本発明の医薬組成物が賦形剤と共に取り込まれていてよく、タブレット、トローチ、カプセル、エリキシル、サスペンション、シロップ、ウェーハ、チューイングガム等の形態で使用され得る。

【0057】

タブレット、ピル、カプセル、トローチ等が、バインダー、レシピエント、崩壊剤、潤滑剤、甘味料、および香料も含有してよい。バインダーの幾つかの例として、微結晶セルロース、トラガカントガム、もしくはゼラチンが挙げられる。賦形剤の例として、スターチもしくはラクトースが挙げられる。崩壊剤の幾つかの例として、アルギン酸、コーンスターチ等が挙げられる。潤滑剤の例として、ステアリン酸マグネシウムもしくはステアリン酸カリウムが挙げられる。潤滑剤（glidant）の1例が、コロイド状二酸化珪素である。甘味料の幾つかの例として、スクロース、サッカリンなどが挙げられる。香料の例として、ペパーミント、サリチル酸メチル、オレンジ香料などが挙げられる。これらの種々の組成物を調製することに使用された物質は、医薬として純粋であり、使用される量で非毒性であるべきである。

【0058】

本化合物は、容易に非経口投与（例えば、静脈内、筋内、クモ膜下腔、もしくは皮下注射など）され得る。非経口投与が、本化合物を溶液もしくは懸濁液に包含させることにより達成され得る。このような溶液もしくは懸濁液は、注射用水、生理食塩水溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、もしくは他の合成溶媒のような無菌稀釈剤も包含してよい。非経口製剤が、例えば、ベンジルアルコールもしくはメチルパラベンのような抗菌剤、例えば、アスコルビン酸もしくは重亜硫酸ナトリウムのような抗酸化剤、ならびに、EDTAのようなキレート化剤も包含してよい。酢酸塩、クエン酸塩、もしくはリン酸塩のような緩衝剤（バッファー）、ならびに、塩化ナトリウムもしくはデキストロースのような浸透圧調整剤も加えられてよい。本非経口調製品が、アンプル、使い捨て可能シリンジ、またはガラスもしくはプラスチックから調製された複数回用量バイアルに封入されうる。

【0059】

直腸投与は、直腸もしくは大腸中に医薬組成物中の本化合物を投与することを包含する。これが、坐薬もしくは浣腸を使用して達成され得る。坐薬製剤が、容易に、当業界において知られた方法により調製され得る。例えば、坐薬製剤は、グリセリンを約120に加熱し、本組成物をそのグリセリンに溶かし、その加熱熱せられたグリセリンを混合し、その後、精製水が加えられてもよく、そしてその熱い混合物を坐薬型中に注ぐことにより調製され得る。

【0060】

経皮投与が、皮膚を通しての本組成物の経皮吸収を包含する。経皮製剤が、パッチ（よく知られたニコチンパッチのような）、外用薬、クリーム、ジェル、軟膏などを包含する。

【0061】

本発明が、治療有効量の本化合物を哺乳類に鼻に投与することを包含する。本明細書では、鼻へ投与すること、もしくは鼻への投与は、その患者の鼻道もしくは鼻腔の粘膜に本化合物を投与することを包含する。本明細書では、本化合物の鼻投与用医薬組成物が、例えば、鼻スプレー、鼻ドロップ、懸濁液、ジェル、外用薬、クリーム、もしくは粉末として投与される、公知の方法により調製された本化合物の治療有効量を包含する。本化合物の投与は、鼻タンポンもしくは鼻スポンジを使用して行われ得る。

【0062】

本化合物が、血液脳関門を通過しなければならないように末梢投与する場合、本化合物は、好ましくは、これの哺乳類の血液脳関門を通過できる能力を増強する医薬組成物において製剤化される。このような製剤化は、当業界で知られており、吸収を促進する親油性化合物を包含する。非親油性化合物の取り込みが、親油性物質との組み合わせにより増強され得る。鼻粘膜を通過しての本化合物の送達を増強する親油性物質として、脂肪酸（例えば、パルミチン酸）、ガングリオシド（例えば、GM-1）、リン脂質（例えば、ホスファチジルセリン）、および乳化剤（例えば、poly sorbate 80）、デオキシコール酸ナトリウムのような胆汁酸塩、ならびに、例えば、Tween<sup>TM</sup>のような poly sorbate 80、Triton<sup>TM</sup>X-100のようなオクトキシノール、およびタウロ-24, 25-ジヒドロフシジン酸ナトリウム（STDHF）を包含する洗剤様物質が挙げられるが、これらに限定されない。Leeら、Biopharm., 1988年4月3037号を参照。

【0063】

本発明の特定の実施形態において、本化合物が、親油性物質から構成されたミセルと組み合わされる。このようなミセルは、鼻膜透過性を修飾し得、本化合物の吸収を増強する。適切な親油性ミセルが、ガングリオシド（例えば、GM-1ガングリオシド）、および、リン脂質（例えば、ホスファチジルセリン）を包含するが、限定されない。胆汁酸塩およびこれらの誘導体ならびに洗剤様物質も、該ミセルの製剤に包含され得る。本化合物が、1もしくは複数のタイプのミセルと組み合わされ得、更に、これらミセル内で含有され得、もしくは、これらの表面に結合され得る。

【0064】

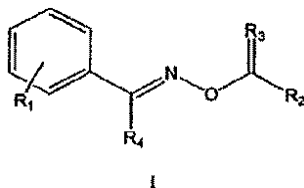
或いは、本化合物が、吸収を増強するため、リボゾーム（脂質小胞）と組み合わされ得る。本化合物が、該リボゾーム内で含有され得るか、もしくは、溶解され得、および/または、この表面に結合され得る。適切なリボゾームが、リン脂質（例えば、ホスファチジルセリン）および/またはガングリオシド（例えば、GM-1）を包含する。リン脂質小胞を調製する方法に関し、例えば、Robert sらに対する米国特許第4, 921, 706号、および、Yiournasらに対する米国特許第4, 895, 452号を参照。胆汁酸塩およびこれらの誘導体ならびに洗剤様物質も、該リボゾームの製剤に包含され得る。

【0065】

さらに、本発明は、式 I :

【0066】

【化19】



（式中：

R<sub>1</sub>が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、R<sub>5</sub>、N(R<sub>5</sub>)、SR<sub>5</sub>、もしくはハロゲンであり、ここで、少なくとも1つの置換が、ハロゲンであり；

R<sub>2</sub>が、環構造を含み、ここで、該環構造中の1原子が、R<sub>3</sub>に結合する炭素に結合してお

り；

$R_3$  が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；

$R_4$  が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$  が、独立して、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。）

の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）に関する。本発明は、これらの化合物のいずれかを含む医薬組成物をも含む。

【0067】

好ましくは、 $R_1$  がOHおよびハロゲンを含む多重置換である。より好ましくは、 $R_1$  が、パラ（p - ）位におけるOHを含む。このハロゲン置換は、フッ素であることも好ましい。より好ましくは、該フッ素がメタ（m - ）位にある。

【0068】

$R_2$  が、3、4、5、もしくは6員の、脂環式環、複素環、もしくは芳香環を含むことも好ましい。より好ましくは、 $R_2$  環が脂環式である。最も好ましい脂環式環が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル - 2, 3 - エン、および1 - アダマンチルである。

【0069】

$R_2$  の好ましい幾つかの環が、複素環（ヘテロ環）である。好ましい複素環（ヘテロ環）が、パラ（p - ）ヒドロキシメチルフェニルである。他の好ましい複素環（ヘテロ環）が、ピリミジン、ピリダジン、ピラジン、ピリジン、ピラゾール、イミダゾール、ピロール、ピラン、およびフランである。

【0070】

$R_2$  の好まれた他の環が芳香族である。最も好ましくは、この芳香環が、シクロベンジル、4 - ピリミジル、もしくは3 - ピリミジルである。

【0071】

$R_2$  の環構造が、1よりも多い環を含む。加えて、 $R_2$  の環構造が非置換であり得る。或いは、 $R_2$  の環構造が、少なくとも1種の、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルカノイル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルコキシ、ケト、カルボキシ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ジアゾ、チオ、もしくはヒドロキシアミノを用いて置換される。 $R_2$  の環構造の他の好ましい置換が、少なくとも1種の、ニトロ、アミノ、ヒドロキシル、もしくはハロゲンである。

【0072】

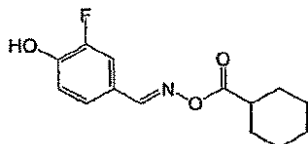
好ましくは、本発明の化合物で、 $R_3$  がOである。 $R_4$  がHであることも好ましい。最も好ましくは、 $R_3$  がOであり、 $R_4$  がHである。これらの化合物の幾つかの好まれた実施形態で、 $R_1$  が、OH置換およびハロゲン置換を含む。ここで、好ましくは、該OHがパラ（p - ）位にある。ここで、より好ましくは、 $R_2$  が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル - 2, 3 - エン、シクロベンジル、4 - ピリミジル、3 - ピリミジル、1 - アダマンチル、もしくはメトキシフェニルである。

【0073】

好ましくは、本化合物が：

【0074】

【化20】



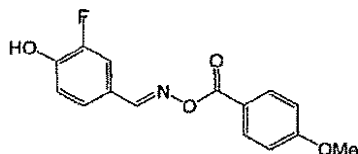
を含むか、もしくは、これからなる。

【 0 0 7 5 】

他の好ましい化合物は：

【 0 0 7 6 】

【 化 2 1 】



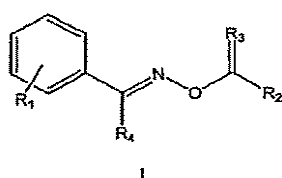
を含むか、もしくは、これからなる。

【 0 0 7 7 】

更に、本発明が、式 I：

【 0 0 7 8 】

【 化 2 2 】



( 式中：

$R_1$ が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$ が、パラ(p-)ヒドロキシメチルフェニルであり；

$R_3$ が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；

$R_4$ が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$ が、独立して、H、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルキル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルカノイル、または直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルコキシである。)

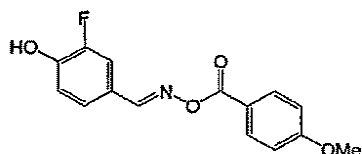
の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体(トートマー)に関する。

【 0 0 7 9 】

好ましくは、 $R_1$ がOHおよびハロゲンを含む多重置換である。より好ましくは、パラ(p-)位のOHおよびメタ(m-)位のフッ素である。最も好ましくは、本化合物が：

【 0 0 8 0 】

【 化 2 3 】



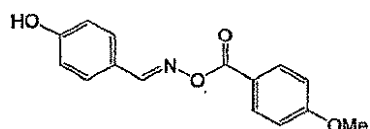
を含むか、もしくは、これからなる。

【 0 0 8 1 】

別の最も好ましい化合物が：

【 0 0 8 2 】

【 化 2 4 】



を含むか、もしくは、これからなる。



## 【 0 0 8 3 】

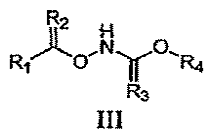
本発明が、医薬として許容可能な賦形剤において、上の化合物のいずれか、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）を含む医薬組成物にも関する。

## 【 0 0 8 4 】

本発明が、更に、式 I I I :

## 【 0 0 8 5 】

## 【 化 2 5 】



( 式中 :

$R_1$  が、環構造を含み、ここで該環構造中の原子が、 $R_2$  に結合する炭素に結合しており ;

$R_2$  および  $R_3$  が、独立に、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくは S であり ;

$R_4$  が、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシであり ;

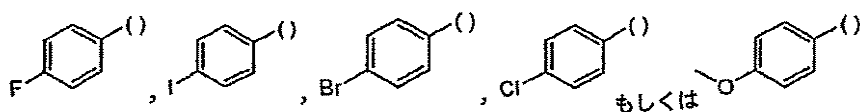
$R_5$  が、独立に、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。 ) の化合物に関する。本発明は、これらの化合物のいずれかを含む医薬組成物をも含む。

## 【 0 0 8 6 】

好ましくは、これらの化合物で、 $R_2$  および  $R_3$  がともに O である。また、好ましくは、 $R_4$  が 3 級 - ブチルである。好ましい  $R_1$  部分が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロベンジル、および置換シクロベンジルである。 $R_1$  が、置換シクロベンジルである場合、好ましくは、パラ ( p - ) 置換シクロベンジルである。該パラ ( p - ) 置換シクロベンジルが、最も好ましくは :

## 【 0 0 8 7 】

## 【 化 2 6 】



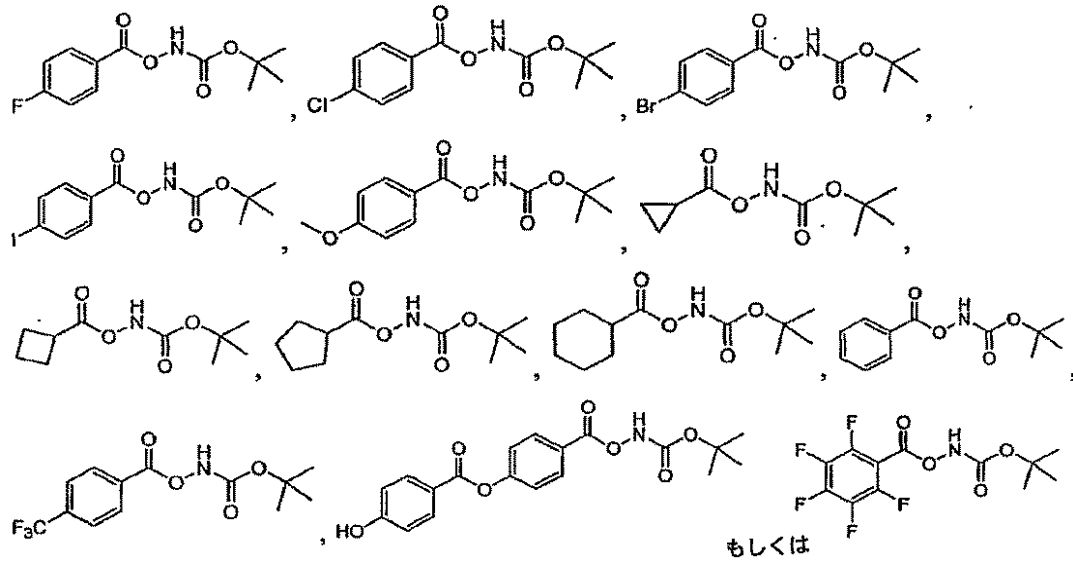
である。

## 【 0 0 8 8 】

さらにより好ましくは、本化合物が :

## 【 0 0 8 9 】

## 【化 2 7】



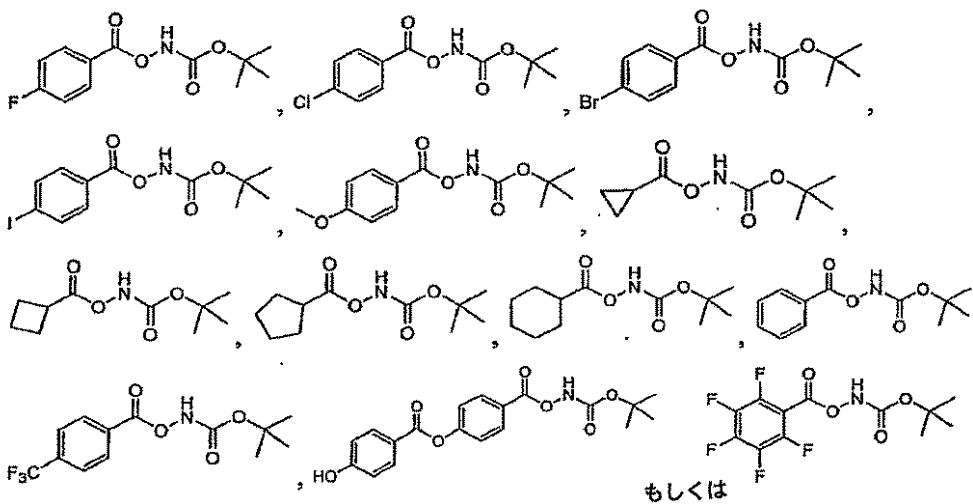
を含む。

## 【0090】

尚より好ましくは、本化合物が：

## 【0091】

## 【化 2 8】



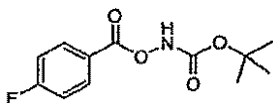
からなる。

## 【0092】

本化合物が、最も好ましくは：

## 【0093】

## 【化 2 9】



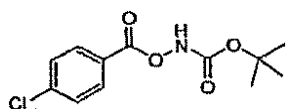
を含むか、もしくは、これからなる。

## 【0094】

本化合物が、最も好ましくは：

## 【0095】

【化 3 0】



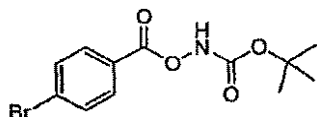
をも含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【0 0 9 6】

本化合物が、さらに、最も好ましくは：

【0 0 9 7】

【化 3 1】



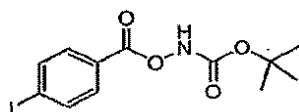
を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【0 0 9 8】

さらに本化合物が、最も好ましくは：

【0 0 9 9】

【化 3 2】



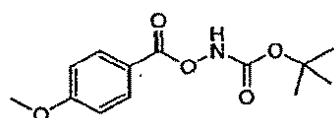
を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【0 1 0 0】

更に、本化合物が、最も好ましくは：

【0 1 0 1】

【化 3 3】



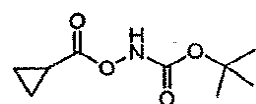
を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【0 1 0 2】

本化合物が、尚更に、最も好ましくは：

【0 1 0 3】

【化 3 4】



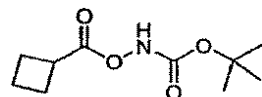
を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【0 1 0 4】

本化合物が、最も好ましくは：

【0 1 0 5】

【化 3 5】



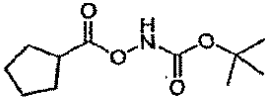
をも含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【0 1 0 6】

さらに本化合物が、好ましくは：

【 0 1 0 7 】

【 化 3 6 】



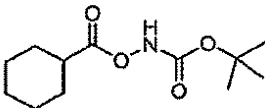
を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【 0 1 0 8 】

さらに、本化合物が、最も好ましくは：

【 0 1 0 9 】

【 化 3 7 】



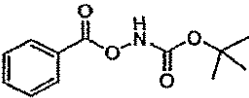
を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【 0 1 1 0 】

更に、本化合物が、最も好ましくは：

【 0 1 1 1 】

【 化 3 8 】



を含み得るか、もしくは、これからなり得る。

【 0 1 1 2 】

本発明は、医薬として許容可能な賦形剤における、上の化合物のいずれか、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）を含む医薬組成物をも含む。

【 0 1 1 3 】

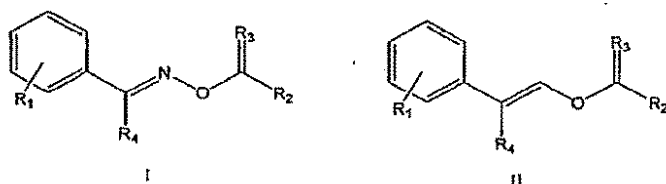
本発明が、哺乳類におけるマクロファージ遊走阻止因子（MIF）活性を阻害する方法にも関する。該方法が、該哺乳類におけるMIF活性を阻害するに有効な量で、上で同定された医薬組成物のいずれかを該哺乳類に投与することを含む。

【 0 1 1 4 】

加えて、本発明は、哺乳類におけるマクロファージ遊走阻止因子（MIF）活性を阻害する他の方法に関する。該方法は、該哺乳類におけるMIF活性を阻害するに有効な量の医薬組成物を該哺乳類に投与することを含む。これらの方法において、該医薬組成物が、医薬として許容可能な賦形剤で、式Iもしくは式IIの化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体（トートマー）を含み、ここで、式Iおよび式IIが：

【 0 1 1 5 】

【 化 3 9 】



（式中：

$R_1$ が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$ が、環構造を含み、ここで、該環構造中の原子が、 $R_3$ に結合する炭素に結合し；

$R_3$ が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；

$R_4$ が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$ が、独立して、H、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルキル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルカノイル、または直鎖もしくは分岐 $C_2 \sim C_6$ アルコキシである。)である。

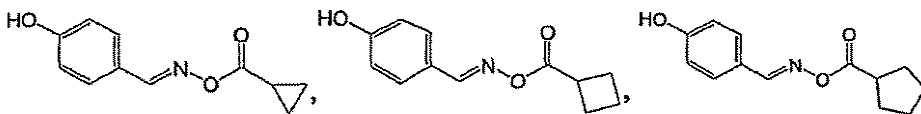
好ましくは、これらの方法において、利用された化合物は、式Iのものである。 $R_1$ がパラ位におけるOHであれば、それも好ましい。上記の化合物に関して、 $R_2$ が、好ましくは、3、4、5、もしくは6員脂肪族環、複素環（ヘテロ環）、もしくは芳香環を含む。より好ましくは、 $R_2$ が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル-2,3-エン、シクロベンジル、4-ピリミジル、3-ピリミジル、1-アダマンチル、もしくはメトキシフェニルである。

【0116】

本方法に関する好ましい特定の化合物が：

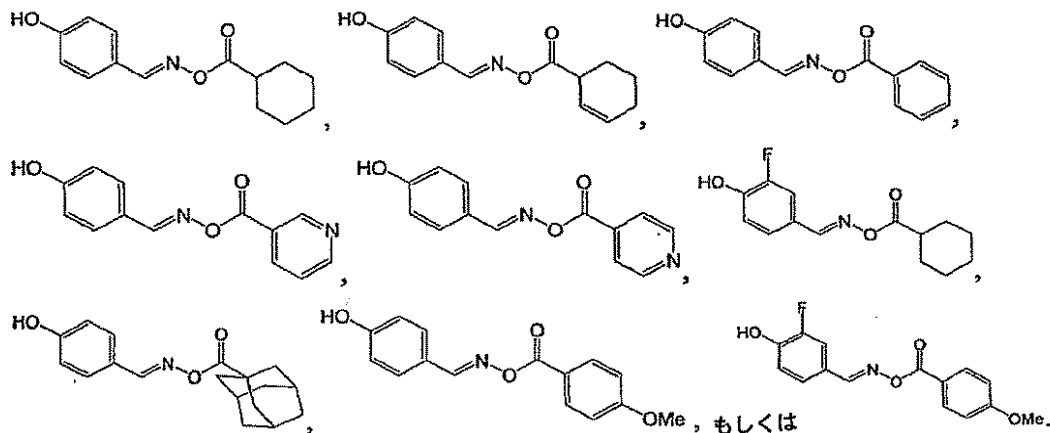
【0117】

【化40】



【0118】

【化41】



を包含する。

【0119】

これらの方法における哺乳類が、好ましくはヒトである。本哺乳類が、好ましくは、MIFにより少なくとも一部媒介されている炎症サイトカインカスケードを含む病状をも有する。このような病状の好ましい例が、癌、急性呼吸窮迫症候群、サイトカイン媒介毒性、乾癬、インターロイキン-2毒性、虫垂炎、消化性潰瘍、胃潰瘍、および十二指腸潰瘍、腹膜炎、膵炎、潰瘍性結腸炎、偽膜性結腸炎、急性結腸炎、および虚血性結腸炎、憩室炎、喉頭蓋炎、無弛緩症、胆管炎、胆嚢炎、肝炎、炎症性腸疾患、クローン病、腸炎、ホウシツプル病、喘息、アレルギー、アナフィラキシーショック、免疫複合体病、臓器虚血、再灌流傷害、臓器壊死、枯草熱、セブシス、敗血症 (septicemia)、内毒素ショック、悪液質、異常高熱症、好酸球性肉芽腫、肉芽腫症、類肉腫症、敗血症流産、副睾丸炎、膣炎、前立腺炎、尿道炎、気管支炎、気腫、鼻炎、嚢胞性線維症、肺炎、塵肺症、肺胞症、細気管支炎、咽頭炎、胸膜炎、副鼻腔炎、インフルエンザ、呼吸器合胞体ウイルス感染、ヘルペス感染、HIV感染、B型肝炎ウイルス感染、C型肝炎ウイルス感染、播種性菌血症、デング熱、カンジダ症、マラリア、糸状虫症、アメーバ症、包虫嚢胞、火傷、皮膚炎、皮膚筋炎、日焼け、蕁麻疹、疣、膨疹、血管炎、脈管炎、心内膜炎、動脈炎

、アテローム性動脈硬化症、血栓性静脈炎、心膜炎、心筋炎、心筋虚血、結節性動脈周囲炎、リウマチ熱、アルツハイマー病、セリアック病、鬱血性心不全、髄膜炎、脳炎、多発性硬化症、脳梗塞、脳塞栓、ギランバレー症候群、神経炎、神経痛、脊髄損傷、麻痺、ブドウ膜炎、関節炎疹、関節痛、骨髓炎、筋膜炎、パジェット病、痛風、歯周病、リウマチ様関節炎、滑膜炎、重症筋無力症、甲状腺炎、全身性エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群、ベーチェット症候群、同種移植の拒絶反応、移植片対宿主病、強直性脊椎炎、バージャー病、1型糖尿病、2型糖尿病、ライター症候群、もしくはホジキン病を包含する。最も好ましい実施形態において、該病状は、セプシス、敗血症 (septicemia) および / または内毒素ショックである。

【0120】

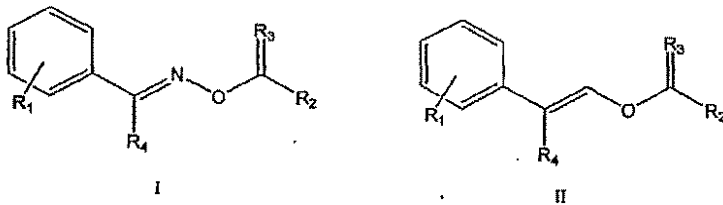
本発明が、哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防する方法にも関する。本方法が、該哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防するのに有効な量で、上で同定された医薬組成物のいずれかを該哺乳類に投与することを含む。

【0121】

さらに、本発明は、哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防する他の方法に関する。本方法は、該哺乳類における炎症を治療するか、もしくは、予防するのに有効な量で医薬組成物を該哺乳類に投与することを含み、ここで、該医薬組成物が、医薬として許容可能な賦形剤で、式 I もしくは式 II の化合物、または、これらの医薬として許容可能な塩、エステル、もしくは互変異性体 (トートマー) を含む。ここで、式 I および式 II が：

【0122】

【化42】



(式中：

$R_1$  が、独立して、単一もしくは多重置換の、H、OH、 $R_5$ 、 $N(R_5)$ 、 $SR_5$ 、もしくはハロゲンであり；

$R_2$  が、環構造を含み、ここで、該環構造中の原子が、 $R_3$  に結合する炭素に結合し；

$R_3$  が、O、 $C(R_5)_2$ 、もしくはSであり；

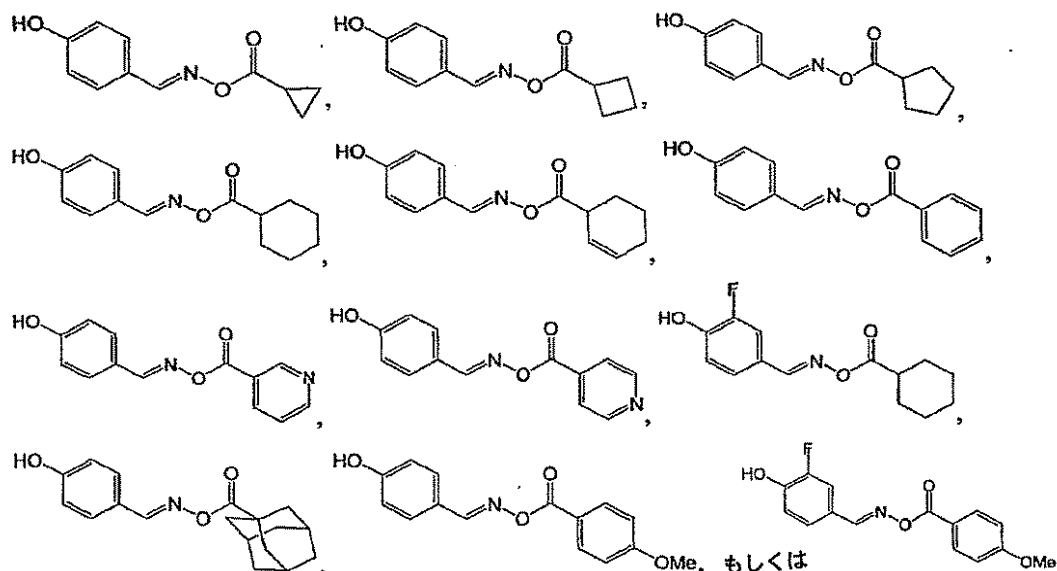
$R_4$  が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$  が、独立して、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。) である。

上記の方法のように、これらの方法における化合物が、好ましくは、式 I のものである。また、もし化合物の  $R_1$  が、パラ位におけるOHであれば好ましい。さらに、 $R_2$  が、好ましくは、3 -、4 -、5 -、もしくは6 - 員脂環、複素環 (ヘテロ環)、もしくは芳香環を含む。最も好ましくは、 $R_2$  が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル - 2, 3 - エン、シクロベンジル、4 - ピリミジル、3 - ピリミジル、1 - アダマンチル、もしくはメトキシフェニルである。これらの方法に関する好ましい特定の化合物が：

【0123】

## 【化 4 3】



である。

## 【0124】

これらの方法における哺乳類は、好ましくはヒトである。本哺乳類が、好ましくは、MIFにより少なくとも一部媒介されている炎症サイトカインカスケードを含む病状を有する。このような病状の好ましい例が、癌、急性呼吸窮迫症候群、サイトカイン媒介毒性、乾癬、インターロイキン-2毒性、虫垂炎、消化性潰瘍、胃潰瘍、および十二指腸潰瘍、腹膜炎、膵炎、潰瘍性結腸炎、偽膜性結腸炎、急性結腸炎、および虚血性結腸炎、憩室炎、喉頭蓋炎、無弛緩症、胆管炎、胆嚢炎、肝炎、炎症性腸疾患、クローン病、腸炎、ホウィップル病、喘息、アレルギー、アナフィラキシーショック、免疫複合体病、臓器虚血、再灌流傷害、臓器壊死、枯草熱、セブシス、敗血症 (septicemia)、内毒素ショック、悪液質、異常高熱症、好酸球性肉芽腫、肉芽腫症、類肉腫症、敗血症流産、副睾丸炎、膣炎、前立腺炎、尿道炎、気管支炎、気腫、鼻炎、嚢胞性線維症、肺炎、塵肺症、肺胞症、細気管支炎、咽頭炎、胸膜炎、副鼻腔炎、インフルエンザ、呼吸器合胞体ウイルス感染、ヘルペス感染、HIV感染、B型肝炎ウイルス感染、C型肝炎ウイルス感染、播種性菌血症、デング熱、カンジダ症、マラリア、糸状虫症、アメーバ症、包虫嚢胞、火傷、皮膚炎、皮膚筋炎、日焼け、蕁麻疹、疣、膨疹、血管炎、脈管炎、心内膜炎、動脈炎、アテローム性動脈硬化症、血栓性静脈炎、心膜炎、心筋炎、心筋虚血、結節性動脈周囲炎、リウマチ熱、アルツハイマー病、セリアック病、鬱血性心不全、髄膜炎、脳炎、多発性硬化症、脳梗塞、脳塞栓、ギランバレー症候群、神経炎、神経痛、脊髄損傷、麻痺、ブドウ膜炎、関節炎、関節痛、骨髓炎、筋膜炎、バジエット病、痛風、歯周病、リウマチ様関節炎、滑膜炎、重症筋無力症、甲状腺炎、全身性エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群、ベーチェット症候群、同種移植の拒絶反応、移植片対宿主病、強直性脊椎炎、バージャー病、1型糖尿病、2型糖尿病、ライター症候群、もしくはホジキン病を包含する。最も好ましい実施形態において、該哺乳類は、セブシス、敗血症 (septicemia) および/または内毒素ショックを有するか、または、そのリスクにある。

## 【0125】

これらの方法が、さらに、該哺乳類に第2抗炎症剤を投与することを含み得る。該第2抗炎症剤の非限定例が、NSAID、サリチラート (サリチレート)、COX阻害剤、COX-2阻害剤、もしくはステロイドである。好ましくは、該哺乳類は、セブシス、敗血症 (septicemia)、および/または内毒素ショックを有するか、または、そのリスクがあり、第2処置が、ムスカリンアゴニスト、アドレノメデュリン (medullin)、アドレノメデュリン (medullin) 結合蛋白、乳脂肪球上皮成長因子第8因子、活性化蛋白C、もしくは<sub>2A</sub>-アドレナリンアンタゴニストの投与である。

## 【0126】

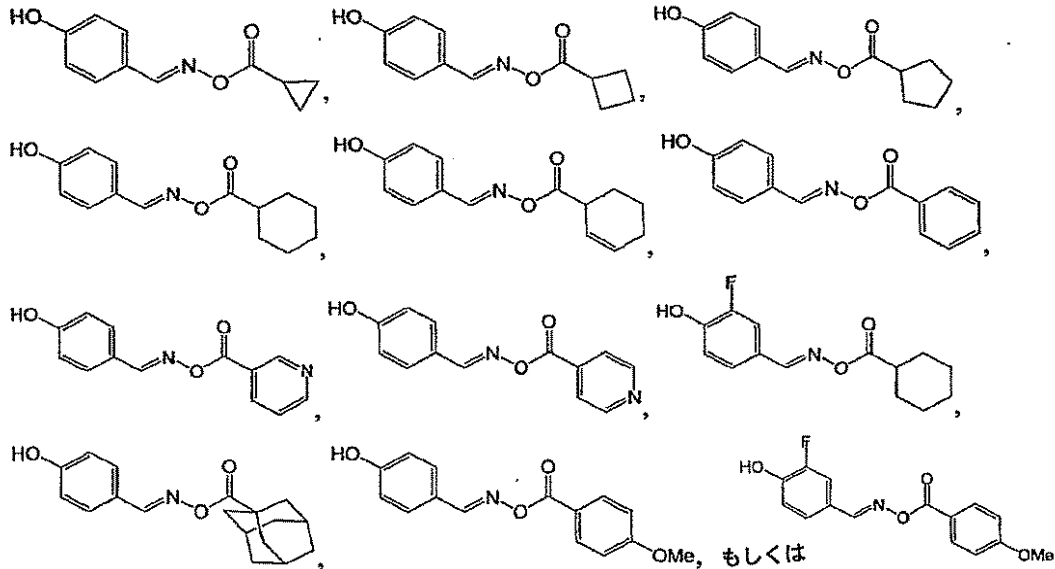
本発明が、セブシス、敗血症 (*septicemia*)、および/または内毒素ショックを有する哺乳類を治療する方法にも関する。本方法が、セブシス、敗血症 (*septicemia*)、および/または内毒素ショックを治療するのに充分な量で、上の医薬組成物のいずれかを該哺乳類に投与することを含む。

【0127】

本発明が、更に、セブシス、敗血症 (*septicemia*)、および/または内毒素ショックを有する哺乳類を治療する他の方法に関する。本方法は、セブシス、敗血症 (*septicemia*)、および/または内毒素ショックを治療するのに充分な量で、化合物を該哺乳類に投与することを含み、ここで、該化合物が：

【0128】

【化44】



である。

【0129】

本発明の好ましい実施形態は、以下の実施例に記載される。本明細書の特許請求の範囲の範囲内の他の実施形態が、本明細書を検討すること、又は本明細書に記載されているように本発明を実施することにより、当業者に明らかであろう。本実施例とともに、本明細書は、本実施例に続く特許請求の範囲により示される本発明の範囲及び精神で、例示としてのみ見なされることが意図される。

【実施例】

【0130】

実施例1．マクロファージ遊走阻止因子たるオキシム阻害剤。

MIF炎症促進活性阻害剤設計(デザイン)への1つの手段として、MIF互変酵素(トートメラーゼ)活性部位に干渉することに焦点を当て、互変酵素(トートメラーゼ)活性を阻害する。この点で、Pro-1とMet-2との間のアラニンの挿入(pam)による該活性部位の分断が、該互変酵素(トートメラーゼ)触媒活性を無効にし、この結果得られる変異体が、in vitroにおけるMIFグルコルチコイド対抗調節(counter-regulatory)活性において欠陥がある(Lubetskyら、2002年)。また、アセトアミノフェンP450依存代謝体たるN-アセチル-p-ベンゾキノニンイミン(NAPQI)が、その酵素部位においてMIFに共有結合し、デキサメタゾンの抗炎症効果との干渉などの数多くのin vitro生物アッセイにおいてMIFサイトカイン活性を不活化させ、これが、MIF生物活性を媒介する該活性部位の役割を示唆している(Senterら、2002年)。不運にも、NAPQIの毒性が、全身MIFアンタゴニストとしてのその使用を妨げる。これゆえ、MIFの互変酵素(トートメラーゼ)触媒のインドール生成物を模倣している化合物が、該活性部位で結合し得、有効な阻害剤たり得ると仮定した。この目的を達成するに当たり、シッフ塩基(シッフベース)付加体が、p-



ヒドロキシベンズアルデヒドとアミノ酸メチルエステルをカップリングさせることにより合成されたが、アミノ酸シッフ塩基型（シッフベースタイプ）化合物（ⅠⅠ型）を提供する。最も効力のある阻害剤は、 $1.65 \mu\text{M}$ の $\text{IC}_{50}$ を有するトリプトファンシッフ塩基（シッフベース）であることが分かった（Diosら、2002年）。水性溶媒でのトリプトファンシッフ塩基（シッフベース）の緩やかな速度の加水分解により、更なるフェニルイミンスキャッフオールドが、潜在的MIFアンタゴニストとして研究された。幾つかの代表的なフェニルイミン化合物が、ドーパクローム互変酵素（トートメラーゼ）阻害活性に関しテストされたが、これらイソキサゾリン類が、更に注目する魅力的なスキャッフオールドを表すと結論された（Lubetskyyら、2002年）。このシリーズにおけるMIF互変酵素（トートメラーゼ）および炎症促進活性の先導的（リード）阻害剤が、（S,R）-3-（4-ヒドロキシフェニル）-4,5-ジヒドロ-5-イソキサゾール酢酸メチルエステル（ISO-1）である。ISO-1に複合体化されたMIFの結晶構造が、p-ヒドロキシフェニルピルビン酸に似た該活性部位中での結合を明らかとした。阻害剤と結合したMIFの更なる研究が、活性部位の占拠が、*in vivo*および*in vitro*におけるMIF炎症促進特性の阻害と関連されることを示し、炎症活性におけるMIF触媒活性部位に関する役割を更に規定する。これらの先行の研究が、Cyc-Oxi-11の調製をもたらす新しい分類（クラス）の化合物の合理的設計（デザイン）のための分子の基準を提供し、これが、確認試験で、MIF互変酵素（トートメラーゼ）阻害において、ISO-1よりも30倍効力がある。さらに、Cyc-Oxi-11が、*in vitro*および*in vivo*双方で、高用量での明らかな毒性を欠く。Cyc-Oxi-11および関連化合物が、セブシス治療に可能な治療剤として評価された。

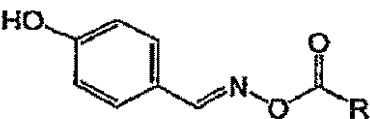
【0131】

Cyc-Oxi-11設計（デザイン）。

MIF薬理的阻害剤たるISO-1が、*in vitro*モデルおよび*in vivo*モデルにおける外因性MIFおよび内因性MIFを中和する。これが、MIF生物学的活性に拮抗するための、化学的アプローチの上首尾な応用を示す。ISO-1が有意な抗炎症活性を有するが、より良好な阻害剤の開発が望まれていた。ISO-1構造を中心として焦点を当てたライブラリーの合成が、該活性を有意に向上させなかった（データを示さなかった）。しかしながら、ISO-1は他の2種のスキャッフオールドと共に統合され（図1）、新しいスキャッフオールドを設計（デザイン）し、このある1例が、Cyc-Oxi-11（=OXIM-11）であり（図2）、これが、このフッ化誘導体と共に（実施例2）以前に記載された化合物よりも効力のあるMIF活性阻害剤である。Cyc-Oxi-11が、該スキャッフオールドの周辺で合成された29種のおキシム誘導体の1種であり、ISO-1よりも*in vitro*において30倍効力のあるMIF炎症促進活性阻害剤である。MIFドーパクローム互変酵素（トートメラーゼ）活性を阻害するそれらの $\text{IC}_{50}$ と共に、新規オキシムスキャッフオールドの代表的構造が表1で提示されている。毒性が、いずれの新規化合物の治療目的での使用の提案にも関した問題であるので、Cyc-Oxi-11予備的急性毒性（急毒）スクリーニングが遂行された。腹腔内注射における毒性の証拠が、 $100 \text{ mg/Kg}$ にまでの用量で全く見いだされなかった（データを示さなかった）。予備的な研究で、Cyc-Oxi-11抗菌効果もテストされたが、陰性（ネガティブ）であることが見いだされた。

【0132】

【表 1】



Cyc-Oxi

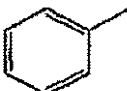

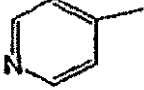

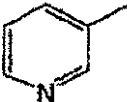
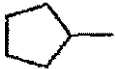
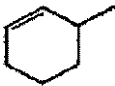
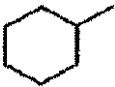

R	IC <sub>50</sub> (μM)	R	IC <sub>50</sub>
CH <sub>3</sub> -	85.0		7
	5.5		38
	12.0		18
	4.8		
	3.4		
	1.3		
	3.0		

表 1 . C y c - O x i ( O X I M ) スキャッフオールド構造の選択。 I C<sub>50</sub> が、その M I F 互変酵素 ( トートメラーゼ ) 活性阻害を表す。

## 【 0 1 3 3 】

M I F 活性部位に結合している C y c - O x i - 1 1 が、 L P S 活性化単球への M I F グルココルチコイド調節活性をダウンレギュレーションする。

上の I S O - 1 研究で示されたとおり、 i n v i t r o における M I F 炎症促進活性のより効力のある中和が、 M I F 互変酵素 ( トートメラーゼ ) 活性への増強された阻害効果と関連付けられる。この関連が、この新しい分類 ( クラス ) の C y c - O x i 剤において更に生み出されている。図 3 で示されたとおり、 C y c - O x i - 1 1 が、 L P S 刺激マクロファージからのグルココルチコイドとの M I F 依存干渉を有意に阻害したが、 C y c - O x i - 1 1 が、両アッセイにおいて ~ 1 . 3 μ M の I C<sub>50</sub> を有する M I F 互変酵素 ( トートメラーゼ ) および炎症促進活性の最も効力のある阻害剤の 1 種である ( I S O - 1 よりも 3 0 倍効力がある ) 。 C y c - O x i - 1 1 が、 i n v i t r o において T N F 放出を阻害する。

## 【 0 1 3 4 】

C y c - O x i - 1 1 が、 i n v i t r o における M I F 炎症促進活性を阻害する。

マクロファージが、 M I F の潤沢な源であることが示されており ( C a l a n d r a ら、 1 9 9 4 年 ) 、 L P S 刺激後、放出される。これが、 i n v i t r o における分泌 M I F のオートクリン活性およびパラクリン活性の検査に至った。以前の研究が、抗体を使用した M I F の中和が L P S 刺激マクロファージによる T N F 分泌をブロックしたことを示した。ここで、 L P S 刺激ヒトマクロファージからの M I F の分泌の C y c - O x i - 1 1 による中和は、 T N F 放出を仲介する M I F 活性を阻害できるかどうか が決定された。図 4 で示されたとおり、 C y c - O x i - 1 1 が、用量依存的な様式で、抗 M I F 抗体処理同様、 L P S 刺激ヒトマクロファージによる T N F 放出を阻害する。

## 【0135】

MIF触媒部位において結合する小分子が、該分子の炎症調節機能およびグルココルチコイド調節機能を廃する（妨げる）。阻害剤の合理的設計（デザイン）が、Cyc-Oxi-11の同定をもたらし、ある特定の関連OXIMスクAFFォールド化合物が、最も効力のあるMIF活性阻害剤として設計（デザイン）された。その予備的な急性毒性（急毒）スクリーニングが、100mg/kgにまでの用量において毒性の証拠を全く見いださなかったので、この分子が、セブシス、ならびに、他のMIF媒介性疾患および病状と関連したひどい罹患率および致死率を抑えるための治療剤としての効力（ポテンシャル）を示す。

## 【0136】

セブシスによる死を防ぐCyc-Oxi-11活性が、次に評価された。CLP術後の血清中のMIF出現動態が、CLP6、12、24、36、および48時間後、採血することにより、次いで、ウェスタンブロットにより該血清を分析し、循環MIF濃度を求めることにより求められた。1時点当たり、5匹のネズミが試験された。図5で示されたとおり、血清MIFが、12時間後増加し始め、約36時間でピークを迎える（\*P<0.05）。

## 【0137】

他のマウス（mice）が、次いで、CLP24時間後、Cyc-Oxi-11（0.1mg/マウス/日）もしくはビヒクルで腹腔内注射された（n=13）。追加の2回の注射が、2日目および3日目、与えられた。13匹のネズミがテストされた。結果が図6に示される。セブシス発症24時間後のCyc-Oxi-11処理が、CLPにより引き起こされた死亡をかなり抑えた（P<0.001）。

## 【0138】

実施例2. OXIM-11（Cyc-Oxi-11）のフッ素化が、マクロファージ遊走阻止因子活性の効力のある阻害を向上させる

実施例の要約

効力のある特異的なMIF互変酵素（トートメラーゼ）活性阻害剤としての一連のハロゲン化（E）-4-ヒドロキシベンズアルデヒド-シクロヘキサンカルボニルオキシム（OXIM-11、図2）の合成が記載されている。このOXIMのスクAFFォールドの4-ヒドロキシ保有フェニル環のモノフッ素化だけが、これらの親化合物に比べ63%にまで、これら阻害剤の効力を向上させる。

## 【0139】

マクロファージ遊走阻止因子（MIF）は、炎症性疾患の発病における重要な役割を果たす炎症促進サイトカインである。MIFたるホモ3量体（Sunら、1996年；Sugimotoら、1996年）が、D-もしくはL-ドーパクロームメチルエステルのような非生理学的基質を、その対応するインドール誘導体への互変異性化を触媒できる独特の能力を所有する（Rosengrenら、1996年）。突然変異、もしくは、小分子を使用し、この活性部位をブロックすると、セブシス（Beishuizenら、2001年；Lueら、2002年；Calandraら、2002年；Calendraら、2000年）、EAN、および1型糖尿（Cvetkovicら、2005年）におけるMIF生物活性を阻害する。

## 【0140】

最近、発明者らは標的分子を更に修飾し、最も効力のあるMIF阻害剤たる、（E）-4-ヒドロキシベンズアルデヒド-シクロヘキサンカルボニルオキシムを与えた（OXIM-11、cyc-oxi-11、図2；図7の化合物3a）。ここに確立されたとおり、シクロヘキシル基（3a、図7）および4-メトキシフェニル基（4、図8、スキーム2）を有する分子が最も阻害活性を有する。3aが、1.3μMのIC<sub>50</sub>でドーパクローム互変酵素（トートメラーゼ）活性を阻害し、4が、1.1MのIC<sub>50</sub>でドーパクローム互変酵素（トートメラーゼ）活性を阻害する。

## 【0141】

この実施例が、M I F 互変酵素（トートメラゼ）活性を阻害できる有効性へのヒドロキシル基に関してのオルトハロゲン化の影響を記載する。これゆえ、一連のハロゲン化（E）-4-ヒドロキシベンズアルデヒドO-シクロヘキサンカルボニルオキシム（O X I M - 1 1、3 a）の合成、効力のある、特異的なM I F 互変酵素（トートメラゼ）活性阻害剤が記載されている。該ヒドロキシルに対してオルトでのモノフッ素化が、63%にまで、M I F 生物活性阻害を向上させる。

#### 【0142】

ハロゲン化4-ヒドロキシベンズアルデヒド1b~1h（図7）が、市販されていたか、もしくは、文献記載の手順（Lawrenceら、2003年）に従いながら調製された。オキシム2a~2h（図7）が、塩基性アルコール溶媒中で、アルデヒド1a~1hとのヒドロキシルアミンの縮合により優れた収率で合成された。最終化合物3a~3h（図7）が、終夜、0~室温で、ピリジン存在下、乾燥ジクロロメタン中で、シクロヘキサンカルボン酸クロリドとのオキシム2a~2hの縮合により、良好な収率で合成された（スキーム1、下の補足資料参照）。化合物4および化合物5が、化合物3と同様の方法として調製された（図8）。ここに報告された最終化合物3a~3h、4、および5が、 $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、およびESI-MSにより充分特徴化された（下の補足資料参照）。

#### 【0143】

I S O - 1もしくはO X I M - 1 1に複合体化されたM I Fの結晶構造が、そのフェノール基が、基質および阻害剤両方のM I F 活性部位内での結合における重大な役割を有することを明らかにした。これゆえ、そのフェノール基のオルト位においてハロゲンを保有している化合物が評価され、該ハロゲンが、M I F 活性部位内での更なる結合に対する該フェノールの水素結合を増強するかどうか求めた。候補化合物3a~3hが合成され、M I F ドーパクローム互変酵素（トートメラゼ）活性阻害が図7で提示されている。

#### 【0144】

（E）-4-ヒドロキシベンズアルデヒドO-シクロヘキサンカルボニルオキシム（O X I M - 1 1、3 a）が、1.3  $\mu\text{M}$ の $\text{IC}_{50}$ でM I F ドーパクローム互変酵素（トートメラゼ）活性を阻害する。そのフェノール基のオルト位でのモノフッ素化（化合物3b）が、0.9  $\mu\text{M}$ の $\text{IC}_{50}$ にまで35%、ドーパクローム互変酵素（トートメラゼ）活性阻害を向上させる。この立体効果に加えて、このフッ素置換基の強い電気陰性度がこのフェノール環を分極させ、化合物3bの観測された最上の効力に対応するOH水素結合受容能力を増強する。ジフルオロ類似体3cおよびテトラフルオロ類似体3dが、該フッ素基の静電的反発（Malamasら、2004年）のために3bよりも顕著に有効でなかった。例えば、2,6-ジフルオロ類似体3cが、最もAsn-97のアミド基との反発を有する可能性がある。しかしながら、塩素もしくは臭素もしくはヨウ素を有する他のハロゲン化合物（化合物3e~3h）は活性が低下している（図7）。Asn-97の側鎖とヒドロキシル基との間の水素結合が、M I F 活性部位内の重要な相互作用である（Lubetskyyら、1999年）ので、この知見は驚くほどではない。該ヒドロキシル基に対してオルトの、塩素、臭素、およびヨウ素のような嵩高いハロゲンを導入すると、その分子としてのサイズを有意に変えて、著しく低下したりリガンド結合を生じる。また、プロトン（ $^1\text{H}$ ）NMR解析でOHの酸性度を増加させることから明らかなように、OHとハロゲンとの間の分子内水素結合が、そのOH水素結合供与能力を低下させる（図7、Himoら、2000年）。これゆえ、化合物3bのフェノール基のオルト位のフッ素が、M I F 活性部位内での更なる結合に対して重大かつ特異的な役割を有する。モノフッ素化でドーパクローム互変酵素（トートメラゼ）活性の増強が、（E）-3-フルオロ-4-ヒドロキシベンズアルデヒドO-4'-メトキシフェニルカルボニルオキシム（5）でも観測された。この類似体が、その親化合物（4）よりもドーパクローム互変酵素（トートメラゼ）活性で63%の向上する（図8）。

#### 【0145】

結論として、ヒドロキシル基に対するオルト位へのモノフッ素化は、M I F 活性部位内

のリガンド結合へ重大な影響を与える。

【0146】

補足材料

MIF互変酵素(トートメラーゼ)活性が、UV-可視分光光度計(SHIMADZU、UV1600U)により計測された。L-ドーバクロームメチルエステルの未使用保管溶液が、過ヨウ素酸ナトリウムでL-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニンメチルエステルを酸化することにより、2.4 mM調製された。種々の濃度の本酵素阻害剤を伴う、1 μLのMIF溶液(800~900 ng/mL)および1 μLのDMSO溶液が、0.7 mLアッセイ緩衝液(1Xリン酸カリウム、pH 7.2)を含有するプラスチックセル(10 mm、1.5 mL)に加えられた。該L-ドーバクロームメチルエステル溶液(0.3 mL)が、該アッセイ緩衝液混合物に加えられた。活性が室温で決定され、分光計測が、20秒間 = 475 nmで、標準溶液と比較してL-ドーバクロームメチルエステルの脱色の速度をモニターすることで行われた。

【0147】

ハロゲン化(E)-4-ヒドロキシベンズアルデヒドO-シクロヘキサンカルボニルオキシム(3a~3h)合成のための一般的な手順。

70 mL乾燥ジクロロメタン中のハロゲン化4-ヒドロキシベンゾアルデヒドオキシム(2a~2h、12.8ミリモル)およびシクロヘキサンカルボン酸クロリド(13.4ミリモル)の混合物が、0にまで冷却された。この懸濁液にピリジン(12.8ミリモル)が滴下され、薄黄色溶液が生じた。該溶液が、10分間0で攪拌され、次いで、18時間、室温にまで温められた。この混合物が、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>および水を用いて希釈され、これらの層が分離した。この水の部分が、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>洗浄され、この組み合わせられた有機分画が、飽和NaCl洗浄され、MgSO<sub>4</sub>乾燥された。濾過および真空中でのエバポレーションにより白色固体を得て、これがフラッシュクロマトグラフィ(40% EtOAc/ヘキサン)により精製された。EtOAc/ヘキサンからの結晶化により所望の白色固体生成物(3a~3h)を得た。

【0148】

化合物3a~3hに関する分析データ。

全ての溶媒が、Fisher ScientificからのHPLC等級(グレード)であった。シリカゲル(Selecto Scientific、32~63 μm平均粒子サイズ)が、フラッシュカラムクロマトグラフィ(FCC)に使用された。254 nm蛍光指示薬TLC板(プレート)を有するアルミニウム裏打ちシリカゲル60が、使用された。TLC板(プレート)上のスポットは、短波長UVランプ下で可視化されたか、もしくは、I<sub>2</sub>蒸気を用いて染色された。NMRスペクトルが、<sup>1</sup>H NMRスペクトルに関して270 MHz、かつ<sup>13</sup>C NMRスペクトルに関して67.5 MHzでJeol Eclipse 270により実行された。結合定数(カップリングコンスタント)が、ヘルツ単位で(Hz)、報告されており、化学シフトが、重水素化溶媒のピークに相対してppm単位で、報告されている。これら結合定数(カップリングコンスタント、J)が測定され(Hz)、シングレット(s)、ダブルット(d)、トリプレット(t)、マルチプレット(m)、およびブロード(br)として割り当てられた。低分解能質量スペクトルが、陰イオンモードを有するThermo Finnigan LCQ DecaXP Plus 4極イオントラップMSを使用して達成された。

【0149】

選択されたいくつかの化合物の分析データ

化合物3a:白色固体生成物として単離された(38%)。<sup>1</sup>H NMR(270 MHz、アセトン-d<sub>6</sub>) 9.04(br、1H)、8.42(s、1H)、7.65(d、J = 8.7 Hz、2H)、6.94(d、J = 8.7 Hz、2H)、2.46(m、1H)、1.2~2.0(m、10H); <sup>13</sup>C NMR(67.5 MHz、アセトン-d<sub>6</sub>) 172.23、160.56、155.92、130.06、122.23、115.88、41.67、25.19; ESI-MS m/z 246 (M<sup>+</sup>)。

化合物 3 b : 白色固体生成物として単離された ( 4 0 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 9 . 3 7 ( br 、 1 H ) 、 8 . 4 4 ( s 、 1 H ) 、 7 . 5 5 ( m 、 1 H ) 、 7 . 4 5 ( m 、 1 H ) 、 7 . 1 0 ( m 、 1 H ) 、 2 . 4 6 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) ;  $^{13}\text{C}$  NMR ( 6 7 . 5 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 7 2 . 1 0 、 1 5 5 . 1 6 、 1 5 3 . 2 9 、 1 4 9 . 7 2 、 1 4 8 . 2 2 、 1 2 5 . 7 5 、 1 2 3 . 0 7 、 1 1 8 . 1 8 、 1 1 5 . 2 0 、 4 1 . 6 1 、 2 5 . 1 7 ; ESI - MS  $m/z$  2 6 4 (  $\text{M}^-$  ) 。

化合物 3 c : 白色固体生成物として単離された ( 3 5 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 0 . 7 9 ( br 、 1 H ) 、 8 . 1 6 ( s 、 1 H ) 、 7 . 4 0 ( d 、  $J = 8 . 4 \text{ Hz}$  、 2 H ) 、 2 . 7 6 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) ; ESI - MS  $m/z$  2 8 2 (  $\text{M}^-$  ) 。

化合物 3 d : 白色固体生成物として単離された ( 4 5 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 1 . 3 4 ( br 、 1 H ) 、 8 . 2 2 ( s 、 1 H ) 、 2 . 8 5 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) ;  $^{13}\text{C}$  NMR ( 6 7 . 5 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 7 1 . 5 0 、 1 4 6 . 5 4 、 1 4 2 . 8 9 、 1 3 9 . 2 5 、 1 3 8 . 0 2 、 1 2 9 . 3 2 、 1 1 0 . 4 4 、 4 2 . 1 6 、 2 4 . 8 4 ; ESI - MS  $m/z$  3 2 1 (  $\text{M}^-$  ) 。

化合物 3 e : 白色固体生成物として単離された ( 4 0 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 9 . 5 5 ( br 、 1 H ) 、 8 . 5 0 ( s 、 1 H ) 、 7 . 8 5 ( d 、  $J = 2 . 0 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 7 . 6 7 ( dd 、  $J_1 = 8 . 5 \text{ Hz}$  、  $J_2 = 2 . 0 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 7 . 1 8 ( d 、  $J = 8 . 5 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 2 . 5 5 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) ; ESI - MS  $m/z$  2 8 0 (  $\text{M}^-$  ) 。

化合物 3 f : 白色固体生成物として単離された ( 3 9 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 9 . 6 6 ( br 、 1 H ) 、 8 . 4 4 ( s 、 1 H ) 、 7 . 9 4 ( d 、  $J = 2 . 0 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 7 . 6 6 ( dd 、  $J_1 = 8 . 4 \text{ Hz}$  、  $J_2 = 2 . 0 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 7 . 1 0 ( d 、  $J = 8 . 4 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 2 . 4 7 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) ;  $^{13}\text{C}$  NMR ( 6 7 . 5 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 7 2 . 1 2 、 1 5 6 . 9 3 、 1 5 4 . 7 5 、 1 3 3 . 0 9 、 1 2 8 . 8 7 、 1 2 4 . 0 1 、 1 1 6 . 8 2 、 1 1 0 . 0 4 、 4 1 . 6 2 、 2 5 . 1 8 。

化合物 3 g : 白色固体生成物として単離された ( 3 7 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 0 . 8 2 ( br 、 1 H ) 、 8 . 1 5 ( s 、 1 H ) 、 7 . 9 3 ( s 、 2 H ) 、 2 . 7 3 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) 。

化合物 3 h : 白色固体生成物として単離された ( 4 0 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 2 7 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 1 0 . 7 4 ( br 、 1 H ) 、 8 . 1 3 ( s 、 2 H ) 、 8 . 1 0 ( s 、 1 H ) 、 2 . 7 1 ( m 、 1 H ) 、 1 . 2 ~ 2 . 0 ( m 、 1 0 H ) 。

化合物 4 : 白色固体生成物として単離された ( 4 0 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 3 0 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 9 . 0 5 ( br 、 1 H ) 、 8 . 6 0 ( s 、 1 H ) 、 8 . 0 2 ( d 、  $J = 8 . 7 \text{ Hz}$  、 2 H ) 、 7 . 6 8 ( d 、  $J = 8 . 7 \text{ Hz}$  、 2 H ) 、 7 . 0 5 ( d 、  $J = 8 . 7 \text{ Hz}$  、 2 H ) 、 6 . 9 3 ( d 、  $J = 8 . 7 \text{ Hz}$  、 2 H ) 、 3 . 8 7 ( s 、 3 H ) ; ESI - MS  $m/z$  2 7 0 (  $\text{M}^-$  ) 。

化合物 5 : 白色固体生成物として単離された ( 4 0 % ) 。  $^1\text{H}$  NMR ( 3 0 0 MHz 、アセトン -  $\text{d}_6$  ) 9 . 3 7 ( br 、 1 H ) 、 8 . 6 2 ( s 、 1 H ) 、 8 . 0 2 ( d 、  $J = 8 . 4 \text{ Hz}$  、 2 H ) 、 7 . 6 0 ( dd 、  $J_1 = 8 . 4 \text{ Hz}$  、  $J_2 = 2 . 0 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 7 . 4 7 ( d 、  $J = 8 . 4 \text{ Hz}$  、 1 H ) 、 7 . 0 6 ( m 、 3 H ) 、 3 . 8 7 ( s 、 3 H ) ; ESI - MS  $m/z$  2 8 8 (  $\text{M}^-$  ) 。

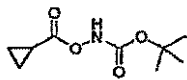
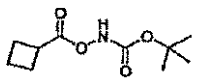
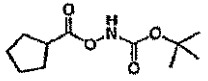
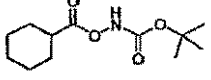
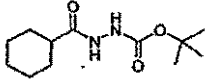
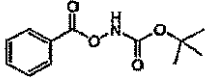
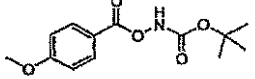
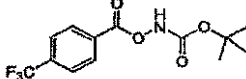
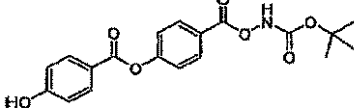
【 0 1 5 0 】

実施例 3 . MIF を阻害する更なる化合物。

更なる化合物が生産され、上の実施例で記載された方法により、*in vitro* の MIF 阻害活性を試験された。表 2 がそれらの実験の結果を示す。

【 0 1 5 1 】

【表 2】

化合物	構造	IC <sub>50</sub> (μM)
BKII-91		1.9
BKII-92		0.37
BKII-93		0.7
BKII-85		19.5
BKII-90		60
BKII-98		0.23
BKII-99		1.2
BKIII-9W		69
BKIII-6Y		50

【 0 1 5 2 】

表 2 の 続 き

【表 3】

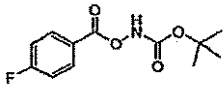
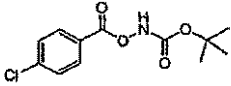
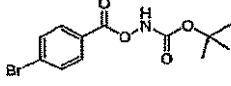
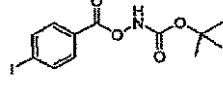
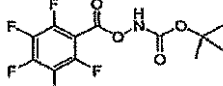
化合物	構造	IC <sub>50</sub> (μM)
BKIII-8W		0.27
BKIII-8Y		0.87
BKIII-11Y		1.30
BKIII-9Y		1.7
BKIII-6W		118

表 2. 追加のMIF阻害剤。

【 0 1 5 3 】

## 参考文献

- Abraham E: Why immunomodulatory therapies have not worked in sepsis. *Intensive Care Med* 25: 556-566, 1999
- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR: Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29: 1303-1310, 2001
- Al-Abed Y, Dabideen D, Aljabari B, Valster A, Messmer D, Ochani M, Tanovic M, Ochani K, Bacher M, Nicoletti F, Metz C, Pavlov VA, Miller EJ, Tracey KT: ISO-1 Binding to the Tautomerase Active Site of MIF Inhibits Its Pro-inflammatory Activity and Increases Survival in Severe Sepsis. *J. Biol. Chem.* 280: 36541-36544, 2005.
- Al-Abed Y, Lajabari B, Cheng K, Miller E: Inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) by Cyc-Oxi-11 increases survival in sepsis. Abstract for 28<sup>th</sup> Annual Conference on Shock, June 4-7, 2005, Marco Island, FL.
- Bacher M, Metz CN, Calandra T, Mayer K, Chesney J, Lohoff M, Gerns D, Donnelly T, Bucala R: An essential regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in T-cell activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 7849-7854, 1996
- Beishuizen A, Thijs LG, Haanen C, Vermes I: Macrophage migration inhibitory factor and hypothalamo-pituitary-adrenal function during critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 2811-2816, 2001
- Bendrat K, Al-Abed Y, Callaway DJ, Peng T, Calandra T, Metz CN, Bucala R: Biochemical and mutational investigations of the enzymatic activity of macrophage migration inhibitory factor. *Biochemistry* 36: 15356-15362, 1997
- Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, Martin SB, Tracey KJ, Voelter W, Manogue KR, Cerami A, Bucala R: MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature* 365: 756-759, 1993
- Bernhagen J, Mitchell RA, Calandra T, Voelter W, Cerami A, Bucala R: Purification, bioactivity, and secondary structure analysis of mouse and human macrophage migration inhibitory factor (MIF). *Biochemistry* 33: 14144-14155, 1994



- Bloom BR, Bennett B: Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science* 153: 80-82, 1966
- Bozza M, Satoskar AR, Lin G, Lu B, Humbles AA, Gerard C, David JR: Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J Exp Med* 189: 341-346, 1999
- Calandra T: Pathogenesis of septic shock: implications for prevention and treatment. *J Chemother* 13 Spec No 1: 173-180, 2001
- Calandra T, Bucala R: Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a glucocorticoid counter-regulator within the immune system. *Crit Rev Immunol* 17: 77-88, 1997
- Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, Bucala R: The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med* 179: 1895-1902, 1994
- Calandra T, Bernhagen J, Metz CN, Spiegel LA, Bacher M, Donnelly T, Cerami A, Bucala R: MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature* 377: 68-71, 1995
- Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, Bucala R: Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of Gram-positive bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 11383-11388, 1998
- Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, Pugin J, Metz CN, Hultner L, Heumann D, Manetti D, Bucala R, Glauser MP: Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med* 6: 164-170, 2000
- Cvetkovic I, Al-Abed Y, Miljkovic D, Maksimovic-Ivanic D, Roth J, Bacher M, Lan HY, Nicoletti F, Stosic-Grujicic S. *Endocrinology* 146: 2942, 2005
- David J: Delayed hypersensitivity in vitro: its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 56: 72-77, 1966
- Dios A, Mitchell RA, Aljabari B, Lubetsky J, O'Connor K, Liao H, Senter PD, Manogue KR, Lolis E, Metz C, Bucala R, Callaway DJ, Al-Abed Y: Inhibition of MIF bioactivity by rational design of pharmacological inhibitors of MIF tautomerase activity. *J Med Chem* 45: 2410-2416, 2002
- Donnelly SC, Haslett C, Reid PT, Grant IS, Wallace WA, Metz CN, Bruce LJ, Bucala R: Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nat Med* 3: 320-323, 1997
- Echtenacher B, Falk W, Mannel DN, Krammer PH: Requirement of endogenous tumor necrosis factor/cachectin for recovery from experimental peritonitis. *J Immunol* 145: 3762-3766, 1990
- Friedman G, Silva E, Vincent JL: Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med* 26: 2078-2086, 1998
- George M, Vaughan JH: In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity. *Proc Soc Exp Biol Med* 111: 514-521, 1962
- Hayashi, S., Kurdowska, A., Stevens, M.D., Cohen, A.B., Stevens, M.D., Fujisawa, N. Miller, E.J. A synthetic inhibitor for  $\alpha$ -chemokines inhibits the growth of melanoma cell lines. *J. Clin. Invest.* 99: 2581-2587, 1997
- Hermanowski-Vosatka A, Mundt SS, Ayala JM, Goyal S, Hanlon WA, Czerwinski RM, Wright SD, Whitman CP: Enzymatically inactive macrophage migration inhibitory factor inhibits monocyte chemotaxis and random migration. *Biochemistry* 38: 12841-12849, 1999
- Himo F, Eriksson LA, Blomberg MRA, Siegbahn PEM. *International Journal of Quantum Chemistry* 76: 714, 2000

- Kato Y, Muto T, Tomura T, Tsumura H, Watarai H, Mikayama T, Ishizaka K, Kuroki R : The crystal structure of human glycosylation-inhibiting factor is a trimeric barrel with three 6-stranded beta-sheets. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3007-3010, 1996
- Kleemann R, Rorsman H, Rosengren E, Mischke R, Mai NT, Bernhagen J: Dissection of the enzymatic and immunologic functions of macrophage migration inhibitory factor - Full immunologic activity of N-terminally truncated mutants. *European Journal of Biochemistry* 267: 7183-7192, 2000a
- Kleemann R, Hausser A, Geiger G, Mischke R, Burger-Kentischer A, Flieger O, Johannes FJ, Roger T, Calandra T, Kapurniotu A, Grell M, Finkelmeier D, Brunner H, Bernhagen J: Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through Jab 1. *Nature* 408: 211-216, 2000b
- Lan HY, Bacher M, Yang N, Mu W, Nikolic-Paterson DJ, Metz C, Meinhardt A, Bucala R, Atkins RC: The pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in immunologically induced kidney disease in the rat. *J Exp Med* 185: 1455-1465, 1997
- Lawrence NJ, Hepword LA, Rennison D, McGown AT, Hadfield JA: *J. Fluor. Chem.* 123 : 101, 2003.
- Leech M, Metz C, Santos L, Peng T, Holdsworth SR, Bucala R, Morand EF: Involvement of macrophage migration inhibitory factor in the evolution of rat adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum* 41: 910-917, 1998
- Leng L, Metz CN, Fang Y, Xu J, Donnelly S, Baugh J, Delohery T, Chen Y, Mitchell RA, Bucala R: MIF signal transduction initiated by binding to CD74. *J Exp Med* 197: 1467-1476, 2003
- Lolis E, Bucala R: Crystal structure of macrophage migration inhibitory factor (MIF), a glucocorticoid-induced regulator of cytokine production, reveals a unique architecture. *Proc Assoc Am Physicians* 108: 415-419, 1996
- Lubetsky JB, Swope M, Dealwis C, Blake P, Lolis E: Pro-1 of macrophage migration inhibitory factor functions as a catalytic base in the phenylpyruvate tautomerase activity. *Biochemistry* 38: 7346-7354, 1999
- Lubetsky JB, Dios A, Han J, Aljabari B, Ruzsicska B, Mitchell R, Lolis E, Al-Abied Y: The tautomerase active site of macrophage migration inhibitory factor is a potential target for discovery of novel anti-inflammatory agents. *J Biol Chem* 277: 24976-24982, 2002
- Lue H, Kleemann R, Calandra T, Roger T, Bernhagen J: Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease. *Microbes Infect* 4: 449-460, 2002
- Malamas MS, Manas ES, McDevitt RE, Gunawan I, Xu ZB, Collini MD, Miller CP, Dinh T, Hunderson RA, Keith Jr. JC, Harris HA, *J. Med. Chem.* 47: 5021, 2004.
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M: The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 348: 1546-1554, 2003.
- Matsunaga J, Sinha D, Pannell L, Santis C, Solano F, Wistow GJ, Hearing VJ: Enzyme activity of macrophage migration inhibitory factor toward oxidized catecholamines. *Journal of Biological Chemistry* 274: 3268-3271, 1999a
- Matsunaga J, Sinha D, Solano F, Santis C, Wistow G, Hearing V: Macrophage migration inhibitory factor (MIF) - Its role in catecholamine metabolism. *Cellular and Molecular Biology* 45: 1035-1040, 1999b
- Mikulowska A, Metz CN, Bucala R, Holmdahl R: Macrophage migration inhibitory factor is involved in the pathogenesis of collagen type II-induced arthritis in mice. *J Immunol* 158: 5514-5517, 1997

- Miller E.J., L. Ulloa, Lin X, Mantell L., Hu M., Yang H. L. J., Liao H., Romashko III J., Franek W., Tracey, K.J., and Simms. H.H. 2003. -Chemokine receptor inhibitor reduces HMGB-1 induced acute lung injury. *Shock* 19: 270
- Mischke R, Gessner A, Kapurniotu A, Juttner S, Kleemann R, Brunner H, Bernhagen J: Structure activity studies of the cytokine macrophage migration inhibitory factor (MIF) reveal a critical role for its carboxy terminus. *FEBS Lett* 414: 226-232, 1997
- Mitchell RA, Liao H, Chesney J, Fingerle-Rowson G, Baugh J, David J, Bucala R: Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 345-350, 2002
- O'Brien JM Jr, Abraham, E. New approaches to the treatment of sepsis. *Clin Chest Med* 24: 521-48, 2003
- Onodera S, Kaneda K, Mizue Y, Koyama Y, Fujinaga M, Nishihira J: Macrophage migration inhibitory factor up-regulates expression of matrix metalloproteinases in synovial fibroblasts of rheumatoid arthritis. *J Biol Chem* 275: 444-450, 2000
- Orita M, Yamamoto S, Katayama N, Aoki M, Takayama K, Yamagiwa Y, Seki N, Suzuki H, Kurihara H, Sakashita H, Takeuchi M, Fujita S, Yamada T, Tanaka A: Coumarin and chromen-4-one analogues as tautomerase inhibitors of macrophage migration inhibitory factor: Discovery and X-ray crystallography. *Journal of Medicinal Chemistry* 44: 540-547, 2001
- Remick DG, Newcomb DE, Bolgos GL, Call DR: Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture. *Shock* 13: 110-116, 2000
- Roger T, David J, Glauser MP, Calandra T: MIF regulates innate immune responses through modulation of Toll-like receptor 4. *Nature* 414: 920-924, 2001
- Rosengren E, Bucala R, Aman P, Jacobsson L, Odh G, Metz CN, Rorsman H: The immunoregulatory mediator macrophage migration inhibitory factor (MIF) catalyzes a tautomerization reaction. *Mol Med* 2: 143-149, 1996
- Rosengren E, Aman P, Thelin S, Hansson C, Ahlfors S, Bjork P, Jacobsson L, Rorsman H: The macrophage migration inhibitory factor MIF is a phenylpyruvate tautomerase. *FEBS Lett* 417: 85-88, 1997
- Sampey AV, Hall PH, Mitchell RA, Metz CN, Morand EF: Regulation of synoviocyte phospholipase A2 and cyclooxygenase 2 by macrophage migration inhibitory factor. *Arthritis Rheum* 44: 1273-1280, 2001
- Senter PD, Al-Abed Y, Metz CN, Benigni F, Mitchell RA, Chesney J, Han J, Gartner CG, Nelson SD, Todaro GJ, Bucala R: Inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) tautomerase and biological activities by acetaminophen metabolites. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 144-149, 2002
- Sugimoto H, Suzuki M, Nakagawa A, Tanaka I, Fujinaga M, Nishihira J: Crystallization of rat liver macrophage migration inhibitory factor for MAD analysis. *J Struct Biol* 115: 331-334, 1995
- Sugimoto H, Suzuki M, Nakagawa A, Tanaka I, Nishihira J: Crystal structure of macrophage migration inhibitory factor from human lymphocyte at 2.1 Å resolution. *FEBS Lett* 389: 145-148, 1996
- Sun HW, Bernhagen J, Bucala R, Lolis E: Crystal structure at 2.6-Å resolution of human macrophage migration inhibitory factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 5191-5196, 1996
- Suzuki M, Murata E, Tanaka I, Nishihira J, Sakai M: Crystallization and a preliminary X-ray diffraction study of macrophage migration inhibitory factor from hum

an lymphocytes. J Mol Biol 235: 1141-1143, 1994

Suzuki M, Sugimoto H, Nakagawa A, Tanaka I, Nishihira J, Sakai M: Crystal structure of the macrophage migration inhibitory factor from rat liver. Nat Struct Biol 3: 259-266, 1996

Swope M, Sun HW, Blake PR, Lolis E: Direct link between cytokine activity and a catalytic site for macrophage migration inhibitory factor. EMBO J 17: 3534-3541, 1998

Taylor AB, Johnson WH, Czerwinski RM, Li HS, Hackert ML, Whitman CP: Crystal structure of macrophage migration inhibitory factor-complexed with (E)-2-fluoro-p-hydroxycinnamate at 1.8 resolution: Implications for enzymatic catalysis and inhibition. Biochemistry 38: 7444-7452, 1999

Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ: HMG-I as a late mediator of endotoxin lethality in mice. Science 285: 248-251, 1999

Zang X, Taylor P, Wang JM, Meyer DJ, Scott AL, Walkinshaw MD, Maizels RM: Homologues of human macrophage migration inhibitory factor from a parasitic nematode: Gene cloning, protein activity and crystal structure. J. Biol. Chem. 277: 44261-44267, 2002

【 0 1 5 4 】

上記の点を考慮して、本発明の幾つかの利点が達成され、他の利点が達成されたことが分かるであろう。

【 0 1 5 5 】

本発明の範囲から逸脱することなく上記の方法及び組成物には多様な変更が成され得るので、上記の記載に含まれ、添付図面に示される全ての事柄は実例として解釈され、限定的な意味ではないものであるべきと意図される。

【 0 1 5 6 】

本明細書に引用された全ての参考文献は、参照されて本明細書中の一部とする。本明細書中の参考文献の論考は単に著者らによる主張を概説するために意図され、どの文献も先行技術を構成するという承認は成されていない。本出願者らは、引用文献が正確および適切であるかを検討する権利を留保する。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

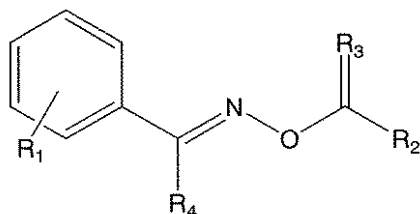
【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



I

(式中 :

R<sub>1</sub>が、独立して、多重置換の、OHもしくはハロゲンであり、ここで第1のR<sub>1</sub>がOH

であり、第 2 の  $R_1$  がハロゲンであり；

$R_2$  が、3、4、5、もしくは 6 員の、脂環式環、複素環、もしくは芳香環の環構造を含み、ここで、該環構造中の 1 原子は  $R_3$  に結合する炭素に結合しており；

$R_3$  が、O、C ( $R_5$ )<sub>2</sub>、もしくは S であり；かつ

$R_4$  が、H、 $R_5$ 、もしくはハロゲンであり；式中：

$R_5$  が、独立に、H、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルカノイル、または直鎖もしくは分岐  $C_2 \sim C_6$  アルコキシである。)

の化合物、または、その医薬として許容可能な塩、もしくは互変異性体。

【請求項 2】

$R_1$  がパラ位の OH を含む、請求項 1 の化合物。

【請求項 3】

前記ハロゲン置換がフッ素である、請求項 1 または 2 の化合物。

【請求項 4】

前記フッ素がメタ位にある、請求項 3 の化合物。

【請求項 5】

$R_2$  の環が脂環式環である、請求項 1 の化合物。

【請求項 6】

前記脂環式環が、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルもしくはシクロヘキシル - 2, 3 - エンである、請求項 5 の化合物。

【請求項 7】

$R_2$  の環が複素環である、請求項 1 の化合物

【請求項 8】

$R_2$  の環がパラヒドロキシメチルフェニルもしくはパラメトキシフェニルである、請求項 7 の化合物。

【請求項 9】

前記複素環が、ピリミジン、ピリダジン、ピラジン、ピリジン、ピラゾール、イミダゾール、ピロール、ピラン、もしくはフランである、請求項 7 の化合物。

【請求項 10】

$R_2$  の環が芳香族である、請求項 1 の化合物。

【請求項 11】

前記芳香環が、シクロベンジル、4 - ピリミジル、もしくは 3 - ピリミジルである、請求項 10 の化合物。

【請求項 12】

$R_2$  の環構造が置換されていない、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項の化合物。

【請求項 13】

$R_2$  の環構造が、少なくとも 1 つの、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルキル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルケニル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルカノイル、直鎖もしくは分岐  $C_1 \sim C_6$  アルコキシ、ケト、カルボキシ、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ジアゾ、チオ、もしくはヒドロキシアミノで置換される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項の化合物。

【請求項 14】

$R_2$  の環構造が、少なくとも 1 つのニトロ、アミノ、ヒドロキシル、もしくはハロゲンで置換される、請求項 13 の化合物。

【請求項 15】

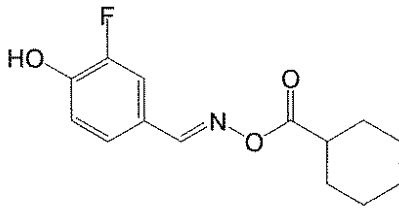
$R_3$  が O である、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項の化合物。

【請求項 16】

$R_4$  が H である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項の化合物。

【請求項 17】

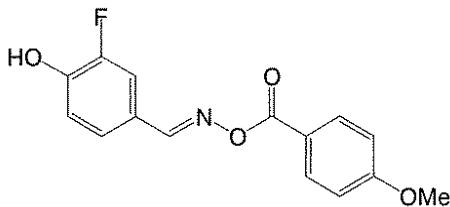
## 【化 2】



を含むか、もしくは、これから成る、請求項 1 の化合物。

## 【請求項 18】

## 【化 3】



を含むか、もしくは、これから成る、請求項 1 の化合物。

## 【請求項 19】

医薬として許容可能な賦形剤に、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項の化合物、または、その医薬として許容可能な塩、もしくは互変異性体を含む、医薬組成物。

## 【請求項 20】

( i ) 哺乳類におけるマクロファージ遊走阻止因子 ( M I F ) 活性を阻害するための、  
 ( i i ) 哺乳類におけるマクロファージ遊走阻止因子 ( M I F ) 活性を阻害するための医薬を製造するための、  
 ( i i i ) 哺乳類における炎症を治療するかもしくは予防するための、  
 ( i v ) 哺乳類における炎症を治療するかもしくは予防するための医薬を製造するための、  
 ( v ) セブシス、敗血症および / または内毒素ショックを有するか、または、セブシス、敗血症および / または内毒素ショックのリスクのある哺乳類のセブシス、敗血症、および / または内毒素ショックを、治療するか予防するための、または、( v i ) セブシス、敗血症および / または内毒素ショックを有するか、または、セブシス、敗血症および / または内毒素ショックのリスクのある哺乳類のセブシス、敗血症および / または内毒素ショックを、治療するか予防するための医薬を製造するための、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項の化合物の使用、または、請求項 19 に記載の医薬組成物の使用。

## 【請求項 21】

前記哺乳類が、癌、急性呼吸窮迫症候群、サイトカイン媒介毒性、乾癬、インターロイキン - 2 毒性、虫垂炎、消化性潰瘍、胃潰瘍、および十二指腸潰瘍、腹膜炎、膵炎、潰瘍性結腸炎、偽膜性結腸炎、急性結腸炎、および虚血性結腸炎、憩室炎、喉頭蓋炎、無弛緩症、胆管炎、胆嚢炎、肝炎、炎症性腸疾患、クローン病、腸炎、ホウィップル病、喘息、アレルギー、アナフィラキシーショック、免疫複合体病、臓器虚血、再灌流傷害、臓器壊死、枯草熱、セブシス、敗血症、内毒素ショック、悪液質、異常高熱症、好酸球性肉芽腫、肉芽腫症、類肉腫症、敗血症流産、副睾丸炎、膣炎、前立腺炎、尿道炎、気管支炎、気腫、鼻炎、嚢胞性線維症、肺炎、塵肺症、肺胞症、細気管支炎、咽頭炎、胸膜炎、副鼻腔炎、インフルエンザ、呼吸器合胞体ウイルス感染、ヘルペス感染、H I V 感染、B 型肝炎ウイルス感染、C 型肝炎ウイルス感染、播種性菌血症、デング熱、カンジダ症、マラリア、糸状虫症、アメーバ症、包虫嚢胞、火傷、皮膚炎、皮膚筋炎、日焼け、蕁麻疹、疣、膨疹、血管炎、脈管炎、心内膜炎、動脈炎、アテローム性動脈硬化症、血栓性静脈炎、心膜炎、心筋炎、心筋虚血、結節性動脈周囲炎、リウマチ熱、アルツハイマー病、セリアック病、鬱血性心不全、髄膜炎、脳炎、多発性硬化症、脳梗塞、脳塞栓、ギランバレー症候群、神経炎、神経痛、脊髄損傷、麻痺、ブドウ膜炎、関節炎疹、関節痛、骨髓炎、筋膜炎、パジェット病、痛風、歯周病、リウマチ様関節炎、滑膜炎、重症筋無力症、甲状腺炎、全

身性エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群、ベーチェット症候群、同種移植の拒絶反応、移植片対宿主病、強直性脊椎炎、バージャー病、1型糖尿病、2型糖尿病、ライター症候群、もしくはホジキン病を有する、請求項20の使用。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図6

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図6】

