

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4436676号  
(P4436676)

(45) 発行日 平成22年3月24日 (2010. 3. 24)

(24) 登録日 平成22年1月8日 (2010. 1. 8)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 285/08 (2006. 01)

A 6 1 K 31/433 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4439 (2006. 01)

A 6 1 P 17/10 (2006. 01)

C O 7 D 417/12 (2006. 01)

C O 7 D 285/08 C S P

A 6 1 K 31/433

A 6 1 K 31/4439

A 6 1 P 17/10

C O 7 D 417/12

請求項の数 14 (全 53 頁)

(21) 出願番号 特願2003-542163 (P2003-542163)  
 (86) (22) 出願日 平成14年11月4日 (2002. 11. 4)  
 (65) 公表番号 特表2005-511605 (P2005-511605A)  
 (43) 公表日 平成17年4月28日 (2005. 4. 28)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/035340  
 (87) 国際公開番号 W02003/040117  
 (87) 国際公開日 平成15年5月15日 (2003. 5. 15)  
 審査請求日 平成17年9月21日 (2005. 9. 21)  
 (31) 優先権主張番号 60/337, 927  
 (32) 優先日 平成13年11月8日 (2001. 11. 8)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 598093026  
 オーソー・マクニール・ファーマシューチカル・インコーポレーテッド  
 アメリカ合衆国ニュージャージー州08869-0602 ラリタン・ユーエスルート  
 ナンバー202  
 (74) 代理人 110000741  
 特許業務法人小田島特許事務所  
 (72) 発明者 エイジンガー、マグダレナ  
 アメリカ合衆国ニュージャージー州07627 デマレスト・パインテラス30  
 (72) 発明者 フィツパトリック、ルイス・ジェイ  
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州18964 スーダートン・ヘザーフィールドドライブ205

最終頁に続く

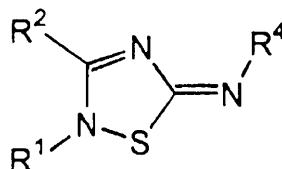
(54) 【発明の名称】 メラノコルチン受容体調節剤としての新規な 1, 2, 4-チアジアゾール誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I I)

【化 1】



(II)

〔式中、

R<sup>1</sup>は、置換アリールであり、かつ、前記アリールはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されており、

R<sup>2</sup>は、置換アリールであり、かつ、前記アリールはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されており、

$R^4$ は、アリールであり、かつ、前記アリールはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されている]

で表される化合物。

【請求項2】

$R^1$ が置換アリールであり、かつ、前記アリールがハロゲン、アルキルおよびアルコキシから独立して選択される1または2個の置換基で置換されており、

$R^2$ が置換アリールであり、かつ、前記アリールがアルキルおよびアルコキシから独立して選択される1または2個の置換基で置換されており、

$R^4$ がアリールおよび置換アリールから成る群から選択され、かつ、置換アリールのアリール上の置換基がハロゲン、アルキルおよびアルコキシから独立して選択される1または2個の置換基である、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

$R^1$ が2-メトキシフェニルであり、

$R^2$ が2-メトキシフェニルであり、

$R^4$ がフェニル、4-メトキシフェニル、2,6-ジフルオロフェニル、3,5-ジフルオロフェニルおよび2-クロロ-6-メチルフェニルから成る群から選択される、  
請求項2記載の化合物。

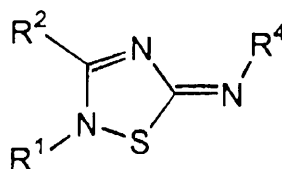
【請求項4】

[2-(2-メトキシフェニル)-3-(2-メトキシフェニル)-2H-[1,2,4]-チアジアゾール-5-イリデン]-フェニルアミンである請求項3記載の化合物。

【請求項5】

式(II)

【化2】



(II)

[式中、

$R^1$ は、置換アリールであり、かつ、前記アリールはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されており、

$R^2$ は、アリールであり、かつ、前記アリールはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されている、

$R^4$ は、置換アリールであり、かつ、前記アリールはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されている

で表される化合物。

【請求項6】

請求項1記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を含んで成る薬剤組成物。

【請求項7】

薬剤組成物の製造方法であって、請求項 1 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を混合することを含んで成る方法。

【請求項 8】

請求項 1 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を混合することで調製された薬剤組成物。

【請求項 9】

請求項 5 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を含んで成る薬剤組成物。

【請求項 10】

薬剤組成物の製造方法であって、請求項 5 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を混合することを含んで成る方法。

10

【請求項 11】

請求項 5 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を混合することで作られた薬剤組成物。

【請求項 12】

請求項 2 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を含んで成る薬剤組成物。

【請求項 13】

請求項 3 記載の化合物と薬学的に受け入れられる担体を含んで成る薬剤組成物。

【請求項 14】

有効成分として、2 - ( 2 - メトキシフェニル ) - 3 - ( 2 - メトキシフェニル ) - 2 H - [ 1 , 2 , 4 ] - チアジアゾール - 5 - イリデン ] - フェニルアミン  
を含んで成る アクネの治療用製剤。

20

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本出願は、2001年11月8日付けで提出した米国仮出願60/337,927(引用することによって全体が本明細書に組み入れられる)の利点を請求するものである。

【技術分野】

【0002】

本発明は、メラノコルチン受容体(melanocortin receptor)が介在する障害の治療で用いるに有用な新規な1,2,4-チアジアゾール誘導体を提供するものである。より詳細には、本発明の化合物は、代謝障害、CNS障害および皮膚科学的障害、例えば肥満症、減退した経口グルコース耐性、高くなった血液グルコース濃度、II型糖尿病、X症候群、糖尿病性網膜症、急性神経変性障害、慢性神経変性障害、プレキソパシー(plexopathies)、男性の勃起機能不全、ドライアイ、アクネ、乾燥皮膚、老化した皮膚、脂漏性皮膚炎、しゅさ、過剰な耳垢、マイボーム腺障害、偽性毛包炎(pseudofolliculitis)、酵母菌感染、ふけ、ヒラデニチス・スプラチバ(hiradenitis suppurative)、眼のしゅさおよびエクリン腺障害などの治療で用いるに有用である。

30

【背景技術】

【0003】

メラノコルチンは、視床下部の弓状核、下垂体葉および脳幹の孤束核の中で最も頻繁に発現するプロ-オピオメラノコルチン(POMC)から生じるニューロペプチドである(非特許文献1)。前記ペプチドにはACTH、-MSH、-MSH、<sub>1-3</sub>-MSHおよび合成類似物であるNDP-MSHが含まれる(非特許文献2)。

40

【0004】

前記ペプチドは、G蛋白結合受容体である5種類のメラノコルチン受容体(MC1-MC5)(これらは全部がアデニレートシクラーゼをポジティブに調節する)と結合する。MC4およびMC5受容体は脳および脊髄の中に幅広く分布している一方、MC3受容体は主に視床下部に存在する(非特許文献1)。MC4受容体はMSHによって選択的に活性化して、ニューロ2A細胞における神経突起の生長を誘発し得る(非特許文献3およ

50

び4)。ACTHの方がMSHよりも効力が弱いMC4受容体活性化剤である(非特許文献5)。MC5受容体は下記の度合の順で活性化される:NDP - MSH > ACTH (1 - 24) MSH ACHT (1 - 39) = MSH >> MSH (非特許文献6)。

#### 【0005】

動物全体として、ラット座骨神経粉碎モデル(crush model)における研究で、-MSHが神経突起の生長を向上させそしてそれはACHT誘導ペプチドの最も効力のある助長剤として神経の末端分枝、終板領域および突出部を有意に助長することが示された(非特許文献7、8、9、10)。その上、-MSHおよび他のメラノコルチンを投与すると神経損傷後に運動機能が回復する時間も短くなる(非特許文献10)。

10

#### 【0006】

遺伝子ターゲティングによってMC4受容体を不活性にしたマウスは肥満になり、このことは、MC4受容体が食べることに関与していることを示唆している(非特許文献11)。これは、いろいろなMC4ペプチド作動薬がアグーチマウスにおける食べる挙動を抑制すると言った報告によって実証されている(非特許文献12)。-MSHがラットのグルーミング挙動を誘発するが、これの有意さは明瞭ではなく、これにMC4受容体が介在していない可能性もある(非特許文献13)。

#### 【0007】

メラノコルチンであるMSHおよびACHTはまたそれぞれ色素沈着および副腎のグルココルチコイド分泌を刺激する能力も有することが知られている。メラノコルチン、特にMSHが脂腺活性(全分泌型の分泌を伴う外分泌腺)の調節で果たす役割が最初にラットで示された。より詳細には、その研究により、下垂体の中間葉(POMCペプチドを産生する)を除去すると結果として皮脂(sebacaceous lipid)の産生が減少したが、MSHを用いた補充治療を行うと正常なレベルにまで完全に回復することが示された(非特許文献14)。全下垂体切除後のラットの研究でMSHを用いた治療を行うと結果として皮脂の産生が増加したが、皮脂産生の完全な回復が達成されたのはMSHとテストステロンを組み合わせた治療を行った後のみである(非特許文献15、16)。MC5受容体を切除したノックアウトマウスでは、脂質の産生が減少することが理由で水斥(water repulsion)および熱調節のひどい欠乏を示すことが観察された(非特許文献17)。

20

30

#### 【0008】

MC5受容体はヒト脂腺の中に発現することが知られており、これはヒト脂質合成の調節に関与している可能性がある。ヒトMC5-Rのクローン化および特徴付けが行われた(非特許文献18)。その上、RT-PCRにより、ヒト脂腺にMC5-RのmRNAが存在することが示され、その蛋白質が免疫組織化学およびウエスタンブロット分析で検出された(非特許文献19)。

#### 【0009】

ヒトの皮脂は組成の点で他の哺乳動物のそれとは異なる。ヒトの皮脂に存在する主な脂質はトリグリセリド、ワックスエステルおよびスクワレンである(非特許文献20)。例えば、スクワレンはかわうそおよびビーバーを除く多くの哺乳動物に見られない。ヒトの皮質の主成分であるトリグリセリドは他の種にほとんど見られず、多くの種(例えばチンパンジー)には明らかに全く存在しないと(非特許文献21)。その上、メラノコルチンが細胞に対して示す影響は種が異なると異なる可能性がある。例えば、MSH( $EC_{50} = 3.7 \text{ nM}$ )およびACTH( $EC_{50} = 16.4 \text{ nM}$ )は両方ともがラビットの脂肪細胞にとって効力のある脂肪分解剤であるが、ラットではACTH( $EC_{50} = 1.34 \text{ nM}$ )のみが効力のある脂肪分解活性を示す(非特許文献22、23)。ACTHは、齧歯類およびラビットでは脂肪分解活性を示すが、単離したヒト脂肪細胞およびヒトではない霊長類の脂肪細胞では濃度を $1 \mu\text{M}$ の如く高くした時でも脂肪分解に対してほとんど全く効果を示さない(非特許文献24)。このように、メラノコルチンおよびこれらの受容体が動物の皮脂モデル系で示す役割を明らかにすることは必ずしもヒトの脂質調節にお

40

50

いてそれらが果たす働きの予測になるとは限らない。

【0010】

最近、ペプチドではない小型分子化合物であるイソキノリン誘導体が特許文献1に開示され、これはMC1およびMC4受容体に低マイクロモル親和性を示し、アラキドン酸によって誘発された皮膚炎症を軽減し、そして体重および食物摂取を減少させることが示された。

【0011】

肥満、糖尿病および性機能不全の如き病気および障害の治療で用いるに有用なメラノコルチン受容体作動薬としてスピロペリジン誘導体が特許文献2に開示された。

【0012】

従って、メラノコルチン受容体、より詳細にはメラノコルチン-3、メラノコルチン-4および/またはメラノコルチン-5受容体の調節剤である小型分子の必要性が存在する。

【特許文献1】Basu他、WIPO公開WO99/55679

【特許文献2】Nargund他、WIPO公開WO99/64002

【非特許文献1】Gantz, I. 他、「Molecular Cloning, Expression, and Gene Localization of a Fourth Melanocortin Receptor」、J. Biol. Chem.、1993、268、15174 - 15179

【非特許文献2】Wikberg, J.E.S.、「Melanocortin receptors: new opportunities in drug discovery」、Exp. Opin. Ther. Patents、2000、11(1)、61 - 76

【非特許文献3】Adan R.A.H. 他、Molecular Brain Research、1996、36、37 - 44頁、

【非特許文献4】Mountjoy, K.G.、Mortrud, M.T.、Low, M.J.、Simerly, R.B.およびCone, R.D.、Mol. Endocrinol.、1994、8、1298 - 1308頁

【非特許文献5】Adan R.A.H.、Cone, R.D.、Burbach, J.P.H.およびGispén, W.H.、mol. pharmacol. 1994、46、1182 - 1190頁、

【非特許文献6】「The Melanocortin Receptors」、Cone, R.D. 編集、Human Press Inc.、Totowa, N.J.、2000、Chen, W.、449 - 472頁

【非特許文献7】Bijlsma, W.A. 他、「The Enhanced Recovery of Sensorimotor Function in Rats is Related to the Melanotropic Moiety of ACTH/MSH Neuropeptides」、Eur. J. Pharmacol.、1983、92、231 - 236

【非特許文献8】Van der Neut, R. 他、「Stimulation by Melanocortins of Neurite Outgrowth from Spinal and Sensory Neurons In Vitro」、Peptides、1992、13、1109 - 1115

【非特許文献9】Van Der Zee, C.E.E.M. 他、「-MSH and Org 2766 in Peripheral Nerve Regeneration: Different Route of Delivery」、Eur. J. Pharmacol.、1988、147、351 - 357

【非特許文献10】Strand, F.L. 他、「Melanocortins as Factors in Somatic Neuromuscular Growth and Regrowth」、Pharmac. Ther.、1994、62、1 - 27

【非特許文献11】Huszar, D. 他、「Targeted Disruption

10

20

30

40

50

of the Melanocortin-4 Receptor Results in Mice」、Cell、1997、88、131-141

【非特許文献12】Fan, W. 他、「Role of Melanocortinergic Neurons in Feeding and the Agouti Obesity Syndrome」、Nature、1997、385、165-168

【非特許文献13】Adan, R. A. H. 他、「Differential Effects of Melanocortin Peptides on Neural Melanocortin Receptors」、Molecular Pharmacology、1994、46、1182-1190

【非特許文献14】Thody, A. J. および Shuster、Nature、237、346-347、1972 10

【非特許文献15】Thody, A. J.、Shuster, S.、J. Endocr.、64、503-510、1975

【非特許文献16】Ebling, F. J.、Ebling, E.、Randall, V. および Skinner, J.、J. Endocr. 66、407-412、1975

【非特許文献17】Chen, W.、Kelly, M. A.、Optiz-Araya, X.、Thomas, R. E.、Low, M. J. および Cone, R.、Cell、91、788-798、1997

【非特許文献18】Chhajlani, V.、Muceniece, R.、Wikberg, JES.、Biochem. Biophys. Res. Commun.、195、866-873、1993 20

【非特許文献19】Thiboutot, D.、Sivarajah, Gililand, K.、Cong, Z. および Clawson, G.、J. Invest. Dermatol. 115(4)、614-619、2000

【非特許文献20】Greene, R. S.、Downing, D. T.、Poci, P. E.、Strauss, J. S.、JID 54、240-247、1970

【非特許文献21】Thody, A. J.、Shuster, S.、Physiology, Rev. 69、383-415、1989

【非特許文献22】Ramachandran, J.、Lee, V.、428、339-346、1987 30

【非特許文献23】Richter, W. O.、Schwandt, P.、Neuropeptides 9、59-74、1987

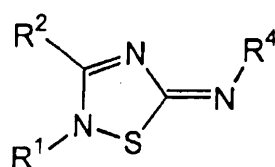
【非特許文献24】Ng, T. B.、Comparative Biochem. 97、441-446、1990。

【0013】

[発明の要約]

本発明は、一般式(II)

【化1】



(II)

【0014】

[式中、

R<sup>1</sup> は、ヘテロアリール、ヘテロアリール-アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル-アルキル、シクロアルキル、シクロアルキル-アルキル、置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択され(R<sup>1</sup> は置換されていないアリールでも置換 50

されていないアラルキルでもない)、ここで、

前記ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

前記アリールまたはアラルキル基はハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されており、

$R^2$  は、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択され( $R^2$  は置換されていないアリールでも置換されていないアラルキルでもない)、ここで、

前記ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

前記アリールまたはアラルキル基はハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されており、

$R^4$  は、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキル - アルキルから成る群から選択され、ここで、前記アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよいが、

但し  $R^1$  が 1 個のハロゲンで置換されているアリールでありかつ  $R^4$  が 1 個のハロゲンで置換されているアリールの場合には  $R^2$  がホルホルニルではないことを条件とする]

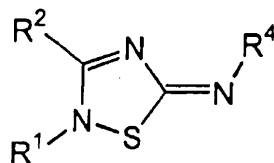
で表される化合物およびこれらの薬学的に受け入れられる塩に向けたものである。

【0015】

本発明は、更に、一般式(II)

【0016】

【化2】



(II)

【0017】

[式中、

$R^1$  は、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択され( $R^1$  は置換されていないアリールでも置換されていないアラルキルでもない)、ここで、

前記ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アル

コキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

前記アリールまたはアラルキル基はハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されており、

$R^2$  は、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択され、ここで、

前記アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

$R^4$  は、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、シクロアルキル - アルキル、置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択され（ $R^4$  は置換されていないアリールでも置換されていないアラルキルでもない）、ここで、

前記ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

前記アリールまたはアラルキル基はハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されているが、

但し  $R^1$  が 1 個のハロゲンで置換されているアリールでありかつ  $R^4$  が 1 個のハロゲンで置換されているアリールの場合には  $R^2$  がモルホリニルではないことを条件とし、

更に、 $R^1$  がメチルフェニルでありかつ  $R^4$  がメトキシフェニルの場合には  $R^2$  がアラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキル、シクロアルキル - アルキルおよび置換アリールから成る群から選択され、ここで、

前記アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルまたはシクロアルキル基が場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

前記アリール基がハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ（アルキル）アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていることも条件とする ]

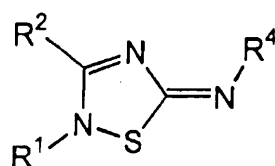
で表される化合物およびこれらの薬学的に受け入れられる塩にも向けたものである。

【 0 0 1 8 】

本発明は、更に、メラノコルチン受容体が介在する障害を治療する方法にも向けたものであり、この方法は、それを必要としている被験体に式（ I I ）

【 0 0 1 9 】

【 化 3 】



(III)

【 0 0 2 0 】

10

20

30

40

50



[ 式中、

R<sup>1</sup> は、アルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルおよびシクロアルキル - アルキルから成る群から選択され、ここで、前記アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

R<sup>2</sup> は、アルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキル - アルキルから成る群から選択され、ここで、前記アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール - アルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル - アルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよく、

R<sup>4</sup> は、水素、アルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキル - アルキルから成る群から選択され、ここで、前記アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルまたはシクロアルキル - アルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよい]

で表される化合物およびこれらの薬学的に受け入れられる塩を治療有効量で投与することを含んで成る。

#### 【0021】

本発明の具体的な組成物は、薬学的に受け入れられる担体 (pharmaceutically acceptable carrier) とこの上に記述した化合物のいずれかを含んで成る薬剤組成物である。本発明の一例は、この上に記述した化合物のいずれかと薬学的に受け入れられる担体を混合することで作られた薬剤組成物である。本発明の具体的な方法は、この上に記述した化合物のいずれかと薬学的に受け入れられる担体を混合

#### 【0022】

本発明の例である方法は、メラノコルチン受容体が介在する障害の治療を必要としている被験体 (subject) におけるそれを治療する方法であり、この方法は、前記被験体にこの上に記述した化合物または薬剤組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含んで成る。

#### 【0023】

本発明の 1 つの態様は、本明細書に記述する化合物のいずれかを代謝障害、CNS 障害および皮膚科学的障害から成る群から選択される障害を治療する目的で用いる態様である。

#### 【0024】

本発明の一例は、肥満症、減退した経口グルコース耐性、高くなった血液グルコース濃度、II 型糖尿病、X 症候群、糖尿病性網膜症、脊髄損傷、神経損傷、急性神経変性障害、慢性神経変性障害、プレキソパシー、男性の勃起機能不全、ドライアイ、アクネ、乾燥皮膚、老化した皮膚、脂漏性皮膚炎、しゅさ、過剰な耳垢、マイボーム腺障害、偽性毛包炎、酵母菌感染、ふけ、ヒラデニチス・スプラチバ、眼のしゅさおよびエクリン腺障害から成る群から選択される障害の治療を必要としている被験体におけるそれを治療する方法であり、この方法は、前記被験体にこの上に記述した化合物または薬剤組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含んで成る。

#### 【0025】

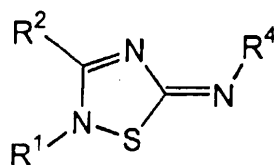
本発明の別の例は、本明細書に記述する化合物のいずれかを (a) 肥満症、(b) 減退した経口グルコース耐性、(c) 高くなった血液グルコース濃度、(d) II 型糖尿病、(e) X 症候群、(f) 糖尿病性網膜症、(g) 急性神経変性障害、(h) 慢性神経変性障害、(i) プレキシパシー、(j) 男性の勃起機能不全、(k) ドライアイ、(l) アクネ、(m) 乾燥皮膚、(n) 老化した皮膚、(o) 脂漏性皮膚炎、(p) しゅさ、(q) 過剰な耳垢、(r) マイボーム腺障害、(s) 偽性毛包炎、(t) 酵母菌感染、(u) ふけ、(v) ヒラデニチス・スプラチバ、(w) 眼のしゅさまたは (x) エクリン腺障害の治療を必要としている被験体におけるそれを治療するための薬剤を製造する時に用いる例である。

(発明の詳細な説明)

本発明は、メラノコルチン受容体が介在する障害の治療で用いるに有用な新規な置換 1, 2, 4 - チアジアゾール誘導体に向けたものである。より詳細には、本発明は、メラノコルチン受容体の作動薬および拮抗薬として用いるに有用な式 (II)

【0026】

【化 4】



(III)

【0027】

[ 式中、 $R^1$ 、 $R^2$  および  $R^4$  は、本明細書で定義する通りである ]  
で表される化合物に向けたものである。

【0028】

本発明は、更に、メラノコルチン受容体が介在する障害、特にメラノコルチン受容体の作動作用または拮抗作用によって治療可能な障害を治療する方法に向けたものである。このメラノコルチン受容体は好適にはメラノコルチン - 3、メラノコルチン - 4 およびメラノコルチン - 5 受容体から成る群から選択され、より好適には、このメラノコルチン受容体はメラノコルチン - 4 またはメラノコルチン - 5 である。

【0029】

本発明の 1 つの態様では、 $R^1$  をアリール、アラルキルおよびヘテロアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール、アラルキルまたはヘテロアリール基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよい。好適には、 $R^1$  をアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール基は場合によりハロゲン、アルキルおよびアルコキシから独立して選択される 1 個以上の置換基で置換されていてもよい。より好適には、 $R^1$  をフェニル、2 - クロロフェニル、4 - クロロフェニル、2 - メチルフェニル、4 - メチルフェニル、2 - メトキシフェニルおよび 4 - メトキシフェニルから成る群から選択する。最も好適には、 $R^1$  は 2 - メトキシフェニルである。

【0030】

本発明の別の態様では、 $R^1$  を置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択し、ここで、前記アリールまたはアラルキルはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される 1 から 2 個の置換基で置換されている。好適には、 $R^1$  を置換アリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール基はハロゲン、アルキルまたはアルコキシから選択される置換基で置換されている。より好適には、 $R^1$  は 2 - メトキシフェニルである。

## 【0031】

本発明の更に別の態様では、 $R^1$ を置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択し、ここで、前記アリールまたはアラルキル基はハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されている。

## 【0032】

本発明の1つの態様では、 $R^2$ をアリール、アラルキルおよびヘテロアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール、アラルキルまたはヘテロアリール基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されていてもよい。好適には、 $R^2$ をアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール基は場合によりアルキルおよびアルコキシから独立して選択される1個以上の置換基で置換されていてもよい。より好適には、 $R^2$ をフェニル、4-メチルフェニル、2-メトキシフェニルおよび4-メトキシフェニルから成る群から選択する。最も好適には、 $R^2$ をフェニルおよび2-メトキシフェニルから成る群から選択する。

## 【0033】

本発明の別の態様では、 $R^2$ を置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択し、ここで、前記アリールまたはアラルキルはハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1から2個の置換基で置換されている。好適には、 $R^2$ を置換アリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール基はアルキルまたはアルコキシから選択される置換基で置換されている。より好適には、 $R^2$ は2-メトキシフェニルである。

## 【0034】

本発明の更に別の態様では、 $R^2$ をアリールおよびアラルキルから成る群から選択し、ここで、前記アリールまたはアラルキル基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されていてもよい。

## 【0035】

本発明の1つの態様では、 $R^4$ をアリール、アラルキルおよびヘテロアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール、アラルキルまたはヘテロアリール基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されていてもよい。好適には、 $R^4$ をアリール、アラルキルおよびヘテロアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリールまたはアラルキル基は場合によりハロゲン、アルキルおよびアルコキシから独立して選択される1個以上の置換基で置換されていてもよい。より好適には、 $R^4$ をフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、4-プロモフェニル、2-メチルフェニル、4-メチルフェニル、2-メトキシフェニル、4-メトキシフェニル、ベンジル、2-クロロベンジル、4-クロロベンジル、2-メチルベンジル、4-メチルベンジル、2-メトキシベンジル、4-メトキシベンジル、2,6-ジフルオロフェニル、3,5-ジフルオロフェニル、2-クロロ-6-メチルフェニルおよび3-ピリジルから成る群から選択する。最も好適には、 $R^4$ をフェニル、2-メチルフェニル、4-メチルフェニル、2-メトキシフェニルおよび4-メトキシフェニルから成る群から選択する。

## 【0036】

本発明の別の態様では、 $R^4$ をアリール、アラルキルまたはヘテロアリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール、アラルキルまたはヘテロアリール基は場合によりハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、トリハロメチル、トリハロメトキシ、アミ

ノ、アルキルアミノ、ジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されていてもよい。好適には、 $R^4$ をアリールおよび置換アリールから成る群から選択し、ここで、前記アリール上の置換基はハロゲン、アルキルまたはアルコキシから独立して選択される1から2個の置換基である。より好適には、 $R^4$ をフェニル、4-メトキシフェニル、2,6-ジフルオロフェニル、2-クロロ-6-メチルフェニルおよび3,5-ジフルオロフェニルから成る群から選択する。

【0037】

本発明の更に別の態様では、 $R^4$ を置換アリールおよび置換アラルキルから成る群から選択し、ここで、前記アリールまたはアラルキル基はハロゲン、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロゲン置換アルキル、ハロゲン置換アルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはジ(アルキル)アミノから独立して選択される1個以上の置換基で置換されている。

10

【0038】

用語「メラノコルチン受容体が介在する障害」を本明細書で用いる場合、特に明記しない限り、この用語に、これらに限定するものでないが、肥満症、減退した経口グルコース耐性、高くなった血液グルコース濃度、II型糖尿病、X症候群、糖尿病性網膜症、急性神経変性障害、慢性神経変性障害、プレキソパシー、男性の勃起機能不全、ドライアイ、アクネ、乾燥皮膚、老化した皮膚、脂漏性皮膚炎、しゅさ、過剰な耳垢、マイボーム腺障害、偽性毛包炎、酵母菌感染、ふけ、ヒラデニチス・スプラチバ、眼のしゅさおよびエクリン腺障害を包含させる。

20

【0039】

用語「代謝障害」を本明細書で用いる場合、特に明記しない限り、この用語に、これらに限定するものでないが、肥満症、減退した経口グルコース耐性、高くなった血液グルコース濃度、II型糖尿病およびX症候群を包含させる。

【0040】

用語「CNS障害」を本明細書で用いる場合、特に明記しない限り、この用語に、これらに限定するものでないが、糖尿病性網膜症、急性神経変性障害、慢性神経変性障害およびプレキソパシーを包含させる。

【0041】

用語「皮膚科学的障害」を本明細書で用いる場合、特に明記しない限り、この用語に、これらに限定するものでないが、ドライアイ、アクネ、乾燥皮膚、老化した皮膚、脂漏性皮膚炎、しゅさ、過剰な耳垢、マイボーム腺障害、偽性毛包炎、酵母菌感染、ふけ、ヒラデニチス・スプラチバ、眼のしゅさおよびエクリン腺障害を包含させる。

30

【0042】

本明細書で用いる如き「急性神経変性障害」には、ニューロン細胞の死亡またはこれが危うくなることに関連したいろいろな種類の急性神経変性障害が含まれ、それには大脳血管不全、病巣性または拡散性脳外傷(focal or diffuse brain trauma)、拡散性脳損傷および脊髄損傷、即ち大脳虚血もしくは梗塞(塞栓性閉塞および血栓性閉塞を包含)、急性虚血後の再灌流、周産期の低酸素虚血性損傷、心拍停止ばかりでなくいずれかの種類の頭蓋内出血(これらに限定するものでないが、硬膜上、硬膜下、クモ膜下および大脳内を包含)、そして頭蓋内および脊椎内損傷(これらに限定するものでないが、打撲、貫入、せん断、圧迫および裂傷を包含)およびむちうち振とう産児症候群(whiplash shaken infant syndrome)が含まれる。

40

【0043】

本発明の方法の範囲内に含まれる本明細書で用いる如き「慢性神経変性障害」には、アルツハイマー病、ピック病、拡散性レービイ体病、進行性核上麻痺(Steel-Richardson症候群)、マルチシステム変性(multi-system degeneration)(Shy-Drager症候群)、神経変性に関連した慢性てんかん状態、運動ニューロン病(これには筋委縮性側索硬化症が含まれる)、変性運動失調、皮質

50

基底変性、グアムのALS - パーキンソン - 痴呆コンプレックス、亜急性硬化性汎脳炎、ハンティングトン病、パーキンソン病、シヌクレイノパシーズ (synucleinopathies) [これにはマルチプルシステムアτροφイー (multiple system atrophy) が含まれる]、原発性進行性失語症、線条体黒質変性、Machado-Joseph病 / 旧小脳運動失調タイプ3およびオリブ橋小脳変性、Gilles De La Tourette病、延髄および疑延髄麻痺、脊髄および脊髄延髄筋萎縮 (Kennedy病)、原発性側索硬化症、家族性痙性対麻痺、Werdnig-Hoffmann病、Kugelberg-Welander病、Tay-Sachs病、Sandhoff病、家族性痙性病、Wohlfart-Kugelberg-Welander病、痙性不全対麻痺、進行性多病巣性白質脳症、家族性自律神経障害 (Riley-Day症候群) およびプリオン病 (prion diseases) [これらに限定するものでないが、Creutzfeldt-Jakob、Gerstmann-Straussler-Scheinker病、Kuruおよび宿命的家族性不眠病 (fatal familial insomnia) が含まれる] が含まれる。

#### 【0044】

本明細書で用いる如き「プレキソパシー (plexopathies)」には、プレキサス麻痺 (plexus palsies)、多病巣性神経障害、感覚神経障害、運動神経障害、感覚 - 運動神経障害、感染神経障害、自律神経障害、感覚 - 自律神経障害、脱髄神経障害 [これには、これらに限定するものでないが、Guillain-Barre症候群および慢性炎症性脱髄多発神経障害が含まれる]、他の炎症性および免疫神経障害、薬剤によって誘発された神経障害、薬理学的治療によって誘発された神経障害、トキシンによって誘発された神経障害、外傷神経障害 (これには、これらに限定するものでないが、圧迫、挫傷、裂傷および断片化神経障害が含まれる)、代謝神経障害、内分泌神経障害およびパラネオプラスティック (paraneoplastic) 神経障害、そして他の神経障害、例えばCharcot-Marie-Tooth病 (タイプ1a、1b、2、4a、1-X関連)、フリートライヒ運動失調、異染性白質萎縮症、Refsum病、副腎脊髄神経症状、運動失調 - 毛細血管拡張症、Dejerine-Sottas神経障害 (タイプAおよびB)、Lambert-Eaton症候群および頭蓋神経障害などが含まれる。

#### 【0045】

特に明記しない限り、本明細書で用いる如き用語「ハロゲン」はヨウ素、臭素、塩素およびフッ素を包含する。

#### 【0046】

本明細書で用いる如き用語「アルキル」は、これを単独で用いるか或は置換基の一部として用いるかに拘らずか、炭素原子を1から8個含有する直鎖および分枝鎖を包含する。例えば、アルキル基にはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、s-ブチル、t-ブチル、ペンチルなどが含まれる。特に明記しない限り、アルキルに関して「低級」を用いる場合、これは炭素原子数が1から4の炭素鎖組成を意味する。

#### 【0047】

用語「アルケニル」は、これを単独で用いるか或は置換基の一部として用いるかに拘わらず、炭素原子を2から8個含有する直鎖および分枝アルケン鎖を包含する。適切な例にはビニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-イソブテ-2-エニルなどが含まれる。同様に、用語「アルキニル」は、これを単独で用いるか或は置換基の一部として用いるかに拘わらず、炭素原子を2から8個含有する直鎖および分枝アルキン鎖を包含する。適切な例には2-プロピニル、2-ブチニル、1-ブチニル、1-ペンチニルなどが含まれる。

#### 【0048】

本明細書で用いる如き「アルコキシ」は、特に明記しない限り、上述した直鎖もしくは分枝鎖アルキル基の酸素エーテル基を表す。例えばメトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、s-ブトキシ、t-ブトキシ、n-ヘキシルオキシなど。

## 【 0 0 4 9 】

本明細書で用いる如き用語「シクロアルキル」は、特に明記しない限り、環炭素を3から8個、好適には炭素を5から7個含有する単環状飽和環構造を表す。適切な例にはシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルが含まれる。

## 【 0 0 5 0 】

本明細書で用いる如き「アリール」は、炭素環状芳香環構造、例えばフェニル、ナフチルなどを示す。

## 【 0 0 5 1 】

本明細書で用いる如き「アラルキル」は、特に明記しない限り、アリール基で置換されている低級アルキル基のいずれかを意味する。例えばベンジル、フェニルエチル、フェニルプロピル、ナフチルメチルなど。

## 【 0 0 5 2 】

本明細書で用いる如き「ヘテロアリール」は、特に明記しない限り、O、NおよびSから成る群から選択されるヘテロ原子を少なくとも1個含有しかつ場合によりO、NおよびSから成る群から独立して選択される追加的ヘテロ原子を1から3個含有していてもよい5員もしくは6員の単環状芳香環構造、またはO、NおよびSから成る群から選択されるヘテロ原子を少なくとも1個含有しかつ場合によりO、NおよびSから成る群から独立して選択される追加的ヘテロ原子を1から4個含有していてもよい9員もしくは10員の二環状芳香環構造のいずれかを表す。このヘテロアリール基は結果として生じる構造が安定な構造であるように環の炭素原子のいずれの所で結合していてもよい。

## 【 0 0 5 3 】

適切なヘテロアリール基の例には、これらに限定するものでないが、ピロリル、フリル、チエニル、オキサゾリル、イミダゾリル、ブラゾリル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピラニル、フラザニル、インドリジニル、インドリル、イソインドリニル、インダゾリル、イソキサゾリル、ベンゾフリル、ベンゾチエニル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、プリニル、キノリジニル、キノリニル、イソキノリニル、イソチアゾリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、ナフチリジニル、プテリジニルなどが含まれる。好適なヘテロアリール基にはピリジル、チエニルおよびイミダゾリルが含まれる。

## 【 0 0 5 4 】

本明細書で用いる如き用語「ヘテロシクロアルキル」は、O、NおよびSから成る群から選択されるヘテロ原子を少なくとも1個含有しかつ場合によりO、NおよびSから成る群から独立して選択される追加的ヘテロ原子を1から3個含有していてもよい5員から7員の単環状飽和、部分不飽和または部分芳香環構造、またはO、NおよびSから成る群から選択されるヘテロ原子を少なくとも1個含有しかつ場合によりO、NおよびSから成る群から独立して選択される追加的ヘテロ原子を1から4個含有していてもよい9員から10員の飽和、部分不飽和または部分芳香二環状環系のいずれかを表す。このヘテロシクロアルキル基は結果として生じる構造が安定な構造であるように環の炭素原子のいずれの所で結合していてもよい。

## 【 0 0 5 5 】

適切なヘテロシクロアルキル基の例には、これらに限定するものでないが、ピロリニル、ピロリジニル、ジオキサラニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、ピペリジニル、ジオキサニル、モルホリニル、ジチアニル、チオモルホリニル、ピペラジニル、トリチアニル、インドリニル、クロメニル、3, 4 - メチレンジオキシフェニル、2, 3 - ジヒドロベンゾフリルなどが含まれる。

## 【 0 0 5 6 】

本明細書で用いる如き記号「\*」は立体幾何中心 ( s t e r e o g e n i c   c e n t e r ) の存在を表す。

## 【 0 0 5 7 】

本発明に従う化合物がキラル中心を少なくとも1つ有する場合、それらはそれに応じてエナンチオマーとして存在し得る。本化合物がキラル中心を2つ以上有する場合、それらは追加的にジアステレオマーとして存在し得る。そのような異性体およびこれらの混合物の全部を本発明の範囲内に包含させると理解されるべきである。その上、本化合物の結晶形態の数種は同質異像として存在する可能性があり、このように、それらも本発明に包含させることを意図する。加うるに、本化合物の数種は水と一緒に溶媒和物（即ち水化物）または通常の有機溶媒と一緒に溶媒和物を形成する可能性があり、そのような溶媒和物もまた本発明の範囲内に包含させることを意図する。

## 【 0 0 5 8 】

個々の基（例えばシクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル）が「置換されている」場合、そのような基は置換基のリストから独立して選択される置換基を1つ以上、好適には置換基を1から5個、より好適には置換基を1から3個、最も好適には置換基を1から2個持っていてよい。

## 【 0 0 5 9 】

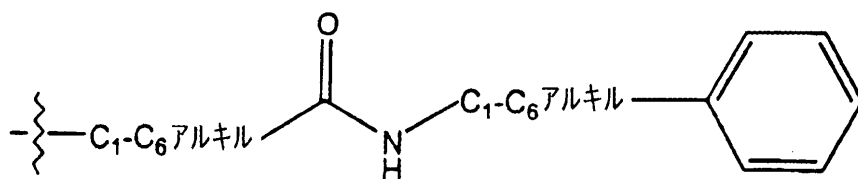
ある分子中の個々の位置の所の如何なる置換基の定義も変数の定義もその分子中の他の場所の定義から独立していることを意図する。本分野の通常の技術者は本技術分野で公知の技術ばかりでなく本明細書に挙げた方法を用いて化学的に安定で容易に合成可能な化合物が得られるように本発明の化合物の置換基および置換様式を選択することができると理解する。

## 【 0 0 6 0 】

本開示の全体に渡って用いる標準的命名法の下では、表示する側鎖の末端部分を最初に記述し、その後、それに隣接する官能性を結合点に向かって記述する。従って、例えば「フェニル  $C_1 - C_6$  アルキル アミノカルボニル  $C_1 - C_6$  アルキル」置換基は、式

## 【 0 0 6 1 】

## 【 化 5 】



## 【 0 0 6 2 】

で表される基を指す。

## 【 0 0 6 3 】

本明細書で用いる如き用語「被験体」は、治療、観察または実験の対象であるか或は対象であった動物、好適には哺乳動物、最も好適には人を指す。

## 【 0 0 6 4 】

本明細書で用いる如き用語「組成物」は、これに、指定材料を指定量で含んで成る製品ばかりでなく指定材料を指定量で組み合わせる結果として直接または間接的にもたらされる如何なる生成物も包含させることを意図する。

## 【 0 0 6 5 】

本明細書で用いる如き用語「治療有効量」は、研究者、獣医、医者または他の臨床医が探求している活性化化合物または薬剤が組織系、動物または人に生物学的もしくは医薬的反応（治療を受けさせる病気または障害の症状の軽減を包含）を引き出す量を意味する。

## 【 0 0 6 6 】

本発明の化合物の塩を薬剤で用いる場合、これは無毒の「薬学的に受け入れられる塩」を指す。しかしながら、本発明に従う化合物またはこれらの薬学的に受け入れられる塩を調製する時に他の塩を用いることも有効である。本発明の化合物の適切な薬学的に受け入れられる塩には酸付加塩が含まれ、これらは、例えば本化合物の溶液を薬学的に受け入れ

10

20

30

40

50

られる酸、例えば塩酸、硫酸、フマル酸、マレイン酸、こはく酸、酢酸、安息香酸、クエン酸、酒石酸、炭酸または燐酸などの溶液と一緒に混合することで調製可能である。

【 0 0 6 7 】

本発明は、本発明の化合物のプロドラッグ ( p r o d r u g s ) を本発明の範囲内に包含する。そのようなプロドラッグは、一般に、インビボで必要な化合物に容易に変化し得る本化合物の機能的誘導体である。このように、本発明の治療方法では、用語「投与する」に、具体的に開示した化合物を用いるか或は具体的には開示することができなかったが患者に投与した後にインビボで指定化合物に変化する化合物を用いて記述したいろいろな障害を治療することを包含させる。適切なプロドラッグ誘導体を選択および調製する通常の手順は、例えば H . B u n d g a a r d 、 E l s e v i e r 編集の「 D e s i g n o f P r o d r u g s 」 ( 1 9 8 5 ) などに記述されている。

10

【 0 0 6 8 】

本明細書、特にスキームおよび実施例で用いる省略形は下記の通りである：

B H T = 2 , 6 - ビス - ( t - ブチル ) - 4 - メチル - フェノール

B S A = ウシ血清アルブミン

c A M P または環状 A M P = 環状アデノシンモノホスフェート

D C E = 1 , 2 - ジクロロエタン

D E A D = アゾジカルボン酸ジエチル

D M = 分化用媒体

D M F = ジメチルホルムアミド

20

D M E M = D u l b e c c o s 最少必須培地

D M S O = ジメチルスルホキシド

D P B S = D u l b e c c o s 燐酸塩緩衝食塩水

E D T A = エチレンジアミンテトラ酢酸

F B S = ウシ胎児血清

G D P = グアノシンジホスフェート

G T P = グアノシントリホスフェート

G M = 増殖用培地

H B S S = H a n k の緩衝塩溶液

H E P E S = 4 - ( 2 - ヒドロキシエチル ) - 1 - ピペリジンエタンスルホン酸

30

H S = ヒト血清

I g G = 免疫グロブリン G

% I n h = 抑制パーセント

M E M = 最少必須培地

N B S = N - プロモスクシニミド

N C S = N - クロロスクシニミド

N D P M S H = M S H の類似物である [ N I e <sup>4</sup> , D - P h e <sup>7</sup> ] M S H

P B S = 燐酸塩緩衝食塩水

P E G = ポリエチレングリコール

P N C = ペニシリン

40

r t または R T = 室温

S P A = シンチレーションプロキシミティーアッセイ ( S c i n t i l l a t i o n P r o x i m i t y A s s a y )

S T M = ストレプトマイシン

T L C = 薄層クロマトグラフィー

T M = 転移用培地

T M S = トリメチルシリル

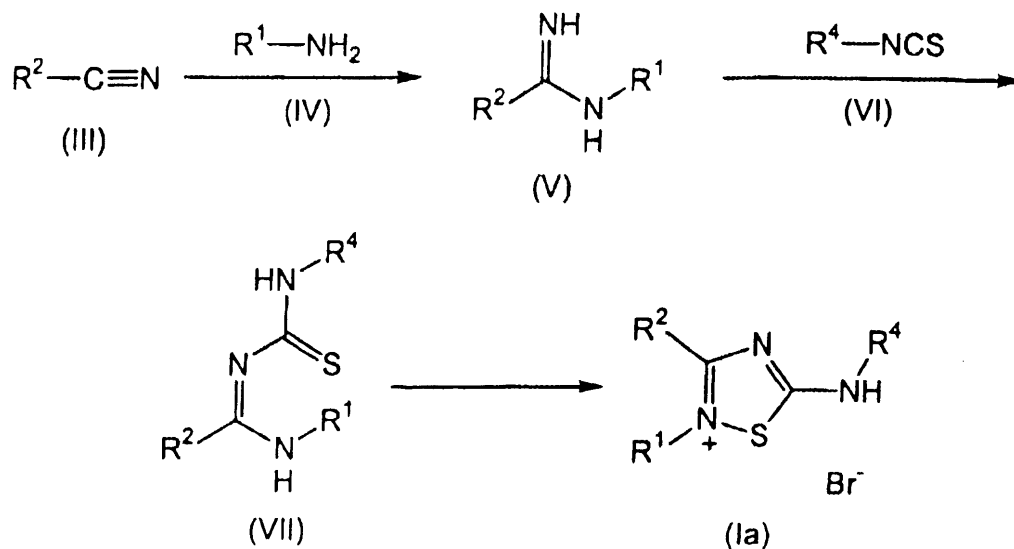
R <sup>3</sup> が水素である式 ( I ) で表される化合物の調製はスキーム 1 に概略を示す方法に従って実施可能である。

【 0 0 6 9 】

50



【化 6】



スキーム1

【 0 0 7 0 】

より詳細には、公知化合物または公知方法で調製可能な化合物である式(III)で表される適切に置換されているシアノ化合物と公知化合物または公知方法で調製可能な化合物である式(IV)で表される適切に置換されている第一級アミンを塩基、例えばNaNH<sub>2</sub>、NaH、NaN(TMS)<sub>2</sub>など、好適にはNaNH<sub>2</sub>の存在下で高温、好適にはほぼ還流温度で反応させることで、相当する式(V)で表される化合物を生じさせる。

【 0 0 7 1 】

式(V)で表される化合物と公知化合物または公知方法で調製可能な化合物である式(VI)で表される適切に置換されているチオシアネートをDCEの存在下で高温、好適には約45℃で反応させることで、相当する式(VII)で表される化合物を生じさせる。

【 0 0 7 2 】

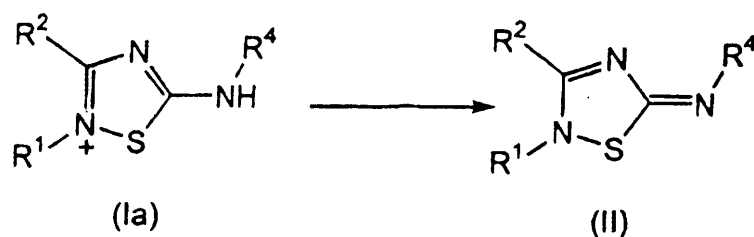
式(VII)で表される化合物に閉環/酸化をBr<sub>2</sub>の存在下、室温で受けさせることで、相当する式(Ia)で表される化合物を生じさせる。

【 0 0 7 3 】

式(II)で表される化合物の調製は、スキーム2に概略を示す方法に従い、R<sup>3</sup>が水素である式(I)で表される適切に置換されている化合物を用いて実施可能である。

【 0 0 7 4 】

【化 7】



スキーム2

【 0 0 7 5 】

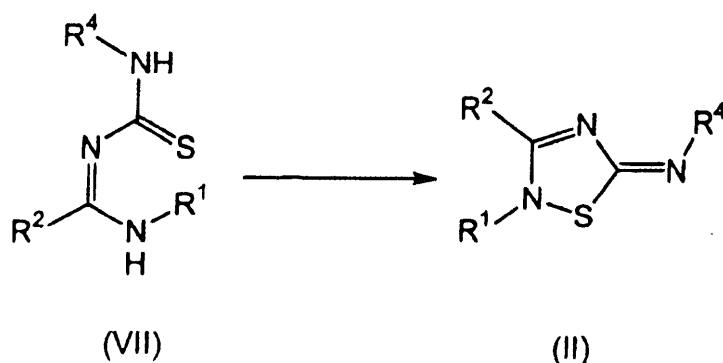
より詳細には、式 ( I a ) で表される適切に置換されている化合物に塩基、例えば  $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaOH}$  など、好適には  $\text{NaHCO}_3$  による処理を室温で受けさせることで、相当する式 ( I I ) で表される化合物を生じさせる。

【 0 0 7 6 】

式 ( I I ) で表される化合物の調製は、また、スキーム 3 に概略を示す方法に従い、式 ( V I I ) で表される適切に置換されている化合物を用いることでも実施可能である。

【 0 0 7 7 】

【 化 8 】



スキーム3

10

【 0 0 7 8 】

より詳細には、式 ( V I I ) で表される適切に置換されている化合物と酸化剤、例えば NBS、NCS、DEAD など、好適には NBS を室温で反応させることで、相当する式 ( I I ) で表される化合物を生じさせる。好適には、式 ( I I ) で表される化合物に抽出を塩基水溶液、例えば NaHCO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaOH などの水溶液を用いて受けさせる。

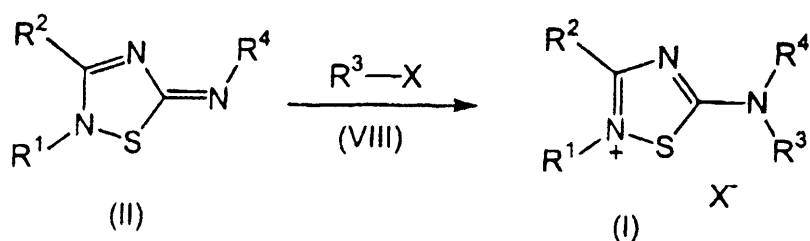
20

【 0 0 7 9 】

R<sup>3</sup> がアルキルである式 ( I ) で表される化合物の調製は、スキーム 4 に概略を示す方法に従い、式 ( I I ) で表される適切に置換されている化合物を用いて実施可能である。

【 0 0 8 0 】

【 化 9 】



スキーム4

30

【 0 0 8 1 】

従って、式 ( I I ) で表される適切に置換されている化合物と公知化合物または公知方法で調製可能な化合物である式 ( V I I I ) [ 式中、X<sup>-</sup> はトリフルオロメチルスルホネート、Br<sup>-</sup> および I<sup>-</sup> である ] で表される適切に置換されている化合物を室温で反応させることで、相当する式 ( I ) で表される化合物を生じさせる。

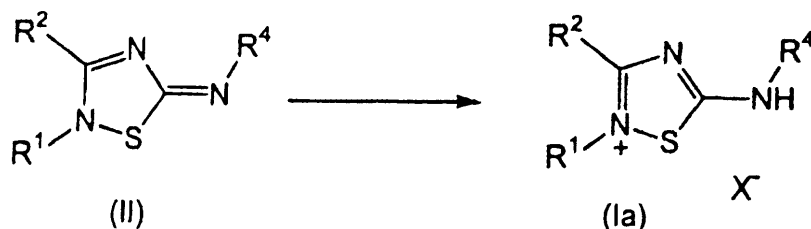
40

【 0 0 8 2 】

R<sup>3</sup> が水素である式 ( I ) で表される化合物の調製は、スキーム 5 に概略を示す方法に従い、式 ( I I ) で表される適切に置換されている化合物を用いて実施可能である。

【 0 0 8 3 】

## 【化 10】



スキーム5

10

## 【0084】

従って、式 (II) で表される適切に置換されている化合物と薬学的に受け入れられる酸、例えば HCl、HBr、HNO<sub>3</sub> など、好適には HCl を室温で反応させることで、X<sup>-</sup> が Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup> などである相当する式 (Ia) で表される化合物を生じさせる。

## 【0085】

本発明に従う化合物を生じさせる過程で立体異性体の混合物がもたらされる場合には、通常の技術、例えば調製用クロマトグラフィーなどを用いてそのような異性体を分離することができる。このような化合物はラセミ形態で調製可能であるか、或は鏡像特異的 (enantiomeric) 合成または分割のいずれかを用いて個々の鏡像異性体を生じさせることも可能である。標準的技術、例えば光活性酸、例えば (-)-ジ-p-トルオイル-d-酒石酸および/または (+)-ジ-p-トルオイル-l-酒石酸などを用いて塩を生じさせた後に分別結晶化を行いそして遊離塩基を再生させてジアステレオマー対を生じさせることなどで、前記化合物を例えばそれらの成分である鏡像異性体に分割してもよい。また、ジアステレオマーであるエステルまたはアミドを生じさせた後にクロマトグラフィーによる分離を行いそしてキラル補助剤 (chiral auxiliary) を除去することで前記化合物の分割を行うことも可能である。別法として、キラル HPLC カラムを用いて前記化合物の分割を行うことも可能である。

20

## 【0086】

本発明の化合物を生じさせる過程のいずれかを行っている間に、関係する分子のいずれかが有する敏感または反応性基を保護する必要がありそして/またはその方が望ましい可能性がある。これは通常の保護基、例えば J. F. W. McOmie 編集「Protective Groups in Organic Chemistry」、Plenum Press、1973、そして T. W. Greene および P. G. M. Wuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1991 に記述されている如き保護基を用いて達成可能である。このような保護基は本技術分野で公知の方法を用いて後の便利な段階で除去可能である。

30

## 【0087】

本発明の化合物をメラノコルチン受容体が介在する障害の治療で用いる時の有用性は本明細書の実施例 4-11 に記述する手順に従って測定可能である。従って、本発明はそのような障害を治療する方法を提供し、この方法は、本明細書で定義する如き化合物のいずれかを前記障害の治療に有効な量 (即ち治療有効量) で投与することを含んで成る。本化合物を前記障害にかかっている患者に投与する時、通常の如何なる投与経路も使用可能であり、それには、これらに限定するものでないが、静脈内、経口、皮下、筋肉内、皮内、非経口および経皮が含まれる。

40

## 【0088】

本発明は、また、本発明の 1 種以上の化合物を薬学的に受け入れられる担体と一緒に含んで成る薬剤組成物も提供する。

50

## 【0089】

本発明の薬剤組成物を調製する時、式(I)および/または(II)で表される1種以上の化合物またはこれの塩(活性材料)を薬学的担体(pharmaceutical carrier)と一緒に通常の薬剤配合技術に従って密に混合するが、そのような担体は投与、例えば経口または非経口、例えば筋肉内投与などで望まれる調剤の形態に応じて幅広く態様な形態を取り得る。本組成物を経口投薬形態で調製する時、通常の薬学的媒体のいずれも使用可能である。このように、液状の経口用調剤、例えば懸濁液、エリキシルおよび溶液などの場合の適切な担体および添加剤には、水、グリコール、油、アルコール、風味剤、防腐剤、着色剤などが含まれ、固体状の経口用調剤、例えば粉末、カプセル、カプレット、ゲルカップおよび錠剤などの場合に適切な担体および添加剤には、澱粉、糖、希釈剤、顆粒剤、滑剤、結合剤、崩壊剤などが含まれる。投与が容易なことが理由で錠剤およびカプセルが最も有利な経口投薬単位形態に相当し、この場合には明らかに固体状の薬学的担体を用いる。望まれるならば、錠剤に糖被覆または腸被覆を標準的な技術で受けさせてもよい。非経口投与の場合の担体は一般に無菌水を含んで成るが、他の材料、例えば溶解性を補助するか或は防腐の目的などで他の材料を含有させることも可能である。また、注射可能懸濁液を調製することも可能であり、この場合には適切な液状担体、懸濁剤などを用いてもよい。

10

## 【0090】

本発明の範囲内に含まれる局所的調剤には、これらに限定するものでないが、クリーム、ローション、マルチプルエマルジョン(multiple emulsions)、ミクロエマルジョン、リポソームのクリームまたはゲル、ゲル、溶液、懸濁液、軟膏、発泡するエアロゾル、硬質もしくは軟質ゼラチン製カプセル、マスク、スティック、ロールオン(roll-ons)、粉末、スプレー形態などが含まれる。このような局所的調剤に、本活性材料1種または2種以上に加えて、活性剤ではない成分の1種以上を含有させてもよく、そのような成分には、これらに限定するものでないが、キレート剤、緩衝剤、着色剤、防腐剤、香料、乳化剤、界面活性剤、不透明化剤、皮膚軟化薬、溶媒、サンスクリーン、粘度修飾剤、抗酸化剤、湿潤剤(moisturizers)、浸透性強化剤(permeation enhancers)、膜形成剤などが含まれる。

20

## 【0091】

本発明の範囲内に含まれるアクネ治療用局所的調剤に、また、下記の成分[コメド溶解(comedolytic)/角質溶解剤、抗菌剤およびステロイド系もしくは非ステロイド系抗炎症剤を包含]の1種以上を含有させることも可能である[コメド溶解剤はコメドを崩壊させ得る化合物のいずれかを指す。角質溶解剤はケラチノサイトを崩壊させる結果として表皮の脱皮をもたらし得る化合物のいずれかを指す]。適切なコメド溶解/角質溶解剤には、これらに限定するものでないが、レチノイド類、サリチル酸、グリコール酸、セチルベタインなどが含まれる。適切な抗菌剤には、これらに限定するものでないが、ベンゾイルパーオキサイド、エリスロマイシン、テトラシクリン、クリンダマイシン、アゼライン酸などが含まれる。局所的調剤の活性材料含有量を典型的には0.01-1%にする。

30

## 【0092】

本明細書に示す薬剤組成物では、投薬単位、例えば錠剤、カプセル、粉末、注射、茶サジ1杯など当たりの活性材料含有量を、それをこの上に記述した如き有効量で搬送するに必要な量にする。本明細書に示す非局所的薬剤組成物では、単位投薬単位、例えば錠剤、カプセル、粉末、注射、座薬、茶サジ1杯など当たりの含有量を約0.03mgから100mg/kg(好適には0.1-30mg/kg)にして、それを約0.1-300mg/kg/日(好適には1-50mg/kg/日)の投薬量で投与してもよい。しかしながら、このような投薬量は当該患者の要求、治療すべき状態のひどさおよび用いる化合物に応じて変わり得る。毎日の投与またはポストペリオディックドーシング(post-periodic dosing)のいずれの使用も利用可能である。

40

## 【0093】

50

本組成物を好適には経口、非経口、鼻孔内、舌下もしくは腸投与、または吸入またはガス注入手段による投与に適した単位投薬形態、例えば錠剤、ピル、カプセル、粉末、顆粒、非経口用無菌溶液もしくは懸濁液、計量されたエアロゾルもしくは液体スプレー、ドロップ、アンプル、オートインジェクター装置 (autoinjector devices) または座薬などの形態にする。別法として、本組成物を週に1回または月に1回の投与に適した形態で提供することも可能であり、例えば、筋肉内注射に適したデポット調剤 (depot preparation) を提供する時には本活性化合物の不溶塩、例えばデカン酸塩などが適合し得る。固体状の組成物、例えば錠剤などを調製する場合には、主要な活性材料を薬学的担体、例えば通常の錠剤用材料、例えばコーンスターチ、ラクトース、スクロース、ソルビトール、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、  
10 燐酸ジカルシウムまたはゴムなど、および他の薬学的希釈剤、例えば水などと一緒に混合することで、本発明の化合物またはこれの薬学的に受け入れられる塩の均一な混合物を含有する固体状の予備調合組成物 (preformulation compositions) を生じさせる。そのような予備調合組成物が均一であると述べる場合、これは、前記組成物を等しく有効な投薬形態、例えば錠剤、ピルおよびカプセルなどに容易に細分することができるように活性材料が前記組成物の全体に渡ってむらなく分散していることを意味する。次に、この固体状の予備調合組成物を細分して本発明の活性材料の含有量が0.1から約500mgの前記種類の単位投薬形態にする。本新規組成物の錠剤またはピルに被覆を受けさせるか或は他の様式で配合することで作用が長期であると言った利点を示す投薬形態を生じさせることができる。例えば、錠剤またはピルが内部の投薬成分と外側の投薬成分を含んで成るようにしてもよく、後者が前者を封じ込めている形態にする。この2つの成分を腸層 (enteric layer) [これは胃の中で起こる崩壊に抵抗しかつ前記内部の成分が無傷のまま通過して十二指腸の中に入ることを可能にする働きするか或は放出を遅らせる働きをする] で分離してもよい。そのような腸層または被膜としていろいろな材料を用いることができ、そのような材料にはいろいろな高分子量酸が含まれ、そのような材料はシェラック (shellac)、セチルアルコールおよび酢酸セルロースの如き材料である。

#### 【0094】

経口または注射による投与の目的で本発明の新規な組成物を取り込ませることができる液状形態には、水溶液、適切な風味のシロップ、水性もしくは油懸濁液および風味を付けた乳液 (食用油、例えば綿実油、ゴマ油、ヤシ油または落花生油などばかりでなくエリキシルおよび同様な薬学的媒体を用いた) が含まれる。水性懸濁液で用いるに適した分散もしくは懸濁剤には、合成および天然ゴム、例えばトラガカント、アカシア、アルギネート、デキストラン、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドンまたはゼラチンなどが含まれる。

#### 【0095】

本発明に記述するメラノコルチン受容体が介在する障害を治療する方法の実施で、また、本明細書で定義した如き化合物のいずれかと薬学的に受け入れられる担体を含んで成る薬剤組成物を用いることも可能である。非局所的薬剤組成物の本化合物含有量を約0.01mgから100mg、好適には約5から50mgの範囲にしてもよく、そしてこれを選択した投与様式に適した如何なる形態に構築してもよい。担体には、必要かつ不活性な薬学的賦形剤 (pharmaceutical excipients) が含まれ、これには、これらに限定するものでないが、結合剤、懸濁剤、滑剤、風味剤、甘味剤、防腐剤、染料およびコーティングが含まれる。経口投与に適した組成物には、固体形態、例えばピル、錠剤、カプレット、カプセル [各々に瞬時放出、好機放出および徐放調剤が含まれる]、顆粒および粉末など、そして液状形態、例えば溶液、シロップ、エリキシル、乳液および懸濁液などが含まれる。非経口投与で用いるに有用な形態には無菌の溶液、乳液および懸濁液が含まれる。

#### 【0096】

本発明の化合物は有利に1日1回の投与で投与可能であるか、或は1日当たりの投薬量

10

20

30

40

50

全体を1日当たり2回、3回または4回に分割した用量で投与することも可能である。更に、本発明の化合物を適切な鼻内媒体を局所的に用いることによる鼻内形態で投与するか或は本分野の通常の技術者に良く知られた経皮皮膚パッチを用いて投与することも可能である。投与を経皮搬送系の形態で行う時には、勿論、そのような投与は断続的ではなくむしろ投薬管理全体に渡って連続的であろう。

#### 【0097】

例えば錠剤またはカプセル形態の経口投与の場合には、本活性薬剤成分を無毒で薬学的に受け入れられる不活性な経口用担体、例えばエタノール、グリセロール、水などと一緒にしてもよい。その上、望まれるか或は必要な場合には、また、適切な結合剤、滑剤、崩壊剤および着色剤をそのような混合物に添加することも可能である。適切な結合剤には、これらに限定するものでないが、澱粉、ゼラチン、天然糖、例えばグルコースまたはベータ-ラクトースなど、コーン甘味剤、天然および合成ゴム、例えばアカシア、トラガカントなど、またはオレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどが含まれる。崩壊剤には、これらに限定するものでないが、澱粉、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサンタンゴムなどが含まれる。

10

#### 【0098】

そのような液体は適切な風味の懸濁もしくは分散剤、例えば合成および天然ゴム、例えばトラガカント、アカシア、メチル-セルロースなどに入っている形態である。非経口投与の場合には無菌の懸濁液および溶液が望まれる。静脈内投与が望まれる場合には一般に適切な防腐剤が入っている等浸透圧性調剤を用いる。

20

#### 【0099】

また、本発明の化合物をリボソーム搬送系、例えば小型の単層ベシクル、大型の単層ベシクルおよび多層ベシクルなどの形態で投与することも可能である。いろいろな燐脂質、例えばコレステロール、ステアリルアミンまたはホスファチジルコリンなどを用いてリボソームを生じさせることができる。

#### 【0100】

また、本化合物の分子を結合させたモノクローナル抗体を個々の担体として用いて本発明の化合物を搬送することも可能である。また、本発明の化合物を標的可能薬剤担体としての可溶重合体と結合させおくことも可能である。そのような重合体には、ポリビニルピロリドン、ピラン共重合体、ポリヒドロキシプロピルメタアクリルアミドフェノール、ポリヒドロキシ-エチルアスパルトアミドフェノール、またはパルミトイル残基で置換されているポリエチレンオキサイドポリリジンが含まれ得る。更に、本発明の化合物を薬剤の徐放の達成で用いるに有用な種類の生分解性重合体、例えばポリ乳酸、ポリイブシロンカプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアノアクリレート、そしてヒドロゲルの架橋もしくは両親媒性ブロック共重合体などと結合させておくことも可能である。

30

#### 【0101】

本発明の化合物は前記組成物のいずれかの形態でメラノコルチン受容体が介在する障害の治療が必要とされている時にはいつでも本技術分野で確立された投薬管理に従って投与可能である。

40

#### 【0102】

本製品の1日当たりの投薬量は成人1人当たり0.01から1,000mg/日に及んで幅広い範囲に渡って多様であり得る。経口投与の場合には、本組成物を、好適には、治療を受けさせるべき患者の症状で投薬量を調整して、本活性材料を0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100、150、200、250および500ミリグラム含有する錠剤の形態で提供する。通常は、有効量の本薬剤を体重1kg当たり約0.01mg/日から体重1kg当たり約100mg/日の投薬レベルで供給する。この範囲は好適には体重1kg当たり約0.03mg/日から体重1kg当たり約10mg/日である。本化合物を1日当たり1から

50

4回の管理で投与してもよい。

【0103】

本分野の技術者は投与すべき最適な投薬量を容易に決定することができ、これは使用する個々の化合物、投薬様式、調剤の濃度、投与様式および病気の状態の進行に伴って変わるであろう。加うるに、治療を受けさせる個々の患者に関連した要因の結果として投薬量を調整する必要もあり、そのような要因には、患者の年齢、体重、食事および投与時期が含まれる。

【0104】

以下に示す実施例は本発明の理解の補助で挙げるものであり、決して本明細書に示す請求の範囲に挙げる発明を限定することを意図するものでなく、そのように解釈されるべきでない。

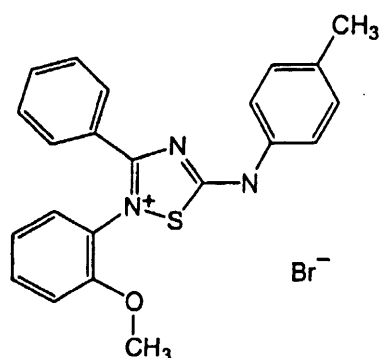
【実施例1】

【0105】

2 - (2 - メトキシフェニル) - 3 - フェニル - 5 - p - トリルアミノ - [1, 2, 4] チアジアゾール - 2 - イウム 化合物 # 31

【0106】

【化11】



【0107】

段階A：

o - アニシジン (15.0 g、121.8ミリモル) とナトリウムアミド (トルエン中50重量%の懸濁液) (11.40 g、146.2ミリモル) を無水トルエン (200 ml) に入れることで生じさせた混合物を室温で1時間攪拌した。この混合物にベンゾニトリル (9.86 ml、96.6ミリモル) を加えた後、還流下に16時間加熱した。この反応混合物を冷却した後、反応を停止させる目的で1.0 NのHCl (150 ml) を添加した。活性炭を添加した後、反応混合物をセライトの詰め物に通して濾過した。1.0 NのNaOH (200 ml) を添加して前記混合物のpHを約14に調整した。その水層をクロロホルム (3 x 150 ml) で抽出した。その有機層を一緒にして無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させた後、蒸発させた。その結果として生じた固体をヘキサンで洗浄した後、真空下で乾燥させることで、生成物を淡白色固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz、CDCl<sub>3</sub>) T M 3.83 (s、3H)、4.79 (s、2H)、6.96 (m、3H)、7.04 (m、1H)、7.43 (m、3H)、7.93 (d、2H)

MS (APCI、MH<sup>+</sup>) 227

段階B：

段階Aと同様にして調製したN - アリールベンズアミジン (3.0 g、13.27ミリモル) と4 - トリルイソチオシアネート (2.18 g、14.60) を無水クロロホルム (30 ml) に入れることで生じさせた混合物を還流下に16時間加熱した。この反応混合物を冷却した後、溶媒を蒸発させた。その結果として得た残留物をジクロロメタン中25%のヘキサンを可動相として用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製した。その画分を一緒にして蒸発させ、その結果として生じた固体を真空下で乾燥させることで

、生成物を黄色固体として得た。

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $T^M$  2.36 (s, 3H)、3.66 (s, 3H)、6.76 (m, 1H)、6.97 (t, 1H)、7.17 - 7.39 (m, 7H)、7.47 (d, 2H)、7.60 (d, 2H)、8.20 (s, 1H)、14.18 (s, 1H)

MS (ES,  $\text{MH}^+$ ) 376.29

段階C：

段階Bと同様にして調製したチオ尿素(2.90 g、7.73ミリモル)を無水クロロホルム(15 ml)に入れることで生じさせた溶液に臭素(438  $\mu\text{l}$ 、8.51ミリモル)をゆっくり添加した。攪拌を16時間行った後、溶媒を蒸発させた。その結果として生じた固体を無水エチルエーテルで洗浄した。その粗生成物をエタノール中20%の水から再結晶化させることで、生成物を黄色固体として得た。

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $T^M$  2.39 (s, 3H)、3.66 (s, 3H)、6.96 (d, 1H)、7.06 (t, 1H)、7.20 - 8.07 (m, 7H)、7.61 (d, 2H)、7.80 (d, 2H)、12.40 (s, 1H)

MS (ES,  $\text{MH}^+$ ) 374.25

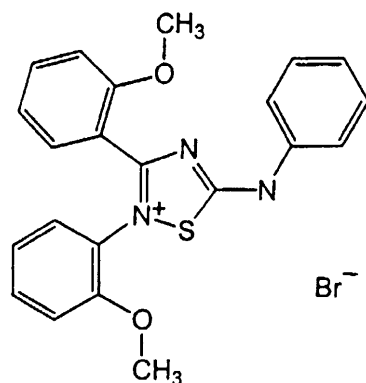
【実施例2】

【0108】

2 - (2 - メトキシフェニル) - 3 - (2 - メトキシフェニル) - 5 - フェニルアミノ - [1, 2, 4] チアジアゾール - 2 - イウム 化合物 # 74

【0109】

【化12】



【0110】

段階A：

o - アニシジン (13.5 g、110.0ミリモル) とナトリウムアミド (トルエン中50重量%の懸濁液) (9.40 g、120.0ミリモル) を無水トルエン (200 ml) に入れることで生じさせた混合物を室温で1時間攪拌した。この混合物に2 - メトキシベンズニトリル (16 ml、131.0ミリモル) を加えた後、この反応混合物を還流下に16時間加熱した。この反応混合物を冷却した後、反応を停止させる目的で1.0 NのHCl (150 ml) を添加した。活性炭を添加した後、反応混合物をセライトの詰め物に通して濾過した。1.0 NのNaOH (200 ml) を添加して前記混合物のpHを約14に調整した。その水層をクロロホルム (3 x 150 ml) で抽出した。その有機層を一緒にして無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥させた後、蒸発させた。その結果として生じた固体をヘキサンで洗浄した後、真空下で乾燥させることで、生成物を淡白色固体として得た。

MS (APCI,  $\text{MH}^+$ ) 257

段階B：

段階Aと同様にして調製したN - アリールベンズアミジン (15.5 g、60.6ミリモル) とフェニルイソチオシアネート (8.70 ml、72.7ミリモル) を無水クロロホルム (30 ml) に入れることで生じさせた混合物を45 に16時間加熱した。この



反応混合物を冷却した後、溶媒を蒸発させた。その結果として得た残留物をジクロロメタン中 25 % のヘキサンを可動相として用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製した。その画分を一緒にして蒸発させ、その結果として生じた固体を真空下で乾燥させることで、生成物を黄色固体として得た。

MS (ES、MH<sup>+</sup>) 391.50

段階 C :

段階 B と同様にして調製したチオ尿素 (12.95 g、33.1 ミリモル) を無水クロロホルム (15 mL) に入れることで生じさせた溶液に臭素 (1.78 mL、34.75 ミリモル) をゆっくり添加した。攪拌を 16 時間行った後、溶媒を蒸発させた。その結果として生じた固体を無水エチルエーテルで洗浄した。その粗生成物をエタノール中 20 %

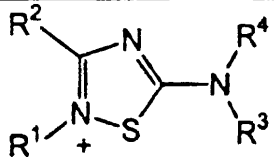
MS (ES、MH<sup>+</sup>) 390.1

本明細書に開示した手順に従って、表 1 に挙げる如き本発明の式 (I) で表される代表的な化合物を調製した。

【0111】

【表 1】

表1

				
識別 番号	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
1	4-メチルフェニル	フェニル	H	4-メキシフェニル
2	4-メチルフェニル	フェニル	H	フェニル
3	4-メチルフェニル	フェニル	H	2-メキシフェニル
4	4-メチルフェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
5	4-メチルフェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
6	4-メチルフェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
7	4-メチルフェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
8	2-メチルフェニル	フェニル	H	フェニル
9	2-メチルフェニル	フェニル	H	4-メキシフェニル

【0112】

【表 2】

10	2-メチルフェニル	フェニル	H	2-メトキシフェニル
11	2-メチルフェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
12	2-メチルフェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
13	2-メチルフェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
14	2-メチルフェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
15	4-クロロフェニル	フェニル	H	フェニル
16	4-クロロフェニル	フェニル	H	4-メトキシフェニル
17	4-クロロフェニル	フェニル	H	2-メトキシフェニル
18	4-クロロフェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
19	4-クロロフェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
20	4-クロロフェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
21	4-クロロフェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
22	フェニル	フェニル	H	フェニル
23	フェニル	フェニル	H	4-メトキシフェニル
24	フェニル	フェニル	H	2-メトキシフェニル
25	フェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
26	フェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
27	フェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
28	2-メトキシフェニル	フェニル	H	フェニル
29	2-メトキシフェニル	フェニル	H	4-メトキシフェニル
30	2-メトキシフェニル	フェニル	H	2-メトキシフェニル
31	2-メトキシフェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
32	2-メトキシフェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
33	2-メトキシフェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
34	2-メトキシフェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
35	4-メトキシフェニル	フェニル	H	フェニル
36	4-メトキシフェニル	フェニル	H	4-メトキシフェニル

10

20

30

40

【表 3】

37	4-メトキシフェニル	フェニル	H	2-メトキシフェニル
38	4-メトキシフェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
39	4-メトキシフェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
40	4-メトキシフェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
41	4-メトキシフェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
42	2-クロロフェニル	フェニル	H	フェニル
43	2-クロロフェニル	フェニル	H	4-メトキシフェニル
44	2-クロロフェニル	フェニル	H	2-メトキシフェニル
45	2-クロロフェニル	フェニル	H	4-メチルフェニル
46	2-クロロフェニル	フェニル	H	2-メチルフェニル
47	2-クロロフェニル	フェニル	H	4-クロロフェニル
48	2-クロロフェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
49	フェニル	フェニル	H	2-クロロフェニル
50	4-メチルフェニル	フェニル	CH <sub>3</sub>	4-メトキシフェニル
51	フェニル	フェニル	H	4-メトキシベンジル
52	フェニル	フェニル	H	2-メトキシベンジル
53	フェニル	フェニル	H	4-メチルベンジル
54	フェニル	フェニル	H	2-メチルベンジル
55	フェニル	フェニル	H	4-クロロベンジル
56	フェニル	フェニル	H	2-クロロベンジル
57	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	フェニル
58	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	4-メトキシフェニル
59	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	2-メトキシフェニル
60	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	4-メチルフェニル
61	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	2-メチルフェニル
62	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	4-クロロフェニル

【表 4】

63	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	2-クロロフェニル
64	4-メトキシフェニル	4-メトキシフェニル	H	3-ヒリジル
65	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	フェニル
66	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	4-メトキシフェニル
67	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	2-メトキシフェニル
68	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	4-メチルフェニル
69	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	2-メチルフェニル
70	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	4-クロロフェニル
71	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	2-クロロフェニル
72	2-メトキシフェニル	4-メチルフェニル	H	3-ヒリジル
73	2-メトキシフェニル	フェニル	H	3-ヒリジル
74	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	フェニル
75	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	4-メトキシフェニル
76	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	2-メトキシフェニル
77	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	4-メチルフェニル
78	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	2-メチルフェニル
79	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	4-クロロフェニル
80	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	2-クロロフェニル
81	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	3-ヒリジル
84	フェニル	フェニル	H	ベンジル
85	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	4-フロモフェニル
86	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	2,6-ジフルオロフェニル
87	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	2-クロロ-6-メチルフェニル
88	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	H	3,5-ジフルオロフェニル

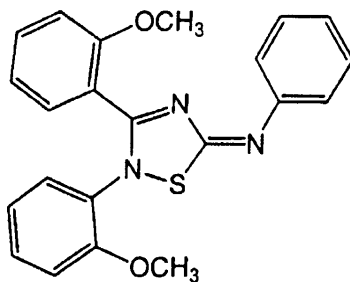
## 【実施例 3】

【0115】

2 - ( 2 - メトキシフェニル ) - 3 - ( 2 - メトキシフェニル ) - 5 - フェニルアミノ -  
 [ 1 , 2 , 4 ] チアジアゾール 化合物 # 89

【0116】

## 【化 13】



## 【0117】

10

実施例2の段階Bと同様にして調製した化合物(0.921g、2.36ミリモル)を無水クロロホルム(10mL)に入れることで生じさせた溶液にN-クロロスクシニミド(326mg、2.71ミリモル)を添加した。次に、この反応混合物を16時間攪拌した後、 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液で停止させかつそれで2回洗浄した。その有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させた後、残存する溶媒を真空下で除去することで、表題の生成物を固体として得た。

MS(ES、 $\text{MH}^+$ ) 390.1

本明細書に記述した手順に従って、表2に挙げる如き本発明の式(II)で表される代表的な化合物を調製した。

## 【0118】

20

## 【表5】

表2

識別番号	$\text{R}^1$	$\text{R}^2$	$\text{R}^4$
82	4-メチルフェニル	フェニル	フェニル
83	4-メチルフェニル	フェニル	4-メトキシフェニル
89	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	フェニル
90	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	2,6-ジフルオロフェニル
91	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	2-クロロ-6-メチルフェニル
92	2-メトキシフェニル	2-メトキシフェニル	3,5-ジフルオロフェニル

30

40

## 【0119】

特に明記しない限り、Bruker Avance 300MHz NMR分光計を用いてNMRスペクトルを測定した。特に明記しない限り、Micromass LCプラットフォームエレクトロスプレーマススペクトロメーター(platform electrospray mass spectrometer)を用いて分子量を測定し、それらは表3に挙げる如くである。

## 【0120】

【表 6】

表3

識別番号	MW 1(+イオンとして)	MW 2 (w/Br-)	測定MW
1	374.49	454.39	374.0
2	344.46	424.36	344.0
3	374.49	454.39	374.3
4	358.49	438.39	358.3
5	358.49	438.39	358.4
6	378.91	458.81	378.1, 380.3
7	378.91	458.81	378.2, 380.2
8	344.46	424.36	344.3
9	374.49	454.39	374.2
10	374.49	454.39	374.2
11	358.49	438.39	358.3
12	358.49	438.39	358.3
13	378.91	458.81	378.2, 380.2
14	378.91	458.81	378.2, 380.2
15	364.88	444.78	346.2, 366.2
16	394.90	474.81	394.1, 396.1
17	394.90	474.81	394.1, 396.1
18	378.91	458.81	378.2, 380.2
19	378.91	458.81	378.2, 380.2
20	399.32	479.23	398.1, 400.1
21	399.32	479.23	398.1, 400.0
22	330.43	410.34	330.3
23	360.46	440.37	360.3
24	360.46	440.37	360.3
25	344.46	424.37	344.4

【 0 1 2 1 】

【表 7】

26	344.46	424.37	344.3
27	364.88	444.78	364.2, 366.2
28	360.46	440.37	360.3
29	390.49	470.39	390.2
30	390.49	470.39	390.2
31	374.49	454.39	374.3
32	374.49	454.39	374.3
33	394.90	474.81	394.1, 396.1
34	394.90	474.81	394.1, 396.1
35	360.46	440.37	360.3
36	390.49	470.39	390.3
37	390.49	470.39	390.3
38	374.49	454.39	374.3
39	374.49	454.39	374.3
40	394.90	474.81	394.2, 396.2
41	394.90	474.81	394.2, 396.2
42	364.88	444.78	364.3, 366.3
43	394.90	474.81	394.2, 396.2
44	394.90	474.81	394.2, 396.2
45	378.91	458.81	378.2, 380.2
46	378.91	458.81	378.2, 380.2
47	399.32	479.23	398.1, 400.1
48	399.32	479.23	398.1, 400.1
49	364.88	444.78	364.2, 366.2
50	388.51	537.58	388.3
51	374.49	454.39	374.3
52	374.49	454.39	374.3
53	358.49	438.39	358.4
54	358.49	438.39	358.4
55	378.91	458.81	378.3, 380.3
56	378.91	458.81	378.3, 380.3
57	390.49	470.39	390.1

10

20

30

40

【表 8】

58	420.51	500.42	420.1
59	420.51	500.42	420.1
60	404.51	484.42	404.1
61	404.51	484.42	404.0
62	424.93	504.83	424.0, 426.0
63	424.93	504.83	424.0, 426.0
64	391.47	471.38	391.0
65	374.49	454.39	374.2
66	404.51	484.42	404.2
67	404.51	484.42	404.1
68	388.51	468.42	388.3
69	388.51	468.42	388.2
70	408.93	488.84	408.6, 410.0
71	408.93	488.84	408.1, 410.0
72	375.47	455.38	375.2
73	361.45	441.35	361.
74	390.49	470.39	390.2
75	420.51	500.42	420.2
76	420.51	500.42	420.2
77	404.51	484.42	404.1
78	404.51	484.42	404.1
79	424.93	504.84	424.1, 426.1
80	424.93	504.84	424.1, 426.1
81	391.47	471.38	391.1
82	343.45		344.3
83	373.48		374.3
84	344.46	424.36	344.3
85	469.38	549.29	
86	426.5	506.4	426.3
87	439.0	518.9	438.3, 440.3
88	426.5	506.4	426.2
89	389.5		390.1
90	425.5		426.2
91	437.9		438.3, 440.3
92	425.5		426.2

【実施例 4】



## 【 0 1 2 3 】

メラノコルチンMC - 4 受容体結合検定

メラノコルチン[MC - 4]膜[Receptor Biology Incから購入]をポリビニルトルエンを覆っている麦芽アグルチニン - Scintillation Proximity Assayビーズ[Amersham Pharmacia Inc.から購入]に25 で30分間結合させた。96個ウエルのOptiプレート[Packard(CA)から購入]の各ウエルに入れた体積が100 $\mu$ Lの培地の中で2.5 $\mu$ gの膜と0.25mgのビーズを混合した。前記培地は50mMのHEPES(pH7.4)であり、これにウシ血清アルブミンを0.1%、CaCl<sub>2</sub>を2mM、MgCl<sub>2</sub>を2mMおよびプロテアーゼ阻害剤を含有させた。前記プレートの個々のウエルに試験化合物(1.5 $\mu$ L)を30%DMSO - 50mM HEPES(pH7.4)緩衝液中1mMで添加した。各ウエルに放射性リガンドである<sup>125</sup>I - NDP - メラノサイト刺激ホルモン[NEN、2000Ci/ミリモル]を加えた(ウエル1個当たり48.5 $\mu$ L、最終濃度40pM)。次に、前記プレートを密封した後、25 に16時間放置した。非特異的結合(N)を確認する目的で、NDP - メラノサイト刺激ホルモンペプチドおよび - メラノサイト刺激ホルモンペプチド[Palomar Research Incから購入、1 $\mu$ M]を基準阻害剤化合物として用いた。30%DMSO - 50mM HEPES(pH7.4)緩衝液を用いて全結合(T)を確認した。各ウエル毎に結合した放射能(Y)[1分当たりのカウント数(cpm)として測定]をTopCount[Packard(CA)]で測定した。阻害パーセントを下記の如く計算した：

$$[(T - Y) / (T - N)] * 100\%$$

## 【実施例5】

## 【 0 1 2 4 】

環状アデノシンモノホスフェート[cAMP]刺激検定

ヒトメラノコルチンMC - 4 受容体を発現するヒトBOWES黒色腫細胞を24個ウエル培養プレートの中で集密になるまで増殖させた。増殖用培地を廃棄した後、各ウエルにHankの溶液を0.5mL加えた。96個ウエルプレートのウエルに試験化合物を加えた。正対照ウエルにはNDP - メラノサイト刺激ホルモンペプチド(1 $\mu$ M)を加える一方、負対照ウエルには媒体である30%DMSO - 50mM HEPES(pH7.4)緩衝液を入れた。そのプレートを37 において5%のCO<sub>2</sub>下で30分間インキュベートした。上澄み液を廃棄した後、細胞をHankの溶液で2回洗浄した。各ウエルにエタノール(80%、0.5mL)を加えた後、そのプレートを4 で30分間インキュベートした。NEN Flashplateキット[NEN]を用いて環状AMPの含有量を測定した。この検定で結果としてcAMPの産生増加をもたらした試験化合物をメラノコルチン受容体の作動薬として定義する。

## 【実施例6】

## 【 0 1 2 5 】

G - 蛋白質活性化検定

各検定毎にメラノコルチンMC - 4 受容体を発現する膜(5 $\mu$ g)を25 で100 $\mu$ Lの25mM HEPES緩衝液(pH7.5)[NaClを100mM、プロテアーゼ阻害剤、GDPを0.5 $\mu$ M、2 - メルカプトエタノールを5mM、MgCl<sub>2</sub>を1mMに加えて試験化合物、1 $\mu$ MのNDP - メラノサイト刺激ホルモンまたはNDP - メラノサイト刺激ホルモンと試験化合物の組み合わせを含有させた]に入れた0.5nMの<sup>35</sup>S - GTP Sと一緒に5分間インキュベートした。DMSOを30%入れておいた10mMのHEPES(pH7.4)緩衝液を用いて基本的<sup>35</sup>S - GTP S結合を確認した。停止用緩衝液[HEPES(pH7.5)を25mM、MgCl<sub>2</sub>を20mM、プロテアーゼ阻害剤、GDPを100 $\mu$ M、GTPを100 $\mu$ M、2 - メルカプトエタノールを5mMに加えて界面活性剤(ジジトニン(digitonin)が0.5%でデオキシコール酸ナトリウムが0.2%でNP - 40が0.5%)を含有]を50 $\mu$ L添加することで反応を停止させた。前記膜を25 で30分間溶解させた。抗 - ラビットIgG蛋白

質 A 接合 S P A と結合している抗 G s ( 0 . 5  $\mu$  g ) を用いて、 $^3$   $^5$  S - G T P S と結合した G s 蛋白質を免疫沈澱させた。結合した放射能を T o p c o u n t [ P a c k a r d ] で測定した。通常のラビット I g G ( 0 . 5  $\mu$  g ) を用いて  $^3$   $^5$  S - G T P S を免疫沈澱させることで、非特異的  $^3$   $^5$  S - G T P S 結合を確認した。

基本的結合 ( B ) = 抗 - G s で免疫沈澱した平均数 / 分 ( c p m )

非特異的結合 ( N S B ) = 通常のラビット I g G で免疫沈澱した平均 c p m

特異的な基本的結合 ( S B ) = B - N S B

各ウエルにおける c p m = C

各ウエルにおける正味の c p m ( N ) = C - N S B

刺激 % = [ ( N - S B ) / S B ]  $\times$  1 0 0 %

10

この上にメラノコルチン M C - 4 受容体に関して記述した手順をメラノコルチン M C - 3 受容体でも繰り返した。その記述した手順に従って、本発明の代表的な化合物に結合に関する試験を M C - 4 および / または M C - 3 検定で受けさせ、それは表 4 に挙げる如きであった。

【 0 1 2 6 】

【表 9】

表4

識別番号	IC <sub>50</sub> MC-4 (μM) (濾過)	IC <sub>50</sub> MC-4 (nM) (SPA)
1	1.1	174
2	1.5	234
3	0.7	159
4	不活性	297
5	1.3	207
6	2.5	293
7	2.2	218
8	1.4	201
9	1.1	217
10	2.3	130(90)
11	2.4	243
12	不溶	不溶
13	3.4	347
14	5.6	234
15	4.5	482
16	4.3	424
17	7.7	351
18	6.0	463
19	3.9	460
20	3.5	636

10

20

30

【 0 1 2 7 】

【表 10】

21	7.8	392
22		124
23		124
24		76
25		57
26		63
27		89
28		68
29		48
30		103
31		22
32		48
33		91
34		46
35		100
36		79
37		72
38		159
39		146
40		133
41		483
42		482
43		237
44		89
45		246
46		368
47		874
48		444
49		96
50		30,000
51		1,000
52		1,000

10

20

30

40

【表 1 1】

53		1,000
54		800
55		800
56		3,000
57		不活性
58		不活性
59		不活性
60		不活性
61		不活性
62		不活性
63		1,000
64		1,200
65		114
66		120
67		130
68		110
69		139
70		566
71		234
72		155
73		725
74		194
75		103
76		332
77		4.4
78		99
79		216
80		378
81		672
82	1.5	826
83	1.9	833
84	82 nm	
85		

10

20

30

40

【実施例 7】

【0129】

齧歯類飼育：食物を剥奪しておいたラットにおける食物摂取（MC - 4）

オスの Long - Evans ラット（180 - 200 グラム）を個別にケージに入れて

50

、この動物が粉末食物（＃５００２ PMI Certified Rodent Meal）の食餌に順化するように指定時間の間隔離した後、５日間に渡って１日１回の食餌スケジュール（即ち１０ a.m. から４ p.m. まで）に維持した。こぼれる度合が最小限になるように餌を覆う金属製従動部と一緒にワイヤーでケージの中に固定した開放ジャーの中に前記食物を入れて自由に入手できるようにした。水を随意に入手できるようにした。

#### 【０１３０】

試験に先立って動物を１８時間絶食させた。この絶食期間が終了した時点で動物に試験化合物または媒体のいずれかを投与した。媒体および試験化合物を経口投与の場合には実験前６０分の時に投与（５ mL / kg）するか、皮下投与の場合には実験前３０分の時に投与（１ mL / kg）するか、或は腹腔内投与の場合には実験前３０分の時に投与（１ mL / kg）した。試験化合物を経口投与の場合にはメチルセルロースが０．５％で Tween 80 が０．４％の水溶液に入れた懸濁液として投与するか、或は腹腔内投与の場合には PEG 200 に入れた溶液または懸濁液として投与し、化合物の濃度を典型的には 1 mg / kg から 100 mg / kg、好適には 10 - 30 mg / kg の範囲にした。餌を入れておいた特殊なジャーの重量を実験前そして指定時間の時に測定することを通して、投与後２、４および６時間の時の食物摂取量を測定した。この実験が終了した時点で、再び試験する前に、あらゆる動物に１週間の洗浄（wash out）期間を与えた。

#### 【０１３１】

この記述した手順に従って、本発明の選択した化合物に試験を受けさせることで、断食させたラットにおける食物摂取に対してそれが示す効果を測定し、それは表５および６に挙げる通りであった。

#### 【０１３２】

#### 【表１２】

表5

識別番号	[mg/kg], 経路	0-2時間の 食物摂取量	2-6時間の 食物摂取量
PEG-200	ip	8.25 g	13.38 g
1	10 $\mu$ , ip	7.29 g	8.43 g

#### 【０１３３】

【表 13】

表6

識別番号	[mg/kg], 経路	0-2時間の食物 摂取量の変化(%)	2-6時間の食物 摂取量の変化(%)
MCT 対照	po	0	0
PEG-200	ip	0	0
1	10, ip	-11.60%	-37.00%
1	30, po	-21.2	-6.7
84	10, ip	-7	-24.5
84	10, ip	3.9	-17.8
84	30, po	-7	32
26	10, ip	-12.7	-32.3
27	30, ip	-27.4	-29.1
29	30, po	-26.3	-3.7
29	10, ip	-62.3	-70.7
31	3, ip	-37.8	-50
31	1, ip	-20.6	-71.2
31	30, po	-23.6	31.5
31	10, po	-10.1	39.7
31	3, po	-9	52.1
31	1, po	1.2	19.5
32	10, ip	-29.6	-60.2
32	30, po	-12.5	-15
32	10, po	-20	-1
32	3, po	-11.5	31.17
32	1, po	-13.8	26
34	10, ip	-38	-72
34	30, po	-7.5	2
34	10, po	-1.3	-6
49	30, ip	-20.6	-21.2

【実施例 8】

【0134】

神経細胞生長検定

細胞培養：

Mattson, M. P., Barger, S. W., Begley, J. および Mark, R. J., 「Methods Cell Biol.」, 1994, 46: 087 - 216 に記述されているようにして、胎芽日が18日目のラット胎児から分離した海馬および皮質細胞培養物を確立した。簡単に述べると、妊娠している母親 (Sprague-Dawley) から胎児を帝王切開で取り出した後、EuthanasiaのAVMAパネルに従ってハロタンを用いて麻酔をかけた。子の首を切り落とした後、脳を取り出して、HEPES緩衝Hank' Balanced Salt溶液 (HBSS; Gibco) の中に入れた。海馬および皮質を切断して取り出して、組織の種類に従ってプールした。組織をトリプシンで15分間処理 (1mg/mlのトリプシン-HBSS; Worthington) し、新鮮なHBSSで濯ぎ、トリプシン阻害剤 (1mg/ml; Sigma) に入れて5分間インキュベートし、再び新鮮なHBSSで濯いだ後、1mlの新鮮なHBSSに入れて、炎で磨いておいたガラス製ピペットで磨り潰した。分離させた細胞をポリ-D-リシンで被覆しておいた96個ウエルプレート (Collaborative Bioscience) にウエル1個当たり30,000個の細胞になるように種付けした。各ウエルにEagleの最少必須培地 (MEM; Gibco) [NaHCO<sub>3</sub> (Sigma) を26mM、グルコース (Sigma) を56mM、KCl (Sigma) を15mM、ピルビン酸ナトリウム (Sigma) を1mM、L-グルタミン (Sigma) を1.1mM、熱で不活性にしておいたウシ胎児血清 (Hyclone) を10% (体積/体積) および硫酸ゲンタマイシン (Sigma) を0.001%補充しておいた (pH7.4)] を100μl入れた。細胞を湿っている37の5%CO<sub>2</sub> インキュベーターの中で24時間付着させた後、実験処置を行った。3日毎に培養培地を吸引して、新しい培地と交換した。

検定:

平板培養して24時間後に培養物を媒体 (PBS + 0.1% BSA) でか、アルファ-メラノサイト刺激ホルモン (α-MSH) でか或は試験化合物 (DPBSで希釈) で処理した。各処理条件を4回実施した。培養3日目に培地を吸引で除去して、新鮮な媒体および試験化合物と交換した。培養1週間目に細胞を10% 燐酸塩緩衝ホルマリンで15分間固定し、DPBS (Sigma) で濯いだ後、ブロッキング用の血清 (ウマ血清; DPBSで1:50に希釈; Vector Labs) の中に30分間入れた。この培養物をDPBSで再び濯いだ後、一次抗体の中に入れて2時間インキュベートした [微小管結合蛋白質-2 (MAP-2) が樹状突起の選択的マーカーである; 抗マウスモノクローナル (Chemicon); MAP-2を抗体希釈剤 (Zymed) で1:1000に希釈]。負の対照ウエルでは抗体希釈剤単独でインキュベートした。ブランクのウエル (細胞なし) を抗体の有り無しで培養することで背景シグナルを測定した。培養物を再びDPBSで濯いだ後、フルオレセインの中に1時間入れた [FITC; 抗マウスIgG; ラット吸着 (rat adsorbed); DPBSで1:50に希釈; Vector Labs]。培養物を最後にDPBSで濯いだ後、Cytofluor 4000 蛍光プレート読み装置を用いて前記プレートを読み取った。神経突起生長を対照 (媒体) からの変化パーセントとして表した。

【0135】

本発明の選択した化合物に前記検定試験を受けさせた結果は表7に挙げる通りであった。データを媒体反応に対する変化パーセントとして表す。あらゆる化合物に50nMで選別を受けさせた。省略形NAは変化無し/活性無しを示し、省略形NDは化合物に試験を受けさせなかった/反応を測定しなかったことを示す。

【0136】



【表 1 4】

表7：神経突起生長

化合物番号	海馬細胞	皮質細胞
媒体	19%	4%
1	6%	NA
2	18%	18%
3	17%	23%
4	20%	21%

10

【 0 1 3 7 】

【表 1 5】

5	28%	9%
6	23%	24%
7	NA	11%
8	NA	12%
9	NA	NA
10	7%	11%
11	9%	10%
12	28%	20%
13	29%	32%
14	30%	19%
15	18%	31%
16	8%	18%
17	8%	17%
18	17%	17%
19	22%	NA
20	17%	NA
21	27%	2%
22	NA	30%
23	10%	20%
24	10%	16%
25	NA	23%
26	16%	47%
27	17%	52%
28	NA	25%
29	NA	8%
30	NA	NA
31	NA	16%
32	NA	6%
33	NA	21%
34	NA	22%
35	NA	28%
36	NA	16%

10

20

30

40

【表 16】

37	NA	26%
38	NA	NA
39	NA	ND
40	26%	NA
41	36%	5%
42	26%	NA
43	30%	37%
44	43%	19%
45	46%	25%
46	40%	19%
47	20%	13%
48	NA	19%
49	16%	51%
50	46%	NA
51	74%	28%
52	65%	NA
53	67%	NA
54	45%	NA
55	19%	NA
56	33%	NA
57	9%	NA
58	72%	10%
59	61%	21%
60	66%	14%
61	66%	17%
62	13%	13%
63	20%	17%
64	22%	12%
82	14%	15%
83	11%	9%
84	ND	17%

【0139】

この上に示したデータは、培養物を本発明の選択した化合物で処理すると結果としてM  
A P 2 - F I T C 免疫蛍光で測定した時に神経突起生長が有意に向上したことを示してい

10

20

30

40

50

る。試験化合物と - M S H の間の比較により、神経突起生長の助長に関して試験化合物の多くが試験した濃度において - M S H よりも優れていたことを示している。加うるに、試験化合物のいくつかは海馬または皮質細胞における神経突起生長に対して選択的効果も示した。

【実施例 9】

【0140】

インビボ顔面神経圧縮モデル

試験化合物が神経保護または神経再生効果を示し得るか否かを顔面神経圧縮モデルで調査した。顔面神経運動軸索は充分に限定された核の脳橋中のニューロンから排他的に生じる。顔面神経を圧縮すると結果として損傷部位に近い所では逆行する反応がもたらされそしてその基部の所では W a l l e r i a n 変性が生じ、それによって、損傷側のひげの動きが低下する。

10

【0141】

オスの Long - E v a n s ラット ( 1 5 0 - 1 8 0 g ) を手術している間に麻酔をかけたが、誘導では 3 - 5 % のイソフロランを用いそして維持では 2 % のイソフロランを用いた。右顔面の神経を露出させた後、鉗子を用いて、茎乳突孔から出ている所を 3 0 秒間圧縮した。左顔面の神経にはみせかけの手術を施して、内部対照として用いた。神経を圧縮するとひげの筋肉が麻痺し、それによって損傷側のひげの動きが低下するが、これを麻酔から回復した後直ちに観察する。機能不全に関連して下記の形態的異常を観察した：

( 1 ) 損傷側の顔面核の中でニューロン周囲のグリア細胞の数が増え、約 D 3 - 6 のピークになるまで多くなることが観察される。

20

( 2 ) 損傷を与えてほぼ 1 週間後に圧縮顔面神経の中のミエリン鞘が薄くなりかつミエリン塩基性蛋白質の染色が減少する。

( 3 ) N - M 連結およびひげ小胞領域の回りの形態が変化しかつ顔面核の中の運動ニューロンが次第に変性する。

【0142】

麻酔から回復した後のラットを媒体を与える群または M S H を与える群または試験化合物を与える群に 1 群当たり 6 匹の動物になるように無作為に分割した。 M S H ( s . c . 、 7 0  $\mu$  g / 各 4 8 時間 ) を正の対照として用いた。試験化合物を p . o . で 2 0 m g / k g の指定値で 1 4 日間投与した。手術後のひげの動きの回復度を下記の 2 つの判断基準を用いて毎日監視した：

30

( 1 ) 基本線対照として用いる反対側 ( 見せかけの手術を施した ) と比較した損傷側のひげの動きの頻度

( 2 ) 動くひげのパーセント、ひげの筋肉の筋肉状態および鼻の位置を観察することを基にして特徴付けたひげ筋肉の強度に関する半定量的測定 ( 0 から 4 + ) 。あらゆる観察に関して、挙動観察者が実験案を分らないようにした。

【0143】

挙動評価の結果は、試験化合物である化合物 # 3 1 および # 8 4 の両方ともが損傷を与えたラットがひげ筋肉動きを回復するまでの回復時間を媒体対照に比べて加速させることを示していた (  $p < 0 . 0 5$  ) 。ひげの動きの回復率をそれ自身の内部対照 ( 見せかけの手術を施した ) のパーセントとして表し、それは表 8 に挙げる如くであった。

40

【0144】

【表 17】

表8

顔面神経圧縮モデルで化合物#31および#84を経口投与した後のひげの動きの機能的回復

	回復パーセント					
	D9	D10	D11	D12	D13	D14
損傷を受けていない部位	100	100	100	100	100	100
媒体	0	5.0 ± 6.8	27.6 ± 15.9	72.5 ± 21.2	86.4 ± 14.5	91.3 ± 8.3
α-MSH	2.0 ± 2.8	24.6 ± 15.8	60.1 ± 19.3	93.8 ± 14.0	98.1 ± 5.3	100 ± 0.0
化合物#31	0	3.5 ±	67.8 ±	98.5 ±	100 ±	100 ±
(246377)		3.1	9.5	3.7	0.0	0.0
化合物#84	0	4.8 ±	35.1 ±	90.0 ±	98.3 ±	100 ±
(153791)		4.3	12.9	10.9	4.1	0.0

## 【実施例 10】

## 【0145】

## インビトロ検定：皮脂合成の調節の測定

## 段階 A：支持細胞層の調製

3T3マウス線維芽細胞 (Swiss Albinoマウス、ATCC CCL-92) の半集密培養物をマイトマイシン C (4 μg/ml) で 3 時間処理し、トリプシンで処理した後、Dulbeccos 最少必須培地 (DMEM) [Colorado Calf Serum を 10%、PNC (100 U/ml)、STM (100 μg/ml)、L グルタミン (0.3 mg/ml)、ピルビン酸ナトリウム (1 mM) および非必須アミノ酸 (100 μM) を含有] に入れて、組織培養プレート 9.5 cm<sup>2</sup> 当たり 2.5 × 10<sup>5</sup> 個の密度になるように種付けした。前記細胞を皮脂細胞用支持細胞層として用いるに先立って 37 °C で 24 時間インキュベートした。

## 段階 B：ヒト皮脂細胞の単離

手術後のヒト皮膚片の Dermatome 薄切り片から 0.4 - 0.8 mm の深さの所のヒト皮脂細胞を単離した (前記皮膚のその部分には脂腺が豊富に存在することが以前に示されていた)。そのようにして得た薄切り片を 37 °C において血清含有量が 10% の Iscoves 培地中 1% の Dispase で 20 分間処理した。次に、前記組織を燐酸塩緩衝食塩水 (PBS) 中 0.3% のトリプシン / 1% の EDTA に 37 °C で 10 分間入れた。このインキュベーションを行った後、前記組織を DMEM / F12 培地混合物 (3 : 1) を含有させておいた増殖用培地 (GM) [熱で不活性にした FBS を 8%、熱で不活性にしたヒト血清 (HS) を 2%、ピルビン酸ナトリウムを 1 mM、表皮成長因子 (10 ng/ml)、インシュリン (10 μg/ml)、ヒドロコルチゾン (0.4 μg/ml) およびニコレラトキシン (100 μg/ml)、L-グルタミンおよび抗生物質を補充] に入れて、それから細胞を穏やかにかき取った。そのようにして得た細胞をナイロンメッシュ (孔サイズが 100 μm) に通して濾過し、遠心分離に 750 RPM でかけ、GM に入れて再び懸濁させた後、数を数えた。

## 段階 C：ヒト皮脂細胞の培養

この上に示した単離手順の結果として得た細胞を増殖用培地に入れて 3T3 支持細胞層の上で 9.5 cm<sup>2</sup> 当たり 2 × 10<sup>5</sup> 個になるように平板培養して、37 °C において 5%

のCO<sub>2</sub>下に3日間維持した(段階I)。この初期増殖期間後、それらに移行培地(transition medium)(TM)[ピルビン酸ナトリウムを1mM、インシュリン(10μg/ml)、トランスフェリン(6.7ng/ml)およびセレン(5.5μg/ml)(ITS)、熱で不活性にしたFBSを2%および熱で不活性にしたヒト血清を2%に加えてαコレラトキシン(ch.t.)(100μg/ml)、L-グルタミンおよび抗生物質を補充しておいたDMEM/F12培地で構成]に移した(段階II)。3日後、細胞を分化培地(DM)、即ちITS、3,3',5-トリイド-L-チロニンナトリウム(3nM)、微量元素混合物を1%(体積/体積)および選択した分化剤、即ちウシ下垂体抽出液(10μg/ml)を補充しておいたDMEM/F12に変えた。この培地を3日毎に交換した(段階III)。

10

段階D：脂質細胞分化および脂質産生の刺激剤または抑制剤の試験

ホルモン、ホルモン混合物、即ちウシ下垂体抽出液または試験化合物を段階III開始時の前記培養物に添加した。前記材料が脂質培養物に対して示す効果を評価する目的で下記の2つの判断基準を用いた：脂質蓄積または合成の1)目で見た観察および2)評価。ナイルレッド(Nile red)法を用いて脂質蓄積の評価を実施した。この方法は、ナイルレッドを用いて中性脂質を可視化しそしてプレート読み器を用いて535nmで励起させた時に起こる580nmの所の蛍光の発光を読み取ることで定量を行うことに頼っている。<sup>14</sup>Cアセテートを用いて放射線標識を付けそして4.1ソフトウェアを用いてBio Rad Phosphoimager(Molecular Imager、FX)で量化することで脂質合成の評価を行った。

20

段階E：脂質蓄積の目で見た観察およびナイルレッド評価

脂質蓄積の形態学的評価の識別は容易である、と言うのは、細胞が大きくなりかつ脂質粒[これは明視野光学顕微鏡で細胞の中の黄色がかった円として見られる]を示すからである。脂質細胞の中の中性脂質の蓄積/抑制の量化をナイルレッド結合検定で達成した。簡単に述べると、脂質細胞を試験化合物に接触させた後、その細胞をHanks緩衝食塩溶液(DMSOとPluronic F127を含有)中1μMのナイルレッドと相互作用させた。4時間のインキュベーション、洗浄および一晩のインキュベーション後、蛍光プレート読み器を用いて、535の所で励起させた時に起こる580の所の蛍光の発光を読み取った。当該化合物が細胞増殖に対して抑制効果を示すか否かを測定する目的で、細胞の数を数えた。

30

【0146】

この上に記述した手順に従って、本発明の選択した化合物に脂質蓄積の目で見た評価およびナイルレッド評価に関する試験を受けさせ、その結果は表9に挙げる如きであった。

【0147】

【表 18】

表9

識別番号	抑制% 0.4 $\mu$ M	抑制% 0.8 $\mu$ M	視覚* 0.4 $\mu$ M	視覚* 0.8 $\mu$ M	MC5-R IC <sub>50</sub>
74	72	100	+++	++++	154nM
76	48	88	++	+++	317nM
80	61	91	++	++++	138nM
67	N.T.	N.T.	++	+++	246nM
50	0	0	0	0	結合なし
84	0	0	0	0	結合なし

\*  
+記号の数が増えることは抑制の度合いを示しており、ここで、++++=脂肪粒形成の100%抑制、  
+++ = 75%抑制、++ = 50%抑制および+ = 25%抑制。

## 【0148】

段階 F：脂肪細胞による脂質合成の評価

培養11日目の皮脂細胞に<sup>14</sup>Cアセテートによる標識を血清を含まない培養培地の中で最終濃度が2  $\mu$ Ci/mlになるように24時間かけて付けた。次に、プレートから細胞をかき落とした後、ガラスびんに入れて-80℃で凍らせた。Bligh-Dyer法(Bligh, E. G. および Dyer, W. J., Can. J. Biochem. Physiol., 1959, 37, 911-916頁)に本明細書に詳細に示す如き若干の修飾を受けさせた方法を用いて脂質抽出を実施した。簡単に述べると、細胞をクロロホルム：メタノールが2：1の混合物に入れてKClの存在下で均一にした。この混合物から有機相を取り出し、脂質を分離してアルゴン下で乾燥させた後、高性能の薄層クロマトグラフィー(HPTLC)板に斑点として付けた。前記板に現像を個々別々の3種類の可動相を用いて受けさせた。1番目の可動相はヘキサン(前記板の上部に付けた)に続いてトルエン(上部に付けた)そして最後にヘキサン：エーテル：酢酸が70：30：1の混合物を付けた(前記板の中間-10cm)。次に、前記板をラジオグラフィフィルムに接触させることで、放射性脂質種を可視化した。標識を付けていない脂質の可視化では、前記板に8%の銅酸を噴霧した後、ホットプレートの上で焦がした。Image Pro Plus 3.0(Media Cybernetics, Silver Springs, MD)で結果の量化を行った。

## 【0149】

この上に記述した手順に従って、本発明の選択した化合物にこれがヒト皮脂細胞の分化に対して示す抑制効果に関する試験を受けさせた。目で見た時、化合物#74で処理して染色した細胞培養物は7日間の処理の後に皮脂細胞培養物の中に存在していた脂質粒の完全な消滅を示した。同じ細胞を脂質合成に関して試験する目的で放射能標識を付けた脂質をHPTLCで分離することで測定を行った時、スクワレン、コレステロールエステルおよびワックスエステルが抑制されることが分かった。Image Pro Plus(バージョン5.0)を用いて帯の強度を測定することで細胞パネル(cell panels)を量化した。処理したサンプルと媒体で処理した対照の間の差を基にして抑制%を計算し、その結果は表10に挙げる通りであった。

## 【0150】

【表 19】

表10

脂質	誘発剤	細胞の性	0.4 $\mu$ Mの時の抑制%	0.6 $\mu$ Mの時の抑制%
スクワレン	コレラキシンと ウシ下垂体抽出液	F/M	100/100	100/100
コレステロール エステル	"	F/M	85/64	88/76
未知	"	F/M	75/68	85/80
ワックスエステル	"	F/M	70/50	67/42
トリグリセリド	"	F/M	0	0

## 【実施例 11】

## 【0151】

試験化合物が皮脂産生に対して示す効果のインビボ評価：ヒト皮膚 - SCIDマウスメラモデル

重症複合性免疫不全マウス (SCID) は非常に貴重な皮膚異種移植モデルを与えるものである。このような動物ではTおよびB細胞免疫が欠如している。SCIDマウスに移植したヒト皮膚移植片はヒト細胞組織成分を保持し、そのような成分には、皮膚免疫細胞、即ちランゲルハンス細胞、マクロファージおよびリンパ球、そしてまた合体している内皮の一部が含まれる (Kaufman R. 他、Exp. Dermatol. 1993: 2: 209 - 216, 1993)。そのような特性を用いて、ヒト皮膚細胞が試験化合物に対して示す生理学および/または病理学的反応を研究することができる。

## 段階 A：移植方法

5 - 6週令のC. B - 17 scid / scidマウス (Taconic, German town, N. Y.) を移植で用いた。Forman Dermatomyを用いてヒト顔面皮膚を ~ 0.4 mmの全厚で切り取った。この皮膚薄切り片をDulbeccoの修飾Eagle培地 (DMEM、Life Technologies) に入れた抗生物質および抗菌剤 [ペニシリン、ストレプトマイシン、ファンギゾン] (Life technologies) で3回洗浄した。この調製した移植床 (graft bed) に楕円形 (~ 2.0 - 2.5 x 1.0 - 1.5) の皮膚を移植した後、4.0の絹を用いて縫合した。手術中、Ketaset (体重1 g当たり0.16 mg) とRompun (体重1 g当たり8.0  $\mu$ g) の混合物を用いてマウスに麻酔をかける。

## 【0152】

SCIDマウスに移植した皮膚の創傷治癒過程に1カ月要することは十分に受け入れられており、その時点でヒト皮膚を実験の目的で用いることができる。我々は、また、Sebutapeおよび組織 - 体型測定で示されるように、移植したヒト皮膚では脂腺が徐々に再生して7週目に脂腺が完全に再生して皮脂を分泌するようになることも確認した。移植後3カ月で脂腺が最大の大きさになることを観察した。この脂腺はヒトに特異的な皮脂を産生する能力を保持しており、脂腺の組織がヒトに特異的なマーカー (MC5 - Rを包含) を発現した。脂腺が移植後2 - 3カ月で最大の大きさに到達したことから、その時点で脂質分泌の抑制効果を試験した。

## 段階 B：処理方法



ヒト顔面皮膚を移植して2 - 3カ月後のマウスを研究で用いた。移植領域をポリエチレングリコール - エタノールに所望濃度1種または2種以上で溶解させておいた試験化合物で処理した(20  $\mu$ l / 2 cm<sup>2</sup>)。対照には媒体単独による処理を受けさせた。試験化合物を週末を除いて毎日投与した。Sebutapeを用いて、処理後15日目および30日目に皮脂分泌を測定した。

段階C：実験の終結

SEBUTAPEを用いて皮脂の産生を予備的に臨床評価することを通して実験の終結を決定した。この時点で、ヒト皮膚移植片を切除して、代表的なサンプルを組織学的評価の目的で集めた。より詳細には、2 mmのパンチバイオプシー(punch biopsies)を調製して、処理した組織における脂質合成および全脂質蓄積の評価で用いた。

10

段階D：試験を受けさせた組織における脂質合成および全脂質蓄積の評価

集めた2 mmのパンチバイオプシーを個別にKrebs緩衝液に入れて96個ウエルのプレートに入れた後、10  $\mu$ Ciの<sup>14</sup>Cアセテートによる標識を3時間かけて付けた。この標識付け期間の後のサンプルを培地で洗浄し、5個のバイオプシーをプールし、重量を測定した後、脂質抽出で用いた。脂質抽出およびHPTLCによる分析は組織培養誘導細胞で記述したそれらと同じであった。

【0153】

この上に記述した手順に従って、本発明の化合物#74に、SCIDマウスに移植したヒト皮膚を11日間処理した後の脂腺活性抑制に関する試験を受けさせた。

【0154】

20

化合物#74の0.1%溶液を用いた局所的処置を受けさせた後の脂腺を目で見て評価した結果、目で見て脂腺が収縮しておりかつ脂質がダウンレギュレートされていた。0.05%の溶液および0.005%の溶液を用いて局所的に15日間処理した場合、これは脂質をダウンレギュレートするに充分ではなかった。HPTLCを用いて前記細胞に関するヒト脂質の数値的抑制評価を分析し、その結果は表11、12および13に挙げる如くであった。対照を基準にした抑制%数値を挙げる。

【0155】

【表20】

表11

30

化合物#74がヒト脂質に対して示す効果(11日間の処理)

脂質	0.1%の時の抑制%	0.5%の時の抑制%	0.01%の時の抑制%
スクワレン	70	0	0
W/E	80	10	25
トリグリセリド	50	0	0

【0156】

40

## 【表 2 1】

表12

化合物#74が脂質蓄積に対して示す効果(30日間の処理)

脂質	0.05%の時の抑制%	0.01%の時の抑制%
スクワレン	73	82
コレステロールエステル	21	44
ワックスエステル	93	86
トリグリセリド	90	75
コレステロール	82	33

10

## 【 0 1 5 7 】

## 【表 2 2】

表13

化合物#74が脂質合成に対して示す効果(30日間の処理)

脂質	0.05%の時の抑制%	0.01%の時の抑制%
スクワレン	90	80
ワックスエステル	93	86
トリグリセリド	90	75
コレステロール	82	33

20

## 【 0 1 5 8 】

この上に示した表 1 2 および 1 3 で分かるように、化合物 # 7 4 の 0 . 0 5 % 溶液および 0 . 0 1 % 溶液を用いて局所的に処理すると 3 0 日後に全脂質蓄積および脂質のデノボ ( d e n o v o ) 合成の両方が有意に低下した。

30

## 【実施例 1 2】

## 【 0 1 5 9 】

経口用調剤

経口用組成物の具体的な態様として、実施例 2 の化合物 # 7 4 を 1 0 0 m g 用いて、サイズが 0 の硬質ゲルカプセルを充填するに充分な量の微細ラクトースと一緒に全量が 5 8 0 から 5 9 0 m g になるように調合する。

## 【実施例 1 3】

## 【 0 1 6 0 】

局所的調剤

40

A : ミクロエマルジョン

ミクロエマルジョン組成物の具体的な態様として下記の成分を混合し、必要に応じて熱をかける：

## 【 0 1 6 1 】

【表 2 3】

ホリソルベート60 (例えばICI SurfactantsのTween 60)	20部
ハルミン酸イソプロピル	20部
ソルビタンオレエート (例えばICI SurfactantsのSpan 80)	13部
2-エチルヘキサジオール-1,3	4部
ブチル化ヒドロキシトルエン	0.05部
化合物#74	0.05部

10

## 【0162】

次に、その混合した混合物に水（42.9重量部）をゆっくり添加し、必要に応じて混合することで、エマルジョンを得た。

B：水アルコール系ゲル

水アルコール系ゲル組成物の具体的な態様として、ポリプロピレングリコール（10重量部）、ブチレングリコール（10重量部）、ベンジルアルコール（2重量部）、EDTA（0.05重量部）およびBHT（0.05重量部）を水（全体で74.85重量部）と混合する。この混合物の混合を全成分が溶解するまで行う。次に、絶えず回転させながらカルボマー（例えばGoodrichのCarbopol 934P）（3重量部）をゆっくり添加することでゲルを生じさせる。次に、このゲルを混合しながらこれに化合物#74（0.05重量部）を分散させる。このゲルのpHを約pH3-4に調整する。

20

C：無水ゲル

無水ゲルの具体的な態様として、イソプロパノール（20重量部）をブチレングリコール（20重量部）に添加する。次に、このイソプロパノール/ブチレングリコール混合物にBHT（0.05重量部）およびベンジルアルコール（1.0重量部）を添加する。次に、その結果として得た混合物を絶えず混合しながらこれにシクロテトラシロキサン（D<sub>4</sub>）およびオルガノポリシロキサン-11（例えばGrant IndustriesのGransil GSM Gel）（58.85重量部）を添加する。このゲルを絶えず混合しながらこれに化合物#74（0.1重量部）を入れて、それが均一に分散するまで微粉碎して分散させる。

30

D：クリーム

o/w（油/水）クリームの具体的な態様として、下記の成分を以下に示す如き量（重量部）で混合する。塩酸を用いて最終混合物のpHを約2に調整する。

## 【0163】

【表 2 4】

セテアリールアルコール	4.3部
微結晶性ワックス	9.0部
セテス-20界面活性剤 (例えばICI SurfactantsのBrij 58)	1.1部
カプリル酸/カプリン酸トリグリセリド (例えばGoldSchmidtのTegosoft CT)	3.6部
グリシン	0.6部
化合物#74	0.1部
BHT	0.05部
水	81.25部

10

## 【 0 1 6 4 】

この上に示した明細に説明の目的で与えた実施例を伴わせて本発明の原理を教示してきたが、本発明の実施は本請求項およびこれらの相当物の範囲内に入る如き通常の変形、応用形および／または修飾形の全部を包含することは理解されるであろう。

20

## フロントページの続き

- (72)発明者 リー, ダニエル・エイチ  
アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 1 7 7 6 サドベリー・ダットンロード 3 6 1
- (72)発明者 パン, ケビン  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 4 6 0 フェニックスビル・グリーンレーン 4 0 9
- (72)発明者 プラタ-サラマン, カルロス  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 0 0 2 アンブラー・スクワイアドライブ 1 3 1 3
- (72)発明者 ライツ, アレン・ピー  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 4 6 6 ランズデイル・グリーンブライアード 1 0 9
- (72)発明者 スミス-スイントスキー, バージニア・エル  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 4 4 0 ハトフィールド・ラインレキシントンロード 3 1 6 3
- (72)発明者 ツアオ, ボユ  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 4 4 6 ランズデイル・ウエイマスサークル 1 0 5

審査官 早乙女 智美

- (56)参考文献 特表 2 0 0 5 - 5 1 1 6 0 6 ( J P , A )  
国際公開第 0 1 / 0 5 5 1 0 7 ( W O , A 1 )  
国際公開第 0 1 / 0 7 0 3 3 7 ( W O , A 1 )  
ABRAHAM W , TETRAHEDRON , 1 9 7 3 年 3 月 , V29 N5 , P699-705  
Zyabrev, V. S., et al. , Recyclization of dehydrohalogenation products of 2,3,5-trisubstituted 1,2,4-thiadiazolium salts containing an active methylene group on N2 , Russian Journal of Organic Chemistry , 1 9 9 7 年 , 33(11) , p. 1728-1734  
Goerdeler, J., et al. , Decomposition products of imino- 3-1,2,4-thiadiazolines , Chemische Berichte , 1 9 7 9 年 , 112(4) , p. 1288-1296

## (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D 285/08  
C07D 417/12  
A61K 31/433  
A61K 31/4439  
A61P 1/00-43/00  
CAplus(STN)  
REGISTRY(STN)