

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-502963

(P2006-502963A)

(43) 公表日 平成18年1月26日(2006.1.26)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 307/64 (2006.01)	C O 7 D 307/64 C S P	4 C O 3 7
A 6 1 K 31/365 (2006.01)	A 6 1 K 31/365	4 C O 6 3
A 6 1 K 31/385 (2006.01)	A 6 1 K 31/385	4 C O 7 1
A 6 1 K 31/401 (2006.01)	A 6 1 K 31/401	4 C O 8 4
A 6 1 K 31/4025 (2006.01)	A 6 1 K 31/4025	4 C O 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 111 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-564026 (P2003-564026)	(71) 出願人	501241025
(86) (22) 出願日	平成15年1月30日 (2003.1.30)		ガリレオ ファーマシューティカルズ,
(85) 翻訳文提出日	平成16年7月29日 (2004.7.29)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/002766		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 95
(87) 国際公開番号	W02003/064403		054 サンタ クララ パトリック ヘ
(87) 国際公開日	平成15年8月7日 (2003.8.7)		ンリー ドライブ 5301
(31) 優先権主張番号	60/353, 939	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成14年1月31日 (2002.1.31)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
			弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 フラノン誘導体

(57) 【要約】

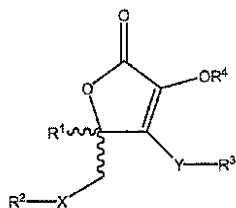
本発明は、酸素剥奪に供された酸化的に適合性の細胞における、代謝完全性の復帰または保存において特に活性である新規フラノン誘導体に関する。フラノン誘導体およびその薬学的に受容可能な塩は、神経炎症、および神経変性障害に対する細胞保護的活性および保護的活性を有し；発作、脳虚血、心筋梗塞、心筋虚血、慢性心不全、炎症および他の酸化的ストレス関連状態、ならびにアルツハイマー病および老年痴呆の処置に有用であり；また、このような状態の処置のための薬学的処方物の製造にも有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I

【化 1】



式 I

10

の化合物（単一の互変異性体、単一の立体異性体ならびに互変異性体および／または立体異性体の混合物を含む）、ならびにそれらの薬学的に受容可能な塩であって、

R^1 は： $-C(O)OR'$ ； $-C(O)NR'R''$ ； $-CH_2OR'''$ ；シアノ；必要に応じて置換された複素環式；必要に応じて置換された複素環式-アルキル；必要に応じて置換されたヘテロアリール、または必要に応じて置換されたヘテロアラルキルであり；

R^2 は：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラルキル；必要に応じて置換された複素環式；必要に応じて置換されたヘテロアリール；必要に応じて置換されたヘテロアラルキル；必要に応じて置換されたヌクレオシド；必要に応じて置換されたアミノ酸；または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチドであり；

20

R^3 は：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラルキル；必要に応じて置換された複素環式；必要に応じて置換されたヘテロアリール；必要に応じて置換されたヘテロアラルキル；必要に応じて置換されたヌクレオシド；必要に応じて置換されたアミノ酸；または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチドであり；

R^4 は：水素；アルキル；アルキルカルボニル；（ポリ）アルコキシアルキレン；またはジアルコキシホスホリルオキシであり；

30

Xは：低級アルキレン； $-N(R')$ ； $-S-$ ； $-S(O)-$ ； $-S(O)_2-$ ；またはXが R^2 と一緒にあって、 $-P(O)(OR')_2$ であり；

Yは： $-N(R')$ ； $-S-$ ； $-S(O)-$ ； $-S(O)_2-$ ；またはYが R^3 と一緒にあって、 $-P(O)(OR')_2$ であり；

あるいは $X-R^2$ が $Y-R^3$ と一緒にあって、必要に応じて置換された脂肪族環もしくは芳香環を形成し；

R' は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；ホスホリル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

R'' は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

40

あるいは R' および R'' が、これらが結合する原子と一緒にあって、5～7員の飽和または不飽和芳香環を形成し、必要に応じて、N、O、またはSから選択される1つ以上のさらなるヘテロ原子が組み込まれ、そして必要に応じて、低級アルキル、ハロ、シアノ、アルキルチオ、低級アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、およびオキソからなる基から選択される1つ以上の置換基で置換され；

R''' は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；アシル、必要に応じて置換されたシクロアルキル；ホスホリル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

ただし、該化合物は、4-ヒドロキシ-3-メタンスルホニル-2-メタン-スルホニル

50

メチル-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルではなく、さらにXが低級アルキレンであって R^2 が必要に応じて置換されたアルキルでない、化合物。

【請求項2】

XおよびYが、共に-S-、-S(O)-、および-S(O)₂-から選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

XおよびYが、共に-S-である、請求項1に記載の化合物。

【請求項4】

R^4 が水素である、請求項1に記載の化合物。

10

【請求項5】

R^4 が水素である、請求項2に記載の化合物。

【請求項6】

請求項1に記載の化合物であって、ここで、 R^1 が-CH₂OR'；-C(O)OR'；または-C(O)NR'R'であり；そしてR'、R'、およびR'が水素および(C₁～C₈)アルキルから選択される、化合物。

【請求項7】

請求項2に記載の化合物であって、 R^1 が-CH₂OR'；-C(O)OR'；または-C(O)NR'R'であり；そしてR'、R'、およびR'が水素および(C₁～C₈)アルキルから選択される、化合物。

20

【請求項8】

請求項5に記載の化合物であって、 R^1 が-CH₂OR'；-C(O)OR'；または-C(O)NR'R'であり；そしてR'、R'、およびR'が水素および(C₁～C₈)アルキルから選択され；そしてR'が水素および(C₁～C₈)アルキルから選択される、化合物。

【請求項9】

請求項2に記載の化合物であって、 R^2 および R^3 は同一であり、以下：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラールキル；必要に応じて置換されたヘテロアリール；および必要に応じて置換されたヘテロアラールキルから選択される、化合物。

30

【請求項10】

請求項9に記載の化合物であって、 R^2 および R^3 は同一であり、以下：必要に応じて置換された(C₁～C₈)アルキル；必要に応じて置換された(C₃～C₈)シクロアルキル；必要に応じて置換されたフェニル；必要に応じて置換されたナフタレニル；必要に応じて置換されたベンジル；必要に応じて置換された1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾチアゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾオキサゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾセレナゾール-2-イル；必要に応じて置換されたフラン-2-イル-低級アルキル；必要に応じて置換されたチアゾール-2-イル；必要に応じて置換された1H-イミダゾール-2-イル；必要に応じて置換されたピリジン-2-イル；必要に応じて置換されたピリミジン-2-イル；必要に応じて置換されたキノリニン-4-イル；必要に応じて置換された[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル；必要に応じて置換された2H-[1,2,4]-トリアゾール-3-イル；および必要に応じて置換された[1,3,4]チアジアゾール-2-イルから選択され；

40

そしてここで前記置換基は、(C₁～C₈)アルキル；(C₁～C₈)アルケニル；ハロゲン；ハロアルキル；アシル、スルホン酸；スルファニル；アミノ；1置換アミノまたは2置換アミノ；アリール；カルボキシ；カルボキシビニル；エステル；アミド、ヒドロキシ；およびアルコキシから選択される、化合物。

【請求項11】

請求項10に記載の化合物であって、 R^2 および R^3 は同一であり、以下：1-H-ベン

50

ゾイミダゾール-2-イル；ベンゾチアゾール-2-イル；5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イル；6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イル；ベンゾオキサゾール-2-イル；4-メトキシ-ベンジル；2, 4-ジクロロベンジル；2-クロロ-6-フルオロ-ベンジル；5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イル；フラン-2-イルメチル；シクロヘキシル；ピリジン-4-イル；5-フェニル-[1, 3, 4]オキサジアゾール-2-イル；ピロリジン-1-カルボチオイル；4-(2-メトキシカルボニル-ビニル)-フェニル；4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イル；4-メチル-ピリミジン-2-イル；およびピリミジン-2-イルから選択される、化合物。

【請求項12】

XおよびYが-S-である、請求項10に記載の化合物。

10

【請求項13】

XおよびYが-S-である、請求項11に記載の化合物。

【請求項14】

請求項13に記載の化合物であって、R'は-C(O)OR'であり；R'は水素および(C₁～C₈)アルキルから選択され；そしてR⁴は水素である、化合物。

【請求項15】

請求項13に記載の化合物であって、R¹は-CH₂OR'であり；R'は水素および(C₁～C₈)アルキルから選択され；そしてR⁴は水素である、化合物。

【請求項16】

請求項13に記載の化合物であって、R'は-C(O)NR'R'であり；R'およびR'は水素、(C₁～C₈)アルキルおよびヒドロキシ(C₁～C₈)アルキルから選択され；そしてR⁴は水素である、化合物。

20

【請求項17】

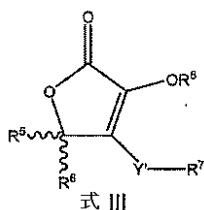
請求項1に記載の化合物であって、R²およびR³が、必要に応じて置換されたジチア-シクロヘキセン；必要に応じて置換されたジチア-シクロヘプテン；または7, 8-ジヒドロ-6H-5, 9-ジチア-ベンゾシクロヘプテンを形成し；そしてここで、前記置換基が、(C₁～C₈)アルキル、ハロゲン、またはオキソから選択される、化合物。

【請求項18】

式III:

【化2】

30



の化合物（単一の互変異性体、単一の立体異性体ならびに互変異性体および／または立体異性体の混合物を含む）、ならびにそれらの薬学的に受容可能な塩であって、

R⁵は：-C(O)OR^a；-C(O)NR^aR^b；-CH₂OR^d；-C(O)R^c；シアノ；必要に応じて置換された複素環式；または必要に応じて置換されたヘテロアリールであり；

40

R⁶は：水素；-C(O)OR^a；-C(O)NR^aR^b；-CH₂OR^d；-C(O)R^c；シアノ；必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換された複素環式；必要に応じて置換されたアリール、または必要に応じて置換されたヘテロアリール；

あるいはR⁵およびR⁶が、それらが結合する原子と一緒に、必要に応じて置換された環を形成し；

R⁷は：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラルキル；必要に応じて置換された複素環式；必要に応じて置換されたヘテロアリール；必要に応じて置換されたヘテロアラルキル；必要に応じて置換されたヌクレオシド；必要に応じて置換されたアミノ酸

50

；または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチドであり；ただし、 R^6 がアルキルである場合、 R^7 は必要に応じて置換された複素環式、必要に応じて置換されたヘテロアリール、または必要に応じて置換されたヘテロアルキルであり；

あるいは R^5 および R^7 が、それらが結合する原子と一緒にあって、必要に応じて置換された複素環式環を形成し；

R^8 は：水素；アルキル；アルキルカルボニル；（ポリ）アルコキシアルキレン；またはジアルコキシホスホリルオキシであり；

Y' は： $-N(R^a)-$ ； $-S-$ ； $-S(O)-$ ；または $-S(O)_2-$ であり；

R^a は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり； 10

R^b は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

あるいは R^a および R^b が、それらが結合する原子と一緒にあって、5～7員の飽和または不飽和芳香環を形成し、必要に応じて、N、O、またはSから選択される1つ以上のさらなるヘテロ原子を組み込み、そして必要に応じて、必要に応じて置換された低級アルキル、ハロ、シアノ、アルキルチオ、低級アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、およびオキソからなる基から選択される1つ以上の置換基で置換され；

R^c は、必要に応じて置換されたアルキルまたは必要に応じて置換されたアリールであり；そして 20

R^d は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；アシル、必要に応じて置換されたシクロアルキル；または必要に応じて置換されたアリールである；
化合物。

【請求項 19】

Y' が $-S-$ ； $-S(O)-$ ；および $-S(O)_2-$ から選択される、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 20】

Y' が $-S-$ である、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 21】

R^8 が水素である、請求項 18 に記載の化合物。 30

【請求項 22】

R^8 が水素である、請求項 20 に記載の化合物。

【請求項 23】

請求項 20 に記載の化合物であって、 R^5 が $-C(O)OR^a$ であり；そして R^a が水素； $(C_1 \sim C_8)$ アルキル；および $(C_1 \sim C_8)$ アルキル- $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキルから選択される、化合物。

【請求項 24】

請求項 20 に記載の化合物であって、 R^6 が水素または $-C(O)OR^a$ であり；そして R^a が水素および $(C_1 \sim C_8)$ アルキルから選択される、化合物。

【請求項 25】 40

請求項 23 に記載の化合物であって、 R^6 が水素または $-C(O)OR^a$ であり；そして R^a が水素および $(C_1 \sim C_8)$ アルキルから選択される、化合物。

【請求項 26】

請求項 20 に記載の化合物であって、 R^5 が $-C(O)R^c$ であり、そして R^c が水素； $(C_1 \sim C_8)$ アルキル；およびアリールから選択される、化合物。

【請求項 27】

R^6 が水素である、請求項 26 に記載の化合物。

【請求項 28】

請求項 20 に記載の化合物であって、 R^7 がベンジル；4-フルオロベンジル；1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；5-メチル-1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル； 50

ベンゾチアゾール-2-イル；5-クロロベンゾチアゾール-2-イル；および4-フェニルチアゾール-2-イルから選択される、化合物。

【請求項29】

請求項28に記載の化合物であって、 R^5 が $-C(O)OR^a$ であり； R^a が水素；($C_1 \sim C_8$) アルキル；および($C_1 \sim C_8$) アルキル- ($C_3 \sim C_8$) シクロアルキルから選択され；そして R^6 が水素である、化合物。

【請求項30】

請求項28に記載の化合物であって、 R^5 および R^6 が $-C(O)OR^a$ であり； R^a が水素および($C_1 \sim C_8$) アルキルから選択され；そして R^6 が水素である、化合物。

【請求項31】

請求項28に記載の化合物であって、 R^5 が $-C(O)R^c$ であり； R^c が水素；($C_1 \sim C_8$) アルキル；またはアリールから選択され；そして R^6 が水素である、化合物。

【請求項32】

請求項1～31のいずれか一項に記載の少なくとも1つの治療有効量の化合物を含む薬学的処方物であって、少なくとも1つの薬学的に受容可能な賦形剤と混合されている、薬学的処方物。

【請求項33】

医薬として使用するための、請求項1～31のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項34】

酸化ストレスを特徴とする状態の処置または予防のための医薬の製造のための、請求項1～31のいずれか一項に記載の1つ以上の化合物の使用。 20

【請求項35】

前記状態が、発作；脳虚血；網膜虚血；術後性認知機能障害；末梢神経障害；脊髄損傷；頭部外傷；および外科的外傷から選択される、請求項34に記載の使用。

【請求項36】

前記状態が、炎症性成分または自己免疫性成分を含む、請求項34の使用。

【請求項37】

請求項1～31のいずれか一項に記載の1つ以上の化合物の使用であって、神経炎症または神経変性疾患を特徴とする状態の処置または予防のための医薬の製造のための、使用。

【請求項38】

前記状態が、アルツハイマー病および老年痴呆から選択される、請求項37に記載の使用。 30

【請求項39】

請求項1～31のいずれか一項に記載の1つ以上の有効量の化合物を投与する工程を包含する、酸化ストレスを特徴とする状態に罹患した哺乳類の処置のための方法。

【請求項40】

請求項39に記載の方法であって、前記状態が、発作；脳虚血；網膜虚血；術後性認知機能障害；末梢神経障害；脊髄損傷；頭部外傷；および外科的外傷から選択される、方法。

【請求項41】

前記状態が、炎症性成分または自己免疫性成分を含む、請求項40に記載の方法。 40

【請求項42】

前記化合物が以下から選択される、請求項41に記載の方法：

- ・ 3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -2- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (5-フェニル-2H- [1, 2, 4] トリアゾール-3-イルスルファニル) -2- (5-フェニル-2H- [1, 2, 4] トリアゾール-3-イルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) -5- (1H-ベンゾイミ 50

- ダゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5
H-フラン-2-オン；
- ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イル
スルファニル)-2-(4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメ
チル)-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(ピ
リミジン-2-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸
エチルエステル；
 - ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(2-スルホ-エチルスルファニル)-2-(2-
スルホ-エチルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチ
ルエステル； 10
 - ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルス
ルファニル)-2-(7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニルメチル
)-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・3-(ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾセレナゾール-2
-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロ-フラン
-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-スルホン酸-1H-ベンゾイミダゾール-2
-イルスルファニル)-2-(5-スルホン酸-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルス
ルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル； 20
 - ・3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミ
ダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒ
ドロ-フラン-2-カルボン酸；
 - ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニル)
-2-(ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロ-フ
ラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・3-シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒド
ロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステ；
 - ・3-(2-ジメチルアミノ-エチルスルファニル)-2-(2-ジメチルアミノ-エチ
ルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロ-フラン-2 30
-カルボン酸エチルエステル，塩酸塩；
 - ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリジン-4-イルスルファニル)-2-(ピリ
ジン-4-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチ
ルエステル；
 - ・5, 8-ジクロロ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-2H-1-オキソ-4, 9-ジチア
-ベンゾ[f]アズレン-10a-カルボン酸エチルエステル；
 - ・3-(5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-クロロ-
ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,
5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；および
 - ・3-(5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニル)-2-(40
5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒド
ロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【請求項43】

前記化合物が以下から選択される、請求項40に記載の方法：

- ・3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イ
ルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロ-フラン-2
-カルボン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド；
- ・3-(2, 4-ジクロロベンジルスルファニル)-2-(2, 4-ジクロロベンジルス
ルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロ-フラン-2-カ
ルボン酸エチルエステル；

- ・ 3- (5-アミノ- [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニル) -2- (5-アミノ- [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸；
- ・ 4- (2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ) -3- (フラン-2-イルメチルスルファニル) -2- (フラン-2-イルメチルスルファニルメチル) -5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -2- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3- (ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル) -2- (ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 10
- ・ 3- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) -2- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニル) -2- (ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 20
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (ピリジン-4-イルスルファニル) -2- (ピリジン-4-イルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (5-フェニル- [1, 3, 4] オキサジアゾール-2-イルスルファニル) -2- (5-フェニル- [1, 3, 4] オキサジアゾール-2-イルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；および
- ・ 3- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) -2- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。 30

【請求項 44】

請求項 1～31 のいずれか一項に記載の有効量の化合物を投与する工程を包含する、神経炎症または神経変性疾患を特徴とする状態に罹患した哺乳類の処置のための方法。

【請求項 45】

前記状態が、アルツハイマー病および老年痴呆から選択される、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記化合物が以下から選択される、請求項 44 に記載の方法：

- ・ 3- (2-クロロ-6-フルオロ-ベンジルスルファニル) -2- (2-クロロ-6-フルオロ-ベンジルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 40
- ・ 4-ヒドロキシ-3- (5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -2- (5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) -5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 2- (ベンゾチアゾール-2-スルフィニルメチル) -3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-3- (6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -2- (6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) -5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 50

- ・ 4-ヒドロキシ-3-[4-(2-メトキシカルボニル-ビニル)-フェニルスルファニル]-2-[4-(2-メトキシカルボニル-ビニル)-フェニルスルファニルメチル]-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4-(2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ)-3-(フラン-2-イルメチルスルファニル)-2-(フラン-2-イルメチルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-ベンジルスルファニル)-2-(4-メトキシ-ベンジルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-エトキシ-3-(1-エチル-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル)-5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4-ヒドロキシ-3-(4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(ピリミジン-2-イルスルファニルメチル)-5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; および
- ・ 3-(ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

10

20

30

40

【請求項 47】

上記明細書の発明。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

(発明の分野)

本発明は、フラノン誘導体、特に、細胞保護的活性を有する誘導体（特に、ある種の3-ヒドロキシ-2-オン誘導体）に関する。本発明はまた、発作、心筋梗塞および慢性心不全ならびに代表的に細胞性酵素調節に応答性の他の酸化的ストレス関連状態を処置するための処方物および方法に関する。本発明はまた、神経炎症（neuroinflammation）、認知障害および神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病および老年痴呆）を処置するための処方物および方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

(発明の背景)

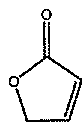
本発明は、本出願人らの先願である米国特許出願番号10/138,937号および10/138,032号に記載される一連のピルビン酸誘導体から、適切な条件下で形成される特定の新規フラノン誘導体を取り扱う。

【0003】

フラノンは、以下の一般的構造を有する化合物である

【0004】

【化 3】



。フラノン誘導体化組成物は、種々の有用性を有することが当該分野で公知である。例えば、米国特許第 6, 296, 889 号は、乳製品およびコーヒーの芳香香味 (aroma flavor) 増強を提供するための 1-ノネン-3-オンと組み合わせての特定のフラノン化合物を使用を記載する。特定のフラノン (例えば、3, -(3, 4-ジフルオロフェニル)-4-(4-(メチルスルホニル)フェニル)-2-(5H)-フラノン、3-フェニル-4-(4-(メチルスルホニル)フェニル)-2-(5H)-フラノンおよび 5, 5-ジメチル-4-(4-(メチルスルホニル)フェニル)-3-(3-フルオロフェニル)-5H-フラン-2-オン) は、特定の炎症性状態を処置するのに有用なシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) インヒビターであることが示された (米国特許第 5, 474, 995 号、同第 6, 239, 173 号)。フラノン誘導体の有用性の多様性は、海洋構造物上での種々の海草、無脊椎動物および細菌の増殖を阻害し得る、海洋抗付着物剤 (米国特許第 6, 060, 046 号) としての、オーストラリア赤海草 *Delisea annulcha* から単離された特定のハロゲン化フラノンの発見によってさらに示される。フラノン誘導体 4-ヒドロキシ-3-メタンスルホニル-2-メタンスルホニルメチル-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル (CAS 登録番号 299923-61-8) は、とりわけ、InterBioScreen Ltd. (Moscow, Russia-www.ibscreen.com) の化合物ライブラリーからのスクリーニングのために利用可能である。

【0005】

化合物 4-ヒドロキシ-3-イソブチル-2-(3-メチルブチリル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸メチルエステルの合成は、Trogo, C. ら、*Annali di Chimica* 62 (10), 674-92, (1972) に記載され、4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 3-ジペンチル-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの合成は、Hoffman, R. V. ら、*Journal of Organic Chemistry*, 62 (8) 2458-2465, (1997) に記載される。ヒドロキシアлкаノエートからの特定のフラノン誘導体の合成は、Stach, H., *Helvetica Chimica Acta* (1987), 70 (2), 369-74 に記載される。

【0006】

脳虚血または「発作」は、脳の全てまたは一部への血流の重篤な減少または停止をいう。脳虚血は、脳血管性閉塞、血栓塞栓障害、心不全および出血偶発症候が挙げられるがこれらに限定されない多くの原因または障害の結果として生じ得る。薬理学的介入は、初期障害の妥当な間隔以内に提供される場合、脳虚血後の大脳組織死を有意に減少し得ることが、いまや公知である。

【0007】

アルツハイマー病 (「AD」) は、ヒト中枢神経系の進行性疾患である。これは、初老期における痴呆、見当識障害、記憶喪失、言語障害、計算障害、または視覚空間見当識障害によって、および精神医学的発現によって示される。これは、脳のいくつかの領域におけるニューロンの変性に関連する。アルツハイマー病は、Price, D. L. ら (*Clin. Neuropharm.* 14: S9-S14 (1991)); Pollwein, P. ら (*Nucl. Acids Res.* 20: 63-68 (1992)); Regland, B. ら (*Med. Hypoth.* 38: 11-19 (1992)) および Johnson, S. A. (*Review of Biological Research in Aging*, 第 4 巻, Rothstein, M. (編), Wiley-Liss, NY, 163-170 (1990)) によって概説される。

【0008】

本発明は、酸化ストレスおよび／または炎症によって特徴付けられる状態に対する新規の治療を提供することへの要望、および特に、脳虚血の事象における神経的保護を提供することへの要望に取り組み、特に、虚血性傷害後、有意な期間（例えば、約5時間以上）の後に最初に投与される場合でも効果的な薬剤が所望される。本発明はまた、神経性炎症、認知障害、および／または神経変性障害（例えば、アルツハイマー病および老年痴呆）によって特徴付けられる状態に対する新規の治療を提供することへの要望に取り組む。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0009】

10

（発明の要旨）

本発明は、酸素剥奪に供された酸化的に適合性の細胞における、代謝完全性の復帰または保存において特に活性である新規フラノン誘導体に関する。このようなフラノン誘導体は、酸化ストレスによって特徴付けられる多くの状態の処置のための薬学的組成物の製造において、特に、虚血傷害後の有意な時間間隔で投与される場合でさえも、脳虚血の事象における神経的保護を提供することにおいて、有用である。特に、本発明の組成物は、限局性脳虚血の標準的実験モデルにおいて神経的保護を提供することによって示されるように、発作の処置において有用である。本発明の組成物はまた、神経性炎症、認知障害および神経変性疾患（例えば、脳血管疾患におけるニューロパシー、脳の外傷、脳性麻痺、癲癇、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンティングトン病、精神病（mental disease）（例えば、精神病（psychosis）、精神分裂病、鬱病）、パーキンソン病、フリードライヒ病、ダウン症候群、クロイツフェルトーヤコブ症候群、アルツハイマー病、および老年痴呆）の処置において有用である。

20

【0010】

本発明の組成物はまた、心筋虚血（心筋梗塞）ならびに酸化ストレスおよび／または炎症によって特徴付けられる他の適応症（糖尿病、腎疾患、月経前症候群、喘息、心臓炎症性障害、慢性心不全、慢性関節リウマチ、筋疲労、間欠性跛行が挙げられるがこれらに限定されない）によって特徴付けられる他の適応症の処置において有用であり、そして移植のための同種移植片組織の保存のために有用である。

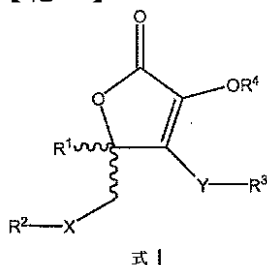
【0011】

30

本発明は、以下の式によって示される化合物に関し：

【0012】

【化4】



40

ここで、 R^1 は： $-C(O)OR'$ ； $-C(O)NR'R''$ ； $-CH_2OR'''$ ；シアノ；必要に応じて置換された複素環；必要に応じて置換された複素環-アルキル；必要に応じて置換されたヘテロアリール、または必要に応じて置換されたヘテロアラールキルであり；

R^2 は：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラールキル；必要に応じて置換された複素環；必要に応じて置換されたヘテロアリール；必要に応じて置換されたヘテロアラールキル；必要に応じて置換されたヌクレオシド；必要に応じて置換されたアミノ酸；または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチドであり

50

；
 R^3 は：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラルキル；必要に応じて置換された複素環；必要に応じて置換されたヘテロアリール；必要に応じて置換されたヘテロアラルキル；必要に応じて置換されたヌクレオシド；必要に応じて置換されたアミノ酸；または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチドであり；

R^4 は：水素；アルキル；アルキルカルボニル；（ポリ）アルコキシアルキレン；またはジアルコキシホスホリルオキシ（または、容易に加水分解され、OH部分を提供する他の部分）であり；

Xは：低級アルキレン； $-N(R')$ ； $-S-$ ； $-S(O)-$ ； $-S(O)_2-$ であるか；またはXが R^2 と一緒にあって、 $-P(O)(OR')_2$ であり；

Yは： $-N(R')$ ； $-S-$ ； $-S(O)-$ ； $-S(O)_2-$ であるか；またはYが R^3 と一緒にあって、 $-P(O)(OR')_2$ であり；

あるいは $X-R^2$ が $Y-R^3$ と一緒にあって、必要に応じて置換された脂肪族環もしくは芳香環を形成し；

R' は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；ホスホリル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

R'' は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

あるいは R' および R'' は、これらが結合する原子と一緒にになり、5～7員の飽和または不飽和の芳香環を形成し、必要に応じて、N、O、またはSから選択される1つ以上の付加的ヘテロ原子を組み込み、そして必要に応じて、必要に応じて置換された低級アルキル、ハロ、シアノ、アルキルチオ、低級アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、およびオキソからなる群から選択される1つ以上の置換基で置換され；

R''' は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；アシル；ホスホリル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

この化合物は、互変異性体単独、立体異性体単独ならびに互変異性体および／または立体異性体の混合物、ならびにそれらの薬学的に受容可能な塩を含む。

【0013】

1つの実施形態において、 R^4 は、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、または $(C_1 \sim C_8)$ アルキルカルボニルである。

【0014】

R^2 および／または R^3 が、天然または置換された、アミノ酸またはペプチドである別の実施形態において、 R^2 および／または R^3 は、群：Ala、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、Lys、Met、SerおよびThr、特に、Ala、Asp、Cys、GluおよびGlyから選択される。 R^2 および／または R^3 が、天然または置換された、ジペプチドまたはトリペプチド、特に、天然ペプチドであるこれらの化合物は、さらに好ましい。

【0015】

さらに別の実施形態において、 R^2 および／または R^3 は、必要に応じて置換されたヘテロアリール基またはヘテロアラルキル基であり、特に、必要に応じて置換される窒素含有ヘテロアリールであり、そして、特に、群：イミダゾール、ピラゾール、トリアゾール、チアジアゾール、オキサジアゾール、ベンゾイミダゾール、ベンゾオキサゾール、ベンゾセレナゾール(benzoselenazol)、およびベンゾチアゾール、または必要に応じて置換されたヘテロアラルキル基、特に、必要に応じて置換されたフラニル-低級アルキル基から選択される。

【0016】

さらに別の実施形態において、 R^2 および／または R^3 は、必要に応じて置換されたア

10

20

30

40

50

ルキルまたは必要に応じて置換されたシクロアルキルである。

【0017】

別の実施形態において、 R^2 および／または R^3 は、必要に応じて置換されたアリール、または必要に応じて置換されたアラルキル、好ましくは、必要に応じて置換されたフェニルまたはベンジルである。

【0018】

前述の実施形態の各々において、 R^1 が $-C(O)OR'$ ； $-CH_2OR''$ ；または $-C(O)NR'R''$ であり；そして R' 、 R'' 、および R''' が、水素または $(C_1 \sim C_8)$ 低級アルキルであり、特に、 R^1 が $-C(O)OR'$ であり、 R' が水素または $(C_1 \sim C_8)$ アルキルであることが、さらに好ましい。

10

【0019】

本発明の薬学的に受容可能な塩について、本発明のフラノン化合物の TEA 塩、TFA 塩、HCl 塩、HBr 塩、MSOH 塩、TSOH 塩、AcOH 塩および Na 塩が、現在好ましい。

【0020】

前述の実施形態の各々において、X および Y が、同じであり、特に、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ または $-S(O)_2-$ であり、好ましくは、 $-S-$ であり；そして、特に、 $-X-R^2$ および $-Y-R^3$ が同じである化合物が、さらに好ましい。

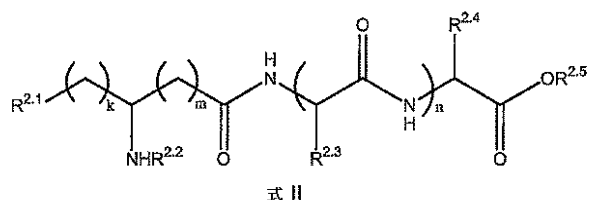
【0021】

本発明の別の実施形態は、式 I に従う化合物に関し、ここで、 $X-R^2$ および／または $Y-R^3$ が、以下の式によって示され：

20

【0022】

【化5】



30

ここで、 $R^{2,1}$ は、水素、必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたアリール、 $-C(O)-O-R^2$ 、 $-S-$ 、または $-CH_2-S-$ であり；

$R^{2,2}$ は、水素、必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアラルキル、または必要に応じて置換されたアリル（特に、脂肪族置換基、芳香族置換基および環状アシル置換基が挙げられる）であり；

$R^{2,3}$ は、水素、必要に応じて置換された低級アルキル、必要に応じて置換されたアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、または $-CH_2-S-(R^{2,3})$ の各場合において、独立して選択される）であり；

$R^{2,4}$ は、水素、必要に応じて置換された低級アルキル、必要に応じて置換されたアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、または $-CH_2-S-$ であり；

40

$R^{2,5}$ は、水素、必要に応じて置換されたアルキル、または必要に応じて置換されたアリールであり；

$R^{2,6}$ は、水素、必要に応じて置換されたアルキル、または必要に応じて置換されたアリール（ $R^{2,6}$ の各場合において、独立して選択される）であり；

k は、0、1 または 2 であり；

m は、0、1 または 2 であり；そして

n は、0、1、2 または 3 であり；

$R^{2,1}$ 、 $R^{2,3}$ および $R^{2,4}$ の少なくとも 1 つは、 $-CH_2-S-$ である。

【0023】

$X-R^2$ および／または $Y-R^3$ が、式 I I によって示される化合物の中で、以下の群

50

から選択される置換基の化合物が好ましい：

$R^{2,1}$ は、 $-C(O)-O-R^{2,1}$ であり、ここで、 $R^{2,1}$ が、水素または低級アルキル、特にエチルであり；

$R^{2,2}$ は、水素であり；

$R^{2,3}$ は、 $-CH_2-S-$ であり；

$R^{2,4}$ は、水素、必要に応じて置換された低級アルキル、必要に応じて置換されたアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアラルキルであり；

$R^{2,5}$ は、水素または低級アルキル、特に水素であり；そして／あるいは

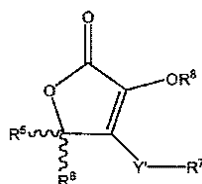
k、m および n は、それぞれ、0、2、1；1、0、1；または 2、0、1 である。

【0024】

本発明の別の局面は、以下の式によって示される化合物に関する：

【0025】

【化6】



式 III

ここで、 R^5 は： $-C(O)OR^a$ ； $-C(O)NR^aR^b$ ； $-CH_2OR^d$ ； $-C(O)R^c$ ；シアノ；必要に応じて置換された複素環；または必要に応じて置換されたヘテロアリールであり；

R^6 は：水素； $-C(O)OR^a$ ； $-C(O)NR^aR^b$ ； $-CH_2OR^d$ ； $-C(O)R^c$ ；シアノ；必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換された複素環；必要に応じて置換されたアリール、または必要に応じて置換されたヘテロアリールであり；

あるいは R^5 および R^6 は、これらが結合する原子と一緒に、必要に応じて置換された環を形成し；

R^7 は：必要に応じて置換されたアルキル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；必要に応じて置換されたアリール；必要に応じて置換されたアラルキル；必要に応じて置換された複素環；必要に応じて置換されたヘテロアリール；必要に応じて置換されたヘテロアラルキル；必要に応じて置換されたヌクレオシド；必要に応じて置換されたアミノ酸；または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチドであり；ただし、 R^6 がアルキルである場合、 R^7 は必要に応じて置換された複素環、必要に応じて置換されたヘテロアリール、または必要に応じて置換されたヘテロアラルキルであり；

あるいは R^5 および R^7 は、これらが結合する原子と一緒に、必要に応じて置換された複素環式環を形成し；

R^8 は：水素；アルキル；アルキルカルボニル；（ポリ）アルコキシアルキレン；またはジアルコキシホスホリルオキシであり；

Y' は： $-N(R^a)-$ ； $S-$ ； $-S(O)-$ ；または $-S(O)_2-$ であり；

R^a は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；アルキルエーテル；必要に応じて置換されたシクロアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

R^b は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

あるいは R^a および R^b は、これらが結合する原子と一緒に、5～7員の飽和または不飽和の芳香環を形成し、必要に応じて、N、O、またはSから選択される1つ以上の付加的ヘテロ原子を組み込み、そして必要に応じて、必要に応じて置換された低級アルキル、ハロ、シアノ、アルキルチオ、低級アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、およびオキソからなる群から選択される1つ以上の置換基で置換され；

10

20

30

40

50

R^c は、必要に応じて置換されたアルキルまたは必要に応じて置換されたアリールであり；そして

R^d は：水素；アルケニル；必要に応じて置換されたアルキル；アシル、必要に応じて置換されたシクロアルキル；または必要に応じて置換されたアリールであり；

これらは、互変異性体単独、立体異性体単独ならびに互変異性体および／または立体異性体の混合物、ならびにそれらの薬学的に受容可能な塩を含む。

【0026】

別の実施形態において、 R^7 は、必要に応じて置換されたヘテロアリール基、特に、必要に応じて置換された窒素含有置換ヘテロアリールであり、そして、特に、イミダゾール；ピラゾール；トリアゾール；チアジアゾール；オキサジアゾール；ベンゾイミダゾール；ベンゾオキサゾール；ベンゾセレナゾール；およびベンゾチアゾールからなる群から選択される。

10

【0027】

別の実施形態において、 R^5 は、 $-C(O)OR^a$ または $-C(O)R^c$ であり； R^a は、水素、 $(C_1 - C_8)$ アルキル、または $(C_3 - C_8)$ シクロアルキルであり；そして R^c は、低級アルキルまたはアリールである。

【0028】

別の実施形態において、 R^5 は、ヘテロアリールであり、 R^6 は、水素である。

【0029】

別の好ましい実施形態において、 R^6 は、水素または $-C(O)OR^a$ であり； R^a は、水素または低級アルキル $(C_1 \sim C_8)$ である。

20

【0030】

別の好ましい実施形態において、 R^5 および R^6 は、環、特に、ピリミジン-2, 4, 6-トリオン環またはシクロヘキサノン環を形成する。

【0031】

別の好ましい実施形態において、 R^5 および R^7 は、環を形成し、特に、 R^7 がベンゾイミダゾールの場合、環は、3-メチル-チオモルホリン-3-オールであり、形成される化合物は、1, 4-ジヒドロ-4-メチル-3a, 4-ジヒドロ-3-オキサ-10-チア-4a, 9-ジアザ-シクロペンタ [b] フルオレン-2-オンである。

【0032】

別の好ましい実施形態において、 R^8 は、水素である。

30

【0033】

前述の各々の実施形態において、 R^5 が、 $-C(O)OR^a$ または $-C(O)R^c$ であり； R^6 が、水素であり、 Y' が、 $-S-$ である化合物が、さらに好ましい。

【0034】

別の局面において、本発明は、特に、前記金属が、二価の銅、マンガン、または亜鉛から選択され、特に、ここで、前記金属が、 $Cu^{2+}Cl_2$ 、 $Mn^{2+}Cl_2$ 、および $Zn^{2+}Cl_2$ から選択される場合、金属と錯体を形成する式 I または式 I I I の化合物に関する。

【0035】

別の局面において、本発明は、治療有効量の式 I もしくは式 I I I の化合物を含む薬学的組成物または少なくとも1つの薬学的に受容可能な賦形剤と混合されたその薬学的に受容可能な塩に関する。式 I または式 I I I の化合物が、好ましい化合物から選択される薬学的混合物は、特に好ましい。

40

【0036】

なお別の局面において、本発明は、哺乳動物における細胞性酵素調節に応答性である発作および／または他の酸化ストレス関連状態（例えば、脳虚血、心筋梗塞および慢性心不全（特に、発作／脳虚血））を処置する必要がある哺乳動物に、治療有効量の式 I もしくは式 I I I の化合物またはその薬学的に受容可能な塩を投与することによって、これらを処置する方法に関する。処置の方法および処置のための薬学的組成物の製造における使

50

用が特に好ましく、ここで、式 I または式 I I I の化合物が、好ましい化合物から選択され、特に、以下から選択される化合物から選択される：

- ・ 3-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸（2-ヒドロキシエチル）-アミド；
- ・ 3-（2, 4-ジクロロベンジルスルファニル）-2-（2, 4-ジクロロベンジルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸； 10
- ・ 4-（2, 2-ジメチルプロピオニルオキシ）-3-（フラン-2-イルメチルスルファニル）-2-（フラン-2-イルメチルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 20
- ・ 3-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニル）-2-（ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（ピリジン-4-イルスルファニル）-2-（ピリジン-4-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 30
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（5-フェニル-[1, 3, 4]オキサジアゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-フェニル-[1, 3, 4]オキサジアゾール-2-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；および
- ・ 3-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【0037】

好ましい実施形態において、本発明は、発作、脳虚血、網膜虚血、外科手術後認知機能不全、末梢神経障害／神経障害性疼痛、脊髄傷害、頭部傷害および外科的外傷から選択される状態を処置する方法に関する。 40

【0038】

別の好ましい実施形態において、本発明は、炎症性成分または自己免疫成分に関与する状態、特に、糖尿病、腎疾患、月経前症候群、喘息、慢性関節リウマチ、変形性関節症、筋疲労、過敏性腸疾患、炎症性腸疾患、および間欠性跛行が挙げられるがこれらに限定されない疾患を処置する方法に関する。処置の方法および処置のための薬学的組成物の製造における使用が特に好ましく、ここで、化合物は、好ましい化合物から選択され、特に、以下から選択される化合物から選択される：

- ・ 3-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾチアゾール-2-イ 50

- ルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (5 - フェニル - 2 H - [1, 2, 4] トリアゾール - 3 - イルスルファニル) - 2 - (5 - フェニル - 2 H - [1, 2, 4] トリアゾール - 3 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (4 - トリフルオロメチル - ピリミジン - 2 - イルスルファニル) - 2 - (4 - トリフルオロメチル - ピリミジン - 2 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (ピリミジン - 2 - イルスルファニル) - 2 - (ピリミジン - 2 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (2 - スルホ - エチルスルファニル) - 2 - (2 - スルホ - エチルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (7 - トリフルオロメチル - キノリン - 4 - イルスルファニル) - 2 - (7 - トリフルオロメチル - キノリン - 4 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (ベンゾセレナゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (ベンゾセレナゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (5 - スルホン酸 - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (5 - スルホン酸 - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (ピロリジン - 1 - カルボチオイルスルファニル) - 2 - (ピロリジン - 1 - カルボチオイルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - シクロヘキシルスルファニル - 2 - シクロヘキシルスルファニルメチル - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (2 - ジメチルアミノ - エチルスルファニル) - 2 - (2 - ジメチルアミノ - エチルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル, 塩酸塩;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (ピリジン - 4 - イルスルファニル) - 2 - (ピリジン - 4 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 5, 8 - ジクロロ - 3 - ヒドロキシ - 2 - オキソ - 2 H - 1 - オキソ - 4, 9 - ジチア - ベンゾ [f] アズレン - 10 a - カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (5 - クロロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (5 - クロロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル; および
- ・ 3 - (5 - アミノ - [1, 3, 4] チアジアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (5 - アミノ - [1, 3, 4] チアジアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル。

【0039】

酸化ストレスによって特徴付けられる別の群の疾患は、皮膚状態の群に含まれ、この疾患としては、有害な紫外線（UV）照射、ストレスおよび疲労のような傷害から生じる年齢関連損傷または傷害の防止あるいは年齢関連損傷または傷害に対する皮膚組織の保護および接触皮膚炎、皮膚刺激、皮膚色素化、乾癬、または挫瘡の処置が挙げられるがこれらに限定されない。

【0040】

なお別の局面において、本発明は、神経性炎症、認知障害、および／または神経変性障害の処置を必要とする哺乳動物に、治療有効量の式 I もしくは式 I I I の化合物またはその薬学的に受容可能な塩を投与することによって、これらを処置する方法に関連する。処置の方法および処置のための薬学的組成物の製造における使用が特に好ましく、ここで、式 I または式 I I I の化合物は、好ましい化合物から選択され、特に、以下から選択される化合物から選択される：

・ 3-（2-クロロ-6-フルオロ-ベンジルスルファニル）-2-（2-クロロ-6-フルオロ-ベンジルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-（5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 2-（ベンゾチアゾール-2-スルフィニルメチル）-3-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-（6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-[4-（2-メトキシカルボニル-ビニル）-フェニルスルファニル]-2-[4-（2-メトキシカルボニル-ビニル）-フェニルスルファニルメチル]-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-（2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ）-3-（フラン-2-イルメチルスルファニル）-2-（フラン-2-イルメチルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-（4-メトキシ-ベンジルスルファニル）-2-（4-メトキシ-ベンジルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 2-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-エトキシ-3-（1-エチル-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニル）-2-（4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-（4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニル）-2-（4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（ピリミジン-2-イルスルファニル）-2-（ピリミジン-2-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；および

・ 3-（ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン

10

20

30

40

50

－ 2 － カルボン酸エチルエステル。

【 0 0 4 1 】

本発明の特定の実施形態は、種々の発明の式からのペンダント置換基の、新規の組み合わせおよび好ましい組み合わせを提供する。

【 0 0 4 2 】

化合物 4－ヒドロキシ－3－メタンスルホニル－2－メタンスルホニルメチル－5－オキソ－2, 5－ジヒドロフラン－2－カルボン酸エチルエステルは、本発明の物質の組成物から除外される（が、例えば、使用の方法および薬学的処方物からは、除外されない）。

【 0 0 4 3 】

（発明の詳細な説明）

（定義）

本明細書中で使用される場合、以下の語および句は、一般に以下に示す意味を有すると意図され、これらが用いられる文脈が他のように示す程度を除外する。

【 0 0 4 4 】

用語「任意の」または「必要に応じて」は、続いて記載される事象または状況が、生じても生じなくてもよいこと、そしてこの記載が、上記の事象または状況が生じる場合およびそれが生じない場合を含むことを意味する。例えば、「必要に応じて置換されたアルキル」は、以下に規定されるような「アルキル」または「置換アルキル」のいずれかを意味する。このような基が立体的に实际的でなく、および／または合成的に実行不可能な任意の置換または置換パターンを導入するよう意図されないことが、1つ以上の置換基を含む任意の基に関して、当業者に理解される。

【 0 0 4 5 】

特定の化合物、反応物、または反応パラメータの略語が、以下の様に規定される：

「DCM」は、ジクロロメタンまたはメチレンクロライドをいう。

【 0 0 4 6 】

「DMF」は、N, N－ジメチルホルムアミドをいう。

【 0 0 4 7 】

「Eq.」は、当量をいう。

【 0 0 4 8 】

「MeOH」は、メタノールをいう。

【 0 0 4 9 】

「TFA」は、トリフルオロ酢酸をいう。

【 0 0 5 0 】

用語「アシル」は、－C（O）－H、－C（O）－（必要に応じて置換されたアルキル）、－C（O）－（必要に応じて置換されたシクロアルキル）、－C（O）－（必要に応じて置換されたアルケニル）、－C（O）－（必要に応じて置換されたシクロアルケニル）、－C（O）－（必要に応じて置換されたアリール）、－C（O）－（必要に応じて置換されたヘテロアリール）および－C（O）－（必要に応じて置換されたヘテロシクリル）基をいう。

【 0 0 5 1 】

用語「アシルオキシ」は、例えば、－O－C（O）－アルキルを含む、－O－アシル部分をいう。

【 0 0 5 2 】

用語「アルコキシ」は、－O－アルキル、－O－アルケニル、－O－シクロアルキル、－O－シクロアルケニル、および－O－アルキニル基をいう。好ましいアルコキシとしては、－O－アルキルが挙げられ、そして例としてメトキシ、エトキシ、n－プロポキシ、イソ－プロポキシ、n－ブトキシ、tert－ブトキシ、sec－ブトキシ、n－ペントキシ、n－ヘキソキシ、1, 2－ジメチルブトキシなどが挙げられる。

【 0 0 5 3 】

10

20

30

40

50

用語「置換アルコキシ」は、 $-O-$ （置換アルキル）、 $-O-$ （置換アルケニル）、 $-O-$ （置換シクロアルキル）、 $-O-$ （置換シクロアルケニル）、 $-O-$ （置換アルキニル）および $-O-$ （必要に応じて置換されたアルキレン）-アルコキシ基をいう。

【0054】

用語「アルキル」は、好ましくは約1～20炭素原子、より好ましくは1～10の炭素原子、さらにより好ましくは1～6の炭素原子を有する、モノラジカル、分岐または非分岐鎖の飽和炭化水素鎖を指す。この用語は、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*n*-ヘキシル、*n*-デシル、テトラデシル基などのような群により例示される。

【0055】

用語「置換アルキル」は、1以上（5まで、好ましくは3まで）の水素原子が、以下の群から独立して選択される置換基により置換されているアルキル基を指す： $=O$ 、 $=S$ 、アシル、アシルオキシ、必要に応じて置換されたアルコキシ、必要に応じて置換されたアミノ、アジド、カルボキシル、（必要に応じて置換されたアルコキシ）カルボニル、（必要に応じて置換されたアミノ）カルボニル、シアノ、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルケニル、ハロゲン、ヒドロキシル、ニトロ、スルファニル、スルフィニル、スルファニル、およびスルホン酸。アルキルに対する好ましい任意の置換基の1つは、例えば2-ヒドロキシエチル、3-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシブチル、4-ヒドロキシブチルなどのような、ヒドロキシアルキル基により例示されるヒドロキシ；例えば2, 3-ジヒドロキシプロピル、3, 4-ジヒドロキシブチル、2, 4-ジヒドロキシブチルなどのような、ジヒドロキシアルキル基（グリコール）；ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールおよびポリブチレングリコールなどとして公知の化合物である。

【0056】

用語「アルキレン」は、上に規定されるモノラジカル、アルキル由来のジラジカルをいう。この用語は、例えばメチレン（ $-CH_2-$ ）、エチレン（ $-CH_2CH_2-$ ）、プロピレン異性体〔例えば、 $-CH_2CH_2CH_2-$ および $-CH(CH_3)CH_2-$ 〕などのような群により例示される。

【0057】

用語「置換アルキレン」は、上に規定されるモノラジカル、置換アルキル由来のジラジカルをいう。置換アルキレンの例には、クロロメチレン（ $-CH(Cl)-$ ）、アミノエチレン（ $-CH(NH_2)CH_2-$ ）、メチルアミノエチレン（ $-CH(NHMe)CH_2-$ ）、2-カルボキシプロピレン異性体（ $-CH_2CH(CO_2H)CH_2-$ ）、エトキシエチレン（ $-CH_2CH_2OCH_2CH_2-$ ）、エチル（*N*-メチル）アミノエチレン（ $-CH_2CH_2N(CH_3)CH_2CH_2-$ ）、1-エトキシ-2-（2-エトキシ-エチレン）エチレン（ $-CH_2CH_2OCH_2CH_2-OCH_2CH_2-OCH_2CH_2-$ ）などがある。

【0058】

用語「アミノ」は、 $-NH_2$ 基をいう。

【0059】

用語「置換アミノ」は、各Rが、独立して以下の群から選択される $-NHR$ または NR 基をいう：必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたアルケニル、必要に応じて置換されたシクロアルケニル、必要に応じて置換されたアルキニル、必要に応じて置換アリール、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロシクリル、アシル、必要に応じて置換されたアルコキシ、カルボキシおよびアルコキシカルボニル。

【0060】

用語「アミノ酸」または「天然のアミノ酸」は、他に指定されることがなければ（グリシンのようなアキラルなアミノ酸を除く）、一般にペプチド分野において受け入れられ、20の一般的なアミノ酸をいい、L-アミノ酸を表す。

10

20

30

40

50

用語「置換アミノ酸」は、通常はそのアミノ酸の部分ではない1つ以上の追加の化学的部分を含むアミノ酸を言う。このような置換基は、選択された側鎖または末端残基と反応し得、かつ当該分野で受け入れられた他の方法を介する標的化誘導 (derivatizing) 剤により導入され得る。例えば、システイン残基は、最も一般的に、クロロ酢酸またはクロロアセトアミドのような α -ハロアセテート (および対応するアミン) と反応して、カルボキシメチル誘導體またはカルボキシアミドメチル誘導體を得る。システイン残基はまた、プロモトリフルオロアセトン、 α -ブロモ β - (5-イミドゾイル) プロピオン酸、クロロアセチルホスフェート、N-アルキルマレイミド、3-ニトロ-2-ピリジルジスルフィド、メチル2-ピリジルジスルフィド、p-クロロマーキュリベンゾエート (chloromercuribenzoate)、2-クロロマーキュリー-4-ニトロフェノール、またはクロロ-7-ニトロベンゾ-2-オキサ-1, 3-ジアゾールとの反応により誘導される。カルボキシル側鎖 (side group) (アスパルチルまたはグルタミル) が、例えば、1-シクロヘキシル-3- (2-モルホリニル- (4-エチル) カルボジイミド) または1-エチル-3- (4-アゾニア4, 4-ジメチルペンチル) カルボジイミドのようなカルビジイミド ($R'-N-C-N-R'$) との反応により選択的に改変される。さらに、アスパルチル残基およびグルタミル残基が、アンモニウムイオンとの反応によりアスパラギン残基およびグルタミン残基に変換される。グルタミン残基およびアスパラギン残基は、しばしば対応するグルタミル残基およびアスパルチル残基へと脱アミド化される。あるいは、これらの残基は、穏やかな酸性条件下で脱アミド化される。他の改変体としては、プロリンおよびリジンのヒドロキシル化、セリン (seryl) またはトレオニン (thionyl) 残基のヒドロキシル基のリン酸化反応、リジン、アルギニンおよびヒスチジン側鎖の α -アミノ基のメチル化 (例えば、T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecule Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 79-86頁 (1983))、N-末端アミンのアセチル化、およびいくつかの例において、C末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

用語「芳香族」は、共役不飽和 ($4n+2$) π 電子系 (ここで n は正の整数) を有するサイクリック部分またはポリサイクリック部分をいい、時々非局在化した π 電子系をいう。

【0061】

用語「アリール」は、単一の環 (例えば、フェニル) または複数の縮合 (ヒューズド) 環 (例えば、ナフチルまたはアントリル) を有する6~20の炭素原子からなる芳香族環状炭化水素基をいう。好ましくは、アリールは、フェニル、ナフチルなどを含む。

【0062】

用語「置換アリール」は、上で規定されるようなアリール基をいい、アリール置換基に対する定義により他のように制約されない限り、1~5の置換基、好ましくは1~3の置換基から置換され、その置換基は、以下からなる基から独立して選択される： $=O$ 、 $=S$ 、アシル、アシルオキシ、必要に応じて置換されたアルケニル、必要に応じて置換されたアルコキシ、必要に応じて置換されたアルキル (例えば、トリハロメチル)、必要に応じて置換されたアルキニル、必要に応じて置換されたアミノ、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアリールオキシ、アジド、カルボキシル、(必要に応じて置換されたアルコキシ) カルボニル、(必要に応じて置換されたアミノ) カルボニル、シアノ、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルケニル、ハロゲン、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアリールオキシ、必要に応じて置換されたヘテロシクリル、必要に応じて置換されたヘテロシクロキシ、ヒドロキシル、ニトロ、スルファニル、スルフィニル、スルファニル、およびスルホン酸。好ましいアリール置換基としては、アルキル、アルケニル、アルコキシ、ハロ、シアノ、ニトロ、トリハロメチル、カルボキシアルケニル、およびスルフィニルが挙げられる。

【0063】

用語「アリールオキシ」は、 $-O-$ アリール基をいう。

【0064】

用語「置換アリールオキシ」は、 $-O-$ （置換アリール）基をいう。

【0065】

用語「アラルキル」は、「 $-アルキレン-アリール$ 」（各々が、本明細書中で規定する意味を有する）部分をいう。このようなアラルキル基は、ベンジル、フェネチル、3-ナフチルプロピルなどにより例示される。

【0066】

用語「置換アラルキル」は、「 $-(必要に応じて置換されたアルキレン(alkylene)- (必要に応じて置換されたアリール))$ 」（各々が、本明細書中で規定する意味を有する）部分をいい、ここで少なくとも1つのアリール基またはアルキレン基が、置換される（例えば、4-（N-メチルピロリル）ペンチレン）。

10

【0067】

用語「カルボニル」は、ジラジカル「 $-C(=O)-$ 」をいい、これはまた、「 $-C(O)-$ 」として例示される。

【0068】

用語「（必要に応じて置換されたアルコキシ）カルボニル」は、以下の基をいう： $-C(O)O-$ （必要に応じて置換されたアルキル）、 $-C(O)O-$ （必要に応じて置換されたシクロアルキル）、 $-C(O)O-$ （必要に応じて置換されたアルケニル）、および $-C(O)O-$ （必要に応じて置換されたアルキニル）。これらの部分はまた、エステルともいわれる。

20

【0069】

用語「（必要に応じて置換されたアミノ）カルボニル」は、 $-C(O)-$ （必要に応じて置換されたアミノ）基をいう。この部分はまた、第1級カルボキサミド、第2級カルボキサミドまたは第3級カルボキサミドともいわれる。

【0070】

用語「（必要に応じて置換されたアミノ）カルボニルオキシ」は、 $-O-C(O)-$ （必要に応じて置換されたアミノ）基をいう。

【0071】

用語「カルボキシ」または「カルボキシル」は、「 $-C(O)OH$ 」部分をいい、これはまた、「 $-COOH$ 」として例示される。

30

【0072】

用語「認知障害」は、忘却、混乱、記憶喪失、注意および記憶の欠損、行動および関連障害、無為、興味喪失、情動障害、および／またはある場合、個人的心労の症状により一般に特徴付けられる障害をいう。これらの症状は、一般的な加齢プロセスおよび／または器質脳疾患、脳血管疾患、頭部外傷、または発達欠陥もしくは遺伝子欠陥の結果として生じ得る。認知障害としては、アルツハイマー病、老人性痴呆症、不安、HIV関連痴呆、糖尿病ニューロパシー；鬱病；パーキンソン病；薬物依存症；薬物乱用；意識障害、睡眠障害、日周期障害、気分障害、癇癩；ダウン症；舞蹈病またはハンティングトン病；ストレス関連身体障害；ピック病、フリードライヒ失調症、クロイツフェルトーヤコブ病；パニック、恐怖またはストレスに関する障害が挙げられる。

40

【0073】

用語「式Iまたは式I I Iの化合物」は、開示されるような本発明のフラノン誘導体、および／またはこのような化合物もしくはその金属錯体の薬学的に受容可能な塩を包含するよう意図される。さらに、本発明の化合物は、ケトおよびエノール互変体、個々の立体化学的異性体（置換基の選択から生じる）および互変体および／または異性体の混合物を含む。

【0074】

用語「シクロアルキル」は、単一の環または複数の縮合環を有する約3～40（好ましくは約4～15）の炭素原子を有する非芳香族環状炭化水素基をいう。このようなシクロアルキル基としては、例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シ

50

クロオクチルなどのような単環構造またはアダマンタニルなどのような複素環式構造が挙げられる。

【0075】

用語「置換シクロアルキル」は、以下からなる基から独立して選択される1～5の置換基、そして好ましくは1～3の置換基で置換されたシクロアルキル基をいう： $=O$ 、 $=S$ 、アシル、アシルオキシ、必要に応じて置換されたアルケニル、必要に応じて置換されたアルコキシ、必要に応じて置換されたアルキル（例えば、トリハロメチル）、必要に応じて置換されたアルキニル、必要に応じて置換されたアミノ、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアリールオキシ、アジド、カルボキシル、（必要に応じて置換されたアルコキシ）カルボニル、（必要に応じて置換されたアミノ）カルボニル、シアノ、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルケニル、ハロゲン、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアリールオキシ、必要に応じて置換されたヘテロシクリル、必要に応じて置換されたヘテロシクロキシ、ヒドロキシル、ニトロ、スルファニル、スルフィニル、スルファニル、およびスルホン酸。アルキル基で置換されるシクロアルキル環はまた、「アルキルシクロアルキル」といわれる。

10

【0076】

用語「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブロモおよびヨードをいう。

【0077】

用語「ヘテロアリール」は、少なくとも1つの環内で、約1～40（好ましくは約3～15）の炭素原子を有する芳香族環状炭化水素基および約1～10のヘテロ原子（好ましくは、窒素、硫黄、セレン、リン、および／または酸素から選択される約1～4のヘテロ原子）を有する芳香族環状炭化水素基をいう。このようなヘテロアリール基は、単一の環（例えば、ピリジルもしくはフリル）または複数の縮合環（例えば、インドリジニルまたはベンゾチエニル）を有し得る。好ましいヘテロアリールとしては、ピリジル、ピローリルおよびフリルが挙げられる。他の好ましいヘテロアリールとしては、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、チアジアゾール、オキサジアゾール、ピラゾール、ベンゾイミダゾール、ベンゾオキサゾール、ベンゾセレナゾール、およびベンゾチアゾールが挙げられる。

20

【0078】

用語「置換ヘテロアリール」は、ヘテロアリール置換基についての定義により他のように制約されない限り、以下からなる基から独立して選択される1～5の置換基、好ましくは1～3の置換基で置換されており、上で規定されるようなヘテロアリール基をいう： $=O$ 、 $=S$ 、アシル、アシルオキシ、必要に応じて置換されたアルケニル、必要に応じて置換されたアルコキシ、必要に応じて置換されたアルキル（例えば、トリハロメチル）、必要に応じて置換されたアルキニル、必要に応じて置換されたアミノ、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアリールオキシ、アジド、カルボキシル、（必要に応じて置換されたアルコキシ）カルボニル、（必要に応じて置換されたアミノ）カルボニル、シアノ、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルケニル、ハロゲン、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアリールオキシ、必要に応じて置換されたヘテロシクリル、必要に応じて置換されたヘテロシクロキシ、ヒドロキシル、ニトロ、スルファニル、スルフィニル、スルファニル、およびスルホン酸。

30

40

【0079】

用語「ヘテロアラルキル」は、「 $-$ アルキレン $-$ ヘテロアリール」（各々が本明細書中で規定される意味を有する）部分をいう。

【0080】

用語「置換ヘテロアラルキル」は、「 $-$ （必要に応じて置換されたアルキレン） $-$ （必要に応じて置換されたヘテロアリール）」（各々が本明細書中で規定される意味を有する）部分をいう。

50

【0081】

用語「ヘテロアリアルオキシ」は、 $-O-$ ヘテロアリアル基をいう。

【0082】

用語「ヘテロ環」、「ヘテロ環式」および「ヘテロシクリル」は、環内で、約1～40（好ましくは約3～15）の炭素原子、および約1～10のヘテロ原子（好ましくは、窒素、硫黄、リン、および／または酸素から選択される、約1～4のヘテロ原子）を有するモノラジカルの飽和もしくは不飽和の、非芳香族環状炭化水素基をいう。このようなヘテロ環の基は、単一の環または複数の縮合環を有し得る。より好ましいヘテロ環としては、モルホリノ、ピペリジニルなどが挙げられる。

【0083】

用語「置換ヘテロ環」、「置換ヘテロ環式」および「置換ヘテロシクリル」は、ヘテロ環置換基についての定義により他のように制約されない限り、以下からなる基から独立して選択される、1～5の置換基、そして好ましくは1～3の置換基から置換され、上で規定されるようなヘテロシクリル基をいう： $=O$ 、 $=S$ 、アシル、アシルオキシ、必要に応じて置換されたアルケニル、必要に応じて置換されたアルコキシ、必要に応じて置換されたアルキル（例えば、トリハロメチル）、必要に応じて置換されたアルキニル、必要に応じて置換されたアミノ、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアリールオキシ、アジド、カルボキシル、（必要に応じて置換されたアルコキシ）カルボニル、（必要に応じて置換されたアミノ）カルボニル、シアノ、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルケニル、ハロゲン、必要に応じて置換されたヘテロアリアル、必要に応じて置換されたヘテロアリアルオキシ、必要に応じて置換されたヘテロシクリル、必要に応じて置換されたヘテロシクロキシ、ヒドロキシル、ニトロ、スルファニル、スルフィニル、スルファニル、およびスルホン酸。

【0084】

用語「ヘテロシクロアルキル」は、「 $-$ アルキレン $-$ ヘテロ環」部分（各々が本明細書中で規定される意味を有する）をいう。

【0085】

用語「置換ヘテロシクロアルキル」は、「 $-$ （必要に応じて置換されたアルキレン） $-$ （必要に応じて置換されたヘテロ環）」部分（各々が本明細書中で規定される意味を有する）をいう。

【0086】

用語「ヘテロシクロキシ」は、 $-O-$ ヘテロ環基をいう。

【0087】

用語「炎症」、「炎症性状態」、または「炎症状態」としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：筋肉疲労、変形性関節症、関節リウマチ、炎症性腸症候群または障害、皮膚炎（例えば、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、アレルギー性皮膚炎）、乾燥症、湿疹、酒さ、脂漏症、乾癬、アテローム性動脈硬化症、熱傷および放射傷、にきび、油性肌、皺、過剰セルライト、過剰孔径、固有の皮膚加齢、光加齢、写真損傷、有害なUV損傷、角質化異常、レチノイド誘導刺激を含む刺激、多毛症、脱毛症、色素沈着異常、創傷に起因する炎症、瘢痕もしくは皮膚移植線条、弾性喪失、皮膚萎縮および歯肉炎。

【0088】

用語「虚血」は、血管の機能的収縮または実際の閉塞に起因する器官または組織への血液欠乏をいう。発作としても知られる脳虚血は、脳の血管への血液および酸素の妨害または減少から通常生じる；よりまれには、これは出血の結果であり得る。発作の徴候としては、ただいくつかの名前を挙げると、麻痺、不明瞭言語、一般的な錯乱、歩行障害、つま先、足および脚にわたる皮質感喪失、ならびに尿失禁が挙げられる。心臓の構造異常に起因する心臓不整脈または疾患を含む多くの型の心臓疾患は、脳塞栓を生じ得る。リウマチ性弁膜疾患を含む、任意の原因からの心房細動が、脳の動脈へ移動し得る作り出されている塞栓を生じ得る。形成および塞栓移動は、動脈硬化心臓疾患および心筋梗塞の結果として生じ得る。塞栓形成はまた、心臓内手術および補綴バルブ置換に関する明確な危険で

10

20

30

40

50

ある。心臓バイパス手術および血管形成は、脳の動脈中に移動し得、多くの動脈中の一連の閉塞を引き起こして、精神的障害を生じる、微小塞栓の形成を生じ得る。心臓塞栓はまた、人工心臓の移植における、主要な合併症である。さらに、任意の型の全身手術の後の脳卒中の全体的な危険は、0.2%～1%である。急性および亜急性の細菌性心内膜炎の成長は、主な頭蓋内の動脈を閉塞し得る塞栓を生じ得る。虚血の危険がある集団は、冠状動脈バイパス移植手術（CABG）について予定される患者、術後合併症の危険がある患者、クモ膜下出血（SAH）を有する患者、第1のまたは第2の虚血性脳卒中を有する患者、急性の虚血性脳卒中を有する患者、心肺蘇生術（CPR）を受けている患者、一時的な葉摘手術を受けている患者、優位半球切除した患者、予防脳照射を受ける患者、神経学的欠損を有する閉鎖性頭部障害を有する患者、微小脈管多発脳梗塞性痴呆を有する患者、ホモ接合性およびヘテロ接合性MELAS（ミトコンドリアミオパシー、脳障害、ラクトアシドーシス、脳卒中）を持つ患者；アテローム性動脈硬化症もしくは進行性核上性麻痺疾患を有する患者、症候性および無症候性のハンティングトン病を有する患者、新生児仮死を有する患者、髄膜炎もしくは脳炎を有する患者、疱疹後神経障害を有する患者、間欠性跛行を有する患者、脊髄損傷を有する患者、ハンティングトン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）もしくはフリートライヒ運動失調を患う患者、糖尿病ニューロパシーを患う患者、または全身性疾患、癌腫、血管収縮（可逆性脳血管収縮（例えば、片頭痛、障害、特発疾患）を含む）、または静脈状態（脱水症、肺動脈塞栓症、頭蓋周囲感染、分娩後状態および術後状態ならびに器官系癌を含む）の後の凝固能亢進性状態と関連する疾患を有する患者を含むが、これに限定されない。

10

20

【0089】

用語「神経変性障害」は、神経の欠失により特徴付けられる障害をいい、そして炎症性プロセスを含んでも含まなくてもよい。神経変性障害としては、脳卒中、頭部障害、脳低酸素症、脊髄損傷、老年痴呆、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、脳アミロイド血管症、HIV関連痴呆症、パーキンソン病、ハンティングトン病、プリオン疾患、重症筋無力症、ダウン症、クロイツフェルトーヤコブ病、糖尿病ニューロパシー、ニューロパシー痛、脳炎、髄膜炎、およびデュセーヌ筋ジストロフィが挙げられる。

【0090】

用語「神経炎症」または「神経炎症性疾患、神経炎症障害または神経炎症状態」は、死後の脳サンプルにおける多数の反応性小神経膠細胞により特徴付けられる疾患、障害または状態をいい、活性炎症性プロセスを示す（McGeer E. G. およびMcGeer P. L.、「Neurodegeneration and the immune system」Calne D. B. 編、Neurodegenerative Diseases、1994：277-300）。神経炎症は、脳損傷または自己免疫障害に回答して生じる炎症をいい、健康な神経組織および／または脳組織の破壊を引き起こすことが示されてきた。神経炎症は、広範な急性および慢性の神経変性障害（脳卒中、頭部障害、脳アミロイド血管症、HIV関連痴呆症、ハンティングトン病、プリオン疾患、髄膜炎、ミエリン分解、ダウン症、虚血後脳損傷、脳障害、パーキンソン病、老年痴呆、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、および末梢神経系に關与する特定の障害（例えば、重症筋無力症およびデュセーヌ筋ジストロフィ））に關与する機構に關する。

30

40

【0091】

本明細書中で使用される場合、「薬学的に受容可能なキャリア」または「薬学的に受容可能な賦形剤」としては、任意および全ての、溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが挙げられる。薬学的に活性な物質に関するこのような媒体および薬剤の使用は、当該分野で周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性成分と不適合である場合を除いて、治療組成物におけるその使用が企図される。補助活性成分がまた、この組成物中に組み込まれ得る。

【0092】

用語「薬学的に受容可能な塩」とは、本発明の化合物の生物学的有効性および特性を保

50

持し、そして生物学的にもそれ以外にも望ましくない塩をいう。多くの場合、本発明の化合物は、アミノ基および／もしくはカルボキシル基またはそれらと類似の基の存在によって、酸性塩および／または塩基性塩を形成し得る。薬学的に受容可能な塩基付加塩は、無機塩基および有機塩基より調製され得る。無機塩基由来の塩としては、単なる例として、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、アンモニウム塩、カルシウム塩、およびマグネシウム塩が挙げられる。有機塩基から誘導される塩としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：1級アミン、2級アミン、および3級アミン（例えば、アルキルアミン、ジアルキルアミン、トリアルキルアミン、置換アルキルアミン、ジ（置換アルキル）アミン、トリ（置換アルキル）アミン、アルケニルアミン、ジアルケニルアミン、トリアルケニルアミン、置換アルケニルアミン、ジ（置換アルケニル）アミン、トリ（置換アルケニル）アミン、シクロアルキルアミン、ジ（シクロアルキル）アミン、トリ（シクロアルキル）アミン、置換シクロアルキルアミン、二置換シクロアルキルアミン、三置換シクロアルキルアミン、シクロアルケニルアミン、ジ（シクロアルケニル）アミン、トリ（シクロアルケニル）アミン、置換シクロアルケニルアミン、二置換シクロアルケニルアミン、三置換シクロアルケニルアミン、アリールアミン、ジアリールアミン、トリアリールアミン、ヘテロアリールアミン、ジヘテロアリールアミン、トリヘテロアリールアミン、複素環式アミン、二複素環式アミン、三複素環式アミン、混合ジアミンおよび混合トリアミン（ここで、アミン上の少なくとも2つの置換基が、異なっており、そして、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、ヘテロアリール、複素環式などからなる群より選択される）を含むが、これらに限定されない。また、アミノ基の窒素と一緒にになった2つまたは3つの置換基が複素環式基またはヘテロアリール基を形成するアミンも含まれる。

【0093】

適切なアミノの特定の例としては、単なる例示として、以下が挙げられる：イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリ（イソプロピル）アミン、トリ（*n*-プロピル）アミン、エタノールアミン、2-ジメチルアミノエタノール、トロメタミン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、ヒドラバミン（hydramine）、コリン、ベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、*N*-アルキルグルカミン、テオブロミン、プリン、ピペラジン、ピペリジン、モルホリン、*N*-エチルピペリジンなど。

【0094】

薬学的に受容可能な酸付加塩は、無機酸および有機酸から調製され得る。無機酸から誘導される塩としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などの塩が挙げられる。有機酸から誘導される塩としては、以下が挙げられる：酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、*p*-トルエンスルホン酸、サリチル酸などの塩。

【0095】

用語「スルファニル」は、以下の基をいう：-S-（必要に応じて置換されたアルキル）、-S-（必要に応じて置換されたアリール）、-S-（必要に応じて置換されたヘテロアリール）、-S-（必要に応じて置換されたヘテロシクリル）。好ましいスルファニル基としては、例示として、メチルスルファニル（-SCH₃）、*n*-（イソプロピルスルファニル）（-SCH（CH₃）₂）などが挙げられる。

【0096】

用語「スルフィニル」は、以下の基をいう：-S（O）-（必要に応じて置換されたアルキル）、-S（O）-（必要に応じて置換されたアリール）、-S（O）-（必要に応じて置換されたヘテロアリール）、-S（O）-（必要に応じて置換されたヘテロシクリル）。

【0097】

用語「スルホニル」は、以下の基をいう： $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアルキル）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアリール）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたヘテロアリール）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたヘテロシクリル）。

【0098】

用語「スルホン酸」は、以下の基をいう： $-S(O_2)-OH$ 。

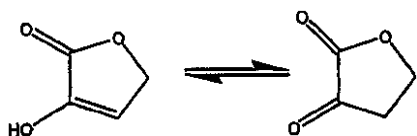
【0099】

用語「互変異性体」は、その構造が、原子の配列において顕著に異なり、しかし容易かつ迅速な平衡状態にて存在する化合物をいう。最も一般的な種類の互変異性は、水素の結合点が異なる構造を含む。当該分野で周知のように、本発明の化合物のような化合物における、3-ヒドロキシ-5H-フラン-2-オン基は、ジヒドロフラン2,3-ジオン基と互変異性平衡にあり得る：

10

【0100】

【化7】



簡便のために、本発明の全ての化合物が、3-ヒドロキシ-5H-フラン-2-オン形態を有することが示され、しかし両方の互変異性形態の化合物が、本発明の範囲内にあると意図されることが理解されるべきである。

20

【0101】

用語「治療有効量」とは、以下に規定されるような処置を必要とする哺乳動物に投与される場合に、そのような処置をもたらすのに十分である、式Iの化合物の量をいう。この治療有効量は、被験体および処置される疾患状態、被験体の体重および年齢、疾患状態の重篤度、選択される式Iまたは式IIIの特定の化合物、従うべき投薬レジメン、投与の時期、投与方法など（これらの全てが当業者に容易に決定され得る）に依存して、変動する。

【0102】

用語「処置」または「処置すること」とは、哺乳動物における疾患または障害の任意の処置を意味し、以下を包含する：

30

その疾患または障害に対して予防または保護すること、すなわち、その臨床状態を発症させないこと；

その疾患または障害を阻害すること、すなわち、臨床状態の発症を阻止または抑制すること；および／または

その疾患または障害を緩和すること、すなわち、臨床状態の退行を引き起こすこと。ヒトの医療において、最終的に誘導される事象が未知で潜在性であり得るか、または患者がその事象の発現の充分後まで確認されないの、「予防」と「抑制」との間を区別することが常に可能であるわけではないことは、当業者によって理解される。従って、本明細書中で使用される場合、用語「予防」とは、本明細書中で規定されるような「予防」および「抑制」の両方を包含するように、「処置」の1要素として意図される。用語「保護」は、本明細書中で使用される場合、「予防」を含むように意味される。

40

【0103】

用語「有効量」は、処置される障害状態または疾患状態についての処置を提供するのに十分な投薬を意味する。これは、患者、疾患およびもたらされる処置に依存して変動する。

【0104】

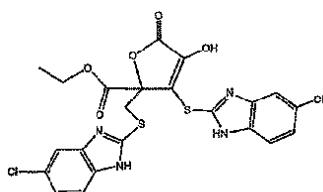
（命名法）

本発明の化合物は、例えば、以下の式Ia、Ib、IcおよびIdを参照して、以下に記載されるように、命名および番号付けされる。

50

【0105】

【化8】

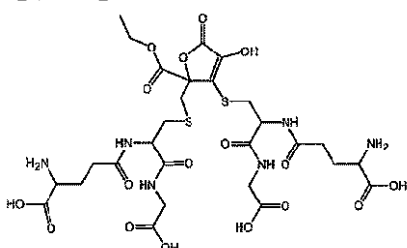


式 1a

式 I a は、式 I に従う化合物を表し、式中、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ であり、 R' は、エチルであり； R^2 および R^3 は、各々、1H-ベンゾイミダゾール-2-イルであり； R^4 は、水素であり；X は、硫黄であり、そして Y は、硫黄である。この化合物は、立体配置を特定化することなく示される。式 1 a の化合物は、以下のように命名され得る：3-（5-クロロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-クロロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【0106】

【化9】

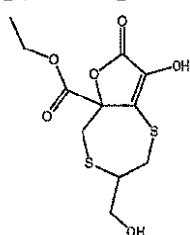


式 1b

式 I b は、式 I の化合物を表す。式中、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ であり、 R' は、エチルであり； R^2 および R^3 は、各々、2-アミノ-4-[1-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルカルバモイル]-酪酸であり； R^4 は、水素であり；X は、硫黄であり、そして Y は、硫黄である。この化合物は、立体配置を特定化することなく示される。式 I b の化合物は、以下のように命名され得る：3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸。式 I b に対応する類似化合物（式中、X および Y は、各々、 $-S(O)_2-$ である）は、以下のように命名され得る：3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エタンスルホニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エタンスルホニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸。

【0107】

【化10】

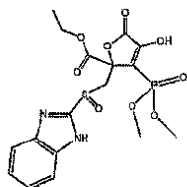


式 1c

式 I c は、式 I の化合物を表し、式中、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ であり、 R' は、エチルであり； R^4 は、水素であり；X および Y は、硫黄であり、そして $X-R^2$ は、 $Y-R^3$ と一緒になって、ヒドロキシメチル置換された脂肪族環を形成する。式 I c の化合物は、以下のように命名される：3-ヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-2-オキソ-5, 6-ジヒドロ-2H-1-オキサ-4, 7-ジチア-アズレン-8-α-カルボン酸エチルエステル。

【0108】

【化11】



式 Id

式 I d は、式 I に従う化合物を表す。式中、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ であり、 R' は、エチルであり； R^2 は、1H-ベンゾイミダゾールであり、Y は、 R^3 と一緒になって、 $-P(O)(OR')_2$ であり、式中、 R' は、メチルであり； R^4 は、水素であり；そして X は、 $-S(O)-$ である。式 I d の化合物は、以下のように命名され得る：2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-スルフィニルメチル)-3-(ジメトキシ-ホスホリル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【0109】

一般に、本出願において使用される命名法を、CambridgeSoft Corp (Cambridge, MA) による、ChemOffice (登録商標) バージョン 6.0 のプログラム内の AUTONOMTM ネーミングパッケージのバージョン 2.1 を使用して、行った。

【0110】

(本発明の化合物の合成)

(合成反応パラメーター)

用語「溶媒」、「不活性有機溶媒」または「不活性溶媒」は、これらに関連して記載される反応条件下で不活性な溶媒を意味する。本発明の化合物の合成において用いられる溶媒としては、例えば、以下が挙げられる：メタノール、アセトン、水、アセトニトリル、1, 4-ジオキサン、ジメチルホルムアミド（「DMF」）、ベンゼン、トルエン、テトラヒドロフラン（「THF」）、クロロホルム、塩化メチレン（すなわちジクロロメタン）、ジエチルエーテル、ピリジンなど、ならびにそれらの混合物。逆に指定しない限り、本発明の反応において使用される溶媒は、不活性な有機溶媒である。

【0111】

用語「q. s.」は、言及された機能を達成するのに十分な量（例えば、溶液を所望の容量（すなわち、100%）にするのに十分な量）添加することを意味する。

【0112】

逆に指定しない限り、本明細書中に記載される反応は、 0°C ～ 110°C （好ましくは、 0°C ～ 25°C ；最も好ましくは「室温」または「周囲温度」（例えば、 20°C ））の温度範囲内で大気圧にて生じる。さらに、他に指定しない限り、反応時間および反応条件は、概算（例えば、約 0°C ～約 110°C （好ましくは、約 0°C ～約 25°C ；最も好ましくは、約「室温」または「周囲温度」（例えば、約 20°C ））の温度範囲内で、約 1 時間～約 10 時間（好ましくは約 5 時間）の期間にわたってほぼ大気圧で生じる）であることが意図される。実施例において与えられるパラメーターは、特定のものであって、概算のものではないことが意図される。

【0113】

10

20

30

40

50

本明細書中に記載される化合物および中間体の単離および精製は、所望の場合、任意の適切な分離手順または精製手順（例えば、濾過、抽出、結晶化、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーもしくは厚層（*thick-layer*）クロマトグラフィー、またはこれらの手順の組合せ）によってもたらされ得る。適切な分離手順および単離手順の特定の例示は、本明細書中以下の実施例を参照して行われ得る。しかし、非対称的な合成アプローチおよび他の等価な分離手順または単離手順もまた、もちろん使用され得る。

（反応スキームの簡単な説明）

反応スキーム 1 は、ピルベート誘導体間でのアルドール付加、およびその後の塩基の存在下での分子内環化反応による、式 I の化合物の合成を示す。

10

【0114】

反応スキーム 2 は、式 I の化合物の合成を示す。ここで、 $X-R^2$ は、 $Y-R^3$ と一緒になって、必要に応じて置換された脂肪族環または芳香族環（ここで、X および Y は、 $-S-$ である）を形成する。

【0115】

反応スキーム 3 は、ピルベート誘導体と別の分子のカルボニル成分との間での塩基触媒化縮合による、式 I I I の化合物の合成を示す。

（出発物質）

化合物であるエチルー 3-ブロモピルベートは、例えば、Aldrich Chemical Company、Milwaukee、Wi から市販されている。他の反応物も同様に、市販されているか、または一般に用いられる方法論を使用して、当業者によって容易に調製され得る。

20

【0116】

反応スキーム 1 の式 101 および 102 において用いられる出発物質は、同時係属中の米国出願番号 10/138、937 および 10/138、032 において記載されるように、ハロピルベート（好ましくは、エチルー 3-ブロモピルベート）を、式 R^2-X-H または R^3-Y-H （式中、 R^2 および R^3 は、先に記載した意味を有し、そして X および Y は、 $-N(R')$ または $-S-$ である）の前駆体と接触させることによって、調製される。このような出発物質としては、以下：

・アリール化合物、アラルキル化合物、ヘテロアリール化合物またはヘテロアラルキル化合物、

30

・ヌクレオシド、アミノ酸、ジペプチド、トリペプチドまたはテトラペプチド、

・アリールーアミン、アリールーチオール、アリールースルファン、アリールースルホン、

・アラルキルーアミン、アラルキルーチオール、アラルキールースルファン、アラルキールースルホン、

・ヘテロアリールーアミン、ヘテロアリールーチオール、ヘテロアリールースルファン、ヘテロアリールースルホン、あるいは、

・ヘテロアラルキルーアミン、ヘテロアラルキルーチオール、ヘテロアラルキールースルファン、ヘテロアラルキールースルホン、

40

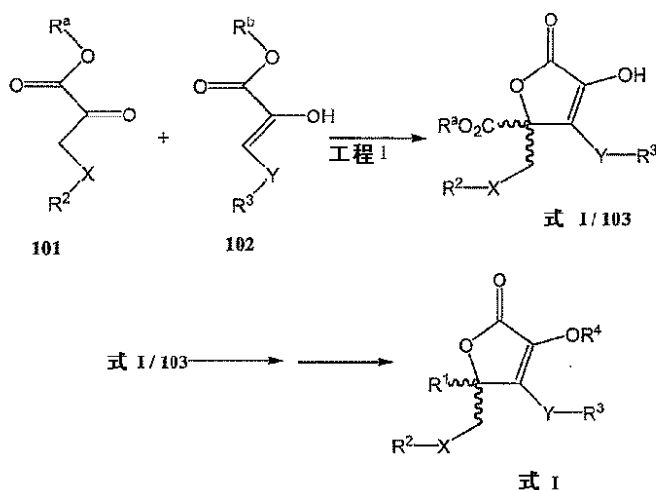
が挙げられ、そしてこれらは、必要に応じて、有機塩基（例えば、第三級アミンまたはイミダゾール）の存在下において、適切な溶媒（例えば、メタノール、アセトン、水、アセトニトリル、1,4-ジオキサンまたは DMF）中で接触される。この反応は、 $0^{\circ}\text{C} \sim 110^{\circ}\text{C}$ （好ましくは、 $0^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ ）の温度にて、30分～15時間（好ましくは、3～5時間）生じ、この溶媒を除去し、単離しそして精製した後、式 101 または 102 の対応する生成物が得られる。当業者に周知の、さらなる単離工程および精製工程を行って、単一の立体異性体および／または互変異性体を提供し得る。X が R^2 と一緒になるかまたは Y が R^3 と一緒になって $-P(O)(OR')_2$ となる場合、ホスファイト（*phosphite*）前駆体（代表的には、トリアルキルホスファイト）は、ハロピルベートと接触される。

50

【0117】

【化12】

反応スキーム1



10

反応スキーム1の工程1において例示されるように、式101および102の2つの互変異性ピルベート誘導体間でのアルドール付加（式中、 R^a および R^b は、低級アルキル（好ましくは、エチル）である）によって、式I/103の対応する環化フラノン誘導体
 20
 が得られる。多くの式Iの化合物の合成において、基 $X-R^2$ および基 $Y-R^3$ は、式101および102の同じピルベート誘導体であり、これは、（互変異性形態に関係なく）単一反応物として用いられる。式101のピルベート誘導体と102のピルベート誘導体との間でのアルドール付加（式中、 R^2 および R^3 は、キラル中心を含む）により、ジアステレオマーが生成される。 R^2 および R^3 がアキラルである場合、これは、ラセミ体混合物を生成し、得られる化合物は、フラノンの5位にて1つのキラル中心のみを有する。

【0118】

各場合において、反応スキーム1、工程1の生成物は、式Iに従う本発明の化合物の範囲内である。式中、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ （ R' は、 R^a または R^b に対応する低級アルキル基である）であり、そして R^4 は、水素である。式Iの化合物（式中、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ （ R' は、低級アルキル以外である）、 $-C(O)NR'R''$ もしくは
 30
 は $-CH_2OR''$ ）であるか、または R^4 は、水素以外である）は、有機合成における当業者に周知の反応物および条件を使用して、反応スキーム1の工程1の後に例示されるように（例えば、 R^1 低級アルキルエステルを、別のエステル、アミド、遊離酸、アルコールまたは類似の部分に転換することによって）、調製され得る。

【0119】

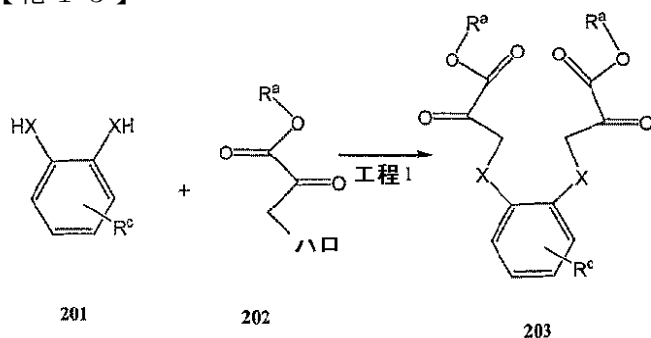
（反応スキーム2）

式Iの化合物（式中、 $X-R^2$ は $Y-R^3$ と一緒になって、必要に応じて置換された脂肪族環または芳香族環を形成する（ここで、 X および Y は、同じ（例えば、 $-S-$ ）である））は、例えば、反応スキーム2に関して以下に例示されるように、合成される。

【0120】

40

【化 1 3】

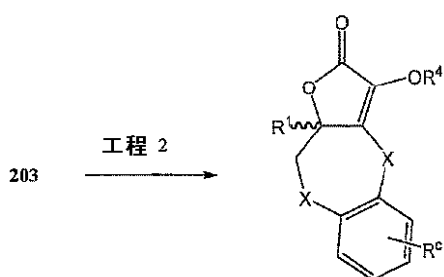


- 19 -

10

【 0 1 2 1】

【化 1 4】



式 I / 204

20

反応スキーム 2 の工程 1 において例示されるように、必要に応じて置換された、式 2 0 1 のジチオール（式中、 R^c は、必要に応じて、低級アルキル、ヒドロキシ（低級アルキル）、スルホン酸（低級アルキル）、 $-C(O)OR'$ から選択される 1 個以上の置換基であるか、または必要に応じて置換された脂肪族環または芳香族環を表す）および式 2 0 2 1 のハロピルベートを反応させて、式 2 0 3 の対応するジチオール架橋ジピルベート化合物が得られる。

【 0 1 2 2】

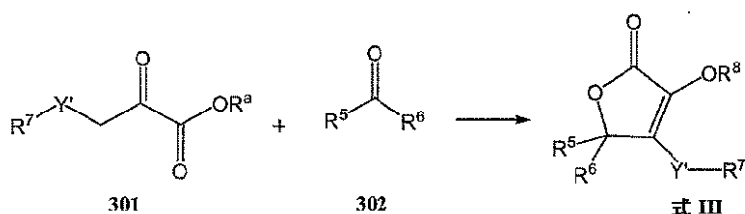
30

反応スキーム 2、工程 2 において例示されるように、式 2 0 3 の化合物は、反応スキーム 1 の工程 1 において用いられるアルドール付加条件と同じ条件下で、式 I / 2 0 4 の対応する化合物に環化される。

【 0 1 2 3】

【化 1 5】

反応スキーム 3



40

反応スキーム 3 において例示されるように、式 3 0 1 のピルベート（式中、 R^a は、低級アルキル基、好ましくは、エチルである）と式 3 0 2 のカルボニル成分（式中、 R^a 、 R^5 、 R^6 および R^7 は、本明細書中で記載されるとおりである）との間での塩基触媒縮合によって、式 I I I の対応する環化フラノン誘導体（式中、 R^8 は、水素である）が得られる。式 I I I の化合物（式中、 R^8 は、水素以外である）は、当該分野で周知の方法によって、調製され得る。例えば、 R^8 がアルキルカルボニルである化合物は、塩基の存在下におけるアルコール基のアセチル化によって調製され得る。

50

【0124】

(好ましいプロセスおよび最終工程)

本発明の化合物を生成するために好ましいプロセスは、実施例1～34の合成について例証されるとおりである。このプロセスは、ピルベート誘導体の調製、およびその後のアルドール付加および2個のピルベート誘導体間の環化を包含する。ピルベート前駆体の調製は、前出の米国出願第10/138,937号および10/138,032において、すでに例証されている。本発明において、式Iの化合物を調製するために好ましいプロセスは、アルドール付加、およびその後の、塩基の存在下におけるピルベート誘導体の互変体(すなわち、エノール形態およびケト形態)間の環化である。

【0125】

10

従って、1つの好ましい局面において、ピルベート誘導体は、塩基で処理される。

【0126】

別の好ましい局面において、環化フラノンジアステレオマーは、そのピルベート誘導体がキメラ中心を含む場合、逆相クロマトグラフィー方法を使用して、分離される。

【0127】

なお別の好ましい局面において、環化フラノンラセミ混合物は、そのピルベート誘導体がアキラル中心を含む場合、キラルカラムクロマトグラフィー方法を使用して、分離される。

【0128】

なお別の好ましい局面において、立体異性体は、1つの塩から別の塩に、または実施例において例証されるように塩を含まない実体からのいずれかから、種々の薬学的に受容可能な塩に転換される。

20

【0129】

式Iまたは式IIIの化合物を薬学的に受容可能な酸と接触させて、対応する酸付加塩を形成する。

【0130】

式Iまたは式IIIの薬学的に受容可能な酸付加塩を塩基と接触させて、式Iまたは式IIIの対応する遊離塩基を形成する。

【0131】

(好ましい化合物)

30

式Iおよび式IIIの化合物は、開示されるような、本発明のフラノン誘導体、および/またはそのような化合物の薬学的に受容可能な塩を包含する。さらに、本発明の化合物は、置換基の選択に起因して、個々の立体化学的異性体または互換異性体およびそれらの混合物を含む。

【0132】

式Iの置換基の以下の組み合わせおよび順列(それぞれ、優先度の高い順番に、部分集団化される)が、本発明の化合物、薬学的処方物、および製造方法および使用方法のために、好ましい。

【0133】

1. Xは、Yと同じである:

40

a. 特に、XおよびYは、 $-S-$ または $-S(O)-$ であり、好ましくは、 $-S-$ である。

【0134】

i. 好ましくは、 R^4 は、水素である。

【0135】

ii. 好ましくは、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ であり、そして R' は、水素または低級アルキルである。

【0136】

iii. 好ましくは、 R^2 は、 R^3 と同じである。

【0137】

50

・特に、 R^2 および R^3 は、必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、必要に応じて置換されたアミノ酸または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチド、および、以下で好ましいとさらに記載されているものから選択される。

【0138】

2. R^1 は、 $-C(O)OR'$; $-CH^2OR''$, または $-C(O)NR'R''$ であり、ここで、 R' 、 R'' および R''' は、水素または低級アルキルである。

【0139】

a. 好ましくは、 R^1 は、 $-C(O)OR'$ であり、ここで、 R' は、水素または低級アルキルである。

10

【0140】

i. 特に、 R^4 は、水素である。

【0141】

ii. 特に、 R^2 は、 R^3 と同じである。

【0142】

1. 特に、 R^2 および R^3 は、必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、必要に応じて置換されたアミノ酸または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドもしくはテトラペプチド、および以下で好ましいとさらに記載されているものから選択される。

20

【0143】

3. R^4 は、水素である。

【0144】

4. R^2 は、 R^3 と同じである：

a. 特に、 R^2 および R^3 は、必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたシクロアルキル、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、必要に応じて置換されたアミノ酸または必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドまたはテトラペプチドから選択される。

30

【0145】

i. 好ましくは、 R^2 および R^3 は、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、必要に応じて置換されたアリールまたは必要に応じて置換されたアラルキルである。

【0146】

・特に、必要に応じて置換されたヘテロアリールまたは必要に応じて置換されたヘテロアラルキルは、以下：必要に応じて置換された4-ピリジニル、必要に応じて置換された2-ピリジニル、必要に応じて置換された1H-ベンゾイミダゾール-2-イル、必要に応じて置換された1H-ベンゾチアゾール-2-イル、必要に応じて置換されたベンゾオキサゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾセレナゾール (benzenazole) -2-イル；必要に応じて置換された1H-[1, 2, 4] トリアゾール-3-イル、必要に応じて置換された2H-[1, 2, 4] トリアゾール-3-イル、必要に応じて置換された4H-[1, 2, 4] トリアゾール-3-イル、必要に応じて置換された[1, 3, 4] オキサジアゾール-2-イル、必要に応じて置換された[1, 2, 4] チアジアゾール-5-イル、必要に応じて置換された[1, 3, 5] チアジアゾール-2-イル、必要に応じて置換された4, 5-ジヒドロチアゾール-2-イル、必要に応じて置換された1H-ピラゾロ[3, 4-d] ピリミジン-6-イル、必要に応じて置換された1H-イミダゾール-2-イル、必要に応じて置換されたキノリン-4-イル、必要に応じて置換されたピリミジン-4-イル、必要に応じて置換されたピリミジン-2-イル、必要に応じて置換された2H-クロメン-7-イル、必要に応じて置換された

40

50

フラン-2-イル-低級アルキル、および必要に応じて置換された3,4-ジヒドロキナゾリン-2-イルから選択され、そしてここで、これらの置換基は、以下：(C₁~C₈)アルキル、(C₁~C₈)アルケニル、ハロゲン、ハロアルキル、アシル、スルホン酸、スルホニル、アミノ、一置換アミノもしくは二置換アミノ、アリール、カルボキシ、カルボキシビニル、エステル、アミド、ヒドロキシ、およびアルコキシから選択される。

【0147】

a. より好ましくは、必要に応じて置換されたヘテロアリールまたはヘテロアルキルは、以下：必要に応じて置換されたベンジル；必要に応じて置換された1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾチアゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾオキサゾール-2-イル；必要に応じて置換されたベンゾセレナゾール(benzoselenazol)-2-イル；必要に応じて置換されたフラン-2-イル-低級アルキル；必要に応じて置換されたチアゾール-2-イル；必要に応じて置換された1H-イミダゾール-2-イル；必要に応じて置換されたピリジン-2-イル；必要に応じて置換されたピリミジン-2-イル；必要に応じて置換されたキノリニン-4-イル；必要に応じて置換された[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル；必要に応じて置換された2H-[1,2,4]-トリアゾール-3-イル；および必要に応じて置換された[1,3,4]チアジアゾール-2-イルから選択され；そしてこれらの置換基は、以下：(C₁~C₈)アルキル、(C₁~C₈)アルケニル、ハロゲン、ハロアルキル、アシル、スルホン酸、スルホニル、アミノ、一置換アミノもしくは二置換アミノ、アリール、カルボキシ、カルボキシビニル、エステル、アミド、ヒドロキシ、およびアルコキシから選択される。

【0148】

b. 最も好ましくは、1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；ベンゾチアゾール-2-イル；5-メトキシベンゾチアゾール-2-イル；6-ニトロベンゾチアゾール-2-イル；ベンゾオキサゾール-2-イル；5-アミノ-[1,3,4]チアジアゾール-2-イル；フラン-2-イルメチル；ピリジン-4-イル；5-フェニル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル；ピロリジン-1-カルボチオイル；4-(2-メトキシカルボニル-ビニル)-フェニル；4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イル；4-メチル-ピリミジン-2-イル；およびピリミジン-2-イルである。

【0149】

・特に、R¹は、-C(O)OR'であり、R'は、水素および(C₁~C₈)アルキルから選択され；そして、R⁴は、水素である。

【0150】

・特に、R¹は、-CH₂OR'''であり；R'''は、水素および(C₁~C₈)アルキルから選択され；そして、R⁴は、水素である。

【0151】

・特に、R¹は、-C(O)NR'R''であり；R'およびR''は、水素、(C₁~C₈)アルキルおよびヒドロキシ(C₁~C₈)アルキルから選択され；そして、R⁴は、水素である。

【0152】

i i. 好ましくは、R²およびR³は、必要に応じて置換されたジペプチド、トリペプチドまたはテトラペプチドである。

【0153】

特に、(4-アミノ-4-カルボキシブチリルアミノ-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルである。

【0154】

i i i. 好ましくは、R²およびR³は、必要に応じて置換されたアルキルまたは必要に応じて置換されたシクロアルキルである。

【0155】

・特に、R²およびR³は、以下：(C₃~C₈)シクロアルキル、ブチル、2

10

20

30

40

50

ーアセチルアミノー2-メトキシカルボニル-エチル、3-(2-カルボキシーピロリジン-1-イル)-2-メチル-3-オキソ-プロピル、2-カルボキシー-2-イソブチリルアミノ-エチル、2-メトキシカルボニル-エチル、3-エトキシカルボニルメチル；メトキシカルボニルメチル、カルボキシメチル-カルバモイル-エチル、ジメチルチオカルバモイル、イソブチル、2-ヒドロキシ-1-メチル-プロピル、2, 3-ジヒドロキシ-プロピル、およびアリルから選択される。

【0156】

i v. 好ましくは、 R^2 および R^3 は、必要に応じて置換されたアリールまたは必要に応じて置換されたアラルキルであり、

1. 特に、必要に応じて置換されたアリールまたは必要に応じて置換されたアラルキルは、必要に応じて置換されたフェニル、必要に応じて置換されたナフチルまたは必要に応じて置換されたベンジルから選択される。

10

【0157】

a. より好ましくは、必要に応じて置換されたアリールまたは必要に応じて置換されたアラルキルは、以下：4-メトキシ-ベンジル；2, 4-ジクロロ-ベンジル；2-クロロ-6-フルオロ-ベンジル；4-フルオロ-ベンジル；ベンジル；2-クロロ-フェニル；および2-クロロ-4-フルオロ-フェニルから選択される。

【0158】

5. $X-R^2$ は、 $Y-R^3$ と一緒になって、必要に応じて置換された脂肪族環および芳香族環を形成する。

20

【0159】

a. 特に、必要に応じて置換されたジチア-シクロヘキセン、必要に応じて置換されたジチア-シクロヘプテン、7, 8-ジヒドロ-6H-5, 9-ジチア-ベンゾシクロヘプテンであり、

i. 特に、1, 4-ジクロロ-7, 8-ジヒドロ-6H-5, 9-ジチア-ベンゾシクロヘプテン、2, 3-ジメチル-[1, 4]ジチエパン、または[1, 3]ジチアン-2-チオンである。

【0160】

6. 金属錯体であって、この金属は、二価の銅、マグネシウム、および亜鉛から選択される。

30

【0161】

a. 特に、この金属は、 $Cu^{2+}Cl_2$ 、 $Mn^{2+}Cl_2$ 、および $Zn^{2+}Cl_2$ から選択される。

【0162】

i. 特に、式Iの化合物との錯体であって、ここで、 XR^2 および YR^3 は、両方が、ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルである。

【0163】

$X-R^2$ および/または $Y-R^3$ が式IIで示される化合物のうち、好ましいのは、その置換基が以下の群から選択される化合物である：

・ $R^{2 \cdot 1}$ は、 $-C(O)-O-R'$ であり、ここで R' は、水素または低級アルキル（特にエチル）である；

40

・ $R^{2 \cdot 2}$ は、水素である；

・ $R^{2 \cdot 3}$ は、 $-CH_2-S-$ である；

・ $R^{2 \cdot 4}$ は、水素、必要に応じて置換された低級アルキル、必要に応じて置換されたアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアラルキルである；

・ $R^{2 \cdot 5}$ は、水素または低級アルキル（特に水素）である；および/または

・ k、m および n は、それぞれ、0、2、1；1、0、1；もしくは2、0、1である。

【0164】

本発明の化合物、薬学的処方物、製造方法および使用方法のために好ましいのは、式I

50

I I の置換基群の以下の組み合わせおよび順列である（それぞれ、好ましさが増加する順序で部分集合化されている）：

1. Y' は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ または $-S(O)_2-$ である；特にここでY' は $-S-$ である

i. 好ましくは、 R^7 は、必要に応じて置換されたフェニル、必要に応じて置換されたナフタレニル、必要に応じて置換されたベンジル、必要に応じて置換された1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル、必要に応じて置換されたベンゾチアゾール-2-イル、必要に応じて置換されたベンゾオキサゾール-2-イル、必要に応じて置換されたフラン-2-イル-低級アルキル、必要に応じて置換されたチアゾール-2-イル、必要に応じて置換された1-H-イミダゾール-2-イル、必要に応じて置換されたピリジン-2-イル、必要に応じて置換されたピリミジン-2-イル、必要に応じて置換されたキノリニン-4-イル；必要に応じて置換された[1, 3, 4] オキサジアゾール-2-イル、必要に応じて置換された2H-[1, 2, 4]-トリアゾール-3-イルである。

10

【0165】

a. より好ましくは、 R^7 は、ベンジル；4-フルオロベンジル；1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；5-メチル-1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；ベンゾチアゾール-2-イル；5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イル；および4-フェニルチアゾール-2-イルから選択される

ii. 好ましくは、 R^8 は、水素である

iii. 好ましくは、 R^5 は、 $-C(O)OR^a$ または $-C(O)R^c$ であり、 R^a は、水素、 (C_1-C_8) アルキル、および (C_1-C_8) アルキル- (C_3-C_8) シクロアルキルから選択され、そして R^c は、水素、 (C_1-C_8) アルキル、およびアリールから選択される

20

a. より好ましくは、 R^6 は、水素または $-C(O)OR^a$ であり、そして R^a は、水素および (C_1-C_8) アルキルから選択される

iv. 好ましくは、 R^5 は、 $-C(O)R^c$ であり、そして R^c は、水素、 (C_1-C_8) アルキル、およびアリールであり、そして R^6 は、水素である。

【0166】

2. R^5 は、 $-C(O)OR^a$ または $-C(O)R^c$ であり、そして R^a は、水素、 (C_1-C_8) アルキル、および (C_1-C_8) アルキル- (C_3-C_8) シクロアルキルから選択され、そして R^c は、水素、 (C_1-C_8) アルキル、およびアリールから選択される

30

i. 特に、 R^8 は水素である

ii. 特に、 R^7 は、必要に応じて置換されたフェニル、必要に応じて置換されたナフタレニル、必要に応じて置換されたベンジル、必要に応じて置換された1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル、必要に応じて置換されたベンゾチアゾール-2-イル、必要に応じて置換されたベンゾオキサゾール-2-イル、必要に応じて置換されたフラン-2-イル-低級アルキル、必要に応じて置換されたチアゾール-2-イル、必要に応じて置換された1-H-イミダゾール-2-イル、必要に応じて置換されたピリジン-2-イル、必要に応じて置換されたピリミジン-2-イル、必要に応じて置換されたキノリニン-4-イル；必要に応じて置換された[1, 3, 4] オキサジアゾール-2-イル、必要に応じて置換された2H-[1, 2, 4]-トリアゾール-3-イルから選択される

40

a. 好ましくは、 R^7 は、ベンジル；4-フルオロベンジル；1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；5-メチル-1-H-ベンゾイミダゾール-2-イル；ベンゾチアゾール-2-イル；5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イル；および4-フェニルチアゾール-2-イルから選択される。

【0167】

3. R^5 および R^6 は、それらが結合する原子と一緒になって環を形成し、この環は、必要に応じてN、O、もしくはSから選択される1つ以上のさらなるヘテロ原子を組み込み、かつ必要に応じて置換された低級アルキル、ハロ、カルボキシ、およびオキソからな

50

る群より選択される1つ以上の置換基で置換される；

a. 特に、ピリミジン2, 4, 6-トリオン環またはシクロヘキサノン環である。

【0168】

4. R⁵ および R⁷ は、それらが結合する原子と一緒になって環を形成し、この環は、必要に応じてN、O、もしくはSから選択される1つ以上のさらなるヘテロ原子を組み込み、かつ必要に応じて置換された低級アルキル、ハロ、カルボキシ、およびオキソからなる群より選択される1つ以上の置換基で置換される；

a. 特に、3-メチル-チオモルホリン-3-オール環であり、そして形成される化合物は、1, 4-ジヒドロ-4-メチル-3a, 4-ジヒドロ-3-オキサ-10-チア-4a, 9-ジアザ-シクロペンタ [b] フルオレン-2-オンである。

10

【0169】

好ましい化合物としては、以下、ならびにその立体異性体、互変異性体、塩、および混合物が挙げられる；

・ 4- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -3-ヒドロキシ-1-オキサスピロ [4. 5] デカ-3-エン-2, 6-ジオン；

・ メタンスルホン酸 3- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) -2- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-イルメチルエステル；

・ 3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-5H-フラン-2, 2-ジカルボン酸ジエチルエステル；

20

・ 3- (5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) -4-ヒドロキシ-5-オキソ-5H-フラン-2, 2-ジカルボン酸ジエチルエステル；

・ 3- [9- (3, 4-ジヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-テトラヒドロフラン-2-イル) -2-メチル-9H-プリン-6-イルスルファニル] -2- [9- (3, 4-ジヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-テトラヒドロフラン-2-イル) -2-メチル-9H-プリン-6-イルスルファニルメチル] -4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3- (2-メチル-プロパン-1-スルホニル) -2- (2-メチル-プロパン-1-スルホニルメチル) -5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

30

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (9H-プリン-6-イルスルファニル) -2- (9H-プリン-6-イルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸メチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (5-フェニル-2H- [1, 2, 4] トリアゾール-3-イルスルファニル) -2- (5-フェニル-2H- [1, 2, 4] トリアゾール-3-イルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-2-メチル-3- (5-メチル-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) -5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

40

・ 4- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) -5- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル) -3-ヒドロキシ-5- (4-メチル-ピペラジン-1-カルボニル) -5H-フラン-2-オン；

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (3-スルホ-プロピルスルファニル) -2- (3-スルホ-プロピルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (2-スルホ-エチルスルファニル) -2- (2-スルホ-エチルスルファニルメチル) -2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3- (2-ジメチルアミノ-エチルスルファニル) -2- (2-ジメチルアミノ-エ

50

チルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル (塩酸塩として); および

・ 3 - [3 - (2 - カルボキシ - ピロリジン - 1 - イル) - 2 - メチル - 3 - オキソ - プロピルスルファニル] - 2 - [3 - (2 - カルボキシ - ピロリジン - 1 - イル) - 2 - メチル - 3 - オキソ - プロピルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル。

【 0 1 7 0 】

より好ましい化合物としては、以下、ならびにその立体異性体、互変異性体、塩、および混合物が挙げられる:

・ 4 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - 10
チアゾール - 2 - イル - 5 H - フラン - 2 - オン;

・ 4 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 3 - ヒドロキシ - 1 -
オキサ - 7, 9 - ジアザスピロ [4. 5] デカ - 3 - エン - 2, 6, 8, 10 - テトラ
オン;

・ リン酸モノ - [3 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (ベンゾチ
アゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒ
ドロフラン - 2 - イルメチル] エステル;

・ 4 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 3 - ヒドロキシ - 1 - オキサ -
7, 9 - ジアザスピロ [4. 5] デカ - 3 - エン - 2, 6, 8, 10 - テトラオン;

・ 2 - (フラン - 2 - イルメタンスルフィニルメチル) - 3 - (フラン - 2 - イルメチ
ルスルファニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カル
ボン酸エチルエステル; 20

・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (4 - フェニル - チアゾール - 2 - イルスルファ
ニル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸;

・ 3 - [4 - (2 - カルボキシ - ビニル) - フェニルスルファニル] - 2 - [4 - (2
- カルボキシ - ビニル) - フェニルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ
- 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;

・ ジ - [2 - (4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 - カルボン酸メチルエステル)] - ジ
スルフィド;

・ 4 - (5 - スルホ - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (5
- スルホ - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ
- 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン; 30

・ 3 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 -
オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;

・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (9 H - プリン - 6 - イルスルファニル) - 2 -
(9 H - プリン - 6 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カル
ボン酸エチルエステル;

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (5 - メチル - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファ
ニル) - 2 - (5 - メチル - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル)
- 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル; 40

・ 3 - ヘキシルスルファニル - 2 - ヘキシルスルファニルメチル - 4 - ヒドロキシ - 5
- オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル;

・ 4 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (1 H - ベンゾイ
ミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル -
5 H - フラン - 2 - オン;

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (1 H - イミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (1 H
- イミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラ
ン - 2 - カルボン酸エチルエステル;

4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (7 - トリフルオロメチル - キノリン - 4 - イルス
ルファニル) - 2 - (7 - トリフルオロメチル - キノリン - 4 - イルスルファニルメチル 50

) - 2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

3-(2-ジエチルアミノ-エチルスルファニル)-2-(2-ジエチルアミノ-エチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-スルホ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-スルホ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニル)-2-(ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸メチルエステル;

・4-ヒドロキシ-3-(2-メトキシカルボニル-エチルスルファニル)-2-(2-メトキシカルボニル-エチルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・4-ヒドロキシ-3-メトキシカルボニルメチルスルファニル-2-メトキシカルボニルメチルスルファニルメチル-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・4-ヒドロキシ-3-(5-メトキシ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-メトキシ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・4-ヒドロキシ-3-(5-ニトロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-ニトロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; および

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-p-トリルスルファニル-2-p-トリルスルファニルメチル-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【0171】

最も好ましい化合物としては、以下、ならびにその立体異性体、互変異性体、塩、および混合物が挙げられる:

・4-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-チアゾール]-2-イル-5H-フラン-2-オン;

・3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸(2-ヒドロキシ-エチル)-アミド;

・4-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-5-ベンゾイル-3-ヒドロキシ-5H-フラン-2-オン;

・3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸;

ジメチルアミノ-酢酸 3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-イルメチルエステル;

・4-(5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-5-(5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン;

・4-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-5-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン;

10

20

30

40

50

- ・ 3 - (5, 6 - ジクロロ - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (5, 6 - ジクロロ - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 3 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 5 H - フラン - 2, 2 - ジカルボン酸ジエチルエステル ;
- ・ 4 - (フラン - 2 - イルメチルスルファニル) - 5 - (フラン - 2 - イルメチルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン ;
- ・ 5 - アセチル - 4 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 3 - ヒドロキシ - 5 H - フラン - 2 - オン ;
- ・ 2 - (フラン - 2 - イルメタンスルフィニルメチル) - 3 - (フラン - 2 - イルメタンスルホニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 3 - (フラン - 2 - イルメタンスルホニル) - 2 - (フラン - 2 - イルメタンスルホニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 3 - ベンジルスルファニル - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 3 - メチルスルファニル - 2 - メチルスルファニルメチル - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 3 - (5 - アミノ - [1, 3, 4] チアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (5 - アミノ - [1, 3, 4] チアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸 ;
- ・ 3 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸 ;
- ・ 3 - ヒドロキシ - 5, 6 - ジメチル - 2 - オキソ - 5, 6 - ジヒドロ - 2 H - 1 - オキサ - 4, 7 - ジチア - アズレン - 8 a - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (5 - メチル - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸 2 - イソプロピル - 5 - メチル - シクロヘキシルエステル ;
- ・ 3 - (2 - ジメチルアミノ - エチルスルファニル) - 2 - (2 - ジメチルアミノ - エチルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸 ;
- ・ 3 - (フラン - 2 - イルメチルスルファニル) - 2 - (フラン - 2 - イルメチルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 3 - シクロペンチルスルファニル - 2 - シクロペンチルスルファニルメチル - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 3 - イソプチルスルファニル - 2 - イソプチルスルファニルメチル - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (ナフタレン - 2 - イルスルファニル) - 2 - (ナフタレン - 2 - イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (1 - フェニル - 1 H - テトラゾール - 5 - イルスルファニル) - 2 - (1 - フェニル - 1 H - テトラゾール - 5 - イルスルファニルメチル) - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;
- ・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (チアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (

チアゾール-2-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(2-クロロフェニルスルファニル)-2-(2-クロロフェニルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸;

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリジン-4-イルスルファニル)-2-(ピリジン-4-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・5, 8-ジクロロ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-2H-1-オキサ-4, 9-ジチア-ベンゾ[f]アズレン-10a-カルボン酸エチルエステル;

・3-(5-クロロベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-クロロベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-フェニル-[1, 3, 4]オキサジアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-フェニル-[1, 3, 4]オキサジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(5-アミノ-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニル)-2-(5-アミノ-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(3-アミノ-[1, 2, 4]チアゾール-5-イルスルファニル)-2-(3-アミノ-[1, 2, 4]チアゾール-5-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エタンスルホニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エタンスルホニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・R-3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・S-3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸;

・R-3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸;

10

20

30

40

50

・ 3 - (2 - アセチルアミノ - 2 - メトキシカルボニル - エチルスルファニル) - 2 - (2 - アセチルアミノ - 2 - メトキシカルボニル - エチルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル、および

・ 3 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ (S) - 3 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ (R) - (3 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル。

【0172】

他の最も好ましい化合物としては、以下、ならびにその立体異性体、互変異性体、塩、および混合物が挙げられる：

・ 3 - (2 - クロロ - 4 - フルオロ - フェニルスルファニル) - 2 - (2 - クロロ - 4 - フルオロ - フェニルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 3 - (4 - フルオロ - ベンジルスルファニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 5 H - フラン - 2, 2 - ジカルボン酸ジエチルエステル；

・ 4 - (ベンゾオキサゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (ベンゾオキサゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン；

・ 3 - (2 - クロロ - 6 - フルオロ - ベンジルスルファニル) - 2 - (2 - クロロ - 6 - フルオロ - ベンジルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (5 - メトキシ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (5 - メトキシ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 3 - (2, 4 - ジクロロ - ベンジルスルファニル) - 2 - (2, 4 - ジクロロ - ベンジルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 2 - (ベンゾチアゾール - 2 - スルフィニルメチル) - 3 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (6 - ニトロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (6 - ニトロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 3 - (フラン - 2 - イルメタンスルフィニル) - 2 - (フラン - 2 - イルメタンスルフィニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 3 - (ベンゾオキサゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸メチルエステル；

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - [4 - (2 - メトキシカルボニル - ビニル) - フェニルスルファニル] - 2 - [4 - (2 - メトキシカルボニル - ビニル) - フェニルスルファニルメチル] - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2 - カルボン酸エチルエステル；

・ 3 - (フラン - 2 - イルメチルスルファニル) - 2 - (フラン - 2 - イルメチルスルファニルメチル) - 4 - イソブチルオキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロ - フラン - 2

10

20

30

40

50

ーカルボン酸エチルエステル；

・ 4－（2，2－ジメチル－プロピオニルオキシ）－3－（フラン－2－イルメチルスルファニル）－2－（フラン－2－イルメチルスルファニルメチル）－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－（2，2－ジメチル－プロピオニルオキシ）－3－エトキシカルボニルメチルスルファニル－2－エトキシカルボニルメチルスルファニルメチル－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－5－オキソ－3－（4－フェニル－チアゾール－2－イルスルファニル）－2－（4－フェニル－チアゾール－2－イルスルファニルメチル）－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 3－（フラン－2－イルメチルスルファニル）－2－（フラン－2－イルメチルスルファニルメチル）－4－ヒドロキシ－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 3－ブチルスルファニル－2－ブチルスルファニルメチル－4－ヒドロキシ－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－3－（4－メトキシ－ベンジルスルファニル）－2－（4－メトキシ－ベンジルスルファニルメチル）－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 3－ベンジルスルファニル－2－ベンジルスルファニルメチル－4－ヒドロキシ－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－3－（4－メトキシ－フェニルスルファニル）－2－（4－メトキシ－フェニルスルファニルメチル）－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 2－（1H－ベンゾイミダゾール－2－イルスルファニルメチル）－4－エトキシ－3－（1－エチル－1H－ベンゾイミダゾール－2－イルスルファニル）－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 3－（ベンゾチアゾール－2－イルスルファニル）－2－（ベンゾチアゾール－2－イルスルファニルメチル）－4－ヒドロキシ－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－5－オキソ－3－（1－オキシ－ピリジン－2－イルスルファニル）－2－（1－オキシ－ピリジン－2－イルスルファニルメチル）－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－5－オキソ－3－（4－トリフルオロメチル－ピリミジン－2－イルスルファニル）－2－（4－トリフルオロメチル－ピリミジン－2－イルスルファニルメチル）－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－3－（4－メチル－ピリミジン－2－イルスルファニル）－2－（4－メチル－ピリミジン－2－イルスルファニルメチル）－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 4－ヒドロキシ－5－オキソ－3－（ピリミジン－2－イルスルファニル）－2－（ピリミジン－2－イルスルファニルメチル）－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；

・ 3－（ベンゾセレナゾール－2－イルスルファニル）－2－（ベンゾセレナゾール－2－イルスルファニルメチル）－4－ヒドロキシ－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル；および

・ 3－シクロヘキシルスルファニル－2－シクロヘキシルスルファニルメチル－4－ヒドロキシ－5－オキソ－2，5－ジヒドロ－フラン－2－カルボン酸エチルエステル。

【0173】

（有用性、試験および投与）

（一般的有用性）

本発明の化合物、多数の障害（特に、酸化的ストレスおよび／または炎症によって特徴

10

20

30

40

50

付けられる障害)を処置する際に有用である。特に本発明の化合物は、脳虚血(最も頻繁には、血栓症、血管閉塞および塞栓症によって引き起こされる「脳卒中」)、心筋虚血(慢性安定狭心症、狭心症、不安定狭心症およびプリンツメタル狭心症、無症候性虚血、再梗塞、再閉塞、再狭窄、心筋梗塞および他の形態の心臓疾患)、糖尿病、腎臓疾患、月経前症候群、喘息、心肺炎症障害、慢性心不全、慢性関節リウマチ、筋肉疲労、刺激性腸症候群、炎症性腸疾患、間欠性跛行を処置する際に、および移植のための同種移植片組織の保存のために、使用され得る。本発明の化合物はまた、皮膚科学的状態の群に入る状態を処置する際、特に、皮膚組織の加齢性損傷または傷害(例えば、有害な紫外線(UV)放射線、ストレスおよび疲労)から生じる損傷の予防および防御の際、ならびに接触性皮膚炎、皮膚過敏、皮膚色素沈着、乾癬または挫瘡の処置の際に有用である。本発明の化合物はまた、神経炎症、認知、および神経変性と関連する多くの障害、特に、フリードライヒ失調症、癲癇、パーキンソン病、アルツハイマー病、および老人性痴呆症の処置において有用である。 10

【0174】

特定の理論または作用機構に同意することなく、本発明の化合物は、広範に種々の生理学的プロセスにわたって機能する「オキシドレダクターゼ」として公知の特定の酵素を標的化し得る。特に、オキシドレダクターゼは、一方の分子が酸化され、他方の分子が還元されて、一分子の水が、この反応に入るように、2つの分子が相互作用する反応を触媒する。いくつかの最も重要なオキシドレダクターゼとしては、例えば、リアーゼ、ラクターゼ、デヒドロゲナーゼ(ユビキノンを含む)、レダクターゼ、ペルオキシダーゼ、硝酸シンターゼ、コレステロールオキシダーゼ、アシルコエンザイムAデヒドロゲナーゼおよびレダクターゼ、ヒドロキシラーゼなどが挙げられる。これらの酵素は、消化、シグナル伝達、イオン恒常性の維持などのような必須のプロセスにおいて役割を果たす。オキシドレダクターゼの変化は、全ての既知のヒト遺伝病の3%程度の原因であると考えられる。上記の疾患および障害に加えて、オキシドレダクターゼ活性の異常は、鬱血性心不全、呼吸鎖欠陥(例えば、呼吸鎖の酵素に関連する異常)、糖原病、慢性関節リウマチ、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、慢性アルコール肝臓損傷(CALD)、レフサム病(遺伝性ニューロパシー)、クローン病、イールズ病(周辺部脈管炎(perivascularitis))、プリオン病、ハンチントン舞蹈病、白内障、多発性硬化症、急性呼吸促迫症候群(ARDS)、ツェルヴェーガー症候群(ペルオキシソーム生物発生(peroxisomal biogenesis))、多嚢胞性卵巣症候群、アルパーズ症候群(脳障害)、脂肪症/脂肪肝炎(steatohepatitis)、代謝症候群(metabolic syndrome)、糖尿病、喘息、ファンコーニ貧血、網膜症、加齢性黄斑変性(AMD)、前子癇(pre-eclampsia)、胆汁うっ滞性肝臓病(cholestatic liver disease)、末期腎臓病、クロイツフェルトーヤコブ病(CJD)、および鎌状赤血球病のような障害が根底にあり得る。 20 30

【0175】

(試験)

この節は、本発明の組成物を含む組成物が、例えば、インビトロモデルおよび/またはインビボ動物モデルを使用してどのように選択され、そして例示的な適応症(すなわち、発作、慢性心不全、心筋梗塞およびアルツハイマー病)における治療的介入としてどのように使用されるかを記載する。 40

【0176】

脳に対する傷害(insult)(虚血のように、脳の血液供給を中断させるか、または低酸素(低い酸素)または無酸素(酸素無し)のように、脳の酸素供給を中断する)によって、細胞死を導くニューロン不均衡が急速にもたらされる(Flynn, C. J., ら, 1989, G. Siegel ら, (編), Basic Neurochemistry, Raven Press, NY)。種々の型の脳虚血に関するニューロン損傷および炎症を導く細胞機構および分子機構の研究は、インビボでのニューロンの代謝特徴を保持するインビトロモデル系(例えば、初代細胞培養物)を使用して実行され得る。このよう 50

な細胞ベースのモデルの使用は、無酸素、低血糖症、興奮毒性、および反応性酸素種への曝露のような状態におけるニューロン死を導く生化学機構の同定において進歩を導いている。褐色細胞腫細胞株であるPC12のようなニューロン細胞株はまた、これらの細胞株において発現されるニューロン特異的タンパク質の構造および機能に対する酸化ストレスの影響を研究するための有用なモデルである。多くのニューロン細胞株が本当のニューロンの特性全てを発現するわけではないので、ここで、初代ニューロン培養物を、インタクトな脳で生じるプロセスを識別するインビトロモデルとして幅広く使用する。

【0177】

虚血のインビトロモデルは、例えば、ニューロン培養物を、大きな無酸素性または低酸素性チャンバに配置し、そして培養培地を脱酸素化規定イオン組成の培地と交換することによって、インビボ条件を模倣する酸素およびグルコース欠乏に近似させる。ニューロングルタミン酸レセプター（特に、N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）レセプター）の毒性過剰刺激は、低酸素虚血ニューロン損傷（Choi, D. M., 1988, *Neuron* 1: 623-634）、反応性酸素種（ROS）の虚血誘導（Watson, B. D., ら, 1988, *Ann NY Acad Sci.*, 59: 269-281）、過剰なカルシウム流入（Grotta, J. C., 1988, *Stroke* 19: 447-454）、アラキドン酸増加（Siesjö, B. K., 1981, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1: 155-186）およびDNA損傷（MacManus, J. P., ら, 1993, *Neurosci. Lett.*, 164: 89-92）（それぞれが神経変性のカスケードをひき起こす）に寄与する。

【0178】

初代胚性海馬ニューロン細胞は、ニューロン機能のモデルにおいて有用であるとして幅広く認識されている。海馬は、一般に、中枢神経系（CNS）ニューロンに代表的な十分に特徴付けられた特性を有する、比較的均一な集団の供給源のニューロンである。錐体ニューロン（海馬において主要な細胞型）は、全ニューロン集団の85%~90%を占めると推定されている（BankerおよびGoslin, 1998, *Culturing Nerve Cells*, 第2版, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts）。海馬はまた、長期増強のような、シナプス機能における活性依存性変化について顕著な能力を示す（Hawkins RD, Kandel ER, Siegelbaum SA. (1993) *Learning to modulate transmitter release: themes and variations in synaptic plasticity* [総説], *Ann. Rev Neurosci.* 16: 625-665.）。

【0179】

実施例に詳細に記載される方法に従って、本発明を支持して実施される実験において、無酸素/虚血を、海馬ニューロン細胞の初代培養物において誘導し、そして化合物を、細胞死を妨げるそれらの能力について試験した。次いで、このようなインビトロアッセイにおいて活性を有することが見出された特定の化合物を、大脳虚血（「発作」）の1つ以上の動物モデル（例えば、ラットにおける中大脳動脈閉塞（MCAO）モデル）においてさらに試験した。

【0180】

簡単に述べると、海馬ニューロンの初代培養物は、ニューロン保護における活性について化合物を試験するために使用される。海馬培養物は、代表的に、18~19日目の胎仔ラットから調製される。この年齢において、錐体ニューロンの発生（約E15においてラットで開始する）が基本的に完了する。この段階の脳組織は、比較的容易に解離し、髄膜は、容易に除去され、そしてグリア細胞の数は、依然として比較的中程度である（Park LC, Calingasan NY, Uchida K, Zhang H, Gibson GE. (2000) *Metabolic impairment elicits brain cell type-selective changes in oxidative stress and cell death in culture*

. J Neurochem 74 (1) : 114-124)。

【0181】

本発明の化合物の活性を評価するために、試験化合物を、実施例に詳細に記載されるように、1つ以上の標準的なストレッサー（低酸素を含む）に対して細胞を保護するその能力について評価する。一般的に、所望の治療化合物候補は、約1mM未満の濃度、より好ましくは約100μM未満の濃度でこのモデルにおいて効果的である。効果的（有効）とは、このような化合物が、ストレッサー誘導死から、試験される細胞の少なくとも20%、好ましくは30%、より好ましくは、40%、さらにより好ましくは50%以上を保護することを意味する。例として、約1~1000μMの範囲の濃度にわたって保護を提供する際に効果的である化合物は、インビボで神経保護を提供すると期待される。正確な値は、神経保護細胞アッセイが行われる特定の条件に依存して変化し得るので、本発明の化合物が効果的であるとみなされる絶対的な濃度を提供するよりもむしろ、引き続いて試験化合物を比較することに対する基準の形態で、ガイドラインとして上記基準を提供することが、本開示の意図である。代表的に、このようなインビトロ細胞系において神経保護性であることが見出される化合物は、次いで、神経保護のインビボ動物モデル（例えば、下記のラット中大脳動脈閉塞モデル、または当該分野で周知のモデルのような他の適切なモデル）においてさらに試験される。

10

【0182】

大脳虚血傷害は、頭蓋への血管または頭蓋内の血管を閉塞することによって、動物においてモデル化される（Molinari, G. F., 1986, H. J. M. Barnett, ら, (編) Stroke: Pathophysiology, Diagnosis and Management, Vol. 1, Churchill Livingstone, NY）。ラット中大脳動脈閉塞（MCAO）モデルは、ヒト（例えば、発作を経験するヒト）における大脳虚血損傷に近似する一過性の限局性大脳虚血を誘導するための最も幅広く使用される技術のうちの1つである。このモデルにおいて虚血の引き金として使用される中大脳動脈は、ヒト発作において最も影響を受ける血管である。このモデルはまた、再灌流の期間（これは、代表的に、ヒト発作の犠牲者において生じる）を伴う。2時間の閉塞を含むMCAOは、24時間の時点での死亡率の増加なしに得られ得る最大サイズの皮質梗塞を生成することが見出された。

20

【0183】

簡単に述べると、ナイロンフィラメントが、ラットの右頸動脈内に移植される。閉塞をもたらすために、ラットを麻酔し、そしてフィラメントを、内動脈および外動脈の分岐点から18~20mm、内頸動脈へ進め、フィラメントの周りで縫合糸を2時間、きつく結紮する。2時間の閉塞後、動物を再び麻酔し、そしてフィラメントを除去して、実験の残りのために再灌流させる。試験薬物を、このプロセスの間、閉塞の前、閉塞の間、または閉塞後の任意のときに投与し得、種々の手段の1つ以上（限定しないが、脳室内（ICV）注入、静脈内（IV）注入、腹腔内（IP）投与、ならびに腸内投与（例えば、胃管栄養法）が挙げられる）によって投与され得る。動物を、実施例に記載されるように、実験の間、正常温度に維持する。閉塞および再灌流後の所定の時間において、動物を屠殺し、そしてそれらの脳を取り出し、そして梗塞容積によって測定されるような、損傷の評価のために処理する。一般的に、化合物は、このモデルにおいて、これらが、ICVまたはIVで投与される場合、約10mg/kg未満、好ましくは、1mg/kg未満、より好ましくは、100μg/kg未満、そしてさらにより好ましくは約1μg/kg未満である用量で、全梗塞容積の有意な減少を提供する場合、活性を有するとみなされる。全梗塞容積の有意な減少とは、コントロール値と比較して、少なくとも20%、好ましくは、少なくとも30%、より好ましくは、少なくとも40%、そしてさらにより好ましくは、約50%の減少を意味する。

30

40

【0184】

神経保護における効力のさらなる確証は、機能試験（例えば、握力試験またはロトロッド（rotorod）試験）を用いて評価され得る。神経保護を示す化合物を用いて処置

50

された動物は、感覚運動機能の喪失を示す握力の有意な減少を示した未処置の動物と比較して、MCAO後に、それらのMCAO前握力値を維持する。同様に、神経保護を示す化合物で処置された動物はまた、より高い脳レベルにおける感覚運動機能の喪失を示す、ロッドスコアの有意な減少を示した未処置の動物と比較して、MCAO後のそれらのMCAO前ロッド活動スコアを維持した。

【0185】

同様に、筋細胞の初代培養物は、例えば、心筋虚血またはうっ血性心不全から生じる心臓損傷に対する保護を提供する能力についてインビトロで化合物を試験するために使用され得る。新生仔のラット由来の心筋細胞の調製は、実施例に記載される。このような細胞は、代表的に、心筋虚血の分子モデルを研究するために使用され (Webster, KA 10, Discher, DJ & Bishopric, NH. 1995. J. Mol. Cell Cardiol. 27: 453-458; Camilleri, L, Moins, N, Papon, J, Maublant, J, Bailly, P, de Riberoles, C & Veyre, A. 1997. Cell Biol. & Toxicol. 13: 435-444; Bielawska, AE, Shapiro, JP, Jiang, L, Melkonyan, HS, Piot, C, Wolfe, CL, Tomei, LD, Hannun, YA & Umansky, SR. 1997. Am. J. Pathol. 151: 1257-1263)、従って、心筋保護活性の指標として受容される。この目的のための例示的なストレスアッセイが、実施例に提供される。例えば、培養中の心筋細胞は、収縮性 (「拍動」) 活性を示し; 各心筋細胞の収縮は、「カルシウムトランジェント (calcium transient)」と呼ばれる細胞内カルシウムの上昇と関連する。これらのカルシウムトランジェントは、Fluo-4 (カルシウムが結合すると大きな蛍光強度の増加を示す蛍光色素) を使用して測定され得る。このアッセイは、細胞ベースであり、そして虚血損傷に対して保護し、かつ細胞にそれらの収縮機能を維持させる、潜在的な細胞保護分子の能力を試験する。 20

【0186】

化合物のさらなる確証は、器官全体アッセイ (例えば、心臓機能の単離された心臓 (ランゲンドルフ) モデル) で実施され得る。同様に、化合物は、疾患 (例えば、糖尿病、腎不全、喘息、筋肉疲労、炎症) のさらなる動物モデルにおいてさらに確証され得、これらの動物モデルは、当該分野において周知である。 30

【0187】

化合物の神経抗炎症活性のさらなる確証は、ミクログリア細胞株からのIL-1 β 放出の阻害によって、インビトロで評価され得る。

【0188】

インターロイキン-1 (IL-1) は、30% 配列相同性を共有する2つの別個の形態 (α および β) にて存在する炎症促進性サイトカインである。IL-1の構成的発現は、脳においては低いが、このサイトカインの両方の形態のレベルは、傷害後に劇的に増大する。IL-1が、大脳虚血によって誘導される神経変性の重要なメディエーターであるという実質的な証拠が存在する (Touzani Oら, J Neuroimmunol 100: 203-215, 1999)。両方のIL-1形態は、発作の実験的モデルにおいて迅速に誘導され、組換えIL-1 β の投与は、虚血性傷害を増強する (Hill JK. ら, Brain Res 820: 45-54, 1999, Hillhouse EWら, Neurosci Lett 249: 177-179, 1998, Loddick SAら, J Cereb Blood Flow Metab 16: 932-940, 1996, Stroemer RPら, J Cereb Blood Flow Metab 18: 833-839, 1998を参照のこと)。逆に、IL-1作用を、レセプターアンタゴニストまたは中和抗体でブロックすると、虚血損傷のモデルにおけるニューロン死および炎症が顕著に減少する (Betz AL, J Cereb Blood Flow Metab 15: 547-551, 1995, Relton JK, Brain Res Bull 29: 243-246, 1992, Yamasaki Y 40 50

ら, Stroke 26:676-680, 1995を参照のこと)。さらに、IL-1 β 生成が減少したマウス(カスパーゼ-1ノックアウト)は、虚血性傷害から有意に保護され(Schielke GPら, J Cereb Blood Flow Metab 18:180-185, 1998)、IL-1 α およびIL-1 β の二重ノックアウトは、野生型マウスと比較して、劇的に減少した虚血性梗塞容積を示す(皮質において87%減少)(Boutin Hら, J Neurosci 21:5528-5534, 2001)。

【0189】

虚血性損傷における役割に加えて、IL-1上昇は、多くの神経変性疾患と関連している。アルツハイマー病(AD)におけるIL-1の役割についての証拠が増えつつある(Mrak REら, Neurobiol Aging 22(6):903-908, 2001)。上昇したレベルのIL-1 β は、この疾患において、アミロイド斑を囲むことが示され、現在の遺伝的研究では、IL-1 α の多型が、ADの危険性の増加(3~6倍増加)と関連することが示された(Griffin WSら, J Leukoc Biol 72(2):233-238, 2002)。この多型はまた、AD患者における認知低下の速度と相関した(Murphy GMら, Neurology, 56(11)1595-1597, 2001)。ADの危険性は、IL-1 α における多型が、IL-1 β における別の多型と組み合わせて見いだされる場合に、よりさらに増大する(Griffin WS, 前出を参照のこと)。このことは、これらのサイトカインが、この疾患の病理において重要な役割を果たすという説得力のある証拠を提供する。

10

20

【0190】

このアッセイは、LPSおよびインターフェロン- γ での炎症性のチャレンジ後のマウスミクログリア細胞株からのIL-1 β の放出を測定する。試験物品が、ミクログリア細胞活性化およびIL-1 β 放出を阻害する能力は、試験物品と炎症性チャレンジとの同時インキュベーションにより決定される。サイトカイン放出は、マウスIL-1 β ELISAを使用して測定され、細胞毒性は、Cell Tracker Green(細胞生存性を測定する蛍光色素)を用いて決定される。

【0191】

抗炎症性活性のインビボ評価は、カラゲナン誘導足浮腫を測定する十分に特徴付けられたアッセイ、および局所的アラキドン酸に対するマウス耳炎症応答によって決定され得る(Gabor, M., Mouse Ear Inflammation Models and their Pharmacological Applications, 2000)。カラゲナン誘導足浮腫は、炎症のモデルであり、これは、ラットの足の足底内表面へのカラゲナン投与に続く、時間依存性の浮腫の形成を引き起こす。マウスの耳へのアラキドン酸(AA)の適用は、即時の血管拡張および紅斑を生じ、続いて、浮腫の急激な発生を生じる(これは、40~60分で最大である)。浮腫の発生は、タンパク質および白血球の管外遊出と同時である。1時間後、浮腫は急速に減少し、そして炎症細胞が組織を離れ、その結果、6時間で、耳は、ほぼ正常に回復する。それぞれ、実施例42および43に記載されるように、これらのアッセイは、投与の全身経路および局所経路を介してこれらの炎症性プロセスを処置する、試験化合物の能力を測定する。

30

40

【0192】

(投与)

式IまたはIIIの化合物は、治療的有効投薬量(例えば、先に記載された疾患状態に対する処置を提供するのに十分な投薬量)で投与される。本発明の化合物またはその薬学的に受容可能な塩の投与は、類似の有用性を提供する薬剤についての投与の受容された様式のいずれかにより得る。

【0193】

ヒト投薬量レベルが本発明の化合物について最適化されなければならないものの、一般的に、毎日の用量は、体重1kg当たり約0.01~2.0mg、好ましくは、体重1kg当たり約0.1~1.5mg、そして最も好ましくは、体重1kg当たり約0.3~1

50

． 0 m g である。従って、7 0 k g のヒトへの投与について、投薬量範囲は、1 日当たり約 0 . 7 ～ 1 4 0 m g、好ましくは、1 日当たり約 7 . 0 ～ 1 0 5 m g、そして最も好ましくは、1 日当たり約 2 1 ～ 7 0 m g である。投与される活性化合物の量は、もちろん、処置される被験体および疾患状態、苦痛の重篤度、投与の方法およびスケジュール、ならびに処方する医師の判断に依存する。

【 0 1 9 4 】

上記状態の処置のために本発明の化合物を使用する際、薬学的に受容可能な投与の様式のいずれかが使用され得る。処方物 I または I I I の化合物は、単独でまたは薬学的に受容可能な賦形剤とともにのいずれかで、投与され得、これには、固体、半固体、液体またはエアロゾル投薬形態（例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、液体、懸濁剤、坐剤、エアロゾルなど）が挙げられる。式 I の化合物はまた、好ましくは、正確な投薬量の単回投与に適した単位投薬形態で、所定の速度での化合物の長期投与のために、持続放出または制御放出の投薬形態（蓄積注射、浸透圧ポンプ、丸剤、経皮（電気輸送を含む）パッチなどを含む）で投与され得る。組成物は、代表的に、従来の薬学的キャリアまたは賦形剤および式 I もしくは式 I I I の化合物またはその薬学的に受容可能な塩を含む。さらに、これらの組成物は、他の医療的薬剤、薬学的薬剤、キャリア、アジュバントなど（限定しないが、抗凝固剤、血餅溶解剤、透過性増強剤および徐放性処方物が挙げられる）を含み得る。

10

【 0 1 9 5 】

一般的に、意図される投与の様式に依存して、薬学的に受容可能な組成物は、約 0 . 1 重量 % ～ 9 0 重量 %、好ましくは、約 0 . 5 重量 % ～ 5 0 重量 % の式 I もしくは I I I の化合物または塩を含み、残りは、適切な薬学的賦形剤、キャリアなどである。

20

【 0 1 9 6 】

上で詳細に記載される状態のための投与の 1 つの好ましい方法は、苦痛の程度に従って調節され得る従来の毎日の投薬レジメンを使用する、経口である。このような経口投与のために、薬学的に受容可能な非毒性の組成物を、任意の通常使用される賦形剤（例えば、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、滑石、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、グルコース、ゼラチン、スクロース、炭酸マグネシウムなど）のいずれかを混合することによって形成する。このような組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、分散性錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性処方物などの形態をとる。

30

【 0 1 9 7 】

好ましくは、組成物は、丸剤または錠剤の形態を取り、従って、組成物は、活性成分とともに、ラクトース、スクロース、リン酸二カルシウムなどのような希釈剤；ステアリン酸マグネシウムなどのような滑沢剤；ならびにデンプン、アカシアガム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、セルロースおよびこれらの誘導体のような結合剤などを含む。

【 0 1 9 8 】

液体の薬学的に投与可能な組成物は、例えば、上記に規定される活性化合物および任意の薬学的アジュバントを、キャリア（例えば、水、生理食塩水、水性デキストロース、グリセロール、グリコール、エタノールなど）中に溶解、分散などして、それによって、溶液または懸濁液を形成することによって、調製され得る。所望である場合、投与されるべき薬学的組成物はまた、最小量の非毒性補助物質（例えば、湿潤剤、乳化剤、または可溶化剤、pH 緩衝化剤など（例えば、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンアセテート、トリエタノールアミンオレエートなど））を含み得る。このような投薬形態を調製する実際の方法は、当業者に公知であるか、または明らかである；例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 第 15 版, 1975 を参照のこと。投与されるべき組成物または処方物は、いずれにしても、処置される被験体の症状を軽減するのに有効な量で、ある量の活性化合物を含む。

40

【 0 1 9 9 】

50

0.005%～95%の範囲の活性成分を含む投薬形態または組成物（残りは、非毒性キャリアから構成される）が調製され得る。

【0200】

経口投与のために、薬学的に受容可能な非毒性組成物は、通常使用される賦形剤（例えば、薬学的グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、滑石、セルロース誘導体、クロスカルメロースナトリウム、グルコース、スクロース、炭酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、滑石など）のいずれかの混合によって形成される。このような組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、カプセル剤、散剤、持続性処方物などの形態をとる。このような組成物は、0.01%～95%の活性成分、好ましくは、0.1～50%の活性成分を含み得る。

10

【0201】

固体投薬形態のために、溶液または懸濁液（例えば、プロピレンカルボネート、植物油、またはトリグリセリド中）は、好ましくは、ゼラチンカプセル中にカプセル化される。このようなジエステル溶液、ならびにそれらの調製およびカプセル化は、米国特許第4,328,245号；同第4,409,239号；および同第4,410,545号に開示される。液体投薬形態について、溶液（例えば、ポリエチレングリコール中）は、投与のために容易に測定されるのに十分な量の薬学的に受容可能な液体キャリア（例えば、水）で希釈され得る。

【0202】

あるいは、液体または半固体の経口処方物は、活性化合物または塩を、植物油、グリコール、トリグリセリド、プロピレングリコールエステル（例えば、プロピレンカーボネート）など中に溶解または分散し、そしてこれらの溶液または懸濁液をハードゼラチンカプセルシェルまたはソフトゼラチンカプセルシェル中にカプセル化することによって調製され得る。

20

【0203】

他の有用な処方物としては、米国特許 Re. 28,819号および米国特許第4,358,603号に示される処方物が挙げられる。

【0204】

処方物は、連続処置のために、単回の単位投薬形態で投与され得るか、または症状の軽減が具体的に必要とされる場合、任意に、単回の単位投薬形態で投与され得る。例えば、処方物は、発作、心筋梗塞、または慢性心不全の症状の発症後に、ボラスとして、または連続的な静脈内注入として投与され得る。

30

【0205】

投与の別の好ましい様式は、局所的投与である。「局所的投与」とは、皮膚の表面上への塗りつけ、噴霧などによる、本発明の組成物の適用をいう。適用される正確な量は、皮膚1平方センチメートル当たり約0.1mgの組成物～皮膚1平方センチメートル当たり約25mgの組成物までで変化し得る。本発明の化合物は、軟膏、クリーム剤もしくはローション剤として、または経皮パッチとして、皮膚に対する局所的投与のために処方され得る。口内に局所的に投与するために適した処方物としては、ロゼンジ、香錠およびマウスウォッシュが挙げられる。

40

【0206】

非経口投与は、一般的に、皮下、筋肉内または静脈内のいずれかでの、注射によって特徴付けられる。注射可能物は、従来の形式で、液体、溶液または懸濁液、注射の前に液体中の溶液または懸濁液に適切な固体形態、あるいはエマルジョンとしてのいずれかで調製され得る。適切な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどである。さらに、所望である場合、投与されるべき薬学的組成物はまた、最小量の非毒性補助物質（例えば、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝化剤、溶解性向上剤など（例えば、酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレエート、シクロデキストリンなど））を含み得る。

【0207】

50

非経口投与のためのより最近開発されたアプローチは、一定レベルの投薬量が維持されるように、徐放性または持続性システムの実施を使用する。例えば、米国特許第3,710,795号を参照のこと。このような非経口組成物に含まれる活性化合物のパーセンテージは、それらの特定の性質、ならびにその化合物の活性および被験体の必要性に高く依存する。しかし、溶液中の0.01%~10%の活性成分のパーセンテージは、使用可能であり、そしてこの組成物が、後に上記パーセンテージに希釈される固体である場合、より高い。好ましくは、組成物は、溶液中に、0.2~2%の活性薬剤を含む。

【0208】

活性化合物単独または他の薬学的に受容可能な賦形剤とあわせた経鼻溶液もまた投与され得る。

10

【0209】

活性化合物または塩の処方物はまた、噴霧器のためのエアロゾルまたは溶液として、あるいは吸入のための微細粉末として、単独で、または不活性なキャリア（例えば、ラクトース）とともに、呼吸管に投与され得る。このような場合、処方物の粒子は、50ミクロン未満、好ましくは、10ミクロン未満の直径を有する。

【実施例】

【0210】

（実施例）

以下の調製および実施例は、当業者が本発明をより明瞭に理解し、そして本発明を実施することを可能にするために提供される。これらの実施例は、本発明の範囲の限定とみなされるべきではなく、単なる本発明の例示およびその代表例と見なされるべきである。

20

【0211】

（一般的な特徴付け方法）

以下の実施例において報告されるように、核磁気共鳴（NMR）スペクトルを、Bruker DTX300分光計において、大半の場合にはテトラメチルシラン（TMS）を内部参照として使用することにより、記録した。質量スペクトルを、エレクトロスプレーイオン化（正または負のモード）（ESI）または大気圧化学イオン化（正または負のモード）（APCI）のいずれかを使用して、Agilent 1100 LC/MSD装置において得た。

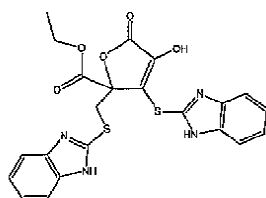
【0212】

30

（実施例1：3-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製）

【0213】

【化16】



40

エタノール（40 mL）およびアセトン（50 mL）中の2-メルカプトベンゾイミダゾール（4.0 g）およびプロモピルビン酸エチル（4 mL）の溶液を、アルゴン下、20℃で16時間攪拌した。生成された白色固体を濾過し、4.5 gのピルビン酸付加体を得、これをさらに精製せずに次の工程に直接使用した。母液を濃縮し、白色固体の2次生成物（crop）を生成させた。濾過した後、4.17 gの同じ中間体を得た。ピルビン酸付加体の1次生成物（4.5 g）を塩化メチレンに溶解し、pHが7に達するまで、炭酸水素ナトリウム水溶液で処理した。塩化メチレン相を分離し、乾燥し、そして、約20 mLの容量まで濃縮した。この溶液に、4-ジメチルアミンピリジン（700 mg）を添加し、その後、アルゴン下、20℃で攪拌した。カラムクロマトグラフィー精製（100

50

g のシリカゲル、溶離液として塩化メチレン-エタノール混合物の勾配を用いる)を行い、生成物と 4-ジメチルアミンピリジン (2.78 g) の混合物と共に、表題のフラノン生成物を得た (500 mg)。

【0214】

【化17】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}/\text{d}_6\text{-アセトン}$) δ

(ppm) 7.50-7.45 (m, 2H), 7.40-7.35 (m, 2H), 7.25-7.15 (m, 2H), 7.10-7.00 (m, 2H), 4.37 (s, 2H), 4.01 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.13 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ (ppm) 166.8, 266.4, 149.9, 148.9, 146.4, 139.3, 122.6, 122.0, 114.7, 112.4, 85.2, 63.0, 13.9. MS (API-ESI) m/z 242, 483 ($\text{M}+\text{H}^+$).

10

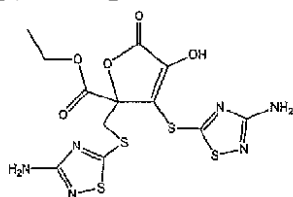
。

【0215】

(実施例 2 : 3-(3-アミノ-[1, 2, 4]チアジアゾール-5-イルスルファニル)-2-(3-アミノ-[1, 2, 4]チアジアゾール-5-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0216】

【化18】



20

(2A. トリメチルアミン塩の調製)

エタノール (15 mL) 中、5-アミノ-1, 3, 4-チアジアゾール-2-チオール (665 mg, 5 mmol) およびプロモピルビン酸エチル (0.65 mL, 5.16 mmol) の懸濁液を、アルゴン下、20℃で1時間攪拌した。この溶液に、トリメチルアミン水溶液 (2 mL) を添加し、pHを中性にし、次いで、さらに16時間攪拌させた。濾過後、表題フラノン生成物のトリメチルアミン塩を単離した (820 mg)。

30

【0217】

【化19】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{d}_3\text{-MeOD}/\text{D}_2\text{O}$) δ (ppm) 4.05-3.70 (m, 4H), 2.91 (s, 9H), 1.15 (t, $J=7.2$ Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 225 ($(\text{M}+2\text{H})/2$, 15), 449 ($\text{M}+\text{H}^+$).

(2B. 塩を含まないフラノンの調製)

エタノール (15 mL) 中の 5-アミノ-1, 3, 4-チアジアゾール-2-チオール (665 mg, 5 mmol) およびプロモピルビン酸エチル (0.65 mL, 5.16 mmol) の懸濁液をアルゴン下、20℃で1時間攪拌した。溶液の pH を、炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて約 7.5 に調整した。20℃で16時間の攪拌の後、生成した沈殿物を濾過して分離した。乾燥させて、表題の塩を含まないフラノン生成物を、固体として得た (590 mg)。

40

【0218】

【化20】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.05-3.80 (m, 4H), 1.09 (t, $J=7.2$ Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 225, 449 ($\text{M}+\text{H}^+$).

。

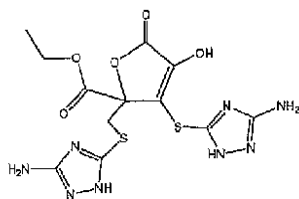
(実施例 3 : 3-(5-アミノ-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニル)-2-(5-アミノ-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニル

50

メチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル)の調製)

【0219】

【化21】



10

エタノール (15 mL) 中の 3-アミノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール (580 mg、5 mmol) およびプロモピルビン酸エチル (0.65 mL、5.16 mmol) の懸濁液をアルゴン下、20℃で2時間攪拌した。溶液のpHを、炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて約7.5に調整した。エバポレートして乾燥させた後、残渣を高温のエタノールで抽出した。冷却して、エタノール溶液を濾過し、濾過物を乾燥までエバポレートして、淡褐色の粉末として表題のフラノン生成物を得た (650 mg)。

【0220】

【化22】

¹H-NMR (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 4.00-3.60 (m, 4H), 1.01 (t, J=7.2 Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 208, 415 (M+H⁺).

20

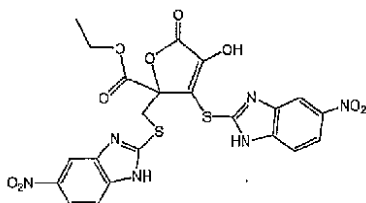
。

【0221】

(実施例4: 4-ヒドロキシ-3-(5-ニトロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-5-ニトロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0222】

【化23】



30

アセトン (10 mL) およびエタノール (12 mL) 中の 3-メルカプト-5-ニトロベンゾイミダゾール (975 mg、5 mmol) およびプロモピルビン酸エチル (0.65 mL、5.16 mmol) の溶液をアルゴン下、20℃で3時間攪拌した。溶液のpHを、炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて約7.2に調整した。エバポレートして乾燥させた後、残渣を酢酸エチル (150 mL) に溶解し、水 (2×10 mL) で抽出した。水相の2番目の部分 (10 mL) を凍結乾燥して、淡褐色の粉末として表題のフラノン生成物を得た (646 mg)。

40

【0223】

【化24】

¹H-NMR (300 MHz, d₆-アセトン) δ (ppm) 8.12 (s, 2H), 7.90-7.80 (m, 2H), 7.45-7.30 (m, 2H), 4.42 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.25-4.10 (m, 3H), 1.11 (t, J=7.2 Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 573 (M+H⁺).

。

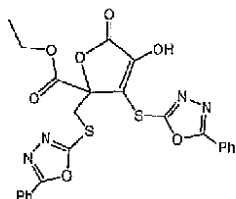
50

【0224】

(実施例5：4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-フェニル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-フェニル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0225】

【化25】



10

アセトニトリル(100 mL)中の5-フェニル-1,3,4-オキサジアゾール-2-チオール(891 mg、5.0 mmol)およびプロモピルビン酸エチル(0.65 mL、5.16 mmol)の溶液を、アルゴン下、20℃で3時間攪拌した。この溶液にジイソプロピルエチルアミン(0.5 mL)を添加し、次いで、さらに3時間攪拌した。溶媒を除去した後、残査をエタノール(5 mL)に溶解した。溶液のpHを、炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて約7.2に調整した。エバポレートして乾燥させた後、残査を酢酸エチル(150 mL)に溶解し、水(2×10 mL)で抽出した。水相の2番目の部分(10 mL)を凍結乾燥した。さらに、カラムクロマトグラフィー精製(シリカゲル、塩化メチレン-エタノール95:5~80:20)を行い、表題のフラノン生成物を得た(80 mg)。

20

【0226】

【化26】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.84 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.50-7.20 (m, 6H), 4.07 (d, $J=14.1$ Hz, 1H), 4.00-3.85 (m, 3H), 1.02 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 539 ($M+H^+$).

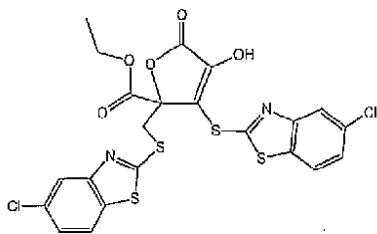
30

【0227】

(実施例6：3-(5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0228】

【化27】



40

アセトニトリル(100 mL)中の5-クロロ-2-メルカプトベンゾチオゾール(1.01 g、5 mmol)およびプロモピルビン酸エチル(0.65 mL、5.16 mmol)の溶液をアルゴン下、20℃で3時間攪拌した。沈殿物を濾過し、アセトニトリルで洗浄した。真空下で乾燥させ、対応するピルビン酸付加体(1.68 g)を固体として得た。この中間体の一部(200 mg)をエタノール(5 mL)に溶解した。溶液のpHを、炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて約7.2に調整した。エバポレートして乾燥させた後、残査をカラムクロマトグラフィー法(シリカゲル、塩化メチレン-エタノール95:

50

5～80：20）を用いて精製し、表題のフラノン生成物を得た（72mg）。

【0229】

【化28】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.84 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J = 2.1$ Hz, 8.5 Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 4.21 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 4.10-3.85 (m, 2H), 1.00 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H) ppm. MS (API-ESI) m/z 233 (100), 585 ($\text{M}+\text{H}^+$).

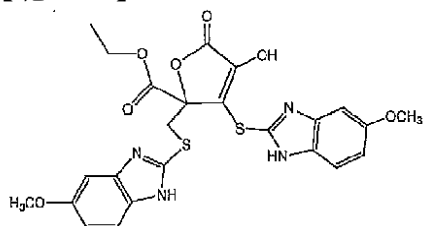
。

【0230】

（実施例7：4-ヒドロキシ-3-（5-メトキシ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-メトキシ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製）

【0231】

【化29】



エタノール（10mL）およびアセトン（20mL）中の5-メトキシ-2-ベンゾイミダゾールチオール（901mg、5mmol）およびブロモピルビン酸エチル（0.65mL、5.16mmol）の溶液をアルゴン下、20℃で3時間攪拌した。沈殿物を濾過し、酢酸エチルで洗浄した。真空下で乾燥させ、対応するピルビン酸付加体中間体（1.20g）を固体として得た。この中間体の一部（300mg）をエタノール（5mL）に溶解した。溶液のpHを、炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて約7.2に調整した。エバポレートして乾燥させた後、残査を酢酸エチルに溶解し、水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させた後、有機相を乾燥までエバポレートし、表題のフラノン生成物を得た（240mg）。

【0232】

【化30】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}/\text{d}_5\text{-アセトン}$) δ (ppm) 7.37 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.81 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.69 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.31 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.25 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.10-4.00 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 272, 543 ($\text{M}+\text{H}^+$).

。

【0233】

（実施例8：4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-p-トリルスルファニル-2-p-トリルスルファニルメチル-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製）

【0234】

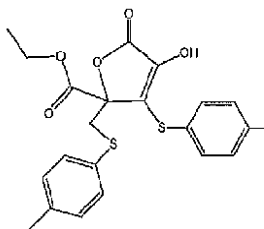
10

20

30

40

【化 3 1】



DCM (10 mL) 中の 4-メチルベンゼンチオール (248 mg、2 mmol) 溶液に、ブロモピルビン酸エチル (2 mL AcCN 中、431 mg、2.0 mmol) を滴下し、激しく攪拌した。添加が完了した後、反応物をさらに 30 分間攪拌した。次いで、水 (2 × 5 mL) で洗浄し、N₂SO₄ で乾燥させた。溶媒をエバポレートした後、残査をクロマトグラフィーを行い、ピルビン酸付加体中間体 (エノール形態とケト形態の 1 : 1 混合物) を、淡黄色油状物として得た (310 mg、65%)。

【0235】

【化 3 2】

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.37-7.27 (m, 2 H), 7.17-7.09 (m, 2 H), 6.55 (s, 0.22 H), 4.37-4.20 (m, 2 H), 3.89 (s, 0.72 H), 2.34-2.30 (m, 3 H), 1.44-1.26 (m, 3 H). MS-ESI (2M+H⁺) m/z 477.

DCM (5 mL) 中の中間体溶液に 3 滴の TEA (0.2 mL の DCM 中) を添加した。反応を、MS を使用してモニタリングした。反応完了後 (3 時間)、反応混合物を EtOAc (30 mL) で希釈し、HCl 水溶液 (0.1 M, 10 mL) で洗浄した。溶媒をエバポレートした後、残査をクロマトグラフィーを行い、淡黄色油状物として表題のフラノン生成物を得た (53 mg、58%)。

【0236】

【化 3 3】

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.33-7.29 (m, 4 H), 7.11-7.08 (m, 2 H), 4.40 (s, 1 H), 4.05-3.98 (m, 2 H), 3.70-3.58 (m, 2 H), 2.32 (s, 3 H), 2.31 (s, 3 H), 1.17 (t, J = 7.2 Hz, 3 H). ¹³CNMR (75 MHz) δ (ppm) 167.5, 166.9, 138.8, 137.5, 132.3, 132.1, 131.6, 130.0, 129.9, 129.8, 125.7, 86.6, 62.9, 41.0, 21.2, 21.1, 13.8.

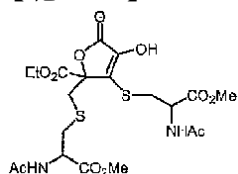
。

【0237】

(実施例 9 : 3-(2-アセチルアミノ-2-メトキシカルボニル-エチルスルファニル)-2-(2-アセチルアミノ-2-メトキシカルボニル-エチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0238】

【化 3 4】



アセトニトリル (5 mL) 中の 2-アセチルアミノ-3-メルカプト-プロピオン酸メチルエステル (177 mg、1 mmol) 溶液に、室温で攪拌しながら、ブロモピルビン酸エチル (1.0 mL AcCN 中、215 mg、1.0 mmol) を滴下した。反応を、MS を使用してモニタリングした。完了後、30 mL の EtOAc を加えて反応をクエンチした。溶媒をエバポレートした後、残査を、溶離液として DCM/MeOH (8 : 1) を用いてクロマトグラフィーを行い、エノール形態およびケト形態の両方を含む黄色油

状物として対応するピルビン酸付加体を得た（151mg、52%）。

【0239】

【化35】

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ

(ppm) 6.18 (s, 0.2 H), 4.85-4.72 (m, 1 H), 4.33-4.19 (m, 2 H), 3.71 (s, 3 H), 3.59-3.57 (m, 0.8 H), 3.25-2.81 (m, 2 H), 2.02-1.98 (m, 3 H), 1.35-1.23 (m, 3 H). ¹³C-NMR (75 MHz) δ (ppm) 185.9, 171.0, 170.3, 170.2, 130.1, 162.6, 160.7, 138.0, 111.6, 62.9, 62.1, 52.7, 52.5, 51.7, 51.5, 40.5, 37.1, 35.7, 34.1, 22.9, 14.2, 13.9. MS-ESI (M+H⁺) m/z 292.

AcCN (3 mL) 中のピルビン酸付加体 (85 mg) 溶液に、5 滴の Na₂CO₃ (2.0 M) を添加した。得られた懸濁液を、MS が縮合の完了を示すまで、3 時間攪拌した。反応物を、EtOAc (20 mL) を加えてクエンチし、次いで混合物を Na₂SO₄ で乾燥させた。溶媒をエバポレートした後、残査をクロマトグラフィー (DCM/MeOH、6:1) を行い、淡黄色油状物として表題のフラノン生成物を得た (42 mg、53%)。

【0240】

【化36】

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 4.86-

4.75 (m, 2 H), 4.29-4.21 (m, 2 H), 3.76 (s, 3 H), 3.75 (s, 3 H), 3.65-3.06 (m, 6 H), 2.07 (s, 3 H), 2.04 (s, 3 H), 1.32-1.24 (m, 3 H). ¹³C-NMR (75 MHz) δ (ppm) 171.4, 171.3, 171.0, 170.7, 167.6, 147.3, 128.4, 87.0, 63.1, 53.0, 52.84, 52.75, 52.8, 52.1, 37.7, 35.7, 34.9, 33.7, 22.97, 22.91, 13.98. MS-ESI (M+H⁺) m/z 537.

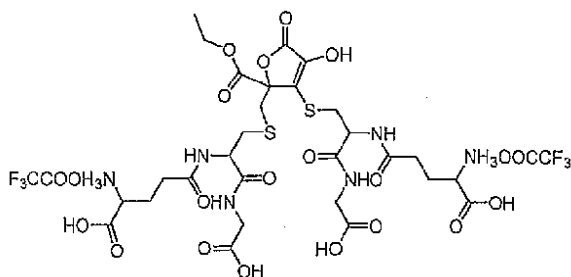
。

【0241】

（実施例 10：3-〔2-（4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ）-2-（カルボキシル-カルバモイル）-エチルスルファニル〕-2-〔2-（4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ）-2-（カルボキシメチル-カルバモイル）-エチルスルファニルメチル〕-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸、ジアステレオマー混合物の TFA 塩の調製）

【0242】

【化37】



水 (50 mL) およびメタノール (10 mL) 中の I-グルタチオン (2-アミノ-4-〔1-（カルボキシメチル-カルバモイル）-2-メルカプト-エチルカルバモイル〕-酪酸) (8.14 g、26.5 mmol) 溶液（窒素で脱気およびパージした）に、室温でブromo-3-エチルピルビン酸 (5.17 g、26.5 mmol) を添加した。ブromo-3-エチルピルビン酸を添加すると、ほぼ瞬時に濁った懸濁物が黄味がかった半透明に変わった。室温で、2 時間攪拌した後、混合物を、減圧下で、ロータリーエバポレーターで濃縮した。次いで、この溶液を塩化メチレンで十分に洗浄した。有機層を破棄した。水層を減圧下でエバポレートして乾燥させた。高減圧下で 48 時間凍結乾燥した後、ピルビン酸-グルタチオン付加体として黄味がかった固体を得た (13.0 g、98.0%)。NMR データは、生成物の 2 つの互変異性体形態（すなわち、ケト形態、2-アミノ-

4 - [1 - (カルボキシメチル-カルバモイル) - 2 - (2-カルボキシ-2-オキソ-エチルスルファニル) - エチルカルバモイル] - 酪酸エチルエステルおよびエノール形態、3 - [2 - (4-アミノ-4-カルボキシ-ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル-カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2-ヒドロキシ-アクリル酸エチルエステル) が存在することを示す。

【 0 2 4 3 】

【 化 3 8 】

¹H-NMR

(D₃COD, 300 MHz) δ (ppm): 1.17 (t, 3H), 1.93 (m, 2H), 2.11 (m, 2H), 2.75 - 3.28 (m, 2H), 2.29 (ss, 1.6H), 3.93 (s, 2H), 4.09 (m, 1H), 4.25 (q, 2H), 4.83 (m, 1H), 6.43 (s, 0.4H). ¹³C-NMR (D₃COD, 75 MHz) δ (ppm): 14.1, 26.6, 32.1, 35.6, 40.0, 41.4, 53.2, 54.6, 62.1, 62.7, 100.0, 113.4, 139.7, 163.4, 170.8, 172.3, and 174.1. MS (ESI) m/z: 422 (M + H⁺).

10

ピルビン酸-グルタチオン付加体 (1.0 g、1.99 mmol) を水 (10 mL) に溶解し、1.0 M 水酸化ナトリウム水溶液を用いて、溶液の pH を 7.4 に調整した。開始反応物の消失の後 (LC/MS でモニタリングする) 混合物を、水中の 10 % TFA を用いて pH 3.0 に調整した。溶離液として水を用いて、溶液を Bio gel P2 カラムを通し、生成物を HBr のナトリウム塩と TFA から分離した。生成物を含有する画分をプールし、減圧下、30 °C で濃縮し、最終的に凍結乾燥して、淡黄色固体として、0.8 g の生成物を得た (これは、LC で約 85 % 純度であると見出された)。この粗生成物を、勾配として水およびアセトニトリル (5 ~ 15 % CH₃CN、50 分; 15 % AcCN、50 ~ 70 分) を使用し、逆相中圧液体クロマトグラフィー (MPLC) を用いてさらに精製した。所望のフラノンを含む画分をプールし、減圧下、30 °C で濃縮し、次いで、凍結乾燥して、白色固体として表題生成物を得た (0.7 g, 77 %)。

20

【 0 2 4 4 】

【 化 3 9 】

¹H-NMR (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 4.62-4.50 (m, 2 H), 4.31-

4.22 (m, 2 H), 4.09-4.03 (m, 2 H), 3.98 (brs, 4 H), 3.82-3.68 (m, 1 H), 3.48-3.42 (m, 1 H), 3.33-2.87 (m, 4 H), 2.58-2.52 (m, 4 H), 2.26-2.16 (m, 4 H), 1.25 (m, 3 H). ¹⁹F-NMR (282 MHz, 参照なし) δ (ppm) -76.1. MS (ESI) m/z: 797 (M+H⁺, 40), 399 (M+2H⁺, 100).

30

。

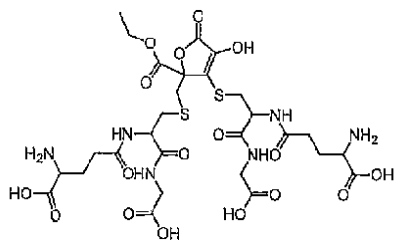
【 0 2 4 5 】

(実施例 11 : 3 - [2 - (4-アミノ-4-カルボキシ-ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル-カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4-アミノ-4-カルボキシ-ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル-カルバモイル) - エチルスルファニルメチル] - 4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸、塩を含まないジアステレオマー混合物の調製)

【 0 2 4 6 】

【 化 4 0 】

40



実施例 10 において調製したジアステレオマー混合物の TFA 塩 (1 g、0.976 mmol) を水 (15 mL) に溶解し、これに、周囲温度で、2 当量の 1 N NaOH 水溶液 (1.95 mL、1.95 mmol) を添加し、この溶液を 10 分間アジテートした。

50

次いで、混合物を、水およびアセトニトリルを溶出液（５～１５％ CH_3CN 、５０分；１５％ CH_3CN 、５０～７０分）として用いて、逆相ＨＰＬＣで精製した。所望のフラノンを含む画分をプールし、減圧下、３０℃で濃縮し、最終的に凍結乾燥して、白色固体として塩を含まない表題生成物を得た。 ^{19}F NMRは、実質的に全て（＞９９．５％、精製の前後の相対ピーク強度に基づく）の元のＴＦＡ塩が塩を含まない形態に変換されていることを示した。

【０２４７】

【化４１】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.61-4.51 (m, 2 H), 4.32-4.23 (m, 2 H), 3.93 (brs, 4 H), 3.82-3.63 (m, 3 H), 3.48-3.41 (dd, $J = 5.3$ Hz, 1 H), 3.32-3.05 (m, 3 H), 2.97-2.88 (m, 1 H), 2.57-2.45 (m, 4 H), 2.18-2.11 (m, 4 H), 1.26 (m, 3 H). MS-ESI ($\text{M}+\text{H}^+$) m/z 797.

10

。

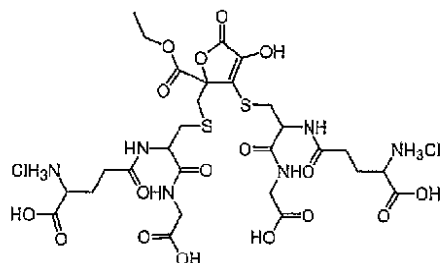
【０２４８】

（実施例１２：３－〔２－（４－アミノ－４－カルボキシブチリルアミノ）－２－（カルボキシメチル－カルバモイル－エチルスルファニル）－２－〔２－（４－アミノ－４－カルボキシブチリルアミノ）－２－（カルボキシメチル－カルバモイル）－エチルスルファニルメチル〕－４－ヒドロキシ－５－オキソ－２，５－ジヒドロフラン－２－カルボン酸、ジアステレオマー混合物のＨＣｌ塩の調製）

20

【０２４９】

【化４２】



30

脱イオン水（１０ｍＬ）中の実施例１０において調製したジアステレオマー混合物のＴＦＡ塩（６０ｍｇ、０．０５８６ｍｍｏｌ）の溶液に、０℃で、ＨＣｌ溶液（２．１５ｍＬ、０．１２９ｍｍｏｌ、０．０６Ｍ、２．２当量）を滴下した。混合物を０℃で２０分間攪拌し、次いで、凍結乾燥して、白色の粘着性固体を得た（４８．２ｍｇ）。 ^{19}F NMRは、実質的に全て（＞９９％、ＨＣｌ処理の前後の相対ピーク強度に基づく）の元のＴＦＡ塩がＨＣｌ塩に変換されていることを示した。

【０２５０】

【化４３】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.50-4.38 (m, 2 H), 4.19-4.11 (m, 2 H), 3.98-3.91 (m, 2 H), 3.86-3.85 (m, 4 H), 3.71-3.55 (m, 1 H), 3.33 (dd, $J = 15.0, 5.0$ Hz, 1 H), 3.20-2.80 (m, 4 H), 2.48-2.41 (m, 4 H), 2.14-2.05 (m, 4 H), 1.16-1.11 (m, 3 H). MS-ESI ($\text{M}+\text{H}^+$) m/z 797.

40

。

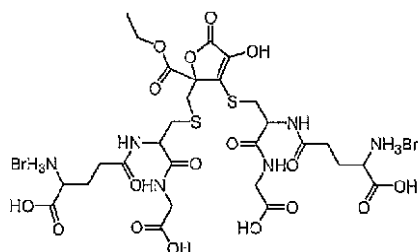
【０２５１】

（実施例１３：３－〔２－（４－アミノ－４－カルボキシブチリルアミノ）－２－（カルボキシメチル－カルバモイル）－エチルスルファニル〕２－〔２－（４－アミノ－４－カルボキシブチリルアミノ）－２－（カルボキシメチル－カルバモイル）－エチルスルファニルメチル〕－４－ヒドロキシ－５－オキソ－２，５－ジヒドロフラン－２－カルボン酸、ジアステレオマー混合物のＨＢｒ塩の調製）

【０２５２】

50

【化 4 4】



ジアステレオマー混合物の H B r 塩を、実施例 1 2 に記載したのと同じ手順で、H C l を H B r に置換して、淡黄色の粘着性固体として調製した。

10

【 0 2 5 3】

【化 4 5】

¹H-NMR (300 MHz, D₂O) δ

(ppm) 4.48-4.36 (m, 2 H), 4.17-4.09 (m, 2 H), 3.98-3.92 (m, 2 H), 3.84 (brs, 4 H), 3.68-3.55 (m, 1 H), 3.32 (dd, J = 15.0, 5.0 Hz, 1 H), 3.19-2.2.76 (m, 4 H), 2.44-2.40 (m, 4 H), 2.12-2.03 (m, 4 H), 1.16-1.12 (m, 3 H). MS-ESI (M+H⁺) m/z 797.

。

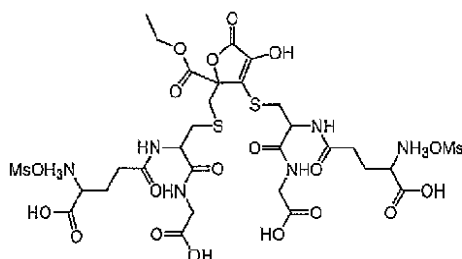
【 0 2 5 4】

(実施例 1 4 : 3 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸、ジアステレオマー混合物の M s O H 塩の調製)

20

【 0 2 5 5】

【化 4 6】



30

脱イオン水 (1 0 m L) 中の実施例 1 1 において調製した塩を含まないジアステレオマー混合物 (6 0 m g 、 0 . 0 7 5 3 m m o l) の溶液に、0 °C (氷浴) で 0 . 1 M の硫酸メチル水溶液 (1 . 5 1 m L 、 0 . 1 5 1 m m o l 、 2 当量) を滴下した。混合物を 0 °C で 2 0 分間攪拌し、次いで、凍結乾燥して、ふわふわした白色固体として表題のフラノン塩を得た (6 1 . 5 m g) 。

【 0 2 5 6】

【化 4 7】

¹H-NMR (300 MHz, D₂O) δ

(ppm) 4.48-4.38 (m, 2 H), 4.19-4.13 (m, 2 H), 3.80-3.79 (m, 4 H), 3.68-3.51 (m, 3 H), 3.37-3.30 (m, 1 H), 3.23-2.80 (m, 5 H), 2.67-2.66 (m, 6 H), 2.43-2.37 (m, 4 H), 2.06-1.98 (m, 4 H), 1.15 (m, 3 H).

。

【 0 2 5 7】

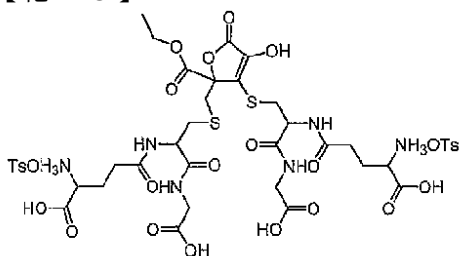
(実施例 1 5 : 3 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチル

50

スルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸、ジアステレオマー混合物の TsOH 塩の調製)

【0258】

【化48】



10

ジアステレオマー混合物の TsOH 塩を、塩を含まない混合物を 2 当量の希釈 TsOH 水溶液と処理することで、実施例 14 に記載した手順に従って調製した。表題のフラノン塩を、白色のふわふわした固体として得た。

【0259】

【化49】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 7.55 (d, $J = 7.0$

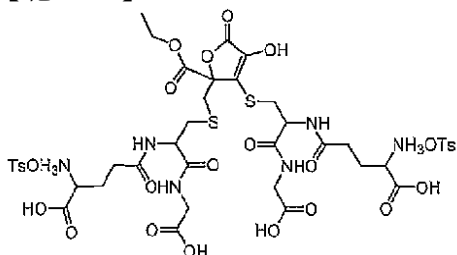
Hz, 4 H), 7.22 (d, $J = 7.0$ Hz, 4 H), 4.48-4.38 (m, 2 H), 4.19-4.12 (m, 2 H), 3.81-3.80 (m, 4 H), 3.70-3.51 (m, 3 H), 3.37-2.76 (m, 6 H), 2.43-2.36 (m, 4 H), 2.25 (brs, 6 H), 2.06-1.99 (m, 4 H), 1.15 (m, 3 H).

20

(実施例 16 : 3 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸、ジアステレオマー混合物の AcOH 塩の調製)

【0260】

【化50】



30

ジアステレオマー混合物の酢酸塩を、塩を含まない混合物を 2 当量の希釈 AcOH 水溶液と処理することで、実施例 14 に記載した手順に従って調製した。表題のフラノン塩を、白色のふわふわした固体として得た。

【0261】

【化51】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.47-4.37 (m, 2

H), 4.19-4.13 (m, 2 H), 3.83-3.82 (m, 4 H), 3.71-3.53 (m, 3 H), 3.37-2.76 (m, 6 H), 2.43-2.36 (m, 4 H), 2.20-2.00 (m, 4 H), 1.94-1.93 (m, 6 H), 1.15 (m, 3 H).

40

。

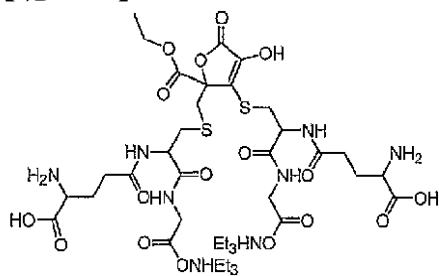
【0262】

(実施例 17 : 3 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸、ジアステレオマー混合物のビス - トリメチルアミン塩の調製)

50

【0263】

【化52】



10

ジアステレオマー混合物のトリメチルアミン塩を、塩を含まない混合物を2当量の希釈TEA水溶液と処理することで、実施例14に記載した手順に従って調製した。表題のフラノン塩を、白色固体として得た。

【0264】

【化53】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.46-4.36 (m, 2 H), 4.20-4.11 (m, 2 H), 3.69-3.63 (m, 6 H), 3.46-3.14 (m, 3 H), 3.06 (q, $J = 7.3$ Hz, 12 H), 3.14-2.74 (m, 3 H), 2.42-2.37 (m, 4 H), 2.06-2.01 (m, 4 H), 1.16-1.11 (m, 21 H).

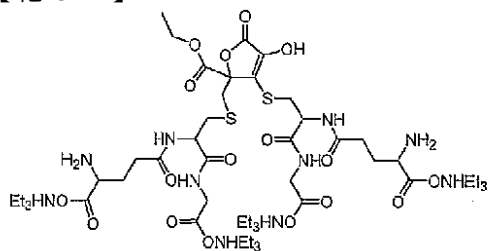
20

【0265】

(実施例18: 3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸、ジアステレオマー混合物のテトラートリエチルアミン塩の調製)

【0266】

【化54】



30

ジアステレオマー混合物のトリエチルアミン塩を、塩を含まない混合物を4当量の希釈TEA水溶液と処理することで、実施例14に記載した手順に従って調製した。表題のフラノン塩を、白色固体として得た。

【0267】

【化55】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.56-4.38 (m, 2 H), 4.26-4.17 (m, 2 H), 3.73-3.71 (m, 4 H), 3.65-3.58 (m, 2 H), 3.44-3.23 (m, 2 H), 3.15 (q, $J = 7.3$ Hz, 24 H), 3.19-2.83 (m, 4 H), 2.50-2.41 (m, 4 H), 2.31-2.00 (m, 4 H), 1.26-1.21 (m, 39 H).

40

【0268】

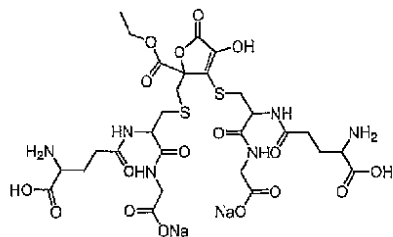
(実施例19: 3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニル]-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-

50

カルボン酸、ジアステレオマー混合物のナトリウム塩の調製)

【0269】

【化56】



10

ジアステレオマー混合物のナトリウム塩を、塩を含まない混合物を2当量の希釈NaOH溶液(0.05M)と処理することで、実施例14に記載した手順に従って調製した。表題のフラノン塩を、白色固体として得た。

【0270】

【化57】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm)

4.48-4.36 (m, 2 H), 4.22-4.10 (m, 2 H), 3.72-3.59 (m, 6 H), 3.36-2.97 (m, 5 H), 2.84-2.75 (m, 1 H), 2.46-2.33 (m, 4 H), 2.07-1.99 (m, 4 H), 1.18-1.12 (m, 3 H).

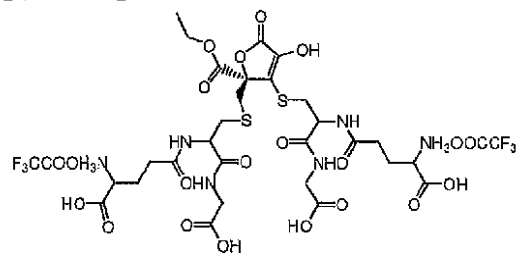
20

【0271】

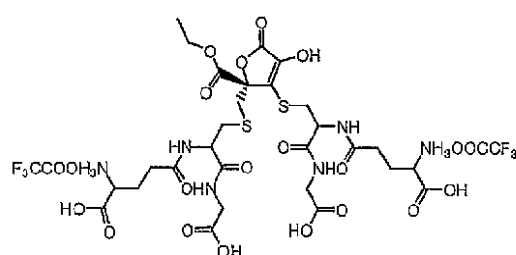
(実施例20: 3-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル-エチルスルファニル)-2-[2-(4-アミノ-4-カルボキシ-ブチルアミノ)-2-(カルボキシメチル-カルバモイル)-エチルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸ジアステレオマー、TFA塩の分離)

【0272】

【化58】



アイソマー #1



アイソマー #2

30

2つの単一のジアステレオマーを混合物から分離した(この調製は、実施例10に記載した)。分離は、各々が0.1%のTFAを含む水およびアセトニトリルの勾配溶離液(2~18% AcCNで25分間、次いで、18% AcCNで25~30分間)を用いて、分離用HPLCによりなされた。

40

【0273】

【化 5 9】

アイソマー#1について： $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.49 (dd, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 2 H), 4.41 (dd, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 2 H), 4.19-4.11 (m, 2 H), 3.95-3.89 (m, 2 H), 3.86 (brs, 4 H), 3.60 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 3.35-3.14 (m, 3 H), 3.04-2.97 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 2.83-2.76 (dd, $J = 14.1, 8.7$ Hz, 1 H), 2.48-2.41 (m, 4 H), 2.13-2.05 (m, 4 H), 1.14 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O) δ (ppm) 174.6, 174.4, 173.15, 173.13, 172.8, 172.2, 172.1, 172.05, 168.5, 167.8, 142.2, 125.9, 87.2, 64.7, 53.9, 53.5, 52.6, 41.4, 37.2, 34.8, 31.9, 31.3, 31.2, 25.8, 13.5. MS-ESI m/z 797($\text{M}+\text{H}^+$, 40), 399($\text{M}+2\text{H}^+$, 100). ^{19}F NMR (282 MHz, 参照なし) δ -76.2.

アイソマー#2について： $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.56-4.46 (m, 2 H), 4.30-4.19 (m, 2 H), 3.98-3.70 (m, 8 H), 3.48-3.40 (m, 1 H), 3.27-2.80 (m, 4 H), 2.55-2.40 (m, 4 H), 2.20-2.10 (m, 4 H), 1.25 (t, $J = 6.9$ Hz, 3 H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O) δ (ppm) 174.5, 173.1, 173.0, 172.6, 172.2, 171.9, 171.8, 168, 167.6, 142.2, 125.8, 87.3, 64.7, 53.7, 53.4, 52.6, 41.3, 37.6, 34.8, 32.0, 31.3, 31.2, 25.8, 25.7, 13.4. MS-ESI m/z 797($\text{M}+\text{H}^+$, 40), 399($\text{M}+2\text{H}^+$, 100).

10

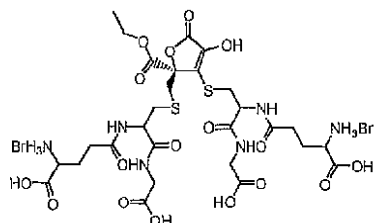
【 0 2 7 4】

(実施例 2 1 : 3 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸ジアステレオマー、H B r 塩の調製)

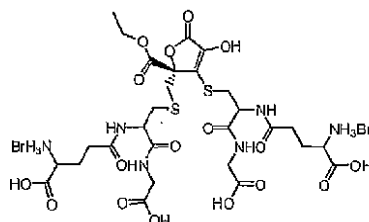
20

【 0 2 7 5】

【化 6 0】



アイソマー #1



アイソマー #2

30

実施例 1 3 および 2 0 に記載される手順に従って、異性体 # 1 および異性体 # 2 の両方の H B r 塩を (黄色の粘着性固体として) 調製した。

【 0 2 7 6】

【化 6 1】

異性体 #1について： $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.46 (dd, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 2 H), 4.39 (dd, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 2 H), 4.16-4.08 (m, 2 H), 3.98-3.92 (m, 2 H), 3.85 (brs, 4 H), 3.58 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 3.34-3.11 (m, 3 H), 3.01-2.95 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 2.81-2.73 (dd, $J = 14.2, 8.7$ Hz, 1 H), 2.45-2.40 (m, 4 H), 2.10-2.05 (m, 4 H), 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H). MS-ESI($\text{M}+\text{H}^+$) m/z 797.

異性体 #2について： $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.46-4.39 (m, 2 H), 4.19-4.12 (m, 2 H), 4.16-4.08 (m, 2 H), 3.98-3.93 (m, 2 H), 3.86-3.85 (m, 4 H), 3.67 (dd, $J = 14.2, 4.2$ Hz, 1 H), 3.37-2.80 (m, 5 H), 2.48-2.42 (m, 4 H), 2.14-2.04 (m, 4 H), 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H). MS-ESI ($\text{M}+\text{H}^+$) m/z 797.

40

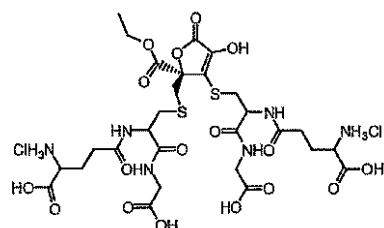
(実施例 2 2)

(3 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニル] - 2 - [2 - (4 - アミノ - 4 - カルボキシ - ブチリルアミノ) - 2 - (カルボキシメチル - カルバモイル) - エチルスルファニルメチル] - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸ジアステレオ異性体、H C l の調製)

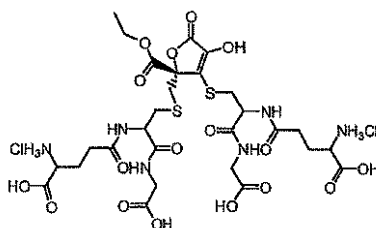
【 0 2 7 7】

50

【化 6 2】



異性体 #1



異性体 #2

実施例 12 および 20 に記載される手順に従って、異性体 #1 および異性体 #2 の両方の HCl 塩を（白色の粘着性固体として）調製した。

【0278】

【化 6 3】

異性体 #1 について： $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.48 (dd, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 2 H), 4.40 (dd, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 2 H), 4.18-4.09 (m, 2 H), 3.96-3.90 (m, 2 H), 3.86 (brs, 4 H), 3.58 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 3.35-3.13 (m, 3 H), 3.03-2.96 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 2.82-2.75 (dd, $J = 14.1, 8.7$ Hz, 1 H), 2.47-2.41 (m, 4 H), 2.13-2.04 (m, 4 H), 1.13 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H). MS-ESI ($\text{M}+\text{H}^+$) m/z 797.

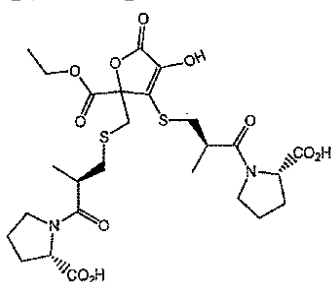
異性体 #2 について： $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.46-4.39 (m, 2 H), 4.20-4.13 (m, 2 H), 3.95-3.90 (m, 4 H), 3.86 (偽 dd, 2 H), 3.67 (dd, $J = 14.2, 4.2$ Hz, 1 H), 3.37-3.05 (m, 3 H), 2.98-2.92 (dd, $J = 14.2, 5.2$ Hz, 1 H), 2.87-2.80 (dd, $J = 14.1, 8.7$ Hz, 1 H), 2.47-2.39 (m, 4 H), 2.13-2.04 (m, 4 H), 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H). MS-ESI ($\text{M}+\text{H}^+$) m/z 797.

(実施例 23)

(3-[3-(2-カルボキシ-ピロリジン-1-イル)-2-メチル-3-オキソ-プロピルスルファニル]-2-[3-(2-カルボキシ-ピロリジン-1-イル)-2-メチル-3-オキソ-プロピルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0279】

【化 6 4】



30

水 (1 mL) およびアセトニトリル (1 mL) 中の、カプトプリル (293 mg、1.35 mmol) およびエチルプロモピレート (0.176 mL、1.40 mmol) の溶液を、アルゴン下で、16 時間 20 °C で攪拌した。溶液の pH を、炭酸水素ナトリウム水溶液を使用して約 7.2 に調整し、そしてさらに 3 時間、20 °C で攪拌した。次いで、溶液の pH を、臭化水素水溶液 (48%) を使用して、約 4 に調整した。この溶液を、塩化メチレンで 3 回洗浄した。有機相を廃棄し、そして水相を凍結乾燥した。残渣を、塩化メチレン-メタノール (90:10) 溶液中に溶解した。透明溶液を、遠心分離後に回収した。エバポレーションにより、表題フラノン生成物 (295 mg) を得た。

【0280】

【化 6 5】

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 4.35-4.20 (m, 4H), 3.75-2.70 (m, 12H), 2.25-1.85 (m, 8H), 1.30-1.05 (m, 9H). MS (API-ESI) m/z 617 ($\text{M}+\text{H}^+$, 31), 639 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

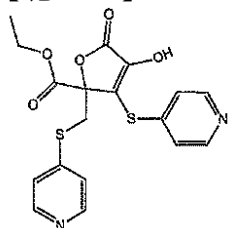
50

(実施例 24)

(4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリジン-4-イルスルファニル)-2-(ピリジン-4-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0281】

【化66】



10

エタノール (5 mL) 中 4-メルカプトピリジン (222 mg、2.0 mmol) およびエチルブロモピルベート (0.264 mL、2.1 mmol) の溶液を、アルゴン下で 20℃で3時間攪拌した。溶液の pH を、炭酸水素ナトリウム水溶液を使用して約 7.2 に調整した。乾燥するまでエバポレートした後、残渣を、酢酸エチル中に溶解し、そして炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗浄し、そして硫酸マグネシウムで乾燥した。エバポレーションおよびクロマトグラフィー (シリカゲル、90:10~80:20 の塩化メチレン-メタノール) により、表題フラノン生成物 (240 mg) を得た。

20

【0282】

【化67】

¹H-NMR (300 MHz, D₃COD) δ

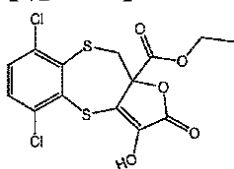
(ppm) 8.35-8.25 (m, 2H), 8.25-8.20 (m, 2H), 7.40-7.35 (m, 2H), 7.25-7.15 (m, 2H), 4.00-3.80 (m, 3H), 3.70 (d, J=14.5 Hz, 1H), 1.02 (t, J=7.1 Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 203, 405 (M+H⁺).

(実施例 25)

(5,8-ジクロロ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-2H-1-オキサ-4,9-ジチア-ベンゾ[f]アズレン-10a-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0283】

【化68】



30

アセトニトリル (2 mL) およびアセトン (4 mL) 中の 3,6-ジクロロ-1,2-ベンゼンジチオール (211 mg、1.0 mmol)、エチルブロモピルベート (0.528 mL、4.2 mmol) およびトリエチルアミン (0.1 mL) の溶液を、アルゴン下で 20℃で16時間攪拌した。乾燥するまでエバポレートした後、残渣を酢酸エチル中に溶解し、そして希 HCl 水溶液で洗浄し、そして無水硫酸マグネシウムで乾燥した。エバポレーションおよび2つの異なる溶出系 [(シリカゲル、99:1~98:2 の塩化メチレン-メタノール) および (シリカゲル、ヘキサン-酢酸エチル 4:1)] を使用する複数回のクロマトグラフィーを連続して繰り返して、表題フラノン生成物 (20 mg) を得た。

40

【0284】

【化69】

¹H-NMR (300 MHz, D₃COD) δ (ppm) 7.33 (s, 2H), 4.30-4.05 (m, 3H),

2.88 (d, J=14.3 Hz, 1H), 1.29 (t, J=7.1 Hz, 3H). MS (API-ESI) m/z 393 (M+H⁺, 100).

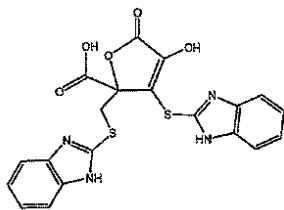
50

(実施例 26)

(3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸の調製)

【0285】

【化70】



10

実施例 1 に記載されるように調製した 3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル (32 g) を、水 (400 mL) およびエタノール (300 mL) 中に懸濁した。この懸濁物を継続的に攪拌し、そして炭酸水素ナトリウム水溶液 (350 mL の水中 23 g) を、約 5 時間の間滴下して、約 7.5~8 の pH を維持した。得られた混合物を、20℃で 2 日間攪拌した。乳状混合物を、ロータリーエバポレータに入れ、減圧下で、40℃より低い温度でエタノールを除去した。この懸濁物は、エバポレーションの開始後直ぐに透明な溶液になった。エバポレーションプロセスの間、400 mL の水を添加して、エタノールの完全な除去を確認した。この溶液を、pH 8 に調整し、そして 40℃で 18 時間攪拌した。この生成物を、酢酸水溶液 (230 mL の水中 12 mL の酢酸) を使用して溶液を pH 5~6 に酸性化することによって、沈殿させた。固体を濾過し、水 (40 mL) およびアセトニトリル (40 mL) で洗浄し、そして減圧下で乾燥して、3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸を、淡灰色固体として得た (16.5 g)。

20

【0286】

【化71】

 $^1\text{H NMR (300 MHz, D}_2\text{O)} \delta = 7.10\text{--}6.70 \text{ (m, 8H),}$

3.80 (d, 1H), 3.60 (d, 1H) ppm. $^{13}\text{C NMR (75 MHz, D}_2\text{O)} \delta = 173.7, 173.2, 160.5, 156.6, 149.8, 149.3, 137.9, 122.2, 122.0, 113.7, 113.4, 104.5, 87.5, 37.4 \text{ ppm.}$

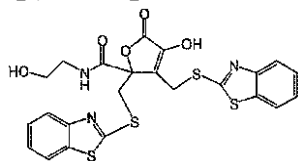
30

(実施例 27)

(3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸 (2-ヒドロキシ-エチル)-アミドの調製)

【0287】

【化72】



40

塩化メチレン (20 mL) 中の、2,3-ビス-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸 (200 mg, 0.41 mmol)、N-ヒドロキシスクシンイミド (55 mg)、ジメチルアミノピリジン (20 mg) および 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (85 mg) の混合物を、室温で 2 時間攪拌した。エタノー

50

ルアミン (0.03 mL) を添加した後、ジイソプロピルエチルアミン (0.1 mL) を添加し、そしてこの混合物を、室温で一晩攪拌し、そして水中に注いだ。有機層を分離し、乾燥し、そして濃縮した。残渣を、ジクロロメタン中 10% のメタノールで溶出するシリカゲルカラムによって精製して、50 mg の 3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸 (2-ヒドロキシエチル)-アミドを褐色固体として得た。

【0288】

【化73】

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$,

10

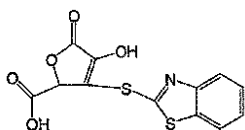
300 MHz): δ : 7.80-7.60 (m, 4H), 7.38-7.20 (m, 4H), 4.20 (AB, $J = 7$ Hz, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.20 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 75 MHz): δ : 168.20, 166.28, 152.77, 152.40, 135.26, 126.27, 124.70, 121.43, 121.18, 121.00, 87.21, 60.56, 42.21, 39.61 ppm. MS: 532 ($\text{M}+\text{H}^+$).

(実施例 28)

(3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸の調製)

【0289】

【化74】



20

6 mL の塩化メチレン/メタノール (5:1) 中のグリオキシル酸一水和物 (98 mg、1.03 mmol) の溶液に、トリエチルアミン (418 μL 、3.0 mmol) を添加し、そして激しく攪拌した。6 mL の塩化メチレン/メタノール (5:1) 中の 3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-オキソ-プロピオン酸エチルエステル (281 mg、1.06 mmol) を、3 時間に亘って滴下し、そしてこの反応を、室温で一晩 (15 時間) 攪拌した。次いで、この反応混合物を、 NaH_2PO_4 で中和し、そして酢酸エチルで洗浄した。得られた非常に極性の生成物は、水層に残り、そしてこれを、逆相 HPLC によって精製した。純粋な画分をプールし、そして減圧下で濃縮した。溶媒をエバポレートすると、3- (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸が白色固体として沈殿し (70 mg)、これを濾過して、水で洗浄した。濾液を冷却し、そして凍結乾燥して、淡黄色固体を得、これは、所望の精製物のトリエチルアミン塩であることが決定された。

30

【0290】

【化75】

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD , 300 MHz) δ (ppm):

7.92-7.87 (m, 2 H), 7.51-7.38 (m, 2 H), 5.68 (s, 1 H). MS (ESI) m/z : 310 ($\text{M}+\text{H}^+$).

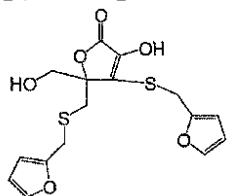
40

(実施例 29)

(4- (フラン-2-イルメチルスルファニル)-5- (フラン-2-イルメチルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オンの調製)

【0291】

【化 7 6】



無水テトラヒドロフラン（THF、30 mL）中の4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（2-フラニルメチルスルファニル）-2-〔（2-フラニルメチルスルファニル）-メチル〕-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル（0.5 g、1.219 mmol）の溶液に、アルゴン雰囲気下で、0～5℃で、LiBH₄のTHF溶液（2 mL、4 mmol）を添加した。この混合物を室温で一晩攪拌し、そして水（1 mL）をゆっくりと添加した。この混合物を5分間攪拌し、そして濃塩酸（1 mL）を添加した。この溶液を、水（150 mL）と混合し、そして塩化メチレンで抽出した（2×100 mL）。合わせた有機溶液を、水（50 mL）で洗浄し、乾燥し、そしてエバポレートした。残渣を、カラムクロマトグラフィーによって精製し、そしてヘキサンおよび酢酸エチル（3：1～2：1、v/v）の混合溶媒で溶出して、55.6 mgの4-（フラン-2-イルメチルスルファニル）-5-（フラン-2-イルメチルスルファニルメチル）-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オンを、クリーム色の油状物として得た。

【0 2 9 2】

【化 7 7】

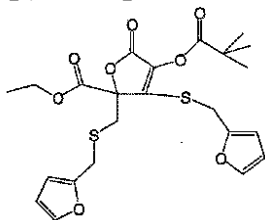
¹H NMR (CD₃OD, 300.16 MHz) δ (ppm): 7.45-7.42 (m, 2H), 6.35-6.22 (m, 4H), 4.50-3.71 (m, 5H), 3.48 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 2.97 (d, J = 14.8 Hz, 1H) および 2.64 (d, J = 14.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (CD₃OD, 75.48 MHz) δ (ppm): 167.70, 151.21, 150.45, 143.03, 142.38, 142.19, 125.61, 110.33, 110.00, 108.44, 107.81, 88.79, 64.19, 34.07, 28.87 および 26.83. MS (ESI, rel. int.) m/z: 369 (M+H⁺, 3), 391 (M+Na⁺, 100).

（実施例 3 0）

（4-（2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ）-3-（フラン-2-イルメチルスルファニル）-2-（フラン-2-イルメチルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製）

【0 2 9 3】

【化 7 8】



塩化メチレン（25 mL）中の4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（2-フラニルメチルスルファニル）-2-〔（2-フラニルメチルスルファニル）-メチル〕-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル（0.3 g、0.73 mmol）の溶液に、ピリジン（0.19 mL、2.36 mmol）および塩化トリメチルアセチル（0.22 mL、1.77 mmol、2.4当量）を、アルゴン雰囲気下で添加した。この混合物を、アルゴン下で一晩穏やかに還流し、次いでエバポレートした。残渣を、ヘキサンおよび酢酸エチル（4：1、v/v）の混合溶媒を用いて溶出するカラムクロマトグラフィーによって精製して、0.3181 gの4-（2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ）-3-（フラン-2-イルメチルスルファニル）-2-（フラン-2-イルメチルスルファニルメチル）-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル

を淡黄色油状物として得た。

【0294】

【化79】

^1H NMR (CDCl_3 , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.40-7.37 (m, 2H), 6.35-6.25 (m, 4H), 4.35 (s, 2H), 4.33-4.22 (m, 2H), 3.90 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.29 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 1.37 (s, 9H) および 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75.48 MHz) δ (ppm): 174.35, 166.32, 163.84, 150.29, 148.27, 144.72, 143.10, 142.64, 136.15, 111.00, 110.47, 109.44, 108.98, 87.64, 63.40, 39.30, 36.15, 29.62, 28.02, 26.99 および 14.04. MS (ESI, rel. int.) m/z : 495 ($\text{M}+\text{H}^+$, 25), 517 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

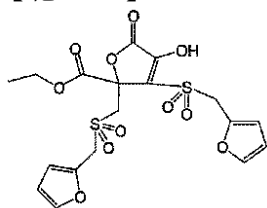
10

(実施例31)

(3-(フラン-2-イルメタンスルホニル)-2-(フラン-2-イルメタンスルホニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルの調製)

【0295】

【化80】



20

塩化メチレン (25 mL) 中の 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(2-フランメチルスルファニル)-2-[(2-フランメチルスルファニル)-メチル]-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル (0.5 g, 1.219 mmol) の溶液に、-78°C で、*m*-クロロペルオキシ安息香酸 (1.216 g、純度 77%、4.45 当量) を添加した。この混合物を一晩攪拌し、そして温度を、室温まで自然に上昇させた。この混合物を乾燥するまでエバポレートし、その残渣を、水 (25 mL) と混合した。濾過後、水性濾液をエバポレートし、その残渣を、酢酸エチルで溶出するカラムクロマトグラフィーによって精製し、0.1387 g の固体を、80% の純度で得た。この物質を、95% H_2O / 5% MeCN (0 分) ~ 20% H_2O / 80% MeCN (210 分) の勾配移動相を用いる MPLC によってさらに精製して、67 mg の 3-(フラン-2-イルメタンスルホニル)-2-(フラン-2-イルメタンスルホニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステルを黄色固体として得た。

30

【0296】

【化81】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.62-7.55 (m, 2H), 6.59-6.45 (m, 4H), 4.77 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 4.70 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.38-4.26 (m, 3H), 3.65 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H) および 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm):

40

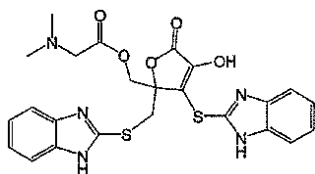
165.45, 150.21, 144.33, 142.31, 141.41, 112.81, 112.51, 111.03, 80.92, 63.71, 54.77, 54.06, 53.06 および 12.81. MS (ESI, rel. int.) m/z : 492 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}$, 100), 497 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 65).

(実施例32)

(ジメチルアミノ-酢酸 3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-イルメチルエステルの調製)

【0297】

【化 8 2】



DMF (15 mL) 中の 4-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン (220 mg、0.50 mmol)、ジメチルアミノアセチルクロライド塩酸塩 (174 mg、1.10 mmol) およびトリエチルアミン (0.280 mL、2.00 mmol) の溶液を、22 時間攪拌した。次いで、この反応混合物を、SiO₂ のプラグに通し、これを次いでヘキサンで洗浄して、過剰の DMF を除去し、そして引き続いて、1:1 の EtOAc および MeOH の混合物で洗浄して、ジメチルアミノ-酢酸 3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-イルメチルエステルを収集した。溶媒をエバポレートし、残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂:CH₂Cl₂:MeOH:酢酸、87:10:3 v/v/v) に供して、オフホワイトの固体を得、これを、0.5 M HCl 中に溶解し、そして凍結乾燥した (73 mg、26%、GLI-1007817b)。

10

20

【0298】

【化 8 3】

¹H NMR (D₂O, 300.16 MHz) δ: 7.20-7.38 (m, 8H), 4.67 (q, J = 12.0 Hz, 2H), 3.9104.18 (m, 4H), 2.86-2.96 (m, 6H). ¹³C NMR (D₂O, 75.04 MHz) δ: 167.4, 165.4, 155.7, 147.2, 145.3, 131.5, 130.9, 126.2, 126.1, 113.1, 112.7, 102.0, 85.2, 65.8, 56.6, 43.7, 36.4. MS (ESI-Pos) m/z: 526.2 (M+H⁺).

(実施例 33)

前述の実施例の手順に従い、そしてスキーム 1 および 2 に記載されるように、以下の式 I の化合物を得た：

・ 4-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-チアゾール-2-イル-5H-フラン-2-オン：

30

【0299】

【化 8 4】

¹H NMR (DMSO, 300 MHz) δ (ppm): 7.83 (bs, 2H), 7.46-7.04 (m, 8H), 5.78 (s, 1H), 4.55 (bs, 2H); MS 494.1 (M+H⁺).

・ 3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸；

40

【0300】

【化 8 5】

¹H NMR (CDCl₃-CD₃OD, 300 MHz): δ: 7.80-7.60 (m, 4H), 7.38-7.20 (m, 4H), 4.50 (d, J = 14.7 Hz, 1H), 4.21 (d, J = 14.7 Hz, 1H) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃-CD₃OD, 75 MHz): δ: 172.09, 169.74, 169.32, 168.22, 156.33, 156.29, 153.87, 139.36, 139.22, 130.45, 130.14, 129.10, 128.65, 125.47, 125.34, 125.03, 124.89, 118.69, 89.43, 41.45 ppm. MS: 489 (M+H⁺)

・ 3-(2-クロロ-4-フルオロフェニルスルファニル)-2-(2-クロロ-4-フルオロフェニルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

50

【 0 3 0 1 】

【 化 8 6 】

¹H NMR ((CD₃)₂CO, 300.16 MHz) δ (ppm):

7.73-7.80 (m, 1H), 7.49-7.55 (m, 1H), 7.41-7.48 (m, 2H), 7.19-7.31 (m, 2H), 4.11 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.00 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 3.90 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ¹³C NMR ((CD₃)₂CO, 75.04 MHz) δ: 167.6, 164.3, 161.0, 137.5, 137.4, 135.6, 135.5, 133.8, 133.6, 130.7, 118.3, 117.9, 116.0, 115.8, 87.0, 63.7, 39.5, 14.2. MS (ESI-Pos) m/z: 507.0(M+H⁺).

・ ジメチルアミノ - 酢酸 3 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - イルメチルエステル ; 10

【 0 3 0 2 】

【 化 8 7 】

¹H NMR (CD₃OD, 300.16 MHz) δ (ppm): 7.85-

7.80 (m, 4H), 7.36 (m, 4H), 4.81 (s, 2H), 4.35-4.10 (m, 4H), および 2.92 (s, 6H). MS (ESI) m/z: 560 (M+H⁺, 100)

・ 4 - (ベンゾオキサゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (ベンゾオキサゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン ; 20

【 0 3 0 3 】

【 化 8 8 】

¹H NMR (CD₃OD, 300.16 MHz) δ (ppm): 3-7.50 (m, 4H), 7.32-7.27 (m, 4H) および

4.12-3.89 (m, 4H). ¹³C NMR (CD₃OD, 75.48 MHz) δ (ppm): 164.11, 151.90, 151.37, 141.05, 140.67, 124.84, 124.74, 124.42, 124.22, 118.16, 117.90, 110.85, 110.01, 109.73, 88.09, 63.23 および 34.49. MS (ESI, rel. int.) m/z: 443 (M+H⁺).

・ 4 - (5 - クロロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (5 - クロロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン ; 30

【 0 3 0 4 】

【 化 8 9 】

¹H NMR (300 MHz, Cl₃CD - CD₃OD) δ = 7.77-7.55 (m, 4H), 7.30-

7.20 (m, 2H), 4.14 (d, J=14.3 Hz, 1H), 4.00 (d, J=12.2 Hz, 1H), 3.94 (d, J=12.2 Hz, 1H), 3.90 (d, J=14.3 Hz, 1H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, Cl₃CD - CD₃OD) δ = 168.5, 153.1, 152.9, 133.5, 132.5, 125.2, 124.8, 121.9, 121.8, 121.0, 120.9, 88.9, 63.8, 35.9 ppm. MS (API-ES) m/z 547 (30), 543 (M+H⁺).

・ 4 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - (ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン ; 40

【 0 3 0 5 】

【 化 9 0 】

¹H NMR (CD₃OD, 300.16 MHz) δ (ppm): 7.76-7.62 (m, 4H), 7.39-7.21 (m, 4H), 4.05

(d, J = 14.3 Hz, 1H), 3.92 (d, J = 14.3 Hz, 1H) および 3.90 (s, 2H). ¹³C NMR (CD₃OD, 75.48 MHz) δ (ppm): 166.55, 152.52, 152.43, 135.28, 135.19, 126.15, 126.04, 124.59, 124.42, 121.08, 120.97, 120.63, 88.72, 63.91 および 36.01. MS (ESI, rel. int.) m/z: 475 (M+H⁺).

・ 3 - (2 - クロロ - 6 - フルオロ - ベンジルスルファニル) - 2 - (2 - クロロ - 6 - フルオロ - ベンジルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒ 50

ドローフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

【0306】

【化91】

^1H NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 300.16 MHz) δ (ppm):

7.22-7.39 (m, 4H), 7.05-7.18 (m, 2H), 4.61 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.48 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.17 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.90-4.05 (m, 2H), 3.43 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 3.13 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 75.04 MHz) δ : 166.9, 166.0, 163.0, 162.8, 159.7, 159.5, 144.1, 135.2, 135.0, 130.4, 130.3, 129.7, 129.6, 125.7, 124.9, 124.7, 123.9, 123.5, 114.7, 114.6, 114.4, 114.3, 62.7, 37.0, 26.8, 20.2, 13.6. MS (ESI-Pos) m/z : 535.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

10

・3-(5, 6-ジクロロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5, 6-ジクロロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
【0307】

【化92】

^1H NMR

($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 300.16 MHz) δ (ppm): 7.58-7.64 (m, 4H), 4.21 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 4.14 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 3.90-4.02 (m, 2H), 0.98 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 75.04 MHz) δ : 169.2, 168.4, 156.4, 154.6, 153.1, 124.3, 124.2, 115.6, 84.5, 62.5, 31.2, 14.1. MS (ESI-Pos) m/z : 621.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

20

・4-ヒドロキシ-3-(5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
【0308】

【化93】

^1H NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 300.16

MHz) δ (ppm): 7.65-7.73 (m, 2H), 7.31-7.38 (m, 2H), 6.90-6.98 (m, 2H), 4.44 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 4.20 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 3.94-4.05 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 1.02 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 75.04 MHz) δ : 167.2, 166.2, 159.2, 159.1, 154.2, 127.4, 127.0, 121.6, 114.2, 104.7, 104.6, 86.6, 62.4, 55.2, 55.1, 38.3, 13.3. MS (ESI-Pos) m/z : 577.1 ($\text{M}+\text{H}^+$).

30

・3-(2, 4-ジクロロ-ベンジルスルファニル)-2-(2, 4-ジクロロ-ベンジルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

【0309】

【化94】

^1H NMR (CDCl_3 , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.09-7.31 (m,

6H), 4.27-4.50 (m, 2H), 3.98-4.21 (m, 2H), 3.65-3.83 (m, 2H), 3.18 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 2.83 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75.04 MHz) δ (ppm): 167.5, 166.7, 141.2, 135.0, 134.8, 134.3, 134.0, 133.8, 133.3, 132.0, 131.9, 129.7, 129.6, 127.4, 127.2, 126.9, 87.7, 63.3, 36.6, 34.9, 32.2, 14.0. MS (ESI-Pos) m/z : 569.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

40

・2-(ベンゾチアゾール-2-スルフィニルメチル)-3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

【0310】

【化95】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 8.17-8.06 (m, 2H),

7.91-7.83 (m, 2H), 7.64-7.57 (m, 2H), 7.47-7.38 (m, 2H), 4.28 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 4.22 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 4.08-3.95 (m, 2H) および 1.12 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 175.39, 165.88, 164.63, 163.25, 157.15, 153.55, 152.96, 136.17, 135.75, 127.09, 126.54, 126.44, 125.14, 123.80, 122.37, 121.56, 121.23, 113.12, 83.15, 63.31, 59.53 および 12.67. MS (ESI, rel. int.) m/z : 533 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 4 - (フラン-2-イルメチルスルファニル) - 5 - (フラン-2-イルメチルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン-2 - オン ;
【 0 3 1 1 】
【 化 9 6 】

10

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.45-7.42 (m, 2H), 6.35-6.22 (m, 4H), 4.50-3.71 (m, 5H), 3.48 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H) および 2.64 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 167.70, 151.21, 150.45, 143.03, 142.38, 142.19, 125.61, 110.33, 110.00, 108.44, 107.81, 88.79, 64.19, 34.07, 28.87 および 26.83. MS (ESI, rel. int.) m/z : 369 ($\text{M}+\text{H}^+$, 3), 391 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (6 - ニトロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニル) - 2 - (6 - ニトロ - ベンゾチアゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - フラン-2 - カルボン酸エチルエステル ;
【 0 3 1 2 】
【 化 9 7 】

20

^1H NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 300.16 MHz) δ : 8.86 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.81 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.24-8.28 (m, 2H), 7.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 4.41 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 4.23 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). MS (ESI-Pos) m/z : 607.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 2 - (1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニルメチル) - 4 - エトキシ - 3 - (1 - エチル - 1 H - ベンゾイミダゾール - 2 - イルスルファニル) - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - フラン-2 - カルボン酸エチルエステル ;
【 0 3 1 3 】
【 化 9 8 】

30

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.72-7.66 (m, 4H), 7.57-7.53 (m, 2H), 7.49-7.37 (m, 2H), 4.53-4.29 (m, 6H), 4.02 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.48 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H) および 0.97 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 165.97, 163.47, 148.88, 147.86, 143.07, 140.42, 134.93, 133.37, 126.18, 124.93, 124.33, 120.70, 117.75, 113.48, 111.12, 85.10, 68.09, 63.94, 40.60, 37.83, 14.20, 14.07 および 13.10. MS (ESI) m/z : 539 ($\text{M}+\text{H}^+$, 389).

・ 3 - (フラン-2-イルメタンスルフィニル) - 2 - (フラン-2-イルメタンスルフィニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - フラン-2 - カルボン酸エチルエステル ;
【 0 3 1 4 】
【 化 9 9 】

40

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.62-7.59 (m, 2H), 6.56-6.47 (m, 4H), 4.74 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 4.44-4.26 (m, 4H), 4.09 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 3.23 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H) および 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 165.89, 163.88, 161.85, 144.19, 144.08, 144.03, 143.84, 126.15, 112.33, 111.91, 111.11, 110.89, 82.27, 63.61, 56.31, 50.87, 50.69 および 12.83. MS (ESI, rel. int.) m/z : 443 ($\text{M}+\text{H}^+$), 465 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 97).

50

・ 2 - (フラン-2-イルメタンスルフィニルメチル) - 3 - (フラン-2-イルメタンスルホニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル ;

【 0 3 1 5 】

【 化 1 0 0 】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.62-7.59 (m, 2H), 6.58-6.48 (m, 4H), 4.82 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 4.72 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 4.43-4.26 (m, 4H), 4.08 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.16 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H) および 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 165.74, 152.38, 149.50, 144.35, 144.09, 143.94, 141.26, 121.88, 112.98, 111.92, 111.07, 110.88, 82.19, 63.68, 55.95, 54.21, 50.74 および 12.82. MS (ESI, rel. int.) m/z : 459 ($\text{M}+\text{H}^+$).

10

・ 2 - (フラン-2-イルメタンスルフィニルメチル) - 3 - (フラン-2-イルメタンスルホニル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル (単一の異性体) ;

【 0 3 1 6 】

【 化 1 0 1 】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.59-7.57 (m, 2H), 6.55-6.46 (m, 4H), 4.83 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 4.70 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 4.32 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.30 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.20 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 3.70 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 3.60 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H) および 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 165.66, 150.20, 144.27, 143.96, 143.74, 141.52, 112.81, 111.85, 111.08, 110.85, 82.76, 63.64, 54.19, 54.10, 50.66 および 12.83. MS (ESI, rel. int.) m/z : 459 ($\text{M}+\text{H}^+$).

20

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - メチルスルファニル - 2 - メチルスルファニルメチル - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル ;

【 0 3 1 7 】

【 化 1 0 2 】

^1H -NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 4.28 (q, $J = 7.2$ Hz, 2 H), 3.3 (d, $J = 14.9$ Hz, 1 H), 3.14 (d, $J = 14.9$ Hz, 1 H), 2.66 (s, 3 H), 2.20 (s, 3 H), 1.13 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H). ^{13}C -NMR δ (ppm): 168.1, 167.0, 139.8, 129.3, 87.8, 63.1, 40.1, 18.1, 14.3, 14.1. MS (ESI) m/z : 279 ($\text{M}+\text{H}^+$).

30

・ 3 - (5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (5-アミノ-[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン-2-カルボン酸 ;

【 0 3 1 8 】

【 化 1 0 3 】

^1H NMR (300 MHz, D_3COD) $\delta = 3.40$ (d, 1H), 3.60 (d, 1H) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, D_3COD) $\delta = 173.3, 172.9, 172.1, 171.1, 159.0, 158.0, 155.4, 104.8, 87.5, 41.5$ ppm. MS (ESI) m/z 421 ($\text{M}+\text{H}^+$).

40

・ 3 - (ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2, 5 - ジヒドロフラン-2-カルボン酸メチルエステル ;

【 0 3 1 9 】

【化 1 0 4】

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_3COD) δ (ppm): 7.87-7.73 (m, 4H), 7.31-7.45 (m, 4H) 4.39 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 3.58 (s, 3H). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_3COD) δ (ppm): 7.87-7.73 (m, 4H), 7.31-7.45 (m, 4H) 4.39 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 3.58 (s, 3H). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_3COD) δ (ppm): 7.87-7.73 (m, 4H), 7.31-7.45 (m, 4H) 4.39 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 3.58 (s, 3H).

・ 4-ヒドロキシ-3-[4-(2-メトキシカルボニル-ビニル)-フェニルスルファニル]-2-[4-(2-メトキシカルボニル-ビニル)-フェニルスルファニルメチル]-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

10

【0 3 2 0】

【化 1 0 5】

$^1\text{H NMR}$ ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 300.16 MHz) δ (ppm): 7.60-7.66 (m, 6H), 7.47 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.57 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 3.81-4.03 (m, 4H), 3.76 (s, 6H), 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). MS (ESI-Neg) m/z : 569.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

・ 3-ヒドロキシ-5, 6-ジメチル-2-オキソ-5, 6-ジヒドロ-2H-1-オキサ-4, 7-ジチア-アズレン-8-α-カルボン酸エチルエステル;

20

【0 3 2 1】

【化 1 0 6】

$^1\text{H NMR}$ ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 300.16 MHz) δ (ppm): 4.23 (q, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.72-3.89 (m, 1H), 2.94-3.53 (m, 3H), 1.62 (d, $J = 6.9$ Hz, 0.4H), 1.51 (d, $J = 6.8$ Hz, 0.4H), 1.41 (d, $J = 6.8$ Hz, 2.6H), 1.23 (d, $J = 7.2$ Hz, 2.6H), 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). MS (ESI-Pos) m/z : 305.1 $(\text{M}+\text{H}^+)$.

・ 3-(フラン-2-イルメチルスルファニル)-2-(フラン-2-イルメチルスルファニルメチル)-4-イソブチリルオキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

30

【0 3 2 2】

【化 1 0 7】

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.39-7.36 (m, 2H), 6.35-6.25 (m, 4H), 4.35 (s, 2H), 4.33-4.24 (m, 2H), 3.90 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.29 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 2.82 (septet, $J = 7.0$ Hz, 1H) および 1.41-1.27 (m, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75.48 MHz) δ (ppm): 172.70, 166.28, 163.89, 150.27, 148.36, 144.90, 143.09, 142.65, 135.96, 111.01, 110.47, 109.43, 108.99, 87.65, 63.41, 36.18, 33.90, 29.62, 28.07, 18.75, 18.69 および 14.04. MS (ESI, rel. int.) m/z : 481 ($\text{M}+\text{H}^+$, 25), 503 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

・ 4-(2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ)-3-エトキシカルボニルメチルスルファニル-2-エトキシカルボニルメチルスルファニルメチル-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

40

【0 3 2 3】

【化 1 0 8】

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300.16 MHz) δ (ppm): 4.40-4.30 (m, 2H), 4.27-4.19 (m, 4H), 3.96 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 3.85 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 3.61 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 3.44 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 3.37 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 3.34 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 1.38 (s, 9H) および 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75.48 MHz) δ (ppm): 174.35, 170.11, 166.98, 166.18, 163.48, 143.55, 136.14, 87.18, 63.58, 62.60, 61.64, 39.31, 37.68, 34.85, 32.75, 26.94, 14.21, 14.14 and 14.06. MS (ESI) m/z : 507 ($\text{M}+\text{H}^+$, 12) および 529 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

50

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(4-フェニルチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(4-フェニルチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0324】

【化109】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.84-7.82 (d, 2H),

7.69-7.66 (d, 2H), 7.42-7.28 (m, 6H), 7.19 (s, 2H) 4.49-4.11 (m, 4H), 1.78-1.23 (t, 3H).

MS(ESI) m/z : 569 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 3-(2-ジメチルアミノ-エチルスルファニル)-2-(2-ジメチルアミノ-エチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸;

【0325】

【化110】

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 300.16 MHz) δ (ppm) 3.42-3.21 (m, 7H), 3.06

(d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 2.90-2.82 (m, 2H) および 2.76-2.74 (m, 12H). $^{13}\text{C NMR}$ (D_2O , 75.48 MHz) δ

(ppm) 170.72, 167.76, 141.79, 125.21, 88.01, 56.95, 56.30, 42.93, 42.80, 42.77, 42.59, 27.26

および 24.75. MS (ESI) $m/z = 321$, ($\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2$, 47), 365 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 3-(フラン-2-イルメチルスルファニル)-2-(フラン-2-イルメチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0326】

【化111】

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.39-7.33 (m, 2H),

6.33-6.30 (m, 2H), 6.24-6.22 (m, 2H), 4.47 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.31 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.29-4.19

(m, 2H), 3.84 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.74 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.25 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 2.80 (d, $J =$

15.1 Hz, 1H) および 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 167.14, 166.59,

150.46, 149.63, 142.77, 142.61, 140.55, 126.29, 110.80, 110.43, 109.10, 108.73, 87.94, 63.14,

35.95, 29.63, 27.70 および 14.07. MS (ESI) m/z : 411 ($\text{M}+\text{H}^+$, 5) および 433 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

30

・ 4-ヒドロキシ-3-(1-メチル-1H-イミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1-メチル-1H-イミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0327】

【化112】

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD , 300 MHz) δ (ppm): 7.70-7.46

(4 d, 4H 合成), 4.17-4.11 (m, 2.8H), 4.01 (s, 0.76H), 3.92-3.89 (d, 6H), 3.83-3.78 (2 s, 1H),

1.34-1.24 (t, 3H). MS (ESI) m/z : 411 ($\text{M}+\text{H}^+$).

40

・ 3-シクロペンチルスルファニル-2-シクロペンチルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0328】

【化113】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 4.31-4.25 (q, $J = 7.13$ Hz, 2H),

3.36-3.16 (dd, $J = 14.7$ Hz, 2H), 2.11-1.98 (m, 2H), 1.75-1.55 (m, 16H), 1.32 (t, $J = 7.15$ Hz). MS

(ESI) m/z : 387 ($\text{M}+\text{H}^+$, 35), 409 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

・ 3-ブチルスルファニル-2-ブチルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

50

【 0 3 2 9 】

【 化 1 1 4 】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 4.28-4.26 (q, $J=7.16$ Hz, 2H), 3.33-3.14 (dd, $J=14.8$ Hz, 2H), 3.18-3.29 (m, 2H), 2.61 (t, $J=7.27$ Hz, 2H), 1.64-1.29 (m, 11H), 0.95-0.88 (tt, 6H). MS (ESI) m/z : 363 ($\text{M}+\text{H}^+$, 75), 385 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

・ 4-ヒドロキシ-3-イソブチルスルファニル-2-イソブチルスルファニルメチル-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【 0 3 3 0 】

【 化 1 1 5 】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 4.33-4.14 (m, 2H), 3.33-3.14 (dd, $J=14.8$ Hz, 2H), 3.10 (m, 2H), 2.51 (d, $J=6.9$ Hz, 2H), 1.89-1.75 (m, 2H), 1.31 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.03-0.95 (m, 12H). MS (ESI) m/z : 385 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

10

・ 4-ヒドロキシ-3-(ナフタレン-2-イルスルファニル)-2-(ナフタレン-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【 0 3 3 1 】

【 化 1 1 6 】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.91-7.54 (m, 8H), 7.55-7.48 (m, 6H), 4.00 (m, 2H), 1.15 (t, 3H). MS (ESI) m/z : 503 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100)および525 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 70).

20

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(1-フェニル-1H-テトラゾール-5-イルスルファニル)-2-(1-フェニル-1H-テトラゾール-5-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【 0 3 3 2 】

【 化 1 1 7 】

$^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6 , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.71-7.59 (m, 10H), 4.25 (d, $J=13.8$ Hz, 1H), 4.07-3.84 (m, 3H) および 1.01 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO-d_6 , 75.48 MHz) δ (ppm): 170.11, 168.99, 160.98, 155.44, 154.61, 133.84, 133.46, 131.27, 130.97, 130.60, 130.57, 125.28, 124.85, 83.94, 62.16 および 14.17. MS (ESI) m/z : 539 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100).

30

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-フェニル-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニル)-2-(5-フェニル-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【 0 3 3 3 】

【 化 1 1 8 】

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm) 7.94-7.87 (m, 4H), 7.47-7.40 (m, 6H), 4.20-4.08 (m, 2H), 4.03-3.90 (m, 2H) および 1.05 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm) 168.26, 158.45, 129.99, 129.71, 128.67, 128.56, 126.16, 126.06, 86.84, 62.19, 37.53 および 12.75. MS (ESI) m/z : 537 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100).

40

・ 4-ヒドロキシ-3-(4-メトキシベンジルスルファニル)-2-(4-メトキシベンジルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【 0 3 3 4 】

【化 1 1 9】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.29-7.22 (m, 4 H), 6.88-6.83 (m, 4 H), 4.38 (q, $J = 12.7$ Hz, 2 H), 4.23-4.12 (m, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.79 (s, 3 H), 3.76-3.71 (m, 2 H), 3.17 (d, $J = 15.0$ Hz, 1 H), 2.79 (d, $J = 15.0$ Hz, 1 H), 1.26 (t, $J = 6.5$ Hz, 3 H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ (ppm): 168.1, 167.1, 159.5, 159.1, 140.9, 130.74, 130.69, 129.8, 129.0, 128.5, 114.5, 114.4, 88.4, 63.4, 55.7, 37.4, 36.3, 35.3, 14.6, 14.4.

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(チアゾール-2-イルスルファニル)-2-(チアゾール-2-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

10

【0 3 3 5】

【化 1 2 0】

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 300 MHz) δ (ppm): 7.65-7.59 (m, 2 H), 7.20-7.11 (m, 2 H), 4.07 (d, $J = 14.3$ Hz, 1 H), 3.92-3.78 (m, 4 H), 3.07 (q, $J = 7.2$ Hz, 1.0 H), 1.21 (t, $J = 7.2$ Hz, 1.7 H), 1.03 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H). MS(ESI) m/z : 417 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 3-ベンジルスルファニル-2-ベンジルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0 3 3 6】

【化 1 2 1】

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.38-7.23 (m, 10 H), 4.48-4.37 (m, 2 H), 4.26-4.12 (m, 2 H), 3.81 (d, $J = 3.4$ Hz, 2 H), 3.17 (d, $J = 15.0$ Hz, 1 H), 2.72 (d, $J = 15.0$ Hz, 1 H), 1.27 (t, $J = 6.5$ Hz, 3 H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ (ppm): 167.9, 166.7, 140.8, 137.6, 136.9, 129.3, 129.1, 128.8, 128.7, 127.9, 127.8, 127.3, 88.1, 63.1, 37.6, 35.9, 35.3, 14.1.

・ 4-ヒドロキシ-3-(4-メトキシフェニルスルファニル)-2-(4-メトキシフェニルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0 3 3 7】

【化 1 2 2】

30

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 3.93-3.81 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.55 (s, 2H) および 1.12 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 167.32, 167.04, 160.22, 159.76, 146.03, 134.30, 133.88, 125.88, 122.44, 121.01, 114.41, 114.39, 86.29, 62.46, 54.60, 54.52, 41.09 および 12.81. MS (ESI) m/z : 463 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100) および 485 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 85).

・ 3-(2-クロロフェニルスルファニル)-2-(2-クロロフェニルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0 3 3 8】

【化 1 2 3】

40

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.54-7.51 (m, 1H), 7.45-7.39 (m, 2 H), 7.32-7.18 (m, 5H), 3.96-3.75 (m, 4H) および 1.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 167.00, 166.22, 149.19, 135.37, 133.96, 133.16, 132.37, 130.96, 130.02, 129.72, 129.65, 128.30, 128.11, 127.28, 127.16, 86.22, 62.71, 37.82 および 12.68. MS (ESI) m/z : 471 ($\text{M}+\text{H}^+$ 100) および 493 ($\text{M}+\text{Na}$, 98).

・ 3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

50

【 0 3 3 9 】

【 化 1 2 4 】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.90-7.78 (m, 4H), 7.49-7.42 (m, 2H), 7.37-7.31 (m, 2H), 4.50 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 4.12-3.97 (m, 2H) および 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 167.07, 165.68, 153.35, 152.80, 135.86, 135.71, 126.63, 126.48, 125.21, 124.98, 121.65, 121.56, 121.39, 85.78, 63.28, 37.27 および 13.07. MS (ESI) m/z : 517 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 3 - (ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ; 10

【 0 3 4 0 】

【 化 1 2 5 】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 7.60-7.48 (m, 4H), 7.36-7.25 (m, 4H), 4.38 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 4.14-4.05 (m, 2H) および 1.16 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 166.73, 165.39, 163.72, 160.13, 152.29, 152.20, 151.52, 141.54, 141.43, 125.19, 125.08, 124.83, 124.72, 118.76, 118.40, 110.71, 110.27, 110.12, 85.46, 63.42, 36.28 および 13.09. MS (ESI) m/z : 485 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 4 - ヒドロキシ - 5 - オキソ - 3 - (4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニル) - 2 - (4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル) - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ; 20

【 0 3 4 1 】

【 化 1 2 6 】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 8.90 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 8.82 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.15 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.15-3.95 (m, 2H) および 1.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 173.33, 172.43, 171.76, 168.57, 160.22, 160.10, 158.01, 155.51 (q, $J = 36.2$ Hz), 155.20 (q, $J = 36.5$ Hz), 120.35, (q, $J = 274.8$ Hz), 120.30, (q, $J = 274.7$ Hz), 112.58, 112.37, 101.11, 85.90, 61.86, 35.32 および 12.75. MS (ESI) m/z : 543 ($\text{M}+\text{H}^+$, 26) および 565 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100). 30

・ 4 - ヒドロキシ - 3 - (4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニル) - 2 - (4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル) - 5 - オキソ - 2 , 5 - ジヒドロフラン - 2 - カルボン酸エチルエステル ;

【 0 3 4 2 】

【 化 1 2 7 】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 8.62 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 8.55 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 7.23 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.22 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.24 (d, 1H), 4.09 (d, 1H), 4.10-3.85 (m, 2H) および 1.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 171.87, 171.56, 170.56, 168.78, 157.63, 157.38, 117.50, 117.22, 103.01, 85.95, 61.95, 35.05 および 12.81. MS (ESI) m/z : 407 ($\text{M}+\text{H}^+$). 40

・ 4 - (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) - 5 - (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル) - 3 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 5 H - フラン - 2 - オン ;

【 0 3 4 3 】

【化 1 2 8】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm) 7.45-7.40 (m, 2H), 7.38-7.33 (m, 2H), 7.20-7.10 (m, 4H), 3.90 (s, 2H), 3.88 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H) および 3.79 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm) 172.73, 158.01, 151.24, 149.97, 139.29, 138.92, 122.38, 122.29, 113.96, 113.76, 89.04, 63.38 および 36.58. MS (ESI) m/z : 441 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 4-ヒドロキシ-3-(4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0 3 4 4】

10

【化 1 2 9】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm): 8.42 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 8.37 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 4.12-4.02 (m, 1H), 4.00-3.90 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.46 (s, 3H) および 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm): 170.05, 169.73, 168.60, 168.15, 168.04, 167.24, 157.04, 156.72, 117.10, 116.67, 86.03, 61.98, 34.71, 22.50, 22.49 および 12.74. MS (ESI, 負) m/z : 435 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(ピリミジン-2-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

20

【0 3 4 5】

【化 1 3 0】

^1H NMR (CD_3OD , 300.16 MHz) δ (ppm) 8.62 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 8.55 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 7.23 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.22 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.24 (d, 1H), 4.09 (d, 1H), 4.10-3.85 (m, 2H) および 1.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 75.48 MHz) δ (ppm) 171.87, 171.56, 170.56, 168.78, 157.63, 157.38, 117.50, 117.22, 103.01, 85.95, 61.95, 35.05 および 12.81. MS (ESI) m/z : 407 ($\text{M}+\text{H}^+$, 12) および 429 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(2-スルホ-エチルスルファニル)-2-(2-スルホ-エチルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

30

【0 3 4 6】

【化 1 3 1】

^1H NMR (D_2O , 300.16 MHz) δ (ppm) 4.22 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.43 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 3.22-2.86 (m, 9H) および 1.22 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (D_2O , 75.48 MHz) δ (ppm) 170.38, 169.75, 149.25, 117.51, 87.18, 64.13, 51.37, 51.12, 36.82, 27.57, 26.58 および 13.16. MS (ESI, 負) m/z : 232 ($\text{M}^2-/2$, 100), 465 ($\text{M}^2- + \text{H}$, 22) および 487 ($\text{M}^2- + \text{Na}^+$, 39).

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニル)-2-(7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

40

【0 3 4 7】

【化 1 3 2】

¹H NMR (DMSO-d₆, 300.16 MHz)

δ (ppm) 8.90 (d, 2H), 8.36-8.29 (m, 4H), 7.96-7.88 (m, 3H), 7.38 (s, 1H), 4.23 (d, 1H), 4.12 (d, 1H), 3.89 (broad m, 2H) および 0.93 (t, J = 6.3 Hz, 3H). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75.48 MHz) δ (ppm) 167.44, 166.76, 151.63, 146.89, 146.49, 145.90, 130.47 (q, J = 32.1 Hz), 130.42 (q, J = 32.2 Hz), 128.23, 127.88, 127.69, 126.09, 126.01, 122.58, 120.88, 85.74, 63.07, 35.91 および 13.92. MS (ESI) m/z: 641 (M+H⁺).

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(7-トリフルオロメチルキノリン-4-イルスルファニル)-2-(7-トリフルオロメチルキノリン-4-イルスルファニルメチル)-5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; 10

【0 3 4 8】

【化 1 3 3】

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ

(ppm): 7.81-7.58 (m, 4 H), 7.44-7.08 (m, 4 H), 4.23 (d, J = 13.3 Hz, 2 H), 3.91 (m, 2 H), 0.94 (m, 3 H). MS(ESI) m/z: 613 (M+H⁺).

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-スルホン酸-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-スルホン酸-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; 20

【0 3 4 9】

【化 1 3 4】

¹H NMR (D₂O,

300.16 MHz) δ (ppm) 7.86 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.56 (td, J = 8.5 & 1.3 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 4.11 (d, J = 14.9 Hz, 1H), 4.01 (d, J = 14.9 Hz, 1H), 3.70-3.60 (m, 1H), 3.48-3.38 (m, 1H) および 0.69 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ¹³C NMR (D₂O, 75.48 MHz) δ (ppm) 171.44, 169.44, 159.68, 153.04, 151.84, 136.72, 120.04, 119.93, 113.81, 112.11, 111.55, 99.01, 85.50, 63.67, 37.48 および 12.38. MS (ESI, 負) m/z: 641 (M-H⁻).

30

・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニル)-2-(ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニルメチル)-5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0 3 5 0】

【化 1 3 5】

¹H NMR (CD₃OD, 300.16 MHz) δ (ppm)

4.34 (d, J = 14.1 Hz, 1H), 4.11 (d, J = 14.1 Hz, 1H), 4.10 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.87-3.79 (m, 6H), 3.66 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.16-2.05 (m, 4H), 2.03-1.92 (m, 4H) および 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ¹³C NMR (CD₃OD, 75.48 MHz) δ (ppm) 192.30, 191.83, 173.94, 169.76, 159.38, 106.58, 87.36, 63.77, 56.76, 52.41, 51.95, 43.44, 27.60, 27.14, 25.48, 25.30 および 14.39. MS (ESI) m/z: 477 (M+H⁺).

40

・ 3-シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

【0 3 5 1】

【化 1 3 6】

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 4.28 (q, J = 7.14 Hz, 2H), 3.90 (m, 1H), 3.19

(dd, J = 14.7 Hz, 2H), 2.81 (m, 1H), 2.09-1.31 (m, 23H). MS (ESI) m/z: 415 (M+H⁺, 60).

・ 3-(2-ジメチルアミノエチルスルファニル)-2-(2-ジメチルアミノエチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2 50

ーカルボン酸エチルエステル、塩酸塩；

【0352】

【化137】

^1H NMR (D_2O , 300.16 MHz): 4.20

(qd, $J = 7.1$ & 1.3 Hz, 2H), 3.50-3.21 (m, 8H), 2.90 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.81-2.79 (m, 12H) および 1.17

(t, $J = 7.1$ Hz, 3H) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75.48 MHz): 168.13, 167.17, 142.16, 124.07, 87.07,

64.53, 56.97, 56.33, 43.07, 42.79, 42.72, 36.59, 27.25, 24.78 および 13.24 ppm. MS: $m/z = 393$

($\text{M}+\text{H}^+$).

(実施例34)

10

これまでの実施例および反応スキーム3に記載されるような手順に従って、式IIIの以下の化合物を調製した：

・4-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-5-ベンゾイル-3-ヒドロキシ-5H-フラン-2-オン；

【0353】

【化138】

^1H NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 300.16

MHz) δ (ppm): 7.95-8.04 (m, 3H), 7.35-7.70 (m, 6H), 7.12 (s, 1H). ^{13}C NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 75.04

MHz) δ : 192.6, 167.0, 163.0, 153.2, 147.1, 135.7, 135.1, 129.6, 129.4, 127.0, 125.5, 122.5, 122.0,

115.0, 78.7. MS (ESI-Pos) m/z : 370.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

20

・3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-5H-フラン-2, 2-ジカルボン酸ジエチルエステル；

【0354】

【化139】

^1H NMR (300 MHz, d_6 -DMSO- D_2O) $\delta = 7.50$ - 7.45 (m, 2H), 7.20 - 7.15 (m, 2H), 4.20 - 4.05 (m, 4H),

1.15 - 1.00 (m, 6H) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, d_6 -DMSO- D_2O) $\delta = 165.9$, 164.5 , 150.3 , 147.2 , 138.7 ,

123.0 , 114.6 , 109.1 , 84.4 , 63.8 , 14.0 ppm. MS (API-ES) m/z 393 ($\text{M}+\text{H}^+$).

・5-アセチル-4-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-3-ヒドロキシ-5H-フラン-2-オン；

30

【0355】

【化140】

^1H -NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ

(ppm): 7.88 - 7.78 (m, 2H), 7.53 - 7.34 (m, 2.3H), 5.10 (s, 1H), 2.25 (s, 3H). ^{13}C -NMR δ (ppm):

202.8 , 134.6 , 127.5 , 126.2 , 121.6 , 121.4 , 81.5 , および 25.2 . MS (ESI): 308 ($\text{M}+\text{H}^+$), 525 .

・3-ベンジルスルファニル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

【0356】

【化141】

^1H -NMR

(CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.32 (m, 5H), 5.13 (s, 1H), 4.41 - 4.24 (q, 2H), 4.24 - 4.16 (m, 2H), 1.28 (t,

3H). MS (ESI) m/z : 295 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100), 317 , ($\text{M} + \text{Na}^+$, 70).

・4-ヒドロキシ-3-(5-メチル-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸2イソプロピル-5-メチルシクロヘキシルエステル；

【0357】

40

【化 1 4 2】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.42 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 7.33 (s, 1 H), 6.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 5.31 (m, 1 H), 4.75 (m, 1 H), 2.40 (s, 3H), 1.86-1.60 (m, 4 H), 1.40-1.36 (m, 2 H), 0.96-0.63 (m, 12 H). MS(ESI) m/z : 445 ($\text{M}+\text{H}^+$).

(実施例 3 5)

(ニューロン細胞ストレスアッセイを利用する活性の決定)

(A. 初代海馬ニューロン細胞の単離および培養)

(材料)

- ・ Neurobasal / B27 : 1 × B27 補充物 (Invitrogen Life Technologies)、0.5 μM L-グルタミン、25 μM L-グルタミン酸、および 1 × ペニシリン / ストレプトマイシンを含有する、Neurobasal 培地 (Invitrogen, Carlsbad, CA)。 10
- ・ ハンクス基礎塩類溶液 (HBSS, Ca / Mg を含まない) を、HEPES (10 mM、pH 7.3)、重炭酸ナトリウム (0.35%)、1 × ペニシリン / ストレプトマイシン、および 1 mM ビルビン酸を補充した 1 × ハンクス CMF (Gibco) を調製することにより調製する。
- ・ ポリ-D-リジン (Sigma, St. Louis, MO)、0.2 μm フィルターチューブを通して濾過した 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ 溶液。
- ・ Sigmacote (Sigma, St. Louis, MO)。 20
- ・ ポリ-D-リジン (Sigma, St. Louis, MO) で処理したプラスチック培養フラスコ (T75 cm^2) または 12 ウェル細胞培養プレート。

【0358】

(初代海馬神経細胞の調製)

雌性妊娠マウス (E18 ~ E19) を、 CO_2 で安楽死させ、続いて子宮を取り出した。次いで、この子宮を滅菌プラスチックペトリ皿に置いた。胚を囊から取り出し、胚性脳を取り出し、小さなペトリ皿中、冷 (4°C) 緩衝化塩類溶液 (HBSS; Ca / Mg を含まない; Invitrogen Life Technologies) 中に浸した。次いで、解剖顕微鏡下で海馬を脳から取り出し、パラフィンで覆ったディッシュの上に置いた。髄膜を剥がし、解剖した海馬を小さなペトリ皿中の HBSS 中に回収した。海馬を 30、HBSS を満たした 15 ml 遠心管に移した (通常は、10 ~ 12 個の脳)。脳を含む試験管を、卓上型遠心機で 2 分間、1000 rpm にて遠心分離した。上清を除去し、2 ml の HBSS を遠心管中の海馬に添加し、得られた懸濁液を、各々、徐々に小さくなった開口部を有する、シリコン処理した、先端を長くした硝子ピペットを用いて (標準的なサイズの開口部 (約 1.0 mm 直径) を有するピペットを用いて開始して、標準サイズの約 1 / 2 の開口部 (約 0.5 mm 直径) を有するピペット、次いで、そのサイズの約 1 / 2 (0.25 mm 直径) の開口部を有するピペットを用いる)、2 回細かくした。次いで、懸濁液を再び卓上型遠心機で 2 分間 1000 rpm にて遠心分離し、上清を廃棄し、2 ml の Neurobasal / B27 i (抗生物質を含む) を遠心管に添加した。次いで、上記の細かくする手順をこの懸濁液に対して繰り返した。 40

【0359】

細胞の密度を、標準的な計数手順を用い、トリパンブルー染色排除 (stain exclusion) で細胞の生存能力について補正して、細胞の小さなアリコートに対して決定した。この手順を使用すると、推定収量は、 $3 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$ 細胞 / 脳である。次いで、細胞を、約 1.5×10^6 細胞 (T75 フラスコ) または約 70,000 細胞 / ウェル (24 ウェルプレート) の密度にて、Neurobasal / B27 I を入れた PDL をコーティング 24 ウェルプレート、フラスコまたは MetTek ディッシュに添加した。プレートした細胞を、5% CO_2 / 95% O_2 の雰囲気にて 37°C でインキュベートした。新たな Neurobasal / B27 m 培地 (5 μM シトシンアラビノシド (Ara-C) を含む) で培地の半分を交換することにより、培地を 3 ~ 4 日後に新 50

しくした。最初の培養から7～8日後、培地を、その半分を回収し、等量の新たなNeurobasal/B27m培地(Ara-Cなし)と交換することによって再び新しくした。

【0360】

(B. 海馬酸素欠乏-再酸素化細胞死アッセイ)

このアッセイを使用して、培養海馬神経細胞において、酸素欠乏-再酸素化により虚血を誘導した。試験化合物を添加して、虚血誘導性神経細胞傷害および細胞死に対する効果および効力を評価した。

【0361】

(材料)

- ・Neurobasal培地、NoG neurobasal培地、B27補充物およびB27補充物(AOなし)をInvitrogen Life Technologiesより入手した。
 - ・Neurobasal/B27培地を、2×B27(AOなし)補充物、0.5mM L-グルタミンおよび0.25×ペニシリン/ストレプトマイシンを用いて調製した。
 - ・Cell Tracker Greenを、Molecular Probesから入手し、新たな5μM溶液を、10mMストックから使用直前に調製した。
 - ・LoG-Neurobasalは、NoG neurobasal培地ならびに1mM グルコース、0.5mM L-グルタミン0.25×ペニシリン/ストレプトマイシン、および10mM Hepes (pH7.4)を含む。
 - ・初代海馬ニューロン細胞を、上記の方法に従って調製し、使用前に、ポリ-D-リジン
- をコーティングした24ウェルプレート中で10～11日間培養した。

【0362】

脱酸素化LoG-Neurobasal培地(100ml)を、低酸素チャンバにおいてT150cm²フラスコ中にその培地を一晩予備平衡化することにより調製した。低酸素条件下での予備インキュベーションの後、そのLoG-Neurobasal培地を、100% N₂を用いて30分間軽く泡立たせ、培地を完全に脱酸素化した。さらに20mlのLoG-Neurobasalを、T75cm²フラスコ中で予備平衡化し、通常のインキュベーター(5% CO₂)において一晩インキュベートした。再酸素化培地を、培養インキュベーター(5% CO₂/95% O₂)中に一晩Neurobasal/B27培地を入れることによって調製した。

【0363】

海馬神経のプレーティングから10～11日後に、存在している培養培地を(Neurobasal/B27m)、吸引することによって細胞から除去する。細胞を、600μl/ウェル(24ウェル培養プレート)のグルコースを含有しないBSSで1回洗浄する。脱酸素化LoG-Neurobasal(24ウェルプレートの各ウェルについて400μl/ウェル)により、ニューロンを補充する。試験化合物を各ウェルに直接添加した(通常、3種類の濃度の化合物およびポジティブコントロール(各3連))。大部分の試験化合物を、100% DMSO中に溶解した;しかし、細胞培地中の最終DMSO濃度が決して0.5%を超えないように、濃度を調節した。試験化合物とともに細胞を含有するプレートを、プレートのふたを半開きにした状態で、低酸素チャンバに4～5時間入れた。酸素正常状態コントロールについては、予備平衡化した酸素正常状態LoG-Neurobasal培地を各ウェルの細胞に添加し、プレートを、通常の培養インキュベーター中に4～5時間再配置した。4～5時間の低酸素症の後、存在する培地を、注意深く吸引し、400μLの新たな再酸素化(予備平衡化)Neurobasal/B27を各ウェルに添加した。同じ試験化合物(同じ濃度)を対応するウェルに添加し戻した。プレートを細胞培養インキュベーター(5% CO₂/95% O₂)に入れ、20～24時間再酸素化した。20～24時間再酸素化した後、生存ニューロンを、以下に記載のcell tracker green蛍光法を使用して定量した。

【0364】

細胞生存性について試験するために、存在する培養培地を、24ウェルプレートの各ウェルから吸引し、ニューロンを1mlのHBSS (pH7.4、30～37℃に予め温めである)で1回洗浄した。各ウェルに、HBSSに溶解した500μLの5μM Cell Tracker Green 蛍光色素を添加した。プレートを、遮光して、室温にて15分間静置し、次いで、1mlのHBSSで洗浄した。次いで、500μLのHBSSを各ウェルに添加し、蛍光性の細胞を、蛍光顕微鏡を使用して計数した。コントロール細胞と比較して有意に増加した細胞生存性は、保護化合物の指標である。

【0365】

上記のように試験した場合、本発明の化合物は、約1～1000μMの範囲の濃度で、試験した細胞の少なくとも20%においてストレッサー誘導性細胞死に対する保護を提供する。上記のように試験した場合、例えば、以下：

- ・4-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-5-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン；
- ・1,4-ジヒドロキシ-4-メチル-3a,4-ジヒドロ-3-オキサ-10-チア-4a,9-ジアザ-シクロペンタ[b]フルオレン-2-オン；
- ・3-(2,4-ジクロロ-ベンジルスルファニル)-2-(2,4-ジクロロ-ベンジルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-5H-フラン-2,2-ジカルボン酸ジエチルエステル；
- ・4-(フラン-2-イルメチルスルファニル)-5-(フラン-2-イルメチルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン；
- ・5-アセチル-4-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-3-ヒドロキシ-5H-フラン-2-オン；
- ・2-(フラン-2-イルメタンスルファニルメチル)-3-(フラン-2-イルメチルスルフォニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(4-フェニル-チアゾール-2-イルスルファニル)-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸；
- ・3-(フラン-2-イルメタンスルフォニル)-2-(フラン-2-イルメタンスルフォニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・3-ベンジルスルファニル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・3-[4-(2-カルボキシ-ビニル)-フェニルスルファニル]-2-[4-(2-カルボキシ-ビニル)-フェニルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・3-(5-アミノ-[1,3,4]チアジアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-アミノ-[1,3,4]チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸；
- ・3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸；
- ・3-ヒドロキシ-5,6-ジメチル-2-オキソ-5,6-ジヒドロ-2H-1-オキサ-4,7-ジチア-アズレン-8a-カルボン酸エチルエステル；
- ・4-(2,2-ジメチル-プロピオニルオキシ)-3-(フラン-2-イルメチルスルファニル)-2-(フラン-2-イルメチルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-フラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・4-(2,2-ジメチル-プロピオニルオキシ)-3-エトキシカルボニルメチルスルファニル-2-エトキシカルボニルメチルスルファニルメチル-5-オキソ-2,5-ジ

10

20

30

40

50

ヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-3-(5-メチル-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸2-イソプロピル-5-メチル-シクロヘキシルエステル；

・3-シクロペンチルスルファニル-2-シクロペンチルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・3-ブチルスルファニル-2-ブチルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(9H-プリン-6-イルスルファニル)-2-(9H-プリン-6-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 10

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(1-フェニル-1H-テトラゾール-5-イルスルファニル)-2-(1-フェニル-1H-テトラゾール-5-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-ベンジルスルファニル)-2-(4-メトキシ-ベンジルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-フェニルスルファニル)-2-(4-メトキシ-フェニルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 20

・4-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-(4-メチルピペラジン-1-カルボニル)-5H-フラン-2-オン；

・3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・3-(ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-5-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン； 30

・4-ヒドロキシ-3-(1H-イミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-イミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(ピリミジン-2-イルスルファニル)-2-(ピリミジン-2-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニル)-2-(7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 40

・3-(ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニル)-2-(ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・3-(2-ジエチルアミノ-エチルスルファニル)-2-(2-ジエチルアミノ-エチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-(5-スルホ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-スルホ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル； 50

- ・ 3- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸；
 - ・ 3- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2- (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸メチルエステル；
 - ・ 3-シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 3- (2-ジメチルアミノ-エチルスルファニル)-2- (2-ジメチルアミノ-エチルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル塩酸塩；
 - ・ 4-ヒドロキシ-3- (2-メトキシカルボニル-エチルスルファニル)-2- (2-メトキシカルボニル-エチルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 4-ヒドロキシ-3-メトキシカルボニルメチルスルファニル-2-メトキシカルボニルメチルスルファニルメチル-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3- (ピリジン-4-イルスルファニル)-2- (ピリジン-4-イルスルファニルメチル)-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 5, 8-ジクロロ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-2H-1-オキサ-4, 9-ジチア-ベンゾ [f] アズレン-10a-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 3- (5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2- (5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 3- (5-アミノ-2H- [1, 2, 4] トリアゾール-3-イルスルファニル)-2- (5-アミノ-2H- [1, 2, 4] トリアゾール-3-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-p-トリルスルファニル-2-p-トリルスルファニルメチル-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 3- (5-アミノ- [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニル)-2- (5-アミノ- [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
 - ・ 3- (5-アミノ- [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニル)-2- (5-アミノ- [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- のような本発明の化合物は、1～100 μMの範囲の濃度で、試験した細胞の少なくとも40%の、ストレッサー誘導性細胞死に対する保護を提供した。

【0366】

(実施例36)

(筋細胞カルシウム収縮性アッセイ)

(A. 一次新生児の筋細胞の単離および培養)

(材料)

- ・ 10×心臓解剖溶液 (Heart Dissection Solution) (HDS) は、細胞培養グレード水中に以下の成分 (g/l) を含む: NaCl, 68; HEPES, 47.6; NaH₂PO₄, 2; グルコース, 10; KCl, 4; MgSO₄, 1, pHは7.4に調製された。希釈された (1×HDS) 溶液の濾過滅菌の前に、10mgフェノールレッドを、各500mlの培地に添加した。
- ・ トランスフェリンおよびウシインシュリンを、Invitrogen Life Te

chnologies (Carlsbad, CA) から得、組織培養グレード水に 4 mg/ml の濃度で再懸濁した。

・DMEM-F12 グルタミンおよび塩酸ピリドキシンを 1:1 で含む DMEM-F12、粉末を Invitrogen Life Technologies から購入した。1 リットル当量の粉末に、攪拌しながら、950 ml の組織培養グレード水中に 2.43 g の重炭酸ナトリウムおよび 10 ml の 100×ペニシリン/ストレプトマイシンを添加した。pH を 1 M HCl で 7.2 に調節し、そして体積を 1 リットルに調節した。この溶液を、濾過滅菌した後、2.5 ml の 4 mg/ml トランスフェリン、250 µl の 4 mg/ml インシュリンおよび 30.7 mg のブロモデオキシウリジンを添加した。

・4% ウシ胎児血清 (FBS) を含有する DMEM-F12 をまた、組織培養プレートを予めコーティングするためにそして心筋細胞ペレットの初期懸濁のために調製した。

・コラゲナーゼ溶液 (49 mg のコラゲナーゼを、120 ml の 1×HDS に再懸濁し)

・Invitrogen Life Technologies 製のウシ胎児血清 (FBS)

(一次新生児心筋培養物の調製)

組織培養ウェアを、96 ウェルプレートの 1 ウェルあたり 50 µl および 12 ウェルプレートの 1 ウェルあたり 0.25 ml を、37℃ にてインキュベートすることによって DMEM-F12-4% FBS で予めコーティングした。

【0367】

2 日齢のラットの子を、それらの母親から離し、そして滅菌した容器に入れる。子を、70% のアルコール中に素早く浸し、次いで断頭し、そして身体を空の滅菌組織培養皿に配置した。切開を、首から始めそして腹に向かって進行させ、胸骨を通して切断した。心臓を取り除き、そして 1×HDS を含有する組織培養皿に配置した。心房を切り取り、そして残っている心室 (これらは各 3~4 片に切り出される) を 1×HDS を含有する別個の組織培養皿に配置した。次いで、心室を、滅菌した 250 ml ガラスフラスコに移し、そして 1×HDS を除去した。20 ml の予め温めたコラゲナーゼ溶液を心室に添加し、続いて振盪しながら 37℃ にてインキュベートした。30 分後、コラゲナーゼ溶液を除去し、20 ml の新しい予め温めたコラゲナーゼで置換した。インキュベートをさらに 30 分続ける。インキュベートの終わりに、任意の組織の塊を処理し、その後、破壊した組織片からコラゲナーゼ (単離された心筋細胞を含む) を除去した。単離された筋細胞を、2 ml のウシ胎児血清 (FBS) を含む 50 ml の Falcon チューブに添加した。残っている組織片を、20 ml の新しい予め温められたコラゲナーゼの添加によって、二次消化に供し、30 分間上記のようにインキュベートする。次いで、この二次消化物を 10 分間、1000 rpm で遠心分離した (卓上用遠心分離)。得られた上清を捨て、そして細胞ペレットを、4 ml の FBS で懸濁した。得られた細胞懸濁液を、37℃ のインキュベーターに配置した。この工程を、さらに数回繰り返し、さらなる物質を回収した。

【0368】

Percoll 勾配を、混合しながら、22.5 ml の Percoll (Invitrogen Life Technologies) に 2.5 ml の 10×HDS を添加することによって調製した (Percoll ストック)。上部勾配溶液 (11 ml Percoll ストックおよび 14 ml 1×HDS) および底部勾配溶液 (13 ml Percoll ストックおよび 7 ml 1×HDS) を調製した。4 ml の上部勾配溶液を、6×15 ml の滅菌した Falcon チューブに移した。3 ml の底部勾配溶液を、チューブの底部に血清学的ピペットを挿入し、そしてゆっくりと液体を添加することによって、各チューブに入れた。

【0369】

全ての消化物 (5) を、1 つの 50 ml の Falcon チューブにプールし、そして卓上用遠心分離で、10 分間 1000 rpm で遠心分離した。上清を捨て、そして細胞ペレットを、12 ml の 1×HDS に再懸濁した。2 ml の細胞懸濁液を、各勾配の上部に添

10

20

30

40

50

加した。次いで、勾配チューブを、Beckman Allegra 6遠心分離器（GH3.8Aローター）で破壊せずに、30分間3000rpmで遠心分離した。遠心分離に次いで、細胞を、2つの界面で2つの鋭いバンドに分離した。2つのバンドのうちの低いほうのバンドは、心筋細胞について富化させた；また、チューブの底部に心筋細胞ペレットが存在した。上部のバンドは、繊維芽細胞および他の非心筋細胞について富化された。勾配の上部を、心筋細胞相のちょうど上まで吸引した。次いで、心筋細胞層を、ペレットと共に慎重に除去し、そして2つの画分を、さらなる勾配チューブからの対応する画分と共に滅菌した50mlのFalconチューブにプールした；次いで、1×HDSを、約50mlの全容量まで添加した。このチューブを、7分間1000rpmで遠心分離した。上清を捨て、そして25mlの1×HDSに再懸濁した。さらに25mlの1×HDSを添加し、そして遠心分離工程を繰り返した。この細胞ペレットを、40～50mlのDMEM F12～4% FBSに慎重であるが徹底的に再懸濁した。

10

【0370】

細胞懸濁液の小アリコートをし、血球計で計数した。DMEM/F12-FBSコート培地を、組織培養皿から吸引した。心筋細胞を、200μL中96ウェルあたり 7.5×10^4 /ウェルのプレーティング密度および3ml中12ウェルあたり 1.5×10^5 /ウェルのプレーティング密度で添加した。培養物を、37℃にて、5%のCO₂で一晩インキュベートした。元の培地を除去し、そして使用する前に、新しいDMEM/F12-5% FBSを、各培養物に添加し、さらに48時間、37℃にて、5%のCO₂下でインキュベートした。

20

【0371】

（B. 収縮性アッセイ）

（材料）

・完全DMEM-F12：DMEM/F12（粉末、1：1、グルタミンおよびピリドキシンヒドロクロリドを含有する）を、Invitrogen Life Technologies（Carlsbad, CA）から購入した。1lの緩衝液を調製するのに十分な粉末および2.43gの重炭酸ナトリウムを、950mlの組織培養グレードの水に混合した。pHを、1MのHClで7.2に調整し、そして残りに水を加えて1lにした。滅菌濾過のNotti、10mlの100×ペニシリン/ストレプトマイシン、2.5mlの4mg/ml トランスフェリン、250μlの4mg/ml インシュリンおよび30.7mgのプロモデオキシウリジンを添加し、そしてこの混合物を、使用前に、37℃でインキュベートした。

30

【0372】

・DMEM中1mMのグルコースを、L-グルタミンも、グルコースも、ピルビン酸ナトリウムも含まないDMEM（Invitrogen Life Technologiesから購入）から作製した。

【0373】

・20μM Fluor-4：Fluor-4の細胞永続性AMエステルを、Molecular Probes（Eugene, OR）から、-20℃で保存された乾燥粉末として得た。この蛍光色素は、感光性であり、そして光分解を防止するために、使用前にDMSSO中1mMに入れ替えるべきである。

40

【0374】

・10mM CaCl₂ 溶液を、毎日、1×HBSS中に入れ替え、そして使用前に37℃でインキュベートした。新生児心筋細胞を、上記のようにして単離した。この心筋細胞を、96ウェルフォーマットで、 7.5×10^4 /ウェルでプレーティングし（黒色の透明な底のプレート）、そしてアッセイで使用する前に、5% FBSの存在下で、2日間増殖させた。

【0375】

生理学的な虚血を、1mMグルコースを含有するDMEM中で、嫌気性チャンバー（0% O₂、85% N₂、5% CO₂ および10% H₂）内に心筋細胞を配置するこ

50

とによってシミュレートした。ポジティブコントロール細胞を、25 mMのグルコースを含有するDMEM-F12で処理し、この処理は低酸素に対して保護する。

【0376】

試験化合物を、96ディープウェルのマザープレート中にてDMEM (1 mM) グルコース中で作製し、そしてアッセイに使用するために適切に希釈した。この培地を細胞から除去し、そして試験化合物を含むか含まない、200 μ lのDMEM-F12または1 mM DMEMのいずれかで置換した。その後、プレートを、嫌気性チャンバ中にある37°Cインキュベーターの内側に配置し、16時間インキュベートした。次いで、このプレートを除去し、そして予め温めた5% FBSを含有するDMEM-F12の添加によって再酸素負荷した。低酸素処理は細胞に損傷を与え得、そして／または細胞を殺し得るので、培地の穏やかな吸引によってウェルの下部から細胞を取り除くことが、この工程で必要である。次いで、この細胞を、37°Cにて通常のインキュベーターに配置し、そして2時間インキュベートし、細胞に再酸素負荷した。

10

【0377】

20 μ M Fluo-4の作業溶液を、予め温めた1 $\times$ HBSSに添加した。まず細胞から培地を除去し、そして100 μ lの20 μ M Fluo-4で置換することによってこの細胞にFluo-4をロードした。ロードされていないコントロール細胞を、並行して1 $\times$ HBSS単独で処理した。次いで、全細胞を37°Cで30分間インキュベートした。蛍光測定を行う前に、全ての細胞を、指示薬を含まない培地 (HBSS) 中で洗浄し、細胞表面で非特異的に会合している全ての染料を除去した。次いで、細胞を室温でさらに20分間インキュベートした。基礎のFluo-4蛍光を、マイクロプレート蛍光計 (FluoriskanTM, Thermo Labsystems Oy, Helsinki, Finland) で、485 nm励起フィルターと538 nm発光フィルターの対を使用して測定する。各ウェルを、ベースライン読み取りを得るために160ミリ秒間読み、次に、10 mM CaCl₂の添加によって接触するように刺激した。37°Cにて30分間インキュベートした後、刺激された蛍光読み取りを、90分後に行った。

20

【0378】

上記のように試験した場合、以下のような本発明の化合物は、量的なカルシウム過渡応答 (calcium transients) の存在 (約30%以上) を示した。この存在は、虚血性損傷に対して保護する能力および細胞に細胞の収縮性機能を維持させる能力を示す：

30

・ 3-[3-(2-カルボキシーピロリジン-1-イル)-2-メチル-3-オキソプロピルスルファニル (propylidulfanyl)]-2-[3-(2-カルボキシーピロリジン-1-イル)-2-メチル-3-オキソプロピルスルファニルメチル]-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-(5-メトキシ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-メトキシ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-(5-クロロベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-クロロベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

40

・ 4-ヒドロキシ-3-(5-ニトロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-ニトロ-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-(5-アミノ-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニル)-2-(5-アミノ-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-(5-アミノ[1, 3, 4]チアジアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5

50

ーアミノー [1, 3, 4] チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
・3-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル)-2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【0379】

(実施例37)

(大脳虚血のラット中大脳動脈閉塞(MCAO)のモデル)

(A. 動物の準備)

体重300~350gの雄Wistarラット(Harlan, IN)を、これらの実験に一般的に使用する。動物が、標準の研究室条件下で、水および市販されるげっ歯類用食物を自由に入手できるようにする。室温を20~23℃で維持し、そして部屋の照明は12/12時間の明/暗サイクルである。動物を研究前の5~7日間研究室環境に順応させ、そして手術の前の一晚絶食させる(水は自由に飲める)

(B. 中大脳動脈閉塞(MCAO))

麻酔を0.8%酸素中の3.0%イソフルラン(Aerrane, Front Dodge, IA)の吸入によって維持する。手術の前に、動物の首を剃毛し、そして滅菌した。体温を外部の加熱冷却デバイスを介して37.5℃+/-1℃でコントロールし、維持した。体温をより低くするために、循環空気を冷やすために氷を使用する冷却チャンバーに動物を配置する。研究の間中、体温をラットの肩甲骨の間に、MCAOの時に皮下に移植された温度トランスポンダー(BMDS Inc., Seaford, DL)を使用して記録する。この温度トランスポンダーは、使用者がポケットスキナ(BMDS Inc., Seaford, DL)を介して体温を読み取るのを可能にする。体温はまた、動物の直腸へ温度プローブを挿入することによって測定し得る。体温を、閉塞後の6時間、1時間毎に読み取るが、温度を動物の適温に維持し得るために頻繁に測定する。

【0380】

動物を、以下のように改変された腔内フィラメント技術(intraluminal filament technique)を使用して2時間のMCAOに供した。首の腹側部上にて正中切開をなし、外頸動脈および内頸動脈を曝す。右外頸動脈および総頸動脈を、縫合糸に(絹5/0, Carlisle Laboratories, Farmers Branch, TX)よって結紮し、そして右内動脈を、微小血管クリップ(Fine Science Tool Inc., Foster City, CA)を使用して一時的に結紮する。小さな切開を総頸動脈にてなした。ナイロンフィラメント(その先端は加熱によって丸くされている)を、釣り糸(Stren Fishing Lines, Wilmington, DE)から調製し、そして右総頸動脈から挿入する。フィラメントを、内頸動脈および外頸動脈の分岐点から18~20mmにて内頸動脈の中に進行させ、そして縫合糸を、フィラメントの周りで密接に結紮する。閉塞の2時間後、動物を再麻酔し、フィラメントの除去により実験の残りのための再灌流を可能にする。

【0381】

(C. 薬物投与)

試験化合物を、任意の多数の経路(例えば、下記のようなもの)によって投与し得る。プロトコルに適切なように、閉塞の前、最中または後に、化合物を、投与し得る。

【0382】

(a) 脳室内(ICV)注入)

麻酔した動物を、定位装置(Harvard Apparatus, S. Natick, MA)上に配置する。全ての手順の間、0.8%酸素中の3.0%イソフルラン(Aerrane, Front Dodge, IA)の吸入によって、麻酔を維持する。手術の前に、頭皮を剃毛しそして滅菌する。約3cmの長さの正中矢状切開を、目のわずかな後側でなし、頭蓋骨を曝す。頭蓋骨を端部の丸いスパチュラでこすり、骨膜結合性組織を取り除く。バーの穴を、プレグマの左側から1.5mm外側、1mm後側に配置し、左側脳

室を標識する。脳注入カニューレ (ALZET-Co., Palo Alto, CA) を、この穴へと 4 mm の深さで挿入する。所望の深さを、カニューレにスペーサーで取り付けることにより調節する。4 cm のシラシックカテーテル (Helix Medical Inc., Carpinteria, CA) に取りつけたカニューレを、歯科用セメント (Ketac-cement, Norristown, PA) を用いて適所に固定する。カテーテルを、持続的注入のための肩甲骨の間の皮下に配置した準備された浸透圧ポンプか、短い注入のためのシリンジのいずれかに取り付ける。

【0383】

(b) 頸静脈への静脈内 (IV) 浸透圧ポンプ移植)

全ての手順の間、0.8%酸素中の3.0%イソフルラン (Aerrane, Front Dodge, IA) の吸入によって、麻酔を維持する。手術の前に、動物の首を剃毛し、そして滅菌する。正中切開を首の腹側部でなし、頸静脈を曝す。静脈を分離し、そして切開点に対して吻側を縫合糸 (絹5/0, Carlisle Laboratories, Farmers Branch, TX) で結紮し、そして微小血管クリップ (Fine Science Tool Inc., Foster City, CA) を、心臓の近くに配置する。小さな切開を、2つの結紮の間でなす。ALZET (Alzet Co., Palo Alto, CA) ポンプに接続したPE-60管 (Becton Dickinson and Co. Sparks, MD) に取りつけた2cmシラシックカテーテル (Helix Medical Inc.) を導入し、心臓に向かって頸静脈中に2mm進行させる。微小血管クリップを取り除き、そしてカテーテルを縫合糸 (絹5/0, Carlisle Laboratories, Farmers Branch, TX) で適所に固定する。ポンプを、肩甲骨の間の皮下に作成されたポケットに配置し、カテーテルが、首および頭の自由な移動を可能にするに十分な緩さで頸静脈に首を越えて到達するようにする。

【0384】

(c) 大腿静脈を介するIV注入)

全ての手順の間、0.8%酸素中の3.0%イソフルラン (Aerrane, Front Dodge, IA) の吸入によって、麻酔を維持する。手術の前に、右側大腿静脈の外部部位を剃毛し、そして滅菌する。3cmの切開を右側の単径部領域になし、そして大腿静脈を分離する。小さい切開を大腿静脈上になし、微小血管クリップで一時的に結紮し、ポリエチレン (PE-50) カテーテル (Becton Dickinson and Co. Sparks, MD) を導入し、そして前進させる。カテーテルを、縫合糸 (絹5/0, Carlisle Laboratories, Farmers Branch, TX) で適所に固定する。カテーテルの他の端部を、ボーラス注射のためのヘパリン処理生理食塩水で満たしたシリンジに結合する。ボーラス注射または浸透圧ポンプによる連続注射のいずれかのために、首の項部での摘出点までPEカテーテルを持ち上げ得るために、止血物質を使用して、ポケットを動物の背中の皮下に作製する。

【0385】

(d) 腹腔内 (IP) 注射)

覚醒しているラットを、標準な手保持位置 (hand hold position) に維持し、23/4 G ニードルを、正中からわずかに離れて、腹膜を過ぎて腹部の下部右側4分の1へ注射する。器官注射を避けるために、シリンジのプランジャーをわずかに引き戻す。流体が引き戻されない場合、シリンジの内容物を腹腔へと送達する。

【0386】

(e) 栄養補給)

標準のラット栄養チューブ (Popper & Sons Inc., NY) を、3ccの皮下シリンジに結合する。動物を垂直な位置に肩で保持する。栄養補給チューブを口に配置し、次いでそのチューブが胃に到達するまで前進させる (チューブのおよその挿入長さは、栄養補給の前に測定した)。シリンジの内容物をゆっくり送達し、次いでチューブを引き戻す。

【0387】

(D. 挙動評価)

MCAOの1時間後、動物を尾で穏やかに保持し、そして前肢屈曲について観察した。次いで、動物を床に配置し、歩行パターンを観察する；Bederson格付けシステム（表1）でスコア3である動物のみを、この研究に含む。

【0388】

(表1 神経学的評価のためのBederson格付けシステム)

【0389】

【表1】

神経学的欠損	格付け	行動の観察
正常	グレード0	観察可能な欠損なし
中程度	グレード1	前脚の曲げ
重篤	グレード2	前脚の曲げ、側方への押しに対する抵抗力の減少
	グレード3	前脚の曲げ、側方への押しに対する抵抗力の減少、麻痺部位への循環

10

(E. 虚血損傷の評価)

いくつかの実験においてMCAOの24時間後、またはより長い時間後、動物をCO₂窒息（ドライアイス）によって屠殺する。標準の手段を使用して、脳を頭蓋骨からすばやく取りだし、冷却した生理食塩水溶液でリンスし、そしてラット脳組織スライサー（AS I n s t r u m e n t , M I）上に配置した。2mmの厚さの7つの冠状切片を、剃刀の刃を使用して各脳から切り出す。これらの切片を、1.0%の塩化2,3,5-トリフェニルテトラゾリウム（t r i p h e n y l t e t r a z o l u m e）（TTC）（S i g m a C h e m i c a l C o . , S t . L o u i s , M O）を含有する0.9%生理食塩水中に浸し、そして37℃の水浴中で、30分間インキュベートした。

20

【0390】

染色後、各2mm切片を、TMC-7カメラ（JH T e c h n o l o g i e s , C a）（これは、デスクトップPCに直接接続され、そして各脳切片の画像を取り込まれ、保存される）を用いて撮影する。この画像を、コンピューターベースの画像処理システム（M e t a m o r p h）を使用して、目的の領域の測定のために使用する。

【0391】

各面積の測定のために、目的の領域をフリーハンド選択ツールを使用して選択し、面積を測定コマンドを選択することによって自動的に計算する。目的の主な領域についての測定は、右半球、左半球、総梗塞、皮質下梗塞、総半影および皮質下半影である。目的の全ての領域を脳の7つ全ての切片について測定した後、E x c e lTM マクロを使用して、切片の番号および目的の対応する領域によって分類する。このマクロはまた、皮質の半影、皮質の梗塞および総虚血損傷を各切片について計算する；各ラットの脳の対応する面積）を一緒にし、各面積についての単一の測定を生成する。同側の半球は、MCAOの後、腫張するので、水腫体積を計算し、各脳切片の右半球と左半球との間の体積測定の差異として報告する。腫張する半球%を使用して、全体積を水腫について校正する。

30

【0392】

各ラットの脳について以下の計算を使用して、損傷体積を測定する。

40

【0393】

【表 2】

測定	式	校正した値
皮質半影 (C.P.)	全半影－皮質下半影	全半影(T. P. _{corr})=(T. P. ×%H. S. /100) C.P. _{corr} =C.P. -(C.P. ×%HS./100) S.P. _{corr} =S.P. -(S.P. ×%HS./100)
皮質梗塞	全梗塞－皮質下梗塞	T.I. _{corr} =T.I. -(T.I. ×%HS./100) S.I. _{corr} =S.I. -(S.I. ×%HS./100) C.I. _{corr} =C.I. -(C.I. ×%HS./100)
全虚血損傷 (T.I.D.)	全半影＋全梗塞	T.I.D. _{corr} =T.I.D. -(T.I.D. ×%HS./100)
全容量(mm ³)	格値に、2(組織の厚み)を掛ける。	
水腫容量	右半球の合計と左半球の合計との間の容量の差が、水腫容量を決定する。	
%半球膨潤 (HS.)	水腫×100/左半球	

10

(F. 統計的分析)

サンプルの大きさを、有意な結果の90%の可能性を達成するように選択する。各ラットの脳の7つの切片中で目的の同じ領域を示す測定値を一緒にし、各動物における総梗塞、皮質下梗塞、皮質梗塞、総半影、皮質下半影、皮質半影、総虚血損傷および水腫についての単一の測定値を得る。グループデータを、平均±平均値標準誤差として示す。p<0.05のレベルの差異を、統計的に有意であるとみなす。グループの間で、目的の各領域の比較を、片側スチューデントt検定(2つのグループの間)または一方向ANOVAにより、次いでBonferroniの複数比較あるいは非母数Dunnett試験(コントロールグループと薬物処理グループの間)によって行う。

20

【0394】

上記のように試験した場合、以下のような本発明の化合物は、1kgあたり約10μg～約40mgの範囲の用量で、総梗塞体積の少なくとも約40%の減少を提供した：

(実施例38)

(心筋感染のモデル：左冠状動脈の結紮(ラット))

体重250～320gの雄性Sprague-Dawleyを、標準的な実験室条件下で、水および市販のげっ歯類用食餌を自由に取れるようにする。室温を、20～23℃に維持し、そして室内照明を、12/12時間の明/暗サイクルに設定する。動物を、研究の5～7日前に研究室環境に順応させ、そして手術の前に一晩絶食させる。

【0395】

30

(急性実験のための外科的手順)

ラットを、ウレタン(1.2～1.5gm/kg)で麻酔する。中心体温を、加熱ブランケットを使用することによって、37℃に維持する。手術領域を、剃毛し、そして腹側正中切開を行って、気管および頸静脈領域を露出する。カテーテル(PE50)を、化合物の投与および麻酔の維持のために、頸静脈中に配置する。気管を切開し、そして14～16ゲージの改変静脈内カテーテルを挿入し、気管内チューブとして適所に結びつける。この動物を、右横臥位にし、そして最初に5～10ml/kgの一回呼吸気量を有するHarvard人工呼吸器を取り付ける。100%O₂を、この人工呼吸器によってこの動物に送達する。ECG電極を配置して、標準リードII ECGを記録する。この手術部位をアルコール綿棒で清潔にし、皮膚切開を、第4～第5肋間隙にわたり肋骨部で行う。下にある筋肉を、外側胸静脈を避けるよう慎重に解剖して、肋間筋肉を露出する。胸腔を、第4～第5肋間隙を通して出し、そして切開部を広げて、心臓を見えるようにする。心臓を開いて、心臓を露出する。テーパ針に通した6-0シルク縫合糸を、その起点付近で左冠状動脈の周りに通し、この起点は、左心耳の挿入部から約1mmで、肺動脈円錐の左縁部と接触して位置する。チューブの一片を、この縫合糸の上に配置して、オクルダーを形成する。この冠状動脈を、抵抗力が感じられるまでこのチューブをスライドして、このチューブを血管クランプを用いて適所に保持することによって、30分間かけて塞ぐ。ECGを、虚血を示すS-T変化についてモニタリングする。30分後、このオクルダーを取り出し、縫合糸を適所に残す。ECGを、再灌流の最初の10分間、モニタリングする。このラットを、残りのプロトコルのために、圧力制御人工呼吸器に移す。これらのラ

40

50

ットを、10～15 cm H₂Oの最大吸入圧および60～110呼吸／分の呼吸数で、小動物人工呼吸器により人工呼吸する。心臓を、90分間再灌流させる。

【0396】

(24時間研究のための外科的手順)

ラットを、ケタミン／キシラジンの腹腔内注射(95および5 mg/kg)により麻酔し、そして14～16ゲージの改変静脈内カテーテルを挿管する。麻酔レベルを、トウピンチによって15分ごとにチェックする。中心体温を、加熱ブランケットを使用することによって、37℃に維持する。手術領域を、剃毛し、こすり洗いする。腹側正中切開を行って、頸静脈を露出する。カテーテル(PE50)を、化合物の投与および麻酔の維持のために、頸静脈中に配置する。この動物を、右横臥位にし、そして最初に、5～10 ml/kg H₂Oの一回呼吸気量を有する人工呼吸器または8～15 cm H₂Oの最大吸入圧および60～110呼吸／分の呼吸数を有する圧力制御人工呼吸器を取り付ける。100% O₂を、この人工呼吸器によってこの動物に送達する。ECG電極を配置して、標準リードI、II、ECGを記録する。この手術部位を、外科用綿棒およびアルコールで清潔にする。皮膚切開を、第4～第5肋間隙にわたり肋骨部で行う。下にある筋肉を、外側胸静脈を避けるよう慎重に解剖して、肋間筋肉を露出する。胸腔を、第4～第5肋間隙を通して出し、そして切開部を広げて、心臓を見えるようにする。心膜を開いて、心臓を露出する。テーパ針に通した6-0シルク縫合糸を、その起点付近で左冠状動脈の周りに通し、この起点は、左心耳の挿入部から約1 mmで、肺動脈円錐の左縁部と接触して位置する。チューブの一片を、この縫合糸の上に配置して、オクルダーを形成する。この冠状動脈を、抵抗力が感じられるまでこのチューブをスライドして、このチューブを血管クランプを用いて適所に保持することによって、30分間かけて塞ぐ。ECGを、虚血を示すS-T変化についてモニタリングする。30分後、このオクルダーを取り出し、縫合糸を適所に残す。ECGを、再灌流の最初の10分間、モニタリングする。この三層の切開部を閉じる。IVカテーテルを取り出すかまたは皮膚の下を通し、そして肩甲骨の間で外に出して、血液の排出またはさらなる薬物治療を可能にする。このラットが自力で呼吸できるようになるまで、人工呼吸する。これらのラットから管を取り外し、加熱パッドの上で回復させる。一旦目が覚めると、これらのラットをそのケージに戻す。術後の鎮痛のために、動物にブプレノルフィン(0.01～0.05 mg/kg SQ)を投与する。所定の再灌流時間(24時間)の後、これらの動物を麻酔し、そして深い麻酔をして、心臓を取り出す。

【0397】

(処置プロトコル)

(食餌)

冠状動脈の結紮の前または後に、慣習的な食餌を動物に与える。処置の長さは、研究ごとに異なる。300 g mのラットについて、1日あたり15 g mの食餌の平均消費に基づいて、用量を計算する。研究の間、ラットの体重をモニタリングする。消費されなかった食餌を計量して、消費率を見積もる。

【0398】

(栄養)

動物に、栄養を経口投与する。処置の長さおよび頻度は、研究ごとに異なる。標準的なラット栄養チューブ(Popper & Sons Inc, NY)を、3 ccの皮下注射器に取り付ける。これらの動物の肩部をつかんで垂直位置に保持する。給餌チューブを、その口に入れ、次いで、このチューブが胃に達するまで進める(このチューブの適切なおよその挿入長さは給餌の前に測定されるべきである)。この注射器の内容物を、ゆっくりと送達し、次いで、このチューブを引き抜く。

【0399】

(IV処置)

腹切開を行い、頸静脈領域を露出する。化合物の投与のために、カテーテル(PE50)を、頸静脈中に配置する。動物に、ボラス注射および／または連続注入により投与す

10

20

30

40

50

る。処置の時間および継続時間は、プロトコルごとに異なる。

【0400】

(組織処理)

再灌流の後、各動物に、200単位のヘパリン(IV)を、全身麻酔で静脈内投与し、そして心臓を取り出し、冷生理食塩水中に入れる。取り出した後、冠状動脈を、すでに適所にある縫合糸で結紮する。この心臓を、灌流装置に置き、Evans Blue色素を注入して、危険性のある領域を描写する。次いで、この心臓を、頂部から基部まで、5個の2mm厚の横断スライスに切る。これらのスライスを、0.9%生理食塩水中1%の塩化トリフェニルテトラゾリウム(TTC)(Aldrich, Milwaukee, WI)中で、37℃で20分間インキュベートする。テトラゾニウムは、デヒドロゲナーゼ酵素の存在下でNADHと反応し、生存組織を深赤色に染色し、これは梗塞した淡く染色した壊死組織から容易に区別される。染色手順のために、これらのスライスを、小さいペトリ皿のフタの中に、頂端部を下にして置く。この皿の底を、これらのスライスの上に置き、これらのスライスを平らに保つ。これらのスライスを、底側を上にして、縁から底の順で写真を撮る。梗塞組織の面積、危険性のある面積および全左心室の面積を、コンピューター画像分析システムを使用して決定する。各領域の全面積を一緒にして、心臓全体の合計を得る。梗塞の大きさを、全心室の割合および危険性のある面積の割合の両方として表す。

【0401】

(統計的分析)

群のデータを、平均+/-SEMとして表す。処置群間の比較を、ANOVAを使用して実施し、ここで $p < 0.05$ が有意であるとみなす。その後の比較を、Dunnett検定またはTukey検定のいずれかを使用して行い得る。

【0402】

本発明の化合物は、この方法により試験された場合、活性を示す。

【0403】

(実施例39)

(感覚運動挙動の評価)

(A. ラットにおける前脚および後脚の握力)

中央大脳動脈(MCA)の一過性または永久的な片側性閉塞により引き起こされる脳梗塞を有する動物、および偽手術ラットを、握力、神経筋の標準的なモデルおよび感覚運動形成について、ラット用のコンピューター握力メーター(Dual Stand Model, Columbus Instruments Columbus, OH)を使用して試験する。

【0404】

試験前の30分間、動物を試験室に移す。試験の前に、メーカーの指示書に従って、各ゲージを既知の重量の設定で校正し、装置を動物の大きさに調節する。前脚の測定を、最大に伸ばした状態でこのメーターを用いて実施し、被検動物がグリップバーから離れた場合の読み取りを停止する。後脚の測定を、最大に圧縮した様式でこのメーターを用いて実施し、被検動物の後脚がバーからメーターに向かって押された場合の読み取りを固定する。一貫した技術を使用してこのグリップバーを越えて引く場合、各動物を、研究者が手で保持し、前脚および後脚がこのグリップバーを自由に握れるようにする。

【0405】

試験を、盲目的な無作為様式で、手術後2日で実施し、一週間に2回、所定の間隔で繰り返す。代表的には、データを記録し、次の試験のためにメーターの目盛りをゼロにするのに十分長い試験間隔で、3個の首尾良い読み取りを各動物について得る。

【0406】

(B. ラットにおけるローターロッド試験)

(装置)

ラット用のRotarod Treadmill(7750 Accelerati

ng Model, UGO BASILE, COMERIO-ITALY製)。

【0407】

(手順)

中央大脳動脈(MCA)の一過性または永久的な片側性閉塞により引き起こされる脳梗塞を有する動物、および偽手術ラットを、ラット用のRota-Rod Treadmill(7750 Accelerating Model, UGO Basile, Comerio, Italy)を使用して、この研究において試験する。これらの動物を、試験の30分前に試験室に移す。試験の前に、全てのラットは、2~3時間の間隔で、1~2分のトレーニングランを2~3回受ける。

【0408】

装置上のシリンダーを、ラットを適所に配置する前に、作動させる。モーターを、RESETモードで、7700の一定の選択速度に設定し、そしてラットをそのセクションに一匹ずつ置く。

【0409】

試験を、盲目的な無作為様式で、手術後2日で実施し、一週間に2回、所定の間隔で繰り返す。代表的には、データを記録し、次の試験のためにメーターの目盛りをゼロにするのに十分長い試験間隔で、3個の首尾良い読み取りを各動物について得る。

【0410】

本発明の化合物は、この方法で試験され得る。

【0411】

(実施例40)

(うっ血性心不全のモデル)

(実験準備)

225~275gの雄性Sprague-Dawleyラットを、ケタミン/キシラジン(95mg/kgおよび5mg/kg)で麻酔し、そして14~16ゲージの改変静脈内カテーテルを挿管する。身体中心温度(core body temperature)を、加熱ブランケットを使用することによって、37℃に維持する。この手術領域を、クリップ止めし、こすり、そしてこの動物を、右横臥位にし、そして最初に10~15cm H₂Oのピーク吸気圧力および60~110呼吸/分の呼吸数を有する人工呼吸器を取り付ける。100%O₂を、この人工呼吸器によってこの動物に送達する。ECG電極を配置して、標準リードII ECGを記録する。切開を、第4~第5肋間隙にわたり胸郭で行う。下にある筋肉を、外側胸静脈を避けるよう慎重に解剖して、肋間筋肉を露出する。胸腔を、第4~第5肋間隙を通して入り、そして切開部を広げて、心臓を見えるようにする。心膜を開いて、心臓を露出する。

【0412】

テーパ針に通した6-0シルク縫合糸を、その起点付近で左冠状動脈の周りに通し、この起点は、左心耳の挿入部から約1mmである。冠状動脈を、縫合糸をこの動脈の周りに結ぶことによって塞ぐ。ECGを、虚血を示すS-T変化についてモニタリングする。この動物が心室性細動を発症した場合、穏やかな心臓マッサージを使用して、この動物を正常な拍動に変える。偽操作コントロールを、同じ手順に供するが、縫合糸は結ばない。切開部を三層で閉じる。感染した動物または瀕死の動物は、研究から排除する。

【0413】

手術の4週間後、動物を麻酔し、そしてカテーテルを右頸動脈に配置し、そして血流力学的測定のために、左心室まで進める。圧力トレース記録し、そして心拍数、左心室の収縮期血圧および拡張期血圧、左心室の展開時血圧、ならびにdP/dt最大値および最小値について分析する。測定を行った後、2mlの血液を取り、血清チューブおよび血漿チューブに入れる。心臓を取り出し、そしてLangendorff装置を以下のように配置する。

【0414】

(Langendorff手順)

緩衝液調製 K r e b s - H e n s e l e i t (K H) 緩衝溶液 (N a C l 118 m m o l / L、K C l 4.7 m m o l / L、M g S O 4 1.2 m m o l / L、K H P O 4 1.2 m m o l / L、グルコース 11 m m o l / L、N a H C O 3 25 m m o l / L、および C a C l 2 2.5 m m o l / L (S i g m a) を含む) を、N a n o p u r e 発熱物質を含まない水を使用して、毎日新たに作製した。

【0415】

動物は、200 単位のヘパリンを受容し、胸部を開き、心臓を素早く切り出し、氷冷 K H 緩衝溶液中においた。心臓の収縮活性が完全に止んだ後に、心臓を切り取り、そして上行大動脈を結合組織から取り除く。心臓を、素早く秤量し、次いで、大動脈にカニユーレを挿入し、そして心臓を、非再循環 L a n g e n d o r f f 灌流装置に取り付ける (R a d n o t i G l a s s T e c h n o l o g y, I n c., M o n r o v i a, C A) 10
。心臓を、95% O₂ および 5% C O₂ で酸素付加した K H 緩衝溶液を用いて、大動脈を介して、逆行様式で灌流して、37℃で pH 7.4 を維持する。収縮機能を評価するために、ラテックスバルーンを、僧帽弁口を通して左心室に挿入し、そして剛性のポリエチレンチュービングによって、圧力変換器に接続する。バルーンを水を用いて、1~10 mm H g の左心室最終拡張圧力 (L V E D P) まで、膨張させる。流速は、12 ml / 分で開始し、そして 65 mm H g と 75 mm H g との間の灌流圧力を得るために、ベースラインの最初の 15 分間の間、調節される。ベースラインについての標的パラメーターは、以下の通りである：灌流圧力 65~75 mm H g ; L V E D P 10 mm H g。

【0416】

心臓を 15 分間安定化させる。この時間の後、機能的測定を行い、この後、圧力容積曲線を、バルーンの容積を 0.05 ml の増分で調節し、そして心室圧力を記録することによって作製する。左心室収縮期圧力 (L V S P)、左心室および拡張期圧力 (L V E D P)、左心室展開時 (d e v e l o p e d) 圧力 (L V D P)、左心室圧力の上昇および降下の一次導関数 (d p / d t 最大、d p / d t 最小)、灌流圧力および心拍数を、コンピューター化したデータ獲得システムを使用して、自動的に記録する。 20

【0417】

(他の測定)

除去後、心臓、肺および肝臓を秤量した。肺および肝臓を計量し、湿潤 対 乾燥の比を決定するために、一晚乾燥させる。 30

【0418】

L a n g e n d o r f f 手順の完了後、心臓を、冷生理食塩水に入れて、拍動を止め、次いで頂部から基部へと 5 つの 2 mm の厚みの横断スライスに切断する。スライス # 3 を、0.9% 生理食塩水中 1% のトリフェニルテトラゾリウムクロリド (T T C) において、37℃で 20 分間インキュベートする。テトラゾニウムは、デヒドロゲナーゼ酵素の存在下で N A D H と反応し、生存組織を深赤色に染色し、これは梗塞した淡く染色していない壊死組織から容易に区別される。染色手順のために、このスライスを、小さいペトリ皿のフタの中に、頂端部を下にして置く。この皿の底を、このスライスの上に置き、これらのスライスを平らに保つ。次いで、このスライスを写真撮影し、そして梗塞した組織、左心室および右心室の面積を、コンピューター画像分析システムを使用して決定する。梗塞の大きさを、全心室の割合として表す。左心室および右心室の全面積を測定する。残りの部分は、右心室および左心室に分けて、チオバルビツール反応性物質 (T B A R S) およびグルタチオンアッセイのために凍結する。 40

【0419】

(処理プロトコール)

偽操作群およびコントロール群に対して処理を与えない。

【0420】

(C H F 研究についての測定)

インビボ測定は、心拍数 (H R)、左心室の収縮期血圧 (L V S P)、左心室最終拡張期血圧 (L V E D P)、d P / d t の最小値および最大値、右心室収縮期圧力 (R V S P 50

）、右心室拡張期圧力（RVDP）、および右心室最終拡張期圧力（RVEDP）、ならびに全体重から構成される。エキソビボ測定は、HR、LVSP、LVEDP、dP/dtの最小値および最大値、ならびに圧力容積曲線から構成される。心臓重量、梗塞サイズ、グルタチオンペルオキシダーゼ（GPX）、カタラーゼ、チオバルビツール反応性物質（TBARS）、グルタチオン比（GSH/GSSG）、肺および肝臓の湿潤重量 対乾燥重量の比、血清イソプロスタノールおよびインターロイキン-6（IL-6）が、エキソビボでも測定される。

【0421】

本発明の化合物は、この方法によって試験され得る。

【0422】

（実施例41）

（インターロイキン-1 β ミクログリア細胞アッセイ）

（材料および装置）

A. 細胞調製および実験のための材料

—マウスミクログリア細胞株

—DMEM高グルコース培地（Gibco Catalog #11965-092）

—FBS（Hyclone Catalog #SH30070.03）

—100 $\times$ ペニシリン/ストレプトマイシン（Gibco Catalog #15140-122）

—LPS（Sigma Catalog #L2537）

—インターフェロン- γ （Sigma Catalog #14777）

—Cell Tracker Green（Molecular Probes Catalog #C2925）

—HBSS緩衝液（950ml 発熱物質を含まない水，2.44g/L MgCl₂·6H₂O，3.73g/L KCl，59.58g/L Hepes，58.44g/L NaCl，1.36g/L KH₂PO₄，1.91g/L CaCl₂·2H₂OおよびHClを用いてpH4.5まで）

—ポリ-D-リジンでプレコートした滅菌96-ウェルプレート（Corning Catalog #3665）

—96-ウェルディープウェルマザープレート、DyNA Block 1000（VWR Catalog #40002-008）。 30

【0423】

B. IL-1 β Elisaについての材料

—マウスIL-1 β Duo Set（R & D Systems Catalog #DY401）

—基質溶液（R & D Systems Catalog #DY 999）

—ウシ血清アルブミン画分V（BSA V）（Sigma Catalog #A4503）

—96-ウェルCostar EIA高結合プレート（VWR Catalog #29442-302） 40

—プレートシール（VWR Catalog #29442-310）

—PBS（Irvine Scientific Catalog #9240）

—細胞培養等級水（Irvine Scientific Catalog #9312）

—Tween 20（Sigma Catalog #P 1379）

—スクロース（Sigma Catalog #S 7903）

—アジ化ナトリウム（Sigma Catalog #S 8032）

—H₂SO₄ 5N（VWR Catalog #JT 5691-2）。 50

【0424】

（実験調製および手順）

（LPS活性化）

マウスミクログリア細胞を、ポリ-D-リジンコーティング96ウェルプレートに、10,000細胞/ウェルの密度で、播種し、そして24時間結合させた。細胞を、試験物品の存在下または非存在下で、LPS (10 g/ml) およびIFN γ (10 ng/ml) の添加によって刺激した。次いで、細胞を24時間37℃で、インキュベートし、その後、培地を除去し、そして以下に記載されるように、サイトカイン決定のために使用した。

【0425】

(細胞生存度)

試験物品への曝露後、マウスミクログリア細胞の生存度を、蛍光生存度色素、Cell Tracker Greenを使用して、決定した。Cell Tracker Greenを、1×HBSS中の5 μ Mの作業濃度で使用した。細胞を、HBSS (200 μ l/ウェル) で一度洗浄し、そして100 μ lのCell Tracker Greenを各ウェルに添加した。次いで、細胞を37℃で30分間インキュベートし、その後、Cell Trackerを除去し、そして細胞をHBSS (200 μ l/ウェル) で一度洗浄した。100 μ lの新鮮なHBSSを、各ウェルに添加し、そしてプレートをFluoroskanプレートリーダーで、485 nmの励起波長および538 nmの放射波長を使用して、読んだ。

【0426】

(マウス IL-1 β ELISA)

溶液

洗浄緩衝液: PBS 1 L + 500 μ l Tween 20 (最終0.05%) pH 7.2-7.4。

ブロッキング緩衝液: 500 ml PBS + 5 g BSA V (1%) + 25 g スクロース (5%) + 0.25 g アジ化ナトリウム (0.05%)。

試薬希釈液: 500 ml PBS + 5 g BSA V (1%) pH 7.2-7.4、そしてフィルターは、0.2 μ mを通して滅菌する。

停止溶液: 2 N 硫酸。

【0427】

Duo Set 調製:

1. IL-1 β 捕捉抗体を、1 ml の PBS で再構成して、最終濃度の720 μ g/mlを得、そして作業濃度は、4 μ g/mlであった。1つの96ウェルプレート (100 μ l/ウェル) をコーティングするために、56 μ lの720 μ g/mlストックを10 mlのPBSに希釈した。

2. IL-1 β 標準を、0.5 mlの試薬希釈液 (70 ng/ml) で再構成した。高標準の1 ng/ml (各々100 μ l + セリン希釈に十分な2ウェル) のために、7.1 μ lの70 ng/mlの標準を、0.5 mlの試薬希釈液に希釈した。

3. IL-1 β 検出抗体を、1 mlの試薬希釈液で再構成して、最終濃度の18 μ g/mlを得、そして作業濃度は、100 ng/mlである。1つの96ウェルプレート (100 μ l/ウェル) について、56 μ lの18 μ g/mlストックを、10 mlの試薬希釈液に希釈した。

【0428】

(IL-1 β ELISA 手順)

プレート調製:

1. Costar EIA Hi 結合プレートを、捕捉抗体で、4 μ g/mlで、コーティングした。各ウェルを100 μ lでコーティングし、そしてプレートをシールし、そして室温で一晩インキュベートした。

2. 各ウェルを吸引し、そして洗浄緩衝液で3回洗浄した。各ウェルを頂上まで満たし、分配し、そして任意の残りの緩衝液を、プレートを反転させることによって除去し、そしてきれいなペーパータオルに穏やかに吸い取らせて除去した。

3. 非特異的結合部位を、300 μ lのブロック緩衝液を各ウェルに添加することによ

て、ブロックし、そしてシール後、室温で少なくとも1時間インキュベートした。

4. 洗浄後、プレートをここで、サンプルのために準備した。

【0429】

アッセイ手順：

5. 100 μ l の標準またはサンプルのいずれかを、捕捉コーティングされかつプレブロックされたプレートの各ウェルに添加した。プレートをシールし、そして2時間室温でインキュベートし、続いて、工程2のように洗浄した。

6. 100 μ l の検出抗体 (100 ng/ml) を各ウェルに添加した。

7. プレートをシールし、そして室温で2時間インキュベートし、続いて、工程2のように洗浄した。

8. 100 μ l のストレプトアビジン-HRP の作業希釈液を添加し、そしてプレートをシールし、そして暗所室温で、20分間インキュベートし、続いて、工程2のように洗浄した。

9. 新たな基質溶液を、呈色試薬A (H_2O_2) および呈色試薬B (テトラメチルベンジジン) を、1:1の比で混合することによって、調製した。100 μ l のこの基質溶液混合物を、各ウェルに添加し、そしてプレートを暗所室温で、20分間インキュベートした。

10. 50 μ l の停止溶液を、各ウェルに添加し、穏やかにたたく (tapping) ことによって混合を確実にした。

11. 各プレートを、Spectramaxで1回、450nmで読んだ。

【0430】

(結果)

上記のように試験した場合、本発明の化合物は、例えば、以下は、20 μ M以下のEC₅₀でIL-1 β 誘導を阻害した：

・ 3-(2-クロロ-4-フルオロ-フェニルスルファニル)-2-(2-クロロ-4-フルオロ-フェニルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-(4-フルオロ-ベンジルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-5H-フラン-2,2-ジカルボン酸ジエチルエステル；

・ 4-(ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル)-5-(ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニルメチル)-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン；

・ 3-(2-クロロ-6-フルオロ-ベンジルスルファニル)-2-(2-クロロ-6-フルオロ-ベンジルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-(5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-メトキシ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-(2,4-ジクロロ-ベンジルスルファニル)-2-(2,4-ジクロロ-ベンジルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 2-(ベンゾチアゾール-2-スルフィニルメチル)-3-(ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 4-ヒドロキシ-3-(6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル)-2-(6-ニトロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

・ 3-(フラン-2-イルメタンスルフィニル)-2-(フラン-2-イルメタンスルフィニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；

10

20

30

40

50

- ・ 3 - (ベンゾオキサゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸メチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ-3 - [4 - (2-メトキシカルボニル-ビニル) - フェニルスルファニル] - 2 - [4 - (2-メトキシカルボニル-ビニル) - フェニルスルファニルメチル] - 5 - オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (フラン-2-イルメチルスルファニル) - 2 - (フラン-2-イルメチルスルファニルメチル) - 4 - イソブチリルオキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - (2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ) - 3 - (フラン-2-イルメチルスルファニル) - 2 - (フラン-2-イルメチルスルファニルメチル) - 5 - オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; 10
- ・ 4 - (2, 2-ジメチル-プロピオニルオキシ) - 3 - エトキシカルボニルメチルスルファニル-2-エトキシカルボニルメチルスルファニルメチル-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-3 - (4-フェニル-チアゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (4-フェニル-チアゾール-2-イルスルファニルメチル) - 2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (フラン-2-イルメチルスルファニル) - 2 - (フラン-2-イルメチルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; 20
- ・ 3 - ブチルスルファニル-2-ブチルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ-3 - (4-メトキシ-ベンジルスルファニル) - 2 - (4-メトキシ-ベンジルスルファニルメチル) - 5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - ベンジルスルファニル-2-ベンジルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 2 - (1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - エトキシ-3 - (1-エチル-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル) - 5 - オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; 30
- ・ 3 - (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-3 - (1-オキシ-ピリジン-2-イルスルファニル) - 2 - (1-オキシ-ピリジン-2-イルスルファニルメチル) - 2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-3 - (4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニル) - 2 - (4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル) - 2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル; 40
- ・ 4 - ヒドロキシ-3 - (4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニル) - 2 - (4-メチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル) - 5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-3 - (ピリミジン-2-イルスルファニル) - 2 - (ピリミジン-2-イルスルファニルメチル) - 2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;
- ・ 3 - (ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニル) - 2 - (ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニルメチル) - 4 - ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン 50

－ 2 － カルボン酸エチルエステル；

・ 3 － シクロヘキシルスルファニル－ 2 － シクロヘキシルスルファニルメチル－ 4 － ヒドロキシ－ 5 － オキソ－ 2, 5 － ジヒドロフラン－ 2 － カルボン酸エチルエステル。

【 0 4 3 1 】

(実施例 4 2)

(ラット脚水腫アッセイ)

(動物調製)

175 ～ 200 g の体重の雄性 Sprague-Dawley ラットを、この研究で使用する。動物を、標準的な実験室条件下で、水および市販のげっ歯類用食餌を自由に取れるようにする。室温を、20 ～ 23 °C に維持し、そして室内照明を、12 / 12 時間の明 / 暗サイクルで設定する。動物を、研究の 5 ～ 7 日前に実験室環境に順応させる。 10

【 0 4 3 2 】

(実験手順)

ビヒクル、基準物質または試験物質を、カラゲナン注射の 1 時間前に投与することによって、各動物を以下のように処置する：

(大腿静脈を介する I . V . 注射)

麻酔を、酸素中 3 . 0 % のイソフルラン (Aerlane, Front Dodge, IA) の吸入によって、この手順全体にわたって維持する。手術の前に、右大腿静脈の外側部位を、剃毛し、そして消毒する。右鼠径部領域を 3 cm 切開し、そして大腿静脈を単離する。この大腿静脈を、微小血管クリップで一時的に結紮し、この大腿静脈上に小さな切開部を作成して、ポリエチレン (PE-50) カテーテル (Becton . Dickinson and Co . , Sparks, MD) を導入し、進める。このカテーテルを、縫合糸 (シルク 5 / 0, Carlisle Laboratories, Farmers Branch, TX) で適所に固定する。このカテーテルの他方の端部を、ボーラス注射のための生理食塩水で満たした注射器に取り付ける。止血剤を使用して、動物の背部の皮下に、ポケットを作成し、その結果、PE カテーテルは、ボーラス注射または浸透圧ポンプによる連続的な注射のいずれかのために、肩甲骨の間の体外点まで挿入され得る。 20

【 0 4 3 3 】

(I . P . 注射)

目覚めたラットを、標準的な手掴み位置に保持する。23 3 / 4 G 針を、腹部の右下 4 分の 1 に、腹膜の中央からわずかに離れた場所を通して注射する。臓器注射を回避するために、注射器のプランジャーをわずかに引き戻す。流体が排出されない場合、この注射器の内容物は、腹腔中に送達される。 30

【 0 4 3 4 】

(栄養供給)

標準的なラット栄養補給チューブ (Popper & Sons Inc, NY) を、3 cc の皮下注射器に取り付ける。この動物を、垂直位置に保持する。給餌チューブを、口に入れ、次いで、このチューブが胃に達するまで徐々に進める (このチューブの適切な挿入長さは、給餌前に測定されるべきである) 。この注射器の内容物を、ゆっくりと送達し、次いで、このチューブを引き抜く。 40

【 0 4 3 5 】

処置の 1 時間後、各動物を、酸素中 3 . 0 % のイソフルラン (Aerlane, Front Dodge, IA) で麻酔し、生理食塩水中 1 % のカラゲナン λ IV 型 (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) 懸濁液 (100 μ l) を、右後足の足底内表面に投与する。足水腫を、カラゲナン注射の 4 時間後に、体積測定器を使用して足容量の増加を測定することによって、または精密はかりを使用して足重量の増加を測定することによってのいずれかで測定する。水腫の測定の直前に、これらの動物を、CO₂ 窒息により安楽死させ、そして後の分析のために、500 μ l の血液を心臓穿刺によって採取する。足容量を、この足により置き換えられる、予め校正したチャン 50

バから水の程度によって決定する。左後足（コントロール）の容量を、右後足（カラゲナンで処置）の容量から引いて、カラゲナン誘導性水腫の容量を決定する。足間の重量差を測定するために、両足を切断し、別々に計量した。

【0436】

モデル間の変動を最小限にするために、以下の工程を行う：

- ・カラゲナンを、研究の前（注射の2～3時間前）に毎日新しく調製する。
- ・体積測定器を、研究の前に毎日校正する。
- ・カラゲナン注射により処置した足にかなりの出血または血腫を生じた場合、この動物をこの研究から除外する。
- ・測定の前に、各足を、脛骨足根関節で足首の周りに印をつけて、各足が同じレベルで浸 10
- ・容量の読み取りを繰り返す必要がある場合、この足は完全に乾かされなければならない。

【0437】

（統計的分析）

右足と左足との間の重量または容量の差違を、分析用の動物の各々について計算する。グループデータを、平均 $\pm$ SEMとして表し、 $p < 0.05$ を有意であるとみなす。群間の比較を、独立スチューデントt検定（2つの群の間）または一方向ANOVAに続くBonferroni多重比較によって行う。

結果：本発明の特定の化合物が、この方法によって試験された場合に、活性を示した。 20

【0438】

（実施例43）

（局所アラキドン酸に対するマウス耳炎症応答）

（動物）

Balb C マウス23～28g、Simonsen Labs, Gilroy, CAから。

【0439】

（材料）

- ・アラキドン酸、純度99%、Porcine Liver (Sigma Aldrich) から、アセトン中で2mg/20 μ l (200mg/ml) で再構成される。 30
- ・吸入麻酔：イソフルラン3% (Baxter)。
- ・血液サンプルチューブ：Microtainerチューブw/ヘパリン (Becton Dickinson)。
- ・TNFa Elisaアッセイ (R&D Science)。

【0440】

（実験手順）

アセトン、エタノールまたは水性エタノールの溶液中で調製した試験化合物、ポジティブコントロール（アラキドン酸のみ）および標準（デキサメタゾン、0.1mg/kg）を、Eppendorfレピペッター (repipettor) ピペットを用いて、各側に10 μ lの容量（合計20 μ l）で、右耳の両面に適用する。30分後、10 μ lのア 40
ラキドン酸を、この右耳の両側（合計20 μ l）に適用する。アラキドン酸の適用の1時間後、このマウスをイソフルランで深く麻酔し、血液サンプルを眼窩洞を介して採取し、Microtainerチューブに入れる。次いで、これらの動物をCO₂吸入によって安楽死させ、右耳を根元から切断する。8mmの皮膚パンチを使用して、耳組織の均一なプラグを得る。この耳プラグを、迅速に0.1mgの位まで計量し、次いで、TNFaの決定のために瞬間冷凍する。

【0441】

（統計的分析）

群データを、平均 $\pm$ SEMとして表し、 $p < 0.05$ を有意であるとみなす。群間の比較を、独立スチューデントt検定（2つの群の間）またはANOVA（3つ以上の群 50

）に続く Dunnett 検定によって行う。

【0442】

（結果）

本発明の化合物、例えば、以下は、この方法によって試験した場合、水腫の有意な減少（10～70%、 $p < 0.05$ ）を示した：

- ・ 3-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（5-フェニル-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニル）-2-（5-フェニル-2H-[1, 2, 4]トリアゾール-3-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-5-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-3-ヒドロキシ-5-ヒドロキシメチル-5H-フラン-2-オン；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニル）-2-（4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（ピリミジン-2-イルスルファニル）-2-（ピリミジン-2-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（2-スルホ-エチルスルファニル）-2-（2-スルホ-エチルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニル）-2-（7-トリフルオロメチル-キノリン-4-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニル）-2-（ベンゾセレナゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（5-スルホン酸-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-スルホン酸-1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニル）-2-（1H-ベンゾイミダゾール-2-イルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニル）-2-（ピロリジン-1-カルボチオイルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-シクロヘキシルスルファニル-2-シクロヘキシルスルファニルメチル-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（2-ジメチルアミノ-エチルスルファニル）-2-（2-ジメチルアミノ-エチルスルファニルメチル）-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル、塩酸塩；
- ・ 4-ヒドロキシ-5-オキソ-3-（ピリジン-4-イルスルファニル）-2-（ピリジン-4-イルスルファニルメチル）-2, 5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 5, 8-ジクロロ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-2H-1-オキサ-4, 9-ジチア-ベンゾ[f]アズレン-10a-カルボン酸エチルエステル；
- ・ 3-（5-クロロ-ベンゾチアゾール-2-イルスルファニル）-2-（5-クロロ-

ベンゾチアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル;

・3-(5-アミノ-[1,3,4]チアジアゾール-2-イルスルファニル)-2-(5-アミノ-[1,3,4]チアジアゾール-2-イルスルファニルメチル)-4-ヒドロキシ-5-オキソ-2,5-ジヒドロフラン-2-カルボン酸エチルエステル。

【0443】

本発明は、その特定の実施形態を参照して記載されてきたが、本発明の真の精神および範囲から逸脱することなく、種々の変更がなされ、等価物が置換され得ることが、当業者に理解されるべきである。さらに、多くの改変が、特定の状況、材料、物質の組成、プロセス、プロセス工程または工程を適合するために、本発明の目的、精神および範囲に対してなされ得る。このような改変の全ては、添付の特許請求の範囲内であることを意図する。上記の特許および刊行物の全ては、本明細書中で参考として援用される。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US03/02766

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : C07D 305/12, 235/04; A61K 31/34, 31/415
 US CL : 549/318, 315, 314, 313; 548/305.4; 514/473, 474, 394

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 U.S. : 549/318, 315, 314, 313; 548/305.4; 514/473, 474, 394

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,464,865 A (DEMERS et al) 07 November 1995, (07.11.1995), columns 2-4.	1-47
A	US 6,136,832 A (HOPPER et al) 24 October 2000 (24.10.2000), columns 2-4.	1-47
A	US 6,297,274 B1 (CHENG et al) 02 October 2001 (02.10.2001), columns 8-13.	1-47

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

09 May 2003 (09.05.2003)

Date of mailing of the international search report

27 MAY 2003

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
 Commissioner for Patents
 P.O. Box 1450
 Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (703)305-3230

Authorized officer

Deborah C Lambkin

Telephone No. 703-308-1235

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

4H045

A 6 1 K 31/41 (2006.01)
A 6 1 K 31/4184 (2006.01)
A 6 1 K 31/4196 (2006.01)
A 6 1 K 31/423 (2006.01)
A 6 1 K 31/4245 (2006.01)
A 6 1 K 31/428 (2006.01)
A 6 1 K 31/433 (2006.01)
A 6 1 K 31/444 (2006.01)
A 6 1 K 31/4709 (2006.01)
A 6 1 K 31/506 (2006.01)
A 6 1 P 3/10 (2006.01)
A 6 1 P 9/04 (2006.01)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)
A 6 1 P 11/00 (2006.01)
A 6 1 P 11/06 (2006.01)
A 6 1 P 13/12 (2006.01)
A 6 1 P 15/00 (2006.01)
A 6 1 P 19/02 (2006.01)
A 6 1 P 21/00 (2006.01)
A 6 1 P 21/02 (2006.01)
A 6 1 P 25/00 (2006.01)
A 6 1 P 25/02 (2006.01)
A 6 1 P 25/14 (2006.01)
A 6 1 P 25/16 (2006.01)
A 6 1 P 25/18 (2006.01)
A 6 1 P 25/24 (2006.01)
A 6 1 P 25/28 (2006.01)
A 6 1 P 27/02 (2006.01)
A 6 1 P 29/00 (2006.01)
A 6 1 P 37/00 (2006.01)
A 6 1 P 41/00 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)
C 0 7 D 307/68 (2006.01)
C 0 7 D 405/12 (2006.01)
C 0 7 D 413/12 (2006.01)
C 0 7 D 417/12 (2006.01)
C 0 7 D 417/14 (2006.01)
C 0 7 D 495/04 (2006.01)
C 0 7 K 5/037 (2006.01)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/41
 A 6 1 K 31/4184
 A 6 1 K 31/4196
 A 6 1 K 31/423
 A 6 1 K 31/4245
 A 6 1 K 31/428
 A 6 1 K 31/433
 A 6 1 K 31/444
 A 6 1 K 31/4709
 A 6 1 K 31/506
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 9/04
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 11/00
 A 6 1 P 11/06
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 15/00
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 21/00
 A 6 1 P 21/02
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/00 1 0 1
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 25/18
 A 6 1 P 25/24
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 27/02
 A 6 1 P 29/00
 A 6 1 P 29/00 1 0 1
 A 6 1 P 37/00
 A 6 1 P 41/00
 A 6 1 P 43/00 1 0 5
 C 0 7 D 307/68
 C 0 7 D 405/12
 C 0 7 D 413/12
 C 0 7 D 417/12
 C 0 7 D 417/14
 C 0 7 D 495/04 1 1 6
 C 0 7 K 5/037
 A 6 1 K 37/02
 C 0 7 M 7:00

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN, GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,

EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, M
X, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

- (72)発明者 ワン, ビン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95014, カパチーノ, バーン アベニュー 1004
2
- (72)発明者 ジャン, ウェイ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95051, サンタ クララ, リリック ドライブ 36
02, ナンバー14
- (72)発明者 ソン, ジャンガオ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95014, カパチーノ, マククレラン ロード 797
0, ナンバー3
- (72)発明者 デル バルゾ, ウゲッタ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95037, モーガン ヒル, ラ ティエラ ドライブ
15720
- (72)発明者 ブラウン, レスリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94303, イースト パロ アルト, ダブリュー. ベ
イショア ロード 1982, アパートメント 135
- (72)発明者 ワルキンシャウ, ガイル
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95126, サン ノゼ, ザ アラメダ 1302, ア
パートメント 201

Fターム(参考) 4C037 MA01

4C063	AA01	AA03	BB08	CC75	DD03	DD12	DD14	DD25	DD26	DD29
	DD41	DD47	DD52	DD58	DD62	DD67	EE01			
4C071	AA01	BB01	BB05	CC11	CC22	EE16	FF15	HH01	HH05	HH08
	HH09	HH28	LL01							
4C084	AA02	AA07	BA01	BA17	BA23	BA32	CA59	NA14	ZA01	ZA02
	ZA12	ZA15	ZA16	ZA18	ZA20	ZA21	ZA22	ZA33	ZA36	ZA37
	ZA54	ZA59	ZA81	ZA94	ZB01	ZB11	ZB15	ZB21	ZC01	ZC35
	ZC41									
4C086	AA01	AA02	AA03	BA03	BA17	BC07	BC17	BC28	BC38	BC39
	BC42	BC60	BC62	BC70	BC71	BC82	BC84	BC85	BC86	CA05
	GA02	GA07	GA08	GA09	GA10	GA12	MA01	MA04	NA14	ZA01
	ZA02	ZA12	ZA15	ZA16	ZA18	ZA20	ZA21	ZA22	ZA33	ZA36
	ZA37	ZA54	ZA59	ZA81	ZA94	ZB01	ZB11	ZB15	ZB21	ZC01
	ZC35	ZC41								
4H045	AA10	AA30	BA11	BA12	BA13	BA51	EA23	FA10		