

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4958357号
(P4958357)

(45) 発行日 平成24年6月20日(2012.6.20)

(24) 登録日 平成24年3月30日(2012.3.30)

(51) Int. Cl.		F I	
C O 7 D 487/04	(2006.01)	C O 7 D 487/04	1 4 4
A 6 1 K 31/4985	(2006.01)	C O 7 D 487/04	C S P
A 6 1 P 1/00	(2006.01)	A 6 1 K 31/4985	
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 9/08	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	

請求項の数 14 (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-519701 (P2001-519701)	(73) 特許権者	510031741
(86) (22) 出願日	平成12年9月1日(2000.9.1)		PRISM BioLab株式会社
(65) 公表番号	特表2003-508399 (P2003-508399A)		神奈川県横浜市緑区長津田町4259-3
(43) 公表日	平成15年3月4日(2003.3.4)		東工大横浜ベンチャープラザ
(86) 国際出願番号	PCT/US2000/024123	(74) 代理人	100156845
(87) 国際公開番号	W02001/016135		弁理士 山田 威一郎
(87) 国際公開日	平成13年3月8日(2001.3.8)	(74) 代理人	100112896
審査請求日	平成19年8月30日(2007.8.30)		弁理士 松井 宏記
(31) 優先権主張番号	09/388,854	(74) 代理人	100124039
(32) 優先日	平成11年9月1日(1999.9.1)		弁理士 立花 顕治
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100124431
			弁理士 田中 順也

最終頁に続く

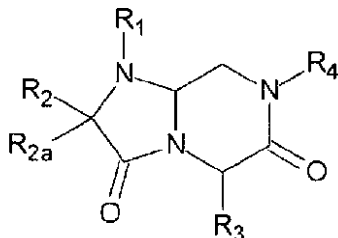
(54) 【発明の名称】 逆ターン模倣物およびそれらに関連する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の構造を有する化合物

【化1】



10

ならびに薬学的に受容可能な塩および立体異性体であって：

R₁ が - C (= O) O R₇、 - C (= O) N H R₇ または - S O₂ R₇ であり、ここで、R₇ が、ハロゲン、ヒドロキシ、カルボキシ、アミノ基またはアルキルによって必要に応じて置換されたアリール、アリールアルキルまたはアルキルであり、

R₂ は、カルボキシアルキルであり、

R₃ は、アルキル、カルボキシアルキル、またはハロゲンもしくはヒドロキシで必要に応じて置換されたアリールアルキルであり、

R₄ は、アルキル、カルボキシアルキル、ハロゲンもしくはヒドロキシで必要に応じて

20

置換されたアリールアルキル、またはハロゲンもしくはヒドロキシで必要に応じて置換されたヘテロアリールアルキルであり、および

R_{2a} は、水素またはアルキルである、
化合物ならびに薬学的に受容可能な塩および立体異性体。

【請求項 2】

R_{2a} が水素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R_2 が、 $-(CH_2)_2COOH$ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

R_3 が、ベンジルまたは置換ベンジルである、請求項 1 に記載の化合物。

10

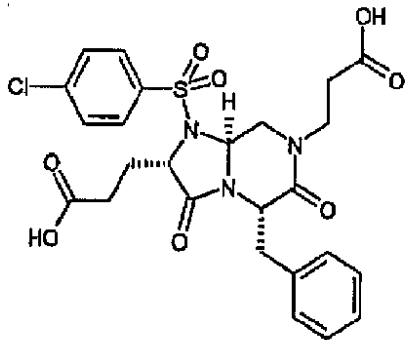
【請求項 5】

R_1 が、 $-SO_2R_7$ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

前記化合物が、以下の構造：

【化 7】



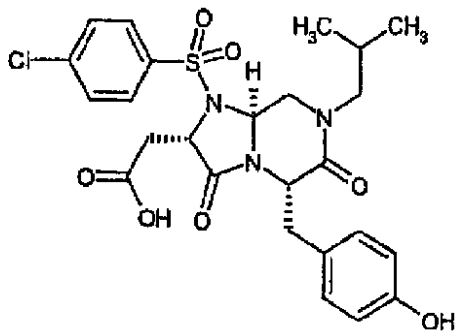
20

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

前記化合物が、以下の構造：

【化 8】



30

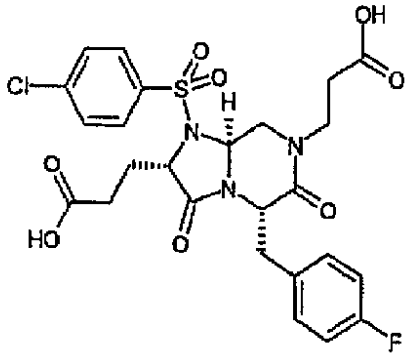
を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 8】

前記化合物が、以下の構造：

40

【化 9】



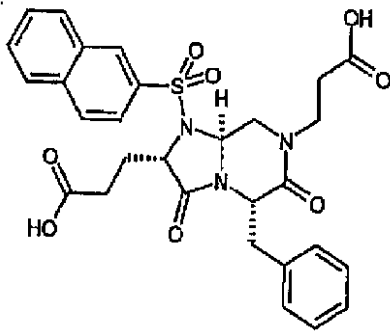
10

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

前記化合物が、以下の構造：

【化 10】



20

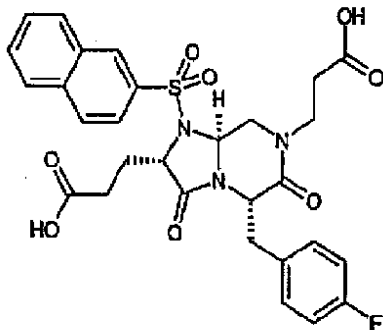
を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 10】

前記化合物が、以下の構造：

30

【化 11】



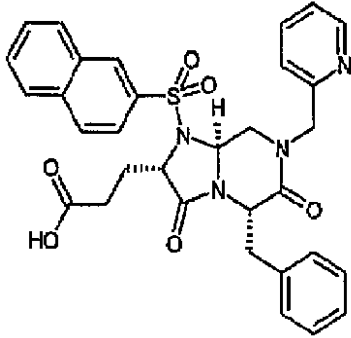
40

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 11】

前記化合物が、以下の構造：

【化 1 2】



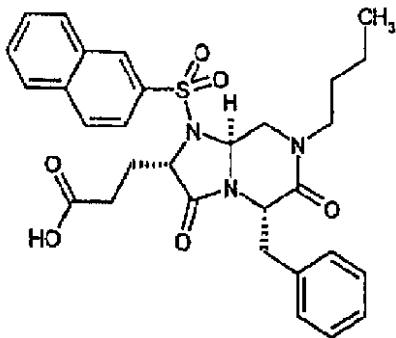
10

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 2】

前記化合物が、以下の構造：

【化 1 3】



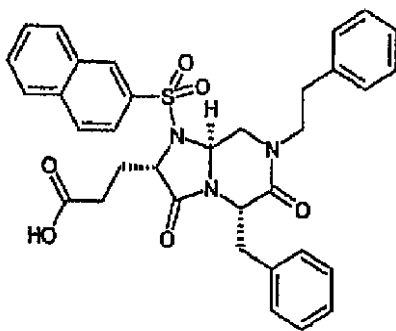
20

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 3】

前記化合物が、以下の構造：

【化 1 4】



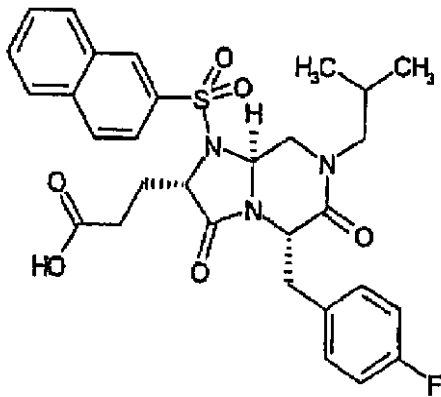
40

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 4】

前記化合物が、以下の構造：

【化 15】



10

を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(技術分野)

本発明は一般に、細胞接着媒介性疾患のインヒビターを含めた逆ターン模倣物に、ならびに逆ターン模倣物の化学ライブラリーに関する。

20

【0002】

(発明の背景)

新規な治療についての探索において、リード化合物を作製して最適化するために、製薬産業は、コンビナトリアルケミストリー、並行合成および高処理能力スクリーニングの技術にますます向かっている (Combinatorial Chemistry and Molecular Diversity in Drug Discovery, Gordon および Kerwin 編, John Wiley & Sons, New York, 1998; The Combinatorial Index, Bunin, Academic Press, New York, 1998; A Practical Guide to Combinatorial Chemistry, Czarnik および DeWitt 編, American Chemical Society, Washington, D.C., 1997; High Throughput Screening: The Discovery of Bioactive Substances, Devlin, Marcel Dekker, New York, 1997)。これらの技術は、短期間に数百から数十万以上の化合物のライブラリーを製造し得る。次いで、ライブラリーは、しばしば、高度に自動化された様式で、目的の標的に対してアッセイされて、生物学的に活性な化合物が同定される。化合物の単純な収集物であるライブラリーは、特定のテンプレートの周辺にしっかりと焦点を当てられ得るか、または種々の関連のないテンプレートを含み得る。多くの例では、ライブラリーの多様性は、重要な設計パラメーターである。

30

40

【0003】

基本的レベルで、分子テンプレートまたは骨格についての多様性の点の数、すなわち、構造のバリエーションが導入され得る位置の数は、大きなライブラリーが作製され得る容易さに対して実用的効果を有する。コンビナトリアル技術が用いられる場合、3つの多様性点を含むテンプレートは、各点を誘導体化するために20の成分が用いられ、そして合計60の反応が行われるならば、8000の化合物を生じる(20³)。しかし、4つの多様性点を含むテンプレートは、合計60の反応において各点で15の成分が用いられるならば、50,000を超える化合物を生じる(15⁴)。一般に、大きなライブラリーが、テンプレートについてより効率的に作製され得、誘導体化についてのより多くの可能性を可能にする。

50

【0004】

特定の標的についての生物学的に活性な化合物を見出す機会を増やすために、コンホメーション空間および化学的特性（例えば、疎水性および水素結合能力）の両方の範囲にわたるライブラリーを合成することが通常望ましい。同時に、低分子量もしばしば目標である。なぜなら、500ダルトン未満の化合物は、より高分子量の化合物と比べて好ましい薬物動態特性を有するようであると認められるからである。これらの全ての特徴は、広範な範囲の置換基を支持し、そして合成するのが単純である、小さくコンパクトなテンプレートについての持続した必要性を指摘する。

【0005】

逆ターンは、3つのクラスのタンパク質二次構造のうちの1つを含み、そして互いに固定された空間的關係において三次（ターン）、四次（ターン）またはより高次（ループ）のアミノ酸側鎖を提示する。ターンは、分子認識事象において重要であることが証明され（Roseら、*Advances in Protein Chemistry* 37: 1-109, 1985）、そしてこれらの低分子模倣物における発展しつつある研究分野を生じた（例えば、Hanesianら、*Tetrahedron* 53: 12789-12854, 1997）。多くの模倣物は、生理学的に関係のある側鎖の全ての提示を可能にしない外部ターン模倣物（例えば、Freidingerら、*Science* 210: 656-8, 1980）またはコンホメーションが融通の利く小さな環式ペプチド誘導体（例えば、Vilesら、*Eur. J. Biochem.* 242: 352-62, 1996）のいずれかであった。しかし、生物学的に活性なタンパク質またはペプチドにおいて見出された逆ターンの二次構造を密接に模倣する非ペプチド性化合物が開発されてきた。例えば、Kahnに対する米国特許第5,475,085号、同第5,670,155号および同第5,672,681号、ならびにKahnに対する公開されたPCT WO94/03494は全て、コンホメーションが制約された、逆ターンの三次元構造を模倣する、非ペプチド性の化合物を開示する。より近年には、Kahnに対する米国特許第5,929,237号、ならびにKahnに対する公開されたPCT WO97/15577およびKahnらに対するPCT WO98/49168はさらに、高度に制約された二環式複素環を逆ターン模倣物として開示した。それにもかかわらず、どのテンプレートも、全ての型のターンを模倣し得るわけではないので、さらなる逆ターンテンプレートについての必要性が当該分野に残っている。

【0006】

細胞接着は、生存生物の生存能力に重要である。接着は、多細胞組織を一緒に保持し、そして胚発生を指向する。接着は、創傷治癒、感染の根絶、および血液凝集において重要な役割を果たす。インテグリンは、これらの機能の全てに密接に関与する細胞表面タンパク質のファミリーである。これらは、赤血球を除くほぼ全ての型のヒト細胞において見出されている。インテグリン機能における異常は、炎症疾患、心臓発作、発作（stroke）および癌を含めた種々の障害に寄与する。

【0007】

インテグリンは、互いに非共有結合的に結合した、サブユニットおよびサブユニットのヘテロダイマーからなる。これらの細胞表面レセプターは、細胞膜を通過して、細胞質へと広がっている。少なくとも15の異なるサブユニットおよび9の異なるサブユニットが公知である。しかし、大部分のタンパク質は、1つのとしか会合しないので、約21の公知のインテグリンレセプターが存在する。細胞表面では、2つのサブユニットの頭部が互いに接触して細胞外タンパク質リガンドについての結合表面を形成しており、他の細胞または細胞外マトリクスへの接着を可能にする。これらのレセプターの親和性は、細胞外からの、または細胞内のシグナルによって調節され得る。例えば、傷害部位または感染部位への白血球の補充は、一連の接着相互作用を含む。内皮セレクチンおよび白血球セレクチンと、糖質との間の弱い相互作用は、一過性の接着および血管壁に沿った白血球のころがりを経介する。炎症部位によって放出される種々のケモカインおよび他の誘発因子は、静止状態から高親和性状態へとインテグリンを活性化するためのシグナルとして役

10

20

30

40

50

立つ。次いで、これらの活性化されたインテグリンは内皮細胞の表面のこれらの同族リガンドに結合し、強固な接着および白血球の平坦化をもたらす。続いて、白血球は、内皮を通過して下の組織へと遊走する。

【0008】

インテグリン_{4₁}は、血管細胞接着分子-1 (VCAM-1) またはIII型連結セグメント (IIICS) を含有するフィブロネクチンの選択スプライシング改変体のいずれかへの結合を通して主に細胞接着を媒介する。リンパ球、単球、好塩基球および好酸球を含めた、炎症に関与する種々の細胞は_{4₁}を発現するが、好中球は発現しない。₄サブユニットに対するモノクローナル抗体は、慢性関節リウマチの動物モデル (Barbaddilloら, Springer Semin Immunopathol. 16: 427-36, 1995; Issekutzら, Immunology 88: 569-76, 1996)、急性大腸炎の動物モデル (Podolskyら, J. Clin. Invest. 92: 372-80, 1993)、多発性硬化症の動物モデル (Yednockら, Nature 356: 63-6, 1992)、喘息の動物モデル (Abrahamら, J. Clin. Invest. 93: 776-87, 1994; 米国特許第5, 871, 734号) および糖尿病の動物モデル (Tsukamotoら, Cell Immunol. 165: 193-201, 1995) において潜在的治療標的として₄含有インテグリンを確認するために用いられている。より最近では、低分子量ペプチジル誘導体は、_{4₁}の競合インヒビターとして産生されており、そしてこれは、ヒツジにおいてアレルギー性気道応答を阻害することが示されている (Linら, J. Med. Chem. 42: 920-34, 1999)。

【0009】

{4₁}への結合に関与する、IIICSにおいて重要な配列が25残基ペプチドCS1であり、その配列内で、最小に認識されるモチーフがトリペプチドLDVであることが示されている。類似の配列IDSは、{4₁}へのVCAM-1の結合に関連している。VCAM-1のN末端の2つのドメインフラグメントのX線結晶構造は、IDS配列が、2つの鎖を連結する露出したループの一部であることを示す (Jonesら, Nature 373: 539-44, 1995; Wangら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 5714-8, 1995)。逆ターンコンホメーションをとる環式ペプチドおよびそれらの誘導体は、_{4₁}へのVCAM-1結合のインヒビターであることが実証されている (WO 96/00581; WO 96/06108; Doyleら, Int. J. Pept. Protein Res. 47: 427-36, 1996)。さらに、多数の (_{5₁}に対して) 強力かつ選択的な環式ペプチドベースのインヒビターが見出されている (Jacksonら, J. Med. Chem. 40: 3359-68, 1997)。いくつかの非ペプチジルターン模倣物もまた、低いマイクロモル濃度範囲のIC₅₀で_{4₁}に結合することが報告されている (Souersら, Bioorg. Med. Chem. Lett. 8: 2297-302, 1998)。多数のフェニルアラニン誘導体およびチロシン誘導体もまた、_{4₁}のインヒビターとして開示されている (WO 99/06390; WO 99/06431; WO 99/06433; WO 99/06434; WO 99/06435; WO 99/06436; WO 99/06437; WO 98/54207; WO 99/10312; WO 99/10313; WO 98/53814; WO 98/53817; WO 98/58902)。しかし、強力でかつ経口的に利用可能な低分子インヒビターは開示されていない。

【0010】

関連したインテグリン_{4₇}は、リンパ球の表面に発現され、そしてVCAM-1、フィブロネクチンおよび粘膜アドレシン (addressin) 細胞接着分子1 (MAdCAM-1) に結合する。インテグリン_{4₇}およびMAdCAMは、血液、腸およびリンパ組織の間のリンパ球のサブセットの再循環を媒介する。VCAM-1およびフィブロネクチンCS-1と同様に、MAdCAM-1のCDループに存在する、_{4₇}による認識に重要であるトリペプチド配列LDTが存在する。X線結晶構造は、この配列もまたターン

構造の一部であることを示す (Tanら, Structure 6:793-801, 1998)。近年の研究は、 $\alpha_4\beta_7$ もまた、喘息 (Lobbら, Ann. NY Acad. Sci. 796:113-23, 1996)、炎症性腸疾患 (Fongら, Immunol. Res. 16:299-311, 1997) および糖尿病 (Yangら, Diabetes 46:1542-7, 1997) のような疾患において役割を果たし得ることを示した。さらに、 α_4 インテグリンは子宮頸ガンおよび前立腺癌のような癌においてダウンレギュレートされるようであるとはいえ、これらは、転移性メラノーマにおいてアップレギュレートされるようである (Sandersら, Cancer Invest. 16:329-44, 1998)。このことは、 $\alpha_4\beta_1$ および $\alpha_4\beta_7$ のインヒビターが抗癌剤として有用であり得ることを示唆する。

10

【0011】

コンホメーションが制約された逆ターン模倣物の合成および同定において顕著な進歩がなされたとはいえ、当該分野には依然として、ペプチドの二次構造を模倣する低分子についての必要性が存在する。当該分野には、このようなメンバー、特に置換基の多様性の高さを支持し得る低分子テンプレートを含むライブラリーについての必要性もまた存在する。さらに、当該分野には、これらのライブラリーを合成し、そしてライブラリーメンバーを生物学的標的に対してスクリーニングして生物活性のあるライブラリーメンバーを同定するための技術についての必要性もまた存在する。さらに、当該分野には、炎症疾患および心血管疾患ならびにいくつかの癌を処置するために使用するための、低分子の経口で利用可能なインテグリンインヒビターについての必要性が存在する。特に、慢性関節リウマチ、

20

【0012】

本発明は、これらの必要性を満たし、そしてさらなる関連の利点を提供する。

【0013】

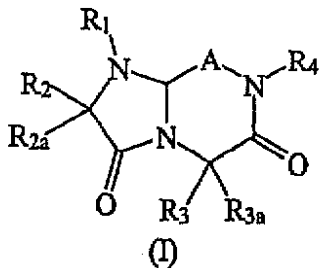
(発明の要旨)

手短には、本発明は、生物学的に活性なペプチドおよびタンパク質の逆ターン領域の二次構造を模倣する、コンホメーションが制約された化合物 (本明細書中で、「逆ターン模倣物」とも呼ばれる) に関する。本発明の化合物は、薬学的に受容可能なその塩および立体異性体を含めて、以下の一般構造 (I) を有する：

30

【0014】

【化16】



40

ここで、Aおよび $R_1 \sim R_4$ は、以下に定義された通りである。

【0015】

本発明はまた、構造 (I) の化合物を含むライブラリー、ならびにこのようなライブラリーを合成するための方法およびこのようなライブラリーをスクリーニングして生物学的に活性な化合物を同定するための方法に関する。さらに、薬学的に受容可能なキャリアと組み合わせた本発明の化合物を含む組成物が開示される。細胞接着媒介性疾患を処置するための本発明の化合物およびこれらの化合物を含む組成物を用いる使用方法もまた開示される。

50

【0016】

本発明のこれらおよび他の局面は、以下の詳細な説明を参照して明らかである。この目的のために、特定の手順、化合物および/または組成物をより詳細に記載し、そしてその全体が本明細書中に参考として援用される、種々の参考文献が本明細書中に示される。

【0017】

(発明の詳細な説明)

本発明は、逆ターン模倣物および逆ターン模倣物を含む化学ライブラリーに関する。本発明の逆ターン模倣物は、診断剤、予防剤および/または治療剤(特に抗炎症剤)としての使用を含めて(しかし、これらに限定されない)、生物活性のある薬剤として有用である。本発明の逆ターン模倣物ライブラリーは、このような生物活性のある薬剤の同定において有用である。本発明の実施において、ライブラリーは、数十から数百、数十から数千(以上)の個々の逆ターン模倣物(本明細書中で「メンバー」ともいう)を含み得る。

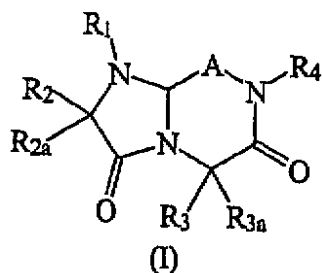
10

【0018】

本発明の1つの局面では、以下の構造(I)を有する逆ターン模倣物ならびに薬学的に受容可能なその塩および立体異性体が開示される:

【0019】

【化17】



20

ここで、

Aは、 $-(CR_5R_{5a})_n-$ であり、ここでnが1、2または3であり;

R₂、R₃およびR₅は、各出現箇所、同じであるかまたは異なっており、そして独立して、アミノ酸側鎖部分もしくはアミノ酸側鎖誘導体、ペプチドもしくはペプチド誘導体、リンカーまたは固体支持体であり;

30

R_{2a}、R_{3a}およびR_{5a}は、各出現箇所、同じであるかまたは異なっており、そして独立して、水素、ヒドロキシ、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-R_6$ 、 $-OR_6$ 、 $-COOR_6$ 、 $-COR_6$ または $-CONHR_6$ であり、ここで、R₆は、ハロゲンまたはヒドロキシが必要に応じて置換された低級アルキルであり;そして

R₁およびR₄は、分子の残部を表し、ただし、R₁が $-C(=O)OMe$ でありかつR₄がベンジルである場合、R₃がメチルであるとき、R₂はイソプロピルではなく、そしてR₃がイソプロピルであるとき、R₂はメチルではない。

【0020】

本明細書中で使用される場合、「アミノ酸側鎖部分」は、以下の表1に同定される天然に存在するアミノ酸側鎖部分を含む(がこれらに限定されない)天然に存在するタンパク質に存在する任意のアミノ酸側鎖部分を表す。本発明の他の天然に存在するアミノ酸側鎖部分としては、3,5-ジプロモチロシン、3,5-ジヨードチロシン、ヒドロキシリジン、 γ -カルボキシグルタメート、ホスホチロシンおよびホスホセリンの側鎖部分が挙げられる(がこれらに限定されない)。さらに、グリコシル化アミノ酸側鎖(グリコシル化トレオニン、グリコシル化セリンおよびグリコシル化アスパラギンを含む(がこれらに限定されない))もまた、本発明の実施において用いられ得る。

40




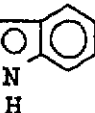

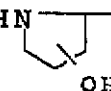
【0021】

【表1】

50

表1

アミノ酸側鎖部分

アミノ酸側鎖部分	アミノ酸	
-H	グリシン	
-CH ₃	アラニン	
-CH(CH ₃) ₂	バリン	
-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	ロイシン	10
-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	イソロイシン	
-(CH ₂) ₄ NH ₂	リジン	
-(CH ₂) ₃ NHC(NH ₂)NH ₂	アルギニン	
-CH ₂ 	ヒスチジン	
-CH ₂ COOH	アスパラギン酸	
-CH ₂ CH ₂ COOH	グルタミン酸	20
-CH ₂ CONH ₂	アスパラギン	
-CH ₂ CH ₂ CONH ₂	グルタミン	
-CH ₂ 	フェニルアラニン	
-CH ₂ 	チロシン	
-CH ₂ 	トリプトファン	30
-CH ₂ SH	システイン	
-CH ₂ CH ₂ SCH ₃	メチオニン	
-CH ₂ OH	セリン	
-CH(OH)CH ₃	トレオニン	
-HN 	プロリン	
-HN 	ヒドロキシプロリン	40

さらに、本明細書中で使用される場合、「アミノ酸側鎖誘導体」は、天然に存在するアミノ酸側鎖部分に対する改変および/またはバリエーションを表す。例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびフェニルアラニンのアミノ酸側鎖部分は一般に、以下に定義されたような1以上の置換基で必要に応じて置換された、アルキル部分、アリアル部分またはアリアルアルキル部分として分類され得る。従って、代表的なアミノ酸側鎖誘導体としては、置換されたかまたは置換されていない、アルキル部分、アリアル部分およびアリアルアルキル部分が挙げられる。

【0022】

この目的のために、「アルキル」は、1個~12個の炭素原子を含む、直鎖または分枝鎖 50

の、環式または非環式の、飽和または不飽和のアルキルである（本明細書中で「 C_{1-12} アルキル」ともいう）。同様に、「低級アルキル」は、上記で定義されるとおりであるが、1個～4個の炭素原子を含む（本明細書中で「 C_{1-4} アルキル」ともいう）。代表的な飽和直鎖アルキルとしては、メチル、エチル、 n -プロピル、 n -ブチル、 n -ペンチル、 n -ヘキシルなどが挙げられる；一方、飽和分枝鎖アルキルとしては、イソプロピル、 sec -ブチル、イソブチル、 $tert$ -ブチル、イソペンチルなどが挙げられる。代表的な飽和環式アルキルとしては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなどが挙げられる。不飽和アルキルは、隣接する炭素原子の間に少なくとも1つの二重結合または三重結合を含む（それぞれ、「アルケニル」または「アルキニル」といわれる）。代表的な直鎖および分枝鎖のアルケニルとしては、エチレニル、プロピレニル、1-ブテニル、2-ブテニル、イソブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-メチル-1-ブテニル、2-メチル-2-ブテニル、2,3-ジメチル-2-ブテニルなどが挙げられる；一方、代表的な直鎖および分枝鎖のアルキニルとしては、アセチレニル、プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-メチル-1-ブチニルなどが挙げられる。代表的な不飽和環式アルキルとしては、シクロペンテニルおよびシクロヘキセニルなどが挙げられる。

【0023】

「アリール」は、6個～12個の炭素原子を含む芳香族炭素環式部分（例えば、フェニルおよびナフチル）である（本明細書中で、「 C_{6-12} アリール」ともいう）。

【0024】

「アリールアルキル」は、少なくとも1つのアルキル水素原子がアリール部分で置換されたアルキル（例えば、ベンジル、 $-(CH_2)_2$ フェニル、 $-(CH_2)_3$ フェニル、 $-CH$ （フェニル）₂など）である。

【0025】

同様に、ヒスチジン、トリプトファン、プロリンおよびヒドロキシプロリンのアミノ酸側鎖部分は一般に、以下に定義される通りの1以上の置換基で必要に応じて置換された、複素環式部分または複素環式アルキル部分と分類され得る。従って、代表的なアミノ酸側鎖誘導体はまた、置換されたかまたは置換されていない、複素環部分および複素環アルキル部分が挙げられる。

【0026】

本明細書中で使用される場合、「複素環」とは、5員～7員の単環式複素環式環、または7員～10員の二環式複素環式環であって、飽和、不飽和または芳香族のいずれかであり、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される1個～4個のヘテロ原子を含み、そしてここで、窒素ヘテロ原子および硫黄ヘテロ原子が必要に応じて酸化され得、そして窒素ヘテロ原子が必要に応じて4級化され得る、5員～7員の単環式複素環式環、または7員～10員の二環式複素環式環を意味し、これには、上記の複素環のいずれかがベンゼン環に縮合している二環式環が包含される。複素環は、任意のヘテロ原子または炭素原子を介して連結され得る。複素環としては、以下に定義される通りのヘテロアリールが挙げられる。従って、以下に列挙したヘテロアリールに加えて、複素環としてはまた、モルホリニル、ピロリジノニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ヒダントイニル、バレロラクタミル、オキシラニル、オキセタニル、アジリジニル、アゼチジニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロピリミジニル（*tetrahydroprimidiny l*）、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロピリミジニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロチオピラニルなどが挙げられる。

【0027】

「複素環アルキル（*heterocycle alkyl*）」とは、少なくとも1つのアルキル水素原子が複素環部分で置換されたアルキル（例えば、 $-CH_2$ （複素環）、 $-(CH_2)_2$ （複素環）など）を意味する。

【0028】

「ヘテロアリーール」とは、5員～10員の芳香族複素環式環であって、窒素、酸素および硫黄から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を有し、そして少なくとも1つの炭素原子を含む芳香族複素環式環を意味し、これには、単環式環系および二環式環系の両方が含まれる。代表的なヘテロアリーールは、ピリジル、フリル、ベンゾフラニル、チオフェニル、ベンゾチオフェニル、キノリニル、ピロリル、インドリル、オキサゾリル、ベンゾキサゾリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、チアゾリル、ベンゾチアゾリル、イソキサゾリル、ピラゾリル、イソチアゾリル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、シノリニル(cinnolinyl)、フタラジニル、およびキナゾリニルである。

【0029】

「ヘテロアリーールアルキル」は、少なくとも1つのアルキル水素原子がヘテロアリーール部分で置換されたアルキル(例えば、 $-CH_2$ ピリジニル、 $-CH_2$ ピリミジニルなど)を意味する。

【0030】

用語「置換された」は、本明細書中で使用される場合、少なくとも1つの水素原子が置換基で置換された、上記のいずれかの基(アルキル、アリーール、アリーールアルキル、複素環、複素環アルキル、ヘテロアリーールまたはヘテロアリーールアルキルである)を意味する。ケト置換基(「 $C(=O)$ 」)の場合、2つの水素原子が置換されている。「置換基」は、これに関して、ハロゲン、ケト、ヒドロキシ、ハロアルキル、 $-R$ 、 $-OR$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)OR$ 、 $-C(=O)NRR$ 、 $-NRR$ 、 $-NRC(=O)R$ 、 $-NRC(=O)OR$ 、 $-NRC(=O)NRR$ 、 $-OC(=O)R$ 、 $-OC(=O)OR$ 、 $-OC(=O)NRR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-SOR$ 、 $-SO_2R$ 、 $-NRSO_2R$ 、 $-SiR_3$ または $-OP(OR)_3$ であり、ここで、Rの各出現箇所は、同じであるかまたは異なっており、そして独立して、水素、アルキル、アリーール、アリーールアルキル、複素環もしくは複素環アルキルであるか、または同じ窒素原子に結合している任意の2つのR基が、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、複素環式環または置換された複素環式環を形成している。

【0031】

「ペプチド」は、ペプチド結合によって連結された、少なくとも2つの天然に存在するかまたは天然に存在しない、 α -アミノ酸を意味する。ペプチド結合を介して連結されるアミノ酸の数に依存して、得られるペプチドはまた、「ポリペプチド」または「タンパク質」といわれ得る。同様に、「ペプチド誘導体」は、共有結合的に改変されているか、および/または β -アミノ酸以外のアミノ酸を含む、ペプチドを意味する。代表的なペプチド誘導体としては、例えば、メチル、ベンジル、アセチル、ベンゾイル、メタンスルホニル、フェニルスルホニル、アリルオキシカルボニル、*t*-ブチルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニルまたはフルオレニルオキシカルボニル部分によってアミノ末端でN-アルキル化、N-アシル化またはN-スルホニル化されているペプチド；カルボキシ末端がエステル化されている(メチル、エチル、ベンジル)またはヒドロキシもしくはアルデヒドに還元されているペプチド；ペプチド結合のところで、例えば、メチルまたは2-ヒドロキシ-4-メトキシベンジルでN-アルキル化されているペプチド；ならびに α -アミノ酸または β -アミノ酸(例えば、 β -アラニンまたは β -アミノ酪酸)を取り込んでいるペプチドが挙げられる。

【0032】

「リンカー」は、それぞれの R_1 部分、 R_2 部分、 R_3 部分、 R_4 部分および/または R_5 部分を通しての、別の部分、薬剤、化合物、固体支持体、分子、アミノ酸、ペプチドまたはタンパク質への構造(I)の化合物の連結を容易にする任意の共有結合性架橋部分である。例えば、本発明の化合物は、1以上の公知の化合物(例えば、ビオチン)に、診断アッセイまたはスクリーニングアッセイにおける使用のために連結され得る。さらに、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 または R_5 のうちの1つ(以上)は、構造(I)の化合物を固体支持体(例えば、固相ペプチド合成において使用される支持体)へと連結するリンカーであり得る。

10

20

30

40

50

このようなリンカーの例としては、p - アルコキシベンジルアルコール、フェニルアセトアミドメチルおよび2 - クロロトリチルクロリドが挙げられる。この状況では、別の部分もしくは化合物、または固体支持体への連結は、 R_1 位または R_4 位においてであることが好ましい。

【0033】

「固体支持体」とは、別の化合物が直接付着するかまたはリンカーを介して付着する任意の組成物であって、付着した化合物が可溶性である少なくとも1つの溶媒に不溶性である組成物を意味する。あるいは、「固体支持体」は、付着した化合物と類似の可溶性特性を有するが、溶液から容易に沈澱されて固体として濾別され得る、組成物であり得る。代表的な例としては、ポリスチレン、ポリエチレングリコール、ポリエチレングリコールがグラフト化されたポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリアミド - ポリエチレングリコールコポリマー、制御された孔隙のガラス (controlled - pore glass) およびシリカが挙げられる。

10

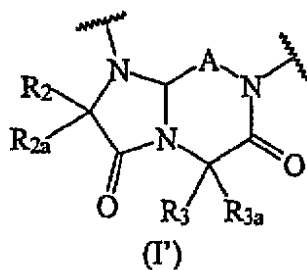
【0034】

用語「分子の残部」とは、 R_1 位および/または R_4 位のいずれかで逆ターン模倣物に共有結合した、任意の部分、薬剤、化合物、固体支持体、分子、リンカー、アミノ酸、ペプチドまたはタンパク質を意味し、これとしては、上記に定義した通りのアミノ酸側鎖部分、アミノ酸側鎖誘導体およびペプチド誘導体が挙げられる。従って、以下の構造 (I') によって表されるように、構造 (I) の代替的な記載は、環の窒素原子と、対応する R_1 部分および R_4 部分との間の結合が未定義のままであり得る：

20

【0035】

【化18】



30

ここで、

【0036】

【化19】

~~~~~

40

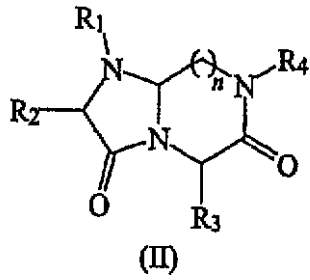
は、共有結合を通して環の対応する窒素に連結した分子の残部を表し、そしてA、 $R_2$ および $R_3$ は、上記に定義した通りである。

【0037】

構造 (I) の1つの実施形態では、 $R_{2a}$ 、 $R_{3a}$ ならびに各出現箇所の $R_{5a}$ および $R_5$ は水素であり、そして本発明の化合物は、以下の構造 (II) を有する：

【0038】

【化20】



10

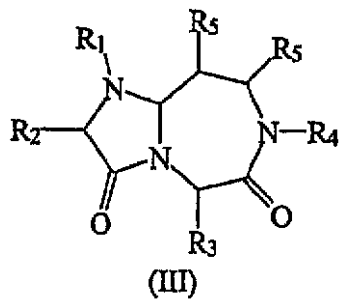
ここで、 $n$ 、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ および $R_4$ は上記で定義された通りである。

【0039】

別の実施形態では、 $A$ は $-CH(R_5)CH(R_5)-$ であり、 $R_{2a}$ および $R_{3a}$ は両方とも水素であり、そして本発明の化合物は以下の構造(III)を有する：

【0040】

【化21】



20

ここで、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ および各出現箇所の $R_5$ は上記で定義されたとおりである。

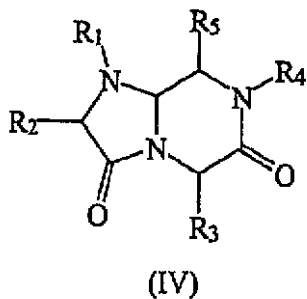
【0041】

なおさらなる実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_{2a}$ 、 $R_{3a}$ および $R_{5a}$ は水素であり、そして本発明の化合物は以下の構造(IV)を有する：

30

【0042】

【化22】



40

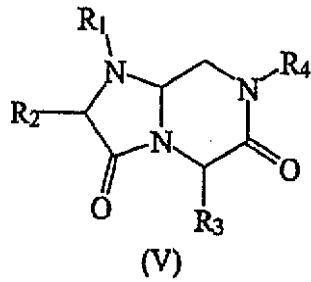
ここで、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ および $R_5$ は上記で定義された通りである。

【0043】

構造(IV)のさらに特定の実施形態では、 $R_5$ は水素であり、そして本発明の化合物は、以下の構造(V)を有する：

【0044】

【化23】



10

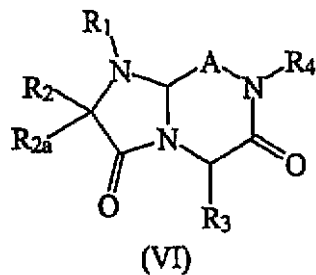
ここで、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ および $R_4$ は上記で定義された通りである。

【0045】

構造(I)のなお別の実施形態では、 $R_{3a}$ は水素であり、そして本発明の化合物は以下の構造(VI)を有する：

【0046】

【化24】



20

ここで、 $A$ 、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_{2a}$ 、 $R_3$ および $R_4$ は上記で定義された通りである。

【0047】

構造(I)の好ましい実施形態では、 $R_{2a}$ 、 $R_{3a}$ および各々の出現箇所の $R_{5a}$ は水素であり、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ および $R_4$ は同じであるかまたは異なっており、そして独立して、アミノ酸側鎖部分またはアミノ酸側鎖誘導体である。構造(I)のさらに好ましい実施形態では、 $R_1$ は、 $-C(=O)OR_7$ 、 $-C(=O)NHR_7$ または $-SO_2R_7$ であり、ここで、 $R_7$ はアミノ酸側鎖部分またはアミノ酸側鎖誘導体である。なおさらに好ましい実施形態の構造では、 $R_7$ は、ハロゲン、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NH_2$ または $C_{1-4}$ アルキルで必要に応じて置換されたアリアルまたはアリアルアルキルである。

30

【0048】

上記の構造(I)では、縮合した二環式環上の炭素原子への種々のR基の結合についての実線の表示は、これらのR基が、この紙面の上または下のいずれかに存在し得ることを示す。本発明の逆ターン模倣物が天然に存在するアミノ酸(すなわち、「L-アミノ酸」)の逆ターンを模倣することが意図される場合、このR基は一般に、構造(I)においてこの紙面の下に存在する(すなわち、「

40

【0049】

【化25】

……R

」)。しかし、本発明の逆ターン模倣物が1以上のD-アミノ酸を含む逆ターンを模倣することが意図される場合、対応するR基は、構造(I)においてこの紙面の上に存在する

50

(すなわち、「  
【0050】  
【化26】

— R

」)。

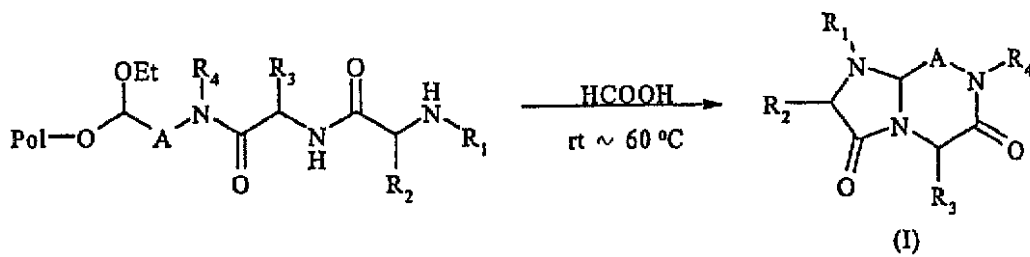
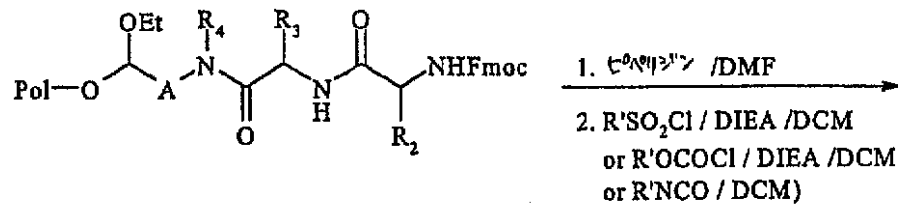
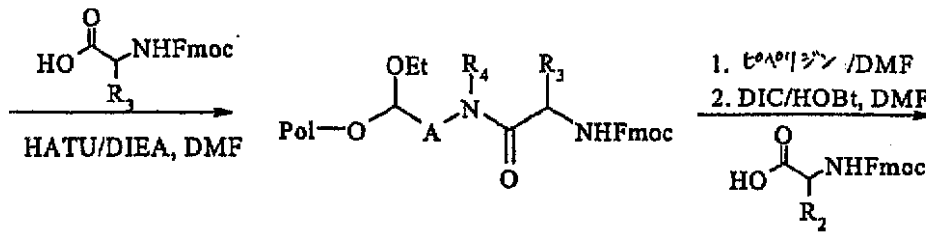
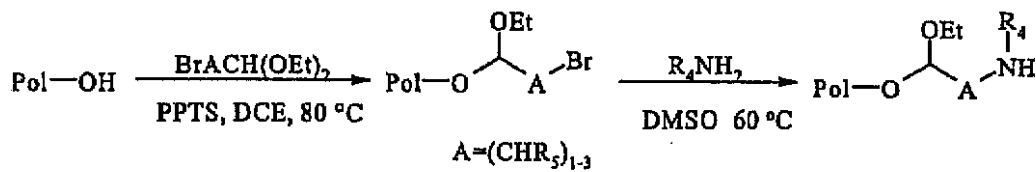
【0051】

本発明の逆ターン模倣物は一般に、以下の反応スキームにおいて例示される方法によって調製され得る。

【0052】

【化27】

反応スキーム



上記の反応スキームでは、遊離のヒドロキシル基を保有する樹脂は、酸性条件下で臭素含有アセタールで処理される。誘導体化された樹脂を一級アミンと反応させ、続いてカップリング試薬および塩基の存在下でN保護アミノ酸誘導体とアシル化させる。アミノ保護が除去され、そして第2のN保護アミノ酸誘導体がカップリングされる。脱保護後、露出された一級アミンは、適切な試薬（例えば、塩化スルホニル、クロロホルメートまたはイソシアネート）を用いてキャップされる。この化合物は、樹脂から同時に除去され、そしてギ酸での処理によって環化されて最終生成物を形成する。あるいは、構造(I)の逆ターン模倣物は、個々の成分の順次のカップリングまたは収束カップリングによって溶液中で調製され得る。

【0053】

上記の反応スキームはR<sub>2a</sub>部分およびR<sub>3a</sub>部分を水素として示すとはいえ、R<sub>2a</sub>位および

10

20

30

40

50

$R_{3a}$ 位に水素以外の部分を有する構造(I)の化合物は、同じ反応スキームによって、しかし、対応する $R_{2a}$ 置換反応前駆体および/または $R_{3a}$ 置換反応前駆体を用いて作製され得る。例えば、 $R_2$ および $R_{2a}$ が両方ともメチルである場合、適切なアミノイソ酪酸誘導体を用いてこれらの基を逆ターン模倣物中に導入し得る。

【0054】

上記で言及したように、本発明の逆ターン模倣物は、生物活性のある薬剤(例えば、診断剤、予防剤および治療剤)として有用である。代表的な逆ターン模倣物のインテグリン結合活性は、実施例2に提示される。この実施例では、逆ターン模倣物は、CS1ペプチドをRamos細胞から効果的に置換することが見いだされた。従ってこのデータは、逆ターン模倣物が $\alpha_4\beta_1$ インテグリンを拮抗し、そして潜在的な抗炎症剤として作用する能力を示す。

10

【0055】

本発明の別の局面では、本発明の逆ターン模倣物を含むライブラリーが開示される。一旦組み立てられると、本発明のライブラリーは、生物活性を有する個々のメンバーを同定するためにスクリーニングされ得る。生物活性のあるメンバーについてのライブラリーのこのようなスクリーニングは、例えば、ライブラリーのメンバーの結合活性について評価する工程またはライブラリーメンバーが機能アッセイに対して有する効果を評価する工程を包含し得る。スクリーニングは通常、ライブラリーメンバー(またはライブラリーメンバーのサブセット)を目的の標的(例えば、抗体、酵素、レセプターまたは細胞株など)と接触させることによって達成される。目的の標的と相互作用し得るライブラリーメンバーは、本明細書中で「生物活性のあるライブラリーメンバー」または「生物活性のある模倣物」と呼ばれる。例えば、生物活性のある模倣物は、酵素を阻害し得るか、例えば、細胞株に関連した機能的応答を誘発し得るかもしくは拮抗し得る、抗体またはレセプターに結合し得るライブラリーメンバーであり得る。言い換えると、本発明のライブラリーのスクリーニングは、どのライブラリーメンバーが目的の1以上の生物学的標的と相互作用し得るかを決定する。さらに、相互作用が生じる場合、ライブラリーメンバーから生物活性のある模倣物が同定され得る。ライブラリーからの単一または(制限された数の)生物活性のある模倣物の同定は、それ自体が生物学的に活性である、従って、診断剤、予防剤または治療剤として有用である、逆ターン模倣物をもたらす、そしてこれらの分野におけるリード化合物の同定を顕著に進展させるためにさらに用いられ得る。

20

30

【0056】

本発明のライブラリーのペプチド模倣物の合成は、本発明の成分の断片と組み合わせた公知のペプチド合成技術を用いて達成され得る。より詳細には、任意のアミノ酸配列は、コンホメーションが制約された逆ターン模倣物の $R_1$ 部分、 $R_2$ 部分、 $R_3$ 部分、 $R_4$ 部分または $R_5$ 部分のいずれかとして付加され得る。好ましくは、アミノ酸配列は、 $R_1$ 部分または $R_4$ 部分として付加され得る。この目的のために、模倣物は、公知の技術によって固体支持体(例えば、4-ヒドロキシメチルフェノキシブチレートリンカーとして利用するポリスチレン)上で(例えば、John M. StewartおよびJanis D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 1984, Pierce Chemical Comp., Rockford, Illinois; Atherton, E., Shepard, R.C. Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach; IRL: Oxford, 1989を参照のこと)、またはアルコール結合によってシリル連結樹脂上で(Randolphら, J. Am. Chem. Soc. 117: 5712-14, 1995を参照のこと)合成され得る。

40

【0057】

さらに、液相合成技術および固相合成技術の両方の組合せを利用して、本発明のペプチド模倣物を合成し得る。例えば、固相支持体を利用して、コンホメーションが制約された逆ターンがその配列に付加される点まで直鎖状ペプチド配列を合成し得る。次いで、溶液合成技術によって先に合成された、コンホメーションが制約された適切な逆ターン模倣物は

50

、固相合成に次の「アミノ酸」として付加され得る（すなわち、少なくとも2つの反応性部位を有する、コンホメーションが制約された逆ターン模倣物は、直鎖状ペプチドへと付加されるべき次の残基として利用され得る）。コンホメーションが制約された逆ターン模倣物から配列に取込まれると、次いで、さらなるアミノ酸が、固体支持体に結合したペプチドを完成するために付加され得る。あるいは、直鎖状のN末端保護ペプチド配列およびC末端保護ペプチド配列は、固体支持体上で合成され得、支持体から取り出され得、次いで公知の溶液カップリング技術を用いて、溶液中のコンホメーションが制約された逆ターン模倣物へとカップリングされ得る。

**【0058】**

本発明の別の局面では、ライブラリーを構築するための方法が開示される。伝統的なコンビナトリアルケミストリー（例えば、The Combinatorial Index Bunnin, Academic Press, New York, 1998; Gallopら, J. Med. Chem. 37: 1233-1251, 1994を参照のこと）および並行合成技術は、莫大な数の化合物が基本的分子骨格への試薬の順次の組合せによって迅速に調製されることを可能にする。例えば、上記で開示される合成は、Nicolaouおよび共同実験者の指向性選別技術（Nicolaouら, Angew. Chem. Int'l. Ed. 34: 2289-2291, 1995）を用いて実施され得る。現在、この技術のための装置が、I R O R I (La Jolla, CA) から市販されている。あるいは、上記で開示された合成は、48ウェルプレート形式または98ウェルプレート形式を用いた並行合成によって実施され得、ここで、各ウェルは、溶媒および試薬を排出するためのフリッティング出口（fritted outlet）を含む（A Practical Guide to Combinatorial Chemistry, CzarnikおよびDeWitt編, American Chemical Society, Washington, DC, 1997）。Robbins (Sunnyvale, CA)、Charybdis (Carlsbad, CA) およびBohdan (Chicago, IL) は現在、この技術のために適切な装置を提供する。

**【0059】**

本発明のさらなる局面では、生物活性についてライブラリーをスクリーニングするため、および生物活性のあるライブラリーメンバーを単離するための方法が開示される。本発明のライブラリーは、種々の技術および方法によって生物活性についてスクリーニングされ得る。一般に、スクリーニングアッセイは、以下によって行われ得る：（1）ライブラリーを目的の生物学的標的（例えば、レセプター）と接触させ、そしてこのライブラリーの模倣物と標的との間で結合を生じさせる工程、ならびに（2）適切なアッセイ（例えば、Lamら (Nature 354: 82-84, 1991) またはGriminskiら (Biotechnology 12: 1008-1011, 1994) によって開示された比色アッセイ）によって結合事象を検出する工程。好ましい実施形態では、ライブラリーメンバーは溶液中に存在し、そして標的は固相に固定されている。あるいは、このライブラリーは、固相に固定され得、そしてこれを溶液中の標的と接触させることによってプローブされ得る。

**【0060】**

別の局面では、本発明は、治療有効量の本発明の化合物を薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤中に含む、貯蔵または投与のために調製された薬学的組成物を包含する。細胞接着のインヒビターを用いた治療は、種々の炎症状態（特に、慢性関節リウマチ、炎症性腸疾患および喘息）の処置および予防のために示される。この分野の経験者は、抗炎症治療を必要とする状況を容易に認識する。

**【0061】**

本発明の化合物の「治療有効量」は、投与経路、処置される温血動物の種類、および考慮される特定の動物の身体的特徴に依存する。これらの要因およびこの量を決定することに対するそれらの関係は、医学分野の当業者に周知である。この量および投与方法は、最適な効力を達成するように調整され得るが、体重、食餌、同時薬物適用および医学分野の当

10

20

30

40

50

業者が認識すると示される他の要因のような要因に依存する。

【0062】

本発明の化合物の「治療有効量」は、所望の効果および治療適応症に依存して、広範な範囲にわたり得る。代表的に、投薬量は、約0.01mg/kg体重と約100mg/kg体重との間、好ましくは約0.01mg/kg体重と約10mg/kg体重との間である。

【0063】

希釈剤を含めて、治療的用途のための「薬学的に受容可能なキャリア」は、製薬の分野で周知であり、そして例えば、Remingtons Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (Gennaro編、1985)に記載される。例えば、生理学的pHでの滅菌生理食塩水およびリン酸緩衝化生理食塩水が用いられ得る。保存剤、安定剤、色素および矯味矯臭剤でさえも、薬学的組成物中に提供され得る。例えば、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸およびp-ヒドロキシ安息香酸のエステルが、保存剤として添加され得る。さらに、抗酸化剤および懸濁剤が用いられ得る。

【0064】

本発明の化合物は、過剰のインテグリン媒介細胞接着が寄与因子である任意の状態の予防および処置のために有用である。特に、本発明の化合物は、炎症の予防および処置のための薬剤として有用である。本発明の方法の実施において、治療有効量の本発明の化合物を含有する組成物は、その必要がある温血動物に投与される。例えば、本発明の化合物は、慢性関節リウマチ、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、AIDS痴呆、ARDS、喘息、アレルギー、炎症性腸疾患、CNS炎症、アトピー性皮膚炎、I型糖尿病、脳炎、心筋虚血、多発性硬化症、髄膜炎、腎炎、再灌流傷害、再狭窄、網膜炎、乾癬、発作および腫瘍転移から選択される状態と診断されたかまたはそのような状態を発症する危険性がある温血動物に投与され得る。

【0065】

多発性硬化症(MS)は、中枢神経系の徐々に消耗する自己免疫疾患である。現在、免疫応答を誘発する正確な抗原は未知である。しかし、マクロファージは、脳における神経線維を取り囲む脂肪ミエリン鞘を攻撃してその破壊を開始するようである。MS(実験的アレルギー脳脊髄炎)の動物モデルでは、 $\alpha_4\beta_1$ に対するマウスのモノクローナル抗体は、内皮に対する白血球の接着をブロックし、そしてその動物の中枢神経系の炎症およびその後の麻痺を妨げた(Yednock, Cannonら, Nature 356:63-6, 1992)。

【0066】

本発明の化合物は、単独で、2以上の化合物の組合せとして、または他の公知の炎症インヒビターとの組合せで用いられ得る。例えば、本発明の化合物は、コルチコステロイド、非ステロイド性抗炎症剤、COX-2インヒビター、マトリックスメタロプロテアーゼインヒビターまたはリポキシゲナーゼインヒビターとともに治療的に用いられ得る。本発明の化合物は、錠剤、カプセル剤(この各々は、持続放出(sustained release)処方物および時限放出(timed release)処方物を包含する)、丸剤、散剤、顆粒剤、エリキシル剤、チンキ剤、懸濁剤、シロップ剤および乳剤のような経口形態で投与され得る。同様に、これらは、静脈内(ボラスまたは注入)形態、腹腔内形態、皮下形態、鼻腔内形態、直腸内形態または筋肉内形態、製薬の分野の当業者に周知の全ての使用形態で投与され得る。化合物は、眼内または局所的に、ならびに経口的または非経口的に投与され得る。

【0067】

本発明の化合物は、吸入によって投与され得、従って、加圧パックまたはネブライザーからエアゾールスプレイの形態で送達され得る。この化合物はまた、処方され得る粉末として送達され得、そしてこの粉末組成物は、通気粉末吸入デバイスの助けを借りて吸入され得る。吸入のために好ましい送達システムは、計量吸入エアゾールである。これは、適切

10

20

30

40

50

なプロペラント（例えば、フルオロカーボンまたは炭化水素）中の本発明の化合物の懸濁液または溶液として処方され得る。別の好ましい送達システムは、さらなる賦形剤を有するかまたは有さない、本発明の化合物の乾燥粉末として処方され得る乾燥粉末吸入エアゾールである。

【0068】

本発明の化合物は、活性成分の持続放出を可能にするような様式で処方され得る、蓄積注射またはインプラント調製物の形態で投与され得る。活性成分は、ペレットまたは小さなシリンダー中に圧縮され得、そして皮下または筋肉内に、蓄積注射またはインプラントとして移植され得る。インプラントは、生分解性ポリマーまたは合成シリコンのような不活性物質（例えば、Silastic、シリコンゴムまたはDow-Corning Corporationによって製造された他のポリマー）を用い得る。

10

【0069】

本発明の化合物はまた、リポソーム送達システム（例えば、小さな単層小胞、大きな単層小胞および多層小胞）の形態で投与され得る。リポソームは、種々のリン脂質（例えば、コレステロール、ステアシルアミンまたはホスファチジルコリン）から形成され得る。

【0070】

本発明の化合物はまた、化合物分子がカップリングされる個々のキャリアとしてのモノクローナル抗体の使用によって送達され得る。インテグリンインヒビターはまた、標的化可能な薬物キャリアとしての可溶性ポリマーとカップリングされ得る。このようなポリマーとしては、ポリビニルピロリドン（polyvinylpyrrolidone）、ピランコポリマー、ポリヒドロキシ-プロピル-メタクリルアミド-フェノール、ポリヒドロキシエチル-アスパルタルニド-フェノールまたはパルミトイル残基で置換されたポリエチレンオキシド-ポリリジンが挙げられ得る。さらに、インテグリンインヒビターは、薬物の制御放出を達成する際に有用なクラスが生分解性ポリマー（例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ乳酸とポリグリコール酸とのコポリマー、ポリイブシロンカプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアノアクリレートおよびヒドロゲルの架橋されたかまたは両親媒性のブロックコポリマー）にカップリングされ得る。

20

【0071】

用量および投与方法は、最適な効力を達成するように調整され得るが、体重、食餌、同時薬物適用および医学分野の当業者が認識する他の要因のような要因に依存する。投与が非経口（例えば、毎日、静脈内）であるべきな場合、注射可能な薬学的組成物は、液体の溶液もしくは懸濁物、注射前の液体への溶解もしくは懸濁に適切な固体形態、または乳濁液としてのいずれかの従来の形態で調製され得る。

30

【0072】

本発明の活性な化合物の経口投与に適切な錠剤は以下の通りに調製され得る：

【0073】

【数1】

| 活性な化合物       | 量 - mg |       |       |
|--------------|--------|-------|-------|
|              | 25.0   | 50.0  | 100.0 |
| 微結晶性セルロース    | 37.25  | 100.0 | 200.0 |
| 修飾食用コーンスターチ  | 37.25  | 4.25  | 8.5   |
| ステアリン酸マグネシウム | 0.50   | 0.75  | 1.5   |

40

活性な化合物、セルロースの全て、およびコーンスターチの一部を10%コーンスターチペーストに混合し、そして顆粒化する。得られる顆粒を篩にかけ、乾燥し、そして残りの

50

コーンスターチおよびステアリン酸マグネシウムとブレンドする。次いで、得られる顆粒を、それぞれ、錠剤 1 粒あたり 25.0 mg、50.0 mg および 100.0 mg の活性成分を含む錠剤へと圧縮する。

【0074】

上記に示した活性化化合物の静脈内投薬形態は、以下の通りに調製され得る：

【0075】

【数2】

|            |               |    |
|------------|---------------|----|
| 活性化化合物     | 0.5-10.0mg    | 10 |
| クエン酸ナトリウム  | 5-50mg        |    |
| クエン酸       | 1-15mg        |    |
| 塩化ナトリウム    | 1-8mg         |    |
| 注射用水 (USP) | 1 ml に合わせるように |    |

上記の量を利用して、活性化化合物は、注射用水 (USP、United States Pharmacopoeia / National Formulary for 1995, United States Pharmacopoeia Convention, Inc. 発行, Rockville, Maryland., copyright 1994 の 1636 頁を参照のこと) 中の塩化ナトリウム、クエン酸およびクエン酸ナトリウムの、予め調製した溶液中に室温で溶解される。

【0076】

以下の実施例は、例示の目的で提供されるが限定の目的ではない。

【0077】

(実施例)

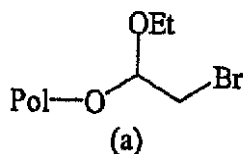
(実施例 1)

(構造 (I) の代表的化合物の合成)

(2-ブロモ-1-エトキシ-エチル-1-オキシ連結樹脂 (a) の合成)

【0078】

【化28】



40

一般に、樹脂 (Argogel OH または ヒドロキシメチルポリスチレン) のバッチを、8 当量のプロモアルキルアルデヒドジエチルアセタールおよび 2 当量のピリジニウム p-トルエンスルホネート (PPTS) の存在下で 1, 2-ジクロロエタン (DCE) 中で 4 時間還流した。1 つの例では、ヒドロキシメチルポリスチレン (10.0 g、0.7 mmol OH/g、7 mmol) および 3.5 g の PPTS (14 mmol) を 200 ml の DCE 中に懸濁した。次いで、8.5 ml の 2-ブロモジエトキシエタン (約 56 mmol) の DCE (100 ml) 中の溶液を、攪拌しながら添加し、そして反応混合物を還

50

流しながら加熱した(約80℃)。4時間後、この樹脂を濾別し、そして100 mLジメチルホルムアミド(DMF)、50 mLジメチルスルホキシド(DMSO)、100 mL DMF、200 mLジクロロメタン(DCM)、50 mL 1,4-ジオキサンで、そして最終的に100 mLメタノールで洗浄した。乾燥後、11.73 gの樹脂(a)を得た。臭素分析は、定量的ローディングを示した。

**【0079】**

(代表的化合物の合成)

適切な大きさのプラスチック製の使い捨てシリンジ中で反応を行った。このシリンジの各々には、ポリプロピレンフリットを取り付けて樹脂を保持した。各工程の後、樹脂のバッチを、DMF(3回)およびDCM(3回)で洗浄した。代表的に、DMF中で予め膨潤させた0.03 mmolの樹脂(a)のサンプル(例えば、0.6 mmol Br/gをローディングした50 mgのポリスチレン樹脂)を、DMSO中のアミン $R_4-NH_2$ (2 mmol)の1 mLの2.0 M溶液で60℃で16~24時間処理した。

10

**【0080】**

次いで、この樹脂を、クロラニル試験が陰性になるまで(代表的に1~2時間)、DMF(1 mL)中のHATU(34 mg、0.09 mmol)およびDIEA(0.032 mL、0.18 mmol)の存在下で0.09 mmolのFmocアミノ酸(FmocNH-CHR<sub>3</sub>-COOH)と反応させた。その後、20分間かけた25%(v/v)ピペリジン/DMF溶液(2 mL)での処理によってFmoc保護を除去した。

**【0081】**

次いで、この樹脂を、カイザー試験が陰性になるまで(代表的に1時間)、DMF(1 mL)中のDIC(0.014 mL、0.09 mmol)およびHOBt(14 mg、0.09 mmol)の存在下で0.09 mmolの第2のFmocアミノ酸(FmocNH-CHR<sub>2</sub>-COOH)と反応させた。この樹脂を再度、20分間かけて25%(v/v)ピペリジン/DMF溶液(2 mL)で処理した。

20

**【0082】**

最後に、この樹脂に結合した配列を、DCM(1 mL)中でのDIEA(0.106 mL、0.6 mmol)の存在下での塩化スルホニル( $R_1SO_2Cl$ 、0.3 mmol)との1時間にわたる(カイザー試験陰性)反応によって終結させた。あるいは、クロロホルメート $R_1OCOC1$ またはイソシアネート $R_1NCO$ (後者は、DIEAの存在を必要としない)を、 $R_1$ 部分の導入のために塩化スルホニルの代わりに用いた。

30

**【0083】**

洗浄し、そして乾燥した樹脂を、DCM中で再度膨潤させ、排水し、そして1 mLのギ酸(96%)で室温にて一晩処理した。多数の場合、環化を完了するために60℃までの上昇した温度または延長した反応時間が必要であった(条件については、以下の表2を参照のこと)。上清を収集し、そして洗浄液(0.5 mLのギ酸を2回)と合わせた。ギ酸のエバポレーション後に得られた残渣を、アセトニトリル/水の50:50混合物中に再度溶解し、凍結し、そして凍結乾燥した。粗物質の収率は、85%~100%であった。 $R_1$ にスルホニル部分を保有する化合物の粗純度は一般に、80%を超えた。

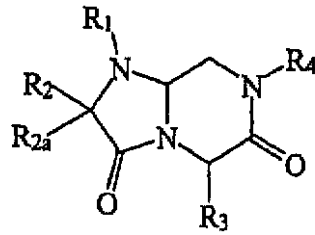
**【0084】**

表2は、上記の手順によって合成された本発明の代表的化合物を表す。

40

**【0085】****【表2】**

表 2  
代表的化合物



| 化合物<br>番号 | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub>                    | R <sub>2a</sub>     | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-----------|----------------|-----------------------------------|---------------------|----------------|----------------|
| 1         |                | H <sub>3</sub> C...X <sub>2</sub> | H...X <sub>2a</sub> |                |                |
| 2         |                | H <sub>3</sub> C...X <sub>2</sub> | H...X <sub>2a</sub> |                |                |
| 3         |                |                                   | H...X <sub>2a</sub> |                |                |
| 4         |                |                                   | H...X <sub>2a</sub> |                |                |

10

20

30

(表2の続き)

| 化合物<br>番号 | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub>                  | R <sub>2a</sub>                 | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-----------|----------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------|----------------|
| 5         |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 6         |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 7         |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 8         |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 9         |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 10        |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 11        |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 12        |                |                                 | $\text{H}-\text{X}_{2a}$        |                |                |
| 13        |                | $\text{H}_3\text{C}-\text{X}_2$ | $\text{H}_3\text{C}-\text{X}_2$ |                |                |
| 14        |                | $\text{H}_3\text{C}-\text{X}_2$ | $\text{H}_3\text{C}-\text{X}_2$ |                |                |

10

20

30

40

(表2の続き)

| 化合物<br>番号 | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>2a</sub>   | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-----------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|
| 15        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 16        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 17        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 18        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 19        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 20        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 21        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 22        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 23        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 24        |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |

10

20

30

40

(表2の続き)

| 化合物番号 | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>2a</sub>   | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|
| 25    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 26    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 27    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 28    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 29    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 30    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 31    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 32    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 33    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 34    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |
| 35    |                |                | H-X <sub>2a</sub> |                |                |

10

20

30

40

(表 2 の続き)

| 化合物<br>番号 | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>1a</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-----------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 36        |                |                |                 |                |                |
| 37        |                |                |                 |                |                |
| 38        |                |                |                 |                |                |
| 39        |                |                |                 |                |                |
| 40        |                |                |                 |                |                |
| 41        |                |                |                 |                |                |
| 42        |                |                |                 |                |                |
| 43        |                |                |                 |                |                |
| 44        |                |                |                 |                |                |
| 45        |                |                |                 |                |                |
| 46        |                |                |                 |                |                |
| 47        |                |                |                 |                |                |

10

20

30

40

(表 2 の続き)

| 化合物番号 | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>2a</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 48    |                |                |                 |                |                |
| 49    |                |                |                 |                |                |
| 50    |                |                |                 |                |                |
| 51    |                |                |                 |                |                |
| 52    |                |                |                 |                |                |
| 53    |                |                |                 |                |                |
| 54    |                |                |                 |                |                |
| 55    |                |                |                 |                |                |

| 化合物番号 | 切断条件 | LC RT <sup>†</sup><br>(分) | MS<br>(M + H <sup>+</sup> ) |
|-------|------|---------------------------|-----------------------------|
| 1     | rt   | 3.56 (A)                  | 465.5                       |
| 2     | rt   | 3.77 (A)                  | 470.5                       |
| 3     | rt   | 4.01 (A)                  | 538.6                       |
| 4     | rt   | 6.40 (A)                  | 532.3                       |
| 5     | rt   | 7.26 (B)                  | 568.3                       |
| 6     | rt   | 7.04 (B)                  | 532.3                       |
| 7     | rt   | 7.78 (B)                  | 568.3                       |
| 8     | 40°C | 2.64 (C)                  | 580.5                       |
| 9     | 40°C | 2.58 (C)                  | 564.4                       |
| 10    | 40°C | 2.67 (C)                  | 550.4                       |
| 11    | 40°C | 2.27 (C)                  | 468.4                       |

(表 2 の続き)

| 化合物番号 | 切断条件       | LC RT <sup>2</sup><br>(分) | MS<br>(M + H <sup>+</sup> ) |
|-------|------------|---------------------------|-----------------------------|
| 12    | rt         | 1.64 (D)                  | 516.7                       |
| 13    | rt         | 1.54 (D)                  | 520.8                       |
| 14    | rt         | 1.52 (D)                  | 488.7                       |
| 15    | 40°C       | 1.58 (D)                  | 502.8                       |
| 16    | 40°C       | 1.60 (D)                  | 516.8                       |
| 17    | rt         | 1.45 (D)                  | 478.3                       |
| 18    | rt         | 1.47 (D)                  | 512.3                       |
| 19    | 40°C       | 1.50 (D)                  | 516.3                       |
| 20    | 40°C       | 1.55 (D)                  | 516.3                       |
| 21    | 40°C       | 1.51 (D)                  | 499.3                       |
| 22    | 40°C       | 1.55 (D)                  | 592.4                       |
| 23    | 40°C       | 1.48 (D)                  | 492.4                       |
| 24    | 40°C       | 1.38 (D)                  | 517.4                       |
| 25    | 40°C       | 1.54 (D)                  | 550.5                       |
| 26    | 40°C       | 1.58 (D)                  | 550.5                       |
| 27    | 40°C       | 1.52 (D)                  | 533.2                       |
| 28    | 40°C       | 1.57 (D)                  | 626.2                       |
| 29    | 40°C       | 1.52 (D)                  | 526.5                       |
| 30    | 40°C       | 1.42 (D)                  | 551.4                       |
| 31    | 40°C       | 1.54 (D)                  | 514.6                       |
| 32    | 40°C       | 1.61 (D)                  | 530.5                       |
| 33    | 40°C       | 1.21 (D)                  | 529.4                       |
| 34    | 40°C       | 1.27 (D)                  | 546.4                       |
| 35    | 40°C       | 1.57 (D)                  | 513.4                       |
| 36    | 40°C (48h) | 1.62 (D)                  | 530.5                       |
| 37    | 40°C       | 1.20 (D)                  | 529.3                       |
| 38    | 40°C       | 1.27 (D)                  | 546.5                       |
| 39    | 40°C       | 1.60 (D)                  | 547.3                       |
| 40    | 40°C       | 1.64 (D)                  | 564.5                       |
| 41    | 40°C       | 1.22 (D)                  | 563.4                       |
| 42    | 40°C       | 1.28 (D)                  | 580.5                       |
| 43    | 40°C       | 1.60 (D)                  | 565.4                       |
| 44    | 40°C       | 1.65 (D)                  | 582.5                       |
| 45    | 40°C       | 1.25 (D)                  | 581.4                       |
| 46    | 40°C       | 1.30 (D)                  | 598.5                       |
| 47    | 40°C       | 1.65 (D)                  | 564.5                       |
| 48    | 40°C       | 1.70 (D)                  | 612.4                       |
| 49    | 60°C (48h) | 1.47 (D)                  | 599.4                       |
| 50    | 40°C       | 1.53 (D)                  | 676.5                       |
| 51    | 40°C       | 1.68 (D)                  | 612.4                       |
| 52    | 40°C       | 1.71 (D)                  | 612.4                       |
| 53    | 40°C       | 1.65 (D)                  | 612.4                       |

10

20

30

40

(表2の続き)

| 化合物番号 | 切断条件 | LC RT <sup>‡</sup><br>(分) | MS<br>(M+H <sup>+</sup> ) |
|-------|------|---------------------------|---------------------------|
| 54    | 40°C | 1.40 (D)                  | 614.3                     |
| 55    | 40°C | 1.70 (D)                  | 578.3                     |

<sup>‡</sup> LCMS分析を、逆層C<sub>18</sub> Zorbaxカラムで、以下の溶媒系を用いて行った：A、0.1%ギ酸を有する水；B、0.1%ギ酸を有するアセトニトリル。以下の条件を適用した：(A)、カラム2.1×30mm、4分間において5～95% B、流速0.3ml/分；(B)、カラム4.6×100mm、15分において5～90% B、流速1.5ml/分；(C)、カラム2.1×30mm、3分間において5～95% B、流速0.5ml/分；(D)、カラム2.1×30mm、2分間において5～95% B、流速0.8ml/分。MicroMass LCZ質量分析計を用い、適切なプローブを用いた、エレクトロスプレー (ES) または大気圧化学イオン化 (atmospheric pressure chemical ionization; APCI) のいずれかによって、分離されたピークについての質量スペクトルが得られた。

## (実施例2)

(代表的化合物の生物学的活性)

実施例1の化合物が、 $\alpha_4\beta_1$ インテグリンへのCS1ペプチドの結合を拮抗する能力を測定するアッセイを行った。Vanderslice, P.ら (J. Immunol., 1997, 1710-1718) (本明細書中に参考として援用される) の手順の改変版を利用した。

## 【0086】

手短には、ビオチン化CS1ペプチド(1mg/100mLのリン酸緩衝化生理食塩水(PBS))の100 $\mu$ L/ウェルの溶液を、NeutrAvidinプレート(Pierce)中で1時間、室温でインキュベートした。次いで、このプレートを、蒸留水で3回洗浄し、そして200 $\mu$ Lのブロッキング緩衝液(PBS中の3% BSA)で少なくとも4時間処理した。ブロッキングしたプレートを上記の通りに洗浄した。収集したRamos細胞(10<sup>7</sup>/mL)を、10 $\mu$ LのカルセインAM/mLを含むPBS中に再懸濁し、そして暗所で30分間インキュベートした。この懸濁物を45mL PBSで希釈し、そして細胞を遠心分離および吸引によって収集した。この細胞を結合緩衝液中に再懸濁した(約5×10<sup>5</sup>/mL)。細胞溶解をモニタリングすべき場合、5 $\mu$ Mの最終濃度になるようにエチジウムホモダイマーを緩衝液に添加した。試験されるべき化合物またはコントロールのペプチドの溶液(10 $\mu$ L)を適切なウェルに添加し、続いて90 $\mu$ Lの細胞懸濁物を添加した。このプレートを、37℃で1時間インキュベートした。エチジウムホモダイマーを添加する場合、リンスする前に535/617での蛍光を測定した。さもなければ、このプレートを3回洗浄し、50 $\mu$ Lの溶解緩衝液を各ウェルに添加し、このプレートを暗所で10分間揺り動かし、そして蛍光を485nmの励起および535nmの発光でモニタリングした。

## 【0087】

好ましくは、本発明の化合物は、このアッセイにおいて100 $\mu$ M未満のIC<sub>50</sub>値を有する。この目的のために、本発明の好ましい化合物は、化合物4、5、8～10、31、32、38～49、54および55であり、そして10 $\mu$ M未満のIC<sub>50</sub>値を有する、より好ましい化合物は、化合物10、41、42、44～49、54および55である。このように、本発明の化合物は、細胞接着を効果的に阻害し、そして抗炎症剤としての活性を保有する。

## 【0088】

本発明の特定の実施形態が例示の目的で本明細書中に記載されているが、本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく種々の改変が行われ得ることが認識される。従って、本発明は、添付の特許請求の範囲によって以外には限定されない。

## フロントページの続き

| (51)Int.Cl. |                 | F I                 |
|-------------|-----------------|---------------------|
| A 6 1 P     | 9/10 (2006.01)  | A 6 1 P 9/08        |
| A 6 1 P     | 11/00 (2006.01) | A 6 1 P 9/10        |
| A 6 1 P     | 11/06 (2006.01) | A 6 1 P 9/10 1 0 1  |
| A 6 1 P     | 13/12 (2006.01) | A 6 1 P 11/00       |
| A 6 1 P     | 17/00 (2006.01) | A 6 1 P 11/06       |
| A 6 1 P     | 19/02 (2006.01) | A 6 1 P 13/12       |
| A 6 1 P     | 25/00 (2006.01) | A 6 1 P 17/00       |
| A 6 1 P     | 25/28 (2006.01) | A 6 1 P 19/02       |
| A 6 1 P     | 27/02 (2006.01) | A 6 1 P 25/00       |
| A 6 1 P     | 29/00 (2006.01) | A 6 1 P 25/28       |
| A 6 1 P     | 35/00 (2006.01) | A 6 1 P 27/02       |
| A 6 1 P     | 37/08 (2006.01) | A 6 1 P 29/00       |
| A 6 1 P     | 43/00 (2006.01) | A 6 1 P 29/00 1 0 1 |
|             |                 | A 6 1 P 35/00       |
|             |                 | A 6 1 P 37/08       |
|             |                 | A 6 1 P 43/00 1 0 5 |

- (72)発明者 スタシアク, マルシン  
 アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 3 3, カークランド, レイク ワシントン ブールバード ノースイースト ナンバー 7 3 0 6 4 3 3 1
- (72)発明者 カーン, マイケル  
 アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 3 4, カークランド, 8 0 ティーエイチ プレイス ノースイースト 1 0 9 1 6

審査官 岡山 太一郎

- (56)参考文献 国際公開第 9 8 / 0 4 9 1 6 8 (WO, A 1)  
 国際公開第 9 7 / 0 1 5 5 7 7 (WO, A 1)  
 Vojkovsky, T., et al, Journal of Organic Chemistry, 1 9 9 8 年, Vol.63, pp 3162-3163

- (58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)  
 C07D 487/00  
 A61K 31/00  
 CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)