

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4728487号  
(P4728487)

(45) 発行日 平成23年7月20日(2011.7.20)

(24) 登録日 平成23年4月22日(2011.4.22)

(51) Int. Cl.

F I

<b>C O 7 D 209/46</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 209/46	C S P
<b>C O 7 D 209/48</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 209/48	Z
A 6 1 K 31/4035	(2006.01)	A 6 1 K 31/4035	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/04	(2006.01)	A 6 1 P 37/04	

請求項の数 20 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-605565 (P2000-605565)  
 (86) (22) 出願日 平成12年3月17日(2000.3.17)  
 (65) 公表番号 特表2002-539197 (P2002-539197A)  
 (43) 公表日 平成14年11月19日(2002.11.19)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2000/007029  
 (87) 国際公開番号 W02000/055134  
 (87) 国際公開日 平成12年9月21日(2000.9.21)  
 審査請求日 平成18年9月26日(2006.9.26)  
 (31) 優先権主張番号 60/124,942  
 (32) 優先日 平成11年3月18日(1999.3.18)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 500026935  
 セルジーン コーポレイション  
 アメリカ合衆国, ニュージャージー州 O  
 7901, サミット, モリス アベニュー  
 86  
 (74) 代理人 100092783  
 弁理士 小林 浩  
 (74) 代理人 100095360  
 弁理士 片山 英二  
 (74) 代理人 100120134  
 弁理士 大森 規雄  
 (74) 代理人 100103182  
 弁理士 日野 真美  
 (74) 代理人 100104282  
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

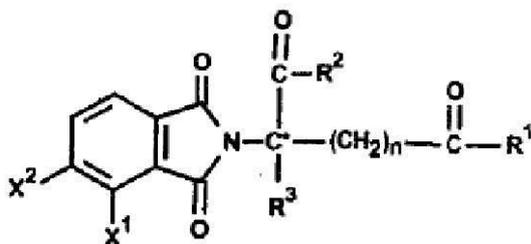
(54) 【発明の名称】置換1-オキソおよび1,3-ジオキサソイソインドリン類ならびに炎症性サイトカインレベルを減少するための薬剤組成物におけるこれらの使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記式：

【化1】



式中、C\*と称される炭素原子は、nが0でない際、又は、nが0でありR<sup>1</sup>とR<sup>2</sup>が同一でない場合にキラルの中心を構成し；

X<sup>1</sup>は、ニトロ、1～6炭素のアルキル、またはNH-Zであり、かつX<sup>2</sup>は水素であり；

R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>のそれぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたはNH<sub>2</sub>であり；

R<sup>3</sup>は、水素、1～6炭素のアルキル、またはハロゲンであり；

Zは、水素、アリール、または1～6炭素のアルキルであり；およびnは、0、1、または2の値であり；

この際、X<sup>1</sup>がアミノ又はニトロであり、かつnが1または2である場合には、R<sup>1</sup>及びR

<sup>2</sup>双方ともヒドロキシル、ではない、を有する 1, 3 - ジオキソイソインドリン、ならびにこれらの塩、但し、2 - ( 4 - ニトロ - 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸及び 2 - ( 4 - アミノ - 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸を除く、からなる群より選択される化合物。

【請求項 2】

R<sup>1</sup>はヒドロキシルであり；R<sup>2</sup>はアミノであり；R<sup>3</sup>は水素であり；および n は 1 または 2 である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R<sup>1</sup>はアミノであり；R<sup>2</sup>はヒドロキシルであり；R<sup>3</sup>は水素であり；および n は 1 または 2 である、請求項 1 に記載の化合物。

10

【請求項 4】

1 - ( 4 - メチル - 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) プロパン - 1, 3 - ジカルボン酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

4 - ( 4 - ニトロ - 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

2 - ( 4 - メチル - 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

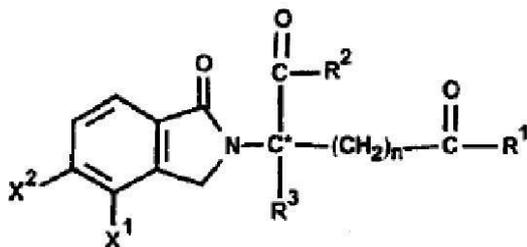
2 - ( 4 - アミノ - 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸である、請求項 1 に記載の化合物。

20

【請求項 8】

下記式：

【化 2】



30

式中、C\*と称される炭素原子は、n が 0 でない際、又は、n が 0 であり R<sup>1</sup>と R<sup>2</sup>が同一でない場合にキラルの中心を構成し；

X<sup>1</sup>及び X<sup>2</sup>の一方は、アミノ、ニトロ、1 ~ 6 炭素のアルキル、または NH - Z であり、かつ X<sup>1</sup>または X<sup>2</sup>の他方は水素であり；

R<sup>1</sup>及び R<sup>2</sup>それぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたは NH - Z であり；

R<sup>3</sup>は、1 ~ 6 炭素のアルキル、ハロゲン、または水素であり；

Z は、水素、アリール、1 ~ 6 炭素のアシル、または 1 ~ 6 炭素のアルキルであり；

n は、0、1、または 2 の値である、を有する 1 - オキソイソインドリン、ならびにこれらの塩からなる群より選択される化合物。

40

【請求項 9】

R<sup>1</sup>はヒドロキシルであり；R<sup>2</sup>はアミノであり；R<sup>3</sup>は水素であり；および n は 1 または 2 である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 10】

R<sup>1</sup>はアミノであり；R<sup>2</sup>はヒドロキシルであり；R<sup>3</sup>は水素であり；および n は 1 または 2 である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 11】

2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) グルタル酸である、請求項 8 に記載の化合物。

50

## 【請求項 1 2】

2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸である、請求項 1 0 に記載の化合物。

## 【請求項 1 3】

4 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 1 4】

1 - オキソイソインドリンは 2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) コハク酸である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 1 5】

2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 1 6】

3 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 1 7】

3 - ( 4 - アミノ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 1 8】

2 - ( 4 - アミノ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) グルタル酸である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 1 9】

キラル的に純粋な R 型異性体、キラル的に純粋な S 型異性体、またはそれらの混合物である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 2 0】

キラル的に純粋な R 型異性体、キラル的に純粋な S 型異性体、またはそれらの混合物である、請求項 8 に記載の化合物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0 0 0 1】

本発明は、1 9 9 9 年 3 月 1 8 日に提出の、米国仮出願第 6 0 / 1 2 4 , 9 4 2 号の優先権を主張したものである。

## 【0 0 0 2】

## 発明の分野

本発明は、イソインドリン環の 4 - または 5 - 位で置換された 1 - オキソ - および 1 , 3 - ジオキソ - イソインドリン類、これらの投与により腫瘍壊死因子 ( tumor necrosis factor ) 等の炎症性サイトカイン類のレベルを減少させ、哺乳動物の炎症性疾患、自己免疫疾患、腫瘍、及び癌を処理する方法、ならびにこのような誘導体の薬剤組成物に関するものである。

## 【0 0 0 3】

## 発明の背景

腫瘍壊死因子 ( tumor necrosis factor ) ( T N F ) は、数多くの免疫刺激剤に応答する単核食細胞により一次的に放出されるサイトカインである。これは、他のサイトカイン及び薬剤の産生および/または放出を引き起こす炎症カスケードにおけるキーとなるサイトカインである。動物またはヒトに投与されると、炎症、発熱、心臓血管作用、出血、凝血ならびに急性感染やショック状態時に見られるのと同様な位相応答 ( phase response ) を引き起こす。ゆえに、過剰または無制限の T N F の産生は、移植片対宿主疾患 ( G V H D ) 等の同種反応、脱髄疾患、低血圧症、高トリグリセリド血症、糖尿病、骨溶解、新形成、白血病、骨髄炎、膵炎、血栓性疾患、炎症性腸疾患、強皮症、リウマチ様関節炎、変形性関節症、及び血管炎などの数多くの疾患症状と関係がある。抗 T N F による処置は、リウマチ様関節炎、炎症性腸疾患、内毒血症及び毒素ショック症候群 [ Tracey et al. ]

10

20

30

40

50

, Nature 330, 662-664 (1987)及びHinshaw et al., Circ. Shock 30, 279-292 (1990)] ; 悪液質[Dezube et al., Lancet, 335 (8690), 662 (1990)]およびARDS患者からの肺呼吸中に12,000 pg/mLを超えるTNF濃度が検出された成人呼吸窮迫症候群(Adult Respiratory Distress Syndrome)(ARDS)[Millar et al., Lancet 2(8665), 712-714 (1989)]に有効であった。組換えTNFの全身輸液によってもARDSにおいて典型的にみられる変化が生じた[Ferrai-Baliviera et al., Arch. Surg. 124(12), 1400-1405 (1989)]。TNFは、関節炎(arthritis)等の骨吸収疾患に関係すると考えられる。活性化されると、白血球が骨吸収を生じさせ、さらにデータはTNFがこの活性に寄与していることを示唆している[Bertolini et al., Nature 319, 516-518 (1986)及びJohnson et al., Endocrinology 124(3), 1424-1427 (1989)]。TNFはまた、破骨細胞の形成及び活性化の刺激が骨芽細胞の機能の阻害と組み合わせられることによってインビトロ(in vitro)およびインビボ(in vivo)での骨の吸収を刺激し骨の形成を阻害することが分かっている。移植片対宿主反応において、血清中のTNFレベルの増加は、急性異種骨髄移植後の主な合併症と関連する[Holler et al., Blood, 75(4), 1011-1016 (1990)]。

#### 【0004】

マラリアまたはレジオネラ感染などの、寄生虫感染は、TNFによって制御できる。大脳マラリアは、TNFの高血中レベルと関連する致命的な超急性神経症候群(hyperacute neurological syndrome)であり、最も重篤な合併症がマラリア患者に生じる。血清中のTNFのレベルは、疾患の重篤度および急性マラリア発作の患者の余後と直接相関があった[Grau et al., N. Engl. J. Med. 320(24), 1586-1591 (1989)]。

#### 【0005】

新たな血管の発達及び形成のプロセスである、血管形成は、正常及び病的双方で、多くの生理学的な事象で重要な役割を果たす。血管形成は、特定のシグナルにตอบสนองして起こり、血管由来の成長シグナルにตอบสนองした血管の内皮細胞による基板の浸潤、シグナル源への内皮細胞の移動、ならびに毛細管の次の増殖及び形成によって特徴付けられる複雑なプロセスを有する。新たに形成された毛細管における血流は、内皮細胞が予め存在する毛細管と接触して繋がった後、開始する。

#### 【0006】

マクロファージ誘導型血管形成(macrophage-induced angiogenesis)は、TNFによって仲介されることが知られている。ライボヴィッチ(Leibovich)ら[Nature, 329, 630-632 (1987)]は、TNFが非常に低い投与量でラットの角膜及び発育するヒナの漿尿膜においてインビボの(in vivo)毛細血管の形成を誘導することを示し、さらに、TNFが炎症、創傷治癒、及び腫瘍成長において血管形成を誘導する候補であると示唆する。TNFの産生はまた、腫瘍溶解症候群(tumor lysis syndrome)、膀胱癌の再発症等の癌性症状(conditions)と関連があり、特に腫瘍を誘導した[Ching et al., Brit. J. Cancer, (1995) 72, 339-343、及びKoch, Progress in Medicinal Chemistry, 22, 166-242 (1985)]。

#### 【0007】

血管形成の内因性の刺激剤及び阻害剤間に天然に存在するバランスは、阻害の影響が優位を占めるものである。Rastinejad et al., 1989, Cell 56:345-355。血管新生が創傷治癒、器官の再生、胚の発育、及び女性生殖プロセス等の、正常な生理学的な条件下で起こる上記珍しい場合には、血管形成は、厳しく調節され、空間的に及び時間的に限界が定められている。特徴的な充実性腫瘍成長等の病的な血管形成の条件では、これらの調節制御はなされない。

#### 【0008】

調節されない血管形成は、異常になり、多くの腫瘍性及び非腫瘍性疾患の進行を持続する。多くの重篤な疾患は、充実性腫瘍成長及び転移、関節炎、ある型の眼の疾患、及び乾癬等の異常な血管新生によって支配される。例えば、Moses et al., 1991, Biotech. 9:630-634; Folkman et al., 1995, N. Engl. J. Med., 333:1757-1763; Auerbach et al., 1985, J. Microvasc. Res. 29:401-411; Folkman, 1985, Advances in Cancer Research, e

10

20

30

40

50

ds. Klein and Weinhouse, Academic Press, New York, pp. 175-203; Patz, 1982, Am. J. Ophthalmol. 94:715-743;及びFolkman et al., 1983, Science 221:719-725のレビューを参照。多くの病的な場合では、血管形成のプロセスは病気の状態の原因となる。例えば、充実性腫瘍の成長が血管形成に依存することを示唆する顕著なデータが蓄積されている。Folkman and Klagsbrun, 1987, Science 235:442-447。

【 0 0 0 9 】

角膜、水晶体、及び小柱網の無血管性の維持は、視力さらには眼の生理に重要である。例えば、Waltman et al., 1978, Am. J. Ophthalmol. 85:704-710及びGartner et al., 1978, Surv. Ophthalmol. 22:291-312のレビューを参照。現在、これらの疾患の処置は、特にいったん血管新生が行なった後は、不適切であり、しばしば視覚が消失してしまう。

10

【 0 0 1 0 】

血管形成の阻害剤は、原疾患状態の病理学的な進行への上記プロセスの寄与を制限するのに重要な治療上の役割を有し、さらにはこれらの病因を研究する有益な手段を提供しうる。例えば、腫瘍の血管新生を阻害する薬剤は、転移性腫瘍の成長を阻害するのに重要な役割を果たしうる。

【 0 0 1 1 】

血管の内皮細胞の増殖、移動及び侵入に関連する血管形成の成分は、一部がポリペプチド成長因子によって調節されることが分かった。培養物における実験から、適当な成長因子を含む培地に曝された内皮細胞があるまたはすべての血管由来の応答を誘発するように誘導できることが示される。インビトロの内皮の成長を促進する活性を有する幾つかのポリペプチドが同定された。例としては、酸性及び塩基性の線維芽細胞成長因子、形質転換成長因子 及び 、血小板由来内皮細胞成長因子、顆粒球コロニー刺激因子、インターロイキン8、肝細胞成長因子、プロリフェリン(proliferin)、血管内皮成長因子及び胎盤成長因子などが挙げられる。例えば、Folkman et al., 1995, N. Engl. J. Med., 333:1757-1763のレビューを参照。

20

【 0 0 1 2 】

様々な種類の化合物が血管形成を防止するのに使用されてきた。Taylor et al.は、血管形成を阻害するのにプロタミンを使用した。Taylor et al., Nature 297:307 (1982)を参照。プロタミンの毒性は治療薬としてのその実際の使用を制限する。Folkman et al.は、血管形成を制御するのにヘパリン及びステロイドの使用を開示した。Folkman et al., Science 221:719 (1983)及び米国特許第5,001,116号及び第4,994,443号を参照。グルコ及びミネラルコルチコイド活性のない、テトラヒドロコーチゾール等の、ステロイドは、血管形成の阻害剤であることが分かった。インターフェロン はまた、同種の脾細胞によって誘導される血管形成の強力な阻害剤である。Sidky et al., Cancer Research 47:5155-5161 (1987)を参照。ヒトの組換え インターフェロン は、血管形成で誘導される疾患である、肺血管腫症の処置に良好に使用されることが報告される。White et al., New England J. Med. 320:1197-1200 (1989)を参照。

30

【 0 0 1 3 】

血管形成を阻害するのに使用された他の薬剤としては、アスコルビン酸エーテル及び関連化合物がある。特開昭58-131978号公報を参照。硫酸化ポリサッカライドDS 4152はまた、血管形成の阻害を示す。特開昭63-119500号公報を参照。真菌産物である、フマギリンは、インビトロにおける強力な血管抑制剤(angiostatic agent)である。この化合物は、インビボでは毒性があるが、合成誘導体である、AGM 12470は、コラーゲンIIの関節炎を処置するのにインビボで使用されてきた。フマギリン及びO-置換フマギリン誘導体はEPO公報番号0325199A2及び0357061A1に開示される。

40

【 0 0 1 4 】

米国特許第5,874,081号では、Parishが、血管形成を阻害するためのモノクローナル抗体の使用を示唆する。WO 92/12717号では、Brem et al.が、あるテトラサイクリン、特にミノサイクリン、クロルテトラサイクリン、デメクロサイクリン及び

50

リメサイクリンが血管形成の阻害剤として有用であることを示唆する。Cancer Research 51, 672-675, Jan. 15, 1991では、Brem et al.は、ミノサイクリンがヘパリンとコルチゾンとの組み合わせによる治療に匹敵する程度にまで血管形成を阻害することを示唆する。Cancer Research 52, 6702-6704, Dec. 1, 1992では、Teicher et al.は、抗血管形成剤であるミノサイクリンを癌の化学療法または放射線療法と組み合わせて使用すると転移の抗血管形成剤が減少して腫瘍の成長が抑制され転移の数が減少することを示唆する。

【0015】

体のすべての様々な細胞型が良性または悪性の腫瘍細胞中に形質転換されうる。最も頻度の高い腫瘍部位は肺であり、次に、結腸直腸、胸、前立腺、膀胱、膵臓さらに卵巣である。他の頻繁な型の癌としては、白血病、脳腫瘍等の中樞神経系癌、メラノーマ、リンパ腫、赤白血病、子宮癌、ならびに頭及び頸部の癌が挙げられる。

10

【0016】

癌は、現在、3種の治療法：外科手術、放射線及び化学療法の一または組み合わせで主として処置される。外科手術は、疾患組織の大きな部分を除去する。外科手術は、特定の部位、例えば、胸、結腸、及び皮膚に位置する腫瘍を除去するのに有効である場合もあるが、脊柱等の他の領域に位置する腫瘍の処置に、および白血病等の播種性腫瘍性症状の処置には使用できない。化学療法は、細胞の複製または細胞の代謝を破壊する。これは、白血病、さらには胸、肺、及び精巣癌の処置に最も頻繁に使用される。

【0017】

癌の処置に現在使用される化学療法剤には以下の5つの主要な群がある：天然物及びその誘導体；アントラサイクリン類(anthracyclines)；アルキル化剤；増殖防止剤(antiproliferatives)（代謝拮抗剤とも称する）；ならびにホルモン剤。

20

【0018】

化学療法剤は、しばしば、抗腫瘍剤とも称される。アルキル化剤は、DNAのグアニン及び恐らく他の塩基をアルキル化および架橋して、細胞分裂を阻止することによって作用すると考えられる。具体的なアルキル化剤としては、ナイトロジェンマスタード、エチレンイミン化合物、アルキルスルフェート、シスプラチン、及び様々なニトロソウレアが挙げられる。これらの化合物による欠点は、これらが悪性細胞のみでなく、骨髄、皮膚、胃腸粘膜、及び胎児組織の細胞等の、自然に分裂している他の細胞をも攻撃することである。代謝拮抗剤は、概して、可逆性の若しくは不可逆性の酵素阻害剤、または核酸の複製、翻訳若しくは転写を妨げる化合物である。

30

【0019】

抗癌活性を発揮する様々な合成ヌクレオシドが同定されてきた。強力な抗癌活性を有する既知のヌクレオシド誘導体としては、5-フルオロウラシルがある。5-フルオロウラシルは、例えば、癌腫、肉腫、皮膚癌、消化器官の癌、及び乳癌等の、悪性腫瘍の処置に臨床で使用されてきた。しかしながら、5-フルオロウラシルは、悪心、脱毛、下痢、口内炎、白血球血小板減少(leukocytic thrombocytopenia)、食思不振、色素沈着、及び浮腫等の重篤な副作用を生じる。抗癌活性を有する5-フルオロウラシルの誘導体は、米国特許第4,336,381号に、ならびに日本の特許公報50-50383号、50-50384号、50-64281号、51-146482号、及び53-84981号に記載される。米国特許第4,000,137号には、メタノールまたはエタノールによるイノシン、アデノシン、またはシチジンのペルオキシダーゼ酸化産物がリンパ球性白血病に対する活性を有することが開示される。

40

【0020】

シトシンアラビノシド(シタラピン、araC、及びシトサー(Cytosar)とも称する)は、1950年に最初に合成され、1963年に臨床医学に導入されたデオキシシチジンのヌクレオシド類似体である。これは、現在、急性の骨髄球性白血病の処置における重要な薬剤である。これはまた、急性のリンパ球性白血病に対して活性を有し、より小さな効果ではあるが、慢性の骨髄球性白血病及び非悪性リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma)で有用である。araCの主な作用は核DNA合成の阻害である。Handschumacher, R. and Che

50

ng, Y., "Purine and Pyrimidine Antimetabolites", Cancer Medicine, Chapter XV-1, 3<sup>rd</sup> Edition, Edited by J. Holland, et al., Lea and Febigol, publishers. 5 - アザシチジンは、急性の骨髄球性白血病及び脊髄形成異常症候群の処置に主に使用されるシチジン類似体である。

【 0 0 2 1 】

2 - フルオロアデノシン - 5' - ホスフェート(2-fluoroadenosine-5'-phosphate)(フルダラ(Fludara)、F a r a Aとも称される)は、慢性のリンパ球性白血病の処置における最も活性のある薬剤の一つである。この化合物はDNA合成を阻害することによって作用する。F - a r a Aによる細胞の処理は、G1 / S相の境界での及びS相における細胞の蓄積に関連する；ゆえに、これは細胞周期のS相に特異的な薬剤である。活性代謝産物、F - a r a A T Pの導入により、DNA鎖の伸長が遅延する。F - a r a Aはまた、d A T Pの形成に応答性のあるキー酵素である、リボヌクレオチドレダクターゼの強力な阻害剤である。2 - クロロデオキシアデノシンは、慢性のリンパ球性白血病、非悪性リンパ腫、及び有毛状細胞性白血病等のグレードの低いB細胞新生物の処置に有用である。活性のスペクトルはフルダラ(Fludara)のものと同様である。この化合物は、成長細胞中のDNA合成を阻害し、休止細胞中のDNAの修復を阻害する。

10

【 0 0 2 2 】

数多くの化学療法剤が同定され、現在、癌の処置に使用されているものの、有効であり、健常細胞には低い毒性を示す新規な薬剤が探求されている。

【 0 0 2 3 】

T N F はまた、喘息及び他の慢性肺炎(pulmonary inflammatory disease)の分野でも役割を果たす。シリカ粒子の沈着は、線維の反応によって生じる進行性の呼吸不全の病気である、珪肺症を引き起こす。T N F に対する抗体で予め処置することにより、マウスにおいてシリカで誘導される肺線維症(lung fibrosis)をほとんど完全に阻止した[Pignet et al., Nature, 344, 245-247 (1990)]。(血清における及び単離されたマクロファージにおける)高レベルのT N F の産生が、シリカおよびアスベストで誘導された線維症の動物モデルで示された[Bissonnette et al., Inflammation 13(3), 329-339 (1989)]。また、肺のサルコイドーシスの患者からの肺胞のマクロファージが、正常なドナーからのマクロファージに比して大量のT N F を常時放出していることが見出された[Baughman et al., J. Lab. Clin. Med. 115(1), 36-42 (1990)]。

20

【 0 0 2 4 】

T F N はまた、再灌流(reperfusion)後に起こる炎症性の応答、いわゆる再灌流損傷(reperfusion injury)にも関連しており、血流の損失後の組織損傷の主な原因である[Vedder et al., PNAS 87, 2643-2646 (1990)]。また、組織の損傷としては、外科手術による傷及び炎症、心臓移植後の問題、系統的な炎症反応症候群、ならびに多臓器機能不全症候群が挙げられる。T N F はまた、内皮細胞の性質を変え、組織因子である凝血促進剤の活性(pro-coagulant activity)の向上や抗凝血物質であるプロテインC経路の抑制ならびにトロンボモジュリン(thrombomodulin)の発現のダウンレギュレーションなどの、種々の凝血促進活性を有している[Sherry et al., J. Cell Biol. 107, 1269-1277 (1988)]。T N F は、(炎症の初期段階中の)早期の産生と共に、以下に限られないが、心筋梗塞、発作及び循環ショック(circulatory shock)などの、様々な重要な疾患における組織の損傷のメディエータとなりうる炎症促進(pro-inflammatory)活性を有している。内皮細胞上の細胞間接着分子(intercellular adhesion molecule) ( I C A M ) または内皮性白血球接着分子(endothelial leukocyte adhesion molecule) ( E L A M ) 等の、接着分子のT N F により誘導された発現が、特に重要である[Munro et al., Am. J. Path. 135(1), 121-132 (1989)]。

30

40

【 0 0 2 5 】

抗T N F モノクローナル抗体によるT N F の遮断は、リウマチ様関節炎で有効であることが示された[Elliot et al., Int. J. Pharmac. 1995 17(2), 141-145]。高レベルのT N F は、クローン病と関連があり[von Dullemen et al., Gastroenterology, 1995 1

50

09(1), 129-135]、TNF 抗体による処置により臨床的な利益が達成された。

【0026】

米国特許第5,231,024号ではMoellerは、ヒトの腫瘍壊死因子(TNF)に対して非常に特異的なモノクローナル抗体(mAb)を合成するハイブリドーマ細胞系を記載する。米国特許第4,870,163号ではRubinは、ヒトの腫瘍壊死因子に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ系を記載する。米国特許第5,436,154号ではBarbantiは、TNF に対する抗体及び、恐らくTNF に対する抗体もまた、これらのポリペプチドが病原効果を示す上記疾患の状態に治療上有用でありうることを示唆した。治療上有用にするためには、TNF に対する抗体はインビボでTNF の毒性効果を中和できなければならない。ポリクローナル抗体は、過剰免疫された動物の血清から容易に得られる。しかしながら、これらのポリクローナル抗体製剤は、TNF を中和しない抗体を含む抗体の混合物であり、同じエピトープに対して異なる親和性を有する異なる抗体を含む抗体の混合物であり、さらにロット間での変動により力価という点で標準化することが困難であるため、インビボで使用するには最適ではない。

10

【0027】

さらに、TNF はHIV-1の活性化等のレトロウィルスの複製の強力な活性化因子であることが知られている[Duh et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 86, 5974-5978 (1989); Poli et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 87, 782-785 (1990); Monto et al., Blood 79, 2670 (1990); Clouse et al., J. Immunol. 142, 431-438 (1989); Poli et al., AIDS Res. Hum. Retrovirus, 191-197 (1992)]。エイズ(AIDS)は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)によるTリンパ球の感染から生じる。HIVの少なくとも三つのタイプないし菌株が、すなわちHIV-1、HIV-2及びHIV-3が同定されている。HIV感染の結果、T細胞が仲介する免疫性が侵され、感染患者は重篤な日和見感染および/または異常な新生物が現われる。Tリンパ球へのHIVの侵入にはTリンパ球の活性化が必要である。HIV-1やHIV-2等の他のウィルスは、T細胞の活性化後にTリンパ球に感染し、このようなウィルスタンパク質の発現および/または複製は、このようなT細胞の活性化により仲介または維持される。一度活性化Tリンパ球がHIVで感染されると、Tリンパ球はHIV遺伝子の発現および/またはHIVの複製ができるように活性化状態で維持され続けなければならない。サイトカイン類、特にTNF は、Tリンパ球の活性化を維持する役割を担うことにより活性化されたT細胞が仲介するHIVタンパク質の発現および/またはウィルスの複製に関係がある。したがって、HIVに感染した患者においてサイトカイン、特にTNF の産生を防止(prevention)または阻害(inhibition)することによる等のサイトカイン活性の干渉によって、HIV感染により生じるTリンパ球の維持の制限が促進される。

20

30

【0028】

単核細胞、マクロファージ、およびクッパー細胞や膠細胞等の関連細胞もまたHIV感染の維持にかかわっている。これらの細胞は、T細胞と同様、ウィルスの複製の標的であり、ウィルスの複製のレベルは細胞の活性化状態に依存する[Rosenberg et al., The Immunopathogenesis of HIV Infection, Advances in Immunology, 57 (1989)]。TNF などのサイトカイン類は、単核細胞および/またはマクロファージにおいてHIVの複製を活性化することが示されている[Poli et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 87, 782-784 (1990)]ため、サイトカインの産生または活性の防止ないし阻害は、T細胞に関するHIVの進行を制限するのを補助する。さらなる研究によって、インビトロ(in vitro)におけるHIVの活性化における共通因子としてTNF が同定され、さらに、細胞の細胞形質において発見された核の調節タンパク質を介した作用の明確な機構が得られた(Osborn, et al., PNAS 86 2336-2340)。この証拠から、TNF 合成の抑制が、転写、即ち、ウィルスの産生を減少させることによる、HIV感染における抗ウィルス効果を有することが示唆される。

40

【0029】

T細胞及びマクロファージ系における潜在HIV(latent HIV)のAIDSウィルスの複製

50

は、TNF により誘導されうる[Folks et al., PNAS 86, 2365-2368 (1989)]。ウイルスが誘導する活性に関する分子機構が、TNF が細胞の細胞形質中に見出された遺伝子調節タンパク質(NF B)を活性化することができることにより示唆され、この遺伝子調節タンパク質はウイルスの調節遺伝子配列(LTR)への結合を介してHIVの複製を促進する[Osborn et al., PNAS 86, 2336-2340 (1989)]。AIDSが関連する悪液質におけるTNFは、血清中のTNFの上昇および患者からの抹消血の単核細胞における高レベルの任意のTNFの産生により示唆される[Wright et al., J. Immunol. 141(1), 99-104 (1988)]。TNFは、HIV患者の小胞子虫症(HIV患者の慢性の下痢の原因)及び口のアフタ性潰瘍に影響を及ぼす。TNFは、前記と同様の理由により、サイトメガロウイルス(CMV)、インフルエンザウイルス、アデノウイルス及びヘルペス科のウイルス等の、他のウイルスによる感染による種々の役割に関連がある。

10

## 【0030】

核因子 B(nuclear factor B)(NF B)は、多面転写活性化因子(pleiotropic transcriptional activator)である(Lenardo, et al., Cell 1989, 58, 227-29)。NF Bは、種々の疾患および炎症状態における転写活性化因子として考えられており、以下に限定されるものではないがTNF等のサイトカインレベルを調節し、HIVの転写の活性化因子でもあると考えられている(Dbaibo, et al., J. Biol. Chem. 1993, 17762-66; Duh et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 1989, 86, 5974-78; Bachelierie et al., Nature 1991, 350, 709-12; Boswas et al., J. Acquired Immune Deficiency Syndrome 1993, 6, 778-786; Suzuki et al., Biochem. And Biophys. Res. Comm. 1993, 193, 277-83; Suzuki et al., Biochem. And Biophys. Res Comm. 1992, 189, 1709-15; Suzuki et al., Biochem. Mol. Bio. Int. 1993, 31(4), 693-700; Shakhov et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990, 171, 35-47;及びStaal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990, 87, 9943-47)。したがって、NF B結合の阻害は、サイトカイン遺伝子の転写を調節でき、このような修飾や他の機構を介して、多くの病気の状態を阻害するのに有効である。本明細書中に記載される化合物は、核内のNF Bの作用を阻害でき、これにより以下に限定されるものではないがリウマチ様関節炎、リウマチ様脊椎炎、変形性関節症、その他の関節炎症、敗血症性ショック、敗血症、内毒素性ショック、移植片対宿主反応、るいそう、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、全身性紅斑性狼瘡、結節性紅斑らい(ENL in leprosy)、HIV、AIDS、及びAIDSにおける日和見感染等の様々な病気の治療に有用である。TNFおよびNF Bのレベルは、相互的フィードバックループ(reciprocal feedback loop)の影響を受ける。前述したように、本発明の化合物は、TNFおよびNF Bの両者のレベルに影響を与える。もちろん、レベルとは、活性レベルさらには濃度レベルまたは絶対レベルを意味する。

20

30

## 【0031】

多くの細胞機能は、アデノシン3', 5'-環状一リン酸(cAMP)のレベルによって仲介される。このような細胞機能は、喘息、炎症等の炎症性の症状(condition)及び病気、並びに他の症状の原因となりうる(Lowe and Cheng, Drugs of the Future, 17(9), 799-807, 1992)。炎症性白血球におけるcAMPの上昇はその活性化及びその後生じるTNF及びNF B等の炎症メディエーターの放出を阻害することが示された。また、cAMPレベルの増加はまた、気道の平滑筋の弛緩をも引き起こす。ホスホジエステラーゼは加水分解を介してcAMPレベルを制御し、ホスホジエステラーゼの阻害剤はcAMPレベルを増加させることが示された。

40

## 【0032】

したがって、TNFレベルの減少および/またはcAMPレベルの増加は、多くの炎症性、感染性、免疫性、及び悪性疾患の処置を目的とする有益な治療ストラテジーを構成する。これらとしては、以下に制限されるものではないが、敗血症性ショック、敗血症、内毒素性ショック、乏血性ショック(hemodynamic shock)や敗血症候群(sepsis syndrome)、後乏血性再灌流障害(post ischemic reperfusion injury)、マラリア、ミコバクテリア感染症、髄膜炎、乾癬、うつ血性心不全、線維症(fibrotic disease)、悪液質、移植片の拒

50

絶反応(graft rejection)、癌、自己免疫疾患、A I D Sにおける日和見感染、リウマチ様関節炎、リウマチ様脊椎炎、変形性関節症、その他の関節炎症、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、全身性紅斑性狼瘡、結節性紅斑らい(ENL in leprosy)、放射線による損傷(radiation damage)、および肺胞の損傷が挙げられる。従来、T N F の影響を抑制するための努力は、デキサメタゾンやプレドニゾロン等のステロイド剤の使用からポリクローナル及びモノクローナル抗体双方の使用までの範囲であった{Beutler et al., Science 234, 470-474 (1985); W O 9 2 / 1 1 3 8 3号}。

【0033】

詳細な説明

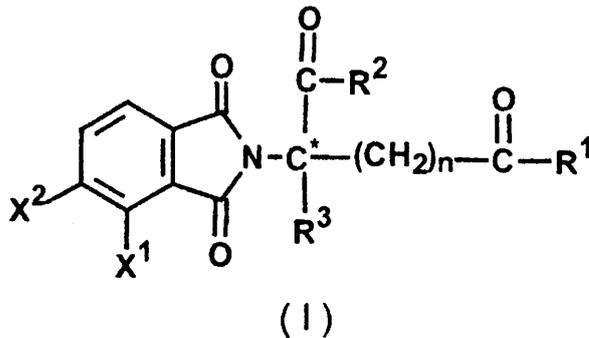
本発明は、本明細書中でより詳細に記載される特定の非ポリペプチド化合物群がT N F のレベルを減少し、c A M Pレベルを増加し、血管形成を阻害し、腫瘍の成長を阻害し、さらに炎症性サイトカインを阻害するという発見に基づくものである。したがって、本発明は、イソインドリン環の4位または5位で置換された1 - オキソ - インドリン類及び1, 3 - ジオキソインドリン類、このような誘導体の投与による哺乳動物における腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor )及び他の炎症性サイトカイン類のレベルを減少する方法、ならびにこのような誘導体を含む薬剤組成物に関するものである。インビボで、インビトロで、及び飲料に適する培地中でT N F レベルを減少するおよび/またはc A M Pレベルを増加するおよび/または血管形成を阻害することにより、有益な治療ストラテジーが得られる。

【0034】

特に、本発明は、( a ) 下記式：

【0035】

【化3】



【0036】

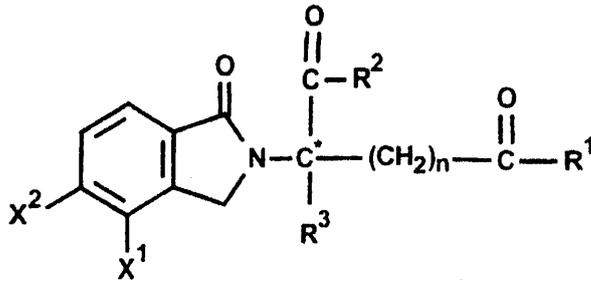
式中、C\*と称される炭素原子は、( n が0でなく、R<sup>1</sup>がR<sup>2</sup>と同一ではない際には ) キラルの中心を構成し；X<sup>1</sup>及びX<sup>2</sup>の一方は、アミノ、ニトロ、1～6炭素のアルキル、またはNH - Zであり、かつX<sup>1</sup>またはX<sup>2</sup>の他方は水素であり；R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>のそれぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたはNH - Zであり；R<sup>3</sup>は、水素、1～6炭素のアルキル、ハロゲン、またはハロアルキルであり；Zは、水素、アリール、1～6炭素のアルキル、ホルミル、または1～6炭素のアシルであり；およびnは、0、1、または2の値であり；この際、X<sup>1</sup>がアミノであり、かつnが1または2である場合には、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は双方ともヒドロキシルではない、を有する1, 3 - ジオキソイソインドリン；

( b ) 式Iの塩；

( c ) 下記式：

【0037】

【化4】



(II)

## 【0038】

式中、C<sup>\*</sup>と称される炭素原子は、nが0でなく、R<sup>1</sup>がR<sup>2</sup>ではない際にキラルの中心を構成し；X<sup>1</sup>及びX<sup>2</sup>の一方は、アミノ、ニトロ、1～6炭素のアルキル、またはNH-Zであり、かつX<sup>1</sup>またはX<sup>2</sup>の他方は水素であり；R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>のそれぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたはNH-Zであり；R<sup>3</sup>は、1～6炭素のアルキル、ハロゲン、または水素であり；Zは、水素、アリール、または1～6炭素のアルキル若しくはアシルであり；およびnは、0、1、または2の値である；

を有する1-オキソイソインドリン；

(d)式IIの塩；

に関するものである。

## 【0039】

特記しない限り、アルキル基ということばは、1～6個の炭素原子を含む1価の飽和分岐鎖または直鎖の炭化水素鎖を意味する。このようなアルキル基の代表例としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、及びtert-ブチルが挙げられる。アルコキシ基は、エーテル性酸素原子を介して分子の残りに結合するアルキル基を意味する。このようなアルコキシ基の代表例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、及びtert-ブトキシが挙げられる。ハロゲンとしては、臭素、塩素、フッ素及びヨウ素が挙げられる。

## 【0040】

式I及び式IIの塩としては、プロトン化されうる窒素原子を含む置換1-オキソイソインドリン類及び置換1,3-ジオキソイソインドリン類のカルボン酸塩及び酸付加塩が挙げられる。

## 【0041】

式I及び式IIの化合物は、適任の専門家の監督下で、TNFならびにIL-1、IL-6、及びIL-12などの他の炎症性サイトカイン類の望ましくない作用を阻害するのにおよび/または望ましくない血管形成及び腫瘍の成長を処置するのに使用される。本化合物は、処置；例えば、癌、リウマチ様関節炎、炎症性腸疾患、筋ジストロフィー、クローン病等の処置を必要とする哺乳動物に、単独であるいは抗生物質、ステロイド、化学療法剤等の他の治療剤と組み合わせて、経口で、直腸内に(rectally)、または非経口的に投与できる。

## 【0042】

本発明の化合物はまた、それぞれ、ヘルペスウイルスによって引き起こされる感染症等のウイルスによる感染症、ウイルス性結膜炎、乾癬、アトピー性皮膚炎などの、過剰なTNFの産生または炎症が仲介するまたはにより悪化される病気の状態の処置または予防に局所的に使用されてもよい。

## 【0043】

本化合物はさらに、TNFの産生を予防(prevention)または阻害(inhibition)する必要のあるヒト以外の哺乳動物の獣医学的な処置にも使用できる。動物の治療または予防のための処置に関するTNFが仲介する病気としては、上記したような病気の状態(state)

10

20

30

40

50

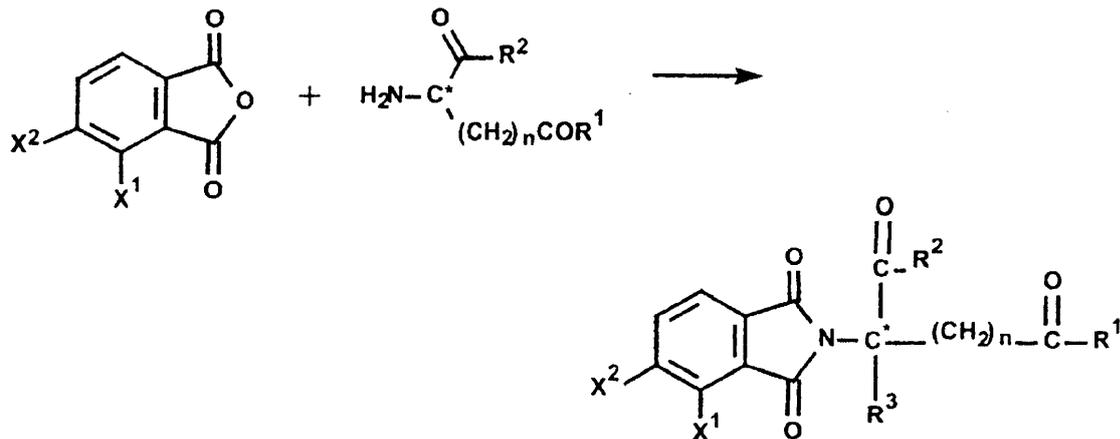
があるが、特にウイルスによる感染症が挙げられる。例としては、ネコの免疫不全ウイルス(feline immunodeficiency virus)、ウマ伝染性貧血ウイルス(equine infectious anaemia virus)、ヤギ関節炎ウイルス(caprine arthritis virus)、ビスナウイルス(visna virus)、及びレトロウイルス(maedi virus)、さらには他のレンチウイルス(lentivirus)が挙げられる。

【0044】

式Iの化合物は、数多くの経路を介して容易に調製される。第一の実施態様によると、グルタミン酸、グルタミン、イソグルタミン、アスパラギン酸、アスパラギン、またはイソアスパラギンを、4または5位でさらに置換される1,3-ジオキソ-イソベンゾフラン等の置換無水フタル酸と反応させる：

【0045】

【化5】



【0046】

この際、C\*と称される炭素原子は、nが0でなく、R<sup>1</sup>がR<sup>2</sup>でない際には、キラルの中心を構成し；X<sup>1</sup>及びX<sup>2</sup>の一方は、アミノ、ニトロ、1～6炭素のアルキル、またはNH-Zであり、かつX<sup>1</sup>またはX<sup>2</sup>の他方は水素であり；R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>のそれぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたはNH-Zであり；R<sup>3</sup>は、1～6炭素のアルキル、ハロゲン、または水素であり；Zは、水素、アリール、または1～6炭素のアルキルであり；およびnは、0、1、または2の値であり；この際、X<sup>1</sup>がアミノであり、かつnが1または2である場合には、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はヒドロキシル以外である。置換N-カルボエトキシフタルイミド類(N-carboethoxyphthalimides)（実施例1を参照）が無水物の代わりに使用してもよい。

【0047】

第二の実施態様によると、下記反応を用いて式Iの化合物を調製する：

【0048】

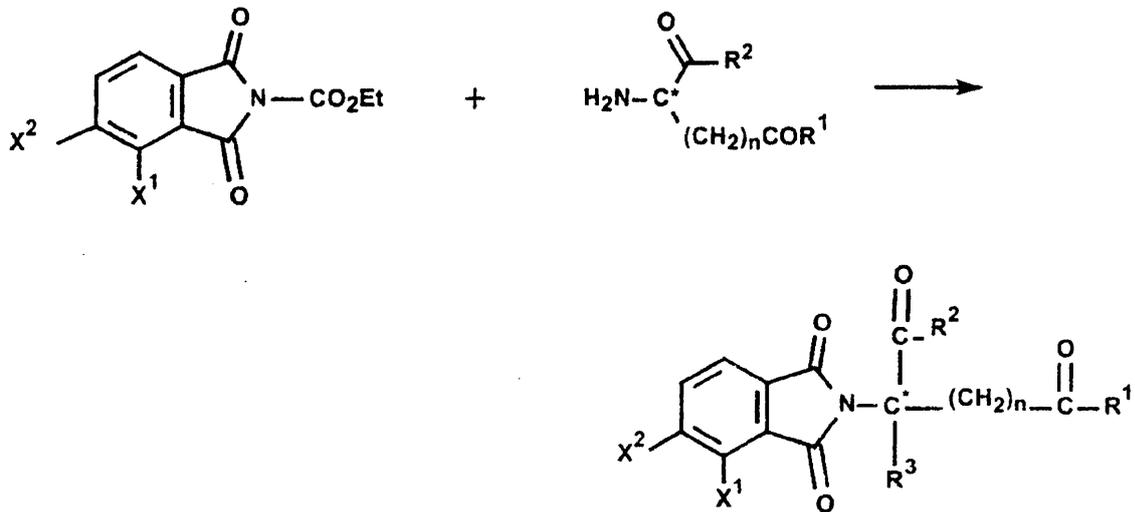
【化6】

10

20

30

40

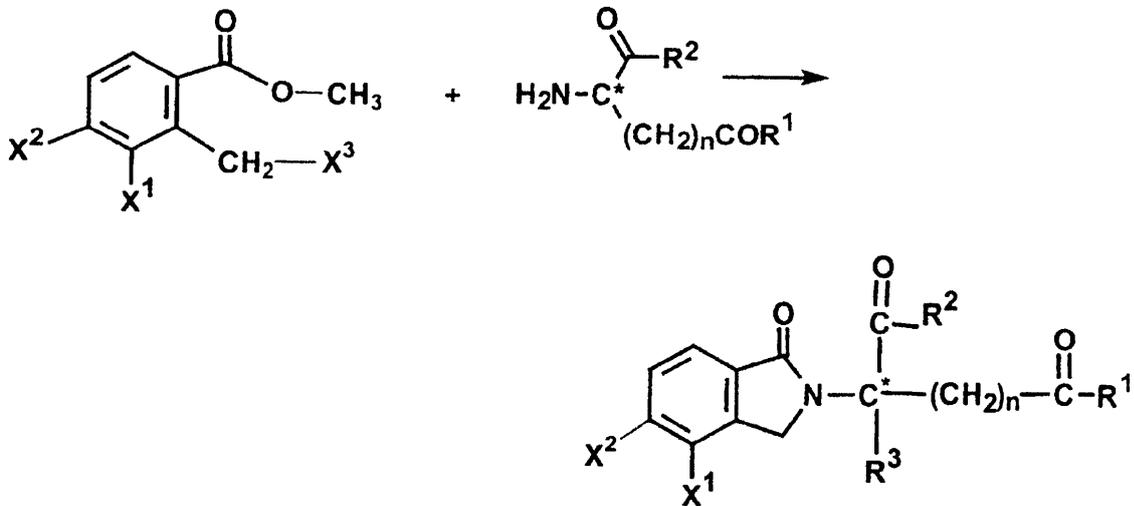


【 0 0 4 9 】

式 I I の化合物は、数多くの経路を介して容易に調製される。第一の実施態様によると、グルタミン酸、グルタミン、イソグルタミン、アスパラギン酸、アスパラギン、またはイソアスパラギンを、4 置換されたフェニル (tetra-substituted phenyl) と反応させる：

【 0 0 5 0 】

【 化 7 】



【 0 0 5 1 】

この際、C\* と称される炭素原子は、n が 0 であり、R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> である際以外では、キラルの中心を構成し；X<sup>2</sup> は、アミノ、ニトロ、1 ~ 6 炭素のアルキル、または NH - Z であり；X<sup>3</sup> は、ハロゲンであり；R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> のそれぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたは NH - Z であり；R<sup>3</sup> は、1 ~ 6 炭素のアルキル若しくはアシル、ハロゲン、または水素であり；Z は、水素、アリール、または 1 ~ 6 炭素のアルキルであり；および n は、0、1、または 2 の値であり；この際、X<sup>1</sup> がアミノであり、かつ n が 1 または 2 である場合には、R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は双方ともヒドロキシルではない。

【 0 0 5 2 】

式 I I の化合物を調製する第二の実施態様によると、グルタミン酸、グルタミン、イソグルタミン、アスパラギン酸、アスパラギン、またはイソアスパラギンを、3 または 4 位で置換されるフタル酸ジアルデヒド (phthalic dialdehyde) と反応させる：

【 0 0 5 3 】

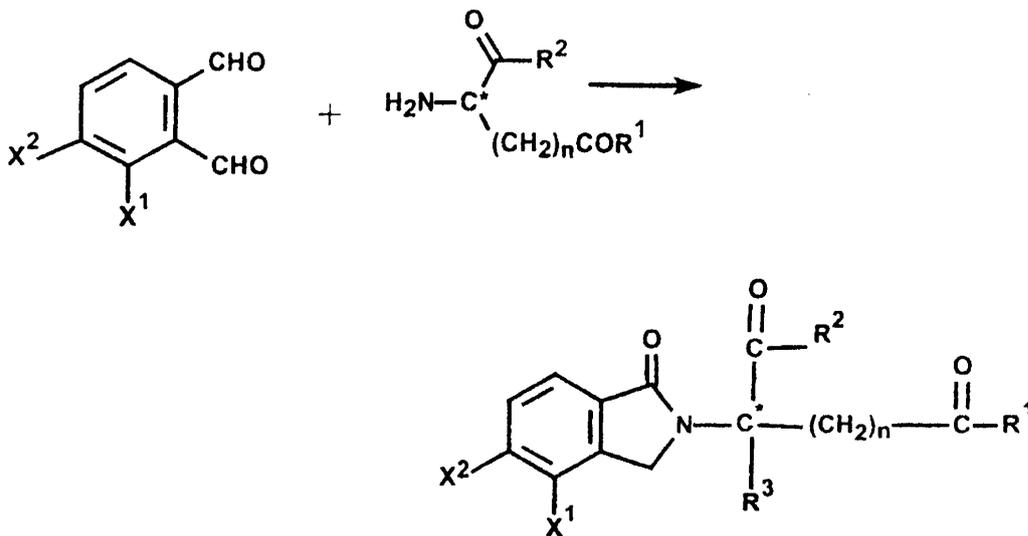
【 化 8 】

10

20

30

40



## 【 0 0 5 4 】

この際、C<sup>\*</sup>と称される炭素原子は、nが0でなく、R<sup>1</sup>がR<sup>2</sup>ではない際には、キラルの中心を構成し；X<sup>1</sup>及びX<sup>2</sup>の一方は、アミノ、ニトロ、1～6炭素のアルキル、またはNH-Zであり、かつX<sup>1</sup>またはX<sup>2</sup>の他方は水素であり；R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>のそれぞれは、相互に独立して、ヒドロキシルまたはNH-Zであり；R<sup>3</sup>は、1～6炭素のアルキル、ハロゲン、または水素であり；Zは、水素、アリール、または1～6炭素のアルキル若しくはアシルで基あり；およびnは、0、1、または2の値であり；この際、X<sup>1</sup>がアミノであり、かつnが1または2である場合には、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はヒドロキシル以外である。

## 【 0 0 5 5 】

式Iの化合物においてR<sup>3</sup>が結合している炭素原子は、nが0でなく、R<sup>1</sup>がR<sup>2</sup>と同一の基ではない際にキラル中心を構成しており、これにより光学的異性体を生じている。例えば、4～6炭素の分岐鎖のアルキル置換基において、これらの異性体の混合物及び分離された個々の異性体自体は双方とも、ならびに、第二のキラル中心が存在する際にはジアステレオマーは、本発明の概念に含まれる。ラセミ化合物はそのまま使用されてもまたはキラル吸収剤(chiral absorbent)を用いたクロマトグラフィー等により機械的に個々の異性体に分離されてもよい。または、個々の異性体を、立体選択的に調製してもよく、または樟脳-10-スルホン酸(10-camphorsulfonic acid)、樟脳酸、 $\alpha$ -ブロモ樟脳酸(alpha-bromocamphoric acid)、メトキシ酢酸、酒石酸、ジアセチル酒石酸(diacetyltartaric acid)、リンゴ酸、ピロリドン-5-カルボン酸等の個々の鏡像異性体などの、キラル酸(chiral acid)または塩基により塩を形成し、さらに、分解した塩基の一方または両方を遊離し、必要であれば上記工程を繰り返すことによって混合物から化学的に分離し、実質的に他方を含まない、すなわち、95%超の光学純度(optical purity)を有する形態で、一方または両方を得てもよい。

## 【 0 0 5 6 】

本発明はまた、プロトン化されうる基；例えば、アミノを有する式Iの化合物の生理学的に許容できる無毒な酸付加塩(acid addition salt)に関するものである。このような塩としては、以下に制限されるものではないが、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸、メタンスルホン酸、酢酸、酒石酸、乳酸、コハク酸、クエン酸、リンゴ酸、マレイン酸、ソルビン酸、アコニット酸、サリチル酸、フタル酸、エンボニックアシッド(embonic acid)、エナント酸などの、有機及び無機酸から誘導されるものが挙げられる。

## 【 0 0 5 7 】

本発明に包含される化合物の代表例としては、下記がある：2-(n-X-1,3-ジオキソインドリン-2-イル)グルタル酸；2-(n-X-1,3-ジオキソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸；4-(n-X-1,3-ジオキソイソ

10

20

30

40

50

インドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( n - X - 1 , 3 - ジオキソ  
 イソインドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( n - X - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン  
 - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( n - X - 1 , 3 - ジオキソイソイン  
 ドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( n - X - 1 - オキソイソイン  
 ドリン - 2 - イル) グルタル酸 ; 2 - ( n - X - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル )  
 - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( n - X - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) -  
 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( n - X - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) コハ  
 ク酸 ; 2 - ( n - X - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパ  
 ン酸 ; 及び 3 - ( n - X - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプ  
 ロパン酸、この際、n は 3 または 4 であり、および X は ニトロ、アミノ、N - メチルアミ  
 ノ、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、またはブチルである。

10

## 【 0 0 5 8 】

特定の例としては、下記が挙げられる : 2 - ( 3 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインド  
 リン - 2 - イル) グルタル酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2  
 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 3 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインド  
 リン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイ  
 ソインドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリ  
 ン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 3 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイ  
 ソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 - オキ  
 ソイソインドリン - 2 - イル) グルタル酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリ  
 ン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 3 - ニトロ - 1 - オキソイソインド  
 リン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 - オキソイソイン  
 ドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( 3 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル  
 ) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 3 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 -  
 イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインド  
 リン - 2 - イル) オディピック酸(odipic acid) ; 2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソ  
 イソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 -  
 ジオキソイソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 4 - ニトロ -  
 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジ  
 オキソイソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 4 - ニトロ -  
 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 4  
 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) グルタル酸 ; 2 - ( 4 - ニトロ - 1 -  
 オキソイソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 4 - ニトロ - 1  
 - オキソイソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 4 - ニトロ -  
 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソ  
 インドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソ  
 イソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 3 - アミノ - 1 , 3 -  
 ジオキソイソインドリン - 2 - イル) グルタル酸 ; 2 - ( 3 - アミノ - 1 , 3 - ジオキソ  
 イソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 3 - アミノ - 1 , 3 -  
 ジオキソイソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 3 - アミノ -  
 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( 3 - アミノ - 1 , 3 - ジ  
 オキソイソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 3 - アミノ -  
 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 3  
 - アミノ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) グルタル酸 ; 2 - ( 3 - アミノ - 1 -  
 オキソイソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 3 - アミノ - 1  
 - オキソイソインドリン - 2 - イル) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 3 - アミノ -  
 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル) コハク酸 ; 2 - ( 3 - アミノ - 1 - オキソイソ  
 インドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 3 - アミノ - 1 - オキソ  
 イソインドリン - 2 - イル) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 4 - アミノ - 1 , 3 -  
 ジオキソイソインドリン - 2 - イル) オディピック酸(odipic acid) ; 2 - ( 4 - アミノ

20

30

40

50







リン - 2 - イル) オディピック酸(odipic acid) ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 4 - ブチル - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) コハク酸 ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 3 - ( 4 - ブチル - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) グルタル酸 ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 4 - ( 4 - ブチル - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸 ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) コハク酸 ; 2 - ( 4 - ブチル - 1 - オキソイソイ  
10  
ンドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ; 及び 3 - ( 4 - ブチル - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸。

【 0 0 5 9 】

これらの化合物は、癌の処置、免疫賦活剤、血管形成の阻害、及び本明細書中に列挙される他の用途に使用できる。経口投与形態としては、単位服用量(unit dosage)当たり 1 ~ 1 0 0 m g の薬剤を含む錠剤、カプセル、糖剤、及び同様の形状の圧縮された薬剤形態(c  
ompressed pharmaceutical form)などが挙げられる。2 0 ~ 1 0 0 m g / m L を含む等張生理食塩水(isotonic saline solution)を、筋肉内、鞘内、静脈内及び動脈内投与経路な  
20  
どの腸管外投与を目的として使用してもよい。直腸内投与は、カカオバター等の既知の担体から配合された坐薬を使用することによって行うことができる。

【 0 0 6 0 】

したがって、薬剤組成物は、一以上の式 I 及び I I の化合物ならびに少なくとも一の製薬上許容できる担体、希釈剤または賦形剤とを組み合わせる。このような組成物を調製するにあたっては、活性成分は、一般的には、賦形剤と混合する若しくは賦形剤で希釈するまたはカプセル若しくは小さい袋(sachet)の形態を有しうるこのような担体内に封入される。賦形剤が希釈剤として機能する場合には、賦形剤は活性成分のベヒクル(vehicle)、担体、または媒質として作用する固体、半固体、または液状材料であってもよい。したがって、本組成物は、錠剤、ピル、粉末、エリキシル、懸濁液、乳濁液、溶液、シロップ、軟質及び硬質ゼラチンカプセル、坐剤、滅菌注射溶液ならびに滅菌包装粉末(packaged  
30  
powder)の形態であってもよい。適当な賦形剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアゴム、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、シロップ、及びメチルセルロースなどが挙げられ、上記配合物はタルク、ステアリン酸マグネシウム及び鉱油等の潤滑剤、湿潤剤、乳化及び懸濁剤、ヒドロキシ安息香酸メチル及びプロピル(methyl- and propylhydroxybenzoate)等の防腐剤、甘味剤または着香料をさらに含んでもよい。

【 0 0 6 1 】

本組成物は、好ましくは単位剤形(unit dosage form)、即ち、ユニタリー投与量(unitary dosage)として適する物理的に離散した単位で、あるいはそれぞれのユニット(unit)が適当な薬剤賦形剤(pharmaceutical excipient)と連携して目的とする治療効果を奏するよう  
40  
に算出された所定量の活性材料を含む、ヒト患者及び他の哺乳動物に 1 回若しくは複数の薬剤投与計画で投与されるユニタリー投与量(unitary dosage)の所定の画分で配合される。本組成物は、当該分野において既知の方法を用いることによって患者に投与後に活性成分が即座に、一様にまたは遅延して放出されるように配合されてもよい。

【 0 0 6 2 】

T N F に関する酵素結合イムノソルベント検定法 ( E L I S A ) は公知のようにして行なわれる。P B M C は、フィコール - ハイパック密度遠心によって正常なドナーから単離される。細胞は、1 0 % A B + 血清、2 m M L - グルタミン、1 0 0 U / m L ペニシリン、及び 1 0 0 m g / m L ストレプトマイシンが補足される R P M I 中で培養される。薬剤をジメチルスルホキシド ( シグマケミカル (Sigma Chemical) 製 ) 中に溶解し、補足され  
50

たRPMIでさらに希釈する。PBMC懸濁液における薬剤の存在または不存在下での最終的なジメチルスルホキシド濃度は0.25wt%である。薬剤は、50mg/mLから出発して半-対数希釈(half-log dilution)で検定する。薬剤を、LPSを添加する1時間前に96穴プレート中でPBMC(10<sup>6</sup>細胞/mL)に添加する。薬剤の存在または不存在下でのPBMC(10<sup>6</sup>細胞/mL)を、サルモネラ ミネソタ アール595(*Salmonella minnesota R595*) (リスト バイオロジカル ラブス(List Biological Labs)、キャンベル、シーエー(Campbell, CA)製)由来のLPS 1mg/mLで処理することによって刺激する。次に、細胞を37℃で18~20時間インキュベートする。上清を集めて、即座にTNF レベルについて検定するあるいは検定するまで-70℃で(4日間以内)凍結し続ける。上清におけるTNF の濃度を、製造社の指示に従ってヒトTNF ELISAキット(エンドゲン(ENDOGEN)、ボストン、エムエー(Boston, MA)製)によって測定する。

10

## 【0063】

以下の実施例によって本発明をさらに詳しく説明するが、これらの実施例は本発明の概念を制限するものではなく、本発明の概念は添付の特許請求の範囲によってのみ定義されたと考えるべきである。

## 【0064】

## 実施例1

1-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸

20

水(50mL)におけるグルタミン酸(10ミリモル)及び炭酸ナトリウム(10.5ミリモル)の攪拌溶液に、4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-カルボキシレート(10ミリモル)を添加する。得られた混合物を3時間攪拌する。混合物を濾過する。次に、濾液を4Nの塩酸でpH1まで酸性にすることによって、1-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸を得る。

## 【0065】

## 実施例2

1-(4-メチル-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸

20mLの酢酸におけるグルタミン酸(10ミリモル)及び4-メチルフタル酸無水物(10ミリモル)の混合物を還流して加熱した。次に、冷却された反応液を真空中で濃縮する。残渣を酢酸エチル中でスラリー化し、得られたスラリーを濾過することによって、目的産物を得る。スラリー濾過の代わりとして、カラムクロマトグラフィーを用いて、目的産物を精製してもよい。

30

## 【0066】

## 実施例3

4-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸

酢酸におけるイソグルタミン(20ミリモル)及び3-ニトロフタル酸無水物(20ミリモル)の混合物を還流して加熱した。冷却した反応混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィーによって精製することによって、2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸を得る。

40

## 【0067】

## 実施例4

2-(4-メチル-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸

15mLの酢酸におけるグルタミン(10ミリモル)及び4-メチルイソベンゾフラン-1,3-ジオン(10ミリモル)の混合物を還流して加熱した。冷却した反応混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィーによって精製することによって、2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸を得る。

50

## 【 0 0 6 8 】

## 実施例 5

2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルブタン酸

1 5 m l の酢酸におけるアスパラギン ( 1 0 ミリモル ) 及び 3 - ニトロフタル酸無水物 ( 1 0 ミリモル ) の混合物を還流して加熱した。冷却した反応混合物を濃縮し、残渣を精製することによって、2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸を得る。

## 【 0 0 6 9 】

## 実施例 6

2 - ( 4 - アミノ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸

2 0 m l のジメチルホルムアミドにおける 2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸 ( 7 . 5 ミリモル ) 及び 1 0 % Pd / C ( 2 0 0 m g ) の混合物を、P a r r シェーカーで ( Parr Shaker ) で 6 0 p s i の水素で処理することによって、2 - ( 4 - アミノ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸を得る。

## 【 0 0 7 0 】

## 実施例 7

2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸

1 5 m l の酢酸におけるグルタミン ( 1 0 ミリモル ) 及び 3 - ニトロフタル酸無水物 ( 1 0 ミリモル ) の混合物を還流して加熱した。冷却した反応混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィーによって精製することによって、2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸を得る。

## 【 0 0 7 1 】

## 実施例 8

2 - ( 4 - アミノ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸

ジメチルホルムアミドにおける 2 - ( 4 - ニトロ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸 ( 5 ミリモル ) 及び 1 0 % Pd / C ( 2 5 0 m g ) の混合物を、P a r r 型シェーカーで ( Parr Type Shaker ) で 6 0 p s i の水素下で水素化することによって、2 - ( 4 - アミノ - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸を得た。

## 【 0 0 7 2 】

## 実施例 9

2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) グルタル酸

水 ( 5 0 m l ) におけるグルタミン酸 ( 1 0 ミリモル ) 及び炭酸ナトリウム ( 1 0 . 5 ミリモル ) の攪拌溶液に、4 - ニトロフタル酸無水物 ( 1 0 ミリモル ) を添加する。得られた混合物を 3 時間攪拌する。混合物を濾過する。次に、濾液を 4 N の塩酸で p H 1 まで酸性にすることによって、2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) グルタル酸を得る。

## 【 0 0 7 3 】

## 実施例 1 0

2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸

1 5 m l の酢酸におけるグルタミン ( 1 0 ミリモル ) 及び 4 - ニトロフタル酸無水物 ( 1 0 ミリモル ) の混合物を還流して加熱した。冷却した反応混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィーによって精製することによって、2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキソイソインドリン - 2 - イル ) - 4 - カルバモイルブタン酸を得る。

## 【 0 0 7 4 】

10

20

30

40

50

## 実施例 1 1

2 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) コハク酸

20 mL の酢酸におけるアスパラギン酸 ( 10 ミリモル ) 及び 4 - ニトロフタル酸無水物 ( 10 ミリモル ) の混合物を還流して加熱した。次に、冷却された反応液を真空中で濃縮する。残渣を酢酸エチル中でスラリー化し、得られたスラリーを濾過することによって、目的産物を得る。スラリー濾過の代わりとして、擬態移動ベッドクロマトグラフィー ( simulated moving bed chromatography ) を用いて、目的産物を精製してもよい。

【 0 0 7 5 】

## 実施例 1 2

3 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸

10

15 mL の酢酸におけるイソアスパラギン ( 10 ミリモル ) 及び 3 - ニトロフタル酸無水物 ( 10 ミリモル ) の混合物を還流して加熱した。冷却した反応混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィーによって精製することによって、3 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) - 3 - カルバモイルプロパン酸を得る。

【 0 0 7 6 】

## 実施例 1 3

1 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) プロパン - 1 , 3 - ジカルボン酸ジベンジルエステル

THF ( 50 mL ) におけるメチル 3 - ニトロ - 2 - ( ブロモメチル ) ベンゾエート ( 2 . 5 g 、 9 . 12 ミリモル ) 、 L - グルタミン酸ジベンジルエステル p - トルエンスルホン酸塩 ( 3 . 0 g 、 9 . 12 ミリモル ) 及びトリエチルアミン ( 2 . 0 g 、 20 . 0 ミリモル ) の混合物を、16 時間、還流して加熱した。この混合物を塩化メチレン ( 150 mL ) で希釈し、水 ( 2 × 40 mL ) 、ブライン ( 40 mL ) で洗浄し、乾燥し、油にまで濃縮する。この油をクロマトグラフィー ( シリカゲル、ヘキサン : エトキシ酢酸 = 7 : 3 ) によって精製することによって、1 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) プロパン - 1 , 3 - ジカルボン酸ジベンジルエステルを得る ( 2 . 65 g 、 59 % ) ; <sup>1</sup>H NMR ( CDCl<sub>3</sub> ) ( 8 . 39 ( d , J = 7 . 8 Hz , 1 H ) , 8 . 16 ( d , J = 7 . 3 Hz , 1 H ) , 7 . 69 ( t , J = 7 . 9 Hz , 1 H ) , 7 . 30 ( m , 10 H ) , 5 . 29 ( s , 2 H ) , 5 . 29 - 5 . 13 ( m , 1 H ) , 5 . 03 ( s , 2 H ) , 4 . 98 ( d , J = 19 . 1 Hz , 1 H ) , 4 . 85 ( d , J = 19 . 2 Hz , 1 H ) , 2 . 54 - 2 . 39 ( m , 4 H ) ; <sup>13</sup>C NMR ( CDCl<sub>3</sub> ) ( 171 . 79 , 169 . 92 , 166 . 72 , 143 . 47 , 137 . 25 , 135 . 49 , 135 . 04 , 134 . 99 , 130 . 17 , 129 . 67 , 128 . 62 , 128 . 52 , 128 . 29 , 128 . 25 , 128 . 23 , 127 . 04 , 67 . 49 , 66 . 58 , 53 . 70 , 48 . 35 , 30 . 87 , 24 . 79 )

20

30

【 0 0 7 7 】

## 実施例 1 4

1 - ( 4 - アミノ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) プロパン - 1 , 3 - ジカルボン酸

40

1 - ( 4 - ニトロ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) プロパン - 1 , 3 - ジカルボン酸ジベンジルエステル ( 2 . 6 g 、 5 . 3 ミリモル ) 、 10 % Pd / C ( 0 . 26 g ) 及びメタノール ( 50 mL ) の混合物を、6 時間、50 psi の水素で水素化する。この混合物をセライトで濾過し、セライトパッドをメタノール ( 50 mL ) で洗浄する。濾液を真空中で濃縮することによって、1 - ( 4 - アミノ - 1 - オキシソインドリン - 2 - イル ) プロパン - 1 , 3 - ジカルボン酸を得る ( 1 . 2 g 、 81 % ) ; 融点 183 ~ 185 °C ; <sup>1</sup>H NMR ( DMSO - d<sub>6</sub> ) ( 7 . 17 ( t , J = 7 . 6 Hz , 1 H ) , 6 . 89 ( d , J = 7 . 3 Hz , 1 H ) , 6 . 79 ( d , J = 7 . 8 Hz , 1 H ) , 5 . 50 ( b , 2 H ) , 4 . 82 - 4 . 77 ( m , 1 H ) , 4 . 23 ( s , 2 H ) , 2 . 31 - 1 . 98 ( m , 4 H ) ; <sup>13</sup>C NMR ( DMSO - d<sub>6</sub> ) ( 173 . 46 , 172 . 28 ,

50

168.98, 143.58, 132.21, 128.73, 125.65, 116.24, 110.34, 52.83, 45.19, 30.32, 24.42;  $C_{13}H_{14}N_2O_5$ に関する分析値; C, 56.11; H, 5.07; N, 10.07。実測値: C, 55.95; H, 5.37; N, 9.73。

## 【0078】

## 実施例15

1-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸

DMF (15 mL)における3-ニトロフタル酸無水物(1.5 g、7.77ミリモル)及びL-グルタミン酸(1.2 g、7.77ミリモル)を、85°Cで6時間、加熱する。この混合物を真空中で濃縮し、残渣をクロマトグラフィー(シリカゲル、 $CH_2Cl_2$ : $CH_3OH = 5:5$ )によって精製することによって、1-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸を得る(1.51 g、60%);  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (8.32 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 8.21 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.10 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 4.88-4.82 (dd,  $J = 3.0$  及び  $10.0$  Hz, 1H), 2.35-2.20 (m, 4H)。

10

## 【0079】

## 実施例16

1-(4-アミノ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸

メタノール(50 mL)における-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸(1.4 g、4.34ミリモル)及び10% Pd/C (0.14 g)の混合物を、50 psiの水素で2時間、水素化した。この混合物をセライトで濾過し、セライトパッドをメタノール(40 mL)で洗浄する。濾液を濃縮し、残渣を酢酸エチル(25 mL)及びヘキサン(20 mL)でスラリー化することによって、1-(4-アミノ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸を得る(1.02 g、80%); 融点 198~200°C;  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (7.46 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.02-6.97 (m, 2H), 6.49 (s, 2H), 4.72-4.68 (m, 1H), 2.38-2.20 (m, 4H);  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (173.60, 170.60, 168.90, 167.64, 146.64, 135.33, 132.03, 121.56, 110.89, 108.68, 50.56, 30.39, 23.76;  $C_{13}H_{12}N_2O_6$ に関する分析値: C, 53.43; H, 4.14; N, 9.59。実測値: C, 53.37; H, 4.41; N, 9.43。

20

30

## 【0080】

## 実施例17

2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸(40761-10)

DMF (15 mL)における3-ニトロフタル酸無水物(1.5 g、7.8ミリモル)及びL-グルタミン(1.14 g、7.8ミリモル)の混合物を、85~90°Cで4時間、加熱する。この混合物を真空中で濃縮し、残渣を水(30 mL)でスラリー化する。得られたスラリーを濾過し、固体を水(10 mL)で洗浄し、乾燥する(60°C、<1 mmHg)ことによって、2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸を得る(1.82 g、73%); 融点 182~184°C;  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (8.33 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 8.22 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 8.11 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 4.82-4.77 (dd,  $J = 4.6$  及び  $9.8$  Hz, 1H), 2.36-2.11 (m, 4H);  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (173.21, 170.03, 165.43, 162.75, 144.45, 136.70, 1

40

50

32.98, 128.83, 127.25, 122.52, 51.87, 31.31, 23.87; C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>に関する分析値: C, 48.60; H, 3.45; N, 13.08。実測値: C, 48.52; H, 3.28; N, 13.05。

【0081】

実施例18

2-(4-アミノ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸(40761-18)

メタノール(52 mL)における2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸(1.75 g、5.45ミリモル)及び10% Pd/C(0.2 g)の混合物を、50 psiの水素で2時間、水素化する。この混合物をセライトで濾過し、セライトパッドをメタノール(30 mL)で洗浄する。濾液を真空中で濃縮し、残渣を酢酸エチル(20 mL)で30分間、スラリー化する。得られたスラリーを濾過し、固体を酢酸エチル(10 mL)で洗浄し、乾燥する(60°C、< 1 mm Hg)ことによって、2-(4-アミノ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸を黄色の固体として得る(1.39 g、88%); 融点 165~167°C; <sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)(13.08(b, 1H), 7.46(t, J=7.8 Hz, 1H), 7.22(s, 1H), 7.02-6.97(dd, J=4.1及び5.5 Hz, 1H), 6.73(s, 1H), 6.51(s, 2H), 4.68-4.62(dd, J=4.5及び10.5 Hz, 1H), 2.50-1.99(m, 4H); <sup>13</sup>C NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)(173.07, 170.75, 168.88, 167.63, 146.66, 135.36, 132.03, 121.58, 110.87, 108.63, 50.74, 31.34, 24.03; C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>に関する分析値: C, 53.60; H, 4.50; N, 14.43。実測値: C, 53.71; H, 4.40; N, 14.31。

【0082】

実施例19

各々50 mgの1-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸を含む錠剤は以下のようにして調製できる:

【0083】

【表1】

構成成分(1000錠剤に対する)

1-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)プロパン-1,3-ジカルボン酸	50.0 g
ラクトース	50.7 g
小麦デンプン	7.5 g
ポリエチレングリコール6000	5.0 g
タルク	5.0 g
ステアリン酸マグネシウム	1.8 g
脱塩水	適量(q.s.)

【0084】

これらの固形成分をまず0.6 mmメッシュ幅の篩に強制的に通す(force)。次に、活性成分、ラクトース、タルク、ステアリン酸マグネシウム及びデンプンの半分を混合する。デンプンのもう半分を40 mLの水に懸濁し、この懸濁液を100 mLの水におけるポリエチレングリコールの煮沸溶液に添加する。得られたペーストを粉末状物質に加え、必要

であれば水を加えて、混合物を造粒する。この造粒物を35 で一晩乾燥し、1.2 mmメッシュ幅の篩に強制的に通し、圧縮して、両サイドが凹面状の約6 mm直径の錠剤を形成する。

## 【0085】

## 実施例20

各々100 mgの2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸を含むゼラチン乾燥充填カプセル(gelatin dry-filled capsule)は以下のようにして調製できる：

## 【0086】

## 【表2】

## 組成(1000錠剤に対する)

2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)- 4-カルバモイルブタン酸	100.0 g
微結晶性セルロース	30.0 g
ラウリル硫酸ナトリウム	2.0 g
ステアリン酸マグネシウム	8.0 g

10

20

## 【0087】

ラウリル硫酸ナトリウムを0.2 mmメッシュ幅の篩を通して2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸中に篩入れ、これらの2成分を10分間よく混合する。次に、微結晶性セルロースを0.9 mmメッシュ幅の篩を通して加え、全体を再度10分間よく混合する。最後に、ステアリン酸マグネシウムを0.8 mmメッシュ幅の篩を通して加え、さらに3分間混合した後、混合物をサイズ0の(伸長された)ゼラチン乾燥充填カプセル(size 0 (elongated) gelatin dry-fill capsule)中にそれぞれ140 mgずつ導入した。

## 【0088】

## 実施例21

0.2%注射用溶液は、例えば、以下のように調製できる：

## 【0089】

## 【表3】

2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4- カルバモイルブタン酸	5.0 g
塩化ナトリウム	22.5 g
リン酸緩衝液 pH 7.4	300.0 g
脱塩水	2500.0 mlまで

30

40

## 【0090】

2-(4-ニトロ-1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-4-カルバモイルブタン酸を1000 mlの水に溶解し、マイクロフィルターで濾過する。緩衝溶液を添加して、全量を水で2500 mlとする。単位服用量形態(dosage unit form)を調製するために、1.0または2.5 mL毎の分量をガラス製アンプル中に入れる(それぞれが2.0または5.0 mgのイミドを含有する)。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
 A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 0 5  
 A 6 1 P 43/00 1 1 1

(72)発明者 ミュラー, ジョージ, ダブリュー.  
 アメリカ合衆国, ニュージャージー州 0 8 8 0 7, ブリッジウォーター, ウィンドミル コート  
 2 5 0

(72)発明者 スターリング, デビッド  
 アメリカ合衆国, ニュージャージー州 0 8 8 7 6, ブランチバーグ, ラウンド ヒル ロード  
 3 2 8 1

審査官 鳥居 福代

(56)参考文献 米国特許第 0 5 4 6 2 0 6 3 ( U S , A )  
 特表平 0 8 - 5 0 7 7 6 7 ( J P , A )  
 JONSSON,N.A. , Chemical structure and teratogenic properties. I. Synthesis of some de  
 rivatives of 4-methylphthalic acid , Acta Pharmaceutica Suecica , 1 9 7 2 年 , Vol.9, No.  
 5 , p.425-430  
 SUN,K. et al. , The inhibitory effects of synthetic glutamine derivatives on the activi  
 ty of glutaminase in tumor tissues , Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao , 1 9 6 4 年  
 , Vol.4, No.5 , p.539-550  
 CASWELL,L.R. et al. , Nitrophthaloyl and aminophthaloyl derivatives of amino acids , Jou  
 rnal of Chemical and Engineering Data , 1 9 6 8 年 , Vol.13, No.2 , p.291-292

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)  
 C07D 209/00  
 A61K 31/33-33/44  
 A61P 1/00-43/00  
 CAplus/REGISTRY(STN)