

(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2006-506363

(P2006-506363A)

(43) 公表日 平成18年2月23日(2006.2.23)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07J 63/00 (2006.01)	C07J 63/00 CSP	4C086
A61K 31/56 (2006.01)	A61K 31/56	4C091
A61P 7/00 (2006.01)	A61P 7/00	
A61P 29/00 (2006.01)	A61P 29/00	
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 37 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2004-543854 (P2004-543854)	(71) 出願人	300066874
(86) (22) 出願日	平成15年4月23日 (2003.4.23)		ザ・ユニバーシティ・オブ・ブリティッシュ
(85) 翻訳文提出日	平成17年6月17日 (2005.6.17)		ユ・コロンビア
(86) 国際出願番号	PCT/CA2003/000571		カナダ国 V6T 1Z3 ブリティッシュ
(87) 国際公開番号	W02004/035601		ユ・コロンビア、バンクーバー、アグロノ
(87) 国際公開日	平成16年4月29日 (2004.4.29)		ミー ロード 103-6190、ユニバ
(31) 優先権主張番号	PCT/CA02/01550		ーシティーインダストリー リエゾン オ
(32) 優先日	平成14年10月17日 (2002.10.17)		フィス
(33) 優先権主張国	カナダ (CA)	(74) 代理人	100068526
			弁理士 田村 恭生
		(74) 代理人	100087114
			弁理士 齋藤 みの里
		(74) 代理人	100126778
			弁理士 品川 永敏

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 SHIP1 モデュレーター

(57) 【要約】

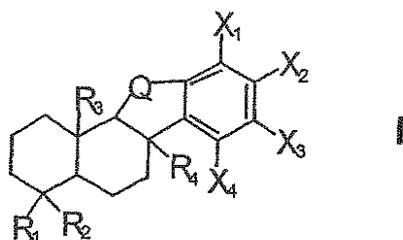
本発明は、SHIP1 活性のモデュレーターとしてのペロロール、その関連化合物およびその医薬組成物の使用を包含する。本発明はまた、SHIP1 活性をモデュレートすることのできる新規なテルペン化合物およびその合成法をも提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



10

(式中、

R_1 および R_2 は、それぞれ独立に、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OR'$ 、 $-CHO$ 、 $-CO_2H$ 、および $-CO_2R'$ よりなる群から選ばれる；

R_3 および R_4 は、それぞれ独立に、 H 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OR'$ 、 $-CHO$ 、 $-CO_2H$ 、および $-CO_2R'$ よりなる群から選ばれる；

Q は、 $-CH_2-$ 、 $-CY_1Y_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-CY_1Y_2CY_3Y_4-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH=CHCH_2-$ 、 $-CH=CHCY_1Y_2-$ および $-CY_1Y_2CY_3Y_4CY_5Y_6-$ (式中、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5

、および Y_6 は、それぞれ独立に、 H 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 OH 、 OR' 、および SH よりなる群から選ばれるか；または Y_1/Y_2 、 Y_3/Y_4 、および Y_5/Y_6 のいずれか一つの群が $=O$ であるか；または Y_1/Y_3 がエポキシドを形成し、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 、および Y_6 の少なくとも一つ (存在するときは) は H ではない) よりなる群から選ばれる炭素骨格である；

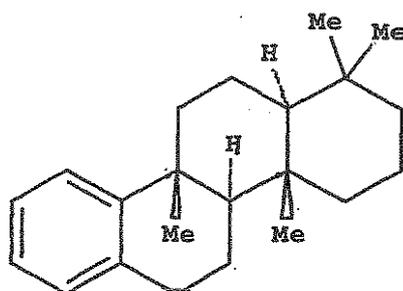
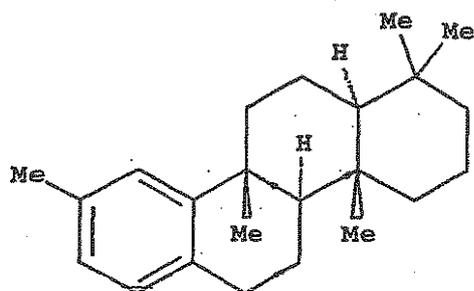
20

X_1 、 X_2 、 X_3 、および X_4 は、それぞれ独立に、 H 、 R 、 OH 、 $-OR$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R'$ 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 $-CN$ 、 $-SO_3H$ 、 $-OSO_3H$ 、 NO_2 、 NH_2 、 $-NHR$ 、および $-NR_2$ よりなる群から選ばれる (式中、 R は、置換されていないかまたは 1 またはそれ以上の置換基で置換された直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の 1 ~ 10 炭素原子アルキル基 (置換基は、 OH 、 $=O$ 、 SH 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 NH_2 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 NO_2 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R'$ 、およびエポキシド) である)；

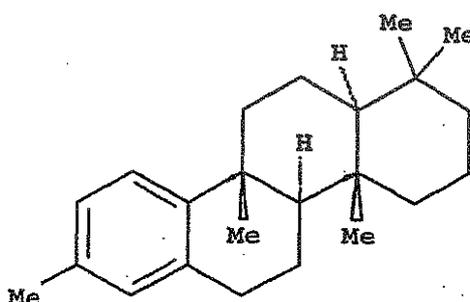
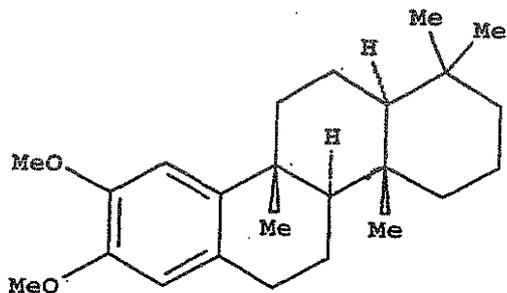
30

R' は、置換されていないかまたは 1 またはそれ以上の置換基で置換された直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の 1 ~ 10 炭素原子アルキル基 (置換基は、 OH 、 $=O$ 、 SH 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 NH_2 、 $-NHR''$ 、 $-NR''_2$ 、 NO_2 、および $-CO_2H$ (ここで R'' は、直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の 1 ~ 10 炭素原子アルキル基) である)) により示されるが、ただし、ペロロールの正確な構造または

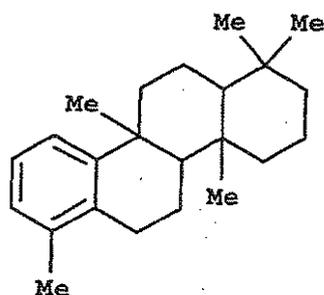
【化 2】



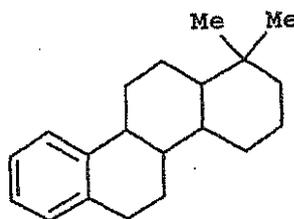
10



20



および



30

よりなる構造群のいずれか一つを有することはない化合物またはその塩。

【請求項 2】

$Y_1 \sim Y_6$ が、それぞれ独立に、H、F、Br、Cl および I から選ばれる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

Q が、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、または $-CH=CHCH_2-$ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

Q の炭素骨格が飽和されている、請求項 1、2 または 3 に記載の化合物。

40

【請求項 5】

Q の炭素骨格が 1 または 2 の炭素原子からなる、請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 6】

R_1 が、メチル、エチル、 $-CH_2OH$ 、または $-CH_2OR'$ である、請求項 1 ないし 5 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 7】

R_2 が、メチル、エチル、 $-CH_2OH$ 、または $-CH_2OR'$ である、請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 8】

50

R₁ 中の R' が、メチル、エチル、プロピルまたはブチルに限定される、請求項 1 ないし 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 9】

R₂ 中の R' が、メチル、エチル、プロピルまたはブチルに限定される、請求項 1 ないし 8 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 10】

R' がメチルまたはエチルに限定される、請求項 8 または 9 に記載の化合物。

【請求項 11】

X₁ が、H、OH、R、OR、-CONH₂、-CONHR'、または -COR'₂ である、請求項 1 ないし 10 のいずれかに記載の化合物。

10

【請求項 12】

X₂ が、H、OH、R、OR、-CONH₂、-CONHR'、または -COR'₂ である、請求項 1 ないし 11 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 13】

X₃ が、H、OH、R、OR、-CONH₂、-CONHR'、または -COR'₂ である、請求項 1 ないし 12 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 14】

X₁、X₂ および X₃ のいずれか一つまたはそれ以上中の R および R' が、メチル、エチル、プロピルおよびブチルに限定される、請求項 1 ないし 13 のいずれかに記載の化合物。

20

【請求項 15】

X₁ が、H、OH、または -OCH₃ である、請求項 1 ないし 10 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 16】

X₂ が、H、OH、または OCH₃ である、請求項 1 ないし 10 および 15 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 17】

X₂ が、H、OCH₃、または -NHCOCH₃ である、請求項 1 ないし 10 および 15 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 18】

30

X₃ が、H、OH、または OCH₃ である、請求項 1 ないし 10、15、16、および 17 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 19】

X₄ が、H、R、OH、OR、CO₂H または CO₂R' である、請求項 1 ないし 18 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 20】

X₄ 中の R および R' が、メチル、エチル、プロピルまたはブチルに限定される、請求項 1 ないし 19 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 21】

X₄ が、H、R、OH、OCH₃、-CO₂H または -CO₂CH₃ である、請求項 1 ないし 18 のいずれかに記載の化合物。

40

【請求項 22】

ホモペロロール、ジメトキシペロロール、PNSR-4A、PNSR-15A、PNSR-16A、PNSR-17A および PNSR-18A から選ばれる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 23】

C-5、C-8、C-9 および C-10 の立体配置がそれぞれ S、R、R、S である、請求項 1 ないし 22 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 24】

C-5、C-8、C-9 および C-10 の立体配置がそれぞれ R、S、S、R である、請求項 1 ないし 22 のいずれかに記載の化合物。

50

【請求項 25】

SHIP1 活性のモデュレーターとして使用するためのものである、請求項 1 ないし 24 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 26】

SHIP1 活性のアゴニストである、請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 27】

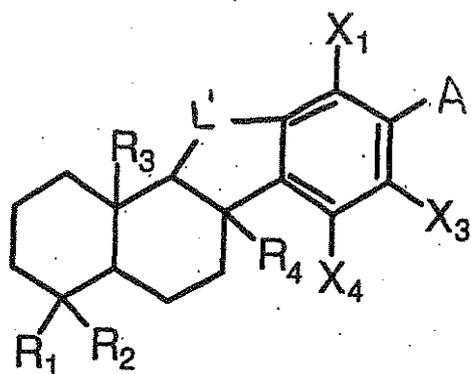
炎症性、新生物性、造血性または免疫性の疾患または状態の治療または予防用医薬の製造のための請求項 1 ないし 26 のいずれかに記載の化合物の使用。

【請求項 28】

式 I A :

10

【化 3】

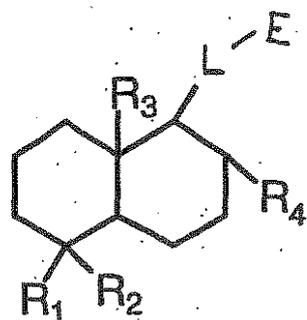


I A

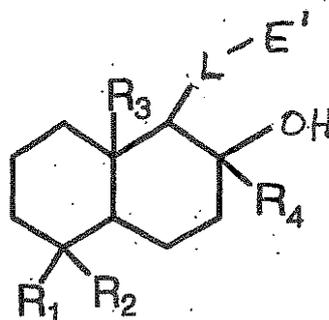
20

(式中、 $R_1 \sim R_4$ 、 X_1 、 X_3 および X_4 は請求項 1 の記載と同じであり、 L' は $C_1 - C_4$ の飽和または不飽和アルキル連結基であり、 A は活性化基である) により示される化合物の製造方法であって、式 IIA または IIB :

【化 4】



IIA



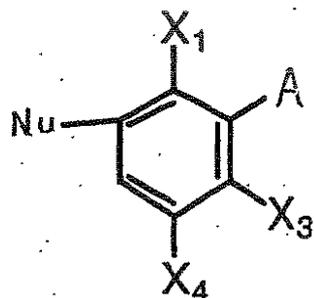
IIB

30

(式中、 L は不在または $C_1 - C_3$ の飽和または不飽和アルキル連結基であり、 E および E' は求電子性反応基である) により示される化合物を式 III :

【化 5】

40



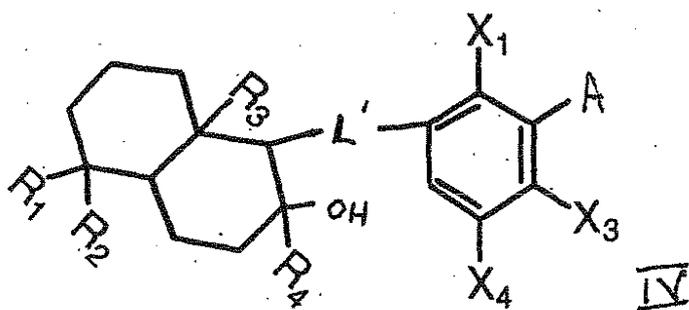
III

(式中、 Nu は式 III の化合物を Nu において求核性にする基である) により示される化

50

化合物と反応させ、ついで任意に還元および加水分解を行って、式 I V :

【化 6】



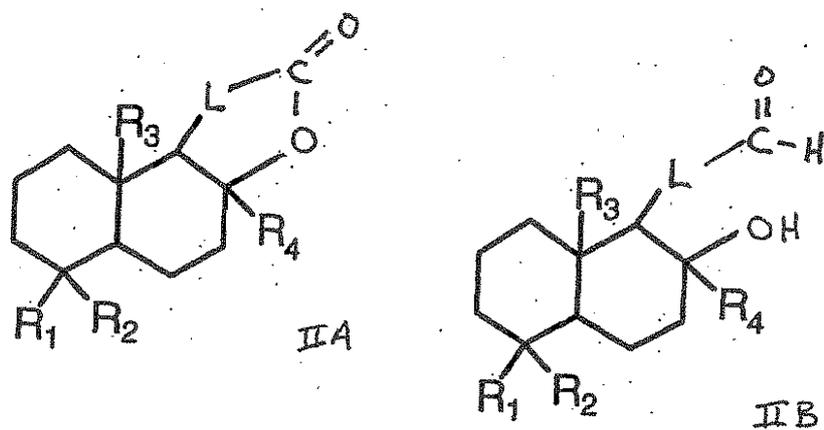
10

により示される化合物を生成し、ついで式 I V の化合物を縮合して式 I A の化合物を生成することを含む方法。

【請求項 29】

式 II A および II B の化合物が下記構造 :

【化 7】



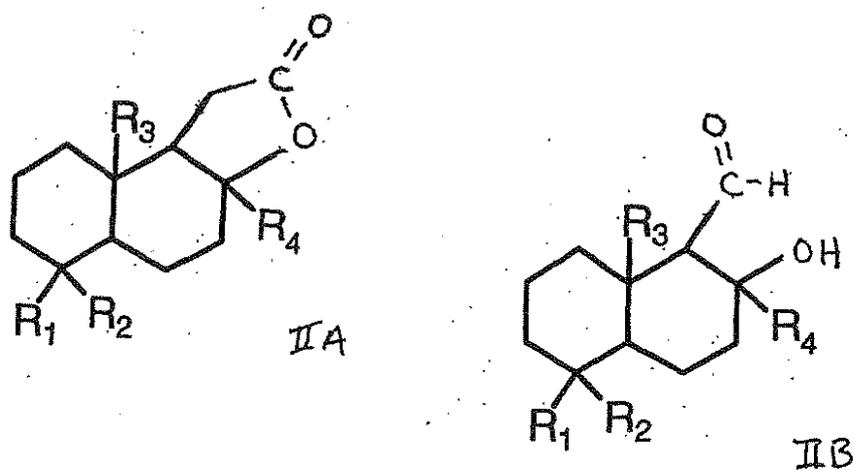
20

を有する、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

式 II A および II B の化合物が下記構造 :

【化 8】



40

を有する、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

式 II A または II B の化合物が、スクラレオライドであるか、またはスクラレオライドに

50

由来する、請求項 28 ないし 30 のいずれかに記載の方法。

【請求項 32】

Nu がリチウムである、請求項 28 ないし 31 のいずれかに記載の方法。

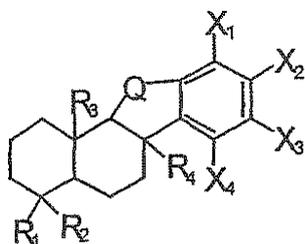
【請求項 33】

A が OCH_3 または $-\text{NHCH}_3$ である、請求項 28 ないし 32 のいずれかに記載の方法。

【請求項 34】

薬理的に許容しうる担体、および式 I :

【化 9】



10

(式中、

R_1 および R_2 は、それぞれ独立に、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、および $-\text{CO}_2\text{R}'$ よりなる群から選ばれる；

20

R_3 および R_4 は、それぞれ独立に、 H 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}'$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、および $-\text{CO}_2\text{R}'$ よりなる群から選ばれる；

Q は、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CY}_1\text{Y}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CY}_1\text{Y}_2\text{CY}_3\text{Y}_4-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCY}_1\text{Y}_2-$ および $-\text{CY}_1\text{Y}_2\text{CY}_3\text{Y}_4\text{CY}_5\text{Y}_6-$ (式中、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 、および Y_6 は、それぞれ独立に、 H 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 OH 、 OR' 、および SH よりなる群から選ばれるか；または Y_1/Y_2 、 Y_3/Y_4 、および Y_5/Y_6 のいずれか一つの群が $=\text{O}$ であるか；または Y_1/Y_3 がエポキシドを形成し、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 、および Y_6 の少なくとも一つ (存在するときは) は H ではない) よりなる群から選ばれる炭素骨格である；

30

X_1 、 X_2 、 X_3 、および X_4 は、それぞれ独立に、 H 、 R 、 OH 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 、 NO_2 、 NH_2 、 $-\text{NHR}$ 、および $-\text{NR}_2$ よりなる群から選ばれる (式中、 R は、置換されていないかまたは 1 またはそれ以上の置換基で置換された直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の 1 ~ 10 炭素原子アルキル基 (置換基は、 OH 、 $=\text{O}$ 、 SH 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 NH_2 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 NO_2 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、およびエポキシド) である)；

R' は、置換されていないかまたは 1 またはそれ以上の置換基で置換された直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の 1 ~ 10 炭素原子アルキル基 (置換基は、 OH 、 $=\text{O}$ 、 SH 、 F 、 Br 、 Cl 、 I 、 NH_2 、 $-\text{NHR}''$ 、 $-\text{NR}''_2$ 、 NO_2 、および $-\text{CO}_2\text{H}$ (ここで R'' は、直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の 1 ~ 10 炭素原子アルキル基) である) により示される化合物または薬理的に許容しうるその塩の一つまたはそれ以上を含む医薬組成物。

40

【請求項 35】

式 I により示される一つまたはそれ以上の化合物が単独でペロロールであることはない、請求項 34 に記載の医薬組成物。

【請求項 36】

ペロロールを含む、請求項 34 に記載の医薬組成物。

【請求項 37】

請求項 1 ないし 26 のいずれかに記載の化合物を含む、請求項 34、35、または 36

50

に記載の医薬組成物。

【請求項 38】

免疫性、造血性、炎症性または新生物性の疾患または状態の予防または治療方法であって、該予防または治療を必要とする患者に有効量の請求項 34 ないし 37 のいずれかに記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞増殖および生存および免疫細胞活性化の負のレギュレーターである SHIP1 に関する。

10

【背景技術】

【0002】

SH₂ 含有イノシトール 5 - ホスファターゼ (SHIP1) は、イノシトール 1, 3, 4, 5 - 四リン酸 (IP4) およびホスファチジルイノシトール 3, 4, 5 - 三リン酸 (PIP3) からの 5 - リン酸を選択的に加水分解する。米国特許第 6,238,903 号は、SHIP1 が、遺伝子発現、細胞の増殖、分化、活性化、および代謝を制御するシグナル伝達経路、とりわけ Ras およびリン脂質シグナル伝達経路の酵素レギュレーターであることを開示している。SHIP1 は、サイトカインおよび免疫レセプターのシグナル伝達において重要な役割を果たしている。SHIP1 の破壊された (SHIP1^{-/-}) マウスは、顆粒球およびマクロファージの過剰産生を特徴とする骨髄増殖性の表現型を示す¹。SHIP1^{-/-} の肥満細胞は IgE および Steel 因子により誘発された脱顆粒を起こしやすく、一方、SHIP1^{-/-} の B 細胞は FcRIIB による負の制御に対して耐性である。SHIP1 はまた、慢性の骨髄性白血病の病因にも関与している²。

20

【0003】

SHIP1 の活性を特異的にモデュレートする化合物は、細胞の増殖性、造血性および免疫性の疾患の治療、並びに研究および医薬発見の試験の際に SHIP1 媒体経路を操作するのに有用であろう。今日まで、小分子の SHIP1 特異的モデュレーターの構造は開示されていない。

【発明の開示】

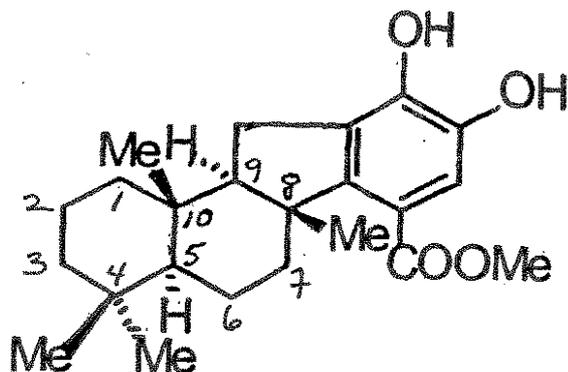
【発明が解決しようとする課題】

30

【0004】

ペロロール (pelorol) と称するセスキテルペン化合物は、*Petrosaspongia metachromia* および *Dactylospongia elegans* を含む種々の海洋性の海綿動物から得ることができる。Kwakらおよび Goclikらは、それぞれペロロールの構造および種々の海洋性海綿動物からのその抽出を開示している^{4, 5}。ペロロールは、弱い抗トリパノソーマおよび抗マラリア原虫活性を有すると報告されている⁵。ペロロールの正確な構造は以下のとおりであり、Me はメチル基を表し、キラル原子 (C - 5, 8, 9 および 10) の相対的な立体構造は示したとおりである。

【化1】



ペロロール

10

【0005】

ペロロールと類似でペロロールの特徴的なgem置換非芳香族環を有する幾つかの還元および置換されたクリセン誘導体が、頁岩中に見出される種々の多環ポリプレノールの調製⁶⁻¹²、タキソジオン (taxodione) の調製¹³、および化合物1,2,3,4,4a,4b,5,6,10b,11,12,12a-ドデカヒドロ-1,1-ジメチル-クリセンの調製¹⁴における中間体または誘導体として知られている。これらクリセン誘導体のいずれも生物学的活性を有することは知られていない。

20

【課題を解決するための手段】

【0006】

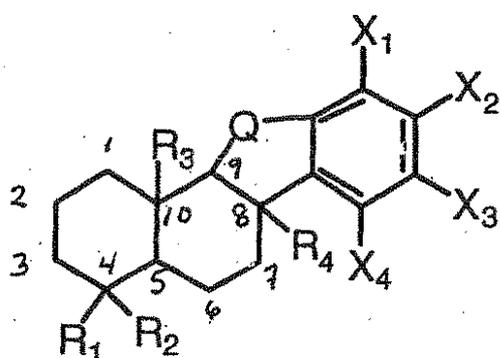
本発明は、ペロロールおよび関連化合物がSHIP1活性をモデュレートすることができるとの発見に基づくものである。

【0007】

本発明の幾つかの態様は、式Iの新規な化合物およびその塩を提供する。式Iの化合物は、以下の構造を有する：

30

【化2】



I

40

(式中、

R₁ および R₂ は、それぞれ独立に、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂OH、-CH₂OR'、-CHO、-CO₂H、および -CO₂R' よりなる群から選ばれる；

R₃ および R₄ は、それぞれ独立に、H、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂OH、-CH₂OR'、-CHO、-CO₂H、および -CO₂R' よりなる群から選ばれる；

Qは、-CH₂-、-CY₁Y₂-、-CH₂CH₂-、-CH=CH-、-CY₁Y₂CY₃Y₄-、-CH₂CH₂CH₂-、-CH=CHCH₂-、-CH=CHCY₁Y₂- および -CY₁Y₂CY₃Y₄CY₅Y₆- (式中、Y₁、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅

50

、および Y_6 は、それぞれ独立に、H、F、Br、Cl、I、OH、OR'、およびSHよりなる群から選ばれるか；または Y_1 / Y_2 、 Y_3 / Y_4 、および Y_5 / Y_6 のいずれか一つの群が=Oであるか；または Y_1 / Y_3 がエポキシドを形成し、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 、および Y_6 の少なくとも一つ（存在するときは）はHではない）よりなる群から選ばれる；

X_1 、 X_2 、 X_3 、および X_4 は、それぞれ独立に、H、R、OH、-OR、-CO₂H、-CO₂R'、F、Br、Cl、I、-CN、-SO₃H、-OSO₃H、NO₂、NH₂、-NHR、および -NR₂ よりなる群から選ばれる（式中、Rは、置換されていないかまたは1またはそれ以上の置換基で置換された直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の1~10炭素原子アルキル基（置換基は、OH、=O、SH、F、Br、Cl、I、NH₂、-NHR'、-NR'₂、NO₂、-CO₂H、-CO₂R'、およびエポキシド）である）；

R'は、置換されていないかまたは1またはそれ以上の置換基で置換された直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の1~10炭素原子アルキル基（置換基は、OH、=O、SH、F、Br、Cl、I、NH₂、-NHR''、-NR''₂、NO₂、および -CO₂H（ここでR''は、直線状、分枝鎖、または環状の飽和または不飽和の1~10炭素原子アルキル基）である））。

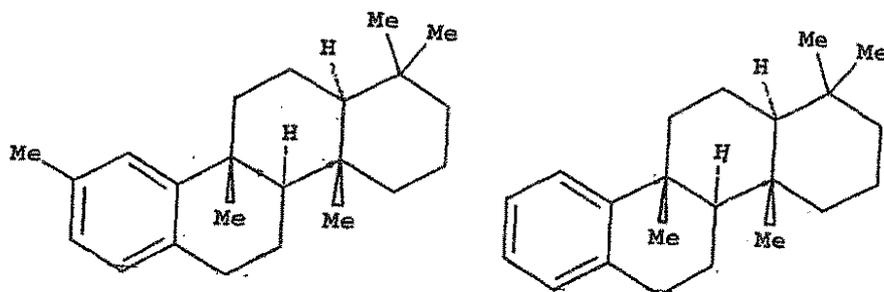
10

【0008】

本発明の式Iの新規な化合物は、以前に記載されたgem置換クリセン誘導体の正確な構造を包含するものではない。これら以前に記載された化合物には、ペロロールおよび以下の構造（式中、Meはメチルである）を有する化合物が含まれる。

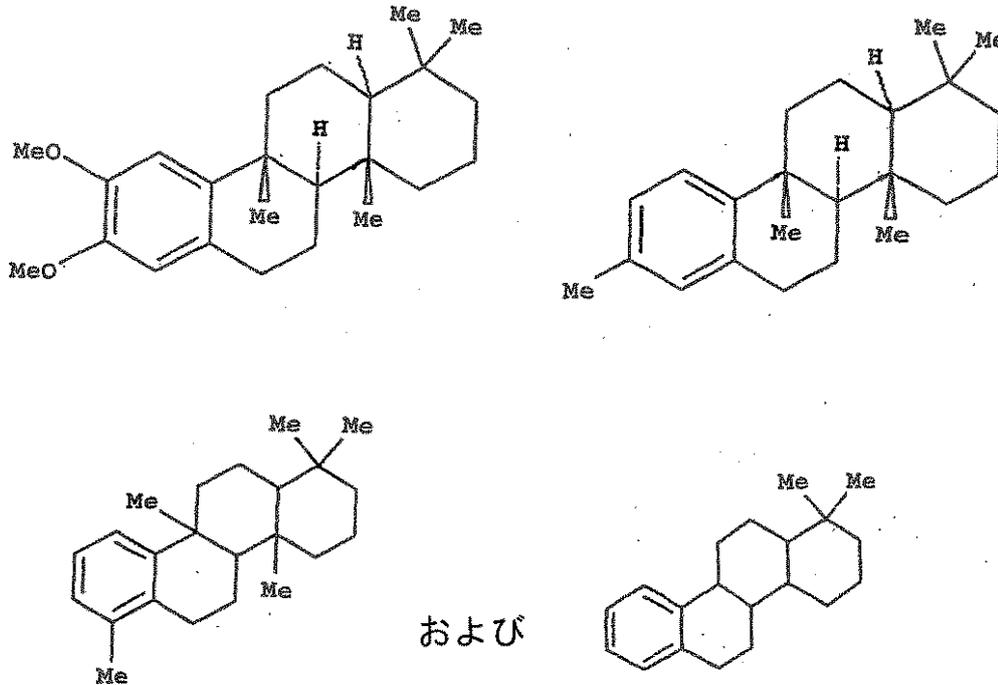
20

【化3】



30

【化4】



10

20

【0009】

別の定義により、本発明は、式Iにおいて各 $R_1 \sim R_4$ がメチルであり、Qが $-CH_2CH_2-$ であり、 $X_1 \sim X_4$ が以下の定義のいずれかである、そのような以前に知られた特定の化合物を排除する：

- (a) X_1 および X_2 がOH、 X_3 がH、および X_4 が $-COOCH_3$ ；
- (b) X_1 、 X_2 、 X_3 および X_4 がH ；
- (c) X_1 、 X_2 、および X_4 がH、 X_3 が CH_3 ；
- (d) X_1 、 X_3 、および X_4 がH、 X_2 が CH_3 ；
- (e) X_2 、 X_3 、および X_4 がH、 X_1 が CH_3 ；および
- (f) X_1 および X_4 がH、 X_2 および X_3 が OCH_3 。

30

【0010】

式Iにおいて R_1 および R_2 が CH_3 であり、 R_3 および R_4 がHであり、Qが $-CH_2CH_2-$ であり、各 $X_1 \sim X_4$ がHである化合物も排除される。

【0011】

本発明の幾つかの態様は、1またはそれ以上の式Iの化合物または薬理的に許容しうるその塩、および薬理的に許容しうる担体を含む医薬組成物を提供する。そのような組成物は、医薬用途に適した生物学的に活性な化合物として知られていない式Iの以前に知られた化合物を含んでいてよい。

【0012】

本発明の幾つかの態様は、免疫性、炎症性、または新生物性の疾患または状態の治療または予防方法であって、そのような治療または予防を必要とする患者に有効量の本発明の式Iの化合物または薬理的に許容しうるその塩、または本発明の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

40

【0013】

本発明の幾つかの態様は、SHIP1活性のモデュレートのためおよびSHIP1活性のモデュレート剤の調製のための式Iの化合物または薬理的に許容しうるその塩の使用を提供する。そのようなモデュレートはインビトロまたはインビボであってよい。インビボで使用するための剤としては、本発明の医薬組成物並びにインビトロでの使用に適合させた剤が挙げられる。モデュレートは、上記の免疫性、炎症性、または新生物性の状態ま

50

たは疾患の治療または予防のためのものであってよい。

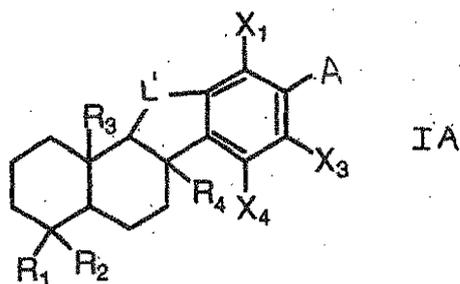
【0014】

式Iの幾つかの化合物は、生物学的抽出物を分画することにより、または利用できる化合物を誘導体化することにより、全体としてまたは部分的に調製することができる。別法として、式Iの化合物は全合成により調製することができる。

【0015】

本発明の幾つかの態様は、式IA：

【化5】

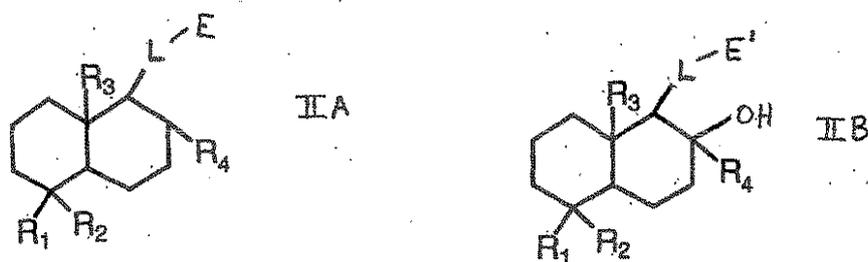


10

(式中、 $R_1 \sim R_4$ 、 X_1 、 X_3 、 X_4 は式Iの定義と同じ、 L' は $C_1 \sim C_4$ 飽和または不飽和のアルキル連結基；およびAは活性化基である)で示される化合物の製造方法であって、式IIAまたはIIB：

20

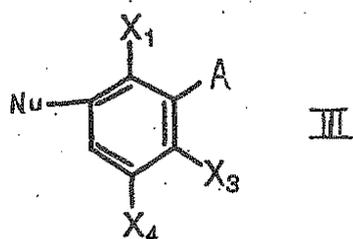
【化6】



30

(式中、Lは不在であるかまたは $C_1 \sim C_3$ 飽和または不飽和のアルキル連結基、およびEおよびE'は求電子性反応基である)で示される化合物を、式III：

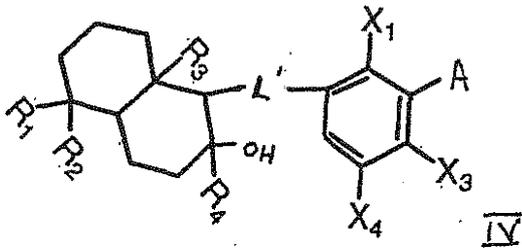
【化7】



40

(式中、Nuは、Nuにおいて式IIIの化合物を求核性にする基である)で示される化合物と反応させ、ついで任意に還元および加水分解して式IV：

【化 8】



で示される化合物を生成させ、ついで式 I V の化合物を縮合して式 I A の化合物を生成することを含む方法を提供する。

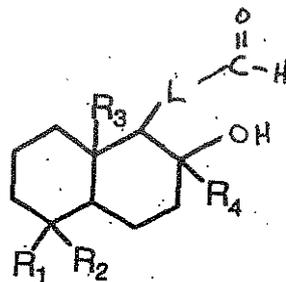
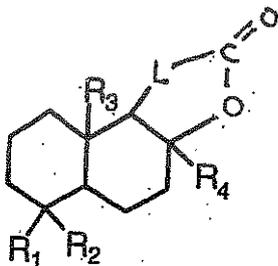
【0016】

式 I A の化合物中の L' は、式 I の所望の成分 Q を生成すべく任意に変化させ誘導体化させてよい。たとえば、上記方法により製造した式 I A の化合物中の成分 L' は、式 I の化合物中の Q と比べて異なる程度の飽和または異なる置換基を有してよい。環中の原子数を減らすため、不飽和の L' 基を有する化合物を酸化および還元工程に供して Q を含む式 I 中の環のサイズを小さくすることができる。さらに、ケトン、ヒドロキシルその他の基などの官能基を L' に付加して所望の Q 成分を生成することができる。

【0017】

E の好ましい求電子性反応基は、ラクトン、エステル、およびチオエステルである。E' の好ましい基はカルボキシルである。さらに好ましくは、式 I I A および I I B の化合物は以下のとおりである：

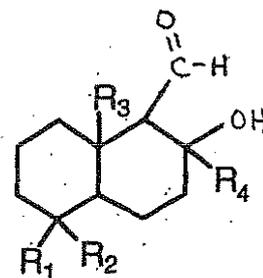
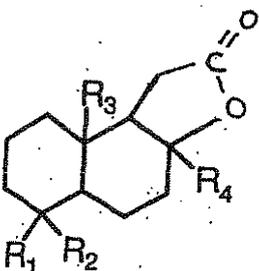
【化 9】



【0018】

さらに一層好ましくは、式 I I A および I I B の化合物は以下のとおりである：

【化 10】



【0019】

式 I I I の化合物中の好ましい Nu はリチウムであり、このものは臭素などのハロゲンに対して環上で置換されてよい。好ましくは、式 I I I の化合物中の A は - O M e または N H A c (M e = メチル、A c = アセチル) などの活性化基であり、この基はその後に式 I の化合物中の X₂ に対して所望の置換基に変換されてよい。置換基はまた、必要に応じて T

10

20

30

40

50

B S などの保護基で保護することもできる。

【0020】

本明細書では以下の略語を使用する：T H F (テトラヒドロフラン)；n - b u L i (n - ブチルリチウム)；t - b u L i (tert - ブチルリチウム)；P h₃ P M e (メチルトリフェニルホスホニウムブロマイド)；P C C (ピリジニウムクロロクロム酸)；A c (アセチル)；M e (メチル)；E t (エチル)；prop. (プロピル)；but. (ブチル)；R T または r. t. (室温)；hr. (時間)；D M S O (ジメチルスルホキシド)；D N F B (2, 4 - ジニトロフルオロベンゼン)；L P S (リポ多糖)；T N F - (腫瘍壊死因子アルファ)；T B S (tert - ブチルジメチルシリル)；および E A (酢酸エチル)。

【0021】

S H I P 1 モデュレート化合物

式 I の化合物は、C - 5、C - 8、C - 9 および C - 10 にキラル中心を有し、R₁ と R₂ とが異なるか否かによって C - 4 がキラルであってよい。本発明の化合物は、式 I の化合物の全ての立体異性体およびエナンシオマーを含む。幾つかの態様は、ペロロールと同じキラル中心の相対的立体配置を有するかまたはそのエナンシオマーである、すなわち、S, R, R, S；または R, S, S, R (それぞれ、C - 5、C - 8、C - 9 および C - 10)。幾つかの態様は、キラル中心においてペロロールと同じ絶対立体配置を有する。幾つかの態様は、C - 5 および C - 10 においてペロロールと同じ相対的立体配置を有し、C - 8 および C - 9 において独立に変化する立体配置を有する。幾つかの態様は、C - 5、C - 8 および C - 10 においてペロロールと同じ相対的立体配置を有し、C - 9 において

10

20

【0022】

本発明の様々な態様において、本発明の化合物は上記式 I の限定を有してよいし、または置換基 Q、R₁ ~ R₄、および X₁ ~ X₄ に関してさらに特別の限定を有してよい。以下の限定のいずれの組み合わせも本発明により包含される：

(a) Q は、Y₁ ~ Y₆ が H またはハロゲンに限定される他は式 I に記載の定義であってよい；

(b) Q は、- C H₂ -、- C H₂ C H₂ -、- C H = C H -、- C H₂ C H₂ C H₂ - および - C H = C H C H₂ - に限定されてよい；

30

(c) Q は、式 I の限定中で H または飽和残基に限定されるか、または上記 (a) または (b) の限定によるものであってよい；

(d) Q は、式 I の限定中で 1 または 2 の炭素原子の骨格に限定されるか、または上記 (a) ~ (c) の限定によるものであってよい；

(e) R₁ および R₂ の一方または両方は、メチル、エチル、- C H₂ O H または - C H₂ O R' に限定されてよい；

(f) 式 I によるまたは上記 (e) の限定による R₁ および R₂ の一方または両方中の R' は、メチル、エチル、プロピルまたはブチルに限定されてよい；

(g) R₁ および R₂ の一方または両方は、メチルまたはエチルに限定されてよい；

40

(h) R₁ および R₂ の一方または両方は、メチルに限定されてよい；

(i) X₁ ~ X₄ の一つまたはそれ以上中の R および R' は、置換されていないメチル、エチル、プロピルまたはブチルに限定されてよい；

(j) X₁ ~ X₃ の一つまたはそれ以上は、H、R、O H、O R、ハロゲン、- C O N H₂、- C O N H R'、- C O R'、N H R または N R₂ (式中、R および R' は式 I 中の定義に限定されるか、または R および R' は上記 (i) の限定によるものであってよい) に限定されてよい；

(k) X₁ ~ X₃ の一つまたはそれ以上は、H、O H、O R、- C O N H₂、- C O N H R'、および - C O R' (式中、R および R' は式 I 中の定義に限定されるか、または R および R' は上記 (i) に従って限定されてよい) に限定されてよい；

50

(l) $X_1 \sim X_3$ の一つまたはそれ以上は、H、OH、およびOCH₃に限定されてよい；

(m) X_4 は、H、R、OH、OR、-CO₂Hまたは-CO₂R'（式中、RおよびR'は式I中の定義に限定されるか、またはRおよびR'は上記(i)に従って限定されてよい）に限定されてよい；

(n) X_4 は、H、R、OH、OCH₃、-CO₂Hおよび-CO₂R'（式中、RおよびR'は上記(i)に従って限定されてよい）に限定されてよい；および

(o) X_4 は、H、R、OH、OCH₃、-CO₂Hまたは-CO₂CH₃に限定されてよい。

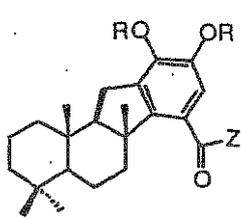
【0023】

10

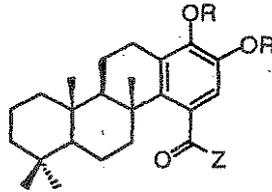
以下の特別の構造は本発明の態様である。幾つの場合において、 X_1 、 X_2 、および X_4 における変動性はR、ZおよびYとして定められる置換基と関連して示してあり、これら置換基は説明する化合物の目的のために下記に定めてある。各構造について相対的な立体化学を示してあるが、キラル中心の立体化学は上記キラリティーに基づく態様のいずれであるかに従って変わりうる。

【0024】

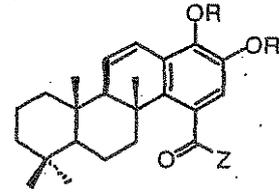
【化11】



R = HおよびMe, Et, Prop, But, など
Z = OH, OR, NH₂, NRH, NR₂

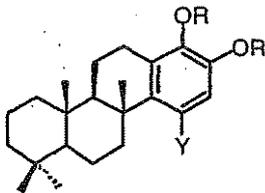


R = HおよびMe, Et, Prop, But, など
Z = OH, OR, NH₂, NRH, NR₂

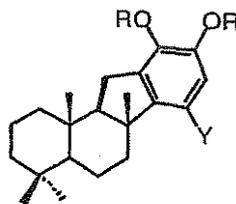


R = HおよびMe, Et, Prop, But, など
Z = OH, OR, NH₂, NRH, NR₂

20

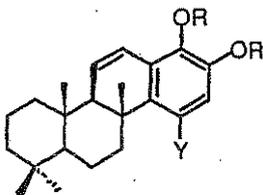


R = HおよびMe, Et, Prop, But, など
Y = H, Me, Et, Prop, But, など, CHO, CH₂OR

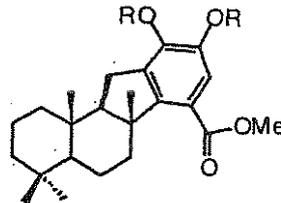


R = HおよびMe, Et, Prop, But, など
Y = H, Me, Et, Prop, But, など, CHO, CH₂OR

30



R = HおよびMe, Et, Prop, But, など
Y = H, Me, Et, Prop, But, など, CHO, CH₂OR

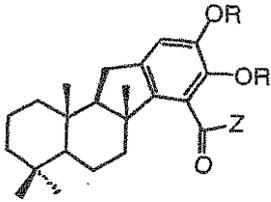


R = H ペレロール
R = Me ジメトキシペレロール

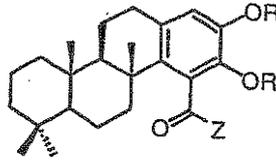
40

【0025】

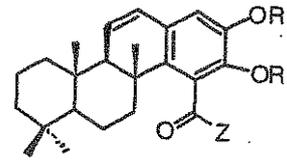
【化 1 2】



R = H および Me, Et, Prop, But, など
Z = OH, OR, NH₂, NRH, NR₂

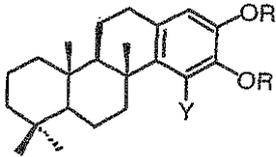


R = H および Me, Et, Prop, But, など
Z = OH, OR, NH₂, NRH, NR₂

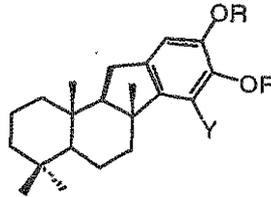


R = H および Me, Et, Prop, But, など
Z = OH, OR, NH₂, NRH, NR₂

10

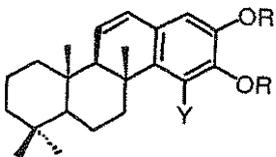


R = H および Me, Et, Prop, But, など
Y = H, Me, Et, Prop, But, など, CHO, CH₂OR



R = H および Me, Et, Prop, But, など
Y = H, Me, Et, Prop, But, など, CHO, CH₂OR

20

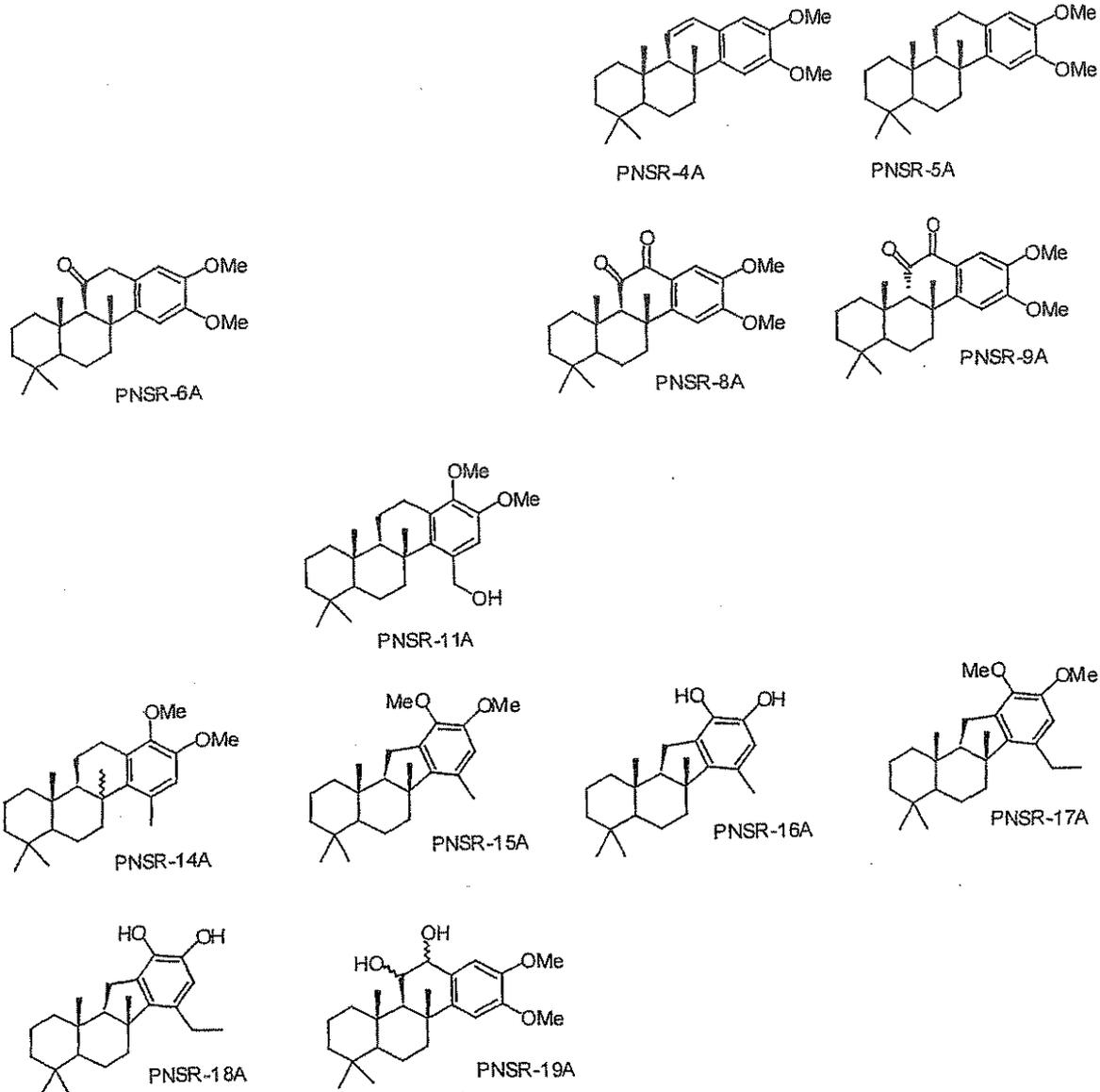


R = H および Me, Et, Prop, But, など
Y = H, Me, Et, Prop, But, など, CHO, CH₂OY

【 0 0 2 6 】

30

【化 1 3】



10

20

30

【0027】

化合物の採取源および活性のアッセイ

ペロロールは、当該技術分野および本明細書の実施例 1 に教示されるように天然の採取源から得ることができる。溶媒分画および/またはクロマトグラフィーを用いることができる。また、式 I の成員を製造するため、置換基を付加、除去または置換する公知の化学的方法によりペロロールまたはクリセン誘導体などの他の利用できる化合物を修飾することも可能である。式 I の種々の化合物に適用可能なそのような誘導体化工程の例を以下にさらに詳細に示す。

40

【0028】

調製物中の SHIP 1 モデュレート化合物の存在は、実施例 1 および図 1 に開示した方法によるなどの SHIP 1 酵素の活性の変化の直接モニタリングを含む種々のアッセイの使用により、または細胞または動物アッセイ（活性化マクロファージからの一酸化窒素の産生、I g E 誘発肥満細胞の脱顆粒、L P S 誘発マクロファージ活性化、T N F - 発現または活性における変化をモニターする）を含む、公知の手法から容易に適合させることのできる生物学的アッセイにより、決定することができる。さらに、生体において炎症活性を媒体する因子の標準アッセイを用いることができる。これらアッセイの適合は、S H I P 1 -/- および S H I P 1 +/- マウス^{1 5, 1 6} および骨髄由来マクロファージ^{1 7} を利用できることにより容易となっている。さらに、抗 S H I P 1 抗体^{1 8} が利用できるこ

50

とはイムノアッセイ態様の使用を容易にしている。そのようなアッセイはまた、本明細書に記載の全合成によって調製した化合物の活性を評価するのにも用いることができる。

【0029】

化合物の全合成

ペロロールおよび式 I の他の化合物の合成スキームを本明細書で提供する。表 (1 ~ 2) は、調製できる式 I の異なる化合物の例を用いたそのような合成の 2 つの態様の詳細な例示を提供する。該表に示した化合物で芳香環に隣接した環が 6 員環である他はペロロールと同一である化合物は「ホモペロロールアナログ」と称する。5 員環であるペロロール以外の化合物は「ペロロールアナログ」と称する。

【0030】

表 1 および 2 に示す合成法において、そこに示された式 IIA の化合物は出発物質としてスクラレオライド (sclareolide) に基づくのが便利である。所望の $R_1 \sim R_4$ 置換基を提供するスクラレオライドの適当な誘導体を用いることができる。該表に示した式 III の芳香族化合物において、Nu はリチウムであるのが好ましい。式 III の出発化合物中の X_2 は、-OMe や -NHAc などの活性化基であるのが好ましい。 $R_1 \sim R_4$ は出発原料のままであってもよいし、または最終生成物に所望の置換基を提供すべく適当に変化してもよい。保護基を $R_1 \sim R_4$ または X_1 、 X_3 、または X_4 に用いることができる。式 I の所望の成員 Q を生成する式 IA 中の L' を含む環の誘導体化の例を表 2 に示してあり、その際、酸化 (たとえば、 $OsCl_4$ で処理した後に HCl などの酸で処理することにより) を行って該環にケトン置換基が導入される。

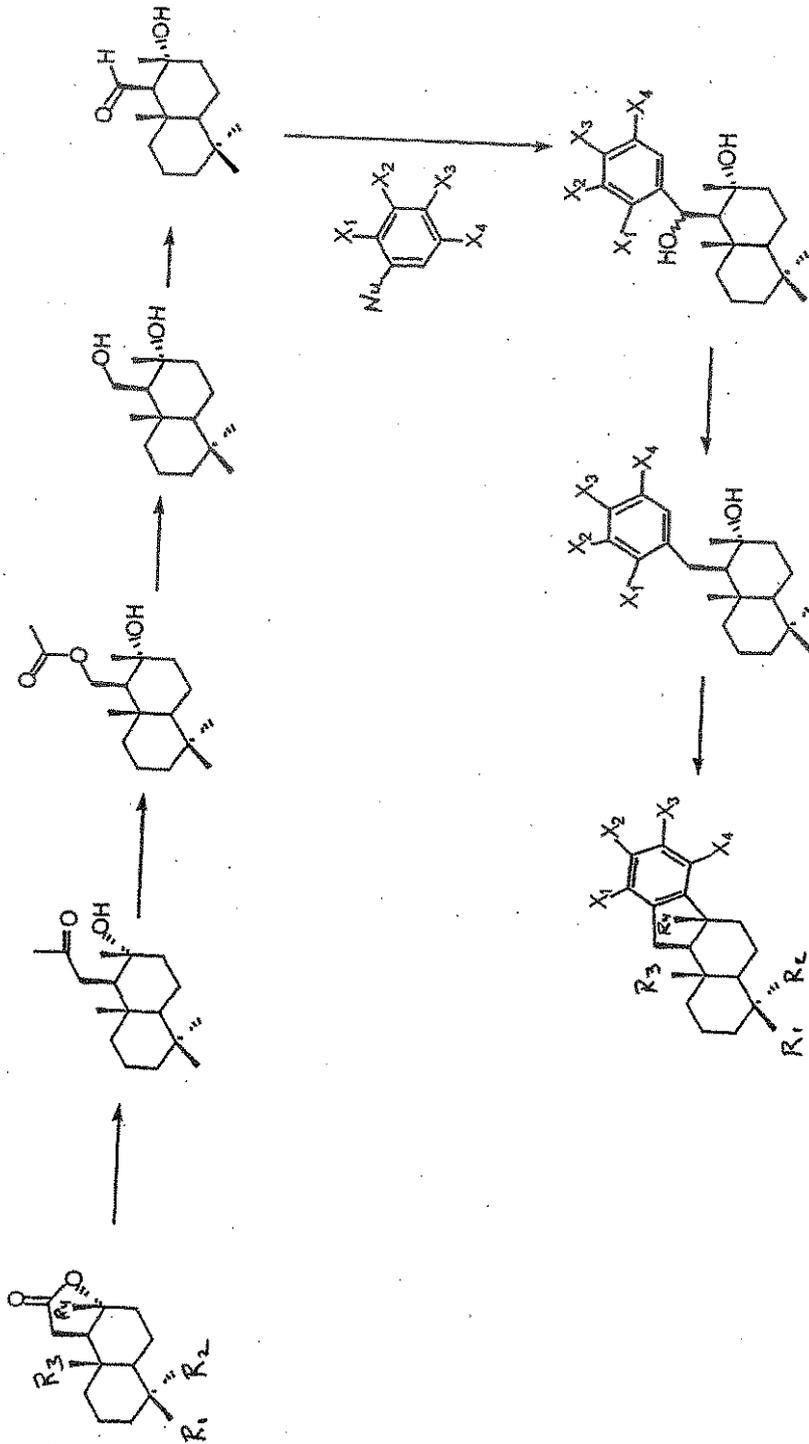
10

【0031】

表 1 : ペロロールおよびペロロールアナログの合成

20

【化14】



10

20

30

40

【0032】

表2：ホモペロロールおよびホモペロロールアナログの合成

または他の合成溶媒、植物起源のオイル、または水素添加ナフタレンを含んでいてよい。

【0035】

本発明による化合物は、疎水性の化合物、たとえば、水には実質的に不溶であるが、たとえばエタノール、メタノール、ジメチルスルホキシド、またはクロロホルム、またはそれらの混合物などの溶媒には自由に溶解する化合物を含んでいてよい。そのような疎水性の化合物を含む製剤は、たとえば、両親媒性化合物により一定の条件下で生成するミセルを用いて提供することができる。水性溶媒中でミセルはその炭化水素コア中、またはミセル壁内に疎水性化合物を導入することができる。疎水性化合物はまた、トリグリセリド（オイル）、たとえば食用植物油中で可溶化することによっても提供できる。油相中で安定化した疎水性化合物は水性溶液中に分散させることができ、所望なら乳化剤を用いて安定化することができる。あるいは、疎水性化合物は、オイル中で提供して、たとえば胃腸管系に送達させ、そこでインビボで胆汁塩に乳化剤として作用させてもよい。疎水性化合物はまたマイクロエマルジョンとしても提供することができる。マイクロエマルジョンはエマルジョンと同様、オイルと水との液体分散液であるが、ミセル様の「コア」中に油相を有する一層小さな粒子を有する。本発明による疎水性化合物はまた、ポリマー担体、たとえば炭水化物、たとえばセルロース、デキストラン、シクロデキストリン、メチルセルロース、またはヒアルロン酸、あるいはポリペプチド、たとえばアルブミン、コラーゲン、またはゼラチンとともに提供することができる。疎水性化合物の他の製剤様式としては、リポソーム、天然および合成のリン脂質、または溶媒、たとえばジメチルスルホキシドまたはアルコールが挙げられる。

10

20

【0036】

本発明の医薬組成物は、所定の時間をかけて活性化合物の制御された放出が提供されるように製剤化することができる。それゆえ、製剤は、たとえば単回投与として投与したなら毒性であるが、その制御された放出は毒性レベルを超えないような量の化合物を含んでいてよい。該化合物の放出を制御するため、たとえば、生体適合性で生分解性のラクチドポリマー、ラクチド/グリコリドコポリマー、またはポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマーを用いることができる。本発明によるモデュレート化合物にとって潜在的に有用な他の送達系としては、エチレン-酢酸ビニルコポリマー粒子、浸透ポンプ、埋め込み可能な注入系、およびリポソームが挙げられる。

【0037】

化合物の「治療学的有効量」とは、本発明による化合物を用いて所望の治療効果を達成するために必要な投与量および時間にて有効な量である。治療学的有効量はまた、化合物の治療的に有利な効果の方が毒性または有害な効果よりも勝る量である。化合物の「予防上有効な量」とは、本発明による化合物を用いて所望の予防効果を達成するために必要な投与量および時間にて有効な量である。典型的には、予防的投与量は、予防上有効な量が治療学的有効量よりも少なくなるように、疾患の前または疾患の初期の段階で患者に用いる。充分と考えられる量は、使用した特定の化合物、投与方法、疾患の段階および重篤度、治療すべき個体の年齢、性別、および健康、および同時に行っている治療により変わるであろう。

30

【0038】

本発明の化合物の治療学的有効量または予防上有効な量は、0.1nM~0.1M、0.1nM~0.05M、0.05nM~15 μ Mまたは0.01nM~10 μ Mであってよい。投与量の値は、緩和すべき状態の重篤度で変わりうることに注意すべきである。いかなる特定の患者に対しても、特定の投与量レジメンは個々の必要性および組成物の投与の管理人または監督人の専門的判断に従い、経時的に調節することができる。本明細書において示す投与量の範囲は例示に過ぎず、医療従事者によって選択することができる投与量の範囲を限定するものではない。投与量レジメンは最適の治療応答を提供すべく調節することができる。たとえば、単回ボラスを投与することができ、幾つかの分割投与を時間をかけて投与することができ、または治療状況の緊急事態によって示されるように投与量を比例的に低減あるいは増大させることができる。

40

50

【0039】

一般に、本発明の化合物は実質的な毒性を引き起こすことなく用いるべきである。本発明の化合物の毒性は、標準法を用い、たとえば、細胞培養または実験動物で試験することおよび治療指数、すなわちLD50（集団の50%に致死的な投与量）とLD100（集団の100%に致死的な投与量）との比を決定することにより決定することができる。しかしながら、重篤な疾患状態などの一定の環境では実質的に過剰な組成物を投与することが必要である。

【0040】

本発明の化合物を患者に投与すべく、治療目的かまたは予防目的かに応じて適当な製剤または組成物を提供するために通常の製薬実務を採用することができる。あらゆる適当な投与経路を用いることができ、たとえば、全身、非経口、静脈内、皮下、経皮、経粘膜、筋肉内、頭蓋内、眼窩内、眼内、心室内、被膜内、脊髄内、くも膜下内、腹腔内、鼻内、エアゾル、局所、外科、または経口投与が挙げられる。使用する製剤は、選択した投与経路によって変わってよい。それゆえ、経口投与の場合、製剤は錠剤またはカプセルの形態であってよく；吸入剤の場合、製剤は粉末薬、点鼻剤、またはエアゾル剤の形態であってよく；経粘膜投与の場合、製剤は鼻内スプレーまたは坐剤の形態であってよく；経皮投与の場合、製剤はクリーム剤、軟膏、またはゲル剤であってよい；など。

【0041】

本発明の治療学的有効量または予防上有効な量のSHIP1モデュレーターおよび医薬組成物は、癌（新生物疾患）、他の細胞増殖性疾患、炎症性疾患および免疫疾患の治療または予防を必要とする患者に投与してよい。新生物疾患としては、これらに限られるものではないが、白血病、癌腫、肉腫、メラノーマ、神経芽細胞腫、毛管漏出症候群（capillary leak syndrome）および造血系の悪性腫瘍が挙げられる。炎症性の徴候を有する疾患としては、これらに限られるものではないが、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、ギヤン-バレル症候群、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性胃腸管症候群、乾癬、対宿主性移植片病、全身性エリテマトーデス、アルツハイマー病およびインスリン依存性糖尿病が挙げられる。細網内皮系のマクロファージ関連細胞の不適切な活性化と関連する疾患としては、骨粗鬆症が挙げられる。

【0042】

式Iの構造を有するペロロールおよび他の化合物は、SHIP1アゴニスト活性を示す。SHIP1を活性化することにより、そのようなアゴニストは、とりわけ、炎症性疾患、たとえば敗血症性ショック、大腸炎、炎症性胃腸管症候群、およびマクロファージの増殖または活性化が関与する疾患；新生物疾患、たとえば骨髄性およびリンパ性白血病；免疫抑制疾患、たとえば移植の拒絶；造血性疾患の治療；およびアレルギーの治療および予防におけるような肥満細胞の変性に影響を及ぼすのに有用である。

【0043】

実施例1

150の海洋性生物抽出物の予備的スクリーニングにおいて、酵素アッセイでSHIP1を活性化した抽出物を同定した。これら抽出物の一つのアッセイによる分画は、ペロロールとしての活性化化合物の同定という結果となった（図1）。スクリーニングにおいて陽性と試験された抽出物の起源およびプロセッシングおよびアッセイの性質は以下のとおりである。

【0044】

褐色がかったシート状の海綿動物Dactylospongia elegans（Dictyoceratida目、Spongiidae科）の試料を、1995年1月にパプアニューギニア、マダンラグーン、の外リーフ上のRasch Passage中の保護された突出部から、5～10mの深さにてSCUBAを用いて手で回収した。新たに回収した海綿動物をその場で凍結させ、ドライアイス上でカナダ、バンクーバーに輸送した。海綿動物を同定し、検証のため証拠試料をZoological Museum of Amsterdamに置いた（ZMA POR. 15986）。凍結した海綿動物（120g）を小切片に切断し、MeOH中に浸漬、およびその後繰り返して抽出した（3×250mL）。コンバインしたメタノール

10

20

30

40

50

抽出物を真空濃縮し、ついでEtOAc (4×100mL) とH₂O (300mL) との間に分配した。コンバインしたEtOAc抽出物を真空乾固して490mgの褐色がかった油状物を得、これにはペロロールが含まれることがわかった。

【0045】

アッセイは96ウエルのマイクロタイタープレートで行った。SHIP1酵素は、赤血球凝集素およびヘキサヒスチジンを、哺乳動物発現ベクターから産生させた。Hisタグは精製を促進するのに用いた。200Mのイノシトール-1,3,4,5-テトラキスホスフェートを添加する前にSHIP1酵素(10ng)を抽出物またはDMSOとともに室温で15分間インキュベートした。反応を37にて20分間進行させた。ついで、放出された無機リン酸の量をマラカイトグリーン試薬の添加、およびその後の650nmでの吸光度測定により評価した。

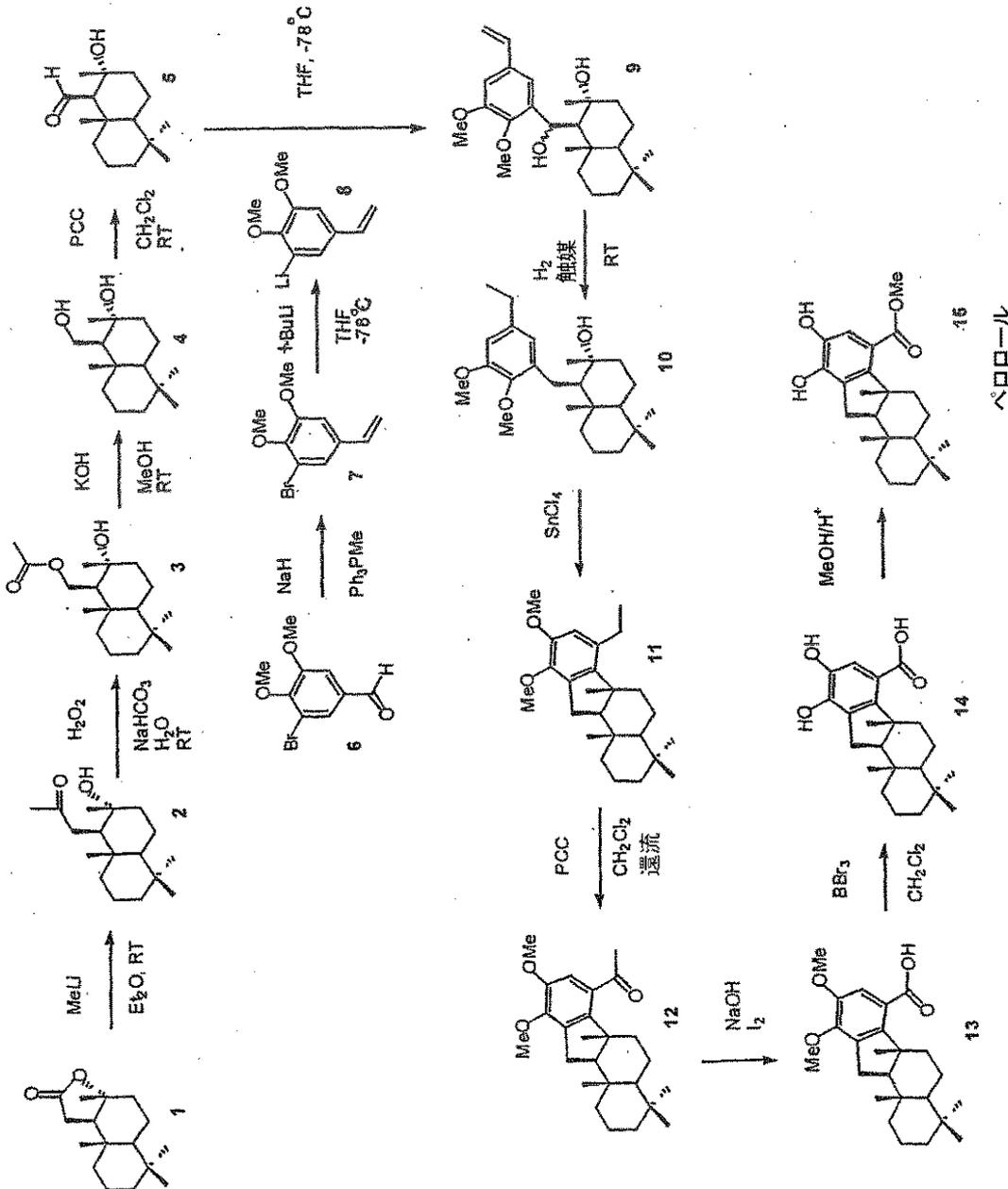
10

【0046】

実施例2

ペロロールを以下のスキームに従い、下記に記載した特定の条件下で調製した。

【化16】



20

30

40

【0047】

50

無水Et₂O (30mL) 中の化合物 1 (1.00g、3.99ミリモル) の攪拌溶液に、Et₂O中のMeLi の新たに調製した1.6M溶液 (3mL、4.8ミリモル) を室温にて10分かけて少しずつ加え、攪拌をさらに5分間続けた。ついで、この混合物を10%HCl (2mL) で処理し、ついで漏斗に移し、エーテルで繰り返し抽出した。コンバインした抽出物をNaHCO₃およびH₂Oで洗浄し、乾燥し (MgSO₄)、濾過し、ついで濃縮した。残渣をヘキサン/Et₂O (6:4) を用いたカラムクロマトグラフィーにかけて化合物 2 (0.74g、70%) を得た。

【0048】

CH₂Cl₂ (40mL) 中の(CF₃CO)₂O (9mL、63.85ミリモル) の攪拌し冷却した (氷浴上) 溶液に、50%水性H₂O₂ (1.8mL、31.66ミリモル) を加え、混合物を氷浴中で10分間静置した。以下の操作はすべて室温で行った。溶液を固体NaHCO₃ (5.40g、64.28ミリモル) で2分間処理し、混合物を8分間攪拌した後、CH₂Cl₂ (54mL) 中の化合物 2 (1.80g、6.76ミリモル) の溶液を加えた。得られた混合物を30分間攪拌し、H₂O (10mL) を加えた後、pHが7に達するまで固体NaHCO₃で45分間少しずつ処理した。最後に混合物をEt₂Oで抽出した。コンバインした抽出物をNaHCO₃、H₂Oで洗浄し、乾燥し (MgSO₄)、濾過し、ついで濃縮して純粋な化合物 3 を得た。

10

【0049】

化合物 3 (1g、3.6ミリモル) をMeOH中のKOHの10%溶液 (1mL、1.78ミリモル) に0 で溶解した。得られた混合物を10分間攪拌した。H₂Oを加えた後、溶液をEt₂Oで抽出した。抽出物をH₂Oで洗浄し、乾燥し (MgSO₄)、濾過し、ついで濃縮して化合物 4 (0.8g) を得た。

20

【0050】

マグネチックスターラーを備えたオープン乾燥しN₂を流し込んだ100mL容の丸底フラスコに、3.24g (15ミリモル) のPCC、30mLのCH₂Cl₂および2.4g (10ミリモル) の化合物 4 を入れた。混合物を室温で2時間十分に攪拌し、30mLのEt₂Oを添加して反応停止させた。得られた溶液をシリカゲルの厚いパッドで濾過し、濃縮して残渣を得た。この残渣をヘキサン/Et₂O (8:2) を用いたカラムクロマトグラフィーにかけて化合物 5 (1.6g、67%) を得た。

【0051】

水素化ナトリウム (24.6mg、0.82ミリモル、80%オイル分散液) および乾燥THF (5mL) を、冷却器および乾燥N₂流を備えた乾燥フラスコに加えた。この懸濁液にメチルトリフェニルホスホニウムブロマイド (0.146g、0.41ミリモル) を加え、混合物を10分間攪拌した。ついでTHF (2mL) 中の化合物 6 (100mg、0.41ミリモル) を加え、混合物を穏やかに2時間還流した。2mLのメタノールを加えて反応停止させ、ついでEt₂Oで抽出した。通常の処理後、94.3mgの化合物 7 を得た。

30

【0052】

ペンタン (1.74mL、2.79ミリモル) 中のtBuLiの1.6M溶液を、乾燥THF (20mL) 中の化合物 7 (612.6mg、2.52ミリモル) の攪拌溶液に - 78 にてゆっくりと加えた。30分間攪拌した後、乾燥THF (5mL) 中の化合物 5 (300mg、1.26ミリモル) の溶液を加えた。混合物をさらに - 78 で2時間攪拌した。ついで、H₂O (10mL) を加え、混合物をEt₂Oで抽出した (120mL、2回)。コンバインしたEt₂O抽出物を飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (MgSO₄)、ついで濃縮して残渣を得、これをNP SepakTM上のクロマトグラフィーにかけて280mg (55%) の化合物 9 を得た。

40

【0053】

EA (5mL) 中の化合物 9 (40mg、0.1ミリモル) の溶液を10%Pd/C (50mg) 上、水素雰囲気下、室温にて一夜、水素化した。濾過および濃縮により37mgの化合物 10 (96%) を得た。

【0054】

CH₂Cl₂ (10mL) 中の化合物 10 (38.8mg、0.1ミリモル) の攪拌溶液に、SnCl₄ (0.1mL) をアルゴン下、-20 にて2分間ゆっくりと加えた。得られた混合物をさらに20分間攪拌し、ついでCH₂Cl₂ (20mL) で希釈し、氷上に注いだ。水性相をCH₂Cl₂で2回 (20mL

50

) 抽出し、抽出物をコンバインし、飽和NaHCO₃、飽和食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥させた。蒸発させて化合物 1 1 (28mg、76%) を得た。

【 0 0 5 5 】

2mLのCH₂Cl₂に溶解した化合物 1 1 (7.4mg、0.02ミリモル) にPCC (41.6mg、0.192ミリモル) を加えた。混合物をアルゴン下、穏やかな還流下で24時間攪拌した。反応液をEt₂O (20mL) で希釈し、得られた暗色の溶液をNP SepakTMで濾過した。濾液の濃縮およびさらなる精製により1.5mg (20%) の化合物 1 2 を得た。

【 0 0 5 6 】

1.5mgの化合物 1 2 を2mLのNaOH (10%) 溶液 (0.5mLのTHFを含む) に溶解し、攪拌した。引き続き5mgのヨウ素を加え、混合物をさらに20分間攪拌し、3mLの10%H₂SO₄を加えて酸性にした。この溶液を50mLのEt₂Oで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、ついで濃縮して残渣 1 3 を得た。 10

【 0 0 5 7 】

38.6mg (0.1ミリモル) の化合物 1 3 をアルゴン下、CH₂Cl₂ (1mL) 中で攪拌した。CH₂Cl₂ (2.0mL、1M) 中のBBr₃を加え、攪拌を1.5時間続けた。ついで、混合物をH₂Oに注ぎ、CH₂Cl₂ (50mL) で抽出した。ついで、コンバインした抽出物をMgSO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣をNP SepakTM (ヘキサン: EA = 7:3) により精製して化合物 1 4 (25mg、70%) を得た。

【 0 0 5 8 】

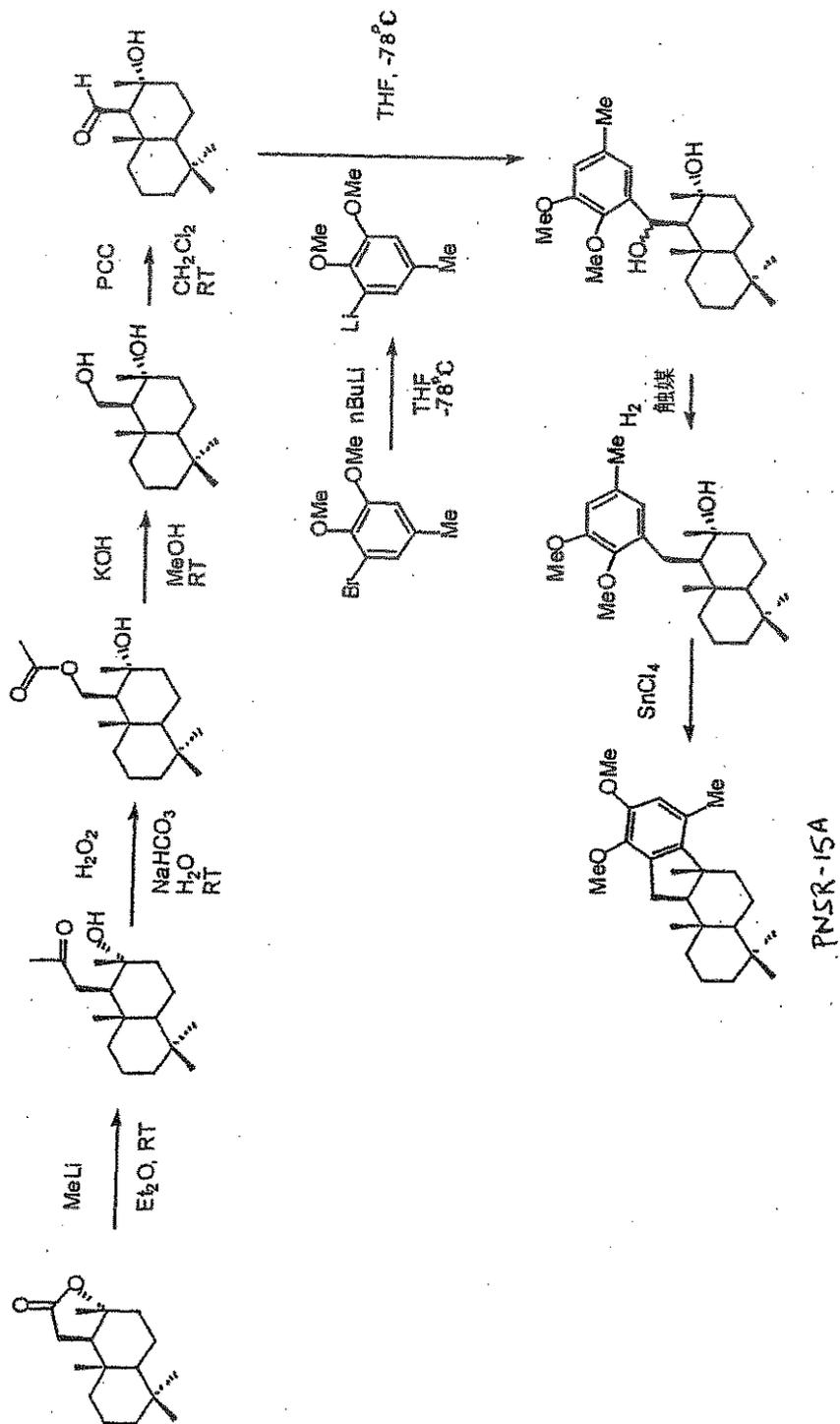
35.8mg (0.1ミリモル) の化合物 1 4 を、5%H₂SO₄を含むMeOH (2mL) に溶解した。攪拌を2時間続け、混合物をEt₂Oで抽出し、MgSO₄で乾燥させ、濃縮して化合物 1 5 を得た。 20

【 0 0 5 9 】

実施例 3

ペロロールアナログPNSR-15Aを、以下のスキームを用い、実施例 3 に記載の方法に従って合成した。

【化 17】



10

20

30

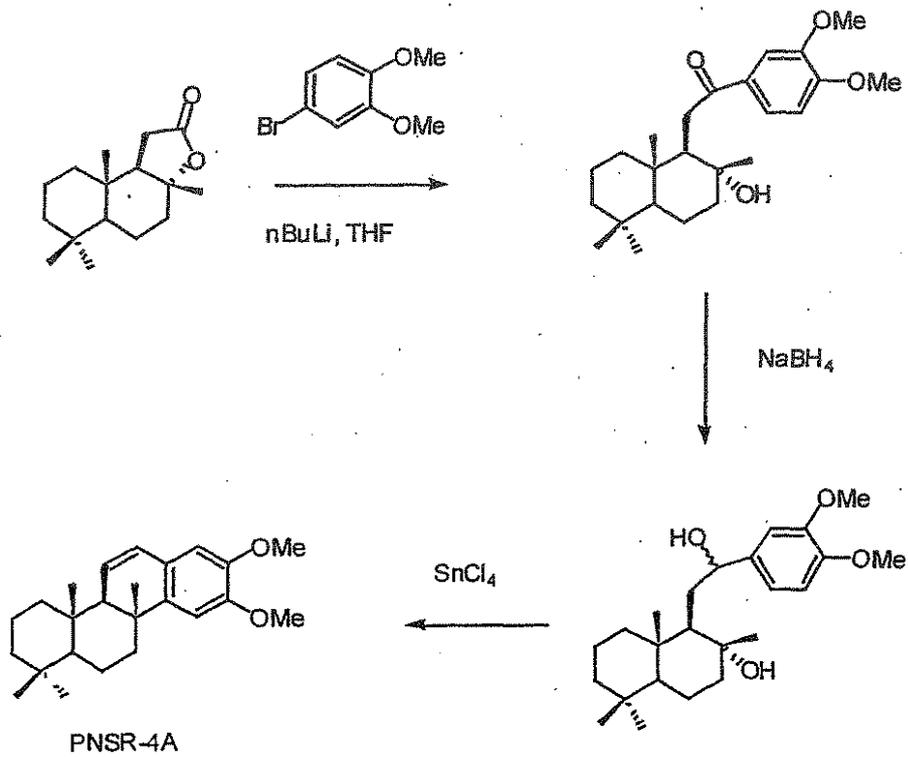
40

【0060】

実施例 4

ペロロールアナログPNSR-4Aを、以下のスキームに従い、上記方法により合成した。

【化 1 8】



10

20

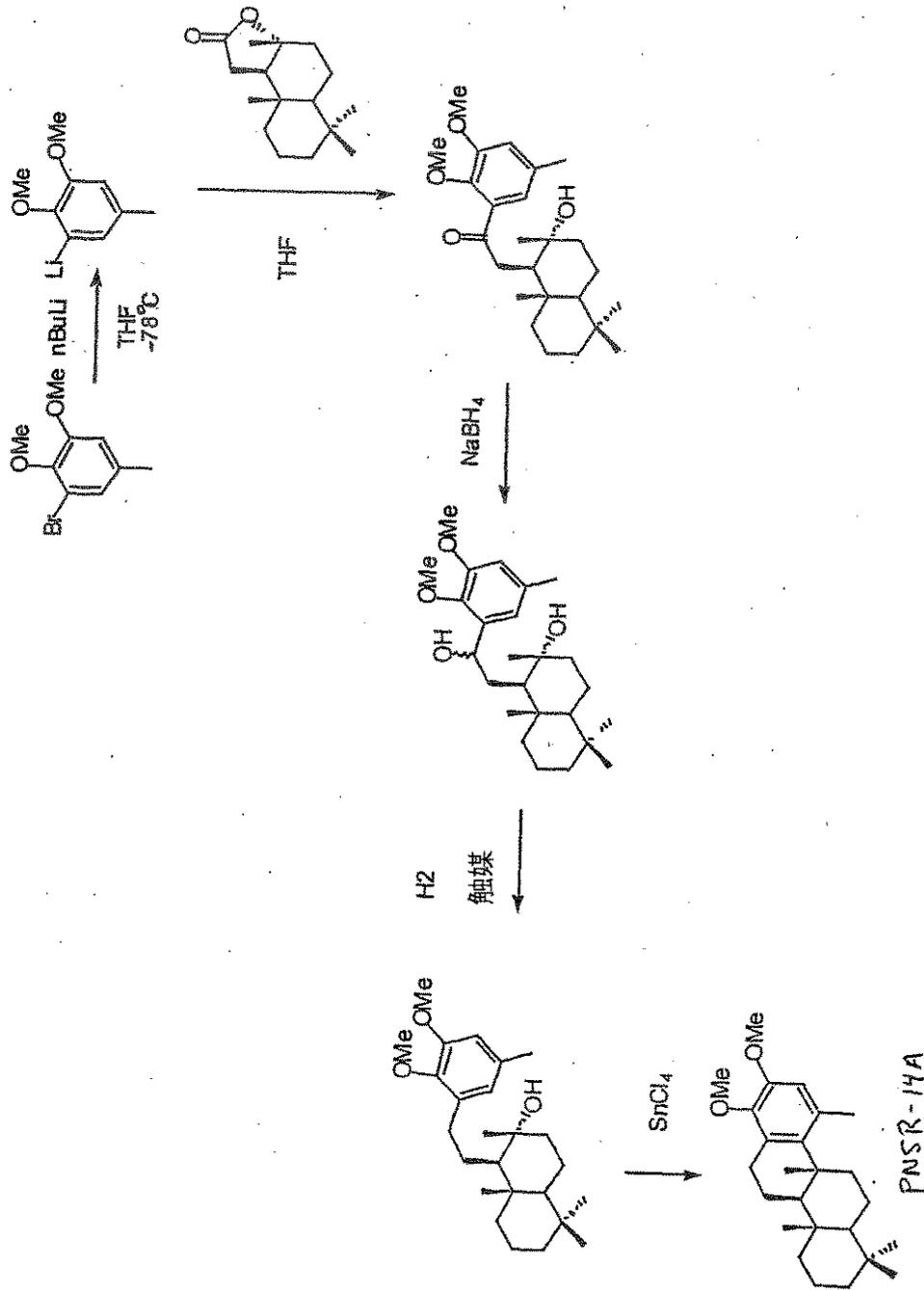
【 0 0 6 1】

実施例 5

ホモペロロールアナログ PNSR-14A を、以下のスキームに従い、上記方法により合成した。

。

【化19】



10

20

30

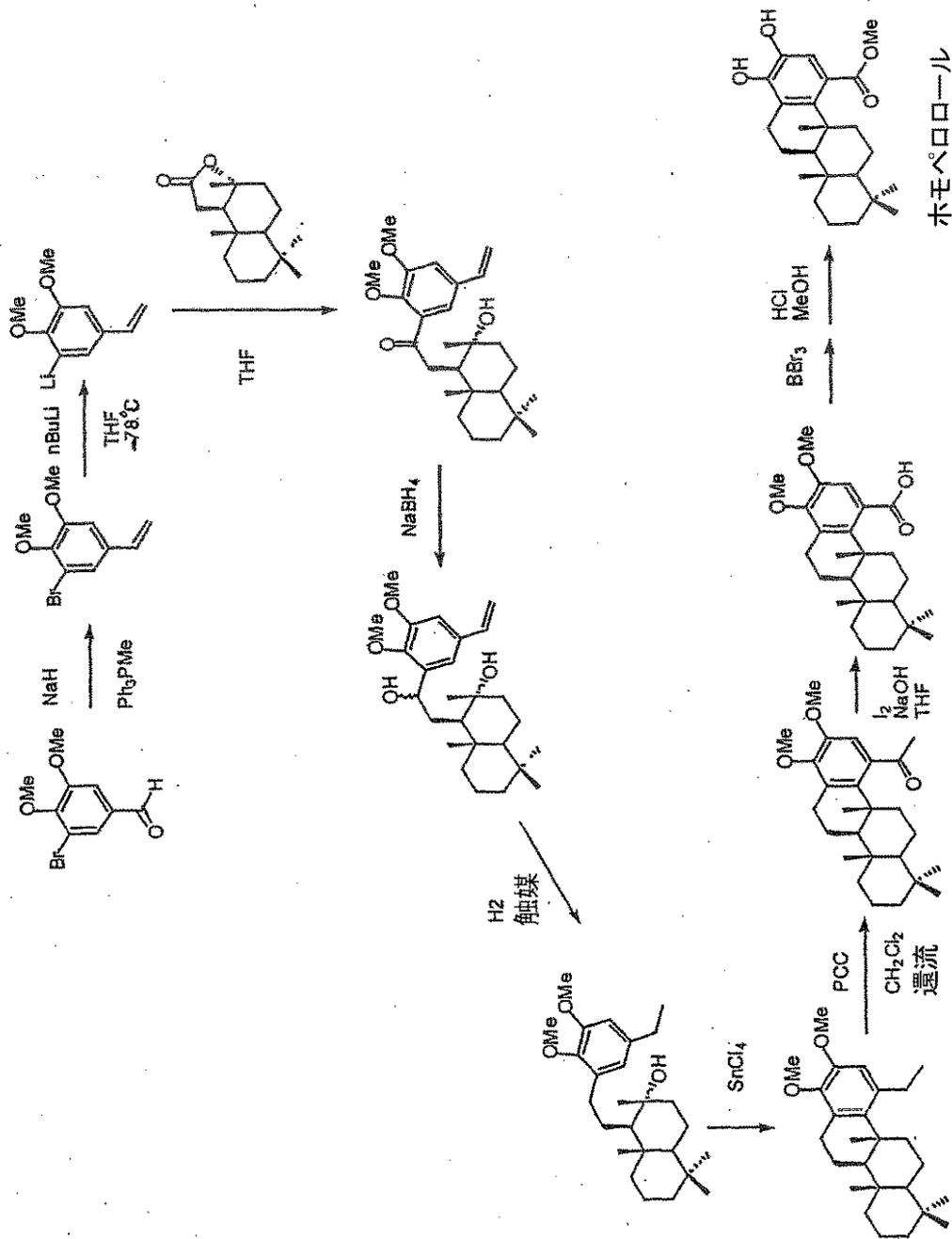
【0062】

実施例6

ホモペロロールを、上記実施例に基づく以下のスキームに従い、上記方法に従って合成することができる。

40

【化20】



10

20

30

【0063】

実施例7

図1に記載したSHIP1酵素アッセイでの活性の増大を引き起こすことに加え、式Iのアゴニスト化合物は、全細胞ベースのアッセイでマクロファージおよび肥満細胞に対して抗炎症作用を示し、内毒素活性化された野生型マクロファージからの一酸化窒素の産生を抑制し、生きた被験者に対して抗炎症作用を示す。NO放出アッセイおよび肥満細胞活性化アッセイでペロロールについて得られた結果を、それぞれ図2および図3に示す。NO放出の抑制はSHIP1^{-/-}マクロファージでは観察されなかった。ペロロールはIGE誘発された肥満細胞の脱顆粒を有意に低減した。

40

【0064】

細胞および動物ベースのアッセイに用いた手順を以下に記載する。ペロロールおよび式Iの範囲内の種々のアナログについての結果を表3に示すが、これには実施例1に記載の酵素アッセイを用いた結果も含まれる。

50

【0065】

NO放出アッセイについては、野生型またはSHIP1^{-/-}マクロファージ細胞をマイクロタイタープレート(5×10⁴/ウエル)にアコートし、被験化合物またはDMSO担体の存在下または不在下、1g/mLの内毒素(LPS)で活性化させた。細胞を37℃、5%CO₂にて24時間インキュベートし、ついでGriess試薬を用いたNO決定のために培養上澄み液を除去した。あるいは、LPSを添加する前に、J774.1aマクロファージ細胞を、DMSOに溶解した10μg/mlの被験化合物で40分間処理した。Griess試薬を用いたNO濃度の決定のために培養上澄み液を24時間後に回収した。

【0066】

肥満細胞活性化アッセイについては、骨髄由来肥満細胞を抗DNP IgEとともに40分間で1時間インキュベートした。ついで、該細胞を23℃のTyrode's緩衝液で2回洗浄し、DNP-ヒト血清アルブミンで15分間処理する前に被験化合物またはビヒクル対照の存在下で30分間インキュベートした。脱顆粒の程度を、β-ヘキソサミンナーゼの放出を測定することにより決定した。

10

【0067】

マクロファージTNF-α産生アッセイについては、100ng/mLのLPSを添加する前に、J774.1aマクロファージ細胞をシクロデキストリン中に溶解した10μg/mLの被験化合物で40分間処理した。ELISAによりTNF-αを決定するため、培養上澄み液を2時間後および5時間後に回収した。

【0068】

マウスの耳浮腫(Evans Blue)アッセイは、アレルギー炎症の標準モデルである。マウスにモノクローナル抗DNP IgE抗体を静脈内注射することにより受動感作させた。24時間後、20μlのDMSO:メタノール(1:3)中の10μgの被験化合物(右耳)またはビヒクル単独(左耳)を投与し、20分後に誘発剤[アセトン中の20μlの0.15%DNFB:オリーブ油(4:1)]を投与した。ついで、マウスに300μlの1%Evans Blueを静脈内注射した。誘発剤の投与1時間後、耳でのEvans Blueの管外遊出の視覚による点検および定量により血管透過性を測定した。Evans Blue含量を定量するため、DNFB処理の1時間後に耳を回収し、ホルムアミド中、37℃で24時間インキュベートすることによりEvans Blueを抽出し、620nmでの分光分析により定量した。担体のみで前処理した耳はDNFB攻撃にตอบสนองして速やかなアナフィラキシー反応を展開した。対照的に、SHIP1アゴニストは、Evans Blueの管外遊出の低減によって示されるように血管透過性亢進の明らかな抑制を示した。

20

30

【0069】

マウスの耳浮腫(リンパ球浸潤アッセイ)は接触過敏症または耳炎症のモデルであり、ヒトアレルギーの標準的なインビボモデルである。接触過敏症は、初期の感作相(sensitizing phase)と惹起相(eliciting phase)とからなる。後者の相は、表皮細胞が以前に暴露された特定の抗原に出会ったときに起こり、局所的な細胞浸潤、炎症、および浮腫を特徴とする。このアッセイでは、4週齢(20g)Balb/cマウスの腹部領域を電気カミソリで剃った後に腹壁にアセトン:オリーブ油(4:1、v/v)中の0.5%2,4-ジニトロフルオロベンゼン(DNFB;ハプテン化剤)を25μl適用することにより、DNFBに対して感作させた。第二の適用の4日後、マウスをハロタンで軽く麻酔し、ついで右および左耳の両側の皮膚の上に(epicutaneously)10μlの0.2%DNFBを攻撃した。マウスはすべて、DNFBによる皮膚上攻撃の24時間前に滅菌食塩水中の³H-メチルチミジン(1μCi/g体重)を500μl腹腔内(i.p.)注射した。DNFB攻撃の30分前に右および左耳をそれぞれDMSO:メタノール(1:3、v/v)中の被験化合物かまたはビヒクル単独で前処理した。DNFB攻撃の24時間後、マウスをCO₂窒息により屠殺し、8mm直径のくり抜きを各耳から採取し、500μlのSolvableTM中、60℃で10~12時間消化した。試料をH₂O₂の添加により脱色し、標準液体シンチレーションカウンティングにより放射性標識白血球の浸潤物を分析した。

40

【0070】

大腸炎アッセイは、被験化合物がTNBS(トリニトロベンゼンスルホン酸)により誘発さ

50

れた炎症からマウスを防御するか否かを決定することに基づいている。TNBS浮腫投与の直前に被験化合物(10mg/kg)またはピヒクル対照をマウスに腹腔内注射した。2日後、ピヒクル処理したマウスの結腸は重篤な炎症であったが、SHIP1アゴニスト処理したマウスは炎症の徴候を示さなかった。

【0071】

表3

【表1】

	SHIP1酵素アッセイ	マクロファージNO産生	マクロファージTNF α 産生	肥満細胞活性化	マウス耳浮腫(Evans blueアッセイ)	マウス耳浮腫(白血球浸潤アッセイ)	大腸炎
ペロロール	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++
ジメトキシペロロール	+	+++	ND	ND	ND	ND	ND
PNSR-4A	insol	ND	ND	ND	+++	ND	ND
PNSR-15A	ND	ND	ND	ND	ND	++	ND
PNSR-16A	ND	ND	+++	ND	ND	++	ND
PNSR-17A	ND	ND	++	ND	ND	ND	ND
PNSR-18A	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND

10

20

【0072】

以上、本発明を理解の明瞭を目的として説明および実施例により若干詳細に記載したが、添付の特許請求の範囲の精神および範囲から逸脱することなく変更および改変をなし得ることは当業者には明らかであろう。本明細書において言及したすべての特許、特許出願および出願公報は参照のため本明細書に引用される。

【0073】

参考文献

- Huber, M.ら、(1999) Prog Biophys Mol Biol 71:423
- Sattler, M.ら、(1999) Mol Cell Biol 19:7473
- Lui, Lingら、(2001) Blood 98:1225 (Abstract No. 1225)
- Kwak, J.H.ら、(2000) J. Nat. Prod. 63:1153-56
- Goclik, E.ら、(2000) J. Nat. Prod. 63:1150-52
- Ishihara, Kazuakiら、(2001) J. of the American Chem. Soc. 123:1505-1506
- Ishihara, Kazuakiら、(2002) J. of the American Chem. Soc. 124:3647-3655
- Rosales, Vialeら、(2002) J. of Organic Chem. 67:1167-1170
- Corey, Elias J.ら、(1998) Angewante Chemie, Intl. Ed. 37:1126-1128
- Boreham, Christopher J.ら、(1995) Organic Geochemistry 23:461-6
- Freeman, Katherine H.ら、(1994) Organic Geochemistry 21:1037-1049
- Schaeffer, Phillipeら、(1994) Angewante Chemie 106:1235-8
- Harrington, Scott R.ら、(1994) Tetrahedron 50:9229-54
- Registry Number 112299-69-1
- Helgason, C. D.ら、(1998) Genes Dev. 12:1610
- Helgason, C. D.ら、(2000) J. Exp. Med. 191:781
- O'Farrell, A. M.ら、(2000) J. Immunol. 164:4607
- Damen, J. E.ら、(1998) Blood 92:1199

30

40

【図面の簡単な説明】

【0074】

【図1】図1は、海綿動物抽出物がSHIP1酵素活性にインビトロで及ぼす作用を示す

50

グラフである。

【0075】

【図2】図2は、ペロロールがマクロファージの一酸化窒素（NO）産生に及ぼす作用を示すグラフである。

【0076】

【図3】図3は、ペロロールがI g E 媒体肥満細胞活性化に及ぼす作用を示すグラフである。

【図1】

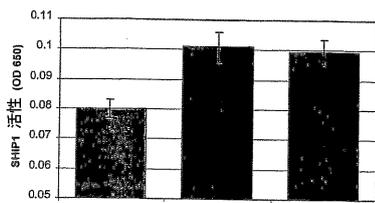


FIGURE 1

【図3】

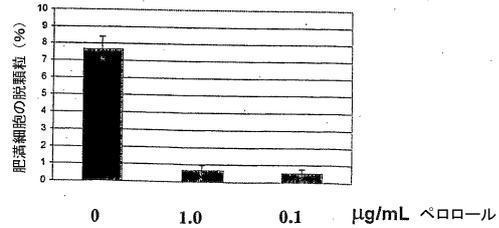


FIGURE 3

【図2】

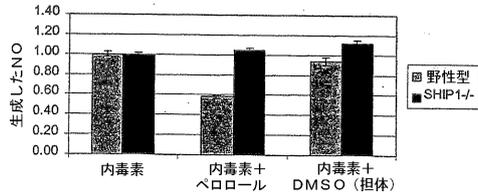


FIGURE 2

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/CA 03/00571
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07J63/00 A61P35/00 A61P35/02 A61K31/565		
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) IPC 7 C07J A61P A61K		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, BEILSTEIN Data, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GOCLIK, EVA ET AL: "PeloroI from the Tropical Marine Sponge Dactylospongia elegans" JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS (2000), 63(8), 1150-1152, XP002254980 cited in the application page 1151, column 2; table 2 --- -/--	34, 36
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*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 *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 *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. *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 26 September 2003		Date of mailing of the international search report 09/10/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Watchorn, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/CA 03/00571

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HE W ET AL: "Novel cytokine release inhibitors. Part III: truncated analogs of tripterine" BIDORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, vol. 8, no. 24, 15 December 1998 (1998-12-15), pages 3659-3664, XP004150387 ISSN: 0960-894X page 3663, table 2, compound 23 ---	1-38
A	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; SOROKINA, I. B. ET AL: "Estrogen and antineoplastic activity in a series of transformed estrone and estradiol analogs" retrieved from STN Database accession no. 80:91450 XP002230773 abstract & IZVESTIYA AKADEMII NAUK SSSR, SERIYA BIOLOGICHESKAYA (1973), (5), 664-70, ---	1-38
E	WO 03 033517 A (UNIV BRITISH COLUMBIA ;MUI ALICE (CA); KRYSTAL GERALD (CA); ONG CH) 24 April 2003 (2003-04-24) page 10, homopeloro1; page 11, compound PNSR-4A; page 12, compounds PNSR-5A, -6A, -8A and -9A page 13, paragraphs 1-3 -----	1,3-7, 11-38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA 03/00571

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 38 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No
PCT/CA 03/00571

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03033517 A	24-04-2003	WO 03033517 A1	24-04-2003

フロントページの続き

(51) Int. Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 37/00 (2006.01)		A 6 1 P 37/00	
C 0 7 J 69/00 (2006.01)		C 0 7 J 69/00	

(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, RO, 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, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 レイモンド・アンダーセン
カナダ、ブイ 6 エス・1 ゼット 6、ブリティッシュ・コロンビア、バンクーバー、ウエスト・3 2
アベニュー 4 0 4 8 番

(72) 発明者 デイビッド・イー・ウィリアムズ
カナダ、ブイ 6 ケイ・4 ケイ 1、ブリティッシュ・コロンビア、バンクーバー、ウエスト・5 アベ
ニュー 2 2 5 5 番、ナンバー 2 1 2

(72) 発明者 アリス・ムイ
カナダ、ブイ 5 イー・2 イー 7、ブリティッシュ・コロンビア、バーナビー、ウェッジウッド・ス
トリート 7 9 8 3 番

(72) 発明者 クリストファー・オン
カナダ、ブイ 6 ゼット・2 エックス 4、ブリティッシュ・コロンビア、バンクーバー、ハウ・スト
リート 1 1 8 9 番、ナンバー 9 0 6

(72) 発明者 ジェラルド・クリスタル
カナダ、ブイ 6 エヌ・1 エイ 3、ブリティッシュ・コロンビア、バンクーバー、エルム・ストリー
ト 5 6 6 1 番

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 DA08 MA04 MA52 MA55 NA14 ZA01 ZA16
ZA51 ZA68 ZA89 ZA96 ZA97 ZB07 ZB11 ZB13 ZB15 ZB26
ZC35
4C091 AA06 AA08 BB20 CC01 DD01 EE01 FF02 FF06 GG03 GG05
HH01 JJ03 KK01 LL01 MM01 NN12 PA09 QQ01