

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4163946号
(P4163946)

(45) 発行日 平成20年10月8日(2008.10.8)

(24) 登録日 平成20年8月1日(2008.8.1)

(51) Int.Cl.		F I	
C07C 245/08	(2006.01)	C O 7 C 245/08	
A61K 31/194	(2006.01)	A 6 1 K 31/194	
A61P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A61P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 3

請求項の数 39 (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2002-523442 (P2002-523442)	(73) 特許権者	506292941 バイオコン・リミテッド
(86) (22) 出願日	平成13年8月28日 (2001. 8. 28)		インド国、バンガロア 560100、エレクトロニクス・シティ、トゥエンティース・ケイエム・ホスール・ロード
(65) 公表番号	特表2004-517813 (P2004-517813A)	(74) 代理人	100099623 弁理士 奥山 尚一
(43) 公表日	平成16年6月17日 (2004. 6. 17)	(74) 代理人	100096769 弁理士 有原 幸一
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/026697	(74) 代理人	100107319 弁理士 松島 鉄男
(87) 国際公開番号	W02002/018324	(72) 発明者	エクウリベ、ヌノキリ・エヌ アメリカ合衆国ノースカロライナ州275 11, ケアリー, コルツゲイト・ドライブ 216
(87) 国際公開日	平成14年3月7日 (2002. 3. 7)		
審査請求日	平成16年1月23日 (2004. 1. 23)		
(31) 優先権主張番号	60/228, 683		
(32) 優先日	平成12年8月29日 (2000. 8. 29)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

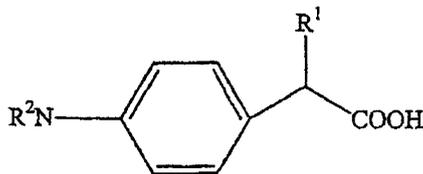
(54) 【発明の名称】 免疫調節性化合物およびその誘導体並びにそれを用いて疾患を治療する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

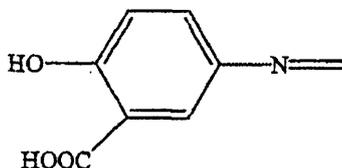
下記の式で示される化合物、または薬理上許容されるその塩。

【化1】



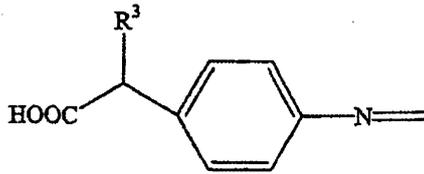
{ 式中、R¹はH、CH₃、CH₂CH₃およびCH(CH₃)₂からなる群から選択され、R²は、

【化2】



または

【化3】



(式中、 R^3 はH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択され、 R^1 がHである場合は、 R^3 は CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択され、 R^3 がHである場合は、 R^1 は CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択され、 R^1 が CH_2CH_3 である場合は、 R^3 はH、 CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択され、 R^3 が CH_2CH_3 である場合は、 R^1 はH、 CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される。)である。}

10

【請求項2】

R^1 および R^3 が独立してHおよび CH_3 からなる群から選択される請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

5 - (4 - カルボキシメチル - フェニルアゾ) - 2 - ヒドロキシ安息香酸である請求項1に記載の化合物。

【請求項4】

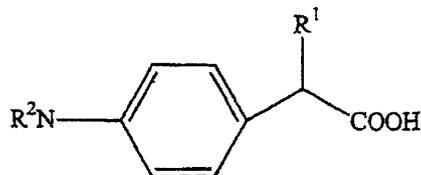
5 - [4 - (1 - カルボキシ - エチル) - フェニルアゾ] - 2 - ヒドロキシ安息香酸である請求項1に記載の化合物。

20

【請求項5】

炎症性腸疾患を治療するために有効な量の下記の式で示される化合物、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩を、固形または液状の医薬希釈剤または担体と混合して含有する医薬組成物。

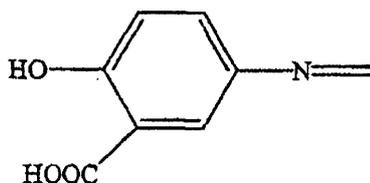
【化4】



30

{式中、 R^1 はH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択され、 R^2 は、

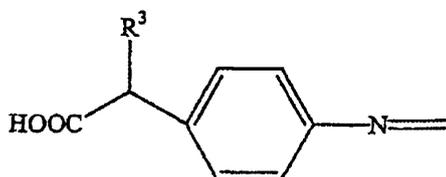
【化5】



40

または

【化6】



50

(式中 R^3 はH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される。)である。}

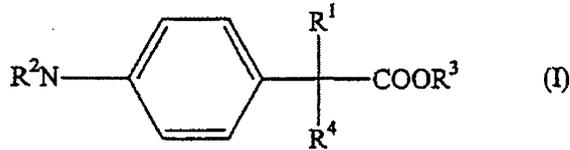
【請求項6】

R^1 および R^3 が独立してHおよび CH_3 からなる群から選択される請求項5に記載の医薬組成物。

【請求項7】

式Iで示される化合物、または医薬上許容されるその塩。

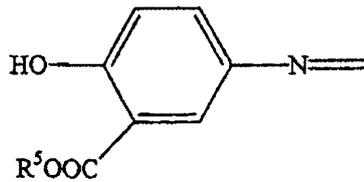
【化7】



10

(式中、 R^1 、 R^3 および R^4 は独立して水素または $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、 R^2 は、

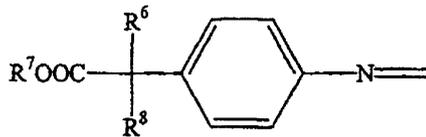
【化8】



20

{ 式中、 R^5 は水素および $C_1 \sim C_4$ アルキルからなる群から選択されるか、または

【化9】



(式中、 R^6 、 R^7 および R^8 は独立して水素または $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^6 、 R^7 および R^8 の6つの置換基のうちの5つが水素である場合、残りの基は $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、 R^1 、 R^3 、 R^6 および R^7 がそれぞれ水素である場合、 R^4 および R^8 の両方が同時に C_2 アルキルであることはない。)である。}

30

【請求項8】

R^1 、 R^3 および R^4 が独立してH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項7に記載の化合物。

【請求項9】

R^6 、 R^7 および R^8 が独立してH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項7に記載の化合物。

【請求項10】

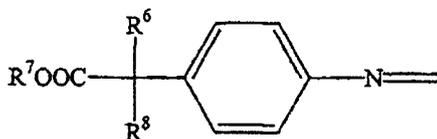
R^5 がH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項7に記載の化合物。

40

【請求項11】

R^2 が

【化10】



(式中、 R^6 、 R^7 および R^8 は独立して水素または $C_1 \sim C_4$ アルキルである。)である請

50

求項 7 に記載の化合物。

【請求項 1 2】

R^7 が水素である請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 3】

R^6 が水素であり、 R^8 が H、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 4】

R^6 が水素であり、 R^8 が H および CH_3 からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 5】

R^1 および R^6 が水素であり、 R^4 および R^8 が独立して H、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 6】

R^1 および R^6 が水素であり、 R^4 および R^8 が独立して H および CH_3 からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 7】

R^1 、 R^3 および R^6 が水素であり、 R^4 および R^8 が独立して H および CH_3 からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 8】

R^1 、 R^3 、 R^6 および R^7 が水素であり、 R^4 および R^8 が独立して H、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

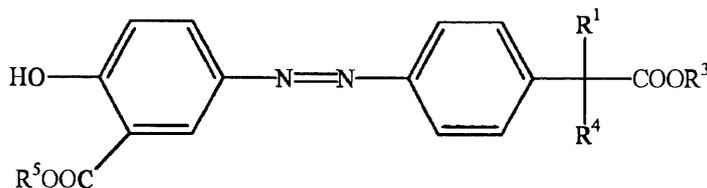
【請求項 1 9】

R^1 、 R^3 、 R^6 および R^7 が水素であり、 R^4 および R^8 が独立して H および CH_3 からなる群から選択される請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 2 0】

下記の式で示される化合物、または薬理上許容されるその塩。

【化 1 1】



(式中、 R^1 、 R^3 、 R^4 および R^5 は独立して水素または $C_1 \sim C_4$ アルキルである。)

【請求項 2 1】

R^5 が水素である請求項 2 0 に記載の化合物。

【請求項 2 2】

R^1 が水素であり、 R^4 が H、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 2 0 に記載の化合物。

【請求項 2 3】

R^4 が水素であり、 R^1 が H および CH_3 からなる群から選択される請求項 2 0 に記載の化合物。

【請求項 2 4】

R^3 が水素である請求項 2 0 に記載の化合物。

【請求項 2 5】

R^1 、 R^3 および R^5 が水素であり、 R^4 が H、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 2 0 に記載の化合物。

【請求項 2 6】

下記の式で示される化合物、または薬理上許容されるその塩。

10

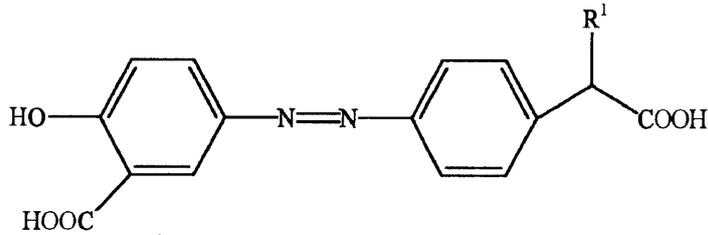
20

30

40

50

【化 1 2】



(式中、 R^1 は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。)

【請求項 2 7】

R^1 が C_1 または C_2 アルキルである請求項 2 6 に記載の化合物。

【請求項 2 8】

5 - (4 - カルボキシメチル - フェニルアゾ) - 2 - ヒドロキシ安息香酸、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩。

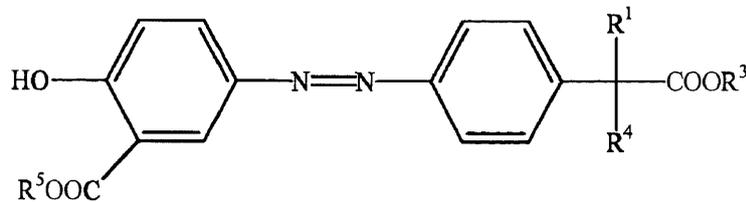
【請求項 2 9】

5 - [4 - (1 - カルボキシ - エチル) - フェニルアゾ] - 2 - ヒドロキシ安息香酸、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩。

【請求項 3 0】

消化器管の炎症状態を治療するために有効な量の下式で示される化合物、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩を、医薬上許容される希釈剤または担体と混合して含有する医薬組成物。

【化 1 3】



(式中、 R^1 、 R^3 、 R^4 および R^5 は独立して水素または $C_1 \sim C_4$ アルキルである。)

【請求項 3 1】

R^5 が水素である請求項 3 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 2】

R^1 が水素であり、 R^4 が H 、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 3 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 3】

R^4 が水素であり、 R^1 が H または CH_3 からなる群から選択される請求項 3 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

R^3 が水素である請求項 3 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 5】

R^1 、 R^3 および R^5 が水素であり、 R^4 が H 、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される請求項 3 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 6】

消化器管の炎症状態を治療するために有効な量の下式で示される化合物、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩を、医薬上許容される希釈剤または担体と混合して含有する医薬組成物。

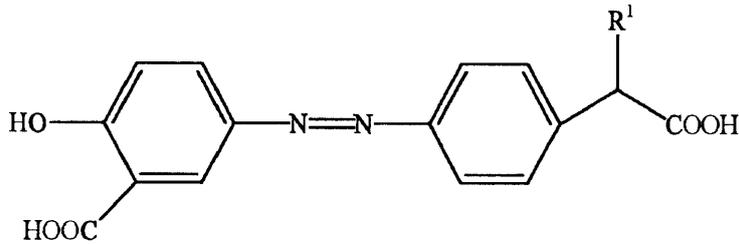
10

20

30

40

【化 1 4】



(式中、 R^1 は $C_1 \sim C_4$ アルキルである。)

10

【請求項 3 7】

R^1 が C_1 または C_2 アルキルである請求項 3 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

消化器管の炎症状態を治療するために有効な量の 5 - (4 - カルボキシメチル - フェニルアゾ) - 2 - ヒドロキシ安息香酸、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩を、医薬上許容される希釈剤または担体と混合して含有する医薬組成物。

【請求項 3 9】

消化器管の炎症状態を治療するために有効な量の 5 - [4 - (1 - カルボキシ - エチル) - フェニルアゾ] - 2 - ヒドロキシ安息香酸、またはそのエステルもしくは薬理上許容されるその塩を、医薬上許容される希釈剤または担体と混合して含有する医薬組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1】

[関連出願]

本特許出願は、引用することにより取り込まれ、その開示内容の全体が本願明細書の 1 部をなす 2 0 0 0 年 8 月 2 9 日に提出された米国特許仮出願第 6 0 / 2 2 8 , 6 8 3 号の利益を主張する。

【 0 0 0 2】

[発明の分野]

本発明は、免疫調節性化合物 (immunoregulatory compounds) およびそれを用いて疾患を治療する方法に関する。

30

【 0 0 0 3】

[発明の背景]

多くの人々が炎症性腸疾患 (I B D : inflammatory bowel disease) に苦しんでいる。I B D は、総称であり、2 種の炎症性疾患である潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis) とクローン病 (Crohn's disease) を言及するために使用される。潰瘍性大腸炎は、消化器 (G I) 管の様々な部分、特に下部 G I 管、およびより詳細には結腸および / または直腸に影響を及ぼす病因不明の慢性炎症性疾患である。クローン病は、G I 管の重篤な炎症性疾患である。この疾患は小腸 (回腸) および大腸 (結腸) において優勢である。炎症性腸疾患を治療するために様々な薬物療法が使用されている。

【 0 0 0 4】

40

潰瘍性大腸炎を治療するために 5 - アミノサリチル酸 (5 - A S A) であるメサラミンを使用することは知られている。メサラミンは潰瘍性大腸炎を治療する際に有効な可能性があるが、G I 管を通過するにつれて吸収されることがある。この吸収は、下部 G I 管へ、特に結腸および直腸へ到達するメサラミンの量に有害な影響を及ぼすことがある。

【 0 0 0 5】

腸および上部 G I 管を通過する際のメサラミンを保護しようとして様々なメサラミン製剤 (formulation) が導入されてきた。そのような製剤の 1 つは、メサラミンを取り囲む p H 感受性コーティング剤に依存した遅放性製剤 (delayed-release formulation) である。このコーティング剤は、メサラミンが吸収されずに腸および上部 G I 管を通過することを可能にするので、メサラミンは標的 (即ち、下部 G I 管、特に結腸および / または直腸

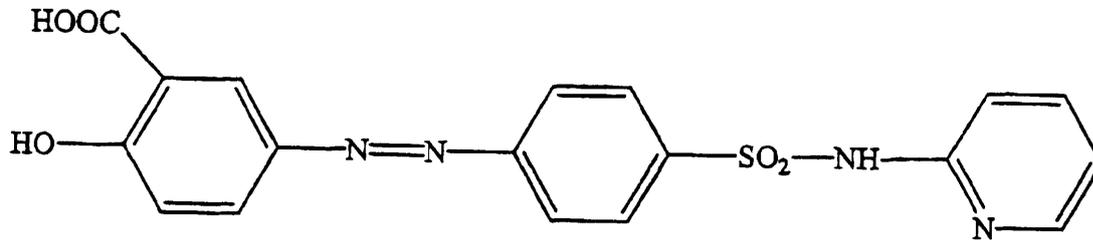
50

)に無傷で到達する。また別の製剤では、メサラミン・マイクロスフェアがメサラミン・コアを取り囲んでいる。この製剤は、結腸を特異的標的とするのではなく、G I管全体にメサラミンを放出する。様々なメサラミン製剤を、多様な個体へ投与したときの生体利用効率 (bioavailability) を予測するのは困難な可能性がある。その結果として、特定の個体に適正な用量を決定するのは困難な可能性がある。

【0006】

潰瘍性大腸炎を治療するために下記の式を有するスルファサラジン (sulfasalazine) を使用することも知られている。

【化21】



10

しかし、スルファサラジンは体内で代謝されてメサラミン (5 - アミノサリチル酸 (5 - ASA)) とスルファピリジンとを形成する。スルファサラジンの使用からは、ほんの少数の例を挙げても悪心、嘔吐、腹部不快感および頭痛を含む数種の有害な副作用が記録されている。これらの有害な副作用は、通例はG I管内での、並びに全身に吸収されたスルファサラジンの活性に起因する。

20

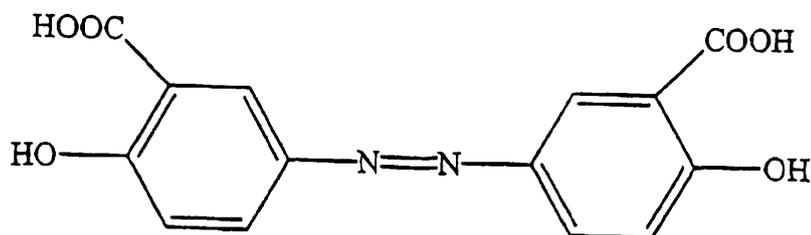
【0007】

Chanへ付与された米国特許第4,412,992号はメサラミン誘導体を提案している。スルファサラジンとは相違して、これらの化合物の腸管内での分解は望ましくない代謝産物を発生させないと思われる。実際に、非メサラミン代謝産物は無害である。

【0008】

下記の式を有するオルサラジン (olsalazine) は潰瘍性大腸炎を治療するために使用されてきた。

【化22】



30

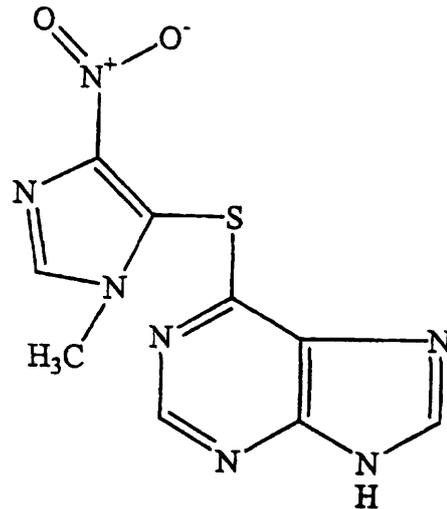
製造費用が相当に高額であることに加えて、オルサラジンは下痢を含む有害な副作用を有することがある。

40

【0009】

炎症性腸疾患の治療にアザチオプリン (6 - (1 - メチル - 4 - ニトイミダゾール - 5 - イルチオ) プリン) を使用することは知られている。アザチオプリンは下記の化学構造を有している。

【化23】

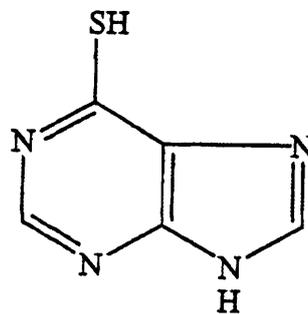


10

【0010】

炎症性腸疾患を治療するためにアザチオプリンの代謝産物である6-メルカプトプリンを使用することも知られている。6-メルカプトプリンは下記の化学構造を有している。

【化24】

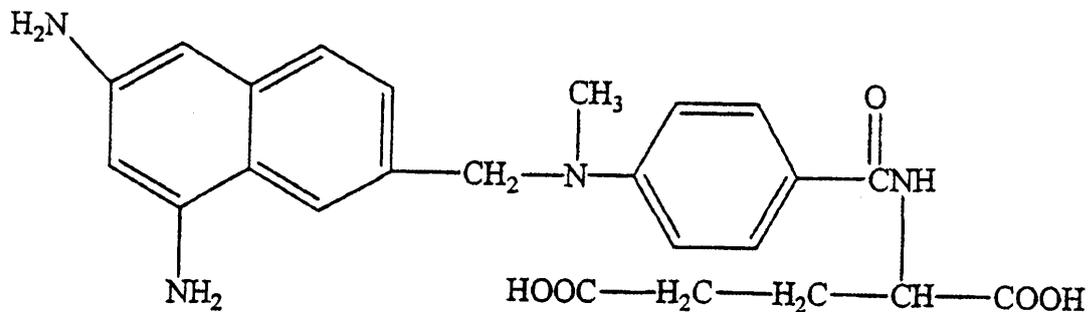


20

【0011】

炎症性腸疾患を治療するためにメトトレキサート (methotrexate: L-4-アミノ-N¹⁰-メチルプテロイル-グルタミン酸) も使用されてきた。メトトレキサートは下記の化学構造を有している。

【化25】



40

【0012】

伝統的に、臓器拒絶反応を防止する目的で移植患者へ投与されてきたポリペプチドのシクロスポリンも、炎症性腸疾患を治療するために使用されてきた。だがIBDを治療する目的でのシクロスポリンの使用は、この薬物療法に結び付いた様々な副作用によって限定される可能性がある。これらの副作用には、高血圧、腎障害、振戦 (tremor)、頭痛、発作、多毛症、過剰歯肉増殖、錯乱、昏睡および痛風が含まれる。

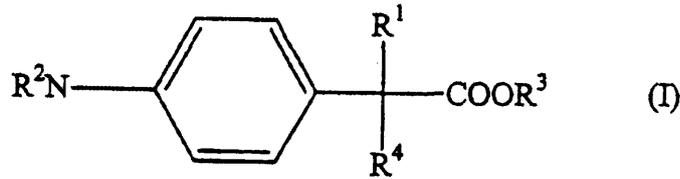
【0013】

50

[発明の概要]

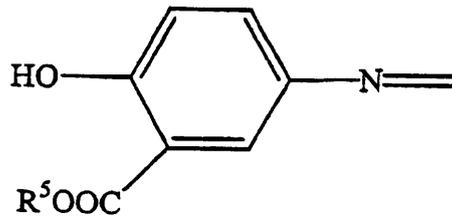
本発明の実施形態に従うと、下記の式で示される化合物並びに当該化合物のエステルもしくは医薬上許容される塩が提供される。

【化 2 6】



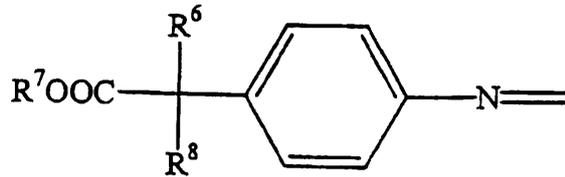
10

{ 式中、R¹、R³およびR⁴は独立して水素またはC₁~C₄アルキルであり、R²は、
【化 2 7】



20

{ 式中、R⁵は水素およびC₁~C₄アルキルからなる群から選択されるか、または
【化 2 8】



(式中、R⁶、R⁷およびR⁸は独立して水素もしくはC₁~C₄アルキルである。) である。
。 } である。]

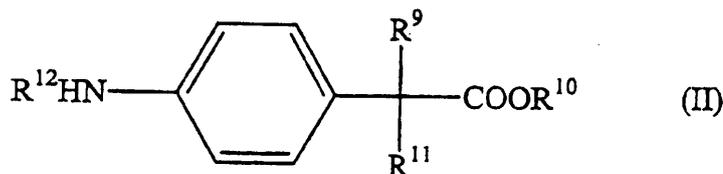
30

本発明の実施形態に準じた化合物を含有する医薬組成物もまた提供され、さらに当該化合物を用いて炎症状態を治療する方法も提供される。

【 0 0 1 4 】

本発明の他の実施形態に従うと、治療を必要とする対象における消化器管の炎症状態を治療する方法は、下記の式IIで示される化合物、または当該化合物のエステルもしくは医薬上許容される塩を、固形または液状の医薬希釈剤または担体と混合して含有する有効量の活性医薬成分 (active pharmaceutical ingredient) を対象に投与するステップを含む。

【化 2 9】

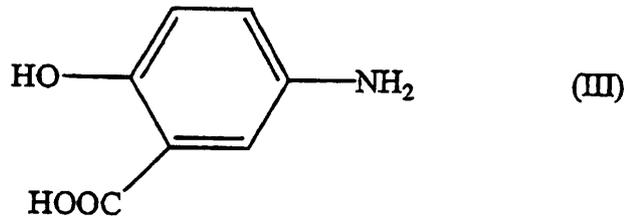


40

{ 式中、R⁹、R¹⁰およびR¹¹は独立して水素およびC₁~C₄アルキルからなる群から選択され、R¹²は水素および-C(O)R¹³ (式中、R¹³はC₁~C₆アルキル、またはアリール基である。) からなる群から選択される。 }

その活性医薬成分は、さらに式IIIで示される化合物を含有することができる。

【化 3 0】



【 0 0 1 5 】

[好ましい実施形態の詳細な説明]

今度はここに開示する好ましい実施形態に関して本発明を説明する。しかし、これらの実施形態は本発明を例示することを目的としており、請求項によって定義される本発明の範囲を限定しないと解釈すべきであると理解されなければならない。

10

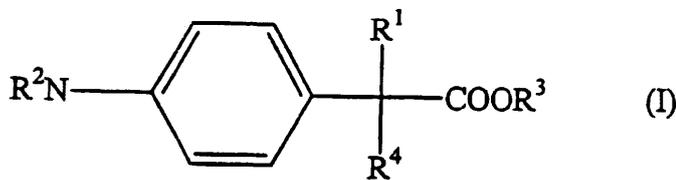
【 0 0 1 6 】

ここで使用するように、用語「炎症性腸疾患」は潰瘍性大腸炎およびクローン病を含んでいる。

【 0 0 1 7 】

本発明の実施形態に従うと、下記の式を有する化合物が提供される。

【 化 3 1 】

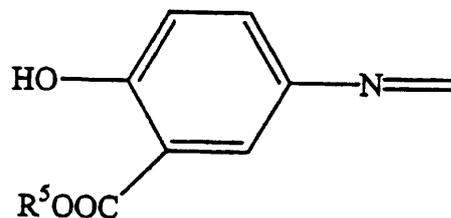


20

式中、 R^1 、 R^3 および R^4 は独立して水素または $C_1 \sim C_4$ アルキルである。好ましくは、 R^1 、 R^3 および R^4 は独立してH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される。より好ましくは、 R^1 、 R^3 および R^4 はHもしくは CH_3 である。

 R^2 は、

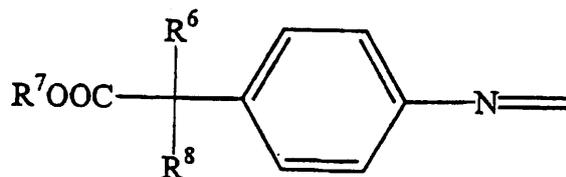
【 化 3 2 】



30

または

【 化 3 3 】



40

である。

【 0 0 1 8 】

R^5 は、水素および $C_1 \sim C_4$ アルキルからなる群から選択される。好ましくは、 R^5 はH、 CH_3 、 CH_2CH_3 および $CH(CH_3)_2$ からなる群から選択される。より好ましくは、

50

R⁵はHまたはCH₃であり、最も好ましくは、R⁵はHである。

【0019】

R⁶、R⁷およびR⁸は独立して水素またはC₁~C₄アルキルである。好ましくは、R⁶、R⁷およびR⁸は独立してH、CH₃、CH₂CH₃およびCH(CH₃)₂からなる群から選択される。より好ましくは、R⁶、R⁷およびR⁸は独立してHまたはCH₃である。

【0020】

本発明の化合物は、よく知られている出発物質および試薬類を使用して作ることができる。例えば、合成経路の実施形態は図1および図2に示されている通りであってよい。

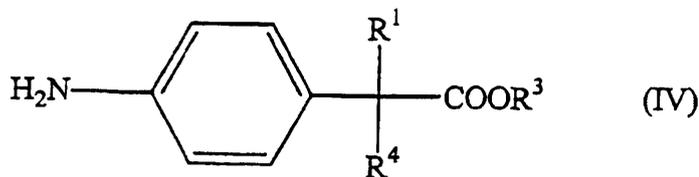
【0021】

本発明の化合物は、粘膜炎のような口腔の炎症状態、感染症（例えば、ウイルス性、細菌性および真菌性疾患）およびクローン病；食道炎のような食道の炎症状態、薬害（例えば、洗剤摂取）の結果として生じた状態、胃食道逆流疾患、胆汁酸逆流、バレット（Barrett）食道、クローン病および食道狭窄；胃炎のような胃の炎症状態（例えば、ヘリコバクターピロリ菌誘発性、酸消化性疾患および萎縮性胃炎）、消化性潰瘍疾患、胃の前癌病変、非潰瘍性消化不良およびクローン病；セリアック病、クローン病、細菌過剰増殖、消化性潰瘍性疾患、および腸の裂溝のような腸の炎症状態；クローン病、潰瘍性大腸炎、感染性大腸炎（例えば、クロストリジウム難治性大腸炎、サルモネラ腸炎、赤痢菌感染症、エルシニア症、クリプトスポリジウム症、ミクロスポリジア感染症、およびウイルス感染症のような偽膜性大腸炎）、放射線誘発性大腸炎、免疫抑制状態にある宿主における大腸炎（例えば、盲腸炎）、結腸の前癌状態（例えば、形成不全症、腸の炎症状態および結腸ポリープ）、直腸炎のような結腸の炎症状態、痔疾、一過性直腸神経痛、および直腸裂溝に関連する炎症；胆管炎、硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変および胆嚢炎のような肝胆嚢および/または胆管の状態；および腸膿瘍を含むがそれらに限定されない様々な疾患、特にGI管の炎症状態の予防および治療のために利用できる。本発明の化合物は、さらにまた生物系または標本における構成要素、状態または疾患状態の診断においても、並びに非生理的系における診断目的においても利用できる。さらにその上、本発明の化合物は植物系における1種もしくは複数の状態または1種もしくは複数の疾患状態の予防もしくは治療において適用できる。一例として、抱合体の活性成分は様々な植物系において使用するために影響を受けやすい殺虫性、除草性、殺真菌性、および/または殺菌性効果を有する可能性がある。

【0022】

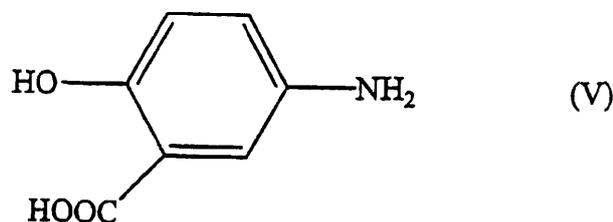
一部の実施形態では、本発明の化合物は腸管内で分解して下記の式IVの代謝産物および下記の式Vの代謝産物を形成することができる。

【化34】



（式中、R¹、R³およびR⁴は式Iに関連して上記で説明された通りである。）

【化35】



【0023】

10

20

30

40

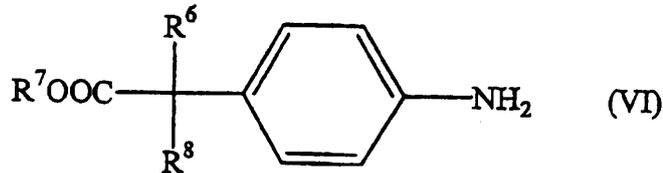
50

式IVの代謝産物は抗炎症活性および/または免疫調節活性を有する可能性がある。式Vの代謝産物は抗炎症活性を有する可能性があり、さらにより詳細にはプロスタグランジンシンセターゼIおよびIIの阻害を提供することができる。

【0024】

他の実施形態では、本発明の化合物は腸管内で分解して式IVの代謝産物および式VIの代謝産物を形成することができる。

【化36】



10

(式中、R⁶、R⁷およびR⁸は式Iに関連して上記で説明された通りである。)

式VIの代謝産物は抗炎症活性および/または免疫調節活性を有する可能性がある。従って、本発明の化合物は免疫調節活性を提供することができる。本発明の化合物は、さらにまたプロスタグランジンシンセターゼIおよびIIの阻害も提供することができる。本発明の化合物は、様々な疾患、特に潰瘍性大腸炎、クローン病その他を治療する際に有益な可能性がある。

【0025】

20

治療上の使用においては、本発明は、腸の状態または疾患状態を有するまたは潜在的に影響を受け易く、さらにそのための治療を必要とする動物の対象を治療する方法を意図しており、そのような動物に前記の状態または疾患状態にとって治療上有効である有効量の本発明の化合物を投与するステップを含む。本発明の化合物によって治療される対象にはヒトおよび非ヒトの動物(例えば、トリ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ)の両方の対象が含まれ、より好ましくは哺乳類の対象、および最も好ましくはヒトの対象である。

【0026】

戦わなければならない特異的状态もしくは疾患状態に依存して、動物の対象には本発明の化合物を当分野内で不要な実験を行わずに容易に決定できる適切な治療上の有効かつ安全な用量で投与することができる。例えば、本発明の化合物は約0.1~100mg/kg、好ましくは5~90mg/kg、およびより好ましくは約10~80mg/kgの用量で投与できる。

30

【0027】

本発明の化合物はそれ自体を、並びにそのエステル、医薬上許容できる塩およびその他の生理学的に機能的な誘導体の形で投与できる。

【0028】

本発明はさらにまた、活性医薬成分として本発明の1種もしくは複数の化合物を含有する獣医学のおよびヒトを対象とする医療の両方のための医薬製剤を予期している。そのような医薬および薬剤製剤においては、活性医薬成分は好ましくはそのための1種もしくは複数の医薬上許容できる担体と必要があれば任意で他の治療成分と一緒に利用される。担体は、製剤の他の成分と適合するという意味において医薬上許容できなければならない、好ましくはその受容者にとって不当に有害ではない。活性医薬成分は、上記のような所望の薬理的作用を達成するために有効量で、そして所望の1日量を達成するために適切な量で提供される。

40

【0029】

製剤は、非経口および経口投与のために適切な製剤を含んでおり、さらに特定投与様式は、経口、直腸内、口腔内、局所、経鼻、点眼、皮下、筋肉内、静脈内、経皮、鞘内、関節内、動脈内、クモ膜下、気管支内、リンパ内、腔内および子宮内投与が含まれるが、それらに限定されない。経口および非経口投与のために適切な製剤が好ましいが、経口投与のために適切な製剤が最も好ましい。

50

【0030】

本発明の化合物が溶液を含む製剤中で利用される場合は、この製剤は有益にも経口的または非経口的に投与することができる。本発明の化合物が懸濁液製剤中で、または生体適合性担体制剤中の粉剤として使用される場合は、製剤は有益にも経口、直腸内または気管支内投与することができる。

【0031】

本発明の化合物が粉末状固体の形で直接的に利用される場合は、化合物は有益にも経口投与することができる。あるいはまた、本発明の化合物は、適切なネブライザー器具を備える呼吸回路から患者によって吸い込まれる粉末のガス状の分散を形成するために、担体ガス中への粉末の噴霧を通して気管支内へ投与することができる。

10

【0032】

本発明の化合物を含有する製剤は、好都合にも単位用量形 (unit dosage) で提示することができ、製薬学の分野でよく知られているいずれかの方法によって調製することができる。そのような方法は、一般に本発明の化合物を1種または複数の補助成分を構成する担体と結び付けるステップを含んでいる。典型的には、製剤は均一かつ密接に本発明の化合物を液状担体、微細に分割された固形担体、またはその両方と結び付け、さらにその後、必要であれば生成物を所望の製剤の投与形に成形するステップによって調製される。

【0033】

経口投与のために適切な本発明の製剤は、各々が粉末または顆粒；または、例えばシロップ剤、エリキシル剤、乳剤もしくは水薬 (draught) のような水溶液もしくは非水溶液中の懸濁液として、所定量の本発明の化合物をカプセル剤、カシェ剤、錠剤、またはトローチ剤のような個別単位 (discrete unit) として提示することができる。

20

【0034】

錠剤は、任意で1種または複数の補助成分とともに圧縮または成型によって製造できる。圧縮錠剤は、必要であれば任意で結合剤、錠剤分解物質、潤滑剤、不活性希釈剤、界面活性剤または抜染剤と混合される粉末または顆粒のような自由流動形にある活性化合物と一緒に、適切な機械で圧縮することによって調製できる。紛状活性化合物と適切な担体との混合物から構成される成型された錠剤は、適切な機械で成型することによって製造できる。

【0035】

シロップ剤は、本発明の化合物を例えば蔗糖のような糖の濃縮水溶液へ添加することによって製造できるが、これにはさらに1種または複数のいずれかの補助成分も添加できる。このような補助成分には、例えば人工甘味料、適切な保存料、糖の結晶化を遅延させるための物質、および例えばグリセロールまたはソルビトールのようなポリヒドロキシアルコールのような他の成分の溶解性を増加させるための物質を含むことができる。

30

【0036】

非経口投与のために適切な製剤は好都合にも、好ましくは受容者の血液と等張性である本発明の化合物の無菌水性調製物 (preparation) (例えば、生理的食塩液) を含んでいる。このような製剤は、懸濁剤および増粘剤、または、血液成分または1種もしくは複数の臓器を本化合物の標的とするために設計されている他の微粒子系を含むことができる。これらの製剤は、単回投与形もしくは複数回投与形で提示することができる。

40

【0037】

鼻内噴霧製剤は、保存料および等張性物質とともに精製された本発明の化合物の水溶液を備える。このような製剤は、好ましくは鼻粘膜と適合する pH および等張状態へ調整される。

【0038】

直腸内投与のための製剤は、例えばココアバター、硬化油脂、もしくは硬化油脂性カルボン酸のような適切な担体と一緒に座剤として提示することができる。

【0039】

点眼製剤は、pH および等張性要素が好ましくは眼の pH および等張性要素に適合するよ

50

うに調整されることを除いて、スプレー式点鼻薬に類似する方法によって調製される。

【0040】

局所用製剤は、例えば鉱油、石油、ポリヒドロキシアルコール、または局所的医薬製剤のために使用されるその他の基剤類のような1種もしくは複数の溶媒に溶解もしくは懸濁させられた本発明の化合物を含有している。

【0041】

上記の成分に加えて、本発明の製剤はさらに希釈剤、緩衝剤、人工甘味料、錠剤分解物質、界面活性剤、増粘剤、潤滑剤、保存料（抗酸化物質を含む）等から選択される1種または複数の成分を含むことができる。

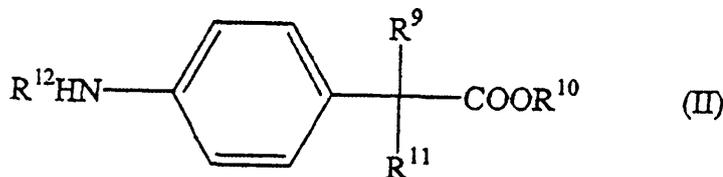
【0042】

従って、本発明に従った化合物は特に炎症性腸疾患を含むがそれに限定されないGI管の疾患のような様々な疾患の予防もしくは治療のために利用できる。

【0043】

本発明のさらにまた別の実施形態において、そのような治療または予防を必要とする対象における炎症性腸疾患を治療または予防する方法は、式IIで示される化合物、または当該化合物のエステルもしくは医薬上許容される塩を、医薬希釈剤または担体と混合して含有する有効量の活性医薬成分を対象に投与するステップを含んでいる。

【化37】

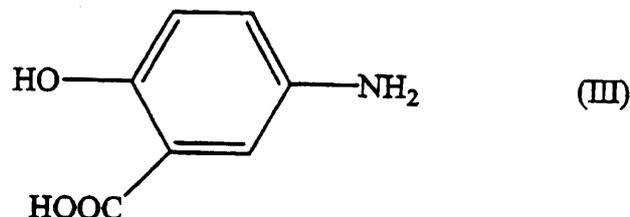


{ 式中、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は独立して水素および $C_1 \sim C_4$ アルキルからなる群から選択され、 R^{12} は水素および $-C(O)R^{13}$ （式中 R^{13} は $C_1 \sim C_6$ アルキルもしくはアリール基である）からなる群から選択される。 }

【0044】

活性医薬成分は、さらにメサラミン、スルファサラジン、バルサラジンおよびオルサラジンのような抗炎症剤；アザチオプリン、6-メルカプトプリン、シクロスポリンおよびメトトレキサートのような免疫調整剤；コルチコステロイド剤のようなステロイド化合物；およびメトロニダゾールおよびシプロフロキサシンのような抗生物質を含むがそれらに限定されない1種または複数の他の薬剤を含有することができる。活性医薬成分は、さらに好ましくは式IIIの化合物であるメサラミンを備える。

【化38】



【0045】

活性医薬成分が式IIおよび式IIIの化合物を含有する場合、式IIの化合物は好ましくは活性医薬成分中の約10~90重量%であり、より好ましくは活性医薬成分中の約40~60重量%である。活性医薬成分が式IIおよび式IIIの化合物を含有する場合、式Iの化合物と式IIの化合物とのモル比は好ましくは1:10~10:1であり、さらにより好ましくは1:2~2:1である。

【0046】

本発明のこれらの実施形態に関する方法によって治療されなければならない対象はヒトお

10

20

30

40

50

よび非ヒト動物（例、トリ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ）の両方の対象を含んでおり、さらに好ましくは哺乳類対象であり、最も好ましくはヒト対象である。

【0047】

戦わなければならない特異的状态または疾患状態に依存して、動物対象には、本発明の活性医薬成分を、当分野内で過度の実験を行わずに容易に決定できる適切な治療上の有効かつ安全な用量で投与することができる。例えば、本発明の活性医薬成分は約0.1~200 mg/kg、好ましくは1~90 mg/kg、およびより好ましくは約10~80 mg/kgの用量で投与できる。

【0048】

今度は本発明を下記の実施例を参照しながら説明する。しかし、これらの実施例は本発明を例示することを目的としており、請求項によって定義される本発明の範囲を限定しないと理解されなければならない。

【0049】

[実施例]

[実施例1~4]

<本発明の化合物の合成>

融点は、実験室用器具Mel-Temp II型毛細管融点測定装置上で測定し、修正しなかった。¹H NMRスペクトルはVarian Unity (パリアン・ユニティ) 600 MHz分光計上で入手した。化学シフト()は内部標準のテトラメチルシランと比較してppm (parts per million) 単位で報告される。紫外線および可視スペクトルはBeckman (ベックマン) DU640i分光光度計を用いて入手した。赤外線分光法はNicolet Impact (ニコレット・インパクト) 410上で実施し、高速原子衝撃(FAB)質量分析データはM-Scan (スキャン) Inc.によって入手した。すべての試薬類はAldrich Chemical Co. (アルドリッチ・ケミカル社) から受領したままで使用した。

【0050】

[実施例1および2]

<5-[4-(1-カルボキシ-エチル)-フェニルアゾ]-2-ヒドロキシ安息香酸の合成>

[実施例1]

<2-(4-アミノ-フェニル)-プロピオン酸>

攪拌子を装備した、オープン乾燥させた500 mLの三口フラスコに(R,S)2-(4-ニトロフェニル)プロピオン酸(5.00 g、25.6 mmol)、無水エチルアルコール(200 mL)およびパラジウム(活性炭素上で10重量%、0.27 g、2.56 mmol)を装填した。フラスコ内に水素環境を導入し、その後周囲温度で6時間撹拌した。粗反応混合液をセライトに通して濾過し、減圧下でエチルアルコールを除去した。真空下で一晩かけて粗生成物を乾燥させると淡黄色の固体が生じた(収率70%、2.98 g): mp 125~129、¹H NMR(DMSO-d₆): 1.24(3H, s), 1.26(3H, s), 3.41(1H, s), 3.43(2H, s), 6.46(2H, d, J=7.6 Hz), 6.91(2H, d, J=7.6 Hz); IR(KBr) 2596, 2189, 1630, 1581, 1441, 1375, 1277, 1192, 1052, 876 cm⁻¹; FAB-MS(NBA) m/z 165(M+H)⁺.

【0051】

[実施例2]

<5-[4-(1-カルボキシ-エチル)-フェニルアゾ]-2-ヒドロキシ安息香酸の合成>

上記の手順で調製したように、HCl水溶液(75 mL、8 mLのH₂O中で36.5~38.0%のHCl)中に溶解させた2-(4-アミノ-フェニル)-プロピオン酸(3.90 g、23.6 mmol)を200 mLビーカーに入れ、氷浴中で0℃へ冷却した。溶液を0℃で安定化させるときに、水(2 mL)に溶解させた硝酸ナトリウム(1.79

10

20

30

40

50

g, 26.0 mmol) を滴下法で添加した。温度は 0 ~ 5 で維持し、生じたジアゾニウム塩溶液を 15 分間撹拌した。

【0052】

ジアゾニウム塩溶液を撹拌しながら、撹拌子、温度計および pH プロブ (オリオン [Orion] 社製セミマイクロ pH プロブを備えるオリオンモデル 420A) を備えた 800 mL ビーカーへ水酸化ナトリウム (4.25 g, 106 mmol) および H₂O (100 mL) に溶解させたサリチル酸ナトリウム塩 (11.3 g, 20.8 mmol) を装填した。氷浴を使用して、サリチル酸溶液を 17 へ冷却し、ジアゾニウム塩溶液を 10 mL 部分ずつ緩やかに添加した。全添加を通して、水性水酸化ナトリウムを添加して pH を 13.2 ~ 13.3 で維持し、氷を添加することで温度を 17 ~ 18 で保持した。添加が完了した後、結果として生じた濃紅色溶液を周囲温度へ加温するに任せ、90 分間撹拌を継続した。濃 HCl (~ 20 mL, 36.5 ~ 38%) を用いて pH 3.5 へ酸化させると、濃紅色の固体が沈殿したので、これを真空濾過によって収集した。

10

【0053】

粗生成物 (8.49 g, 27.0 mmol) を H₂O (300 mL) に懸濁させて 70 で 30 分間加熱して過剰なサリチル酸を除去した。懸濁液を 50 へ冷却し、吸引濾過によって固体を収集した。収集した固体をその後フラッシュクロマトグラフィー (SiO₂: 酢酸エチル/ヘキサン、1:1) によって精製した。DMF (~ 4.5 mL) 中に溶解させた粗生成物 (2.50 g, 7.95 mmol) を装填して黄色分画を収集し、結合させ、減圧下で濃縮した。真空下で乾燥させた後、精製生成物を収率 55% (1.38 g) でオレンジ色の固体として入手した。mp 147、¹H NMR (DMSO-d₆): 1.38 (3H, s), 1.39 (3H, s), 3.76 (1H, s), 3.78 (1H, s), 7.11 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.46 (2H, d, J = 7.8 Hz), 7.80 (2H, d, J = 8.4 Hz), 8.03 (1H, d, J = 9.0 Hz), 8.30 (1H, s); IR (KBr) 2973, 1921, 1708, 1652, 1577, 1477, 1339, 1289, 1226, 1164, 1101, 1013, 857, 663 cm⁻¹; UV-Vis (MeOH) λ_{\max} = 355 nm, ϵ = 23, 700 mol⁻¹ cm⁻¹ L; FAB-MS (NBA) m/z 313 (M)⁺.

20

【0054】

[実施例 3]

< 5 - (4 - カルボキシメチル - フェニルアゾ) - 2 - ヒドロキシ安息香酸 [APAZA] の合成 >

30

HCl 水溶液 (20 mL, 200 mL の H₂O 中で 36.5 ~ 38.0%) 中に溶解させた 4 - アミノフェニル酢酸 (10.0 g, 66.2 mmol) を 500 mL ビーカーに入れて、氷浴中で 0 へ冷却した。この溶液を 0 で安定化させると、水 (50 mL) 中の硝酸ナトリウム (5.02 g, 72.8 mmol) を 5 mL 部分ずつ緩やかに添加した。温度を 0 ~ 5 で維持し、結果として生じたジアゾニウム塩溶液を 15 分間撹拌した。

【0055】

ジアゾニウム塩溶液を撹拌しながら、撹拌子、温度計、および pH プロブ (オリオン [Orion] 社製セミマイクロ pH プロブを備えるオリオンモデル 420A) を備えた 2 L ビーカーへ水酸化ナトリウム (11.9 g, 230 mmol) および水 (200 mL) に溶解させたサリチル酸ナトリウム塩 (31.8 g, 198 mmol) を装填した。氷浴を使用して、サリチル酸溶液を 17 へ冷却し、ジアゾニウム塩溶液を 25 mL 部分ずつ緩やかに添加した。全添加を通して、水性水酸化ナトリウムを添加して pH を 13.2 ~ 13.3 で維持し、氷を添加することで温度を 17 ~ 18 で保持した。添加が完了した後、結果として生じた濃紅色溶液を周囲温度へ加温するに任せ、30 分間撹拌し続けた。濃 HCl (~ 50 mL, 36.5 ~ 38%) を用いて pH 3 へ酸化させると、茶色の固体が沈殿したので、これを吸引濾過によって収集した。

40

【0056】

粗生成物をその後フラッシュクロマトグラフィー (SiO₂: 酢酸エチル/ヘキサン、1

50

: 1) によって精製した。70 - 230メッシュ、 $\sim 500 \text{ m}^2 / \text{g}$ のBET表面積および $0.75 \text{ cm}^3 / \text{g}$ の細孔容積を備えた60 シリカゲルを充填したカラム上で、DMF ($\sim 12 \text{ mL}$) に溶解させた粗生成物 (11.5 g 、 38.2 mmol) を装填した。分画を収集し、色に基づいて結びつけた。第1バンドは黄色で過剰のサリチル酸並びに微量の所望の生成物を含有していた。第2バンドはオレンジ色で、所望の生成物を含有しており、さらに第3バンドは赤色で不明の不純物を含有していた。すべての分画を結びつけ、減圧下で濃縮して真空下で乾燥させた。

【0057】

精製生成物を収率28% (2.75 g) でオレンジ色の固体として入手した。mp 204 ; $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 3.67 (2H, s), 7.11 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.44 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.79 (2H, d, J = 8.4 Hz), 8.02 (1H, d of d, J = 2.4 Hz , 9.0 Hz), 8.29 (1H, s); IR (KBr) 3098 , 1696 , 1614 , 1458 , 1345 , 1195 , 838 cm^{-1} ; UV-Vis (MeOH) $\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ nm}$, $\epsilon = 25, 700 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$; 陽イオンFAB-MS (NBA) m/z 301 (M+H) $^+$, 陰イオンFAB-MS (NBA) m/z 299 (M) $^-$.

10

【0058】

[実施例4]

<4-(4-カルボキシメチル-フェニルアゾ)-フェニル酢酸の合成>

4-アミノフェニル酢酸 (3.75 g 、 24.8 mmol) を水 (75 mL) に懸濁させ、濃塩酸 (8 mL) を添加した。この溶液を高速攪拌しながら氷浴中で 0 へ冷却した。水 (20 mL) に溶解させた硝酸ナトリウム (1.80 g 、 26.1 mmol) を高速攪拌しながら4-アミノフェニル酢酸溶液へ滴下法で添加した。温度を常に、特に NaNO_2 添加中には細心の注意を払って $0 \sim 5$ で維持した。この反応液をさらに20分間攪拌した。その間に、フェニル酢酸 (10.1 g 、 74.4 mmol) を NaOH 水溶液 (4.50 g 、 100 mL H_2O 中の 113 mmol NaOH) 中に溶解させた。この溶液を 17 および pH 13.3 で力強く攪拌した。このフェニル酢酸溶液にジアゾニウム塩溶液を滴下法で添加した。常に、特にジアゾニウム塩溶液の添加中にはフェニル酢酸溶液の温度を $17 \sim 18$ で、そして pH を $13.2 \sim 13.3$ で維持することが最高に重要である。温度は氷の添加によって調節し、 pH は 8 M の NaOH の添加によって調節した。添加が完了した後、溶液を室温へ加温するに任せ、さらに30分間攪拌した。この反応混合液を吸引濾過して溶解していない微粒子または望ましくない副産物を除去した。 HCl 水溶液 (20 mL の H_2O 中の濃 HCl 、 10 mL) を用いて濾液を酸化させると濃紅沈殿物が産生した。この沈殿物を吸引濾過によって収集し、濾液が透明になるまで冷 H_2O を用いて数回洗浄した。収集した固体を一晩かけて風乾させることにより収率37%で赤色固体として所望の化合物を入手した。IR (KBr) 3030 , 1696 , 1658 , 1452 , 1414 , 1201 , 850 , 675 cm^{-1} FABMS m/z 299 (M+H) $^+$, 320 (M+Na); $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 3.47 (s, 4H), 7.33 (4H, d, J = 8.1 Hz), 7.84 (4H, d, J = 8.4 Hz) .

20

30

40

【0059】

[実施例5]

<経口送達後のAPAZAの代謝>

本発明の化合物であるApaza (5-(4-カルボキシメチル-フェニルアゾ)-2-ヒドロキシ安息香酸) およびスルファサラジン (対照物質として使用された; 本発明の一部ではない) の分解およびこれらの化合物をラットに投与した場合のそれらの代謝産物の生成を測定して、Apazaおよびスルファサラジンの両方が細菌性アゾ還元を受け、それらの代謝産物として、スルファサラジンについては5-アミノサリチル酸 (5-ASA) およびスルファピリジン、Apazaについては5-アミノサリチル酸 (5-ASA) および4-アミノフェニル酢酸 (4-APAA) が産生されることが確認できた。

50

【 0 0 6 0 】

この実験は、アゾ化合物である A p a z a が細菌性還元プロセスを受けてインピボ代謝で代謝産物を産生することを確認するために実施した。その代謝産物の定量化もまた実施した。本発明の一部ではないスルファサラジンを対照物質として使用したが、それに伴って細菌による類似のアゾ結合分解が発生し、これはその代謝産物として 5 - アミノサリチル酸およびスルファピリジンを生じさせる。A p a z a およびスルファサラジンの両方が分解され、予想通りにそれらの代謝産物が産生した。

【 0 0 6 1 】

尿については、親化合物およびそれらの代謝産物は第 1 日収集物中でしか検出されなかった。残りの収集物は化合物を全く示さなかった。大便については、第 2 日収集物まで化合物を検出することができた。

10

【 0 0 6 2 】

A p a z a を投与されたラット（ラット 1、2 および 3）は尿中に、A p a z a、4 - A P A A、アクタリット、およびアセチル化 5 - A S A を示した。スルファサラジンを投与されたラット（ラット 4、5 および 6）は尿中に、スルファサラジン、スルファピリジンおよびアセチル化 5 - A S A を示した。大便中では投与された化合物とは無関係にアセチル化 5 - A S A しか検出されなかった。5 - A S A はアセチル化 5 - A S A へ急速に変換された。

【 0 0 6 3 】

スルファサラジンが投与されたラットは 1 : 1 の比でそれらの代謝産物である 5 - A S A（この場合はアセチル化 5 - A S A）およびスルファピリジンを産生したが、A p a z a を投与されたラットはアセチル化 5 - A S A の 7 ~ 1 0 倍の 4 - A P A A を産生したことに注目すると興味深い。

20

【 0 0 6 4 】

摂取されたスルファサラジンの大多数は小腸から結腸へ移動し、細菌性アゾ還元を受けてスルファピリジンおよびアセチル化 5 - A S A 分子を遊離させると考えられている。本試験からの結果はこの見解を確認し、A p a z a が類似の細菌性アゾ還元を受けることを証明している。

【 0 0 6 5 】

この実験には計 8 匹のラットを使用し、賦形剤（vehicle）としてはメチルセルロースを使用した。総用量はラット 1 匹当たり 1 0 0 m g / k g であった。ラット 3 匹には A p a z a を投与し、他のラット 3 匹にはスルファサラジンを投与した。2 匹のラットは対照物として使用し、メチルセルロースを投与した。尿および大便の両方を 4 日間に渡って収集し、H P L C により分析した。

30

【 0 0 6 6 】

尿は毎日収集し、各サンプルからの 3 0 0 μ L の部分標本を、5 0 0 0 g で 1 0 分間に渡り遠心した。分析のために 8 0 μ L の上清を注入した。大便もまた毎日収集し、水とアセトニトリルの 1 : 1 混合液を用いて均質化させた。この混合液をその後 5 0 0 0 g で 2 0 分間に渡り遠心した。分析のために 8 0 μ L の上清を注入した。

【 0 0 6 7 】

サンプル分析のために W a t e r s（ウォーターズ）社製 2 6 9 0 H P L C を下記の通りに使用した。

40

移動相のプログラミング：勾配

移動相：

A = 水 + 0 . 1 % T F A

B = アセトニトリル + 0 . 1 % T F A

流量：1 m L / 分

カラム：P h e n o m e n e x M a x（フェノメネックス・マックス）R P、8 0、4 . 6 m m x 2 5 0 m m

P D A 設定：

50

収集したスペクトル：210～400 nm

抽出クロマトグラム：280および/またはその他

実行時間/サンプル：約50分間

【0068】

【表1】

時間	流量(mL/分)	%移動相 A	%移動相 B
-	1	100	0
40	1	50	50
43	1	5	95
44	1	95	5
50	1	95	5

10

【0069】

5 - ASAは急速にアセチル化5 - ASAへ変換された。尿中ではApazaおよびスルファサラジンの両方から同量のアセチル化5 - ASAが生成された。アセチル化5 - ASAおよびスルファピリジンはスルファサラジンが投与されたラット尿からは1 : 1比で産生した。Apazaが投与されたラット尿からはアセチル化5 - ASAに比較して約7～10倍の4 - APAAが産生した。大便からは投与された化合物とは無関係にアセチル化5 - ASAしか検出されなかった。尿中より大便中の方がより多くのアセチル化5 - ASAが検出された。

20

【0070】

【表2】

第1日 尿	投与された Apaza				
	総用量 (mg)	Apaza (mg)	4APAA (mg)	アクトリット (mg)	アセチル化 5ASA (mg)
ラット1	22.0	0.48	3.456	0.0717	0.299
ラット2	23.5	0.3546	3.177		0.422
ラット3	22.5	0.4707	4.674		0.298
ラット4 ラット5 ラット6	投与されたスルファサラジン				
	総用量 (mg)	スルファサラジン (mg)	スルファピリジン (mg)	アセチル化 5ASA (mg)	
	21	0.00882	3.337	0.288	
	22.5	0.01279	0.305	0.328	
	21	0.01092	0.41	0.39	

30

【0071】

【表3】

大便	投与された Apaza	
	総用量 (mg)	アセチル化 5ASA (mg)
ラット1	22	1.9254
ラット2	23.5	1.9519
ラット3	22.5	1.2437
投与されたスルファサラジン		
	総用量 (mg)	アセチル化 5ASA (mg)
ラット4	21	1.2158
ラット5	22.5	1.3708
ラット6	21	0.9033

10

【 0 0 7 2 】

【 表 4 】

第2日 大便	投与された Apaza	
	総用量 (mg)	アセチル化 5ASA (mg)
ラット1	22	0.2562
ラット2	23.5	0.7755
ラット3	22.5	0.1827
投与されたスルファサラジン		
	総用量 (mg)	アセチル化 5ASA (mg)
ラット4	21	0.2
ラット5	22.5	0.2584
ラット6	21	0.1458

20

【 0 0 7 3 】

[実施例 6]

< 本発明の化合物の生物学的作用 >

本試験の目的は、ジニトロベンゼンスルホン酸 (DNBS) の直腸内投与後に、雄性 Lewis 系ラットへ直腸内投与 (4 日間に渡り 1 日 2 回) された 3 種の活性医薬成分の作用を組織学的に評価して比較することであった。DNBS により、ラットにおいて確立された実験モデル (Richardら、2000; Bertranら、1996; Blauら、2000; Kimuraら、1998; Hogaboamら、1996) に従って大腸炎を誘発した。SHAM および DNBS 群は各々陰性および陽性対照として機能した。各群への動物の分布は表 1 に提示されている。

30

【 0 0 7 4 】

【 表 5 】

40

表1

群	個体数
SHAM	6
DNBS	5
5-ASA	6
4-APAA	6
5-ASAおよび4-APAAの混合薬	4

50

【 0 0 7 5 】

< 材料および方法 >

27匹の雄性ラットからの結腸のトリミングされた標本に対して、顕微鏡切片作製、ヘマトキシリンおよびエオシン染色を含む試験をした。生じた27枚のスライド(1スライド当たり1横断面)を顕微鏡下で検査した。SHAM群からのラット1匹およびDNBS群からのラット1匹を除いて、遮蔽読取りを容易にするために全スライドのラベルにはテープを付着した。病変は1~5のスケール上でランク付けした(1=最小; 2=軽度; 3=中等度; 4=中等度~重度; 5=重度)。

【 0 0 7 6 】

< 結果 >

DNBSを用いて処置された全ラット(追加の処置とは無関係に)の結腸切片中で観察された主要な組織形態学的変化は、特に全層、全長、凝固型壊死であった。生理食塩液/メチルセルロース処置ラット(SHAM群)では壊死は観察されなかった。全ての例において、壊死した領域は、細胞細部および染色親和性が劇的に消失したことを特徴としていた。そのような領域では結腸構造の「ゴースト」輪郭だけが残っていた。時には、腸組織層の部分的な崩壊または「脱落」が明白であった。壊死した組織は混合タイプの細菌によって重度に侵襲されていた。完全には壊死していない切片では、壊死のパターンは薄層をなす傾向があり、外側筋層および/または外膜の部分(漿膜および隣接する腸間膜)を残してはいたが、典型的には粘膜および粘膜下組織に影響を及ぼしていた。これらの切片では、核崩壊した好中球(karyorrhectic neutrophils)の高密度の区域により、壊死している内層と余り影響を受けていない外層とが分離されていた。全てのDNBS処置ラットにおいて粘膜下血管のフィブリノイド壊死性血管炎が観察された。血管炎は壊死性および非壊死性の領域の両方で観察され、しばしば血栓(繊維索性、繊維素細胞性および/または細菌性血栓)および僅かから中等度までの粘膜下出血(フィブリンの蓄積を伴う、または伴わない)が付随した。一部の出血した部位は色素を含むマクロファージ(担鉄細胞-個別には診断されなかった)を含んでいた。DNBS処置ラットからの全ての切片では、漿膜および隣接する腸間膜が、軽度から中等度に重度の維管束増殖(初期顆粒形成組織)によって拡大されていた。2匹のラットからの切片(#4および#11、5-ASAおよび4-APAAの混合薬群)は、各々が単一の短い、はっきりと境界が画定された非壊死性、非潰瘍化の粘膜部分を含んでいた。これらの比較的に影響を受けていない粘膜部分内の変化は僅かから軽度の腺窩上皮過形成、最小腺窩拡張および最小好中球浸潤に限定されていた。

【 0 0 7 7 】

結腸壊死の重度スコア付けは組織との関係の程度に基づいた。だがグレード5(重度)は壊死が広範囲の組織消失を生じさせている病変に指定された。壊死のパターンは切片毎にしばしば相違したので、個々の腸層を個別にスコア付けした。一般に、壊死に対する平均重度スコアは4群のDNBS処置ラット間で匹敵していた(表2)。5-ASAおよび4-APAA混合薬群における粘膜壊死に対する平均スコアは、5-ASAおよび4-APAA混合薬群からの動物2匹では粘膜が保存された領域(spared area)があったために他の群のDNBS処置ラットにおけるスコアより低かった。

【 0 0 7 8 】

【表6】

10

20

30

40

表2: 平均組織壊死スコア

群	SHAM	DNBS	5-ASA	4-APAA	5-ASA および 4-APAA 混合薬
個体数	(6)	(5)	(6)	(6)	(4)
粘膜	0.00	4.20	4.50	4.33	3.50
粘膜下	0.00	4.20	4.17	4.00	4.25
筋板	0.00	3.60	3.5	3.17	3.00
外膜	0.00	1.40	1.67	1.67	1.50

【0079】

10

<まとめ>

DNBSを用いて処置された全ラットの結腸切片で観察された主要な組織病理学的変化(追加の治療とは無関係に)は、特に全層、全長、凝固型壊死であった。関連する変化として、壊死性組織の細菌による重度侵襲、血栓および出血を伴うフィブリノイド壊死性血管炎、および重度の好中球浸潤が含まれた。壊死は生理食塩液/メチルセルロース処置ラット(SHAM群)では観察されなかった。壊死の重症度(程度)は、5-ASAおよび4-APAA混合薬群からの2/4匹のラット中で粘膜の単一部分が比較的保存されていたことを除いて、4群のDNBS処置ラット間で匹敵していた(DNBS、5-ASA、4-APAAおよび5-ASAおよび4-APAA混合薬群)。

【0080】

20

[実施例7]

<混合薬の抗炎症活性>

ジニトロベンゼンスルホン酸(DNBS)大腸炎を、各群6匹のLewis系ラットを含む4群で誘発させた(エーテル麻酔なし)。1つのDNBS群には賦形剤(0.7%メチルセルロース)が投与され、さらに6匹のラットからなる追加のSHAM群にはDNBSの代わりに生理食塩液浣腸剤を摂取させた。意識のある動物において直腸内(ir)投与を4日間に渡って1日2回実施した。薬物処理は下記の通りであった。

5-アミノサリチル酸(5-ASA): 50mg/kg

4-アミノフェニル酢酸(4-APAA): 49.5mg/kg(5-ASAと等モル)

混合薬: 5-ASA+4-APAA: 50mg/kg+49.5mg/kg

30

【0081】

薬物は上記の賦形剤中に懸濁させ、実験スタッフには薬物群を分からなくした。毎日、体重および下痢のスコアを記録した。第5日には刺激後ラットを屠殺し、腹壁切開術を実施し、腸管癒着および狭窄についてスコア付けした。結腸切除して結腸重量を記録し、結腸を縦方向に切開し、炎症/潰瘍形成をスコア付けした。

【0082】

図3および4に示した結果は、5-ASA、4-APAAおよび混合薬群が、類似する抗炎症活性(結腸:体重[%BW]における~31%の減少)を発揮することを示している。炎症の重症度は最高に近づいた。DNBS用量の減少によって重度を判定できることが考えられ、この仮説を試験するために小さな試験を実施した。より軽度の発作とともに治療効果をより大きく分離する証拠となることが考えられる。

40

【0083】

6匹のLewis系ラットにおいてDNBS誘発性大腸炎を誘発し(30mgおよび15mg/ラットDNBSで各3匹ずつ)、炎症の重症度を判定するために治療を実施せずに5日間発症するに任せた。第1~4日には下痢が認められ、第5日にラットを屠殺し、スコア付けし、結腸:体重比を決定した。結果は、15mg/ラットDNBSは、30mg/ラットDNBSと比較して軽度であるが一貫性のない炎症を産生することを示している。30mg/kg DNBSの結果は以前に所見された結果と一致した。

【0084】

上記の説明は本発明の例証であり、本発明を限定するものと解釈されてはならない。本発

50

明は添付の請求項および本書に含まれる請求項の同等物によって限定される。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明にかかる化合物の合成経路の実施形態を示す図である。

【図2】 本発明にかかる化合物の合成経路の実施形態を示す図である。

【図3】 先行技術（5 - A S A / D N B S ）および対照（賦形剤 / D N B S ）によって達成される結果に対する、本発明の実施形態（4 - A P A A / D N B S および混合薬 / D N B S ）を利用した場合の、結腸：体重 [% B W] の平均減少を示したグラフである。

【図4】 先行技術（5 - A S A / D N B S ）および対照（賦形剤 / D N B S および賦形剤 / S H A M ）によって達成される結果に対する、本発明の実施形態（4 - A P A A / D N B S および混合薬 / D N B S ）を利用して達成された D N B S 誘発性大腸炎癒着スコアを示したグラフである。

【図1】

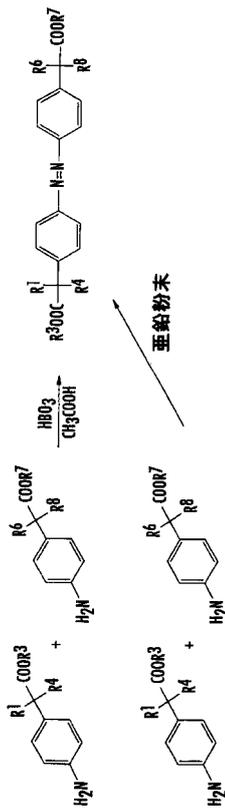


FIG. 1.

【図2】

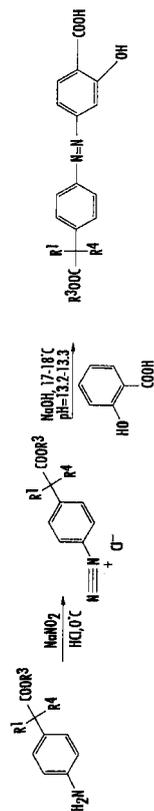


FIG. 2

【 図 3 】

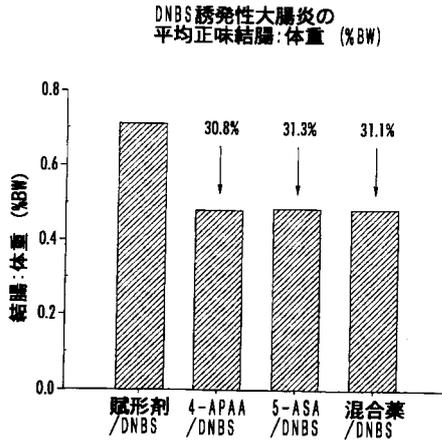


FIG. 3.

【 図 4 】

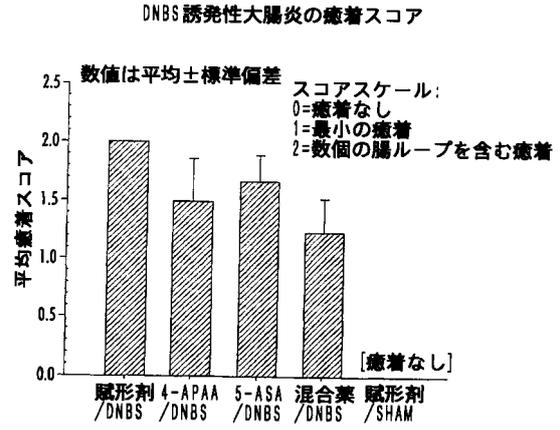


FIG. 4.

フロントページの続き

(72)発明者 リッグス ソーティア, ジェニファー
アメリカ合衆国ノースカロライナ州27612, ローリー, ニッカーボッカー・パークウェイ 3
900, アパートメント ジー

審査官 前田 憲彦

(56)参考文献 特表平09-512798(JP, A)
特表平09-509654(JP, A)
特表平08-503925(JP, A)
Journal of Organic Chemistry, 1990年, 55(17), p.5165-5170
Journal of the American Chemical Society, 1933年, 55, p.2841-2850

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07C 245/00
A61K 31/00
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)