

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4315300号
(P4315300)

(45) 発行日 平成21年8月19日(2009.8.19)

(24) 登録日 平成21年5月29日(2009.5.29)

(51) Int. Cl.

F 1

C 0 7 D 239/95	(2006.01)	C O 7 D 239/95
A 6 1 K 31/517	(2006.01)	A 6 1 K 31/517
A 6 1 P 37/02	(2006.01)	A 6 1 P 37/02
A 6 1 P 37/08	(2006.01)	A 6 1 P 37/08
A 6 1 P 11/06	(2006.01)	A 6 1 P 11/06

請求項の数 7 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-225750
 (22) 出願日 平成10年8月10日(1998.8.10)
 (65) 公開番号 特開2000-53654(P2000-53654A)
 (43) 公開日 平成12年2月22日(2000.2.22)
 審査請求日 平成17年7月28日(2005.7.28)

(73) 特許権者 000002912
 大日本住友製薬株式会社
 大阪府大阪市中央区道修町2丁目6番8号
 (74) 代理人 100068526
 弁理士 田村 恭生
 (74) 代理人 100100158
 弁理士 鮫島 睦
 (74) 代理人 100126778
 弁理士 品川 永敏
 (74) 代理人 100150500
 弁理士 森本 靖
 (74) 代理人 100121588
 弁理士 五十部 穰

最終頁に続く

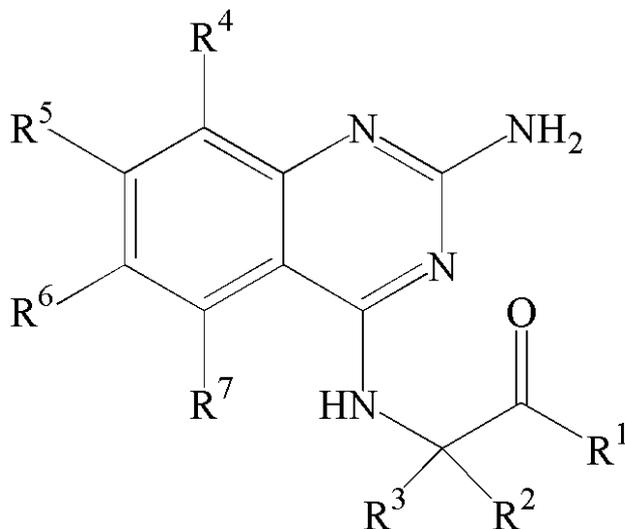
(54) 【発明の名称】 新規なキナゾリン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(1)

【化1】



(式中、R¹は、炭素数1から6の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基または炭素数1から6の低級アルコキシ基を表し、

R² は、水素原子、炭素数 1 から 6 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基、炭素数 6 から 10 のアリール基、ハロゲン原子、炭素数 1 から 4 のアルコキシ基あるいは炭素数 1 から 4 のアルキル基で置換された炭素数 6 から 10 のアリール基、カルバモイル基、またはヒドロキシメチル基を表し、

R³ は、水素原子または炭素数 1 から 6 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基を表し、

R⁴ は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表し、

R⁵ は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表し、

R⁶ は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表し、

R⁷ は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表す。

) で表されるキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩。

10

【請求項 2】

R¹ が、炭素数 1 から 4 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基である請求項 1 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 3】

R¹ が、炭素数 1 から 3 の低級アルコキシ基である請求項 1 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 4】

請求項 1、請求項 2 または請求項 3 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とするタイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答を抑制し、タイプ 1 ヘルパー T 細胞側の免疫応答を増強する免疫調節剤。

20

【請求項 5】

請求項 1、請求項 2 または請求項 3 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とするタイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答が異常亢進した疾患の治療剤または予防剤。

【請求項 6】

タイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答が異常亢進した疾患がアレルギー性疾患である請求項 5 記載の治療剤または予防剤。

【請求項 7】

タイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答が異常亢進したアレルギー性疾患が喘息、アレルギー性鼻炎またはアトピー性皮膚炎である請求項 6 記載の治療剤または予防剤。

30

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明はキナゾリン誘導体に関する。詳しくいえば、本発明はタイプ 2 ヘルパー T 細胞（以下、Th2 と略す。）側の免疫応答を抑制し、タイプ 1 ヘルパー T 細胞（以下、Th1 と略す。）側の免疫応答を増強し、生体全体において Th1 / Th2 のバランスを変化させるキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする免疫調節剤に関する。具体的には Th2 側の免疫応答が異常に亢進したアレルギー疾患の治療剤に関する。さらに詳しくは、本発明は Th2 側の免疫応答を抑制し、Th1 側の免疫応答を増強することにより、Th2 側の免疫応答の異常亢進に起因する疾患、すなわち喘息、アレルギー性皮膚炎又はアレルギー性鼻炎等のアレルギー性疾患、あるいは全身性エリテマトーデス等の自己免疫疾患、さらには後天性免疫不全症候群（AIDS）等の治療または予防に有効であるキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする免疫調節剤に関する。さらに、本発明の Th1 側の免疫応答を増強する作用に起因するところのウイルスあるいはバクテリア感染症、悪性腫瘍等の治療または予防するキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする免疫調節剤に関する。Th1 側の免疫応答を増強する選択的免疫調節作用による、Th1 側の免疫応答を増強することが治療あるいは予防につながる種々の疾患、例えばバクテリア感染症、悪性腫瘍等を治療または予防するキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする免疫調節剤に関する。

40

50

【0002】

【従来の技術】

免疫応答において中心的な役割を担っているヘルパーT細胞（以下、Thと略す）と呼ばれるリンパ球が、異なる二つのサブセットに分類されることを初めて提唱したのはMosmannらである。彼らはマウスのヘルパーT細胞（Th）を、産生するサイトカインの種類によりTh1とTh2のサブセットに分類した（J. Immunol. (1986) 136 : 2348-2357）。Th1タイプサイトカインとしては、インターロイキン2（IL-2）、インターフェロン（IFN- γ ）等が挙げられる。Th2タイプサイトカインとしては、インターロイキン4（IL-4）、インターロイキン5（IL-5）、インターロイキン10（IL-10）、インターロイキン13（IL-13）等が挙げられる。

10

【0003】

今日では、このTh1/Th2の分類の考え方は、単にヘルパーT細胞のサブセットの分類にとどまらず、生体における種々の免疫応答に関してどちらのヘルパーT細胞のサブセットが主に関与しているかという観点から、それぞれを「Th1側の免疫応答」、「Th2側の免疫応答」と解釈するようになった。Th1側の免疫応答の主体をなすものとしては、Th1の活性化に伴って産生されるインターフェロン（IFN- γ ）、インターロイキン2（IL-2）等のサイトカインである。これらTh1型サイトカインは、マクロファージやナチュラルキラー細胞等の活性化を誘導したり、活性化マクロファージから産生されるIL-12等によるTh1の活性化の増強等を行うことにより、主にウイルス、バクテリア等に対する感染防御などの細胞性免疫に関与することが知られている。一方、Th2側の免疫

20

【0004】

Th2は、以下に述べるようにIL-4やIL-5といったアレルギー反応に関与するサイトカインを産生することから、アレルギー反応の制御細胞として重要視されている。例えば、Th2型サイトカインの代表であるIL-4は、B細胞に対してIgE抗体の産生を誘導する。また好酸球が血管内皮細胞に接着し、組織浸潤する際に機能する重要な分子であるVCAM-1の遺伝子発現も誘導する（ファルマシア（1993）29 : 1123-1128）。最近ではIL-4は、Th2自身の分化増殖因子としても注目されている。またIL-4と同じくTh2型サイトカイン

30

【0005】

以上のようなTh2型サイトカインの特性から、Th2は、IgE抗体や肥満細胞が関与するアレルギーの「即時型反応」、及び好酸球が関与する「遅発型反応」という二つのアレルギー反応のいずれをも制御し、アレルギー性炎症反応における中心的な細胞であると認識されている。従ってアレルギー性疾患は、Th2側の免疫応答の異常亢進に起因した疾患であると考えられている。このような考えは、アレルギー性疾患の病変部である気道や皮膚において、IL-4やIL-5等のTh2型サイトカインの産生、あるいはTh2の存在が確かめられていることにも裏付けられている。

40

【0006】

以上のことより、即時型及び遅発型の両方のアレルギー反応を抑制し、あるいは好酸球の著明な浸潤、及び活性化を特徴とするアレルギー性炎症反応をその根本的な原因の段階で抑制し、アレルギー性疾患全般を治療、予防する為には、Th2側の免疫応答を抑制することが重要であると考えられる。言い換えればTh2側の免疫応答を抑制することのできる薬剤が開発されれば、アレルギー性疾患の有効な治療薬あるいは予防薬になるものと考えられる。

【0007】

50

アレルギー性疾患のうち、特に重症の慢性化した喘息やアトピー性皮膚炎等においては、遅発型のアレルギー反応が重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、現在使用されている抗アレルギー薬は、抗ヒスタミン作用等を中心にした主に即時型のアレルギー反応のみを抑制するものであり、その臨床効果は十分なものではない。このような観点からも、前述の如き遅発型、即時型両方のアレルギー反応を抑制し、アレルギー性疾患全般を治療又は予防するような、T h 2 側の免疫応答を抑制する薬剤の開発が望まれているのである。

【 0 0 0 8 】

また、喘息治療においては長年使用されてきたキサンチン誘導体あるいは - 刺激薬等に代表される気管支拡張薬は、種々の刺激による気管支平滑筋の収縮を抑える作用を有することが知られている。しかしながら、喘息の根本的病因である慢性の気道炎症に対しては無効である。それに加えて、キサンチン誘導体あるいは - 刺激薬ともに循環器系の副作用が問題となる。今日の喘息治療においては、WHO のガイドラインにも明確に示されているように、喘息を気道の慢性的炎症と捉え、この慢性気道炎症を取り除くことを治療の第一義的な目標とするようになった。喘息における慢性の気道炎症は好酸球の浸潤、活性化及び脱顆粒を引金とし、炎症の慢性化に伴い気道上皮の肥厚・繊維化にいたる病理像を特徴とする。ガイドラインでは、現在この慢性気道炎症に有効である唯一の薬剤である吸入ステロイド剤が中等度以上の喘息に関して、第一選択薬として位置づけられている。

【 0 0 0 9 】

結局、これら重症の喘息やアトピー性皮膚炎に対しては、ステロイド剤のみが有効であるとして、現在該ステロイド剤が頻繁に使用されている状況にある。しかし、該ステロイドは長期投与により種々の副作用（ステロイド皮膚症、誘発感染症、副腎皮質機能不全等）の生じることが問題となっている。

これらの観点からも、T h 2 側の免疫応答を選択的に抑制することにより、即時型及び遅発型の両方のアレルギー反応を抑制し、あるいは好酸球の著明な浸潤、及び活性化を特徴とするアレルギー性炎症反応をその根本的な原因の段階で抑制し、アレルギー性疾患全般を治療、予防することが可能な薬剤の開発が望まれているのである。

【 0 0 1 0 】

さらに、より副作用の少ない治療薬あるいは予防薬の開発をも念頭に置いた場合、前述の如きT h 2 側の免疫応答を抑制する薬剤がT h 1 側の免疫応答を増強するものであれば、医薬としてより好都合であると思われる。すなわち先にも述べたようにT h 1 は、主としてIFN- を産生することによりウイルス、バクテリア等に対する感染防御を行うという生体にとって重要な役割を担っているため、前記T h 2 側の免疫応答の抑制を目的に開発された薬剤がT h 1 の作用を増強するものであれば、それは副作用の面から非常に望ましいことと言える。例えば免疫抑制剤であるシクロスポリンやFK506は、T h 2 の活性化を強く抑制することが知られている。しかし、これらシクロスポリンやFK506は、T h 2 の活性化を抑制すると同様に、あるいはそれよりもさらに強く、T h 1 の活性化をも抑制するという非特異的な免疫抑制作用を有するがために、このような非特異的な免疫抑制作用に起因する日和見感染、あるいは発癌率の上昇等の重篤な副作用が問題となっているのである。その他の非特異的な免疫抑制剤に関しても同様の問題点が考えられる。

【 0 0 1 1 】

以上のことから、IFN- の産生で代表されるT h 1 側の免疫応答を増強し、IL-4、IL-5の産生で代表されるT h 2 側の免疫応答を抑制する薬剤が開発されれば、前述の如きアレルギー性疾患の有効かつ副作用の少ない治療薬あるいは予防薬になるものと考えられる。また、全身性エリテマトーデス等の、抗体産生あるいは液性免疫が異常に亢進した状態にある自己免疫疾患も、やはりT h 2 側の免疫応答が異常亢進した状態にあると推定されている(Medical Immunology (1988) 15 : 401)。従って上記の如きT h 1 側の免疫応答を増強し、T h 2 側の免疫応答を抑制する薬剤は、自己免疫疾患に対する治療薬ともなることが期待される。

【 0 0 1 2 】

10

20

30

40

50

WO 93/07124には、フォスフォジエステラーゼ阻害剤としての活性を示すキナゾリン誘導体が開示されている。また、フォスフォジエステラーゼ阻害剤としての活性に基づく抗アレルギー剤としての可能性に関して開示されている。しかしながら、既存のフォスフォジエステラーゼ阻害剤としての活性に基づく抗アレルギー剤の代表であるテオフィリンの場合、その主な抗アレルギー作用は喘息における気管支拡張作用である。前述したようにキサンチン誘導体あるいは - 刺激薬等に代表される気管支拡張薬は、種々の刺激による気管支平滑筋の収縮を抑える作用を有することが知られているが、症状を抑える作用にとどまり、喘息の根本的病因である慢性の気道炎症に対しては無効である。さらには、フォスフォジエステラーゼの isoenzyme を考えた場合、アレルギー性炎症に主に関与している isoenzyme は cAMP フォスフォジエステラーゼ (PDE-III または IV) であり、cAMP フォス

10

フォジエステラーゼを阻害することにより、細胞内の cAMP 濃度が上昇し、抗炎症作用が発現すると考えられる。一方、WO 93/07124 で開示されている阻害剤は isoenzyme として cGMP フォスフォジエステラーゼ (PDE-V) に対するもの及びカルモジュリン依存型フォスフォジエステラーゼ (PDE-I) に対するものであり、これら cGMP フォスフォジエステラーゼを阻害した場合は細胞内 cGMP 濃度が上昇し血管拡張、気管支拡張作用が発現するが、炎症性細胞に対する抑制作用は持たないことから抗炎症作用は期待できない。むしろ、今日の多くの研究者は副作用の軽減及び抗アレルギー作用の増強を目的として、PDE-IV 特異的阻害剤を目指して検討を行っている。

WO 93/07124には、Th 1 側の免疫応答を増強し、Th 2 側の免疫応答を抑制するような本発明のキナゾリン誘導体についての具体的記載はない。また本発明のキナゾリン誘導体はフォスフォジエステラーゼ阻害活性を示さない。

20

【0013】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、Th 1 側の免疫応答を増強し、Th 2 側の免疫応答を抑制することにより、その結果、全体として Th 1 / Th 2 のバランスを変化させ、免疫応答を調節する化合物の提供である。具体的には、インターフェロン (IFN -) 等の Th 1 タイプサイトカインの産生を増強し、逆にインターロイキン 4 (IL - 4)、インターロイキン 5 (IL - 5) 等の Th 2 タイプサイトカインの産生を抑制する化合物の提供である。より具体的には例えば、アレルギー性疾患、寄生虫感染症、全身性エリテマトーデス等の自己免疫疾患、ウイルスあるいはバクテリア感染症、悪性腫瘍あるいは後天性免疫不全症候群 (AIDS) 等の治療剤または予防剤の提供である。

30

【0014】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を重ねた結果、キナゾリン誘導体およびその塩が Th 1 側の免疫応答を増強し、Th 2 側の免疫応答を抑制することを見だし、さらに、全体として Th 1 / Th 2 のバランスを変化させ、免疫応答を調節することを見だし本発明を完成させるに至った。

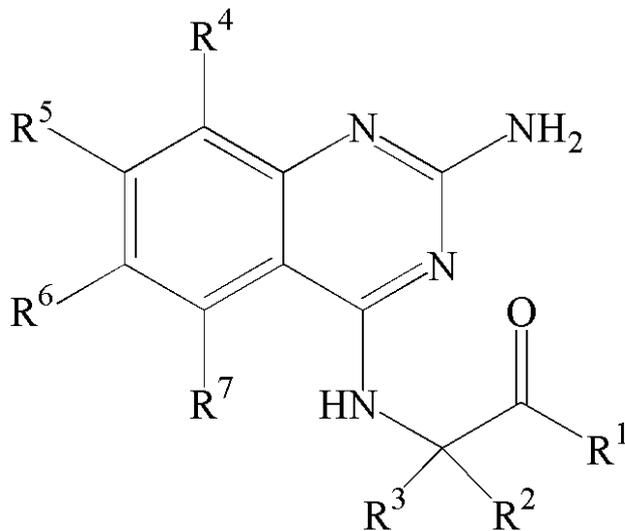
【0015】

本願発明は、

1. 式(1)

【化2】

40



10

(式中、 R^1 は、炭素数 1 から 6 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基または炭素数 1 から 6 の低級アルコキシ基を表し、

R^2 は、水素原子、炭素数 1 から 6 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基、炭素数 6 から 10 のアリール基、ハロゲン原子、炭素数 1 から 4 のアルコキシ基あるいは炭素数 1 から 4 のアルキル基で置換された炭素数 6 から 10 のアリール基、カルバモイル基、またはヒドロキシメチル基を表し、

20

R^3 は、水素原子または炭素数 1 から 6 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基を表し、

R^4 は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表し、

R^5 は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表し、

R^6 は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表し、

R^7 は、水素原子、水酸基、炭素数 1 から 6 のアルコキシ基またはハロゲン原子を表す。

) で表されるキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩；

2. R^1 が、炭素数 1 から 4 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基である 1. 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩；

3. R^1 が、炭素数 1 から 3 の低級アルコキシ基である 1. 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩；

30

4. 1.、2. または 3. 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とするタイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答を抑制し、タイプ 1 ヘルパー T 細胞側の免疫応答を増強する免疫調節剤；

5. 1.、2. または 3. 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とするタイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答が異常亢進した疾患の治療剤または予防剤；

6. タイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答が異常亢進した疾患がアレルギー性疾患である 5. 記載の治療剤または予防剤；

7. タイプ 2 ヘルパー T 細胞側の免疫応答が異常亢進したアレルギー性疾患が喘息、アレルギー性鼻炎またはアトピー性皮膚炎である 6. 記載の治療剤または予防剤；または

40

8. 1.、2. または 3. 記載のキナゾリン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とするウイルスあるいはバクテリア感染症、悪性腫瘍あるいは後天性免疫不全症候群 (AIDS) の治療剤または予防剤；

に関する。

【0016】

【発明の実施形態】

【0017】

本発明における置換基を具体的に以下に説明する。

R^1 における炭素数 1 から 6 の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基としては例えば、メチル、エチル、プロピル、1-メチルエチル、ブチル、1-メチルプロピル、2-メチル

50

プロピル、ペンチル基、1 - メチルブチル、2 - メチルブチル、3 - メチルブチル、1 - エチルプロピル、2 - エチルプロピル、ヘキシル等が挙げられる。

R¹における炭素数1から6の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基において好ましい範囲としては炭素数1から4の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基が挙げられ、具体的には例えば、メチル、エチル、プロピル、1 - メチルエチル、ブチル等が挙げられる。

【0018】

R¹における炭素数1から6のアルコキシ基としては、例えばメトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、2 - プロピルオキシ、ブトキシ、1, 1 - ジメチルエトキシ、ペントキシ、ヘキソキシ等が挙げられる。

【0019】

R²及びR³における直鎖または分枝状の炭素数1から6のアルキル基としては例えば、メチル、エチル、プロピル、2 - プロピル、ブチル、2 - ブチル、3 - メチルプロピル、1, 1 - ジメチルエチル、ペンチル、ヘキシル等が挙げられる。

【0020】

R²における炭素数6から10のアリール基としては、例えばフェニル、ナフチル等が挙げられる。

R²における置換された炭素数6から10のアリール基におけるハロゲン原子としては、例えばフッ素、塩素、臭素、ヨウ素等が挙げられる。

R²における置換された炭素数6から10のアリール基における炭素数1から4のアルコキシ基としては、例えばメトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、2 - プロピルオキシ、ブトキシ等が挙げられる。

【0021】

R⁴、R⁵、R⁶及びR⁷における炭素数1から6のアルコキシ基としては、例えばメトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、2 - プロピルオキシ、ブトキシ、1, 1 - ジメチルエトキシ、ペントキシ、ヘキソキシ等が挙げられる。

【0022】

R⁴、R⁵、R⁶及びR⁷におけるハロゲン原子としては、例えばフッ素、塩素、臭素、ヨウ素等が挙げられる。

【0023】

本発明の医薬の有効成分である複素環化合物は薬学上許容される塩にすることができる。薬学上許容される塩としては、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩等の無機酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩が挙げられ、塩基付加塩としては、ナトリウム塩、カルシウム塩等の無機塩基塩、メグルミン塩、トリスヒドロキシメチルアミノメタン塩等の有機塩基塩が挙げられる。また、本発明には、複素環化合物またはその薬学上許容される塩の水和物等の溶媒和物も含む。

【0024】

本発明の式(1)で表される化合物は以下の方法およびそれに準じた方法で製造することができる。

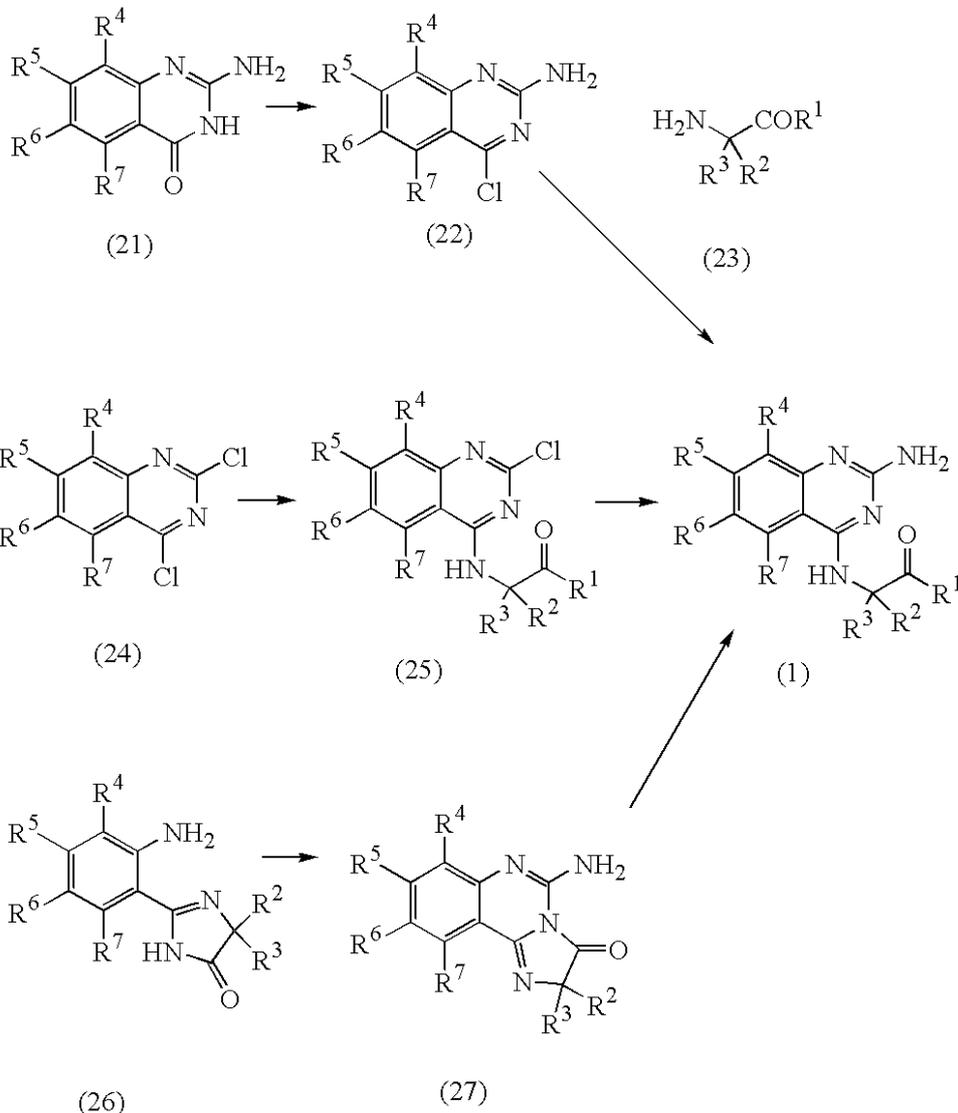
【化3】

10

20

30

40



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及び、 R^7 は、式 (1) と同じ意味を表わす。

製造法 1

化合物 (21) をオキシ塩化リンと反応させることにより化合物 (22) を得ることができる (特開平 2 - 502462、特開平 3 - 17068、ジャーナル・オブ・ケミカル・ソサイエティー (J. Chem. Soc. 775, (1947))、ジャーナル・オブ・ケミカル・ソサイエティー (J. Chem. Soc. 1766, (1948)))。反応は、必要に応じて溶媒を加えてもよい。溶媒としては、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素系溶媒などが挙げられる。反応には、場合により N, N - ジメチルアミノピリジンなどの反応助剤を用いてもよい。反応温度は、例えば室温から溶媒の沸点付近の温度範囲から選択される。

【0025】

化合物 (22) は、化合物 (23) と反応させ、本発明化合物 (1) を得ることができる。反応溶媒としては、例えば、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素系溶媒、テトラヒドロフラン (以下 THF と略す。)、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、エタノール、イソプロピルアルコール (以下 IPA と略す。)、ブタノールなどのアルコール系溶媒、ジメチルホルムアミド (以下 DMF と略す。)、アセトニトリルなどの不活性溶媒などが挙げられる。反応は、必要に応じてトリエチルアミンなどの有機塩基、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどの無機塩基を添加してもよい。反応温度は、例えば室温から溶媒の沸点付近の温度範囲から選択される。

【0026】

製造法 2

10

20

30

40

50

化合物(24)と化合物(23)を反応させて化合物(25)を得ることができる。反応溶媒としては、例えば、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素系溶媒、THF、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、エタノール、IPA、ブタノールなどのアルコール系溶媒、DMF、アセトニトリルなどの不活性溶媒などが挙げられる。反応は、必要に応じてトリエチルアミンなどの有機塩基、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどの無機塩基を添加してもよい。反応温度は、例えば室温から溶媒の沸点付近の温度範囲から選択される。

【0027】

化合物(25)は、有機溶媒中アンモニアと反応させることにより本発明化合物(1)を得ることができる。有機溶媒としては、メタノール、エタノールなどのアルコール系溶媒、ジオキサン、エチレングリコールジメチルエーテルなどのエーテル系溶媒などが挙げられる。反応は、オートクレーブ中、約室温から約200 までの温度範囲で行う。

10

また、化合物(25)は、アジ化ナトリウムと反応後、トリフェニルホスフィンで還元することによっても本発明化合物(1)を得ることができる。アジ化ナトリウムとの反応は、DMFなどの不活性溶媒中行う。反応温度は、約室温から溶媒の沸点付近範囲から選択される。トリフェニルホスフィンによる還元は、THFなどのエーテル系溶媒中で行う。反応温度は、約室温から溶媒の沸点付近の温度範囲から選択される。

【0028】

化合物(26)を、溶媒中、プロモシアンと反応させ、化合物(27)を得ることができる。必要に応じてトリエチルアミン等の有機塩基、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等の無機塩基あるいは水素化ナトリウムを添加しても良い。溶媒としては、例えばトルエン等の芳香族炭化水素系溶媒、塩化メチレン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、THF等のエーテル系溶媒、DMF、アセトニトリル、メタノール、エタノール等の不活性溶媒が挙げられる。反応温度は例えば、室温から溶媒の沸点付近の温度範囲から選択される。

20

【0029】

R¹が炭素数1から6の低級アルコキシ基である場合以下の製法で製造できる。

化合物(27)をR¹OH中、R¹ONaと反応させ、本発明化合物(1)を得ることができる。反応温度は例えば、室温から溶媒の沸点の範囲から選択される。R¹は式(1)と同じ意味を有する。

R¹が炭素数1から6の直鎖あるいは分枝状の低級アルキル基である場合以下の製法で製造できる。

30

化合物(27)をt-ブトキシカルボニル基で保護し、THF、ジエチルエーテル等のエーテル系不活性溶媒中、R¹MgBrで表されるグリニャー試薬と反応させ、本発明に含まれる化合物(1)を得ることができる。反応温度は例えば、室温から溶媒の沸点の範囲から選択される。

【0030】

次に上記反応で使用した原料の合成方法について説明する。

原料は、既知の反応あるいは既知の反応に準じて合成を行った。

化合物(23)化合物の製造

【化4】

40



(28)

(23)

(式中、R²及びR³は式(1)と同じ意味を表す。R¹は炭素数1から6の低級アルコキシ基を表す。)

化合物(28)は、酸触媒存在下、対応するアルコールと反応させることで化合物(23)

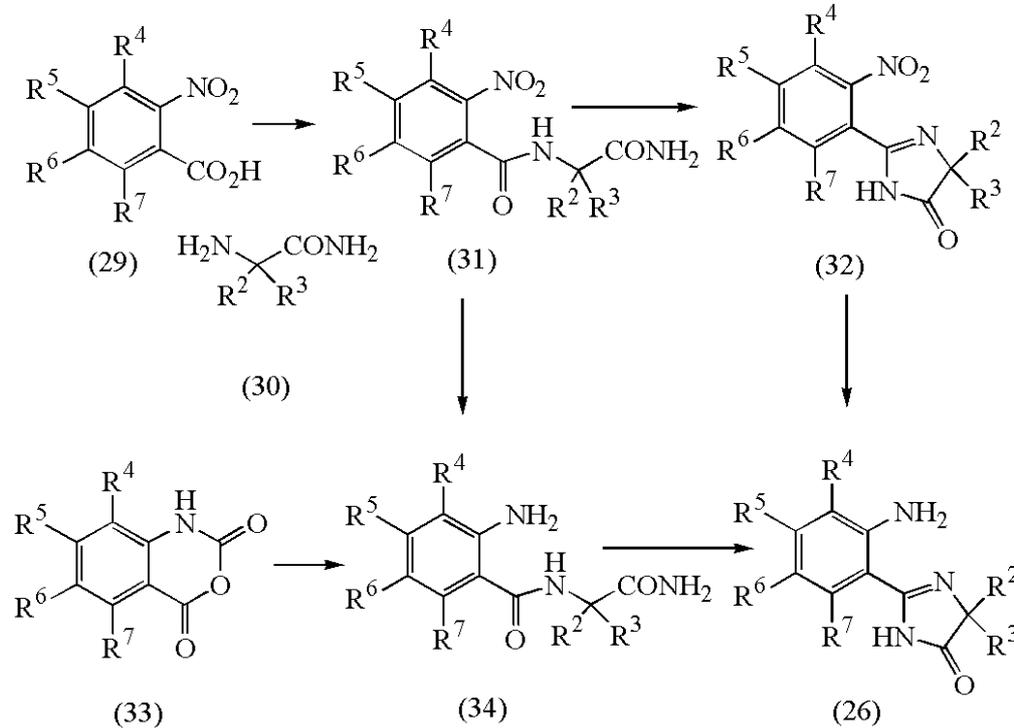
50

)を得ることができる。酸触媒としては、パラトルエンスルホン酸などの有機酸、塩酸、硫酸などの無機酸が挙げられる。反応温度は、約室温から溶媒の沸点付近の温度範囲から選ばれる。

【0031】

化合物(26)の製法

【化5】



(式中、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及び、 R^7 は、式(1)と同じ意味を表わす。)

【0032】

化合物(29)を化合物(30)と有機溶媒中、脱水縮合剤存在下、反応させ、化合物(31)を得ることができる。有機溶媒としては、例えば、塩化メチレン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、THF等のエーテル系溶媒、DMF等の不活性溶媒が挙げられる。反応温度は例えば、約-10から約60の範囲から選択される。脱水縮合剤としては例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミド、1-エチル-3-(3'-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド等の縮合剤が挙げられ、反応助剤とともに用いられる。反応助剤としては例えば、N,N-ジメチル-4-アミノピリジン等が挙げられる。他の脱水縮合剤としては、例えば、N,N-ビス(2-オキソ-3-オキサゾリジニル)ホスフィン酸クロリド等を、例えば、トリエチルアミン等の有機塩基と組み合わせて用いることもできる。

【0033】

あるいは、化合物(29)を塩化チオニル等中、例えば、約40から約60に加熱することにより、化合物(29)のカルボン酸残基を対応する酸クロリドに変換し、化合物(30)と適当な有機溶媒中、トリエチルアミン等の有機塩基の存在下、反応させて、化合物(31)を得ることもできる。有機溶媒としては、例えば、塩化メチレン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、THF等のエーテル系溶媒、ジメチルホルムアミド等の不活性溶媒が挙げられる。反応温度は、例えば、約-10から約60の範囲から選択される。

【0034】

化合物(31)を適当な不活性溶媒中、例えば、約60から溶媒の沸点付近の温度に加熱することにより、化合物(32)を得ることができる。必要に応じて触媒として塩基または酸を添加しても良い。塩基としては、例えば、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム等

10

20

30

40

50

化水素系溶媒等またはこれらの混合溶媒等が挙げられる。

【0040】

原料は、既知の反応あるいは既知の反応に準じて合成を行った。

式(1)で表される本発明に含まれる化合物またはそれを製造するための中間体は通常の方法で精製することができる。例えばカラムクロマトグラフィー、再結晶等で精製することができる。再結晶溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、2-プロパノール等のアルコール系溶媒、ジエチルエーテル等のエーテル系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、トルエン等の芳香族炭化水素系溶媒、アセトン等のケトン系溶媒、ヘキサン等の炭化水素系溶媒等またはこれらの混合溶媒等が挙げられる。

【0041】

また上述の反応を実行する際、必要ならば、保護、脱保護の技術を用いることができる。保護、脱保護の技術については、(T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", 1991, JOHN WILEY & SONS, INC.) に詳しく記されている。

【0042】

本発明のキナゾリン誘導体またはその薬学上許容される塩は水和物等の溶媒和物を形成することがあり本発明はこれらも含む。

【0043】

本発明に含まれる化合物は、不斉が生じる場合または不斉炭素を有する置換基を有する場合があります、そのような化合物にあっては光学異性体が存在する。本発明化合物にはこれらの各異性体の混合物や単離されたものを含む。そのような光学異性体を純粋に得る方法としては、例えば光学分割が挙げられる。

【0044】

光学分割法としては、本発明化合物またはその中間体を不活性溶媒中(例えばメタノール、エタノール、2-プロパノール等のアルコール系溶媒、ジエチルエーテル等のエーテル系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、トルエン等の芳香族炭化水素系溶媒、アセトニトリル等およびこれらの混合溶媒)、光学活性な酸(例えば、マンデル酸、N-ベンジルオキシアラニン、乳酸などのモノカルボン酸類、酒石酸、o-ジイソプロピリデン酒石酸、リンゴ酸などのジカルボン酸類、カンファースルホン酸、プロモカンファースルホン酸などのスルホン酸類)と塩を形成させることもできる。

また本発明化合物またはその中間体がカルボキシル基等の酸性置換基を有する場合は光学活性なアミン(例えば、フェネチルアミン、キニン、キニジン、シンコニジン、シンコニン、ストリキニーネ等の有機アミン類)と塩を形成させることもできる。

【0045】

塩を形成させる温度としては、室温から溶媒の沸点の範囲が挙げられる。光学純度を向上させるためには、一旦、溶媒の沸点付近まで温度を上げることが望ましい。析出した塩を濾取するまえに必要なに応じて冷却し、収率を向上させることができる。光学活性な酸またはアミンの使用量は、基質に対し約0.5から約2.0当量の範囲、好ましくは1当量前後の範囲が適当である。必要に応じ結晶を不活性溶媒中(例えばメタノール、エタノール、2-プロパノール等のアルコール系溶媒、ジエチルエーテル等のエーテル系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、トルエン等の芳香族炭化水素系溶媒、アセトニトリル等およびこれらの混合溶媒)で再結晶し、高純度の光学活性な塩を得ることもできる。必要に応じ、得られた塩を通常の方法で酸または塩基と処理しフリー体を得ることもできる。

【0046】

本発明のキナゾリン誘導体は経口的または非経口的に投与することができる。経口的に投与する場合、通常用いられる投与形態で投与することができる。非経口的には、局所投与剤、注射剤、経皮剤、経鼻剤等の形で投与することができる。経口剤または直腸投与剤としては、例えば、カプセル、錠剤、ピル、散剤、カシエ剤、座剤、液剤等が挙げられる。注射剤としては、例えば、無菌の溶液又は懸濁液等が挙げられる。局所投与剤としては、例えば、クリーム、軟膏、ローション、経皮剤(通常のパッチ剤、マトリクス剤)等が挙げられる。

10

20

30

40

50

上記の剤形は通常の方法で、薬学的に許容される賦形剤、添加剤とともに製剤される。薬学的に許容される賦形剤、添加剤としては、担体、結合剤、香料、緩衝剤、増粘剤、着色剤、安定剤、乳化剤、分散剤、懸濁化剤、防腐剤等が挙げられる。

【0047】

薬学的に許容される担体としては、例えば、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、砂糖、ラクトース、ペクチン、デキストリン、澱粉、ゼラチン、トラガント、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、低融点ワックス、カカオバター等が挙げられる。カプセルは、本発明化合物を薬学的に許容される担体と共に中に入れることにより製剤できる。本発明化合物は薬学的に許容される賦形剤と共に混合し、または賦形剤なしにカプセルの中に入れることができる。カシェ剤も同様の方法で製造できる。

10

注射用液剤としては、溶液、懸濁液、乳剤等が挙げられる。例えば、水溶液、水-プロピレングリコール溶液等が挙げられる。液剤は、水を含んでも良い、ポリエチレングリコールまたはノ及びプロピレングリコールの溶液の形で製造することもできる。経口投与に適切な液剤は、本発明化合物を水に加え、着色剤、香料、安定化剤、甘味剤、溶解剤、増粘剤等を必要に応じて加え製造することができる。また経口投与に適切な液剤は、本発明化合物を分散剤とともに水に加え、粘重にすることによっても製造できる。増粘剤としては、例えば、薬学的に許容される天然または合成ガム、レジン、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースまたは公知の懸濁化剤等が挙げられる。

【0048】

20

局所投与剤としては、上記の液剤及び、クリーム、エアロゾル、スプレー、粉剤、ローション、軟膏等が挙げられる。上記の局所投与剤は、本発明化合物と通常に使用される薬学的に許容される希釈剤及び担体と混合し製造できる。軟膏及びクリームは、例えば、水性または油性の基剤に増粘剤及びノまたはゲル化剤を加えて製剤化して得られる。該基剤としては、例えば、水、液体パラフィン、植物油（ピーナッツ油、ひまし油等）等が挙げられる。増粘剤としては、例えばソフトパラフィン、ステアリン酸アルミニウム、セトステアリアルアルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ラノリン、水素添加ラノリン、蜜蝋等が挙げられる。

【0049】

ローションは、水性又は油性の基剤に、一種類またはそれ以上の薬学的に許容される安定剤、懸濁化剤、乳化剤、拡散剤、増粘剤、着色剤、香料等を加えることができる。

30

散剤は、薬学的に許容される散剤の基剤と共に製剤化される。基剤としては、タルク、ラクトース、澱粉等が挙げられる。ドロップは水性又は非水性の基剤と一種またはそれ以上の薬学的に許容される拡散剤、懸濁化剤、溶解剤等と共に製剤化できる。

局所投与剤は、必要に応じて、ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、クロロクレゾール、ベンズアルコニウムクロリド等の防腐剤、細菌増殖防止剤を含んでも良い。

【0050】

本発明化合物を有効成分とする、液剤スプレー、散剤またはドロップにした製剤を経鼻的に投与できる。

40

投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、経口投与する場合には、通常は成人に対し1日あたり約1から約500mgの範囲、好ましくは約5から約1000mgの範囲を1回または数回に分けて投与することができる。注射剤として投与する場合には約0.1から約300mgの範囲、好ましくは約1から約1000mgの範囲を1回または数回に分けて投与することができる。

【0051】

本発明のキナゾリン誘導体は、抗原特異的刺戟によるマウスリンパ節細胞からのIL-4産生及びIL-5産生を抑制し、逆にIFN- γ 産生を増強する。この評価に用いられたサイトカイン産生調節活性試験は以下の方法で実行される。

【0052】

50

サイトカイン産生調節活性試験

Keyhole Limpet Hemocyanin (以下KLHと訳す。) 0.2 mgを水酸化アルミニウム・アジュバント(Alu-Gel-S; Serva Feinbiochemica GmbH & Co., Code No.12261)あるいはフロイント完全アジュバント(Difco Lab., Detroit, Michigan, Code No.3113-60-5)とともにマウス足蹠皮下に注射する(0.1ml)。8から10日後に膝窩リンパ節を摘出し、動物細胞培養用培地を用いて、細胞浮遊液を調製する。

リンパ節細胞浮遊液(1から 5×10^6 cells/ml)にKLH(1から100 μ g/ml)および薬剤を添加し、37、5% CO₂存在下で4日間培養(Corning 25850, 0.15ml/well)後、上清中に産生されるサイトカインを特異的なELISA法により定量する。

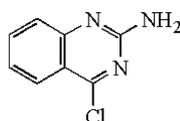
代表的なTh2タイプサイトカインとしてインターロイキン4(IL-4)及びインターロイキン5(IL-5)を、代表的なTh1タイプサイトカインとしてインターフェロン(IFN-)を定量する。

【実施例】

【0053】

参考例1 2-アミノ-4-クロロキナゾリンの合成

【化7】



2-アミノ-4-ヒドロキシキナゾリン塩酸塩(16 g)とオキシ塩化リン(100 ml)の混合液を4.5時間還流した。反応終了後、過剰のオキシ塩化リンを留去し、残渣にトルエンを加え再留去した。残渣へ氷水および水酸化ナトリウムを加え、終夜攪拌し、固形物をろ取し、表記化合物(9.04 g, 38.6%)を得た。

¹H NMR (CDCl₃) ; 8.05(1H, d, J=7.8 Hz), 7.75(1H, t, J=8.1 Hz), 7.59(1H, d, J=8.1 Hz), 7.35 (1H, t, J=7.8 Hz), 5.32 (2H, brs)

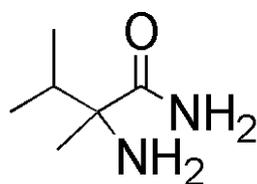
【0054】

【実施例】

参考例2

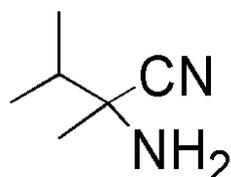
2-アミノ-2,3-ジメチルブチルアミドの合成

【化8】



2-1) 2-アミノ-2,3-ジメチルブチロニトリルの合成

【化9】



窒素気流下、シアン化ナトリウム(13.7 g, 280 mmol)の水溶液(32 ml)と2.9%アンモニア水(140 ml)との溶液に、酢酸(14 ml)をゆっくり滴下した。その後、イソプロピルメチルケトン(25 ml, 234 mmol)を滴下し、4時間、40で加熱した。反応液を室温に戻し、トルエンで抽出し、有機層をアンモニア水で2回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物(16.5 g, 63%)を得た。

¹H NMR (CDCl₃) ; 1.74~1.73 (m, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.08 (d, 3H, J = 6.9 Hz), 1.07 (d, 3H, J = 6.9 Hz)

10

20

30

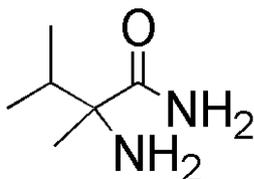
40

50

【 0 0 5 5 】

2 - 2) 2 - アミノ - 2 , 3 - ジメチルブチルアミド の合成

【 化 1 0 】



窒素気流下、1.2規定アンモニア水(117 ml)に2 - アミノ - 2 , 3 - ジメチルブチロニトリル(16.5 g, 147 mmol)、30%過酸化水素水(33 ml, 326 mmol)を同時に滴下し、反応液を5時間攪拌した。反応液に10%水酸化パラジウム(2.6 g)を加え、過剰の過酸化水素をつぶし、セライト濾過し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物(16.7 g, 87%)を得た。

10

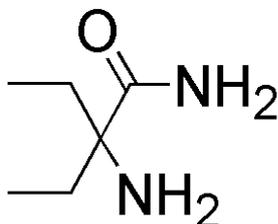
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.44 (br, 1H), 5.63 (br, 1H), 2.21 (sep, 1H, $J = 6.9$ Hz), 1.34 (br, 2H), 1.28 (s, 3H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz), 0.86 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz)

【 0 0 5 6 】

参考例 3

2 - アミノ - 2 - エチルブチルアミドの合成

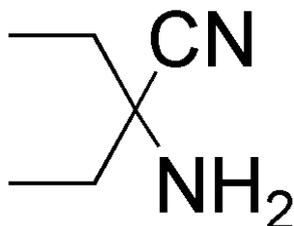
【 化 1 1 】



20

3 - 1) 2 - アミノ - 2 - エチルブチロニトリル の合成

【 化 1 2 】



30

窒素気流下、シアン化ナトリウム(5.84 g, 119 mmol)の水溶液(14 ml)と2.9%アンモニア水(60 ml)との溶液に酢酸(6.0 ml)をゆっくり滴下した。反応液にジエチルケトン(10.0 ml, 99.0 mmol)を滴下し、3時間、40℃で加熱した。反応液を室温に戻し、トルエンで抽出し、有機層をアンモニア水で2回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物(7.03 g, 63%)を得た。

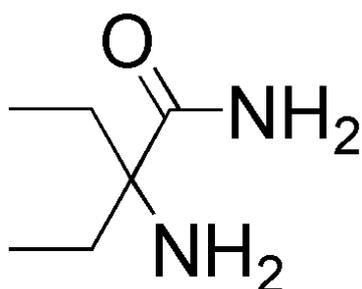
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 1.55 ~ 1.82 (m, 6H), 1.09 (t, 6H, $J = 7.4$ Hz)

40

【 0 0 5 7 】

3 - 2) 2 - アミノ - 2 - エチルブチルアミドの合成

【 化 1 3 】



窒素気流下、1.2規定アンモニア水(47 ml)に2-アミノ-2-エチルブチロニトリル(6.58 g, 58.7 mmol)と30%過酸化水素水(13.1 ml, 129 mmol)を同時に滴下し、6時間攪拌した。反応液に10%パラジウム-炭素(2.0 g)を加え過剰の過酸化水素をつぶし、セライト濾過し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物(4.63 g, 61%)を得た。

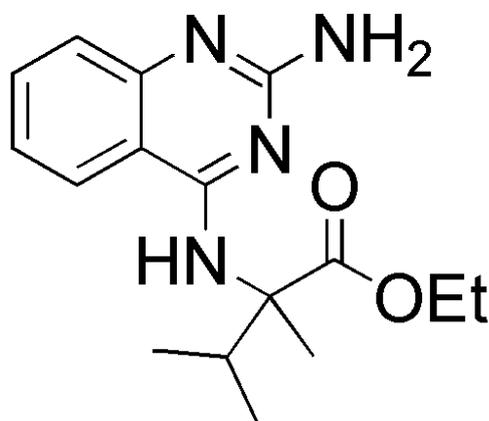
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.37 (br, 1H), 5.64 (br, 1H), 1.86 (dq, 2H, $J = 14.5, 7.3$ Hz), 1.46 (dq, 2H, $J = 14.5, 7.3$ Hz), 1.40 (br, 2H), 0.91 (t, 6H, $J = 7.3$ Hz)

【0058】

実施例1

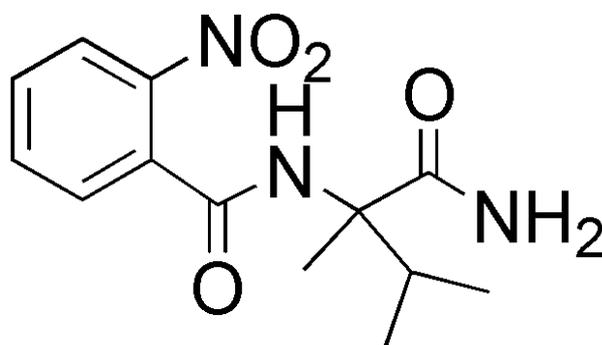
エチル2-[(2-アミノキナゾリン-4-イル)アミノ]-2,3-ジメチルブタノエートの合成

【化14】



1-1) 2-(ニトロベンズアミド)-2,3-ジメチルブチルアミドの合成

【化15】



窒素気流下、2-アミノ-2,3-ジメチルブチルアミド(16.7 g, 128.4 mmol)とトリエチルアミン(32 ml, 231 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(160ml)に2-ニトロベンゾイルクロライド(20 ml, 153 mmol)を氷冷下に加え、室温で1時間攪拌した。5%硫酸水素カリウム水溶液に反応液を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル)で精製し、標題化合物(11.0 g, 31%)を得た。

10

20

30

40

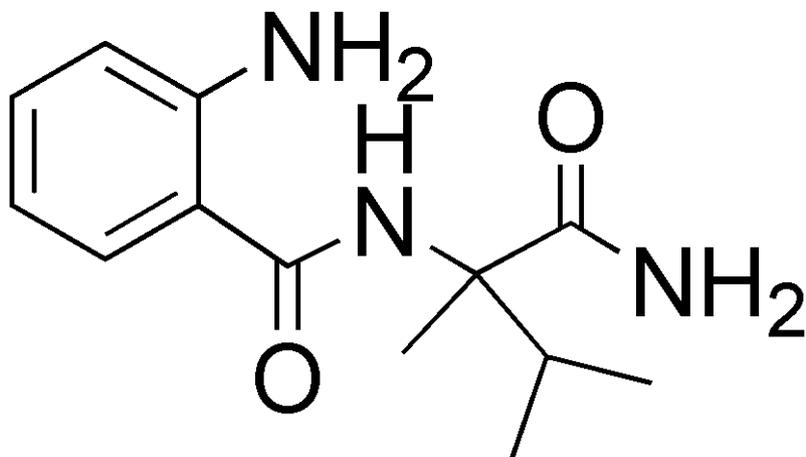
50

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 8.08 (dd, 1H, $J = 1.2, 7.6$ Hz), 7.70 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.6, 7.6$ Hz), 7.60 (ddd, 1H, $J = 1.7, 7.6, 7.6$ Hz), 7.52 (dd, 1H, $J = 1.7, 7.6$ Hz), 6.53 (br, 1H), 6.37 (brs, 1H), 5.55 (br, 1H), 2.57 (sep, 1H, $J = 6.9$ Hz), 1.70 (s, 3H), 1.06 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz), 1.03 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz)

【 0 0 5 9 】

1 - 2) 2 - (アミノベンズアミド) - 2 , 3 - ジメチルブチルアミドの合成

【 化 1 6 】



10

20

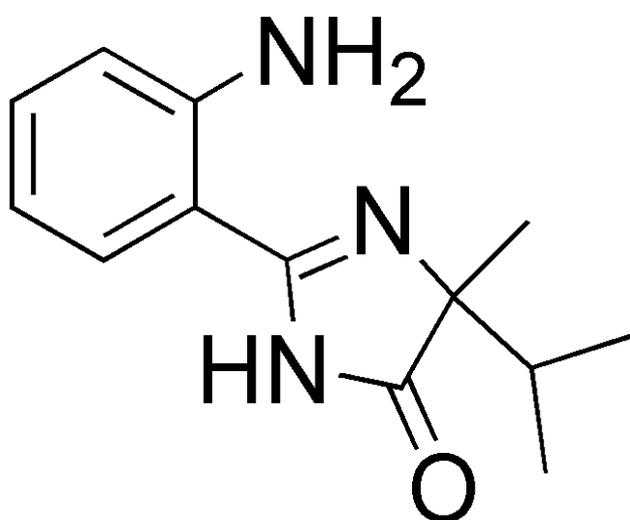
2 - (ニトロベンズアミド) - 2 , 3 - ジメチルブチルアミド(11.0 g, 39.7 mmol)をメタノール(150 ml)に溶解し、10%水酸化パラジウム(2.11 g)を加え、2.5時間水素添加した。反応液をセライト濾過し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物(9.43 g, 95%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.33 (dd, 1H, $J = 1.5, 8.0$ Hz), 7.22 (ddd, 1H, $J = 1.5, 8.0, 8.0$ Hz), 6.63~6.69 (m, 3H), 6.45 (s, 1H), 5.45 (br, 3H), 2.60 (sep, 1H, $J = 6.9$ Hz), 1.57 (s, 3H), 1.05 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz), 1.01 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz)

【 0 0 6 0 】

1 - 3) 2 - (2 - アミノフェニル) - 4 - イソプロピル - 4 - メチル - 5 - オキソ - 2 - イミダゾリンの合成

【 化 1 7 】



40

窒素気流下、2-(2-amino-2,3-dimethylbutyl)benzamide(9.43 g, 37.8 mmol)にテトラヒドロフラン(50 ml)、5.02規定水酸化カリウム水溶液(15 ml, 75.3 mmol)を加え、7時間加熱還流した。反応液を室温に戻し、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ過し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル = 3 / 1)で精製し、標題化合物

50

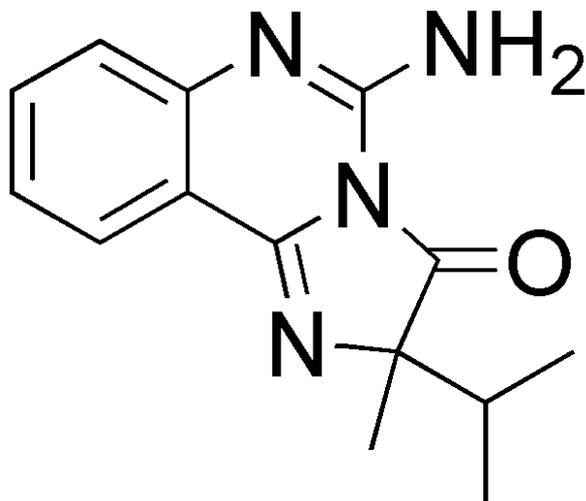
(7.44 g, 85%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 10.48 (s, 1H), 7.46 (dd, 1H, $J = 1.3, 8.0$ Hz), 7.23 (ddd, 1H, $J = 1.3, 8.0, 8.0$ Hz), 6.72~6.77 (m, 2H), 6.40 (brs, 2H), 2.11 (sep, 1H, $J = 6.8$ Hz), 1.42 (s, 3H), 1.08 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz), 0.87 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz)

【0061】

1-4) 5-アミノ-2-イソプロピル-2-メチル-イミダゾ[1,2-c]キナゾリン-3(2H)-オンの合成

【化18】



10

20

窒素気流下、2-(2-アミノフェニル)-4-イソプロピル-4-メチル-5-オキソ-2-イミダゾリン(7.44 g, 32.2 mmol)をエタノール(40 ml)に溶解し、95%プロモシアン(4.82 g, 43.2mmol)を加え、室温で7時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル=3/1 2/1 1/1 0/1)で精製し、標題化合物(5.12 g, 62%)を得た。後ろのフラクションをあつめ、溶媒を留去し、もう一度残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(アセトニトリル/酢酸エチル)で精製することによりエチル2-[(2-アミノキナゾリン-4-イル)アミノ]-2,3-ジメチルブタノエート(220 mg, 2.3%)を得た。

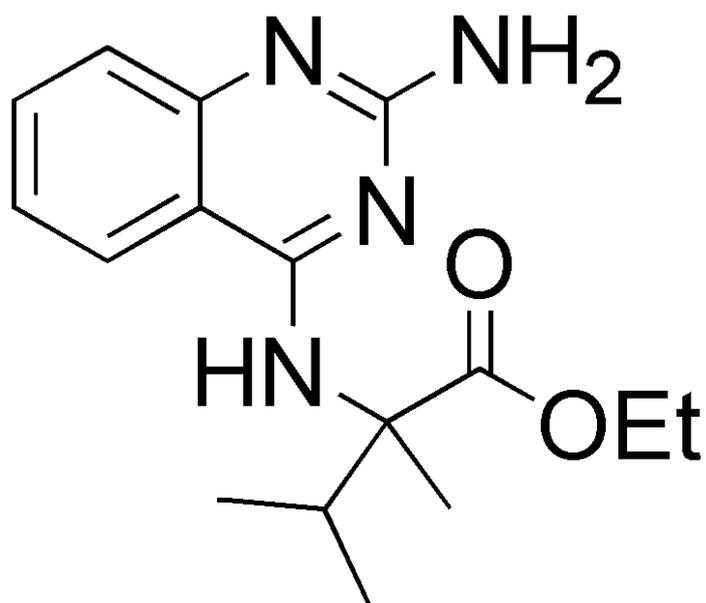
30

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 8.11 (dd, 1H, $J = 1.6, 7.6$ Hz), 7.52 (ddd, 1H, $J = 1.6, 7.6, 7.6$ Hz), 7.13~7.19 (m, 2H), 7.03 (br, 2H), 2.14 (sep, 1H, $J = 6.9$ Hz), 1.45 (s, 3H), 1.08 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz), 0.90 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz)

【0062】

1-5) エチル2-[(2-アミノキナゾリン-4-イル)アミノ]-2,3-ジメチルブタノエートの合成

【化19】



10

窒素気流下、5 - アミノ - 2 - イソプロピル - 2 - メチル - イミダゾ[1,2-c]キナゾリン - 3 (2 H) - オン(5.12 g, 20 mmol)をエタノール(150 ml)に溶解し、ナトリウムエトキシド(2.45 g, 36 mmol)を加え、室温で1時間攪拌した。反応液に5%炭酸カリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル = 2 / 1 0 / 1)で精製し、標題化合物(3.36 g, 56%)を得た。

20

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.56 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.8, 7.8$ Hz), 7.55 (dd, 1H, $J = 1.3, 7.8$ Hz), 7.43 (dd, 1H, $J = 1.3, 7.8$ Hz), 7.15 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.8, 7.8$ Hz), 6.09 (brs, 1H), 4.81 (brs, 2H), 4.12 ~ 4.24 (m, 2H), 2.46 (sep, 1H, $J = 6.9$ Hz), 1.69 (s, 3H), 1.20 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 1.13 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz), 0.99 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz)

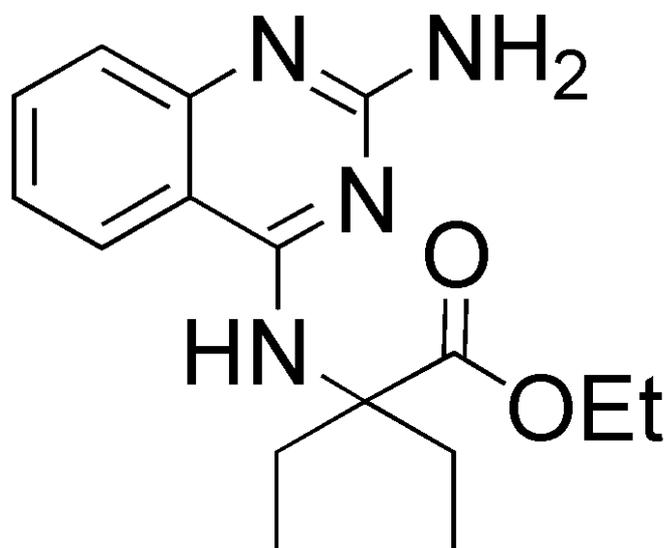
【 0 0 6 3 】

実施例 2

エチル 2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] - 2 - エチルブタノエートの合成

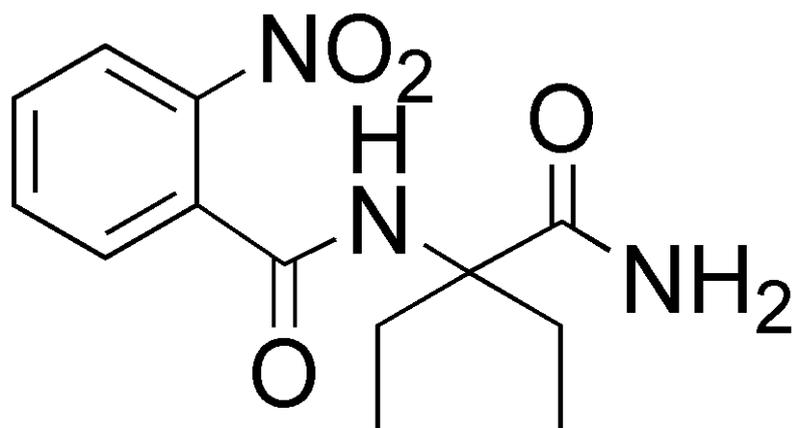
30

【 化 2 0 】



40

2 - 1) 2 - (2 - ニトロベンズアミド) - 2 - エチルブチルアミドの合成
【 化 2 1 】



10

窒素気流下、2 - アミノ - 2 - エチルブチルアミド (753 mg, 5.78 mmol)、トリエチルアミン(1.40 ml, 10.0 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(20 ml)に2 - ニトロベンゾイルクロライド(830 μ l, 6.35 mmol)を加え、室温で0.5時間撹拌した。5%硫酸水素カリウム水溶液に反応液を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル = 1/20/1)で精製し、(1.18 g, 73%)を得た。

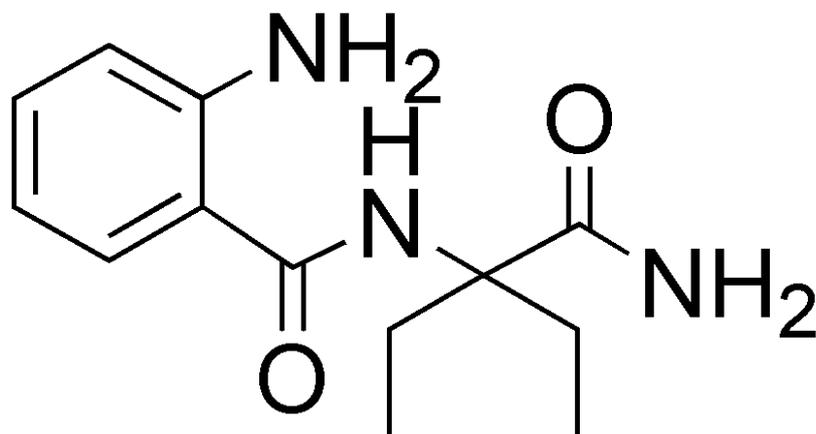
$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) ; 8.01 (dd, 1H, $J = 1.3, 7.4$ Hz), 7.86 (s, 1H), 7.79 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.4, 7.4$ Hz), 7.65~7.72 (m, 2H), 7.47 (brs, 1H), 7.37 (brs, 1H), 2.27 (dq, 2H, $J = 14.5, 7.2$ Hz), 1.82 (dq, 2H, $J = 14.5, 7.2$ Hz), 0.81 (t, 6H, $J = 7.2$ Hz)

20

【0064】

2 - 2) 2 - (2 - アミノベンズアミド) - 2 - エチルブチルアミドの合成

【化22】



30

2 - (2 - ニトロベンズアミド) - 2 - エチルブチルアミド (930 mg, 3.33 mmol)、10%パラジウム - 炭素 (549 mg) をメタノール (80 ml) に懸濁させ、3時間、水素添加した。反応液をセライト濾過し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物 (840 mg, quant.) を得た。

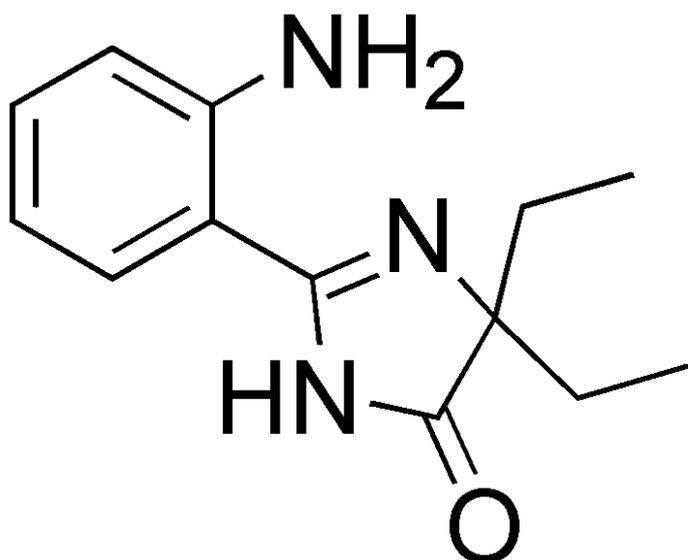
40

$^1\text{H NMR}$ (CDCl $_3$) ; 7.46 (dd, 1H, $J = 1.5, 7.6$ Hz), 7.36 (brs, 1H), 7.21 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.6, 7.6$ Hz), 6.65~6.70 (m, 2H), 5.48~5.82 (br, 4H), 2.73 (dq, 2H, $J = 14.6, 7.3$ Hz), 1.65 (dq, 2H, $J = 14.6, 7.3$ Hz), 0.88 (t, 6H, $J = 7.3$ Hz)

【0065】

2 - 3) 2 - (2 - アミノフェニル) - 4,4 - ジエチル - 5 - オキソ - 2 - イミダゾリンの合成

【化23】



10

窒素気流下、2-(2-アミノベンズアミド)-2-エチルブチルアミド (750 mg, 3.01 mmol) をテトラヒドロフラン(20 ml)に溶解し、5.06規定水酸化カリウム水溶液(1.7 ml, 8.60mmol)を加え、13時間加熱還流した。反応液を室温に戻し、5%炭酸カリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル = 2/1)で精製し、標題化合物(343 mg, 49%)を得た。

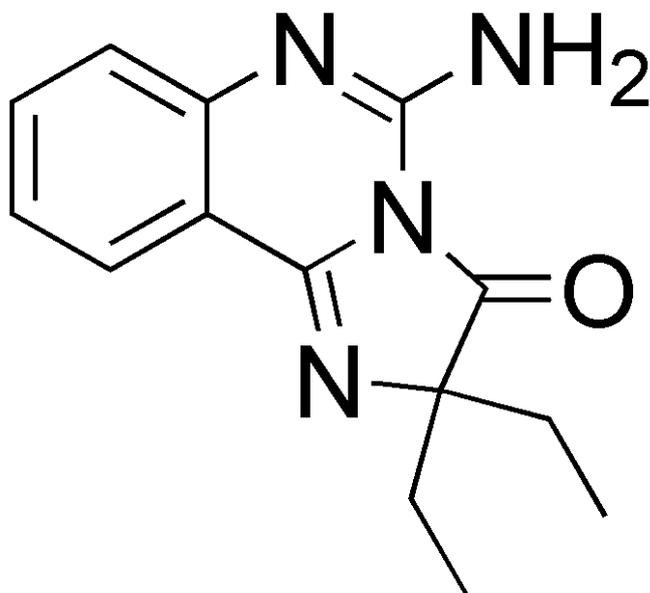
20

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 9.95 (brs, 1H), 7.38 (dd, 1H, $J = 1.3, 7.6$ Hz), 7.24 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.6, 7.6$ Hz), 6.72~6.78 (m, 2H), 6.37 (brs, 2H), 1.87 (q, 4H, $J = 7.4$ Hz), 0.82 (t, 6H, $J = 7.4$ Hz)

【0066】

2-4) 5-アミノ-2,2-ジエチル-イミダゾ[1,2-c]キナゾリン-3(2H)-オンの合成

【化24】



30

40

窒素気流下、2-(2-アミノフェニル)-4,4-ジエチル-5-オキソ-2-イミダゾリン(207 mg, 8.94×10^{-1} mmol)をエタノール(4.5 ml)に溶解し、95%プロモシアン(105 mg, 9.42×10^{-1} mmol)を加え、室温で3.5時間攪拌し、トリエチルアミン(130 μl , 9.37×10^{-1} mmol)を加え、50で7時間さらに攪拌した。反応液を室温に冷却し、飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン

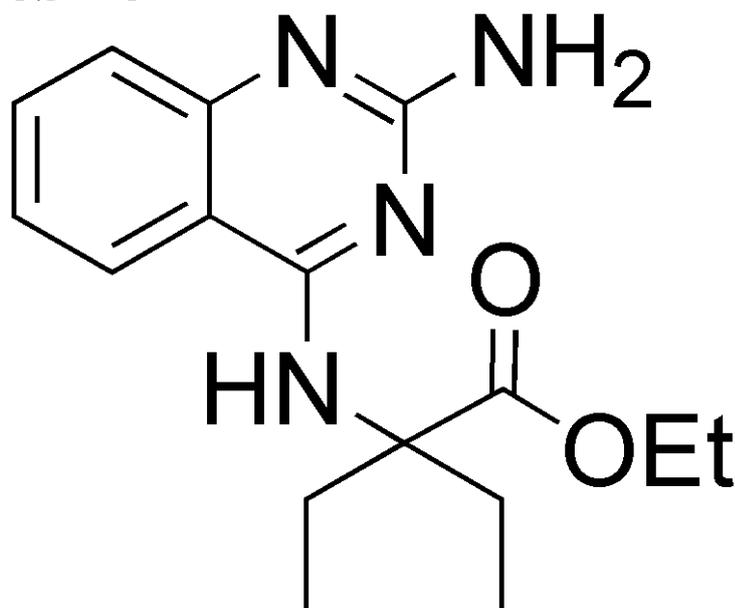
50

/ 酢酸エチル = 2 / 1) を行うことにより 標題化合物の粗生成物 (46.5 mg) を得た。

【 0 0 6 7 】

2 - 5) エチル 2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] - 2 - エチルプロパノエートの合成

【 化 2 5 】



10

20

窒素気流下、5 - アミノ - 2 , 2 - ジエチル - イミダゾ [1 , 2 - c] キナゾリン - 3 (2 H) - オンの粗生成物 (40.0 mg) をエタノール (2.0 ml) に溶解し、ナトリウムエトキシド (15.4 mg, 2.26×10^{-1} mmol) を加え、室温で 0 . 5 時間撹拌した。反応液に 5 % 炭酸カリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) で精製し、標題化合物 (27.8 mg, 12%) を得た。

^1H NMR (CDCl_3) ; 7.67 (dd, 1H, $J = 1.3, 8.2$ Hz), 7.57 (ddd, 1H, $J = 1.3, 8.2, 8.2$ Hz), 7.43 (dd, 1H, $J = 1.3, 8.2$ Hz), 7.17 (ddd, 1H, $J = 1.3, 8.2, 8.2$ Hz), 6.73 (brs, 1H), 4.77 (brs, 2H), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 2.86 (dq, 2H, $J = 15.2, 7.6$ Hz), 1.91 (dq, 2H, $J = 15.2, 7.6$ Hz), 1.33 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 0.74 (t, 6H, $J = 7.6$ Hz)

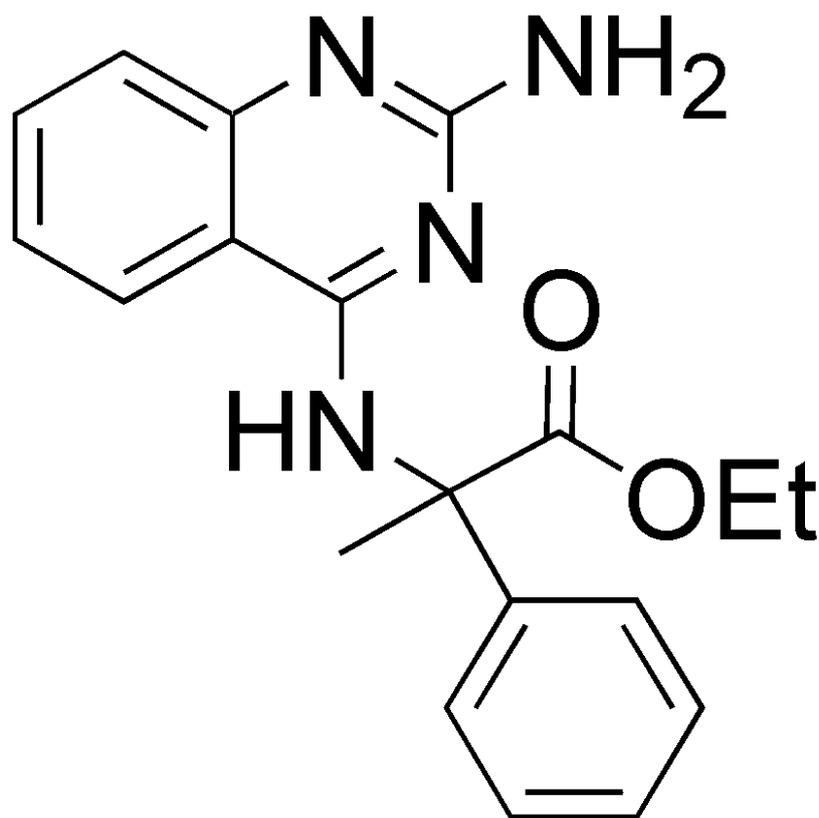
30

【 0 0 6 8 】

実施例 3

エチル 2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] - 2 - フェニルプロパノエートの合成

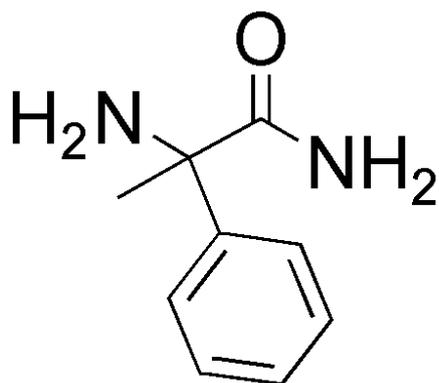
【 化 2 6 】



10

20

3 - 1) 2 - アミノ - 2 - フェニルプロパンアミドの合成
【化 2 7】



30

窒素気流下、シアン化ナトリウム(6.03 g, 123 mmol)の水溶液(14 ml)、2.9%アンモニア水(62 ml)に、酢酸(6.1 ml)をゆっくり滴下した。反応液にアセトフェノン(12.0 ml, 1.03 mmol)を滴下し、6時間、40℃で加熱した。反応液を室温に戻し、トルエンで抽出し、有機層をアンモニア水で2回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、アミノニトリル体とアセトフェノン(原料)との混合物を14.3 g得た。

40

窒素気流下、1.2規定アンモニア水(70 ml)にアミノニトリル体とアセトフェノンとの混合物(14.0 g)、30%過酸化水素水(21 ml, 207 mmol)を同時に滴下し、7時間攪拌した。10%パラジウム-炭素(2.1 g)を加え、過剰の過酸化水素をつぶし、セライト濾過した。ろ液をトルエンで抽出し、抽出液の溶媒を留去し、標題化合物(4.34 g, 26%)を得た。

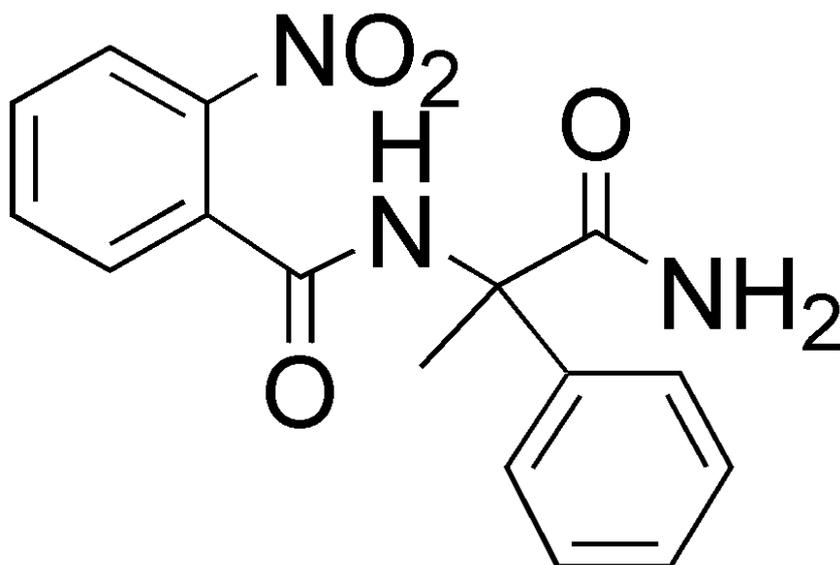
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.51~7.54 (m, 2H), 7.27~7.38 (m, 3H), 7.15 (br, 1H), 5.99 (br, 1H), 1.94 (br, 2H), 1.77 (s, 3H)

【 0 0 6 9 】

3 - 2) 2 - (2 - ニトロベンズアミド) - 2 - フェニルプロパンアミドの合成

50

【化 2 8】



10

窒素気流下、2 - アミノ - 2 - フェニルプロパンアミド(1.65 g, 10.0 mmol)、トリエチルアミン(2.50 ml, 17.9 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(35 ml)に2 - ニトロベンゾイルクロライド(1.45 ml, 11.1 mmol)を氷冷下に加え、室温で2 . 5時間撹拌した。反応液に5 % 硫酸水素カリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル = 1 / 1 1 / 2)で精製し、標題化合物(2.16 g, 69%)を得た。

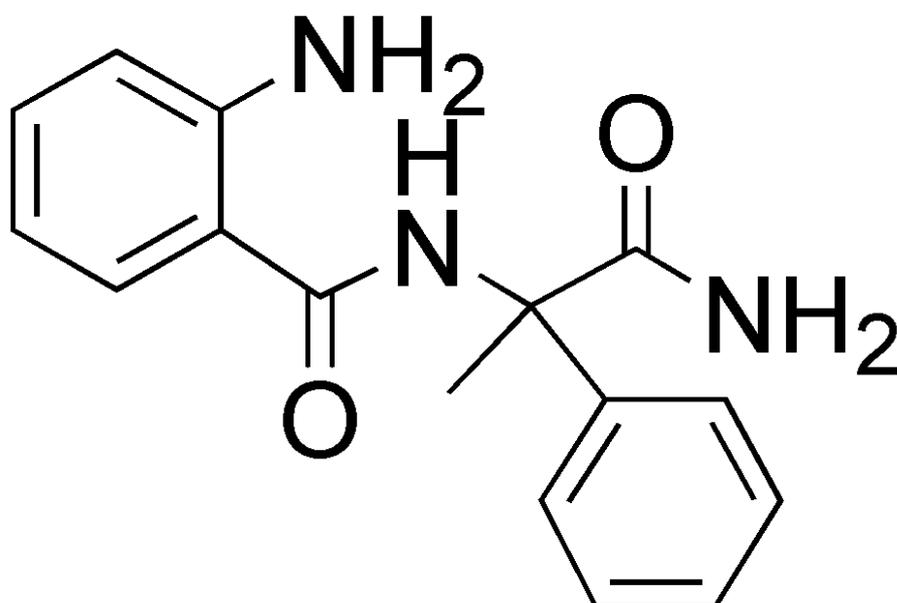
20

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 8.03 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 7.31 ~ 7.68 (m, 9H), 5.56 (br, 2H), 2.16 (s, 3H)

【 0 0 7 0】

3 - 3) 2 - (2 - アミノベンズアミド) - 2 - フェニルプロパンアミドの合成

【化 2 9】



30

2 - (2 - ニトロベンズアミド) - 2 - フェニルプロパンアミド(1.87 g, 5.97 mmol)をメタノール(25 ml)に溶解し、10 %パラジウム - 炭素(810 mg)を加え、1時間、水素添加した。反応液をセライト濾過し、ろ液の溶媒を留去し、標題化合物(1.51 g, 89%)を得た。

40

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.91 (brs, 1H), 7.49 ~ 7.55 (m, 3H), 7.28 ~ 7.42 (m, 3H), 7.20 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.6, 7.6$ Hz), 6.68 (ddd, 1H, $J = 1.0, 7.6, 7.6$ Hz), 6.62 (dd,

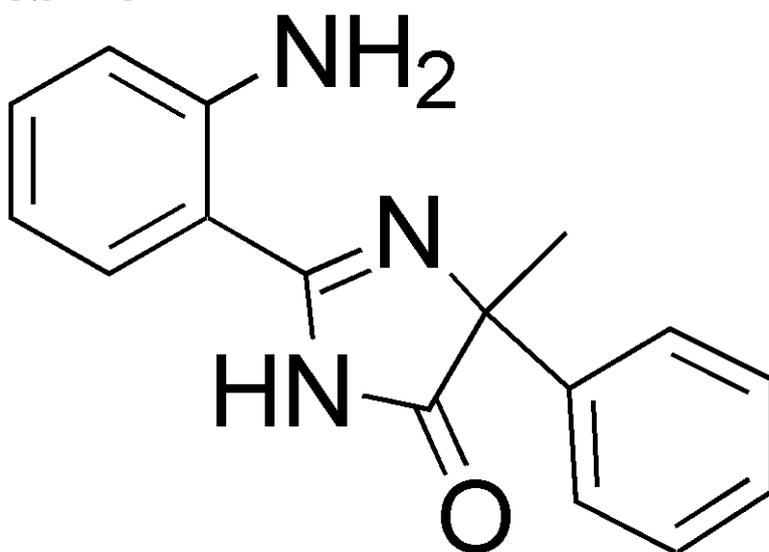
50

^1H , $J = 1.0, 8.2 \text{ Hz}$), 5.56 (br, 4H), 2.10 (s, 3H)

【0071】

3-4) 2-(2-アミノフェニル)-4-メチル-5-オキソ-4-フェニル-2-イミダゾリンの合成

【化30】



10

20

窒素気流下、2-(2-アミノベンズアミド)-2-フェニルプロパンアミド(1.16 g, 4.10 mmol)をテトラヒドロフラン(15 ml)に溶解し、5.02規定水酸化カリウム水溶液(1.7 ml, 8.53 mmol)を加え、3時間加熱還流した。反応液を室温に戻し、水を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル=2/1)で精製し、標題化合物(886 mg, 81%)を得た。

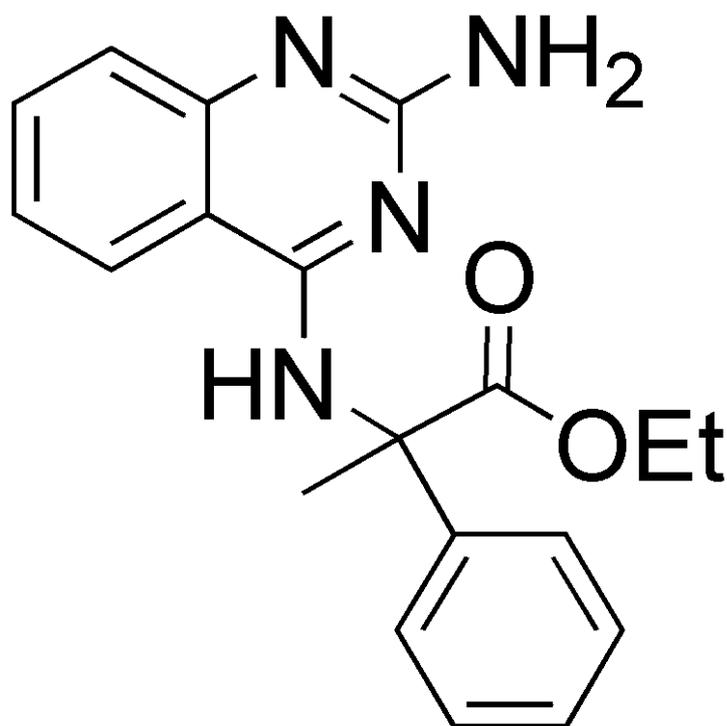
^1H NMR (CDCl_3) ; 9.71 (brs, 1H), 7.64~7.68 (m, 2H), 7.24~7.38 (m, 5H), 6.73~6.79 (m, 2H), 6.48 (brs, 2H), 1.82 (s, 3H)

【0072】

3-5) エチル 2-[(2-アミノキナゾリン-4-イル)アミノ]-2-フェニルプロパノエートの合成

【化31】

30



10

窒素気流下、2 - (2 - アミノフェニル) - 4 - メチル - 5 - オキソ - 4 - フェニル - 2 - イミダゾリン (306 mg, 1.15 mmol) をエタノール (7 ml) に溶解し、9.5% プロモシアン (223 mg, 2.00 mmol)、トリエチルアミン (160 μ l, 1.15 mmol) を加え、室温で2時間、50 で、6時間攪拌した。反応液を室温に冷却し、飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥した。硫酸マグネシウムをろ別し、ろ液の溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) 及び (アセトニトリル 酢酸エチル) で精製し、標題化合物 (38.1 mg, 9.9%) を得た。

20

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) ; 8.16 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 7.98 (s, 1H), 7.60 ~ 7.63 (m, 2H), 7.53 (dd, 1H, $J = 6.9, 6.9$ Hz), 7.31 ~ 7.40 (m, 3H), 7.23 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 7.04 (dd, 1H, $J = 6.9, 6.9$ Hz), 5.81 (brs, 2H), 4.03 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 1.99 (s, 3H), 1.04 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz)

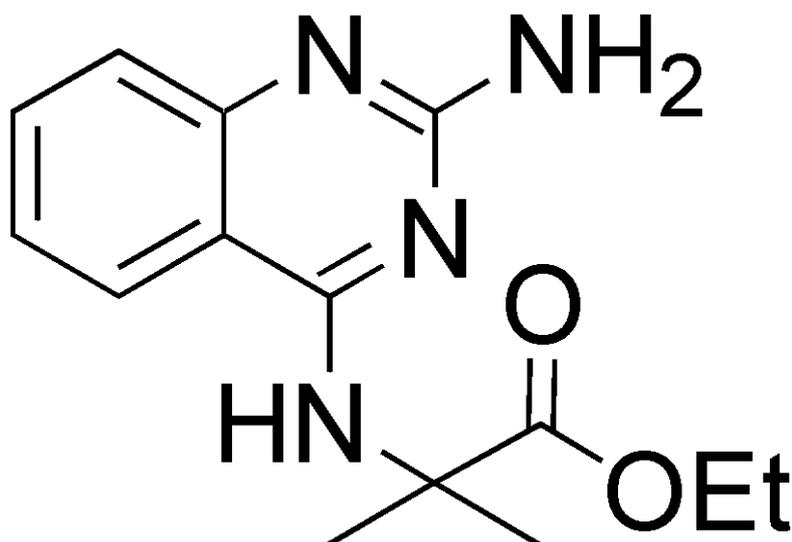
30

【 0 0 7 3 】

実施例 4

実施例 1 の方法に準じて合成を行い、エチル 2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] - 2 - メチルプロパノエートを得た。

【 化 3 2 】



40

50

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) ; 7.63 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.49 (ddd, 1H, $J = 8.3, 8.3, 1.1$ Hz), 7.36 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.02 (ddd, 1H, $J = 8.3, 8.3, 1.1$ Hz), 6.61 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz), 5.09 (brs, 2H), 4.99 (dt, 1H, $J = 7.1, 7.1$ Hz), 4.32-4.17 (m, 2H), 1.89-1.75 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 0.98-0.96 (m, 6H).

^{13}C NMR (75.45 MHz, CDCl_3) ; 174.9, 159.2, 158.7, 150.3, 132.9, 124.6, 121.9, 121.1, 110.8, 61.3, 57.2, 24.9, 14.1.

IR (KBr) 3380, 3128, 1722, 1631, 1573, 1527, 1476, 1434, 1402, 1285, 1223, 1150, 1016, 758 cm^{-1}

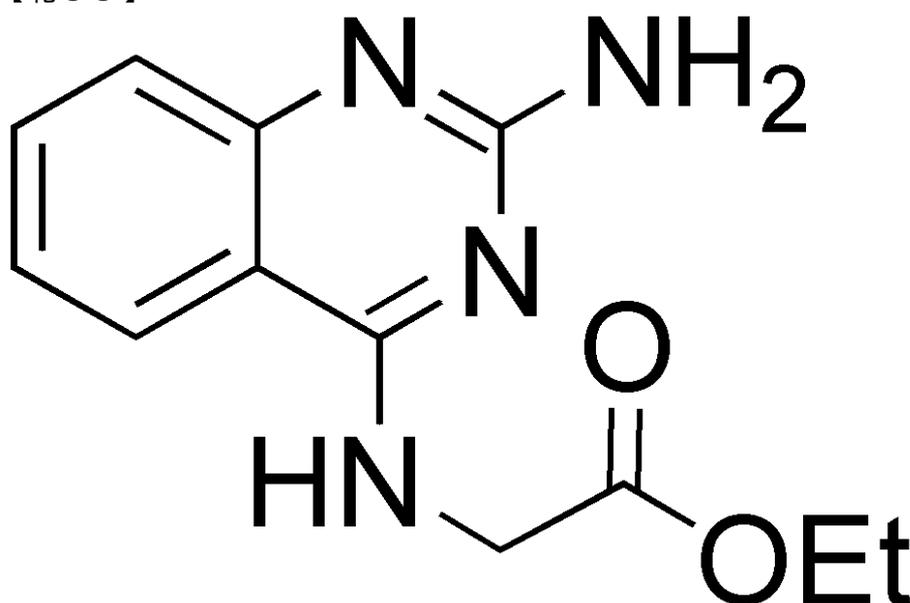
【 0 0 7 4 】

実施例 5

10

エチル 2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] アセテートの合成

【 化 3 3 】



20

2 - アミノ - 4 - クロロキナゾリン (509 mg, 2.83 mmol)、トリエチルアミン (1.43 g, 14.2 mmol) およびジメチルホルムアミド (5 ml) の混合液へグリシンエチルエステル塩酸塩 (475 mg, 3.40 mmol) を室温で加えた。反応液を内温 80 で 1 時間保温し、冷却後反応液へ水を加えた。クロロホルムで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (3% MeOH/ CHCl_3) で精製し、標題化合物 (126 mg, 16.4 %) を得た。

30

^1H -NMR (CDCl_3) ; 1.29 (3H, t, $J=7.3\text{Hz}$), 4.25 (2H, q, $J=7.3\text{Hz}$), 4.33 (2H, s), 5.28 (2H, bs), 7.06 (1H, t, $J=8.1\text{Hz}$), 7.21 (1H, bs), 7.40 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 7.50 (1H, t, $J=8.1\text{Hz}$), 7.71 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$).

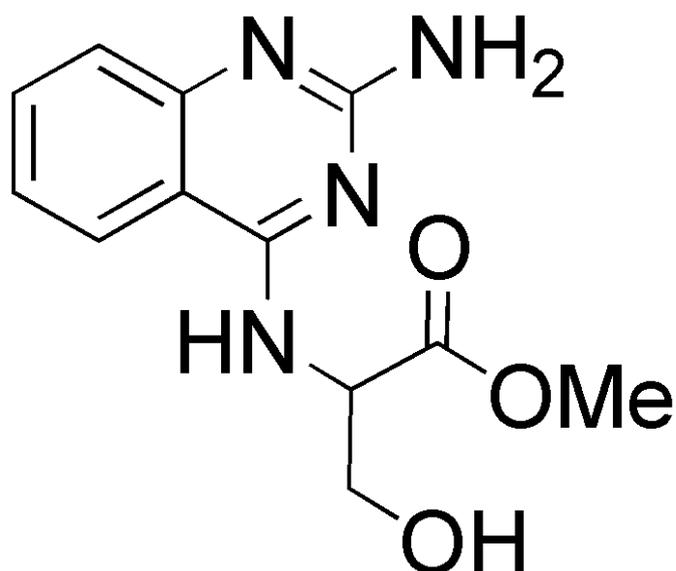
【 0 0 7 5 】

実施例 6

実施例 5 の方法に準じて反応を行い、メチル [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] - 3 - ヒドロキシ - 2 - プロパノエートを得た。

40

【 化 3 4 】



10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; 3.31 (1H, bs), 3.86 (3H, s), 4.08 (1H, dd, $J=11.3$, 4.6Hz), 4.23 (1H, dd, $J=11.3$, 3.0Hz), 4.90 (2H, bs), 5.02 (1H, m), 6.67 (1H, bs), 7.14 (1H, t, $J=8.1\text{Hz}$), 7.42 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 7.57(2H, m).

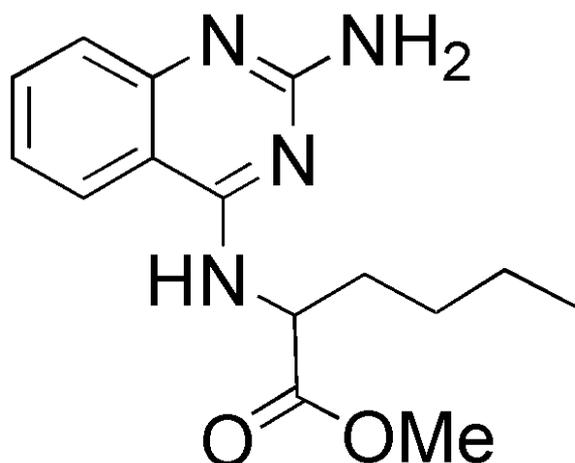
【0076】

実施例7

20

メチル2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] ヘキサノエート

【化35】



30

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.67 (dd, 1H, $J = 8.0$, 1.0 Hz), 7.55 (ddd, 1H, $J = 7.3$, 7.3, 1.0 Hz), 7.43 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 7.13 (dd, 1H, $J = 8.0$, 8.0 Hz), 6.49 (d, 1H, $J = 6.8$ Hz), 5.22 (brs, 2H), 4.97 (dt, 1H, $J = 6.8$, 5.6 Hz), 3.79 (s, 3H), 2.10-1.95 (m, 1H), 1.95-1.80 (m, 1H), 1.45-1.25 (m, 4H), 0.89 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz).

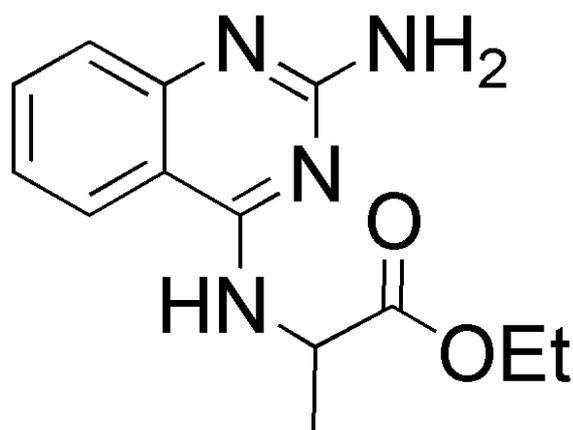
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) ; 173.8, 160.1, 159.3, 133.1, 124.7, 121.9, 121.1, 110.7, 53.4, 52.4, 31.8, 27.4, 22.3, 13.8. 40

【0077】

実施例8

エチル2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] プロパノエート

【化36】



10

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.59 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.53 (ddd, 1H $J = 8.0, 8.0, 1.3$ Hz), 7.40 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.11 (ddd, 1H, $J = 8.0, 8.0, 1.3$ Hz), 6.31 (brd, 1H, $J = 6.9$ Hz), 4.94-4.86 (m, 3H), 4.24 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 1.55 (d, 2H, $J = 7.0$ Hz), 1.28 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) ; 13.9, 159.71, 159.66, 151.7, 132.9, 125.4, 121.7, 121.0, 110.9, 61.5, 49.3, 18.3, 14.2.

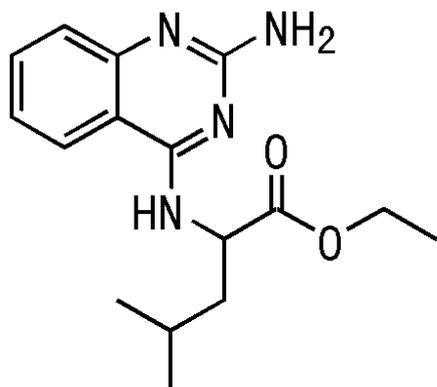
IR (KBr); 3388, 1731, 1620, 1574, 1532, 1161 cm^{-1}

【 0 0 7 8 】

20

実施例 9

エチル 2 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] - 4 - メチルペンタノエート
【 化 3 7 】



30

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ; 7.63 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.49 (ddd, 1H, $J = 8.3, 8.3, 1.1$ Hz), 7.36 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.02 (ddd, 1H, $J = 8.3, 8.3, 1.1$ Hz), 6.61 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz), 5.09 (brs, 2H), 4.99 (dt, 1H, $J = 7.1, 7.1$ Hz), 4.32-4.17 (m, 2H), 1.89-1.75 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 0.98-0.96 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) ; 174.2, 160.3, 151.4, 132.7, 132.7, 125.0, 121.4, 121.1, 110.8, 61.2, 52.2, 41.3, 24.9, 22.8, 22.0, 14.2.

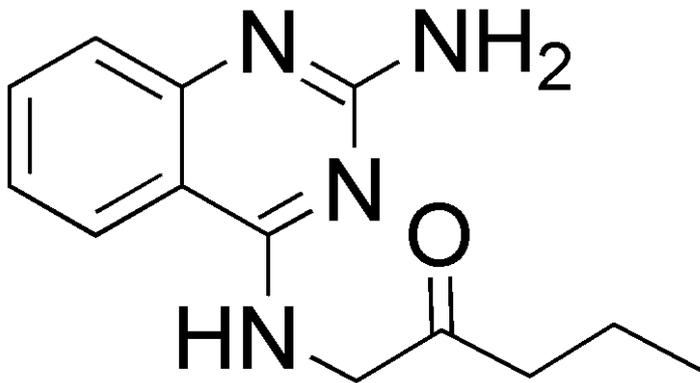
40

IR (KBr); 375, 2959, 1728, 1618, 1575, 1532, 1472, 1434, 1400, 1270, 1202, 1155, 760 cm^{-1}

【 0 0 7 9 】

実施例 10

1 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] ペンタン - 2 - オン
【 化 3 8 】



10

窒素ガス気流下、1 - [(2 - アミノキナゾリン - 4 - イル) アミノ] ペンタン - 2 - オール (33.7 mg, 0.137 mmol) をジクロロメタン (30 ml) に溶かし、室温攪拌下、ピリジニウムクロクロメート (P C C) (88.0 mg, 0.408 mmol) を加え 2 時間室温攪拌をした。P C C (44.0 mg, 0.204 mmol) を追加し、30 分攪拌し、反応液を減圧濃縮した。残渣をプレパラティブ T L C (P T L C) (10% MeOH/CHCl₃) で精製し、標題化合物 (30.8 mg, 92.0 %) を得た。

¹H-NMR (CDCl₃) ; 0.98 (3H, t, J=7.6Hz), 1.72 (2H, m), 2.55 (2H, t, J=7.0Hz), 4.43 (2H, s), 5.59 (2H, bs), 7.17 (1H, bs), 7.20 (1H, m), 7.48 (1H, m), 7.56 (1H, m), 7.76 (1H, m).

20

【 0 0 8 0 】

実施例 1 1

実施例

マウスリンパ節細胞からのサイトカイン産生に対する実施例 3 の化合物の作用 < 実験方法 >

1. 動物

BALB/c マウスは日本チャールスリバー (横浜) より購入し、8 週令の雌を使用した。

2. 培地

D-MEM (High Glucose) 培地 (日研生物医学研究所 (京都) , Code No. CM4402) に 56 、 30 分にて非働化した牛胎児血清 (Fetal Bovine Serum, Characterized, Code No. A-1115-L, HyClone Lab., Logan, Utah) を 20% 、 2 - メルカプトエタノール (Sigma, St Louis, MO, Code No. M-6250) を 50 μM 、 ペニシリンを 100 単位 / ml 、 ストレプトマイシンを 100 μg/ml (Penicillin-Streptomycin; Gibco-BRL, Code No. 15140-122) となるように添加して使用した。

30

3. 薬剤

化合物はジメチルスルホキシド (ナカライテスク (京都) Code No. 11J) にて、100mM となるように溶解し、培地により最終濃度まで希釈した。

4. 感作およびリンパ節細胞調製

KLH 0.2 mg をフロイント完全アジュバント (Difco Lab., Detroit, Michigan, Code No. 3113-60-5) とともにマウス足蹠皮下に注射した (0.1ml) 。 8 日後に膝窩リンパ節を摘出し、細胞浮遊液を調製した。

40

5. 抗原刺激によるサイトカイン産生

リンパ節細胞浮遊液 (2.5 x 10⁶ cells/ml) に KLH (0.1mg/ml) および薬剤を添加し、37、5% CO₂ 存在下で 4 日間培養 (Corning 25850, 0.15ml/well) 後、上清中に産生されるサイトカインを特異的な ELISA 法により定量した。

代表的な Th 2 タイプサイトカインとしてインターロイキン 4 (IL-4) 及びインターロイキン 5 (IL-5) を、代表的な Th 1 タイプサイトカインとしてインターフェロン (IFN-) を定量した。

6. ELISA 法

IL-4 の定量は、以下に示す ELISA 法にて行った。1 次抗体として、ラット抗マウス IL-4 抗

50

体 (Pharmingen, San Diego, CA, Code No.18031D, 0.5mg/ml) を炭酸緩衝液にて 250 倍希釈し、50 μ l/well ずつ 96 ウェルプレート (Falcon 3912, Becton Dickinson and company, Franklin Lakes, NJ) にまき、一晚 4 $^{\circ}$ C にてコートした。その後、プレートは、3% BSA を含む PBS(-) にてブロッキングした (200 μ l/well)。プレートを 0.05% のポリオキシエチレン・ソルビタン・モノラウレート (Tween 20 (登録商標) ナカライテスク (京都) Code No. 281-51) を含む PBS(-) (PBST) を用いて 3 回洗浄し、培養上清を 50 μ l/well ずつまき、室温にて 4 時間インキュベートした。検量線作成のため、リコンビナントマウス IL-4 (Pharmingen, Code No.19231W) を使用した。プレートを PBST を用いて 3 回洗浄し、二次抗体としてビオチン標識ラット抗マウス IL-4 抗体 (Pharmingen, Code No.18042D, 0.5mg/ml) を 0.1% BSA を含む PBS(-) にて 500 倍希釈したものを加え (100 μ l/well)、室温にて 1 時間インキュベートした。結合した二次抗体は、ストレプトアビジンアルカリフォスファターゼ (Kirkegaard & Perry Lab., Gaithersburg, MD, Code No.15-30-00) (0.25 μ g/ml, 100 μ l/well) により検出した。37 $^{\circ}$ C、1 時間インキュベートした後、プレートを PBST により 3 回洗浄し、PNPP 基質 (p-ニトロフェニルリン酸ニナトリウム、ナカライテスク) (1mg/ml, 100 μ l/well) を加えて発色させた。測定にはマイクロプレートリーダー (MTP-120 Microplatereader, Corona Electric) を用いた (波長 415nm)。

10

IFN- γ の定量には、1 次抗体としてラット抗マウス IFN- γ 抗体 (Pharmingen, San Diego, CA, Code No.18181D, 0.5mg/ml)、二次抗体としてビオチン標識ラット抗マウス IFN- γ 抗体 (Pharmingen, Code No.18112D, 0.5mg/ml) を用いて同様の方法で行った。検量線作成のため、リコンビナントマウス IFN- γ (Pharmingen, Code No.19301U) を使用した。IL-5 の定量には、1 次抗体としてラット抗マウス IL-5 抗体 (Pharmingen, San Diego, CA, Code No.18051D, 0.5mg/ml)、二次抗体としてビオチン標識ラット抗マウス IL-5 抗体 (Pharmingen, Code No.18062D, 0.5mg/ml) を用いて同様の方法で行った。検量線作成のため、リコンビナントマウス IL-5 (Pharmingen, Code No.19241W) を使用した。実験は、triplicate で行い、平均値を求めた。

20

< 結果 >

実施例 1 の化合物は IL-4 及び IL-5 の産生を抑制した。一方、IFN- γ の産生に対しては顕著な増強作用を示した。

【 0 0 8 1 】

30

実施例 1 2

マウスリンパ節細胞からのサイトカイン産生に対する類縁体化合物の作用

< 実験方法 >

1. 薬剤

実施例 1 1 と同様に、種々の類縁体化合物はジメチルスルホキシド (ナカライテスク (京都) Code No. 11J) にて、10-100mM となるように溶解し、培地により最終濃度まで希釈した。

2. 抗原感作リンパ節細胞調製法、抗原刺激によるサイトカイン産生法及びはサイトカイン定量法は実施例 1 3 で示したとおりの方法で行った。

代表的な Th2 タイプ サイトカインとして IL-4 を定量した。それぞれの類縁体化合物に関して、種々の濃度での IL-4 産生抑制率を計算して、化合物濃度と抑制率とのグラフより各類縁体化合物の 50% 抑制濃度 (IC_{50}) 値を求めた。

40

< 結果 >

代表的な化合物に関する結果を表 1 に示す。

【 表 1 】

表 1

化合物	IL-4 産生に対する IC ₅₀ 値 (μM)
実施例 1	2
実施例 2	2
実施例 3	1
実施例 4	1
実施例 5	0.4
実施例 6	0.4
実施例 7	0.4
実施例 8	0.4
実施例 9	0.78
実施例 10	0.3

10

【 0 0 8 2 】

実施例 1 3

20

マウス生体内における IgE 産生に対する実施例化合物の作用

< 実験方法 >

1) 動物

BALB/c は日本チャールズ・リバー(横浜)より購入し、8 週令の雌を使用した。

2) 卵白アルブミン感作

卵白アルブミン (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) の生理食塩水溶液 (4 μg/ml) に 4.5mg/ml の塩化ナトリウム (ナカライテスク (京都)) を溶解した液と水酸化アルミニウム・アジュバント (Alu-Gel-S; Serva Feinbiochemica GmbH & Co., Code No.12261) とを等量混合してマウス腹腔内に 0.5ml/頭を投与した。

3) 薬剤投与方法

30

被検化合物はメチルセルロースに懸濁して、卵白アルブミン感作日から 1 3 日間、経口で連続投与した (1 群 8 匹)。コントロール群 (1 群 10 匹) にはメチルセルロースのみを投与した。

4) 採血及び血漿調製

感作後 1 2 日目に麻酔下で眼窩血管叢より採血し、血漿を調製した。

5) 血中総 IgE 量の測定

血中総 IgE 量の測定は ELISA 法を用いて行った。1 次抗体としてラット抗マウス IgE モノクローナル抗体 (コード番号 7627, ヤマサ醤油株式会社、千葉)、2 次抗体としてビオチン標識ラット抗マウス IgE モノクローナル抗体 (コード番号 7617, ヤマサ醤油株式会社、千葉) を用いて、実施例 1 3 と同様な方法で測定した。血漿は 400 ~ 800 倍希釈して測定し、血中総 IgE 量は、マウス IgE (品番 7626 ヤマサ醤油、千葉) を用いた標準曲線から算出した。

40

6) 統計処理法

Dunnett の多重比較検定で比較を行った。危険率を 5 % に設定して有意差の有無を判定した。

【 0 0 8 3 】

< 結果 >

表 2 に示すように、実施例化合物は卵白アルブミン / 水酸化アルミニウム・アジュバント腹腔内感作により誘導される血中総 IgE の上昇を有意差をもって抑制した。この実験系における血中総 IgE の上昇は、生体内での IL-4 産生に依存していることがすでに確認され

50

ている。この結果は、実施例化合物がマウス生体内において、IL-4産生を抑制することにより、血中総IgEの上昇を抑制したことを示す。

【表 2】

表 2

実施例 1 の化合物の投与量	血中総 IgE 量(μ SD) (g/ml)
10 mg/kg	1.47 (0.64)
20 mg/kg	1.27 (0.78)
40 mg/kg	1.76 (0.46)
コントロール	4.24 (1.29)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 11/02	(2006.01)	A 6 1 P 11/02
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00

(73)特許権者 000002093

住友化学株式会社
東京都中央区新川二丁目27番1号

(74)代理人 100068526

弁理士 田村 恭生

(74)代理人 100100158

弁理士 鮫島 睦

(74)代理人 100126778

弁理士 品川 永敏

(74)代理人 100150500

弁理士 森本 靖

(72)発明者 徳永 輝久

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 安徳 富士雄

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 岩井 清高

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 田中 浩士

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 永田 龍

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 越智 宏

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 渡辺 孝正

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 藤田 一司

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

(72)発明者 川上 肇

大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内

審査官 大野 晃

(56)参考文献 国際公開第93/07124(WO, A2)

特開平2-502462(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 239/95

A61K 31/517

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)

BIOSIS(STN)

EMBASE(STN)

MEDLINE(STN)

WPIDS(STN)