

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6190871号
(P6190871)

(45) 発行日 平成29年8月30日(2017.8.30)

(24) 登録日 平成29年8月10日(2017.8.10)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 31/506	(2006.01)
A 6 1 P 43/00	(2006.01)
A 6 1 P 19/08	(2006.01)
A 6 1 P 3/12	(2006.01)
A 6 1 P 35/00	(2006.01)
	A 6 1 K 31/506
	A 6 1 P 43/00
	A 6 1 P 19/08
	A 6 1 P 3/12
	A 6 1 P 35/00

請求項の数 15 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-502373 (P2015-502373)
(86) (22) 出願日	平成25年3月29日 (2013.3.29)
(65) 公表番号	特表2015-511621 (P2015-511621A)
(43) 公表日	平成27年4月20日 (2015.4.20)
(86) 國際出願番号	PCT/EP2013/056811
(87) 國際公開番号	W02013/144339
(87) 國際公開日	平成25年10月3日 (2013.10.3)
審査請求日	平成28年3月25日 (2016.3.25)
(31) 優先権主張番号	61/617,889
(32) 優先日	平成24年3月30日 (2012.3.30)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	504389991 ノバルティス アーゲー スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ 35
(74) 代理人	100092783 弁理士 小林 浩
(74) 代理人	100120134 弁理士 大森 規雄
(74) 代理人	100181168 弁理士 丸山 智裕
(74) 代理人	100104282 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】低リン血症性障害の処置に使用するためのFGFR阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

X連鎖性低リン血症性くる病(XLH)、常染色体優性低リン血症性くる病(ADHR)、常染色体劣性低リン血症性くる病(ARHR)、腫瘍隨伴性骨軟化症、腎移植後の低リン血症、表皮母斑症候群、骨空洞性骨異形成症およびMcCune-Albright症候群からなる群から選択される障害を処置するための医薬組成物であって、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-{6-[4-(4-エチル-ビペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル}-1-メチル-尿素または薬学的に許容されるその塩を含む、医薬組成物。

【請求項2】

前記障害が、X連鎖性低リン血症性くる病(XLH)、常染色体優性低リン血症性くる病(ADHR)または常染色体劣性低リン血症性くる病(ARHR)である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

前記障害が腫瘍隨伴性骨軟化症である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項4】

前記障害が、腎移植後の低リン血症、表皮母斑症候群、骨空洞性骨異形成症またはMcCune-Albright症候群である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項5】

対照または処置を始める前の皮質骨の体積もしくは厚さと比較して、皮質骨の体積また

10

20

は厚さを増加させるための医薬組成物であって、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素または薬学的に許容されるその塩を含む、医薬組成物。

【請求項 6】

骨におけるFGF23の発現阻害、または骨におけるFGF23の活性阻害のための医薬組成物であって、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素または薬学的に許容されるその塩を含む、医薬組成物。

【請求項 7】

3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素が一リン酸塩の形態である、請求項1から6のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素が遊離塩基の形態である、請求項1から6のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

処置が少なくとも8週間続く、請求項1から8のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

投与量が0.5～100mgである、請求項1から9のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

投与量が1～50mgである、請求項10に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

対象がヒトである、請求項10又は11に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素または薬学的に許容されるその塩が、リン酸塩、カルシウム、オステオポンチン(OPN)、副甲状腺ホルモンもしくはその類似体(PTH)、および/またはビタミンDもしくはビタミンD類似体と組み合わせて製剤された、請求項1から12のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

X連鎖性低リン血症性くる病(XLH)、常染色体優性低リン血症性くる病(ADHR)、常染色体劣性低リン血症性くる病(ARHR)、腫瘍隨伴性骨軟化症、腎移植後の低リン血症、表皮母斑症候群、骨空洞性骨異形成症およびMcCune-Albright症候群からなる群から選択される障害を処置するための医薬の製造における、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素または薬学的に許容されるその塩の使用。

【請求項 15】

経口投与、非経口投与または局所投与用の、請求項1から13のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、概して、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-

10

20

30

40

50

-イル} - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、あるいは 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物を含む、線維芽細胞増殖因子受容体が介在する障害の処置に使用するための医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

線維芽細胞増殖因子 (FGF) ファミリーおよびそのシグナル伝達受容体は、虫からヒトまでの生命体の成長および維持に関する重要なプロセス (発育、血管形成および代謝) を司る複数の生物学的活性 (増殖、生存、アポトーシス、分化、運動性) に関連する。 22 種の別個の FGF が同定されており、そのすべてが、共通した 120 アミノ酸の保存コアドメインを有し、配列同一性は 15 ~ 65 % である。 FGF23 は、重要であり、骨に由来するリン酸ホメオスタシスの伝達物質であり、腎臓において、ビタミン D の生合成およびリン酸塩の腎吸収を調節する機能を果たす。腎臓の近位尿細管の上皮細胞において、 FGF23 のシグナル伝達は、ビタミン D 代謝酵素である CYP27B1 および CYP24A1 の発現を制御し、生合成を低下させ、活性型ビタミン D 代謝産物である 1,25 - デヒドロキシビタミン D3 (1,25 [OH] 2D3) の代謝回転を上昇させる。さらに、 FGF23 は、近位尿細管細胞の刷子縁膜におけるナトリウム - リン酸塩共輸送体であり、泌尿器のリン酸塩再吸收を介在する NPT2A および NPT2C の発現を損なう。

【0003】

FGF23 の過剰値、または働きの増進は、低リン血症を生じると共に、 1,25 (OH) 2D3 (ビタミン D) の生合成を損ない、骨石灰化が損なわれる結果として骨格異常を伴う、 X 連鎖性低リン血症性くる病 (XLH) 、常染色体優性低リン血症性くる病 (ADHR) 、および常染色体劣性低リン血症性くる病 (ARHR) を含めた、いくつかの遺伝性低リン血症性障害に関連する。さらに、稀な例では、腫瘍細胞による FGF23 の分泌は、低リン血症を引き起こすことが確認されており、腫瘍隨伴性骨軟化症 (TIO) を生じる。 FGF23 値の上昇は、腎移植後の患者においても一般的に観察され、重度の低リン血症を引き起こす。 FGF23 は、 FGF23 値の上昇に関連している他の低リン血症性症候群数種、例えば、表皮母斑症候群、骨空洞性骨異形成症および McCune - Albright 症候群の一因となる。 XLH および FGF23 が介在する他の低リン血症性疾患、例えば ADHR および ARHR は、一般的に、幼児期早期に臨床的に認められ、身長が低くなり、脚が弓状変形する。

【0004】

これらの疾患に対する現在の治療手段は、主に、食物中のビタミン D およびリン酸塩の添加に限定される。治療により、患者の成長およびくる病は改善されるが、矯正は限定されることが多く、思春期後の背丈に悪影響を及ぼす。疾患の重症度によるが、 FGF23 シグナル伝達を持続させ、継続して中和する力を構成すること、高用量のリン酸塩およびビタミン D を投与することが、 XLH および FGF23 に関連する他の低リン血症疾患の薬物治療に必要とされたことが多いため、綿密なモニタリングと、毒性リスク、例えば腹痛および下痢または二次性副甲状腺機能亢進症、高カルシウム血症ならびに異所性石灰化を避けるための用量の調整を必要とする。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

したがって、前述の外觀を損なう病気を処置するための、信頼性が高く効果的な薬物が必要であり、 FGF23 情報伝達を遮ることで病的な FGF23 シグナル伝達を直接標的とすることにより、現在の処置の標準を上回る有益な治療手段が提供され得る。

【課題を解決するための手段】

【0006】

高度に選択的であり、 BGJ389 としても周知である FGF23 阻害剤である、式 I に

10

20

30

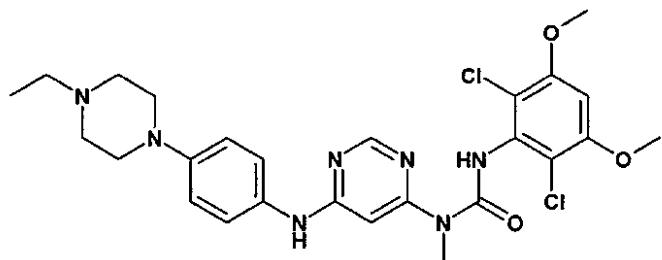
40

50

描かれている化合物 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミジン - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素 (WO 2006 / 000420 の実施例 145 に記載されている) は、驚くべきことに、臨床的に特に活性であり、線維芽細胞増殖因子受容体が介在する他の障害の処置に使用できることが今や見出された。

【 0007 】

【 化 1 】



10

I

【 0008 】

したがって、第一の態様において、本発明は、 X 連鎖性低リン血症性くる病 (X L H) 、常染色体優性低リン血症性くる病 (A D H R) 、常染色体劣性低リン血症性くる病 (A R H R) 、腫瘍隨伴性骨軟化症、腎移植後の低リン血症、表皮母斑症候群、骨空洞性骨異形成症または McCune - Albright 症候群の処置に使用するための、 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容されるその塩、 N - 酸化物もしくは溶媒和物を提供する。特に、化合物、薬学的に許容されるその塩または溶媒和物は、 X 連鎖性低リン血症性くる病 (X L H) 、常染色体優性低リン血症性くる病 (A D H R) 、常染色体劣性低リン血症性くる病 (A R H R) または腫瘍隨伴性骨軟化症、腎移植後の低リン血症の処置に使用できる。

20

【 0009 】

好ましくは、 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物は、一回用量超で患者に投与される。

30

【 0010 】

化合物 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容されるその塩、 N - 酸化物もしくは溶媒和物を、上で定義したように使用する場合、処置は、好ましくは、場合により中断させながら、少なくとも 8 週間続けるべきである。 2 回にわたる化合物の連続投与の時間間隔は、 24 時間超、場合により 48 時間超であり得る。

40

【 0011 】

式 I の化合物は、さらに、別の F G F R 阻害剤、リン酸塩、カルシウム、オステオポンチン (O P N) 、副甲状腺ホルモンもしくはその類似体 (P T H) 、および / またはビタミン D もしくはビタミン D 類似体と組み合わせて、好ましくはリン酸塩、カルシウムおよび / またはビタミン D もしくはビタミン D 類似体と組み合わせて、特にビタミン D またはビタミン D 類似体と組み合わせて処置に使用できる。

【 0012 】

第二の態様において、本発明は、上で定義したように使用するための、 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または

50

薬学的に許容されるその塩、N-酸化物もしくは溶媒和物を含む医薬組成物を提供する。

【0013】

本発明の別の態様は、対照または処置を始める前の皮質骨の体積もしくは厚さと比較して、皮質骨の体積または厚さを増加させるために使用するための、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素、または薬学的に許容されるその塩、N-酸化物または溶媒和物である。

【0014】

本発明のさらに別の態様は、対照と比較してFGF23活性の上昇を示す患者の体重増量に使用するための、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素、または薬学的に許容されるその塩、N-酸化物もしくは溶媒和物である。

【0015】

本発明のさらなる態様は、骨におけるFGF23の発現阻害、または骨におけるFGF23の活性阻害に使用するための、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素、または薬学的に許容されるその塩、N-酸化物もしくは溶媒和物である。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】FGFR阻害剤の処置により、1,25(OH)2D3の生合成が誘導され、Hy pマウスにおける低カルシウム血症および低リン血症が緩和されることを示す図である。FGFR阻害における、in vivoでの7時間にわたる、腎臓のFGF23標的遺伝子Cyp27b1(A)およびCyp24a1(B)の調節を示す。データを、野生型ビヒクル対照群(相対発現量100)に対する相対的な値として示す。AおよびBに記載されているように処置した野生型およびHy pマウスの(C)血清1,25(OH)2D3値を、ラジオレセプターアッセイにより測定した。BGJ398(50mg/kg)またはビヒクルの単回経口投与で処置した野生型およびHy pマウスにおける、投与から24時間後のカルシウム(E)およびリン酸塩(F)の値。リン酸塩およびカルシウム値を血清から測定した。データを、SEM(n=6)付きの平均として得る。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。

【図2】FGFR阻害剤の処置により、腎臓のFGF23標的遺伝子の発現が調節され、Dmp1-ヌルマウスにおける低カルシウム血症および低リン血症が緩和されることを示す図である。FGFR阻害における、in vivoでの腎臓のFGF23標的遺伝子Cyp27b1(A)およびCyp24a1(B)の調節。データを、野生型ビヒクル対照群(相対発現量100)に対する相対的な値として示し、標準誤差(SEM)(n=6)付きの平均として得る。野生型およびDmp1-ヌルマウスにおける、血清カルシウム(C)およびリン酸塩(D)値に対する薬理学的なFGFR阻害効果。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。

【図3】FGFR依存性シグナル伝達が、骨におけるFGF23の発現を調節することを示す図である。7時間にわたりBGJ398を用いて処置した野生型およびHy pマウスにおける、骨mRNA(A)および血清(B)のFGF23値。

【図4】FGFR阻害剤の処置により、カルシウムおよびリン酸塩の血清値が持続的に上昇することを示す図である。式Iの化合物の投与から48時間後における、野生型またはHy pマウスにおける血清からの、カルシウム(A)およびリン酸塩(B)値の測定。(C)処置から7時間後および24時間後における、腎臓中の化合物の濃度(concentration)

10

20

30

40

50

)。

【図5】長期間のFGFR阻害により体重および尾長の発育が向上し、Hypマウスにおけるミネラルイオンホメオスタシスが回復することを示す図である。野生型またはHypマウスを、FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q.wを用いて、56日間にわたり処置し、体重(A)および尾長(C)の発育をモニターした。処置の間における、全体重(B)および尾長の増加(D)。カルシウム(E)およびリン酸塩(F)ならびに8週間にわたる処置の最後における値を、最終投与から24時間後の血清から測定した。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。10

【図6】BGJ398を用いた長期間にわたるFGFR阻害後の、FGF23、副甲状腺ホルモン(PTH)および1,25(OH)2D3の血清値を示す図である。野生型またはHypマウスを、FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q.wを用いて、56日間にわたり処置し、FGF23(A)、PTH(B)および1,25(OH)2D3(C)の値を、最終投与から24時間後における血清から測定した。データを、SEM(n=4)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。

【図7】長期間にわたるFGFR阻害により、Hypマウスにおける長骨の成長が向上することを示す図である。FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q.wを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスからの大腿骨(A)および脛骨(B)のX線写真。大腿骨(C)および脛骨(D)の長さの定量化。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。20

【図8】長期間にわたるFGFR阻害により、Hypマウスの大腿骨における皮質の一体性が改善することを示す図である。(A)FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q.wを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスからの大腿骨の皮質(成長板領域下)のマイクロCTスキャン。相対的な皮質骨の体積(B)および皮質の平均厚(C)の定量化。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。30

【図9】FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q.wを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスからの脛骨部位のGoldner染色を示す図である(A)。石灰化した組織は白い矢印で指示され、石灰化していない類骨は黒い矢印で指示されており、BGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q.wを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスの脛骨の骨端において、(B)類骨の表面/骨の表面および類骨の幅(C)を組織形態計測によって測定した。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001。40

【発明を実施するための形態】

【0017】

線維芽細胞増殖因子23(FGF23)は、周知である。これは、広範な生物学的活性を有する、線維芽細胞増殖因子ファミリーのメンバーと考えられている。このタンパク質の配列および/またはタンパク質のコード配列は、当業界で周知の公的に利用できるデータベースから回収される。ヒトのFGF23も、ADHR；HYPF；HPDR2；PHPTCとして当業界で周知である。FGF23は、いくつかの低リン血症の症状で、疾患を引き起こす因子である。FGFR阻害剤である3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-(4-エチル-ピペラジン-1-イル)-フェニ

ルアミノ] - ピリミド - 4 - イル} - 1 - メチル - 尿素 (B G J 3 9 8) を使用した、 F G F R の薬理学的阻害により、病的な F G F 2 3 のシグナル伝達が中和されることが思いがけず観察され、それにより、 F G F 2 3 に関連した低リン血症性障害を処置するための、有望であり新規な治療手段を描写する。本出願人らは、 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容されるその塩、 N - 酸化物もしくは溶媒和物を、 X 連鎖性低リン血症性くる病 (X L H) 、常染色体優性低リン血症性くる病 (A D H R) 、常染色体劣性低リン血症性くる病 (A R H R) 、腫瘍随伴性骨軟化症、腎移植後の低リン血症、表皮母斑症候群、骨空洞性骨異形成症または McCune - Albright 症候群の処置に使用する場合に、きわめて効果的であり得ることを見出した。この化合物は、 X 連鎖性低リン血症性くる病 (X L H) 、常染色体優性低リン血症性くる病 (A D H R) または常染色体劣性低リン血症性くる病 (A R H R) 、腎移植後の低リン血症の処置に、とりわけ、 X 連鎖性低リン血症性くる病 (X L H) および常染色体優性低リン血症性くる病 (A D H R) 、または常染色体劣性低リン血症性くる病 (A R H R) の処置に特に有用であり得る。
10

【0018】

一実施形態において、本明細書で使用されている、あらゆる疾患または障害を「処置する (treat) 」、「処置すること (treating) 」または「処置 (treatment) 」という用語は、疾患または障害を寛解すること（すなわち、疾患または少なくとも 1 つのその臨床的症候の発症を遅らせる、または停止させる、または低下させる）を指す。別の実施形態において「処置する」、「処置すること」または「処置」は、少なくとも 1 つの物理的パラメータを、患者によって識別可能にならない恐れがあるパラメータを含めて、軽減する、または寛解することを指す。さらに別の実施形態において、「処置する」、「処置すること」または「処置」は、疾患または障害を、物理的に（例えば、識別可能な症候の安定化）、生理学的に（例えば、物理的パラメータの安定化）、または両方で調節することを指す。さらに別の実施形態において、「処置する」、「処置すること」または「処置」は、疾患または障害の発病または発症または進行を予防する、または遅延させることを指す。
20

【0019】

「薬学的に許容される塩」という用語は、本発明に従って使用する場合、化合物の生物学的有効性および性質を保持する塩を指し、典型的には、生物学的であってもそうでなくても望ましくないということはない。薬学的に許容される酸付加塩は、無機酸および有機酸を用いて形成でき、例えば、酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベシル酸塩、臭化物 / 臭化水素酸塩、炭酸水素塩 / 炭酸塩、硫酸水素塩 / 硫酸塩、カンファースルホン酸塩、塩素 / 塩酸塩、クロルテオフィロネート (chlortheophyllonate) 、クエン酸塩、エタンジスルホン酸塩、フマル酸塩、グルセブテート、グルコン酸塩、グロクロン酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモエート、リン酸塩 / リン酸水素 / リン酸二水素、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、スルホサリチル酸塩、酒石酸塩、トリシル酸塩、トリフルオロ酢酸塩またはそのようなものであってよい。このような塩が由来し得る無機酸は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などを含む。一実施形態において、薬学的に許容される塩は、化合物 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素の一リン酸塩（またはリン酸塩）であり、場合により無水結晶形態であり得る。特定の実施形態において、化合物の塩は、 WO 2011 / 071821 に開示されているあらゆる塩または形態である。一実施形態において、 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素は、その遊離塩基形態である。
30

【0020】

「溶媒和物」という用語は、 1 つまたは複数の溶媒分子を有する化合物の分子複合体を指す。そのような溶媒分子は、医薬品業界において一般的に使用される分子であり、化合
40

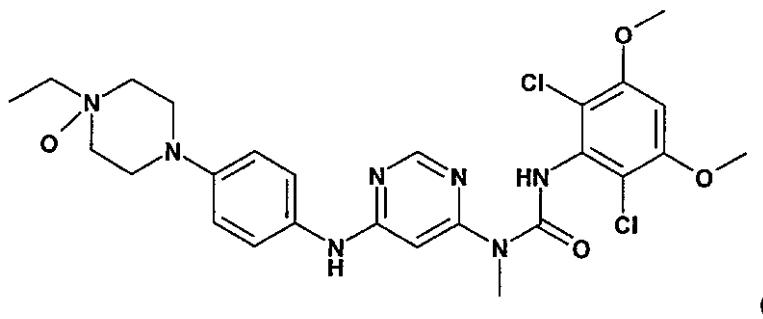
物、例えば、水、エタノールなどに影響を及ぼさないことが周知である。

【0021】

化合物3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-[4-エチル-ピペラジン-1-イル]-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素のN-酸化物の1種は、以下の式II

【0022】

【化2】



を有する。

【0023】

B G J 3 9 8 の単回有効量により、B G J 3 9 8 の投与から7時間後に、野生型およびHypマウスの両方で、1,25(OH)2D3の血清値が早くも大幅に上昇した。さらに、カルシウムおよびリン酸塩の値も同様に上昇した。これらの結果は、哺乳類におけるF G F R の薬理学的阻害は、異常なF G F 2 3 のシグナル伝達を中和する上で十分であることを示す。本出願人らは、F G F 2 3 活性が中和され、体内のカルシウムおよびリン酸塩の値が釣り合うことから、F G F R 阻害剤の単回投与により、その効果が早くも引き出されることを見出した。さらに、B G J 3 9 8 を用いた長期間にわたる処置により、Hypマウスにおいて、カルシウムおよびリン酸塩の値の両方が完全に正常化した。したがって、好ましい実施形態において、B G J 3 9 8 または薬学的に許容される塩、N-酸化物もしくは溶媒和物が、治療有効一回用量超で必要とする患者に投与される。化合物の「治療有効量」という用語は、対象の生物学的または医学的反応、例えば、キナーゼ活性の低下または阻害、あるいは症候の寛解、症状の緩和、疾患の進行の遅れまたは遅延、あるいは疾患の予防等を引き出すであろうB G J 3 9 8 の量を指す。対象は、ヒトを含めたあらゆる哺乳類であつてよい。治療有効量は、約50～70kgの対象に対して約1～250mgのB G J 3 9 8 、または約1～150mg、例えば125mg、または約0.5～100mg、または約1～50mg、または約1～25mg、または約1～10mgの用量でのB G J 3 9 8 であつてよい。化合物の治療有効投与量は、単体で、もしくは医薬組成物中において、または以下で説明されるように、他の活性成分との組み合わせにおいて、対象の化学種、体重、年齢および患者の症状、処置される障害もしくは疾患またはその重症度に左右される。

【0024】

別の態様において、本発明は、対照または処置を始める前の皮質骨の体積もしくは厚さと比較して、皮質骨の体積または厚さを増加させるために使用するための、3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-[4-エチル-ピペラジン-1-イル]-フェニルアミノ]-ピリミド-4-イル]-1-メチル-尿素、または薬学的に許容されるその塩、N-酸化物もしくは溶媒和物である。実施した実験により、対象がB G J 3 9 8 で処置される場合、皮質骨の体積が、病的な値から、通常の値と区別ができる値まで増加することが明らかに示されている。さらに、皮質の厚さが著しく増加した。

【0025】

3-(2,6-ジクロロ-3,5-ジメトキシ-フェニル)-1-[6-[4-[4-

10

20

30

40

50

エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素の投与により、対照と比較して FGF23 活性が上昇したことを示す患者の体重増量に拍車がかかることが観察されている。「対照」は、FGF23 活性の値、または各疾患を伴わない個人、数名の対象または母集団の表現を指す。

【 0026 】

広範な意味で、本発明の一実施形態は、骨における FGF23 の発現阻害、または骨における FGF23 の活性阻害に使用するための、3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素、または薬学的に許容されるその塩、N - 酸化物もしくは溶媒和物である。「発現」は、遺伝子が転写され、翻訳される場合に產生される核酸またはアミノ酸を指す。例として、転写の活性は、あらゆる適切な方法により評価できる、例えば、FGF23 遺伝子から転写される mRNA の量、または遺伝子から転写される mRNA の逆転写から產生される cDNA の量、または遺伝子によりコードされるポリペプチドまたはタンパク質の量を検出することを含む。あるいは、遺伝子のコピー数、転写、または翻訳のいずれか 1 つを、周知の技術を使用して測定できる。例えば、增幅方法、例えば PCR は有用であり得る。骨における FGF23 の発現または活性に影響を与えることにより、骨の構造および成長を調節でき、不正な、または非効率的な (inefficient) 成長として認められ、異常、例えば、それに限定されないが、くる病を生じる疾患に特に有用である。

【 0027 】

全身の FGF-R を阻害することで起こり得る副作用の発生率を低下させることを目的に、投与が間欠的に行われ得るが、これは対象に対して有害であり得る望ましくない二次的影響を最小限にするためである。投与は、中断なしで連続的に行われ得る、または、まず数回の投与から始めて、必要とする患者において定常状態の濃度を達成し、次いで、投与の時間間隔を変更する。あるいは、初回投与後直ちに、投与を適合させてもよい。2 回にわたる化合物の連続投与の時間間隔は、24 時間超、場合により 48 時間超または 1 週間超でもあり得る。特定の実施形態において、投与は、場合により、1 日間、2 日間、もしくは、3 日間の 2 回にわたる連続投与の間、または再発後のみ、繰り返し行われる。

【 0028 】

好ましい実施形態において、化合物 3 - (2 , 6 - ジクロロ - 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル) - 1 - { 6 - [4 - (4 - エチル - ピペラジン - 1 - イル) - フェニルアミノ] - ピリミド - 4 - イル } - 1 - メチル - 尿素は、別の FGF-R 阻害剤、リン酸塩、カルシウム、オステオポンチン (OPN)、副甲状腺ホルモンもしくはその類似体 (PTH)、および / またはビタミン D もしくはビタミン D 類似体と組み合わせて、好ましくはリン酸塩、カルシウムおよび / またはビタミン D もしくはビタミン D 類似体と組み合わせて、特にビタミン D またはビタミン D 類似体と組み合わせて処置に使用できる。BGJ389 は、相加効果または相乗効果さえも引き起こすだけでなく、高用量の BGJ389 を使用する必要性も低下させ、有害作用のリスクを継続的に限定する利点と組み合わせて使用できる。リン酸塩は、経口的にまたは非経口的に摂取した場合に、血液の無機リン (P) 値を上昇させるあらゆる形態で使用でき、例えば RANDOX Laboratories LTD、UK のキット、および臨床化学分析器、例えば、HITACHI 717 analyzer (Roche Diagnostics) を使用して、紫外外部測定法により、例えば血清中で測定され得る。摂取した場合に最終的に血液の総カルシウム値を上昇させるカルシウムも、あらゆる形態であってよく、例えば、RANDOX Laboratories LTD のキット、および臨床化学分析器、例えば HITACHI 717 analyzer を使用して、紫外外部測定法により、例えば血清中で測定され得る。分泌リンタンパク質 1 (secreted phosphoprotein 1)、骨シアロタンパク質 I または早期 T リンパ球活性化 1 と呼ばれるオステオポンチン (OPN) は周知である。これは、骨の再形成に関する細胞外の構造タンパク質と考えられる。ヒトのオステオポンチンは、当業界で SPP1 として周知である。副甲状腺ホルモン (PTH) またはパラトルモンは、周

10

20

30

40

50

知である。これは血液中のカルシウム値の調節に関するホルモンと考えられている。P TH類似体は、少なくとも部分的にP THの活性を保持し、構造的には短いという点のみ完全なP THと類似し、P TH骨格構造に結び付く修飾または追加の置換基を有する分子である。ビタミンDは、カルシウムホメオスタシスの原因となり、健常な骨の表現型に重要な周知のホルモンである。その類似体は、ビタミンDの化学構造を模倣し、類似した薬理学的効果を導くという点で構造的に類似した化合物である。ビタミンD類似体の例は、カルシポトリオールである。

【0029】

3 - (2, 6 -ジクロロ -3, 5 -ジメトキシ -フェニル) -1 - {6 - [4 - (4 -エチル -ピペラジン -1 -イル) -フェニルアミノ] -ピリミド -4 -イル} -1 -メチル -尿素、または薬学的に許容されるその塩、N -酸化物もしくは溶媒和物は、医薬組成物に製剤され、上で説明されているあらゆる処置に同様に使用できる。医薬組成物は、通常、3 - (2, 6 -ジクロロ -3, 5 -ジメトキシ -フェニル) -1 - {6 - [4 - (4 -エチル -ピペラジン -1 -イル) -フェニルアミノ] -ピリミド -4 -イル} -1 -メチル -尿素、または薬学的に許容されるその塩、N -酸化物もしくは溶媒和物および1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む。医薬組成物における化合物の量は、好ましくは、治療有効量である。場合により、別のFGFR阻害剤、リン酸塩、カルシウム、オステオポンチン(OPN)、副甲状腺ホルモンもしくはその類似体(P TH)、および/またはビタミンDもしくはビタミンD類似体、好ましくはリン酸塩、カルシウムおよび/またはビタミンDもしくはビタミンD類似体を組み合わせて、特にビタミンDもしくはビタミンD類似体を組み合わせて、本発明による医薬組成物に加える。医薬組成物は、特定の投与経路、例えば、経口投与、非経口投与および局所投与等に製剤することができる。さらに、本発明の医薬組成物は、固体形態(カプセル剤、錠剤、丸剤、顆粒剤、散剤または坐剤を含むが限定されない)、または液体形態(液剤、懸濁剤または乳剤を含むが限定されない)に調合することができる。医薬組成物に、従来の製薬工程、例えば圧縮、打錠、濾過、凍結乾燥、滅菌またはそのようなものを施すことができる。賦形剤は、従来のあらゆる不活性希釈剤、潤滑剤、緩衝剤、結合剤、崩壊剤、甘味剤、香味剤、ならびに補助剤、例えば防腐剤、安定剤、湿潤剤、エマルシファー(emulsifier)、溶媒、分散媒体、コーティング、界面活性剤、抗酸化剤、防腐剤(例えば抗菌剤、抗真菌剤)、等張剤、吸収遅延剤、塩、防腐剤、薬剤安定剤、色素などおよびそれらの組み合わせであってよい。

【実施例1】

【0030】

FGFR阻害剤の処置により、1, 25(OH)2D3の生合成が誘導され、Hypマウスにおける低カルシウム血症および低リン血症が緩和される。野生型C57BL/6およびHyp(B6.Cg-PheXHyp/J)マウスを、The Jackson Laboratoryから得た。Fengら(J.Dent.Res.2003年; 82:776~780頁)により、Dmp1-ヌルマウスを作製した。すべてのマウスを、ケージにて標準的な実験室条件下で飼育した。マウスに、標準的なげっ歯類用飼料と合わせて水を不断で供給した。

【0031】

野生型またはHypマウスに、FGFR阻害剤であるBGJ398の単回経口投与を遊離塩基形態(50mg/kg)またはビヒクリで行い、化合物の投与から7時間後に試験した。BGJ398またはビヒクリのみ(PEG-300/グルコース5%、2:1で混合)を強制経口投与した。単回投与の場合、5~7週齢のマウスを使用した。イソフルラン吸入によりマウスに麻酔をかけ、大静脈から血液を収集した。マウスを瀉血により屠殺し、腎臓ならびに脛骨および大腿骨を得た。7時間時点の腎臓におけるBGJ398の濃度も測定した。

【0032】

腎臓を採取し、全RNAを単離した。マウスの脛骨および大腿骨からのRNAを単離するために、骨端を切断し、骨髓を4で遠心分離することにより除去した。Prece1

10

20

30

40

50

lys 24というビーズホモジナイザーを使用して、組織を均質化し、TRIZolという試薬を用いてRNAを抽出した。続いて、クロロホルム抽出、2-プロパノール沈殿およびRNeasy Mini kitによりRNAを精製した。腎臓のRNAに関しては、約60mgの組織を、ローターステーターホモジナイザーを用いて、1.5mlのRTL緩衝液(Qiagen)中で均質化し、RNeasy Mini kitを用いてRNAを精製した。ランダムヘキサマーでプライムしたcDNAを、0.5~2μgのRNAおよびMultiscribe MuLVの逆転写酵素を用いて合成した。

【0033】

遺伝子発現を定量リアルタイムPCR(qPCR)により分析した。TaqManのプローブを利用した遺伝子発現アッセイを、マウスCyp27b1(Mm01165919)、Cyp24a1(Mm00487244)およびGapdh(4352339E)の発現分析に使用した。マウスのFgf23を検出するプライマーの配列およびFAM/TAMRA-標識プローブ(Microsynth)は、5'-TTTGGATCGCTTCACTTCAG(正)、5'-GTGATGCTTCTGGACAAAGT(逆)および5'-CGCCAGTGAGCGCTGGAGAA(プローブ)であった。iQ5リアルタイムPCR検出系で、プローブアッセイのためのqPCR核キットおよび各試料の40または80ng当量のRNAを使用して、定量リアルタイムPCRを行った。データをGapdh発現に正規化した。

【0034】

高解像度のX線撮影系(Faxitron MX-20)を使用して、ex vivoで、大腿骨および脛骨のX線写真を撮影した。Scanco vivact 40 system(ボクセルサイズ6μm;高解像)を使用して、ex vivoでμCT測定を行った。海綿骨および皮質骨を分析するために、固定閾値200を使用して、スライス50枚からの石灰化した骨の分画を測定する。ガウスフィルタを利用して、ノイズを除去した(=0.7;支持度=1)。

【0035】

血栓アクチベーター遠心分離チューブを使用して、全血から血清を分離した。Vetscanという診断プロファイルシステム(diagnostic profiling system)を使用して、100μlの血清をリン酸塩およびカルシウム値の測定に使用した。ラジオレセプターアッセイキットを使用して、1,25(OH)2D3の血清濃度を測定した。無傷のFGF23をELISA検出することにより、FGF23の血清値を分析した(Kainos)。

【0036】

FGF23は、腎臓における1,25(OH)2D3の代謝酵素である、CYP27B1およびCYP24A1の転写を調節することにより、低リン血症性機能を部分的に発揮する。したがって、本出願人らは、Hypマウスおよび野生型の同腹子において、BGJ398を用いた単回投与処置における腎臓のCyp27b1およびCyp24a1の発現をモニターした。HypマウスにおいてFGF23値の上昇がみられるにもかかわらず、HypマウスにおけるCyp27b1およびCyp24a1の発現および1,25(OH)2D3の血清値は、野生型のマウスと比較して著しく異なる(図1A、BおよびC)が、これは適合プロセスのためであると考えられ、以前の報告に一致する。野生型およびHypマウスの両方で、BGJ398を用いた7時間にわたる処置により、Cyp27b1の値が上昇し、Cyp24a1の発現は、ほぼ完全にみられなかった(図1AおよびB)。したがって、FGF23標的遺伝子のこの調節解除により、1,25(OH)2D3の血清値が、BGJ398の投与から7時間後に、野生型およびHypマウスの両方で大幅に上昇する(図1C)。

【0037】

BGJ398を用いた単回投与処置から24時間後に、野生型およびHypマウスの両方において、血清カルシウムおよびリン酸塩値の上昇が誘導され、ひいては、対照Hypマウスで観察される低カルシウム血症および低リン血症の重症度は軽減する。カルシウム

10

20

30

40

50

に関して、BGJ398を用いて処置したHypマウスの血清値は、ビヒクルを用いて処置した野生型マウスと区別ができた（図1D）が、FGFR阻害剤で処置したHypマウスの血清リン酸塩濃度は、野生型マウスの血清値と比較して、さらに著しく低くなつた（図1E）。図1AおよびBのデータを、野生型対照群に対する相対的な値として示し（相対発現量100）、標準誤差（SEM）（n=6）付きの平均として得る。

【0038】

図1で説明されているように、in vivoでのFGFR阻害における、腎臓のFGF23標的遺伝子であるCyp27b1（A）およびCyp24a1（図1B）の調節が描写されている。また、AおよびBに記載されている処置した野生型およびHypマウスの（C）血清1,25(OH)2D3値をラジオレセプターアッセイにより測定した。さらに、BGJ398（50mg/kg）またはビヒクルの単回経口投与で処置した野生型およびHypマウスにおける、投与後24時間でのカルシウム（図1E）および（図1F）リン酸塩値を示す。これと同時に、FGFR阻害剤の処置により、1,25(OH)2D3の生合成が誘導され、Hypマウスにおける低カルシウム血症および低リン血症が緩和されることを示す。この結果から、FGFRの薬理学的阻害は、Hypマウスにおいて異常なFGF23シグナル伝達を中和する上で十分であることがさらに示される。

10

【実施例2】

【0039】

FGFR阻害剤の処置により、腎臓のFGF23標的遺伝子の発現が調節され、Dmp1-ヌルマウスにおける低カルシウム血症および低リン血症が緩和される。in vivoでのFGFR阻害における、腎臓のFGF23標的遺伝子であるCyp27b1（図2A）およびCyp24a1（図2B）の調節が図2で示されている。Phex欠乏Hypモデルにおける本出願人らの調査結果に加えて、本出願人らは、Dmp1-ヌルマウスであるFGF23に関連した別の低リン血症モデルにおいて、腎臓のCyp27b1およびCyp24a1発現に類似した調節を観察した（図2AおよびB）。野生型またはDmp1-ヌルマウスに、FGFR阻害剤であるBGJ398（50mg/kg）またはビヒクルの単回経口投与を行い、化合物を投与してから7時間後に再度試験した。既に述べたように、腎臓を採取し、全RNAを単離し、qPCRにより遺伝子発現を分析した。発現の値を、GapdhのmRNAコピーに正規化した。AおよびBにおけるデータを、野生型ビヒクル対照群に対する相対的な値として示し、標準誤差（SEM）（n=6）付きの平均として得る。

20

【0040】

カルシウムおよびリン酸塩値を分析するために、FGFR阻害剤であるBGJ398（50mg/kg）またはビヒクル単回経口投与を行ったマウスを投与から24時間後に試験した。リン酸塩およびカルシウム値を血清から測定した。Hypマウスに関して、薬理学的なFGFR阻害により、Dmp1-ヌルマウスにおいて、血清カルシウムおよびリン酸塩値が上昇した（それぞれ図2CおよびD）。図2におけるデータを、SEM（n=6）付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。

30

【実施例3】

【0041】

図3は、骨におけるFGF23の発現を調節する、FGFR依存性シグナル伝達を示す。FGF23に関連した低リン血症性くる病に対する、2種のマウスマodelにおけるミネラルイオン欠乏が緩和されること以外に、本出願人らは、BGJ398を用いて処置したHypマウスにおける、FGFR阻害剤の処置によるFGF23値への抑制作用にも気付いた。マウスに、FGFR阻害剤であるBGJ398（50mg/kg）またはビヒクルの単回経口投与を行い、投与から7時間後に試験した。BGJ398を用いて処置した野生型およびHypマウスにおける、骨mRNA（図3A）および血清（図3B）のFGF23値を測定した。BGJ398の投与から7時間後に、Hypおよび野生型マウス両方の骨におけるFGF23の発現がほぼなくなつた（図2A）。FGF23の転写抑制により

40

50

、血清 F G F 2 3 値が野生型マウスで検出できなくなったが、H y p マウスにおける病的な高さの F G F 2 3 値が、約 5 0 % 低下した（図 3 B ）。この図において、m R N A 発現を、野生型ビヒクル対照群（相対的な値 1 0 0 ）に対する相対的な値として示し、S E M (n = 7) 付きの平均として得る。m R N A 発現の F G F 2 3 値は、G a p d h m R N A コピーに正規化する。データを、対応のない S t u d e n t の t 検定により比較した； * p < 0 . 0 5 ; ** p < 0 . 0 1 ; *** p < 0 . 0 0 1 。

【実施例 4】

【 0 0 4 2 】

図 4 は、F G F R 阻害剤の処置により、カルシウムおよびリン酸塩の血清値の上昇が持続されることを明らかに示す。実施例 1 と同様に、野生型または H y p マウスに F G F R 阻害剤である B G J 3 9 8 またはビヒクルの単回経口投与を行い、化合物の投与から 4 8 時間後に試験した。カルシウム（図 4 A ）およびリン酸塩（図 4 B ）値を血清から測定した。データを、S E M (n = 3) 付きの平均として示す。データを、対応のない S t u d e n t の t 検定により比較した； * p < 0 . 0 5 ; ** p < 0 . 0 1 ; *** p < 0 . 0 0 1 ; n . s . : 有意差なし。（ C ）投与から 7 時間および 2 4 時間後の腎臓における B G J 3 9 8 濃度。値を、S E M (n = 5) 付きの平均として得る。

10

【実施例 5】

【 0 0 4 3 】

長期間にわたる F G F R 阻害により、体重および尾長の発育が増加し、H y p マウスにおけるミネラルイオンホメオスタシスが回復する。長期間にわたる処置の試験を実施して、H y p マウスモデルのくる病に類似した骨表現型の有望な寛解をモニターした。8 週間の間、処置を実施した。腎臓の B G J 3 9 8 クリアランスを超えて伸びる（図 4 ）カルシウムおよびリン酸塩値の上昇を持続させるために、B G J 3 9 8 (5 0 m g / k g 体重) またはビヒクルを用いて、1 週間に 3 回（ 3 q w ）、5 6 日間にわたりマウスを処置し、上で説明したものと同様に分析した。図 5 は、モニターされた体重（図 5 A ）および尾長（図 5 C ）の発育を示す。処置の間における、全体重（図 5 B ）および尾長の増加（図 5 D ）が、図 5 でも同様に描写されている。8 週間にわたる処置の最後におけるカルシウム（図 5 E ）およびリン酸塩（図 5 F ）値を、最終投与から 2 4 時間後の血清から測定し、図 5 に示す。データを、S E M (n = 6) 付きの平均として示す。データを、対応のない S t u d e n t の t 検定により比較した； * p < 0 . 0 5 ; ** p < 0 . 0 1 ; *** p < 0 . 0 0 1 ; n . s . : 有意差なし。

20

【 0 0 4 4 】

野生型同腹子と比較して、H y p マウスは、処置を開始して 5 週齢で体重の減少を呈した。処置の過程において、H y p マウスでは、薬理学的な F G F R 阻害により、ビヒクル対照群と比較して体重は大幅に増加する（図 5 A ）。全体として、B G J 3 9 8 を用いて処置した H y p マウスにおける全体重增量は、ビヒクルを用いて処置した野生型マウスと類似していた（図 5 B ）。尾がより短いことは、H y p マウスの低リン血症性くる病表現型の明白な特徴であり、骨の形成が損なわれていることを反映する。したがって、本出願人らは 8 週間にわたる処置の間、尾長の発育をモニターし、B G J 3 9 8 を用いて処置した H y p マウスが、対照 H y p マウスと比較していっそう大幅な尾長の増加を呈することを見出した（図 5 C ）。さらに、F G F R 阻害剤で処置した H y p マウスにおける尾長の増加も、ビヒクルを用いて処置した野生型同腹子と比較して著しく高かった（図 5 D ）。H y p マウスにおけるリン酸塩およびカルシウムホメオスタシスに対する、継続した F G F R 阻害の効果を検査するために、本出願人らは、8 週間にわたる試験の最後に、血清カルシウムおよびリン酸塩濃度を分析した。本出願人らは、F G F R 阻害剤の単回投与（図 1 D および E ）と対照的に、B G J 3 9 8 を用いた長期間にわたる処置により、H y p マウスにおけるカルシウムおよびリン酸塩値両方が完全に正常化する（図 5 E および F ）ことを見出した。

30

【実施例 6】

【 0 0 4 5 】

40

50

図6は、BGJ398を用いた長期間にわたるFGFR阻害後の、FGF23、副甲状腺ホルモン(PTH)および1,25(OH)2D3の血清値を示す。野生型またはHypマウスを、FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q/wを用いて、56日間にわたり再度処置し、最終投与から24時間後に、FGF23(図6A)、副甲状腺ホルモン(PTH)(図6B)および1,25(OH)2D3(図6C)値を血清から測定した。血栓アクチベーター遠心分離チューブ(Sarstedt)を使用して、全血から血清を分離することにより、PTH値を測定した。20μlの血清を、マウスPTHELISA(Immutopics)を使用したPTH値の測定に使用した。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。

10

【0046】

FGF23の発現におけるFGFR阻害の一時的な抑制作用(図3を参照されたい)にもかかわらず、BGJ398を用いた長期間にわたる処置により、Hypマウスにおいて、FGF23の血清濃度がさらに上昇し(図6A)、PTH値の正常化が同時に起きた(図6B)が、1,25(OH)2D3は、処置群の間でさほど差はなかった(図6C)。

【実施例7】

【0047】

図7に示されているように、長期間にわたるFGFR阻害により、Hypマウスにおける長骨の成長が向上する。総合すると、上記のこのような結果により、異常なFGF23シグナル伝達との関連において、薬理学的なFGFR阻害の有益な効果が例示され、Hypマウスの骨形成不全の有望な緩和が示される。したがって、本出願人らは、長期間(8週間)にわたるFGFR阻害の、長手方向への大腿骨および脛骨の成長に対する効果をX線撮影により分析し、BGJ398を用いて処置したHypマウスが、ビヒクルを用いて処置した対照群と比較して、大腿骨(図7AおよびC)および脛骨(図7BおよびD)の両方で著しい伸びを発現したことを見出した。FGFR阻害により、典型的にはくる病で観察される、大腿骨および脛骨両方の成長板領域の拡大が、確かに部分的に緩和された(図7AおよびB)。図7：FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q/wを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスの大腿骨(図7A)および脛骨(図7B)のX線写真。大腿骨(図7C)および脛骨(図7D)の長さの定量化。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した；*p<0.05；**p<0.01；***p<0.001；n.s.：有意差なし。

20

【実施例8】

【0048】

長期間にわたるFGFR阻害により、Hypマウスの大腿骨における皮質の一体性が改善される。FGFR阻害剤の処置の骨構造に対する効果をより詳細に測定するために、本出願人らは、FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3q/wを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスから、大腿骨の皮質(成長板領域下)のマイクロコンピュータ断層撮影(microcomputed tomography)(μCT)分析を行った(図8A)。さらに、相対的な皮質骨の体積を定量し(図8B)、皮質の平均厚を測定した(図8C)。この分析により、Hypマウスにおいて皮質骨領域で損なわれた石灰化が判明し、Hypの大腿骨の皮質構造内における隙間および穴により明白になる(図8A、矢印により示される)。野生型マウスと比較して、ビヒクルを用いて処置したHypマウスは、皮質骨領域(図8B)における相対的な骨体積の減少を呈し、皮質の平均厚(図8C)が減少した。対照的に、BGJ398を用いて処置したHypマウスの皮質は、無傷に見え(図8A)、相対的な皮質骨の体積は、ビヒクルを用いて処置したHypマウスと比較して野生型マウスのものと区別ができず(図8B)、皮質の厚さは著しく増加した(図8C)。

30

【0049】

したがって、分析により、Hypマウスにおける骨の長手方向の成長および構造的な一

40

50

体性に対する、FGFR阻害の有益な効果が判明した。

【実施例9】

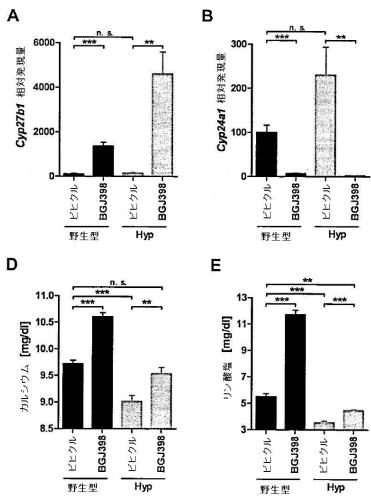
【0050】

BGJ398を用いた長期間にわたる処置により、成長板組織Hypマウスが回復する。本出願人らは、Hypマウスにおいて、脛骨の組織学的部位における成長板組織に対する、BGJ398を用いた処置の寛解効果も見出した(図9A)。図9は、FGFR阻害剤であるBGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3qwを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウス(図9A)からの脛骨部位のGoldner染色を示す。石灰化した組織は、白い矢印により指示され、石灰化していない類骨は暗灰色により視覚化される(黒い矢印により指示される)。成長板の構造は、部位(図9B)の中心部分において明灰色の染色により示す。BGJ398(50mg/kg)またはビヒクル3qwを用いて、56日間にわたり処置した野生型またはHypマウスの脛骨の骨端において、類骨の表面/骨の表面および類骨の幅(図9C)を、組織形態計測により測定した。データを、SEM(n=6)付きの平均として示す。データを、対応のないStudentのt検定により比較した; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001。ビヒクルを用いて処置したHypマウスでは、野生型マウスにおける高度に整った構造と対照的に、軟骨細胞の円柱状組織および方向性成長が障害を受ける。さらに、石灰化していない多くの類骨によって示されているように、対照Hypマウスにおける石灰化が損なわれる。しかし、BGJ398を用いて処置したHypマウスにおいて、本出願人らは、成長板領域の顕著な再組織(図9A、左パネル)、および成長空間の高さの増加を伴う軟骨細胞の円柱状堆積の再形成(図9B、右パネル)を観察した。さらに、本出願人らは、成長板に隣接した骨端の骨領域ならびに骨幹端下成長板領域における一次海綿骨の形成における石灰化の向上に気付き、ビヒクルを用いて処置したHypマウスにはほとんどなかった。また、組織形態計測的な(histomorphometric)分析により、FGFR阻害(図9B)、および、骨端、骨幹端および皮質骨の区画内での類骨幅の大変な縮小(図9C)で、HypマウスにおけるOS/BS比の上昇が弱まったことが判明した。

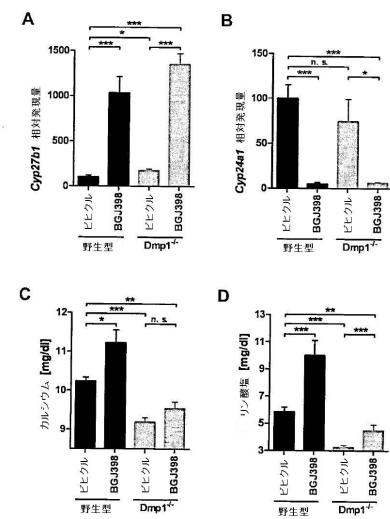
【0051】

要約すれば、本出願人らのデータは、薬理学的なFGFR阻害は、異常なFGF23シグナル伝達を阻害する上で十分であり、低リン血症性くる病の発現型XLHおよび潜在的にFGF23に関連していると考えられる他の低リン血症疾患、例えばARHRが緩和されることを示す。特に、FGFR阻害剤であるBGJ398の連続投与において、Hypマウスにおけるリン酸塩およびカルシウム値を完全に正常化すること、およびくる病に似た骨の骨成長板領域を再組織化することが期待できるが、これは、低リン血症性くる病表現型の有望な逆転に必要な条件を構成するためである。

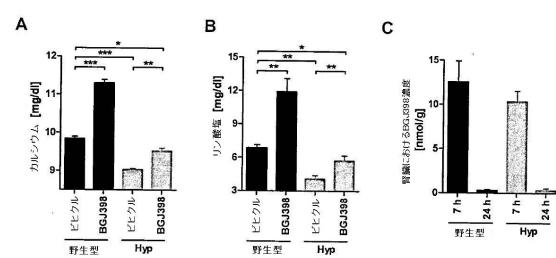
【図1】



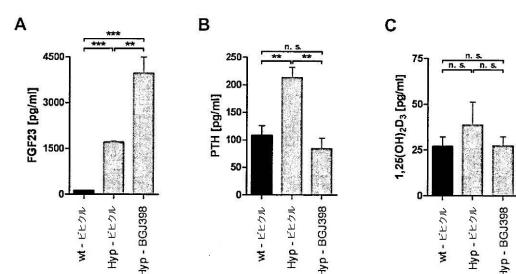
【図2】



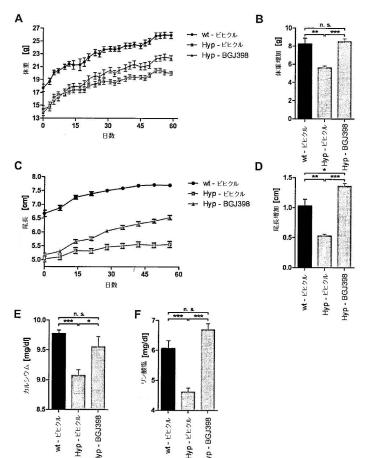
【図4】



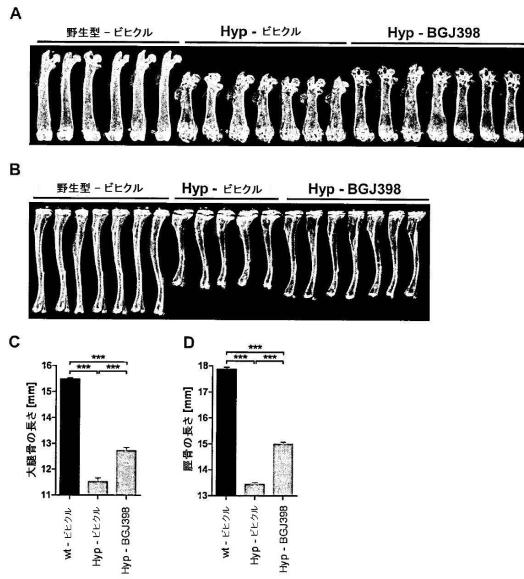
【図6】



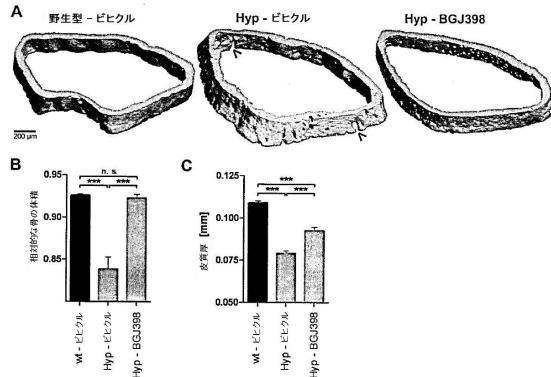
【図5】



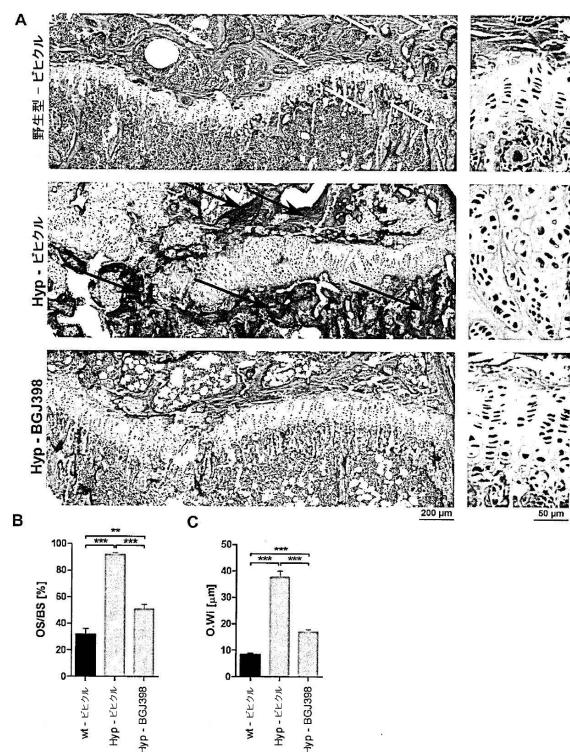
【図7】



【図8】



【図9】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 19/10
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
C 0 7 D 239/48 (2006.01)	C 0 7 D 239/48

- (72)発明者 クナイスル, ミカエラ
スイス国 シーエイチ - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内
- (72)発明者 グアンナノ, ビト
スイス国 シーエイチ - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ウエルク クライベック, ノバルティス ファーマ アーゲー内
- (72)発明者 グラウス ポルタ, ダイアナ
スイス国 シーエイチ - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ウエルク クライベック, ノバルティス ファーマ アーゲー内
- (72)発明者 ウォール, サイモン
ドイツ連邦共和国 7 9 1 0 6 フライブルク, クララシュトラーセ 8 1

審査官 伊佐地 公美

- (56)参考文献 国際公開第2 0 1 1 / 0 5 1 4 2 5 (WO, A1)
国際公開第2 0 0 6 / 0 0 0 4 2 0 (WO, A1)
国際公開第2 0 0 9 / 1 3 3 1 0 1 (WO, A1)
国際公開第2 0 1 1 / 0 7 1 8 2 1 (WO, A1)
国際公開第2 0 1 1 / 0 7 5 6 2 0 (WO, A1)
J. Am. Soc. Nephrol., 2 0 0 7 年, Vol.18, p.1637-1647
Ped. Nephrol., 2 0 1 0 年, Vol.25, p.213-220
Am. J. Hum. Genet., 2 0 0 5 年, Vol.76, p.361-367
J. Bone Mine. Res., 2 0 1 1 年, Vol.26, p.2486-2497
J. Med. Chem., 2 0 1 1 年, Vol.54, p.7066-7083

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K
C 0 7 D
A 6 1 P
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)