(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年12月21日(21.12.2017)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2017/217439 A1

(51) 国際特許分類:
C07D 401/04 (2006.01) *A61P 21/02* (2006.01)
A61K 31/4365 (2006.01) *C07D 495/04* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2017/021895

(22) 国際出願日： 2017年6月14日(14.06.2017)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

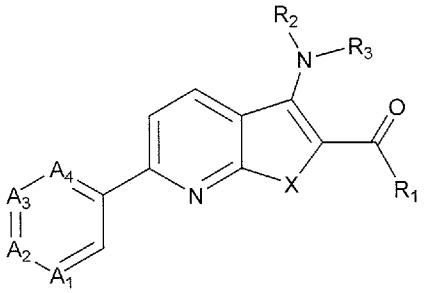
(30) 優先権データ：
特願 2016-117807 2016年6月14日(14.06.2016) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 Tokyo (JP). 公立大学法人名古屋市立大学(PUBLIC UNIVERSITY CORPORATION NAGOYA CITY UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒4678601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄１番地 Aichi (JP).

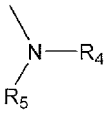
(72) 発明者: 一條 秀憲(ICHIJO Hidenori); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 本間 謙吾(HOMMA Kengo); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 圓谷 奈保美(TSUBURAYA Naomi); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 長野 哲雄(NAGANO Tetsuo); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 岡部 隆義(OKABE Takayoshi); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 小島 宏建(KOJIMA

(54) **Title:** THIENO[2,3-b]PYRIDINE DERIVATIVE AND QUINOLINE DERIVATIVE, AND USE THEREOF

(54) 発明の名称： チエノ［２，３－ｂ］ピリジン誘導体およびキノリン誘導体ならびにそれらの使用



(1)



(2)

(57) **Abstract:** The purpose of the invention is to provide a compound that inhibits the binding of the ALS-related mutant SOD1 and Derlin-1, a drug containing the compound, and a method for treating ALS by administering the drug to a patient. More specifically, the compound is represented by general formula (1). [In formula (1), X represents a sulfur atom or -CH=CH-, A_1-A_4 each independently are a carbon atom or nitrogen atom and at least one of A_1-A_4 is a nitrogen atom, R_1 is a 1,2,3,4-tetrahydroquinolyl group (or 3,4-dihydro-1(2H-quinolyl group), 3,4-dihydro-4,4-dimethyl-1(2H)-quinolyl group, 2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepinyl group, or substituent represented by formula (2) (in formula (2), R_4 is an unsubstituted or optionally substituted phenyl group, unsubstituted or optionally substituted pyridyl group, or unsubstituted or optionally substituted naphthyl group, R_5 is a hydrogen atom, lower alkyl group, lower alkenyl group, lower alkynyl group (optionally including an oxygen atom and/or double bond), or an unsubstituted or optionally substituted aromatic lower alkyl group), R_2 represents a hydrogen atom, lower alkyl group, lower acyl group, or an unsubstituted or optionally substituted aromatic lower alkyl group, R_3 represents a hydrogen atom, or R_2 and R_3 may bond to each other to form a ring.]

WO 2017/217439 A1

［続葉有］

Hirotatsu); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 下西 学**(SHIMONISHI Manabu)**; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 藤澤 貴央**(FUJISAWA Takao)**; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 柴田 哲男**(SHIBATA Norio)**; 〒4660061 愛知県名古屋市昭和区御器所町字木市２９番 国立大学法人名古屋工業大学内 Aichi (JP). 樋口 恒彦**(HIGUCHI Tsunehiko)**; 〒4678603 愛知県名古屋市瑞穂区田辺通３丁目１番地 公立大学法人名古屋市立大学 大学院薬学研究科内 Aichi (JP). 中村 精一**(NAKAMURA Seiichi)**; 〒4678603 愛知県名古屋市瑞穂区田辺通３丁目１番地 公立大学法人名古屋市立大学 大学院薬学研究科内 Aichi (JP). 中川 秀彦**(NAKAGAWA Hidehiko)**; 〒4678603 愛知県名古屋市瑞穂区田辺通３丁目１番地 公立大学法人名古屋市立大学 大学院薬学研究科内 Aichi (JP). 池田 慎一**(IKEDA Shin-ichi)**; 〒4678603 愛知県名古屋市瑞穂区田辺通３丁目１番地 公立大学法人名古屋市立大学 大学院薬学研究科内 Aichi (JP).

(74) 代理人: 奥原 康司, 外**(OKUHARA Koji** et al.); 〒1900023 東京都立川市柴崎町２丁目１０番１８号 観月ビル ３０５ ウイングリーン特許事務所 立川オフィス Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告（条約第21条(3)）

(57) 要約：本発明は、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害する化合物、該化合物を含有する医薬、および、該医薬を患者に投与することによるALSの治療方法の提供を目的とする。より具体的には、前記化合物は、下記の一般式（１）で表される。［式（１）中、Ｘは硫黄原子または－ＣＨ＝ＣＨ－を表し、$Ａ_1$～$Ａ_4$はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であって$Ａ_1$～$Ａ_4$のうち少なくとも１つは窒素原子であり、$Ｒ_1$は１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（または、３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）、３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基、２，３，４，５－テトラヒドロ－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基または下記の式（２）で表される置換基（式（２）中、$Ｒ_4$は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、無置換もしくは置換基を有していてもよいピリジル基または無置換もしくは置換基を有していてもよいナフチル基、$Ｒ_5$は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基（酸素原子および／または二重結合を含んでもよい）または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基を表す）のいずれかであり、$Ｒ_2$は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、$Ｒ_3$は水素原子を表し、あるいは、$Ｒ_2$と$Ｒ_3$は互いに結合して環を形成してもよい。］

明　細　書

発明の名称 ：

チエノ［２，３－ｂ］ピリジン誘導体およびキノリン誘導体ならびにそれらの使用

技術分野

[0001] 本発明は、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害する化合物、該化合物を含有する医薬、および、該医薬を患者に投与することによるALSの治療方法に関する。

背景技術

[0002] 筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic lateral sclerosis；ALS）は、上位および下位の運動神経細胞が選択的に障害される進行性・晩発性の神経変性疾患である。痙攣や筋麻痺、筋萎縮といった症状がみられ、主に呼吸筋麻痺による呼吸不全から、発症後数年で死に至る非常に重篤な疾患である。一方で、日本国内での罹患者数は約 9000 人、全世界でも数十万人程度と言われており、アルツハイマー病やパーキンソン病といった他の神経変性疾患と比べて罹患者が少ないため、治療薬開発の取り組みが遅れている。現在認可されている治療薬は、一時的な進行遅延効果をもつグルタミン酸神経終末放出抑制剤（リルゾール）と活性酸素除去剤（エダラボン）のみである（非特許文献１、２および３）。しかしながら、ALS におけるこれらの神経細胞保護効果の作用機序は明らかでなく、また ALS 発症の病態分子メカニズムが未だ不明のため、明確な分子基盤に基づく根本的な治療法は存在していない。

[0003] ALSの多くは孤発性（Sporadic ALS：SALS）であり、全体のおよそ10%を家族性（Familial ALS：FALS）が占めている。1993 年にFALSの原因遺伝子として Cu, Zn Superoxide dismutase（SOD1）が初めて同定され（非特許文献４）、現在までに100種類を超えるALS関連SOD1変異が報告されている（ALS Online Database：ALSoD）。SOD1は分子内ジスルフィド結合を持ち、ZnおよびCuイオンを1つずつ配位する金属タンパク質である。通常はホモ2量体を形成し

、活性中心のCuイオンの酸化還元を介して活性酸素（O_2）を過酸化水素（H_2O_2）へと不均化する抗酸化酵素として働くことが知られている。他方、ALS発症との関連においてはこれまで数多くの研究がなされ、SOD1の抗酸化活性とALSの病態重篤度に相関がないことなどが明らかとなり（非特許文献５）、現在では単なるSOD活性の喪失や亢進ではなく、変異によりSOD1が新たな獲得性細胞毒性を発揮することが運動神経細胞死とそれに続くALS発症に重要であると考えられている（非特許文献６）。この獲得性細胞毒性として、神経興奮毒性、小胞体ストレス、プロテアソーム阻害、酸化ストレス、ミトコンドリア機能異常、軸索輸送異常などが運動神経細胞死に関わっていることが示唆されているが、ALSの詳細な発症機構は未解明のままである（非特許文献７）。

[0004] 小胞体は、新規合成された分泌タンパク質や膜タンパク質の高次構造形成とともに、これらタンパク質の品質管理を担う細胞小器官である。小胞体内腔に存在するタンパク質の中には、正しい立体構造をとれなかった、いわゆる不良タンパク質が一定の割合で存在する。また、栄養飢餓、低酸素、遺伝子変異など、様々な生理的・病理的なストレスによっても不良タンパク質が形成され、こういった不良タンパク質が小胞体内腔に蓄積することで小胞体ストレスが引き起こされる。

このとき細胞内では、正常な機能維持のために小胞体ストレス応答（unfold protein response：UPR）による小胞体品質管理機構が働くことが知られている（非特許文献８）。UPRでは、Pancreatic ER kinase (PKR)-like ER kinase (PERK)、activating transcription factor 6 (ATF6)、inositol-requiring enzyme 1 (IRE1)の3種類の小胞体膜貫通型受容体の活性化を介してシグナルが伝達され、（i）タンパク質合成の抑制、（ii）小胞体シャペロンおよび小胞体関連分解（ER associated degradation：ERAD）に関与する分子の発現誘導、（iii）ERADによる不良タンパク質の分解などを行うことにより、小胞体の機能回復を図っている。一方、持続的または過度なストレスやUPRの機能不全などによって小胞体内腔に不良タンパク質が過剰に蓄積し、小胞体の恒常性を維持できない場合にはアポトーシスが誘導される。この小胞体

ストレス誘導性細胞死は、構造異常タンパク質の蓄積を原因とする疾患の分子メカニズムとして、糖尿病や神経変性疾患などを含む様々な病態への関与が示唆されている（非特許文献９）が、ALS における小胞体ストレス誘導の分子メカニズムについては明らかになっていなかった。

[0005] 本発明者らは、FALSの発症メカニズムとして変異型SOD1によりERADの機能が阻害され、小胞体ストレスを介した運動神経細胞死が誘導されることを報告している（非特許文献１０）。通常、小胞体シャペロンの働きによっても正しい立体構造をとれなかった小胞体内腔の不良タンパク質は、ERADによって分解される。つまり、不良タンパク質は、BiPをはじめとする小胞体シャペロンによって認識され、ERAD複合体を介して小胞体内腔から細胞質側へと逆輸送される。その後、細胞質側に存在するユビキチン－プロテアソーム系によって分解されることで、小胞体内腔における不良タンパク質の蓄積が軽減され、小胞体の恒常性が保たれている（非特許文献１１および１２）。一方、変異型SOD1の発現している細胞では、変異型SOD1がERAD複合体の重要な構成因子であるDerlin-1のC末端12アミノ酸（以下、「CT4」と記す）と特異的に結合し、ERADの流れを阻害することでERAD基質の分解を抑制することが分かった。このERADの機能阻害により不良タンパク質が小胞体内腔に蓄積し、こうして誘導された小胞体ストレスがアポトーシスを介した運動神経細胞死を引き起こしている（非特許文献１０）。

Derlin-1は、ERAD基質の逆輸送において重要な働きを担う分子として同定された小胞体膜貫通タンパク質である（非特許文献１３および１４）。哺乳類におけるDerlin-1のホモログとしては、Derlin-2およびDerlin-3が存在しており、これらDerlin family分子はホモまたはヘテロ複合体を形成し、HRD1、SEL1L、Herp、VIMP、p97といったERAD 関連分子と相互作用することが示されている（非特許文献１５、１６および１７）。ERADにおけるDerlin-1の機能の詳細は未だ明らかとなっていないが、ALS関連変異型SOD1は、Derlin-2やDerlin-3、また、VIMPやp97などのERAD関連分子とは結合せず、Derlin-1のC末端のみに特異的に結合することが分かっている。また、ノックダウンによ

るDerlin-1の発現抑制は小胞体ストレスを惹起しない一方で、変異型SOD1による小胞体ストレス誘導を阻害した（非特許文献１０）。このことから、変異型SOD1による小胞体ストレスは、Derlin-1の機能消失を介してではなく、変異型SOD1との結合によりDerlin-1が獲得性機能異常を示し、正常なERADが阻害されることで誘導されると考えられる。

[0006] 本発明者らは、既知130種類のALS関連変異型 SOD1の発現ベクターを作製し、すべての変異型SOD1とDerlin-1の結合について検討した。その結果、病態との関連性が希薄な変異を除いたすべて（122種類）の変異型SOD1がDerlin-1 CT4と結合することが明らかとなった（非特許文献１８）。変異は、SOD1の一次配列上の広範囲に及ぶことから、それぞれの変異型SOD1が変異によって個別に Derlin-1 との結合面を獲得するのではなく、野生型SOD1の配列中にDerlin-1との結合領域が存在することが考えられた。そこで、SOD1側のDerlin-1との相互作用領域を検討したところ、予想どおり野生型SOD1に14アミノ酸からなるDerlin-1と結合領域（Derlin-1 binding region：DBR)が存在することが明らかとなった（非特許文献１８）。さらに、このDBR領域に対して作製したモノクローナル抗体は、免疫沈降実験において野生型SOD1は認識せず、Derlin-1と結合する全ての変異型SOD1（抗体エピトープ部の変異を除く）を特異的に認識した（非特許文献１８、特許文献１）。これらの結果から、野生型SOD1では立体構造上内側に隠れているDBRが変異に伴う構造変化によって外側に露出することが、ALS関連変異型SOD1の共通の性質である可能性が示唆された。さらに、SOD1遺伝子変異をもつヒトALS患者由来のB細胞中のSOD1も変異型SOD1特異的抗体によって認識され（非特許文献１８、特許文献１）、実際に内在性のSOD1とDerlin-1が結合していることも確認されたことから、ヒトALS病態においてもSOD1のDBR露出を介したDerlin-1と結合が関与していると考えられる。加えて、マウス脊髄由来の初代運動神経細胞培養系において、SOD1とDerlin-1の結合を阻害するペプチド（Derlin-1（CT4）ペプチド：Derlin-1 CT4領域由来のペプチド）を細胞内に発現させることで、変異型SOD1誘導性の運動神経細胞死が抑制されることが明らかとなっている（非特許文

献１０）。

[0007] 以上のように、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1の結合を阻害することが、SOD1変異によるALSの治療につながる可能性が示唆されてはいるが、現在までのところ、ALSの有効な治療薬および治療方法は依然として見出されていない。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：WO2011/14261

非特許文献

[0009] 非特許文献1：Bensimonら, Engl J Med 330, 585-591, (1994).

非特許文献2：Millerら, Neurology 47 , S86-90; discussion S90-82, (1996).

非特許文献3：Yoshinoら, Amyotroph Lateral Scler 7, 241-245, (2006).

非特許文献4：Rosenら, Nature 362, 59-62, (1993).

非特許文献5：Clevelandら, Nature 378, 342-343, (1995).

非特許文献6：Boilleeら, Neuron 52, 39-59, (2006).

非特許文献7：Ilievaら, J Cell Biol 187, 761-772, (2009).

非特許文献8：Moriら, Cell 101, 451-454, (2000).

非特許文献9：Hommaら, Expert Opin Ther Targets 13, 653-664, (2009).

非特許文献10：Nishitohら, Genes Dev 22, 1451-1464, (2008).

非特許文献11：Meusserら, Nat Cell Biol 7, 766-772, (2005).

非特許文献12：Tsaiら, Nat Rev Mol Cell Biol 3, 246-255, (2002).

非特許文献13：Yeら, Nature 429, 841-847, (2004).

非特許文献14：Lilleyら, Nature 429, 834-840, (2004).

非特許文献15：Odaら, J Cell Biol 172, 383-393, (2006).

非特許文献16：Lilleyら, Proc Natl Acad Sci U S A 102, 14296-14301, (2005).

非特許文献17：Yeら, Proc Natl Acad Sci U S A 102, 14132-14138, (2005).

非特許文献18：Fujisawaら, Ann Neurol 72, 739-749, (2012).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] 上記事情に鑑み、本発明者らは、ALSの治療薬の開発を目的として、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害または抑制する物質の開発を解決課題とした。

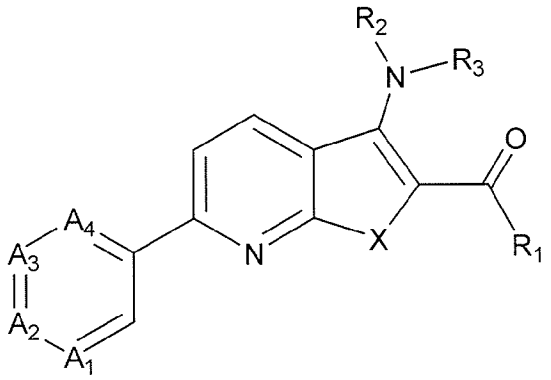
すなわち、本発明は、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害する化合物、該化合物を含有する医薬、および、該医薬を患者に投与することによるALSの治療方法の提供を目的とする。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは、上記課題を解決すべく、鋭意研究を行ったところ、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害する、チエノ[2,3-b]ピリジン誘導体およびキノリン誘導体を見出し、本発明を完成させた。

すなわち、本発明は、下記の一般式（１）で表される化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物である。

[化1]

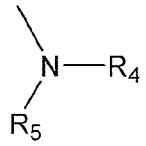


（１）

［式（１）中、Ｘは硫黄原子または－ＣＨ＝ＣＨ－を表し、A_1～A_4はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であってA_1～A_4のうち少なくとも１つは窒素原子であり、R_1は１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（または、３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）、３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基、２，３，４，５－テトラヒドロ

－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基または下記の式（２）で表される置換基

[化2]

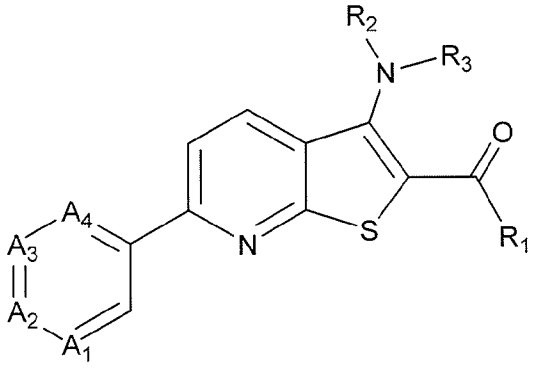


（２）

（式（２）中、R_4は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、無置換もしくは置換基を有していてもよいピリジル基または無置換もしくは置換基を有していてもよいナフチル基、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基（酸素原子および／または二重結合を含んでもよい）または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基を表す）のいずれかであり、R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、R_3は水素原子を表し、あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。]

[0012] 特に本発明は、下記の一般式（１ａ）で表されるチエノ[2,3-b]ピリジン誘導体もしくは下記の一般式（１ｂ）で表されるキノリン誘導体、下記の一般式（１ａ）で表されるチエノ[2,3-b]ピリジン誘導体の塩もしくは下記の一般式（１ｂ）で表されるキノリン誘導体の塩、または、それらの溶媒和物もしくは水和物である。

[0013] [化3]

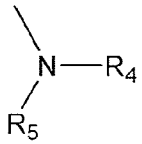


（1a）

[式（１ａ）中、A_1～A_4はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であ

って、A_1～A_4のうち少なくとも１つは窒素原子であり、R_1は１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（または、３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）、３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基、２，３，４，５－テトラヒドロ－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基または下記の式（２）で表される置換基

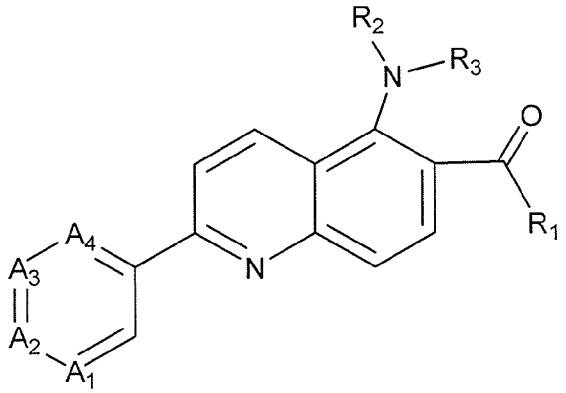
[化4]



（２）

（式（２）中、R_4は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、無置換もしくは置換基を有していてもよいピリジル基または無置換もしくは置換基を有していてもよいナフチル基、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基（酸素原子および／または二重結合を含んでもよい）または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基を表す）のいずれかであり、R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、R_3は水素原子を表し、あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。］

[0014] [化5]

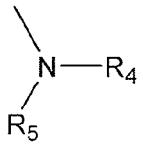


（１ｂ）

［式（１ｂ）中、A_1～A_4はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であって、A_1～A_4のうち少なくとも１つは窒素原子であり、R_1は下記の式（２

）で表される置換基

[化6]



（2）

（式（２）中、R_4は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基または低級アルキニル基を表す）のいずれかであり、R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、R_3は水素原子を表し、あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。]

[0015] さらに、本発明は、上記一般式（１）（上記一般式（１ａ）および（１ｂ））で表される化合物、その塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物のうち少なくとも１を有効成分として含むALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害するALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤である。

[0016] また、さらに、本発明は、上記一般式（１）（上記一般式（１ａ）および（１ｂ））で表される化合物、その塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物のうち少なくとも１を有効成分として含む医薬もしくは医薬組成物、あるいは、上記ALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤を含む医薬もしくは医薬組成物である。

発明の効果

[0017] 本発明に係る上記一般式（１）（上記一般式（１ａ）および（１ｂ））で表される化合物は、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害する機能を有する。従って、本発明に係る上記一般式（１）（上記一般式（１ａ）および（１ｂ））で表される化合物を含有するALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤または医薬は、ALSの治療に用いることができる。

[0018] さらに、本発明に係る上記一般式（１）（上記一般式（１ａ）および（１ｂ））で表される化合物は、ALS治療剤のリード化合物としても使用すること

ができる。

図面の簡単な説明

[0019] [図1]細胞内におけるALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合に対する、実施例化合物１および実施例化合物４の結合阻害活性の評価。HEK293A細胞に各タンパク質を過剰発現させ、その細胞培養液中に各濃度の実施例化合物１または実施例化合物４を添加し、共免疫沈降を行った結果を示す。IP:Flagは抗Flag抗体で免疫沈降をしたことを示す。また、IB:HAおよびIB:Flagは、各々、抗HA抗体および抗Flag抗体でブロッティングを行ったことを示す。lysateは細胞溶解物。

[図2]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中17種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図3]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中33種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図4]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中49種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図5]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中65種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図6]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中81種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図7]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中96種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図8]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物

１の結合阻害活性の評価。122種類中111種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図9]共免疫沈降実験による細胞内SOD1-Derlin-1結合に対する実施例化合物１の結合阻害活性の評価。122種類中122種類目までの変異型SOD1を用いた場合の結果を示す。

[図10]ALSモデルマウスに対し、実施例化合物１を投与し、病態発症までの期間および生存期間に対する影響を調べた。Ａは、到達回転速度40 rpm、加速時間180秒として設定し、最長300秒間でロータロッド試験を行い、運動機能低下に基づき定義したonset（病態発症までの期間）のカプランマイヤー曲線を示す。Ｂは、生存期間についてのカプランマイヤー曲線を示す。

[図11]ニッスル染色切片の顕微鏡写真。31週齢の各SOD1 G93Aトランスジェニックマウス群と、34週齢のWTマウスの凍結脊髄切片（40 μm）のニッスル染色を行い顕微鏡観察した、腰髄前角における代表的なニッスル染色像を示した。矢印は運動神経細胞を示す。

[図12]ニッスル染色切片における運動神経細胞数をカウントした結果を示す（mean±s.e.m.）WT（野生型）マウス：n=4、DMSO投与または実施例化合物１投与SOD1 G93Aトランスジェニックマウス：各グループn=8。*p < 0.05;スチューデントtテスト。

発明を実施するための形態

[0020] 本発明の第１の実施形態は、上記一般式（１）（上記一般式（１ａ）および（１ｂ））で表される化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物である。

一般式（１）において、

Ｘは硫黄原子または－ＣＨ＝ＣＨ－である。

R_1は１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（または、３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）、３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基、２，３，４，５－テトラヒドロ－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基または式（２）で表される置換基のいずれかである。

R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基である。ここで、「低級アルキル」とは、炭素数１～２０、好ましくは、炭素数１～１０の直鎖状、分枝鎖状、環状、またはそれらの組み合わせからなる炭化水素のことで、例えば、メチル、エチルまたはブチルなどである。「低級アシル」とは、炭素数１～２０、好ましくは、炭素数１～１０のアシルのことで、例えば、アセチル、プロピオニルまたはブチロイルなどである。また、「置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基」とは、例えば、４－メトキシベンジル基、ベンジル基などである。本明細書において、ある官能基について「置換基を有していてもよい」と記す場合、その置換基の個数または置換位置は特に限定されない。

R_3は水素原子を表す。

あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。R_2とR_3は互いに結合して環を形成する例としては、例えば、ブチレン鎖で結合したピロリジン環、ペンチレン鎖で結合したピペリジン環などである。

[0021] また、式（２）において、R_4は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、無置換もしくは置換基を有していてもよいピリジル基または無置換もしくは置換基を有していてもよいナフチル基を表し、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基（酸素原子および／または二重結合を含んでもよい）または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基を表す。また、「置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基」とは、例えば、４－メトキシベンジル基、ベンジル基などである。

R_4に関して、「無置換またもしくは置換基を有してもよいフェニル基」とは、例えば、フェニル基、４－フルオロフェニル基、２，３，４－トリフルオロフェニル基、４－ヨードフェニル基、２，４－ジフルオロフェニル基、２，３－ジフルオロフェニル基、２，５－ジフルオロフェニル基、３，５－ジフルオロフェニル基、３，４－ジフルオロフェニル基、５－フルオロ－

２－メチルフェニル基、３－ペンタフルオロスルファニルフェニル基、２，６－ジメチルフェニル基、４－ベンジルオキシフェニル基、３，５－ビス（トリフルオロメチル）ビフェニル基、３－トリフルオロメチルフェニル基、４－トリフルオロメチルフェニル基、４－tert－ブチルフェニル基、３－メトキシフェニル基または４－メトキシフェニル基などである。「無置換または置換基を有してもよいピリジル基」とは、例えば、４－ピリジル基、２－ヨード－４－ピリジル基などである。「無置換または置換基を有してもよいナフチル基」とは、例えば、１－ナフチル基などである。

R_5に関して、「低級アルキル」とは上述の通りで、「低級アルケニル」、「低級アルキニル」とは、炭素数１～２０、好ましくは、炭素数１～１０で、各々、二重結合および三重結合を有し、場合によっては酸素原子を含んでいてもよく、直鎖状、分枝鎖状、環状、またはそれらの組み合わせからなる炭化水素系置換基のことである。「低級アルキル基」とは、例えば、１－プロピル基、「低級アルケニル基」とは、例えば、２－ブテニル基、３－メチル－２－ブテニル基、２－プロペニル（アリル）基、２－メチル－２－プロペニル基、または２－シクロペンチリデンエチル基、「低級アルキニル基」とは、例えば、２－ブチニル基、２－プロピニル（プロパルギル）基、（Ｚ）－４－（プロプ－２－イルオキシ）ブト－２－エニル基または（Ｅ）－４－（プロプ－２－イルオキシ）ブト－２－エニル基、「無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基」とは、例えば、ベンジル基のことである。

[0022] 一般式（１）で表される本発明の実施形態に係る化合物の塩としては、薬学上許容される塩であればよく、例えば、酸性基が存在する場合には、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム等のアルカリ金属およびアルカリ土類金属塩；アンモニア、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン、Ｎ，Ｎ－ビス（ヒドロキシエチル）ピペラジン、２－アミノ－２－メチル－１－プロパノール、エタノールアミン、Ｎ－メチルグルカミ

ン、Ｌ－グルカミン等のアミンの塩；またはリジン、δ－ヒドロキシリジン、アルギニンなどの塩基性アミノ酸との塩などを挙げることができる。塩基性基が存在する場合には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の鉱酸の塩；メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、パラトルエンスルホン酸、酢酸、プロピオン酸塩、酒石酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、シュウ酸、コハク酸、クエン酸、安息香酸、マンデル酸、ケイ皮酸、乳酸、グリコール酸、グルクロン酸、アスコルビン酸、ニコチン酸、サリチル酸等の有機酸との塩；またはアスパラギン酸、グルタミン酸などの酸性アミノ酸との塩などを挙げることができる。

[0023] また、一般式（１）で表される本発明の実施形態に係る化合物には、特に断らない限り、その互変異性体、鏡像異性体等の立体異性体も含まれる。すなわち、一般式（１）で表さる化合物中に、１個または２個以上の不斉炭素が含まれる場合、不斉炭素の立体化学については、それぞれ独立して（Ｒ）体または（Ｓ）体のいずれかをとることができ、該誘導体の鏡像異性体またはジアステレオ異性体などの立体異性体として存在することがある。

[0024] 一般式（１）で表される本発明の実施形態に係る化合物としては、限定はしないが、例えば、次のものが挙げられる。

N-アリル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-プロパルギル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

(3-アミノ- 6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-1(2H)-キノリニル)メタノン、

3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(trans-2-ブテニル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(2-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カ

ルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-(3',5'-ビス(トリフルオロメチル)ビフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(2,5-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(2-ブチニル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-n-プロピル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

[0025] N-n-プロピル-3-アミノ-N-(2,3,4-トリフルオロフェニル) -6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル-3-アミノ-N-(4-ヨードフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-(3-メチル-2-ブテニル)-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

[3-アミノ-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル](2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[b]アゼピン-1-イル)メタノン、

N-アリル3-アミノ-N-(2,4-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(2,3-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(2,5-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル-3-アミノ-N-(5-フルオロ-2-メチルフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(3,4-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(3,5-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,

3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

[0026] N-アリル3-アミノ-N-(3-(ペンタフルオロ-λ6-スルファニル)フェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(3,5-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

N-アリル3-アミノ-N-(3-(ペンタフルオロ-λ6-スルファニル)フェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N- (1-ナフチル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(2,6-ジメチルフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-[4-(ベンジルオキシ)フェニル]-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-ヨードフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(2-ヨード-4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-6-(3-ピリジニル)-N-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(3',5'-ビス(トリフルオロメチル)-[1,1'-ビフェニル]-4-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-6-(4-ピリジニル)-N-(3-(トリフルオロメチル)フェニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(5-ピリミジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

[0027] 3-アミノ-N-(4-フルオロフェニル)-N-(2-メチルプロプ-2-エン-1-イル)-6-(3

-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-フルオロフェニル)-N-(プロプ-2-イン-1-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-フェニル-N-((Z)-4-(プロプ-2-イルオキシ)ブト-2-エニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-ベンジル-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-((E)-4-(ペント-4-イニルオキシ)ブト-2-エニル)-N-フェニル--6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-プレニル-N-(4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(2-シクロペンチリデンエチル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-4,4-ジメチル-1(2H)-キノリニル)メタノン、

5-アミノ-N-フェニル-N-プレニル-2-(ピリジン-3-イル)キノリン-6-カルボキサミド、

[0028] 3-アミノ-N-(4-tert-ブチルフェニル)-N-(3-メチルブト-2-エン-1-イル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-4,4-ジメチル-1(2H)-キノリル)メタノン、

3-アミノ-N-(3-メトキシフェニル)-N-プレニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ-N-(4-メトキシフェニル)-N-プレニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、

3-アミノ- N-メタリル-N-フェニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド

[0029] 本発明の第２の実施形態は、上記一般式（１）で表される化合物もしくは

その塩またはそれらの溶媒和物もしくはそれらの水和物を有効成分として含むALS（特に、FALS）関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤（ALS関連変異型SOD1とDerllin-1との結合を阻害する剤）、または、上記一般式（１）で表される化合物もしくはその塩またはそれらの溶媒和物もしくは水和物を有効成分として含む医薬もしくは医薬組成物、あるいは、当該ALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤を含む医薬もしくは医薬組成物である。

また、本発明の第２の実施形態にかかる医薬または医薬組成物は、ALS（特に、FALS）患者に投与してALSの治療ために使用することができる。

[0030] ここで、「ALS関連変異型SOD1」とは、ALSの病態発症に関与するSOD1変異体のことで、既知の変異体として122種の変異体を挙げることができる（Fujisawaら, Ann Neurol 72, 739-749, (2012)、WO2011/142461を参照のこと）。具体的なSOD1の変異として、K3E、A4S、A4T、A4V、V5L、C6F、C6G、C6Y、L8Q、L8V、G10R、G10V、G12R、V14G、V14M、G16A、G16S、N19S、F20C、Q22L、V29A、V29+、G37R、L38R、L38V、E40G、G41D、G41S、H43R、F45C、H46R、V47A、V47F、H48Q、H48R、E49K、C57R、S59I、N65S、P66A、G72C、G72S、D76V、D76Y、H80R、L84F、L84V、N86S、G85R、G85S、N86D、N86I、N86K、V87A、V87M、T88Δ、A89T、A89V、D90A、D90V、G93A、G93C、G93D、G93R、G93S、G93V、A95T、A95V、V97L、V97M、I99V、E100G、E100K、D101G、D101H、D101N、D101Y、I104F、S105L、S105Δ、L106V、G108V、C111Y、I112M、I112T、I113F、I113T、G114A、R115G、T116R、L117V、V118L、L118+、D124G、D124V、D125H、L126S、L126*、L126Δ、G127+、E132+、E133V、E133Δ、S134N、N139D、N139H、N139K、A140G、G141E、G141*、L144F、L144S、A145G、A145T、C146R、C146*、G147D、G147R、V148G、I149T、I151S、I151Tを挙げることができる（なお、Δは欠失、＋は挿入、*は停止の変異を各々表す）。

また、未だ見出されていないALSの病態発症に関与するSOD1変異体も本明細書中に記載される「ALS関連変異型SOD1」に含まれる。

なお、野生型（正常な）ヒトSOD1のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列は、GenBankアクセッション番号NM_000454としてデータベースに登録されて

いる。

[0031] 本発明の実施形態にかかるALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤および医薬は、有効成分である一般式（１）で表される化合物もしくはその塩またはそれらの溶媒和物もしくは水和物自体を投与してもよいが、一般的には、有効成分であるこれらの物質と１または２以上の製剤用添加物とを含む医薬組成物の形態で投与することが望ましい。

また、本発明の実施形態にかかるALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤または医薬の有効成分として、一般式（１）で表される化合物のうち２種類以上を組み合わせて用いてもよい。上記医薬組成物には、ALSの治療に有効な既知の成分を配合してもよい。

[0032] 本発明にかかる医薬または医薬組成物の剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、懸濁剤、座剤、軟膏、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤、吸入剤、注射剤等が挙げられる。これらの製剤は常法に従って調製される。なお、液体製剤にあっては、用時、水または他の適当な溶媒に溶解または懸濁するものであってもよい。また、錠剤、顆粒剤は周知の方法でコーティングしてもよい。注射剤の場合には、本発明の化合物を水に溶解させて調製されるが、必要に応じて生理食塩水あるいはブドウ糖溶液に溶解させてもよく、また、緩衝剤や保存剤を添加してもよい。

[0033] 経口投与用または非経口投与用の製剤は、任意の製剤形態で提供される。製剤形態としては、例えば、顆粒剤、細粒剤、散剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤または液剤等の形態の経口投与用医薬または医薬組成物、静脈内投与用、筋肉内投与用、もしくは皮下投与用などの注射剤、点滴剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、点鼻剤、吸入剤、坐剤などの形態の非経口投与用医薬または医薬組成物として調製することができる。注射剤や点滴剤などは、凍結乾燥形態などの粉末状の剤形として調製し、用時に生理食塩水などの適宜の水性媒体に溶解して用いることもできる。

[0034] 本発明にかかる医薬または医薬組成物の製造に用いられる製剤用添加物の種類、有効成分に対する製剤用添加物の割合、あるいは、医薬または医薬組

成物の製造方法は、その形態に応じて当業者が適宜選択することが可能である。製剤用添加物としては無機または有機物質、あるいは、固体または液体の物質を用いることができ、一般的には、有効成分重量に対して1重量％から90重量％の間で配合することができる。具体的には、製剤用添加物の例として乳糖、ブドウ糖、マンニット、デキストリン、シクロデキストリン、デンプン、蔗糖、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、合成ケイ酸アルミニウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルデンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、イオン交換樹脂、メチルセルロース、ゼラチン、アラビアゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、軽質無水ケイ酸、ステアリン酸マグネシウム、タルク、トラガント、ベントナイト、ビーガム、酸化チタン、ソルビタン脂肪酸エステル、ラウリル硫酸ナトリウム、グリセリン、脂肪酸グリセリンエステル、精製ラノリン、グリセロゼラチン、ポリソルベート、マクロゴール、植物油、ロウ、流動パラフィン、白色ワセリン、フルオロカーボン、非イオン性界面活性剤、プロピレングルコール、水等が挙げられる。

[0035] 経口投与用の固形製剤を製造するには、有効成分と賦形剤成分、例えば、乳糖、デンプン、結晶セルロース、乳酸カルシウム、無水ケイ酸などと混合して散剤とするか、さらに必要に応じて白糖、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンなどの結合剤、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウムなどの崩壊剤などを加えて湿式または乾式造粒して顆粒剤とする。錠剤を製造するには、これらの散剤および顆粒剤をそのまま、あるいは、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤を加えて打錠すればよい。これらの顆粒または錠剤はヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタクリル酸－メタクリル酸メチルポリマーなどの腸溶剤基剤で被覆して腸溶剤製剤、あるいは、エチルセルロース、カルナウバロウ、硬化油などで被覆して持続性製剤とすることもできる。また、カプセル剤を製造するには、散剤又は顆粒剤を硬カプセルに充填するか、有

効成分をそのまま、あるいは、グリセリン、ポリエチレングリコール、ゴマ油、オリーブ油などに溶解した後ゼラチン膜で被覆し軟カプセルとすることができる。

[0036] 注射剤を製造するには、有効成分を必要に応じて塩酸、水酸化ナトリウム、乳糖、乳酸、ナトリウム、リン酸一水素ナトリウム、リン酸二水素ナトリウムなどのｐＨ調整剤、塩化ナトリウム、ブドウ糖などの等張化剤と共に注射用蒸留水に溶解し、無菌濾過してアンプルに充填するか、さらにマンニトール、デキストリン、シクロデキストリン、ゼラチンなどを加えて真空凍結乾燥し、用事溶解型の注射剤としてもよい。また、有効成分にレチシン、ポリソルベート８０、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油などを加えて水中で乳化せしめ注射剤用乳剤とすることもできる。

[0037] 直腸投与剤を製造するには、有効成分をカカオ脂、脂肪酸のトリ、ジおよびモノグリセリド、ポリエチレングリコールなどの座剤用基材と共に加湿して溶解し型に流し込んで冷却するか、有効成分をポリエチレングリコール、大豆油などに溶解した後、ゼラチン膜で被覆すればよい。

[0038] 本発明にかかる医薬または医薬組成物の投与量および投与回数は特に限定されず、治療対象疾患の悪化・進展の防止および／または治療の目的、疾患の種類、患者の体重や年齢などの条件に応じて、医師の判断により適宜選択することが可能である。

一般的には、経口投与における成人一日あたりの投与量は0.01～1000mg（有効成分重量）程度であり、一日１回または数回に分けて、あるいは、数日ごとに投与することができる。注射剤として用いる場合には、成人に対して一日量0.001～100mg（有効成分重量）を連続投与または間欠投与することが望ましい。

[0039] 本発明にかかる医薬または医薬組成物は、植込錠およびマイクロカプセルに封入された送達システムなどの徐放性製剤として、体内から即時に除去されることを防ぎ得る担体を用いて調製することができる。そのような担体として、エチレンビニル酢酸塩、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲ

ン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸などの生物分解性、生物適合性ポリマーを用いることができる。このような材料は、当業者によって容易に調製することができる。また、リポソームの懸濁液も薬学上許容される担体として使用することができる。リポソームは、限定はしないが、ホスファチジルコリン、コレステロールおよびPEG誘導ホスファチジルエタノール（PEG-PE）を含む脂質組成物として、使用に適するサイズになるように、適当なポアサイズのフィルターを通して調製され、逆相蒸発法によって精製することができる。

[0040] 本発明にかかる医薬または医薬組成物は、投与方法等の説明書と共にキットの形態で提供してもよい。キット中に含まれる薬剤は、医薬または医薬組成物の構成成分の活性を長期間有効に持続し、容器内側に吸着することなく、また、構成成分を変質することのない材質で製造された容器により供給される。例えば、封着されたガラスアンプルは、窒素ガスのような中性で不反応性を示すガスの存在下で封入されたバッファーなどを含んでもよい。

また、キットには使用説明書が添付されてもよい。当該キットの使用説明は、紙などに印刷されたものであっても、CD-ROM、DVD-ROMなどの電磁的に読み取り可能な媒体に保存されて使用者に供給されてもよい。

[0041] さらに、本発明の第３の実施形態は、本発明の第２の実施形態にかかる医薬または医薬組成物を、治療対象に投与し、ALS、特に、FALSを治療する方法である。

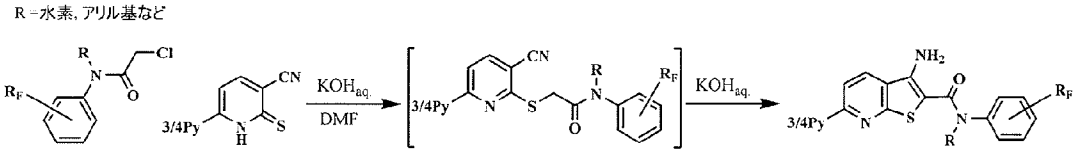
ここで「治療」とは、疾患等に罹患した哺乳動物において、その病態の進行および悪化を阻止または緩和することを意味し、これによって該疾患の進行および悪化を阻止または緩和することを目的とする処置のことである。

治療の対象となる「哺乳動物」は、哺乳類に分類される任意の動物を意味し、特に限定はしないが、例えば、ヒトの他、イヌ、ネコ、ウサギなどのペット動物、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマなどの家畜動物などのことである。特に好ましい「哺乳動物」は、ヒトである。

[0042] 一般式（１）で表される化合物のうち、例えば、A_1～A_4のいずれかが窒

素原子、R_2およびR_3が水素原子、R_4またはR_5が置換基を有するフェニル基である、チエノ[2,3-b]ピリジン誘導体化合物（置換チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド）は、以下の方法により製造することができる(スキーム１)。

[化7]



スキーム1

置換チエノ[2,3-b]ピリジン－2－カルボキサミド合成の一般的合成法（１）

６－（ピリジン－２－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオン、６－（ピリジン－３－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオン、６－（ピリジン－４－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオンまたは６－（ピリミジン－５－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオン（53.5 mg, 0.25 mmol, 1.0 equiv）のＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（DMF）（1 mL）の懸濁液に水酸化カリウム水溶液（10%, 0.15 mL）を加える。続いて適切に置換したα－クロロアセトアミド（0.25 mmol, 1.0 equiv）を室温で加える。次に、混合物を室温で一晩撹拌し，追加で水酸化カリウム水溶液（10%, 0.15 mL）を加える。反応混合物を一晩撹拌し、50 mLの水で希釈した。沈殿物を濾取し、それを適切な溶媒で再結晶またはカラムクロマトグラフィにより精製することで、本発明の化合物を得ることができる。

また、本発明の化合物は以下に記載する方法によっても製造することができる。

[0043] 置換チエノ[2,3-b]ピリジン－2－カルボキサミド合成の一般的合成法（２）

６－（ピリジン－２－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオンまたは６－（ピリジン－３－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオン、６－（ピリジン－４－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ

）－チオン、６－（ピリミジン－５－イル）－３－シアノピリジン－２－（１Ｈ）－チオン（53.5 mg, 0.25 mmol, 1.0 equiv）のＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（DMSO）（1 mL）の懸濁液にトリエチルアミン（542 μL, 0.375 mmol, 1.5 equiv.）を加える。続いて適切に置換したα-クロロアセトアミド（0.25 mmol, 1.0 equiv）を室温で加え一晩攪拌する。酢酸エチル30 mLを加え、有機相を1規定の塩酸で洗浄後、有機相を無水硫酸ナトリウム等で乾燥させる。溶媒を留去し、シリカゲルカラムで中間体を精製する。次に中間体をジオキサン1 mL，水0.25 mLの混合溶媒に溶解させ、水酸化リチウム（55 mg)を加える。反応混合物を1時間撹拌し，50 mLの水で希釈する。沈殿物を濾取し，それを適切な溶媒で再結晶またはカラムクロマトグラフィにより精製し、本発明の化合物を得ることができる。

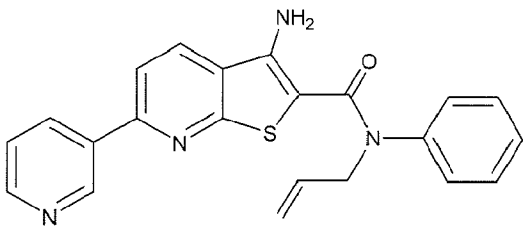
上記製法において使用する原料化合物は、市販品をそのまま用いることができるし、市販品を用いて当業者にとって自明な方法、あるいは、それらの変法を適用することによって製造することもできる。

[0044] 以下に実施例を示してさらに詳細に説明するが、本発明は実施例により何ら限定されるものではない。

実施例

[0045] 〔実施例１〕N-アリル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド

[化8]



[0046] N-アリル-N-フェニル 6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオアセタミドの合成

6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオン（81 mg, 0.38 mmol）をDMSO（0.5 mL）に溶解し、トリエチルアミン（79 μL, 1.5 equiv）を加え

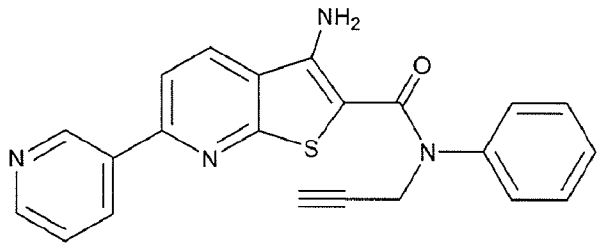
た後、N-アリル-N-フェニル-2-クロロアセタミド（120 mg, 1.5 equiv）のDMSO（0.5 mL）溶液を室温下攪拌しながら加えた。1時間後、水（10 mL）を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル）で精製することによりN-アリル-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオアセタミドを白色固体として得た（133 mg, 91%）。

[0047] N-アリル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミドの合成

N-アリル-N-フェニル 6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオアセタミド（100 mg）をジオキサン（0.5 mL）に溶解し、水（0.1 mL）を加え、淡黄白色の懸濁液となっている状態に、水酸化リチウム（22 mg）を加えると黄色い溶液になっていき、45分攪拌した。水を加え酢酸エチルで抽出、乾燥後溶媒を留去した。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）で精製することにより黄色の固体を得た。この固体をジクロロメタン－ヘキサンの混合溶媒で再結晶することにより目的物の黄色結晶を得た（61 mg, 61%）。実施例化合物１の物理化学データは表１に示す。

[0048] 〔実施例２〕N-プロパルギル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド

[化9]

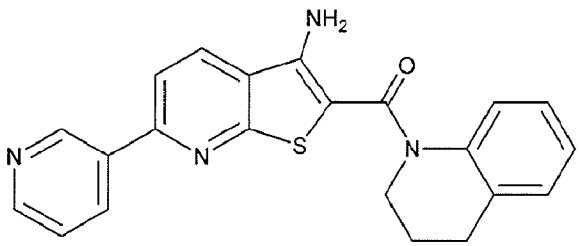


6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオン（81 mg, 0.38 mmol）をDMSO（0.5 mL）に溶解し、トリエチルアミン（79 μL, 1.5 equiv）を加えた後、N-プロパルギル-N-フェニル-2-クロロアセタミド（118 mg, 1.5 equiv）のDMSO（0.5 mL）溶液を室温下攪拌しながら加えた。1時間後、水（10 mL

）を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去した。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）で精製することによりN-プロパルギル-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオアセタミドを淡黄色固体として得た（129 mg, 88%）。このチオアセタミド体（99 mg)をジオキサン（0.5 mL）に溶解し、水（0.1 mL）を加え、淡黄白色の懸濁液となっている状態に、水酸化リチウム（22 mg）を加えると黄色い溶液になっていき、45分攪拌した。水を加え酢酸エチルで抽出、乾燥後溶媒を留去した。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）で精製することにより黄色の固体を得た。この固体をジクロロメタン－ヘキサンの混合溶媒で再結晶することにより目的物の黄色結晶を得た（91 mg, 92%）。実施例化合物２の物理化学データは表１に示す。

[0049] 〔実施例３〕(3-アミノ- 6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-1(2H)-キノリル)メタノン

[化10]



6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオン（81 mg, 0.38 mmol）をDMSO （0.5 mL）に溶解し、トリエチルアミン（79 μL, 1.5 equiv）を加えた後、2-クロロ-1-(3,4-ジヒドロ-1(2H)-キノリニル)メタノン（120 mg, 1.5 equiv）のDMSO（0.5 mL）溶液を室温下攪拌しながら加えた。1.5時間後、水（10 mL）を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去した。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）で精製することによりNプロパルギル-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)-3-シアノピリジン-2-(1H)-チオ-1-(3,4-ジヒドロ-1(2H)-キノリニル)メタノンを淡黄色固体として得た（143 mg, 97.1%）。このチオアセタミド体（128.

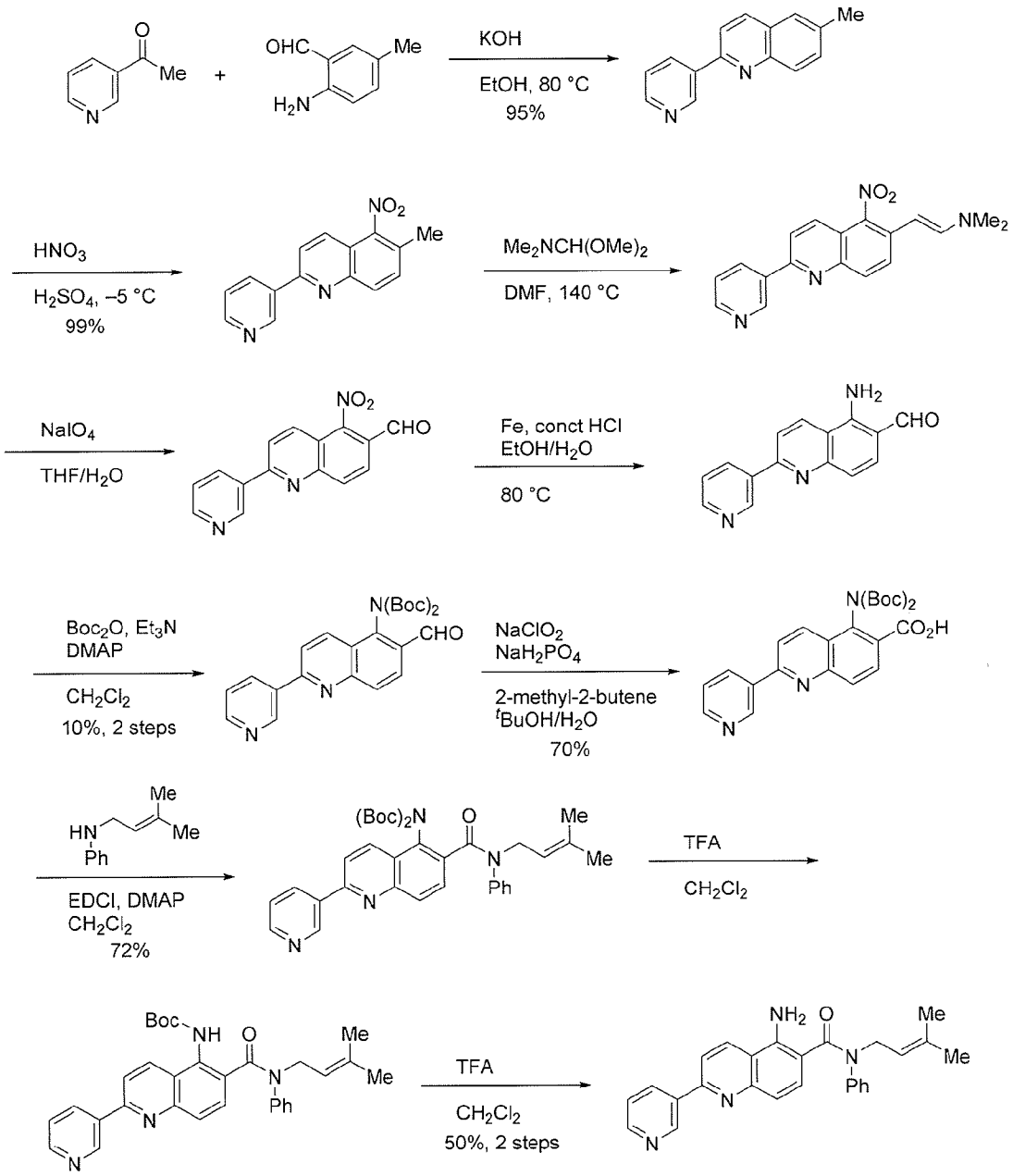
6 mg）をジオキサン（1 mL）に溶解し、水（0.26 mL）を加え、淡黄白色の懸濁液となっている状態に、水酸化リチウム（28 mg)を加えると黄色い溶液になっていき、40分攪拌した。水を加え酢酸エチルで抽出、乾燥後溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル）で精製することにより黄色の固体を得た。この固体をジクロロメタン－ヘキサンの混合溶媒で再結晶することにより目的物の黄色結晶を得た（95 mg, 74%）。実施例化合物３の物理化学データは表１に示す。

[0050] 〔実施例４～実施例４１、実施例４３～４７〕

置換チエノ[2,3-b]ピリジン－2－カルボキサミド合成の一般的合成法（１）および（２）を参照し、適宜適切な置換基を有する原料化合物を使用し、実施例１～３と同様の方法で合成を行った。実施例４～実施例４１、実施例４３～４７の化合物の物理化学データを表１～表７に示した。

[0051] 一般式（１ｂ）で表される化合物の製造方法に関し、実施例４２の化合物の合成方法（スキーム２）を例にして、説明する。なお、一般式（１ｂ）で表される化合物の製造方法は以下に示した例には限定されない。実施例４２の化合物の物理化学データを表６に示した。

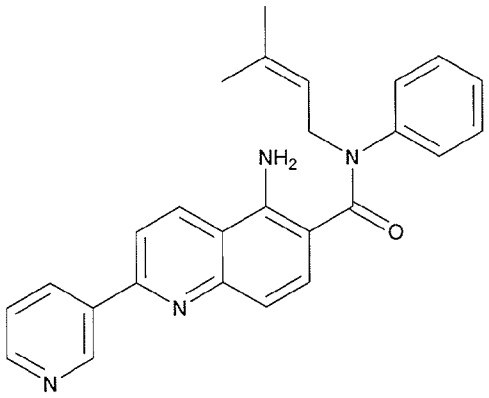
[化11]



スキーム2

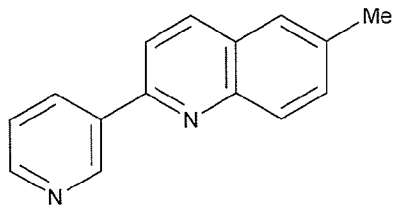
[0052] 〔実施例４２〕５－アミノ－N－フェニル－N－プレニル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボキサミド

[化12]



[0053] ６－メチル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン

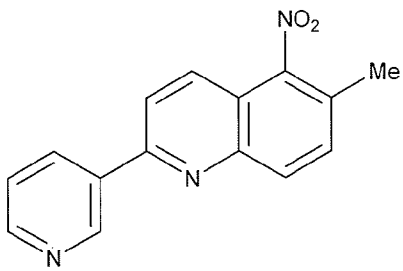
[化13]



300mlナス型フラスコに、803mg（5.94mmol）の２－アミノ－５－メチルベンズアルデヒド、0.540ml（495mmol）の３－アセチルピリジン、113mg（2.01mmol）の水酸化カリウム、25mlエタノールを入れ、80℃で7時間撹拌した。反応終了後、これに水を添加し、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ヘキサン＝１：１（v／v））により精製し、表題化合物1.03g（収率95%）を得た。

[0054] ６－メチル－５－ニトロ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン

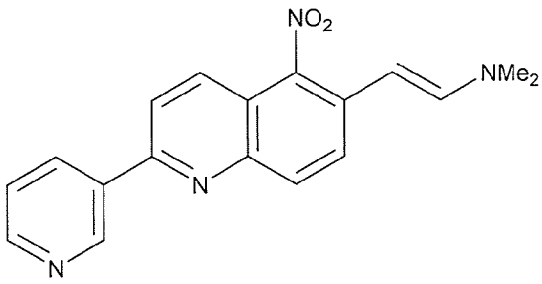
[化14]



-18℃に冷却した105mg（0.477mmol）の６－メチル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン、0.540ml(496mmol)の硫酸溶液（0.35ml）に、硝酸（0.10ml）と硫酸（1.0ml）の混合液を添加し、-5℃で4時間撹拌した。反応終了後、反応液を氷水に入れ、15%水酸化ナトリウム水溶液で塩基性にした。これをジクロロメタンで抽出し、水と飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去し、表題化合物125mg（収率99%）を得た。

[0055] （E）－N, N－ジメチル－２－（５－ニトロ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－イル）エテンアミン

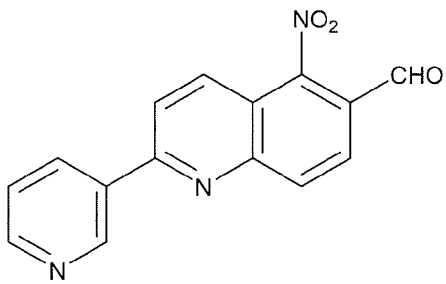
[化15]



冷却管を備えたすり付き試験管に、96.7mg（0.365mmol）の６－メチル－５－ニトロ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン、0.10ml（0.73mmol）のN, N－ジメチルホルムアミドジメチルアセタール、0.40ml N, N－ジメチルホルムアミドを入れ、140℃で2.5時間撹拌した。これに0.10ml（0.73mmol）のN, N－ジメチルホルムアミドジメチルアセタールを添加し、さらに140℃で2時間撹拌した。反応終了後、溶媒を減圧留去して表題化合物の粗成績体を得た。

[0056] ５－ニトロ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボアルデヒド

[化16]

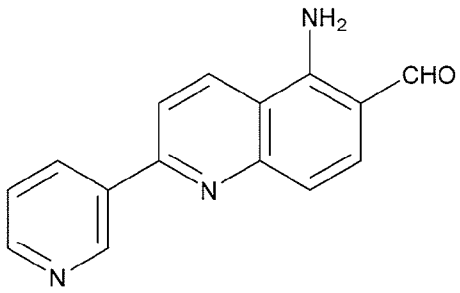


10mlナス型フラスコに、上記で得られた（E）－N, N－ジメチル－２－（５

－ニトロ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－イル）エテンアミンの粗成績体、477mg（2.23mmol）の過ヨウ素酸ナトリウム、6.2mlテトラヒドロフランを入れ、室温で2.5時間撹拌した。反応混合物をろ過した後、これに飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を添加し、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル）により精製し、表題化合物23mg（収率23%）を得た。

[0057] ５－アミノ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボアルデヒド

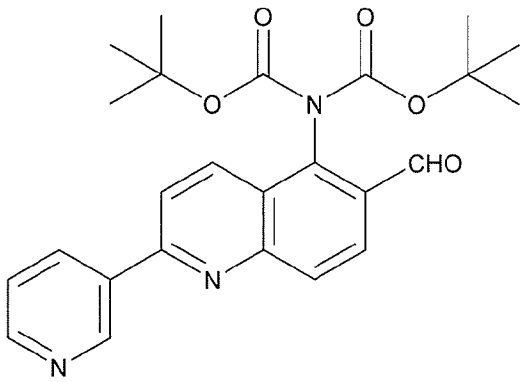
[化17]



10mlナス型フラスコに、124mg（0.444mmol）の５－ニトロ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボアルデヒド、196mg（3.51mmol）の鉄、0.40ml濃塩酸、1.6ml水、3.2mlエタノールを入れ、80℃で2時間撹拌した。これに95.8mg（1.72mmol）の鉄を添加し、さらに80℃で1時間撹拌した。反応混合物をろ過した後、これをクロロホルムで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去して表題化合物の粗成績体を得た。

[0058] ５－（ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボアルデヒド

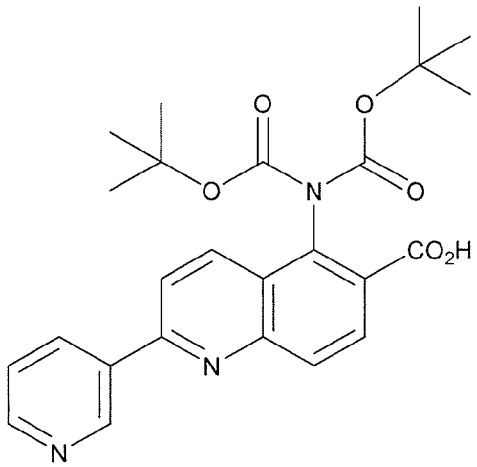
[化18]



20mlナス型フラスコに、上記で得られた５－アミノ－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボアルデヒドの粗成績体、153mg（0.701mmol）の二炭酸ジ－ｔｅｒｔ－ブチル、4.1mg（0.0336mmol）のN，N－ジメチル－４－アミノピリジン、0.10ml（0.717mmol）のトリエチルアミン、2.0mlジクロロメタンを入れ、室温で1.5時間撹拌した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ヘキサン＝３：１（v／v））により精製し、表題化合物20.3mg（収率10％）を得た。

[0059] ５－（ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボン酸

[化19]

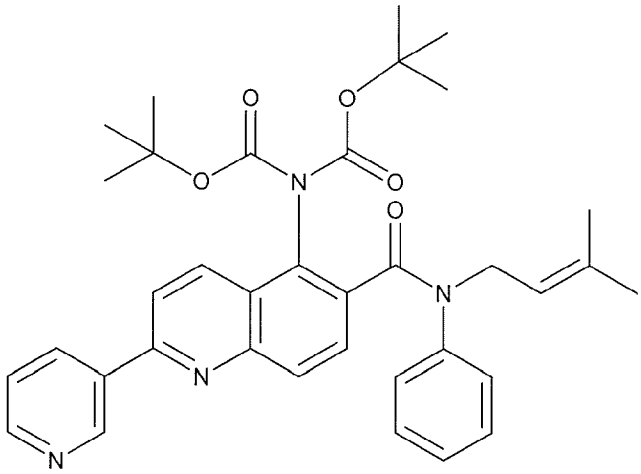


39.3mg（0.0874mmol）の５－（ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）ア

ミノ）－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボアルデヒドのｔｅｒｔ－ブチルアルコール溶液（1.6ml）に、21.1mg（0.176mmol）のリン酸二水素ナトリウムと0.10ml（0.87mmol）の２－メチル－２－ブテンと水(0.40ml)を添加した。これに17.3mg（0.191mmol）の亜塩素酸ナトリウム反応を添加した後、室温で1.5時間撹拌した。反応終了後、これに１０％硫酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水を添加し、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝９：１（v／v））と分取薄層クロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝９：１（v／v））により精製し、表題化合物28.6mg（収率70％）を得た。

[0060] ５－（ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－N－フェニル－N－プレニル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボキサミド

[化20]

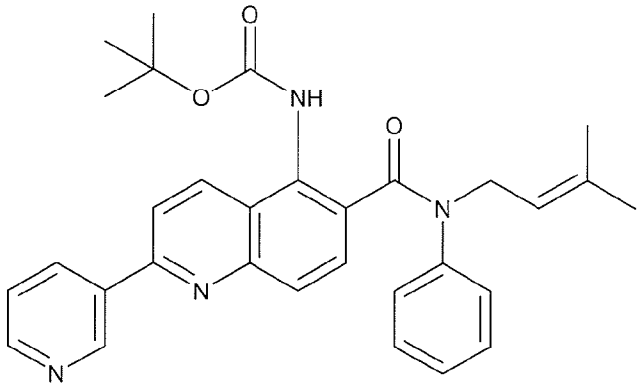


10mlナシ型フラスコに、28.6mg（0.0614mmol）の５－（ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボン酸、24.0mg（0.149mmol）のN－プレニルアニリン、43.6mg（0.357mmol）のN，N－ジメチル－４－アミノピリジン、35.1mg（0.183mmol）の１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩、1.0mlジクロロメタンを入れ、室温で4.5時間撹拌した。反応終了後、これに水を添

加し、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝１９：１（v／v））により精製し、表題化合物26.9mg（収率72%）を得た。

[0061] ５－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ－N－フェニル－N－プレニル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボキサミド

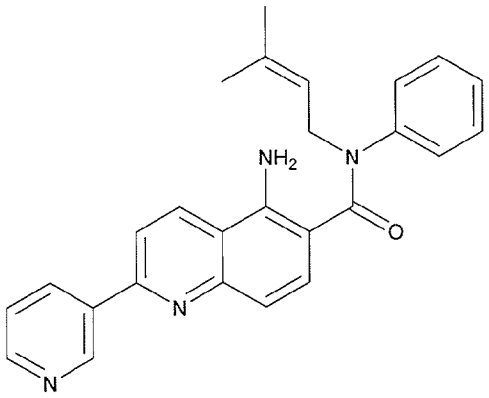
[化21]



10mlナシ型フラスコに、25.4mg（0.0417mmol）の５－（ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－N－フェニル－N－プレニル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボキサミド、0.050mlトリフロオロ酢酸、1.0mlジクロロメタンを入れ、室温で0.5時間撹拌した。これに0.050mlトリフロオロ酢酸を添加し、さらに室温で0.5時間撹拌した。反応終了後、これに飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を添加し、クロロホルムで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去して表題化合物の粗成績体を得た。

[0062] ５－アミノ－N－フェニル－N－プレニル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボキサミド

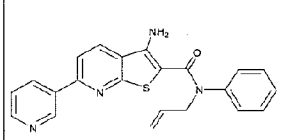
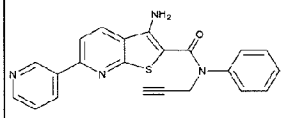
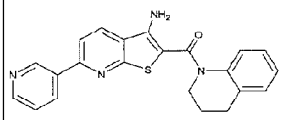
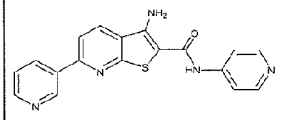
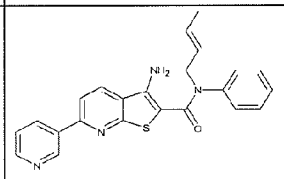
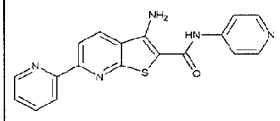
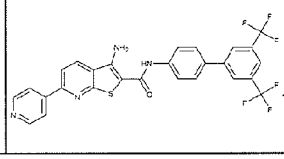
[化22]



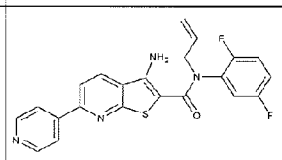
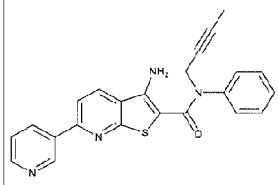
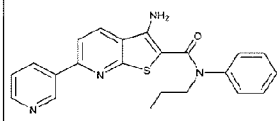
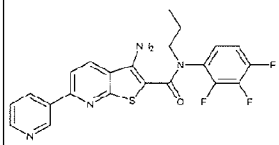
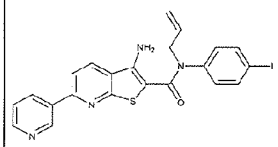
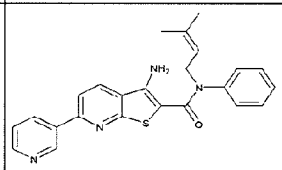
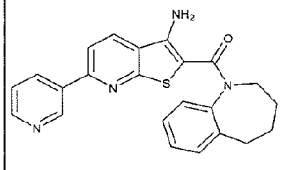
10mlナシ型フラスコに、上記で得られた５－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ－N－フェニル－N－プレニル－２－（ピリジン－３－イル）キノリン－６－カルボキサミドの粗成績体、0.10mlトリフロオロ酢酸、1.0mlジクロロメタンを入れ、室温で9時間撹拌した。これに飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を添加し、クロロホルムで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝８０：１（v／v））と分取薄層クロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝９：１（v／v））とゲル浸透クロマトグラフィー（トルエン）により精製し、表題化合物8.5mg（収率50％）を得た。

[0063]

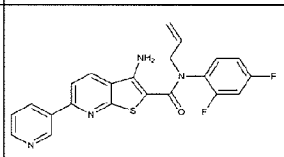
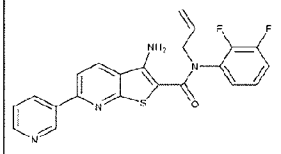
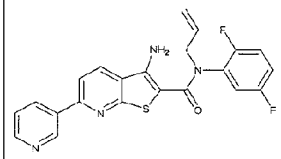
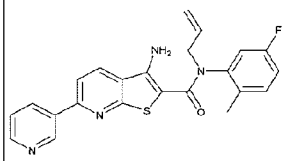
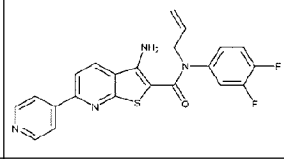
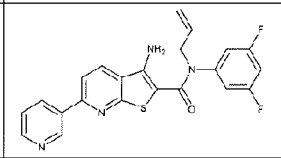
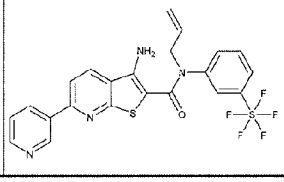
[表1]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
1		N-アリル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 386 [M^+]; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.18 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.64 (dd, *J* = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 8.33 – 8.30 (m, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.4, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.46 – 7.42 (m, 3H), 7.38 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 7.34 – 7.30 (m, 2H), 6.40 (s, 2H), 6.01 (ddt, *J* = 17.5, 9.6, 6.1 Hz, 1H), 5.22 – 5.15 (m, 2H), 4.46 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H).
2		*N*-プロパルギル-3-アミノ-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.18 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.64 (dd, *J* = 4.8, 1.5 Hz, 1H), 8.37 – 8.26 (m, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.51 – 7.45 (m, 3H), 7.45 – 7.40 (m, 2H), 7.38 (ddd, *J* = 8.0, 4.8, 0.6 Hz, 1H), 6.46 (s, 2H), 4.60 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H).
3		(3-アミノ- 6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-1(2H)-キノリル)メタノン	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.22 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.68 – 8.62 (m, 1H), 8.38 – 8.32 (m, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 7.25 – 7.20 (m, 1H), 7.20 – 7.12 (m, 2H), 7.11 – 7.04 (m, 1H), 6.11 (s, 2H), 3.92 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.81 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.13 – 2.00 (m, 2H).
4		3-アミノ—*N*—(4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 348 [$(M+H)^+$], 370 [$(M+Na)^+$] ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.82 (s, 1H), 9.37 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.694 (dd, J = 4.7, 2.0 Hz, 1H), 8.691 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.55 (dt, J = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 8.44 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 8.19 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.77 (d, J =6.2 Hz, 2H), 7.61 (s, 2H), 7.58 (dd, J = 8.0, 4.7 Hz, 1H)
5		3-アミノ—*N*—(*trans*-2-ブテニル)—*N*—フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* (%): 402 [$M+Na]^+$, 401 [$M+H]^+$. H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.68 (dd, *J* = 1.3, 6.2 IIz, 3II, C*H*$_3$), 4.38 (dd, *J* = 0.9, 6.2 Hz, 2H, C*H*$_2$), 5.57 (m, 1H, C*H*), 5.66 (m, 1H, C=*H*), 6.37-6.41 (br s, 2H, N*H*$_2$), 7.27-7.31 (m, 2H, Ar), 7.38-7.45 (m, 4H, Ar), 7.68 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar), 7.96 (d, *J* = 8.4 Hz, Ar), 8.35 (dt, *J* = 8.7, 1.5 Hz, 1H, Ar), 8.63 (dd, *J* = 1.5, 4.9 Hz, 1H, C*H*), 9.19 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar)
6		3-アミノ—*N*—(4-ピリジニル)-6-(2-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 348 [$(M+H)^+$], 370 [(M+Na)+] 1H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ : 9.83 (s, 1H), 8.75 (brd, J = 4.4 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.483 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.480 (m, 1H), 8.44 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 8.01 (td, J = 7.5, 1.9 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 7.60 (s, 2H), 7.52 (dd, J = 7.5, 4.9 Hz, 1H)
7		3-アミノ—*N*—(4-(3',5'-ビス(トリフルオロメチル)ビフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 559 [$(M+1)^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz , DMSO-d_6) δ: 9.71 (s, 1 H), 8.75 (d, 2 H, *J* = 3.9 Hz), 8.70 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz), 8.34 (s, 2 H), 8.25 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 8.15 (d, 2 H, *J* = 4.2 Hz), 8.04 (s, 1 II), 7.91-7.89 (m, 4 II), 7.52 (s, 2 H)

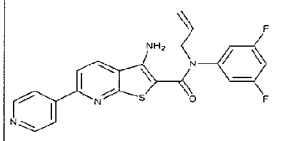
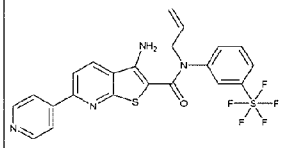
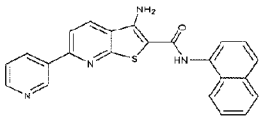
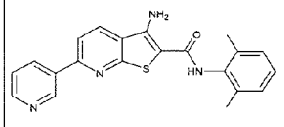
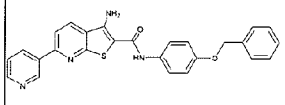
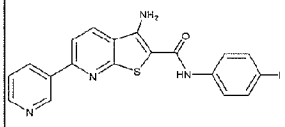
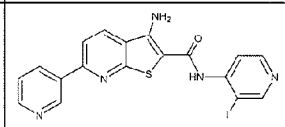
[表2]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
8		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(2,5-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.59 (s, 2 H), 8.02 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.92 (s, 1 H), 7.77 (d, 2 H, *J* = 3.9 Hz), 7.58 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.05-6.95 (m, 2 H), 6.70 (s, 2 H), 5.93-5.85 (m, 1 H), 5.10-5.05 (m, 2 H), 4.33-4.32 (m, 2 H).
9		3-アミノ-*N*-(2-ブチニル)-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 421 [M+Na]$^+$, 399 [M+H]$^+$. ^{1}H NMR(500 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.75 (t, *J* = 2.4 Hz, 3 H, *CH*$_3$), 4.49 (d, *J* = 2.4 Hz, 2 H, *CH*$_2$), 7.38-7.41 (m, 2 H, Ar C*H*), 7.45-7.53 (m, 4 H, Ar C*H*), 7.55-7.60 (m, N*H*$_2$), 8.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H, Ar C*H*), 8.40-8.44 (m, 1 H, Ar C*H*), 8.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H, Ar C*H*), 8.62 (m, 1 H, Ar C*H*), 9.23 (s, 1 H, Ar C*H*);
10		*N*-n-プロピル-3-アミノ-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H-NMR (500 MHz $CDCl_3$): δ 9.18 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.64 (dd, *J* = 4.9, 1.8 Hz, 1H), 8.31 (dt, *J* = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 3.2 Hz, 3H), 7.37 (dd, *J* = 7.9, 4.9 Hz, 1H), 7.32 (m, 2H), 6.35 (brs, 2H), 3.80 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.69 (tq, *J* = 7.7, 7.7 Hz, 2H), 0.97 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H), EI-MS: 388 (M)$^+$
11		*N*-n-プロピル-3-アミノ-N-(2,3,4-トリフルオロフェニル) -6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.19 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.59 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.37 – 8.32 (m, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.41 – 7.37 (m, 1H), 7.13 – 7.05 (m, 2H), 6.42 (s, 2H), 3.81 – 3.69 (m, 2H), 1.71 – 1.62 (m, 2H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).
12		*N*-アリル-3-アミノ-*N*-(4-ヨードフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.19 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.65 (dd, *J* = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 8.37 – 8.34 (m, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.4, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 7.7, 4.8 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.38 (s, 2H), 5.98 (ddt, *J* = 17.5, 9.6, 6.1 Hz, 1H), 5.20 – 5.14 (m, 2H), 4.41 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H).
13		*N*-(3-メチル-2-ブテニル)-3-アミノ-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.17 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.64 – 8.62 (m, 1H), 8.32 – 8.30 (m, 1H), 8.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.43 – 7.41 (m, 3H), 7.38 7.35 (m, 1H), 7.29 – 7.26 (m, 2H), 6.37 (s, 2H), 5.41 – 5.38 (m, 1H), 4.44 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.71 (s, 3H), 1.46 (s, 3H).
14		[3-アミノ-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル](2,3,4,5-テトラヒドロ-1*H*-ベンゾ[b]アゼピン-1-イル)メタノン	^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.23 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.61 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 8.56 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 8.42 (m, 1H), 8.04 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.52 (brs, 2H), 7.49-7.45 (m, 1H), 7.42-7.38 (m, 1H), 7.37-7.32 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 7.18-7.16 (m, 1H), 4.93-4.75 (m, 1H), 2.84-2.77 (m, 2H), 2.76-2.56 (m, 1H), 2.02-1.85 (m, 1H), 1.85-1.71 (m, 2H), 1.45-1.28 (m, 1H); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) δ:164.0, 160.1, 154.1, 150.2, 147.9, 147.9, 142.1, 141.6, 134.2, 133.3, 131.6, 130.0, 129.4, 128.7, 127.3, 124.0, 123.7, 116.1, 96.5, 46.8, 33.6, 29.2, 25.7; MS (ESI) *m/z* 401 [M+H]$^+$; Anal. Calcd for $C_{23}H_{20}N_4O_2S \cdot H_2O$; C: 66.01, H: 5.30, N: 13.39: Found; C: 65.91, H: 5.25, N: 13.23.

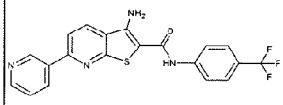
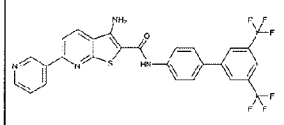
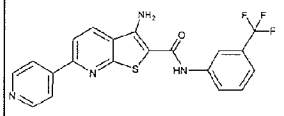
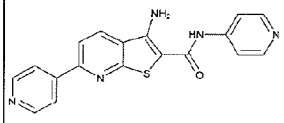
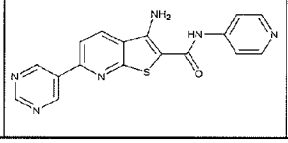
[表3]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
15		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(2,4-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.18 (s, 1 H), 8.64 (s, 1 H), 8.34 (d, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.98 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.71 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.41-7.26 (m, 2 H), 6.95 (s, 2 H), 6.45 (s, 2 H), 6.02-5.93 (m, 1 H), 5.18-5.11 (m, 2 H), 4.39 (s, 2 H).
16		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(2,3-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.63 (d, 2 H, *J* = 4.2 Hz), 8.02 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 7.96 (s, 1 H), 7.81 (d, 2 H, J = 4.2 Hz), 7.63 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 7.25-7.09 (m, 2 H), 6.63 (s, 2 H), 5.97-5.89 (m, 1 H), 5.13-5.08 (m, 2 H), 4.38 (d, 2 H, *J* = 4.2 Hz).
17		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(2,5-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.16 (s, 1 H), 8.63 (d, 1 H, *J* = 3.0 Hz), 8.29 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 8.01 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz), 7.65 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.38-7.34 (m, 1 H), 7.15-7.06 (m, 3 H), 6.59 (s, 2 H), 6.04-5.91 (m, 1 H), 5.19-5.13 (m, 2 H), 4.40 (s, 2 H).
18		*N*-アリル-3-アミノ-*N*-(5-フルオロ-2-メチルフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 419 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.17 (s, 1 H), 8.63 (d, 1 H, *J* = 3.3 Hz), 8.30 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 8.01 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.65 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.38-7.34 (m, 1 H), 7.29-7.24 (m, 1 H), 7.12-7.07 (m, 1 H), 6.98-6.95 (m, 1 H), 6.64 (s, 2 H), 6.07-5.96 (m, 1 H), 5.29-5.13 (m, 2 H), 4.78-4.73 (m, 1 H), 3.96-3.89 (m, 1 H), 2.22 (s, 3 H).
19		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(3,4-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.74 (d, 2 H, *J* = 4.2 Hz), 8.19 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 8.07 (s, 1 H), 7.93 (d, 2 H, *J* = 4.8 Hz), 7.72 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.33-7.13 (m, 2 H), 6.88 (s, 2 H), 6.07-5.96 (m, 1 H), 5.27-5.19 (m, 2 H), 4.47-4.45 (m, 2 H).
20		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(3,5-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.19 (s, 1 H), 8.65 (d, 1 H, *J* = 3.3 Hz), 8.34 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 8.03 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.71 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.41-7.37 (m, 1 H), 6.87-6.85 (m, 3 H), 6.51 (s, 2 H), 6.04-5.91 (m, 1 H), 5.23-5.17 (m, 2 H), 4.43 (d, 2 H, *J* = 5.7 Hz).
21		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(3-(ペンタフルオロ-λ^6-スルファニル)フェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 513 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.15 (s, 1 H), 8.62 (d, 1 H, *J* = 3.0 Hz), 8.30 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 8.12 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.80 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.73 (s, 1 H), 7.65 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.55-7.34 (m, 3 H), 6.81 (s, 2 H), 6.06-5.93 (m, 1 H), 5.22-5.14 (m, 2 H), 4.43 (d, 2 H, *J* = 5.7 Hz).

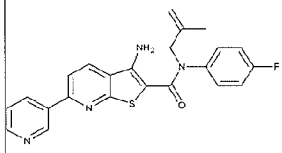
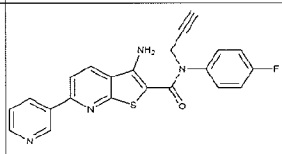
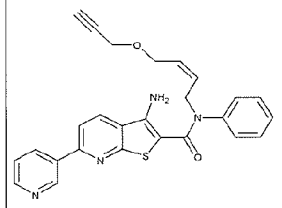
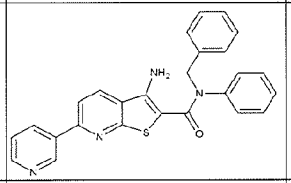
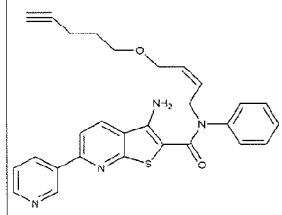
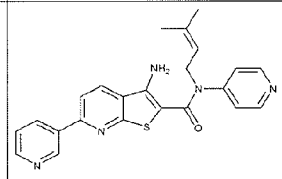
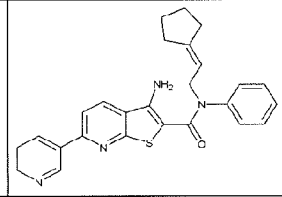
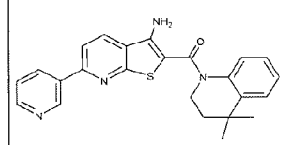
[表4]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
22		*N*-アリル3-アミノ-*N*-(3,5-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 423 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.70 (d, 2 H, *J* = 5.4 Hz), 8.04 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.88 (d, 2 H, *J* = 5.4 Hz), 7.71 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 6.87-6.85 (m, 3 H), 6.56 (s, 2 H), 6.01-5.92 (m, 1 H), 5.23-5.17 (m, 2 H), 4.13 (d, 2 H, *J* = 5.4 Hz).
23		*N*-アリル3-アミノ-N-(3-(ペンタフルオロ-λ^6-スルファニル)フェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 513 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.65 (s, 2 H), 8.07 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.97 (s, 2 H), 7.86 (d, 1 H, *J* = 4.5 Hz), 7.78 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 7.69 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.53-7.41 (m, 2 H), 6.63 (s, 2 H), 6.09-5.94 (m, 1 H), 5.20-5.11 (m, 2 H), 4.43-4.41 (m, 2 H).
24		3-アミノ-*N*-(1-ナフチル)-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 7.37 (br s, 2H, NH_2), 7.55-7.61 (m, 5H, Ar), 7.87-7.90 (m, 1H, Ar), 7.95-8.00 (m, 2H, Ar), 8.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, Ar), 8.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ar), 8.63 (*J* = 8.5 Hz, 1H, Ar), 8.67-8.72 (m, 1H, Ar), 9.39 (s, 1H, N*H*), 9.78 (s, 1H, Ar) ppm; MS (ESI) *m/z* 430 [M+Na]$^+$, 397 [*M*+H].
25		3-アミノ-*N*-(2,6-ジメチルフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.37 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.68 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 8.60 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.56 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.57 (dd, J = 5.7, 5.7 Hz, 1H), 7.28 (brs, 2H), 7.13 (s, 3H), 2.21 (s, 6H); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) δ: 163.6, 159.0, 154.2, 150.3, 148.1, 145.9, 136.0, 135.3, 134.3, 133.4, 131.9, 127.6, 126.6, 125.6, 123.9, 116.5, 97.2, 18.1; MS (FAB$^+$): 375 [M+H]$^+$; Anal. Calcd for $C_{21}H_{18}N_4OS \cdot 1/2H_2O$; C: 65.77, H: 4.99, N: 14.61: Found; C: 65.57, H: 5.36, N: 14.51.
26		3-アミノ-*N*-[4-(ベンジルオキシ)フェニル]-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.40 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.69 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 8.61 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.55 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.61-7.55 (m, 3H), 7.48-7.44 (m, 2H), 7.42-7.32 (m, 5H), 7.00 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 5.10 (s, 2H); ^{13}C-NMR (DMSO-d_5) δ:163.6, 159.0, 154.6, 154.4, 150.4, 148.1, 146.3, 137.2, 134.4, 133.4, 132.0, 132.0, 128.4, 127.8, 127.7, 125.5, 123.9, 123.0, 116.6, 114.6, 97.3, 69.3; MS (FAB$^+$): 452 [M+H]$^+$; Anal.Calcd for $C_{26}H_{20}N_4O_2S \cdot H_2O$; C: 66.37, H: 4.71, N: 11.91: Found; C: 66.59, H: 4.84, N: 12.04.
27		3-アミノ-*N*-(4-ヨードフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ 9.58 (s, 1H), 9.36 (s, Jw = 1.8 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 4.7 Hz, Jw = 1.8 Hz, 1H), 8.64 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.55 (d, J = 8.0 Hz, Jw = 1.8), 8.18 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.57 (m, 3H), 7.47 (s, 1H) EI-MS 472 [M]$^+$ (69.2%), 254 [M]$^+$ (100%) IR (KBr) 1645 cm^{-1} C=O伸縮, 1519 cm^{-1} N-H変角, 1313 cm^{-1} C-N伸縮
28		3-アミノ-*N*-(2-ヨード-4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 474 [(M+H)$^+$] ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.38 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.76 (brs, 1H), 8.70 (m, 2H), 8.56 (dt, J = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 8.22 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.58 (m, 3H).

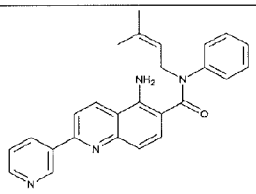
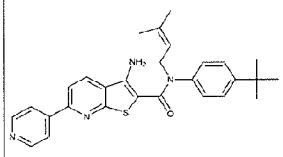
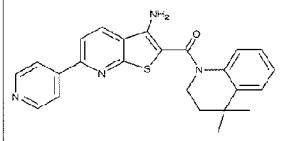
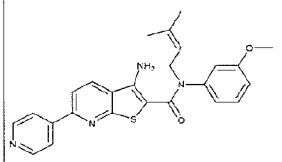
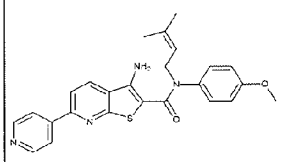
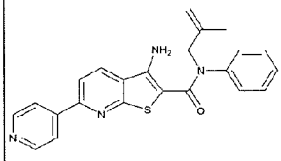
[表5]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
29		3-アミノ-6-(3-ピリジニル)-*N*-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 415 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6, 300 MHz) δ: 9.83 (s, 1 H), 9.39 (s, 1 H), 8.71-8.58 (m, 2 H), 8.58 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 8.21 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz), 7.96 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 7.71 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 7.58-7.34 (m, 3 H).
30		3-アミノ-*N*-(3',5'-ビス(トリフルオロメチル)-[1,1'-ビフェニル]-4-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 559 [(M+1)$^+$]; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.69 (s, 1 H), 9.37 (s, 1 H), 8.68-8.64 (m, 2 H), 8.55 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 8.34 (s, 2 H), 8.19 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 8.04 (s, 1 H), 7.91-7.90 (m, 4 H), 7.58-7.53 (m, 3 H).
31		3-アミノ-6-(4-ピリジニル)-*N*-(3-(トリフルオロメチル)フェニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 415 [(M+1)$^+$]; 1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.83 (s, 1 H), 9.39 (s, 1 H), 8.71-8.58 (m, 2 H), 8.58 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 8.21 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz), 7.96 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 7.71 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 7.58-7.34 (m, 3 H).
32		3-アミノ*N*-(4-ピリジニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 348 [(M+H)$^+$] ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.87 (s, 1H), 8.76 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 8.72 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.44 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 8.25 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.16 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 7.77 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 7.63 (s, 2H)
33		3-アミノ*N*-(4-ピリジニル)-6-(5-ピリミジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) *m/z* 349 [(M+H)$^+$] ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.86 (s, 1H), 9.55 (s, 2H), 9.30 (s, 1H), 8.73 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.44 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.27 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.63 (s, 2H)

[表6]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
34		3-アミノ-*N*-(4-フルオロフェニル)-*N*-(2-メチルプロプ-2-エン-1-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI, m/z) 419 [(M+H)+]; 1H NMR (300 MHz, CDCl3) δ 9.18 (s, 1H), 8.64 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.33 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.42 – 7.34 (m, 1H), 7.34 – 7.25 (m, 2H), 7.16 – 7.06 (m, 2H), 6.45 (brs, 2H), 4.92 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.40 (s, 2H), 1.84 (s, 3H).
35		3-アミノ-*N*-(4-フルオロフェニル)-*N*-(プロプ-2-イン-1-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI, m/z) 403 [(M+H)+]; 1H NMR (300 MHz, CDCl3/CD3OD) δ 9.14 – 9.13 (m, 1H), 8.58 (dd, J = 2.6, 1.2 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.51 – 7.39 (m, 3H), 7.27 – 7.11 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 2.36 (s, 1H).
36		3-アミノ-*N*-フェニル-N-((*Z*)-4-(プロプ-2-イルオキシ)ブト-2-エニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI): m/z (%): 455 (100) [(M+H)+]; 1H NMR (500 MHz, CDCl3): δ 2.39 (t, J = 2.4 Hz, 1 H, CH), 3.98 (d, J = 2.3 Hz, 2 H, CH2), 3.99 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, CH2), 4.53 (d, J = 7.0 Hz, 2 H, CH2), 5.70 (tdd, J = 11.0, 6.6, 1.3 Hz, 1 H, CH), 5.85 (tdd, J = 11.0, 7.1, 1.3 Hz, 1 H, CH), 6.41 (bs, 2 H, NH2), 7.25-7.48 (m, 6 H, ArH), 7.66 (dd, J = 8.9, 4.1 Hz, 1 H, ArH), 7.96 (d, J = 7.1 Hz, 1 H, ArH), 8.28-8.35 (m, 1 H , ArH), 8.63 (bs, 1 H, ArH), 9.17 (bs, 1 H , ArH).
37		3-アミノ-*N*-ベンジル-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI, m/z) 459.13 [(M+Na)+], 437.15 [(M+1)+] 1H NMR (500 MHz, CDCl3) δ9.18 (s, 1H) , 8.64 (d, J=4.8 Hz, 1H), 8.31 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.97 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.69 (d, J =8.5 Hz, 1H) , 7.26-7.40 (m, 8H), 7.18 (d, J=8.0 Hz, 2H), 6.42 (s, 1H), 5.07 (s, 2H).
38		3-アミノ-*N*-((*E*)-4-(ペント-4-イニルオキシ)ブト-2-エニル)-*N*-フェニル--6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI): m/z: (%): 505 (100) [M+ + Na]. 1H NMR (500MHz, CDCl3) δ 9.22 (s, 1 H, ArH), 8.65 (d, J = 4.0 Hz, 1 H, ArH), 8.44 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, ArH), 7.98 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, ArH), 7.70 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, ArH), 7.39-7.49 (m, 4 H, ArH), 7.29–7.31 (m, 2 H, ArH), 6.39 (bs, 2 H, NH2), 5.90 (dt, J = 15.4, 6.4 Hz, 1H, CH), 5.67 (dt, J = 15.5, 5.8 Hz, 1 H, CH), 4.46 (d, J = 6.2 Hz, 2 H, CH2), 3.96 (d, J = 4.8 Hz, 2 H, CH2), 3.45 (t, J = 6.2 Hz, 2 H, CH2), 2.26 (dt, J = 7.1, 2. Hz, 2 H, CH2), 1.93 (t, J = 2.6 Hz, 1 H, CH), 1.76 (quintet, J = 6.6 Hz, 2 H, CH2).
39		3-アミノ-*N*-プレニル-*N*-(4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) m/z 416 [(M+H)+], 438 [(M+Na)+] 1H NMR (500MHz, CDCl3) δ 9.20 (s, 1H), 8.66 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.63 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 8.35 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.40 (dd, J = 7.9, 4.9 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 6.32 (s, 2H), 5.33 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.78 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 1.71 (s, 3H), 1.56 (s, 3H).
40		3-アミノ-*N*-(2-シクロペンチリデンエチル)-*N*-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (ESI) m/z 441 [(M+H)+] 1H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 9.17 (s, 1H), 8.63 (br s, 1H), 8.31 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.43–7.40 (m, 3H), 7.37 (dd, J = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 7.30 (m, 2H), 6.38 (s, 2H), 5.50 (m, 1H), 4.42 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 2.45 (br s, 2H), 1.98 (br s, 2H), 1.55 (m, 4H).
41		3-アミノ-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-4,4-ジメチル-1(2H)-キノリニル)メタノン	MS (EI), m/z 414 [(M)+] 1H NMR (500MHz, CDCl3) δ 9.22 (brs, 1H), 8.66 (brs, 1H), 8.34 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.19 – 7.14 (m, 2H), 7.05 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.17 (s, 2H), 3.96 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 1.87 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 1.40 (s, 6H); 13C NMR (126 MHz, CDCl3) δ 166.93, 161.17, 154.97, 150.27, 148.41, 146.85, 140.35, 136.80, 134.62, 134.23, 129.80, 126.29, 126.17, 125.68, 125.35, 124.53, 123.68, 115.78, 102.73, 42.70, 38.68, 33.71, 28.83.

[表7]

実施例	構造式	化合物名	質量分析およびNMR
42		5-アミノ-*N*-フェニル-*N*-プレニル-2-(ピリジン-3-イル)キノリン-6-カルボキサミド	MS (ESI) m/z 409 [(M+H)+] 1H-NMR (CDCl3) δ: 9.30 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.45 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 7.19–7.05 (m, 7H), 5.69 (s, 2H), 5.41 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 4.56 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 1.72 (s, 3H), 1.56 (s, 3H).
43		3-アミノ-*N*-(4-*tert*-ブチルフェニル)-*N*-(3-メチルブト-2-エン-1-イル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (EI) m/z 470 [(M)+] 1H NMR (500MHz, CDCl3) δ 8.69 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 7.68 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.19 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.42 (s, 2H), 5.39 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 4.40 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 1.71 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.39 (s, 9H); 13C NMR (126 MHz, CDCl3) δ 165.97, 161.53, 154.55, 152.29, 150.51, 146.53, 145.91, 138.82, 136.24, 129.60, 129.58, 126.53, 124.84, 121.33, 119.65, 116.01, 102.23, 49.21, 34.91, 31.56, 25.85, 17.83.
44		3-アミノ-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-4,4-ジメチル-1(2H)-キノリル)メタノン	MS (EI), m/z 414 [(M)+] 1H NMR (500MHz, CDCl3) δ 8.69 (s, 2H), 8.01 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 7.71 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.20 – 7.11 (m, 2H), 7.14 – 7.04 (m, 1H), 6.25 (s, 2H), 4.01 – 3.90 (m, 2H), 1.89 – 1.85 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.39 (s, 3H); 13C NMR (126 MHz, CDCl3) δ 166.83, 161.13, 154.74, 150.51, 146.60, 145.66, 140.47, 136.78, 129.80, 126.36, 126.23, 125.81, 125.39, 125.32, 121.24, 116.02, 103.53, 42.74, 38.69, 33.77, 28.83.
45		3-アミノ-*N*-(3-メトキシフェニル)-*N*-プレニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (EI), m/z 444 [(M)+]. 1H NMR (500MHz, CDCl3) δ 8.68 (d, J = 4.5 Hz, 2H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.31 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.84 – 6.82 (m, 1H), 6.47 (s, 2H), 5.39 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 4.42 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.50 (s, 3H); 13C NMR (126 MHz, CDCl3) δ 165.84, 161.50, 160.46, 154.59, 150.46, 146.64, 145.86, 142.56, 136.36, 130.26, 129.65, 124.79, 122.50, 121.31, 119.54, 115.99, 115.85, 114.53, 101.99, 55.54, 49.00, 25.84, 17.88.
46		3-アミノ-*N*-(4-メトキシフェニル)-*N*-プレニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (EI), m/z 444 [(M)+] 1H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 8.69 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 7.69 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.43 (s, 2H), 5.38 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.40 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.47 (s, 3H); 13C NMR (126 MHz, CDCl3) δ 166.00, 161.52, 160.03, 154.65, 150.53, 146.53, 145.96, 136.51, 134.04, 131.51, 129.61, 124.81, 121.38, 119.47, 116.09, 114.78, 101.97, 55.58, 48.99, 25.88, 17.87.
47		3-アミノ- *N*-メタリル-*N*-フェニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド	MS (EI), m/z 400 [(M)+] 1H NMR (500MHz, CDCl3)δ 8.67 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 7.64 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 2.8 Hz, 3H), 7.31 (t, J = 9.6 Hz, 2H), 6.53 (s, 2H), 4.91 (s, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.43 (s, 2H), 1.84 (s, 3H); 13C NMR (126 MHz, CDCl3) δ 166.12, 161.35, 154.58, 150.40, 147.08, 145.67, 141.91, 140.84, 129.75, 129.59, 129.35, 128.72, 124.73, 121.21, 115.95, 112.62, 101.39, 56.62, 20.56.

[0064] 〔実験例〕

〔実験例１〕本発明の化合物のSOD1-Derlin-1結合阻害効果

１．方法

１－１．主な試薬、抗体など

Western blottingに用いた抗体は、anti-Flag抗体(M2): Sigma、anti-HA抗体 (3F10): Roche、anti-α-tubulin抗体: Harlan、Anti-rat IgG HRP-linked抗体: Cell Signaling、Anti-mouse IgG HRP-linked抗体: GE healthcareよりそれぞれ購入した。

Anti-Flag M2 affinity gelおよび1x Flag peptideはSigmaより購入した。

Cenrifugal Filters (Amicon Ultra 10K) は、Milliporeより購入した。

[0065] １－２．方法

細胞培養

細胞は、ヒト胎児腎臓由来 Human Embryonic Kidney 293A (HEK293A)細胞を用いた。補体不活性化した10 % fetal bovine serum (FBS, Vitromex)、100 units/mL Penicillin G (Meiji) を含む High Glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM: 4.5 mg/ml glucose, Sigma) 中で、37℃、5 % CO_2 の条件に設定したインキュベーターに入れ、培養した。

トランスフェクション

HEK293A 細胞へのトランスフェクションは、プラスミド 1 μgに対して3 μLの割合で PEI-Max (Polyscience)を用いて行った。DMEMとPEI-Maxを混合して、5 分間静置後、プラスミド DNAのDMEM溶解液に加えて、さらに15分間静置し、播種後12-24時間培養した後で、10 % FBSのみ含むDMEMに培地交換した細胞の培養液中に添加した。

トランスフェクトしたプラスミドは以下の通りである；

pcDNA3.0-Derlin-1-HA、pcDNA3.0-Flag-SOD1 G93Aおよびその他変異 123 種類。

上記プラスミドは、既報のものを使用した (Nishitohら, Genes Dev 22, 1451-1464, (2008)：Fujisawaら, Ann Neurol 72, 739-749, (2012)を参照のこと）。

細胞溶解

共免疫沈降実験用のHEK293A細胞の溶解には、IP lysis buffer (20 mM Tris-HCl pH 7.5、150 mM NaCl、10 mM EDTA pH 8.0、1 % Triton-X 100、5 μg/mL leupeptin、1 mM phenylmetylsulfonul fluoride) を使用した。

[0066] Cell-baseな共免疫沈降アッセイ

24ウェルプレートでトランスフェクション後 12時間あるいは24時間培養した細胞培養液を200 μLの培地に交換し、1 % DMSOあるいは各濃度の各種化合物を培養液中に添加した。36 時間あるいは24時間後に、細胞をIP lysis buffer 300 μL/wellで 4℃にて25分間インキュベートすることにより溶解し、4℃、15000 rpm、10分間遠心して上清を回収した。この上清にAnti-Flag M2 affinity gelを液量で20 μL加え、4℃にて、25分間転倒混和し反応させた。反応後、上清を除去して High salt wash buffer (1 % Triton X 100、500 mM NaCl、20 mM Tris-HCl pH 7.5、5 mM EGTA)で2 回、Low salt wash buffer (150 mM NaCl、20 mM Tris-HCl pH 7.5、5 mM EGTA)で l 回ずつ洗浄した。最後に、50 μL の 2x SDS sample bufferを加えて、98℃で3分間ボイルし、SDS-PAGEサンプルとした。Lysateは、上清と等量の2x SDS sample bufferを加えて、98℃で3分間ボイルし、SDS-PAGEサンプルとした。

[0067] ウエスタンブロッティング分析

SDS-PAGE後、ゲルからpolyvinylidene difluoride membrane (PVDF) (0.2 μm, Pall) にタンパク質を転写し、5 % スキムミルクを含むTBS-T (150 mM NaCl、50 mM Tris-HCl pH 8.0、0.05 % Tween 20) で室温にて2時間以上ブロッキングした後、5 % bovine serum albuminと0.1 % NaN_3を含むTBS-Tで希釈した1次抗体を、4℃にて12時間以上、PVDF膜上の各分子に結合させた。反応後、5 %スキムミルクを含むTBS-Tで希釈した2次抗体 (HRP-linked 2nd antibody) を、1時間室温にて1次抗体に結合させた。この後、TBS-Tで15分間×3 回以上洗浄を行い、enhanced chemiluminescence (ECL) システムにより検出を行った。

[0068] マウス

野生型マウス (C57BL/6) およびSOD1 G93Aトランスジェニックマウス (G1L

/+ line, backcrossed to C57BL/6) は、The Jackson Laboratoryより購入し、繁殖・飼育したものを用いた。アッセイはすべて雄のマウスを用いて行った。

[0069] 脳室内 (i.c.v. ;Intracerebroventricular) 投与

SOD1 G93Aトランスジェニックマウス (平均発症時期: 28.1+1.3週齢 (Nishitohら, Genes Dev 22, 1451-1464, 2008)) に対して、22週齢から、Brain infusion kit 3(Alzet)とオスモティックポンプ (Model 2006, Alzet) を用いて、化合物の脳室内持続投与を行った (0.15 μL/h, 6週間/ポンプ) 。準備段階として、50 %DMSO/PBSあるいは各化合物を、ポンプに充填し、0.9 %NaClに浸して、37℃で60時間以上プライミングを行った。ポンプの取り付けの際は、0.01 μL/g xylazine (1 mg/ml, Sigma) と0.007 μL/g Pentobarbital Sodium Salt (5.4 mg/ml, ナカライ) の腹腔内投与により麻酔を施した。マウス頭部の毛を剃り、マニピュレーターを取り付けた脳定位固定装置(ナリシゲ)にマウスを固定後、皮膚を切開して頭蓋骨を露出させた。Bregmaの座標を0に設定し、右方に1.1 mm、後方に0.5 mm、下方に2.5 mmの位置を投与脳室座標とした。ポンプを背側皮下に配置し、接着剤を用いてカニューレを固定後、マウス頭部の皮膚を接着剤で閉じた。ALS 病態発症により手術が困難になるまで、6 週間毎にポンプ交換を行った。ポンプ交換の際には、導入には4 %、維持には2 %のIsoflurane (和光純薬)を用いてマウスへの麻酔を施した。ポンプ挿入部位の背面の毛を剃り、皮膚を切開してポンプを取り出し、あらかじめ50 %DMSO/PBSあるいは各化合物を充填しておいた新しいポンプと交換した。ポンプ交換後、開いた皮膚は、Wound clip (Alzet)により 閉じた。

[0070] 行動解析

マウスが25週齢になった週から、週に3回、ロータロッド試験により運動機能測定を行った。ロータロッド (室町機械) を、到達回転速度40 rpm、加速時間180秒として設定し、最長300秒間で対象マウスが落下するまでの時間を記録した。180秒間の休憩時間を設けて各回2度の測定を行い、良い方の記録をその日の結果として週の平均値を算出した。2週続けて前週の結果を下回っ

た場合に、ピークとなった2週間前の週齢をそのマウスの onset（病態発症までの期間）として定義した。

[0071] 運動神経細胞のカウントアッセイ

31週齢のマウスを、4 %パラホルムアルデヒド/PBS を用いて濯流固定し、脳脊髄組織を取り出した。4 %パラホルムアルデヒド/PBSに浸して、4℃にて、24時間以上固定した後、30 %スクロース液/MilliQに移して、4℃にて、24時間以上で置換した。腰髄領域を切断し、ドライアイス上でクリオモルド1号（SAKURA）に垂直に立てて、クリオマウント1（低粘度、武藤化学）を満たして固定し、脊髄組織凍結サンプルを作製した。-20℃に設定した CM3050 S クライオスタット（Leica）を用い、40 μm切片を作製した。ゼラチンコートしたスライドガラス（MAS コート、MATSUNAMI）上に切片を貼り付け、十分に乾燥させた後、5 %酢酸/95 %エタノール中で、60℃にて、一晩放置した。95 %エタノール、70 %エタノールの順に5 分間ずつ馴染ませた後、軽く水洗して0.1 % Cresyl Violet Acetate (WALDECK; 1A-400) /10 %酢酸/MilliQ に浸し、電子レンジにて沸騰直前まで加熱し、室温まで戻すことでニッスル染色を行った。再び軽く水洗した後、70 %エタノールに浸し、分別状況を確認した。95 %エタノール、100 %エタノールに順次5分間ずつ浸し、Xylene(和光純薬)の脱水系列を経て、マウントクイック（大道産業）にて封入した。明視野顕微鏡（Leica）により、20倍の対物レンズを使用して染色切片の観察を行い、脊髄前角に存在する直径20 μm以上の大きさで神経細胞の形態が確認でき、核と区別して細胞質の染色が判断できるものを運動神経細胞としてカウントした。

[0072] ２．結果

Cell-baseな共免疫沈降アッセイ

本発明の化合物（実施例化合物１～実施例化合物４７）について、細胞培養液中への添加によって細胞内のALS関連変異型SOD1とDerlin-1の結合を阻害できるかどうかを共免疫沈降実験によって検討した。この実験系では、すでに形成された変異型SOD1-Derlin-1複合体を解離させるだけではなく、細胞内

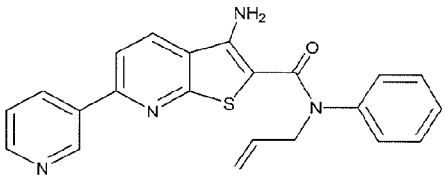
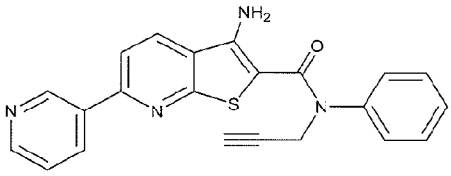
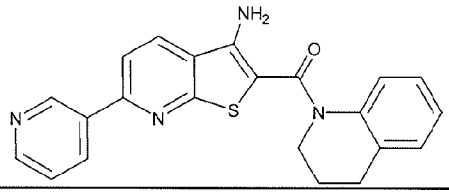
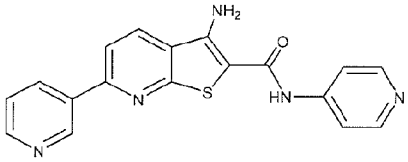
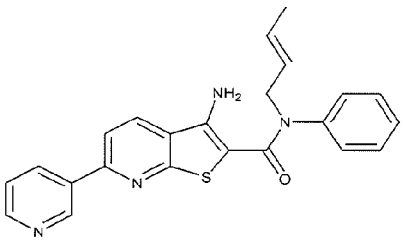
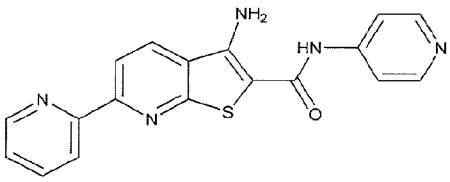
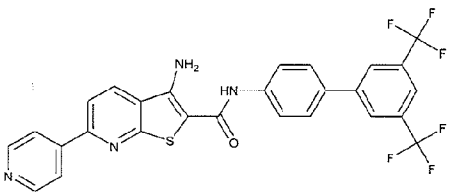
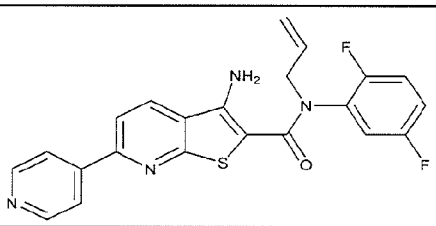
で新規合成された変異型SOD1とDerlin-1の結合をあらかじめ阻害できるどうかについても確認できる。

Flag-SOD1 G93A（ALS関連変異型）とDerlin-1-HAを過剰発現させた細胞を培養し、その培養液中に本発明の化合物を添加し、培養後、細胞溶解液から抗Flag抗体を用いて免疫沈降を行った。実施例化合物１（5 μM、10 μM、20 μM）と実施例化合物４（0.625 μM、1.25 μM、2.5 μM、5 μM）を用いて行った実験結果を図１に示す。化合物を添加していない第２レーンと比較して、実施例化合物１および実施例化合物４を加えた場合には、抗Flag抗体による免疫沈降物に対する抗HA抗体によるブロッティングのバンドが薄くなっていた（IB: HA）。すなわち、実施例化合物１および実施例化合物４を細胞培養液に添加すると変異型SOD1-Derlin-1結合が阻害され、変異型SOD1と結合して共沈するDerlin-1の量が減少していることを示している。

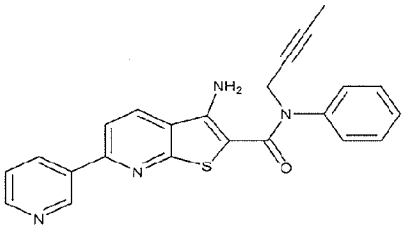
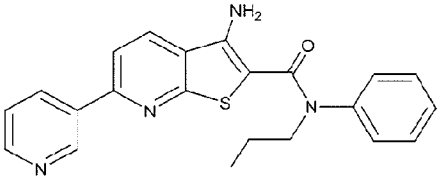
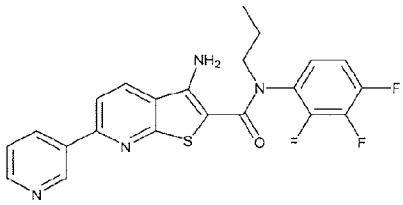
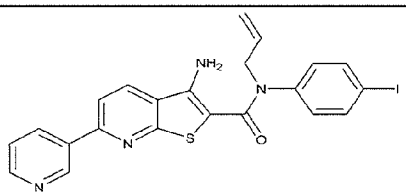
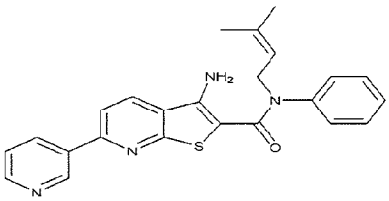
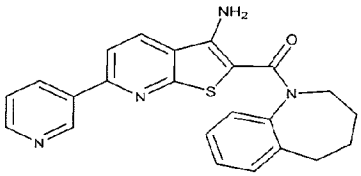
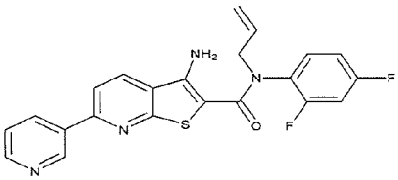
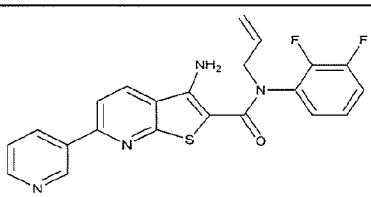
[0073] 上記SOD1-Derlin-1結合阻害実験においては、ALS 病態発症に関与する代表的な変異型SOD1であるSOD1 G93Aを用いたが、先行研究により122種類のALS関連変異型 SOD1がDerlin-1と結合することが明らかになっている（Fujisawaら, Ann Neurol 72, 739-749, (2012)）。そこで、実施例化合物１がこれら複数種類の変異型 SOD1とDerlin-1の結合を阻害するかを細胞レベルでの共免疫沈降実験により検討したところ、すべての変異型SOD1とDerlin-1の結合を阻害することが確認された（図２～図９）。さらに、実施例化合物１は、変異型SOD1とDerlin-1の結合を阻害する条件下において、SOD1のダイマー化やDerlin-1の複合体形成に対しては阻害活性を示さなかったことも確認しており、実施例化合物１が非特異的なタンパク質間相互作用阻害活性を持つのではなく、標的とする変異型SOD1-Derlin-1結合に選択性を有することが示された。

[0074] 表８～表１３に、本発明の実施例化合物１～４７のCell-baseな共免疫沈降アッセイの結果を示す。活性値（スコア）は、阻害効果がみられなかったものを０、阻害効果がみられたものを１、顕著な阻害効果が見られたものを２および実施例１の化合物よりも阻害効果が高いものを３とした（実施例化合物１～４７の全てに阻害効果が認められた）。

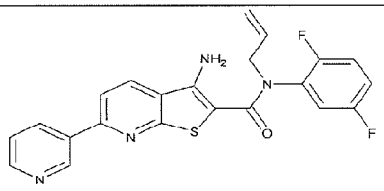
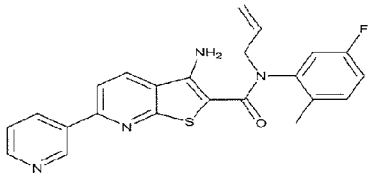
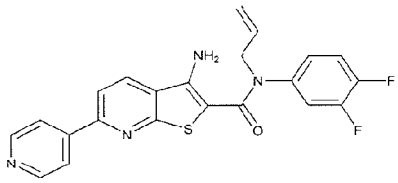
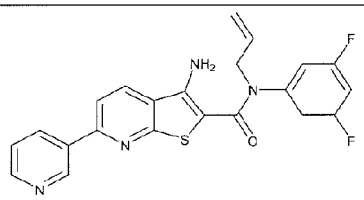
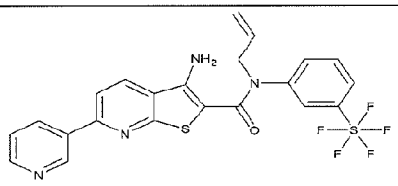
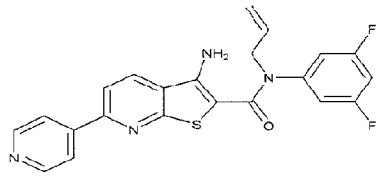
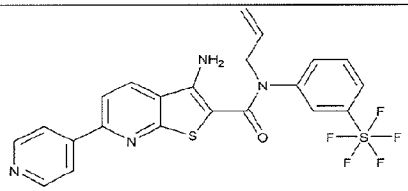
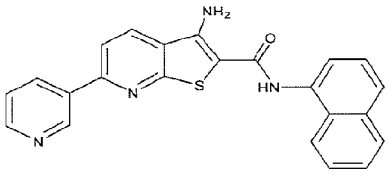
[0075] [表8]

実施例	構造式	アッセイ濃度（μM）	活性値（スコア）	モデルマウスにおける効果
1		20	2	有意な効果有り
2		20	2	
3		20	2	
4		5	2	
5		10	2	
6		2.6	1	
7		2.6	1	
8		5	1	

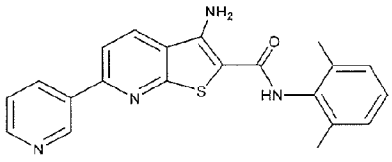
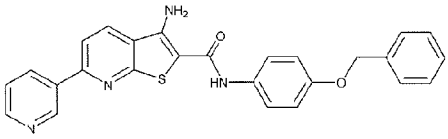
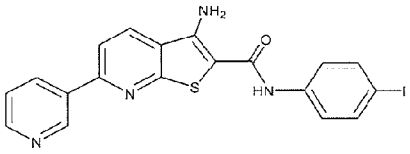
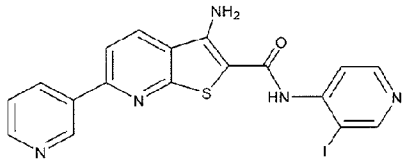
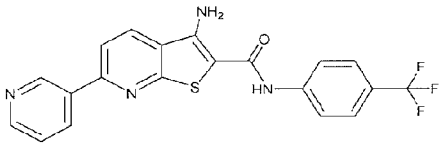
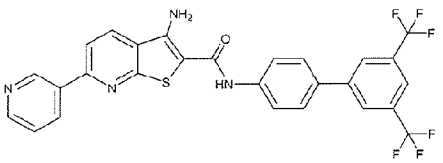
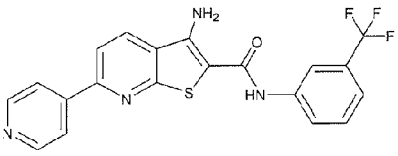
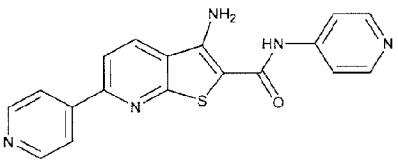
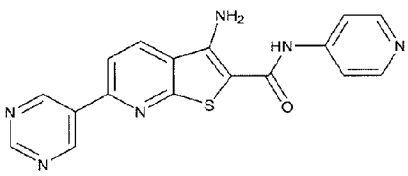
[表9]

実施例	構造式	アッセイ濃度（μM）	活性値（スコア）	モデルマウスにおける効果
9		5	1	
10		20	2	
11		20	2	
12		20	2	
13		20	2	
14		20	2	
15		20	2	
16		20	2	

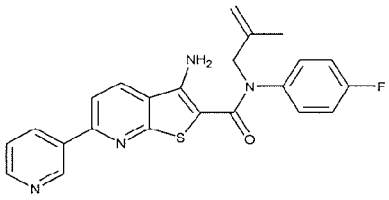
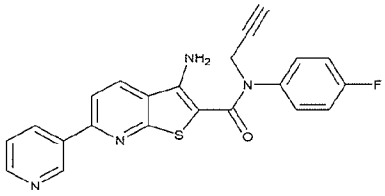
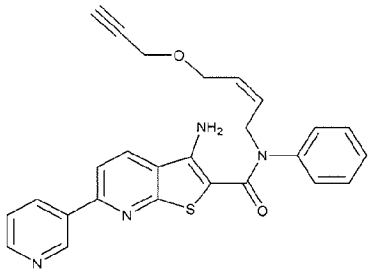
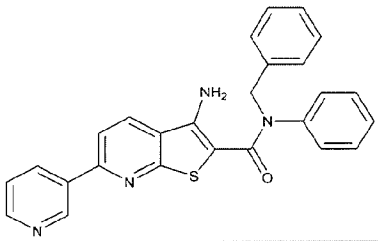
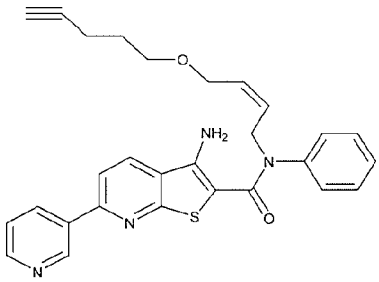
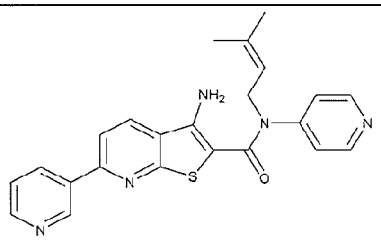
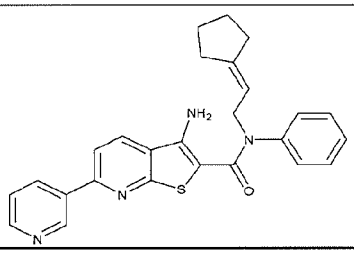
[表10]

実施例	構造式	アッセイ濃度（μM）	活性値（スコア）	モデルマウスにおける効果
17		20	2	
18		20	2	
19		20	2	
20		20	2	
21		20	2	
22		20	2	
23		20	2	
24		20	1	

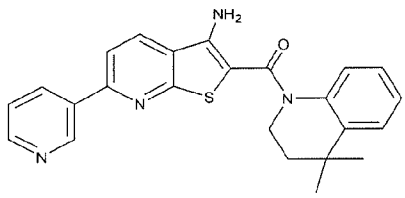
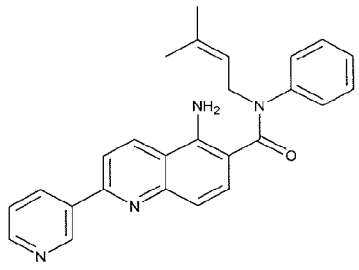
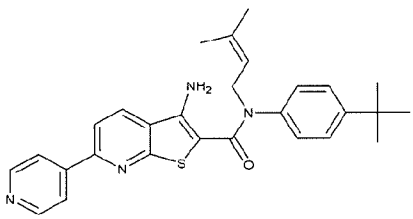
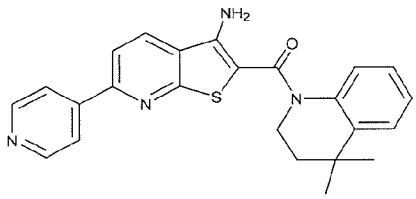
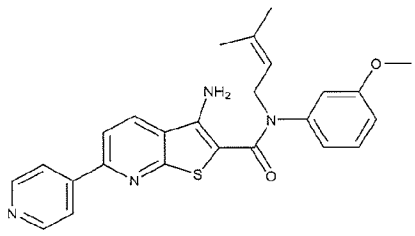
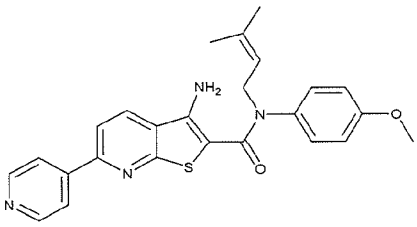
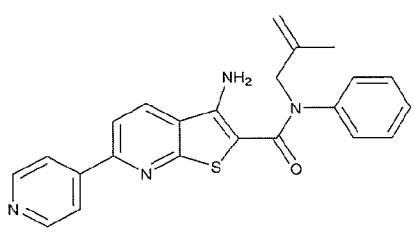
[表11]

実施例	構造式	アッセイ濃度（μM）	活性値（スコア）	モデルマウスにおける効果
25		20	1	
26		20	1	
27		20	1	
28		20	1	
29		20	1	
30		20	1	
31		20	1	
32		20	1	
33		20	1	

[表12]

実施例	構造式	アッセイ濃度（μM）	活性値（スコア）	モデルマウスにおける効果
34		20	1	
35		20	1	
36		20	1	
37		20	2	
38		20	2	
39		20	1	
40		20	1	

[表13]

実施例	構造式	アッセイ濃度（μM）	活性値（スコア）	モデルマウスにおける効果
41		20	3	
42		20	1	
43		20	1	
44		20	1	
45		20	1	
46		20	2	
47		20	2	

[0076] 変異型SOD1-Derlin-1結合阻害によるALSモデルマウスの病態改善効果の検討

ALS病態における変異型SOD1-Derlin-1結合の重要性と、本発明の化合物の治療薬としての可能性を検証するため、ALSモデルマウスへ実施例化合物１を投与し、その病態改善効果の検討を行った。この場合、標的とする中枢神経系にて化合物を作用させる必要があるが、一般に薬剤を血流から中枢神経系へ到達させる際、血液脳関門（Blood Brain Barrier: BBB）の透過性が問題となる。そこで、BBB透過性の懸念を排除し、効果的に中枢神経系へ変異型SOD1-Derlin-1結合阻害化合物を届けるために、直接、脳脊髄液中に化合物を投与することにした。また、ALS病態が晩発性・進行性であることをふまえ、持続的に一定濃度の化合物を投与することが、効果的な化合物の活性発揮に繋がると考えられた。そこで化合物の投与法としては、オスモティックポンプを利用したマウス脳室内への持続投与を選択した（DeVosおよびMiller, J Vis Exp, e50326, (2013)：Storkebaumら, Nat Neurosci 8 , 85-92, (2005)：Hajiら, Exp Neurol 237 , 296-303, (2012)：Audetら, PLoS One 7 , e34932, (2012)）。ALSモデルマウスとして雄のSOD1 G93Aトランスジェニックマウスを用い、ALS病態発症以前の22週齢から、脳室内へオスモティックポンプを利用して実施例化合物１（コントロール: DMSO、3 mM 化合物１）の持続投与を行うことで、マウスの運動機能と生存期間に影響がみられるかを検討した。ロータロッド試験に基づく、マウスの運動機能から定義した病態発症までの期間（Onset）は、実施例化合物１投与群においては有意に発症までの期間が遅延した（図１０Ａ）。そして生存期間（Survival）については、onsetと同様、実施例化合物１投与群では、14 %ほどの、有意な生存期間の延長効果が明らかとなった（図１０Ｂ）。

[0077] ALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害化合物による、ALS モデルマウスにおける運動神経細胞死への影響を確認するため、コントロール群の平均的な発症時期であった 31週齢のマウス脊髄において、運動神経細胞をニッスル染色により検出した（図１１）。実施例化合物１投与マウス群における運動神経細胞数をカウントしたところ、有意に運動神経細胞数が多いことが明らか

となった（図１２）。

以上の結果より、ALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合を阻害する本発明の化合物が、in vivoにおいて運動神経細胞死を抑制し、ALS 病態の改善効果を示したと考えられる。

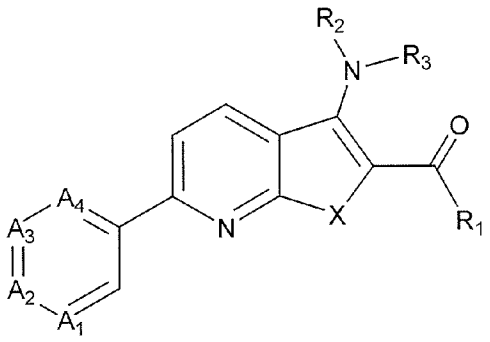
産業上の利用可能性

[0078] 本発明にかかる化合物は、ALS関連変異型SOD1とDerlin-1との結合を阻害する機能を有し、ALSの治療薬として、また、さらなる治療薬の開発のリードとして使用することができる。したがって、医療および創薬の分野においての利用が期待される。

請求の範囲

[請求項1] 下記の一般式（１）で表される化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

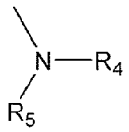
[化1]



（１）

［式（１）中、Ｘは硫黄原子または－ＣＨ＝ＣＨ－を表し、A_1～A_4はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であってA_1～A_4のうち少なくとも１つは窒素原子であり、R_1は１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（または、３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）、３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基、２，３，４，５－テトラヒドロ－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基または下記の式（２）で表される置換基

[化2]



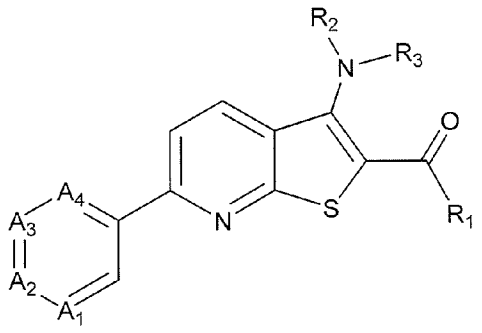
（２）

（式（２）中、R_4は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、無置換もしくは置換基を有していてもよいピリジル基または無置換もしくは置換基を有していてもよいナフチル基、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基（酸素原子および／または二重結合を含んでもよい）または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基を表す）のいずれかであり、R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換

もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、R_3は水素原子を表し、あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。]

[請求項2] 下記の一般式（１ａ）で表される請求項１に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

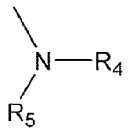
[化3]



(1a)

[式（１ａ）中、A_1～A_4はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であって、A_1～A_4のうち少なくとも１つは窒素原子であり、R_1は１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（または、３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）、３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基、２，３，４，５－テトラヒドロ－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基または下記の式（２）で表される置換基

[化4]



(2)

（式（２）中、R_4は無置換もしくは置換基を有していてもよいフェニル基、無置換もしくは置換基を有していてもよいピリジル基または無置換もしくは置換基を有していてもよいナフチル基、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基（酸素原子および／または二重結合を含んでもよい）または無置換もしくは置

換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基を表す）のいずれかであり、R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、R_3は水素原子を表し、あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。］

［請求項3］ R_2およびR_3が水素原子である請求項２に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

［請求項4］ A_1が窒素原子、A_2、A_3およびA_4が炭素原子、R_1が２，３，４，５－テトラヒドロ－１Ｈ－１－ベンゾアゼピニル基、１，２，３，４－テトラヒドロキノリル基（３，４－ジヒドロ－１（２Ｈ）－キノリル基）または３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基である請求項２または３に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

［請求項5］ A_2が窒素原子、A_1、A_3およびA_4が炭素原子、R_1が３，４－ジヒドロ－４，４－ジメチル－１（２Ｈ）－キノリル基である請求項２または３に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

［請求項6］ A_1が窒素原子、A_2、A_3およびA_4が炭素原子、R_4が４－ピリジル基、２－ヨード－４－ピリジル基、フェニル基、４－フルオロフェニル基、２，３，４－トリフルオロフェニル基、４－ヨードフェニル基、２，４－ジフルオロフェニル基、２，３－ジフルオロフェニル基、２，５－ジフルオロフェニル基、３，５－ジフルオロフェニル基、５－フルオロ－２－メチルフェニル基、３－ペンタフルオロスルファニルフェニル基、２，６－ジメチルフェニル基、４－ベンジルオキシフェニル基、４－トリフルオロメチルフェニル基、３，５－ビス（トリフルオロメチル）ビフェニル基または１－ナフチル基、R_5が水素原子、１－プロピル基、２－ブテニル基、３－メチル－２－ブテニル基、２－プロペニル基、２－メチル－２－プロペニル基 、２－シ

クロペンチリデンエチル基、、２－プロピニル基、２－ブチニル基、（Ｚ）－４－（プロプ－２－イルオキシ）ブト－２－エニル基、（Ｅ）－４－（プロプ－２－イルオキシ）ブト－２－エニル基またはベンジル基である請求項２または３に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

[請求項7] Ａ$_2$が窒素原子、Ａ$_1$、Ａ$_3$およびＡ$_4$が炭素原子、Ｒ$_4$が４－ピリジル基、フェニル基、３－トリフルオロメチルフェニル基、２，５－ジフルオロフェニル基、３，５－ジフルオロフェニル基、３，４－ジフルオロフェニル基、３－トリフルオロメチルフェニル基、３－メトキシフェニル基、４－メトキシフェニル基、４－tert－ブチルフェニル基、３－ペンタフルオロスルファニルフェニル基または３，５－ビス（トリフルオロメチル）ビフェニル基、Ｒ$_5$が水素原子、２－プロペニル基、３－メチル－２－ブテニル基または２－メチル－２－プロペニル基である請求項２または３に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

[請求項8] Ａ$_4$が窒素原子、Ａ$_1$、Ａ$_2$およびＡ$_3$が炭素原子、Ｒ$_4$が４－ピリジル基、Ｒ$_5$が水素原子ある請求項２または３に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

[請求項9] Ａ$_1$およびＡ$_3$が窒素原子、Ａ$_2$およびＡ$_4$が炭素原子、Ｒ$_4$が４－ピリジル基、Ｒ$_5$が水素原子ある請求項２または３に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

[請求項10] 一般式（１ａ）で表される化合物が、N-アリル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-プロパルギル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、(3-アミノ- 6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-1(2H)-キノリニル)メタノン、3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(trans-2-ブテニル)-N-フェニル-6-(

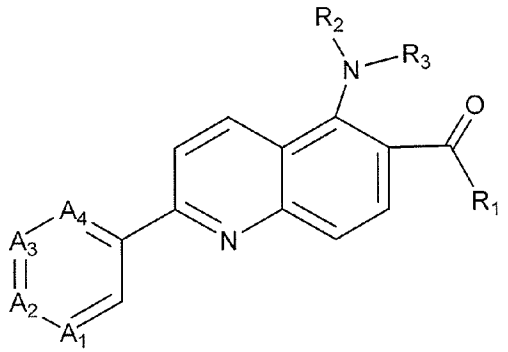
3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(2-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-(3',5'-ビス(トリフルオロメチル)ビフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(2,5-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(2-ブチニル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-n-プロピル-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-n-プロピル-3-アミノ-N-(2,3,4-トリフルオロフェニル) -6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル-3-アミノ-N-(4-ヨードフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-(3-メチル-2-ブテニル)-3-アミノ-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、[3-アミノ-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル](2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[b]アゼピン-1-イル)メタノン、N-アリル3-アミノ-N-(2,4-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(2,3-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(2,5-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル-3-アミノ-N-(5-フルオロ-2-メチルフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(3,4-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(3,5-ジフルオロフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(3-(ペンタフルオロ-λ^6-スルファニル)フェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(3,5-ジフルオロフェニル)-6-(4-ピリ

ジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、N-アリル3-アミノ-N-(3-(ペンタフルオロ-λ⁶-スルファニル)フェニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N- (1-ナフチル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(2,6-ジメチルフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-[4-(ベンジルオキシ)フェニル]-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-ヨードフェニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(2-ヨード-4-ピリジニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-6-(3-ピリジニル)-N-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(3',5'-ビス(トリフルオロメチル)-[1,1'-ビフェニル]-4-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-6-(4-ピリジニル)-N-(3-(トリフルオロメチル)フェニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-ピリジニル)-6-(5-ピリミジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-フルオロフェニル)-N-(2-メチルプロプ-2-エン-1-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-フルオロフェニル)-N-(プロプ-2-イン-1-イル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-フェニル-N-((Z)-4-(プロプ-2-イルオキシ)ブト-2-エニル)-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-ベンジル-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-((E)-4-(ペント-4-イニルオキシ)ブト-2-エニル)-N-フェニル--6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-プレニル-N-(4-ピリジニル)-6-(3-ピリ

ジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(2-シクロペンチリデンエチル)-N-フェニル-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-6-(3-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-4,4-ジメチル-1(2H)-キノリニル)メタノン、3-アミノ-N-(4-tert-ブチルフェニル)-N-(3-メチルブト-2-エン-1-イル)-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]2-ピリジニル)(3,4-ジヒドロ-4,4-ジメチル-1(2H)-キノリル)メタノン、3-アミノ-N-(3-メトキシフェニル)-N-プレニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミド、3-アミノ-N-(4-メトキシフェニル)-N-プレニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミドおよび3-アミノ- N-メタリル-N-フェニル-6-(4-ピリジニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-カルボキサミドからなるグループから選択されるものである、請求項２に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

[請求項11] 下記の一般式（１ｂ）で表される請求項１に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

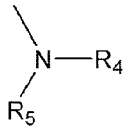
[化5]



(1b)

[式（１ｂ）中、A_1～A_4はそれぞれ独立して炭素原子または窒素原子であって、A_1～A_4のうち少なくとも１つは窒素原子であり、R_1は下記の式（２）で表される置換基

[化6]



（2）

（式（２）中、R_4は無置換または置換基を有していてもよいフェニル基、R_5は水素原子、低級アルキル基、低級アルケニル基、低級アルキニル基を表す）、R_2は水素原子、低級アルキル基、低級アシル基または無置換もしくは置換基を有していてもよい芳香族低級アルキル基、R_3は水素原子を表し、あるいは、R_2とR_3は互いに結合して環を形成してもよい。]

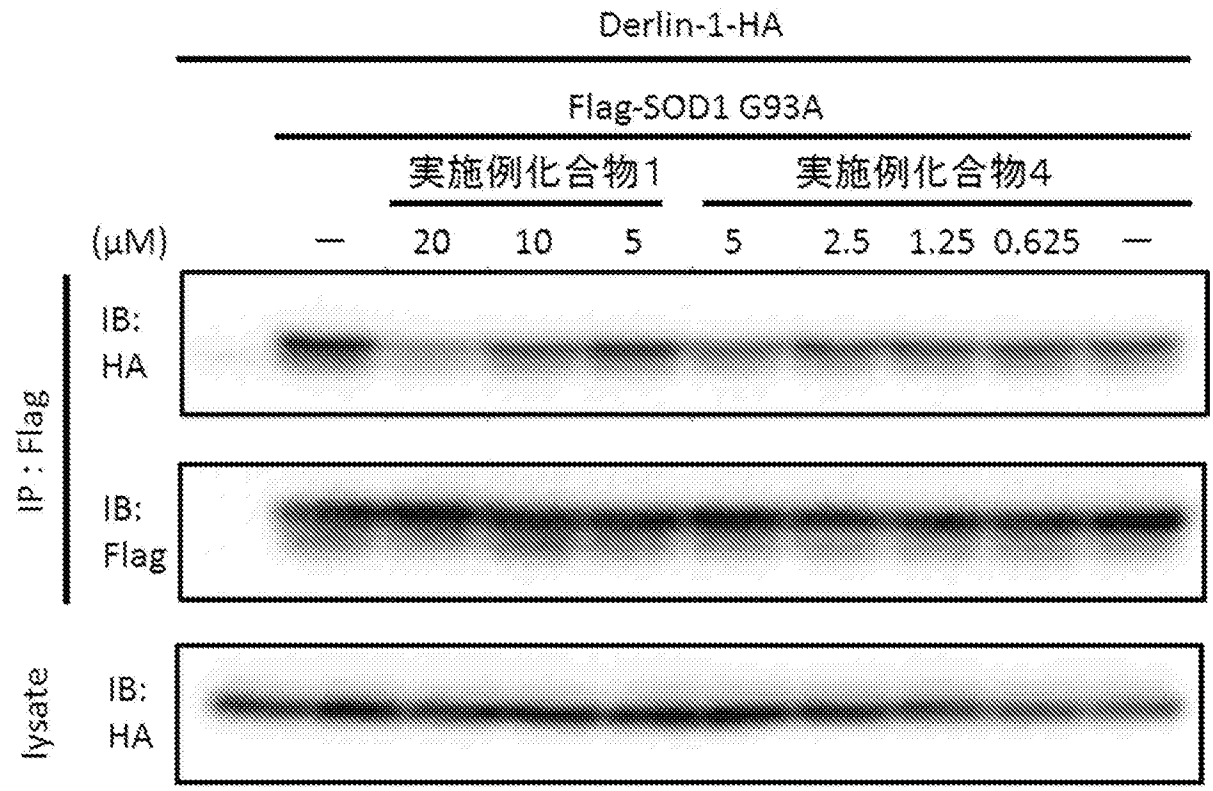
[請求項12] A_1が窒素原子、A_2、A_3およびA_4が炭素原子、R_2およびR_3が水素原子、R_4がフェニル基、R_5が３－メチル－２－ブテニル基である請求項１１に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

[請求項13] 一般式（１ｂ）で表される化合物が5-アミノ-N-フェニル-N-プレニル-2-(ピリジン-3-イル)キノリン-6-カルボキサミドである請求項１１に記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくは水和物。

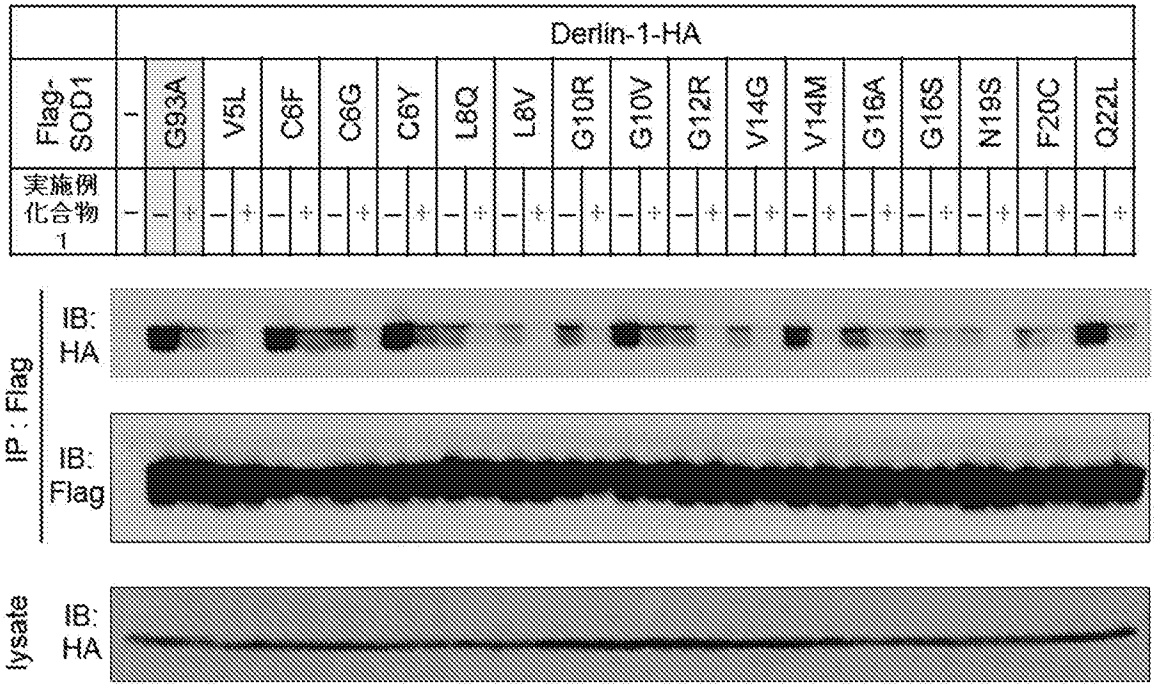
[請求項14] 請求項１ないし１３のいずれかに記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくはそれらの水和物を有効成分として含む、ALS関連変異型SOD1-Derlin-1結合阻害剤。

[請求項15] 請求項１ないし１３のいずれかに記載の化合物もしくはその塩、またはそれらの溶媒和物もしくはそれらの水和物を有効成分として含む医薬または医薬組成物。

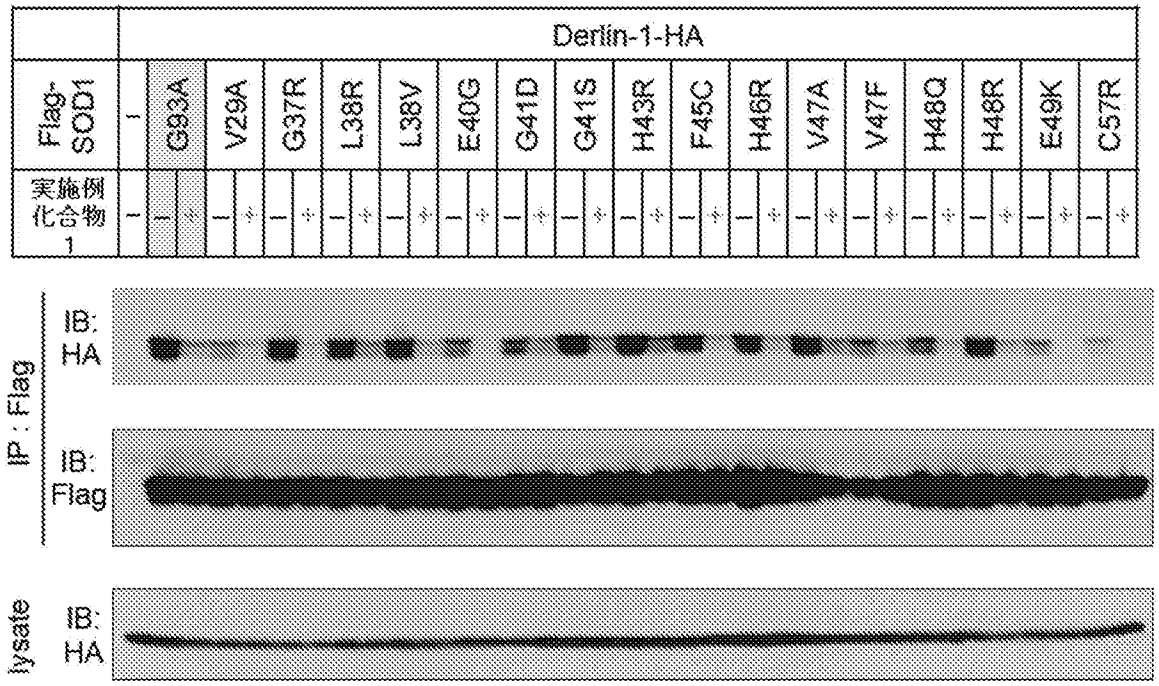
[図1]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1 G93A
実施例化合物1
実施例化合物4
(μM)
—
20
10
5
5
2.5
1.25
0.625
—
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

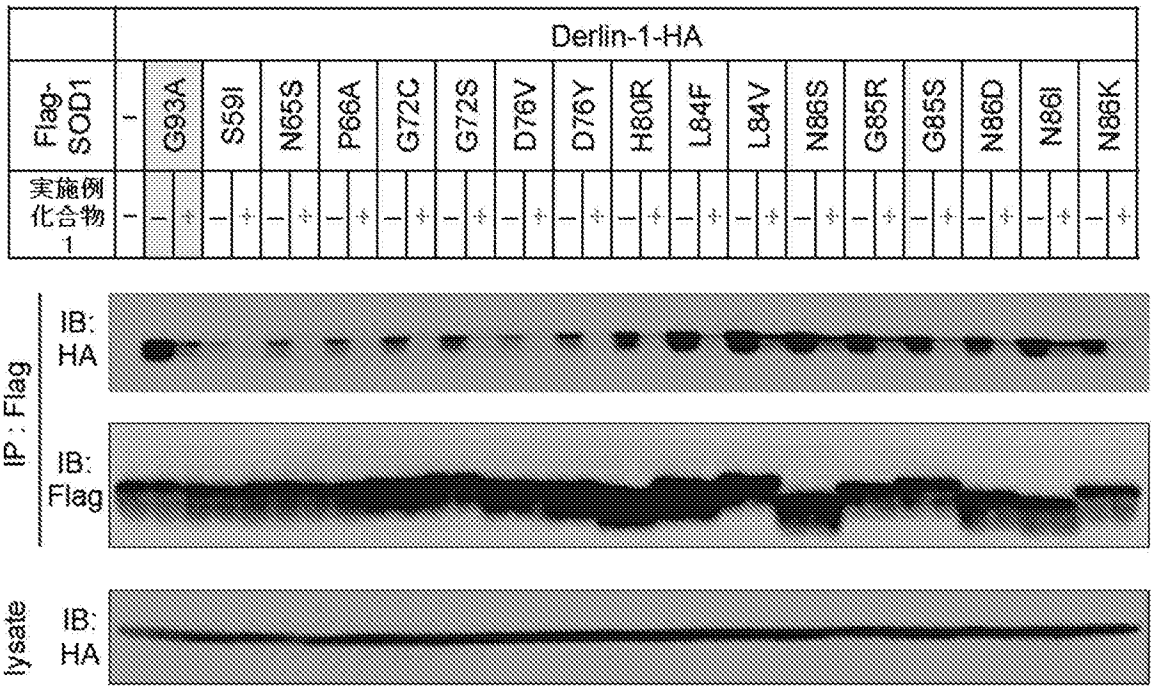
[図2]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
—
G93A
V5L
C6F
C6G
C6Y
L8Q
L8V
G10R
G10V
G12R
V14G
V14M
G16A
G16S
N19S
F20C
Q22L
実施例化合物1
—
+
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

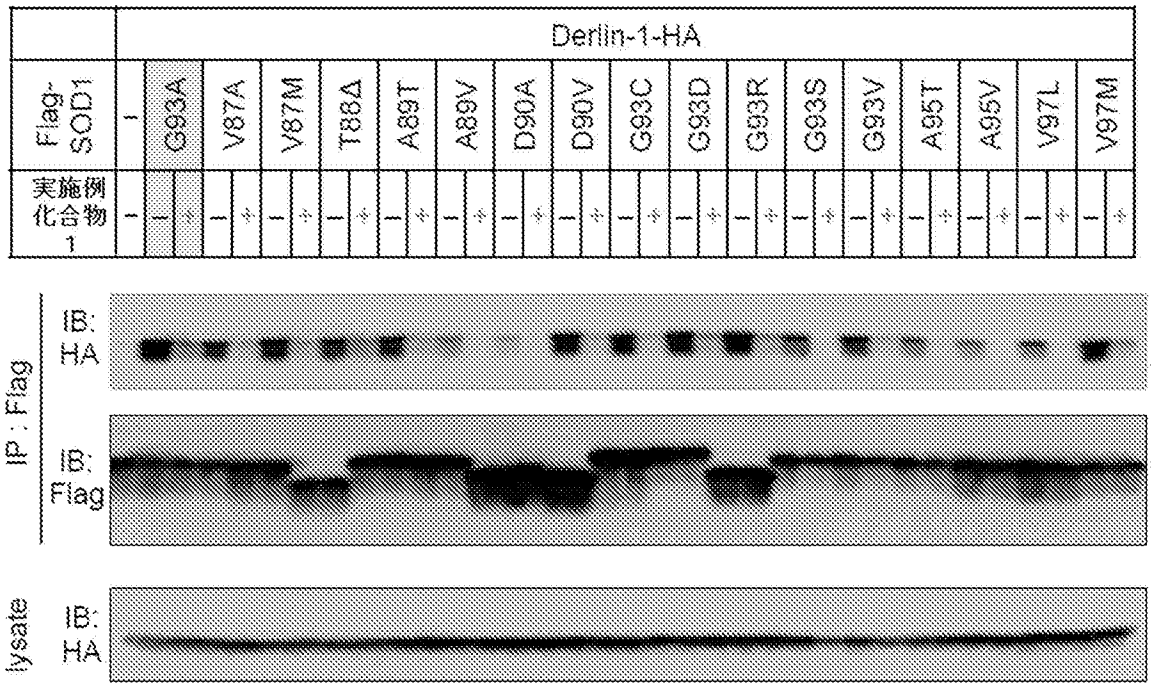
[図3]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
-
G93A
V29A
G37R
L38R
L38V
E40G
G41D
G41S
H43R
F45C
H46R
V47A
V47F
H48Q
H48R
E49K
C57R
実施例化合物1
-
+
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

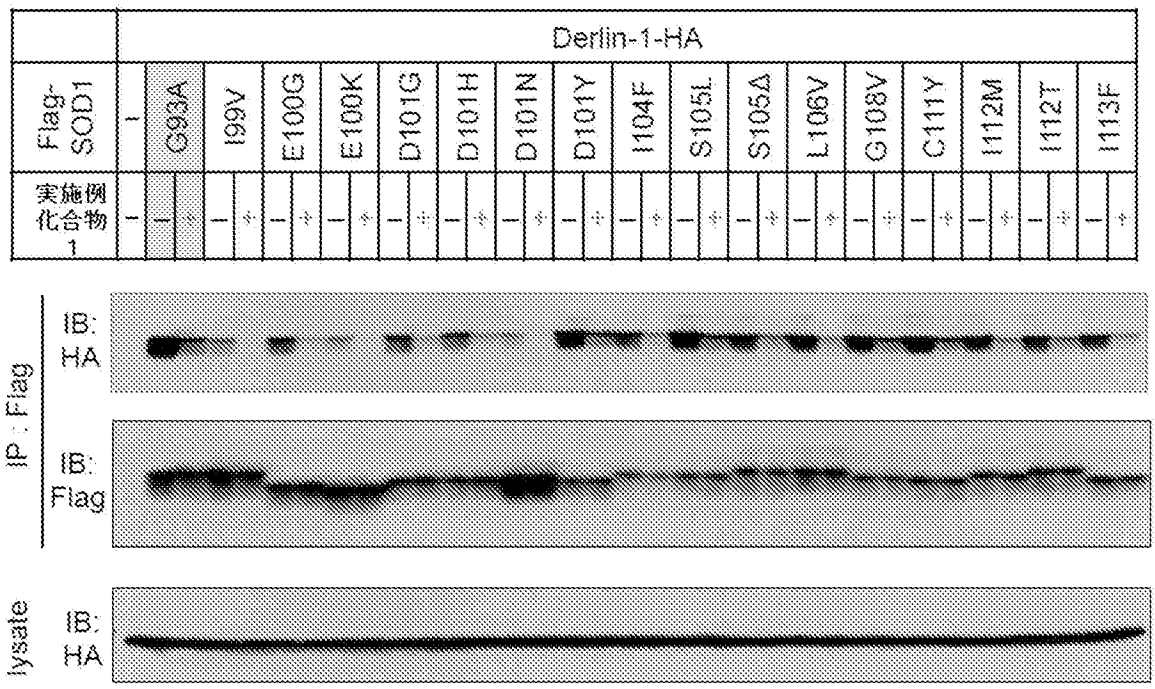
[図4]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
-
G93A
S59I
N65S
P66A
G72C
G72S
D76V
D76Y
H80R
L84F
L84V
N86S
G85R
G85S
N86D
N86I
N86K
実施例化合物1
-
+
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

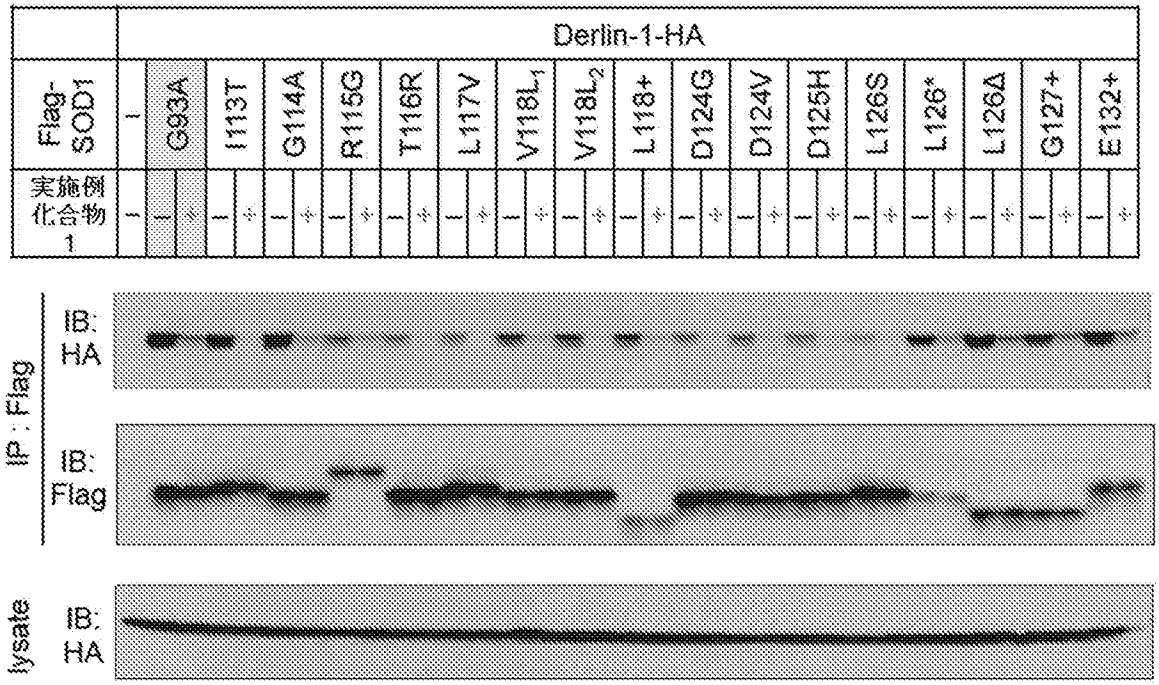
[図5]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
-
G93A
V87A
V87M
T86Δ
A89T
A89V
D90A
D90V
G93C
G93D
G93R
G93S
G93V
A95T
A95V
V97L
V97M
実施例化合物1
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

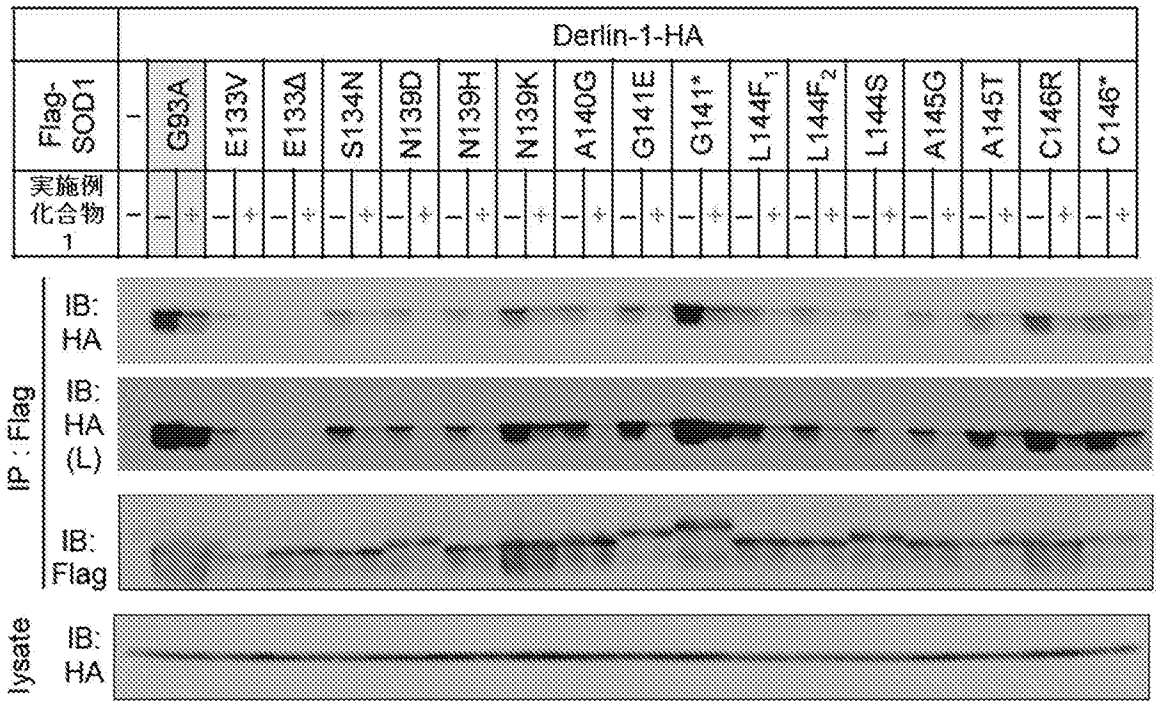
[図6]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
-
G93A
I99V
E100G
E100K
D101G
D101H
D101N
D101Y
I104F
S105L
S105Δ
L106V
G108V
C111Y
I112M
I112T
I113F
実施例化合物1
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

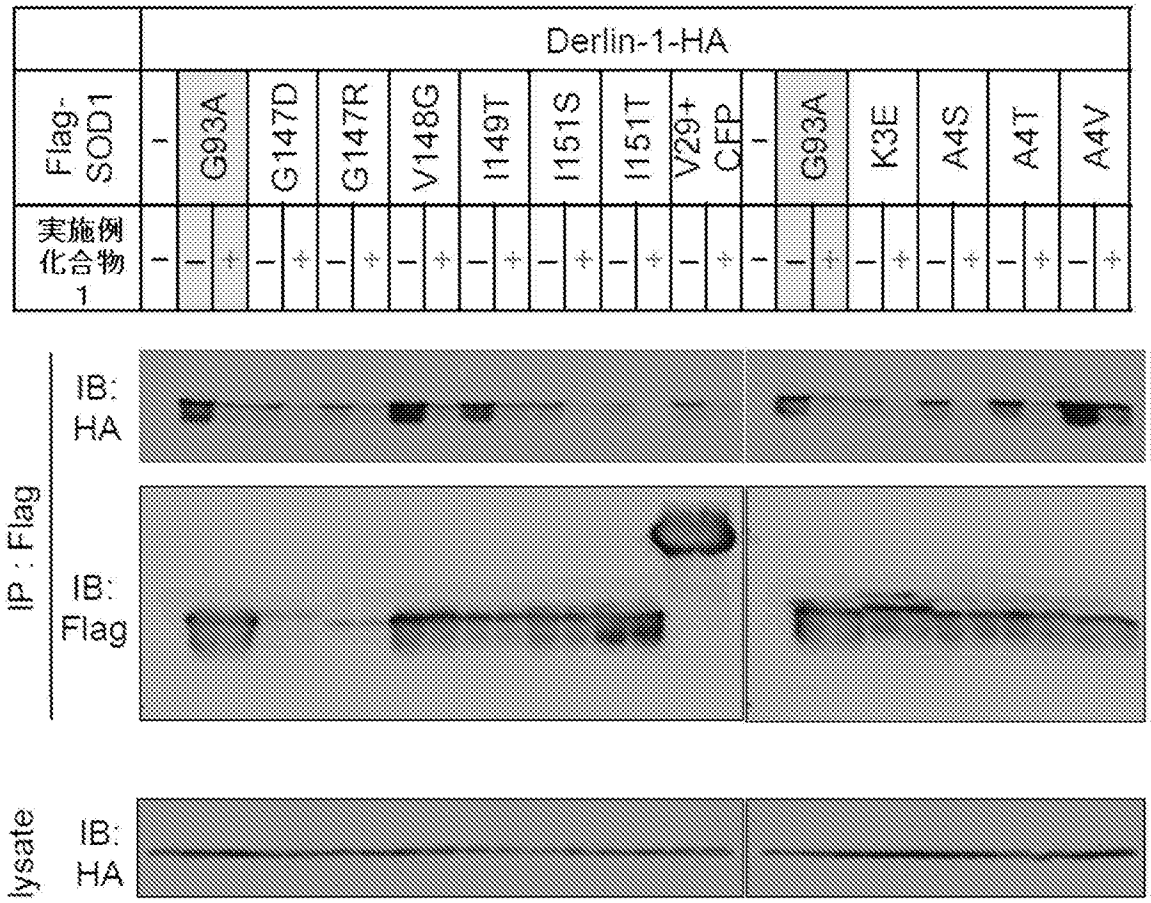
[図7]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
−
G93A
I113T
G114A
R115C
T116R
L117V
V118L1
V118L2
L118+
D124G
D124V
D125H
L126S
L126*
L126Δ
G127+
E132+
実施例化合物1
−
+
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

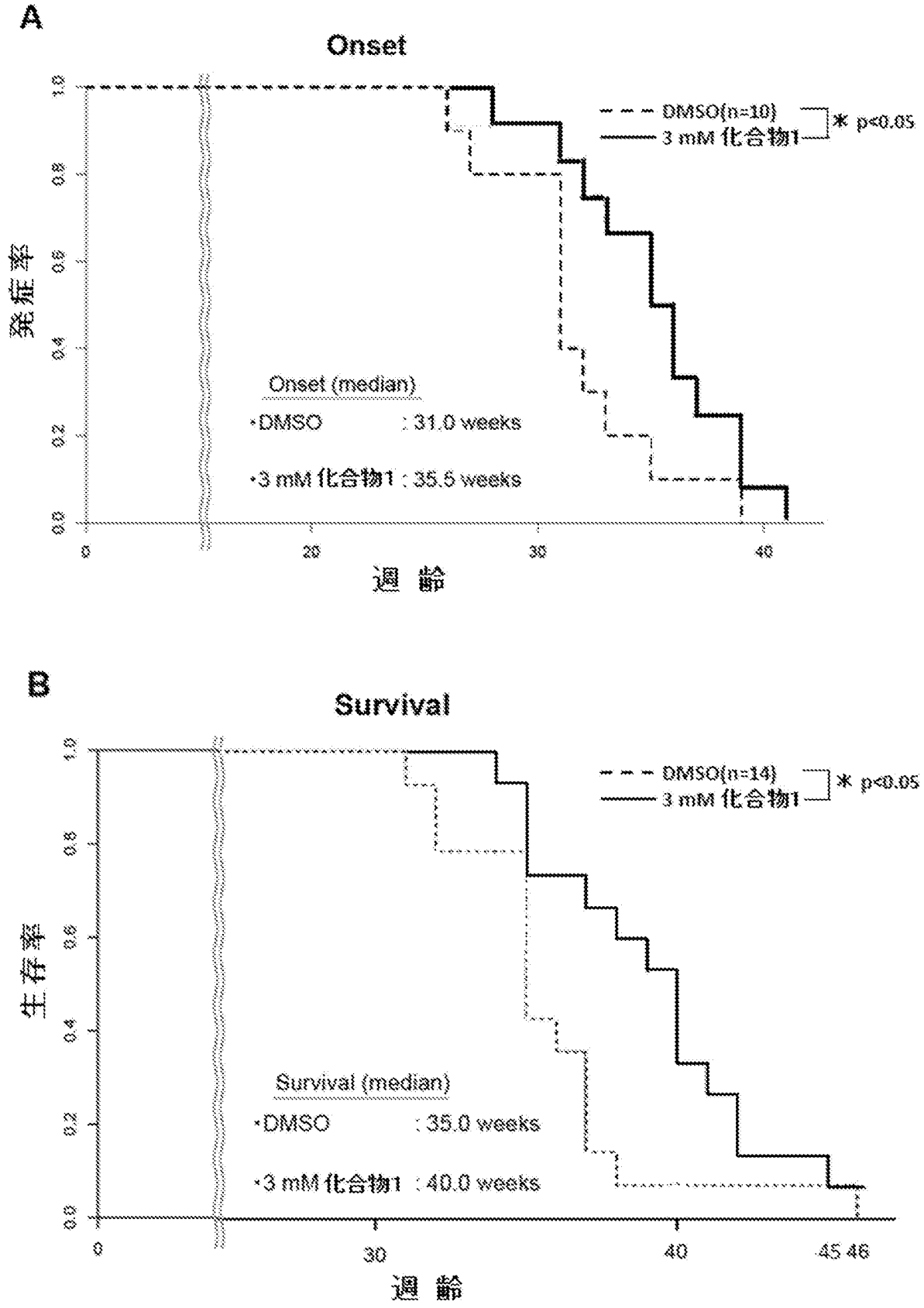
[図8]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
−
G93A
E133V
E133Δ
S134N
N139D
N139H
N139K
A140G
G141E
G141*
L144F1
L144F2
L144S
A145G
A145T
C146R
C146*
実施例化合物1
−
+
IP : Flag
IB: HA
IB: HA (L)
IB: Flag
lysate
IB: HA

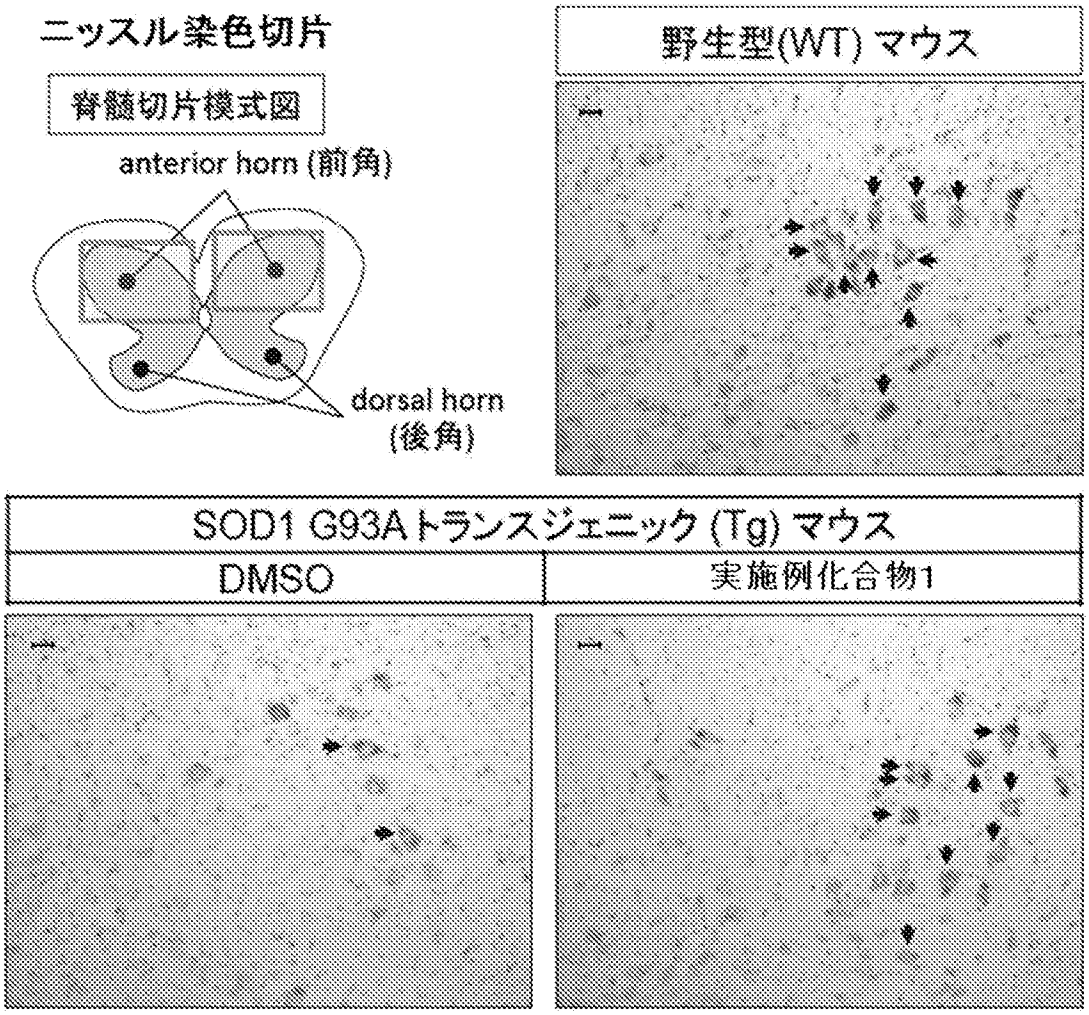
[図9]


Derlin-1-HA
Flag-SOD1
-
G93A
G147D
G147R
V148G
I149T
I151S
I151T
V29+CFP
-
G93A
K3E
A4S
A4T
A4V
実施例化合物1
-
-
+
IP : Flag
IB: HA
IB: Flag
lysate
IB: HA

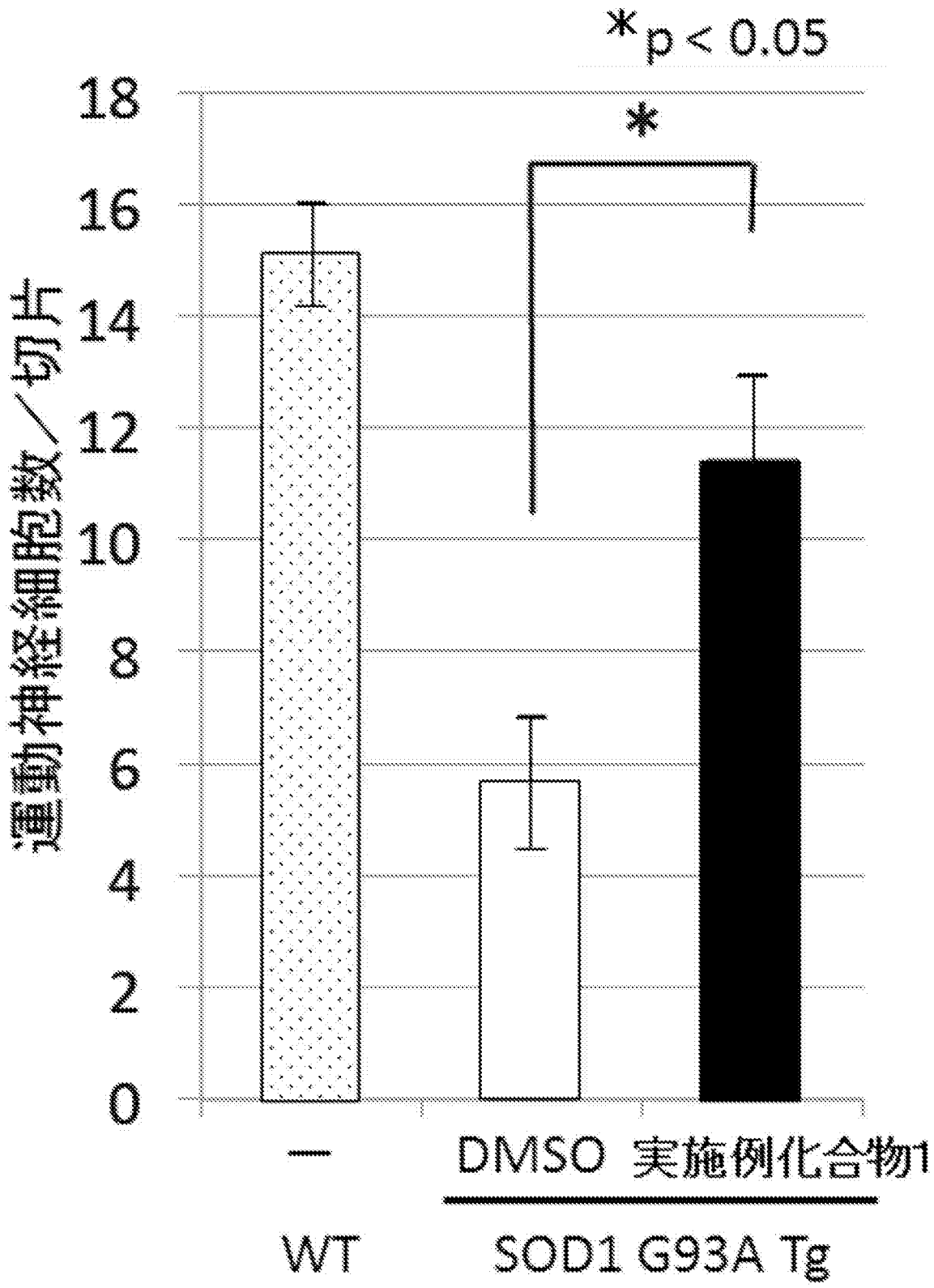
[図10]


A
Onset
DMSO(n=10)
3 mM 化合物1
＊ p<0.05
発症率
Onset (median)
・DMSO : 31.0 weeks
・3 mM 化合物1 : 35.5 weeks
週 齢
B
Survival
DMSO(n=14)
3 mM 化合物1
＊ p<0.05
生存率
Survival (median)
・DMSO : 35.0 weeks
・3 mM 化合物1 : 40.0 weeks
週 齢

[図11]


ニッスル染色切片
脊髄切片模式図
anterior horn (前角)
dorsal horn
(後角)
野生型(WT) マウス
SOD1 G93Aトランスジェニック (Tg) マウス
DMSO
実施例化合物1

[図12]


*p < 0.05
*
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
運動神経細胞数／切片
—
DMSO
実施例化合物1
WT
SOD1 G93A Tg

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2017/021895

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C07D401/04(2006.01)i, *A61K31/4365*(2006.01)i, *A61P21/02*(2006.01)i, *C07D495/04*(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D401/04, A61K31/4365, A61P21/02, C07D495/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAplus/REGISTRY(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2014/207213 A1 (MEDIZINISCHE UNIVERSITAT INNSBRUCK), 31 December 2014 (31.12.2014), page 40, 3rd paragraph (Family: none)	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	WO 2014/089378 A1 (SIGA TECHNOLOGIES, INC.), 12 June 2014 (12.06.2014), tables 4, 7 & JP 2016-501883 A & JP 2012-519174 A & JP 2014-141506 A & JP 2016-145226 A & US 2013/0129677 A1 & US 2012/0022046 A1 & WO 2010/099166 A1 & EP 2928470 A1 & EP 2400845 A4 & EP 3181568 A1 & CN 102395273 A & KR 10-2011-0136819 A & CN 104856991 A	1-3,6-7,10,15 4-5,8-9,11-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
04 August 2017 (04.08.17)	22 August 2017 (22.08.17)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2017/021895

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2013/033037 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA), 07 March 2013 (07.03.2013), table 6 & US 2014/0329863 A1	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	WO 2011/006158 A2 (UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE), 13 January 2011 (13.01.2011), tables 9, 11 & US 2012/0190708 A1	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	WO 2010/151799 A2 (UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS), 29 December 2010 (29.12.2010), fig. 1; claim 1 & US 2011/0077250 A1	1-3,6,15 4-5,7-14
X A	WO 2008/011560 A2 (KAHRAMAN, Mehmet), 24 January 2008 (24.01.2008), example 94; table 1 & JP 2009-544625 A & US 2008/0021026 A1 & US 2008/0021217 A1 & WO 2008/011557 A2 & EP 2044061 A2 & CN 101790527 A	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	SILBER,B.M. et al, Antiprion compounds that reduce PrPSc levels in dividing and stationary-phase cells, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, Vol.21, No.24, p.7999-8012, ISSN: 0968-0896, table 6	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	SORCI,L. et al, Targeting NAD Biosynthesis in Bacterial Pathogens: Structure-Based Development of Inhibitors of Nicotinate Mononucleotide Adenylyltransferase NadD, Chemistry & Biology(Cambridge, MA, United States), 2009, Vol.16, No.8, p.849-861, ISSN: 1074-5521, table 1	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	REYNISSON,J. et al, The identification of novel PLC-γ inhibitors using virtual high throughput screening, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, Vol.17, No.8, p.3169-3176, ISSN: 0968-0896, scheme 4	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	PubChem SID 22402554 [online], 2007 [retrieval date 2017.7.28], Internet:<URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/22402554#section=Top>	1-3,6,15 4-5,7-14
X A	PubChem SID 24791524 [online], 2007 [retrieval date 2017.7.28], Internet:<URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/24791524#section=Top>	1-3,6 4-5,7-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2017/021895

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2007-151478 A (The University of Tokyo), 21 June 2007 (21.06.2007), entire text (Family: none)	1-15
A	NISHITOH,H. et al, ALS-linked mutant SOD1 induces ER stress- and ASK1-dependent motor neuron death by targeting Derlin-1, Genes & Development, 2008, Vol.22, No.11, p.1451-1464, ISSN: 0890-9369, entire text	1-15
A	FUJISAWA,T. et al, A Novel Monoclonal Antibody Reveals a Conformational Alteration Shared by Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked SOD1 Mutants, Annals of Neurology, 2012, Vol.72, No.5, p.739-749, ISSN: 1531-8249, entire text	1-15

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１７／０２１８９５

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C07D401/04(2006.01)i, A61K31/4365(2006.01)i, A61P21/02(2006.01)i, C07D495/04(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C07D401/04, A61K31/4365, A61P21/02, C07D495/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１７年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAplus/REGISTRY (STN)

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X A	WO 2014/207213 A1 (MEDIZINISCHE UNIVERSITAT INNSBRUCK) 2014.12.31, ４０頁３段目等 （ファミリーなし）	1-3,7,15 4-6,8-14
X	WO 2014/089378 A1 (SIGA TECHNOLOGIES, INC.) 2014.6.12, テーブル４，７等	1-3,6-7,10,15
A	& JP 2016-501883 A & JP 2012-519174 A & JP 2014-141506 A & JP 2016-145226 A & US 2013/0129677 A1 & US 2012/0022046 A1 & WO 2010/099166 A1 & EP 2928470 A1 & EP 2400845 A4 & EP 3181568 A1	4-5,8-9,11-14

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
０４．０８．２０１７	２２．０８．２０１７

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｐ　４５００
早川　裕之
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４９２

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
	& CN 102395273 A & KR 10-2011-0136819 A & CN 104856991 A	
X A	WO 2013/033037 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2013.3.7, テーブル６等 & US 2014/0329863 A1	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	WO 2011/006158 A2 (UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE) 2011.1.13, テーブル９，１１等 & US 2012/0190708 A1	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	WO 2010/151799 A2 (UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS) 2010.12.29, 図１，請求項１等 & US 2011/0077250 A1	1-3,6,15 4-5,7-14
X A	WO 2008/011560 A2 (KAHRAMAN, Mehmet) 2008.1.24, 実施例９４，テーブル１等 & JP 2009-544625 A & US 2008/0021026 A1 & US 2008/0021217 A1 & WO 2008/011557 A2 & EP 2044061 A2 & CN 101790527 A	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	SILBER,B.M. et al, Antiprion compounds that reduce PrPSc levels in dividing and stationary-phase cells, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, Vol.21, No.24, p.7999-8012, ISSN: 0968-0896, テーブル６等	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	SORCI,L. et al, Targeting NAD Biosynthesis in Bacterial Pathogens: Structure-Based Development of Inhibitors of Nicotinate Mononucleotide Adenylyltransferase NadD, Chemistry & Biology(Cambridge, MA, United States), 2009, Vol.16, No.8, p.849-861, ISSN: 1074-5521, テーブル１等	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	REYNISSON,J. et al, The identification of novel PLC-γ inhibitors using virtual high throughput screening, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, Vol.17, No.8, p.3169-3176, ISSN: 0968-0896, スキーム４等	1-3,7,15 4-6,8-14
X A	PubChem SID 22402554［オンライン］, 2007［検索日 2017.7.28］, インターネット：<URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/22402554#section=Top>	1-3,6,15 4-5,7-14
X	PubChem SID 24791524［オンライン］, 2007［検索日 2017.7.28］,	1-3,6

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	インターネット：<URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/24791524#section=Top>	4-5,7-15
A	JP 2007-151478 A (国立大学法人 東京大学) 2007.06.21, 全文 (ファミリーなし)	1-15
A	NISHITOH,H. et al, ALS-linked mutant SOD1 induces ER stress- and ASK1-dependent motor neuron death by targeting Derlin-1, Genes & Development, 2008, Vol.22, No.11, p.1451-1464, ISSN: 0890-9369, 全文	1-15
A	FUJISAWA,T. et al, A Novel Monoclonal Antibody Reveals a Conformational Alteration Shared by Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked SOD1 Mutants, Annals of Neurology, 2012, Vol.72, No.5, p.739-749, ISSN: 1531-8249, 全文	1-15