

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7444797号

(P7444797)

(45)発行日 令和6年3月6日(2024.3.6)

(24)登録日 令和6年2月27日(2024.2.27)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 H 99/00 (2006.01)

C 0 7 H 99/00

C S P

A 6 1 K 31/7056(2006.01)

A 6 1 K 31/7056

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 31/706 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 2 3

A 6 1 K 31/7064(2006.01)

A 6 1 K 31/706

請求項の数 8 (全151頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-573469(P2020-573469)

(86)(22)出願日 令和1年7月11日(2019.7.11)

(65)公表番号 特表2021-531249(P2021-531249
A)

(43)公表日 令和3年11月18日(2021.11.18)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/041283

(87)国際公開番号 WO2020/014409

(87)国際公開日 令和2年1月16日(2020.1.16)

審査請求日 令和4年7月8日(2022.7.8)

(31)優先権主張番号 62/696,486

(32)優先日 平成30年7月11日(2018.7.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 520512328

ルベド ライフ サイエンスズ, インク.
RUBEDO LIFE SCIENCE
S, INC.アメリカ合衆国 9 4 0 8 7 カリフォル
ニア州, サニーベール, ヘーロン ア
ベニュー 1 7 2 9

(74)代理人 100117606

弁理士 安部 誠

(74)代理人 100136423

弁理士 大井 道子

(74)代理人 100154449

弁理士 谷 征史

(72)発明者 ギャロップ, マーク エイ.

アメリカ合衆国 9 4 1 0 7 カリフォル
最終頁に続く

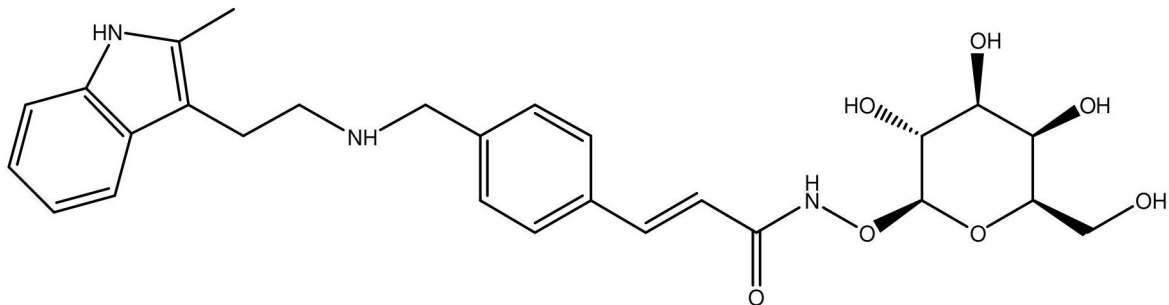
(54)【発明の名称】 老化細胞除去組成物及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

構造:

【化1】



10

を有する化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項2】

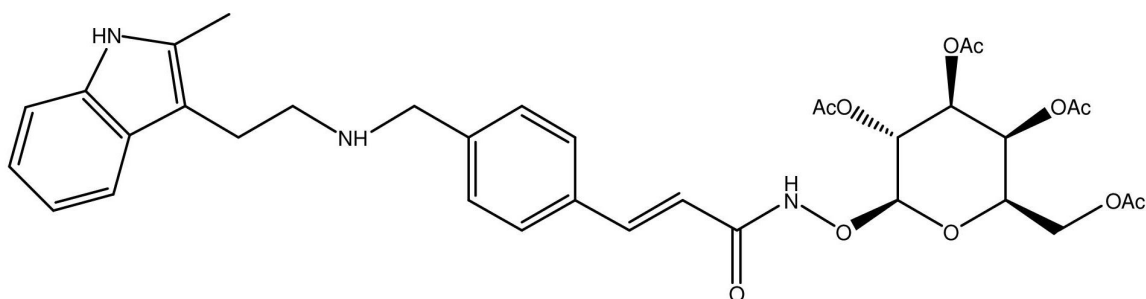
請求項1に記載の化合物と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項3】

構造:

20

【化 2】



10

を有する化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物若しくは溶媒和物。

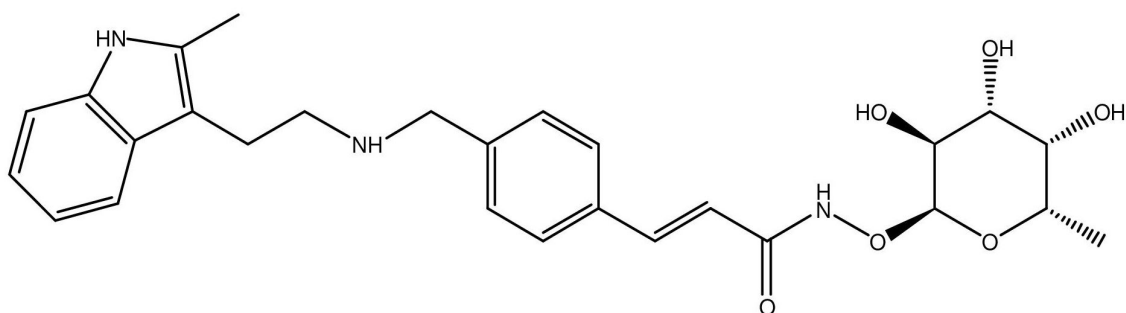
【請求項 4】

請求項 3 に記載の化合物と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項 5】

構造：

【化 3】



20

を有する化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 6】

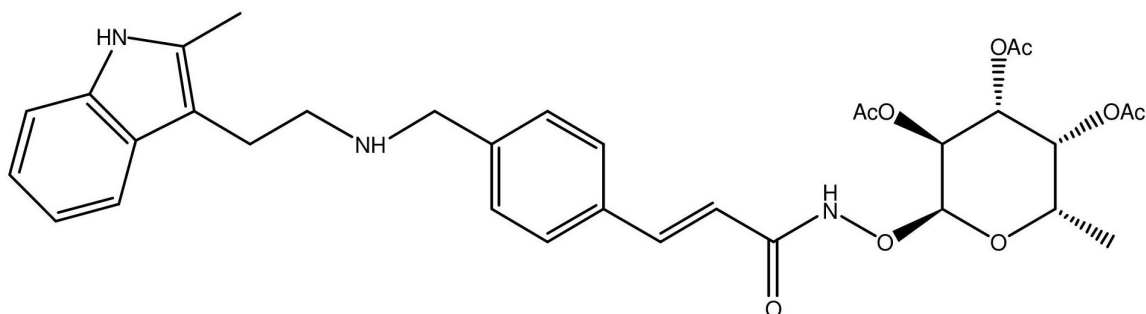
請求項 5 に記載の化合物と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

30

【請求項 7】

構造：

【化 4】



40

を有する化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の化合物と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

50

本出願は、2018年7月11日に出願される米国仮特許出願第62／696，486号の優先権及び利益を主張するものであり、この仮特許出願の開示内容は、あらゆる目的のために全体が参照により本明細書に援用される。

【0002】

加齢関連の病変及び疾患を含む多くの病変及び疾患に関連する老化細胞を選択的に死滅させるための老化細胞除去剤が、本明細書において提供される。本明細書に開示されるように、老化細胞に関連する疾患及び障害は、少なくとも1つの老化細胞除去剤又はその医薬組成物を投与することによって治療又は予防され得る。本明細書に記載される方法によって治療又は予防される老化細胞に関連する疾患又は障害としては、限定はされないが、心血管疾患又は障害、アテローム性動脈硬化症などの動脈硬化に関連する心血管疾患及び障害、特発性肺線維症（IPF）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、変形性関節症、炎症性疾患又は障害、自己免疫疾患又は障害、肺疾患又は障害、神経疾患又は障害、皮膚疾患又は障害、化学療法の副作用、放射線療法の副作用、転移及び代謝性疾患が挙げられる。

【背景技術】

【0003】

老化は、ほとんどの慢性疾患、障害及び体調不良の危険因子である。複製を停止した細胞である老化細胞は、加齢とともに個体に蓄積し、老化及び加齢関連の疾患の根底にある細胞及び組織の劣化に部分的に又は大きく寄与し得る（例えば、Childs et al., Nat. Rev. Drug Discov. 16 (2017) 718-735を参照）。細胞はまた、環境的、化学的、生物学的な損傷への曝露後に又は疾患の結果として老化することもある（例えば、Demaria et al., Cancer Discovery 7 (2017) 165-176；及びSchaffer et al., Nat. Commun. 8 (2017) doi:10.1038/ncomms14532を参照）。

【0004】

多様な薬理学的機構を有する老化細胞除去剤が、当該技術分野において公知である。老化細胞除去剤は、1つ以上のBcl-2抗アポトーシスタンパク質ファミリーメンバーの特異的阻害剤であり得、この阻害剤は、少なくともBcl-xLを阻害する（例えば、Bcl-2/Bcl-xL/Bcl-w阻害剤；選択的Bcl-xL阻害剤；Bcl-xL/Bcl-w阻害剤、（例えば、Navitoclax、ABT-737、A1331852、A1155463）；（例えば、Childs et al.、上記；Zhu et al., Aging 9 (2017) 955-965；Yosef et al., Nature Commun. (2016) doi:10.1038を参照）；Aktキナーゼ特異的阻害剤（例えば、MK-2206）；受容体チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ダサチニブ、例えば、Zhu et al., Aging Cell 14 (2015) 654-658を参照）；CDK4/6阻害剤（例えば、パルボサイクリブ、（例えば、Whittaker et al., Pharmacol. Ther. 173 (2017) 83-105を参照））；mTOR阻害剤（例えば、ラパマイシン、（例えば、Laberge et al., Nat. Cell Biol. 17 (2015) 1049-1061を参照））；MDM2阻害剤（例えば、Nutlin-3；及びRG-7112、例えば、米国特許出願公開第2016／0339019号明細書を参照））；Hsp90阻害剤（例えば、17-DMAG；及びガネテスピブ、例えば、Fuhrmann-Stroissnigg et al., Nat. Commun. 8 (2017) doi:10.1038/s41467-017-00314-zを参照））；フラボン（例えば、ケルセチン；及びフィセチン、（例えば、Zhu et al., Aging Cell 14 (2015) 654-658；Zhu et al., Aging 9 (2017) 955-965を参照））；又はヒストンデアセチラーゼ阻害剤（例えば、パノビノスタット、（例えば、Samaraweera et al., Sci. Rep. 7 (2017) 1900, doi:10.1038/s41598-017-01964-1を参照））。

【0005】

重要な課題は、非老化細胞を残しながら老化細胞を選択的に死滅させる老化細胞除去剤

の同定であった。さらに、多くの公知の老化細胞除去剤が、最初は、細胞傷害性抗癌剤として開発され、その後、老化細胞集団の「選択的な」除去のために別の目的で使用された。増殖細胞は、多くの場合、抗癌剤の細胞傷害又は細胞静止作用により感受性であるため、造血細胞における用量制限毒性が、抗老化治療の臨床的有用性を制限するよく見られる副作用である（例えば、好中球減少症は、抗アポトーシス Bcl-2 ファミリータンパク質阻害剤の使用に関連するよく特徴付けられた毒性であり、Leverson et al., Sci. Transl. Med. (2015) 7:279ra40. doi:10.1126/scitranslmed.aaa4642 を参照されたい）。このような老化細胞除去剤のパルス投与が、これらの分子への非老化細胞の曝露を最小限に抑え、潜在的にオフターゲット効果を制限する機構として提案されている。したがって、非老化細胞に対する最小の毒性を有し、老化細胞を死滅させるのに改善した選択性を有する老化細胞除去剤が必要とされている。

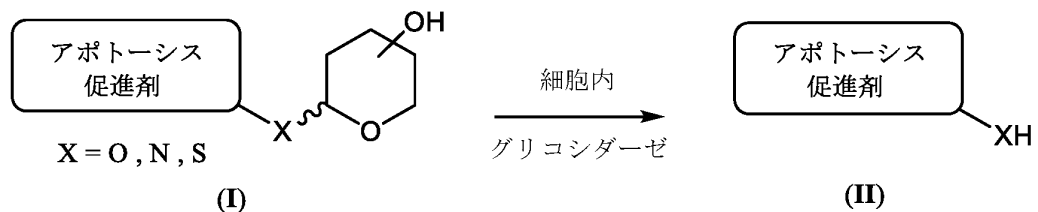
【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

これらの及び他のニーズを満たす、老化細胞内に優先的に蓄積するヒドロラーゼ酵素によって活性化される老化細胞除去剤の非毒性プロドラッグが、本明細書に開示される。一態様において、ヒドロラーゼ酵素は、グリコシダーゼであり、老化に関連して増加される細胞内グリコシダーゼ活性が、アポトーシス促進剤の非毒性プロドラッグ誘導体 (I) を、毒性のアポトーシス促進親化合物 (II) に変換するのに利用されて、老化細胞の特異的死滅をもたらす。

【化1】



【0007】

ある実施形態において、化合物 (II) は、非増殖細胞内のアポトーシスを促進することが可能である。

【0008】

別の態様において、老化細胞内で活性老化細胞除去剤に切断されると、老化細胞死を特異的にもたらす、毒性の老化細胞除去剤の非毒性プロドラッグが提供される。ある実施形態において、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤のプロドラッグが、提供される。他の実施形態において、Hsp90 阻害剤のプロドラッグが、提供される。さらに他の実施形態において、トポイソメラーゼ1 阻害剤のプロドラッグが、提供される。さらに他の実施形態において、DNAアルキル化剤のプロドラッグが、提供される。さらに他の実施形態において、Akt1 阻害剤のプロドラッグが、提供される。さらに他の実施形態において、プロテアソーム阻害剤のプロドラッグが、提供される。本明細書に記載されるプロドラッグの塩、溶媒和物、水和物、代謝産物を含む誘導体も提供される。本明細書において提供されるプロドラッグ及びビヒクルを含む組成物がさらに提供される。

【0009】

別の態様において、対象における、例えば、心血管疾患又は障害、アテローム性動脈硬化症などの動脈硬化に関連する心血管疾患及び障害、特発性肺線維症 (IPF)、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、変形性関節症、炎症性疾患又は障害、自己免疫疾患又は障害、肺疾患又は障害、神経疾患又は障害、皮膚疾患又は障害、化学療法の副作用、放射線療法の副作用、転移及び代謝性疾患などの医学的障害の症状を治療、予防、又は改善する方法

も、本明細書において提供される。この方法を実施する際、治療有効量の老化細胞除去剤又はその医薬組成物が対象に投与される。

【0010】

さらに別の態様において、加齢関連の疾患又は病態を治療する方法が提供される。本方法は、治療有効量の老化細胞除去剤又はその医薬組成物を対象に投与することを含む。さらに別の態様において、対象における老化の少なくとも1つの特徴を遅らせるための方法が提供される。本方法は、治療有効量の老化細胞除去剤又はその医薬組成物を対象に投与することを含む。

【0011】

さらに別の態様において、治療誘導性の老化細胞を死滅させる方法が提供される。本方法は、治療有効量の老化細胞除去剤又はその医薬組成物を、DNAを損傷する治療を受けた対象に投与することを含む。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1A】様々な薬剤濃度の5-フルオロウリジン（FUR）（102）又は5-フルオロウリジン-5'-O-β-D-ガラクトピラノシド（FURGal）（101）で処理された増殖性マウス胚性線維芽細胞（MEF）の生存率を示す。

【図1B】様々な薬剤濃度の5-フルオロウリジン（FUR）（102）又は5-フルオロウリジン-5'-O-β-D-ガラクトピラノシド（FURGal）（101）で処理された老化マウス胚性線維芽細胞（MEF）の生存率を示す。

【図2A】処理の6日後の、FUR（102）（100mg/kg）又はFURGal（101）（160mg/kg）を単回腹腔内注入によって投与された野生型（w.t.）C57BL/6マウス（N=3マウス/群）からの血球数の定量を示す。

【図2B】処理の6日後の、FUR（102）（100mg/kg）又はFURGal（101）（160mg/kg）を単回腹腔内注入によって投与された野生型（w.t.）C57BL/6マウス（N=3マウス/群）からの大腿骨からの骨髓細胞の数の定量を示す。

【図2C】処理の6日後の、FUR（102）（100mg/kg）又はFURGal（101）（160mg/kg）を単回腹腔内注入によって投与された野生型（w.t.）C57BL/6マウス（N=3マウス/群）からの総脾臓重量の定量を示す。

【図3A】ドキソルビシン（25mg/kg）を注入されたC57BL/6マウスの肝切片の代表的な画像を示す。

【図3B】ドキソルビシン（25mg/kg）及びFURGal（140mg/kg）を注入されたC57BL/6マウスの肝切片の代表的な画像を示す。

【図3C】対照とともに、図3A及び図3Bの肝切片の定量を示す。

【図3D】分析当日のC57BL/6マウスの平均体重を示す。

【図4A】C57BL/6マウスの肝細胞における老化の誘導及び化合物（113）によるその後の処理のプロトコルを示す。

【図4B】ドキソルビシン（20mg/kg）、続いてビヒクル又は化合物（113）を注入されたC57BL/6マウスの肝切片の代表的な画像を比較する。

【図4C】対照とともに、図4Bからの肝切片におけるSA-β-Galの定量を示す。

【図4D】ドキソルビシン（20mg/kg）、続いてビヒクル又は化合物（113）を注入されたC57BL/6マウスの肝臓におけるCdkn2a発現の定量を示す。

【図4E】ドキソルビシン（20mg/kg）、続いてビヒクル又は化合物（113）を注入されたC57BL/6マウスの肝臓におけるIL-6発現の定量を示す。

【図5A】C57BL/6マウスの肺組織における化合物（119）の老化細胞除去効果の観察のプロトコルを示す。

【図5B】ドキソルビシン（15mg/kg）、続いて20mg/kgのビヒクル又は化合物（119）を注入されたC57BL/6マウスの肺切片の代表的な画像を比較する。

【図5C】対照とともに、10mg/kg、20mg/kg又は40mg/kgで化合物

10

20

30

40

50

(119)を静脈内(i.v.)投与した後の、肺切片におけるSA- β -Galの定量を示す。

【図5D】ドキシソルピシン(15mg/kg)、続いて10mg/kg、20mg/kg又は40mg/kgのビヒクル又は化合物(119)を注入されたC57BL/6マウスの肺におけるCdkn2a発現の定量を示す。

【発明を実施するための形態】

【0013】

定義

本明細書において使用される際の「老化の特徴」としては、限定はされないが、免疫系の全身的な衰え、筋萎縮及び筋力の低下、皮膚弾力性の低下、創傷治癒遅延、網膜萎縮、水晶体透明度の低下、聴力の低下、骨粗鬆症、サルコペニア、毛髪の白髪化、顔のしわ、視力低下、フレイル、及び認知障害が挙げられる。

【0014】

「アシル」は、H-CO-、アルキル-CO-、アルケニル-CO-又はシクロアルキル-CO-基を意味し、ここで、アルキル、アルケニル又はシクロアルキル基は、本明細書に記載されるとおりである。

【0015】

「アシルアミノ」は、アシル-NH-基であり、ここで、アシルは、本明細書に定義されるとおりである。

【0016】

本明細書において使用される際の「加齢関連の疾患又は病態」としては、限定はされないが、変性疾患又は機能低下障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、白内障、黄斑変性症、緑内障、フレイル、筋力低下、認知障害、アテローム性動脈硬化症、急性冠症候群、心筋梗塞、脳卒中、高血圧症、特発性肺線維症(IPF)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、変形性関節症、2型糖尿病、肥満、脂肪機能障害、冠動脈疾患、脳血管疾患、歯周病、癌治療に関連する障害、例えば、様々な組織における萎縮及び線維症、脳及び心臓傷害、及び治療関連骨髄異形成症候群、並びに老化の促進に関連する疾患及び／又はDNA損傷修復及びテロメア維持の欠陥、例えば、早老症(すなわち、ハッチンソン・ギルフォード早老症候群、ウェルナー症候群、ブルーム症候群、ロスムンド・トムソン症候群、コケイン症候群、色素性乾皮症、硫黄欠乏性毛髪発育異常症、色素性乾皮症-コケイン症候群複合型、拘束性皮膚障害)、毛細血管拡張性運動失調、ファンconi貧血、フリードライヒ運動失調症、先天性角化不全症、再生不良性貧血、及びその他が挙げられる。

【0017】

「アルケニル」は、炭素-炭素二重結合を含有し、鎖中に2~20個の炭素原子を有する、直鎖状又は分枝鎖状であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。ある実施形態において、アルケニル基は、鎖中に2~12個の炭素原子を有する。他の実施形態において、アルケニル基は、鎖中に約2~6個の炭素原子を有する。さらに他の実施形態において、アルケニル基は、鎖中に2~4個の炭素原子を有する。本明細書中で本文全体を通して使用される際の「分枝鎖状」は、メチル、エチル又はプロピルなどの1つ以上の低級アルキル基が、直鎖；ここでは直鎖状アルケニル鎖に結合されていることを意味する。「低級アルケニル」は、直鎖状又は分枝鎖状であり得る、鎖中の約2~約4個の炭素原子を意味する。例示的なアルケニル基としては、限定はされないが、エテニル、プロペニル、n-ブテニル、i-ブテニル、3-メチルブター-2-エニル、n-ペンテニル、ヘプテニル、オクテニル、シクロヘキシルブテニル及びデセニルが挙げられる。

【0018】

「アルケニレン」は、直鎖状又は分枝鎖状アルケニル基から誘導される脂肪族二価ラジカルを意味し、ここで、アルケニル基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的なアルケニレンラジカルとしては、限定はされないが、ビニレン及びプロピレンが挙げられる。

【0019】

「アルコキシ」は、アルキル－O－基を意味し、ここで、アルキル基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的なアルコキシ基としては、限定はされないが、メトキシ、エトキシ、n－プロポキシ、i－プロポキシ、n－ブトキシ及びヘプトキシが挙げられる。

【0020】

「アルコキシカルボニル」は、アルキル－O－C＝O－基を意味し、ここで、アルキル基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的なアルコキシカルボニル基としては、限定はされないが、メトキシ及びエトキシカルボニルが挙げられる。

【0021】

「アルキル」は、特に規定されない限り、鎖中に1～20個の炭素原子を有する直鎖状又は分枝鎖状であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。ある実施形態において、アルキル基は、1～6個の炭素原子を有する。低級アルコキシ、低級アルキルチオ、低級アルキルスルフィニル若しくは低級アルキルスルホニル基の基又はその一部としての「低級アルキル」は、特に規定されない限り、鎖中に1～4個の炭素原子を有する直鎖状又は分枝鎖状であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。例示的なアルキル基としては、限定はされないが、メチル、エチル、n－プロピル、i－プロピル、n－ブチル、s－ブチル、t－ブチル、n－ペンチル、3－ペンチル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル及びドデシルが挙げられる。

【0022】

「アルキレン」は、直鎖状又は分枝鎖状アルキル基から誘導される脂肪族二価ラジカルを意味し、ここで、アルキル基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的なアルキレンラジカルとしては、限定はされないが、メチレン、エチレン及びトリメチレンが挙げられる。

【0023】

「アルキレンジオキシ」は、－O－アルキレン－O－基を意味し、ここで、アルキレンは、上に定義されるとおりである。例示的なアルキレンジオキシ基としては、限定はされないが、メチレンジオキシ及びエチレンジオキシが挙げられる。

【0024】

「アルキルスルフィニル」は、アルキル－S＝O－基を意味し、ここで、アルキル基は、上述されるとおりである。例示的なアルキルスルフィニル基としては、限定はされないが、アルキル基がC₁～4アルキルであるものが挙げられる。

【0025】

「アルキルスルホニル」は、アルキル－S＝O₂－基を意味し、ここで、アルキル基は、上述されるとおりである。ある実施形態において、アルキルスルホニル基は、アルキル基がC₁～4アルキルであるものである。

【0026】

「アルキルチオ」は、アルキル－S－基を意味し、ここで、アルキル基は、上述されるとおりである。例示的なアルキルチオ基としては、限定はされないが、メチルチオ、エチルチオ、イソプロピルチオ及びヘプチルチオが挙げられる。

【0027】

「アルキニル」は、炭素－炭素三重結合を含有し、鎖中に約2～約20個の炭素原子を有する、直鎖状又は分枝鎖状であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。ある実施形態において、アルキニル基は、鎖中に2～12個の炭素原子を有する。他の実施形態において、アルキニル基は、鎖中に2～6個の炭素原子を有する。さらに他の実施形態において、アルキニル基は、鎖中に2～4個の炭素原子を有する。例示的なアルキニル基としては、限定はされないが、エチニル、プロピニル、n－ブチニル、i－ブチニル、3－メチルブタ－2－イニル、及びn－ペンチニルが挙げられる。

【0028】

「アルキニレン」は、直鎖状又は分枝鎖状アルキニル基から誘導される脂肪族二価ラジカルを意味し、ここで、アルキニル基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的なアルキニレンラジカルとしては、限定はされないが、エチニレン及びプロピニレンが挙げ

10

20

30

40

50

られる。

【0029】

「アミノ酸側鎖」は、 α -アミノ酸中のアミノ基とカルボキシ基との間の炭素上に見られる置換基を意味する。アミノ酸側鎖の「対応する保護誘導体」の例については、T. W. Greene and P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 1991を参照されたい。

【0030】

「アロイル」は、アリール-CO-基を意味し、ここで、アリール基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的なアロイル基としては、ベンゾイル及び1-及び2-ナフトイルが挙げられる。

10

【0031】

基又は基の一部としての「アリール」は、(i) 約6～約14個の炭素原子の任意に置換される単環式又は多環式芳香族炭素環部分、例えば、フェニル若しくはナフチル；又は(ii) アリール及びシクロアルキル又はシクロアルケニル基と一緒に縮合されて環状構造を形成する、任意に置換される部分的に飽和した多環式芳香族炭素環部分、例えば、テトラヒドロナフチル、インデニル若しくはインダニル環を示す。

【0032】

「アリールアルキル」は、アリール-アルキル-基を意味し、ここで、アリール及びアルキル部分は、上述されるとおりである。例示的なアリールアルキル基としては、限定はされないが、ベンジル、2-フェネチル及びナフタレンメチルが挙げられる。

20

【0033】

「アリールジイル」は、アリール基から誘導される任意に置換される二価ラジカルを意味する。例示的なアリールジイル基としては、限定はされないが、任意に置換されるフェニレン、ナフチレン及びインダニレン(indanylene)が挙げられる。好適な置換基としては、上に定義される1つ以上の「アリール基置換基」、特に、ハロゲン、メチル又はメトキシが挙げられる。

【0034】

「アリールオキシ」は、アリール-O-基を意味し、ここで、アリール基は、上述されるとおりである。例示的なアリールオキシ基としては、限定はされないが、任意に置換されるフェノキシ及びナフトキシが挙げられる。

30

【0035】

「アリールオキシカルボニル」は、アリール-O-C(=O)-基を意味し、ここで、アリール基は、上述されるとおりである。例示的なアリールオキシカルボニル基としては、限定はされないが、フェノキシカルボニル及びナフトキシカルボニルが挙げられる。

【0036】

「アリールスルフィニル」は、アリール-SO-基を意味し、ここで、アリール基は、上述されるとおりである。

【0037】

「アリールスルホニル」は、アリール-SO₂-基を意味し、ここで、アリール基は、上述されるとおりである。

40

【0038】

「アリールチオ」は、アリール-S-基を意味し、ここで、アリール基は、上述されるとおりである。例示的なアリールチオ基としては、フェニルチオ及びナフチルチオが挙げられる。

【0039】

「アザヘテロアリール」は、約5～約10個の環員の芳香族炭素環部分を意味し、ここで、環員の1つが窒素であり、他の環員が、炭素、酸素、硫黄、又は窒素から選択される。アザヘテロアリール基の例としては、ピリジル、ピリミジニル、キノリニル、イソキノリニル、キナゾリニル、イミダゾリル、及びベンズイミダゾリルが挙げられる。

50

【0040】

「化合物」は、本明細書に開示される構造式に包含される化合物を指し、構造が本明細書に開示されるこれらの式中の任意の特定の化合物を含む。化合物は、それらの化学構造及び／又は化学名のいずれかによって同定され得る。化学構造及び化学名が矛盾する場合、化学構造が、化合物の属性を決定する。本明細書に記載される化合物は、1つ以上のキラル中心及び／又は二重結合を含有し得、したがって、二重結合異性体（すなわち、幾何異性体）、鏡像異性体又はジアステレオマーなどの立体異性体として存在し得る。したがって、本明細書に示される化学構造は、構造中に示される立体異性的に純粋な形態（例えば、幾何異性的に純粋、鏡像異性的に純粋又はジアステレオマー的に純粋）を包含する。本明細書に示される化学構造は、明らかに特定されない限り、示される化合物の鏡像異性体及び立体異性体誘導体も包含する。鏡像異性体及び立体異性体混合物は、当業者に周知の分離技術又はキラル合成技術を用いて、それらの構成要素の鏡像異性体又は立体異性体に分割され得る。化合物はまた、エノール型、ケト型及びそれらの混合物を含むいくつかの互変異性体において存在してもよい。したがって、本明細書に示される化学構造は、示される化合物の全ての可能な互変異性体を包含する。記載される化合物は、1つ以上の原子が自然界に通常見られる原子質量と異なる原子質量を有する、同位体で標識された化合物も含む。本明細書に開示される化合物に組み込まれ得る同位体の例としては、限定はされないが、 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O などが挙げられる。化合物は、非溶媒和形態並びに水和形態を含む溶媒和形態において存在し得る。一般に、化合物は、水和又は溶媒和され得る。特定の化合物は、多結晶又は非晶質形態において存在してもよい。一般に、全ての物理的形態が本明細書において想定される使用に関して同等であり、本開示の範囲内であることが意図される。さらに、化合物の部分的構造が示される場合、括弧が、部分的構造の、分子の残りの部分への結合点を示すことが理解されるべきである。

【0041】

「環状アミン」は、環炭素原子の1つが窒素で置換され、O、S、 SO_2 、又はNY（ここで、Yは、水素、アルキル、アリール、アリールアルキル、アシル、アシルオキシアルキル、シクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル又はスルホニルである）から選択されるヘテロ原子もさらに含有し得る3～8員単環式シクロアルキル環系を意味する。例示的な環状アミンとしては、限定はされないが、ピロリジニル、ピペリジニル、モルホリニル、ピペラジニル、インドリニル、ピリドリニル、テトラヒドロキノリニルが挙げられる。

【0042】

「シクロアルケニル」は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含有し、3～10個の炭素原子を有する非芳香族単環式又は多環式環系を意味する。例示的な単環式シクロアルケニル環としては、限定はされないが、シクロペンテニル、シクロヘキセニル又はシクロヘプテニルが挙げられる。

【0043】

「シクロアルキル」は、オキソで任意に置換される3～10個の炭素原子の飽和単環式又は二環式環系を意味する。例示的な単環式シクロアルキル環としては、限定はされないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル及びシクロヘプチルが挙げられる。

【0044】

「シクロアルキレン」は、シクロアルキル基から誘導される二価ラジカルを意味する。例示的なシクロアルケニレンラジカルとしては、限定はされないが、シクロペンチレン及びシクロヘキシレンが挙げられる。

【0045】

本明細書において使用される際の「DNA損傷治療」としては、限定はされないが、 γ 線照射、アルキル化剤、例えば、ナイトロジェンマスタード（例えば、クロラムブシル、シクロホスファミド、イホスファミド、メルファラン）、ニトロソウレア（ストレプトゾ

10

20

30

40

50

シン、カルムスチン、ロムスチン)、アルキルスルホネート(例えば、ブスルファン)、
トリアジン(ダカルバジン、テモゾロミド)及びエチレンイミン(例えば、チオテパ、アル
トレタミン)、白金製剤、例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン
、代謝拮抗剤、例えば、5-フルオロウラシル、6-メルカプトプリン、カペシタビン、
クラドリビン、クロファラビン、シタラビン、フロクスウリジン、フルダラビン、ゲムシ
タビン、ヒドロキシウレア、メトトレキサート、ペメトレキセド、ペントスタチン、チオ
グアニン、アントラサイクリン、例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシ
ン、イダルビシン、抗腫瘍抗生物質、例えば、アクチノマイシン-D、ブレオマイシン、
マイトマイシン-C、ミトキサントロン、トポイソメラーゼ阻害剤、例えば、トポイソメ
ラーゼI阻害剤(例えば、トポテカン、イリノテカン)及びトポイソメラーゼII阻害剤
(例えば、エトポシド、テニポシド、ミトキサントロン)、有糸分裂阻害剤、例えば、タ
キサン(例えば、パクリタキセル、ドセタキセル)、エポチロン(例えば、イクサベピロ
ン)、ピンカアルカロイド(例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビン)
及びエストラムスチンが挙げられる。

【0046】

「ハロ」又は「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブromo、又はヨードを意味する。

【0047】

「ヘテロアロイル」は、ヘテロアリール-C(=O)-基を意味し、ここで、ヘテロア
リール基は、本明細書に記載されるとおりである。例示的な基は、ピリジルカルボニルで
ある。

【0048】

基又は基の一部としての「ヘテロアリール」は、(i)環員の1つ以上が炭素、例えば
窒素、酸素又は硫黄以外の元素である、約5〜約10個の環員の芳香族単環式又は多環式
有機部分(このような基の例としては、上に定義される1つ以上のアリール基置換基で任
意に置換される、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、フリル、イミダゾリル、イン
ドリル、インドリジニル、イソオキサゾリル、イソキノリニル、イソチアゾリル、オキサ
ジアゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、ピラゾリル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリ
ル、キナゾリニル、キノリニル、1,3,4-チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル及
びトリアゾリル基が挙げられる);(ii)ヘテロアリール及びシクロアルキル又はシク
ロアルケニル基と一緒に縮合されて環状構造を形成する、任意に置換される部分的に飽和
した多環式ヘテロ炭素環部分(このような基の例としては、ピリンダニル(pyrind
anyl)基が挙げられる)を示す。

【0049】

「ヘテロアリールジイル」は、ヘテロアリール基から誘導される二価ラジカルを意味す
る。

【0050】

「ヘテロアリールオキシ」は、ヘテロアリール-O-基を意味し、ここで、ヘテロア
リール基は、上述されるとおりである。例示的なヘテロアリールオキシ基は、任意に置換さ
れるピリジルオキシである。

【0051】

「複素環」は、環員の1つ以上が炭素以外の元素、例えば窒素、酸素又は硫黄である、
5又は6環員の任意に置換される飽和、部分的に飽和した又は完全に不飽和の単環式有機
部分を示す。例示的な5又は6員複素環としては、フリル、イミダゾリル、イソオキサゾ
リル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、オキサゾリル、オキサジニル、ペリジニル
、ピラジニル、ピリダジニル、ピラゾリル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリル、ピロリ
ジニル、ピロリニル、1,3,4-チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル及びトリアゾ
リル基が挙げられる。

【0052】

「ヘテロシクロアルキル」は、(i)O、S又はNから選択される1つ以上のヘテロ原
子を含む、オキソで任意に置換される、約3〜7個の環員のシクロアルキル基;(ii)

10

20

30

40

50

）アリール（又はヘテロアリール環）、及びヘテロシクロアルキル基と一緒に縮合されて環状構造を形成する、部分的に飽和した多環式ヘテロ炭素環部分（このような基の例としては、クロマニル、ジヒドロベンゾフラニル、インドリニル及びピリンドリニル（pyrindoliny l）基が挙げられる）を意味する。

【0053】

本明細書において使用される際の「ヒストンデアセチラーゼ阻害剤」又は「HDAC阻害剤」は、インビボ、インビトロ又はその両方でヒストンの脱アセチル化を阻害することが可能な化合物である（例えば、Mottamal et al., Molecules 20 (2015) 3898–3941; Roche and Bertrand, Eur. J. Med. Chem. 121 (2016) 451–483を参照）。したがって、HDAC阻害剤は、少なくとも1つのヒストンデアセチラーゼの活性を阻害する。少なくとも1つのヒストンの脱アセチル化を阻害する結果として、アセチル化ヒストンの増加が起こり、アセチル化ヒストンの蓄積は、HDAC阻害剤の活性を評価するための好適な生物学的マーカーである。したがって、アセチル化ヒストンの蓄積をアッセイし得る手順が、対象とする化合物のHDAC阻害活性を決定するのに使用され得る。ヒストンデアセチラーゼ活性を阻害し得る化合物が、他の基質にも結合し得、したがって、酵素などの他の生物学的に活性な分子を阻害し得ることが理解される。

【0054】

「水和物」は、化学量論的割合で、本明細書に記載される化合物の結晶格子に水を組み込んで、付加物を形成したものを指す。水和物を作製する方法としては、限定はされないが、水蒸気を含む雰囲気中での貯蔵、水を含む剤形、又は例えば、結晶化（すなわち、水若しくは混合水性溶媒からの）、凍結乾燥、湿式造粒法、水性フィルムコーティング、若しくは噴霧乾燥などの日常的な製剤工程が挙げられる。水和物はまた、特定の状況下で、水蒸気への曝露時、又は水中での無水材料の懸濁時に、結晶性溶媒和物から形成され得る。水和物はまた、2つ以上の形態で結晶化して、水和物多形をもたらすこともある。例えば、(Guillory, K., Chapter 5, pp. 202205 in Polymorphism in Pharmaceutical Solids, (Brittain, H. ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 1999)を参照されたい。水和物を調製するための上記の方法は、十分に当業者の能力の範囲内であり、完全に従来のものであり、当該技術分野において典型的なものを越える実験を必要としない。水和物は、例えば、単結晶X線回折、X線粉末回折、偏光光学顕微鏡法、熱顕微鏡法、熱重量分析、示差熱分析、示差走査熱量測定、赤外分光法、ラマン分光法及び核磁気共鳴分光法などの、当業者に周知の方法によって特徴付け及び／又は分析され得る。(Brittain, H., Chapter 6, pp. 205208 in Polymorphism in Pharmaceutical Solids, (Brittain, H. ed.), Marcel Dekker, Inc. New York, 1999)。さらに、多くの営利会社の日常的な業務が、例えば、HOLODIAG、Pharmaparc II、Voie de l'Innovation、27 100 Val de Reuil、France (<http://www.holodiag.com>)などの、水和物の調製及び／又は特徴付けを含むサービスを提供している。

【0055】

本明細書において使用される際の「ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤」は、ヒドロキサム酸誘導体であるヒストンデアセチラーゼ阻害剤のクラスを指す。

【0056】

本明細書において使用される際の「ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤の残基」は、ヒドロキサム酸部分を除く、ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤の全体部分を指す。

【0057】

本明細書において使用される際の「医薬組成物」は、少なくとも1つの化合物、及び化合物とともに患者に投与される薬学的に許容されるビヒクルを指す。

【0058】

本明細書において使用される際の「薬学的に許容される塩」は、親化合物の所望の薬理学的活性を有する、化合物の塩を指す。このような塩は、(1)塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などの無機酸とともに形成されるか；若しくは酢酸、プロピオン酸、ヘキサ酸、シクロペンタンプロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、乳酸、マロン酸、コハク酸、リンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、3-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、1,2-エタンジスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、4-クロロベンゼンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、4-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸、4-メチルピシクロ[2.2.2]-オクター-2-エン-1-カルボン酸、グルコヘプトン酸、3-フェニルプロピオン酸、トリメチル酢酸、第三級ブチル酢酸、ラウリル硫酸、グルコン酸、グルタミン酸、ヒドロキシナフトエ酸、サリチル酸、ステアリン酸、ムコン酸などの有機酸とともに形成される酸付加塩；又は(2)親化合物中に存在する酸性プロトンが、金属イオン、例えば、アルカリ金属イオン、アルカリ土類金属イオン、若しくはアルミニウムイオンで置換されるときに形成される塩；又はエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、N-メチルグルカミンなどの有機塩基との配位体(coordinate)を含む。

10

【0059】

本明細書において使用される際の「薬学的に許容されるビヒクル」は、化合物とともに投与される希釈剤、補助剤、賦形剤又は担体を指す。

20

【0060】

「患者」は、ヒトを含む。「ヒト」及び「患者」という用語は、同義的に使用される。

【0061】

本明細書において使用される際の「予防する」又は「予防」は、疾患又は障害に罹患するリスクの低減(すなわち、疾患の臨床症状の少なくとも1つが、疾患に曝されるか又はその素因があり得るが、疾患の症状をまだ経験又は呈していない患者において発生しないようにすること)を指す。

【0062】

本明細書において使用される際の「プロドラッグ」は、活性薬剤を放出するのに身体内での変換を必要とする、薬剤分子の誘導体を指す。プロドラッグは、必ずしもではないが、親薬剤に変換されるまで薬理学的に不活性であることが多い。

30

【0063】

本明細書において使用される際の「プロ部分(promoiety)」は、薬剤分子内の官能基をマスクするのに使用されるとき、薬剤をプロドラッグに変換する保護基の形態を指す。典型的に、プロ部分は、インビボで酵素的又は非酵素的手段によって切断される結合を介して薬剤に結合される。

【0064】

本明細書において使用される際の「保護基」は、分子マスク中の反応性官能基に結合されるとき、官能基の反応性を低減又は防止する原子群を指す。保護基の例が、Green et al., "Protective Groups in Organic Chemistry", (Wiley, 2nd ed. 1991) 及び Harrison et al., "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vols. 1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996) に見出され得る。代表的なアミノ保護基としては、限定はされないが、ホルミル、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンジル、ベンジロキシカルボニル(「Cbz」)、tert-ブトキシカルボニル(「Boc」)、トリメチルシリル(「TMS」)、2-トリメチルシリル-エタンスルホニル(「SES」)、トリチル及び置換トリチル基、アリロキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(「Fmoc」)、ニトロベラトリルオキシカルボニル(「Nvoc」)などが挙げられる。代表的なヒドロキシ保護基としては、限定はされないが、ヒドロキシ基がアシル化又はアルキル化されているも

40

50

の、例えば、ベンジル、及びトリチルエーテル並びにアルキルエーテル、テトラヒドロピラニルエーテル、トリアルキルシリルエーテル及びアリルエーテルが挙げられる。

【0065】

本明細書において使用される際の「老化」又は「老化細胞」は、細胞がある細胞ストレスに応答して老化の1つ以上のマーカーを取得した状態を指す。このようなマーカーとしては、典型的に、細胞周期からの永続的な離脱、炎症性因子の生物活性セクレトームの発現、変化したメチル化、細胞老化関連ヘテロクロマチン形成 (SAHF)、酸化的ストレスの発現マーカー、DNA損傷のマーカーの発現、タンパク質及び脂質修飾、老化の形態学的特徴、変化したりソソム／液胞及び老化に関連するβ-ガラクトシダーゼの発現が挙げられる (Lorenzo Galluzzi et al. (eds.), *Cell Senescence: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 965, DOI 10.1007/978-1-62703-239-1_4, (著作権) Springer Science + Business Media, LLC 2013を参照)。

10

【0066】

本明細書において使用される際の「老化細胞除去剤」は、老化細胞を「選択的に」(優先的に又はより高い程度に)破壊する、死滅させる、除去する、又は老化細胞の選択的破壊を促進する薬剤を指す。言い換えると、老化細胞除去剤は、非老化細胞を破壊するか又は死滅させるその能力と比較して、生物学的に、臨床的に、及び／又は統計的に有意に、老化細胞を破壊するか又は死滅させる。老化細胞除去剤は、確立された老化細胞を選択的に死滅させるのに十分な量で及び十分な時間にわたって使用されるが、臨床的に有意に又は生物学的に有意に非老化細胞を死滅させるのに不十分である。特定の実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤は、老化細胞の死亡を誘導し(すなわち、開始させる、刺激する、引き起こす、活性化する、促進する)、老化細胞の死亡をもたらすように少なくとも1つのシグナル伝達経路を変化させる。

20

【0067】

「水和物」は、化学量論的割合で本明細書に記載される化合物の結晶格子に水を組み込んで、付加物を形成したものを指す。水和物を作製する方法としては、限定はされないが、水蒸気を含む雰囲気中での貯蔵、水を含む剤形、又は例えば、結晶化(すなわち、水若しくはは混合水性溶媒からの)、凍結乾燥、湿式造粒法、水性フィルムコーティング、若しくはは噴霧乾燥などの日常的な製剤工程が挙げられる。水和物はまた、特定の状況下で、水蒸気への曝露時、又は水中での無水材料の懸濁時に、結晶性溶媒和物から形成され得る。水和物はまた、2つ以上の形態で結晶化して、水和物多形をもたらすこともある。例えば、(Guillory, K., Chapter 5, pp. 202205 in *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, (Brittain, H. ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 1999)を参照されたい。水和物を調製するための上記の方法は、十分に当業者の能力の範囲内であり、完全に従来のものであり、当該技術分野において典型的なものを越える実験を必要としない。水和物は、例えば、単結晶X線回折、X線粉末回折、偏光光学顕微鏡法、熱顕微鏡法、熱重量分析、示差熱分析、示差走査熱量測定、赤外分光法、ラマン分光法及び核磁気共鳴分光法などの、当業者に周知の方法によって特徴付け及び／又は分析され得る。(Brittain, H., Chapter 6, pp. 205208 in *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, (Brittain, H. ed.), Marcel Dekker, Inc. New York, 1999)。さらに、多くの営利会社の日常的な業務が、例えば、HOLODIAG、Pharmaparc II、Voie de l'Innovation、27 100 Val de Reuil、France (<http://www.holodiag.com>)などの、水和物の調製及び／又は特徴付けを含むサービスを提供している。

30

40

【0068】

本明細書において使用される際の「置換」は、特定の基又はラジカルを修飾するのに使

50

用されるとき、特定の基又はラジカルの1つ以上の水素原子がそれぞれ、互いに独立して、同じか又は異なる置換基で置換されることを意味する。

【0069】

特定の基又はラジカル中の飽和炭素原子を置換するのに有用な置換基としては、限定はされないが、 $-R^a$ 、ハロ、 $-O-$ 、 $=O$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S-$ 、 $=S$ 、 $-NR^c$ 、 R^c 、 $=NR^b$ 、 $=N-OR^b$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N-OR^b$ 、 $-N-NR^cR^c$ 、 $-NR^bS(O)_2R^b$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)_2R^b$ 、 $-S(O)_2NR^bR^b$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-S(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2R^b$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2NR^cNR^c$ 、 $\backslash -P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^b)(O^-)$ 、 $-P(O)(OR^b)(OR^b)$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(O)NR^b-OR^b-C(S)R^b$ 、 $-C(NR^b)R^b$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(S)OR^b$ 、 $-C(O)NR^cR^c$ 、 $-C(NR^b)NR^cR^c$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(S)R^b$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(O)NR^cR^c$ 、 $-OC(NCN)NR^cR^c-OC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(S)R^b$ 、 $-NR^bC(O)O-$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bC(NCN)OR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(S)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(S)NR^bC(O)R^a$ 、 $-NR^bS(O)_2OR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2R^b$ 、 $-NR^bC(NCN)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(NR^b)R^b$ 及び $-NR^bC(NR^b)NR^cR^c$ が挙げられ、ここで、 R^a が、独立して、アルキル、ヘテロアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール及びヘテロアリールアルキルであり；各 R^b が、独立して、水素、 R^a 、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換アリール、置換アリールアルキル、置換ヘテロアリール及び置換ヘテロアリールアルキルであり；各 R^c が、独立して、 R^b であるか、或いは、2つの R^c が、それらが結合される窒素原子と一緒にあって、4員、5員、6員若しくは7員シクロヘテロアルキル、置換シクロヘテロアルキル、又はO、N及びSからなる群から選択される同じか又は異なるさらなるヘテロ原子の1~4つを任意に含み得るアリール基と縮合されるシクロヘテロアルキルを形成する。具体例として、 $-NR^cR^c$ は、 $-NH_2$ 、 $-NH-$ アルキル、N-ピロリジニル及びN-モルホリニルを含むことを意味する。同様に、特定の基又はラジカル中の不飽和炭素原子を置換するのに有用な置換基としては、限定はされないが、 $-R^a$ 、ハロ、 $-O-$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S-$ 、 $-NR^cR^c$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)_2R^b$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-S(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2R^b$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2OR^b$ 、 $-P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^b)(O^-)$ 、 $-P(O)(OR^b)(OR^b)$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(S)R^b$ 、 $-C(NR^b)R^b$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(S)OR^b$ 、 $-C(O)NR^cR^c$ 、 $-C(NR^b)NR^cR^c$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(S)R^b$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(S)OR^b$ 、 $-OC(O)NR^cR^c$ 、 $-OSO(O)_2NR^cNR^c$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(S)R^b$ 、 $-NR^bC(O)O-$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2OR^a$ 、 $-NR^bS(O)_2R^a$ 、 $-NR^bC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(NR^b)R^b$ 及び $-NR^bC(NR^b)NR^cR^c$ が挙げられ、ここで、 R^a 、 R^b 及び R^c が、上述されるとおりである。ヘテロアルキル及びシクロヘテロアルキル基中の窒素原子を置換するのに有用な置換基としては、限定はされないが、 $-R^a$ 、 $-O-$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S-$ 、 $-NR^cR^c$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2R^b$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-S(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2R^b$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2OR^b$ 、 $-P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^b)(O^-)$ 、 $-P(O)(OR^b)(OR^b)$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(S)R^b$ 、 $-C(NR^b)R^b$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(S)OR^b$ 、 $-C(O)NR^cR^c$ 、 $-C(NR^b)NR^cR^c$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(S)R^b$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(S)R^b$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bC(S)OR$

10

20

30

40

50

b 、 $-NR^bC(O)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(NR^b)R^b$ 及び $-NR^bC(NR^b)NR^cR^c$ が挙げられ、ここで、 R^a 、 R^b 及び R^c が、上述されるとおりである。他の特定の基又は原子を置換するのに有用な上記のリストからの置換基は、当業者に明らかであろう。ある実施形態において、特定の基を置換するのに使用される置換基は、典型的に、上に規定される様々な基から選択される同じか又は異なる基の 1 つ以上でさらに置換され得る。

【0070】

本明細書において使用される際の任意の疾患又は障害を「治療する」又は「治療」は、ある実施形態において、疾患又は障害を改善する（すなわち、疾患又はその臨床症状の少なくとも 1 つの発症を停止させるか又は軽減する）ことを指す。他の実施形態において、「治療する」又は「治療」は、患者に認識されないこともある少なくとも 1 つの物理的パラメータを改善することを指す。さらに他の実施形態において、「治療する」又は「治療」は、疾患又は障害を、身体的に、（例えば、認識可能な症状の安定化）、生理学的に、（例えば、物理的パラメータの安定化）、又はその両方で阻害することを指す。さらに他の実施形態において、「治療する」又は「治療」は、疾患又は障害の発症を遅らせることを指す。

【0071】

本明細書において使用される際の「治療有効量」は、疾患を治療するために患者に投与されるとき、疾患のこのような治療を行うのに十分である化合物の量を指す。「治療有効量」は、化合物、疾患及びその重症度及び治療される患者の年齢、体重などに応じて変化する。

【0072】

ここで、化合物及び方法特定の実施形態に詳細に言及する。開示される実施形態は、特許請求の範囲を限定することは意図されていない。それとは逆に、特許請求の範囲は、全ての代替例、変更及び均等物を包含することが意図されている。

【0073】

老化細胞除去剤

血液癌（T 細胞リンパ腫、白血病及び多発性骨髄腫など）の臨床治療のために承認されているヒドロキサム酸誘導体 HDAC 阻害剤としては、ポリノスタット（スベロイルアニリドヒドロキサム酸又は SAHA（1））、ペリノスタット（2）及びパノビノスタット（3）が挙げられる。いくつかの他のヒドロキサム酸誘導体 HDAC 阻害剤（例えば、化合物（4）～（13））が、単一の薬剤として、又は他の腫瘍溶解剤化合物との併用療法において、血液系及び固形腫瘍の両方の治療のために臨床研究中である。HDAC クラス I、II 及び IV 内の酵素を様々に阻害することに加えてヒドロキサム酸誘導体は、他の治療標的、例えば、CUDC-101（12）（EGFR 及び HER-2 キナーゼを強く阻害する）及び CUDC-907（13）（様々な PI3K アイソフォームをさらに阻害する）を同時に阻害するように設計されている。ストレプトマイセス属（Streptomyces）から分離される天然産物トリコスタチン A（14）及び多くの合成的に誘導された化合物を含む多くの他のヒドロキサム酸誘導体 HDAC 阻害剤が開示されており、その例としては、化合物（15）～（21）並びに Roche and Bertrand（上記）に開示される他のもの；又は米国特許第 5,369,108 号明細書、同第 5,932,616 号明細書、同第 6,087,367 号明細書及び同第 6,511,990 号明細書に開示されるヒドロキサム酸のいずれかが挙げられる。

10

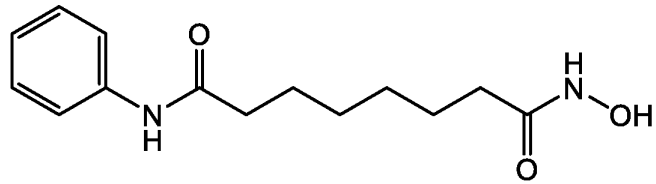
20

30

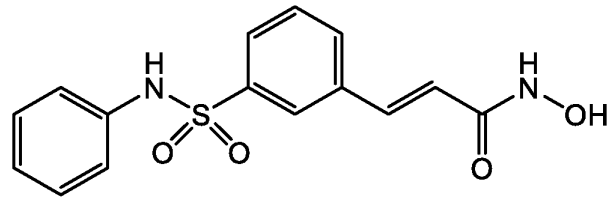
40

50

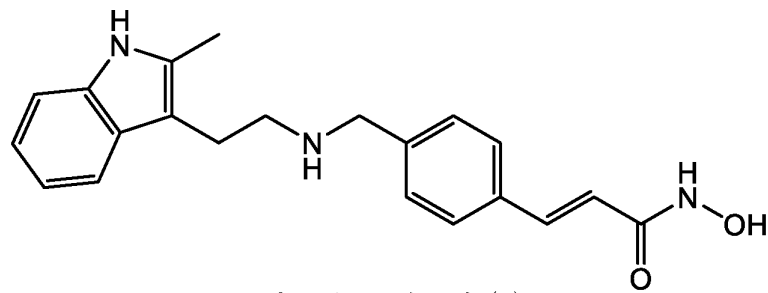
【化 2 - 1】



SAHA (ポリノスタット) (1)



ベリノスタット (Beleodaq) (2)



パノビノスタット (3)

10

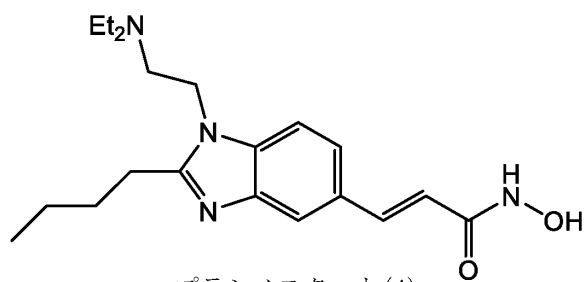
20

30

40

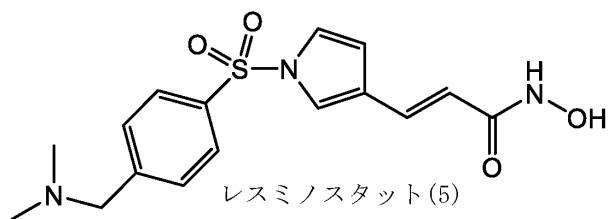
50

【化 2 - 2】

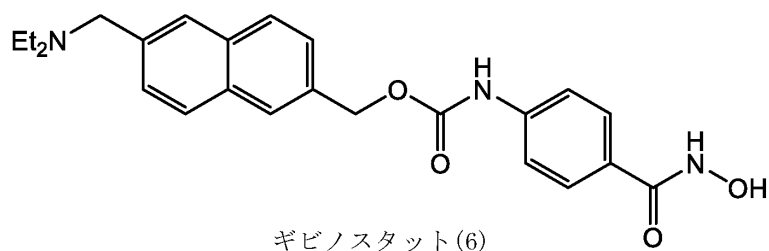


プラシノスタット (4)

10

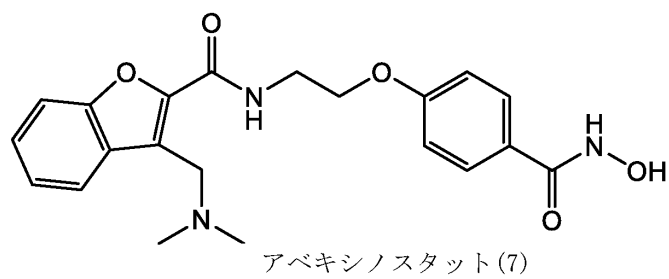


レスミノスタット (5)



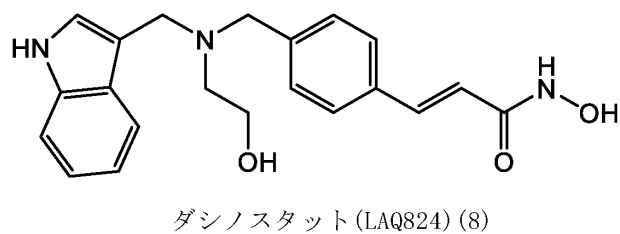
ギビノスタット (6)

20



アベキシノスタット (7)

30

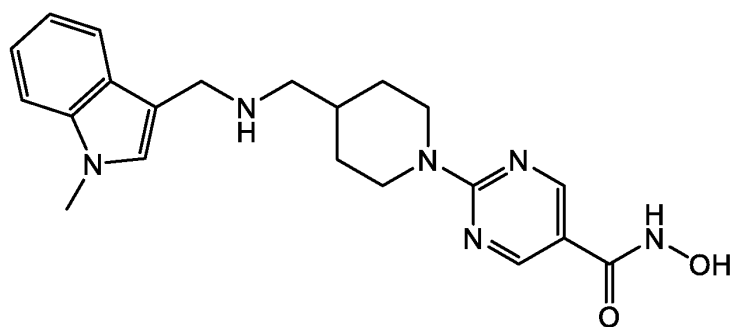


ダシノスタット (LAQ824) (8)

40

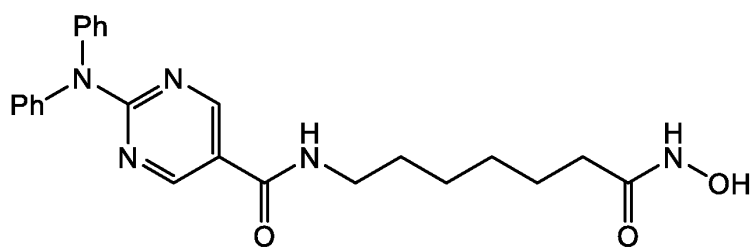
50

【化 2 - 3】



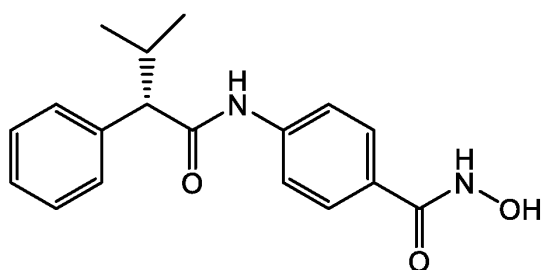
キシノスタット (9)

10



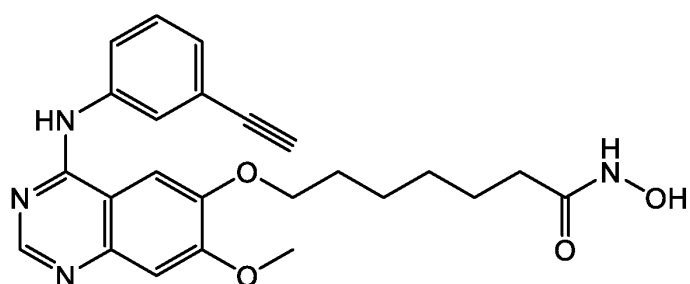
リコリノスタット (10)

20



AR-42 (11)

30

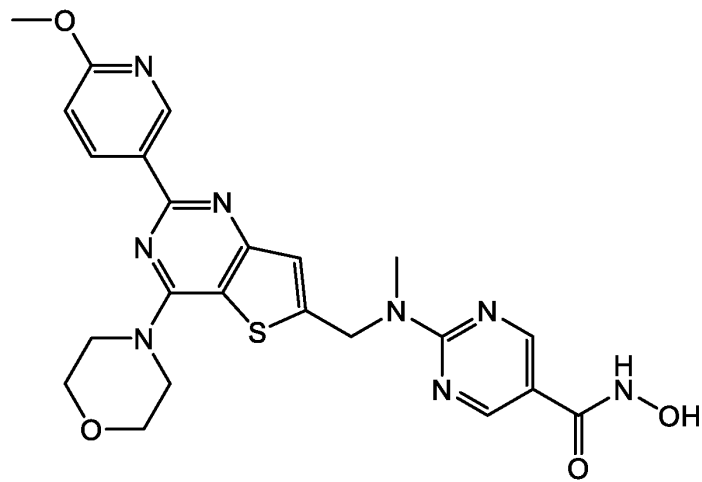


CUDC-101 (12)

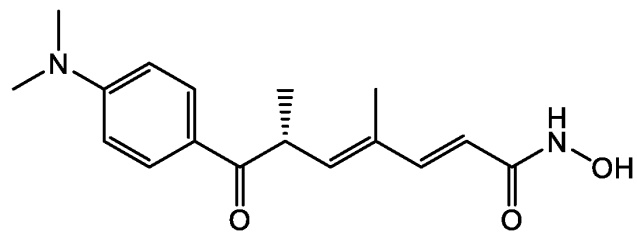
40

50

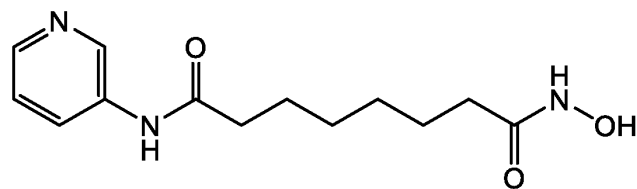
【化 2 - 4】



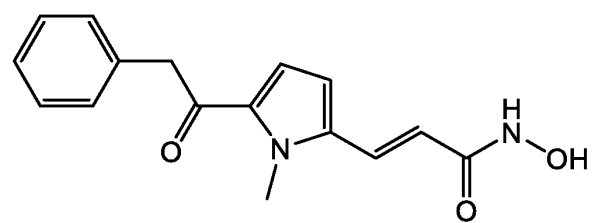
CUDC-907 (13)



トリコスタチン A (TSA) (14)



ピロキシミド (15)



APHA (16)

10

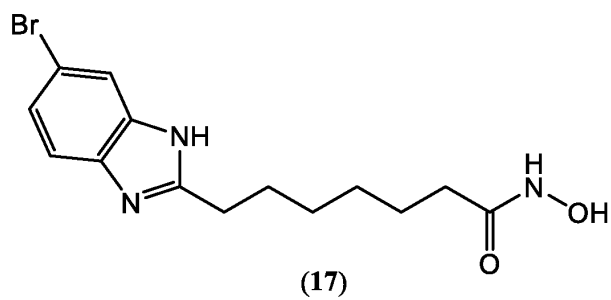
20

30

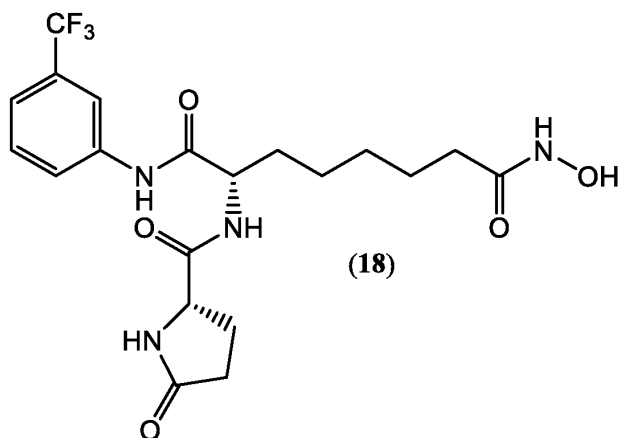
40

50

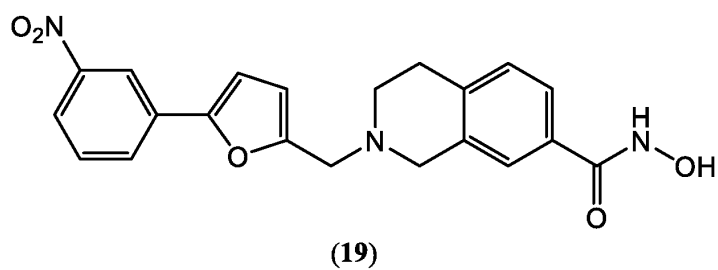
【化 2 - 5】



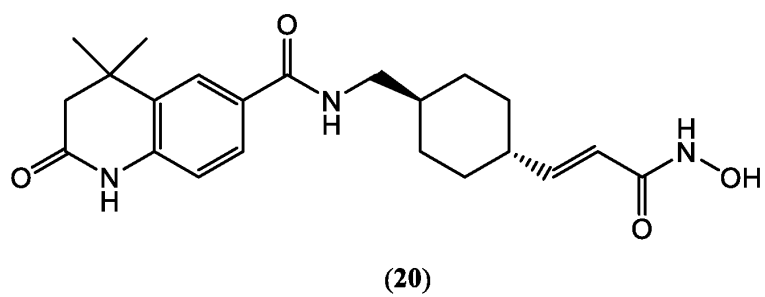
10



20



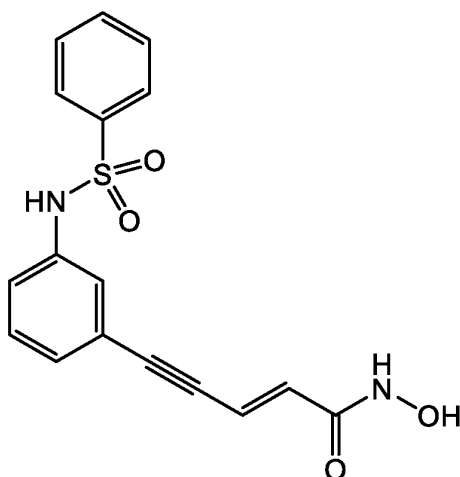
30



40

50

【化 2 - 6】



オキサムフラチン(21)

10

【0074】

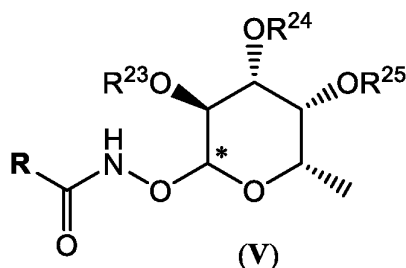
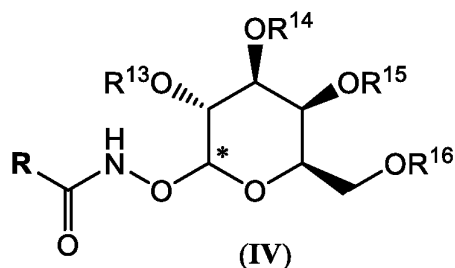
老化細胞除去活性は、汎HDAC阻害剤パノビノスタット(3)について以前に報告されており(Samaraweera et al., 上記)、老化が、減少したグローバルなヒストンアセチル化に関連していることが示されている(Li et al., Proteomics 13(2013)2585-2596)。いくつかの報告が、Bcl-xL発現のHDAC阻害剤媒介性の低下を実証している(例えば、Cao et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 25(2001)562-568; Rada-Iglesias et al., Genome Res. 17(2007)708-719; 及びFrys et al., Br. J. Haematol. 169(2015)506-519を参照)。理論に拘束されるのを望むものではないが、HDAC阻害剤の老化細胞除去活性の1つの薬理学的基礎が、抗アポトーシスBcl-xLタンパク質レベルの低下によって媒介されることが可能である。

20

【0075】

ある実施形態において、老化細胞除去剤として有効な化合物は、式(IV)又は(V)：

30

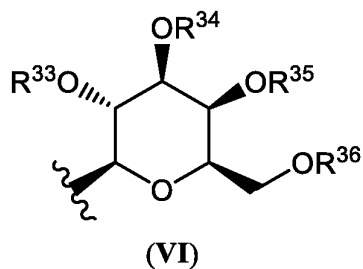


40

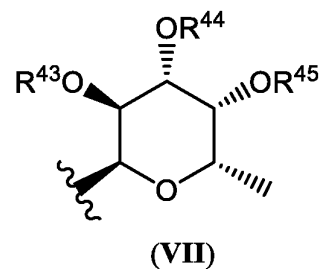
の化合物であり、式中：Rが、ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤の残基であり；各R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R²³、R²⁴及びR²⁵が、独立して、水素、-C(O)-R¹、式(VI)の部分又は式(VII)の部分：

50

【化 4】



(VI)



(VII)

であり、各 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 及び R^{45} が、独立して、水素又は $-C(O)-R^2$ であり；各 R^1 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 又は R^{16} の 1 つが、式 (VI) 又は式 (VII) の部分である場合、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} の残りは、水素又は $C(O)-R^1$ であり；各 R^2 が、独立して、水素、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の 1 つが、式 (VI) 又は式 (VII) の部分である場合、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の残りは、水素又は $-C(O)-R^1$ であり；ただし、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である場合、 R は、7-ヘプタノイルフェニルアミドでない。

【0076】

式 (IV) 又は (V) の化合物のある実施形態において、ピラノース環（標識される*）の芳香族炭素は、S 配置のものであり、化合物はそれぞれ、ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤の β -D-ガラクトシド及び α -L-フコシドコンジュゲートである。

【0077】

式 (IV) 又は (V) の化合物のある実施形態において、 R が、ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤の残基であり、ここで、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤は、パノビノスタット、キシノスタット、ポリノスタット、ダシノスタット、ギビノスタット、CUDC-907、CUDC-101、アベキシノスタット、ベリノスタット、プラシノスタット、レスミノスタット、リコリノスタット、ピロキサミド、APHA、トリコスタチンA、オキサムフラチン及びAR-42からなる群から選択される。

【0078】

式 (IV) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式 (V) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。

【0079】

式 (IV) の化合物の他の実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。式 (V) の化合物の他の実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。

【0080】

式 (IV) の化合物のさらに他の実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。式 (V) の化合物のさらに他の実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。

【0081】

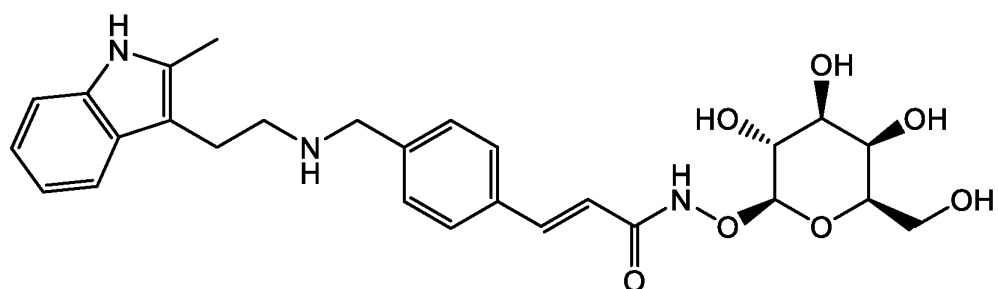
式 (IV) の化合物のさらに他の実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (V) の化合物のさらに他の実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C$

(O) - R¹であり、ここで、R¹がエチルである。

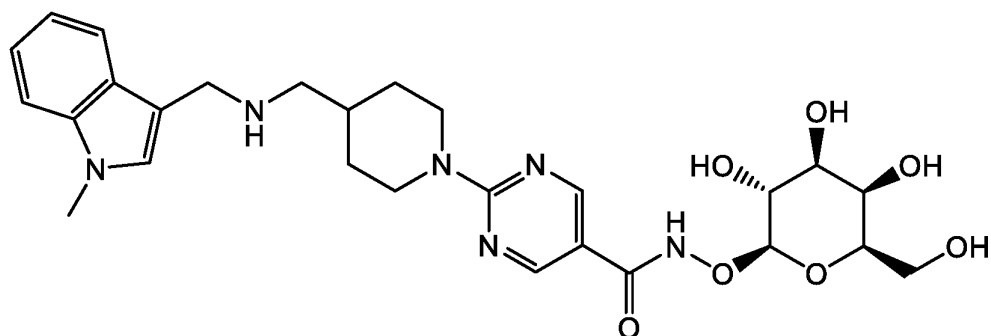
【0082】

さらなる実施形態において、式(IV)の化合物は、構造：

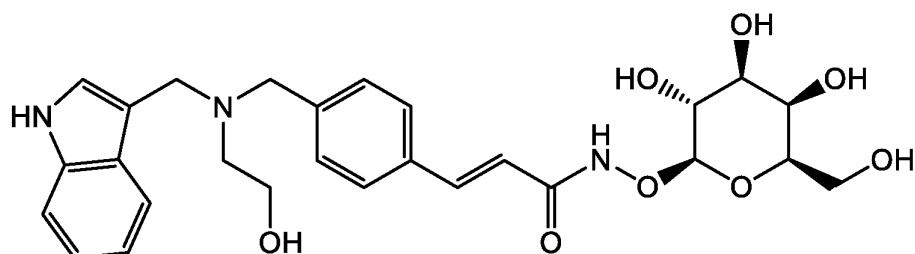
【化5-1】



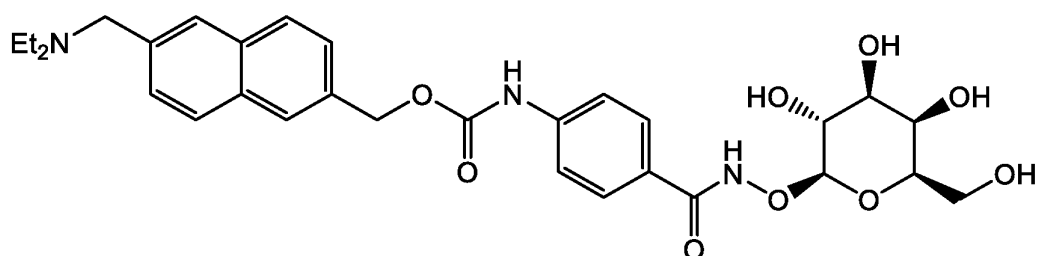
10



20



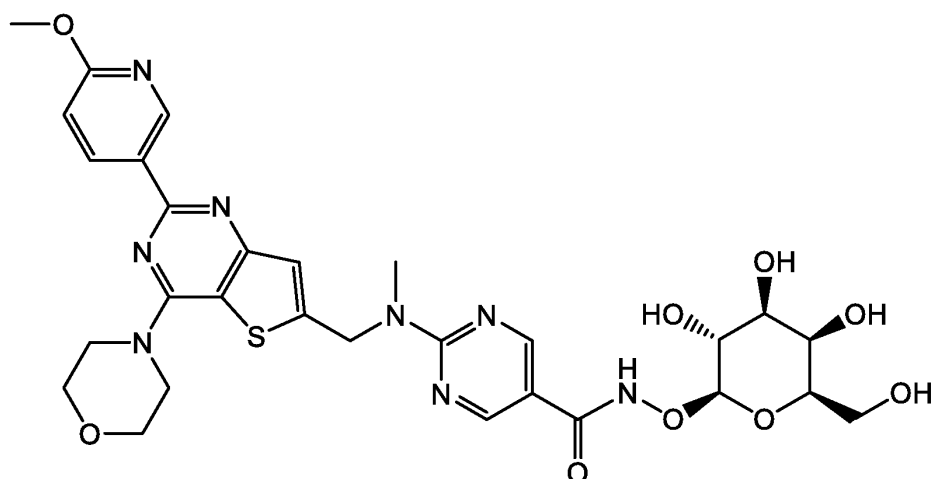
30



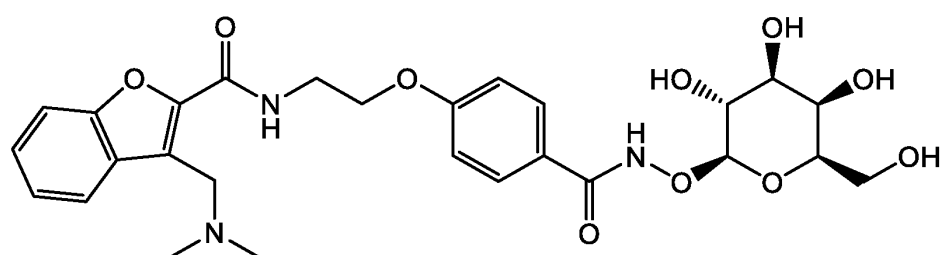
40

50

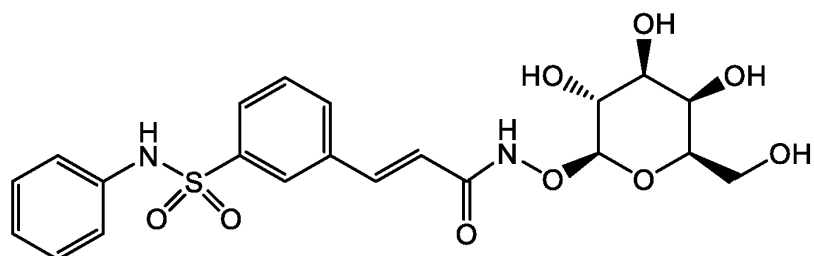
【化 5 - 2】



10

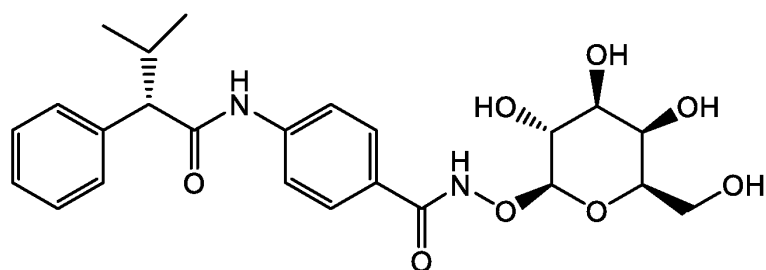


20



及び

30



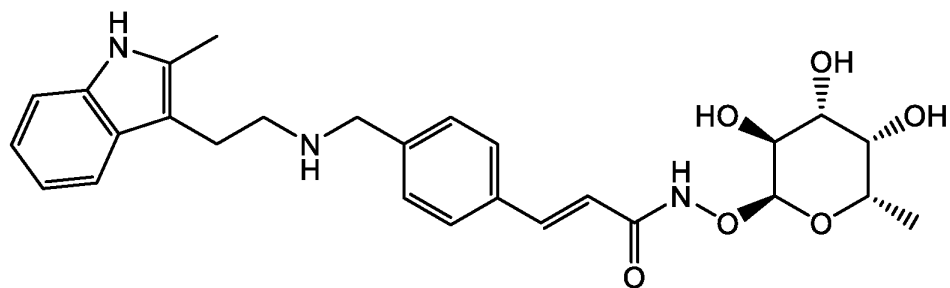
40

のいずれかを有する化合物である。

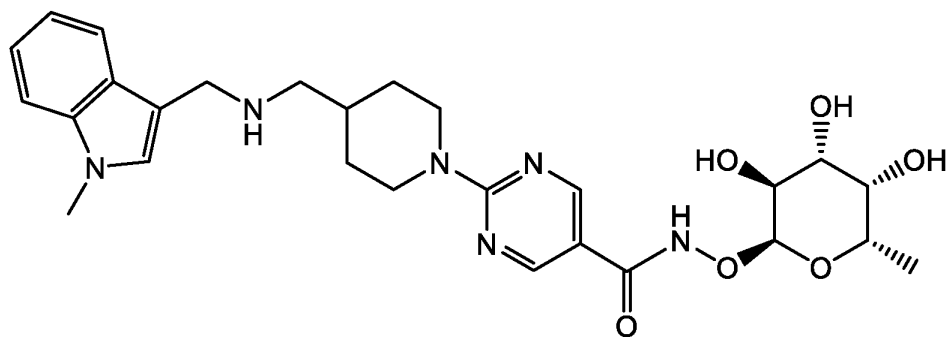
【 0 0 8 3】

さらなる実施形態において、式（V）の化合物は、構造：

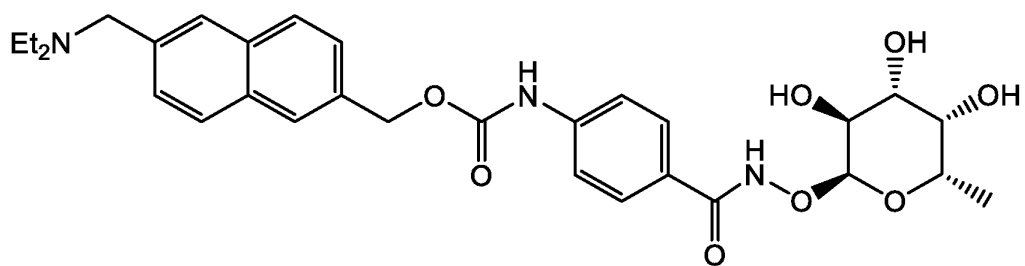
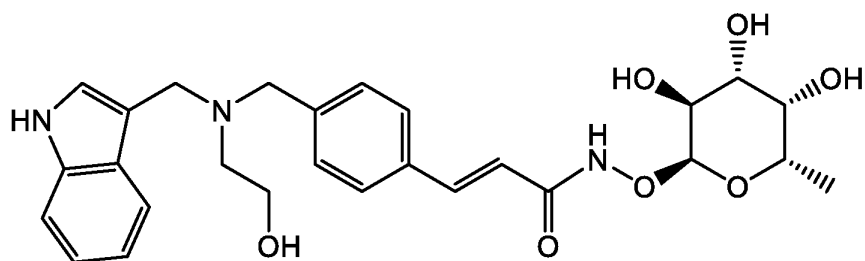
【化 6 - 1】



10



20

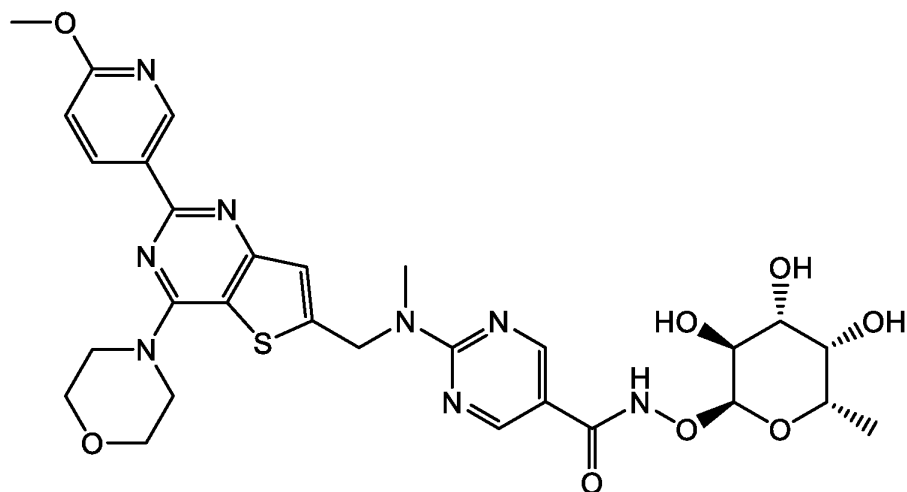


30

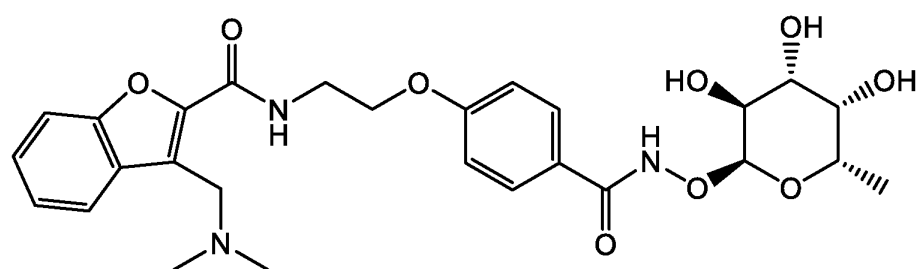
40

50

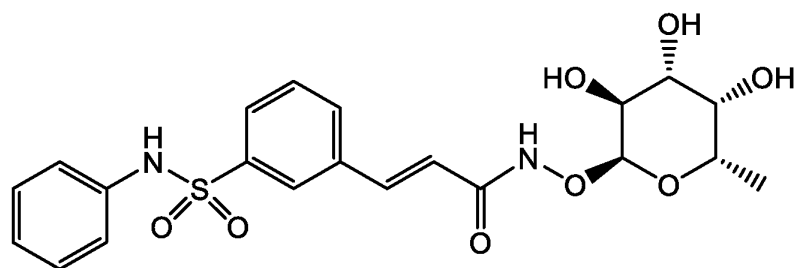
【化 6 - 2】



10

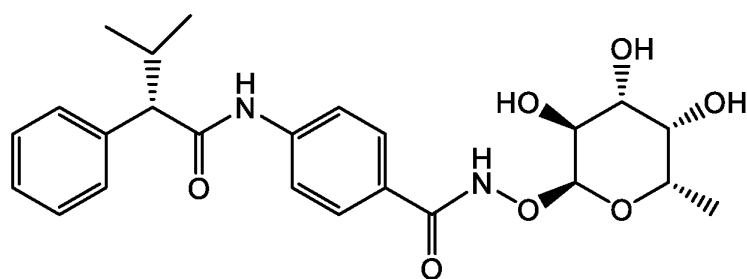


20



30

及び



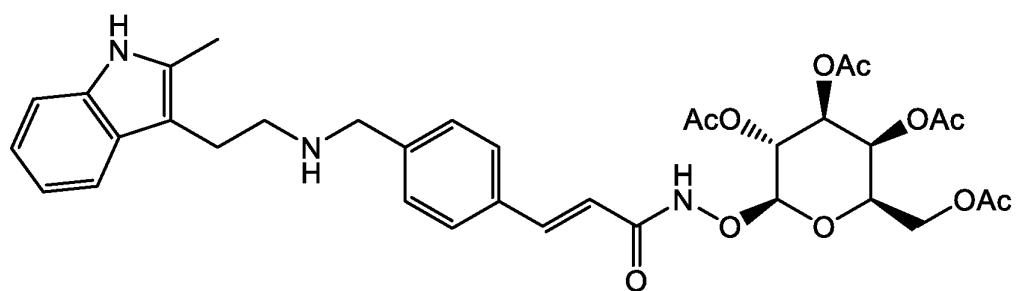
40

のいずれかを有する化合物である。

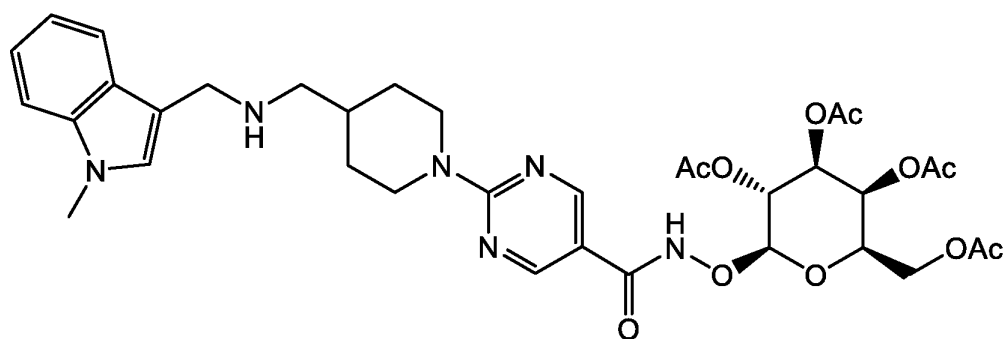
【 0 0 8 4】

さらに他の実施形態において、式（ⅠⅤ）の化合物は、構造：

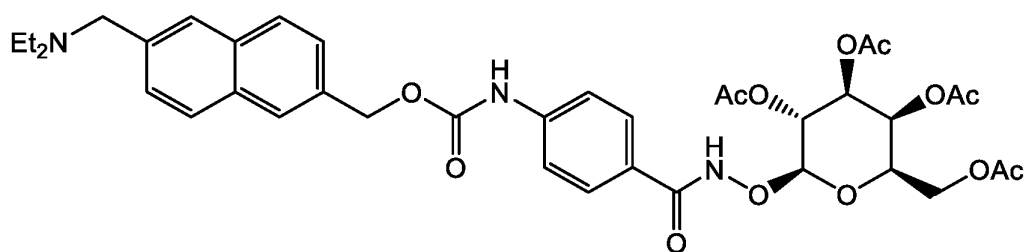
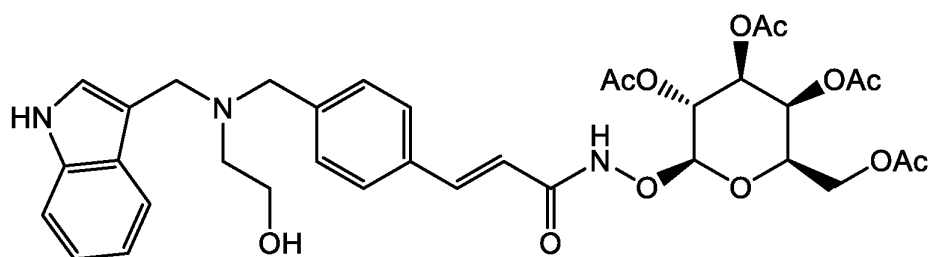
【化 7 - 1】



10



20

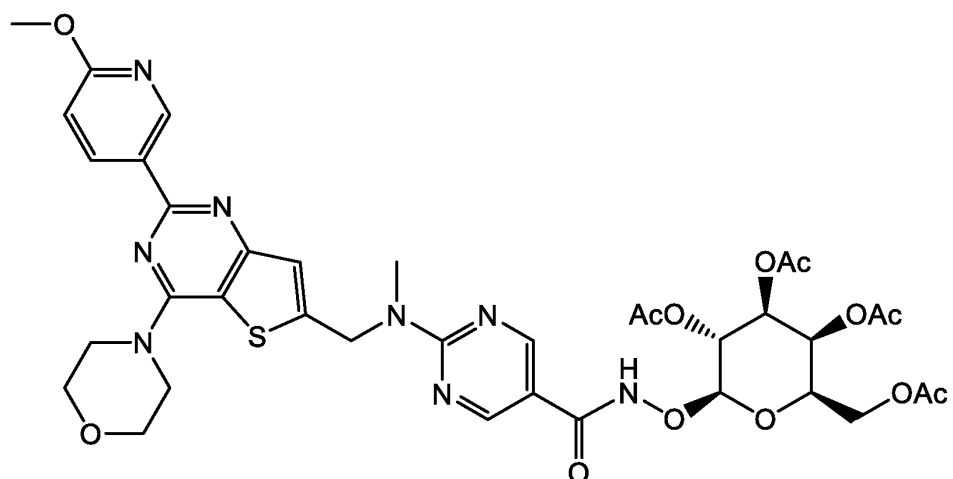


30

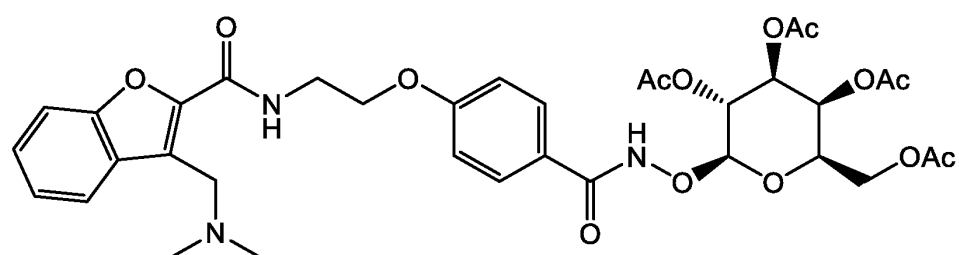
40

50

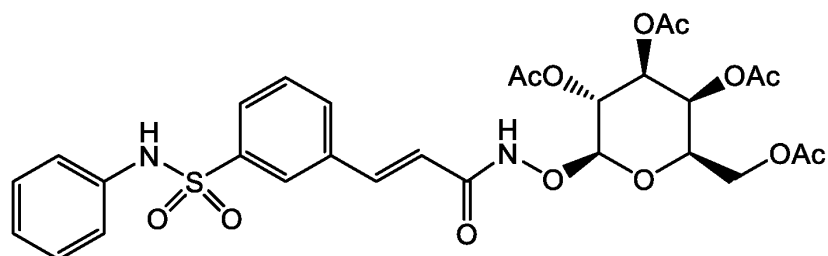
【化 7 - 2】



10

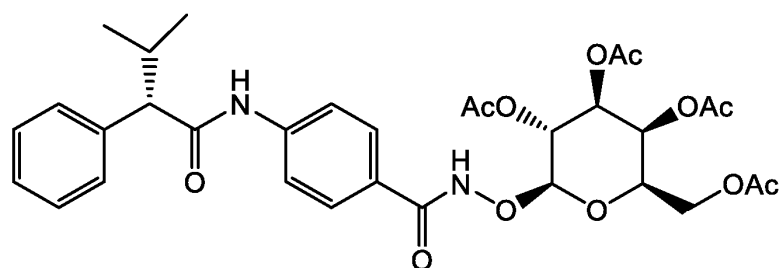


20



及び

30



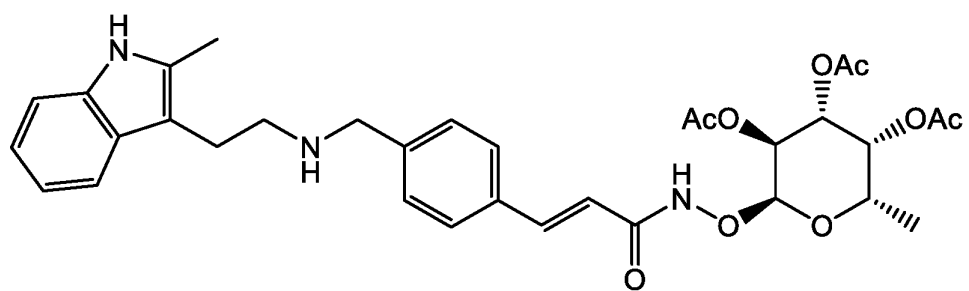
40

のいずれかを有する化合物である。

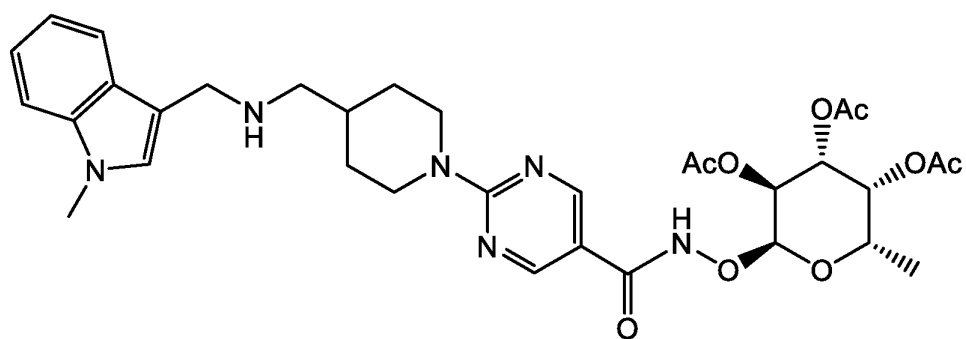
【 0 0 8 5】

さらに他の実施形態において、式（V）の化合物は、構造：

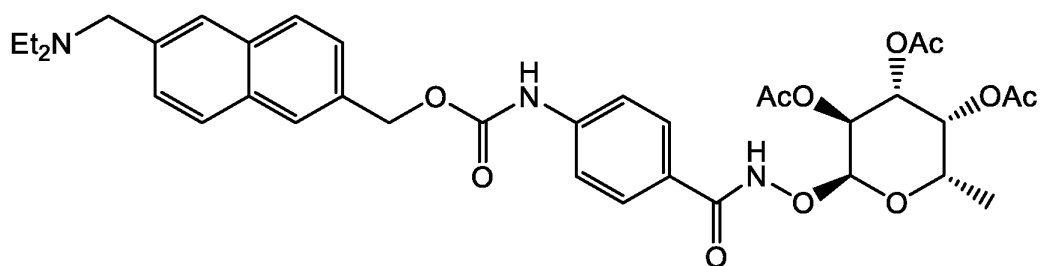
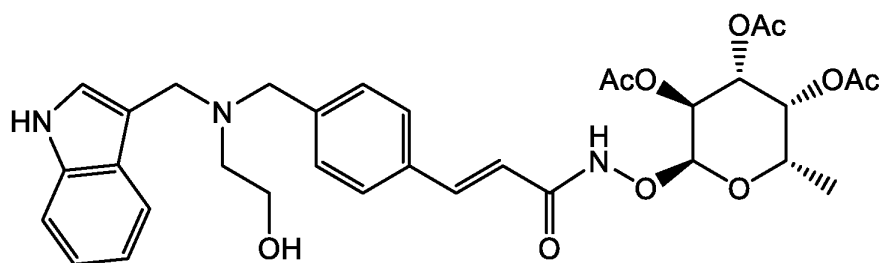
【化 8 - 1】



10



20

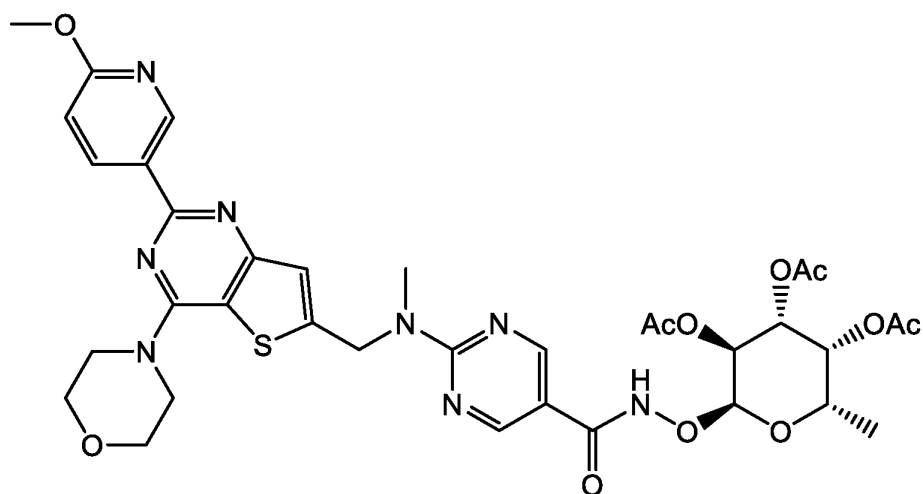


30

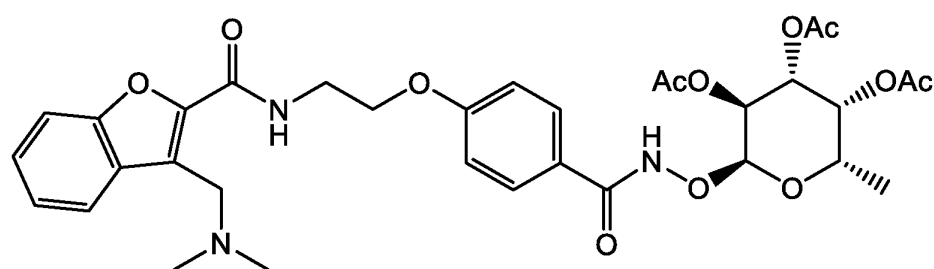
40

50

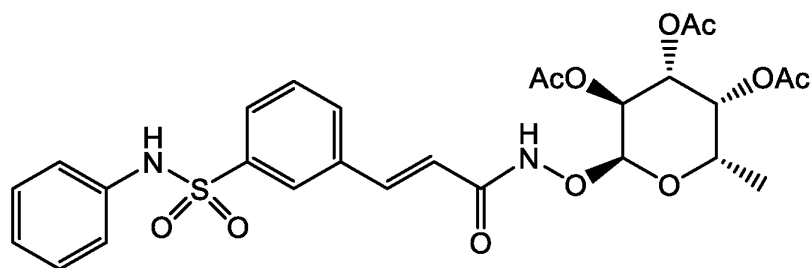
【化 8 - 2】



10

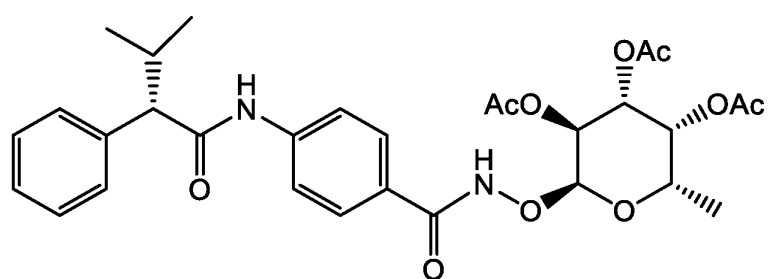


20



30

及び



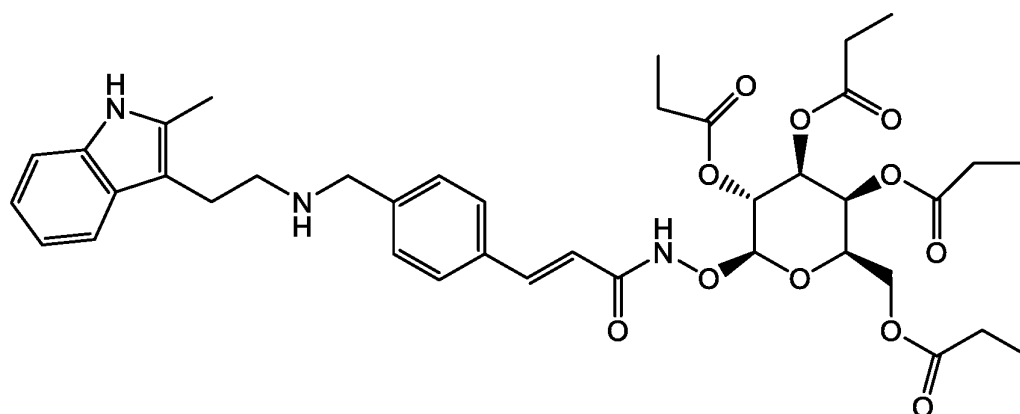
40

のいずれかを有する化合物である。

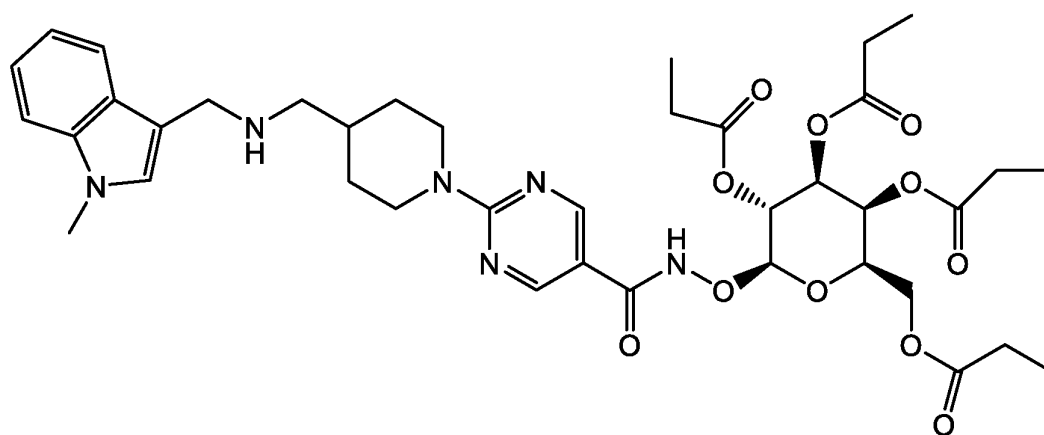
【0086】

さらに他の実施形態において、式（IV）の化合物は、構造：

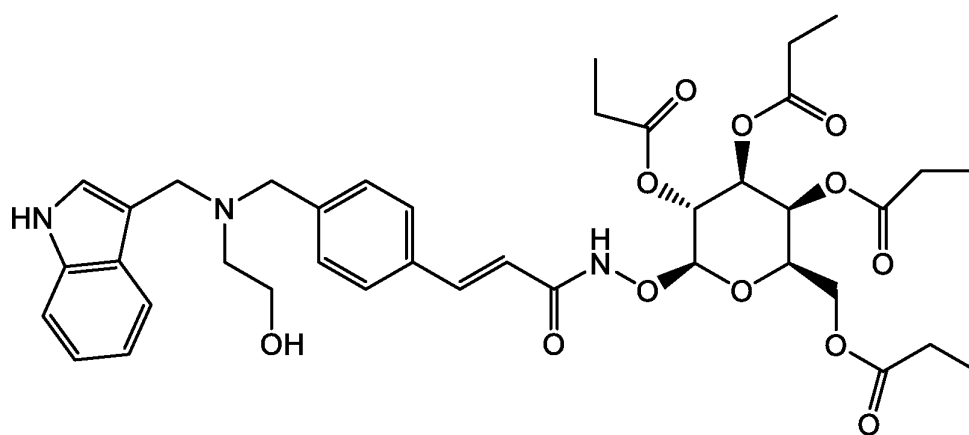
【化 9 - 1】



10



20

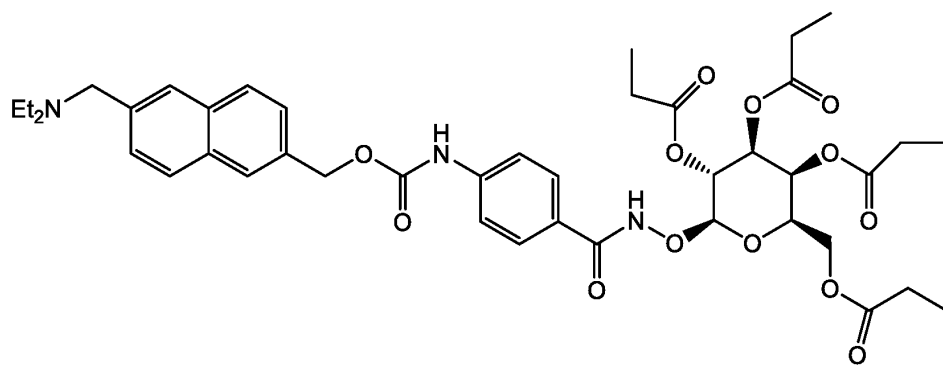


30

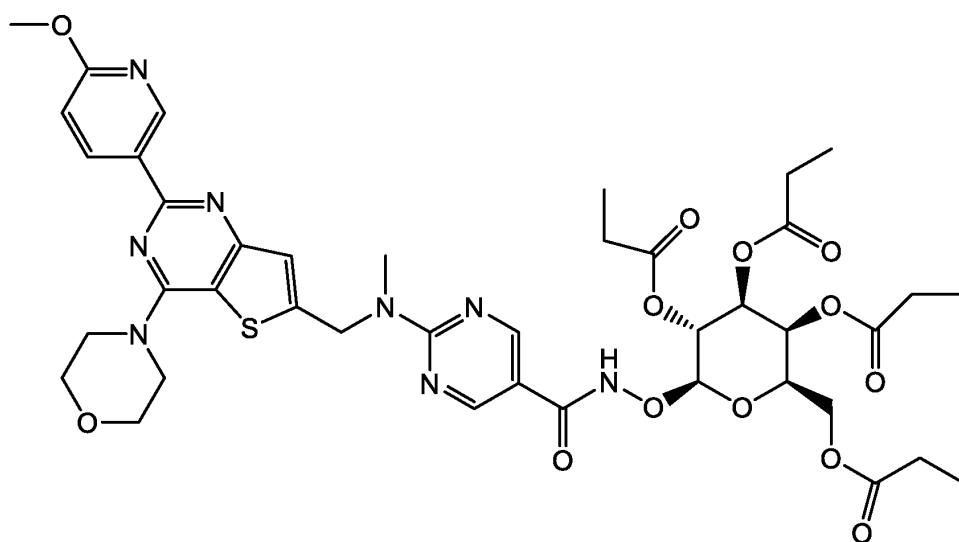
40

50

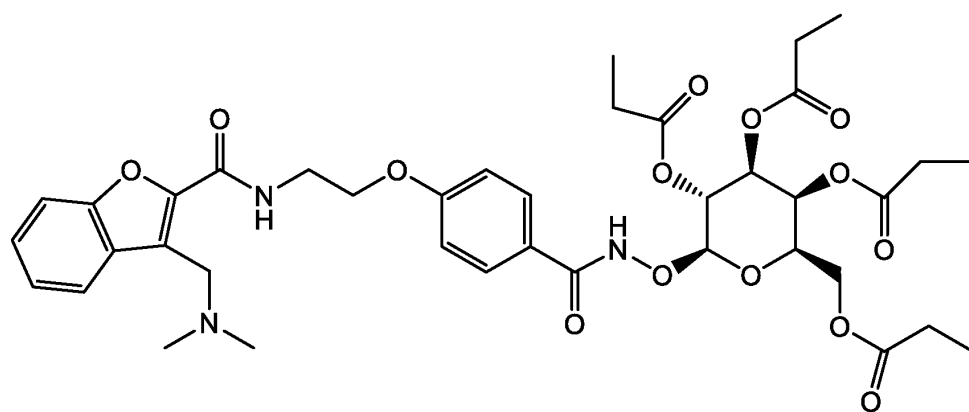
【化 9 - 2】



10



20

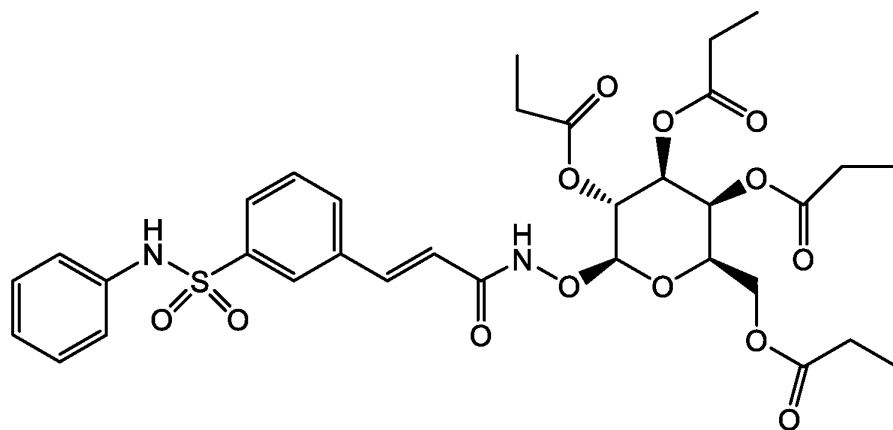


30

40

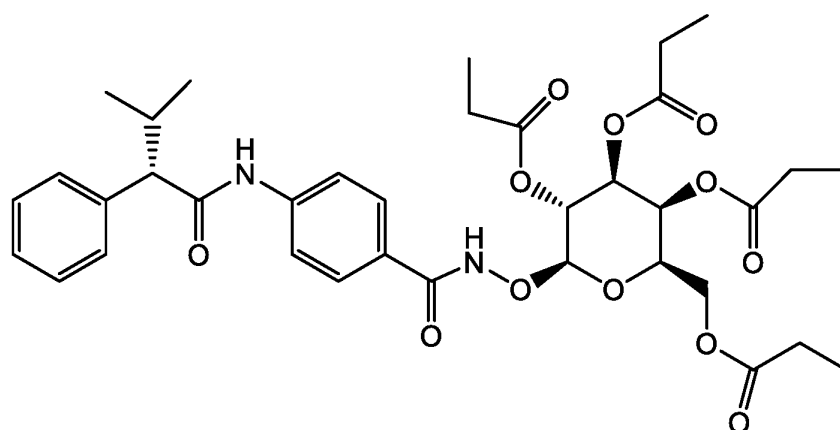
50

【化 9 - 3】



10

及び



20

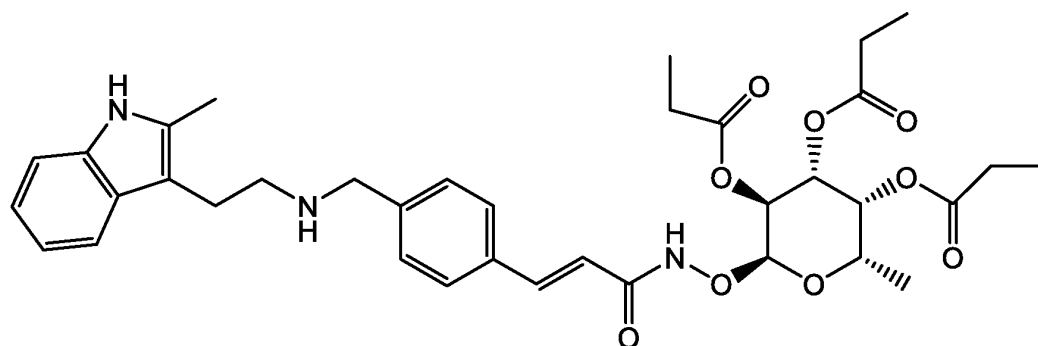
のいずれかを有する化合物である。

30

【 0 0 8 7】

さらに他の実施形態において、式（V）の化合物は、構造：

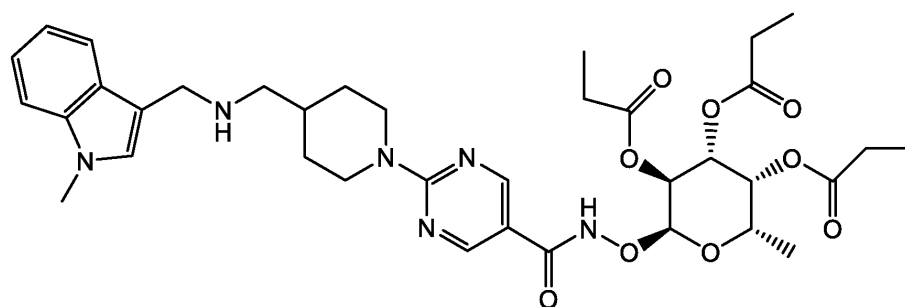
【化 1 0 - 1】



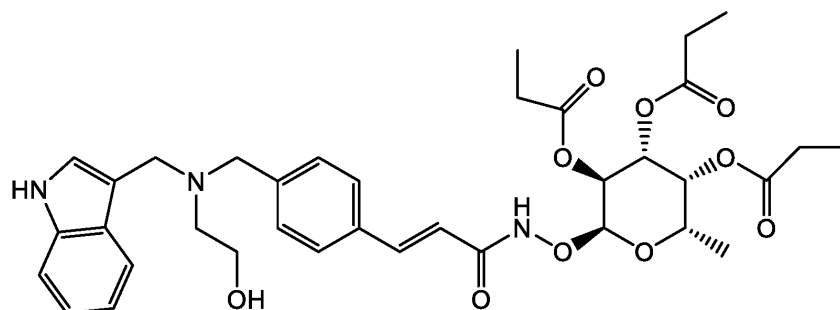
40

50

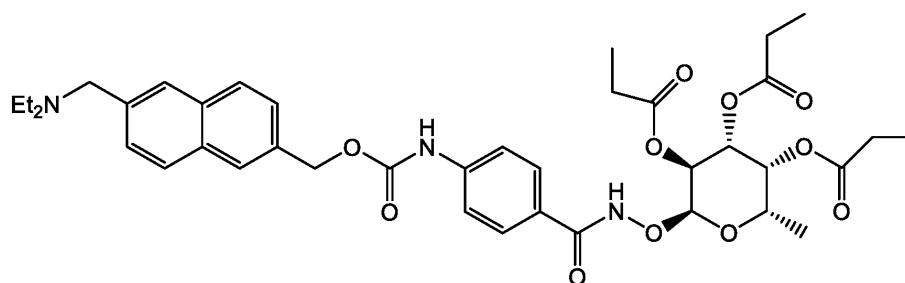
【化 10 - 2】



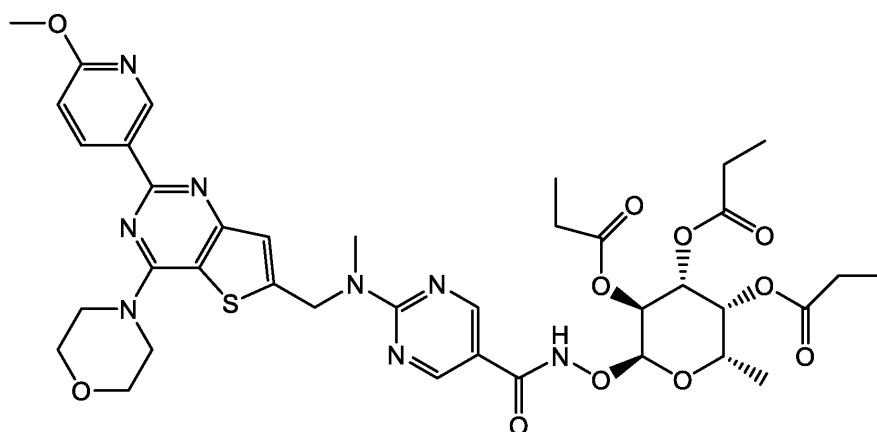
10



20



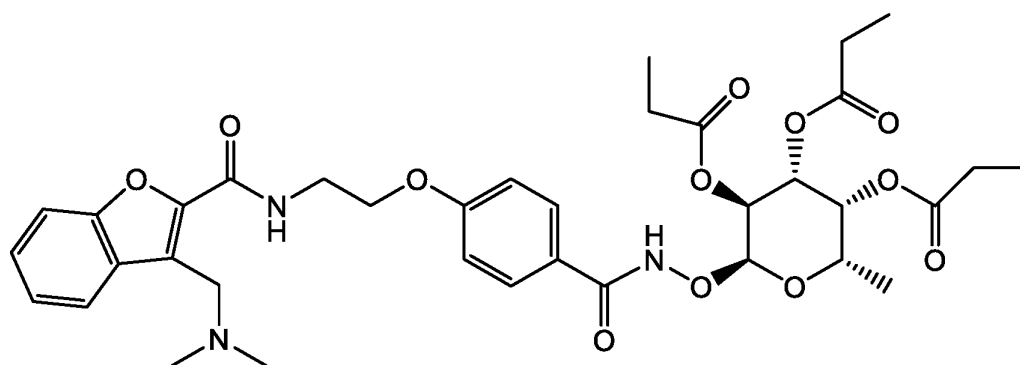
30



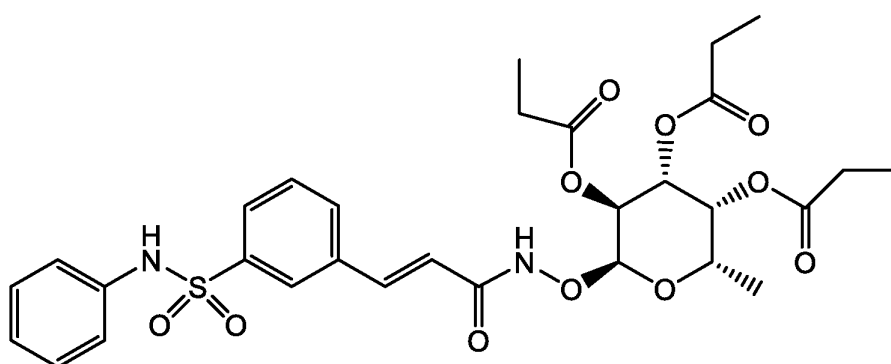
40

50

【化 10 - 3】

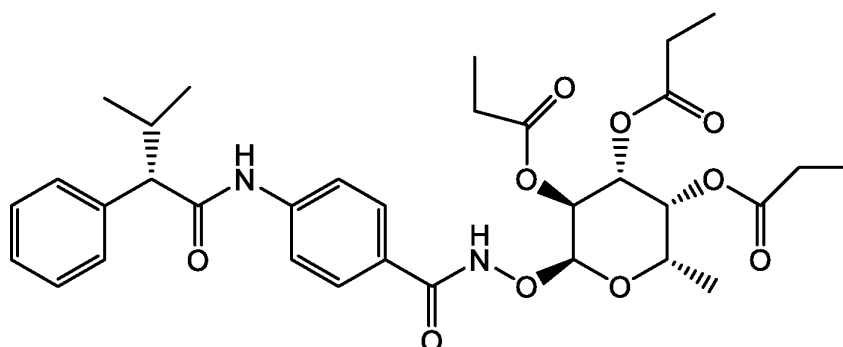


10



20

及び



30

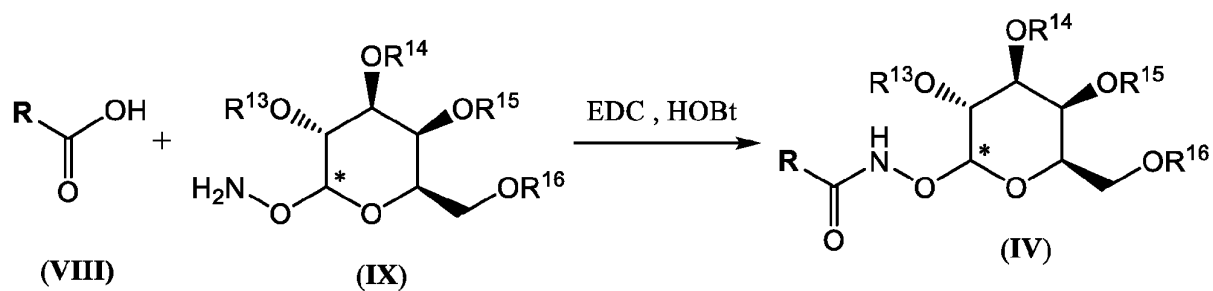
のいずれかを有する化合物である。

【0088】

式 (IV) 又は (V) の化合物は、以下に示されるように、カルボジイミド（例えば、EDC）などのアシルカップリング試薬、或いは、活性化の後、塩化アシル又は混合無水物アシル化剤の存在下で、ヒドロキサム酸 HDA C 阻害剤のカルボン酸前駆体 RCO_2H (VII) を、糖オキサム化合物 (IX) 及び (X) のそれぞれとカップリングすることによって合成され得る。

40

【化 1 1】



10

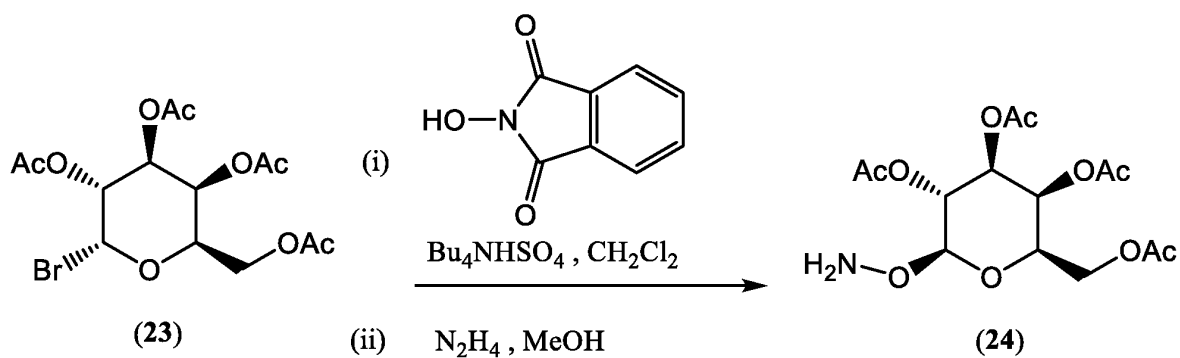


20

【 0 0 8 9】

具体的には、SAHAのO-β-ガラクトシド誘導体、化合物(22)は、公知のブロモガラクトシド(23)：

【化 1 2 - 1】

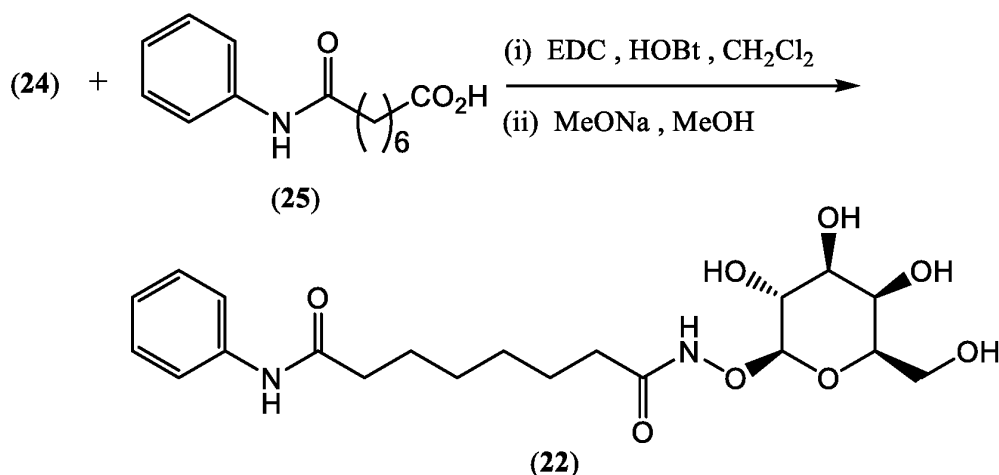


30

40

50

【化 1 2 - 2】



10

から、Thomas et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 17 (2007) 983-986の方法にしたがって調製され得る。

【0090】

β-ガラクトシダーゼを伴う、化合物(22)のインキュベーションは、(1)への定量的変換を示した。ヒドロキサム酸誘導体化合物のHDAC阻害活性が、遊離ヒドロキサム酸部分の亜鉛キレート活性に極めて依存することは周知である(例えば、Roche and Bertrand、上記を参照)。したがって、式(IV)又は(V)の化合物中のグリコシド誘導体としてヒドロキサム酸官能基をマスクすることにより、これらのプロドラッグがHDAC阻害剤として不活性であるが、老化細胞のリソソーム中での加水分解により活性化されることを確実にする。

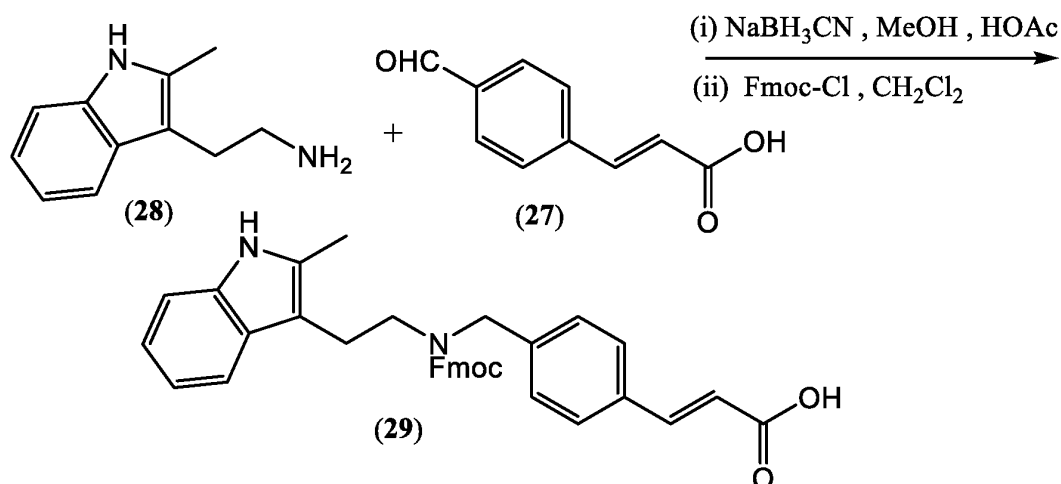
20

【0091】

同様に、パノビノスタットのO-β-ガラクトシド誘導体、化合物(26)が、2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチルアミン(28)(国際出願番号国際公開第02/22577号パンフレットに記載される)及び例えばフルオレニルメチルオキシカルバメート(Fmoc)誘導体(29)としての得られる保護されたアミノ酸の塩基性窒素による、4-ホルミルケイ皮酸(27)の還元的アミノ化によって合成され得る。上述される化合物(24)とのカップリング、続いて連続的な脱保護により、パノビノスタットプロドラッグ(26)が得られる。

30

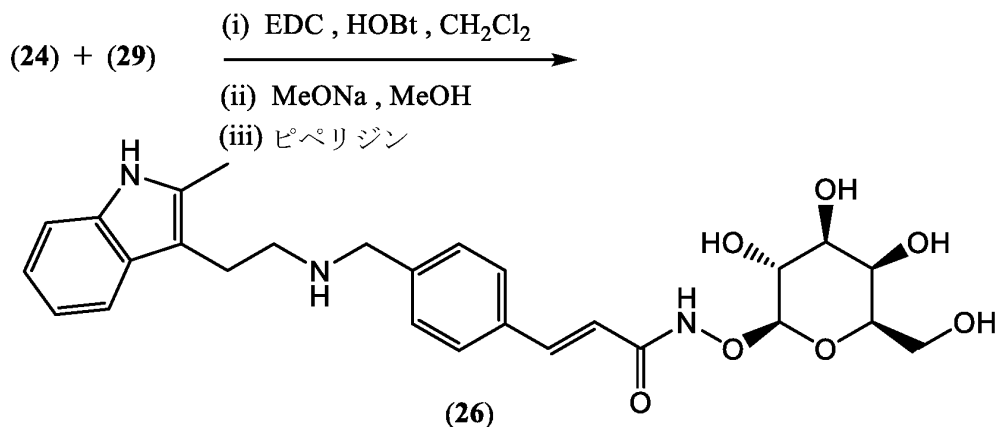
【化 1 3 - 1】



40

50

【化 1 3 - 2】



10

【0092】

化合物(26)への代替的な経路において、化合物(24)は、まず、(例えば、EDC、HOBtを用いて)(27)とカップリングされ、得られたアルデヒドが、還元的アミノ化反応においてトリプタミン誘導体(28)で処理され、アセチル保護基のナトリウムメトキシド媒介性除去により、プロドラッグ(26)が得られる。

20

【0093】

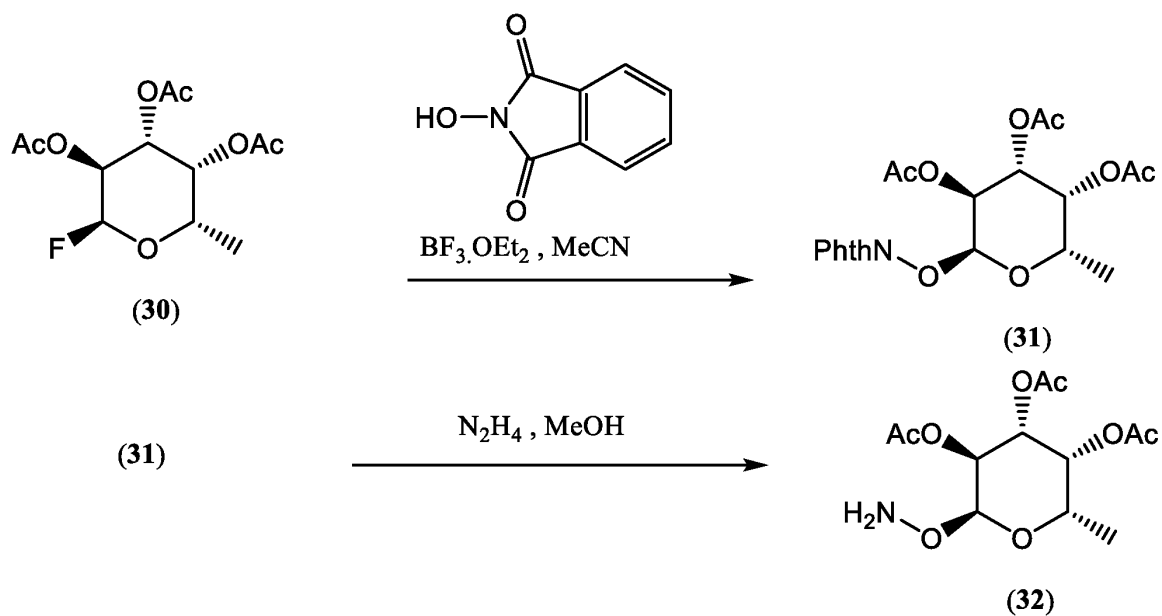
ヒドロキサム酸誘導体ヒストンデアセチラーゼ阻害剤の特定の α -L-フコシドコンジュゲートが、Hou et al., Mater. Chem. Front. 1 (2017) 660-667又は米国特許出願公開第2015/0168374号明細書に記載されるように調製される適切に保護及び活性化されたフコース誘導体から出発して、同様の方法で調製され得る。例えば、1-フルオロ-2, 3, 4-トリ-O-アセチル-フコース(30)が、N-ヒドロキシフタルイミドで処理されて、 α 及び β -L-フコシルオキシム誘導体の混合物が得られ、ここで、所望の α アノマー(31)は、極性の低い生成物である。次に、ヒドラジンによる脱保護により、 α -L-フコシルオキシム(32)が得られ、それが、SAHA及びパノビノスタットの α -L-フコシドプロドラッグ、それぞれ化合物(33)及び(35)：

30

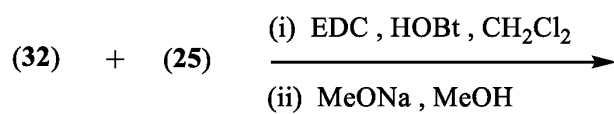
40

50

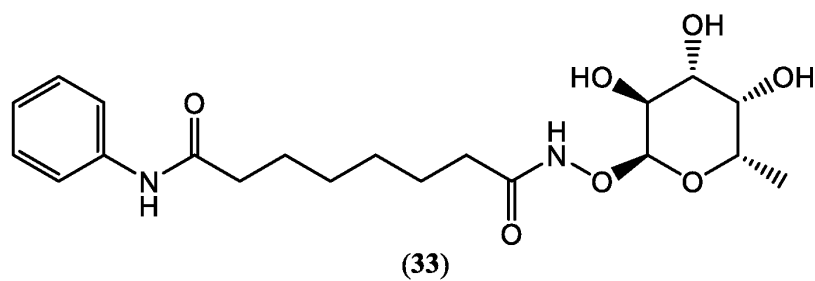
【化 1 4 - 1】



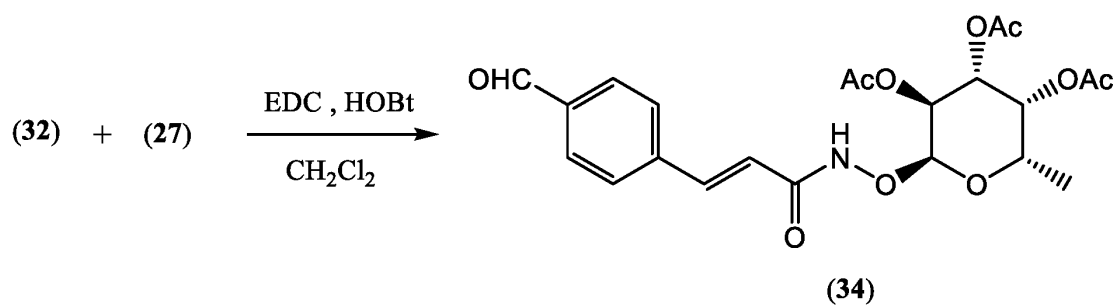
10



20



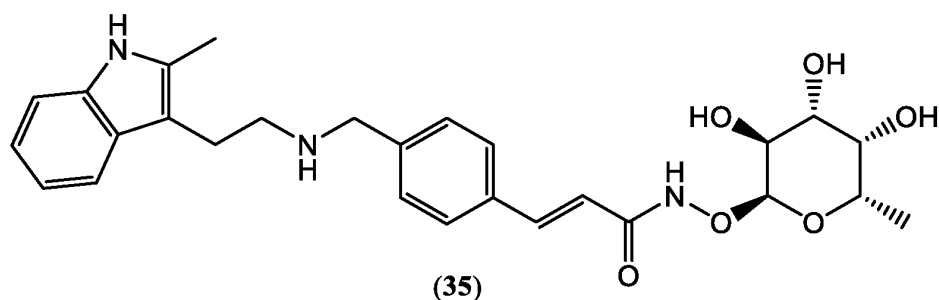
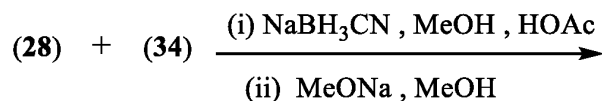
30



40

50

【化 1 4 - 2】



10

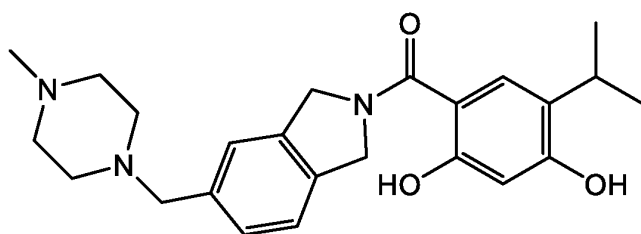
へとさらに合成され得る。

【0094】

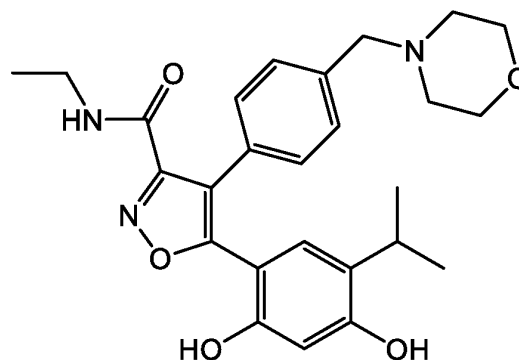
Hsp90 阻害剤は、レゾルシノール化合物 AT13387 (オナレスピブ、(36))、NYP-AUY922 (ルミネスピブ、(37))、ガネテスピブ (38)、VER-50589 (39)、VER-49009 (40)、CCT018159 (41) 及び KW-2478 (42) によって例示され、2-(4-アミノシクロヘキサノール)-ベンズアミド誘導体は、SNX-2112 (43) 及び (SNX-7081) (44) によって例示される。ある実施形態において、Hsp90 阻害剤の O-ガラクトシド又は O-フコシドコンジュゲートは、老化細胞除去化合物である。他の実施形態において、Hsp90 阻害剤の O-β-D-ガラクトシド又は O-α-L-フコシドコンジュゲートは、老化細胞除去化合物である。

20

【化 1 5 - 1】



AT13387 (オナレスピブ) (36)



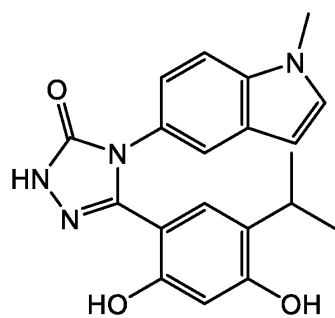
NVP-AUY922 (ルミネスピブ) (37)

30

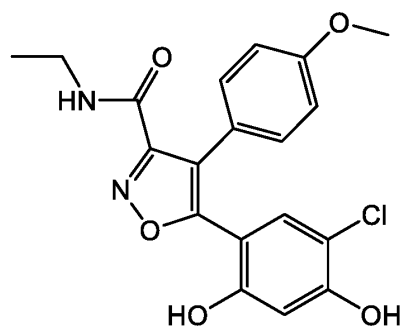
40

50

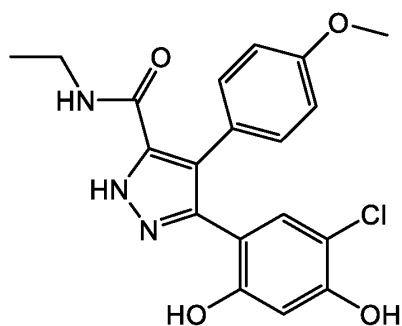
【化 1 5 - 2】



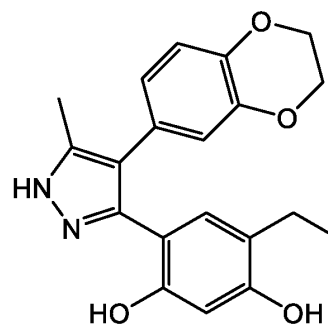
ガネテスピブ (38)



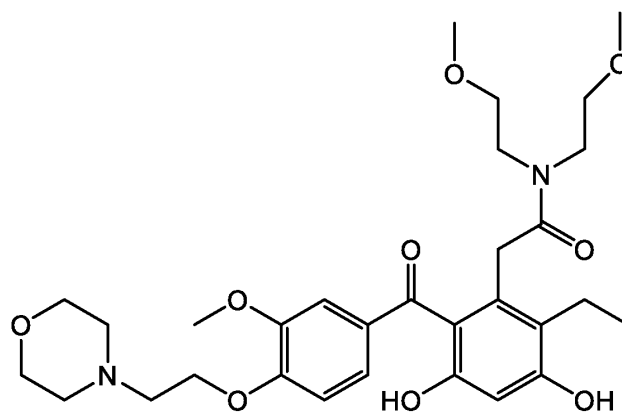
VER-50589 (39)



VER-49009 (40)



CCT018159 (41)



KW-2478 (42)

10

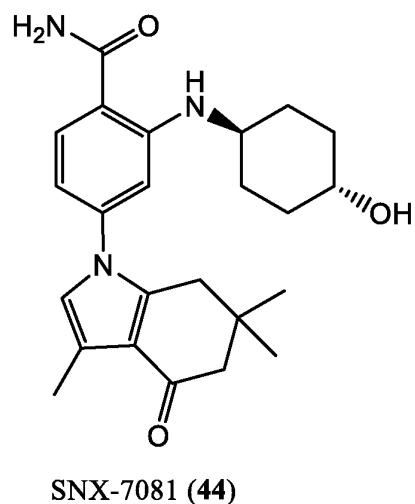
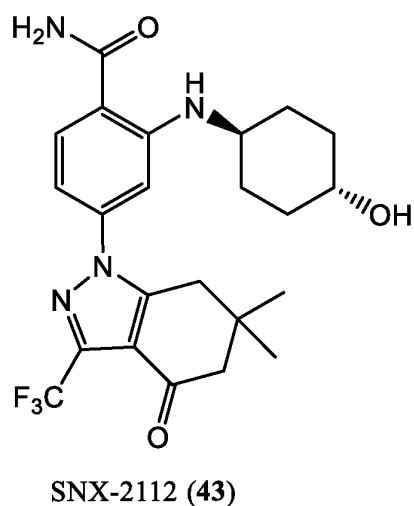
20

30

40

50

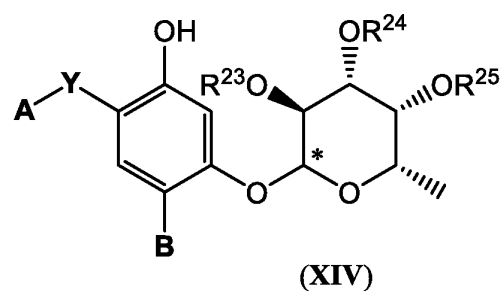
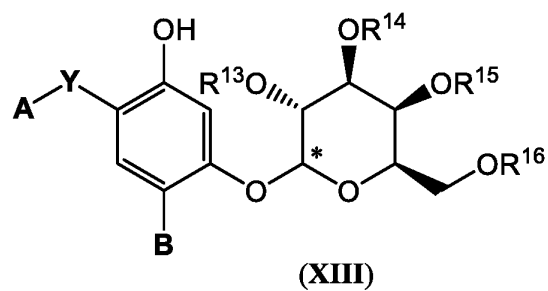
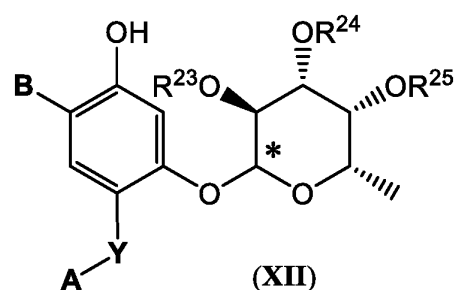
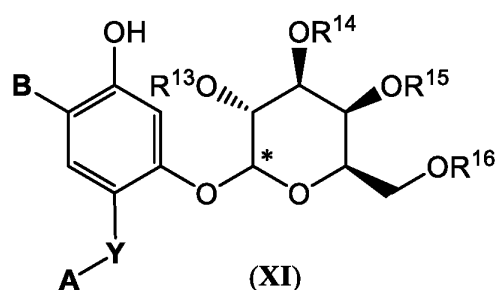
【化 1 5 - 3】



【 0 0 9 5】

ある実施形態において、式 (X I)、(X I I)、(X I I I) 又は (X I V) の化合物は、老化細胞除去剤：

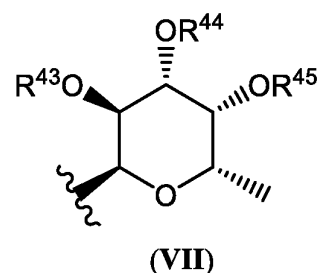
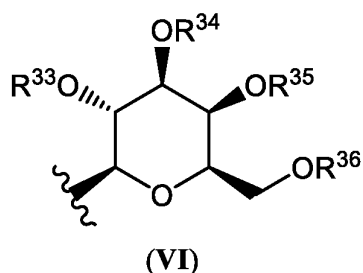
【化 1 6】



であり、式中、Y が、カルボニルであるか又は存在せず；A が、少なくとも 1 つの窒素原子を含有する置換又はベンゾ縮合 5 員ヘテロアリール又は複素環式基であり；B が、エチ

ル、イソプロピル又はクロロからなる群から選択され；各 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} が、独立して、水素、 $C(O)-R^1$ 、式 (VI) の部分又は式 (VII) の部分；

【化17】



10

であり、各 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 及び R^{45} が、独立して、水素又は $-C(O)-R^2$ であり；各 R^1 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 又は R^{16} の1つが、式 (VI) 又は式 (VII) の部分である場合、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} の残りは、水素又は $C(O)-R^1$ であり；各 R^2 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の1つが、式 (VI) 又は式 (VII) の部分である場合、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の残りは、水素又は $-C(O)-R^1$ である。

20

【0096】

式 (XI)、(XII)、(XIII) 又は (XIV) の化合物のある実施形態において、ピラノース環のアノマー炭素（標識される*）が、S配置のものであり、この化合物はそれぞれ、レゾルシノールHsp90阻害剤の β -D-ガラクトシド及び α -L-フコシドコンジュゲートである。

【0097】

式 (XI)、(XII)、(XIII) 又は (XIV) の化合物のある実施形態において、部分 $A-Y-C_6H_2(OH)_2-B$ は、ルミネスピブ (NVP-AUY922)、ガネテスピブ、VER-50589、AT13387 及び KW-2478 からなる群から選択される Hsp90 阻害剤である。

30

【0098】

式 (XI) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式 (XII) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。式 (XIII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式 (XIV) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。

【0099】

式 (XI) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。式 (XII) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。式 (XIII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。式 (XIV) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。

40

【0100】

式 (XI) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。式 (XII) の化合物の

50

ある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。式(XIII)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。式(XV)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。

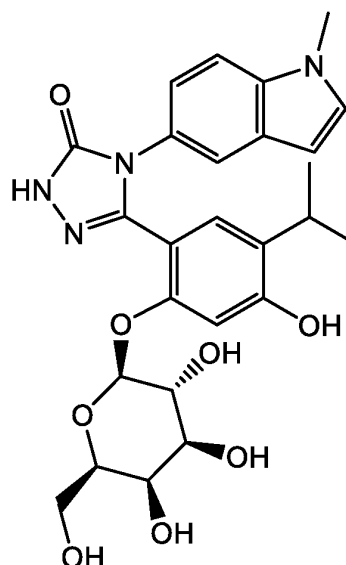
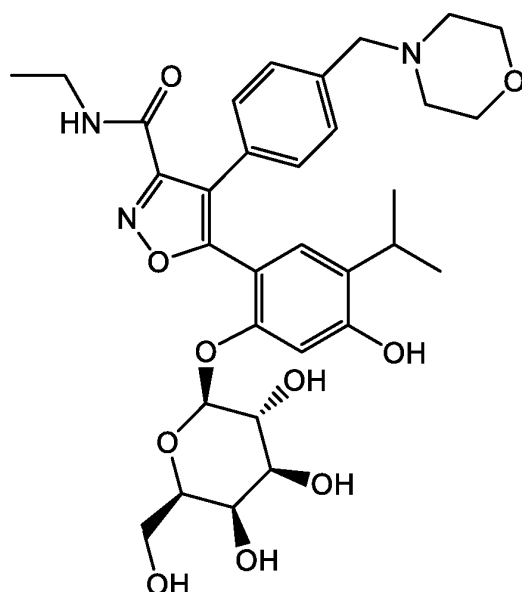
【0101】

式(XI)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式(XII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式(XIII)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式(XV)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。

【0102】

さらなる実施形態において、式(XI)の化合物は、構造：

【化18-1】



10

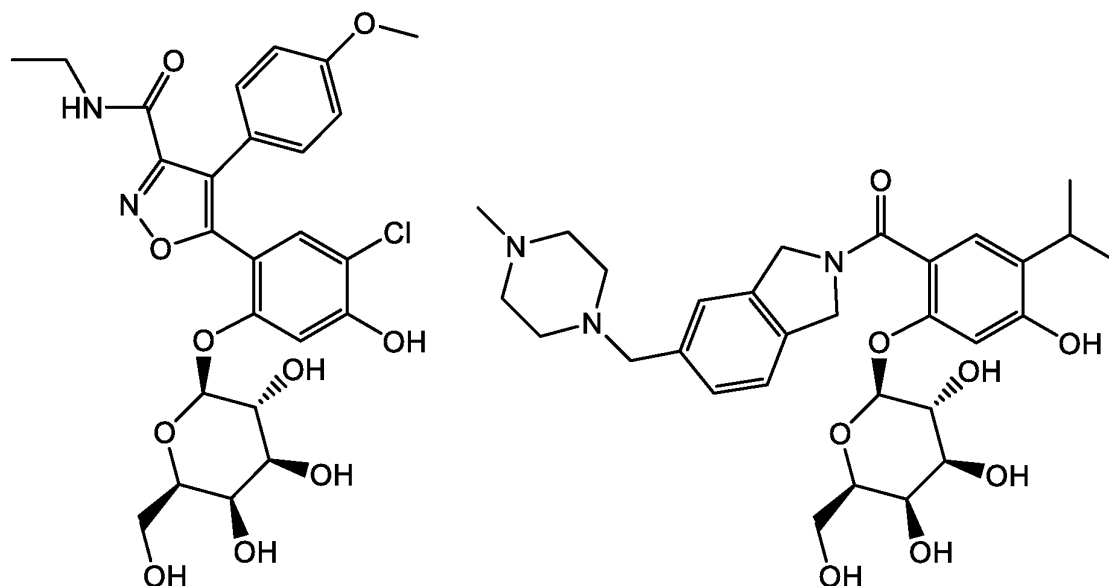
20

30

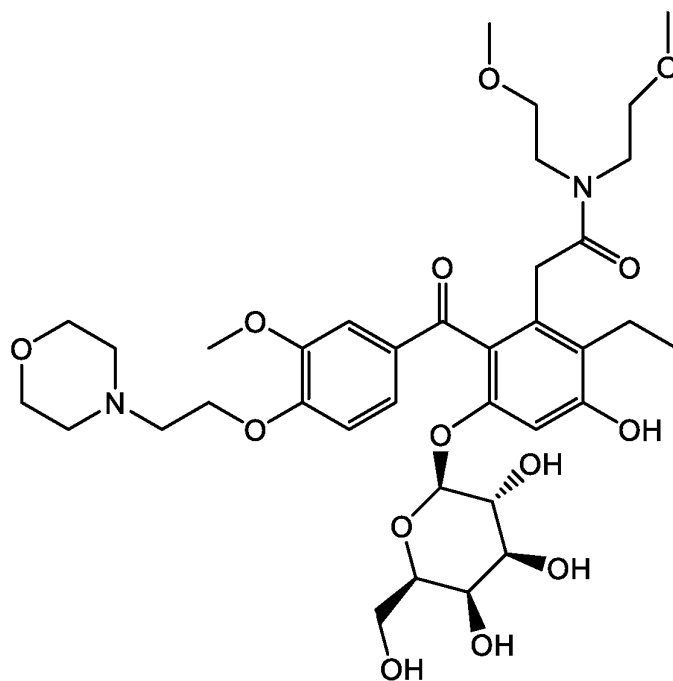
40

50

【化 18 - 2】



及び



のいずれかを有する化合物である。

【0103】

さらなる実施形態において、式（XII）の化合物は、構造：

10

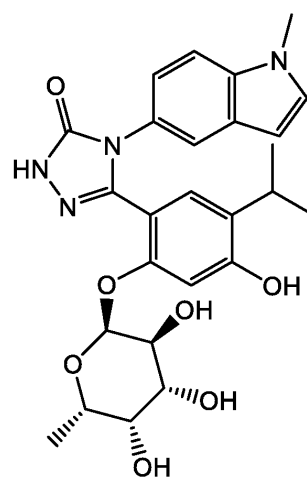
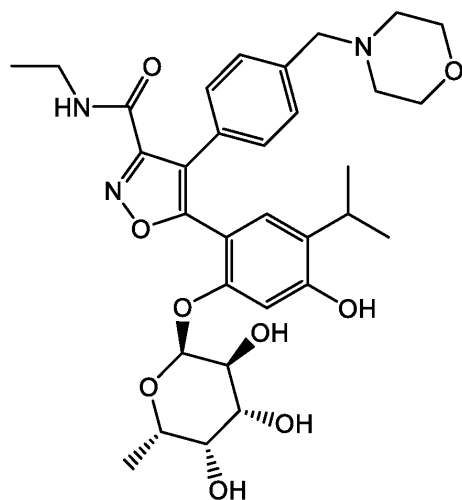
20

30

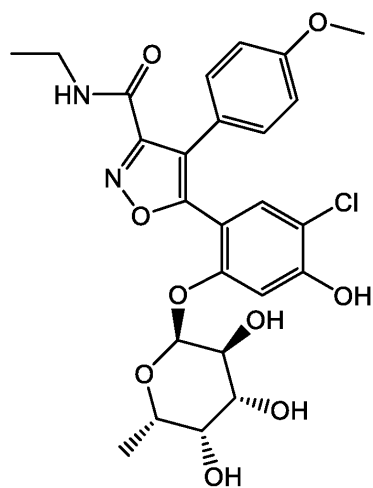
40

50

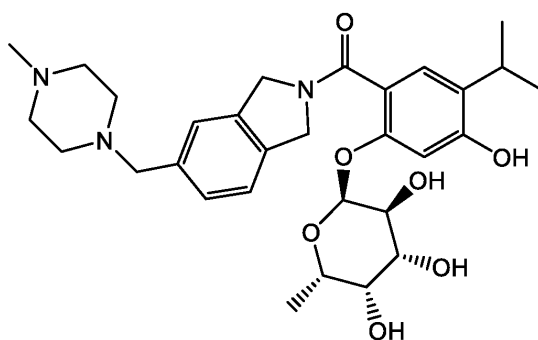
【化 1 9 - 1】



10



20



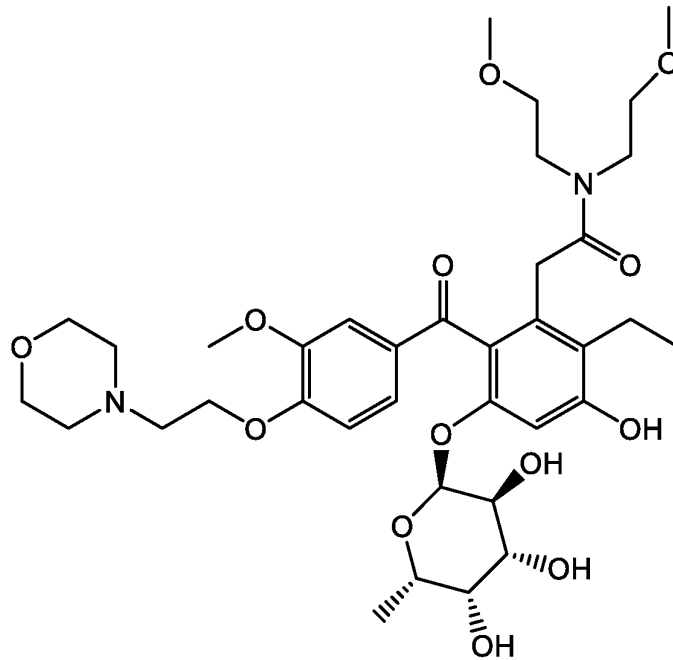
30

及び

40

50

【化 19 - 2】



のいずれかを有する化合物である。

【0104】

さらなる実施形態において、式（XIII）の化合物は、構造：

10

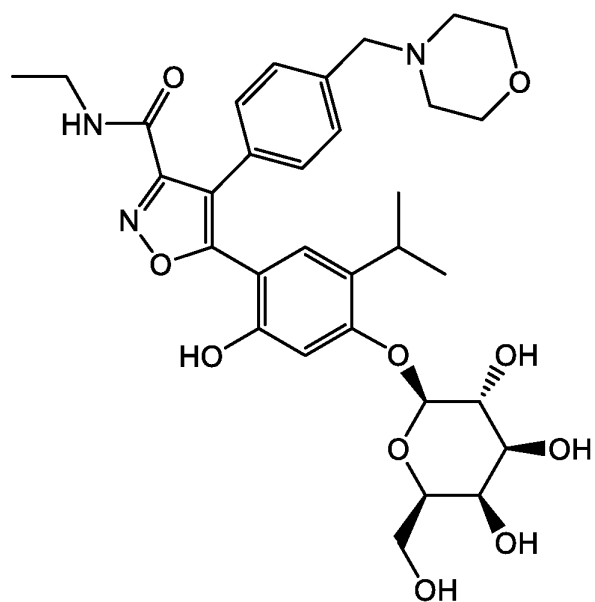
20

30

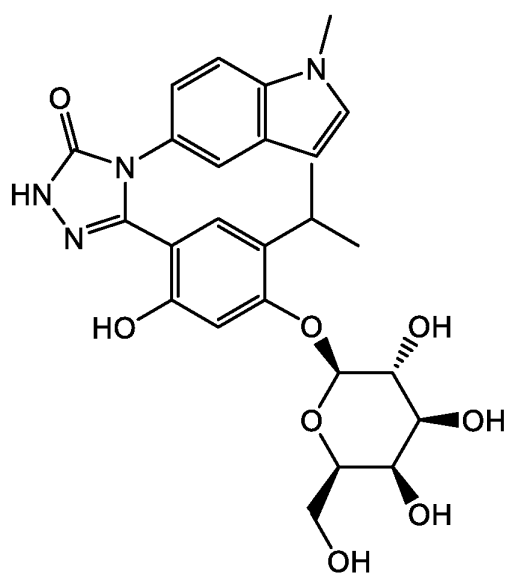
40

50

【化 2 0 - 1】



10



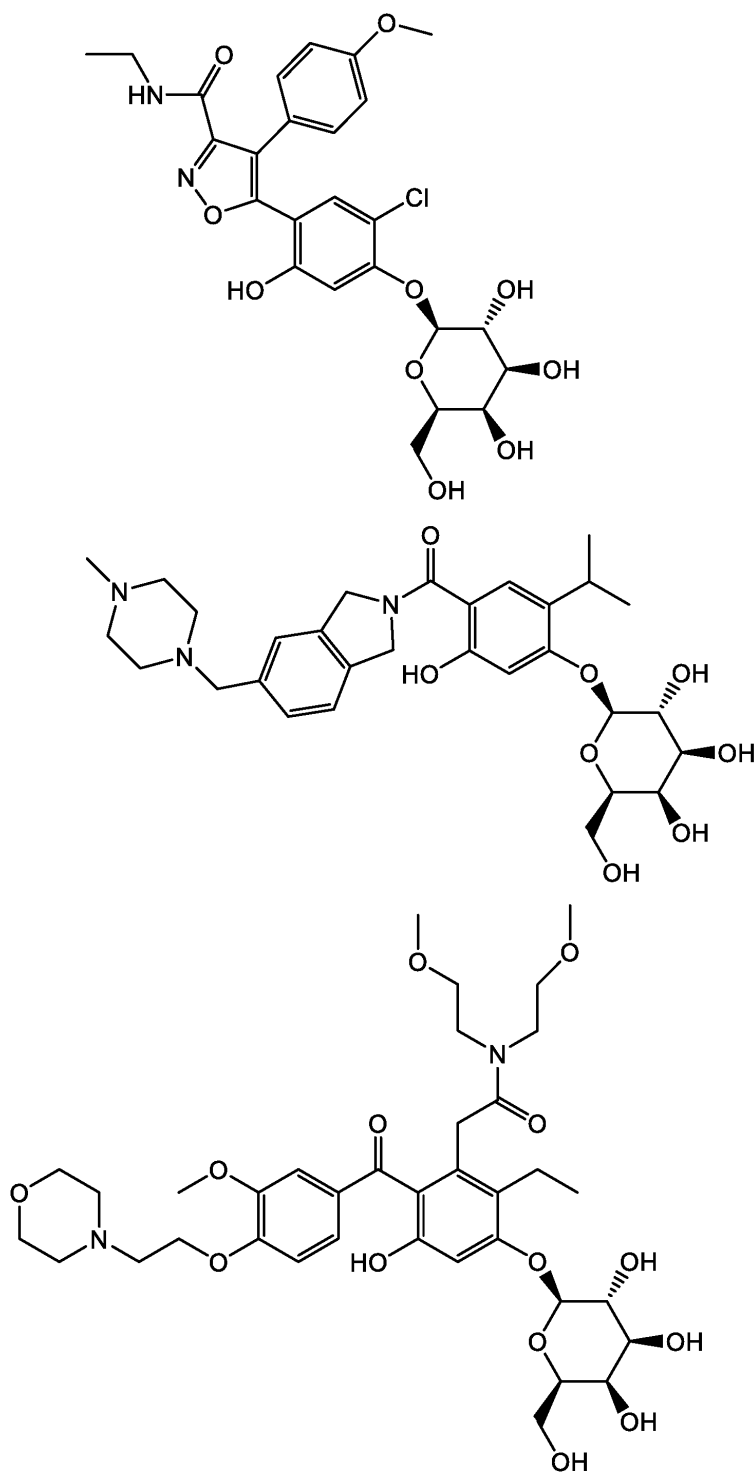
20

30

40

50

【化 2 0 - 2】

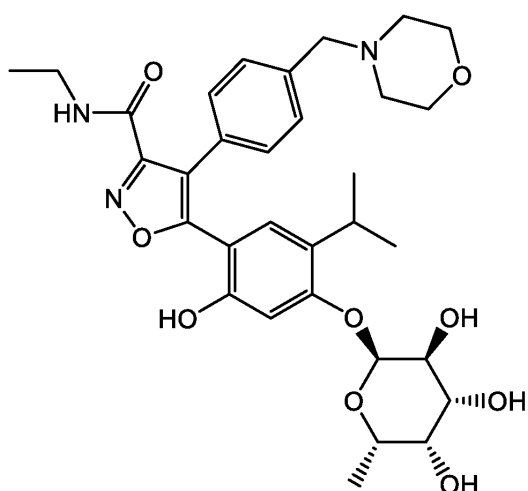


のいずれかを有する化合物である。

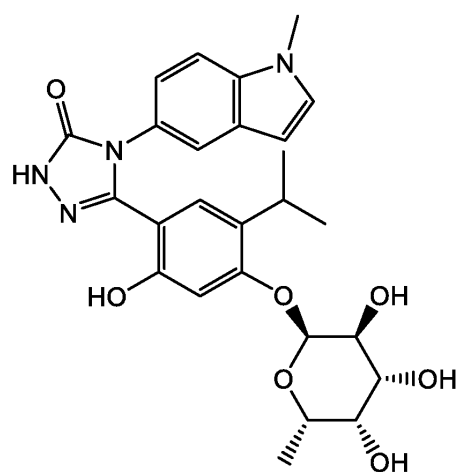
【0105】

さらなる実施形態において、式 (XIV) の化合物は、構造：

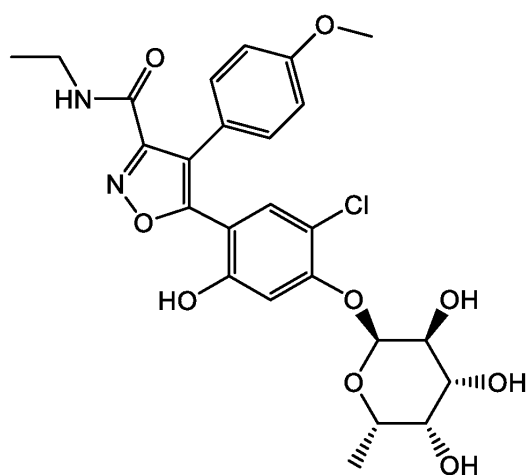
【化 2 1 - 1】



10



20

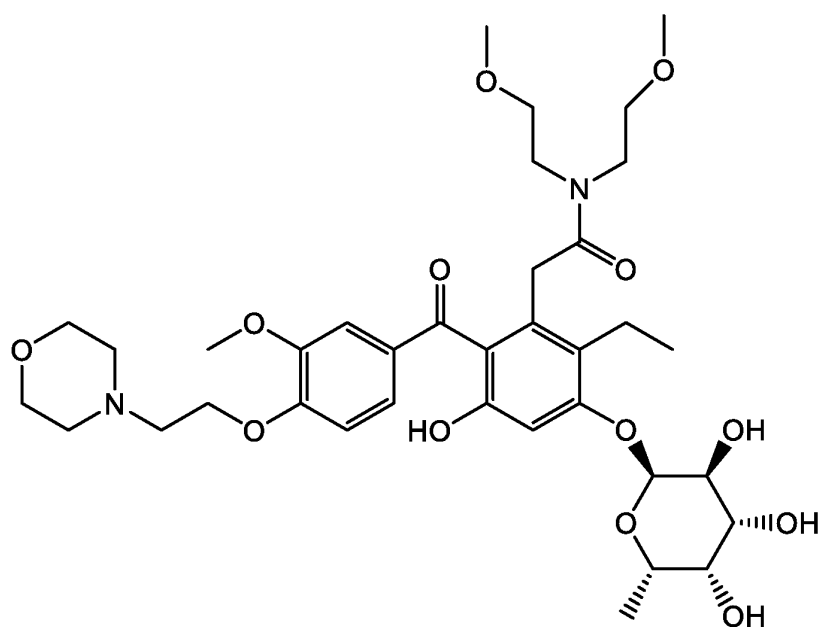
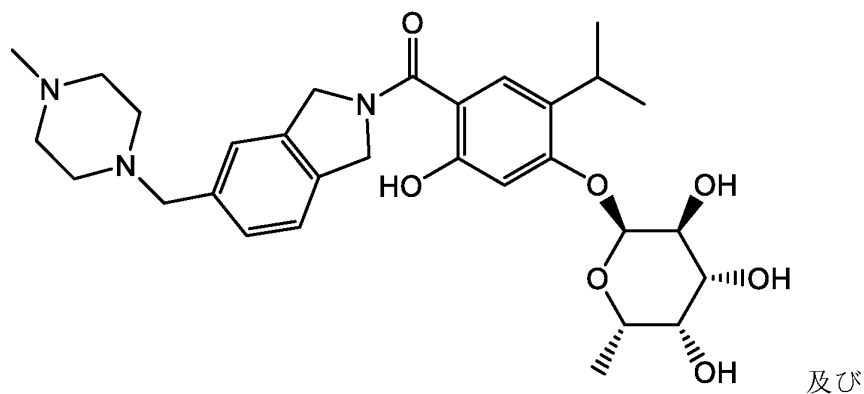


30

40

50

【化 2 1 - 2】

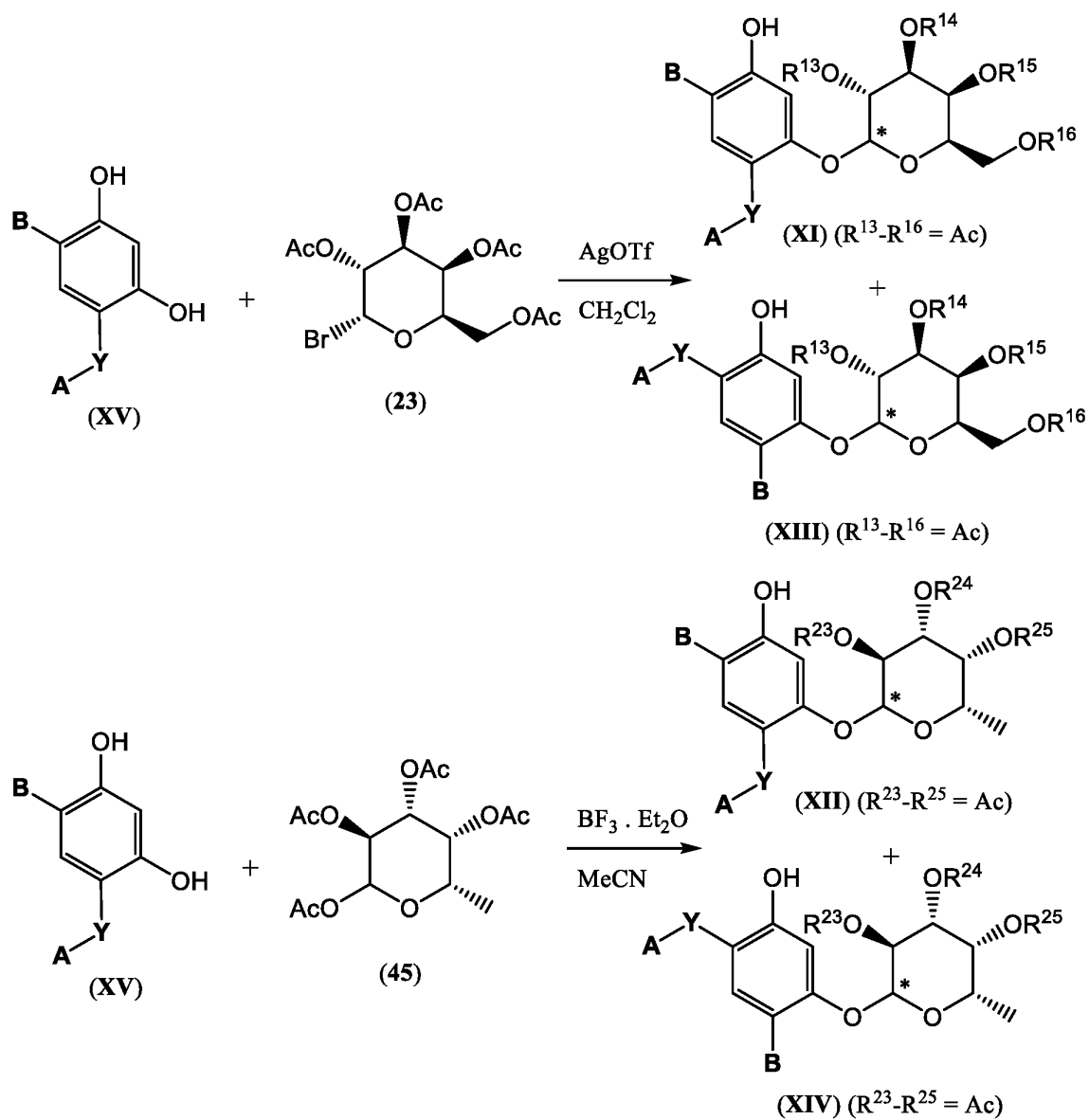


のいずれかを有する化合物である。

【0106】

式 (X I) 及び (X I I I) の化合物は、古典的な BF_3 媒介性グリコシル化又はケーニッヒ・クノールカップリング条件下で、式 (X V) の化合物と保護された D-ガラクトシル供与体部分との反応によって調製され得、ここで、得られた位置異性体は、クロマトグラフィー手段によって分離される。或いは、レゾルシノール化合物 (X V) のフェノール性ヒドロキシル基が、まず、位置選択的グリコシル化を可能にするように選択的に保護され得る。

【化 2 2】



【0107】

具体的には、AT13387(36) (米国特許第8,779,132号明細書に記載されるよう調製される) のO-β-ガラクトシドコンジュゲート、すなわち、化合物(46)及び(47)は、Shie et al., Carbohydrate Res. 341(2006)443-456の方法にしたがって、(36)と(23)との反応によって調製され得る。

10

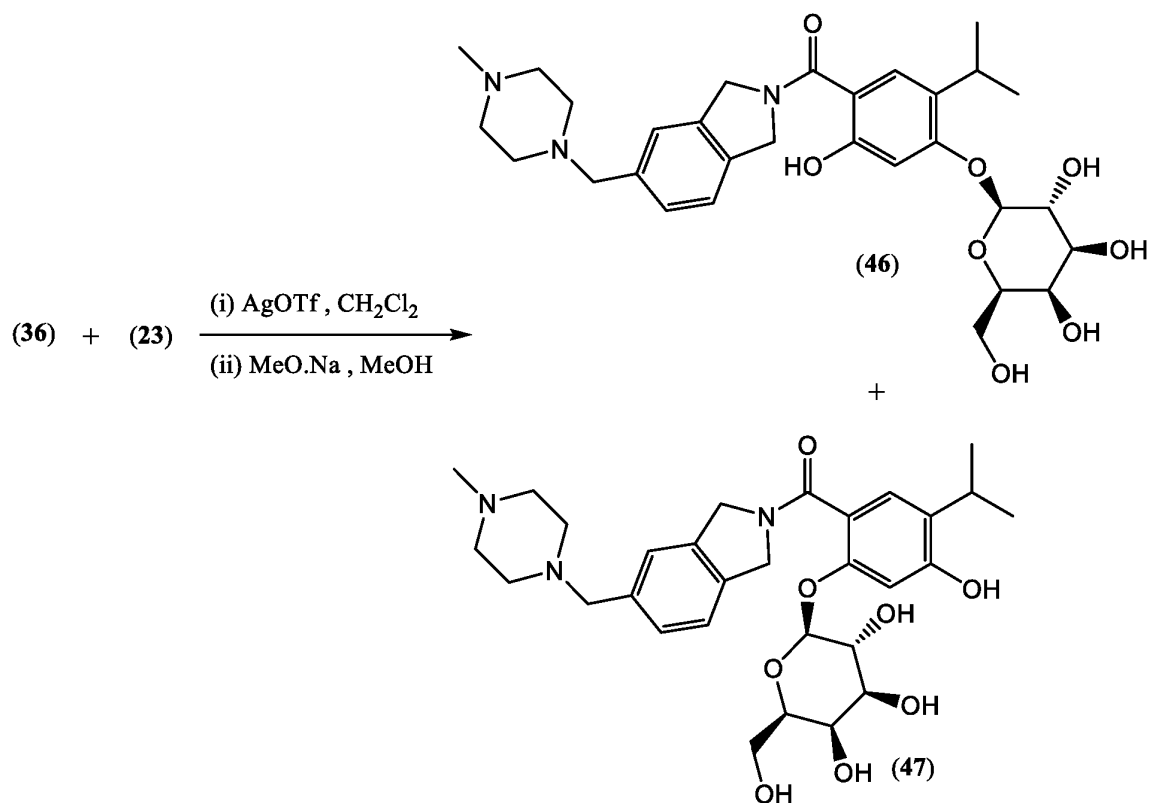
20

30

40

50

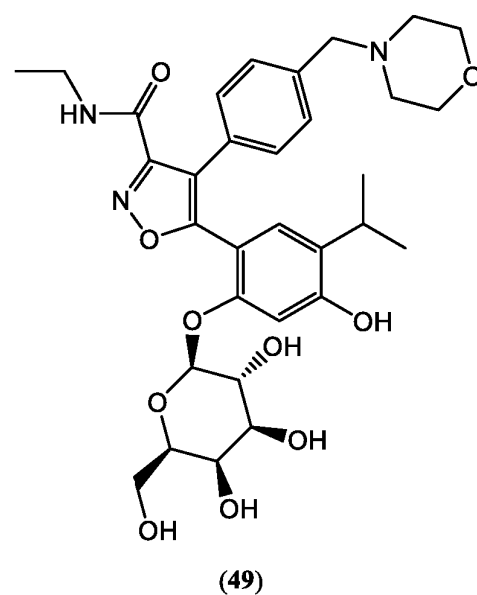
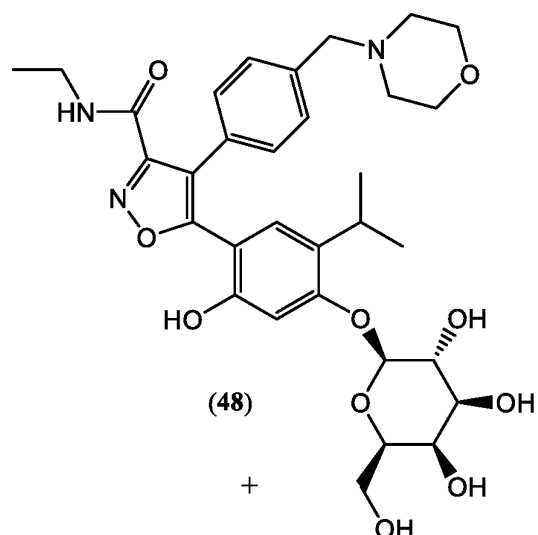
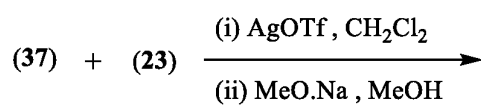
【化 2 3】



【0108】

同様に、NVP-AUY922 (37) (Brough et al., J. Med. Chem. 51 (2008) 196-218に記載されるような調製される) の α - β -ガラクトシドコンジュゲート、すなわち、化合物 (48) 及び (49) は、(37) と (23) との反応によって調製され得る。

【化 2 4】



【0109】

Hsp90阻害剤(36)及び(37)の特定の α -L-フコシドコンジュゲートである化合物(50)～(53)は、保護されたフコース誘導体(45)から出発して、類似の方法で調製され得る。

10

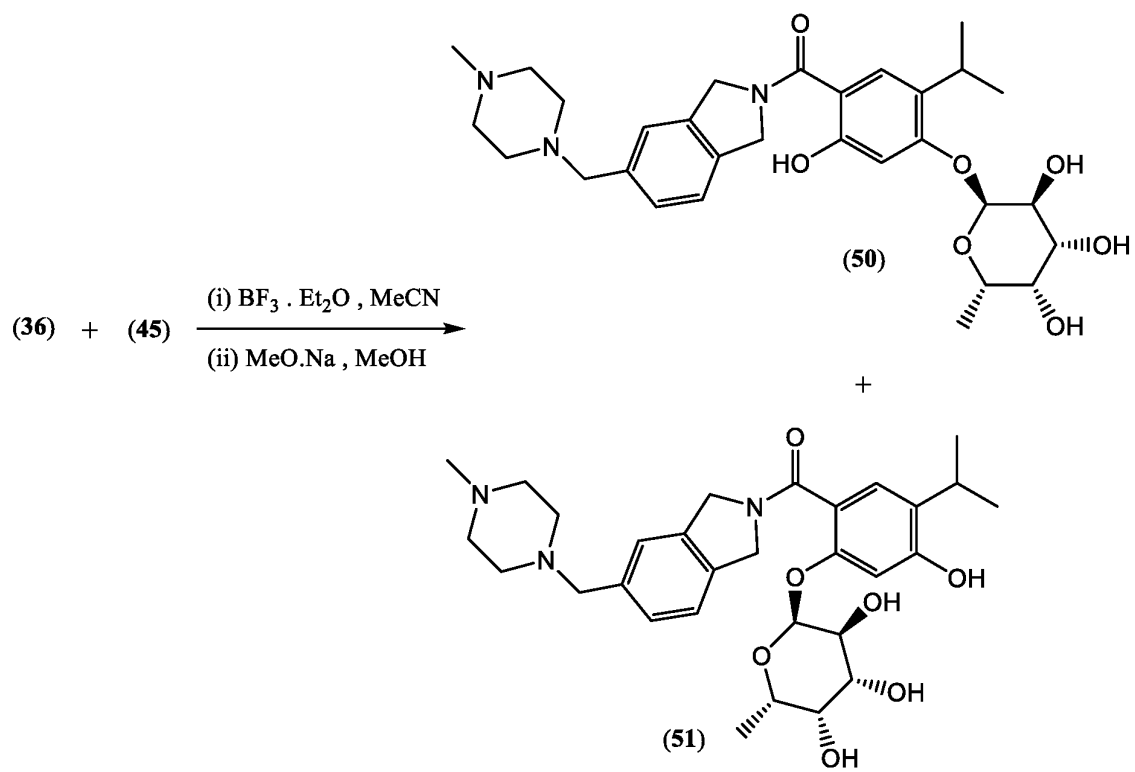
20

30

40

50

【化 2 5 - 1】



10

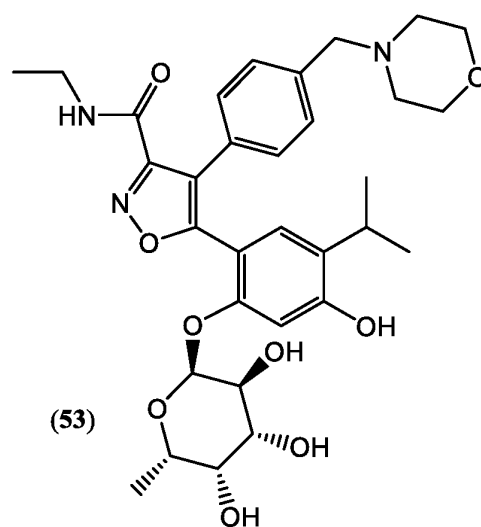
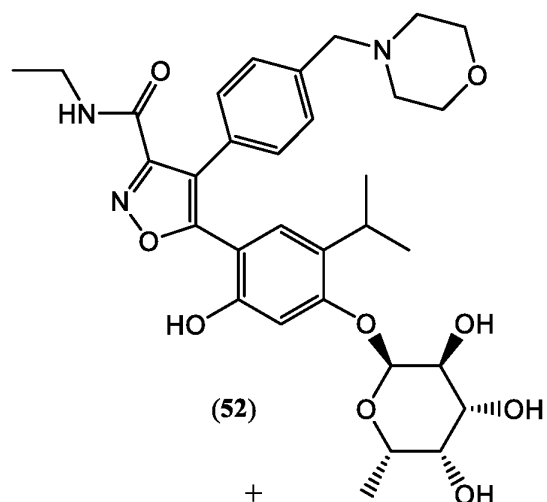
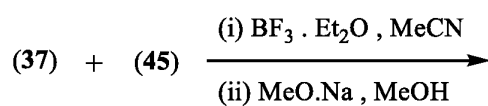
20

30

40

50

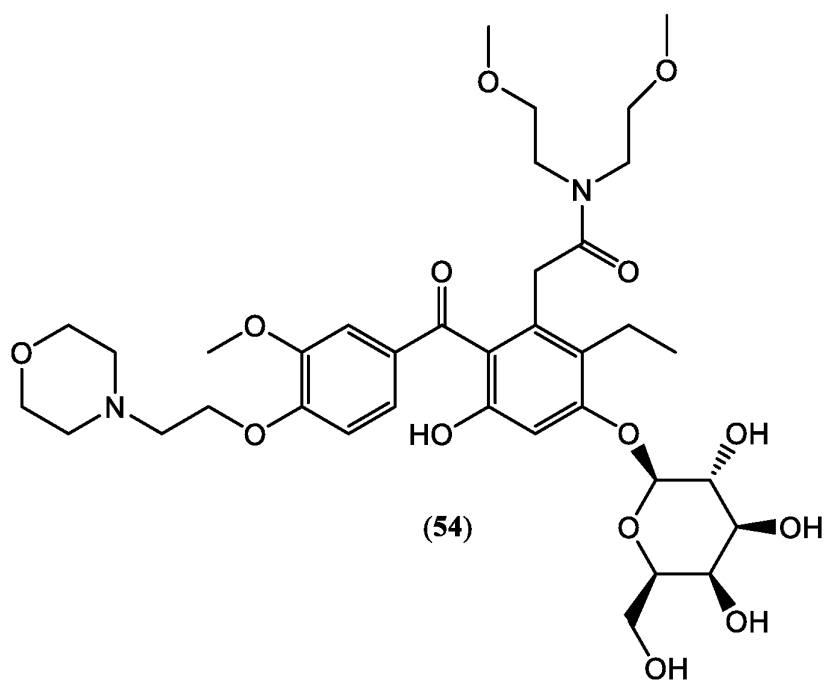
【化 2 5 - 2】



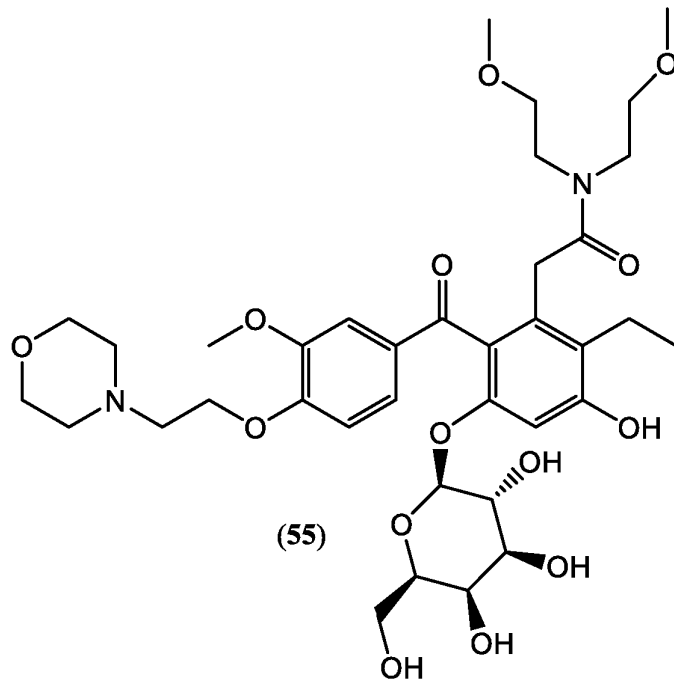
【 0 1 1 0】

KW-2478 (42) のO-β-ガラクトシドコンジュゲート（すなわち、化合物（54）及び（55））、SNX-2112 (43)、（すなわち、化合物（56））及びSNX-7081 (44)（すなわち、化合物（57））並びにKW-2478 (42) のO-α-フコシドコンジュゲート（すなわち、化合物（58）及び（59））、SNX-2112 (43)、（すなわち、化合物（60））及びSNX-7081 (44)（すなわち、化合物（61））が、類似の方法で調製され得る。

【化 2 6 - 1】

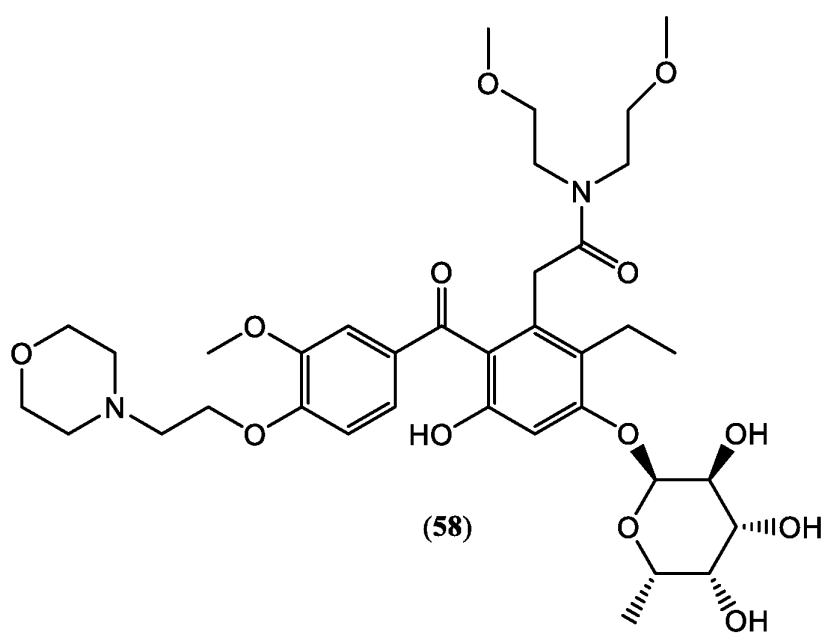
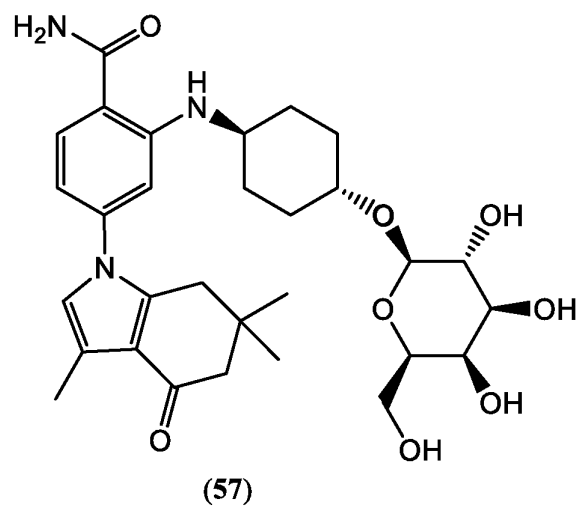
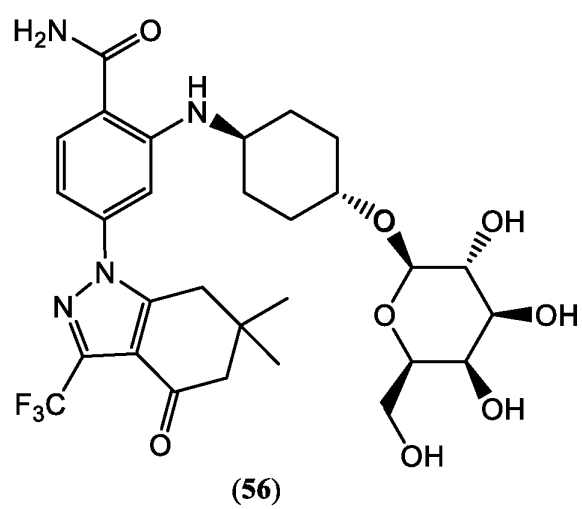


(54)

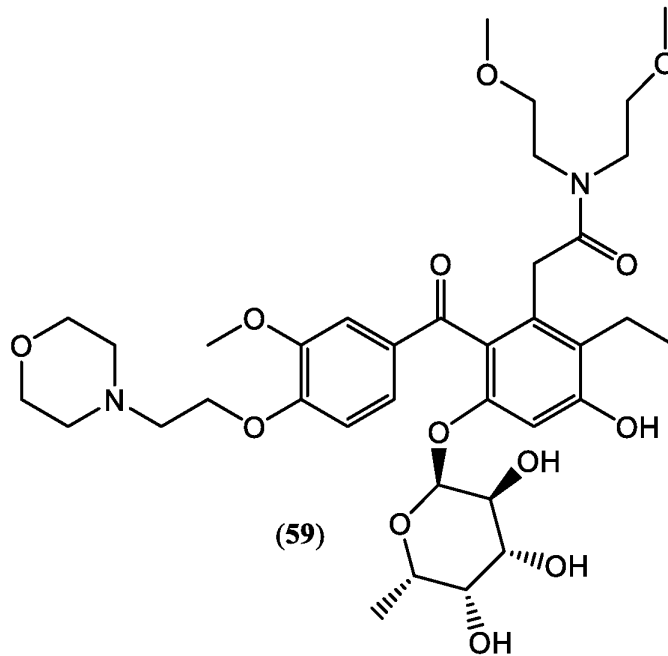


(55)

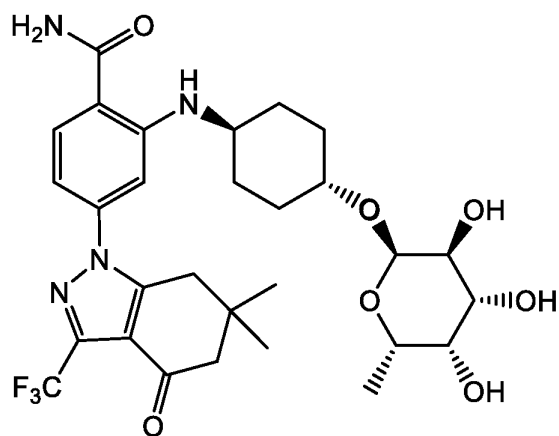
【化 2 6 - 2】



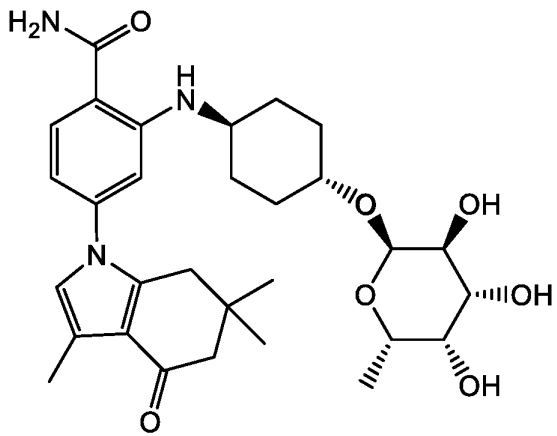
【化 2 6 - 3】



(59)



(60)

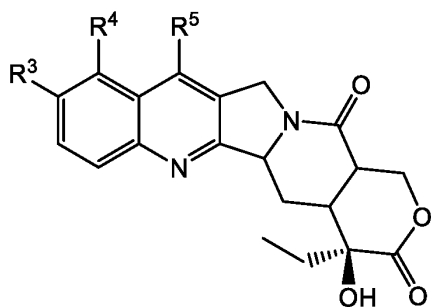


(61)

【0111】

さらに他の実施形態は、老化細胞除去化合物としてのトポイソメラーゼⅠ（TOP1）阻害性化合物のO-D-ガラクトシル及びO-L-フコシルコンジュゲートに関する。細胞傷害性五環式キノリンアルカロイド天然産物であるカンプトテシン（62）が、原型TOP1阻害剤であり、多くの合成類似体（SN-38（63）及びトポテカン（64）を含む）が、抗癌剤として臨床的に又は前臨床的に研究されている（例えば、Jain et al., Current Genomics 18（2017）75-92；及びLiu et al., Med. Res. Rev. 35（2015）753-789を参照）。TOP1阻害剤の他の重要な構造的クラスとしては、インデノイソキノリン（化合物（65）～（70）によって例示される（例えば、Cinelli et al., J. Med. Chem. 55（2012）10844-10862；及びLv et al., J. Med. Chem. 59（2016）4890-4899を参照））及びジベンゾナフチリドン（dibenzonaphthylidone）（化合物（71）～（73）によって例示される（例えば、Sooryakumar et al., Mol. Cancer Ther. 10（2011）1490-1499を参照））が挙げられる。

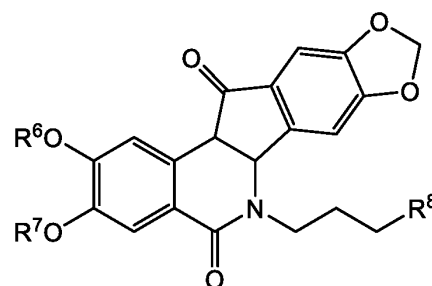
【化 2 7】



$R^3 = R^4 = R^5 = H$; カンプトテシン (62)

$R^3 = OH, R^4 = H, R^5 = Et$; SN-38 (63)

$R^3 = OH, R^4 = CH_2NMe_2, R^5 = H$; トポテカン (64)



$R^6 = R^7 = Me, R^8 = \text{N-methylpiperidine}$; インドテカン (65)

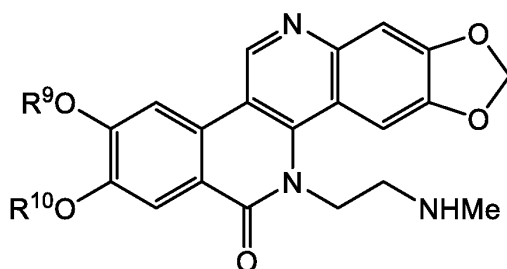
$R^6 = H, R^7 = Me, R^8 = \text{N-methylpiperidine}$ (66)

$R^6 = Me, R^7 = H, R^8 = \text{N-methylpiperidine}$ (67)

$R^6 = R^7 = Me, R^8 = \text{imidazole}$; インジミテカン (68)

$R^6 = H, R^7 = Me, R^8 = \text{imidazole}$ (69)

$R^6 = Me, R^7 = H, R^8 = \text{imidazole}$ (70)



$R^9 = R^{10} = Me$; Genz-644282 (71)

$R^9 = H, R^{10} = Me$ (72)

$R^9 = Me, R^{10} = H$ (73)

【0112】

SN-38のO-β-D-ガラクトシドコンジュゲート(74)(中国特許番号CN1534046号明細書、2004)及びSN-38のO-β-L-フコシドコンジュゲート(75)(日本特許番号JP6328098号公報、1988)が、抗癌剤として以前に開示されている。

10

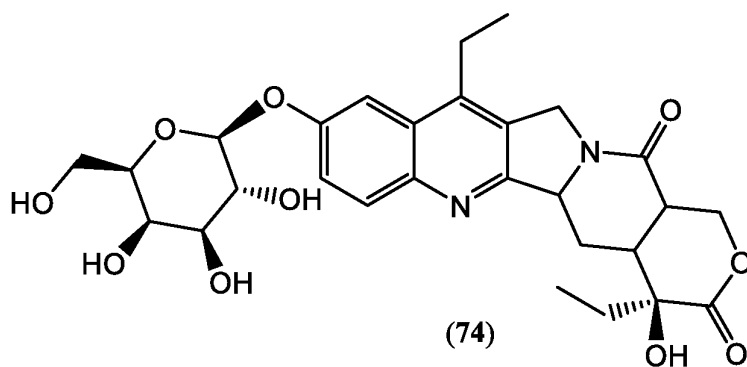
20

30

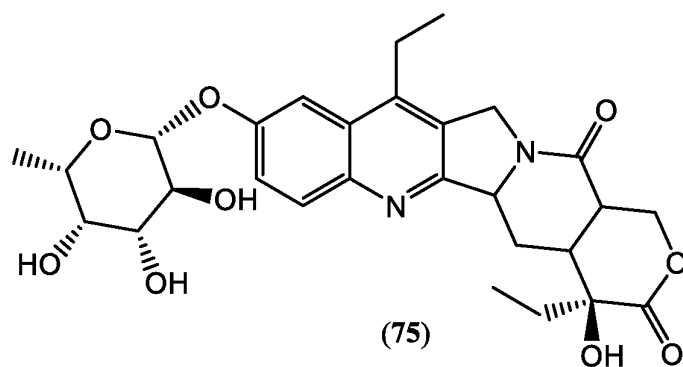
40

50

【化 2 8】



10

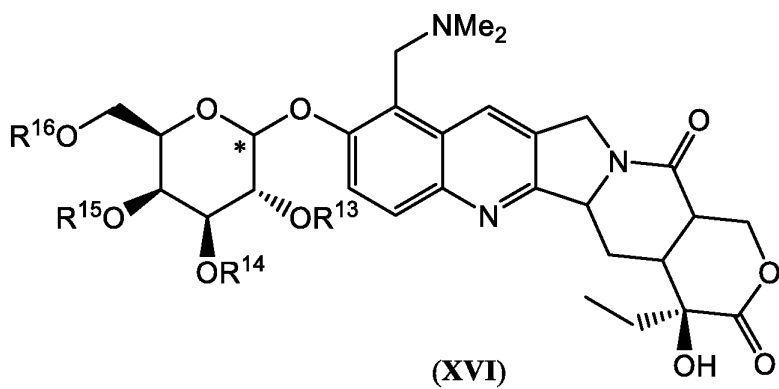


20

【0113】

ある実施形態において、式 (XVI)、(XVII)、(XVIII)、(XIX)、(XX)、(XXI)、(XXII)、(XXIII)、(XXIV) 又は (XXV) の化合物は、老化細胞除去剤：

【化 29-1】

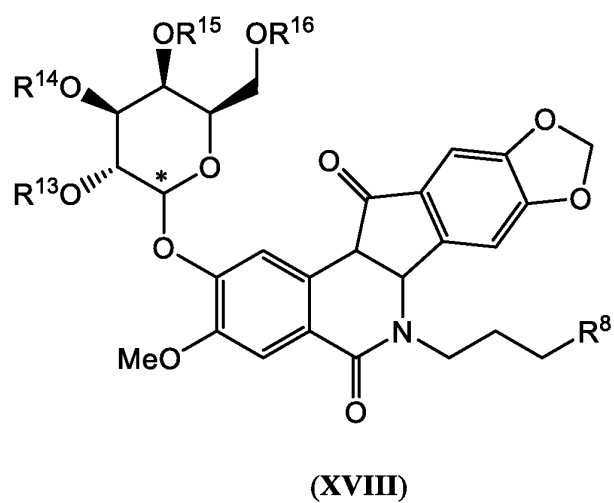
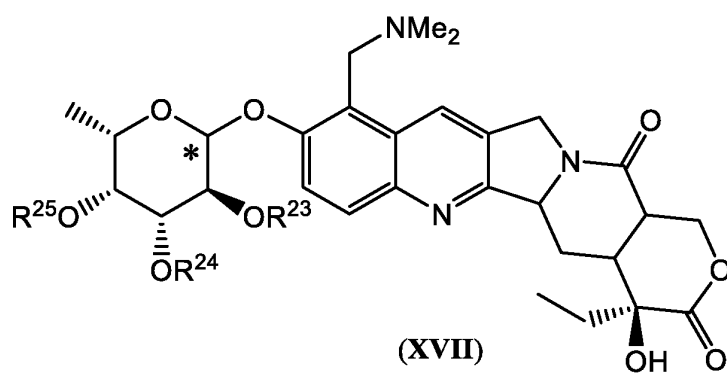


30

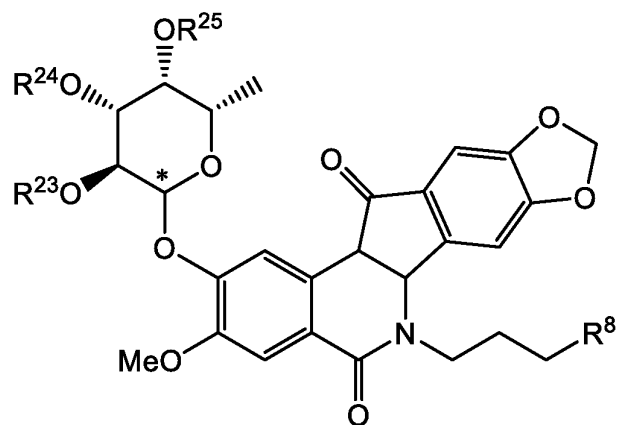
40

50

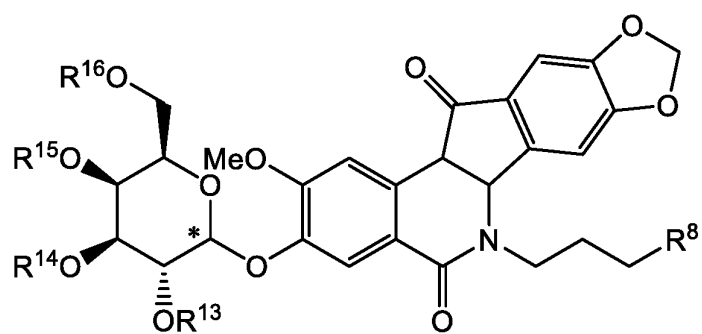
【化 2 9 - 2】



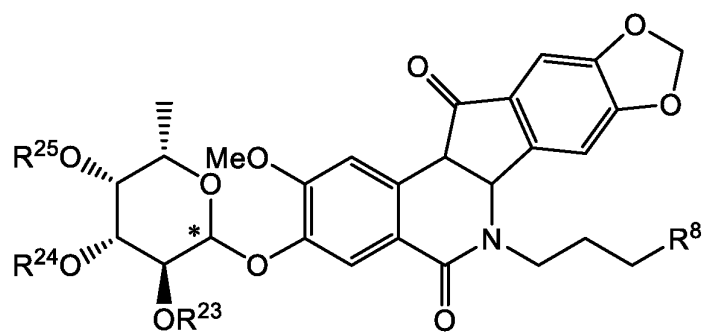
【化 2 9 - 3】



(XIX)

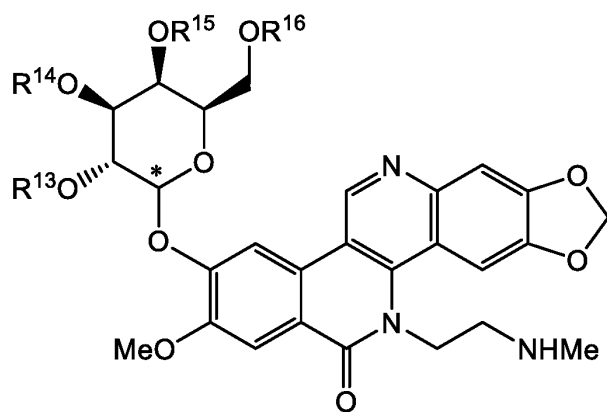


(XX)



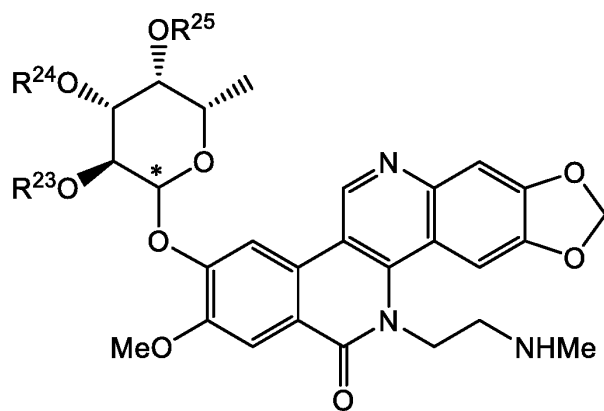
(XXI)

【化 2 9 - 4】



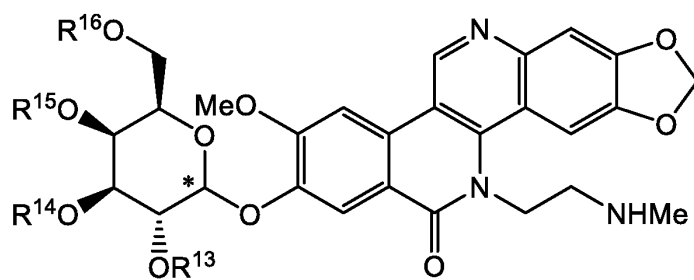
10

(XXII)



20

(XXIII)



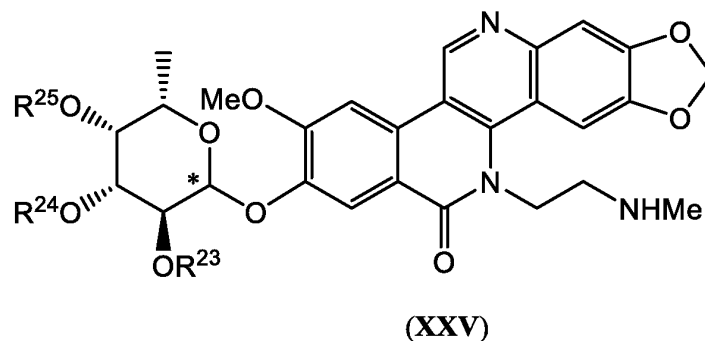
30

(XXIV)

40

50

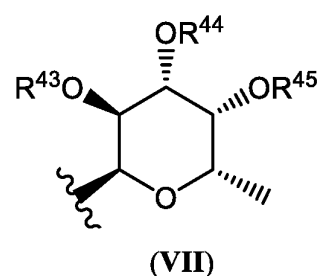
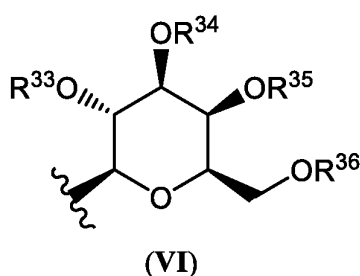
【化 29-5】



10

であり、式中、 R^8 が、少なくとも1つの窒素原子を含有するヘテロアリール又は複素環式基であり；各 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} が、独立して、水素、 $-C(O)-R^1$ 、式(VI)の部分又は式(VII)の部分：

【化 30】



20

であり、各 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 及び R^{45} が、独立して、水素又は $-C(O)-R^2$ であり；各 R^1 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 又は R^{16} の1つが、式(VI)又は式(VII)の部分である場合、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} の残りは、水素又は $C(O)-R^1$ であり；各 R^2 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の1つが、式(VI)又は式(VII)の部分である場合、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の残りは、水素又は $-C(O)-R^1$ である。

30

【0114】

式(XVI)、(XVII)、(XVIII)、(IX)、(X)、(XI)、(XII)、(XIII)、(XIV)又は(XV)の化合物のある実施形態において、ピラノース環のアノマー炭素（標識される*）が、S配置のものであり、この化合物はそれぞれ、TOP1阻害剤の β -D-ガラクトシド及び α -L-フコシドコンジュゲートである。式(XVIII)、(IX)、(X)又は(XI)の化合物の他の実施形態において、 R^8 が、4-モルホリル又は1-イミダゾリルである。

40

【0115】

式(XVI)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式(XVII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。式(XVIII)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式(IX)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。式(X)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式(XI)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。式(XII)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式(XIII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。式(XIV)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式(XV)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。

50

【 0 1 1 6 】

【 0 1 1 7 】

【 0 1 1 8 】

式 (XVI) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XVII) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XVIII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が

エチルである。式 (XIX) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XX) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XXI) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XXII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XXIII) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XXIV) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XXV) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。

【0119】

さらに他の実施形態において、細胞傷害性デュオカルマイシンファミリー抗生物質をベースとするDNAアルキル化剤のO-D-ガラクトシル及びO-L-フコシルコンジュゲートが、老化細胞除去剤である。ストレプトマイセス属 (*Streptomyces*) DO-113 から分離されたデュオカルマイシンSA (76) は、反応性の高いスピロシクロプロピルシクロヘキサジエノン部分を含有し、ガラクトシル化合物 (77) などの単糖及び二糖誘導体の設計のための刺激 (*inspiration*) として使用されている (例えば、Tietze et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 6574-6577; Tietze et al., *J. Med. Chem.* 52 (2009) 537-543 を参照)。化合物 (77) は、その加水分解された二次生成物 (*seco product*) (78) より4000倍超細胞傷害性が低く、それは、インサイチュでのいわゆるWinstein環化を経て、DNA反応性スピロシクロプロピルシクロヘキサジエノン (79) を生じる。

10

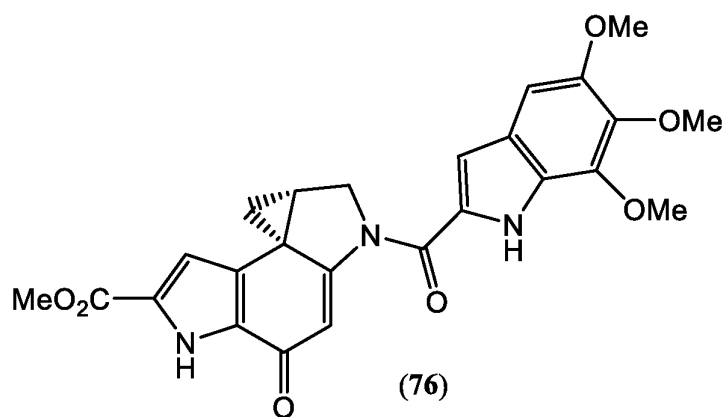
20

30

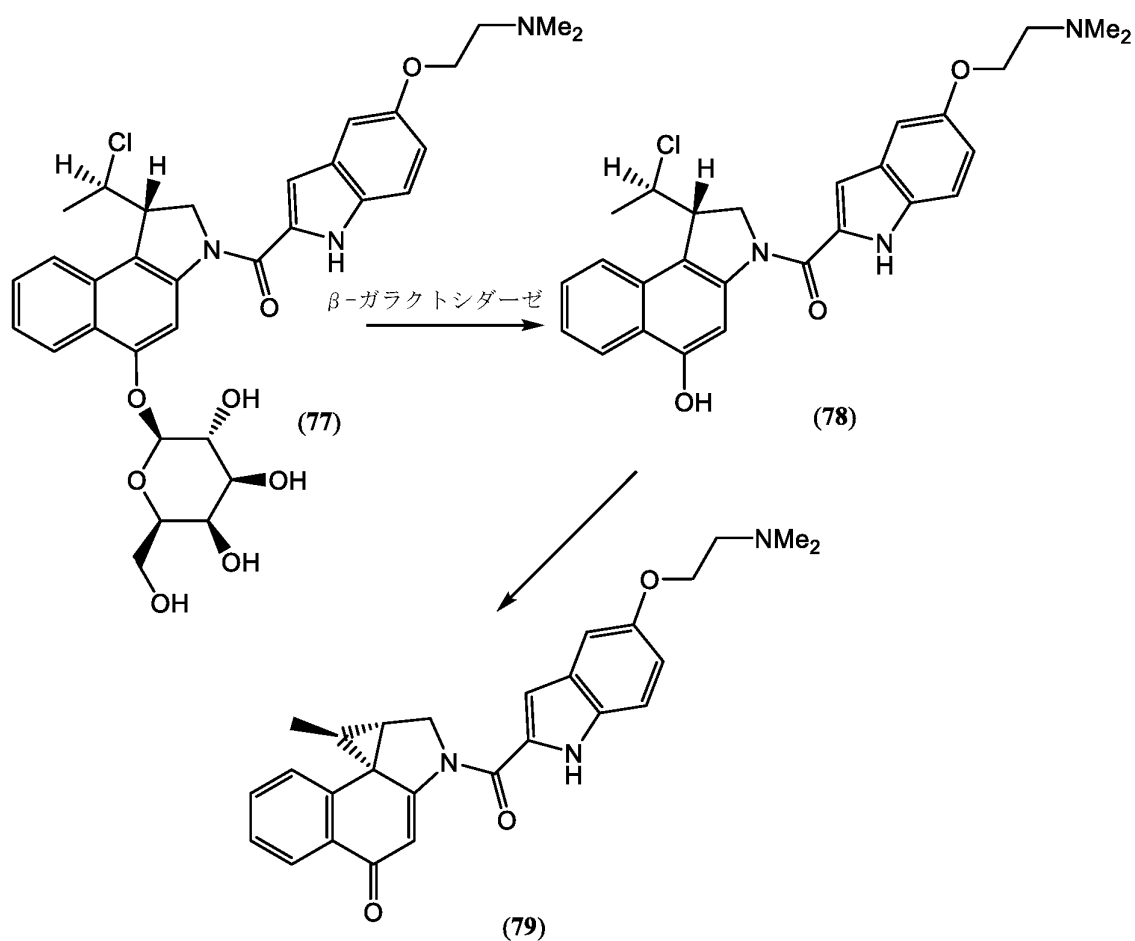
40

50

【化 3 1】



10



20

30

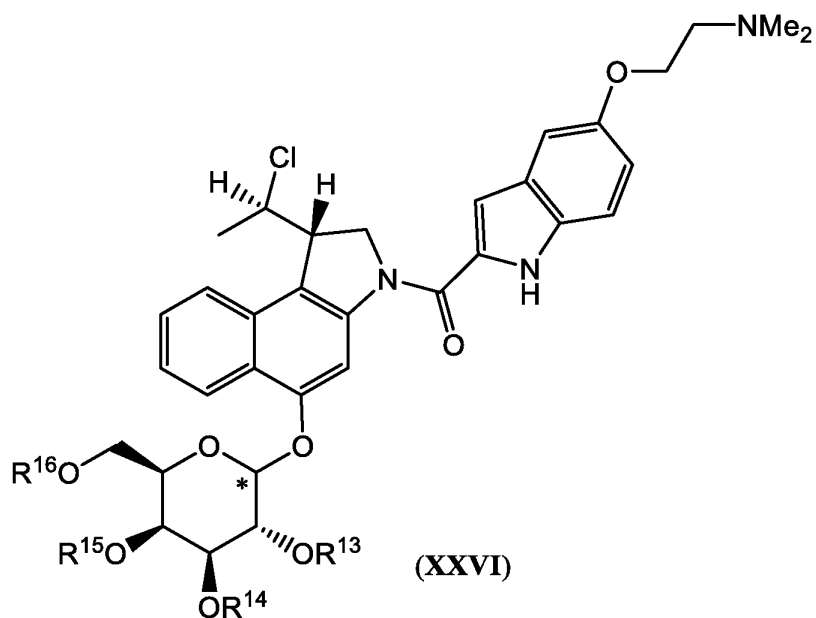
【0120】

ある実施形態において、式 (XXVI) 又は (XXVII) の化合物は、老化細胞除去剤：

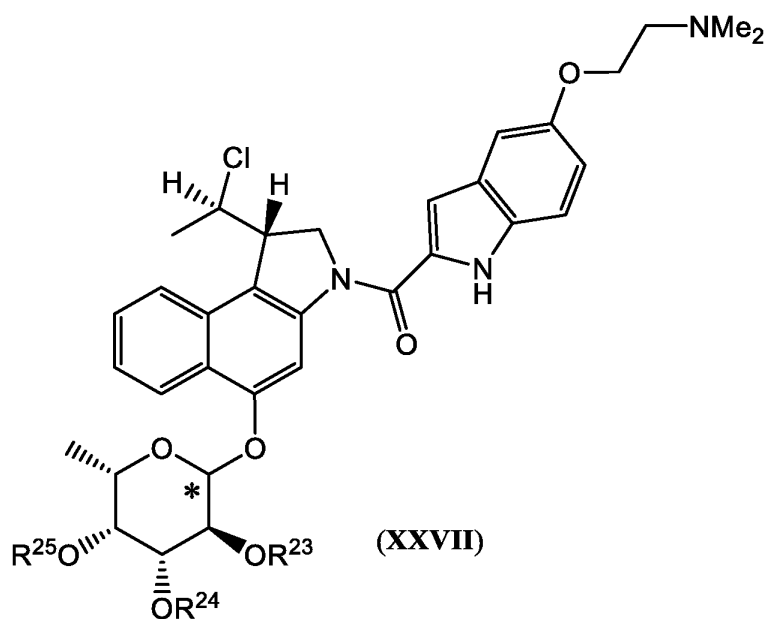
40

50

【化 3 2】



10

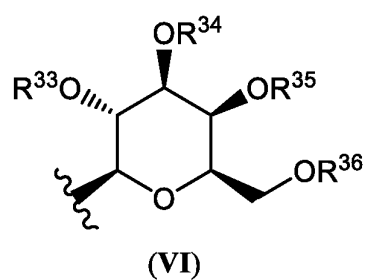


20

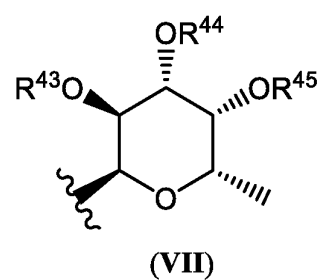
30

であり、式中、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R²³、R²⁴及びR²⁵のそれぞれが、独立して、水素、C(O)-R¹、式(VI)の部分又は式(VII)の部分：

【化 3 3】



(VI)



(VII)

であり、各R³³、R³⁴、R³⁵、R³⁶、R⁴³、R⁴⁴及びR⁴⁵が、独立して、水素

40

50

又は $-C(O)-R^2$ であり；各 R^1 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 又は R^{16} の1つが、式(VI)又は式(VII)の部分である場合、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} の残りは、水素又は $-C(O)-R^1$ であり；各 R^2 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の1つが、式(VI)又は式(VII)の部分である場合、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の残りは、水素又は $-C(O)-R^1$ であり；ただし、式(XVI)の化合物において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} のそれぞれが、同時に水素又はアセチルであることはない。

【0121】

式(XVI)又は式(VII)の化合物のある実施形態において、ピラノース環のアノマー炭素（標識される*）が、S配置のものであり、この化合物はそれぞれ、デュオカルマイシン類似体の β -D-ガラクトシド及び α -L-フコシドコンジュゲートである。

10

【0122】

式(XVI)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式(XVII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。

【0123】

式(XVI)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。式(XVII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。

20

【0124】

式(XVI)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。式(XVII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。

【0125】

式(XVI)の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式(XVII)の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。

30

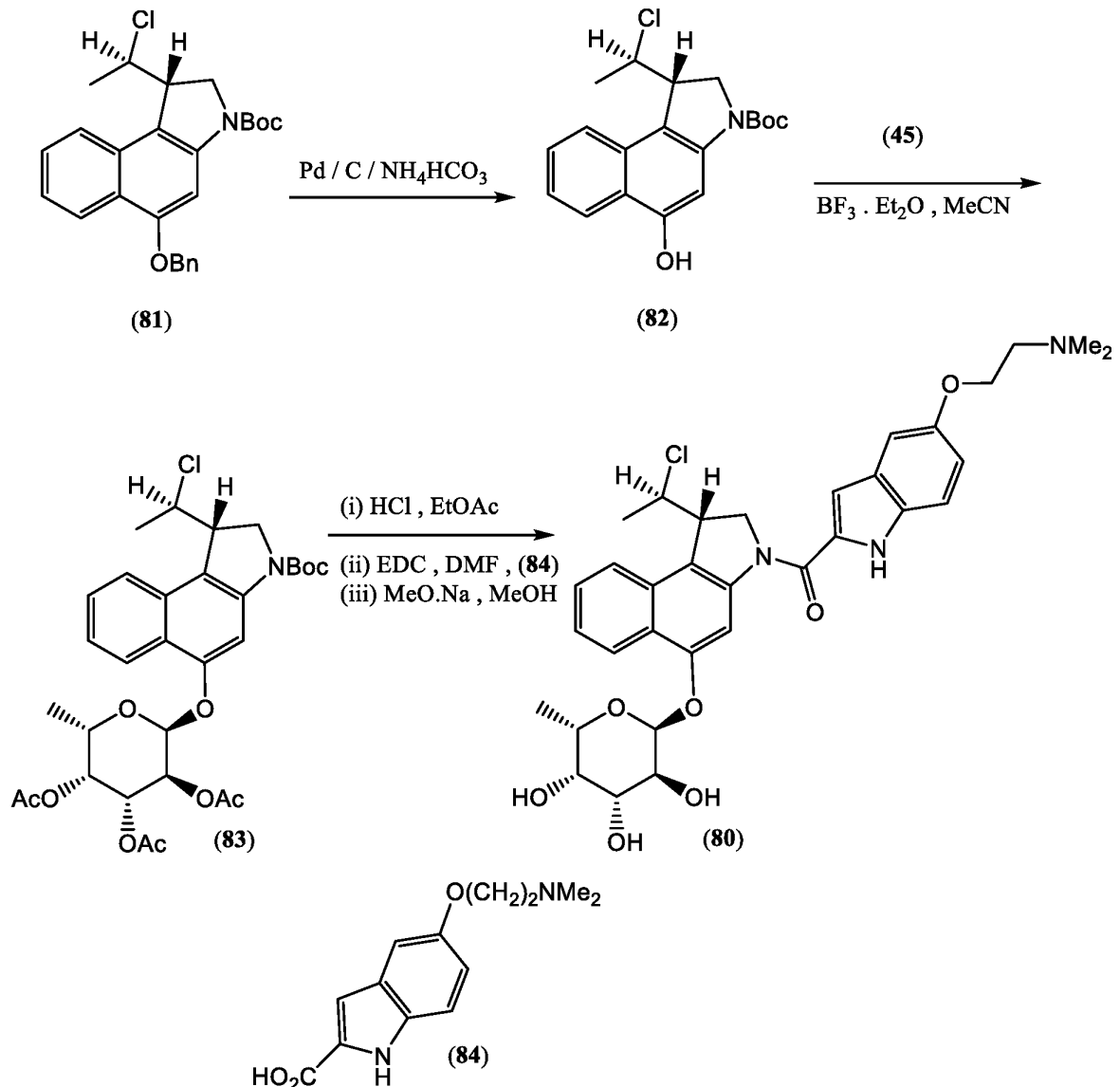
【0126】

式(XVII)の化合物のある実施形態において、化合物(80)は、化合物(81) (Tietze et al.、同前の方法にしたがって調製される)：

40

50

【化 3 4】

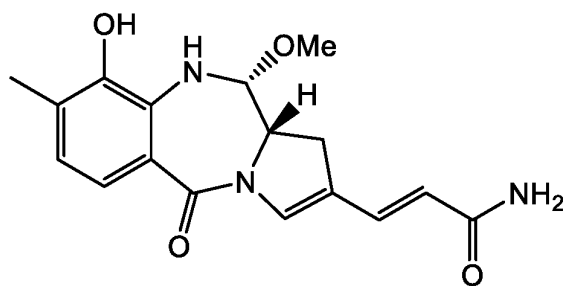


から合成される。

【0127】

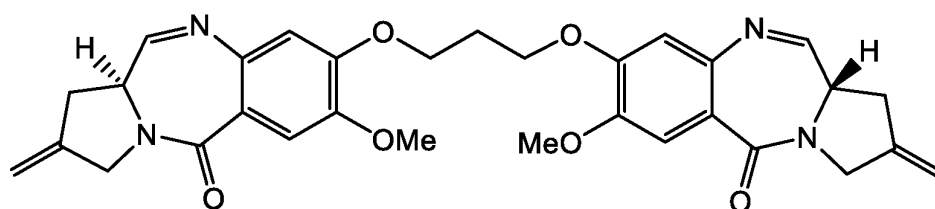
さらに他の実施形態は、老化細胞除去剤としての細胞傷害性ピロロ〔2, 1-c〕〔1, 4〕ベンゾジアゼピン (PBD) のO-D-ガラクトシル及びO-L-フコシルコンジュゲートに関する。PBDは、天然産物アントラマイシン (85) を含む抗腫瘍抗生物質のファミリーである。これらの化合物は、それらのN10-C11イミン官能基を介してDNAの副溝中のグアニン残基の環外 NH_2 基に共有結合することによってそれらの細胞傷害効果を発揮する (例えば、Antonow and Thurston, Chem. Rev. 111 (2011) 2815-2864; 及び Mantaj et al., Angew. Chem. Int. Ed. 56 (2017) 462-488を参照)。PBDモノマーは、顕著な細胞毒性を示し、リンカーを介して2つのPBDモノマーを結合することにより、鎖間DNA架橋が可能なPBD二量体が生成される。SJG-136 (86) は、臨床的有用性を有する抗体-薬物コンジュゲートを構築するのに使用されている、高い細胞傷害性効力を有する1つのこのような二量体である。

【化 3 5】



アントラマイシン (85)

10



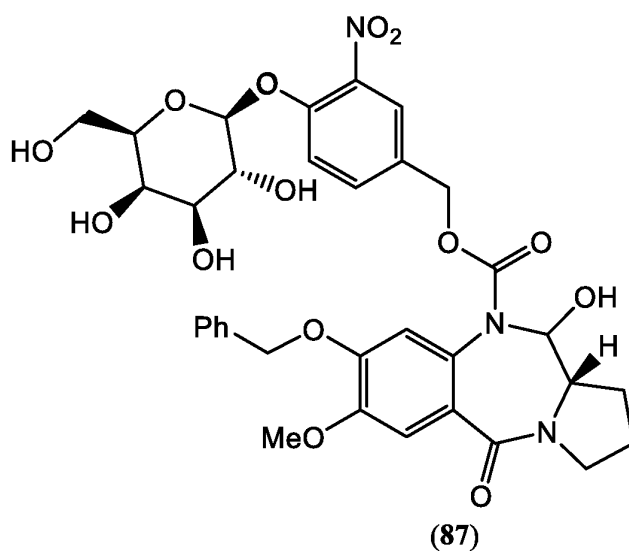
SJG-136 (86)

20

【0128】

Kamal 及び共同研究者は、抗癌剤として PBD モノマー及び二量体の両方の β -ガラクトシド類似体を記載している（例えば、化合物 (87) 及び (88) (Kamal et al., ChemMedChem 3 (2008) 794-802) を参照)。

【化 3 6-1】



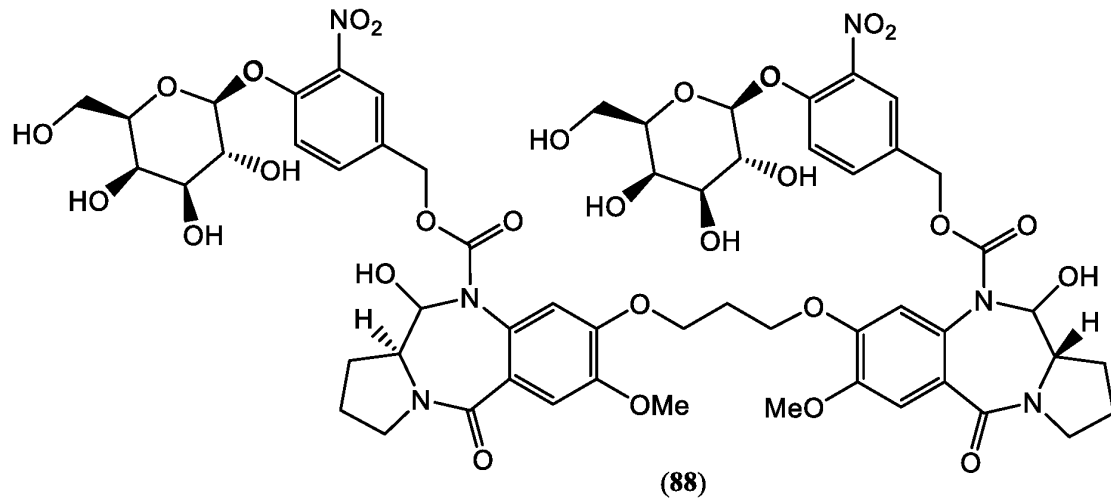
(87)

30

40

50

【化 3 6 - 2】



【 0 1 2 9】

ある実施形態において、式 (X X V I I I) 又は (X X I X) の化合物は、老化細胞除去剤：

10

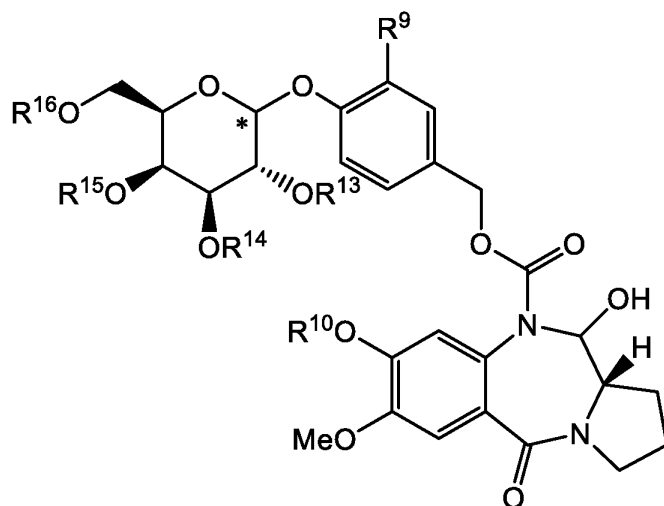
20

30

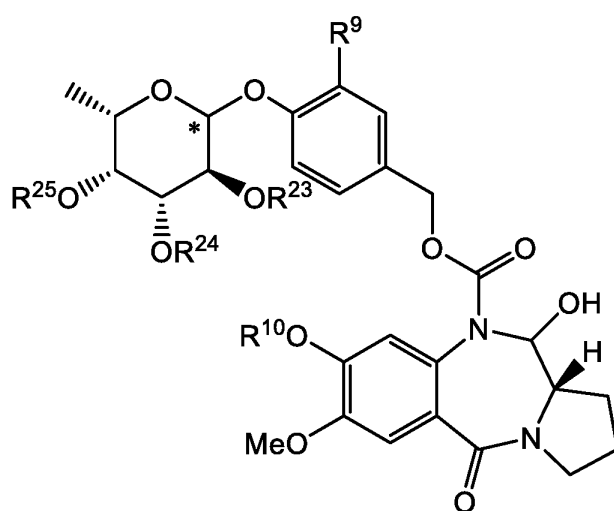
40

50

【化 3 7】



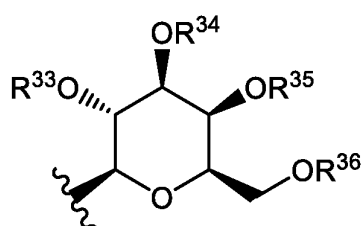
(XXVIII)



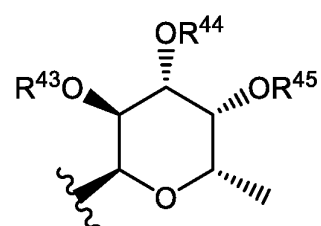
(XXIX)

であり、式中、 R^9 が、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル、 CF_3 、 CN 又は NO_2 であり； R^{10} が、水素、 $C_1 \sim 4$ アルキル又はアリールアルキルであり； R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが、独立して、水素、 $C(O)-R^1$ 、式(VI)の部分又は式(VII)の部分：

【化 3 8】



(VI)



(VII)

10

20

30

40

50

であり、各 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 及び R^{45} が、独立して、水素又は $C(O)-R^2$ であり、各 R^1 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、又は R^{16} の 1 つが、式 (VI) 又は式 (VII) の部分である場合、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} の残りは、水素又は $C(O)-R^1$ であり；各 R^2 が、独立して、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルであり、ただし、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の 1 つが、式 (VI) 又は式 (VII) の部分である場合、 R^{23} 、 R^{24} 又は R^{25} の残りは、水素又は $C(O)-R^1$ であり；ただし、式 (XXVII) の化合物において、 R^9 が NO_2 であり、 R^{10} がベンジルである場合、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} のそれぞれが、同時に水素又はアセチルであることはない。

【0130】

式 (XXVII) 又は (XXIX) の化合物のある実施形態において、ピラノース環のアノマー炭素（標識される*）が、S 配置のものであり、この化合物はそれぞれ、ピロロ [2, 1-c] [1, 4] ベンゾジアゼピン類似体の β -D-ガラクトシド及び α -L-フコシドコンジュゲートである。

【0131】

式 (XXVII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが水素である。式 (XXIX) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが水素である。

【0132】

式 (XXVII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。式 (XXIX) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが、独立して、 $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 が、 $C_1\sim 4$ アルキル又はフェニルである。

【0133】

式 (XXVII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。式 (XXIX) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がメチルである。

【0134】

式 (XXVII) の化合物のある実施形態において、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。式 (XXIX) の化合物のある実施形態において、 R^{23} 、 R^{24} 及び R^{25} のそれぞれが $-C(O)-R^1$ であり、ここで、 R^1 がエチルである。

【0135】

式 (XXVII) の化合物のある実施形態において、化合物 (89) は、化合物 (90) (Kamal et al.、同前) の方法にしたがって調製される)：

10

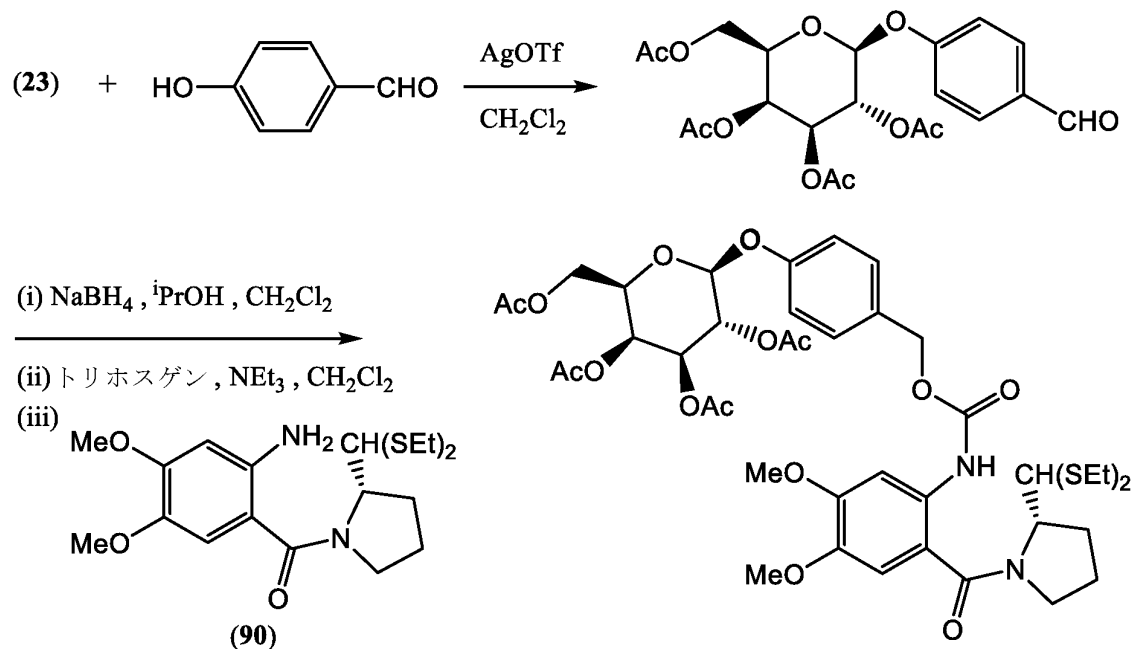
20

30

40

50

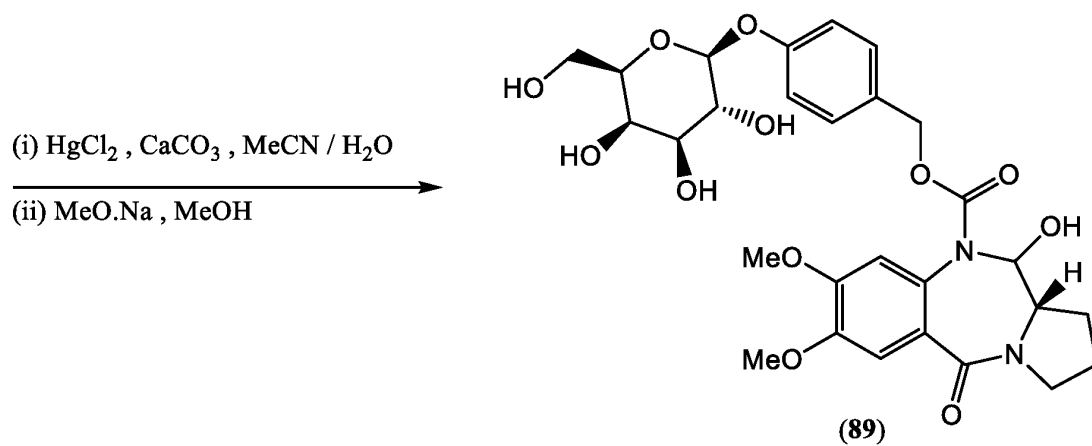
【化 3 9 - 1】



10

20

【化 3 9 - 2】



30

から合成される。

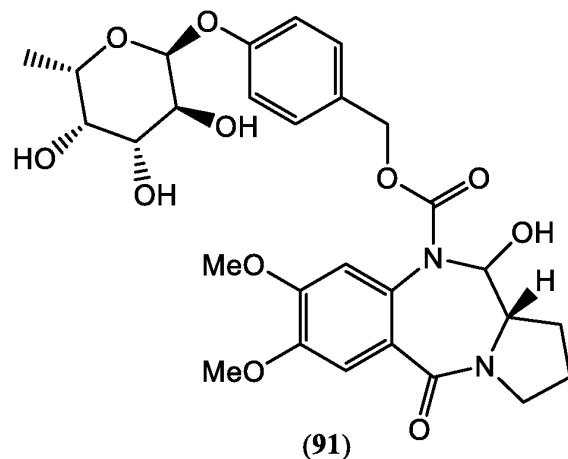
【 0 1 3 6】

具体的には、式 (X X I X) の化合物の一実施形態として、化合物 (9 1) は、同等の合成手法を用いて、化合物 (9 0) から調製される。

40

50

【化 4 0】



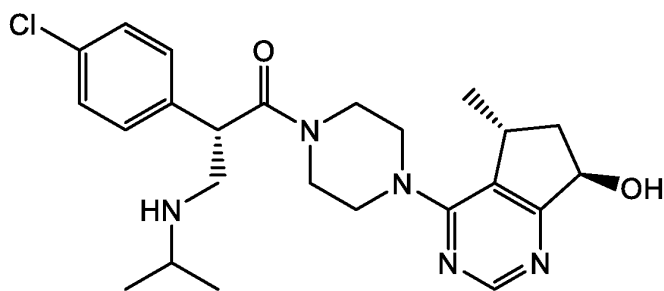
10

【 0 1 3 7】

さらに他の実施形態において、Akt阻害剤のO-ガラクトシド又はO-フコシドコンジュゲートが、老化細胞除去剤である。このようなコンジュゲートの調製に有用なAkt阻害剤は、イパタセルチブ（又はGDC-0068）（92）、AZD5363（93）及びトリシリビン（94）などの化合物によって例示される。ある実施形態において、Akt阻害剤のO-β-D-ガラクトシド又はO-α-L-フコシドコンジュゲートが、老化細胞除去剤である。

20

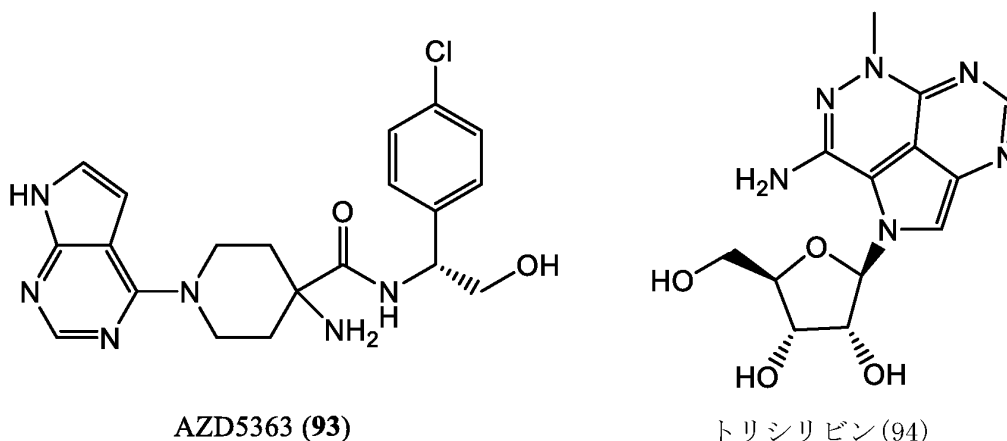
【化 4 1 - 1】



GDC-0068 (92)

30

【化 4 1 - 2】



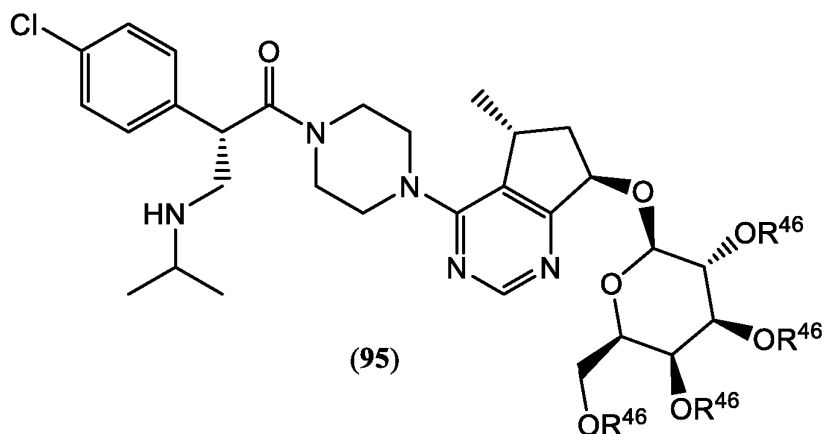
40

【 0 1 3 8】

50

特定の化合物は、本明細書において前に開示される方法にしたがって調製される、化合物（９５）～（１００）（式中、各 R^{46} が、水素、アセチル又はプロピオニルのいずれかである）：

【化４２－１】



10

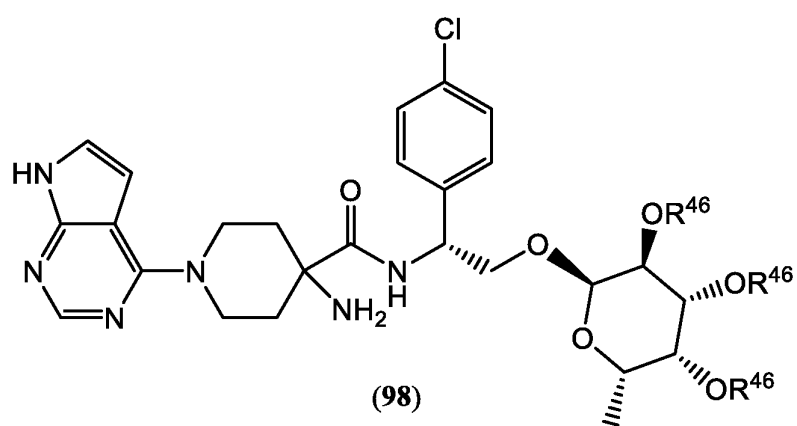
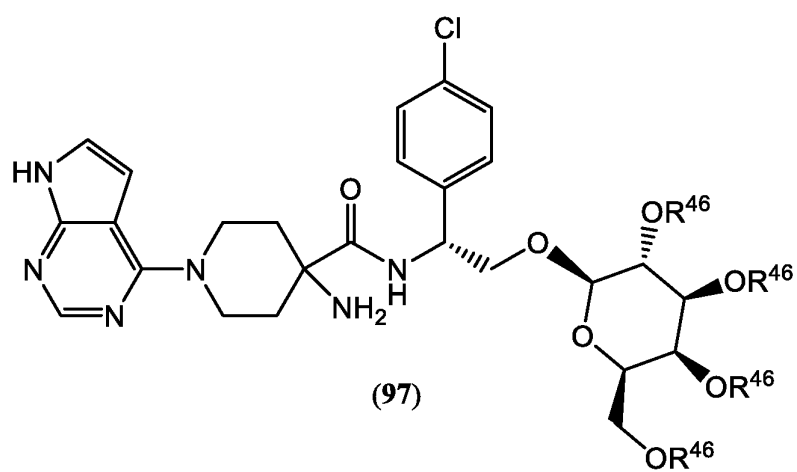
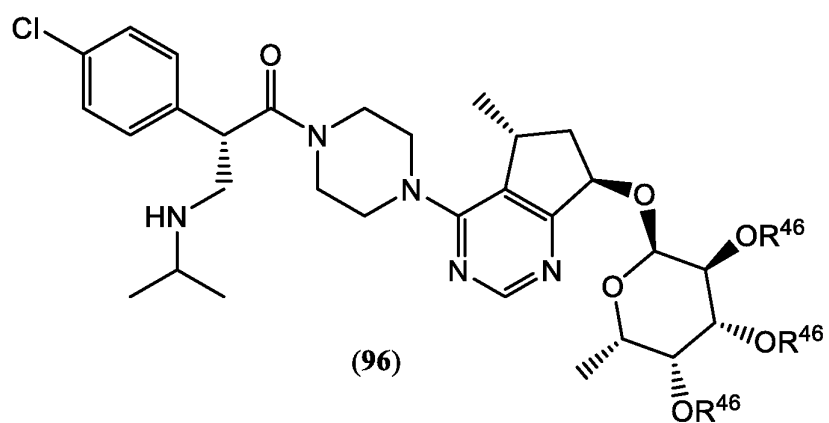
20

30

40

50

【化 4 2 - 2】



10

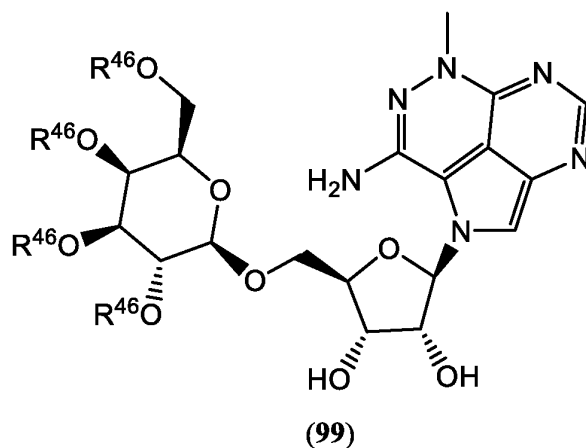
20

30

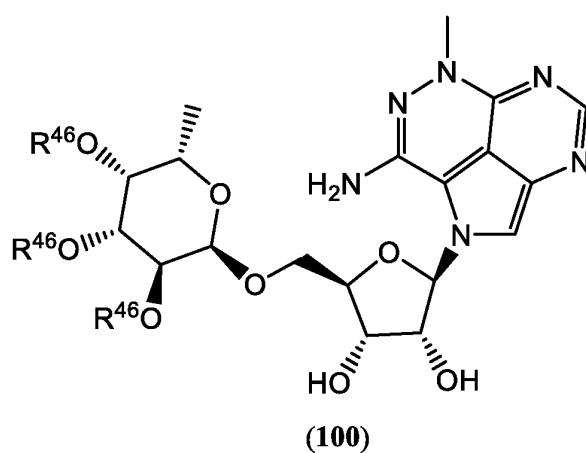
40

50

【化 4 2 - 3】



10



20

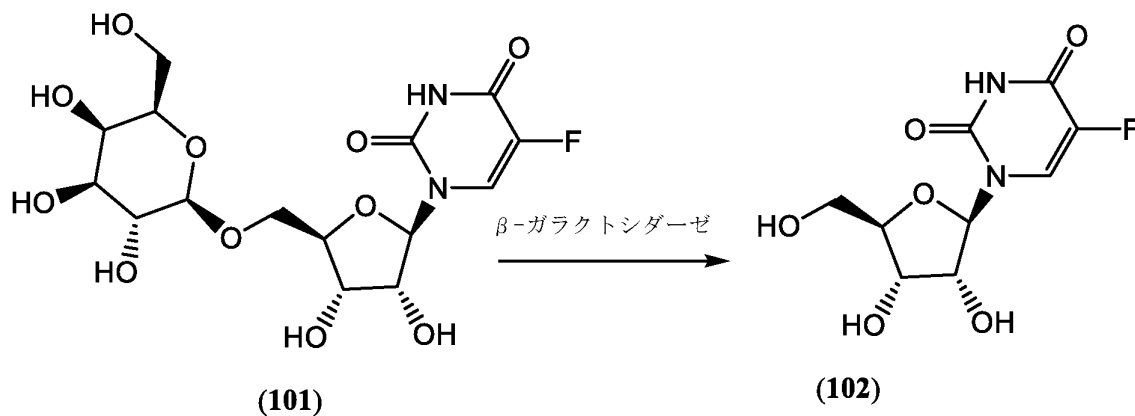
によって例示される。

【0139】

ある実施形態において、5-フルオロウリジン-5'-O-β-D-ガラクトピラノシド (FURGal) (101) によって例示される式 (I) の化合物は、老化細胞において豊富な細胞内 β-ガラクトシダーゼ (すなわち、SA-β-Gal) の作用によって、式 (II) のアポトーシス促進化合物、特に、細胞毒素 5-フルオロウリジン (FUR) (102) に変換される。

30

【化 4 3】



40

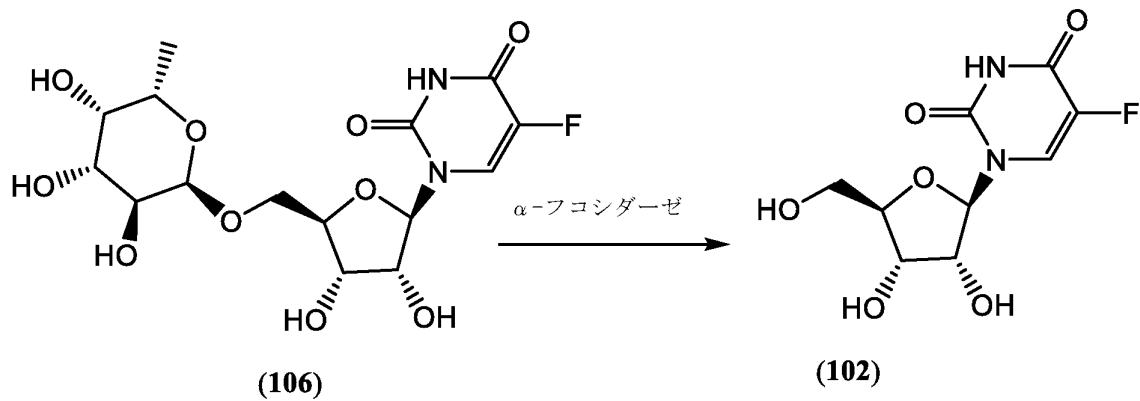
【0140】

別の実施形態において、5-フルオロウリジン-5'-O-α-L-フルコピラノシド (FURFuc) (106) によって例示される式 (I) の化合物は、老化細胞において豊富

50

な細胞内 α -フコシダーゼの作用によって、式(101)のアポトーシス促進化合物、特に、細胞毒素5-フルオロウリジン(FUR)(102)に変換される。

【化44】



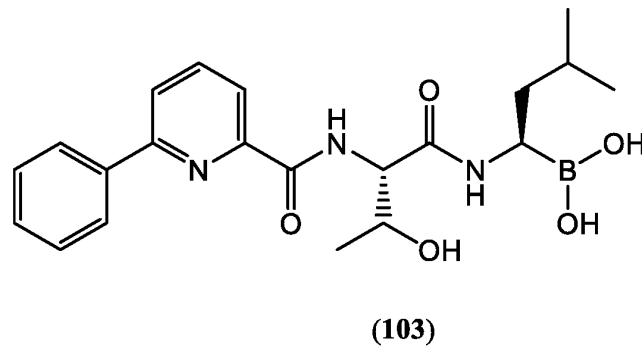
10

【0141】

さらに他の実施形態において、プロテアソーム阻害剤のO-ガラクトシド又はO-フコシドコンジュゲートが、老化細胞除去剤である。このようなコンジュゲートの調製に有用なプロテアソーム阻害剤は、デランゾミブ(103)などの化合物によって例示される。ある実施形態において、O- β -D-ガラクトシド又はO- α -L-フコシドコンジュゲート(104)及び(105)が、老化細胞除去剤である。

20

【化45-1】

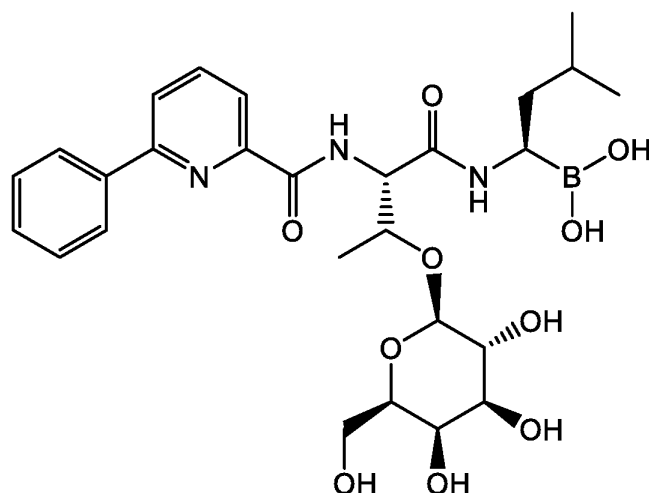


30

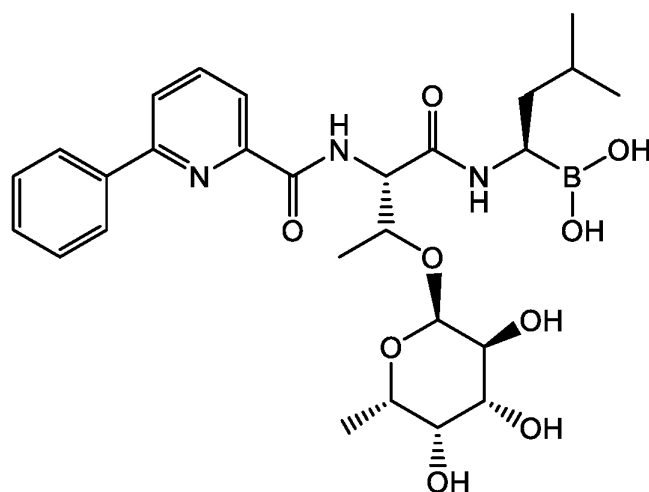
40

50

【化 4 5 - 2】



(104)



(105)

【0142】

老化細胞除去剤を特徴付け及び同定するための方法

老化細胞除去剤を特徴付けることは、本明細書又は当該技術分野で記載され、当業者が周知であろう1つ以上の細胞ベースのアッセイ及び1つ以上の動物モデルを用いて決定され得る。老化細胞除去剤は、老化細胞（例えば、老化前脂肪細胞、老化内皮細胞、老化線維芽細胞、老化ニューロン、老化上皮細胞、老化間葉細胞、老化平滑筋細胞、老化マクロファージ、又は老化軟骨細胞）の1つ以上のタイプを選択的に死滅させ得る。特定の実施形態において、老化細胞除去剤は、少なくとも老化線維芽細胞を選択的に死滅させることができる。

【0143】

化合物を老化細胞除去剤として特徴付けることは、本明細書又は当該技術分野で記載される1つ以上の細胞ベースのアッセイ及び1つ以上の動物モデルを用いて行われ得る。当業者は、化合物を老化細胞除去剤として特徴付けること及び化合物によって死滅させるレベルを決定することが、検査薬の活性を、適切な陰性対照（例えば、ビヒクル若しくは希釈剤のみ及び／又は老化細胞を死滅させないことが当該技術分野において知られている組成物若しくは化合物）及び適切な陽性対照と比較することによって行われ得ることを容易

に理解するであろう。老化細胞除去剤を特徴付けるためのインビトロの細胞ベースのアッセイは、非老化細胞（例えば、静止細胞又は増殖細胞）に対する薬剤の効果を決定するための対照も含む。老化細胞除去剤は、1つ以上の陰性対照と比較して、複数の老化細胞の生存率パーセントを低下させる（すなわち、減少させる）（すなわち、ある方法において、動物において又は細胞ベースのアッセイにおいて生存可能な老化細胞の量を減少させる）。特定のインビトロのアッセイのための条件は、温度、緩衝液（塩、カチオン、培地を含む）、及びアッセイに使用される検査薬及び試薬の完全性を維持する、当業者に周知である及び／又は日常的な実験によって容易に決定され得る他の要素を含む。

【0144】

アッセイに使用するための老化細胞の供給源は、初代細胞培養、又は染色体に組み込まれた若しくはエピゾームの組み換えの核酸配列を含み得る遺伝子組み換え細胞株、不死化した若しくは不死化可能な細胞株、体細胞雑種細胞株、分化した若しくは分化可能な細胞株、形質転換された細胞株などを含むがこれらに限定されない、培養に適応した細胞株であり得る。ある実施形態において、老化細胞は、疾患又は障害に関連する老化細胞を有する宿主又は対象から得られる生体サンプルから分離される。他の実施形態において、非老化細胞は、放射線照射又は化学療法剤（例えば、ドキソルビシン）への曝露などによって、本明細書及び当該技術分野で記載される方法によって、使用され（例えば、対象から得られる初代細胞又は培養物中で成長させるのに適応された細胞株）、老化が誘発される。生体サンプルは、例えば、血液サンプル、生検材料、体液（例えば、肺洗浄、腹水、粘膜洗浄液、滑液など）、骨髓、リンパ節、組織外植片、器官培養、又は対象から得られる任意の他の組織若しくは細胞調製物であり得る。生体サンプルは、形態学的完全性又は身体状態が、例えば、解剖、解離、可溶化、分画、均質化、生化学的若しくは化学的な抽出、粉末化、凍結乾燥、超音波処理、又は対象若しくは生物学的供給源に由来するサンプルを処理するための任意の他の手段によって破壊されている、組織又は細胞調製物であり得る。対象は、ヒト又は非ヒト動物であり得る。例として、培養培地中のヒト線維芽細胞に対する本発明の特定の化合物の老化細胞除去効果は、本明細書の実施例23において特徴付けられ、マウス胚性線維芽細胞に対する効果は本明細書の実施例24において特徴付けられる。実施例26及び27は、本発明の老化細胞除去化合物のインビボ投与が、マウスにおける老化肝細胞の減少をもたらすことを実証している。実施例28は、本発明の老化細胞除去化合物のインビボ投与が、マウスにおける老化肺細胞の減少をもたらすことを実証している。

【0145】

本明細書又は当該技術分野で記載されるトランスジェニック動物モデルは、老化細胞の死滅又は除去を決定するのに使用され得る（例えば、Baker et al.、上記；Nature, 479 (2011) 232-236；国際出願番号国際公開第2012/177927号パンフレット；国際出願番号国際公開第2013/090645号パンフレットを参照）。例示的なトランスジェニック動物モデルは、陽性対照としての老化細胞（例えば、p16INK4a陽性老化細胞）の制御されたクリアランスを可能にする核酸を含む導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物中の老化細胞の存在及びレベルは、動物の老化細胞において発現される検出可能な標識のレベルを測定することによって決定され得る。導入遺伝子のヌクレオチド配列は、老化細胞のクリアランスを検出するために、検出可能な標識、例えば、赤色蛍光タンパク質；緑色蛍光タンパク質；及び1つ以上のルシフェラーゼのうちの1つ以上を含む。

【0146】

本明細書又は当該技術分野で記載される動物モデルは、アテローム性動脈硬化症モデル、変形性関節症モデル、COPDモデル、IPFモデルなどの特定の老化関連の疾患又は障害を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ための老化細胞除去剤の有効性を決定するための当該技術分野で承認されたモデルを含む。本明細書に記載されるように、ブレオマイシン肺線維症モデルなどの肺疾患マウスモデル、及び慢性の喫煙モデルは、COPDなどの疾患に適用可能であり、当業者によって日常的に実施され得

る。化学療法及び放射線療法の副作用モデルを治療及び／又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）、又は転移を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ための老化細胞除去剤の有効性を決定するための動物モデルは、国際出願番号国際公開第2013/090645号パンフレット及び国際公開第2014/205244号パンフレットに記載されている。眼疾患、特に、加齢性黄斑変性症を治療するための薬剤の有効性を決定するための動物モデルはまた、当該技術分野で日常的に使用される（例えば、Pennesi et al., Mol. Aspects Med. 33 (2012) 487-509; Zeiss et al., Vet. Pathol. 47 (2010) 396-413; 及び Chavala et al., J. Clin. Invest. 123 (2013) 4170-4181を参照）。

10

【0147】

限定しない例として及び本明細書に記載されるように、変形性関節症動物モデルが、開発されている。変形性関節症は、例えば、前十字靱帯の不完全又は完全な外科的切断によって、例えば、膝において関節への損傷を引き起こすことによって、動物において誘発され得る。変形性関節症動物モデルは、変形性関節症を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）、プロテオグリカン侵食の減少を引き起こす、コラーゲン（ⅠⅠ型コラーゲンなど）産生を引き起こす（すなわち、刺激、増強する）、及びACL手術を受ける動物の疼痛を軽減するための老化細胞除去剤の有効性を評価するために使用され得る。免疫組織学が、関節中の組織及び細胞の完全性及び組成を調べるために行われ得る。当業者によって日常的に実施され得る本明細書に記載される方法及び技術を用いて、炎症分子（例えば、IL-6）のレベルを決定するためのアッセイ及び上述されるような老化マーカーのレベルを決定するためのアッセイなどの免疫化学及び／又は分子生物学の技術も行われ得る。

20

【0148】

別の限定しない例として及び本明細書に記載されるように、アテローム性動脈硬化症動物モデルが、開発されている。アテローム性動脈硬化症は、動物、例えば、動物に高脂肪食を与えることによって又はアテローム性動脈硬化症を高度に発症しやすいトランスジェニック動物を使用することによって誘発され得る。動物モデルは、アテローム性動脈硬化の動脈においてプラークの量を減少させる又はプラークの形成を阻害する、アテローム性動脈硬化プラークの脂質含有量を減少させる（すなわち、プラーク中の脂質の量を減少させる、低減する）、及びプラークの線維性被膜厚さを増大させるか又は増強するための老化細胞除去剤の有効性を決定するために使用され得る。アテローム性動脈硬化血管における脂質のレベルを検出するために、ズダン染色が使用され得る。免疫組織学及び免疫化学及び分子生物学アッセイ（例えば、炎症分子（例えば、IL-6）のレベルを決定するための、及び上述されるような老化マーカーのレベルを決定するための）は全て、当該技術分野で日常的に実施される本明細書に記載される方法にしたがって行われ得る。

30

【0149】

さらに別の限定しない例として、及び本明細書に記載されるように、動物がブレオマイシンで処置されるマウスモデルが、IPFを処置するための薬剤の有効性を決定するために記載されている（例えば、Peng et al., PLoS One 8 (4) (2013) e59348. doi:10.1371/journal.pone.0059348; Mouratis et al., Curr. Opin. Pulm. Med. 17 (2011) 355-361を参照）。肺疾患動物モデル（例えば、ブレオマイシン動物モデル、喫煙曝露の動物モデルなど）において、エラストシス、コンプライアンス（compliance）、静的コンプライアンス、及び末梢毛細血管の酸素飽和度（SpO₂）を決定するために、呼吸の測定が行われ得る。免疫組織学及び免疫化学及び分子生物学アッセイ（例えば、炎症分子（例えば、IL-6）のレベルを決定するための、及び上述されるような老化マーカーのレベルを決定するための）は全て、当該技術分野で日常的に実施される本明細書に記載される方法にしたがって行われ得る。

40

【0150】

50

動物モデルにおいて本明細書に記載されるような老化細胞を選択的に死滅させるための老化細胞除去剤の有効性を決定することは、当業者が周知であろう1つ以上の統計分析を用いて行われ得る。例として、二元配置分散分析（ANOVA）などの統計分析が、薬剤で処理された動物群と薬剤で処理されていない動物群（すなわち、ビヒクルのみ及び／又は非老化細胞除去剤を含み得る陰性対照群）との間の差異の統計的有意性を決定するために使用され得る。SPSS、MINITAB、SAS、Statistika、Graphpad、GLIM、Gensstat、及びBMDPなどの統計パッケージは、容易に入手可能であり、動物モデルの技術分野の当業者によって日常的に使用される。

【0151】

当業者は、老化細胞除去剤を特徴付けること及び老化細胞除去剤による死滅のレベルを決定することが、検査薬の活性を、適切な陰性対照（例えば、ビヒクルのみ及び／又は老化細胞を死滅させないことが当該技術分野において知られている組成物、薬剤、又は化合物）及び適切な陽性対照と比較することによって行われ得ることを容易に理解するであろう。薬剤を特徴付けるためのインビトロの細胞ベースのアッセイは、非老化細胞（例えば、静止細胞又は増殖細胞）に対する薬剤の効果を決定するための対照も含む。有用な老化細胞除去剤は、1つ以上の陰性対照と比較して老化細胞の生存率パーセントを低下させる（すなわち、減少させる）（すなわち、ある方法において、動物において又は細胞ベースのアッセイにおいて生存可能な老化細胞の量を減少させる）。したがって、老化細胞除去剤は、非老化細胞の死滅と比較して老化細胞を選択的に死滅させる（これは、本明細書において、非老化細胞より老化細胞を選択的に死滅させると示され得る）。

【0152】

特定の実施形態において（インビトロアッセイ又はインビボのいずれかで（ヒト又は非ヒト動物において））、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老化細胞の少なくとも20%を死滅させ、非老化細胞の5%以下を死滅させる。他の実施形態において（インビトロアッセイ又はインビボのいずれかで（ヒト又は非ヒト動物において））、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老化細胞の少なくとも約25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、又は65%を死滅させ、非老化細胞の約5%又は10%以下を死滅させる。さらに他の実施形態において（インビトロアッセイ又はインビボのいずれかで（ヒト又は非ヒト動物において））、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老化細胞の少なくとも約30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、又は65%を死滅させ、非老化細胞の約5%、10%、又は15%以下を死滅させる。さらに他の実施形態において（インビトロアッセイ又はインビボのいずれかで（ヒト又は非ヒト動物において））、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老化細胞の少なくとも約40%、45%、50%、55%、60%、又は65%を死滅させ、非老化細胞の約5%、10%、15%、20%、又は25%以下を死滅させる。さらに他の実施形態において（インビトロアッセイ又はインビボのいずれかで（ヒト又は非ヒト動物において））、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老化細胞の少なくとも約50%、55%、60%、又は65%を死滅させ、非老化細胞の約5%、10%、15%、20%、25%、又は30%以下を死滅させる。言い換えると、老化細胞除去剤は、非老化細胞より老化細胞の死滅に対する少なくとも5~25、10~50、10~100又は100~1000倍高い選択性を有する。

【0153】

老化関連の疾患又は障害を治療するための本明細書に記載される方法の特定の実施形態に関して、死滅された老化細胞パーセントは、疾患又は障害の発症、進行、及び／又は悪化に寄与する老化細胞を含む組織又は器官において死滅された老化細胞パーセントを指し得る。限定しない例として、脳の組織、眼の組織及び部分、肺組織、心臓組織、動脈、関節、皮膚、及び筋肉は、本明細書に記載される老化細胞除去剤によって上述されるようなパーセントで減少され、それによって治療効果をもたらし得る、老化細胞を含み得る。さらに、罹患した組織又は器官から老化細胞の少なくとも20%又は少なくとも25%を選択的に除去することは、臨床的に有意な治療効果を有し得る。

【0154】

老化細胞除去剤を投与することによって、例えば、アテローム性動脈硬化症などの、動脈硬化に関連する心血管疾患又は障害を治療するための本明細書に記載される方法の特定の実施形態に関して（すなわち、上記のインビボの方法に関して）、死滅される老化細胞パーセントは、動脈プラークにおいて死滅された非老化細胞に対する、プラークを含有する罹患した動脈において死滅された老化細胞パーセントを指し得る。特定の実施形態において、本明細書に記載されるような、アテローム性動脈硬化症などの心血管疾患を治療するための方法において、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老化細胞の少なくとも20%を死滅させ、動脈において非老化細胞の5%以下を死滅させる。他の実施形態において、老化細胞除去剤は、動脈硬化の動脈において老化細胞の少なくとも25%を選択的に死滅させる。

10

【0155】

ある実施形態において、老化細胞除去剤を投与することによって、変形性関節症を治療するための本明細書に記載される方法に関して、死滅される老化細胞パーセントは、骨関節炎の関節において死滅された非老化細胞に対する、骨関節炎の関節において死滅された老化細胞パーセントを指し得る。特定の実施形態において、本明細書に記載されるような変形性関節症を治療するための方法において、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、骨関節炎の関節において老化細胞の少なくとも20%を死滅させ、非老化細胞の5%以下を死滅させる。他の実施形態において、老化細胞除去剤は、骨関節炎の関節において老化細胞の少なくとも25%を選択的に死滅させる。

【0156】

20

ある実施形態において、少なくとも1つの老化細胞除去剤を投与することによって、老化関連の肺疾患又は障害（例えば、COPD、IPF）を治療するための本明細書に記載される方法に関して、死滅される老化細胞パーセントは、肺の罹患した肺組織において死滅された非老化細胞に対する、罹患した肺組織において死滅された老化細胞のパーセントを指し得る。特定の実施形態において、本明細書に記載されるような老化関連の肺疾患及び障害を治療するための方法において、老化細胞除去剤は、罹患した肺組織において老化細胞の少なくとも20%を死滅させ、非老化細胞の5%以下を死滅させる。他の実施形態において、老化細胞除去剤は、罹患した肺組織において老化細胞の少なくとも25%を選択的に死滅させる。

【0157】

30

特定の実施形態において、老化関連の疾患又は障害を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ための有用な老化細胞除去剤である薬剤を同定する（すなわち、スクリーニングする）ための方法が提供される。ある実施形態において、このような疾患及び障害を治療するための老化細胞除去剤を同定するための方法は、確立された老化細胞を提供するために細胞に老化を誘発する工程を含む。細胞の老化に誘発するための方法は、本明細書及び当該技術分野で記載され、例えば、放射線（例えば、10 Gy が典型的に十分である）又は化学療法剤（例えば、ドキソルビシン若しくは他のアントラサイクリン）への曝露を含む。薬剤への曝露後、細胞は、適切な時間にわたって及び適切な条件（例えば、所与の細胞型又は細胞株に適切な培地、温度、CO₂/O₂レベル）下で培養されて、老化を確立させる。本明細書に説明されるように、細胞の老化は、形態の変化（例えば、顕微鏡によって見られる）；例えば、老化に関連するβ-ガラクトシダーゼ（SA-β-gal）、p16INK4a、p21、又はいずれか1つ以上のSASP因子（例えば、IL-6、MMP3）の産生などの任意の数の特性を決定することによって決定され得る。次に、老化細胞のサンプルが、候補薬剤と接触される（すなわち、混合される、組み合わせられる、又は何らかの形で細胞及び薬剤が相互作用するのを可能にする）。当業者は、アッセイが、過去か又は現在に行われるかのいずれかで、適切な陰性対照及び陽性対照を含むことを認識するであろう。例えば、老化細胞と同様に培養されたが、老化誘発剤に曝されなかった対照非老化細胞のサンプルが、候補薬剤と接触される。老化細胞の生存のレベルが決定され、非老化細胞の生存のレベルと比較される。老化細胞除去剤は、老化細胞の生存のレベルが、非老化細胞の生存のレベル未満であるときに同定される。

40

50

【0158】

ある実施形態において、老化細胞除去剤を同定するための上述される方法は、老化細胞除去剤が変形性関節症を治療するのに有用であるかどうかを同定するための工程をさらに含み得る。本方法は、同定された老化細胞除去剤を、コラーゲンを産生することが可能な細胞と接触させる工程と；細胞によって産生されたコラーゲンのレベルを決定する工程とをさらに含み得る。実施形態、細胞は、軟骨細胞であり、コラーゲンは、ⅠⅡ型コラーゲンである。本方法は、候補老化細胞除去剤を、関節に関節炎病変を有する非ヒト動物に投与する工程と、（a）関節における老化細胞のレベル；（b）動物の身体機能；（c）炎症の1つ以上のマーカーのレベル；（d）関節の組織構造；及び（e）産生されるⅠⅡ型コラーゲンのレベルのうちの1つ以上を決定し、それによって、老化細胞除去剤の治療効果を決定する工程とをさらに含み得、ここで、以下の1つ以上が、老化細胞除去剤で処理されていない動物と比較して、処理された動物において観察される：（i）処理された動物の関節における老化細胞のレベルの低下；（ii）処理された動物の身体機能の改善；（iii）処理された動物における炎症の1つ以上のマーカーのレベルの低下；（iv）処理された動物の関節における組織学的正常性の増大；及び（v）処理された動物において産生されたⅠⅡ型コラーゲンのレベルの増加。本明細書及び当該技術分野で記載されるように、動物の身体機能は、例えば、罹患した肢への重量に耐える動物の耐性又は熱又は冷たさなどの不快な刺激から逃れる動物の能力によって、誘発された又は天然の骨関節炎の疾患に対する脚の感受性を決定する技術によって決定され得る。動物モデルにおいて本明細書に記載されるような老化細胞を死滅させる薬剤の有効性を決定することは、当業者が周知であろう1つ以上の統計分析を用いて行われ得る。本明細書に記載され、当該技術分野で日常的に実施される統計分析が、データを分析するのに適用され得る。

【0159】

他の実施形態において、老化細胞除去剤を同定するための上述される方法は、老化細胞除去剤が動脈硬化によって引き起こされるか又はそれに関連する心血管疾患を治療するのに有用であるかどうかを同定するための工程をさらに含み得る。したがって、本方法は、プラークの量を減少させる、アテローム性動脈硬化の動脈におけるプラークの形成を阻害する、アテローム性動脈硬化プラークの脂質含有量を減少させる（すなわち、プラークにおける脂質の量を減少させる、低減する）、及び／又はプラークの線維性被膜厚さを増大させるか又は増強するための薬剤の有効性を決定するために、非ヒト動物又は動物モデルに候補老化細胞除去剤を投与する工程をさらに含み得る。アテローム性動脈硬化血管における脂質のレベルを検出するために、ズダン染色が使用され得る。免疫組織学、炎症分子（例えば、IL-6）のレベルを決定するためのアッセイ、及び／又は上述されるような老化マーカーのレベルを決定するためのアッセイである、免疫組織学的検査は全て、本明細書に記載され、当該技術分野で日常的に実施される方法にしたがって行われ得る。

【0160】

特定の実施形態において、老化細胞除去剤を同定するための本明細書に記載される方法は、アテローム性動脈硬化プラークを有する非ヒト動物に候補老化細胞除去剤を投与する工程と、（a）動脈における老化細胞のレベル；（b）動物の身体機能（c）炎症の1つ以上のマーカーのレベル；（d）罹患した血管（例えば、動脈）の組織構造のうちの1つ以上を決定し；それによって、老化細胞除去剤の治療効果を決定する工程とをさらに含み得、ここで、以下の1つ以上が、老化細胞除去剤で処理されていない動物と比較して、処理された動物において観察される：（i）処理された動物の動脈における老化細胞のレベルの低下；（ii）処理された動物の身体機能の改善；（iii）処理された動物における炎症の1つ以上のマーカーのレベルの低下；（iv）処理された動物の動脈における組織学的正常性の増大。本明細書及び当該技術分野で記載されるように、動物の身体機能は、身体活動を測定することによって決定され得る。本明細書に記載され、当該技術分野で日常的に実施される統計分析が、データを分析するのに適用され得る。

【0161】

ある実施形態において、老化細胞除去剤を同定するための本明細書に記載される方法は

、ブレオマイシンモデル又は喫煙曝露の動物モデルなどの非ヒト動物肺疾患モデルに候補老化細胞除去剤を投与する工程と、(a) 肺における老化細胞のレベル；(b) 動物の肺機能；(c) 炎症の1つ以上のマーカーのレベル；(d) 肺組織の組織構造のうちの1つ以上を決定し、それによって、老化細胞除去剤の治療効果を決定する工程とをさらに含み得、ここで、以下の1つ以上が、老化細胞除去剤で処理されていない動物と比較して、処理された動物において観察される：(i) 処理された動物の肺及び肺組織における老化細胞のレベルの低下；(ii) 処理された動物の肺機能の改善；(iii) 処理された動物における炎症の1つ以上のマーカーのレベルの低下；及び(iv) 処理された動物の肺組織における組織学的正常性の増大。エラスタンス、コンプライアンス、静的コンプライアンス、及び末梢毛細血管の酸素飽和度 (SpO_2) を決定するために、呼吸の測定が行われ得る。肺機能は、予備呼気量 (ERV)、努力肺活量 (FVC)、努力呼気肺活量 (FEV) (例えば、1秒でのFEV、FEV1)、FEV1/FEV比率、努力呼気流量25%~75%、及び最大換気量 (MVVピーク呼気流量 (PEF)、遅い肺活量 (SVC) などの多くの測定のいずれかを決定することによって評価され得る。全肺気量は、全肺活量 (TLC)、肺活量 (VC)、残気量 (RV)、及び機能的残気量 (FRC) を含む。肺泡毛細血管膜にわたるガス交換は、一酸化炭素拡散能 (DLCO) を用いて測定され得る。末梢毛細血管の酸素飽和度 (SpO_2) も測定され得る。本明細書に記載され、当該技術分野で日常的に実施される統計分析が、データを分析するのに適用され得る。

【0162】

老化関連の疾患及び障害の治療及び予防方法

必要としている対象において、加齢関連の疾患及び障害を含む、細胞老化に係る、関連する、又はそれによって引き起こされる病態、疾患、又は障害を治療するための方法が、本明細書において提供される。老化関連の疾患又は障害は、本明細書において、老化細胞に関連する疾患又は障害とも呼ばれ得る。老化関連の疾患及び障害としては、例えば、老化によって引き起こされる、加齢関連の疾患及び障害；肺疾患及び障害；神経疾患及び障害 (例えば、神経変性疾患及び障害)；眼疾患及び障害；代謝性疾患及び障害；心血管疾患及び障害；炎症性疾患及び障害；自己免疫疾患及び障害；皮膚疾患及び障害；皮膚疾患；加齢関連の疾患；並びに移植に関連する疾患及び障害が挙げられる。老化の顕著な特徴は、漸進的な機能低下、又は分子、細胞、組織、及び有機体レベルで生じる変性である。加齢関連の変性は、よく認識された病変、例えば、サルコペニア、アテローム性動脈硬化症及び心不全、骨粗鬆症、肺機能不全、腎不全、神経変性 (黄斑変性症、アルツハイマー病、及びパーキンソン病を含む)、並びに多くのその他の病変を引き起こす。異なる哺乳動物種は、特定の加齢関連の病変に対するそれらの感受性が異なるが、集合的に、加齢関連の病変は、一般に、種特異的な寿命のおよその中間点 (例えば、ヒトでは50~60歳) から開始するおよその指数関数的な動態 (exponential kinetic) とともに増加する (例えば、Campisi, Annu. Rev. Physiol. 75 (2013) 685-705; Naylor et al., Clin. Pharmacol. Ther. 93 (2013) 105-116を参照)。

【0163】

本明細書に記載される方法にしたがって本明細書に記載される老化細胞除去剤を投与することによって治療され得る、老化関連の病態、疾患、又は障害の例としては、老化関連の疾患及び障害 (例えば、後彎症、腎機能障害、フレイル、脱毛、聴力低下、筋肉疲労、皮膚疾患、サルコペニア、及び椎間板ヘルニア) 並びに老化によって引き起こされる他の加齢関連の疾患 (例えば、放射線照射、化学療法、喫煙、高脂肪/高糖質食の摂取、及び環境要因に起因する疾患/障害)；肺疾患 (例えば、特発性肺線維症、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、気腫、閉塞性細気管支炎、喘息)；癌及び転移を含む増殖性疾患；化学療法又は放射線療法に関連する副作用；線維症及び線維性障害 (例えば、嚢胞性線維症、腎線維症、肝線維症、肺線維症、口腔粘膜下線維症、心筋繊維化、及び脾臓線維症)；認知疾患 (例えば、軽度認知障害 (MCI)、アルツハイマー病及び他の認知症；ハンチントン病)；運動機能疾患及び障害 (例えば、パーキンソン病、運動ニューロンの機能不全 (

MND)；ハンチントン病)；脳血管疾患；気腫；変形性関節症；前立腺肥大症；眼疾患又は障害（例えば、加齢性黄斑変性症、白内障、緑内障、視力低下、老眼）；代謝性疾患及び障害（例えば、肥満、糖尿病、メタボリック症候群）；心血管疾患（例えば、アテローム性動脈硬化症、心臓の拡張機能障害、大動脈瘤、狭心症、不整脈、心筋症、鬱血性心不全、冠動脈疾患、心筋梗塞、心内膜炎、高血圧症、頸動脈疾患、末梢血管疾患、心臓のストレス耐性、心筋繊維化）；炎症性／自己免疫疾患及び障害（例えば、変形性関節症、湿疹、乾癬、骨粗鬆症、粘膜炎、移植に関連する疾患及び障害）；皮膚疾患、例えば、糖尿病性潰瘍、創傷治癒及び皮膚母斑が挙げられる。特定の実施形態において、上記又は本明細書に記載される疾患又は障害のいずれか1つ以上は、除外されてもよい。

【0164】

ある実施形態において、老化細胞除去剤を投与することによって、疾患又は障害を有する対象における疾患又は障害に関連する老化細胞（すなわち、確立された老化細胞）を死滅させることによって、老化関連の疾患又は障害を治療するための方法が提供され、ここで、疾患又は障害は、老化に伴う疾患（例えばフレイル、筋力低下、認知障害）；特異性肺線維症；慢性閉塞性肺疾患（COPD）；腎線維症若しくは肝線維症；転移若しくは他の増殖性疾患；変形性関節症；又はアテローム性動脈硬化症である。

【0165】

加齢関連の疾患及び障害

本明細書に記載される老化細胞除去剤は、老化細胞を選択的に死滅させる。このように、老化の過程において老化細胞を標的とすることは、予防的手法であり得る。したがって、対象への本明細書に記載される老化細胞除去剤の投与は、併存疾患を予防し、高齢対象の死亡を遅らせ得る。さらに、老化細胞を選択的に死滅させることにより、免疫系の機能を高め、健康寿命を延ばし、対象のクオリティ・オブ・ライフを改善し得る。

【0166】

老化細胞除去剤はまた、自然な老化の過程の一環として生じるか又は対象が老化誘発剤又は因子（例えば、放射線照射、化学療法、喫煙、高脂肪／高糖質食、他の環境要因）に曝されるときに生じる加齢関連の疾患又は障害を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）のに有用であり得る。加齢関連の障害若しくは疾患又は加齢に敏感な特性は、老化誘発性の刺激に関連し得る。本明細書に記載される治療の方法の有効性は、老化誘発性の刺激に関連する加齢関連の障害又は加齢に敏感な特性の症状の数を減少させることによって、1つ以上の症状の重症度を低下させることによって、又は老化誘発性の刺激に関連する加齢関連の障害又は加齢に敏感な特性の進行を遅らせることによって、明らかになり得る。他の実施形態において、老化誘発性の刺激に関連する加齢関連の障害又は加齢に敏感な特性を予防することは、老化誘発性の刺激に関連する加齢関連の障害又は加齢に敏感な特性の発症、或いは老化誘発性の刺激に関連する1つ以上の加齢関連の障害又は加齢に敏感な特性の再発を予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）又は遅らせることを指す。加齢関連の疾患又は病態としては、例えば、腎機能障害、後彎症、椎間板ヘルニア、フレイル、認知障害、脱毛、聴力低下、視力低下（失明又は視覚障害）、筋肉疲労、皮膚疾患、皮膚母斑、糖尿病、メタボリック症候群、及びサルコペニアが挙げられる。視力低下は、対象が前に有していた視力の欠如を指す。視力に基づいて視覚の程度及び視力低下を表すために、様々な尺度が開発されてきた。加齢関連の疾患及び病態は、皮膚疾患、例えば、限定はされないが、以下の病態の1つ以上の治療も含む：表在性の小じわを含むしわ；色素過剰症；瘢痕；ケロイド；皮膚炎；乾癬；湿疹（脂漏性湿疹を含む）；酒さ；白斑；尋常性魚鱗癬；皮膚筋炎；及び光線角化症。フレイルは、毎日又は急性のストレス要因に対処する対象の能力を損なう複数の生理系にわたって予備力（reserve）及び機能の老化に関連する低下に起因する、増加した脆弱性の臨床的に認識可能な状態として定義される。フレイルは、低握力、低エネルギー、歩行速度の低下、低身体活動、及び／又は意図しない体重減少などの、損なわれたエネルギー特性によって特徴付けられ得る。研究は、上記の特徴の5つのうち3つが観察されるときに、患者がフレイルであると診断され得ることを示唆している（例えば、Fried et al.

10

20

30

40

50

, J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 56 (3) (2001) M146-M156; Xue, Clin. Geriatr. Med. 27 (1) (2001) 1-15を参照)。特定の実施形態において、老化並びに老化関連の疾患及び障害は、老化細胞除去剤を投与することによって治療又は予防され得る（すなわち、発症の可能性が低下される）。老化細胞除去剤は、成体幹細胞の老化を阻害するか又は老化した成体幹細胞の蓄積を阻害するか、それを死滅させるか、若しくはその除去を促進し得る。組織の再生能を維持するために幹細胞における老化を予防する重要性が、例えば、Park et al., J. Clin. Invest. 113 (2004) 175-179; 及び Sousa-Victor, Nature 506 (2014) 316-321に記載されている。

10

【0167】

老化を測定する方法が、当該技術分野において公知である。例えば、老化は、非脊椎骨折の発生、股関節骨折の発生、全骨折の発生、脊椎骨折の発生、反復骨折の発生、骨折後の機能回復、腰椎及び股関節における骨ミネラル濃度の低下、膝屈曲の速度、NSAID使用、疼痛を伴う関節の数、及び変形性関節症によって、骨において測定され得る。老化はまた、機能低下、転倒率 (rate of fall)、反応時間及び握力、上肢及び下肢における筋肉量の減少、及び二重課題10メートル歩行速度によって、筋肉において測定され得る。さらに、老化は、収縮期及び拡張期血圧変化、高血圧症の発生、心筋梗塞などの主要な心血管イベント、脳卒中、鬱血性心疾患、及び心血管死亡率によって、心血管系において測定され得る。さらに、老化は、認知低下、鬱病の発生、及び認知症の発生によって、脳において測定され得る。また、老化は、感染率、上気道感染の率、インフルエンザに似た病気の率、入院につながる重症感染症の発生、癌の発生、移植感染症の率、及び消化管感染症の率によって、免疫系において測定され得る。老化の他の適応症としては、限定はされないが、口腔衛生の低下、歯の喪失、消化管 (GI) 症状の率、空腹時血糖及び／又はインスリンレベル、身体組成の変化、腎機能の低下、クオリティ・オブ・ライフ、日常生活動作に関する身体障害の発生、及び介護施設への入所の発生が挙げられる。皮膚老化を測定する方法は、当該技術分野において公知であり、経表皮水分蒸散量 (TEWL)、皮膚の水和、皮膚弾力性、目尻のしわの面積比の分析、敏感さ、輝き、粗さ、染み、たるみ、肌の色合いの均一性、柔らかさ、及び起伏（深さのぼらつき）を含み得る。

20

【0168】

本明細書に記載される老化細胞除去剤の投与は、対象が処置を受けていなかった場合に予想される生存と比較したとき、延長する生存を延長することができる。治療を必要としている対象は、疾患又は障害を既に有する対象並びに疾患又は障害を有する傾向のある又はそれを発症するリスクのある対象、及び疾患、病態、又は障害が予防的に処置される対象を含む。対象は、老化細胞のクリアランスから利益を受け得る疾患又は障害を発症する遺伝性素因を有し得るか、又は老化細胞除去剤の摂取が、加齢関連の疾患又は障害を含む疾患の発症を遅らせるか若しくはその重症度を低下させる臨床効果を提供し得る特定の年齢であり得る。

30

【0169】

他の実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤による治療（すなわち、表現型検査；個々に応じた治療）から利益を受け得る対象を同定する工程をさらに含む、老化関連の疾患又は障害を治療するための方法が提供される。この方法は、対象の特定の器官又は組織中などで、対象における老化細胞のレベルを最初に検出する工程を含む。生体サンプル、例えば、血液サンプル、血清若しくは血漿サンプル、生検材料、体液（例えば、肺洗浄、腹水、粘膜洗浄液、滑液、硝子体液、髄液）、骨髓、リンパ節、組織外植片、器官培養、又は対象からの任意の他の組織若しくは細胞調製物が、対象から得られる。老化細胞のレベルは、本明細書に記載されるインビトロのアッセイ又は技術のいずれかにしたがって決定され得る。例えば、老化細胞は、形態（例えば、顕微鏡によって見られる）；老化に関連する β -ガラクトシダーゼ (SA- β -gal)、p16INK4a、p21、PAI-1、又はいずれか1つ以上のSASP因子（例えば、IL-6、MMP3

40

50

）などの老化に関連するマーカーの産生によって検出され得る。生体サンプルの老化細胞及び非老化細胞はまた、インビトロの細胞アッセイにおいて使用され得、ここで、細胞は、非老化細胞に対する望ましくない毒性なしで、対象の老化細胞を死滅させる老化細胞除去剤の能力を決定するために、本明細書に記載される老化細胞除去剤のいずれか1つに曝される。さらに、これらの方法は、老化細胞除去剤による処理の前、その間、及びその後、対象における老化細胞のレベルをモニタリングするのに使用され得る。特定の実施形態において、老化細胞の存在は、（例えば、mRNAの老化細胞マーカー発現のレベルを決定することなどによって）検出され得、処理過程及び／又は非処理間隔が、それに応じて調節され得る。

【0170】

肺疾患及び障害

ある実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤を投与することによって、疾患又は障害を有する対象における疾患又は障害に関連する老化細胞（すなわち、確立された老化細胞）を死滅させることによって、肺疾患又は障害である老化関連の疾患又は障害を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ための方法が提供される。老化関連の肺疾患及び障害としては、例えば、特発性肺線維症（IPF）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、喘息、嚢胞性線維症、気管支拡張症、及び気腫が挙げられる。

【0171】

COPDは、肺組織の破壊（気腫）及び小気道の機能不全（閉塞性細気管支炎）に起因する持続的に不十分な気流によって定義される肺疾患である。COPDの一次症状としては、息切れ、喘鳴、胸部圧迫感、慢性咳、及び過剰な痰生成が挙げられる。巻たばこ煙で活性化される好中球及びマクロファージからのエラスターゼは、胞状構造の細胞外基質を分解し、気腔の拡大及び呼吸容量の損失をもたらす（例えば、Shapiro et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 32 (2005) 367-372を参照）。COPDは、たばこ煙（巻たばこ煙、葉巻煙、副流煙、パイプ煙を含む）、職業上の曝露（例えば、粉塵、煙又は煙霧への曝露）、及び汚染によって最も一般に引き起こされ、これは、数十年間にわたって生じ、それによって、COPDを発症させる危険因子として老化に関与している。

【0172】

肺損傷を引き起こすことに関与するプロセスは、例えば、たばこ煙中の高濃度のフリーラジカルによって生じる酸化的ストレス；気道における刺激物への炎症反応によるサイトカイン放出；及びたばこ煙及びフリーラジカルによる抗プロテアーゼ酵素の障害（それにより、プロテアーゼに肺を損傷させる）を含む。遺伝的感受性も、この疾患に寄与し得る。COPDに罹患している人の約1%において、この疾患は、肝臓中の α -1-アンチトリプシンの低レベルの産生を引き起こす遺伝性疾患に起因する。酵素は、通常、肺を保護するのに助けるために血流へと分泌される。

【0173】

肺線維症は、肺の硬化及び瘢痕化によって特徴付けられる慢性及び進行性の肺疾患であり、これは、呼吸不全、肺癌、及び心不全につながり得る。線維症は、上皮の修復に関連している。線維芽細胞が活性化され、細胞外基質タンパク質の産生が増加され、収縮性筋線維芽細胞への分化転換が創面収縮に寄与する。暫定的な基質は、損傷した上皮を塞ぎ、上皮間葉移行（EMT）を含む上皮細胞移動のための足場を提供する。上皮損傷に関連する失血は、血小板活性化、成長因子の産生、及び急性炎症反応を誘発する。通常、上皮性関門は治癒し、炎症反応が解消される。しかしながら、線維症において、線維芽細胞応答は継続し、解決されない創傷治癒をもたらす。線維芽細胞巣の形成は、この疾患の特徴であり、これは、進行中の線維形成の位置を反映している。名称が暗示するように、IPFの病因は不明である。IPFにおける細胞老化の関与は、発病率が加齢とともに増加すること及びIPF患者中の肺組織がSAA- β -Gal陽性細胞に富み、増加したレベルの老化マーカーp21を含有していることの観察によって示唆されている（例えば、Minagawa et al., Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Ph

10

20

30

40

50

ysiol. 300 (2011) L391-L401を参照；また、例えば、Naylor et al., 上記も参照）。短いテロメアは、IPF及び細胞老化の両方に共通する危険因子である（例えば、Alder et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 (2008) 13051-13056を参照）。理論に拘束されるのを望むものではないが、IPFへの細胞老化の寄与は、IL-6、IL-8、及びIL-1 β などの老化細胞のSASP成分が、線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化及び上皮間葉移行を促進し、肺腔及び間質腔の細胞外基質の広範囲なリモデリングにつながるという報告によって示唆されている（例えば、Minagawa et al., 上記を参照）。

【0174】

肺線維症を発症させるリスクのある対象としては、石綿症及び珪肺症などに罹患している、環境又は職業上の汚染物質に曝される対象；喫煙者；関節リウマチ、SLE及び強皮症などのいくつかの典型的な結合組織疾患に罹患している対象；サルコイドーシス及びウェゲナー肉芽腫症などの、結合組織に関連する他の疾患に罹患している対象；感染症に罹患している対象；特定の薬剤（例えば、アミオダロン、ブレオマイシン、ブスルファン、メトトレキサート、及びニトロフラントイン）を摂取している対象；胸部への放射線治療を受けている対象；及び家族が肺線維症に罹患している対象が挙げられる。

【0175】

COPDの症状は、特に身体活動中の息切れ；喘鳴；胸部圧迫感；肺における過剰粘液が原因の朝一での咳払い；透明、白色、黄色又は緑色がかった唾液をもたらす慢性咳；唇又は爪の基部の青色化（チアノーゼ）；頻繁な呼吸器感染症；エネルギーの不足；（疾患の後期段階で観察される）意図しない体重減少のいずれか1つを含み得る。COPDに罹患している対象は、増悪を起こすこともあり、その間に、症状は悪化し、何日も持続する。肺線維症の症状は、当該技術分野において公知であり、特に運動中の息切れ；乾性の空咳；速く浅い呼吸；漸進的な意図しない体重減少；疲労；関節痛及び筋肉痛；並びにばち指（指又はつま先の先端の広がり及び丸まり）を含む。

【0176】

COPD又は肺線維症に罹患している対象は、当該技術分野で日常的に実施される標準的な診断方法を用いて同定され得る。肺疾患に罹患しているか又はそれを発症するリスクのある対象に投与される1つ以上の老化細胞除去剤の効果のモニタリングは、診断に典型的に使用される方法を用いて行われ得る。一般に、以下の検査又は試験の1つ以上が行われ得る：健康診断、患者の病歴、患者の家族の病歴、胸部X線、肺機能検査（肺活量測定など）、血液検査（例えば、動脈血ガス分析）、気管支肺泡洗浄、肺生検、CTスキャン、及び運動試験。

【0177】

老化細胞除去剤を使用することによって治療され得る他の肺疾患又は障害としては、例えば、気腫、喘息、気管支拡張症、及び嚢胞性線維症（例えば、Fischer et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 304 (6) (2013) L394-L400を参照）が挙げられる。これらの疾患はまた、細胞の老化を誘発し、それによって炎症に寄与する、たばこ煙（巻たばこ煙、葉巻煙、副流煙、パイプ煙を含む）、職業上の曝露（例えば、粉塵、煙又は煙霧への曝露）、感染症、及び／又は汚染物質によって悪化され得る。気腫は、場合により、COPDのサブグループと見なされる。

【0178】

気管支拡張症は、気道を広がらせ、たるませ、瘢痕化する、気道に対する損傷に起因する。気管支拡張症は、通常、気道壁を損傷するか又は気道が粘液を取り除くことを阻害する病状によって引き起こされる。このような病態の例としては、嚢胞性線維症及び原発性線毛機能不全（PCD）が挙げられる。肺の一部のみが罹患する場合、この障害は、病状ではなく閉塞によって引き起こされ得る。

【0179】

老化関連の肺疾患又は障害を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ための本明細書に記載される方法はまた、老化している、及び肺機能の低下（又は変性）（すなわち、より若い対象と比較した肺機能の低下又は障害）及び／又は肺組織の変性を有する対象を治療するのに治療され得る。呼吸器系は、加齢とともに様々な解剖学的、生理学的及び免疫学的な変化を生じる。構造変化は、全呼吸器系コンプライアンスを損ない得る胸壁及び胸椎の変形を含み、これは、呼吸する努力を増加させる。呼吸器系は、加齢とともに構造的、生理学的、及び免疫学的な変化を生じる。好中球の割合の増加及びマクロファージの低いパーセンテージが、より若い成人と比較して高齢者の気管支肺胞洗浄（BAL）において見られる。下気道における持続する軽度の炎症は、肺マトリックスに対するタンパク分解性及びオキシダント媒介性の損傷を引き起こして、老化とともに見られる肺胞単位の損失及び肺胞膜にわたるガス交換の障害をもたらす得る。下気道の持続した炎症により、高齢者が、毒性の環境曝露に対する感受性の増大及び肺機能の低下の促進を生じやすくなり得る。（例えば、Sharma et al., *Clinical Interventions in Aging* 1 (2006) 253-260を参照）。酸化ストレスは、老化中に炎症を悪化させる（例えば、Brod, *Inflamm. Res.* 49 (2000) 561-570; Hendel et al., *Cell Death and Differentiation* 17 (2010) 596-606を参照）。老化中の酸化還元バランスの変化及び酸化ストレスの増加は、サイトカイン、ケモカイン、及び接着分子、及び酵素の発現を促進する（例えば、Chung et al., *Ageing Res. Rev.* 8 (2009) 18-30を参照）。マクロファージ、T細胞、及び肥満細胞の構成的活性化及び動員は、プロテアーゼの放出を促進し、これは、細胞外基質分解、細胞死、リモデリング、並びに慢性炎症の間に組織及び臓器障害を引き起こし得る他の事象をもたらす（例えば、Demedts et al., *Respir. Res.* 7 (2006) 53-63を参照）。老化細胞除去剤を老化している対象（無症候の中年の成人を含む）に投与することによって、肺機能の低下は、気道から老化細胞を死滅させ、除去することによって減速又は阻害され得る。

【0180】

老化細胞除去剤の有効性は、医療及び臨床の技術分野の当業者によって容易に判定され得る。本明細書に記載される身体検査、臨床症状の評価及びモニタリング、並びに分析試験及び方法の実施を含む、診断方法の1つ又は任意の組合せが、対象の健康状態をモニタリングするのに使用され得る。老化細胞除去剤又はこの薬剤を含む医薬組成物の治療の効果は、治療を受けた、肺疾患に罹患しているか又はそのリスクのある患者の症状を、このような治療を受けなかったか又はプラセボ治療を受けた患者の症状と比較することなどの、当該技術分野において公知の技術を用いて分析され得る。さらに、肺の機械的機能を評価する方法及び技術、例えば、肺の容量、弾性、及び気道過敏性を測定する技術が実施され得る。処置全体を通して、肺機能を決定し、肺機能をモニタリングするために、予備呼気量（ERV）、努力肺活量（FVC）、努力呼気肺活量（FEV）（例えば、1秒でのFEV、FEV₁）、FEV₁/FEV比率、努力呼気流量25%~75%、及び最大換気量（MVV）、ピーク呼気流量（PEF）、遅い肺活量（SVC）といった多くの測定のいずれかが取得される。全肺気量は、全肺活量（TLC）、肺活量（VC）、残気量（RV）、及び機能的残気量（FRC）を含む。肺胞毛細血管膜にわたるガス交換は、一酸化炭素拡散能（DLCO）を用いて測定され得る。末梢毛細血管の酸素飽和度（SpO₂）も測定され得る；正常な酸素レベルは、典型的に、95%~100%である。90%未満のSpO₂レベルは、対象が低酸素血症に罹患していることを示唆している。80%未満の値は、重篤であると考えられ、脳及び心臓の機能を維持し、心臓又は呼吸の停止を回避するための介入を必要とする。

【0181】

転移

ある実施形態において、転移である、老化細胞に関連する疾患（又は障害若しくは病態）を治療又は予防する（すなわち、その発症又は発生の可能性を低下させる）ための方法

が提供される。本明細書に記載される老化細胞除去剤はまた、身体におけるある器官又は組織から別の器官又は組織への転移（すなわち、癌又は腫瘍細胞の広がり及び播種）を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ための本明細書に記載される方法にしたがって使用され得る。

【0182】

老化細胞に関連する疾患又は障害は、転移を含み、癌に罹患している対象は、転移を阻害するための本明細書に記載される老化細胞除去剤の投与から利益を受け得る。本明細書に記載される方法にしたがって、癌に罹患している対象に投与されるとき、このような老化細胞除去剤は、腫瘍増殖を阻害し得る。癌の転移は、癌細胞（すなわち、腫瘍細胞）が、発生及び最初のコロニー形成の解剖学的部位を越えて対象の身体の全体にわたって他の部位に広がる時に生じる。腫瘍増殖は、腫瘍サイズによって決定され得、これは、例えば、PETスキャン、MRI、CATスキャン、生検などによって、当業者に周知の様々な方法で測定され得る。腫瘍増殖に対する治療剤の効果も、腫瘍細胞の分化を調べることによって評価され得る。

10

【0183】

本明細書及び当該技術分野で使用される際、癌又は腫瘍という用語は、典型的に異常な細胞増殖を示す細胞によって特徴付けられる疾患を包含する臨床的に記述的な用語である。癌という用語は、一般に、悪性腫瘍又は悪性腫瘍から生じる疾患状態を表すのに使用される。或いは、異常な成長は、当該技術分野において新生物と呼ばれ得る。組織などに関して、腫瘍という用語は、一般に、過度及び異常な細胞増殖によって少なくとも部分的に特徴付けられる異常な組織成長を指す。腫瘍は、転移性であり得、発生及び最初のコロニー形成のその解剖学的部位を越えて対象の身体の全体にわたって他の部位に広がるのが可能であり得る。癌は、固形腫瘍を含み得るか、又は「液体」腫瘍（例えば、白血病及び他の血液癌）を含み得る。

20

【0184】

細胞は、放射線及び特定の化学療法剤などの癌治療によって老化を引き起こされる。老化細胞の存在は、炎症分子の分泌を増加させ、腫瘍進行を促進し、これは、腫瘍成長を促進し、腫瘍サイズを増大させ、転移を促進し、分化を変化させることを含み得る。老化細胞が破壊されると、腫瘍進行は、著しく阻害され、腫瘍サイズは小さくなり、転移成長はほとんど又は全く観察されない（例えば、国際公開第2013/090645号パンフレットを参照）。

30

【0185】

ある実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤を投与することによって、癌に罹患している対象における転移を予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）、阻害する、又は遅らせるための方法が提供される。他の実施形態において、老化細胞除去剤は、7日又は14日以下の治療期間（すなわち、治療過程）内で1日以上投与される。さらに他の実施形態において、治療過程は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20日以下、又は21日以下である。さらに他の実施形態において、治療過程は、1日である。さらに他の実施形態において、老化細胞除去剤は、7日又は14日以下の治療期間内に2日以上投与される。

40

【0186】

細胞が、放射線及び特定の化学療法剤（例えば、ドキソルビシン；パクリタキセル；ゲムシタビン；ボマリドミド；レナリドミド）などの癌治療によって老化を引き起こされ得るため、本明細書に記載される老化細胞除去剤は、これらの老化細胞を死滅させる（又はその死滅を促進する）ために化学療法又は放射線療法後に投与され得る。本明細書に説明され、当該技術分野において理解されるように、細胞老化関連分泌現象（SASP）の存在などによって示される老化の確立が、数日間にわたって生じ；したがって、老化細胞を死滅させ、それによって、転移の発生の可能性を低下させるか又はその範囲を縮小するための老化細胞除去剤の投与が、老化が確立されたときに開始される。本明細書に説明され

50

るように、老化細胞除去剤の投与のための以下の治療過程が、化学療法又は放射線療法の副作用を治療又は予防する（すなわち、発症の可能性を低下させるか、又は重症度を低下させる）ために本明細書に記載される方法において使用され得る。

【0187】

特定の実施形態において、化学療法又は放射線療法が、少なくとも1日のオン治療（on-therapy）（すなわち、化学療法又は放射線療法）、その後、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14日（又は約2週間）、15、16、17、18、19、20、21日（又は約3週間）、又は約4週間（約1か月）のオフ治療（off-therapy）（すなわち、化学療法又は放射線療法を受けていない）の治療サイクルで施されるとき、老化細胞除去剤は、オフ治療の時間間隔の2日目に又はその後に始まり、オフ治療の時間間隔の最終日に又はその前に終了する、オフ治療の時間間隔（時間周期）の間に1日以上投与される。例示として、nがオフ治療の日数である場合、老化細胞除去剤は、オフ治療の時間間隔の少なくとも1日及びn-1日以下投与される。ある実施形態において、化学療法又は放射線療法が、少なくとも1日のオン治療（すなわち、化学療法又は放射線療法）の治療サイクルで施されるとき、その後、少なくとも1週間のオフ治療、老化細胞除去剤は、オフ治療の時間間隔の2日目に又はその後に始まり、オフ治療の時間間隔の最終日に又はその前に終了する、オフ治療の時間間隔の間に1日以上投与される。

10

【0188】

化学療法は、化学療法、化学療法薬、又は化学療法剤と呼ばれ得る。多くの化学療法薬は、小有機分子と呼ばれる化合物である。化学療法は、特定の癌を治療するために投与される化学療法剤の組合せを表すのにも使用される用語である。当業者によって理解されるように、化学療法はまた、協調的に投与され、併用化学療法と呼ばれ得る、2つ以上の化学療法分子の組合せを指し得る。多くの化学療法剤が、腫瘍学の技術分野で使用され、限定はされないが、アルキル化剤；代謝拮抗剤；アントラサイクリン、植物アルカロイド；及びトポイソメラーゼ阻害剤を含む。

20

【0189】

転移し得る癌は、固形腫瘍であり得るか、又は液体腫瘍（例えば、血液癌、例えば、白血病）であり得る。液体腫瘍である癌は、血液、骨髄、及びリンパ節に生じるものとして当該技術分野において分類され、一般に、白血病（骨髄性及びリンパ球性）、リンパ腫（例えば、ホジキンリンパ腫）、及び黒色腫（多発性骨髄腫を含む）を含む。白血病としては、例えば、急性リンパ性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、及び有毛細胞白血病が挙げられる。固形腫瘍であり、ヒトにおいてかなりの頻度で生じる癌としては、例えば、前立腺癌、精巣癌、乳癌、脳腫瘍、膵臓癌、結腸癌、甲状腺癌、胃癌、肺癌、卵巣癌、カポジ肉腫、皮膚癌（扁平上皮細胞皮膚癌を含む）、腎臓癌、頭頸部癌、喉頭癌、鼻、口、咽喉などの湿った粘膜内層に生じる扁平上皮癌）、膀胱癌、骨肉腫（骨癌）、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、肝臓癌、及び腎臓癌が挙げられる。いくつかの特定の実施形態において、本明細書に記載される方法によって治療又は予防される（すなわち、発症又は発生の可能性が低下される）老化細胞に関連する疾患又は障害は、黒色腫細胞、前立腺癌細胞、精巣癌細胞、乳癌細胞、脳腫瘍細胞、膵臓癌細胞、結腸癌細胞、甲状腺癌細胞、胃癌細胞、肺癌細胞、卵巣癌細胞、カポジ肉腫細胞、皮膚癌細胞、腎臓癌細胞、頭頸部癌細胞、喉頭癌細胞、扁平上皮癌細胞、膀胱癌細胞、骨肉腫細胞、子宮頸癌細胞、子宮内膜癌細胞、食道癌細胞、肝臓癌細胞、又は腎臓癌細胞の転移である。

30

40

【0190】

本明細書に記載される方法はまた、医療技術分野で記載される腫瘍のタイプのいずれか1つの転移癌の進行を阻害する、遅らせる、又は遅くするのに有用である。癌（腫瘍）のタイプとしては、以下のものが挙げられる：副腎皮質癌、小児副腎皮質癌、AIDS関連の癌、肛門癌、虫垂癌、基底細胞癌、小児基底細胞癌、膀胱癌、小児膀胱癌、骨肉腫、脳腫瘍、小児星状細胞腫、小児脳幹グリオーマ、小児中枢神経系非定型奇形腫様／横紋筋様

50

腫瘍、小児中枢神経系胚芽腫、小児中枢神経系胚細胞腫瘍、小児頭蓋咽頭腫脳腫瘍、小児上衣腫脳腫瘍、乳癌、小児気管支腫瘍、カルチノイド腫瘍、小児カルチノイド腫瘍、消化管カルチノイド腫瘍、原発不明癌、小児原発不明癌、小児心（心臓）腫瘍、子宮頸癌、小児子宮頸癌、小児脊索腫、慢性骨髄増殖性疾患、結腸癌、結腸直腸癌、小児結腸直腸癌、肝外胆管癌、非浸潤性乳管癌（DCIS）、子宮内膜癌、食道癌、小児食道癌、小児鼻腔神経芽細胞腫、眼癌、骨の悪性線維性組織球腫、胆嚢癌、胃（gastric（stomach））癌、小児胃（gastric（stomach））癌、消化管間質腫瘍（GIST）、小児消化管間質腫瘍（GIST）、小児頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛腫瘍、神経膠腫、頭頸部癌、小児頭頸部癌、肝細胞（肝臓）癌、下咽頭癌、腎臓癌、腎細胞の腎臓癌、ウィルムス腫瘍、小児腎臓腫瘍、ランゲルハンス細胞組織球増加症、喉頭癌、小児喉頭癌、白血病、急性リンパ性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、有毛細胞白血病、口唇癌、肝臓癌（原発性）、小児肝臓癌（原発性）、非浸潤性小葉癌（LCIS）、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、リンパ腫、AIDS関連のリンパ腫、バーキットリンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫（CNS）、黒色腫、小児黒色腫、眼内（眼）黒色腫、メルケル細胞癌、悪性中皮腫、小児悪性中皮腫、原発不明の転移性扁平上皮頸部癌、NUT遺伝子に關与する正中線管癌（midline tract carcinoma）、口腔癌、小児多発性内分泌腫瘍症候群、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成腫瘍、骨髄増殖性腫瘍、多発性骨髄腫、鼻腔癌、鼻咽腔癌、小児鼻咽腔癌、神経芽細胞腫、口腔癌、小児口腔癌、口腔咽頭癌、卵巣癌、小児卵巣癌、上皮卵巣癌、低悪性度腫瘍卵巣癌、膵臓癌、小児膵臓癌、膵神経内分泌腫瘍（島細胞腫）、小児乳頭腫症、傍神経節腫、副鼻腔癌、副甲状腺癌、陰莖癌、咽頭癌、褐色細胞腫、下垂体部腫瘍、形質細胞腫、小児胸膜肺芽腫、前立腺癌、直腸癌、腎盂移行上皮癌、網膜芽細胞腫、唾液腺癌、小児唾液腺癌、腫瘍のユーイング肉腫ファミリー、カボジ肉腫、骨肉腫、横紋筋肉腫、小児横紋筋肉腫、軟部組織肉腫、子宮肉腫、セザリ症候群、小児皮膚癌、非黒色腫皮膚癌、小腸癌、扁平上皮細胞癌、小児扁平上皮細胞癌、精巣癌、小児精巣癌、喉頭癌、胸腺腫及び胸腺癌、小児胸腺腫及び胸腺癌、甲状腺癌、小児甲状腺癌、尿管移行上皮癌、尿道癌、子宮内膜の子宮癌、膣癌、外陰癌、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症。

【0191】

化学療法及び放射線療法の副作用

他の実施形態において、老化細胞に關連する障害又は病態は、化学療法の副作用又は放射線療法の副作用である。非癌細胞の老化を誘発する化学療法剤の例としては、アントラサイクリン（ドキソルピシン、ダウノルピシンなど）；タキソール（例えば、パクリタキセル）；ゲムシタビン；ポマリドミド；及びレナリドミドが挙げられる。本明細書に記載されるように投与される老化細胞除去剤の1つ以上は、化学療法の副作用又は放射線療法の副作用を治療及び／又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ために使用され得る。老化細胞の除去又は破壊は、化学療法又は放射線療法の、エネルギー不均衡を含む急性毒性を含む、急性毒性を改善し得る。急性毒性副作用としては、限定はされないが、胃腸毒性（例えば、吐き気、嘔吐、便秘、食欲不振、下痢）、末梢神経障害、疲労、倦怠感、低身体活動、血液毒性（例えば、貧血）、肝毒性、脱毛症（脱毛）、疼痛、感染症、粘膜炎、体液鬱滞、皮膚毒性（例えば、発疹、皮膚炎、色素過剰症、じんましん、光過敏症、爪の変化）、口腔の問題（例えば、口腔粘膜炎症）、歯肉又は咽喉の問題、或いは化学療法又は放射線療法によって引き起こされる任意の毒性副作用が挙げられる。例えば、放射線療法又は化学療法によって引き起こされる毒性副作用は、本明細書に記載される方法によって改善され得る。したがって、特定の実施形態において、治療を受ける対象における化学療法又は放射線療法或いはその両方の急性毒性を改善する（発症を減少させる、阻害する、又は予防する（すなわち、発症の可能性を低下させる））或いはその毒性副作用（すなわち、有害副作用）の重症度を低下させるための方法が、本明細書において提供され、ここで、本方法は、老化細胞を選択的に死滅させる、除去する、又は破壊す

る或いはその選択的な破壊を促進する薬剤を対象に投与する工程を含む。化学療法又は放射線療法の副作用を治療する又はその発症の可能性を低下させる、或いはその重症度を低下させるための本明細書に記載される老化細胞除去剤の投与が、転移の治療／予防について上述されるのと同じ治療過程によって行われ得る。転移を治療又は予防する（すなわち、その発症の可能性を低下させる）ことについて記載されるように、老化細胞除去剤は、化学療法のない又は放射線療法のない時間間隔中或いは化学療法又は放射線療法の治療計画が完了した後に投与される。

【0192】

より特定の実施形態において、急性毒性は、エネルギー不均衡を含む急性毒性であり、体重減少、内分泌変化（例えば、ホルモン不均衡、ホルモンシグナル伝達の変化）、及び身体組成の変化の1つ以上を含み得る。特定の実施形態において、エネルギー不均衡を含む急性毒性は、医学療法を受けなかった対象において観察されるより減少した又は縮小されたエネルギーの消費によって示されるように、対象が身体的に活発になる能力の減少又は縮小に関連している。限定しない例として、エネルギー不均衡を含むこのような急性毒性作用は、低身体活動を含む。他の実施形態において、エネルギー不均衡は、疲労又は倦怠感を含む。

【0193】

ある実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤によって治療又は予防される（すなわち、発症の可能性が低下される）化学療法副作用は、心臓毒性である。アントラサイクリン（ドキソルビシン、ダウノルビシンなど）で治療されている癌に罹患した対象は、アントラサイクリンの心臓毒性を軽減し、改善し、又は減少させる1つ以上の本明細書に記載される老化細胞除去剤で治療され得る。医療技術分野でよく理解されるように、アントラサイクリンに関連する心臓毒性のため、対象が受けることができる最大の生涯投与量は、癌が薬剤に反応したとしても制限される。老化細胞除去剤の1つ以上の投与により、心臓毒性は軽減され得、さらなる量のアントラサイクリンを対象に投与することができるようになり、癌疾患に関連する予後の改善がもたらされる。ある実施形態において、心臓毒性は、ドキソルビシンなどのアントラサイクリンの投与に起因する。ドキソルビシンは、白金に基づく治療の失敗後に卵巣癌；術前化学療法の失敗若しくは治療に対する不耐性後のカポジ肉腫；又は以前にボルテゾミブを受けなかった又は少なくとも1回の以前の治療を受けた患者においてボルテゾミブと組み合わせた多発性骨髄腫に罹患した患者を治療するために承認されているアントラサイクリントポイソメラーゼ阻害剤である。ドキソルビシンは、患者への合計の生涯投与量が 550 mg/m^2 を超える場合、鬱血性心不全につながり得る心筋障害を引き起こし得る。心臓毒性は、患者がさらに縦隔放射線照射又は別の心臓毒性薬剤を受ける場合、さらに低用量でも生じ得る。

【0194】

他の実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤は、慢性又は長期の副作用を改善するために本明細書において提供される方法に使用され得る。慢性の毒性副作用は、典型的に、長期間にわたる化学療法又は放射線療法への複数回の曝露又は投与に起因する。特定の毒性作用は、治療のかなり後に現われ（遅発性毒性作用とも呼ばれる）、治療による器官又は系への損傷に起因する。臓器機能不全（例えば、神経、肺、心血管、及び内分泌の機能不全）が、小児期に癌の治療を受けた患者において観察されている（例えば、Hudson et al., JAMA 309 92013）2371-2381を参照）。何らかの特定の理論に拘束されるのを望むものではないが、老化細胞、化学療法又は放射線療法によって老化を誘発された特定の正常細胞を破壊することによって、慢性の副作用の発生の可能性が低下され得るか、又は慢性の副作用の重症度が軽減若しくは低下され得るか、又は慢性の副作用の発現の時間が遅延され得る。化学療法又は放射線治療を受けた対象において生じる慢性及び／又は遅発性の毒性副作用としては、限定しない例として、心筋症、鬱血性心疾患、炎症、早発閉経、骨粗鬆症、不妊症、認知機能の障害、末梢神経障害、続発性癌、白内障及び他の視覚障害、聴力低下、慢性疲労、肺活量の減少、及び肺疾患が挙げられる。

【0195】

さらに、老化細胞除去剤を投与することによって、癌に罹患した対象における老化細胞を死滅させるか又は除去することによって、化学療法又は放射線療法に対する感受性は、老化細胞除去剤が投与されなかった場合より、臨床的又は統計的に有意に高められ得る。言い換えると、化学療法又は放射線療法への耐性の発生は、老化細胞除去剤が、それぞれの化学療法又は放射線療法で治療された対象に投与されるときに阻害され得る。

【0196】

神経疾患及び障害

本明細書に記載される老化細胞除去剤を投与することによって治療可能な老化関連の疾患又は障害としては、神経疾患又は障害が挙げられる。このような老化関連の疾患及び障害としては、パーキンソン病、アルツハイマー病（及び他の認知症）、運動ニューロンの機能不全（MND）、軽度認知障害（MCI）、ハンチントン病、及び加齢性黄斑変性症などの眼の疾患及び障害が挙げられる。加齢関連の眼の他の疾患は、緑内障、視力低下、老眼、及び白内障である。

【0197】

パーキンソン病（PD）は、2番目に一般的な神経変性疾患である。それは、動作緩慢（運動緩徐）、振盪、硬直及び後期段階での平衡感覚障害によって特徴付けられる脳の身障状態である。これらの症状の多くは、脳における特定の神経の喪失に起因し、これは、ドーパミンの不足をもたらす。この疾患は、黒質緻密部中のドーパミン作動性ニューロンの約50%～70%の喪失、線条体中のドーパミンの重度の喪失及び／又は主にα-シヌクレイン及びユビキチンから構成される細胞質内封入体（レヴィー小体）の存在などの神経変性によって特徴付けられる。パーキンソン病はまた、振戦、硬直、運動緩徐及び／又は姿勢の不安定などの自発運動の障害を特徴とする。パーキンソン病を発症するリスクのある対象としては、パーキンソン病の家族歴を有する対象及び殺虫剤（例えば、ロテノン又はパラコート）、除草剤（例えば、エージェントオレンジ）、又は重金属に曝された対象が挙げられる。ドーパミンを産生するニューロンの老化は、活性酸素種の産生によってPDにおいて観察された細胞死に寄与すると考えられるため（例えば、Cohen et al., J. Neural Transm. Suppl. 19 (1983) 89-103を参照）；本明細書に記載される方法及び老化細胞除去剤は、パーキンソン病の治療及び予防に有用である。

【0198】

組織学的研究、生化学試験、及び行動評価などの、パーキンソン病に関連する神経変性欠陥及び／又は自発運動の障害を検出、モニタリング又は定量するための方法は、当該技術分野において公知である（例えば、米国特許出願公開第2012/0005765号明細書を参照）。パーキンソン病の症状は、当該技術分野において公知であり、限定はされないが、随意運動を開始若しくは終了することの困難さ、ぎくしゃくした硬い動き、筋萎縮、震え（振戦）、及び心拍数の変化、正常反射、運動緩徐、及び姿勢の不安定を含む。パーキンソン病と診察された人が、その身体的症状に加えて、軽度認知障害を含む認知障害を有し得るという認識が高まっている。

【0199】

アルツハイマー病（AD）は、深刻な認知症につながる、記憶障害、失見当識、及び錯乱を伴う緩徐進行性の精神機能低下を示す神経変性疾患である。加齢は、高齢者の認知症の主要な原因であるADを発症する単一の最も大きな素因となる危険因子である（例えば、Hebert, et al., Arch. Neural. 60 (2003) 1119-1122を参照）。初期の臨床症状は、軽度認知障害との著しい類似性を示す（以下を参照）。この疾患が進行するにつれて、判断力低下、錯乱、行動変化、失見当識、及び歩行困難及び嚥下困難が生じる。

【0200】

アルツハイマー病は、組織学的試料中の神経原線維変化及びアミロイド（老人）プラークの存在によって特徴付けられる。この疾患は、主に、脳の辺縁及び皮質の領域に関与し

ている。アミロイド前駆タンパク質（A P P）のアミロイド生成性A β 断片を含有する好銀性のプラークは、大脳皮質及び海馬全体にわたって散在している。神経原線維変化は、新皮質、海馬、及びマイネルト基底核に主に位置する錐体ニューロンにおいて見られる。海馬の錐体細胞中の顆粒空胞変性などの他の変化、並びに皮質及び海馬におけるニューロン喪失及び神経膠症が観察される。アルツハイマー病を発症するリスクのある対象としては、高齢の対象、アルツハイマー病の家族歴を有する対象、遺伝的リスク遺伝子（例えば、A p o E 4）又は決定的な遺伝子突然変異（例えば、A P P、P S 1、若しくはP S 2）を有する対象、並びに頭部外傷又は心臓／血管の病態（例えば、高血圧、心臓病、脳卒中、糖尿病、高コレステロール症など）の病歴を有する対象が挙げられる。

【0201】

アルツハイマー病の表現型を評価するため、治療剤を特徴付けるため、及び治療を評価するための多くの行動的及び病理組織学的なアッセイが、当該技術分野において公知である。組織学的分析は、典型的に死後に行われる。A β レベルの組織学的分析は、チオフラビン-S、コンゴレッド、又は切断された脳組織上のA β 沈着を視覚化するための抗A β 染色（例えば、4 G 8、1 0 D 5、若しくは6 E 1 0抗体）を用いて行われ得る（例えば、H o l c o m b e t a l . , N a t . M e d . 4 (1 9 9 8) 9 7 - 1 0 0 ; B o r c h e l t e t a l . , N e u r o n 1 9 (1 9 9 7) 9 3 9 - 9 4 5 ; D i c k s o n e t a l . , A m . J . P a t h . 1 3 2 (1 9 9 8) 8 6 - 1 0 1を参照）。トランスジェニックマウスにおけるA β 沈着を視覚化するインビボでの方法も記載されている。B S B（（トランス，トランス）-1-ブプロモ-2，5-ビス（3-ヒドロキシカルボニル-4-ヒドロキシ）スチリルベンゼン）及びP E Tトレーサー¹¹C標識化P i t t s b u r g h化合物-B（P I B）は、A Pプラークに結合する（例えば、S k o v r o n s k y e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 7 (2 0 0 0) 7 6 0 9 - 7 6 1 4 ; K l u n k e t a l . , A n n . N e u r o l . 5 5 (2 0 0 4) 3 0 6 - 3 1 9を参照）。¹⁹F含有アミロイド親和性（a m y l o i d o p h i l l i c）コンゴレッド型化合物F S B（（E，E）-1-フルオロ-2，5-b i s -（3-ヒドロキシカルボニル-4-ヒドロキシ）スチリルベンゼン）は、M R IによってA β プラークの可視化を可能にする（例えば、H i g u c h i e t a l . , N a t u r e N e u r o s c i . 8 (2 0 0 5) 5 2 7 - 5 3 3を参照）。放射性標識された、プトレシン修飾アミロイド- β ペプチドは、アルツハイマー病のマウスモデルにおいてインビボでアミロイド沈着物を標識する（例えば、W e n g e n a c k e t a l . , N a t . B i o t e c h n o l . 1 8 (2 0 0 0) 8 6 8 - 8 7 2を参照）。

【0202】

星状細胞による増加したグリア線維酸性タンパク質（G F A P）は、神経変性の間のアストログリアの活性化及び神経膠症のためのマーカーである。A Pプラークは、G F A P陽性の活性化星状細胞に関連しており、G F A P染色によって視覚化され得る（例えば、N a g e l e e t a l . , N e u r o b i o l . A g i n g 2 5 (2 0 0 4) 6 6 3 - 6 7 4 ; M a n d y b u r e t a l . , N e u r o l o g y 4 0 (1 9 9 0) 6 3 5 - 6 3 9 ; L i a n g e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 8 5 (2 0 1 0) 2 7 7 3 7 - 2 7 7 4 4を参照）。神経原線維変化は、チオフラビン-S蛍光顕微鏡法及びG a l l y a s銀染色（例えば、G o t z e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 7 6 (2 0 0 1) 5 2 9 - 5 3 4 ; 米国特許第6，664，443号明細書を参照）を用いて、免疫組織化学的検査によって同定され得る。電子顕微鏡法及び軸索輸送研究を用いる軸索染色が、神経変性を視覚化するのに使用され得る（例えば、I s h i h a r a e t a l . , N e u r o n 2 4 (1 9 9 9) 7 5 1 - 7 6 2を参照）。

【0203】

アルツハイマー病に罹患している対象は、アルツハイマー病の技術分野において公知の標準の診断方法を用いて同定され得る。一般に、アルツハイマー病の診断は、患者の症状（例えば、記憶機能の進行性の低下、日常活動からの漸進的な退避及びそれによるフラストレーション、無関心、激越又は被刺激性、攻撃性、不安、睡眠障害、不快、異常な運動

10

20

30

40

50

行動、脱抑制、引きこもり、食欲不振、幻覚、認知症)、病歴、神経心理学的検査、神経学的検査及び／又は身体検査に基づく。脳脊髄液もまた、タウ、アミロイドβペプチド、及びAD7C-NTPを含む、アルツハイマー病理に関連している様々なタンパク質のために試験され得る。遺伝子検査もまた、常染色体性優性遺伝病である、早期発症型家族性アルツハイマー病(eFAD)に利用可能である。臨床遺伝子検査が、AD症状を有する個体又は早期発症型の疾患に罹患するリスクのある患者の家族に利用可能である。米国では、PS2、及びAPPに対する突然変異は、臨床検査室改善法(Clinical Laboratory Improvement Amendments)の下で、臨床的に又は連邦政府によって承認された実験室において試験され得る。PS1突然変異に対する商用試験も利用可能である(Elan Pharmaceuticals)。

10

【0204】

Zhangらは、ADに罹患した患者の脳において及びADマウスモデルにおいて、Aβプラークに関連するOlig2-及びNG2を発現するオリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)が、p21/CDKN1A、p16/INK4/CDKN2Aタンパク質の上方制御によって特徴付けられる老化様の表現型、及び老化に関連するβ-ガラクトシダーゼ活性を示すが、星状細胞、ミクログリア、又はオリゴデンドロサイトは示さないことを報告した(Nature Neurosci. 22(2019)719-728を参照)。Aβプラーク環境の分子的情報(molecular interrogation)は、OPC機能、複製老化、及び炎症に関与するタンパク質をコードする転写産物の上昇したレベルを示した。凝集Aβへの培養されたOPCの直接の曝露は、細胞老化を引き起こした。ダサチニブ及びケルセチンを含む老化細胞除去剤混合物によるADマウスの処理は、プラーク環境から老化細胞を選択的に除去し、神経炎症を軽減し、Aβ負荷を減少させ、認知障害を改善した。これらの知見は、ADの神経炎症及び認知障害におけるAβ誘導性のOPC細胞老化の役割、及び老化細胞除去処理の潜在的な治療効果を示唆している。

20

【0205】

本明細書に記載される1つ以上の老化細胞除去剤の有効性及び1つ以上の老化細胞除去剤を受ける対象のモニタリングは、医療及び臨床の技術分野の当業者によって容易に判定され得る。本明細書に記載される、身体検査、臨床症状の評価及びモニタリング、並びに分析試験及び方法の実施を含む、診断方法の1つ又はその任意の組合せが、対象の健康状態をモニタリングするのに使用され得る。1つ以上の老化細胞除去剤を投与する効果は、治療を受けたアルツハイマー病に罹患しているか又はそのリスクのある患者の症状を、このような治療を受けなかった又はプラセボ治療を受けた患者の症状と比較することなどの、当該技術分野において公知の技術を用いて分析され得る。

30

【0206】

軽度認知障害(MCI)は、個体の日常活動を妨げるほど有意なものではないが、個体の年齢及び教育に基づいて予測されるものを超える認知障害の発現及び進展を伴う脳機能症候群である。MCIは、正常な老化から認知症に転換し得るまでの移行状態であると考えられる認知的加齢の態様である(Pepeu, Dialogues in Clinical Neuroscience 6(2004)369-377を参照)。主に記憶に影響を及ぼすMCIは、「健忘性MCI」として知られている。健忘性MCIを有する人は、最近の出来事など以前には容易に思い出された重要な情報を忘れ始め得る。健忘性MCIは、アルツハイマー病の前駆期と見なされることが多い。記憶以外の思考力に影響を及ぼすMCIは、「非健忘性MCI」として知られている。このタイプのMCIは、正しい判断を行う、複雑な作業を完了するために必要な工程の時間若しくは順序を判断するか、又は視覚的認識を行う能力などの思考力に影響を及ぼす。非健忘性MCIを有する個体は、他のタイプの認知症(例えば、レビー小体認知症)に転換する可能性がより高いと考えられている。

40

【0207】

医療技術分野の当業者は、パーキンソン病と診察された人が、身体的症状に加えてMCIを有し得るという認識を高めている。最近の研究は、パーキンソン病に罹患した人の2

50

0～30%がMCIを有し、MCIが非健忘性となる傾向があることを示す。MCIを有するパーキンソン病患者は、場合により、完全に発達した認知症（認知症を伴うパーキンソン病）に進む。

【0208】

星状細胞の形態学的解析、アセチルコリンの放出、神経変性を評価するための銀染色、及びβアミロイド沈着物を検出するためのPiB PETイメージングを含む、MCIに関連する神経病理学的欠陥を検出、モニタリング、定量又は評価するための方法は、当該技術分野において公知である（例えば、米国特許出願公開第2012/0071468号明細書；Pepeu、（2004）、上記を参照）。八方向放射状迷路パラダイム、非見本合わせ課題、水迷路における他者中心性位置決定課題（allocentric place determination task in a water maze）、モリス迷路試験、視空間課題、遅延応答空間記憶課題、及び嗅覚新規検査を含む、MCIに関連する行動的欠陥を検出、モニタリング、定量又は評価するための方法も、当該技術分野において公知である。

【0209】

運動ニューロンの機能不全（MND）は、発話、歩行、呼吸及び嚥下などの不可欠な随意筋活動を制御する細胞である、運動ニューロンを破壊する進行性の神経障害の群である。それは、変性が上位運動ニューロン、下位運動ニューロン、又はその両方に影響を与えるかによって分類される。MNDの例としては、限定はされないが、ルー・ゲーリック病としても知られている筋萎縮性側索硬化症（ALS）、進行性球麻痺、偽球麻痺、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、下位運動ニューロン疾患、及び脊髄性筋萎縮症（SMA）（例えば、ウェルドニッヒ・ホフマン病とも呼ばれるSMA1、クーゲルバーグ・ヴェランダー病、及びケネディ病とも呼ばれるSMA2、SMA3）、ポリオ後症候群、及び遺伝性の痙性対麻痺が挙げられる。成人において、最も一般的なMNDは、筋萎縮性側索硬化症（ALS）であり、これは、上位及び下位運動ニューロンの両方に影響を与える。それは、腕、脚、又は顔の筋肉に影響を及ぼし得る。原発性側索硬化症が、上位運動ニューロンの疾患である一方、進行性筋萎縮症は、脊髄における下位運動ニューロンにのみ影響を及ぼす。進行性球麻痺では、脳幹の最も下位の運動ニューロンが最も影響を受け、不明瞭な発語並びに咀嚼及び嚥下困難を引き起こす。腕及び脚にほぼ常に軽度に変異な徴候がある。MNDを有する患者は、パーキンソン病の表現型を示す（例えば、振戦、硬直、運動緩徐、及び／又は姿勢の不安定を有する）。MNDなどの、パーキンソン病に関連する自発運動障害及び／又は他の欠陥を検出、モニタリング又は定量するための方法は、当該技術分野において公知である（例えば、米国特許出願公開第2012/0005765号明細書を参照）。

【0210】

病理組織学的、生化学的、及び電気生理学的な検査及び運動活性分析を含む、MNDに関連する運動障害及び病理組織学的欠陥を検出、モニタリング、定量又は評価するための方法は、当該技術分野において公知である（例えば、Rich et al., J. Neurophysiol. 88 (2002) 3293-3304; Appel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991) 647-651を参照）。病理組織学的に、MNDは、運動ニューロンの死、SOD1及びユビキチンを含有する界面活性剤耐性凝集体の漸進的な蓄積及び変性運動ニューロンにおける異常な神経フィラメントの蓄積によって特徴付けられる。さらに、反応性アストログリア及びミクログリアは、病変組織において検出されることが多い。MNDを有する患者は、筋力低下及び消耗、制御できない単収縮、痙縮、緩慢で努力を要する動作、及び過活動腱反射を含む1つ以上の運動障害を示す。

【0211】

眼疾患及び障害

特定の実施形態において、老化関連の疾患又は障害は、眼の疾患、障害、又は病態、例えば、老眼、黄斑変性症、又は白内障である。他の特定の実施形態において、老化関連の

10

20

30

40

50

疾患又は障害は、緑内障である。黄斑変性症は、黄斑と呼ばれる網膜の中央部位における光受容細胞の喪失を引き起こす神経変性疾患である。黄斑変性症は、一般に、2つのタイプ：乾性又は湿性に分類される。乾性形態は、湿性よりも一般的であり、加齢性黄斑変性症（ARMD又はAMD）患者の約90%が、乾性形態と診断されている。この疾患の湿性形態は、通常、より深刻な視力低下につながる。加齢性黄斑変性症の正確な原因はまだ不明であるが、老化網膜色素上皮（RPE）細胞の数は、加齢とともに増加する。加齢及び特定の遺伝的要因及び環境要因は、ARMDを発症する危険因子である（例えば、Lyengar et al., Am. J. Hum. Genet. 74 (2004) 20-39; Kenealy et al., Mol. Vis. 10 (2004) 57-61; Gorin et al., Mol. Vis. 5 (1999) 29を参照）。環境素因としては、オメガ-3脂肪酸摂取（例えば、Christen et al., Arch. Ophthalmol. 129 (2011) 921-929を参照）；エストロゲン曝露（例えば、Feshanich et al., Arch. Ophthalmol. 126 (4) (2008) 519-524を参照）；及びビタミンDの血中濃度の増加（例えば、Millen, et al., Arch. Ophthalmol. 129 (4) (2011) 481-89を参照）が挙げられる。遺伝素因となる危険因子としては、乾性AMDを有する患者の眼における減少したレベルのDicer 1（マイクロRNAの成熟に関与する酵素）が挙げられ、マイクロRNAの減少は、老化細胞プロファイルに寄与する。

【0212】

乾性ARMDは、RPE層の萎縮に関連し、これは、光受容細胞の喪失を引き起こす。乾性形態のARMDは、黄斑組織の老化及び薄化並びに黄斑における色素の沈着に起因し得る。老化は、RPEの複製及び移動の両方を阻害するように見え、乾性AMD患者の黄斑における恒久的なRPE不足をもたらす（例えば、Iriyama et al., J. Biol. Chem. 283 (2008) 11947-11953を参照）。湿性ARMDでは、新しい血管は、網膜の下で成長し、血液及び体液が漏出する。この異常な漏出性の脈絡膜血管新生は、網膜細胞を死滅させ、中心視野に盲点を生じる。異なる形態の黄斑変性症も、より若い患者において起こり得る。加齢に関連しない病因は、遺伝、糖尿病、栄養不足、頭部外傷、感染症、又は他の因子に関連付けられ得る。

【0213】

定期眼科検診中に患者又は眼科医によって気付かれる視力の低下は、黄斑変性症の最初の指標であり得る。黄斑のブルック膜の下での滲出物、又は「ドルーゼン」の形成は、黄斑変性症が発症し得る最初の身体的徴候であることが多い。症状は、知覚される直線の歪みを含み、ある場合には、視野の中心が残りの光景よりも歪んで見え；暗くぼやけた領域若しくは「ホワイタアウト」が視野の中心に見え；及び／又は色の知覚が変化するが若しくは減退する。黄斑変性症に罹患した対象の診断及びモニタリングは、当該技術分野で承認された定期眼科検診の手順及び対象による症状の報告にしたがって、眼科の技術分野の当業者によって行われ得る。

【0214】

老眼は、正常な眼の調節の速度及び調節幅が加齢とともに低下するため、目が近くの物体に焦点を合わせる能力が徐々に減退する、加齢関連の状態である。水晶体の弾性の喪失及び毛様筋の収縮性の喪失が、その原因として仮定されている（例えば、Heyes et al., Mol. Vis. 10 (2004) 956-963; Petrash, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 54 (2013) ORSF54-ORSF59を参照）。水晶体前囊及び水晶体後囊の機械的特性の加齢関連の変化は、水晶体後囊の機械的強度が、加齢とともに著しく低下することを示唆している（例えば、Krag et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 44 (2003) 691-696; Krag et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 38 (1997) 357-363を参照）。

【0215】

眼の囊の積層構造も変化し、組織の組成の変化に少なくとも部分的に起因し得る（例え

ば、Krag et al., 1997、上記、及びそこで引用される参考文献を参照)。水晶体嚢の主な構成成分は、三次元分子ネットワークへと組織化された基底膜IV型コラーゲンである(例えば、Cumming et al., Connect. Tissue Res. 55 (2014) 8-12; Veis et al., Coll. Relat. Res. 1 (1981) 269-286を参照)。IV型コラーゲンは、 $\alpha 1(1)$ 、 $\alpha 3(4)$ 、又は $\alpha 5(5)$ の特定の鎖の組合せをそれぞれ含むヘテロ三量体コラーゲンIVプロトマーへと会合する6つの相同な鎖($\alpha 1 \sim 6$)から構成される(例えば、Khoshnoodi et al., Microsc. Res. Tech. 71 (2008) 357-370を参照)。プロトマーは、非コラーゲン性1(NC1)ドメインと呼ばれる球状のC末端領域で終端する、Gly-X-Yのトリプレットペプチド配列と三重螺旋コラーゲンドメインの構造的類似性を共有する(Timpl et al., Eur. J. Biochem. 95 (1979) 255-263)。N末端は、7Sドメインと呼ばれる螺旋ドメインから構成され(例えば、Risteli et al., Eur. J. Biochem. 108 (1980) 239-250を参照)、これは、プロトマー間の相互作用にも関与している。

【0216】

コラーゲンIVが、上皮層の下の基底膜の位置決めから推論される細胞機能に影響を与えることを、研究は示唆しており、データは、組織安定化におけるコラーゲンIVの役割を裏付けている(例えば、Cumming et al., 上記を参照)。後嚢混濁(PCO)は、白内障手術後数年間に患者の約20~40%において合併症として発症する(例えば、Awasthi et al., Arch. Ophthalmol. 127 (2009) 555-562を参照)。PCOは、創傷治癒に類似した反応における後嚢に沿った残りの水晶体上皮細胞の増殖及び活性に起因する。線維芽細胞成長因子、形質転換成長因子- β 、上皮成長因子、肝細胞増殖因子、インスリン様成長因子、及びインターロイキンIL-1及びIL-6などの成長因子はまた、上皮細胞移動を促進し得る(例えば、Awasthi et al., 上記; Raj et al., 上記を参照)。本明細書に説明されるように、老化細胞によるこれらの因子及びサイトカインの産生は、SASPに寄与する。対照的に、インビトロの研究は、コラーゲンIVが、水晶体上皮細胞の付着を促進することを示す(例えば、Olivero et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 34 (1993) 2825-2834を参照)。眼内レンズへのコラーゲンIV、フィブロネクチン、及びラミニンの付着は、細胞移動を阻害し、PCOのリスクを低下させ得る(例えば、Raj et al., Int. J. Biomed. Sci. 3 (2007) 237-250を参照)。

【0217】

何らかの特定の理論に拘束されるのを望むものではないが、本明細書に記載される老化細胞除去剤によって老化細胞を選択的に死滅させることは、IV型コラーゲン網の分裂を遅くするか又は妨げ得る(遅延する、阻害する、遅らせる)。老化細胞の除去及びそれによるSASPの炎症効果の除去は、上皮細胞移動を減少させるか又は阻害し得、さらに老眼の発症を遅らせる(抑制する)又は病態の進行性の重症度を低下させるか若しくは遅くし得る(軽度から中程度又は中程度から重度の進行を遅くするなど)。本明細書に記載される老化細胞除去剤はまた、PCOの発症の可能性を低下させるための白内障手術後に有用であり得る。

【0218】

白内障の発症との、細胞老化の関与の直接的な証拠は、臨床研究から得られていないが、BubR1の低形質マウスは、生涯の早期に両側的に後嚢下白内障を発症し、これは、老化が役割を果たし得ることを示唆している(例えば、Baker et al., Nat. Cell Biol. 10 (2008) 825-836を参照)。白内障は、眼の水晶体の混濁であり、かすみ目を引き起こし、治療せずに放置すると、失明につながり得る。白内障を取り除くために、手術が有効であり、日常的に実施されている。本明細書に記載される老化細胞除去剤の1つ以上の投与は、白内障の発症の可能性を低下させ得るか、又

は白内障の進行を遅くするか若しくは阻害し得る。白内障の存在及び重症度は、眼科の技術分野の当業者によって日常的に実施される方法を用いて眼科検診によってモニタリングされ得る。

【0219】

特定の実施形態において、本明細書に記載される少なくとも1つの老化細胞除去剤は、老眼、白内障、又は黄斑変性症を発症するリスクのある対象に投与され得る。老化細胞除去剤による処置は、白内障、老眼、及び黄斑変性症の発症又は発生を遅らせるか又は阻害するために、ヒト対象が、少なくとも40歳であるときに開始され得る。ほぼ全てのヒトが老眼を発症するため、特定の実施形態において、老化細胞除去剤は、老眼の発症又は発生を遅らせるか又は阻害するために、対象が40歳に達した後に、ヒト対象に、本明細書

10

【0220】

特定の実施形態において、老化関連の疾患又は障害は、緑内障である。緑内障は、多くの場合、他の現行の症状なしで、視野欠損を引き起こす疾患の群を表すのに使用される広義語である。症状の欠如は、多くの場合、疾患の末期までの緑内障の診断の遅れにつながる。緑内障に罹患した対象は、たとえ失明しなくても、視覚が重度に損なわれることが多い。通常、透明な液体が、前房として知られている眼の前部に流出入する。開放隅角／広角緑内障有する個体では、この流体の排出が遅すぎ、眼内の圧力の上昇を引き起こす。治療せずに放置すると、この高い圧力は、その後、視神経を損傷し、完全な失明を引き起こし得る。周辺視力の喪失は、網膜における神経節細胞の死によって引き起こされる。神経節細胞は、眼を脳に連結する特定のタイプの投射ニューロンである。流体の流出に必要とされる細胞網が、SA- β -Gal染色に供されると、緑内障患者において老化の4倍増加が観察された（例えば、Litton et al., Exp. Gerontol. 40 (2005) 745-748を参照）。

20

【0221】

緑内障の進行の阻害に対する治療の効果をモニタリングするために、標準の自動視野計測（視野検査）が、最も広く使用されている技術である。さらに、進行検出のためのいくつかのアルゴリズムが開発された（例えば、Wesselink et al., Arch. Ophthalmol. 127 (3) (2009) 270-274、及びその中の参考文献を参照）。さらなる方法は、隅角鏡検査（流体が眼から流出する小柱網及び角を検査する）；イメージング技術、例えば、走査型レーザートモグラフィー（例えば、HRT3）、レーザ偏光測定（例えば、GDx）、及び眼のコヒーレンストモグラフィー；眼底検査；及び中心角膜の厚さを測定する厚度計測定を含む。

30

【0222】

代謝性疾患又は障害

老化細胞除去剤を投与することによって治療可能な老化関連の疾患又は障害としては、代謝性疾患又は障害が挙げられる。このような老化細胞に関連する疾患及び障害としては、糖尿病、メタボリック症候群、糖尿病性潰瘍、及び肥満が挙げられる。

【0223】

糖尿病は、インスリン産生、インスリン作用、又はその両方の欠陥に起因する高レベルの血糖によって特徴付けられる。成人における糖尿病の全ての診断された症例の大多数（90～95％）は、膵臓によるインスリン産生の漸進的な喪失によって特徴付けられる2型糖尿病である。糖尿病は、米国における成人の間で、腎不全、非外傷性の下肢切断、及び失明の新しい症例の主要原因である。糖尿病は、心臓病及び脳卒中の主な原因であり、米国における主要な死亡原因の第7位である（例えば、Centers for Disease Control and Prevention, National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and pre-diabetes in the United States, 2011 (“Diabetes fact sheet”)を参照）。本明細書に記載される老化細胞除去剤は、2型糖尿病、

40

50

特に、加齢、食事及び肥満に関連する2型糖尿病を治療するのに使用され得る。

【0224】

肥満及び2型糖尿病などの代謝性疾患への老化細胞の関与は、損傷又は代謝機能不全に対する反応として示唆されている（例えば、Tchkonina et al., Aging Cell 9 (2010) 667-684を参照）。肥満マウスからの脂肪組織は、老化マーカーSA- β -Gal、p53、及びp21の誘発を示した（例えば、Tchkonina et al., 上記; Minamino et al., Nat. Med. 15 (2009) 1082-1087を参照）。腫瘍壊死因子- α 及びCcl2/MCP1などの炎症性サイトカインの同時の上方制御が、同じ脂肪組織中で観察された（例えば、Minamino et al., 上記を参照）。炎症性SASP成分も2型糖尿病に寄与することが示唆されているため、肥満における老化細胞の誘発は、潜在的に臨床的意味を有する（例えば、Tchkonina et al., 上記を参照）。老化マーカー及びSASP成分の上方制御の同様のパターンが、マウス及びヒトの両方において、糖尿病に関連している（例えば、Minamino et al., 上記を参照）。したがって、老化細胞除去剤を投与する工程を含む本明細書に記載される方法は、2型糖尿病、並びに肥満及びメタボリック症候群の治療又は予防に有用であり得る。理論に拘束されるのを望むものではないが、老化前脂肪細胞が老化細胞除去剤と接触し、それによって、老化前脂肪細胞を死滅させることにより、糖尿病、肥満、又はメタボリック症候群のいずれか1つを有する人に臨床的及び健康的な利益を提供することができる。

【0225】

2型糖尿病に罹患している対象は、2型糖尿病の分野において公知の標準的な診断方法を用いて同定され得る。一般に、2型糖尿病の診断は、患者の症状（例えば、喉の渇きの増加及び頻尿、空腹感の増加、体重の減少、疲労、かすみ目、治癒が遅い痛み又は頻発する感染症、及び／又は黒ずんだ皮膚の領域）、病歴、及び／又は身体検査に基づく。2型糖尿病を発症するリスクのある対象としては、2型糖尿病の家族歴を有する対象並びに過剰な体重、脂肪分布、運動不足、人種、年齢、前糖尿病、及び／又は妊娠性糖尿病などの他の危険因子を有する対象が挙げられる。

【0226】

老化細胞除去剤の有効性は、医療及び臨床の技術分野の当業者によって容易に判定され得る。本明細書に記載されるものなどの、身体検査、臨床症状の評価及びモニタリング、並びに分析試験及び方法の実施を含む、診断方法の1つ又は任意の組合せが、対象の健康状態をモニタリングするのに使用され得る。糖尿病の治療又は予防のために本明細書に記載される1つ以上の老化細胞除去剤を受ける対象は、例えば、グルコース及びインスリンの耐性、エネルギー消費、身体組成、脂肪組織、骨格筋、及び肝臓の炎症、及び／又は脂肪毒性（インビボでのイメージングによる筋肉及び肝臓の脂質並びに組織構造による筋肉、肝臓、骨髄、及び膵臓の β 細胞脂質の蓄積及び炎症）をアッセイすることによってモニタリングされ得る。2型糖尿病の他の特性又は表現型が公知であり、本明細書に記載されるように、当該技術分野において公知であり、日常的に実施される他の方法及び技術を使用することによってアッセイされ得る。

【0227】

肥満及び肥満関連疾患は、身長及び体格に理想的なものよりも著しく体重が重い対象の状態を指すのに使用される。ボディ・マス・インデックス（BMI）は、過剰な体重を判定するために使用される測定ツールであり、対象の身長及び体重から計算される。ヒトは、25～29のBMIを有する場合、太り過ぎであると考えられ；30～39のBMIを有する場合、肥満であると考えられ、>40のBMIを有する場合、重度の肥満であると考えられる。したがって、肥満及び肥満関連という用語は、30を超える、35を超える、又は40を超えるボディ・マス・インデックス値を有するヒト対象を指す。BMIによって捉えられない肥満のカテゴリーは、当該技術分野において「腹部肥満」と呼ばれ、これは、対象の胴周りに見られる余分な脂肪に関連し、BMIとは無関係でも健康に重要な因子である。腹部肥満の最も簡単で及び最もよく使用される尺度は、ウエストサイズであ

る。一般に、女性の腹部肥満は、35インチ以上のウエストサイズとして定義され、男性では40インチ以上のウエストサイズとして定義される。肥満を判定するためのより複雑な方法は、磁気共鳴画像法又は二重エネルギーX線吸収測定法の機械などの特殊な装置を必要とする。

【0228】

糖尿病及び老化関連の病態又は障害は、糖尿病性潰瘍（すなわち、糖尿病の創傷）である。潰瘍は、皮膚の破壊であり、これは、皮下組織又は筋肉若しくは骨までを含むように広がり得る。これらの病変は、特に、下肢に生じる。糖尿病性静脈潰瘍を有する患者は、慢性創傷の部位で、細胞老化の存在の増加を示す（例えば、Stanley et al., J. Vasc. Surg. 33 (2001) 1206-1211を参照）。糖尿病性潰瘍などの慢性炎症も、慢性創傷の部位で観察され（例えば、Goren et al., Am. J. Pathol. 168 (2006) 65-77を参照）、これは、老化細胞の炎症性サイトカインの表現型が、病理における役割を果たすことを示唆している。

【0229】

2型糖尿病に罹患しているか又は2型糖尿病を発症するリスクのある対象は、メタボリック症候群を有し得る。ヒトにおけるメタボリック症候群は、典型的に、肥満に関連し、心血管疾患、肝臓脂肪症、高脂血、糖尿病、及びインスリン抵抗性の1つ以上によって特徴付けられる。メタボリック症候群を有する対象は、例えば、高血圧症、2型糖尿病、高脂血、脂質異常症（例えば、高トリグリセリド血症、高コレステロール血）、インスリン抵抗性、肝臓脂肪症（脂肪性肝炎）、高血圧症、アテローム性動脈硬化症、及び他の代謝障害の1つ以上を含み得る、代謝障害又は代謝異常の群を示し得る。

【0230】

腎機能障害

糸球体疾患などの腎臓の病態は、高齢者に起こり、本明細書に記載される老化細胞除去化合物の投与によって治療され得る。糸球体腎炎は、腎臓の炎症並びに2つのタンパク質、IL1 α 及びIL1 β の発現によって特徴付けられる（例えば、Niemi et al., Kidney Int. 52 (1997) 393-403を参照）。IL1 α 及びIL1 β は、SASPの主要制御因子と考えられる（例えば、Coppe et al., PLoS Biol. 6 (2008) 2853-2868を参照）。糸球体疾患は、特に線維性の腎臓における老化細胞の存在の増加に関連している（例えば、Sis et al., Kidney Int. 71 (2007) 218-226を参照）。

【0231】

皮膚疾患又は障害

本明細書に記載される老化細胞除去剤を投与することによって治療可能な老化関連の疾患又は障害としては、皮膚疾患又は障害が挙げられる。このような老化細胞に関連する疾患及び障害としては、乾癬及び湿疹が挙げられ、これらも炎症性疾患であり、より詳細に上で説明されている。老化関連の他の皮膚疾患及び障害としては、しわ（老化によるしわ）；掻痒症（糖尿病及び老化に関連している）；感覚異常（糖尿病及び多発性硬化症に関連する化学療法副作用）；乾癬（示されるような）及び他の丘疹鱗屑性障害、例えば、紅皮症、扁平苔癬、及び苔癬様皮膚疾患；アトピー性皮膚炎（湿疹の形態であり、炎症に関連している）；湿疹性発疹（多くの場合、高齢患者に観察され、特定の薬剤の副作用に関連している）が挙げられる。老化関連の他の皮膚疾患及び障害としては、好酸球性皮膚疾患（特定の種類の血液癌に関連している）；反応性の好中球性皮膚症（炎症性腸症候群などの基礎疾患に関連している）；天疱瘡（自己抗体がデスモグレインに対して形成する自己免疫疾患）；類天疱瘡及び他の免疫水疱性皮膚疾患（皮膚の自己免疫性水疱形成）；老化関連の皮膚の線維性組織球増殖；及び高齢の個体群においてより一般的な皮膚リンパ腫が挙げられる。本明細書に記載される方法にしたがって治療可能な別の皮膚疾患としては、ループスエリテマトーデスの症状である皮膚ループスが挙げられる。遅発性のループスは、T細胞及びB細胞の減少した（すなわち、低下した）機能及び老化に関連するサイトカイン（免疫老化）に関連付けられ得る。

【0232】

炎症性及び自己免疫疾患及び障害

特定の実施形態において、老化関連の疾患又は障害は、限定しない例として、老化細胞除去剤の投与を含む本明細書に記載される方法にしたがって治療又は予防され得る（すなわち、発症の可能性が低下される）変形性関節症などの炎症性疾患又は障害である。本明細書に記載される阻害剤及びアンタゴニストなどの老化細胞除去剤を投与することによって治療され得る他の炎症性又は自己免疫疾患又は障害としては、骨粗鬆症、乾癬、口腔粘膜炎症、関節リウマチ、炎症性腸疾患、湿疹、後彎症、椎間板ヘルニア、及び肺疾患、COPD及び特発性肺線維症が挙げられる。

【0233】

骨関節炎の変形性関節疾患は、高い機械的ストレス、骨硬化症、並びに滑膜及び関節嚢の厚化の部位における軟骨細線維化によって特徴付けられる。細線維化は、軟骨の表層の分割に伴う局所表面の崩壊である。初期の分割は、主要なコラーゲン束の軸に沿って軟骨と接する方向に起こる。軟骨内のコラーゲンは、崩壊し、プロテオグリカンが軟骨表面から失われる。関節中のプロテオグリカンの保護効果及び潤滑効果がないと、コラーゲン繊維は、分解しやすくなり、機械的破壊が続発する。変形性関節症を発症する素因となる危険因子としては、加齢、肥満、以前の関節損傷、関節の酷使、弱い大腿筋、及び遺伝的性質が挙げられる。変形性関節症の症状としては、不活発又は酷使後の、関節、特に股関節、膝、及び腰の痛み又は凝り；動作後にはなくなる静止後の凝り；及び活動後又は一日の終わりに向かって悪化する疼痛が挙げられる。変形性関節症は、頸部、小指関節、親指の付け根、足首、及び足の親指にも影響を及ぼし得る。慢性炎症は、変形性関節症に寄与する主な加齢関連の因子であると考えられる。老化と組み合わせると、関節の酷使及び肥満は、変形性関節症を促進するようである。

【0234】

老化細胞を選択的に死滅させることによって、老化細胞除去剤は、関節におけるプロテオグリカン層の損失又は侵食を予防する（すなわち、発症の可能性を低下させる）、減少させるか又は阻害し、患部の関節における炎症を軽減し、コラーゲン（例えば、ⅠⅠ型コラーゲン）の産生を促進する（すなわち、刺激する、増強する、誘発する）。老化細胞の除去は、関節において産生されるⅠⅠ-6などの炎症性サイトカインの量（すなわち、レベル）の減少を引き起こし、炎症が軽減される。少なくとも1つの老化細胞除去剤（少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤と組み合わせられて、医薬組成物を形成し得る）を対象に投与することによって、変形性関節症を治療するため、対象の骨関節炎関節において老化細胞を選択的に死滅させ、及び／又は対象の関節においてコラーゲン（ⅠⅠ型コラーゲンなど）産生を誘発するための方法が、本明細書において提供される。老化細胞除去剤はまた、関節においてコラーゲンを分解するメタロプロテイナーゼ13（MMP-13）の産生を減少させる（阻害する、軽減する）ため、及びプロテオグリカン層を回復するか又はプロテオグリカン層の喪失及び／又は分解を阻害するために使用されてもよい。老化細胞除去剤による処置はまた、それによって、骨の侵食を予防し（すなわち、その発症の可能性を低下させる）、阻害し、若しくは軽減し、又は骨の侵食を遅らせる（すなわち、速度を低下させる）。本明細書に詳細に記載されるように、特定の実施形態において、老化細胞除去剤は、（例えば、関節内、局所、経皮、皮内、又は皮下の送達によって）骨関節炎関節に直接投与される。老化細胞除去剤による処置はまた、関節の強度の劣化を回復、改善、又は阻害することができる。さらに、老化細胞除去剤を投与する工程を含む方法は、関節痛を軽減することができ、したがって、骨関節炎関節の疼痛処理に有用である。

【0235】

対象における変形性関節症の治療又は予防のための1つ以上の老化細胞除去剤の有効性及び1つ以上の老化細胞除去剤を受ける対象のモニタリングは、医療及び臨床の技術分野の当業者によって容易に判定され得る。身体検査（患部の関節の柔軟性、腫脹又は赤みの測定など）、臨床症状の評価及びモニタリング（疼痛、凝り、可動性など）、並びに本明細書に記載され、当該技術分野で実施される分析試験及び方法の実施（例えば、炎症性サ

イトカイン又はケモカインのレベルの測定；関節における骨間の空間の狭化によって示されるような軟骨の喪失を測定するためのX線画像；軟骨を含む、骨及び軟部組織の詳細な画像を提供する磁気共鳴画像法（MRI）を含む、診断方法の1つ又は任意の組合せが、対象の健康状態をモニタリングするのに使用され得る。1つ以上の老化細胞除去剤の治療の効果は、治療を受けた、変形性関節症などの炎症性疾患又は障害に罹患しているか又はそのリスクのある患者の症状を、このような治療を受けなかったか又はプラセボ治療を受けた患者の症状と比較することによって分析され得る。

【0236】

特定の実施形態において、老化細胞除去剤は、関節リウマチ（RA）を治療及び／又は予防する（すなわち、その発症の可能性を減少又は低下させる）ために使用され得る。自然及び適応免疫応答の調節不全は、関節リウマチ（RA）の特徴であり、これは、発症率が加齢とともに増加する自己免疫疾患である。関節リウマチは、手及び足の小関節に典型的に影響を及ぼす慢性炎症性疾患である。変形性関節症が、少なくとも部分的に、関節の磨耗及び裂傷に起因し得る一方、関節リウマチは、関節の内面に影響を及ぼし、骨侵食及び関節変形を引き起こし得る疼痛性の腫脹をもたらす。RAは、場合により、皮膚、眼、肺及び血管などの身体の他の器官にも影響を及ぼし得る。RAは、あらゆる年齢の対象に生じ得るが；RAは、通常、40歳以降に発症する。この障害は、女性においてははるかに多く見られる。本明細書に記載される方法の特定の実施形態において、RAは除外される。

【0237】

慢性炎症はまた、後彎症及び骨粗鬆症などの、他の加齢関連又は老化関連の疾患及び障害に寄与し得る。後彎症は、脊柱の重度の湾曲であり、正常老化及び早期老化でよく見られる（例えば、Katzman et al., J. Orthop. Sports Phys. Ther. 40 (2010) 352-360を参照）。加齢関連の後彎症は、骨粗鬆症が脊椎骨を亀裂及び圧迫が起きるまで減弱させた後に起こることが多い。いくつかのタイプの後彎症は、幼児又は十代の若者が対象になる。重度の後彎症は、肺、神経、並びに他の組織及び器官に影響を及ぼし得、疼痛及び他の問題を引き起こす。後彎症は、細胞老化に関連している。後彎症を治療するための老化細胞除去剤の能力の特性決定は、当該技術分野において使用される前臨床動物モデルにおいて決定され得る。例として、TTDMマウスは、後彎症を発症し（例えば、de Boer et al., Science 296 (2002) 1276-1279を参照）；使用され得る他のマウスは、BubR1^H/Hマウスを含み、これも後彎症を発症することが知られている（例えば、Baker et al., Nature 479 (2011) 232-236を参照）。後彎症の形成は、経時的に視覚的に測定される。老化細胞除去剤による治療によって減少される老化細胞のレベルは、SA- β -Gal染色などの1つ以上の老化細胞関連マーカーの存在を検出することによって決定され得る。

【0238】

骨粗鬆症は、本明細書に記載される老化細胞除去剤の投与によって治療又は予防され得る、骨折のリスクの増加につながり得る骨量及び骨密度の減少によって特徴付けられる進行性の骨疾患である。骨ミネラル濃度（BMD）は低下され、骨微細構造は劣化し、骨におけるタンパク質の量及び種類は変更される。骨粗鬆症は、典型的に、骨ミネラル濃度試験によって診断され、モニタリングされる。閉経後の女性又はエストロゲンが減少した女性に最もリスクがある。75歳を超える男性及び女性の両方にリスクがあるが、女性は男性の2倍骨粗鬆症を発症しやすい。老化細胞除去剤による治療によって減少される老化細胞のレベルは、SA- β -Gal染色などの1つ以上の老化細胞関連マーカーの存在を検出することによって決定され得る。

【0239】

さらに他の実施形態において、本明細書に記載される老化細胞除去剤で治療又は予防され得る（すなわち、発症の可能性が低下される）炎症性／自己免疫疾患としては、潰瘍性大腸炎及びクローン病などの、過敏性腸症候群（IBS）及び炎症性腸疾患が挙げられる。炎症性腸疾患（IBD）は、消化管の全て又は一部の慢性炎症を伴う。IBDから生じ

10

20

30

40

50

る命にかかわる合併症に加えて、この疾患は、痛みを伴い、衰弱させ得る。潰瘍性大腸炎は、消化管の一部に長期にわたる炎症を引き起こす炎症性腸疾患である。症状は、通常、急にではなくむしろ、時間をかけて進行する。潰瘍性大腸炎は、通常、大腸（結腸）及び直腸の最も内側のみに影響を及ぼす。クローン病は、消化管の膜に沿った部位のどこにでも炎症を引き起こし、多くの場合、患部の組織へと深く伸長する、炎症性腸疾患である。これは、腹痛、重度の下痢及び栄養失調につながり得る。クローン病によって引き起こされる炎症は、消化管の様々な領域を包含し得る。この疾患の診断及びモニタリングは、血液検査、結腸内視鏡検査、軟性S状結腸鏡検査、バリウムかん腸剤、CTスキャン、MRI、内視鏡検査、及び小腸画像診断を含む、当該技術分野で日常的に実施される方法及び診断試験にしたがって行われる。

10

【0240】

老化細胞除去剤を使用することによって治療又は予防され得る（すなわち、発症の可能性が低下される）他の炎症性又は自己免疫疾患としては、湿疹、乾癬、骨粗鬆症、及び肺疾患（例えば、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、特発性肺線維症（IPF）、喘息）、炎症性腸疾患、及び粘膜炎（ある場合には、放射線によって引き起こされる口腔粘膜炎を含む）が挙げられる。腎線維症、肝線維症、脾臓線維症、心筋繊維化、皮膚創傷治癒、及び口腔粘膜下線維症などの、器官の特定の線維症又は線維性疾患は、本明細書に記載される老化細胞除去剤で治療され得る。

【0241】

特定の実施形態において、老化細胞に関連する障害は、非限定的な例として、老化細胞除去剤の投与を含む本明細書に記載される方法にしたがって治療又は予防され得る（すなわち、発症の可能性が低下される）乾癬及び湿疹などの、皮膚の炎症性疾患である。乾癬は、皮膚の表皮層の異常に過剰な及び急速な成長によって特徴付けられる。乾癬の診断は、通常、皮膚の外観に基づいている。乾癬に典型的な皮膚の特徴は、疼痛及びかゆみを伴い得る、鱗状の赤色のプラーク、丘疹、皮膚の斑点である。乾癬では、SASPの主要な成分であるIL-6などの様々な炎症性サイトカインの皮膚及び全身性の過剰発現が観察される。湿疹は、赤み、皮膚の腫れ、かゆみ及び乾燥、痂皮化、はがれ、水ぶくれ、ひび割れ、滲出、又は出血によって特徴付けられる皮膚の炎症である。乾癬及び湿疹の治療のための老化細胞除去剤の有効性及びこのような老化細胞除去剤を受ける対象のモニタリングは、医療又は臨床の技術分野の当業者によって容易に判定され得る。身体検査（皮膚の外観など）、臨床症状（かゆみ、腫れ、及び疼痛など）のモニタリングの評価、並びに本明細書に記載され、当該技術分野で実施される分析試験及び方法の実施（すなわち、炎症性サイトカインのレベルの決定）を含む、診断方法の1つ又は任意の組合せ。本明細書に記載される老化細胞除去剤で治療又は予防され得る（すなわち、発症の可能性が低下される）他の免疫障害又は疾患は、移植臓器の拒絶反応などの、臓器移植（例えば、腎臓、骨髄、肝臓、肺、又は心臓の移植）に対する宿主免疫応答に起因する病態を含む。本明細書に記載される老化細胞除去剤はまた、移植片対宿主病を治療するか又はその発症の可能性を低下させるために使用され得る。

20

30

【0242】

心血管疾患及び障害

他の実施形態において、本明細書に記載される方法によって治療される老化関連の疾患又は障害は、心血管疾患である。心血管疾患は、狭心症、不整脈、アテローム性動脈硬化症、心筋症、鬱血性心不全、冠動脈疾患（CAD）、頸動脈疾患、心内膜炎、心臓発作（冠動脈血栓症、心筋梗塞[MI]）、高血圧／高血圧症、大動脈瘤、脳動脈瘤、心筋繊維化、心臓の拡張機能障害、高コレステロール血／高脂血、僧帽弁逸脱、末梢血管疾患（例えば、末梢動脈疾患（PAD））、心臓のストレス耐性及び脳卒中のいずれか1つ以上であり得る。

40

【0243】

特定の実施形態において、動脈硬化（すなわち、動脈の硬化）に関連するか又はそれによって引き起こされる老化関連の心血管疾患を治療するための方法が提供される。心血管

50

疾患は、アテローム性動脈硬化症（例えば、冠動脈疾患（C A D）及び頸動脈疾患）；狭心症、鬱血性心不全、及び末梢血管疾患（例えば、末梢動脈疾患（P A D））のいずれか1つ以上であり得る。動脈硬化に関連するか又はそれによって引き起こされる心血管疾患を治療するための方法は、高血圧／高血圧症、狭心症、脳卒中、及び心臓発作（すなわち、冠動脈血栓症、心筋梗塞（M I））の発症の可能性を低下させ得る。特定の実施形態において、対象の血管（例えば、動脈）中のアテローム性動脈硬化プラークを安定させ、それによって、脳卒中又は心筋梗塞などの血栓事象の発症の可能性を低下させるか又はその発症を遅らせるための方法が提供される。特定の実施形態において、老化細胞除去剤の投与を含むこれらの方法は、対象の血管（例えば、動脈）中のアテローム性動脈硬化プラークの脂質含有量を減少させ（すなわち、その減少を引き起こす）、及び／又は線維性被膜厚さを増大させる（すなわち、線維性被膜の増大を引き起こす、その厚化を増強又は促進する）。

【0244】

アテローム性動脈硬化症は、中型及び大型の動脈の内腔を侵す斑状の内膜のプラーク（アテローム）によって特徴付けられ；プラークは、脂質、炎症細胞、平滑筋細胞、及び結合組織を含有する。アテローム性動脈硬化症は、冠動脈、頸動脈、及び大脳動脈、大動脈及びその分枝、並びに肢の主な動脈を含む、中型及び大型の動脈に影響を及ぼし得る。ある実施形態において、老化細胞除去剤を投与することによって、アテローム性動脈硬化プラークの形成を阻害する（又はアテローム性動脈硬化プラークの形成を減少させる、低減する、減少を引き起こす）ための方法が提供される。他の実施形態において、プラークの量（すなわち、レベル）を減少させる（低下させる、低減する）ための方法が提供される。血管（例えば、動脈）中のプラークの量の減少は、例えば、プラークの表面積の減少によって、又は血管造影法又は心臓血管の分野で使用される他の可視化方法によって決定され得る、血管（例えば、動脈）の閉塞の範囲又は程度（例えば、パーセント）の減少によって、決定され得る。対象の1つ以上の血管（例えば、1つ以上の動脈）中に存在するアテローム性動脈硬化プラークの安定性を増加させる（又は安定性を改善する、促進する、増強する）ための方法も、本明細書において提供され、この方法は、本明細書に記載される老化細胞除去剤のいずれか1つを対象に投与する工程を含む。

【0245】

心血管疾患に罹患している対象は、心血管疾患の分野において公知の標準的な診断方法を用いて同定され得る。一般に、アテローム性動脈硬化症及び他の心血管疾患の診断は、患者の症状（例えば、胸痛又は胸部圧迫感（狭心症）、腕又は脚の麻痺又は脱力、発話困難又は不明瞭発語、顔の垂下筋肉、下肢痛、高血圧、腎不全及び／又は勃起障害）、病歴、及び／又は身体検査に基づく。診断は、血管造影法、超音波検査法、又は他の画像検査によって確認され得る。心血管疾患を発症するリスクのある対象としては、心血管疾患の家族歴などの素因のいずれか1つ以上を有する対象、並びに高血圧、脂質異常症、高コレステロール、糖尿病、肥満及び喫煙、座りがちな生活様式、及び高血圧症などの他の危険因子（すなわち、素因）を有する対象が挙げられる。特定の実施形態において、老化細胞に関連する疾患／障害である心血管疾患は、アテローム性動脈硬化症である。

【0246】

心血管疾患（例えば、アテローム性動脈硬化症）を治療又は予防する（すなわち、その発生又は発症の可能性を低下又は減少させる）ための1つ以上の老化細胞除去剤の有効性は、医療及び臨床の技術分野の当業者によって容易に判定され得る。身体検査、臨床症状の評価及びモニタリング、並びに本明細書に記載され、当該技術分野で実施される分析試験及び方法の実施（例えば、血管造影法、心電図検査法、ストレステスト、非ストレステスト）を含む、診断方法の1つ又は任意の組合せが、対象の健康状態をモニタリングするのに使用され得る。老化細胞除去剤又はそれを含む医薬組成物の治療の効果は、治療を受けた、心血管疾患に罹患しているか又はそのリスクのある患者の症状を、このような治療を受けなかったか又はプラセボ治療を受けた患者の症状と比較することなどの、当該技術分野において公知の技術を用いて分析され得る。

【0247】

併用療法

本明細書に開示される老化細胞除去剤及び組成物はまた、1つ以上の他の有効成分と組み合わせ使用され得る。特定の実施形態において、化合物は、別の治療剤と組み合わせ、又はそれと連続して投与され得る。このような他の治療剤としては、本明細書に記載される1つ以上の症状又は障害を治療、予防、又は改善することが知られているものが挙げられる。

【0248】

例えば、老化細胞除去剤は、化学療法剤の投与と組み合わせ、又はそれに続いて投与され得る。一実施形態において、腫瘍が、腫瘍細胞中の老化の状態を誘発する化学療法剤で治療され、共投与される老化細胞除去剤が、老化腫瘍細胞を死滅させる。老化細胞除去化合物と組み合わせた、腫瘍の治療に有用な化学療法薬の例としては、ドキソルビンなどのトポイソメラーゼ阻害剤、パルボサイクリブなどのCDK4/6阻害剤及びオラパリブなどのPARP阻害剤が挙げられる（例えば、Fleury et al, Nature Communications, 10 (2019) 2556を参照）。

【0249】

本明細書において提供される化合物及び医薬組成物と、上記の治療剤及び任意に1つ以上のさらなる薬理的活性物質の1つ以上との任意の好適な組合せが、本開示の範囲内であると考えられることが理解されるべきである。ある実施形態において、本明細書において提供される化合物及び医薬組成物は、1つ以上のさらなる有効成分の前又は後に投与される。

【0250】

医薬組成物及び投与方法

本明細書に記載される老化細胞除去剤と、薬学的に好適な賦形剤又は担体（すなわち、有効成分の活性を妨げない非毒性材料）とも呼ばれる少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物も、本明細書において提供される。医薬組成物は、滅菌した水性又は非水性の水溶液、懸濁液又はエマルジョン（例えば、マイクロエマルジョン）であり得る。本明細書に記載される賦形剤は、例であり、決して限定するものではない。有効量又は治療有効量は、所望の治療効果を生じるのに有効である、単回投与又は一連の投与の一部として、対象に投与される1つ以上の老化細胞除去剤の量を指す。

【0251】

2つ以上の老化細胞除去剤が、本明細書に記載される疾患又は障害の治療のために対象に投与される場合、老化細胞除去剤のそれぞれは、別個の医薬組成物へと製剤化されてもよい。別個の医薬組成物（便宜上、例えば、第1及び第2の老化細胞除去剤のそれぞれを含む第1の医薬組成物及び第2の医薬組成物と呼ばれ得る）のそれぞれを含む医薬製剤が調製され得る。調製における医薬組成物のそれぞれは、同時に（すなわち、並行して）及び同じ投与経路を介して投与され得るか、又は同じか又は異なる投与経路によって異なる時間に投与され得る。或いは、2つ以上の老化細胞除去剤は、単一の医薬組成物中で一緒に製剤化され得る。

【0252】

対象に投与される老化細胞除去剤（又はその1つ以上の代謝産物）の薬物動態が、生体液、例えば、血液、血液分画（例えば、血清）、及び／又は尿、及び／又は対象からの他の生体サンプル若しくは生体組織における老化細胞除去剤のレベルを決定することによってモニタリングされ得る。薬剤を検出するために当該技術分野で実施され、本明細書に記載される任意の方法が、治療過程の間、老化細胞除去剤のレベルを測定するのに使用され得る。

【0253】

老化細胞に関連する疾患又は障害を治療するための本明細書に記載される老化細胞除去剤の用量は、対象の状態、すなわち、疾患の病期、疾患によって引き起こされる症状の重症度、全体的な健康状態、並びに年齢、性別、及び体重、並びに医療技術分野の当業者に

明白な他の因子に依存し得る。医薬組成物は、医療技術分野の当業者によって決定されるように、治療される疾患に適切な方法で投与され得る。本明細書に記載される、老化関連の疾患又は障害を治療するための老化細胞除去剤の使用に関連する因子に加えて、老化細胞除去剤の好適な期間及び投与の頻度はまた、患者の状態、患者の疾患のタイプ及び重症度、有効成分の特定の形態、及び投与の方法のような因子によって、決定又は調整され得る。薬剤の最適用量は、一般に、実験モデル及び／又は臨床試験を用いて決定され得る。最適用量は、対象の体格、体重、又は血液量に依存し得る。有効な治療を提供するのに十分な最小量の使用が通常好ましい。本明細書に記載される老化細胞除去剤（予防効果のために投与される場合を含む）のための前臨床及び臨床試験の設計及び実行は、関連技術の当業者の技術の十分範囲内にある。2つ以上の老化細胞除去剤が、老化関連の疾患又は障害を治療するために投与されるとき、各老化細胞除去剤の最適用量は、いずれかの薬剤が単回の薬剤治療として単独で投与されるときより少ないなど、異なり得る。特定の実施形態において、2つの老化細胞除去剤の併用は、相乗的又は相加的に作用し、いずれかの薬剤が、単独で投与される場合より少ない量で使用され得る。1日当たり投与され得る老化細胞除去剤の量は、例えば、約0.01mg/kg～100mg/kg（例えば、約0.1～1mg/kg、約1～10mg/kg、約10～50mg/kg、約50～100mg/kg体重であり得る。他の実施形態において、1日当たり投与され得る老化細胞除去剤の量は、約0.01mg/kg～1000mg/kg、約100～500mg/kg、又は約500～1000mg/kg体重である。最適用量（1日当たり又は治療の経過ごと）は、治療される老化関連の疾患又は障害によって異なり得、また、投与経路及び治療計画に応じて異なり得る。

【0254】

老化細胞除去剤を含む医薬組成物は、当該技術分野で日常的に実施される技術を使用することによって、送達方法に適切な方法で製剤化され得る。組成物は、固体（例えば、錠剤、カプセル）、半固体（例えば、ゲル）、液体、又は気体（エアロゾル）の形態であり得る。他のいくつかの特定の実施形態において、老化細胞除去剤（又はそれを含む医薬組成物）は、ボラス注入として投与される。特定の実施形態において、老化細胞除去剤が注入によって送達されるとき、老化細胞除去剤は、医療技術分野の当業者によって日常的に実施される技術にしたがって、血管を介して、死滅される老化細胞を含む器官又は組織に送達される。

【0255】

薬学的に許容される賦形剤は、薬学の技術分野において周知であり、例えば、Rowe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients: A Comprehensive Guide to Uses, Properties, and Safety, 5th Ed., 2006、及びRemington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro, 21st Ed. Mack Pub. Co., Easton, Pa. (2005))に記載されている。例示的な薬学的に許容される賦形剤は、生理学的なpHで滅菌生理食塩水及びリン酸緩衝生理食塩水を含む。保存剤、安定剤、染料、緩衝液などが、医薬組成物中に提供され得る。さらに、酸化防止剤及び懸濁化剤も使用され得る。一般に、賦形剤のタイプは、投与の方法、並びに有効成分の化学組成に基づいて選択される。或いは、本明細書に記載される組成物は、凍結乾燥物として製剤化され得る。本明細書に記載される組成物は、凍結乾燥され得るか、或いは投与後に組成物の薬剤を可溶化及び／又は希釈するために1つ以上の適切な賦形剤溶液を用いて、凍結乾燥した生成物として製剤化され得る。他の実施形態において、薬剤は、当該技術分野において公知であり、実施される技術を用いて、リポソーム内に封入され得る。医薬組成物は、本明細書及び当該技術分野で記載される投与の任意の適切な方法のために製剤化され得る。

【0256】

医薬組成物は、当業者に公知のいくつかの経路のいずれか1つによって、それを必要としている対象に送達され得る。限定しない例として、組成物は、経口、静脈内、腹腔内、

注入（例えば、ボーラス注入）、皮下、腸内、直腸、鼻腔内、吸入、口腔、舌下、筋肉内、経皮、皮内、局所、眼内、膣、直腸、若しくは頭蓋内の注入によって、又はそれらの任意の組合せで送達され得る。特定の実施形態において、上述されるような用量の投与は、静脈内、腹腔内を介するか、標的組織若しくは器官に直接であるか、又は皮下経路である。特定の実施形態において、送達方法は、老化細胞除去剤である薬物をコーティングした又は浸透させたステントを含む。このような送達方法に好適な製剤が、本明細書にさらに詳細に記載されている。

【0257】

特定の実施形態において、老化細胞除去剤（少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤と組み合わせられて、医薬組成物を形成し得る）は、疾患又は障害の発現に寄与する老化細胞を含む標的組織又は器官に直接投与される。変形性関節症を治療するときの特定の実施形態において、少なくとも1つの老化細胞除去剤は、それを必要としている対象の骨関節炎の関節（すなわち、関節内）に直接投与される。他の特定の実施形態において、老化細胞除去剤は、局所、経皮、皮内、又は皮下経路を介して関節に投与され得る。他の特定の実施形態において、動脈に直接投与することによって、アテローム性動脈硬化症などの、動脈硬化に関連する心血管疾患又は障害を治療するための方法が、本明細書において提供される。他の実施形態において、老化関連の肺疾患又は障害を治療するための老化細胞除去剤（少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤と組み合わせられて、医薬組成物を形成し得る）は、例えば、罹患した肺組織により直接的に老化細胞除去剤を提供するために、吸入、鼻腔内、挿管によって、又は気管内に投与され得る。別の限定しない例として、老化細胞除去剤（又は老化細胞除去剤を含む医薬組成物）は、注入（例えば、眼内若しくは硝子体内）又はクリーム、軟膏、ゲル、若しくは点眼剤の眼瞼の下結膜への適用によって眼に直接送達され得る。より特定の実施形態において、老化細胞除去剤又は老化細胞除去剤を含む医薬組成物は、持続放出（徐放性、制御放出とも呼ばれる）組成物として製剤化され得るか、又はボーラス注入として投与され得る。

【0258】

医薬組成物（例えば、経口投与のための又は注射、注入、皮下送達、筋肉内送達、腹腔内送達若しくは他の方法のための）は、液体の形態であり得る。液体医薬組成物は、例えば、以下の1つ以上を含み得る：滅菌希釈剤、例えば、水、生理食塩溶液、好ましくは、生理食塩水、リンゲル液、等張塩化ナトリウム、溶媒若しくは懸濁媒として働き得る固定油、ポリエチレングリコール、グリセロール、プロピレングリコール若しくは他の溶媒；抗菌剤；酸化防止剤；キレート剤；塩化ナトリウム又はデキストロースなどの、張度を調節するための緩衝液及び薬剤。非経口組成物は、ガラス又はプラスチックで作製された、アンプル、使い捨て注射器又は複数回投与用バイアルに封入され得る。生理食塩水の使用が好ましく、注射用の医薬組成物は好ましくは滅菌されている。他の実施形態において、眼の疾病又は疾患の治療のために、液体医薬組成物は、点眼剤の形態で眼に適用され得る。液体医薬組成物は、経口で送達され得る。

【0259】

経口製剤の場合、本明細書に記載される老化細胞除去剤の少なくとも1つが、単独で又は錠剤、粉末剤、顆粒剤若しくはカプセル剤を作製するのに適切な添加剤と、必要に応じて、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤、着色剤、及び着香剤と組み合わせて使用され得る。化合物は、胃環境の低いpHからの化合物の保護及び／又は腸溶コーティングを提供するために、緩衝剤とともに製剤化され得る。医薬組成物に含まれる老化細胞除去剤は、例えば、液体、固体若しくは半固体の製剤において香味剤とともに及び／又は腸溶コーティングとともに、経口送達のために製剤化され得る。

【0260】

本明細書に記載される老化細胞除去剤のいずれか1つを含む医薬組成物は、徐放性又は遅効性（持続放出又は制御放出とも呼ばれる）のために製剤化され得る。このような組成物は、一般に、周知の技術を用いて調製され得、例えば、経口、直腸、皮内、若しくは皮下への移植によって、又は所望の標的部位における移植によって投与され得る。徐放性製

10

20

30

40

50

剤は、担体マトリックス中に分散された及び／又は律速膜に囲まれたリザーバ内に含まれた化合物を含有し得る。このような製剤中で使用するための賦形剤は、生体適合性であり、生分解性でもあり得；好ましくは、製剤は、比較的一定のレベルの有効成分の放出を提供する。徐放性製剤内に含まれる活性薬剤の量は、移植の部位、放出の速度及び予測される期間、並びに治療又は予防される病態、疾患又は障害の性質に依存する。

【0261】

特定の実施形態において、老化細胞除去剤を含む医薬組成物は、経皮、皮内、又は局所投与のために製剤化される。組成物は、粉末／タルク又は他の固体、液体、スプレー、エアロゾル、軟膏、フォーム、クリーム、ゲル、ペーストとして、シリンジ、包帯、経皮貼布、インサート（insert）、又はシリンジ状の塗布用具を用いて投与され得る。これは、好ましくは、局所に投与された又は治療される領域に隣接する若しくは領域内の皮膚に直接注入された（皮内又は皮下に）制御放出製剤又は徐放性製剤の形態である。活性組成物はまた、イオン導入によって送達され得る。保存剤は、真菌及び他の微生物の増殖を防ぐために使用され得る。好適な保存剤としては、限定はされないが、安息香酸、ブチルパラベン、エチルパラベン、メチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ベンジルアルコール、塩化セチルピリジニウム、クロロブタノール、フェノール、フェニルエチルアルコール、チメロサル、及びそれらの組合せが挙げられる。

【0262】

老化細胞除去剤を含む医薬組成物は、局所適用のためのエマルジョンとして製剤化され得る。エマルジョンは、第2の液体の本体に分配された1つの液体を含有する。エマルジョンは、水中油型エマルジョン又は油中水型エマルジョンであり得る。油相及び水性相のいずれか又は両方は、1つ以上の界面活性剤、乳化剤、乳化安定剤、緩衝液、及び他の賦形剤を含有し得る。油相は、他の油性の薬学的に許容される賦形剤を含有し得る。好適な界面活性剤としては、限定はされないが、アニオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、及び両性界面活性剤が挙げられる。局所適用のための組成物は、少なくとも1つの好適な懸濁化剤、酸化防止剤、キレート剤、皮膚軟化剤、又は湿潤剤も含み得る。

【0263】

軟膏及びクリームは、例えば、好適な増粘剤及び／又はゲル化剤が添加された水性又は油性の基剤とともに製剤化され得る。ローションは、水性又は油性の基剤とともに製剤化され得、一般に、1つ以上の乳化剤、安定剤、分散剤、懸濁化剤、増粘剤、又は着色剤も含有する。液体スプレーは、例えば、特別に成形されたクロージャ（closure）を介して、加圧バックから送達され得る。水中油型エマルジョンはまた、組成物、貼付剤、包帯及び物品において使用され得る。これらのシステムは、半固体のエマルジョン、マイクロエマルジョン、又は泡状のエマルジョンのシステムである。

【0264】

制御放出又は徐放性の経皮又は局所製剤は、当該技術分野において利用可能である、高分子構造、マトリックスなどの持続放出の添加剤の添加によって実現され得る。例えば、組成物は、生体付着性ホットメルト押出フィルムなどのホットメルト押出物の使用によって投与され得る。製剤は、架橋されたポリカルボン酸ポリマー製剤を含み得る。架橋剤は、化合物の所望の放出を可能にする十分な時間にわたって、標的の上皮又は内皮細胞表面にシステムを付着したままにするのに十分な付着性を提供する量で存在し得る。

【0265】

インサート、経皮貼布、包帯又は物品は、長期間にわたって一定の速度で活性薬剤の放出を提供するポリマーの混合物又はコーティングを含み得る。ある実施形態において、物品、経皮貼布又はインサートは、インサートの耐久性を増加させるために及び有効成分の放出を延長するために水不溶性ポリマーと混合され得るポリエチレングリコール（PEG）などの水溶性の気孔生成剤を含む。

【0266】

10

20

30

40

50

ポリマー製剤も、制御放出又は徐放を提供するために利用され得る。当該技術分野で記載される生体付着性ポリマーが使用され得る。例として、徐放性のゲル及び化合物は、疎水性ポリマーマトリックスなどのポリマーマトリックスに組み込まれ得る。ポリマーマトリックスの例としては、微小粒子が挙げられる。微粒子は、ミクロスフェアであり得、コアは、ポリマーシェルと異なる材料で構成され得る。或いは、ポリマーは、薄いスラブ若しくは膜、粉碎若しくは他の標準的な技術によって生成された粉末、又はヒドロゲルなどのゲルとして鑄造され得る。ポリマーはまた、コーティング又は包帯、ステント、カテーテル、人工血管、又は老化細胞除去剤の送達を促進する他のデバイスの一部の形態であり得る。マトリックスは、溶媒蒸発、噴霧乾燥、溶媒抽出及び当業者に公知の他の方法によって形成され得る。

10

【0267】

本明細書に記載される薬剤の1つ以上の単位用量を有するキットは、通常、経口又は注射可能な用量で、提供される。このようなキットは、単位用量を含む容器、老化細胞関連の疾患を治療する際の薬剤の使用及び付随する利点を説明する情報の添付文書、及び任意に組成物の送達用の器具又はデバイスを含み得る。

【0268】

全ての参考文献及び特許文献は、あらゆる目的のために、全体が本明細書に援用される。

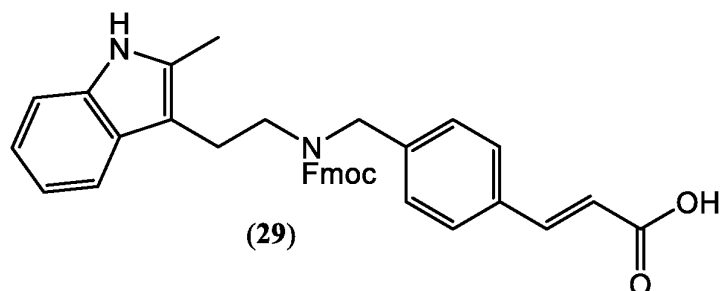
【実施例】

【0269】

実施例1：(E)-3-(4-(((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリル酸(29)の調製

20

【化46】



30

2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エタン-1-アミン(28)(400mg、2.2mmol)を、THF：ジクロロエタン：メタノール(5：5：0.5)の混合物に溶解させた。この溶液に、(E)-3-(4-ホルミルフェニル)アクリル酸(27)(367mg、2.09mmol、0.95当量)、トリアセトキシボロヒドリド(2320mg、11mmol、5.0当量)及び3滴の酢酸を加えた。混合物を一晩攪拌させ、揮発性物質を減圧下で除去した。LC/MSは、所望の生成物の存在を示した。水を加えたところ、固体が溶液から析出した。希薄NaHCO₃を用いてpHを7に調整した後、水溶液を酢酸エチルで洗浄した。白色の固体をろ過し、水、エーテル、及びヘキサンで洗浄して、(E)-3-(4-(((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリル酸を淡黄色の固体として得た。(620mg、81%の収率)。LC/MS：RT=2.41分；m/z=335.4[M+H]⁺。

40

【0270】

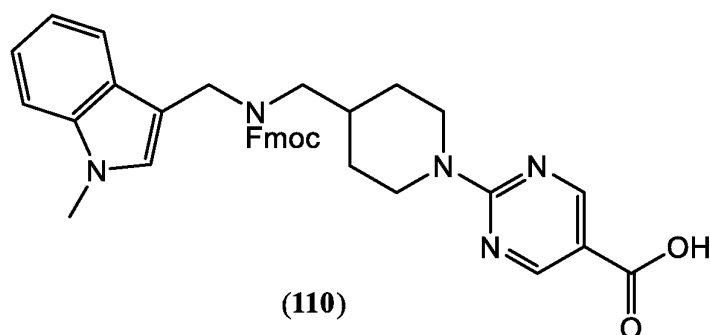
前の生成物(E)-3-(4-(((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリル酸(260mg、0.77mmol、1.0当量)及び炭酸水素ナトリウム(245mg、2.92mmol、3.8当量)を、ジオキサン：水(3：1)(5.1mL、0.15M)中で懸濁させた。Fmoc塩化物を0℃で少しずつ加えた(230mg、0.89mmol、1.15当量)。反応混合物

50

を室温に温めた。LC/MSによる分析は、所望の生成物を示した。pH約2になるまで希薄HClを加えた。水溶液を、酢酸エチルで2回抽出した。組み合わされた有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、オレンジ色の固体を得た。粗生成物を、ヘキサン中10～100%の酢酸エチルで溶離する順相精製に供した。生成物画分を組み合わせ、濃縮乾固させて、(E)-3-(4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-(2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリル酸(29)をオフホワイトの固体として得た。(240mg、56%の収率)。LC/MS: RT=3.91分; m/z=557.6 [M+H]⁺。

【0271】

実施例2: 2-(4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボン酸(110)の調製
【化47】



ジオキサン(28.0mL、0.23M)中のtert-ブチル(ピペリジン-4-イルメチル)カルバメート(1400mg、6.5mmol、1.0当量)及びメチル2-クロロピリミジン-5-カルボキシレート(1180mg、6.8mmol、1.05当量)を、炭酸セシウム(5.27g、16.2mmol、2.5当量)で処理し、Pd(dba)₂アセトン(440mg、0.48mmol、0.075当量)を加えた。溶液を窒素(3回)でパージした。次に、キサントホス(558mg、0.96mmol、0.15当量)を一度に加えた。懸濁液が数分以内に濃い赤色から黄緑色に変化した。次に、それを70℃で30分間加熱し、その時点で、LC/MS分析は、所望の生成物の存在を示した。混合物を室温に冷まし、ジクロロメタン(20mL、3回)で洗浄しながらCeliteのパッドに通してろ過した。溶媒を濃縮乾固させ、残渣を、ヘキサン:酢酸エチル(40～100%)で溶離する順相精製に供した。生成物画分を収集し、組み合わせ、濃縮して、2-[4-(tert-ブトキシカルボニルアミノメチル)-ピペリジン-1-イル]-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステルをオフホワイトの固体として得た。(1650mg)。LC/MS: RT=3.23分; m/z=351.6 [M+H]⁺。

【0272】

2-[4-(tert-ブトキシカルボニルアミノメチル)-ピペリジン-1-イル]-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステル(1.65g、4.7mmol)を、THF(10mL)に溶解させた。4NのHCl/ジオキサン(9.4mL、37.6mmol、8.0当量)を加え、溶液を60℃で2時間加熱し、その間に、固体が沈殿した。塩酸塩沈殿物をろ過し、エーテル/ヘキサン(3回)で洗浄し、乾燥させて、2-(4-アミノメチル-ピペリジン-1-イル)-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステル塩酸塩を白色の固体(1.08g)として得た。LC/MS: RT=1.88分; m/z=251.4 [M+H]⁺。

【0273】

THF:DCE(1:1)5%のメタノール18mL)中の2-(4-アミノメチル-

ピペリジン-1-イル)-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステル (1080 mg、3.77 mmol、1.0 当量) 及びトリエチルアミン (1.5 mL、10.5 mmol、2.5 当量) に、1-メチル-1H-インドール-3-カルバルデヒド (600 mg、3.77 mmol、0.95 当量) を一度に加えた。ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド (6300 mg、30.6 mmol、8.0 当量) 及び4滴の酢酸を加えた。NMP (1.8 mL) を加え、混合物を室温で2日間攪拌した。LC/MS分析は、所望の生成物の形成を示した。水を加え、炭酸水素ナトリウムを用いてpHを7に調整し、白色の固体をろ過し、水及び酢酸エチルで洗浄した。生成物を高真空下で乾燥させて、メチル2-(4-((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキシレート白色の固体 (1300 mg) として得た。この材料をさらに精製せずに次の工程に使用した。LC/MS: RT=2.67分; m/z=394.5 [M+H]⁺。

【0274】

粗メチル2-(4-((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキシレート (1300 mg、3.3 mmol、1.0 当量) 及び水酸化ナトリウム (1058 mg、26.4 mmol、8.0 当量) を、ジオキサン:水 (3:1) (10.0 mL) 中で懸濁させた。溶液を70℃で2時間加熱した。LC/MS分析は、完全な反応を示した。溶媒を濃縮して、過剰なアルコールを除去し、混合物を、pH約5になるまで酸性化し、水、続いてヘキサンで洗浄した。灰色の固体を高真空下で乾燥させて、純粋な2-(4-((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボン酸 (220 mg) を得た。LC/MS: RT=2.41分; m/z=380.6 [M+H]⁺。

【0275】

2-(4-((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボン酸 (200 mg、0.52 mmol、1.0 当量) 及び炭酸水素ナトリウム (165 mg、1.9 mmol、3.8 当量) を、ジオキサン:水 (3:1) (1.4 mL) 中で懸濁させた。Fmoc塩化物 (136 mg、0.5 mmol、1.0 当量) を、溶液が透明になるまで少しずつ加えた。LC/MS分析は、所望の生成物を示した。溶液のpHを2に調整し、酢酸エチルを加えた。混合物を水 (3回) で抽出し、塩水で洗浄した。組み合わされた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮乾固させて、白色の発泡体を得て、それを、ジクロロメタンメタノール-ヘキサン (1:5、3回) で研和した。十分な乾燥により、表題化合物2-(4-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)-メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボン酸 (110) が白色の発泡体 (200 mg) として得られた。LC/MS: RT=3.96分; m/z=602.3 [M+H]⁺。

【0276】

実施例3: (2R, 3S, 4S, 5R, 6S)-2-(アセトキシメチル)-6-(アミノオキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (24) の調製

10

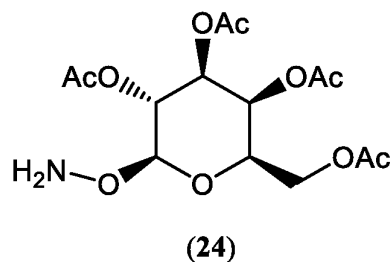
20

30

40

50

【化 4 8】



10

(2R, 3S, 4S, 5R, 6R) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - ブロモテトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート (23) (6600mg、16.05mmol、1.0当量) を、ジクロロメタン (80mL) に溶解させた。この溶液に、2 - ヒドロキシイソインドリン - 1, 3 - ジオン (2600mg、16.05mmol、1.0当量) を加えた。1M の炭酸ナトリウム (32.0mL、32mmol、2.0当量) 中の硫酸水素テトラブチルアンモニウム (1090mg、3.21mmol、0.2当量) を、氷浴温度でゆっくりと加えた。混合物を室温で一晩攪拌した。TLC 分析は、PMA 染色により、出発材料と比較してより低い r_f で新たなスポットを示した。水を加え、混合物をジクロロメタン (3回) で抽出した。組み合わされた有機層を水及び塩水で洗浄し、次に、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、赤色の固体を得た。粗生成物を、20 ~ 70% の酢酸エチル : ヘキサンで溶離する順相精製に供した。生成物画分を収集し、組み合わせて、濃縮して、純粋な (2R, 3S, 4S, 5R, 6S) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - ((1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) オキシ) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテートを白色の発泡体として得た。(2000mg、55%)。LC/MS : RT = 2.96 分 ; m/z = 494.4 $[M+H]^+$ 。

20

【0277】

(2R, 3S, 4S, 5R, 6S) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - ((1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) オキシ) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート (2000mg、4.05mmol、1.0当量) を、メタノール (35mL、0.1M) に溶解させた。ヒドラジン水和物 (0.20mL、4.25mmol、1.05当量) をゆっくりと加えた。5 分後、LC/MS 分析は、所望の生成物を示した。ジクロロメタン (125mL) を加え、溶液を飽和 $NaHCO_3$ (3回) で洗浄した。組み合わされた有機層を水及び塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、固体 (2000mg) を得た。生成物を、30 ~ 90% の酢酸エチル : ヘキサンで溶離する順相精製に供した。生成物画分を収集し、組み合わせて、濃縮して、表題化合物 (2R, 3S, 4S, 5R, 6S) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - (アミノオキシ) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート (24) を白色の発泡体として得た。(1170mg、79% の収率)。LC/MS : RT = 1.98 分 ; m/z = 364.3 $[M+H]^+$ 。

30

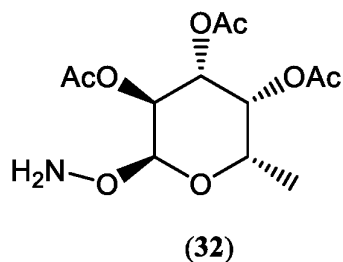
40

【0278】

実施例 4 : (2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2 - (アミノオキシ) - 6 - メチルテトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート (32) の調製

50

【化 49】



10

(3S, 4R, 5R, 6S) - 2-ヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (5000mg, 17mmol) を、THF (100.0mL) に溶解させた。DAST (18.0mL, 137mmol, 8.0当量) を、ドライアイス-メタノール浴で冷却しながら -30℃ で加えた。反応混合物を、室温に温め、1時間にわたってこの温度で攪拌した。別の分量のDAST (4mL) を -30℃ で加え、再度室温に温め、1時間攪拌した。LC/MS分析は、反応が完了したことを示した。メタノールを -20℃ で加え、溶媒を蒸発させた。NaHCO₃を加え、溶液をジクロロメタン (3回) で抽出した。組み合わされた有機層を水で洗浄した。希薄HClを加えて、残留DASTを分解し、溶液を酢酸エチル (2回) で抽出した。組み合わされた有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、粗生成物を油 (4000mg) として得た。この褐色の油を、ヘキサン-酢酸エチル (0~40%) で溶離する順相精製に供した。生成物画分を収集し、組み合わせて、濃縮して、(3S, 4R, 5R, 6S) - 2-フルオロ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (30) を白色の発泡体固体として得た。 (2000mg)。LC/MS: RT=2.45分; m/z=310 [M+H₂O]⁺。

20

【0279】

(3S, 4R, 5R, 6S) - 2-フルオロ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (30) (1800mg, 6.16mmol, 1.0当量) を、アセトニトリル (30mL) に溶解させた。N-ヒドロキシフタルイミド (1100mg, 6.78mmol, 1.1当量) を加えた後、TEA (1.15mL, 6.78mmol, 1.05当量) を加えた。BF₃·Et₂O (1.1mL, 6.78mmol, 1.05当量) を滴下して加え、反応物を1時間攪拌し、その時点で、LC/MS分析は、所望の生成物の存在を示した。混合物を10%のNaHCO₃/EtOAcに注いだ。層を振とうし、分離させ、有機層を、炭酸水素ナトリウム (2回)、水、及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、暗色の油を得た。粗生成物を、ヘキサン:酢酸エチル (0~50%) で溶離する順相精製に供した。生成物画分を収集し、組み合わせた (より低い極性の生成物-画分55~64、1.0g; より極性の生成物-画分91~105、500mg)。より低い極性の生成物は、(2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (31) の所望のα-アノマーである。より極性の生成物は、望ましくないβ-アノマーである。LC/MS: RT=3.02分及び3.28分; m/z=436.5 [M+H]⁺。

30

40

【0280】

(2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (31) (350mg, 0.8mmol, 1.0当量) を、メタノール (8.0mL) に溶解させた。ヒドラジン水和物 (65%, 0.066mL, 0.8mmol, 1.0当量) を氷浴温度でゆっくりと加えた。LC/MS分析は、数分以内に完全な反応を示した。白色の沈殿物をろ過して取り出した。反応物をジクロロメタンで希釈し、2度目

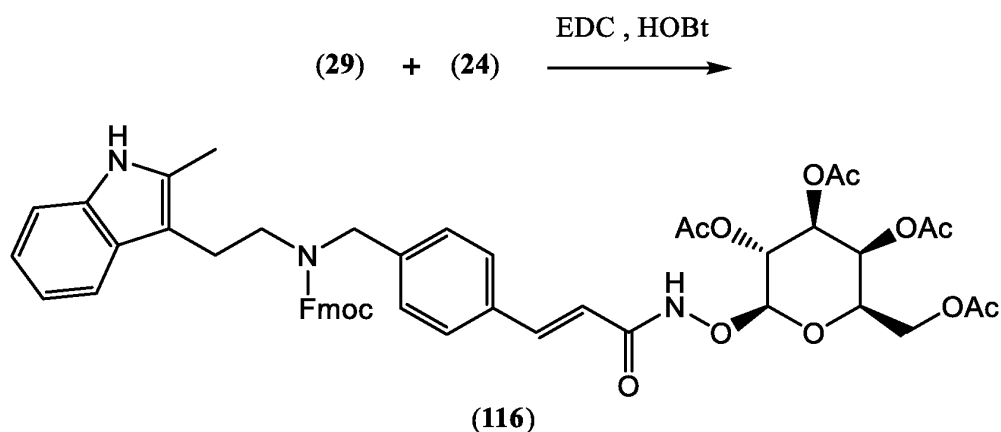
50

のろ過を行った。ろ過された溶液を NaHCO_3 （3回）で洗浄した。有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、所望の（2S, 3S, 4R, 5R, 6S）-2-（アミノオキシ）-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート（32）を白色の発泡体固体（500mg）として得た。LC/MS：RT=2.2分； $m/z=306.6$ [M+H]⁺。

【0281】

実施例5：（E）-3-（4-（（（2-（2-メチル-1H-インドール-3-イル）エチル）アミノ）メチル）フェニル）-N-（（（2S, 3R, 4S, 5R, 6R）-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）アクリルアミド（26）の調製
【化50】

10



20

1-（3-ジメチルアミノプロピル）-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（EDC・HCl）（114mg、0.59mmol、1.33当量）及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール（HOBT）（91mg、0.59mmol、1.33当量）を、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）（1.4mL）中の（E）-3-（4-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）（2-（2-メチル-1H-インドール-3-イル）エチル）アミノ）メチル）フェニル）アクリル酸（29）（250mg、0.449mmol、1.0当量）の溶液に加え、室温で30分間撹拌した。次に、（2R, 3S, 4S, 5R, 6S）-2-（アセトキシメチル）-6-（アミノオキシ）テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート（24）（244mg、0.67mmol、1.5当量）及びDIPEA（0.078mL、0.449mmol、1.4当量）を、氷浴温度で混合物に加えた。混合物を室温で一晩撹拌した。LC/MS分析は、所望の生成物を示した。混合物を冷飽和 NH_4Cl 溶液でクエンチした。このように形成された白色の沈殿物をろ過し、水（2回）で洗浄した。白色の固体を酢酸エチルに再溶解させ、水、 NaHCO_3 、及び塩水で洗浄した。組み合わされた有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、純粋な（2S, 3R, 4S, 5S, 6R）-2-（（（E）-3-（4-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）（2-（2-メチル-1H-インドール-3-イル）エチル）アミノ）メチル）フェニル）アクリルアミド）オキシ）-6-（アセトキシメチル）テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート（116）を淡黄色の泡状の固体として得た。（320mg、79%の収率）。LC/MS：RT=6.95分； $m/z=902.7$ [M+H]⁺。

30

40

【0282】

50

(116) $\xrightarrow[\text{MeOH}]{\text{NaOMe}}$ (26)

(2S, 3R, 4S, 5S, 6R) - 2 - (((E) - 3 - (4 - ((((9H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (2 - (2 - メチル - 1H - インドール - 3 - イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) アクリルアミド) オキシ) - 6 - (アセトキシメチル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート (116) (150mg、0.166mmol、1.0当量) を、メタノール (3.0mL) に溶解させ、メタノール (0.1mL、0.49mmol、3.0当量) 中25%のナトリウムメトキシドを氷浴温度でゆっくりと加えた。LC/MSは、20分後に所望の生成物を示した。反応物を、10%の酢酸の添加によってクエンチした。水を除去し、メタノールで置き換えた。2回のろ過により、不溶性塩を除去し、溶媒除去後の粗生成物を、最終的な分析のためにHPLC精製に供した。表題化合物 (E) - 3 - (4 - (((2 - (2 - メチル - 1H - インドール - 3 - イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) - N - (((2S, 3R, 4S, 5R, 6R) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) オキシ) アクリルアミド (26) を、白色の固体として単離した。LC/MS: RT=1.28分; m/z=512.5 [M+H]⁺。¹H NMR (500MHz、メタノール-d₄) : δ 7.59-7.45 (m、3H)、7.40 (d、J=7.8Hz、1H)、7.31 (d、J=7.9Hz、2H)、7.25 (d、J=8.1Hz、1H)、7.02 (t、J=7.5Hz、1H)、6.94 (t、J=7.2Hz、1H)、6.50 (J=15.8Hz、1H)、4.56 (d、J=8.0Hz、1H)、3.85 (m、4H)、3.78-3.67 (m、2H)、3.65-3.60 (m、1H)、3.57 (dd、J=9.6、3.4Hz、1H)、2.97 (dd、J=7.9、5.8Hz、2H)、2.90 (t、J=7.3Hz、2H)、2.36 (s、3H)。

実施例 6：(2 R, 3 S, 4 S, 5 R, 6 S) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - ((E) - 3 - (4 - (((2 - (2 - メチル - 1 H - インドール - 3 イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) アクリルアミド) オキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート (1 1 3) の調製

(116) $\xrightarrow[\text{CH}_2\text{Cl}_2]{\text{ピペリジン}}$ (113)

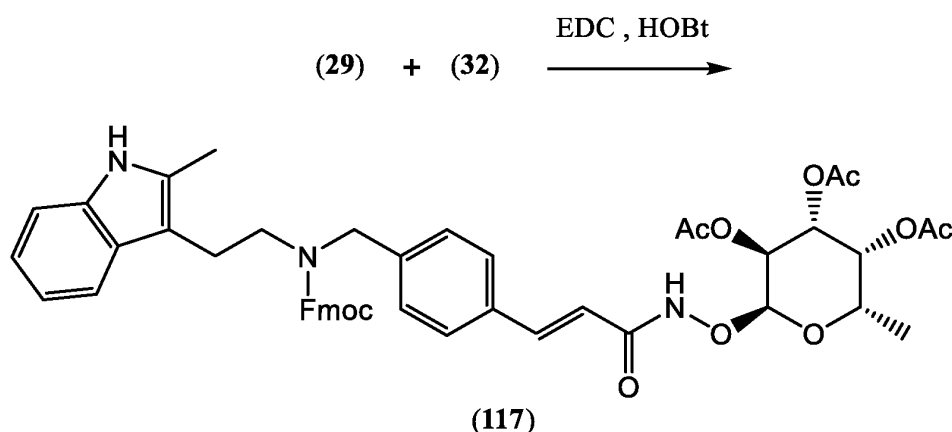
(2S, 3R, 4S, 5S, 6R) - 2 - ((E) - 3 - (4 - ((((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル) (2 - (2-メチル-1H-インドール-

3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)-6-(アセトキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-3,4,5-トリイルトリアセテート(116)(745mg、0.825mmol、1.0当量)を、ジクロロメタン(5mL)に溶解させた。ピペリジン(DCM中10%)(7.0mL、8.2mmol、10.0当量)を加え、混合物を室温で3時間攪拌した。LC/MS分析は、反応が完了したことを示した。EtOAcを加え(200mL)、溶液をNaHCO₃(2回)で洗浄した。有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮乾固させて、粗生成物を得た。表題化合物(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(アセトキシメチル)-6-((E)-3-(4-((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3,4,5-トリイルトリアセテート(113)を、HCl含有緩衝液を用いたHPLC精製の後にその白色の塩酸塩として単離した(550mg、80%の収率)。LC/MS:RT=4.38分;m/z=680.7[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz、メタノール-d₄): δ 7.61-7.48(m,3H)、7.40(dt,J=7.8Hz、1.0Hz,1H)、7.33(d,J=7.9Hz,2H)、7.25(d,J=8.0Hz,1H)、7.02(t,J=7.5Hz,1H)、6.95(t,J=7.4Hz,1H)、6.48(d,J=16.1Hz,1H)、5.43(d,J=3.3Hz,1H)、5.32-5.19(m,2H)、5.02(d,J=8.0Hz,1H)、4.27-4.13(m,3H)、3.89(s,2H)、3.11(t,J=5.7Hz,1H)、3.02-2.87(m,4H)、2.37(s,3H)、2.15(s,3H)、2.13(s,3H)、2.03(s,3H)、1.98(s,3H)。

【0284】

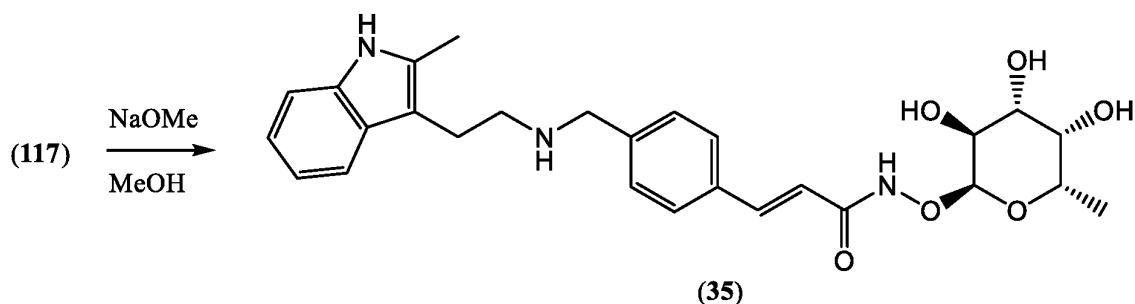
実施例7:(E)-3-(4-((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)-N-((2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)アクリルアミド(35)の調製

【化53】



EDC(430mg、2.2mmol、1.4当量)及びHOBT(344mg、2.2mmol、1.4当量)を、DMF(8.0mL)中の(29)(900mg、1.6mmol、1.0当量)に加えた。混合物を10分間攪拌した。化合物(32)(500mg、1.63mmol、1.05当量)、続いてDIEA(418 μ L、1.5当量)を氷浴温度で加えた。反応物を室温で一晩攪拌した。LC/MS分析は、所望の生成物を示した。飽和塩化アンモニウム溶液を加えた(20mL)ところ、白色の固体が沈殿した。固体をろ過し、水(2回)で洗浄し、乾燥させて、白色の固体(1.30g)を得た。固体を、ヘキサン-酢酸エチル(20~75%)で溶離する順相クロマトグラフィーによって精製した。生成物画分を収集し、組み合わせて、溶媒を濃縮して、(2S,3S,4

R, 5R, 6S) - 2 - ((E) - 3 - (4 - (((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル) (2 - (2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ) - 6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (117) をオフホワイトの固体 (650mg) として得た。LC/MS: RT=3.89分; m/z=844.5 [M+H]⁺。
 【0285】
 【化54】



メタノール (1.0mL) 中の (2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2 - ((E) - 3 - (4 - (((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル) (2 - (2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ) - 6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (117) (150mg, 0.17mmol, 1.0当量) 及びナトリウムメトキシド (25%) (0.085mL, 2.6当量) を、氷浴温度で混合した。混合物を室温で2時間攪拌した。1NのHCl (1.0当量) を加え、溶液を濃縮乾固させ、残渣をHPLC精製に供し、表題化合物 (E) - 3 - (4 - ((2 - (2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル) - N - ((2S, 3S, 4R, 5S, 6S) - 3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)アクリルアミド (35) を、白色の固体 (70mg) として単離した。LC/MS: RT=1.35分; m/z=496.5 [M+H]⁺。¹H NMR (500MHz, メタノール-d₄): δ 7.69 (d, J=8.5Hz, 3H)、7.53 (d, J=8.2Hz, 2H)、7.43 (d, J=7.8Hz, 1H)、7.28 (d, J=8.0Hz, 1H) 7.08-6.97 (m, 2H)、6.59 (d, J=15.8Hz, 1H)、4.57 (d, J=7.9Hz, 1H)、4.28 (s, 2H)、3.74 (q, J=6.4Hz, 1H)、3.68-3.61 (m, 2H)、3.57 (dd, J=9.7, 3.3Hz, 1H)、3.30-3.22 (m, 2H)、3.14 (dd, J=9.3, 6.6Hz, 2H)、2.42 (s, 3H)、1.33 (d, J=6.4Hz, 3H)。

【0286】

実施例8: (2S, 3R, 4R, 5S, 6S) - 2-メチル-6 - ((E) - 3 - (4 - ((2 - (2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (119) の調製

10

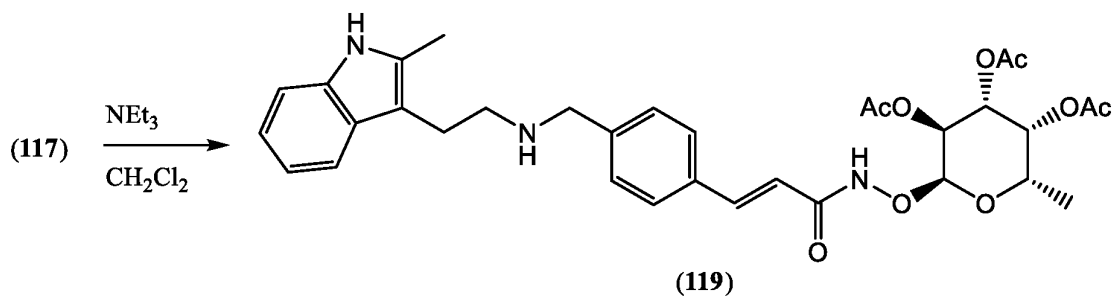
20

30

40

50

【化 5 5】



10

DCM : DMF (1 : 1) (10 mL) 中の化合物 (117) (640 mg、0.75 mmol、1.0 当量) に、50% のトリエチルアミン / DCM (10.0 mL) を加えた。混合物を室温で一晩攪拌した。LC / MS 分析は、所望の生成物及び出発材料の存在を示した。溶媒を濃縮した。残渣を、50% の TEA / DCM (5 mL) 及び DMF (2.0 mL) に取り込み、混合物を 4 時間攪拌した。LC / MS は、この時点で、出発材料が消費されたことを示した。溶媒を減圧下で除去した。残渣をヘキサンで研和して、9-メチレン-9H-フルオレンの塊を除去した。飽和塩化アンモニウム溶液及び酢酸エチルを加え、有機層を、水 (3 回)、続いて塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶媒を除去し、残渣を、HCl を含有する緩衝液を用いた HPLC によって精製し、表題化合物 (2S, 3R, 4R, 5S, 6S) - 2-メチル-6-((E)-3-(4-((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (119) を、白色の固体としてのその塩酸塩として単離した。LC / MS : RT = 1.89 分 ; m/z = 622.4 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール-d₄) : δ 7.73-7.61 (m, 3H)、7.54 (d, J = 8.1 Hz、2H)、7.44 (d, J = 7.8 Hz、1H)、7.28 (d, J = 8.0 Hz、1H)、7.06 (t, J = 7.5 Hz、1H)、7.00 (t, J = 7.4 Hz、1H)、6.55 (d, J = 15.9 Hz、1H)、5.48-5.31 (m, 3H)、5.16 (dd, J = 11.3、3.9 Hz、1H)、4.63 (s, 1H)、4.28 (s, 2H)、3.26 (dd, J = 9.5、6.5 Hz、2H)、3.14 (dd, J = 9.3、6.5 Hz、2H)、2.42 (s, 3H)、2.18 (s, 3H)、2.16 (s, 3H)、2.01 (s, 3H)、1.20 (d, J = 6.5 Hz、3H)。

20

30

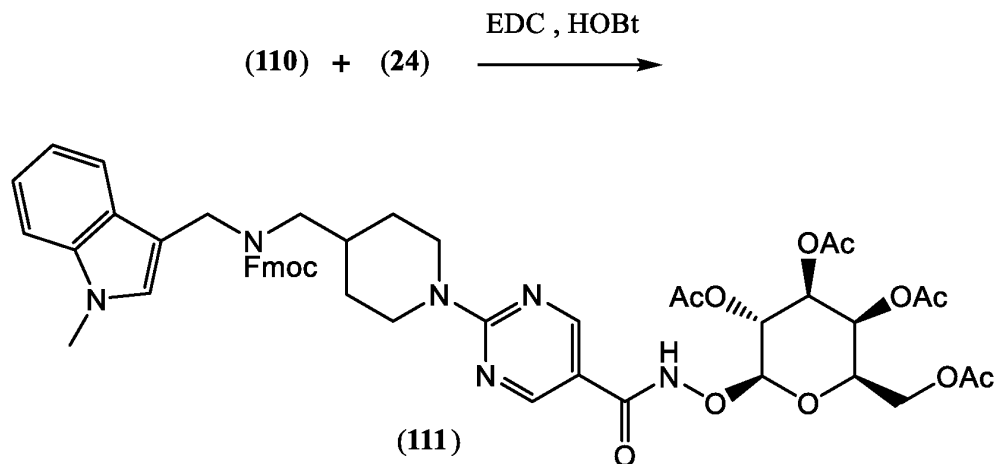
【0287】

実施例 9 : (2S, 3R, 4S, 5S, 6R) - 2-((2-(4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)-6-(アセトキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (111) の調製

40

50

【化 5 6】

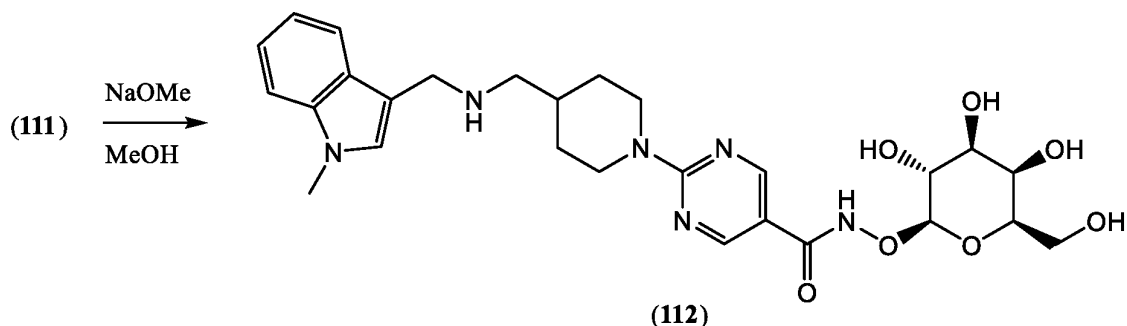


EDC (76 mg、0.40 mmol、1.4 当量) 及び HOBT (61 mg、0.4 mmol、1.4 当量) を、DMF (0.5 mL) 中の 2-(4-{[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシカルボニル]-(1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル}-アミノ)-メチル}-ピペリジン-1-イル)-ピリミジン-5-カルボン酸 (110) (170 mg、0.28 mmol、1.0 当量) に加えた。溶液を 10 分間攪拌し、その後、化合物 (24) (148 mg、0.45 mmol、1.5 当量)、続いて DIEA (80 μ L、1.5 当量) を氷浴温度で加えた。溶液を室温で一晩攪拌した。LC/MS 分析は、所望の生成物の形成を示した。飽和塩化アンモニウム溶液を加え (2.0 mL)、白色の固体が沈殿した。沈殿物を水 (2 回) で洗浄した。固体をろ過し、乾燥させて、(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-2-((2-(4-(((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)-6-(アセトキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリルトリアセテート (111) を白色の固体 (260 mg) として得て、それをさらに精製せずに次の工程に使用した。LC/MS: RT=7.07 分; m/z=947.9 [M+H]⁺。

【0288】

実施例 10: 2-(4-(((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)-N-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド (112) の調製

【化 5 7】

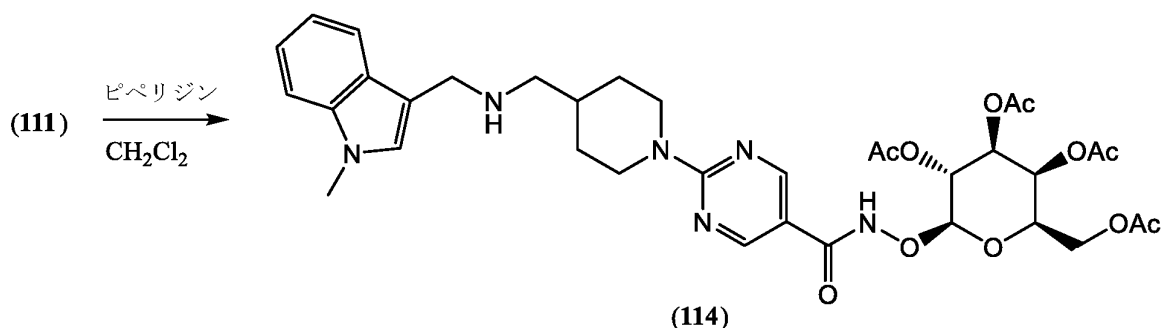


化合物 (111) (170 mg、0.18 mmol) を、メタノール (1.79 mL) に溶解させ、メタノール (0.040 mL、1.0 当量) 中 25% のナトリウムメトキシドを氷浴温度でゆっくりと加えた。室温で 2 時間攪拌した後、Fmoc 保護基は、完全に

は除去されていなかった。さらに0.2当量のナトリウムメトキシドを氷浴温度で加えたところ、反応は、20分以内に完了した。HCl/ジオキサン(1N、1.2当量)を加えて、pHを5~6に調整した。溶媒を濃縮乾固させ、残渣を、HPLC精製に供して、表題化合物2-(4-(((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)-N-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド(112)(80mg)を得た。LC/MS: RT=1.33分; m/z=557.3 [M+H]⁺。¹H NMR(500MHz、メタノール-d₄): δ 8.72(s, 2H)、7.75(m, 1H)、7.47(m, 2H)、7.29(m, 1H)、7.20(m, 1H)、4.95-4.91(m, 2H)、4.60(d, J=7.8Hz, 1H)、4.45(s, 2H)、3.88-3.81(m, 5H)、3.77(dd, J=11.3, 4.6Hz, 1H)、3.71(dd, J=9.6, 8.0Hz, 1H)、3.64(m, 1H)、3.57(m, 1H)、3.05-2.96(m, 4H)、2.10(m, 1H)、2.06(s, 2H)、1.92-1.85(m, 2H)、1.26(m, 2H)。

【0289】

実施例11: (2R, 3S, 4S, 5R, 6S)-2-(アセトキシメチル)-6-((2-(4-(((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイソトリアセテート(114)の調製
【化58】

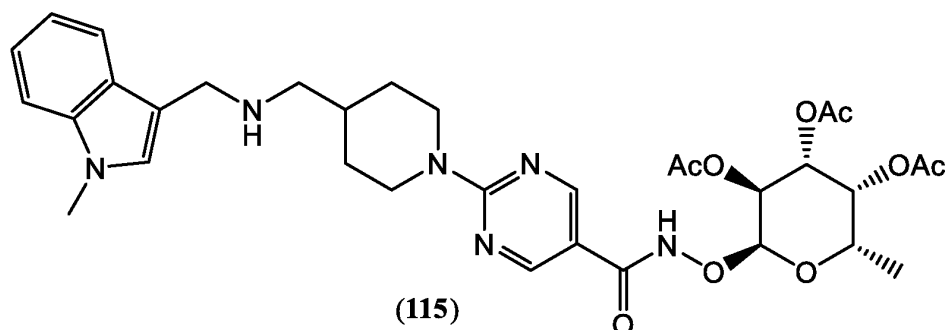
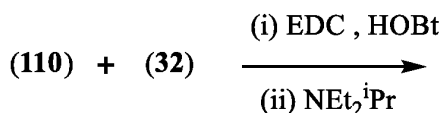


化合物(111)(88mg、0.092mmol)を、ジクロロメタン(0.1mL)に溶解させた。ピペリジン(DCM中20%)(0.47mmol、1.1mmol、12.0当量)を加えた。混合物を室温で6時間攪拌した。LC/MS分析は、反応が完了したことを示した。1NのHCl/ジオキサン(1.0当量)を加えた。溶液を濃縮乾固させ、粗残渣を、HPLC精製に供して、60mgの表題化合物(2R, 3S, 4S, 5R, 6S)-2-(アセトキシメチル)-6-((2-(4-(((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイソトリアセテート(114)を得た。LC/MS: RT=1.89分; m/z=725.3 [M+H]⁺。¹H NMR(500MHz、メタノール-d₄): δ 8.64(s, 2H)、7.69(m, 1H)、7.40(m, 1H)、7.31(s, 1H)、7.23(m, 1H)、7.13(m, 1H)、5.42(d, J=3.5Hz, 1H)、5.34(m, 1H)、5.21(m, 1H)、5.07(d, J=8.3Hz, 1H)、4.81(d, J=13.3Hz, 2H)、4.26-4.13(m, 5H)、3.82(s, 3H)、2.94(t, J=12.8Hz, 2H)、2.77(d, J=6.8Hz, 2H)、2.13(s, 3H)、2.11(s, 3H)、2.02(s, 3H)、1.97(s, 3H)、1.85(d, J=11.6Hz, 2H)、1.19(m, 2H)。

【0290】

実施例12: (2S, 3R, 4R, 5S, 6S)-2-メチル-6-((2-(4-((

((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3,4,5-トリイルトリアセテート(115)の調製
【化59】

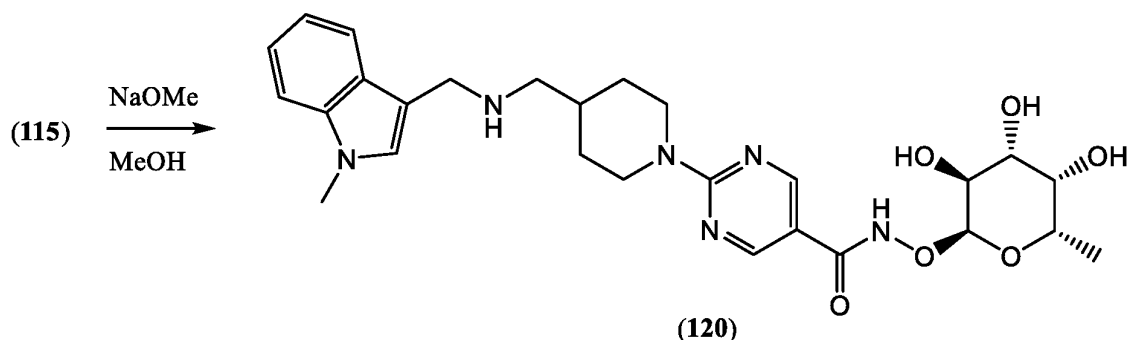


EDC (54mg、0.28mmol) 及び HOBT (42mg、0.28mmol、1.05当量) を、DMF (0.5mL) 中の化合物 (110) (96mg、0.31mmol、1.4当量) の溶液に加えた。溶液を室温で15分間攪拌し、その時点で、化合物 (32) (96mg、0.37mmol、1.4当量) を一度に加えた。DIEA (1.5当量、0.073mL) を氷浴温度で加え、混合物を室温で1時間攪拌した。LC/MS分析は、所望の生成物の存在を示した。飽和塩化アンモニウム溶液を反応物に加え、黄色の固体をろ過して取り出し、水で洗浄した。酢酸エチルを溶液に加え、それを塩水(2回)で洗浄した。組み合わされた有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、(2S, 3R, 4R, 5S, 6S)-2-メチル-6-((2-(4-(((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3,4,5-トリイルトリアセテート(115)を泡状の固体(200mg)として得て、それを精製せずにそのまま次の反応に使用した。LC/MS: RT=6.83分; m/z=889.9 [M+H]⁺。

【0291】

実施例13: 2-(4-((((1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)アミノ)メチル)ピペリジン-1-イル)-N-(((2S, 3S, 4R, 5S, 6S)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド(120)の調製

【化60】



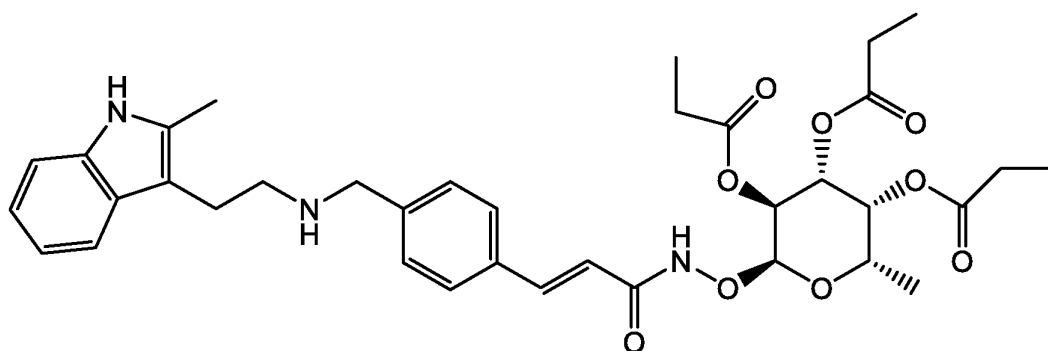
化合物 (115) (70mg、0.079mmol、1.0当量) 及びナトリウムメトキシド(25%) (2.0当量) を、氷浴温度でメタノール(0.8mL)に溶解させた

。混合物を室温で2時間攪拌した。1 NのHCl (1.0当量)を加え、溶液を濃縮乾固させ、残渣を、HPLC精製に供して、表題化合物(120)を得た。LC/MS:RT=3.05分;m/z=541.3 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール-d₄): δ 8.71 (s、2H)、7.74 (d、J=8.0 Hz、1H)、7.51–7.43 (m、2H)、7.30 (m、1H)、7.21 (m、1H)、4.93 (d、J=3.9 Hz、1H)、4.59 (d、J=7.9 Hz、1H)、4.45 (s、2H)、3.87 (s、3H)、3.77–3.71 (m、1H)、3.68–3.61 (m、2H)、3.57 (m、1H)、3.05–2.95 (m、4H)、2.09 (m、1H)、1.88 (d、J=12.4 Hz、2H)、1.33 (d、J=6.5 Hz、3H)、1.26 (m、2H)。

【0292】

実施例14: (2S, 3R, 4R, 5S, 6S)–2–メチル–6–((E)–3–(4–((2–(2–メチル–1H–インドール–3–イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)テトラヒドロ–2H–ピラン–3, 4, 5–トリイソプロピオネート(121)の調製

【化61】



(121)

ルーフコース(3000mg、18.2mmol、1.0当量)を、ピリジン(9.0mL)及びプロピオン酸無水物(27.0mL)の混合物中で攪拌した。溶液を80℃で2日間加熱して、その時点でさらなるプロピオン酸無水物(5.0mL)を加え、さらに1日攪拌を続けた。混合物を濃縮乾固させ、酢酸エチル(80mL)及び水(30mL)を加え、水性層をさらに2回抽出した。組み合わされた有機層を、1Nの希薄HCl、続いて塩水で洗浄した。溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶液を濃縮乾固させて、(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)–6–メチルテトラヒドロ–2H–ピラン–2, 3, 4, 5–テトライルテトラキス(プロピオネート)を褐色の油(10g)として得た。LC/MS:RT=3.3分;m/z=467.5 [M+79]⁺。

【0293】

酢酸(1.8mL、28.8mmol、1.4当量)を、THF(200mL)中のエチレンジアミン(1.78mL、24.7mmol、1.2当量)の溶液に加えた。固体が沈殿し、(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)–6–メチルテトラヒドロ–2H–ピラン–2, 3, 4, 5–テトライルテトラキス(プロピオネート)(8g、20.66mmol、1.0当量)を一度に加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌し、その時点で、LC/MS分析は、主に未反応の出発材料を示した。反応物を後処理し、室温で一晩攪拌しながら、再度、同じ反応条件に供した。第2のロットを同じ規模で繰り返した。LC/MS分析は、反応が完了したことを示した。水を加え、2つの層を分離した。希薄HCl(2%)及び酢酸エチルを加え、有機層を、水で2回、続いて塩水で洗浄した。溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶媒を除去して、(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)–2–ヒドロキシ–6–メチルテトラヒドロ–2H–ピラン–3, 4, 5–トリイソプロピオネートを白色の粘着性の固体として得た。(5.8g)。LC/MS:RT=2.6分;m/z

$z = 350.1 [M + 18]$ 。

【0294】

(2R, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-ヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリプロピオネート (3.0 g、9.03 mmol、1.0当量) を、THF (150 mL) に溶解させた。溶液を、5分間にわたって窒素でパージし、溶液を-50℃に冷却した。DAST (5.0 mL) を、プラスチックピペットを介して滴下して加えた。溶液を0℃に温めた。TLC分析は、ほとんど出発材料を示した。別の分量のDAST (2.0 mL) を-50℃ (1.5当量) で加え、温度を0℃に温めた。TLC分析は、より低い極性のスポット及び少量の出発材料を示した。さらなるDASTを前述のとおり2回加え (それぞれ3.0 mL、3.0 mL)、出発材料が完全に消費されるまで (合計で約8時間) 反応物を攪拌させた。溶液を-30℃に冷却し、メタノール (15 mL) をゆっくりと加え、混合物を室温に温めた。冷NaHCO₃溶液を加え、混合物をジクロロメタンで希釈した。有機層を分離させ、1NのHCl (2回)、続いて塩水で洗浄した。溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶媒を除去して、黄色の油 (4.1 g) を得た。TLC分析は、生成物が非純粋であったことを示した。粗生成物を、60分間にわたって100%のヘキサンからヘキサン中15%の酢酸エチルの勾配で溶離する順相精製に供した。生成物画分を収集し、溶媒を除去して、純粋な (2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-フルオロ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリプロピオネートを無色油 (2.4 g) として得た。LC/MS: RT = 3.2分; m/z = 413.1 [M + 79]⁺。

【0295】

(2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-フルオロ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリプロピオネート (1500 mg、4.49 mmol、1.0当量) を、アセトニトリル (15 mL) に溶解させた。N-ヒドロキシフタルイミド (915 mg、5.61 mmol、1.25当量) を加えた後、トリエチルアミン (0.81 mL、5.61 mmol、1.25当量) を加えた。溶液が濃い赤色に変化した。BF₃-エーテラート (1.03 mL、8.08 mmol、1.8当量) を加え、溶液が透明に変化した。それを室温で1時間攪拌した。LC/MSは、所望の生成物を示した。NaHCO₃の冷溶液を加え、それを、酢酸エチルで2回抽出した。溶液が濃い赤色に変化した。組み合わされた有機層を、色が検出されなくなるまでNaHCO₃で2回洗浄した。有機溶媒を硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶媒を濃縮して、黄色の油 (2000 mg) を得た。粗混合物を、40分間にわたって100%のヘキサンからヘキサン中25%の酢酸エチルの勾配で溶離する、25 gのシリカゲルカラムを用いた順相精製に供した。生成物画分を2つのピークとして収集した。ピーク#1 (順相、より低い極性) LC/MS (逆相): RT = 3.56分; m/z = 478.4 [M + H]⁺。ピーク#2 (順相、より極性) LC/MS (逆相): RT = 3.31分; m/z = 478.4 [M + H]⁺。ピーク#1は、その¹H NMRスペクトルと、文献において特徴付けられたトリアセトキシ類似体 (31) との比較によって、所望のα異性体、(2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) オキシ) - 6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリプロピオネートであることが分かった。それを白色の固体 (500 mg) として単離した。

【0296】

(2S, 3S, 4R, 5R, 6S) - 2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) オキシ) - 6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリプロピオネート (500 mg、1.04 mmol、1.0当量) を、メタノール (10 mL) に溶解させた。ヒドラジン水和物 (65%、0.090 mL、1.04 mmol、1.0当量) を、氷浴温度で滴下して加えた。混合物を30分間攪拌したところ、溶液が透明から濁った状態になった。LC/MSは、反応が完了したことを示した。ジクロロメタン (15 mL) を加え、混合物を、冷飽和NaHCO₃水溶液で2回抽出した。組み合わされた有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶媒を濃縮して、(2S,

3 S, 4 R, 5 R, 6 S) - 2 - (アミノオキシ) - 6 - メチルテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリプロピオネートを白色の固体 (280 mg) として得た。LC/MS: RT = 2.34 分; m/z = 348.4 [M+H]⁺。

【0297】

(E) - 3 - (4 - (((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (2 - (2 - メチル - 1 H - インドール - 3 - イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) アクリル酸 (29) (281 mg, 0.503 mmol, 1.0 当量) を、DMF (1.5 mL) に溶解させた。EDC (124 mg, 0.653 mmol, 1.3 当量) 及び 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (100 mg, 0.65 mmol, 1.3 当量) を加え、混合物を 10 分間攪拌した。(2 S, 3 S, 4 R, 5 R, 6 S) - 2 - (アミノオキシ) - 6 - メチルテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリプロピオネート (226 mg, 0.503 mmol, 1.0 当量) を加えた後、DIPEA (1.4 当量) を加えた。室温で 2 時間攪拌した後、LC/MS は、所望の生成物を示した。飽和 NH₄Cl 溶液を加え、次に、酢酸エチルを加え、有機相を、NaHCO₃ で 2 回抽出した。組み合わせられた有機層を塩水で洗浄し、溶媒を濃縮して、淡黄色の発泡体を得た。(490 mg)。生成物を、45 分間にわたって 100% のヘキサンからヘキサン中 50% の酢酸エチルの勾配で溶離する 40 g のシリカゲルカラム上での順相精製を用いて精製した。生成物画分を収集し、溶媒を濃縮して、(2 S, 3 S, 4 R, 5 R, 6 S) - 2 - ((E) - 3 - (4 - (((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (2 - (2 - メチル - 1 H - インドール - 3 - イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) アクリルアミド) - オキシ) - 6 - メチルテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリプロピオネートを白色の泡状の固体 (200 mg) として得た。LC/MS: RT = 7.48 分; m/z = 886.7 [M+H]⁺。

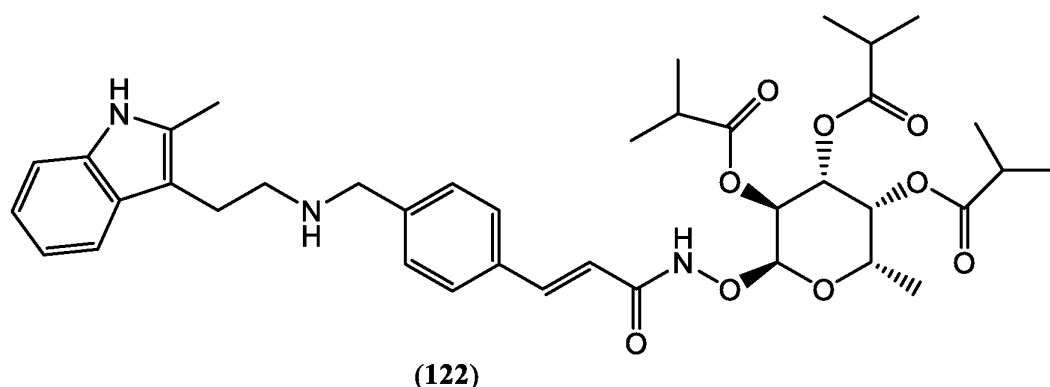
【0298】

(2 S, 3 S, 4 R, 5 R, 6 S) - 2 - ((E) - 3 - (4 - (((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (2 - (2 - メチル - 1 H - インドール - 3 - イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) アクリルアミド) オキシ) - 6 - メチルテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリプロピオネート (200 mg, 0.225 mmol, 1.0 当量) を、DCM/DMF 中 50% の NEt₃ に溶解させた。溶液を室温で 3 日間攪拌して、Fmoc 保護基を除去した。LC/MS は、反応が完了したことを示した。溶媒を濃縮し、飽和 MLCI 溶液を加え、次に、混合物を、酢酸エチルで 2 回抽出した。組み合わせられた有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させた。粗混合物をヘキサンで 2 回研和した。最終生成物を濃縮して、白色の泡状の固体を得た。(138 mg)。この固体を、HCl を含有する緩衝液を用いた HPLC によって精製し、表題化合物 (2 S, 3 R, 4 R, 5 S, 6 S) - 2 - メチル - 6 - ((E) - 3 - (4 - (((((2 - (2 - メチル - 1 H - インドール - 3 - イル) エチル) アミノ) メチル) フェニル) アクリルアミド) オキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリプロピオネート (121) を、白色の固体としてのその塩酸塩として単離した。LC/MS: RT = 4.98 分; m/z = 664.7 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール - d₄): δ 7.70 - 7.68 (m, 3 H)、7.53 (d, J = 7.9 Hz、2 H)、7.47 - 7.40 (m, 1 H)、7.28 (dt, J = 8.0、1.0 Hz、1 H)、7.06 (ddd, J = 8.2、7.1、1.2 Hz、1 H)、7.03 - 6.97 (m, 1 H)、6.55 (d, J = 15.8 Hz、1 H)、5.49 - 5.43 (m, 1 H)、5.43 - 5.39 (m, 1 H)、5.38 - 5.31 (m, 1 H)、5.24 - 5.17 (m, 1 H)、4.66 (s, 1 H)、4.28 (s, 2 H)、3.29 - 3.23 (m, 2 H)、3.17 - 3.10 (m, 2 H)、2.55 - 2.46 (m, 3 H)、2.42 (s, 3 H)、2.34 - 2.20 (m, 2 H)、1.25 - 1.14 (m, 9 H)、1.10 (t, J = 7.6 Hz、3 H)。

【0299】

実施例 15: (2 S, 3 R, 4 R, 5 S, 6 S) - 2 - メチル - 6 - ((E) - 3 - (

4-((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3,4,5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)(122)の調製
【化62】



Ｌ-フコース（３ｇ、１８．４ｍｍｏｌ、１．０当量）を、ピリジン（１３ｍＬ）及びクロロホルム（１９．５ｍＬ）に溶解させた。窒素雰囲気下で、塩化イソブチリル（１３．１４ｍＬ、１２３．８ｍｍｏｌ、６．７当量）を、氷浴温度でゆっくりとシリンジを介して加えた。反応混合物を、室温に昇温させ、次に、４８時間攪拌した。溶液を高真空下で濃縮乾固させ、次に、２ＭのＨＣｌ（１５ｍＬ）でクエンチした。酢酸エチル（２００ｍＬ）を加え、溶液を水で２回洗浄した。有機層を、さらに１回、２ＭのＨＣｌ（２０ｍＬ）、続いて飽和炭酸水素ナトリウム溶液（３０ｍＬ）及び次に水（３０ｍＬ）で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウム溶液上で乾燥させた。溶媒を除去して、（２Ｓ，３Ｓ，４Ｒ，５Ｒ，６Ｓ）-６-メチルテトラヒドロ-２Ｈ-ピラン-２，３，４，５-テトライルテトラキス（２-メチルプロパノエート）を淡黄色の油（９．８ｇ）として得た。ＬＣ／ＭＳ：ＲＴ＝３．９３分； m/z ＝４６２．８〔Ｍ＋１８〕。

【０３００】

酢酸（１．５ｍＬ、２４ｍｍｏｌ、１．４当量）を、ＴＨＦ（２００ｍＬ）中のエチレンジアミン（１．６ｍＬ、２０．５ｍｍｏｌ、１．２当量）の溶液に加えた。沈殿した固体の懸濁液に、（２Ｓ，３Ｓ，４Ｒ，５Ｒ，６Ｓ）-６-メチルテトラヒドロ-２Ｈ-ピラン-２，３，４，５-テトライルテトラキス（２-メチルプロパノエート）（８ｇ、２０．６６ｍｍｏｌ、１．０当量）を一度に加えた。混合物を室温で一晩攪拌した。翌日、ＬＣ／ＭＳ分析は、大部分が未反応の出発材料を示した。反応物を後処理し、再度、同じ反応条件に供し、このとき合計で５日間にわたって攪拌し、その時点で水を加えた。層を分離させ、希薄ＨＣｌ（２％）を加えた後、酢酸エチル（２００ｍＬ）を加えた。振とうした後、層を分離させ、有機層を水で２回洗浄した。有機層を塩水でさらに洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶媒を除去して、（２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ，５Ｒ，６Ｓ）-２-ヒドロキシ-６-メチルテトラヒドロ-２Ｈ-ピラン-３，４，５-トリイルトリス（２-メチルプロパノエート）を黄色の油として得た。粗生成物を８０ｇのシリカゲルカラム上に乾式充填し、１時間にわたって１００％のヘキサンからヘキサン中３０％の酢酸エチルの勾配を用いて精製した。生成物画分を収集し、濃縮して、（２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ，５Ｒ，６Ｓ）-２-ヒドロキシ-６-メチルテトラヒドロ-２Ｈ-ピラン-３，４，５-トリイルトリス（２-メチルプロパノエート）を無色油として得た。（２．８９ｇ）。ＬＣ／ＭＳ：ＲＴ＝３．１９分； m/z ＝３９２．５〔Ｍ＋１８〕。

【０３０１】

ジクロロメタン（６０ｍＬ）中の（２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ，５Ｒ，６Ｓ）-２-ヒドロキシ-６-メチルテトラヒドロ-２Ｈ-ピラン-３，４，５-トリイルトリス（２-メチルプロパノエート）（２．４ｇ、６．４ｍｍｏｌ、１．０当量）の溶液に、ＤＡＳＴ（３．６９ｍＬ、２７．５ｍｍｏｌ、４．３当量）を、０℃で３０分間にわたって３回に分けて滴

下して加えた。混合物をこの温度でさらに30分間攪拌した。TLC分析は、出発材料の非存在を示した。反応混合物を -20°C に冷却し、メタノール(5.0 mL)をゆっくりと加えた。混合物をさらに15分間攪拌し、その時点でジクロロメタンを加え、混合物を、炭酸水素ナトリウムの冷溶液に注いだ。分離した有機層を、2回、1 NのHCl、続いて飽和炭酸水素ナトリウム溶液及び最後に塩水で洗浄した。硫酸ナトリウム上で乾燥させた後、溶媒を除去して、黄色の油(2.5 g)を得た。粗生成物を、100%のヘキサンからヘキサン中25%の酢酸エチルの勾配で溶離する、25 gのシリカゲルカラムを用いた順相精製に供した。生成物画分を収集し、溶媒を除去して、(2RS, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-フルオロ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)を白色の発泡体(2.0 g)として得た。LC/MS: RT=3.64, 3.78分; m/z =377.5 $[M+H]^+$ 。

10

【0302】

アセトニトリル(4.0 mL)中の(2RS, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-フルオロ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)(2000 mg、5.3 mmol、1.0当量)及びN-ヒドロキシフタルイミド(1100 mg、6.89 mmol、1.3当量)の溶液に、トリエチルアミン(0.98 mL、6.8 mmol、1.3当量)を加えた。BF₃·Et₂O(2.1 mL、15.9 mmol、3.0当量)を、シリンジを介してゆっくりと加えた。溶液が、赤色から透明の淡黄色に変化した。30分後、LC/MS分析は、反応が完了し、2つの異性体生成物が得られたことを示した。ジクロロメタンを加え、溶液を、炭酸水素ナトリウムの冷溶液に注いだ。有機層を分離させ、無色になるまで炭酸水素ナトリウム水溶液で2回洗浄した。次に、溶液を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶液を濃縮乾固させて、2500 mgの粗(2RS, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)を得た。生成物を、40分間にわたって100%のヘキサンからヘキサン中25%の酢酸エチルの勾配を用いた(40 gのシリカゲルカラム上での)順相カラムクロマトグラフィーによって精製した。生成物画分を2つのピークとして収集した。ピーク#1(順相、より低い極性)LC/MS(逆相): RT=4.04分; m/z =520.6 $[M+H]^+$ 。ピーク#2(順相、より極性)LC/MS(逆相): RT=3.74分; m/z =520.6 $[M+H]^+$ 。

20

30

【0303】

ピーク#1は、その¹H NMRスペクトルと、文献において特徴付けられたトリアセトキシ類似体(31)との比較によって、所望のα異性体、(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)であることが分かった。それを、白色の固体(1400 mg)として単離した。ピーク#2は、β異性体、(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)であることが分かった。それを、白色の固体(500 mg)として単離した。

40

【0304】

(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)(900 mg、2.3 mmol、1.0当量)を、メタノール(20 mL)に溶解させた。ヒドラジン水和物(65%、2.3 mL、2.3 mmol、1.0当量)を、氷浴温度で滴下して加え、反応混合物を30分間攪拌した。溶液は、透明から濁った状態に変化した。LC/MS分析は、反応が完了したことを示した。ジクロロメタン(25 mL)を加え、分離した有機層を、冷飽和NaHCO₃溶液で2回洗浄した。有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶媒を除去して、(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(アミノオキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H

50

ーピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)を白色の固体(750mg)として得た。LC/MS: RT=2.87分; m/z=390.5 [M+H]⁺。(E)-3-(4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリル酸(29)(300mg、0.53mmol、1.0当量)を、DMF(1.5mL)に溶解させた。EDC(124mg、0.653mmol、1.3当量)及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(100mg、0.65mmol、1.3当量)を加えた。反応混合物を10分間攪拌し、その後、(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(アミノオキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)(247mg、0.53mmol、1.0当量)、続いてDIPEA(1.4当量)を加えた。混合物を室温で2時間攪拌した。LC/MS分析は、所望の生成物の形成を示した。酢酸エチルを加え、混合物を飽和NH₄Cl溶液で2回洗浄した。酢酸エチル層を、2回、NaHCO₃水溶液、及び最後に塩水で洗浄した。溶媒を除去して、淡黄色の発泡体(590mg)を得た。生成物を、45分間にわたって100%のヘキサンからヘキサン中30%の酢酸エチルの勾配で溶離する10gのシリカゲルカラムを用いた順相精製を用いて精製した。生成物画分を収集し、溶媒を除去して、(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(((E)-3-(4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)を白色の発泡体(250mg)として得た。LC/MS: RT=8.13分; m/z=829.1 [M+H]⁺。

【0305】

(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(((E)-3-(4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)(250mg、0.26mmol、1.0当量)を、DMF(1.0mL)に溶解させた。トリエチルアミン(1.0mL)を加え、それを室温で一晩攪拌して、Fmoc保護基を除去した。LC/MSは、所望の生成物を示した。混合物をヘキサンで研和し、酢酸エチルを加え、混合物を、飽和NH₄Clで2回抽出した。組み合わされた有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。溶媒を濃縮して、黄色の発泡体を得た。(300mg)。この残渣を、ヘキサン/DCM(10%)で研和した。粗生成物を濃縮し、乾燥させて、オレンジ色の固体(180mg)を得た。この固体を、HClを含有する緩衝液を用いたHPLCによって精製し、表題化合物(2S, 3R, 4R, 5S, 6S)-2-メチル-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-メチル-1H-インドール-3-イル)エチル)アミノ)メチル)フェニル)アクリルアミド)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリス(2-メチルプロパノエート)(122)を、白色の固体としてのその塩酸塩として単離した。LC/MS: RT=5.67分; m/z=706.9 [M+H]⁺。¹H NMR(500MHz、メタノール-d₄): δ 7.72-7.61(m, 3H)、7.53(d, J=8.2Hz、2H)、7.43(m, 1H)、7.28(dt, J=8.0、1.0Hz、1H)、7.06(ddd, J=8.2、7.1、1.2Hz、1H)、7.00(ddd, J=8.0、7.1、1.1Hz、1H)、6.55(d, J=15.9Hz、1H)、5.48(dd, J=11.1、3.3Hz、1H)、5.40(dd, J=3.4、1.4Hz、1H)、5.33(d, J=3.9Hz、1H)、5.24(d, J=10.3Hz、1H)、4.70(br. s, 1H)、4.28(s, 2H)、3.26(m, 2H)、3.17-3.10(m, 2H)、2.73(m, 1H)、2.67(s, 2H)、2.47(m, 1H)、2.42(s, 3H)、1.31-1.15(m, 15H)、1.12(d, J=7.0Hz、6H)。

10

20

30

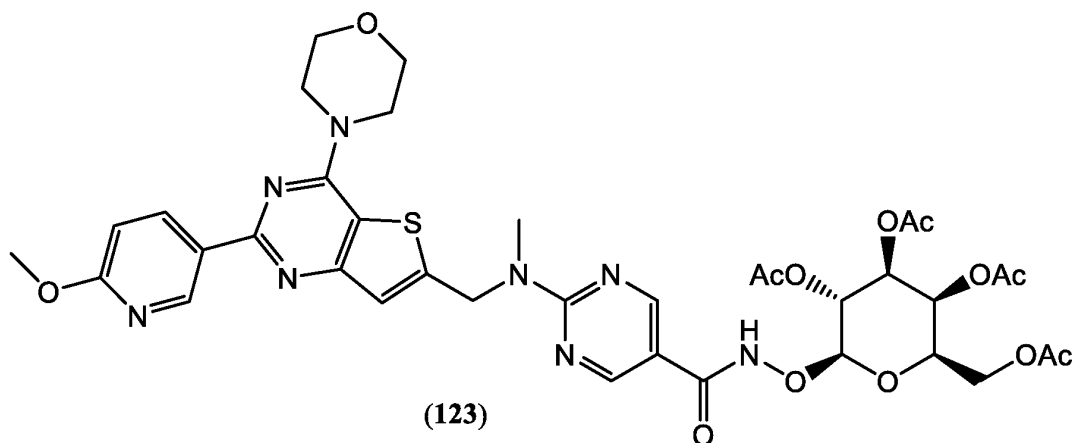
40

50

【0306】

実施例16：(2R, 3S, 4S, 5R, 6S) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - ((2 - ((2 - (6 - メトキシピリジン - 3 - イル) - 4 - モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン - 6 - イル)メチル)(メチル)アミノ)ピリミジン - 5 - カルボキサミド)オキシ)テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート(123)の調製

【化63】



ジオキサン(60 mL)及び水(15 mL)中のメチル2 - (N - ((2 - (6 - メトキシピリジン - 3 - イル) - 4 - モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン - 6 - イル)メチル) - N - メチルアミノ)ピリミジン - 5 - カルボキシレート(国際公開第2018085342A1号パンフレットに記載されるように調製される)(1.8 g、3.5 mmol)の溶液に、LiOH(340 mg、14.2 mmol)を加え、得られた混合物を50℃で16時間撹拌した。反応混合物を室温に冷まし、水(10 mL)で希釈し、2 MのHCl水溶液を用いて約pH 5になるまで酸性化した。次に、反応混合物を減圧下で濃縮して、ジオキサンを除去した。沈殿した生成物をろ過し、水(15 mL)で洗浄し、高真空下で乾燥させて、2 - (N - ((2 - (6 - メトキシピリジン - 3 - イル) - 4 - モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン - 6 - イル)メチル) - N - メチルアミノ)ピリミジン - 5 - カルボン酸をオフホワイトの固体(1.5 g、85%)として得た。LC/MS: RT = 2.52分; m/z = 494.4 [M+H]⁺。

【0307】

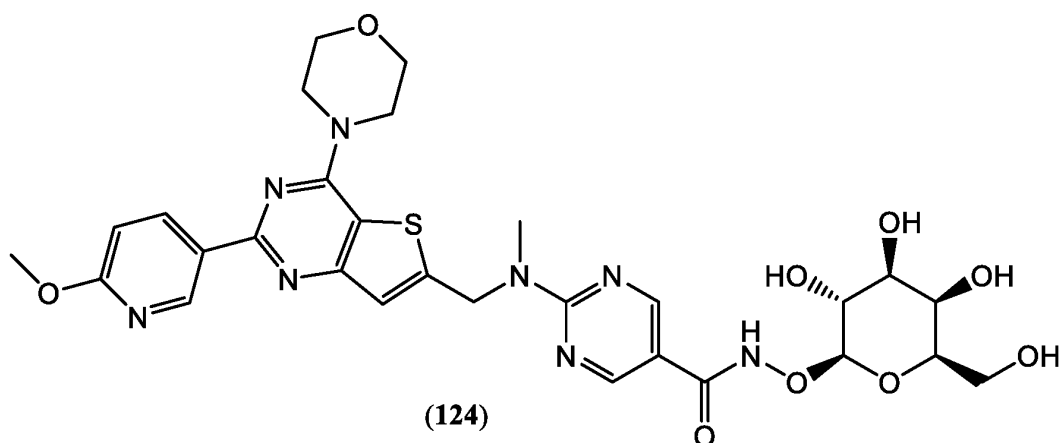
DMF(4.2 mL)中の2 - (N - ((2 - (6 - メトキシピリジン - 3 - イル) - 4 - モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン - 6 - イル)メチル) - N - メチルアミノ)ピリミジン - 5 - カルボン酸(740 mg、1.5 mmol)の懸濁液に、EDC・HCl(401 mg、2.1 mmol)を加えた後、HOBt(321 mg、2.1 mmol)を加え、得られた混合物を室温で5分間撹拌した。化合物(24)(700 mg、1.92 mmol)を一度に加えた。反応混合物を氷/水浴中で冷却し、Et₃N(0.3 mL、2.1 mmol)を加えた。反応混合物を徐々に室温に温め、12時間撹拌した。飽和NH₄Cl水溶液(6 mL)を加え、得られた沈殿物をろ過し、水(10 mL)で洗浄した。残渣をEtOAc(20 mL)に溶解させ、塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥させ、ろ過し、濃縮して、粗生成物(1 g、80%の収率、90%の純度)を白色の泡状の固体として得た。350 mgのこの粗材料を、逆相HPLC上で精製して、146 mgの表題化合物(2R, 3S, 4S, 5R, 6S) - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - ((2 - ((2 - (6 - メトキシピリジン - 3 - イル) - 4 - モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン - 6 - イル)メチル)(メチル)アミノ)ピリミジン - 5 - カルボキサミド)オキシ)テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4, 5 - トリイルトリアセテート(123)を得た。LC/MS: RT = 1.92分; m/z = 839.4 [M+H]⁺。

。 ^1H NMR (500 MHz、メタノール- d_4) : δ 9.08 (d、 $J=2.6$ Hz、1H)、8.79 (s、2H)、8.51 (dd、 $J=8.8$ 、2.6 Hz、1H)、7.56 (s、1H)、7.04 (d、 $J=8.7$ Hz、1H)、5.45 (d、 $J=3.3$ Hz、1H)、5.33 (s、2H)、5.30 (dd、 $J=10.4$ 、8.1 Hz、1H)、5.24 (dd、 $J=10.4$ 、3.4 Hz、1H)、5.06 (d、 $J=8.1$ Hz、1H)、4.29–4.16 (m、7H)、4.06 (s、3H)、3.91 (m、4H)、3.38 (s、3H)、2.18 (s、3H)、2.16 (s、3H)、2.04 (s、3H)、1.98 (s、3H)。

【0308】

実施例 17 : 2-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン-6-イル)メチル)(メチル)アミノ)-N-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド (124) の調製

【化 6 4】

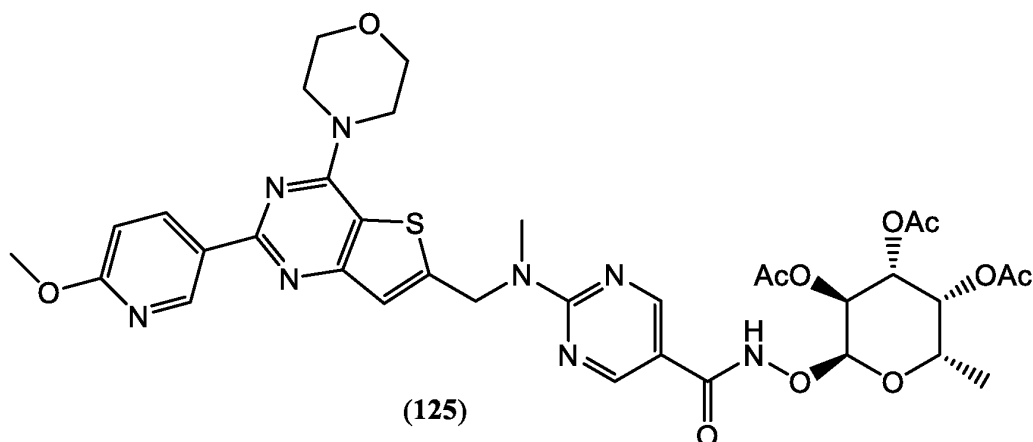


MeOH (7.7 mL) 中の化合物 (123) (650 mg、0.77 mmol) の溶液に、MeOH (0.21 mL、1 mmol) 中 2.5% の NaOMe 溶液を、氷/水浴中で滴下して加えた。次に、反応混合物を室温に温め、1 時間攪拌した。反応混合物を、1 N の HCl 水溶液の添加によってクエンチして、pH を 7 に調整した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を逆相 HPLC によって精製して、表題化合物 2-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン-6-イル)メチル)(メチル)アミノ)-N-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド (124) (267 mg) を白色の粉末として得た。LC/MS : RT=1.34 分; m/z=671.6 [M+H]⁺。 ^1H NMR (500 MHz、メタノール- d_4) : δ 9.08 (dd、 $J=2.7$ 、0.7 Hz、1H)、8.85 (s、2H)、8.51 (dd、 $J=8.9$ 、2.6 Hz、1H)、7.58 (d、 $J=1.0$ Hz、1H)、7.05 (dd、 $J=8.9$ 、0.7 Hz、1H)、5.36–5.34 (m、2H)、4.63 (d、 $J=7.9$ Hz、1H)、4.27 (m、4H)、4.07 (s、3H)、3.94–3.82 (m、6H)、3.78 (dd、 $J=11.4$ 、4.6 Hz、1H)、3.71 (dd、 $J=9.7$ 、7.9 Hz、1H)、3.65 (ddd、 $J=7.6$ 、4.6、1.1 Hz、1H)、3.58 (dd、 $J=9.6$ 、3.4 Hz、1H)、3.38 (s、3H)。

【0309】

実施例 18 : (2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((2-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン-6-イル)

メチル) (メチル) アミノ) ピリミジン-5-カルボキサミド) オキシ) -6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート (125) の調製
【化65】



DMF (4.6 mL) 中の2-(N-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン-6-イル)メチル)-N-メチルアミノ)ピリミジン-5-カルボン酸 (700 mg、1.4 mmol) の溶液に、EDC・HCl (377 mg、1.9 mmol)、続いてHOBt (290 mg、1.9 mmol) を室温で一度に加えた。20分後、反応混合物を氷/水浴中で冷却し、化合物(32) (491 mg、1.6 mmol) 及びDIPEA (0.34 mL、1.4 当量) を0℃で加えた。得られた混合物を室温にし、2時間攪拌した。NH₄Clの冷飽和水溶液 (10 mL) を加え、沈殿した生成物をろ過し、水 (5 mL) で洗浄した。残渣をEtOAc (20 mL) に溶解させ、塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥させ、ろ過し、濃縮して、粗生成物(125) (1.1 g、定量的、90%の純度) を白色の泡状の固体として得た。350 mgのこの粗材料を逆相HPLC上で精製して、153 mgの表題化合物(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((2-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン-6-イル)メチル)(メチル)アミノ)ピリミジン-5-カルボキサミド)オキシ)-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-3, 4, 5-トリイルトリアセテート(125)を得た。LC/MS: RT=1.96分; m/z=781.5 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール-d₄): δ 9.08 (dd、J=2.6、0.8 Hz、1H)、8.80 (s、2H)、8.52 (dd、J=8.8、2.6 Hz、1H)、7.51 (d、J=0.9 Hz、1H)、7.00 (d、J=8.8 Hz、1H)、5.46-5.36 (m、3H)、5.32 (s、2H)、5.17 (dd、J=11.1、4.0 Hz、1H)、4.70 (d、J=6.7 Hz、1H)、4.20 (m、4H)、4.05 (s、3H)、3.90 (m、4H)、3.37 (s、3H)、2.19 (s、3H)、2.17 (s、3H)、2.01 (s、3H)、1.19 (d、J=6.5 Hz、3H)。

【0310】

実施例19: 2-((2-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3, 2-d]ピリミジン-6-イル)メチル)(メチル)アミノ)-N-((2S, 3S, 4R, 5S, 6S)-3, 4, 5-トリヒドロキシー-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド(126)の調製

10

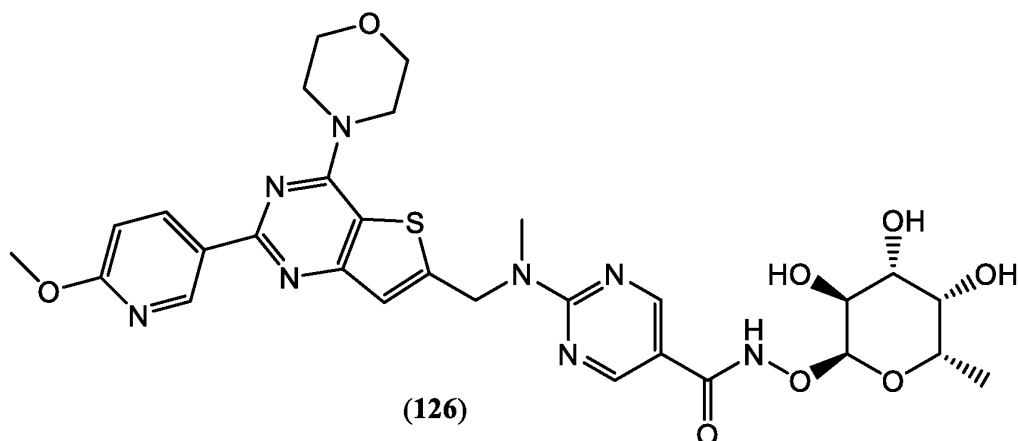
20

30

40

50

【化 6 6】



MeOH (9.6 mL) 中の化合物 (125) (750 mg、0.96 mmol) の溶液に、MeOH (0.22 mL、1.06 mmol) 中 25% の NaOMe 溶液を、氷／水浴中で滴下して加えた。次に、反応混合物を室温に温め、1 時間攪拌した。反応混合物を、1 N の HCl 水溶液の添加によってクエンチして、pH を 7 に調整した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を逆相 HPLC によって精製して、表題化合物 2-((2-(6-メトキシピリジン-3-イル)-4-モルホリノチエノ[3,2-d]ピリミジン-6-イル)メチル)(メチル)アミノ)-N-((2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ピリミジン-5-カルボキサミド (126) (359 mg) を白色の粉末として得た。LC/MS: RT=1.40 分; m/z=655.4 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール-d₄): δ 9.08 (dd, J=2.7、0.7 Hz、1H)、8.81 (s、2H)、8.51 (dd, J=8.8、2.6 Hz、1H)、7.57 (d、J=0.9 Hz、1H)、7.05 (dd, J=8.8、0.7 Hz、1H)、5.34 (m、2H)、5.15 (d、J=3.7 Hz、1H)、4.42 (m、1H)、4.27 (m、4H)、4.07 (s、3H)、3.95-3.84 (m、6H)、3.76 (dd, J=3.0、1.3 Hz、1H)、3.38 (s、3H)、1.26 (d、J=6.5 Hz、3H)。

【0311】

実施例 20: (2-ヒドロキシ-5-イソプロピル-4-((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)(5-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)イソインドリン-2-イル)メタノン (46) 及び (4-ヒドロキシ-5-イソプロピル-2-((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)(5-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)イソインドリン-2-イル)メタノン (47) の調製

10

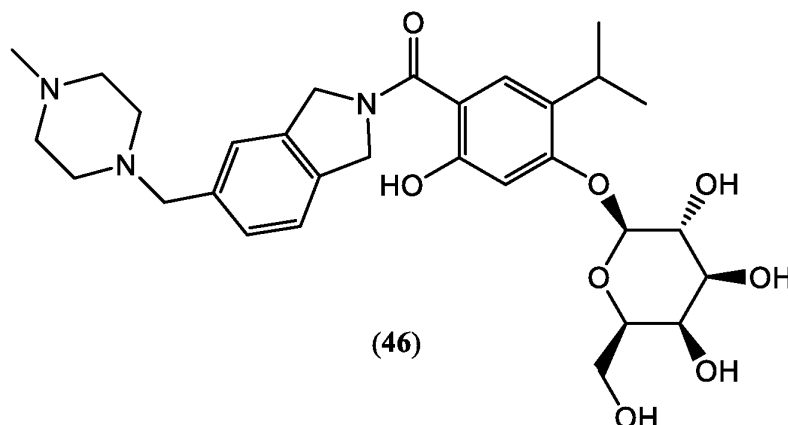
20

30

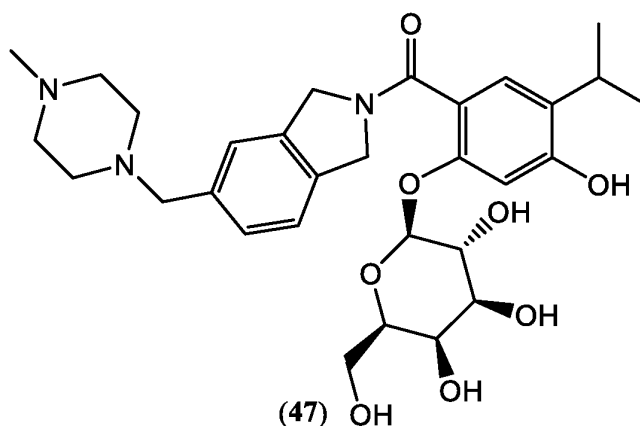
40

50

【化 6 7】



10



20

β-D-ガラクトシルコンジュゲート (46) 及び (47) を、水性媒体中の迅速なオーフェノールグリコシル化のための Wad z i n s k i ら (Nature Chem. Biol., 10 (2018) 644-652) の合成プロトコルへの適応によって合成した。市販の (2, 4-ジヒドロキシ-5-イソプロピルフェニル) (5-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)イソインドリン-2-イル)メタノン、AT13387 (36) から出発して、Ca(OH)₂ の存在下における α-D-ガラクトピラノシルフルオリドによる処理により、β-D-ガラクトシドの位置異性体混合物が得られ、それを HPLC によって分離した。

30

【0312】

α-D-ガラクトピラノシルフルオリドを以下のように調製した：氷／水浴中で冷却されたプラスチック瓶中の β-D-ガラクトースペンタアセテート (10 g、25.7 mmol、1 当量) に、70% の HF・ピリジンの冷溶液 (17 mL、1.5 M) を、シリンジを介してゆっくりと加えた。反応容器に蓋をし、徐々に室温に温め、16 時間攪拌した。反応混合物を、冷水 (50 mL) の添加によってクエンチした。DCM (50 mL) を加え、得られた混合物を 30 分間攪拌した。次に、有機層を分離させ、水性層を DCM (2 × 50 mL) で抽出した。組み合わされた有機層を、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (150 mL)、塩水 (100 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、ろ過し、減圧下で濃縮し、高真空下で乾燥させて、粗残渣を得た。

40

【0313】

上記の残渣に、無水 MeOH (130 mL) を加え、得られた混合物を 15 分間攪拌した。次に、反応混合物を 10 分間にわたって氷／水浴中で冷却し、NaOMe (139 mg、2.57 mmol) を加え、10 分後、氷／水浴を除去し、反応混合物を、3 時間にわたって徐々に室温に温めた。反応混合物を、氷／水浴中で再度冷却し、シリカゲル (11

50

g)を加えた。得られた懸濁液を、高粘度のペーストになるまで濃縮した。7:3のEtOAc:MeOHの溶液(50mL)を加え、5分間十分に攪拌し、ろ過した。残渣を7:3のEtOAc:MeOH(60mL)で洗浄し、組み合わせられたろ液を、ロータリーエバポレータを用いて濃縮乾固させた。残渣を高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物 α -D-ガラクトピラノシルフルオリド(4.2g、91%)を泡状の固体として得て、それをさらに精製せずに次の工程に使用した。

【0314】

水(7mL)及びDMSO(7mL)中のAT13387(36)(90mg、0.22mmol)及び α -D-ガラクトピラノシルフルオリド(1.2g、6.6mmol)の溶液に、Ca(OH)₂(488mg、6.6mmol)を加え、得られた混合物を室温で8時間攪拌した。LC/MSは、所望の化合物(46)及び(47)への実質的な変換を示した。反応混合物を、1MのHCl水溶液の添加によってクエンチして、pH8に調整し、得られた混合物を減圧下で濃縮して、水を除去した。残渣のDMSO溶液を、逆相HPLCによって直接生成し、2つの位置異性体生成物を単離した。生成物の位置化学的なアイデンティティを、逆相LC/MSにおける保持時間と、計算されたLogP値との相関によって推測した(親油性が低いと計算された異性体は、HPLCにおける先に溶出するピークに割り当てられる)。

【0315】

先に溶出するピークは、34mgの(2-ヒドロキシ-5-イソプロピル-4-((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル(5-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)イソインドリン-2-イル)メタノン(46)を白色の固体(cLogP=1.8)として生じた。LC/MS:RT=1.13分;m/z=572.5[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz、メタノール-d₄): δ 7.41-7.35(br s, 2H)、7.33(s, 1H)、7.30(s, 2H)、5.01-4.90(m, 6H)、4.10-4.00(m, 2H)、3.83-3.63(m, 9H)、3.29(m, 4H)、2.88(s, 3H)、1.25(d, J=6.9Hz, 3H) 1.24(d, J=6.9Hz, 3H)。

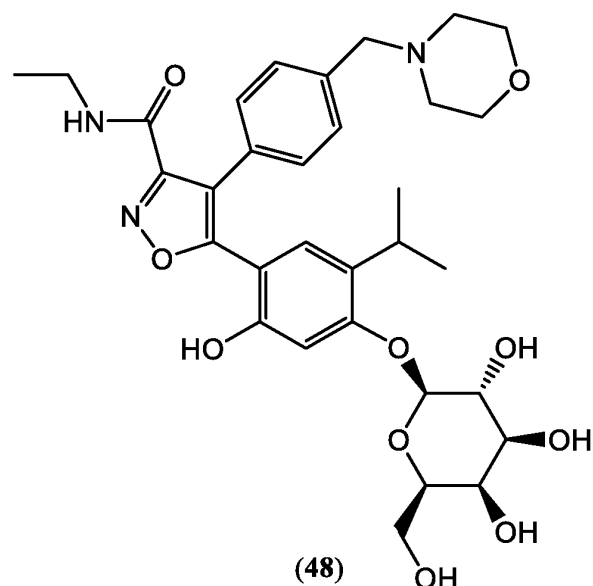
【0316】

後に溶出するピークは、22mgの(4-ヒドロキシ-5-イソプロピル-2-((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル(5-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)イソインドリン-2-イル)メタノン(47)を白色の固体(cLogP=2.0)として生じた。LC/MS:RT=1.20分;m/z=572.5[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz、メタノール-d₄): δ 7.42-7.35(m, 1H)、7.35-7.27(m, 1H)、7.25-7.18(m, 1H)、7.12(d, J=1.7Hz, 1H)、6.78(s, 1H)、4.98-4.78(m, 6H)、4.71(m, 1H)、3.92-3.86(m, 1H)、3.85-3.62(m, 6H)、3.55(m, 1H)、3.30-3.22(m, 7H)、2.88(d, J=8.8Hz, 3H)、1.24(d, J=6.8Hz, 3H)、1.22(d, J=6.8Hz, 3H)。

【0317】

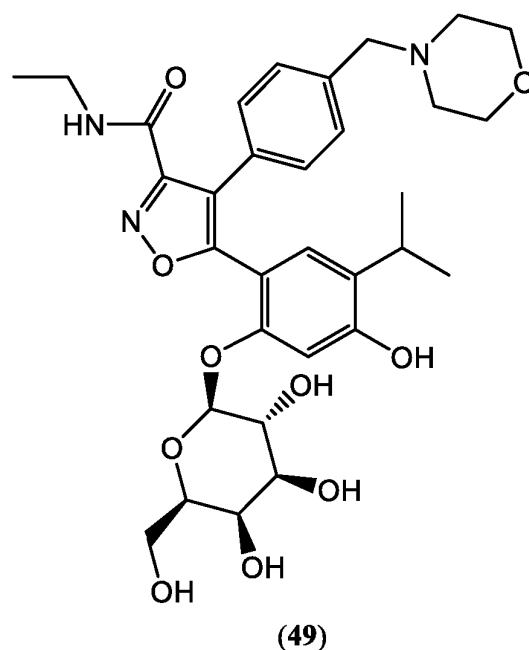
実施例21:N-エチル-5-(2-ヒドロキシ-5-イソプロピル-4-((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4-(4-(モルホリノメチル)フェニル)イソオキサゾール-3-カルボキサミド(48)及びN-エチル-5-(4-ヒドロキシ-5-イソプロピル-2-((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4-(4-(モルホリノメチル)フェニル)イソオキサゾール-3-カルボキサミド(49)の調製

【化 6 8 - 1】



10

【化 6 8 - 2】



20

30

β -D-ガラクトシルコンジュゲート (48) 及び (49) を、水性媒体中での迅速な
 O-フェノールグリコシル化のための Wadziński ら (Nature Chem.
 Biol., 10 (2018) 644-652) の合成プロトコルへの適応によって合成
 した。市販のレゾルシノール化合物 NVP-AUY922 (37) から出発して、Ca (OH)₂ の存在下における α -D-ガラクトピラノシルフルオリドによる処理により、 β -D-ガラクトシドの位置異性体混合物が得られ、それを HPLC によって分離した。

40

【0318】

4 mL バイアル中で、水 (0.4 mL) 中の 5-(2,4-ジヒドロキシ-5-イソプロピルフェニル)-N-エチル-4-(4-(モルホリノメチル)フェニル)イソオキサゾール-3-カルボキサミド、NVP-AUY922 (37)、(100 mg、0.21 mmol)、 α -D-ガラクトピラノシルフルオリド (352 mg、1.9 mmol) 及

50

び $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (47 mg、0.64 mmol) を懸濁した。反応バイアルに蓋をし、得られた混合物を室温で3時間攪拌した。LC/MSは、所望の化合物(48)及び(49)への実質的な変換を示した。反応混合物を、1MのHCl水溶液の添加によってクエンチして、pH8に調整し、得られた混合物を、逆相HPLCによって直接精製して、2つの位置異性体生成物を得た。生成物の位置化学的なアイデンティティを、逆相LC/MSにおける保持時間と、計算されたLog P値との相関によって推測した(親油性が低いと計算された異性体は、HPLCにおける先に溶出するピークに割り当てられる)。

【0319】

先に溶出するピークは、7 mgのN-エチル-5-(2-ヒドロキシ-5-イソプロピル-4-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4-(4-(モルホリノメチル)フェニル)イソオキサゾール-3-カルボキサミド(48)を白色の固体(cLog P=0.88)として生じた。LC/MS: RT=1.29分; m/z=628.4 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール-d₄): δ 7.44 (m、4H)、6.98 (s、1H)、6.73 (s、1H)、4.83 (m、1H)、4.31 (s、1H)、3.94 (s、1H)、3.87-3.76 (m、4H)、3.71 (m、1H)、3.59 (m、1H)、3.39-3.15 (m、11H)、1.23 (t、J=7.3 Hz、3H)、1.06 (d、J=6.9 Hz、3H)、1.05 (d、J=6.9 Hz、3H)。

【0320】

後に溶出するピークは、22 mgのN-エチル-5-(4-ヒドロキシ-5-イソプロピル-2-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4-(4-(モルホリノメチル)フェニル)イソオキサゾール-3-カルボキサミド(49)を白色の固体(cLog P=1.02)として生じた。LC/MS: RT=1.43分; m/z=628.4 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz、メタノール-d₄): δ 7.45 (s、4H)、7.05 (s、1H)、6.72 (s、1H)、4.71 (d、J=7.7 Hz、1H)、4.35 (q、J=7.3 Hz、2H)、4.06 (br. s、1H)、3.86 (m、1H)、3.77-3.70 (m、3H)、3.60 (m、1H)、3.48-3.20 (m、10H)、3.16 (m、1H)、1.23 (t、J=7.3 Hz、3H)、1.10 (d、J=6.9 Hz、3H)、1.09 (d、J=6.9 Hz、3H)。

【0321】

実施例22: 5-(2-ヒドロキシ-5-イソプロピル-4-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4-(1-メチル-1H-インドール-5-イル)-2, 4-ジヒドロ-3H-1, 2, 4-トリアゾール-3-オン(127)及び5-(4-ヒドロキシ-5-イソプロピル-2-((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4-(1-メチル-1H-インドール-5-イル)-2, 4-ジヒドロ-3H-1, 2, 4-トリアゾール-3-オン(128)の調製

10

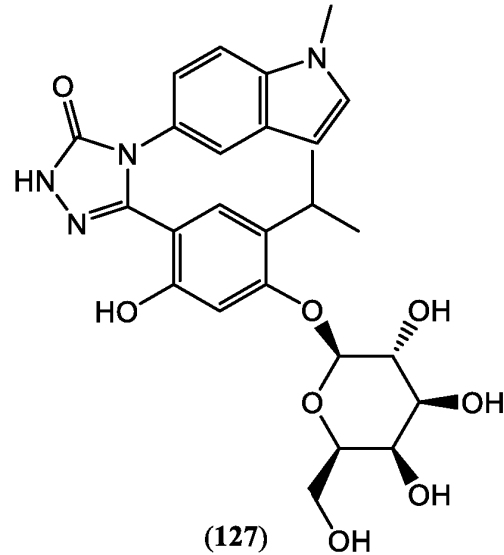
20

30

40

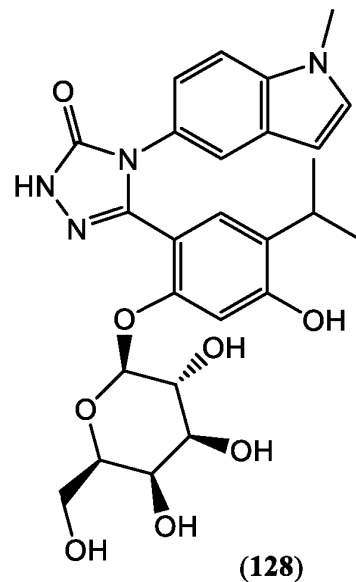
50

【化 6 9 - 1】



10

【化 6 9 - 2】



20

30

無水DMF（10 mL）中の5-（2，4-ジヒドロキシ-5-イソプロピルフェニル）-4-（1-メチル-1H-インドール-5-イル）-2，4-ジヒドロ-3H-1，2，4-トリアゾール-3-オン、ガネテスピブ（38）、（200 mg、0.55 mmol）及び2，3，4，6-テトラ-O-アセチル- α -D-ガラクトピラノシルブロミド（1.35 g、3.3 mmol）の混合物に、 Cs_2CO_3 （3.2 g、9.8 mmol）を加え、得られた混合物を室温で15時間攪拌した。水（100 mL）を加え、得られた混合物をEtOAc（3×50 mL）で抽出した。組み合わされた有機層を塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、ろ過し、減圧下で濃縮した。残渣を高真空下で一晩乾燥させた。

40

【0322】

上記の残渣に、MeOH（5 mL）及びNaOMe（MeOH中25%の溶液、25 μ L、0.11 mmol）を加え、得られた混合物を室温で1時間攪拌した。LC／MSは

50

、所望の化合物（１２７）及び（１２８）への実質的な変換を示した。反応混合物を、ジオキサン溶液中４ＭのＨＣｌの添加によってクエンチして、ｐＨ８に調整した。次に、反応混合物を減圧下で濃縮し、逆相ＨＰＬＣによって精製して、２つの位置異性体生成物を得た。生成物の位置化学的なアイデンティティを、逆相ＬＣ／ＭＳにおける保持時間を、計算されたＬｏｇＰ値との相関によって推測した（親油性が低いと計算された異性体は、ＨＰＬＣにおける先に溶出するピークに割り当てられる）。

【０３２３】

先に溶出するピークは、２５ｍｇの５－（２－ヒドロキシ－５－イソプロピル－４－（（２Ｓ，３Ｒ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｒ）－３，４，５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）フェニル）－４－（１－メチル－１Ｈ－インドール－５－イル）－２，４－ジヒドロ－３Ｈ－１，２，４－トリアゾール－３－オン（１２７）を白色の固体（ $c\text{LogP}=1.96$ ）として生じた。ＬＣ／ＭＳ：ＲＴ＝１．３０分； $m/z=527.2$ [$M+H$]⁺。¹H NMR（５００ＭＨｚ、メタノール－ d_4 ）： δ ７．５３－７．４６（ｍ、２Ｈ）、７．２９（ｄ、 $J=3.2$ Ｈｚ、１Ｈ）、７．０８（ｄｄ、 $J=8.6, 2.1$ Ｈｚ、１Ｈ）、６．７１（ｓ、１Ｈ）、６．６７（ｓ、１Ｈ）、６．４９（ｄｄ、 $J=3.1, 0.8$ Ｈｚ、１Ｈ）、４．８０（ｄ、 $J=7.8$ Ｈｚ、１Ｈ）、３．９０（ｄ、 $J=2.9$ Ｈｚ、１Ｈ）、３．８６（ｓ、３Ｈ）、３．８２－３．７１（ｍ、３Ｈ）、３．６７（ｍ、１Ｈ）、３．５５（ｄｄ、 $J=9.7, 3.4$ Ｈｚ、１Ｈ）、３．１４（ｍ、１Ｈ）、０．７３（ｄｄ、 $J=6.9, 1.7$ Ｈｚ、６Ｈ）。後に溶出するピークは、３５ｍｇの５－（４－ヒドロキシ－５－イソプロピル－２－（（２Ｓ，３Ｒ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｒ）－３，４，５－トリヒドロキシ－６－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）フェニル）－４－（１－メチル－１Ｈ－インドール－５－イル）－２，４－ジヒドロ－３Ｈ－１，２，４－トリアゾール－３－オン（１２８）を白色の固体（ $c\text{LogP}=2.09$ ）として生じた。ＬＣ／ＭＳ：ＲＴ＝１．５４分； $m/z=527.2$ [$M+H$]⁺。¹H NMR（５００ＭＨｚ、メタノール－ d_4 ）： δ ７．５５－７．４９（ｍ、２Ｈ）、７．３０（ｄ、 $J=3.1$ Ｈｚ、１Ｈ）、７．０９（ｄｄ、 $J=8.6, 2.0$ Ｈｚ、１Ｈ）、６．５９（ｓ、１Ｈ）、６．５１（ｄ、 $J=3.0$ Ｈｚ、１Ｈ）、６．２９（ｓ、１Ｈ）、５．２７（ｄ、 $J=9.1$ Ｈｚ、１Ｈ）、４．４０（ｍ、１Ｈ）、３．９８（ｄ、 $J=3.3$ Ｈｚ、１Ｈ）、３．８７（ｓ、３Ｈ）、３．８５－３．７５（ｍ、３Ｈ）、３．７２（ｄｄ、 $J=9.6, 3.3$ Ｈｚ、１Ｈ）、２．９１（ｍ、１Ｈ）、０．６７（ｄ、 $J=6.9$ Ｈｚ、３Ｈ）、０．６５（ｄ、 $J=6.9$ Ｈｚ、３Ｈ）。

【０３２４】

実施例２３：正常増殖性、老化又は静止線維芽細胞に対する化合物の毒性

正常なヒト線維芽細胞（ＩＭＲ９０）及び患者由来のβ－ガラクトシダーゼ（ＧＬＢ１）又はα－フコシダーゼ（ＦＵＣＡ１）欠損細胞を用いて、化合物への曝露後の細胞生存率の変化を決定した。細胞を、５％の二酸化炭素及び５％の酸素の制御された雰囲気下で、ＤＭＥＭ及び１０％の熱で不活性化されたＦＢＳとともに培養した。老化を細胞接触阻害によって誘発し、老化に関連するβ－ガラクトシダーゼ（ＳＡ－β－Ｇａｌ）染色の非存在及び細胞周期に再び入る能力によって確認した。老化を、ドキソルビシンによる処理によって誘発し、ＳＡ－β－Ｇａｌ陽性染色及びＤＮＡ複製の欠如によって確認した。細胞を、３日間にわたって化合物で処理した。細胞生存率を、１０の濃度の試験される化合物でミトコンドリアデヒドロゲナーゼ活性（ＸＴＴアッセイ、Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ）によって決定した。用量反応曲線を生成するために、データを、４パラメータのヒル関数に当てはめ、ＩＣ₅₀を、 $Y=0.5$ 生存率で決定した。各化合物についての老化細胞除去指数（Ｓ．Ｉ．）を、正常な増殖細胞に対するＩＣ₅₀を老化細胞に対するＩＣ₅₀で除算することによって決定した。老化細胞除去指数データが、表１に示され、化合物は、Ｓ．Ｉ．＜１（－）、Ｓ．Ｉ．＞１（＋）、Ｓ．Ｉ．＞５（＋＋）及びＳ．Ｉ．＞１０（＋＋＋）を有する。

【０３２５】

【表 1】

化合物	老化細胞除去指数(S. I.)
(26)	++
(35)	+
(46)	-
(47)	-
(48)	+
(49)	+
(101)	+++
(112)	+
(113)	+++
(114)	+
(115)	+++
(119)	+++
(120)	+
(121)	+++
(122)	+
(123)	+
(124)	-
(125)	++
(126)	-
(127)	+
(128)	-

10

20

30

【0326】

実施例24：マウス胚性線維芽細胞（MEF）に対する5-フルオロウリジン-5'-O-β-D-ガラクトピラノシド（FURGal）（101）の老化細胞除去効果

マウス胚性線維芽細胞を、24時間にわたって300nMのドキソルビシンとともにインキュベートして、老化を誘発した。細胞を洗浄し、7日間にわたる培地中でのインキュベーションの後、老化を、SA-β-Galのための染色（Itahana et al., Methods Mol. Biol. 371 (2007) 21-31）及び5-エチニル-2'-デオキシウリジン（EdU）の組み込みの欠如によって確認した（Yu et al., J. Immunol. Methods 350 (2009) 29-35を参照）。

40

【0327】

増殖又は老化MEFを、4日間にわたって増加する濃度のFURGal（101）又は5-フルオロウリジン（FUR）（102）のいずれかで処理した。細胞を洗浄し、4', 6-ジアミジノ-2-フェニルインドール（DAPI）及びヨウ化プロピジウム（PI）で染色し、生存細胞の分画を、PI陰性核に対するPI陽性核の比率から評価した。図1Aに示される結果は、活性薬剤（102）が、細胞生存率を著しく低下させる一方、プロドラッグ（101）が、4mM程度の濃度で増殖細胞に対して完全に非毒性であることを

50

実証している。対照的に、両方の化合物（１０１）及び（１０２）は、図１Ｂに示されるように、老化MEFに対して等毒性であり、これは、プロドラッグ（１０１）が、老化細胞集団中のヒドロラーゼ酵素によって細胞傷害性FUR（１０２）に効率的に変換されることを示している。

【０３２８】

実施例２５：C57BL／6マウスに対する５－フルオロウリジン－５’－O－β－D－ガラクトピラノシド（FURGal）（１０１）及び５－フルオロウリジン（FUR）（１０２）の毒性の比較

等モル用量の（１０１）（１６０mg／kg）及び（１０２）（１００mg／kg）を、マウスの２つの群（それぞれN＝３）への単回用量の腹腔内注入によって投与した。処理の６日後、血球数を、標準方法（図２Ａ）によって決定し、大腿骨からの骨髓細胞を計数し（図２Ｂ）、脾臓重量（図２Ｃ）を決定して、２つの薬剤の毒性を比較した。プロドラッグ（１０１）は、血小板、好中球、リンパ球及び骨髓細胞に対するわずかな毒性を示す一方、FUR（１０２）は、全ての細胞集団の著しい減少を誘発する。プロドラッグ（１０１）はまた、FUR（１０２）と比較して脾臓重量に対する最小の効果を示す。

【０３２９】

実施例２６：インビボ投与後の老化C57BL／6マウス肝細胞に対する５－フルオロウリジン－５’－O－β－D－ガラクトピラノシド（FURGal）（１０１）の効果

C57BL／6マウス（N＝５／群）の２つの群に、ドキソルビシン（２５mg／kg）を腹腔内注入して、肝細胞老化を誘導した。４及び６日後、群に、PBS又はFURGal（１４０mg／kg）（１０１）を注入した。５匹の動物の第３の群を対照として用いた。さらに４日後、肝臓を取り出し、薄片化した（３０μm）後、SA-β-Galについて染色した（動物当たり６つの視野を評価した）（図３Ａ及び３Ｂ）。図３Ｃに示されるように、定量は、FURGal処理後の老化肝細胞の減少についての数値的な傾向を示した。分析当日のマウスの平均体重が図３Ｄに示される。

【０３３０】

実施例２７：インビボ投与後の老化C57BL／6マウス肝細胞に対する（２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｓ）－２－（アセトキシメチル）－６－（（（Ｅ）－３－（４－（（２－（２－メチル－１Ｈ－インドール－３イル）エチル）アミノ）メチル）フェニル）アクリルアミド）オキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３，４，５－トリイルトリアセテート（１１３）（aka RBO-013）の効果

C57BL／6マウス（N＝９／群）の２つの群に、ドキソルビシン（２０mg／kg）を腹腔内注入して、肝細胞老化を誘導した。４及び６日後、群に、PBS又は化合物（１１３）（aka RBO-013）（２×２０mg／kg）を腹腔内（i.p.）注入した。動物の第３の群を対照として用いた。さらに２日後、肝臓を取り出し、薄片化した（３０μm）後、上述されるようにSA-β-Galについて染色した（図４Ａ及び４Ｂ）。図４Ｃに示されるように、定量は、（１１３）による処理後に老化肝細胞（SA-β-Gal染色によって可視化される）の減少を示した。この老化細胞除去効果はまた、Cdkn2a（p16^{INK4a}）及びIL-6のmRNAレベルを検出するために定量PCRを使用することによって裏付けられた（N.B. Cdkn2a発現が、ドキソルビシンを投与された動物のみに検出された）。発現レベルを、参照遺伝子としてのActbに対して報告した。図４Ｄ及び４Ｅはそれぞれ、Cdkn2a及びIL-6遺伝子発現の有意な減少を示す。

【０３３１】

実施例２８：インビボ投与後のC57BL／6マウスの老化肺細胞に対する（２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ，５Ｓ，６Ｓ）－２－メチル－６－（（（Ｅ）－３－（４－（（２－（２－メチル－１Ｈ－インドール－３イル）エチル）アミノ）メチル）フェニル）アクリルアミド）オキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３，４，５－トリイルトリアセテート（１１９）（aka RBO-019）の老化細胞除去効果

C57BL／6マウス（N＝９／群）の４つの群に、ドキソルビシン（１５mg／kg

10

20

30

40

50

）を静脈内注入して、肺組織における老化を誘導した。5日後、群に、ビヒクル又は化合物（119）（a k a R B O - 0 1 9）（静脈内（i . v . ）に10、20又は40 m g / k g）を注入した。さらに3日後、肺を取り出し、左葉を薄片化した後、上述されるようにS A - β - G a lについて染色した（図5 A及び5 B）。図5 Cに示されるように、定量は、（119）による処理後にS A - β - G a l染色の用量依存的減少を示した。この老化細胞除去効果はまた、C d k n 2 a（p 1 6 ^{I N K 4 a}）のm R N Aレベルを検出するために定量P C Rを使用することによって裏付けられた。発現レベルを、参照遺伝子としてのA c t bに対して報告した。図5 Dは、肺におけるC d k n 2 a遺伝子発現の用量依存的減少を示す。

【図面】

【図 1 A】

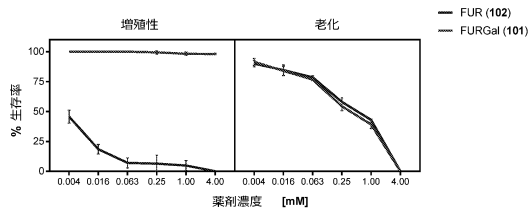


FIG. 1A

FIG. 1B

【図 1 B】

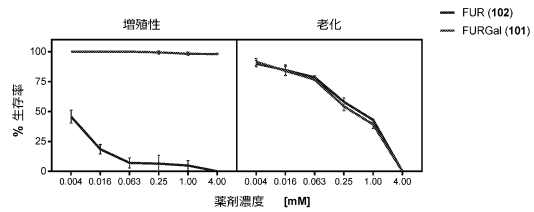


FIG. 1A

FIG. 1B

【図 2 A】

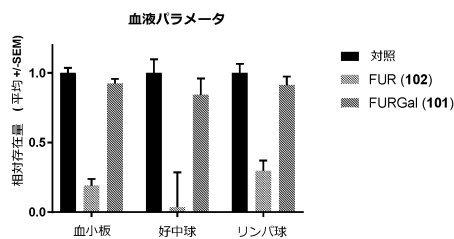


FIG. 2A

【図 2 B】

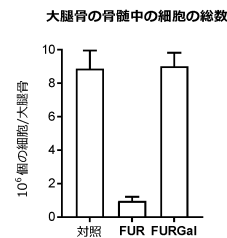


FIG. 2B

10

20

30

40

50

【図 2 C】

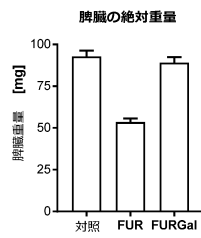


FIG. 2C

【図 3 A】

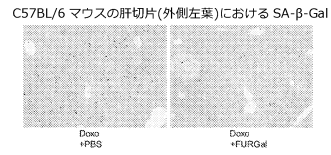


FIG. 3A

FIG. 3B

10

【図 3 B】

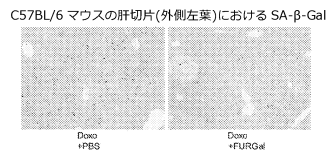


FIG. 3A

FIG. 3B

【図 3 C】

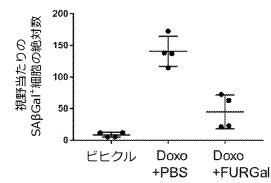


FIG. 3C

20

【図 3 D】

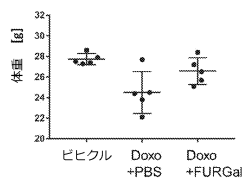


FIG. 3D

【図 4 A】



30

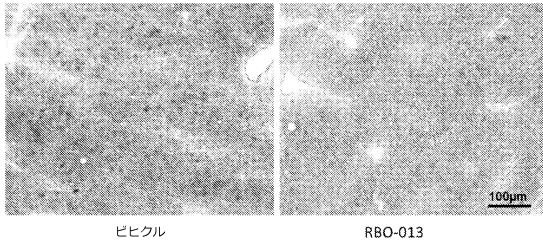
40

50

【図 4 B】

FIG. 4B

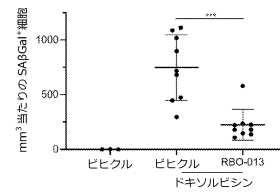
肝臓(外側左葉)における老化に関連するβ-ガラクトシダーゼ(SAβGal)活性



【図 4 C】

FIG. 4C

肝臓における SAβGal 活性

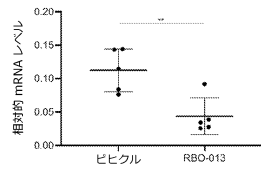


10

【図 4 D】

FIG. 4D

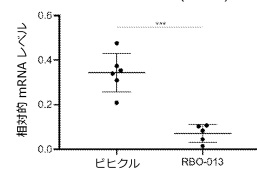
肝臓における Cdkn2a(mRNA)レベル



【図 4 E】

FIG. 4E

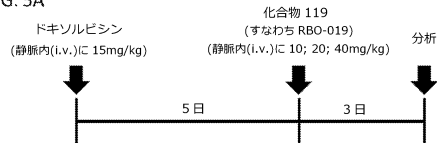
肝臓における Il6(mRNA)レベル



20

【図 5 A】

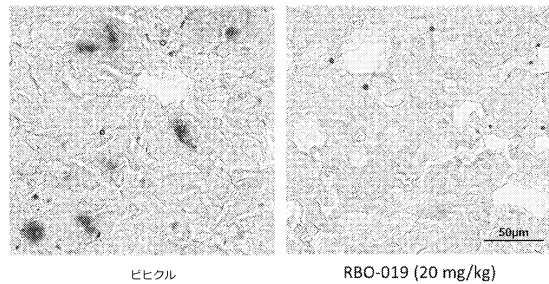
FIG. 5A



【図 5 B】

FIG.5B

肺(左葉)における老化に関連するβ-ガラクトシダーゼ活性

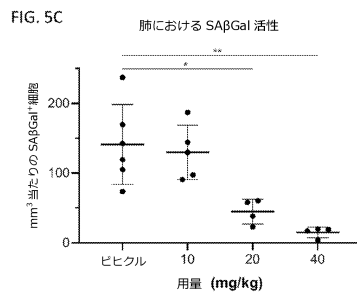


30

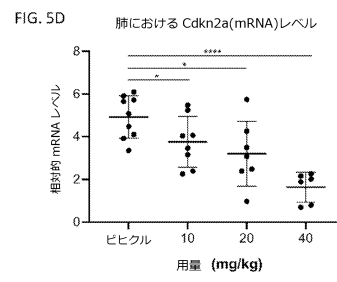
40

50

【図 5 C】



【図 5 D】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 P 1/00 (2006.01)
 A 6 1 P 1/02 (2006.01)
 A 6 1 P 1/04 (2006.01)
 A 6 1 P 1/16 (2006.01)
 A 6 1 P 1/18 (2006.01)
 A 6 1 P 3/00 (2006.01)
 A 6 1 P 3/04 (2006.01)
 A 6 1 P 3/06 (2006.01)
 A 6 1 P 3/10 (2006.01)
 A 6 1 P 7/00 (2006.01)
 A 6 1 P 9/00 (2006.01)
 A 6 1 P 9/04 (2006.01)
 A 6 1 P 9/06 (2006.01)
 A 6 1 P 9/10 (2006.01)
 A 6 1 P 9/12 (2006.01)
 A 6 1 P 11/00 (2006.01)
 A 6 1 P 11/04 (2006.01)
 A 6 1 P 11/06 (2006.01)
 A 6 1 P 13/12 (2006.01)
 A 6 1 P 15/00 (2006.01)
 A 6 1 P 17/00 (2006.01)
 A 6 1 P 17/02 (2006.01)
 A 6 1 P 17/06 (2006.01)
 A 6 1 P 17/14 (2006.01)
 A 6 1 P 19/02 (2006.01)
 A 6 1 P 19/10 (2006.01)
 A 6 1 P 21/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/02 (2006.01)
 A 6 1 P 25/04 (2006.01)
 A 6 1 P 25/14 (2006.01)
 A 6 1 P 25/16 (2006.01)
 A 6 1 P 25/28 (2006.01)
 A 6 1 P 27/02 (2006.01)
 A 6 1 P 27/06 (2006.01)
 A 6 1 P 27/12 (2006.01)
 A 6 1 P 27/16 (2006.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/00 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 35/04 (2006.01)
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)
 A 6 1 P 37/08 (2006.01)
 C 0 7 H 15/26 (2006.01)
 C 0 7 H 17/02 (2006.01)

F I

A 6 1 K 31/7064
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 1/00
 A 6 1 P 1/02
 A 6 1 P 1/04
 A 6 1 P 1/16
 A 6 1 P 1/18
 A 6 1 P 3/00
 A 6 1 P 3/04
 A 6 1 P 3/06
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 7/00
 A 6 1 P 9/00
 A 6 1 P 9/04
 A 6 1 P 9/06
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 9/12
 A 6 1 P 11/00
 A 6 1 P 11/04
 A 6 1 P 11/06
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 15/00
 A 6 1 P 17/00
 A 6 1 P 17/02
 A 6 1 P 17/06
 A 6 1 P 17/14
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 19/10
 A 6 1 P 21/00
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 P 25/04
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 27/02
 A 6 1 P 27/06
 A 6 1 P 27/12
 A 6 1 P 27/16
 A 6 1 P 27/16
 A 6 1 P 29/00
 A 6 1 P 31/00
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 35/04
 A 6 1 P 37/06
 A 6 1 P 37/08
 C 0 7 H 15/26
 C 0 7 H 17/02

ニア州, サンフランシスコ, ウィスコンシン ストリート 5 6 6

(72)発明者 クアルタ, マルコ

アメリカ合衆国 9 4 0 8 7 カリフォルニア州, サニーベール, ヘーロン アベニュー 1 7 2 9

(72)発明者 クレイン, ジュリアン

アメリカ合衆国 9 4 0 2 2 カリフォルニア州, ロスアルトス, ロスアルトス アベニュー 1 0 7 5

審査官 鳥居 福代

(56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 1 8 / 0 0 2 1 3 2 3 (U S, A 1)
特表 2 0 1 0 - 5 1 3 3 2 6 (J P, A)

米国特許出願公開第2017/0056421 (US, A1)

Scientific Reports, 2017年05月15日, 7:1900, pp.1-11

PLoS ONE, 2018年01月09日, Vol.13, No.1, e0190374, pp.1-14

Cell Cycle, 2013年06月15日, Vol.12, Issue 12, pp.1922-1927

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007年, Vol.17, pp.983-986

J. Org. Chem., 2007年, Vol.72, No.11, pp.4262-4264

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C07H

C07D

A61K

A61P

Caplus/REGISTRY (STN)