

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-520515

(P2016-520515A)

(43) 公表日 平成28年7月14日(2016.7.14)

(51) Int.Cl.	F 1		テーマコード (参考)
A61K 31/17 (2006.01)	A 61 K 31/17	Z N A	4C055
A61P 3/06 (2006.01)	A 61 P 3/06		4C086
A61P 9/10 (2006.01)	A 61 P 9/10	1 O 1	4C206
A61P 9/00 (2006.01)	A 61 P 9/00		4H006
A61P 43/00 (2006.01)	A 61 P 9/10		

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-501157 (P2016-501157)	(71) 出願人	515254541 シファ・バイオメディカル・コーポレイション S h i f a B i o m e d i c a l C o r p o r a t i o n アメリカ合衆国 19355ペンシルベニア州マルバーン、ワン・グレート・バレーパークウェイ、スウィート8
(86) (22) 出願日	平成26年3月11日 (2014.3.11)	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 阜二
(85) 翻訳文提出日	平成27年11月10日 (2015.11.10)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 葉
(86) 國際出願番号	PCT/US2014/023135	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(87) 國際公開番号	W02014/150395		
(87) 國際公開日	平成26年9月25日 (2014.9.25)		
(31) 優先権主張番号	61/789,867		
(32) 優先日	平成25年3月15日 (2013.3.15)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】抗P C S K 9 化合物および心血管疾患の治療および／または予防のための方法

(57) 【要約】

プロタンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシン 9型 (P C S K 9) の生理作用を調節する化合物、ならびに、L D L コレステロール濃度を減少させるため、および／または高コレステロール血症を包含する心血管疾患 (C V D) の治療および／または予防のためのこれらの調節物質を使用する方法が記載されている。

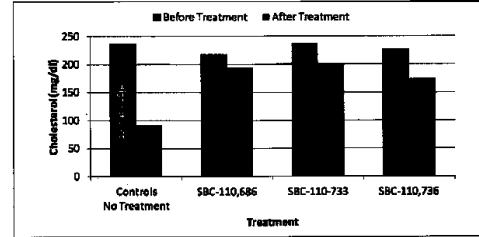


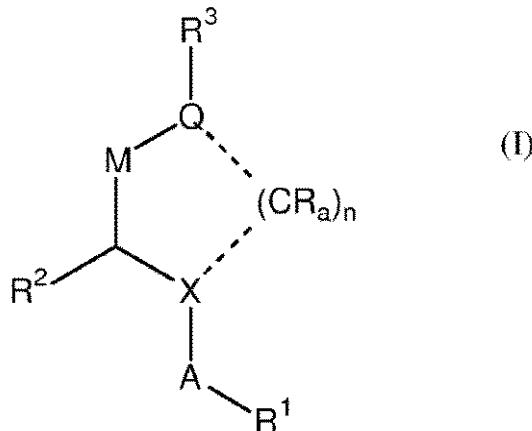
FIGURE 15

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

高コレステロール血症、および／または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防を必要とする患者において、高コレステロール血症、および／または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状を治療または予防するための方法であって、該患者に、式(I)：

【化1】



10

20

30

40

[式中、R¹、R²およびR³は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；

Xは、OおよびNR⁴であり；R⁴は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、または、QもしくはR¹、および、それぞれが結合している原子と一緒にになって置換されていてもよい5員または6員複素環を形成してもよく；

Aは、CO、CONR⁵、SO₂、C(=O)-OまたはR¹への原子価結合手であり；R⁵は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

Mは、COおよびCR⁶R⁷であり；R⁶およびR⁷は、独立して、H、低級アルキル、および、Qへの結合手からなる群から選択されるか、または、R³、およびそれぞれが結合している原子と一緒にになって、置換されていてもよい、アリール、ヘテロアリールまたは複素環を形成してもよく；

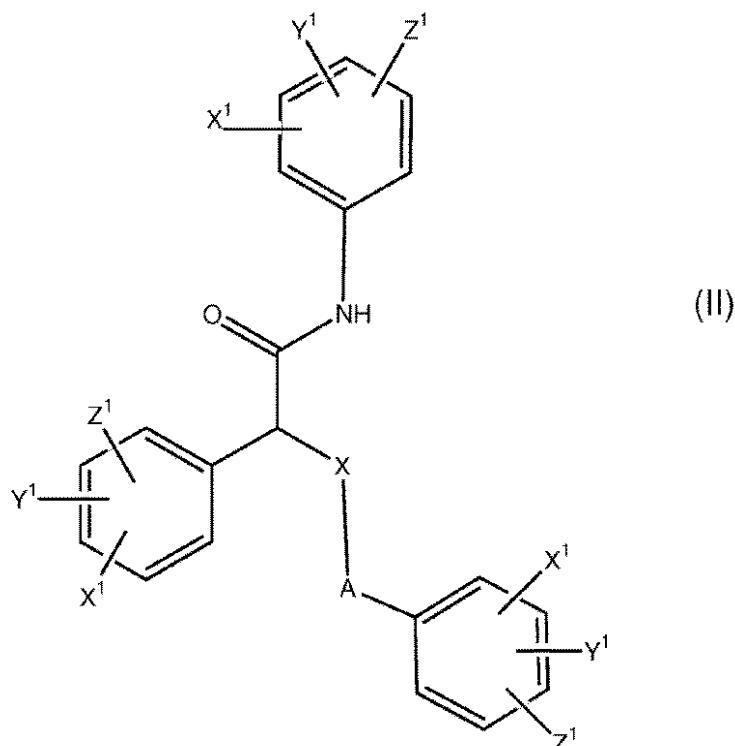
Qは、OおよびNR⁸からなる群から選択され；R⁸は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、または、XがNR⁴であり、QがNR⁸である場合、R⁴およびR⁸、ならびに、R⁴およびR⁸のそれぞれが結合している窒素原子が、---(CR_a)_n---によって表される置換されていてもよい5員または6員複素環を形成してもよく、ここで、R_aは、Hまたは低級アルキルを表し、n = 1または2である]

で示される少なくとも1つの化合物ならびに該化合物の医薬上許容される塩および全ての立体異性体の治療上有効量を投与することを含む、方法。

【請求項 2】

該患者に、式：

【化 2】



10

20

30

40

[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミド（ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する）、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボニルアミノ、カルバマト（carbamato）、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し；

X は、OおよびNR⁴であり；R⁴は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

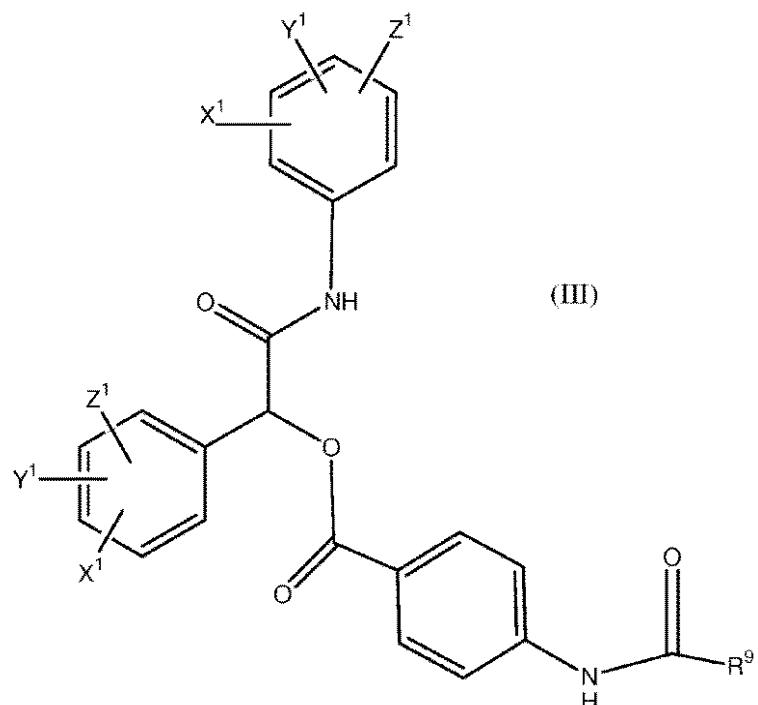
Aは、CO、CONR⁵、およびSO₂であり；R⁵は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択される]

で示される少なくとも1種類の化合物を投与する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

該患者に、式：

【化 3】



10

20

30

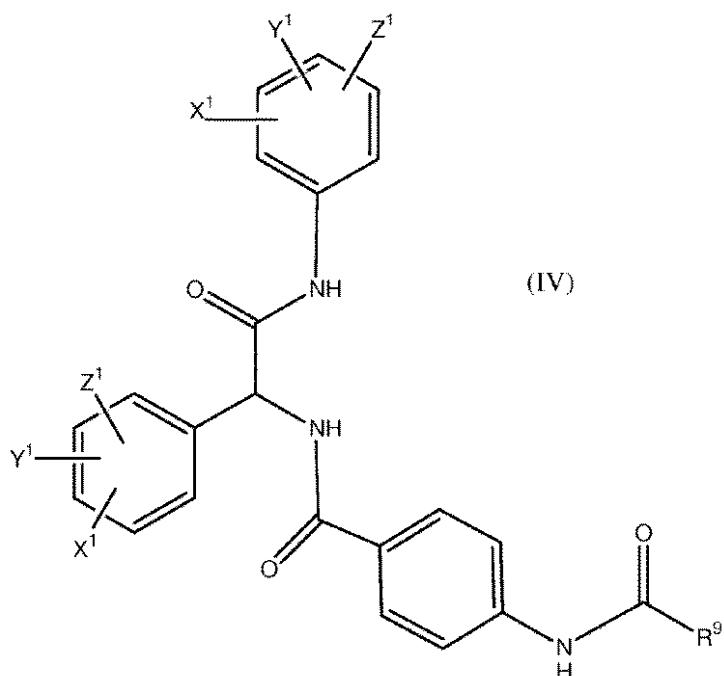
[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミド（ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する）、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボニルアミノ、カルバマト（carbamato）、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^9 は、H、OR¹⁰およびNR¹⁰R¹¹からなる群から選択され；R¹⁰およびR¹¹は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、一緒になって置換されていてもよい複素環を形成する]

で示される少なくとも1種類の化合物を投与する、請求項2記載の方法。

【請求項4】

該患者に、式：

【化4】



10

20

30

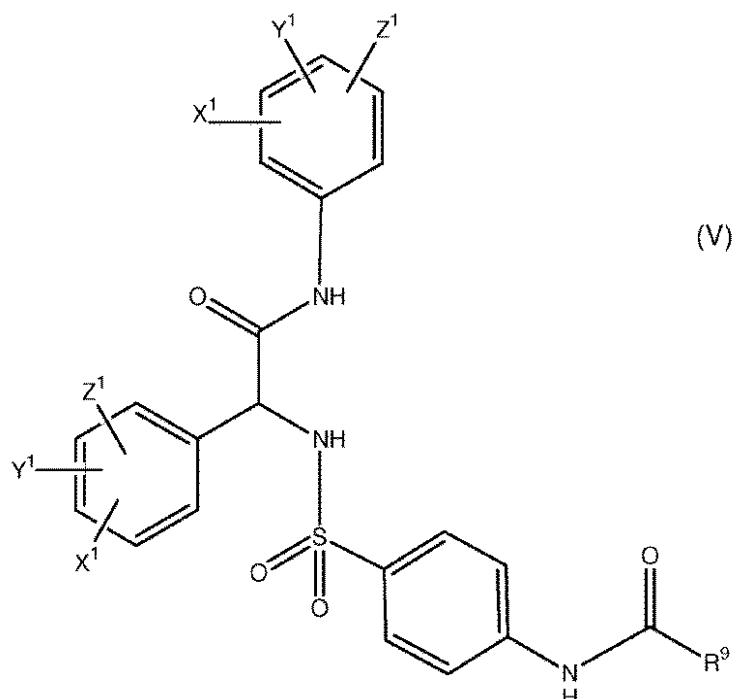
[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミド（ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する）、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボニルアミノ、カルバマト（carbamato）、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^9 は、H、OR¹⁰およびNR¹⁰R¹¹からなる群から選択され；R¹⁰およびR¹¹は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、一緒になって置換されていてもよい複素環を形成する]

で示される少なくとも1種類の化合物を投与する、請求項2記載の方法。

【請求項5】

該患者が、式：

【化5】



10

20

30

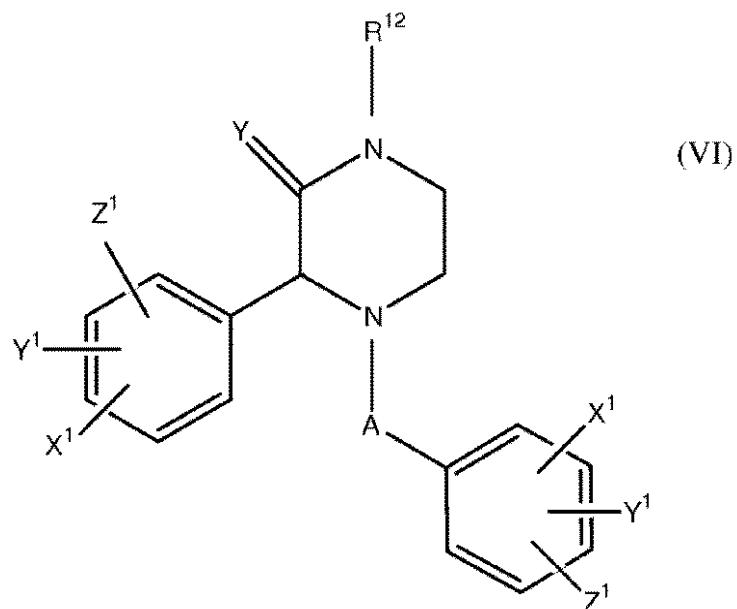
[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^9 は、H、OR¹⁰およびNR¹⁰R¹¹からなる群から選択され；R¹⁰およびR¹¹は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、一緒になって置換されていてもよい複素環を形成する]

で示される少なくとも1種類の化合物を投与する、請求項2記載の方法。

【請求項6】

該患者に、式：

【化6】



10

20

30

[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^{12} は、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；

A は、COおよびSO₂であり；

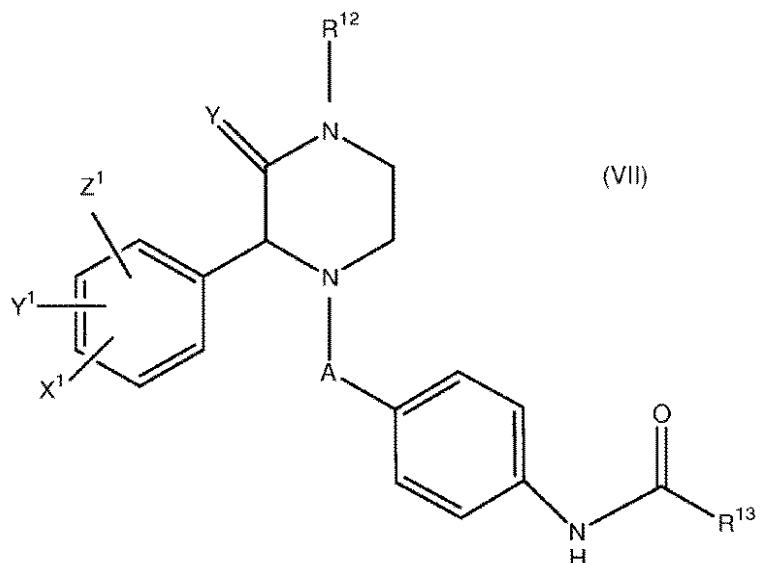
Y は、H₂またはOである]

で示される少なくとも1種類の化合物を投与する、請求項1記載の方法。

【請求項7】

式：

【化7】



[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^{12} は、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され； R^{13} は、H、O R^{14} およびNR $^{14}R^{15}$ からなる群から選択され； R^{14} および R^{15} は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、窒素原子に結合している場合には一緒に置換されていてもよい複素環を形成し；

Aは、COおよびSO₂であり；

Yは、H₂またはOである]

で示される少なくとも6種類の化合物を投与する、請求項6記載の方法。

【請求項8】

高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防を必要とする患者において、高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状を治療または予防するための方法であつて、循環PCK9をアンタゴナイズするPCK9機能の調節物質の治療上有効量を投与することを含む、方法。

【請求項9】

式：

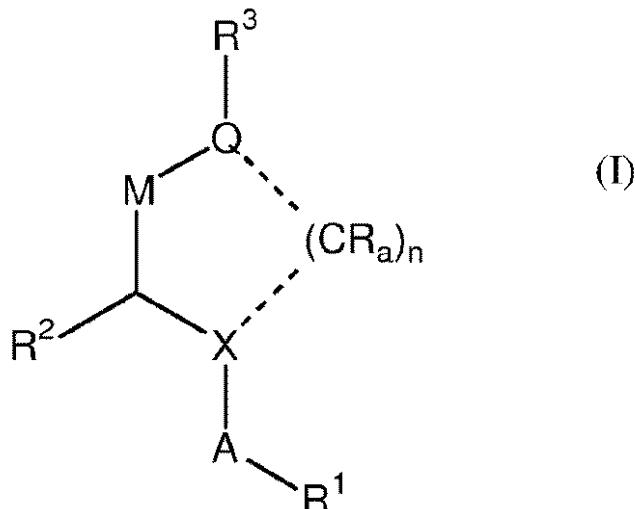
10

20

30

40

【化 8】



10

20

30

40

50

[式中、R¹、R²およびR³は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；

Xは、OおよびNR⁴であり；R⁴は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、または、QもしくはR¹、および、それぞれが結合している原子と一緒にになって置換されていてもよい5員または6員複素環を形成してもよく；

Aは、CO、CONR⁵、SO₂、C(=O)-OまたはR¹への原子価結合手であり；R⁵は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

Mは、COおよびCR⁶R⁷であり；R⁶およびR⁷は、独立して、H、低級アルキル、および、Qへの結合手からなる群から選択されるか、または、R³、およびそれぞれが結合している原子と一緒にになって、置換されていてもよい、アリール、ヘテロアリールまたは複素環を形成してもよく；

Qは、OおよびNR⁸からなる群から選択され；R⁸は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、または、XがNR⁴であり、QがNR⁸である場合、R⁴およびR⁸、ならびに、R⁴およびR⁸のそれぞれが結合している窒素原子が、---(CR_a)_n---によって表される置換されていてもよい5員または6員複素環を形成してもよく、ここで、R_aは、Hまたは低級アルキルを表し、n = 1または2である]

で示される化合物（ただし、4-(カルバモイルアミノ)安息香酸[(3-クロロ-4-メチルフェニル)カルバモイル](フェニル)メチルを含まない）ならびに該化合物の医薬上許容される塩および全ての立体異性体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2013年3月15日に出願された米国仮特許出願番号第61/789,867号（出典明示によりその全体として本明細書の一部を構成する）の利益を主張する。

【0002】

連邦政府資金による研究開発の記載

本発明は、SBIR許可番号第HL092712号の下に国立心臓・肺・血液研究所（National Heart, Lung and Blood Institute）（NHLBI）の支援によって行われた。米国政府は、本発明において一定の権利を有する。

【0003】

発明の分野

本発明は、低密度リポタンパク質受容体（LDLR）との相互作用を含む、プロタンパ

ク質転換酵素サブチリシン / ケキシン 9 型 (P C S K 9) の生理作用を調節する化合物に関する。さらに詳しくは、本発明は、 P C S K 9 機能の小分子調節物質を含む組成物およびこれらの調節物質の医薬としての使用方法に関する。 P C S K 9 機能の小分子調節物質は、 L D L コレステロールの血中レベルを低下させるために治療に使用され得、家族性高コレステロール血症、アテローム生成脂質異常症、アテローム動脈硬化症、および、より一般的には心血管疾患 (C V D) を包含するコレステロールおよびリポタンパク質代謝障害の予防および / または治療に使用され得る。

【背景技術】

【 0 0 0 4 】

心血管疾患は、主な死亡原因であり、心血管疾患の主な原因是、アテローム動脈硬化症である。アテローム動脈硬化症は、動脈の疾患であり、先進工業国における多くの死亡に関連する冠動脈心疾患の原因である。現在、冠動脈心疾患のいくつかの危険因子が同定されている：脂質異常症、高血圧、糖尿病、喫煙、質の悪い食事、運動不足 (inactivity) およびストレス。脂質異常症は、アテローム動脈硬化症の発症に関与する血漿コレステロールの上昇 (高コレステロール血症) および / またはトリグリセリド (T G) の上昇または低い高密度リポタンパク質 (H D L) レベルである。それは、心血管疾患に関与することが証明されている代謝障害である。血液中で、コレステロールは、リポタンパク質粒子中に輸送される。低密度リポタンパク質 (L D L) コレステロール (L D L - C) は、「悪玉」コレステロールと見なされており、一方、 H D L コレステロール (H D L - C) は、「善玉」コレステロールとして知られている。脂質およびリポタンパク質の異常は、一般集団において極めて一般的であり、アテローム動脈硬化症に与えるコレステロールの影響に起因して、心血管疾患の非常に修正可能な危険因子であると見なされている。 C V D について、長い間、相当な満たされない要求があり、 60 ~ 70 % の心血管イベント、心臓発作および脳卒中が、スタチンによる治療 (アテローム動脈硬化症の現行標準治療) にもかかわらず発生している。さらによく、新しいガイドラインによると、ハイリスク患者を早期 (premature) C V D から保護するためには、かなり低い L D L レベルが達成されるべきである (非特許文献 1) 。

【 0 0 0 5 】

P C S K 9 とコレステロール代謝の関連の確立後、急速に、 P C S K 9 遺伝子の選択的変異が常染色体優性高コレステロール血症を引き起こすことが見出された (非特許文献 2) 。これは、該変異が正常な P C S K 9 活性を高めることによって機能獲得をもたらす (非特許文献 3) ことを示唆している。このことは、野生型および変異 P C S K 9 (S 1 2 7 R および F 2 1 6 L) がマウスの肝臓で高レベルに発現した実験によって裏付けられた ; 野生型または変異 P C S K 9 を受けているマウスにおいて、肝臓の L D L R タンパク質レベルは劇的に低下した (非特許文献 4 、非特許文献 5) 。関連する L D L R m R N A レベル低下は見られなかった。これは、変異または野生型に関係なく P C S K 9 の過剰発現が転写後メカニズムを介して L D L R を減少させたことを示している。

【 0 0 0 6 】

P C S K 9 の機能獲得型変異が高コレステロール血症を引き起こすならば、機能喪失型変異が逆の効果を及ぼして低コレステロール血症を引き起こすかどうかを尋ねることは理にかなっていた。アフリカ系アメリカ人において、 P C S K 9 の 3 種類の機能喪失型変異 (Y 1 4 2 X 、 L 2 5 3 F および C 6 7 9 X) が同定された (非特許文献 6) 。これらの変異は、 L D L - C レベルを 28 % 低下させ、 C H D (心筋梗塞、冠動脈疾患による死、または冠動脈再建であると定義される) の頻度を 88 % 減少させることが示された。 Rashidら (非特許文献 7) は、マウスの機能喪失型変異のメカニズムを研究した。 P C S K 9 は不活性化された。彼らは、これらのノックアウトマウスが、肝臓の L D L R タンパク質 (m R N A ではない) の増加、循環リポタンパク質のクリアランスの増加、および血漿コレステロールレベルの減少を示したことを報告した。 P C S K 9 の自然発生変異の構造 - 機能関係分析は、また、 P C S K 9 の作用機序への洞察を提供してきた。興味深いことに、 L D L - C 血漿レベルの最大限の低下に関連することが見出された P C S K 9 の変異は

10

20

30

40

50

、その合成を中断させることによって(Y 1 4 2 X)、自己触媒的なプロセシングによって(L 2 5 3 F)、または折り畳みによって(C 6 7 9 X)、成熟 P C S K 9 の分泌を予防するものである(非特許文献 8)。 Y 1 4 2 X 変異は、検出可能なタンパク質を生産しない。なぜなら、それは、転写の初期に生じ、ナンセンス変異依存 m R N A 分解機構を開始すると予想されるからである。触媒ドメイン(L 2 5 3 F)の変異は、タンパク質の自己触媒的開裂を妨害する。 P C S K 9 - 2 5 3 F を発現している細胞内の成熟タンパク質の量は、 P C S K 9 - W T を発現している細胞内の成熟タンパク質の量に比べると少ない。これは、該変異が自己触媒的開裂を阻害することを示唆している。 L 2 5 3 F 変異は、触媒三残基の近くにあり(P C S K 9 はセリンプロテアーゼである)、したがって、それは、活性部位を中断し得る(非特許文献 8)。 P C S K 9 の自己触媒的開裂は、 E R の外部へのタンパク質の排出に必要ではあるが、該 L 2 5 3 F 変異は、 E R から細胞表面への P C S K 9 の排出を遅らせる。該タンパク質を 1 4 アミノ酸ずつ切断する P C S K 9 のナンセンス変異(C 6 7 9 X)は、タンパク質プロセシングを妨害しなかつたが、成熟タンパク質は、細胞内に蓄積し、何も分泌されない。これは、該タンパク質が正常に開裂されるが、誤って折り畳まれ、 E R 内に保持されることを示唆している(非特許文献 8 、非特許文献 9)。

10

【 0 0 0 7 】

P C S K 9 が L D L R の分解を引き起こすメカニズムは、完全には解明されていない。しかしながら、 P C S K 9 のプロテアーゼ活性が L D L R 分解に必要ではないことは、明らかである(非特許文献 1 0 、非特許文献 1 1)。 Li ら(非特許文献 1 0)は、プロドメインおよび触媒ドメインをトランスに共発現し、分泌 P C S K 9 が触媒的に不活性であることを示したが、それにもかかわらず、細胞性 L D L 取り込みおよび L D L R レベルを低下させることについて野生型タンパク質と機能的に同等である。 McNutt ら(非特許文献 1 1)によても同様の研究が報告された。さらにまた、 Zhang ら(非特許文献 1 2)は、 L D L R の E G F - A リピートと結合している P C S K 9 を位置づけ、このような結合が受容体リサイクリングを減少させ、その分解を増加させることを示した。彼らは、また、 E G F - A ドメインへの結合がカルシウム依存性であり、 7 から 5 . 2 への p H の低下を伴って劇的に増加したことを報告した。最近、 Kwon ら(非特許文献 1 3)は、 L D L R - E G F - A B (E G F - A および E G F - B)と複合体を形成した P C S K 9 の結晶構造を決定した。当該構造は、詳細に明らかにされた E G F - A ドメインを示すが、 E G F - B ドメインは、無秩序であり、それらの電子密度マップにはない。該 E G F - A ドメインは、触媒部位から離れた部位で P C S K 9 触媒ドメインと結合し、 C 末端ドメインまたはプロドメインのどちらとも接触しない(非特許文献 1 4)。

20

【 0 0 0 8 】

P C S K 9 をターゲットとするいくつかのストラテジーが提案されている(非特許文献 1 5)。ストラテジー 1 : m R N A ノックダウンアプローチは、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたは R N A i の使用を含む。マウスへのアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、 P C S K 9 発現を > 9 0 % 減少させ、血漿コレステロールレベルを 5 3 % 低下させた(非特許文献 1 6)。リビドイド(lipidoid)ナノ粒子中にて送達される R N A i のカニクイザルへの単回静脈注射は、血漿 P C S K 9 レベルを 7 0 % 減少させ、血漿 L D L - C レベルを 5 6 % 減少させた(非特許文献 1 7)。ストラテジー 2 : これは、小分子、ペプチド、または P C S K 9 に対して向けられた抗体を用いて、細胞表面の L D L R への P C S K 9 の結合を防止することである。培養細胞への E G F - A フラグメントの添加は、外から加えられた P C S K 9 が L D L R 分解を媒介する能力を阻害する。ストラテジー 3 : これは、 P C S K 9 プロセシングの小分子阻害物質を開発することである。 P C S K 9 の触媒活性は L D L R 分解に必要ではないという証拠がある(非特許文献 1 1)にもかかわらず、 P C S K 9 の自己触媒的プロセシングは、 E R からのタンパク質の分泌に必要であるので、 P C S K 9 触媒活性の細胞内阻害物質は有効である。その合成に従って、 P C S K 9 は、プロドメイン切り取る自己触媒的開裂反応を受けるが、該プロドメインは、触媒ドメインに結合したままである(非特許文献 1 8 、非特許文献 1 9)。該自己触媒的プロセシングによる開裂によって、 P C S K 9 は、 E R から細胞外へと分泌される。

30

40

50

ロセシング工程は、P C S K 9 の分泌に必要である（非特許文献 20）。これは、おそらく、該プロドメインがシャペロンとしての役割を果たして折り畳みを促進するからである。プロドメインの連続結合は、P C S K 9 の基質結合ポケットを部分的に遮断する（非特許文献 18、非特許文献 19）。McNuttら（非特許文献 21）は、分泌 P C S K 9 のアンタゴニズムが H e p G 2 細胞内での L D L R 発現を増加させることを立証した。彼らは、機能獲得型変異を引き起こす F H 関連 L D L R 対立遺伝子（H 3 0 6 Y）が、L D L R 分解の亢進および血漿 L D L - C クリアランスの減少をもたらす、P C S K 9 の L D L R に対する親和性の増大によるものであることを示している。さらにまた、彼らは、分泌 P C S K 9 を L D L R (H 3 0 6 Y) サブフラグメントで遮断することによって培養 H e p G 2 細胞中の L D L R のレベルが上昇したことを、的確に示すことができた。したがって、P C S K 9 は、L D L R 分解を引き起こすための分泌因子として作用し、自己触媒的プロセスを妨害する小分子阻害物質は、成熟した分泌 P C S K 9 の量を減少させる。本発明は、ストラテジー 3 を使用して、P C S K 9 の機能をダウンレギュレートする小分子の同定に関する。

10

【0 0 0 9】

最近（非特許文献 22～非特許文献 24）、Regeneron/Sanofi および Amgen によって、標準的なスタチン療法で管理されていない患者において L D L - C を低下させるためのストラテジーとして P C S K 9 のモノクローナル抗体による遮断を立証する第二相の概念実証データが報告された。彼らは、臨床試験において、R E G N 7 2 7 と称される彼らの薬物の単回注射が、L D L レベルを 6 0 % を超えて低下させたことを報告した。彼らのアプローチは、小分子の代わりに抗体を使用してストラテジー 2 を遂行する。このストラテジー 2 は、また、Merck、Novartis および Pfizer によって行われているが、一方、ストラテジー 1 は、Alnylam、Idera および Santaris によって行われている（非特許文献 25）。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0 0 1 0】

【非特許文献 1】Grundy SM, Cleeman JI, Merz CNB, Brewer, Jr, HB, Clark LT, Hunnighake DB, Pasternak RC, Smith, Jr, SC, Stone NJ (2004). Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. Circulation 110, 227-239.

30

【非特許文献 2】Abifadel M, Varret M, Rabes J, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derre A, Villeger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf J, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah N, Boileau C (2003). Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat. Genet 34, 154-156.

【非特許文献 3】Pisciotta L, Priore Oliva C, Cefalu AB, Noto D, Bellocchio A, Freisa R, Cantafora A, Patel D, Averna M, Tarugi P, Calandra S, Bertolini S (2006). Additive effect of mutations in LDLR and PCSK9 genes on the phenotype of familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis 186, 433-440.

【非特許文献 4】Maxwell K, Breslow J (2004). Adenoviral-mediated expression of PCSK9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype. Proc Natl Acad Sci USA 101, 7100-7105.

40

【非特許文献 5】Benjannet S, Rhainds D, Essalmani R, Mayne J, Wickham L, Jin W, Asselin M, Hamelin J, Varret M, Allard D, Trillard M, Abifadel M, Tebon A, Attie AD, Rader DJ, Boileau C, Brissette L, Chretien M, Prat A, Seidah NG (2004). NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol. J Biol Chem 279, 48865-48875.

【非特許文献 6】Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski I, Graham R, Garcia C, Hobbs H (2005). Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from f

50

requent nonsense mutations in PCSK9. *Nature Genetics* 37, 161-165.

【非特許文献 7】Rashid S, Curtis D, Garuti R, Anderson N, Bashmakov Y, Ho Y, Hammer H, Moon Y, Horton J (2005). Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking PCSK9. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 5374-5379.

【非特許文献 8】Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace T, Kinch L, Grishin N, Horton J, Cohen J, Hobbs H (2006). Molecular Characterization of Loss-of-Function Mutations in PCSK9 and Identification of a Compound Heterozygote. *Am J Human Genetics* 79, 514-523.

【非特許文献 9】Benjannet S, Rhainds D, Hamelin J, Nassoury N, Seidah NG (2006).

The proprotein convertase PCSK9 is inactivated by furin and/or PC5/6A: functional consequences of natural mutations and post-translational modifications. *J Biol Chem* 281, 30561-30572.

【非特許文献 10】Li J, Tumanut C, Gavigan J-A, Huang W-J, Hampton EN, Tumanut R, Suen KF, Trauger JW, Spraggon G, Lesley SA, Liau G, Yowe D, Harris JL (2007). Secreted PCSK9 promotes LDL receptor degradation independently of proteolytic activity. *Biochem J* 406, 203-207.

【非特許文献 11】McNutt MC, Lagace TA, Horton JD (2007). Catalytic activity is not required for secreted PCSK9 to reduce low density lipoprotein receptors in HepG2 cells. *J Biol Chem* 282, 20799-20803.

【非特許文献 12】Zhang D-W, Lagace TA, Garuti R, Zhao Z, McDonald M, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH (2007). Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem* 282, 18602-18612.

【非特許文献 13】Kwon HJ, Lagace TA, McNutt MC, Jay D, Horton JD, Deisenhofer J (2008). Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 1820-5.

【非特許文献 14】Bottomley MJ, Cirillo A, Orsatti L, Ruggeri L, Fisher TS, Santoro JC, Cummings RT, Cubbon RM, Lo Surdo P, Calzetta A, Noto A, Baysarowich J, Mazzu M, Talamo F, De Francesco R, Sparrow CP, Sitlani A, Carfi A (2009). Structural and biochemical characterization of the wild type PCSK9/EGF(AB) complex and natural familial hypercholesterolemia mutants. *J Biol Chem* 284, 1313-1323.

【非特許文献 15】Seidah NG (2009). PCSK9 as a therapeutic target of dyslipidemia. *Expert Opin Ther Targets* 13, 19-28.

【非特許文献 16】Graham MJ, Lemonidis KM, Whipple CP, Subramaniam A, Monia BP, Crooke ST, Crooke RM (2007). Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice. *J Lipid Res* 48, 763-767.

【非特許文献 17】Frank-Kamenetsky M, Grefhorst A, Anderson NN, Racie TS, Bramlage B, Akinc A, Butler D, Charisse K, Dorkin R, Fan Y, Gamba-Vitalo C, Hadwiger P, Jayaraman M, John M, Jayaprakash KN, Maier M, Nechev L, Rajeev KG, Read T, Roehl I, Soutschek J, Tan P, Wong J, Wang G, Zimmermann T, de Fougerolles A, Vornlocher HP, Langer R, Anderson DG, Manoharan M, Koteliansky V, Horton JD, Fitzgerald K (2008). Therapeutic RNAi targeting PCSK9 acutely lowers plasma cholesterol in rodents and LDL cholesterol in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 11915-11920.

【非特許文献 18】Piper D, Jackson S, Liu Q, Romanow W, Shetterly S, Thibault S, Shan B, Walker N (2007). The Crystal Structure of PCSK9: A Regulator of Plasma LDL-Cholesterol. *Structure* 15, 545-552.

10

20

30

40

50

【非特許文献 19】 Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF, Matthew C Griffon MC, Hawkins JL, Subashi TA, Varghese AH, Ammirati MJ, Culp JS, Hoth LR, Mansour MN, McGrath KM, Seddon AP, Shenolikar S, Stutzman-Engwall KJ, Warren LC, Xia D, Qiu X (2007). Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia. *Nature Struc Mol Biol* 14, 413-419.

【非特許文献 20】 Seidah N, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin S, Stifani S, Basak A, Prat A, Chretien M (2003). The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1) liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 928-933.

【非特許文献 21】 McNutt MC, Kwon HJ, Chen C, Chen JR, Horton JD, Lagace TA (2009). Antagonism of secreted PCSK9 increases low density lipoprotein receptor expression in HepG2 cells. *J Biol Chem* 284, 10561-10570. 10

【非特許文献 22】 Swerdlow G, Biedermann S, Renard R, Nadler D, Wu R; Mellis S (2010). Safety, Lipid, and Lipoprotein Effects of REGN727/SAR236553, a Fully-Human Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 (PCSK9) Monoclonal Antibody Administered Intravenously to Healthy Volunteers. *Circulation* 122, A23251.

【非特許文献 23】 Dias C, Shaywitz A, Smith B, Emery M, Bing G, Gibbs J, Wishner B, Stolman D, Crispino C, Cook B, Colbert A, Retter M, Xu R (2011). A Phase 1, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Ascending Single Dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability and Pharmacodynamics of AMG145. *Circulation* 124.

【非特許文献 24】 Amgen (2010) Ascending Multiple Dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of AMG 145 in Subjects With Hyperlipidemia on Stable Doses of a Statin. ClinicalTrials.Gov

【非特許文献 25】 Crunkhorn S (2012). PCSK9 antibody reduces LDL cholesterol. *Nature Rev Drug Disc* 11, 11.

【発明の概要】

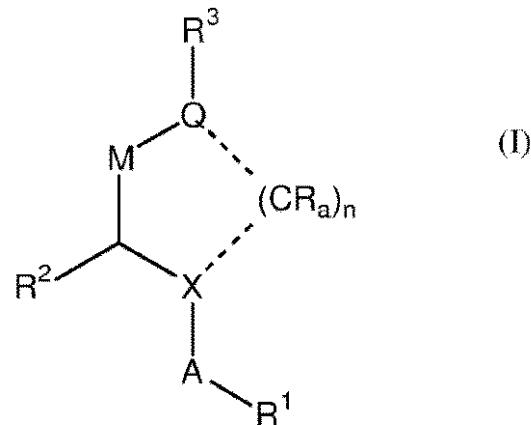
【課題を解決するための手段】

【0011】

発明の概要

本発明は、PCSK9と選択的に相互作用し、その機能を下方調節する小分子に関する。第一の実施態様において、本発明の実施に使用される薬剤は、一般式：

【化1】



[式中、R¹、R²およびR³は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；

Xは、OおよびNR⁴であり；R⁴は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

Aは、CO、CONR⁵、SO₂、C(=O)-O、またはR¹への原子価結合手であり；

10

20

30

40

50

R⁵は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

Mは、COおよびCR⁶R⁷であり；R⁶およびR⁷は、独立して、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

Qは、OおよびNR⁸からなる群から選択され；R⁸は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、またはXがNR⁴であり、QがNR⁸である場合、R⁴およびR⁸、ならびに、R⁴およびR⁸のそれぞれが結合している窒素原子が、---(CR_a)_n---によって表される置換されていてもよい5員または6員複素環を形成してもよく、ここで、R_aは、Hまたは低級アルキルを表し、n=1または2である】

で示される化合物ならびに該化合物の医薬上許容される塩および全ての立体異性体である。式Iで示される化合物は、4-(カルバモイルアミノ)安息香酸[(3-クロロ-4-メチルフェニル)カルバモイル](フェニル)メチル以外は、新規化合物である。

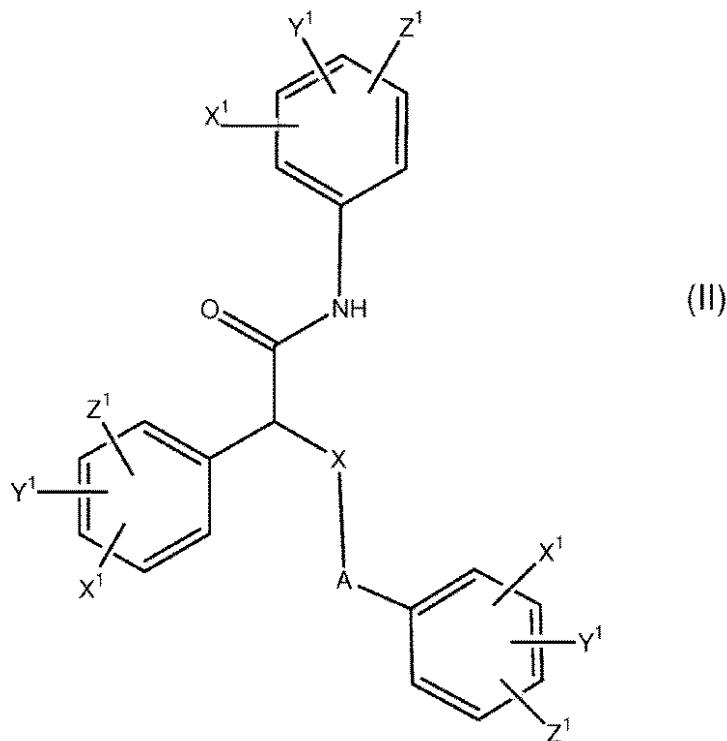
【0012】

一の実施態様において、本発明は、高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防を必要とする患者における高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防方法であって、上記式Iで示される化合物の治療上有効量を該患者に投与することを含む方法を提供する。

【0013】

別の実施態様において、本発明の、高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防を必要とする患者における高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防方法は、該治療または予防を必要とする患者に下記式：

【化2】



[式中、X¹、Y¹およびZ¹は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミド(ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する)、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボニルアミノ、カルバマト(carbamato)、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノス

10

20

30

40

50

ルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し；

Xは、OおよびNR⁴であり；R⁴は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

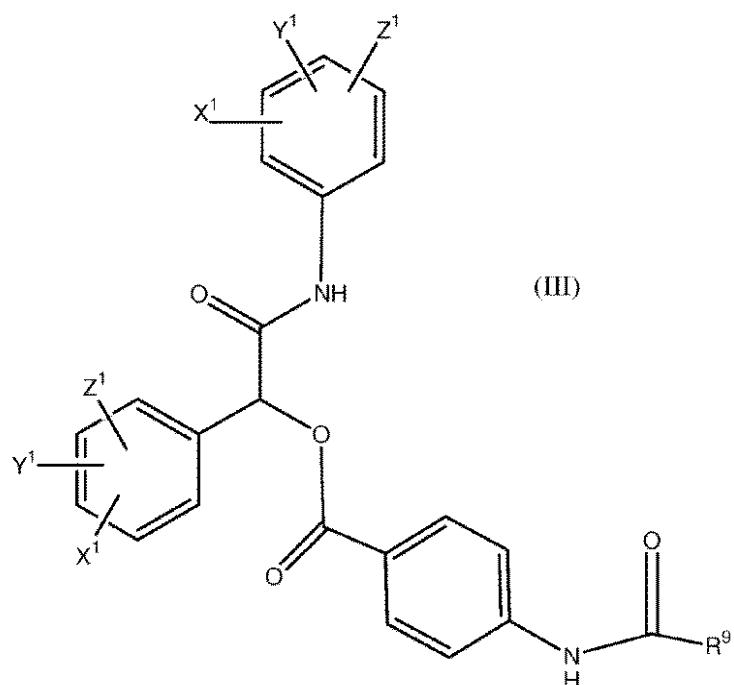
Aは、CO、CONR⁵、およびSO₂であり；R⁵は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択される】

10

で示される化合物のうち少なくとも1種類を投与することによって実施される。

【0014】

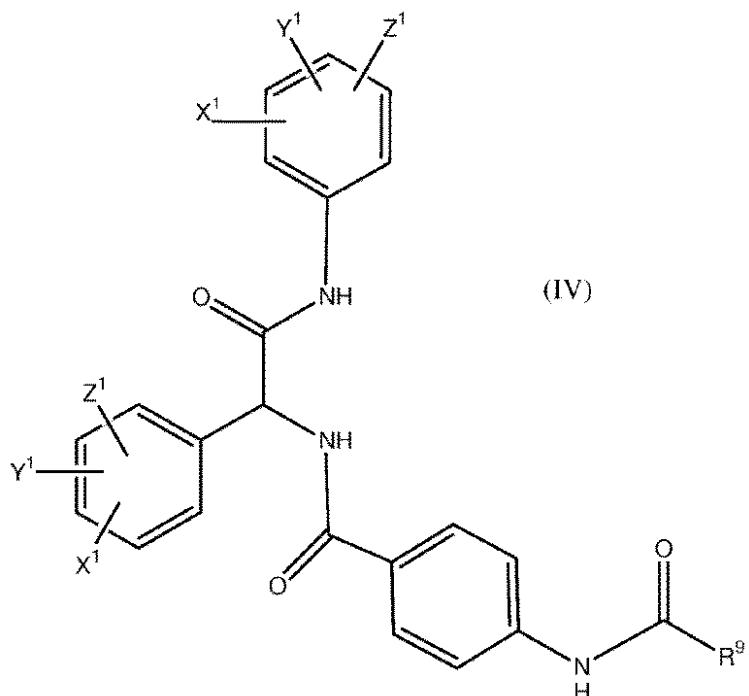
上記の方法の別の実施態様において、該治療または予防を必要とする患者に、下記式：【化3】



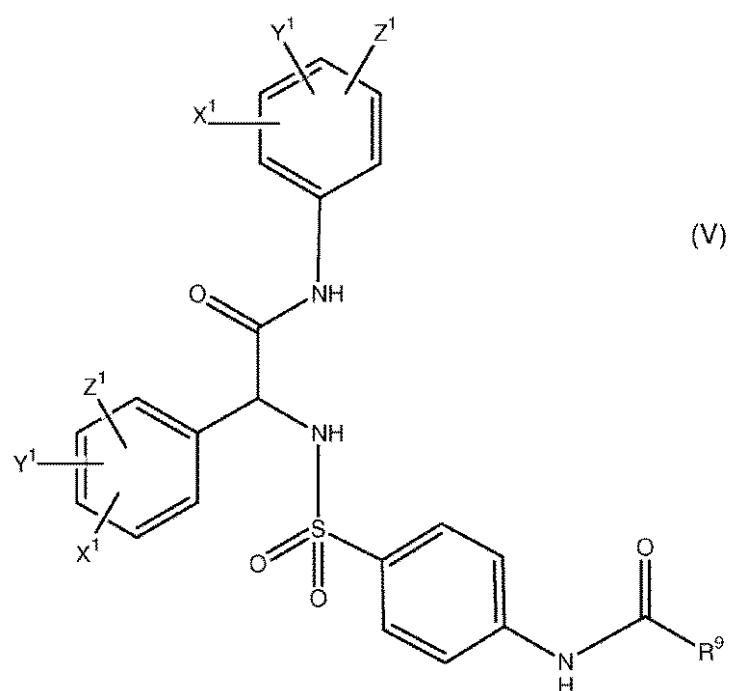
20

30

【化4】



【化5】



[式 III、IVおよびVのそれぞれにおいて、X¹、Y¹およびZ¹は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボニルアミノ、カルバマト(carbamato)、アミド(ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する)、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノ、カルボキシリルアミノ、カルバマト(carbamato)、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル

40

50

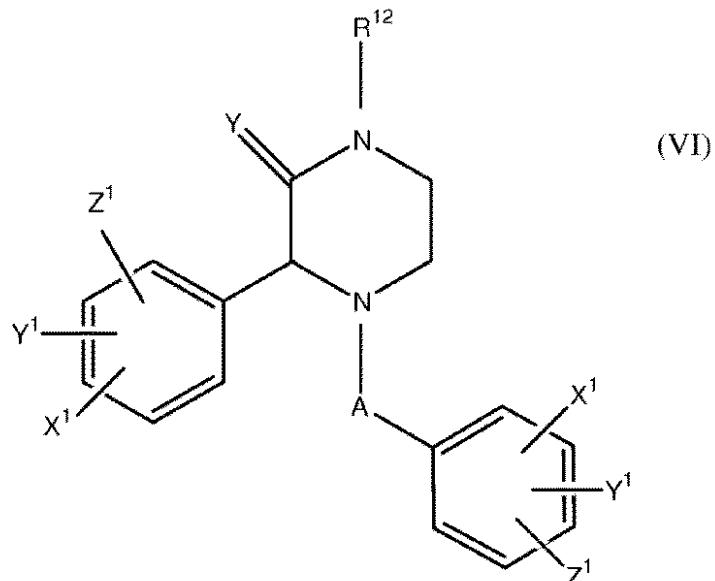
、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し；R⁹は、H、O R¹⁰およびN R¹⁰R¹¹からなる群から選択され；R¹⁰およびR¹¹は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、一緒になって置換されていてもよい複素環を形成する】

で示される化合物のうち少なくとも1種類を投与する。

【0015】

別の実施態様において、本発明の方法は、式：

【化6】



[式中、X¹、Y¹およびZ¹は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボニルアミノ、カルバマト(carbamato)、アミド(ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する)、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し；R¹²は、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；

Aは、COおよびSO₂であり；

Yは、H₂またはOである】

で示される少なくとも1種類の化合物の投与を含む。

【0016】

最後に述べた実施態様において、投与される化合物は、式：

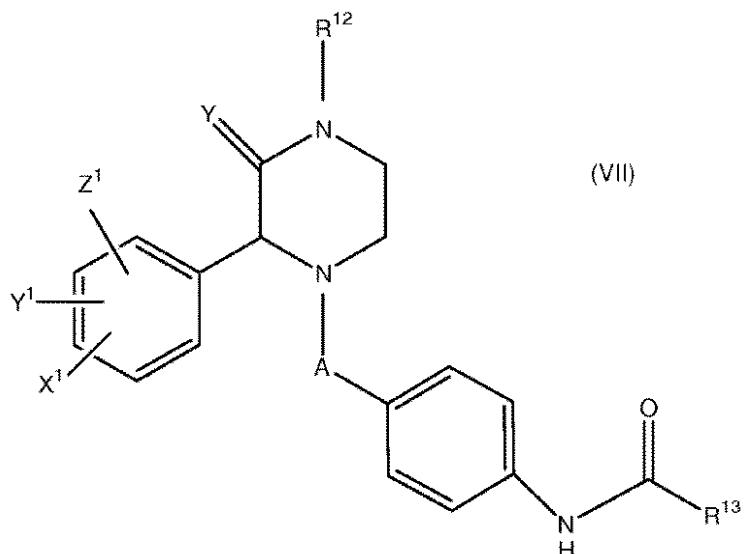
10

20

30

40

【化7】



10

20

30

[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミド（ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する）、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^{12} は、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され； R^{13} は、H、OR¹⁴およびNR¹⁴R¹⁵からなる群から選択され； R^{14} および R^{15} は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、窒素原子に結合している場合には一緒にになって置換されていてもよい複素環を形成し；

Aは、COおよびSO₂であり；

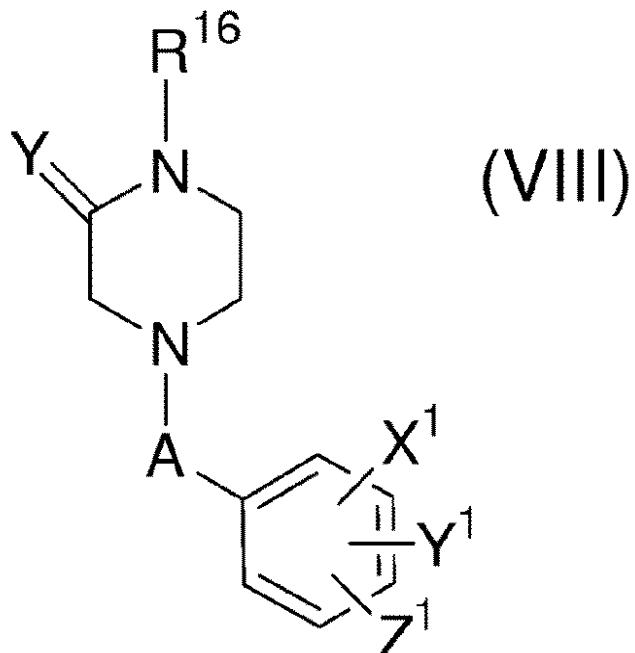
Yは、H₂またはOである]

で示される化合物のうち少なくとも1種類であってよい。

【0017】

本発明の別の実施態様において、投与される化合物は、式VIII：

【化 8】



10

20

30

40

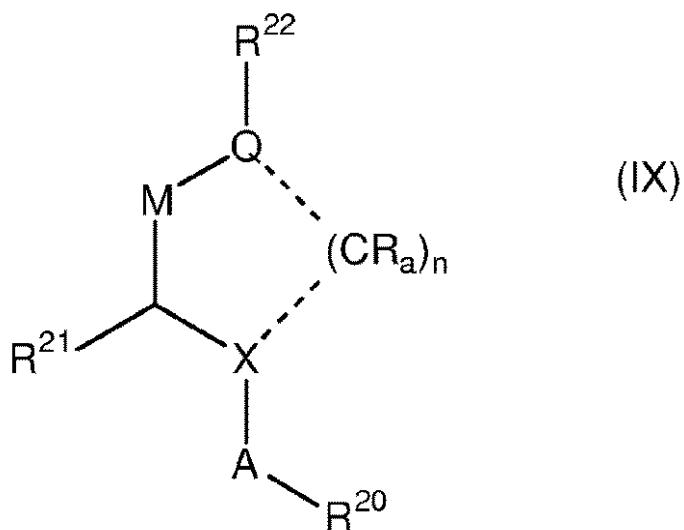
[式中、 X^1 、 Y^1 および Z^1 は、同一または異なっており、それぞれ、水素を表すか、または、ヒドロキシ、ハロゲン、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、アミド（ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する）、カルボキシアミド、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキル、ジアルキルアミノスルフィニル、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換基を表し； R^{16} は、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；Aは、COおよびSO₂であり；Yは、H₂またはOである]

で示される化合物であってよい。式VIIIの好ましい実施態様において、 X^1 、 Y^1 および Z^1 のうち少なくとも1つは、4-NHCOR¹⁷であり；ここで、 R^{17} は、H、OR¹⁸およびNR¹⁸R¹⁹からなる群から選択され；R¹⁸およびR¹⁹は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環からなる群から選択されるか、または、窒素原子に結合している場合には一緒になって置換されていてもよい複素環を形成する。

【0018】

別の態様において、本発明の実施に使用される薬剤は、一般式：

【化9】



[式中、R²⁰、R²¹およびR²²は、独立して、H、ならびに、置換されていてもよい、低級アルコキシ、アルキルアミノ、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールからなる群から選択され；

Xは、OおよびNR²³であり；R²³は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、または、QもしくはR¹、および、それぞれが結合している原子と一緒にになって置換されていてもよい5員または6員環を形成してもよく；

Aは、CO、CONR²⁴、SO₂、C(=O)-OまたはR²⁰への原子価結合手であり；R²⁴は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択され；

Mは、COおよびCR²⁵R²⁶であり；R²⁵およびR²⁶は、独立して、H、低級アルキル、Qへの結合手からなる群から選択されるか、または、R²²、および、それぞれが結合している原子と一緒にになって、置換されていてもよい、アリール、ヘテロアリールまたは複素環を形成してもよく；

Qは、O、NR²⁷、またはR²²への原子価結合手からなる群から選択され；R²⁷は、Hおよび低級アルキルからなる群から選択されるか、または、XがNR²³であり、QがNR²⁷である場合、R²³およびR²⁷、ならびに、R²³およびR²⁷のそれぞれが結合している窒素原子が、---(CR_a)_n---によって表される置換されていてもよい5員または6員複素環を形成してもよく、ここで、R_aは、Hまたは低級アルキルを表し、n = 1または2である]

で示される化合物ならびに該化合物の医薬上許容される塩および全ての立体異性体であつてよい。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】図1は、本発明の選択された化合物の構造を示す。挙げられた化合物は、対照（阻害剤なし）と比べて1.5倍～30倍の範囲のLDLR倍増（アップレギュレーション）を示す（HEK293細胞中にて25uMで）。

【図2】図2は、Uniprot受入番号Q8NB P7（配列番号1）として見出されたヒトPCK9の代表的なアミノ酸配列を示す。

【図3】図3は、HEK293トランスフェクト細胞におけるPCK9プロセシングに対する種々の濃度での種々の化合物の効果を示す。HEK-293T細胞を10%ウシ胎仔血清含有DMEM培地中にて96ウェルプレートに播き、37℃で一夜インキュベートした。細胞にPCK9 cDNA構築物をトランスフェクトした。化合物（1～50uM）を加えた後、さらに43時間インキュベートした。該PCK9アッセイ前に、細胞培地を同一濃度の化合物またはビヒクルを含有する血清不含培地と取り替え、さらに5時間インキュベートした。細胞培地をPCK9分泌について分析し、細胞生存率を決定し

10

20

30

40

50

た。

【図4】図4は、P C S K 9によるLDLRの分解の増加の効果を示す。HEK-293T細胞を10%ウシ胎仔血清含有D M E M培地中にて播き、37で一夜インキュベートした。細胞をMock(レーン1および2)、P C S K 9(レーン3および4)、LDLR&P C S K 9(レーン5および6)、およびLDLR(レーン7および8)cDNA構築物をトランスフェクトした。細胞をさらに48時間インキュベートし、細胞および培地を上記のとおりに分析した。

【図5】図5は、P C S K 9アンタゴニストによるLDLRのアップレギュレーションを示す。HEK-293T細胞を10%ウシ胎仔血清含有D M E M培地中にて播き、37で一夜インキュベートした。細胞にLDLR&P C S K 9cDNA構築物をトランスフェクトした。24時間後、細胞を種々の濃度の化合物で処理し、さらに48時間インキュベートした。上記したように、細胞を溶解し、LDLR発現についてアッセイした。
10

【図6】図6は、H e p G 2細胞におけるLDLRアップレギュレーションに対する特定のP C S K 9調節物質(濃度400nM)の効果を示す。P C S K 9トランスフェクトH e p G 2細胞を10%ウシ胎仔血清含有M E M培地中にて96ウェルプレートに播いた。化合物を加えた後、さらに43時間インキュベートした。上記のように、細胞を溶解し、LDLR発現について分析し、細胞生存率を測定した。

【図7】図7は、H e p G 2細胞において種々の濃度のP C S K 9阻害物質を使用した場合のF l u o r e s c e n t D i l - L D Lの取り込みの増加を示す。同定されたS B C化合物を、H e p G 2細胞においてF l u o r e s c e n t D i l - L D Lの取り込みを増加させるその能力について確認した。データは、μM以下の濃度のS B C化合物を使用した場合のF l u o r e s c e n t D i l - L D L取り込みの増加を示している。
20

【図8】図8は、式I I Iで示される化合物の一般的合成経路を示し、ここで、多様性要素(diversity element)は、最終段階で導入される。まず、入手可能な4-イソシアナト安息香酸メチルをアンモニアと反応させ、次に、鹼化した後、該安息香酸中間体を酸クロライドに変換し、次に、市販のマンデル酸エチルとカップリングさせることによって、フェニル尿素末端が得られる。第2の鹼化の後、標準的な条件下で、一連のアニリンとのカップリングを介して、式I I Iで示される化合物のライブラリーを得ることができる。

【図9】図9は、上記式I VおよびVで示される化合物の一般的合成経路を示す。種々のアニリンとB o c - フェニルグリシンとのカップリングから得られる万能(versatile)フェニルグリシン中間体3を、市販のまたは容易に合成できるアリール酸クロライドでベンゾイル化し、それに続く反応の後、S B C - 1 1 0 , 7 1 6によって例示される化合物を得ることができる。同様に、中間体3をアリールスルホニル化し、それに続く反応の後、S B C - 1 1 0 , 7 1 7およびS B C - 1 1 0 , 7 2 8によって例示される化合物を得る。式Vで示される化合物は、4-ウレイド-ベンゼン酸クロライドの代わりに市販の4-ウレイド-ベンゼンスルホニルクロライドを使用する以外は式I Vで示される化合物の合成経路と同じ合成経路を使用して製造され得る。
30

【図10】図10は、式V I (AはC O、S O₂であり；YはOである)で示される化合物の一般的合成経路を示す。該合成は、市販の3-フェニル-ピペラジン-2-オンから始まる。B o c保護の後、アリールプロマイドとのN-アリール化クロスカップリング反応によって最初の多様性要素R¹²が導入される。B o c除去の後、入手可能なまたは合成したベンゾイルクロライドまたはアリール-スルホニルクロライド誘導体の反応によって2つ目の多様性要素を導入して、式V I Iで示される化合物(例えば、S B C - 1 1 0 , 7 6 1、図1)を得ることができる。
40

【図11】図11は、式V I I (AはC O、S O₂である)で示される化合物の一般的合成経路を示す。該合成は、市販の2-フェニル-ピペラジンから始まる。クロスカップリング条件下で置換フェニルプロマイドによって選択的N-アリール化した中間体1 4を得た後、4-ニトロベンゾイルクロライドまたは4-ニトロベンゼンスルホニルクロライドと反応させ、次にニトロ還元して、それぞれ、主要なアニリン中間体1 5および1 6を得る。酢酸中のアニリン1 5とシアン酸ナトリウムとの反応によって、尿素化合物(S B
50

C - 110, 733 および SBC - 110, 734) とアセトアミド化合物 (SBC - 110, 735、SBC - 110, 736 および SBC - 110, 769) との混合物が得られ、一方、同条件下で、アニリン 16 から尿素化合物 (17) およびアセトアミド化合物 (SBC - 110, 771) が得られる。

【図 12】図 12 は、SBC - 110, 725 および SBC - 110, 726 によって例示される式 V III (A は、CO である) で示される化合物の一般的合成経路を示す。該合成は、市販の 2-(ピペラジン-1-イル)ピリミジン (7) から始まる。式 V III (A は、SO₂ である) で示される化合物は、7 との反応において安息香酸アナログの代わりにベンゼンスルホニルクロライドアナログを用いる以外は同じ合成経路を使用して製造され得る。

10

【図 13】図 13 は、式 V III (A は、CO である) で示されるさらなる化合物の一般的合成経路を示す。該合成は、市販の Boc-ピペラジン、および 2-クロロメチルピリジン誘導体によるそのアルキル化から始まる。4-ニトロベンゾイルクロライドによりベンゾイル化し、次にニトロ化した後、該アニリンをシアノ酸ナトリウムおよびギ酸と反応させてホルムアミド (SBC - 110, 729) が得られるか、またはシアノ酸ナトリウムおよび酢酸を使用した場合、尿素化合物 (12) およびアセトアミド化合物 (SBC - 110, 730) が得られる。

【図 14】図 14 は、本発明の化合物の効力を試験するために使用した 5 つの動物グループのグループごとの異なる処理を示す。

20

【図 15】図 15 は、対照マウスと比べた高脂肪食摂取マウスにおける総コレステロール濃度 (mg / d1) に対する化合物の効果を示す。

【図 16】図 16 は、高脂肪食摂取マウスを化合物で処理し、対照高脂肪食摂取マウスと比べた場合の 18 ~ 38 % の範囲の総コレステロール濃度減少 % を示す。

【図 17】図 17 は、高脂肪食摂取マウスにおける血漿 LDL-C に対するアトロバスタチンと SBC - 110, 736 との併用の効果を示す。

【0020】

発明の詳細な説明

本発明は、低密度リポタンパク質 (LDL) 受容体 (LDLR) との相互作用を含む細胞外プロタンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシン 9 型 (PCSK9) の機能をダウンレギュレートする小分子、およびこれらのアンタゴニストを医薬として使用する方法に関する。PCSK9 機能の小分子調節物質は、LDL コレステロールの血中レベルを低下させるために治療に使用され得、家族性高コレステロール血症、アテローム生成脂質異常症、アテローム動脈硬化症、および、より一般的には心血管疾患 (CVD) を包含するコレステロールおよびリポタンパク質代謝障害の予防および / または治療に使用され得る。

30

【0021】

本明細書で用いられる場合、用語「低級アルキル」は、炭素 1 ~ 約 8 個を有する分枝または非分枝炭化水素鎖、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、2-メチルベンチル、ベンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、4,4-ジメチルベンチル、オクチル、2,2,4-トリメチルベンチルなどを示す。「置換アルキル」は、このような鎖に一般的に結合してトリフルオロメチル、3-ヒドロキシヘキシル、2-カルボキシプロピル、2-フルオロエチル、カルボキシメチル、シアノブチル、フェネチル、ベンジルなどのようなアルキル基を形成する 1 個以上の官能基、例えば、ヒドロキシ、ハロゲン、メルカプトもしくはチオ、シアノ、アルキルチオ、カルボキシ、カルボアルコキシ、アミノ、ニトロ、アルコキシ、または、置換されていてもよい、アルケニル、アルキニル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールなどで置換されていてもよいアルキル基を含む。

40

【0022】

用語「ハロゲン」または「ハロ」とは、単独でまたは別の基の一部として本明細書で用いる場合、塩素、臭素、フッ素およびヨウ素をいう。

【0023】

50

用語「アルコキシ」とは、アルキル-O-をいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0024】

用語「アルキルチオ」とは、アルキル-S-をいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0025】

用語「アミノ」、「モノアルキルアミノ」、「ジアルキルアミノ」とは、-NR'R"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

【0026】

用語「カルボキシ」とは、-C(=O)OHをいう。

10

【0027】

用語「カルボアルコキシ」とは、-C(=O)O-アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0028】

用語「カルボキシアミド」とは、-C(=O)-NR'R"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

【0029】

用語「アミノ（モノアルキルアミノ-、ジアルキルアミノ-）カルボニルアミノ」とは、-NHC(=O)NR'R"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

20

【0030】

用語「カルバマト（carbamato）」とは、-NR'C(=O)OR"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

【0031】

用語「アミド」とは、-NRC(=O)-R"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

30

【0032】

用語「アルキルスルホニル」とは、-S(=O)₂-アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0033】

用語「アルキルスルホニルオキシ」とは、-OS(=O)₂-アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0034】

用語「アミノ（モノアルキルアミノ-、ジアルキルアミノ-）スルフィニル」とは、-S(=O)NR'R"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

40

【0035】

用語「アミノ（モノアルキルアミノ-、ジアルキルアミノ-）スルホニル」とは、-S(=O)₂NR'R"をいう（ここで、R'およびR"は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

【0036】

用語「アルキルスルホニルアミノ」とは、-NH₂S(=O)₂-アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0037】

用語「ヒドロキシスルホニルオキシ」とは、-OS(=O)₂OHをいう。

50

【0038】

用語「アルコキシスルホニルオキシ」とは、 $-OS(=O)_2O$ - アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0039】

用語「アルキルスルホニルオキシ」とは、 $-OS(=O)_2-$ アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。

【0040】

用語「ヒドロキシスルホニル」とは、 $-S(=O)_2OH$ をいう。

【0041】

用語「アルコキシスルホニル」とは、 $-S(=O)_2O$ - アルキルをいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりである）。 10

【0042】

用語「アルキルスルホニルアルキル」とは、 $-アルキル-S(=O)_2-$ アルキルをいう（ここで、アルキルは（いずれの場合も）、上記で定義されたとおりである）。

【0043】

用語「アミノ(モノアルキルアミノ-、ジアルキルアミノ-)スルホニルアルキル」とは、 $-アルキル-S(=O)_2-NR'R'$ をいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりであり、 R' および R'' は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

【0044】

用語「アミノ(モノアルキルアミノ-、ジアルキルアミノ-)スルフィニルアルキル」とは、 $-アルキル-S(=O)-NR'R'$ をいう（ここで、アルキルは、上記で定義されたとおりであり、 R' および R'' は、それぞれ独立して、H、アルキルまたはアリールを表す（ここで、全て、本明細書で定義されるとおりである））。

【0045】

特に明記しない限り、用語「シクロアルキル」とは、単独でまたは別の基の一部として本明細書で用いる場合、環を形成する炭素を合計3～20個、好ましくは環を形成する炭素を3～10含有しており、アリールについて上記した芳香環1個または2個と縮合してもよい、単環式アルキル、二環式アルキルおよび三環式アルキルを包含する、1～3個の環を含有する飽和または部分不飽和（1個以上の二重結合を含有する）環状炭化水素基を包含し、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリ、シクロヘプチル、シクロオクチル、シクロデシル、シクロドデシルおよびシクロヘキセニルが挙げられる。 30

【0046】

「置換シクロアルキル」としては、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルコキシ、ヒドロキシ、アリール、置換アリール、アリールオキシ、シクロアルキル、アルキルアミド、アルカノイルアミノ、オキソ、アシル、アリールカルボニルアミノ、アミノ、ニトロ、シアノ、チオールおよび/またはアルキルチオ、および/または、「置換アルキル」の定義に包含される置換基のいずれかのような置換基1個以上で置換されていてもよいシクロアルキル基が挙げられる。 40

【0047】

特に明記しない限り、用語「アルケニル」とは、それ自体でまたは別の基の一部として本明細書で用いる場合、直鎖において炭素2～20個、好ましくは炭素2～12個、より好ましくは炭素2～8個を有し、直鎖において1個以上の二重結合を有する、直鎖または分枝鎖をいい、例えば、ビニル、2-プロペニル、3-ブテニル、2-ブチニル、4-ペンテニル、3-ペンテニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、2-ヘプテニル、3-ヘプテニル、4-ヘプテニル、3-オクテニル、3-ノネニル、4-デセニル、3-ウンデセニル、4-ドセニルおよび4,8,12-テトラデカトリエニルなどが挙げられる。「置換アルケニル」としては、上記の「置換アルキル」および「置換シクロアルキル」の定義において包含される置換基のような置換基1個以上で置換されていてもよいアルケニ

10

20

30

40

50

ルが挙げられる。

【0048】

特に明記しない限り、用語「アルキニル」とは、それ自体でまたは別の基の一部として本明細書で用いる場合、直鎖において炭素2～20個、好ましくは炭素2～12個、より好ましくは炭素2～8個を有し、直鎖において1個以上の三重結合を有する、直鎖または分枝鎖をいい、例えば、2-プロピニル、3-ブチニル、2-ブチニル、4-ペンチニル、3-ペンチニル、2-ヘキシニル、3-ヘキシニル、2-ヘプチニル、3-ヘプチニル、4-ヘプチニル、3-オクチニル、3-ノニニル、4-デシニル、3-ウンデシニルおよび4-ドデシニルなどが挙げられる。「置換アルキニル」としては、上記の「置換アルキル」および「置換シクロアルキル」の定義において包含される置換基のような置換基1個以上で置換されていてもよいアルキニル基が挙げられる。10

【0049】

特に明記しない限り、用語「アリール」または「Ar」とは、単独でまたは別の基の一部として本明細書で用いる場合、環部分（例えば、フェニル、または1-ナフチルおよび2-ナフチルを包含するナフチル）において炭素6～10個を含有する单環式芳香族基および多環式芳香族基をいい、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはシクロヘテロアルキル環またはその置換形態のような炭素環または複素環と縮合したさらなる環1～3個を含んでいてもよい。

【0050】

「置換アリール」としては、ハロ、アルキル、ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、アルコキシ、ハロアルコキシ（例えば、ジフルオロメトキシ）、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル-アルキル、シクロヘテロアルキル、シクロヘテロアルキルアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、アリールオキシ、アリールオキシアルキル、アリールアルコキシ、アルコキシカルボニル、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アリールアルケニル、アミノカルボニルアリール、アリールチオ、アリールスルフィニル、アリールアゾ、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヒドロキシ、ニトロ、シアノ、アミノ、置換アミノ（ここで、該アミノは、1個または2個の置換基（定義において記載されている、置換されていてもよいアルキル、アリール、または他の置換基のいずれかである）を包含する）、チオール、アルキルチオ、アリールチオ、ヘテロアリールチオ、アリールチオアルキル、アルコキシアリールチオ、アルキルアミノカルボニル、アリールアミノカルボニル、アミノカルボニル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アミド、アリールカルボニルアミノ、アリールスルフィニル、アリールスルフィニルアルキル、アリールスルホニルアミノまたはアリールスルホニアミノカルボニル、および/または本明細書に記載のアルキル置換基のいずれかのような官能基1個以上で置換されていてもよいアリール基が挙げられる。2030

【0051】

特に明記しない限り、用語「ヘテロアリール」とは、単独でまたは別の基の一部として本明細書で用いる場合、窒素、酸素または硫黄のようなヘテロ原子を1個、2個、3個または4個含有する5員または7員芳香環、およびアリール、シクロアルキル、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキル環（例えば、ベンゾチオフェニル、インドリル）と縮合した該環をいい、可能なN-オキシドを包含する。「置換ヘテロアリール」としては、上記の「置換アルキル」、「置換シクロアルキル」および「置換アリール」の定義において包含される置換基のような置換基1個～4個で置換されていてもよいヘテロアリール基が挙げられる。置換ヘテロアリールは、また、例えば、キノリン、イソキノリン、インドール、イソインドール、カルバゾール、アクリジン、ベンゾイミダゾール、ベンゾフラン、イソベンゾフラン、ベンゾチオフェン、フェナントロリン、プリンなどを包含する縮合ヘテロアリール基をも包含する。40

【0052】

用語「ヘテロシクロ」または「複素環」は、単独でまたは別の基の一部として本明細書

10

20

30

40

50

で用いる場合、飽和または部分不飽和であってよく、炭素原子と、N、OまたはSから選択されるヘテロ原子1個～4個とからなる5員～7員の安定な非置換または置換单環式環系を表し、ここで、該窒素および硫黄ヘテロ原子は、酸化されていてもよく、該窒素ヘテロ原子は、4級化されていてもよい。該複素環は、安定な構造の構築をもたらすいずれかのヘテロ原子または炭素原子の位置で結合され得る。当該複素環基の例としては、ピペリジニル、ピペラジニル、オキソピペラジニル、オキソピペリジニル、オキソピロリジニル、オキソアゼビニル、アゼビニル、ピロリル、ピロリジニル、フラニル、チエニル、ピラゾリル、ピラゾリジニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリル、チアゾリジニル、イソチアゾリル、チアジアジリル、テトラヒドロピラニル、チアモルホリニル、チアモルホニルスルホキシド、チアモルホリニルスルホンおよびオキサジアゾリルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0053】

用語「置換されていてもよい」とは、本明細書において使用する場合、例えば、アルキル、アリール、ヘテロアリールを表す化学的部分が、非置換であるか、または低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリールアルキル、アリール、複素環、ヘテロアリール、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、ハロゲン、カルボキシ、カルボアルコキシ、カルボキシアミド、アミド(ホルムアミド、アルキルアミドおよびアリールアミドを包含する)、アミノカルボニルアミノ、モノアルキルアミノカルボニルアミノ、ジアルキルアミノカルボキシルアミノ、カルバマト(carbamato)、モノアルキルアミノスルフィニル、ジアルキルアミノスルフィニル、モノアルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキルスルホニルアミノ、ヒドロキシスルホニルオキシ、アルコキシスルホニルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、ヒドロキシスルホニル、アルコキシスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルホニルアルキル、ジアルキルアミノスルホニルアルキル、モノアルキルアミノスルフィニルアルキルおよびジアルキルアミノスルフィニルアルキルなどからを包含するがこれらに限定されない基1個以上で置換されていてもよいことを表すために使用される。置換されていてもよい、上記の式I～IXで示される化学的部分としては、低級アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリールアルキル、アリール、複素環およびヘテロアリールが挙げられる。例えば、置換されていてもよいアルキルは、プロピルと2-クロロ-プロピルのどちらも含む。さらに、「置換されていてもよい」とは、挙げられた置換基が単に单一の置換基を有するというよりもむしろ複数の置換基を有するという実施態様をも含めている。例えば、置換されていてもよいアリールは、フェニルと3-ブロモ-4-クロロ-6-エチル-フェニルのどちらも含んでもよい。

【0054】

本明細書で用いられる場合、用語「対象体」としては、ヒトおよび動物のどちらも挙げられる。本明細書で用いられる場合、用語「P C S K 9」とは、P C S K 9活性または機能の少なくとも一部を保持しているP C S K 9変異体および多様体を包含するいずれかの形態のタンパク質P C S K 9をいう。特に明記しない限り、ヒトP C S K 9への具体的な言及をするような、P C S K 9とは、天然配列P C S K 9を有する全ての哺乳動物種、例えば、ヒト、ブタ、ウシ、ウマ、イヌおよびネコをいう。ヒトP C S K 9配列の一例は、Uniprot受入番号Q8NBPT(配列番号1(図2))として見出される。

【0055】

本明細書で用いられる場合、「P C S K 9機能の調節物質」とは、P C S K 9生物活性または機能を阻害する能力、および/またはLDLRのP C S K 9媒介ダウンレギュレーションおよびLDL血中クリアランス減少のP C S K 9媒介阻害を包含するP C S K 9シグナル伝達によって媒介される下流経路を阻害する能力を有する小分子をいう。P C S K 9機能の調節物質は、LDLR相互作用および/またはP C S K 9に対する細胞応答の誘発のようなP C S K 9シグナル伝達によって媒介される下流経路を包含するP C S K 9生

10

20

30

40

50

物活性を（有意を含むどのような程度にでも）遮断するか、アンタゴナイズするか、抑制するか、または低下させる化合物を包含する。本発明のために、用語「P C S K 9 機能の調節物質」は、P C S K 9 自体、P C S K 9 生物活性（L D L Rとの相互作用およびL D L Rのダウンレギュレーションのいずれかの態様を媒介して、血中L D Lクリアランスの減少を阻害するその能力が挙げられるが、それに限定されない）、または該生物活性がもたらす結果を実質的に無効にするか、低下させるか、または測定できる程度に中和せられる、すでに同定した用語、標題、ならびに機能状態および特性の全てを包含すると、明確に解される。いくつかの実施態様において、P C S K 9 機能の調節物質は、P C S K 9 を結合し、P C S K 9 のL D L Rとの相互作用またはP C S K 9 の分泌を妨げる。別の実施態様において、P C S K 9 機能の調節物質は、P C S K 9 の活性部位と結合して、そのチモーゲンを安定化し、オートプロセシングを妨げる。さらなる実施態様において、P C S K 9 機能の調節物質は、L D L RのP C S K 9 媒介ダウンレギュレーションを減少させるか、または遮断し；L D L 血中クリアランスのP C S K 9 媒介増加を阻害し；培養肝細胞によって培地中のL D Lクリアランスを増加させ；インビボで肝臓による血中L D Lクリアランスを増加させ；スタチンを包含する他のL D L 低下薬に対する患者の感受性を向上させ；スタチンを包含する他のL D L 低下薬に対して相乗作用を有しており；まだ確認されていない別の因子とのP C S K 9 相互作用を遮断する。P C S K 9 機能の調節物質は、本明細書に例示される。

10

【0056】

本発明の方法に用いる化合物は、塩として投与することができ、これもまた本発明の範囲内である。医薬上許容される（すなわち、非毒性で生理的に適合する）塩が好ましい。本発明の方法の化合物が、例えば、少なくとも1つの塩基中心を有する場合、それらは、酸付加塩を形成することができる。これらは、例えば、下記のものによって形成される：例えば、強無機酸、例えば、鉱酸、例えば、硫酸、リン酸、またはハロゲン化水素酸；強有機カルボン酸、例えば、非置換であるか、または、例えば、ハロゲンによって置換されている炭素原子1～4個のアルカンカルボン酸、例えば、酢酸、例えば、飽和または不飽和ジカルボン酸（例えば、シウ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、フタル酸またはテレフタル酸）、例えば、ヒドロキシカルボン酸（例えば、アスコルビン酸、グリコール酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸またはクエン酸）、例えば、アミノ酸（例えば、アスパラギン酸もしくはグルタミン酸またはリジンもしくはアルギニン）、または安息香酸；または有機スルホン酸、例えば、非置換であるか、または、例えば、ハロゲンによって置換されている、(C₁～C₄)アルキルスルホン酸またはアリールスルホン酸、例えば、メチルスルホン酸またはパラトルエンスルホン酸。複数の塩基中心を有する場合にも、必要に応じて、対応する酸付加塩が形成され得る。少なくとも1つの酸基（例えば、C O O H）を有する本発明の方法に用いる化合物もまた、好適な塩基によって塩を形成することができる。当該塩の代表的な例としては、金属塩、例えば、アルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩もしくはマグネシウム塩、またはアンモニアもしくは有機アミンの塩、例えば、モルホリン、チオモルホリン、ピペリジン、ピロリジン、モノ、ジもしくはトリ低級アルキルアミン、例えば、エチル、tert-ブチル、ジエチル、ジイソプロピル、トリエチル、トリブチルまたはジメチル-プロピルアミン、またはモノ、ジもしくはトリヒドロキシ低級アルキルアミン、例えば、モノ、ジもしくはトリエタノールアミンが挙げられる。対応する内部塩も形成され得る。

20

30

40

【0057】

塩基性基を含有する本明細書に記載の化合物の好ましい塩としては、一塩酸塩、硫酸水素塩、メタンスルホン酸塩、リン酸塩または硝酸塩が挙げられる。

【0058】

酸性基を有する本明細書に記載の化合物の好ましい塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩およびマグネシウム塩、ならびに医薬上許容される有機アミンが挙げられる。

【0059】

本明細書に記載の方法に用いることができる化合物の全ての立体異性体は、混合物であ

50

つても、または純粹なもしくは実質的に純粹な形態であっても、本発明の範囲内にあると考えられる。本発明の化合物は、いずれか1つの置換基Rを包含するいずれかの炭素原子の位置で、不斉中心を有することができる。その結果として、本発明の方法に用いる化合物は、エナンチオマー形態もしくはジアステレオマー形態、またはそれらの混合物で存在し得る。該化合物の製造方法は、出発物質として、ラセミ体、エナンチオマーまたはジアステレオマーを用いることができる。ジアステレオマー生成物またはエナンチオマー生成物が製造された場合には、それらは、慣用の方法、例えば、クロマトグラフィー、キラルHPLCまたは分別結晶化によって分離することができる。

【0060】

本明細書で用いられる場合、用語「ファルマコフォア」とは、特定の生物学的ターゲット構造との最適な超分子相互作用を確実にし、場合によっては、生物学的ターゲットの生物活性を引き起こすか、活性化するか、遮断するか、または調節するのに必要な、立体的および電子的特徴のアンサンブルをいう。IUPAC, Pure and Applied Chemistry (1998) 70: 1129-1143を参照。

10

【0061】

本明細書で用いられる場合、用語「ファルマコフォアモデル」とは、明確な座標系の点の表示をいう（ここで、点は、リガンドおよび／または相互作用ポリペプチド、タンパク質または規則正しい水分子の結合配座における原子または化学的部分の位置または他の特徴に対応する）。規則正しい水分子は、ポリペプチドまたはタンパク質の構造決定から導かれるモデルにおける観察可能な水である。ファルマコフォアモデルは、例えば、リガンドまたはその一部分の結合配座の原子を含むことができる。ファルマコフォアモデルは、リガンドまたはその一部分の結合配座と、該リガンドと相互作用する、結合ポリペプチドまたはタンパク質由来の1個以上の原子との両方を含むことができる。かくして、ファルマコフォアモデルは、リガンドの結合配座の幾何学的特徴に加えて、例えば原子または化学的部分の荷電または疎水性を包含する他の特徴を示すことができる。ファルマコフォアモデルは、リガンドの結合配座内の内部相互作用、またはリガンドの結合配座とポリペプチド、タンパク質、または他の受容体との間の相互作用、例えば、ファン・デル・ワールス相互作用、水素結合、イオン結合、および疎水性相互作用を組み込むことができる。ファルマコフォアモデルは、リガンドの2つ以上の結合配座から導くことができる。

20

【0062】

本明細書で用いられる場合、用語「リガンド」とは、受容体のリガンド結合ドメインと相互作用し、その活性を調節する、いずれかの化合物、組成物または分子をいう。「リガンド」は、また、受容体に直接結合せずに該受容体を調節する化合物を包含することができる。

30

【0063】

本発明の方法の実施において、上記の化合物を、そのままで、または、活性薬剤に誘導することができる形態（例えばプロドラッグ）で投与することができる。プロドラッグは、本明細書に記載の化合物の誘導体であり、その薬理作用は、化学プロセスまたは代謝プロセスによるインビボでの活性化合物への変換によって生じる。本明細書で用いる場合、用語「プロドラッグエステル」としては、アセテート、ピバレート、メチルカーボネート、ベンゾエートなどを生じることが当業者に知られている方法を使用して、本発明の方法で用いられる化合物のヒドロキシル1個以上をアルキル、アルコキシまたはアリール置換アシル化剤と反応させることによって形成されるエステルおよびカーボネートが挙げられる。インビボで変換されて生物活性剤（すなわち、式Iで示される化合物）を提供することができる化合物は、本発明の範囲および精神の範囲内のプロドラッグである。種々の形態のプロドラッグが当該技術分野で周知である。プロドラッグおよびプロドラッグ誘導体の包括的記述は、以下の文献に記載されている：(a) The Practice of Medicinal Chemistry, Camille G. Wermuth et al., Ch 31 (Academic Press, 1996); (b) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985); (c) A Textbook of Drug Design and Development, P. Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, eds., Ch. 5, pgs, 11

40

50

3-191 (Harwood Academic Publishers, 1991)。

【0064】

本発明の方法の実施に使用される治療薬は、そのレシピエントにおいて所望の治療効果を誘導するのに十分な量で投与される。かくして、用語「治療上有効量」とは、本明細書において使用する場合、上記式I～式IXで示される化合物またはそのプロドラッグ1種類以上を投与することによって値用できる症状を治療または予防するのに十分な治療薬の量をいう。好ましくは、該治療上有効量とは、PCK9関連症状を治療するのに適している量、すなわち、ほぼ検出可能な治療効果、予防効果または寛解効果をもたらすのに適している量をいう。当該効果としては、例えば、本明細書に記載の症状の治療または予防を挙げることができる。

10

【0065】

本明細書に記載の化合物は、1日に体重1kgにつき約0.01mg～約200mgの範囲の用量で投与され得る。所望の結果を得るのに効果的なのは、1日に1回以上、1日に0.1～100mg/kg、好ましくは1～30mg/kgの用量である。例えば、経口投与に好適な用量は、1日に体重1kgにつき1～30mgの範囲であるが、静脈内投与の典型的な用量は、1日に体重1kgにつき1～10mg/kgの範囲である。もちろん、当業者にとっては当然のことであるが、実際に投与される用量は、治療対象の症状レシピエントの年齢、健康状態および体重、併用療法を受けている場合にはその種類、治療の頻度に依存する。さらにまた、有効な投与量は、バイオアッセイにより当該化合物の生物活性を測定して投与に適した用量を確立することができる通例の実験による活性試験に基づいて、当業者によって決定することができる。

20

【0066】

本発明の方法に用いる化合物は、典型的には、上記の日量用を送達するために1日1～4回投与される。しかしながら、本明細書に記載の化合物の厳密な投与計画は、必然的に、治療を受ける個々の対象体の要求、施される治療のタイプ、および担当の専門医の判断によって決まる。

30

【0067】

一の態様において、本発明は、個体において、高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状を治療または予防する方法であって、循環PCK9をアンタゴナイズするPCK9機能の調節物質の有効量を該個体に投与することを含む方法を提供する。

30

【0068】

別の態様において、本発明は、個体における、高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療または予防における使用のための、有効量の、循環PCK9をアンタゴナイズするPCK9機能の調節物質を提供する。本発明は、また、個体における、高コレステロール血症、および/または、脂質異常症、アテローム動脈硬化症、CVDもしくは冠動脈心疾患の少なくとも1つの症状の治療用または予防用医薬の製造における、有効量の、細胞外PCK9または循環PCK9をアンタゴナイズするPCK9機能の調節物質の使用を提供する。

40

【0069】

本発明の方法は、PCK9に対する細胞応答の誘発のようなPCK9シグナル伝達によって媒介される下流経路を包含するPCK9生物活性を遮断するか、抑制するか、または低下させる（有意に低下させることを含む）分子である、PCK9機能の調節物質を使用する。

【0070】

PCK9機能の調節物質は、以下の特性の1つ以上を示す：(a) PCK9への結合；(b) LDLRとのPCK9相互作用の低下または遮断；(c) PCK9の分泌の低下または遮断；(d) DLRのPCK9媒介ダウンレギュレーションの減少または遮断；(e) LDL血中クリアランスのPCK9媒介增加の阻害、(f) 培養肝細胞に

50

よる培地中のLDLクリアランスの増加、(g)インビボでの肝臓による血中LDLクリアランスの増加、(h)スタチンを包含する別のLDL低下薬に対する患者の感受性の改善、(i)スタチンを包含する別のLDL低下薬との相乗作用；および(j)まだ確認されていない別の因子とのPCK9相互作用の遮断。

【0071】

一般的に、本発明の方法で用いる化合物は、単独で、または、1種類以上の別の治療薬と併用して、当該技術分野で公知の許容される経路を用いることによってPCK9機能の調節を達成するために投与され得る。かくして、当該活性薬剤は、経口投与、頸側投与、非経口投与、例えば、静脈内注入もしくは動脈内注入、筋肉注射、腹腔内注射、クモ膜下腔内注射もしくは皮下注射による投与、リポソーム媒介送達、直腸投与、膣内投与、吸入もしくは通気法による投与、経皮投与、または耳送達による投与が行われる。
10

【0072】

経口投与される投与単位は、錠剤、カプセル剤、糖衣錠、丸剤、半固体薬剤、ソフトもしくはハードゼラチンカプセル剤、水性もしくは油性液剤、乳剤、懸濁剤またはシロップ剤の剤形のものであってよい。非経口投与に好適な投与剤形としては、注射用液剤もしくは懸濁剤、坐剤、散剤、例えば微結晶剤またはエアゾールスプレー剤が挙げられる。当該活性剤は、また、慣用の経皮送達系に組み込まれてもよい。

【0073】

本明細書で用いられる場合、語句「生理的に適合する担体(carrier medium)」としては、所望の特定の投与剤形に好適な、あらゆる、溶媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散助剤もしくは懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤もしくは乳化剤、保存剤、固体結合剤、滑沢剤、充填剤などが挙げられる。Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th edition (A.R. Genaro et al., Part 5, Pharmaceutical Manufacturing, pp. 669-1015 (Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD/Philadelphia, PA))
20

(2000)には、医薬組成物の製剤化に使用される種々の担体およびそれを調製するための公知の技術が記載されている。例えば、望ましくない生物作用をもたらすこと、または該化合物を含む製剤の他の成分との有害な相互作用をもたらすことなどによって、慣用の医薬担体が本発明で用いるPCK9調節物質と不適合である場合を除いて、その使用は、本発明の範囲内であることが意図される。

【0074】

ハードおよびソフトゼラチンカプセル剤を包含する固体投与剤形の調製のためには、該治療剤を、ラクトース、シュークロース、グルコース、ゼラチン、麦芽、シリカゲル、デンプンまたはその誘導体、タルク、ステアリン酸またはその塩、脱脂粉乳(dried skim milk)、植物油、石油、動物油または合成油、ワックス、脂肪、ポリオールなどの医薬的に不活性な無機または有機賦形剤と混合してよい。液体液剤、乳剤または懸濁剤またはシロップ剤の調製のためには、水、アルコール、生理食塩水、ブドウ糖溶液(aqueous dextrose)、ポリオール、グリセリン、脂質、リン脂質、シクロデキストリン、植物油、石油、動物油または合成油のような賦形剤を使用してよい。坐剤のためには、植物油、石油、動物油または合成油、ワックス、脂肪およびポリオールのような賦形剤を使用してよい。エアゾール製剤のためには、酸素、窒素および二酸化炭素のような、この目的に好適な圧縮ガスを使用してよい。該医薬組成物または製剤は、また、保存剤、安定剤、例えば、UV安定剤、乳化剤、甘味料、浸透圧を調整するための塩、バッファー、コーティング材および抗酸化剤を包含するがこれらに限定されるものではない1種類以上の添加剤を含有してよい。
40

【0075】

本発明は、また、該活性薬剤を好適な送達系に取り込むことを含む、該活性薬剤の投与のための、制御放出性(controlled-release)、持続放出性(sustained-release)、または徐放性(extended-release)治療投与剤形を包含する。この投与剤形は、治療結果の改善および/または副作用の最小化のために、血中濃度が比較的一定に保たれたままで、活性薬剤の有効な血中濃度が長時間にわたって維持され得るような方法で、該活性薬剤の
50

放出を制御する。さらに、制御放出系は、該活性薬剤の血中濃度の最小限の最高最低間変動を提供する。

【0076】

本発明の実施に使用する医薬組成物において、該活性薬剤は、担体および／または存在する場合には補足活性薬剤を含む該組成物の総量に基づいて、少なくとも0.5重量%、一般的に95重量%を超えずに存在してよい。好ましくは、活性薬剤の割合は、組成物の30～90重量%の間でさまざまである。

【0077】

本発明の実施に使用する好ましい化合物としては、上記の式IIおよびVIで示される化合物が挙げられる。より好ましい化合物は、上記の式II～VおよびVIIで示される化合物である。より好ましくは、図1に記載の化合物である。

10

【0078】

本発明の方法は、通常、本明細書に記載の化合物および／または組成物による治療を受けている対象体においてもたらされる治療効果または予防効果を決定するための医学的フォローアップを含む。

【0079】

本明細書に記載の化合物の活性は、実験で証明されている。以下の実施例により、本発明をさらに詳しく説明する。これらの実施例は、単なる説明目的で記載されるのであって、本発明を何ら限定するものではない。

20

【0080】

実施例1

分泌PCK9の試験

HEK-293T細胞を10%ウシ胎仔血清含有D MEM培地中にて96ウェルプレートに播き、37℃で一夜インキュベートした。細胞にPCK9 cDNA構築物をトランسفェクトした。化合物をさまざまな濃度で添加した後、さらに43時間インキュベートした。PCK9アッセイの前に、細胞培地を、同濃度の化合物またはビヒクルを含有するD MEM血清不含培地と取り替え、さらに5時間インキュベートした。該細胞培地を、ウェスタンプロット分析を使用してPCK9分泌について分析し、LAS-4000(GE)を使用して画像化し、定量化した。選択された化合物から得た結果を図3に示す。

30

【0081】

実施例2

LDLRアップレギュレーションの試験

所有の組換えアッセイを使用して、HEK-293細胞内でのPCK9およびLDLR-DNAの共発現が細胞内LDLRの発現レベルを減少させることを証明した。本発明者らは、サイトメガロウィルスプロモーター-エンハンサー(pCMV-LDLR)の制御下でヒトLDLRの発現ベクターを構築した。さらに、PCK9を含有する構築物(pCMV-PCK9-FLAG)を作成した。これらの構築物を哺乳動物細胞にトランسفェクトし、細胞溶解物と上清の両方を、抗PCK9またはLDLR抗体を使用してSDS-PAGEおよび免疫プロット分析にかけた。該プロットから得たデータは、pCMV-PCK9-FLAGだけをトランسفェクトした細胞が非処理(細胞)および処理(培地)PCK9の両方を発現したことを示した(図4)。pCMV-LDLRだけをトランسفェクトした細胞は、細胞内でのLDLRの発現を示した(図4)。しかしながら、pCMV-PCK9-FLAGとpCMV-LDLRの両方をトランسفェクトした細胞は、細胞内LDLRバンドの消失を示し(図4)、これは、PCK9の存在がLDLRの分解を引き起こすかまたはシャペロンとしてLDLRを分解経路に導くというさらなる証明を提供する。PCK9プロセシングの阻害物質を後者の細胞へ添加することによって、LDLRの分解を減少させ、ゲル上の160キロダルトンのバンドを出現させた。このアッセイを用いて、本発明者らは、本発明の化合物がLDLRの分解を減少させる能力について試験した。このアッセイには、HEK-293細胞を使用した。これらの細胞を96ウェルプレート中にて一夜増殖させ、該細胞にLDLR/PCK9をト

40

50

ンスフェクトした。該培養培地に、DMSOまたはビヒクルに溶解した化合物を添加し、24~48時間インキュベートした；次に、細胞を溶解する。上記のイムノアッセイを使用して、細胞溶解物を定量化した。PCSK9の培地への分泌を阻害し、LDLRのアップレギュレーションを増加させる化合物を選択した（図5）。

【0082】

試験によって、本明細書に記載の化合物が、HepG2細胞内でのLDLRの内因的発現をアップレギュレートする能力を有することを確認した。PCSK9細胞をトランスフェクトしたHepG2を96ウェルプレート中にて30,000細胞／ウェルの密度で培養した。翌日、細胞を選択されたスクリーニング化合物またはビヒクルで処理する。細胞を48時間インキュベートし、次に、LDL受容体-ポリオール抗体を使用して定量化し、上記のようにして分析した。図5のデータは、これらの化合物が、対照と比べて0.4uMで数倍のLDLRのアップレギュレーションを伴って、同体積のDMSOで処理した細胞と比べてLDLRのレベルを増加させたことを示している。かくして、該データは、PCSK9のプロセシングおよび分泌の阻害がLDLRのアップレギュレーションを引き起こすという本発明者らの最初の仮説を支持している（図6）。

10

【0083】

実施例3

インサイトでのHepG2細胞におけるDil-LDLの取り込み

本発明者らは、また、PCSK9調節化合物がHepG2細胞におけるFluorescent Dil-LDLの取り込みを増強する能力を試験した。すなわち、HepG2細胞をプレートに播き、一夜増殖させた。該細胞に化合物を添加した後、Fluorescent Dil-LDLを添加した。細胞を広範囲に洗浄し、Synergy2プレートリーダーを使用して、細胞によって取り込まれたFluorescent Dil-LDLを測定した（図7）。

20

【0084】

実施例4

細胞生存率の試験

インサイトでの細胞生存率を試験するために、PCSK9分泌を阻害する全化合物を使用する。HEK-293T細胞またはHepG2細胞を10%ウシ胎仔血清を含有する細胞培地中にて96ウェルプレートに播き、37℃で一夜インキュベートした。24時間後、細胞に種々の濃度の化合物を添加し、さらに48時間インキュベートする。Resazurin（Sigma 199303）およびSynergy2 Multilabel Plateリーダーを使用して、細胞生存率をアッセイした。

30

【0085】

実施例5

式I'I'I~式V'I'I'Iで示される化合物の一般的合成方法

式I'I'Iで示される化合物。式I'I'Iで示される化合物の一般的製造方法（図8）。市販の4-イソシアナト安息香酸メチルをアンモニア（わずかに過剰）と反応させ、次に、LiOH（1.5当量）で鹹化した後、塩化オキサリル（1.5当量）を用いて該粗酸を酸クロライドに直接変換し、精製せずに次工程に進めた。塩基性条件（TEA、2.0当量）下で該酸クロライドを市販のマンデル酸エチル（1.5当量）とカップリングさせ、LiOH（3.0当量）で2回目の鹹化を行った後、得られた酸を、DIPPEAおよびHATUを使用して置換アニリン（2~5当量）とカップリングさせた。水性後処理後、得られた残留物を、ジクロロメタン中MeOH勾配液（0~10%）を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理するか、または逆相クロマトグラフィー（アセトニトリル／水5~95%）処理して、式I'I'Iで示される目的化合物（例えば、SBC-110,686、図1）を得た。

40

【0086】

式IVおよび式Vで示される化合物。文献（Organic Letters, 2004, 6(21), 3675-3678）に従って、N-Boc-フェニルグリシン（化合物2、図9）を製造した。

50

【0087】

化合物3(図9)の一般的製造方法：N-Boc-フェニルグリシン(化合物1；1当量)、対応するアニリン(1.2当量)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(5当量)およびHATU(O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム・ヘキサフルオロリン酸塩、1.5当量)をDMF(ジメチルホルムアミド、出発物質中1M溶液)中にて室温で一夜搅拌した。水性後処理、ジクロロメタン抽出および揮発性物質の蒸発の後、該粗物質を、ヘキサン中酢酸エチル勾配液を使用してシリカゲルカラムフラッシュクロマトグラフィー処理した。得られたN-Boc-アミンをジクロロメタン(0.5M)および過剰のトリフルオロ酢酸(15当量)中にて室温で搅拌した。揮発性物質を除去した後、得られた中間体アミンを、さらなる精製を行わずに次工程に進めた。

10

【0088】

中間体5および中間体6(図9)の一般的製造方法：中間体アミン3を、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(5当量)と、それぞれ4-ニトロベンゾイルクロライド(1.2当量)または4-ニトロベンゼンスルホニルクロライド(1.2当量)とを含むジクロロメタン中にて室温で一夜搅拌した。水性後処理後、ジクロロメタン抽出し、揮発性物質を除去した。さらなる精製を行わずに、該粗中間体をメタノール(0.05M)および6N塩酸水溶液(該メタノールの10容量%)で希釈した。水素雰囲気下にてPd/C(10%、0.1当量)を用いて水素添加を一夜行った。該反応混合物をセライト(登録商標)で濾過し、揮発性物質を除去して、粗中間体5および粗中間体6を得、さらなる精製を行わずに次工程に進めた。

20

【0089】

式V-Iで示される化合物。式V-Iで示される化合物(図10)の一般的製造方法。市販の3-フェニル-ピペラジン-2-オンをBoc₂O(1.5当量)で保護した。精製した後、トルエン(0.5M)中にて80度2時間搅拌したアリールプロマイド(1.2当量)、Pd₂dba₃(トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0)、0.2当量)、BINAP(2,2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル、0.2当量)およびKOTBu(1.5当量)を用いてクロスカップリング反応を行って、N-アリール化した。水性後処理およびジクロロメタンでの抽出の後、得られた混合物を、ヘキサン中酢酸エチル勾配液(0~15%)を使用してシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー処理して、N-アリールピペラジノンを得た。

30

Boc除去(TFA、ジクロロメタン)後、該アミンを、さらなる精製を行わずに進めた。得られたアミンと、入手可能なまたは合成したベンゾイルクロライドまたはアリールスルホニルクロライド誘導体とを反応させ、水性後処理後、残留物を、ジクロロメタン中MeOH勾配液(0~5%)を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理するか、または逆相クロマトグラフィー(アセトニトリル/水 5-95%)処理して、式V-Iで示される化合物を得た。

【0090】

式V-IIおよび式V-IIIで示される化合物。ピペラジン14の製造方法(図11)。市販の2-フェニル-ピペラジン(1当量)、臭化フェニル13(1.1当量)、Pd₂dba₃(トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0)、0.2当量)、BINAP(2,2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチル、0.2当量)およびKOTBu(1.5当量)をトルエン(0.5M)中にて80度2時間搅拌した。水性後処理およびジクロロメタンによる抽出の後、得られた混合物を、ヘキサン中酢酸エチル勾配液(0~25%)を使用してシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー処理して、N-置換ピペラジン14を得た。

40

【0091】

中間体8(図12)、中間体11(図13)、ならびに中間体15および中間体16(図11)の一般的製造方法：ピペラジン7、ピペラジン10およびピペラジン14を、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(5当量)と、それぞれ4-ニトロベンゾイルクロラ

50

イド(1.2当量)または4-ニトロベンゼンスルホニルクロライド(1.2当量)とを含むジクロロメタン中にて室温で一夜搅拌した。水性後処理後、ジクロロメタン抽出し、揮発性物質を除去した。さらなる精製を行わずに、該粗中間体をメタノール(0.05M)および6N塩酸水溶液(該メタノールの10容量%)で希釈した。水素雰囲気下にてPd/C(10%、0.1当量)を用いて水素添加を一夜行った。該反応混合物をセライト(登録商標)で濾過し、揮発性物質を除去して、粗中間体8、粗中間体11、粗中間体15および粗中間体16を得、さらなる精製を行わずに次工程に進めた。

【0092】

SBC-110,716、SBC-110,717、SBC-110,728、SBC-110,725、SBC-110,726、SBC-110,729、SBC-110,730、SBC-110,733、SBC-110,734、SBC-110,735、SBC-110,736、SBC-110,769、およびSBC-110,771の一般的製造方法：中間体5、中間体6、中間体8、中間体11、中間体15および中間体16を酢酸および水(10:1、0.05~0.1M)中にてNaOCN(2当量)と一緒に一夜搅拌した。該反応混合物を、容器に入っていないシリカゲル(loose silica gel)に移し、揮発性物質を除去し、残留物をDMSOに溶解した。ジクロロメタン中MeOH勾配液(0~10%)を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理するか、または逆相クロマトグラフィー処理(アセトニトリル/水 5~95%)して、目的化合物を得た。

【0093】

実施例6

SBC-110,716、SBC-110,717およびSBC-110,728の合成
2-アミノ-N-(3-クロロ-4-メチルフェニル)-2-フェニルアセトアミド(化合物3、図9; R=3-C1-4-Me): N-Boc-フェニルグリシン(1.73g、6.90mmol)、3-C1-4-Me-アニリン(1.00mL、8.28mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(6.00mL、34.5mmol)およびHATU(3.9g、10.35mmol)をDMF(5mL)中にて室温で一夜搅拌した。水性後処理後、ジクロロメタン抽出し、揮発性物質を除去した。ヘキサン中酢酸エチル勾配液(0~35%)を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理して、N-Boc保護アミン1.34gを得た。該化合物をジクロロメタン(5mL)中にてトリフルオロ酢酸(5mL、過剰)と一緒に一夜搅拌した。揮発性物質を除去して、アミン3(R=3-C1-4-Me)0.99g(97%)を得、さらなる精製を行わずに次工程に進めた。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400 MHz, ppm) 10.77(s, 1H), 8.77(s, 1H), 7.75(d, J=2 Hz, 1H), 7.59-7.57(m, 2H), 7.51-7.45(m, 3H), 7.36(dd, J=8.4, 2 Hz, 1H), 7.31(d, J=8.4 Hz, 1H), 5.10(s, 1H), 2.27(s, 3H)。

【0094】

4-アミノ-N-(2-((2-ブロモ-4-メチルフェニル)アミノ)-2-オキソ-1-フェニルエチル)ベンズアミド(5): 2-アミノ-N-(2-ブロモ-4-メチルフェニル)-2-フェニルアセトアミド(0.1g、0.31mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(0.13mL、0.93mmol)および4-ニトロ-ベンゾイルクロライド(0.07g、0.37mmol)をDCM(3mL)中にて一夜搅拌した。水性後処理し、ジクロロメタン抽出した後、ヘキサン中酢酸エチル勾配液(0~15%)を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理して、該中間化合物0.06g(41%)を得た。該中間体およびPd/C-10%(0.05g)をメタノール(5mL)および6N HCl水溶液(0.5mL)中にて水素下で一夜搅拌した。該反応混合物をセライトで濾過し、揮発性物質を除去した。粗生成物0.058g(定量的収率)をさらなる精製を行わずに次工程に進めた。¹H-NMR(CD₃OD, 400 MHz, ppm) 7.91(d, J=8.8 Hz, 2H), 7.49-7.47(m, 2H), 7.34-7.25(m, 7H), 7.00(d, J=8 Hz, 2H), 5.71(s, 1H), 2.18(s, 3H)。

【0095】

シアン酸ナトリウム反応について、一般的方法(実施例5)を参照。

10

20

30

40

50

S B C - 1 1 0 , 7 1 6 : ^1H - NMR (CD₃OD, 400 MHz, ppm) 7.73 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.35-7.25 (m, 5H), 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.71 (s, 1H), 2.20 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 481.34..

【 0 0 9 6 】

3のスルホニル化、その後の水素化、およびA c O H中での中間体6とNaOCNとの次反応について、一般的方法（実施例5）を参照。

S B C - 1 1 0 , 7 1 7 : ^1H - NMR (CD₃OD, 400 MHz, ppm) 7.60 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.35-7.32 (m, 3H), 7.26-7.16 (m, 5H), 7.10-6.94 (m, 3H), 4.90 (s, 1H), 2.18 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 472.00..

S B C - 1 1 0 , 7 2 8 : ^1H - NMR (CD₃OD, 400 MHz, ppm) 7.70 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.62 (bs, 1H), 7.44 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.36-7.26 (m, 6H), 7.14 (bs, 2H), 5.00 (s, 1H), 2.31 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 517.00.

【 0 0 9 7 】

実施例7

S B C - 1 1 0 , 7 2 5 およびS B C - 1 1 0 , 7 2 6 の合成

中間体8の合成、およびA c O H中にてNaOCNとの次反応（図12）について一般的方法（実施例5）を参照。

S B C - 1 1 0 , 7 2 5 : ^1H - NMR (DMSO-d6, 400 MHz, ppm) 8.76 (s, 1H), 8.39 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 6.67 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 5.94 (s, 2H), 3.57 (bs, 4H), 3.37 (bs, 4H); LC - MS (ESI) (m/z) 327.10.

S B C - 1 1 0 , 7 2 6 : ^1H - NMR (DMSO-d6, 400 MHz, ppm) 10.13 (s, 1H), 8.39 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 7.65 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.67 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.78 (bs, 4H), 3.56 (bs, 4H), 2.08 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 326.10.

【 0 0 9 8 】

実施例8

S B C - 1 1 0 , 7 2 9 およびS B C - 1 1 0 , 7 3 0 の合成

ピペラジン10 [1-((4-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-2-イル)メチル)ピペラジン]（図13）：市販のN - B o c - ピペラジン（0.40 g、2.15 mmol）、市販の2 - クロロメチル - 4 - メトキシ - 3,5 - デミチルピリジン・塩酸塩（0.45 g、2.03 mmol）およびトリエチルアミン（0.85 mmol、6.10 mmol）をジメチルホルムアミド（5 mL）中にて室温で一夜攪拌した。水性後処理し、ジクロロメタン抽出し、揮発性物質を除去した後、N - B o c 保護中間体をさらなる精製を行わずに次工程に進めた。該中間体をジクロロメタン（5 mL）およびトリフルオロ酢酸（5 mL）中にて室温で一夜攪拌した。水性後処理した後、濃NaOH水溶液（8 M）を滴下してpHを7に調整した。酢酸エチル抽出および揮発性物質の除去により、粗生成物10（0.44 g、9.2%（二工程にわたる））を得、さらなる精製を行わずに次工程に進めた。 ^1H - NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 8.17 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 2.89-2.86 (m, 4H), 2.49-2.43 (m, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.23 (s, 3H)..

【 0 0 9 9 】

S B C - 1 1 0 , 7 2 9 : 中間体11（0.078 g、0.2 mmol）をギ酸（3 mL）中にてNaOCN（0.026 g、0.4 mmol）と一緒に一夜攪拌した。該反応混合物を、容器に入っていないシリカゲル（loose silica gel）に移し、揮発性物質を除去した。ジクロロメタン中MeOH勾配液（0~10%）を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理して、S B C - 1 1 0 , 7 2 9（0.042 g、5.5%）を得た。NMRスペクトルは、2つの互変異性体（最終ホルムアミドおよび最終ホルムイミド酸）が2:1で平衡であることを示している。 ^1H - NMR (CD₃OD, 400 MHz, ppm) 8.73 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 8.36 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 8.24 (s, 2H), 8.01 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.90 (s, 2H), 7.55 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.4 Hz,

4H), 7.09 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 3.80 (s, 12H), 3.68 (s, 8H), 2.60-2.40 (bs, 12H), 2.32 (s, 10H), 2.27 (s, 10H); LC - MS (ESI) (m/z) 383.20.

【0100】

S B C - 110, 730 : A c O H 中での中間体 11 および N a O C N の反応について一般的な方法（実施例 5）を参照。¹H - NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 8.20 (s, 1H), 7.58 (bs, 1H), 7.49 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 2.49 (bs, 4H), 2.31 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.08 (s, 2H); LC - MS (ESI) (m/z) 397.20.

【0101】

実施例 9

S B C - 110, 733 - 6、S B C - 110, 769、および S B C - 110, 771 の合成

1 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 3 - フェニルピペラジン（タイプ 14 の化合物、図 11）：2 - フェニル - ピペラジン（0.13 g、0.80 mmol）、2 - C1 - 4 - Br - トルエン（0.10 mL、0.76 mmol）、Pd₂d_ba₃（0.07 g、0.08 mmol）、BINAP（0.048 g、0.08 mmol）および KOtBu（0.13 g、1.14 mmol）を 80 °C のトルエン（2 mL）中にて攪拌した。水性後処理し、ジクロロメタン抽出し、揮発性物質を除去した後、ヘキサン中酢酸エチル勾配液（10 ~ 60%）を使用してフラッシュクロマトグラフィー処理して、1 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 3 - フェニルピペラジン 14（0.13 g、56%）を得た。¹H - NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 7.46-7.44 (m, 2H), 7.39-7.29 (m, 3H), 7.08 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.75 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 3.96 (dd, J = 10.4, 2.8 Hz, 1H), 3.57-3.54 (m, 2H), 3.24 (dt, J = 11.6, 3.2 Hz, 1H), 2.86 (td, J = 11.6, 3.2 Hz, 1H), 2.68 (t, J = 11.2 Hz, 1H), 2.27 (s, 3H)。

【0102】

A c O H 中での中間体 15 および中間体 16 と N a O C N との反応について、一般的な方法（実施例 5）を参照。

S B C - 110, 733 : ¹H - NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 7.91 (s, 1H), 7.30 (bs, 2H), 7.19 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.13-7.08 (m, 4H), 6.99-6.94 (m, 3H), 6.75 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 4.95 (bs, 2H), 3.92 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.32-3.21 (m, 2H), 3.06 (dd, J = 12.8, 3.6 Hz, 1H), 2.72 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 2.12 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 449.10..

S B C - 110, 734 : ¹H - NMR (CD₃OD, 400 MHz, ppm) 8.48 (s, 1H), 7.45 (bs, 2H), 7.42 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.35-7.29 (m, 4H), 7.23-7.19 (m, 1H), 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.83 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.51 (s, 1H), 4.14 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.87-3.84 (m, 1H), 3.45-3.41 (m, 1H), 3.10 (dd, J = 12.8, 4 Hz, 1H), 2.78 (td, J = 11.8, 3.2 Hz, 1H), 2.18 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 415.20.

S B C - 110, 735 : ¹H - NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 8.00 (bs, 1H), 7.45-7.35 (m, 4H), 7.30-7.20 (m, 5H), 7.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.68 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 4.03 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.37 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 3.27 (t, J = 11.8 Hz, 1H), 3.13 (dd, J = 12.4 Hz, 1H), 2.79 (t, J = 10.2 Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.07 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 448.15.

S B C - 110, 736 : ¹H - NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 7.56-7.50 (m, 4H), 7.41-7.28 (m, 5H), 7.11 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.88 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.14 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.45 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.35 (t, J = 12.4 Hz, 1H), 3.19 (dd, J = 12.8, 4 Hz, 1H), 2.86 (t, J = 11 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 414.20.

S B C - 110, 769 : ¹H - NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, ppm) 10.12 (s, 1H), 7.95 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80-7.60 (m, 3H), 7.55-7.25 (m, 11H), 7.15 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.81-3.79 (m, 2H), 2.87-2.84 (m, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.06 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 414.20.

S B C - 110, 771 : ¹H - NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, ppm) 10.12 (s, 1H), 7.95 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80-7.60 (m, 3H), 7.55-7.25 (m, 11H), 7.15 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.81-3.79 (m, 2H), 2.87-2.84 (m, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.06 (s, 3H); LC - MS (ESI) (m/z) 414.20.

10

20

30

40

50

(ESI) (m/z) 464.20.。

S B C - 1 1 0 , 7 7 1 : ¹H - NMR (DMSO-d6, 400 MHz, ppm) 9.06 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.70-7.66 (m, 3H), 7.59 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.53-7.46 (m, 3H), 7.37 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.10 (s, 2H), 3.82 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 3.61 (t, J = 11.4 Hz, 1H), 3.52 (d, J = 12 Hz, 1H), 3.09 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 2.98 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.45 (t, J = 1.8 Hz, 1H); LC - MS (ESI) (m/z) 500.10.

【 0 1 0 3 】

実施例 1 0

10

動物モデルにおける効力の試験

S B C - 1 1 0 , 6 8 6 、 S B C - 1 1 0 , 7 3 3 および S B C - 1 1 0 , 7 3 6 を、雄性マウス (C 5 7 B L / 6 マウス) におけるそれらの効力について試験した。温度 (20 ~ 24) 、湿度 (60 ~ 70 %) 、12時間明暗サイクルの環境制御下で、1ケージにつき4匹のマウスを飼育した。該マウスを、図14に示されるように5つのグループに分けた。1つのグループには、市販の固形飼料 (P r o l a b R M H 3 0 0 0 、 P M I feeds, St. Louis, MO) を与えてネガティブ対照とし、一方、残りの4つのグループには、カロリーの60%を脂肪から供給する高脂肪食 (T D . 0 6 4 1 4) を与えた。水は自由に与えた。血漿を週1回回収して、L D L のレベルをモニターした。4週間高脂肪食を与えた後、異なるグループ間で平均L D L レベルが等しくなるように、マウスをいくつかのグループのうちの1つに割り当てた。高脂肪食摂取マウスの4つのグループのうちの1つをビヒクルで処理し、ポジティブ対照とし、残りの3つのグループを、それぞれ、該化合物のうちの1つで 8 m g / k g で、2週間、毎日皮下処理した。投薬後、週2回、管1本につき2 U S P 単位のヘパリンアンモニウム塩が入っているヘパリン処理毛細管 (Carolina, Burlington, NC) を介して後眼窩静脈叢から血液サンプル (75 μ l) を回収した。すぐに室温で5分間遠心分離 (5,000 × g) することによって血漿を分取し、次に、脂質プロファイルのアッセイまで - 80 で維持した。コレステロール、L D L - C 、H D L - C 、およびトリグリセリドの血漿中濃度を酵素的に測定した。さらに、E L I S A およびマルチプレックスアッセイを使用して、P C S K 9 阻害物質の潜在的な多面的効果について、P C S K 9 およびケモカイン / サイトカインの血漿中濃度を測定した。

20

30

【 0 1 0 4 】

本発明者らのデータは、B C - 1 1 0 , 6 8 6 、 S B C - 1 1 0 , 7 3 3 および S B C - 1 1 0 , 7 3 6 が、高脂肪食を与えたマウスにおいてコレステロール濃度を減少させたことを示し (図15および16) 、2週間後、S B C - 1 1 0 , 7 3 6 が、総コレステロール濃度を高脂肪食動物の濃度と比べて平均 38 % 減少 (P < 0.01) させたことを示し、通常食のコレステロール濃度に戻すことに関しては平均 50 % 減少 (P < 0.01) したことを示している。

40

【 0 1 0 5 】

アトロバスタチンを用いて、別の実験を行った。データは、当該化合物とアトロバスタチンとの併用が、高脂肪食摂取マウスにおけるL D L - C 濃度の減少に対する相加効果をもたらしたことを示した。図17は、マウスにおけるS B C - 1 1 0 , 7 3 6 とアトロバスタチンとの併用によって得られたデータを示しており、2週間処置した後のL D L - C 濃度の減少の相加効果を示している。

【 0 1 0 6 】

本明細書は、本発明が関係する技術水準を示すために提供される刊行物の引用を含んでいる。引用した刊行物のそれぞれの記載内容は、出典明示によりその全体として本明細書の一部を構成する。

【 0 1 0 7 】

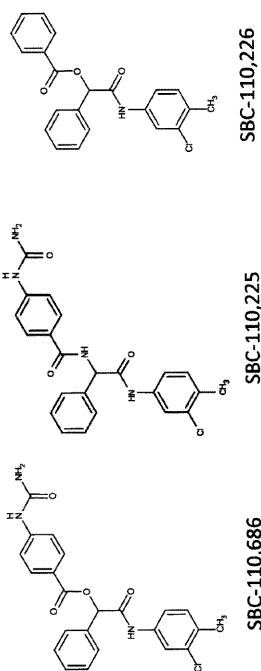
本発明の特定の実施態様が上記にて記載および / または例示されているが、上記の記載から、他のさまざまな実施態様が当業者には明らかであろう。したがって、本発明は、記

50

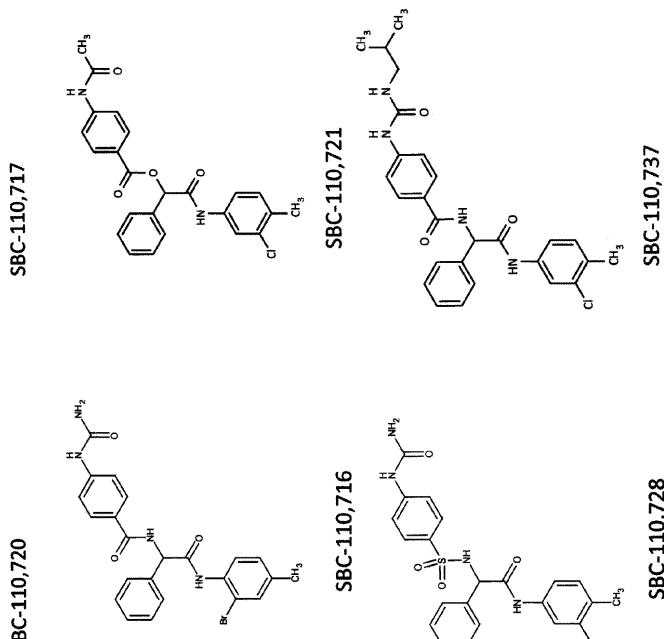
載および／または例示された特定の実施態様に限定されるものではなく、特許請求の範囲の範囲から逸脱することなく相当の変形および変更が可能である。さらにまた、移行句「～を含む（comprising）」、「実質的に～からなる（consisting essentially of）」および「～からなる（consisting of）」は、オリジナルの形態および補正された形態において、特許請求の範囲で使用される場合、請求項に記載されていないさらなる要素または工程が存在する場合にはどのようなものが請求項の範囲から排除されるかについて請求項の範囲を定義する。用語「～を含む（comprising）」は、包括的であるかまたは制約がないことを意図しており、記載されていないさらなる要素、方法、工程または材料を排除しない。用語「～からなる（consisting of）」は、請求項に具体的に記載されている要素、工程または材料以外のいずれの要素、工程または材料も排除し、後者の場合、不純物は通常具体的に記載された材料に付随する。用語「実質的に～からなる（consisting essentially of）」は、請求項の範囲を、具体的に記載された要素、工程または材料、および請求項に係る発明の基本的かつ新規の特徴に大いに影響を及ぼさない要素、工程または材料に限定する。本発明を具体化する全ての組成物および方法は、別の実施態様において、移行句「～を含む（comprising）」、「実質的に～からなる（consisting essentially of）」および「～からなる（consisting of）」のいずれかによって、より具体的に定義され得る。

10

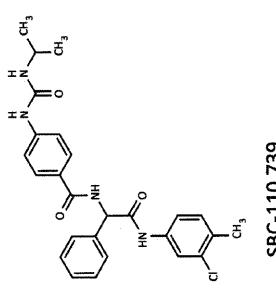
【図1A】



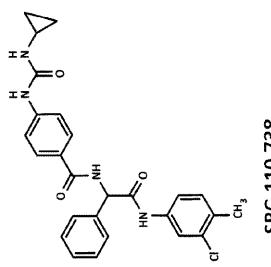
【図1B】



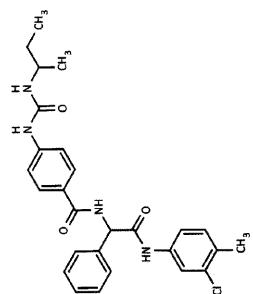
【図1C】



SBC-110,739

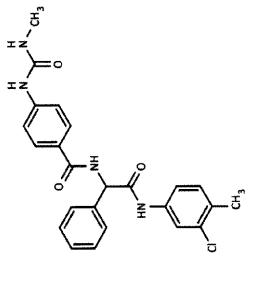


SBC-110,738

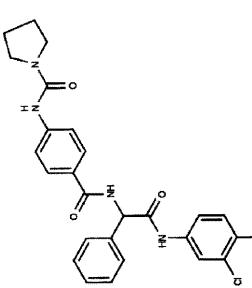


SBC-110,742

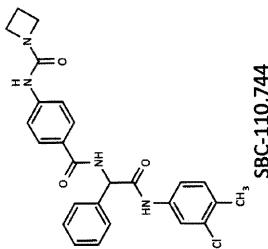
【図1D】



SBC-110,743

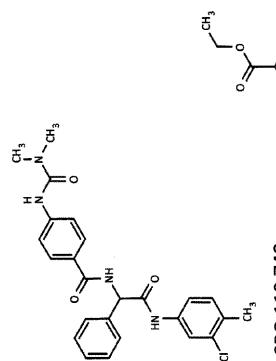


SBC-110,741

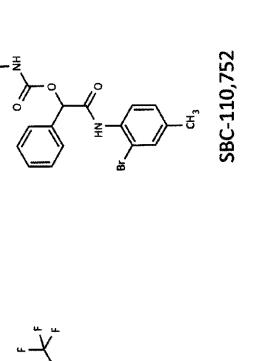


SBC-110,744

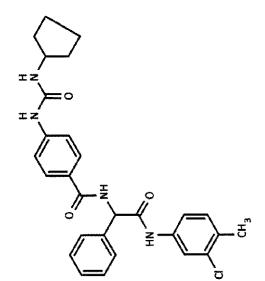
【図1E】



SBC-110,748

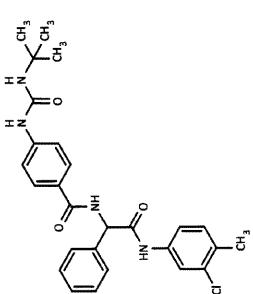


SBC-110,752

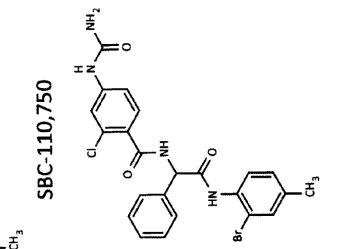


SBC-110,747

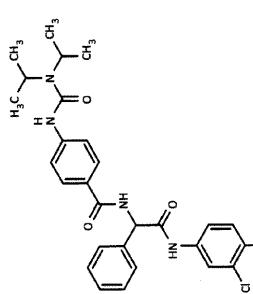
【図1F】



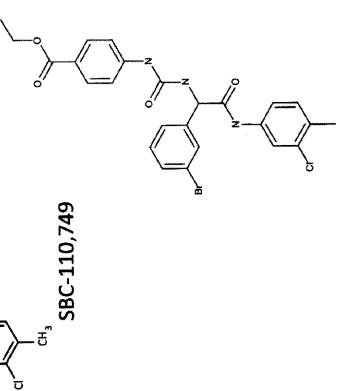
SBC-110,750



SBC-110,754

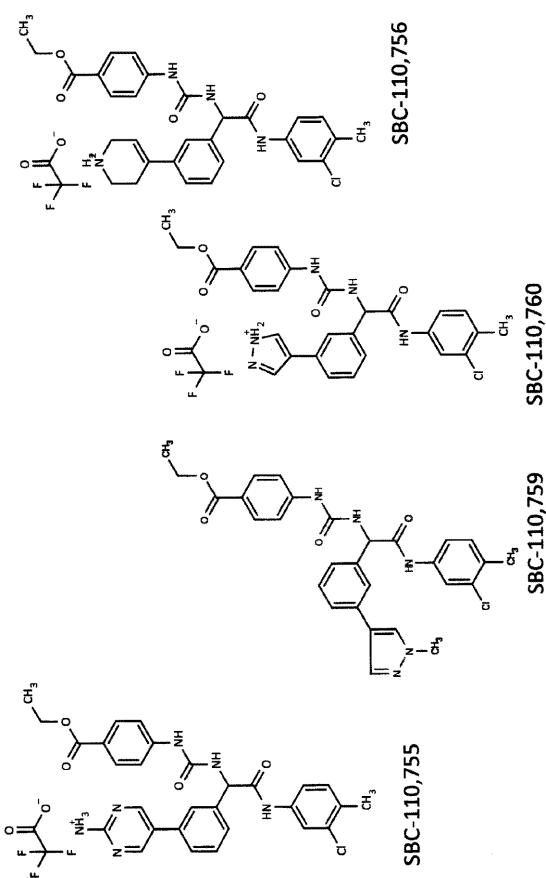


SBC-110,749

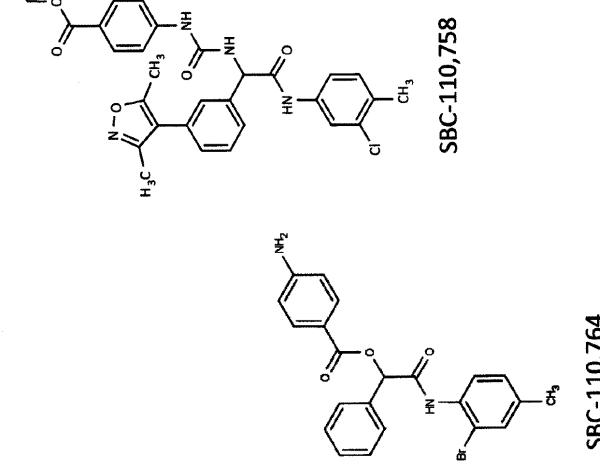


SBC-110,753

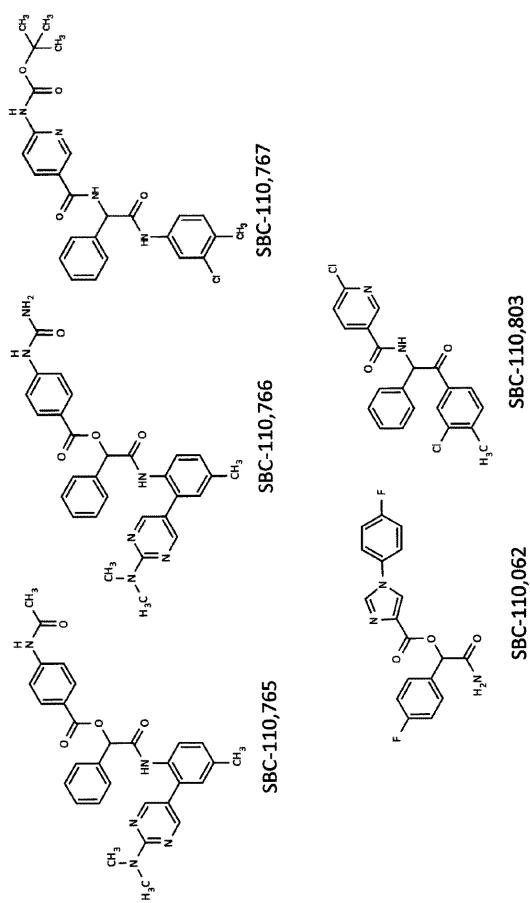
【図1G】



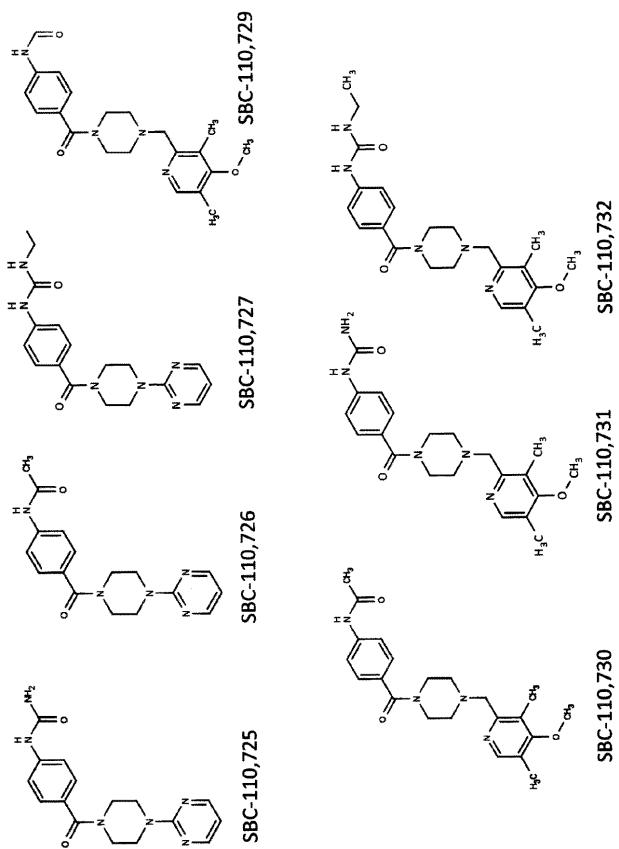
【図1H】



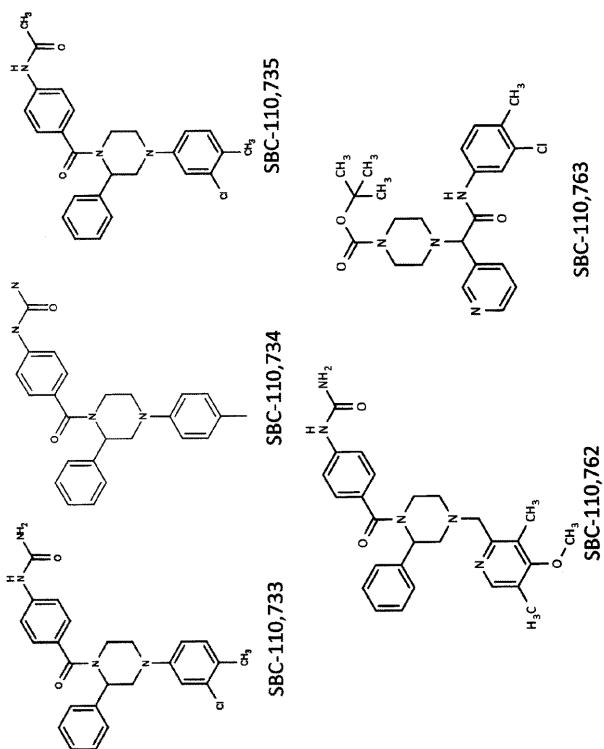
【図1I】



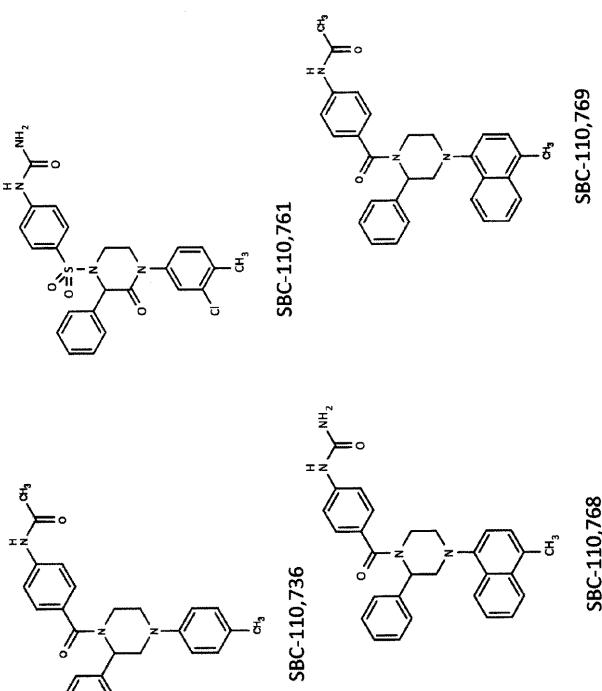
【図1J】



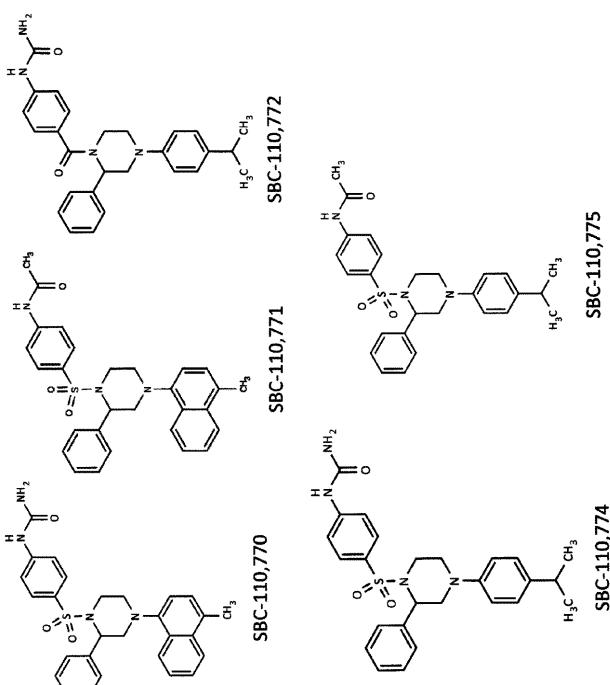
【図1K】



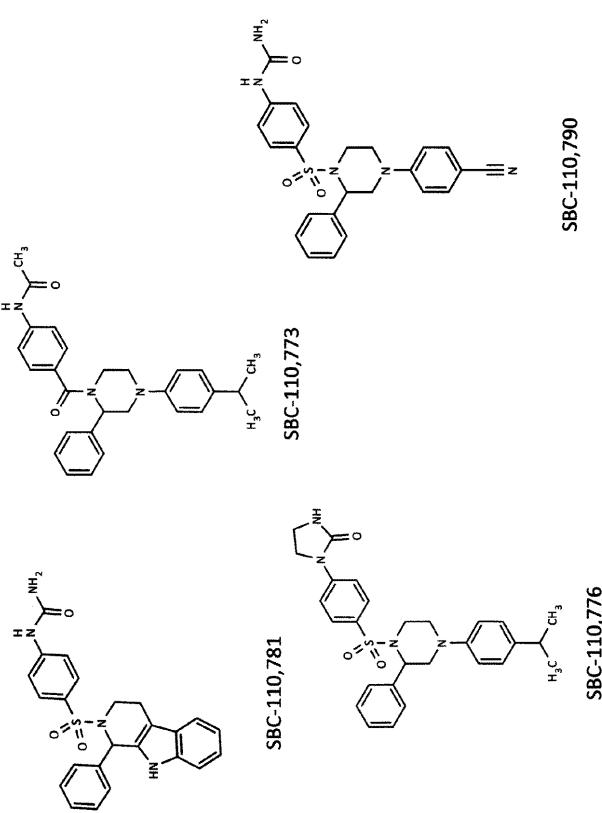
【図1L】



【図1M】



【図1N】



【図2】

配列番号1

```

10          20          30          40          50          60
MGTVSSRSW WPLPPLLLL LLLGPAGARA QEDEDGDYEE LVLALRSEED GLAEAPEHGT

70          80          90          100         110         120
TATFHRCAKD PWRLPGTYVV VLKEETHLSQ SERTARRLQA QAARRRGYLTK ILHVFHGLLP

130         140         150         160         170         180
GFLVKMSGDL LEELALKLPHV DYIEEDSSVF AQSIPWNLER ITPPRYRADE YQPPDGGSIV

190         200         210         220         230         240
EVYLLDTSIQ SDHREIEGRV MVTFENVP EDGTRFHRQA SKCDSHGTHL AGVVSGRDAG

250         260         270         280         290         300
VAKGASMRSI RVLNQCQGGT VSGTLIGLEF IRKSQQLVOPV GPLVVLLPLA GGYSRVLNAA

310         320         330         340         350         360
CQRLLARAGVV LVTAAGNFRD DACLYSPASA PEVITVGATN AQDQPVTLGT LGTNFGRCVD

370         380         390         400         410         420
LFAPGEDIIG ASSDCSTCFV SQSGTSQAAA HVAGIAAMML SAEPELTIAE LRQRLLHFSA

430         440         450         460         470         480
KDVINEAWFP EDQRVLTPLN VAALPPSTHG AGWQLFCRTV WSAHSGPTRM ATAVARCAFD

490         500         510         520         530         540
EELLSCSSFS RSGKRRGERM EAQGGKLVCR AHNAFGGEVG YAIARCCLLP QANCSVHTAP

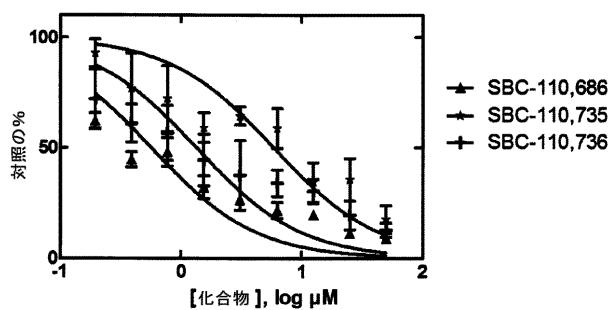
550         560         570         580         590         600
PAEASMGTRV HCHQQQGHVLT GCSSHWEVED LGTHKPPVLR PRGQPQNCVVG HREASIHASC

610         620         630         640         650         660
CHAPGLECKV KEHGIPAPQE QVTVACEERGW TLTGCSALPG TSHVLGAYAV DNTCVVRSRD

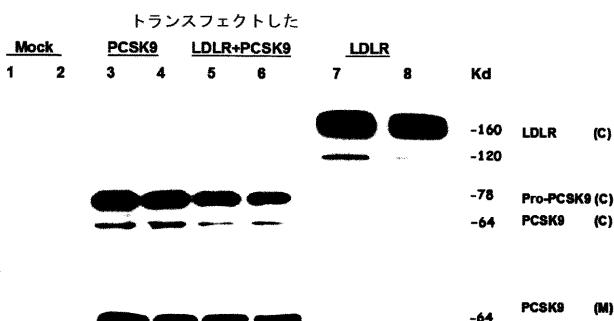
670         680         690
VSTTGSTSEG AVTAVAICCR SRHLAQASQE LQ

```

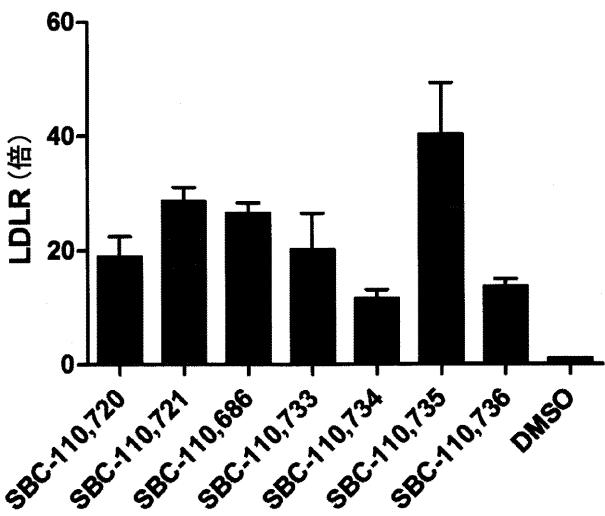
【図3】



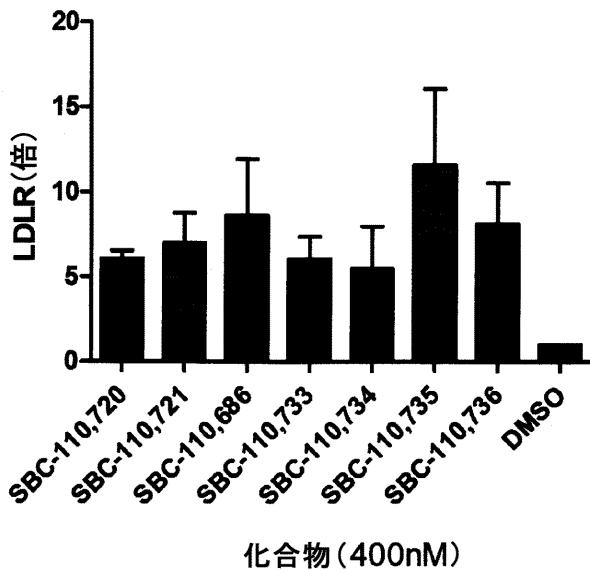
【図4】



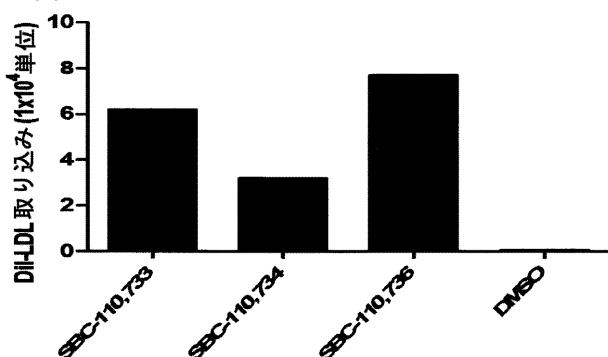
【図5】



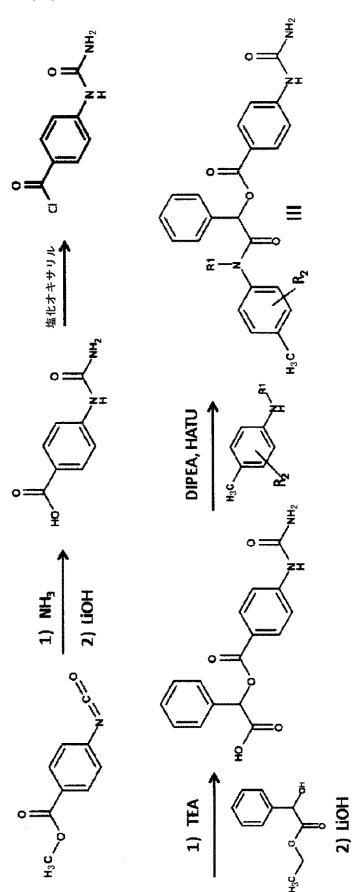
【図6】



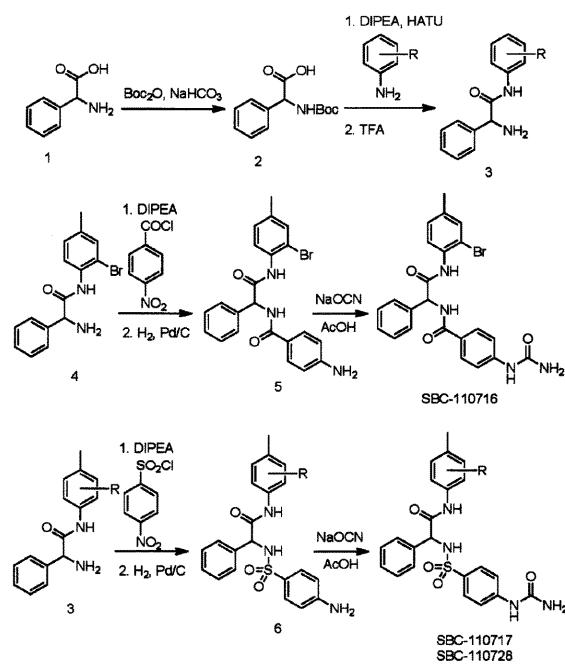
【図7】



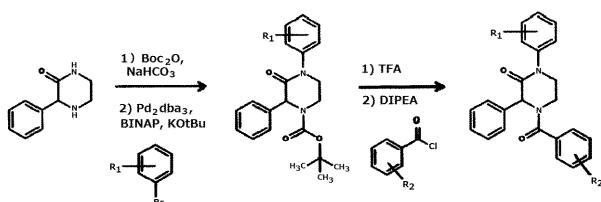
【図8】



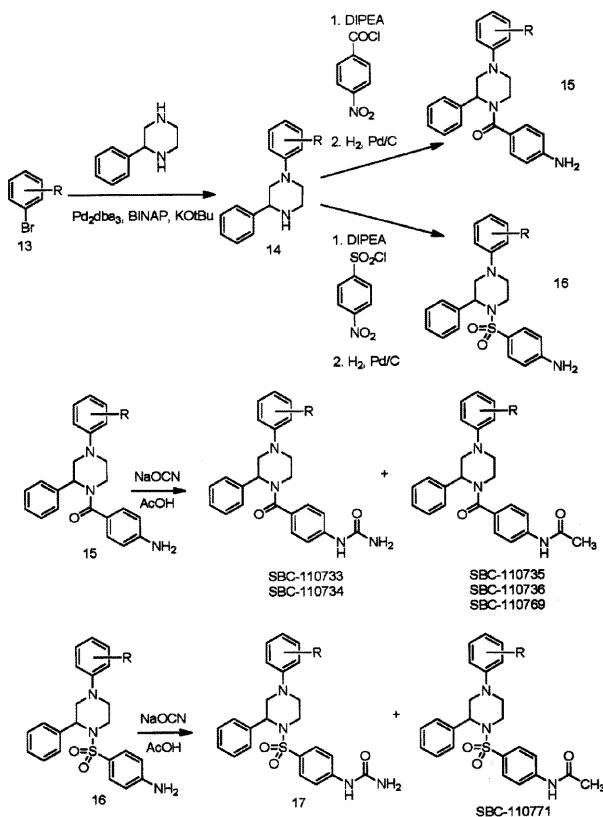
【図9】



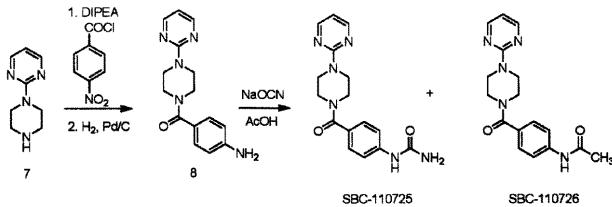
【図10】



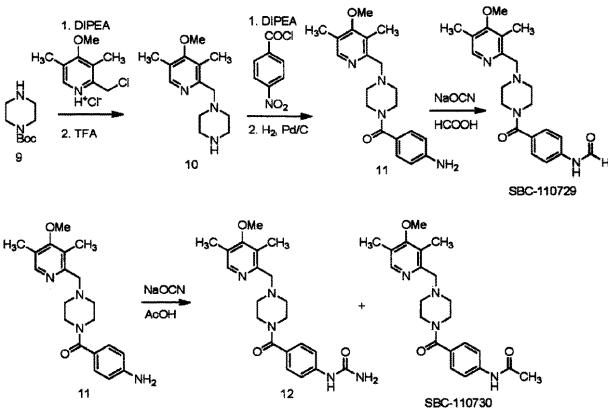
【図 1 1】



【図 1 2】



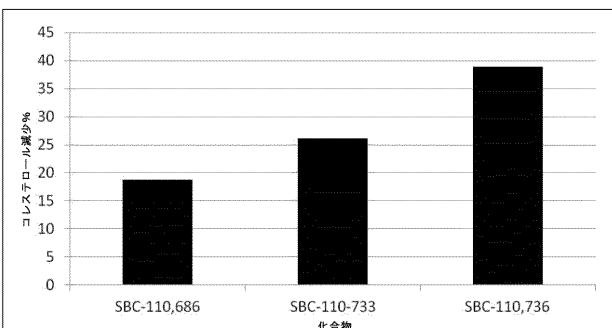
【図 1 3】



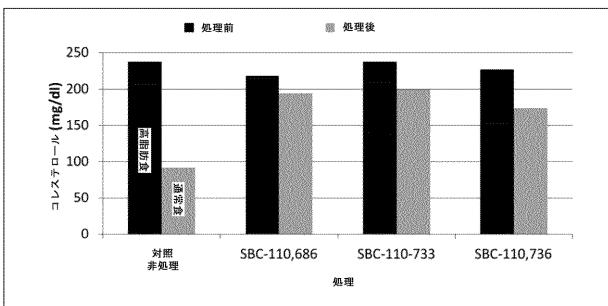
【図 1 4】

グループ	処理グループ
通常食 - マウス 6 匹	非処理
高脂肪食 - マウス 7 匹	非処理
高脂肪食 - マウス 7 匹	SBC-110,686
高脂肪食 - マウス 5 匹	SBC-110,733
高脂肪食 - マウス 4 匹	SBC-110,736

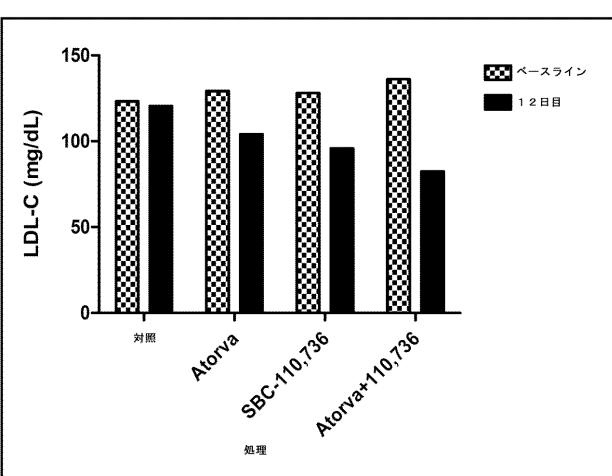
【図 1 6】



【図 1 5】



【図 1 7】



【配列表】

2016520515000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US14/23135
Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)		
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:		
a. (means) <input checked="" type="checkbox"/> on paper <input checked="" type="checkbox"/> in electronic form		
b. (time) <input checked="" type="checkbox"/> in the international application as filed <input type="checkbox"/> together with the international application in electronic form <input type="checkbox"/> subsequently to this Authority for the purposes of search		
2. <input type="checkbox"/> In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.		
3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US14/23135
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 31/497; C07C 69/587; A61P 9/00 (2014.01) USPC - 514/252.12, 258.1; 554/110 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): A61K 31/497, 31/495, 31/00; C07C 69/587, 229/64; A61P 9/00 (2014.01) USPC: 514/252.12, 252.13, 252.1, 247, 183, 186, 1, 252.14, 252.16, 256, 257, 258.1; 554/224, 110, 106, 102		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MicroPatent (US-G, US-A, EP-A, EP-B, WO, JP-bib, DE-C,B, DE-A, DE-T, DE-U, GB-A, FR-A); Google; Google Scholar; ProQuest; PubMed; 'PCSK9,' hypercholesterolemia, 'small molecule,' antagonist, dyslipidemia, atherosclerosis		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2010/0233177 A1 (YOWE, DL et al.) September 16, 2010; abstract; paragraphs [0004], [0055]-[0057], [0061], [0209], [0221]-[0224], [0230]	8
—		-----
A	US 2010/0184730 A1 (VU, CB et al.) July 22, 2010; abstract; paragraphs [1708], [1709]; Claim 2	1, 9
A	US 2011/0009628 A1 (LIU, H et al.) January 13, 2011; abstract; paragraph [0089]; Claim 1	1, 9
A	US 2012/0252796 A1 (PINGALI, H et al.) October 4, 2012; abstract; Claim 1	9
P, Y	US 2014/0093513 A1 (MILNE, JC et al.) April 3, 2014; entire document	1-9
P, Y	US 2014/0099333 A1 (SCHWINK, L et al.) April 10, 2014; entire document	1-9
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 July 2014 (22.07.2014)	Date of mailing of the international search report 13 AUG 2014	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/63 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/63	
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 K 31/495 (2006.01)	A 6 1 K 31/496	
C 0 7 D 239/42 (2006.01)	A 6 1 K 31/495	
C 0 7 D 213/68 (2006.01)	C 0 7 D 239/42	C S P Z
C 0 7 D 295/192 (2006.01)	C 0 7 D 213/68	
C 0 7 D 295/26 (2006.01)	C 0 7 D 295/192	
C 0 7 C 275/42 (2006.01)	C 0 7 D 295/26	
C 0 7 C 235/38 (2006.01)	C 0 7 C 275/42	
C 0 7 C 237/20 (2006.01)	C 0 7 C 235/38	
C 0 7 C 271/28 (2006.01)	C 0 7 C 237/20	
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	C 0 7 C 271/28	
	C 1 2 N 9/99	

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,R,S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,H,R,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

- (74) 代理人 100156144
弁理士 落合 康
- (72) 発明者 シェリン・サラヘルディン・アブデル - メグイド
アメリカ合衆国 1 9 3 4 1 ペンシルベニア州エクストン、オータム・ドライブ 2 3 6 番
- (72) 発明者 マジド・アブー - ガルビア
アメリカ合衆国 1 9 3 4 1 ペンシルベニア州エクストン、ボーエン・ドライブ 4 0 5 番
- (72) 発明者 ベンジャミン・プラス
アメリカ合衆国 1 9 4 0 3 ペンシルベニア州イーグルビル、クラーク・ヒル・ドライブ 1 0 2 9 番
- (72) 発明者 ウェイン・チルダース
アメリカ合衆国 1 8 9 3 8 ペンシルベニア州ニュー・ホープ、ヒルサイド・レイン 4 番
- (72) 発明者 ナビル・エルシュウバジー¹
アメリカ合衆国 1 9 3 8 0 ペンシルベニア州ウエスト・チェスター、タッカウェイ・トレイル 1 6 3 3 番
- (72) 発明者 ピクター・ギドウ
アメリカ合衆国 1 9 1 3 0 ペンシルベニア州フィラデルフィア、ペンシルベニア・アベニュー 2 6 0 1 番、アパートメント 1 1 3 1
- (72) 発明者 ロヘリオ・マルティネス
アメリカ合衆国 0 8 6 1 8 ニュージャージー州トレントン、ケンジントン・アベニュー 1 1 7 番
- (72) 発明者 ハロルド・マイヤーズ
アメリカ合衆国 0 2 4 9 3 マサチューセッツ州ウエストン、メリアム・ストリート 2 5 5 番
- (72) 発明者 シェイカー・エイ・ムーサ
アメリカ合衆国 1 2 1 9 8 ニューヨーク州ワイナントスキル、フォックス・グローブ・コート 5 番
- F ターム(参考) 4C055 AA01 BA02 BA06 BA27 BB02 BB10 CA03 CA06 DA42 DB02
4C086 AA01 AA02 BC42 BC50 DA19 GA07 GA08 GA12 MA01 MA04

NA14 ZA36 ZA45 ZC33 ZC41
4C206 AA01 AA02 HA26 MA01 MA04 NA14 ZA36 ZA45 ZC33 ZC41
4H006 AA01 AB20 BJ50 BV25 RA48