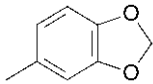
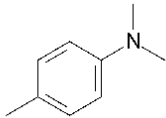


【化 2】



であって H a l は塩素又は臭素より選択されるハロゲンである、又は
式中、X は

【化 3】



10

であって H a l は臭素である、のいずれかであり；そして
式中、それぞれの R は、独立して、水素又はカチオンである] の 1 つによって定義される化合物。

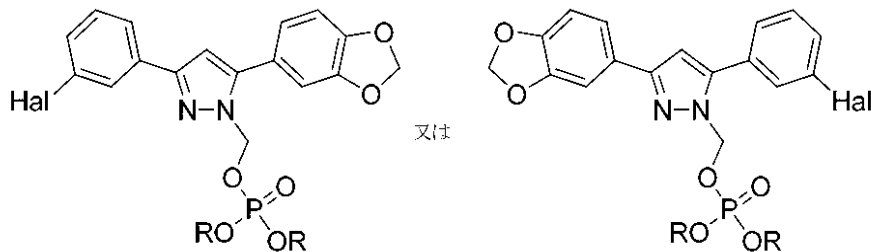
【請求項 2】

Y が N であって、Z が - C H - である、請求項 1 の化合物。

【請求項 3】

【化 4】

20



[式中、H a l は、塩素又は臭素より選択されるハロゲンであり、そして式中、それぞれの R は、独立して、水素又はカチオンより選択される] である、請求項 1 の化合物。

30

【請求項 4】

少なくとも 1 つの R が、ナトリウム、リチウム、カリウム、及びアンモニウムより選択されるカチオンであるか又はエタノールアミン、コリン、リジン、メグルミン、ピペラジン、及びトロメタミンのプロトン化型である、請求項 1 ~ 請求項 3 のいずれか 1 項の化合物。

【請求項 5】

両方の R がナトリウムである、請求項 4 の化合物。

【請求項 6】

H a l が臭素である、請求項 1 ~ 請求項 5 のいずれか 1 項の化合物。

【請求項 7】

H a l が塩素である、請求項 1 ~ 請求項 5 のいずれか 1 項の化合物。

40

【請求項 8】

請求項 1 ~ 請求項 7 のいずれか 1 項の異性体構造 I a 及び I b の化合物の 1 つ又はそれらの混合物を含んでなり、医薬的に許容される添加剤を含んでいてもよい組成物。

【請求項 9】

構造 I a を有する化合物と構造 I b を有する化合物の混合物を含んでなる、請求項 8 の組成物。

【請求項 10】

医薬品としての使用のための、請求項 8 または請求項 9 のいずれか 1 項の組成物。

【請求項 11】

50

タンパク質凝集に関連した疾患の治療又は予防における使用のための、請求項 8 ~ 請求項 10 のいずれか 1 項の組成物であって、疾患が、パーキンソン病、プリオン病、アルツハイマー病、多系統萎縮症、びまん性レビー小体病、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症と他のポリQ病、遺伝性脳アミロイド血管症、家族性アミロイド多発性神経障害、原発性全身性アミロイドーシス（ALアミロイドーシス）、反応性全身性アミロイドーシス（AAアミロイドーシス）、II型糖尿病、注射限局性アミロイドーシス、 α -2ミクログロブリンアミロイドーシス、遺伝性非神経障害性アミロイドーシス、及びフィンランド型遺伝性全身性アミロイドーシスからなる群より選択される、組成物。

【請求項 12】

タンパク質凝集に関連した疾患が、少なくとも 1 つのタンパク質又はその断片又は誘導体の凝集型の存在を特徴とし、ここで該タンパク質は、プリオンタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質（APP）、 α -シヌクレイン、スーパーオキシドジスムターゼ、タウ、免疫グロブリン、アミロイド-A、トランスサイレチン、 α 2-ミクログロブリン、シスタチンC、アポリポプロテインA1、TDP-43、隣島アミロイドポリペプチド、ANF、ゲルゾリン、インスリン、リゾチーム、フィブリノゲン、ハンチンチン、及びアタキシン、並びに、ポリQストレッチがある他のタンパク質からなる群より選択される、請求項 11 の組成物。

【請求項 13】

プリオン病が、散発性及び遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（vCJD）、牛海綿状脳症（BSE）の感染性因子によって引き起こされるヒト障害、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、クールー、畜牛のBSE、ヒツジ及びヤギのスクレイピー、ネコの猫海綿状脳症（FSE）、ミンクの伝達性ミンク脳症（TME）、ニアラ（Nyala）及びクーズー（Greater Kudu）の外來有蹄類脳症（EUE）、並びにシカ及びエルクの慢性消耗症（CWD）より選択される、請求項 11 または 12 の組成物。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 請求項 7 のいずれか 1 項の化合物の、タンパク質凝集に関連した疾患を治療するか又は予防するための医薬品の製造への使用であって、疾患が、パーキンソン病、プリオン病、アルツハイマー病、多系統萎縮症、びまん性レビー小体病、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症と他のポリQ病、遺伝性脳アミロイド血管症、家族性アミロイド多発性神経障害、原発性全身性アミロイドーシス（ALアミロイドーシス）、反応性全身性アミロイドーシス（AAアミロイドーシス）、II型糖尿病、注射限局性アミロイドーシス、 α -2ミクログロブリンアミロイドーシス、遺伝性非神経障害性アミロイドーシス、及びフィンランド型遺伝性全身性アミロイドーシスからなる群より選択される、使用。

【請求項 15】

タンパク質凝集に関連した疾患が、少なくとも 1 つのタンパク質又はその断片又は誘導体の凝集型の存在を特徴とし、ここで該タンパク質は、プリオンタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質（APP）、 α -シヌクレイン、スーパーオキシドジスムターゼ、タウ、免疫グロブリン、アミロイド-A、トランスサイレチン、 α 2-ミクログロブリン、シスタチンC、アポリポプロテインA1、TDP-43、隣島アミロイドポリペプチド、ANF、ゲルゾリン、インスリン、リゾチーム、フィブリノゲン、ハンチンチン、及びアタキシン、並びに、ポリQストレッチがある他のタンパク質からなる群より選択される、請求項 14 に記載の使用。

【請求項 16】

プリオン病が、散発性及び遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（vCJD）、牛海綿状脳症（BSE）の感染性因子によって引き起こされるヒト障害、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、クールー、畜牛のBSE、ヒツジ及びヤギのスクレイピー、ネコの猫海綿状脳症（F

10

20

30

40

50

SE)、ミンクの伝達性ミンク脳症(TME)、ニアラ及びクーズーの外来有蹄類脳症(EUE)、並びにシカ及びエルクの慢性消耗症(CWD)より選択される、請求項15に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)、及びクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)のような伝達性海綿状脳症(TSE)といった、タンパク質凝集に関連した疾患及び/又は神経変性疾患を治療することにおける使用に有効な治療薬剤である、3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物の水溶性誘導体に関する。

10

【背景技術】

【0002】

その多くが今のところ治癒し得ない、数多くの神経系疾患及び神経変性疾患が知られている。よくある神経変性疾患は、いずれも、特定タンパク質の脳におけるミスフォールディング、凝集、及び/又は沈着を特徴とする。これらの疾患には、パーキンソン病(PD)、アルツハイマー病(AD)、クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)のような伝達性海綿状脳症(TSE)、老年性認知症、AAアミロイドーシス、動脈硬化性認知症、ハンチントン病(HD)、脳閉塞性血栓血管炎、レビー小体型認知症(DLB)、多系統萎縮症(MSA)、他多数といった医学的状態が含まれる。2型糖尿病は、秩序だったタンパク質凝集がその病態発生に關与する、さらにもう1つの疾患である。

20

【0003】

TSEの症例において、凝集物を形成する、誤って折り畳まれた(misfolded)タンパク質は、「プリオン(prion)」と呼ばれるが、これは、「タンパク質性の(proteinaceous)」と「感染性の(infectious)」に由来する。故に、TSEは、プリオン病とも呼ばれる。TSEの病態発生における中心的な事象は、細胞のプリオンタンパク質、PrP^Cの病理学的なPrP^Sアイソフォームへの変換であって、これが大きなタンパク凝集物の中へ蓄積する。プリオンは、誤って折り畳まれたタンパク質状態を伝播させることによって増殖する。プリオンが健全な生物体に入ると、それは、既存の適切に折り畳まれたタンパク質を疾患に関連したプリオン型へ変換するよう誘導する。次いで、これらの新たに形成されたプリオンは、より多くのタンパク質をそれ自体で変換し続けるが、これが多量のプリオン型を産生する連鎖反応の引き金になる。すべての既知プリオンは、密集したβシートからなる凝集物へタンパク質が重合する、アミロイドフォールドの形成を誘導する。アミロイド凝集物は、原線維であって、その両端で成長して、切断により2つの成長末端が4つの成長末端になるときに、複製する。この改変された構造はきわめて安定していて、感染組織の中に蓄積する。プリオンタンパク質について記載される伝播理論は、他のタンパク質ミスフォールディング障害(PMD)におけるアミロイド形成にも当てはまる場合がある。

30

【0004】

別のクラスの神経変性疾患である、いわゆるシヌクレイノパチーは、α-シヌクレインを主に含有する、タンパク質の凝集物、オリゴマー、前原線維、及び原線維の細胞内蓄積を特徴とする。シヌクレイノパチーの症例では、α-シヌクレインのオリゴマー凝集物の形成とその後の膜細孔の形成によって神経細胞に対する病理学的な効果が誘導されると考えられている。シヌクレイノパチーの例は、パーキンソン病、レビー小体型認知症(DLB)、及び多系統萎縮症である。

40

【0005】

実のところ、ほとんどのPMDの病態発生に関連したタンパク質コンホメーションの変化は、部分的にタンパク質分解に抵抗するβシート構造に富んでいて、より高次の凝集物を形成する高い傾向を有する、プリオンに似た異常なタンパク質の形成をもたらす。アミロイド形成は、誤って折り畳まれたタンパク質モノマーが遅く相互作用して、オリゴマー核を形成し、その周囲でより速い伸長反応期が進行することに依存する。オリゴマー分

50

子種がそれ自身の成長の種を播く能力は、プリオンの自己増殖活性に類似している。

【0006】

凝集の間に生じるこれらのオリゴマーは、文献において、細胞機能障害と細胞死をもたらす主たる毒性を有する因子であると記載されている。細胞死をもたらす1つのあり得る機序は、タンパク質凝集物によって引き起こされる膜穿孔である。患者の組織におけるタンパク質凝集物によって引き起こされる疾患を治療するには、このタンパク質凝集を予防し、減少させること、あるいは、ともかくもその組織から除去することが求められる。

【0007】

プリオン病の場合、このことは、感染性タンパク質 (PrP^{Sc}) の形成及び増幅に干渉することを狙った治療アプローチによって達成される可能性がある。細胞培養や生体内 (in vivo) 試験に由来する証拠では、PrP^{Sc} の形成を一度阻止すると、PrP^{Sc} のクリアランスが起こり得ることが示唆されている。従って、この治療戦略は、潜伏期間の後期にも、そして疾患の臨床徴候が顕現した後でも有効である可能性があり、これは、ヒトのプリオン病に対処するのに有用であるために絶対必要である。

【0008】

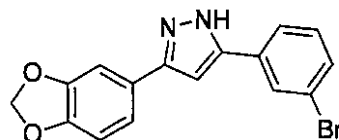
アクリジン誘導体、コンゴレッド (Congo Red)、ポルフィリン類/フタロシアニン類、Cp-60、 β -シートブレーカーペプチド、及びPrPの変異体といった、PrP^{Sc} 増幅に試験管内で (in vitro) 干渉するのに有効であることが示された数多くの化合物がある。しかしながら、これら化合物の中で、疾患治療のために、また治療効力や薬理学的特性が向上した化合物を開発するためのリード化合物として成功裡にこれまで使用されたことがあるものは、1つもない。

【0009】

WO2010/00372には、タンパク質の凝集を阻害するのに有効であることが示された化合物が開示された。強蛍光ターゲットスクリーニング (SIFT) と β -シヌクレイン (PD) 及びプリオンタンパク質 (CJD) の凝集量を測定する細胞アッセイの組合せに基づいた広範なスクリーニングが行われ、このスクリーニングでは、3,5-ジフェニルピラゾール (DPP) 化合物が、有機合成によって容易に修飾し得る、高活性の分子骨格であることが判明した。この化合物群において約250種もの化合物が合成されて、その化合物について、上記に言及した様々な疾患 (AD, CJD, PD) を模倣する動物モデルにおいて、経口アベイラビリティと効力を評価した。以下の構造：

【0010】

【化1】



5-(3-ブロモフェニル)-3-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-1H-ピラゾール

【0011】

を有する、「anle138b」と呼称される化合物は、パーキンソン病 (PD) (1, 2)、アルツハイマー病 (AD) (3)、及びクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) (1, 2) を模倣する動物モデルにおけるオリゴマー形成を調節するのに有効であることが確認された。オリゴマー誘発性の神経毒性の機序であり得る膜穿孔も、anle138bによって阻害されることが示され得た (1)。

【0012】

タンパク質凝集は不断に起きていて、神経機能障害と神経細胞損失をもたらすので、神経保護的な治療であれば、治療薬剤の慢性的な適用が求められよう。そのような療法では、慢性的な投薬で、そして有効な化合物濃度で毒性のないことが求められる。上記に記載したようないくつかのマウスモデルでは、1年以上の処置下でのanle138bの無毒性が示されている。必要な経口用量を最少化しても有効な化合物レベルに達するために、

治療化合物はまた、経口適用後きわめて効率的に再吸収されるべきである。有効であるために、この治療薬剤は、経口で適用された後で腸管へ移行する必要がある、そこで吸収されて、タンパク質凝集によって影響を受ける組織へ血流を介して輸送されることが示された。故に、該化合物は、血液脳関門を通過することが可能であるはずである。有効であるために、血流への取込み前の該化合物の腸管中の濃度は、十分に高くなければならない。

【0013】

しかしながら、3,5-ジフェニル-ピラゾール(DPP)誘導体は、タンパク質の凝集を阻害するのに有効であることが示された一方で、DPP誘導体はまた、水溶液にほとんど溶けないことが特徴であることがわかった。例えば、anle138bの水中溶解度は、 $0.2 \mu\text{M}$ である。

【0014】

この問題は、anle138bの場合、該化合物をDMSOに希釈して、その希釈化合物をオイル又はピーナツバターに分散させることによって対処されてきた。DMSOでは、1分量のanle138bを2分量のDMSOに溶かすことができる。そのようなオリーブオイル/DMSO懸濁液剤からの再吸収はきわめて効率的であることが分かっている。この組成物は、マウスとラットでは、十分忍容されることが証明された。しかしながら、DMSOは、ヒトでの経口適用に受容されるものではない。故に、代替りの適用法を検討しなければならなかった。

【0015】

1つのさらなるアプローチは、乾燥化合物を粉碎して、乾燥したマウス/ラットの食餌とそれを混合することであった。しかしながら、このことは、受容される物質レベルをマウスでのみもたらし、ラットではもたらさなかった。薬物動態試験は、ラットが該化合物をその乾燥食餌から吸収しないことを示した。この適用のやり方は、ヒト患者への長期療法にも適していない。

【0016】

さらなるアプローチは、該治療薬剤をその水溶性を高めるように修飾することであった。先行技術では、リン酸塩、エステル、又はPEG化合物の使用により化合物の溶解度を高めることが考察された。ラットでは、PEG/クレモフォル(cremophor)に基づく賦形剤とanle138bを組み合わせることによって、sery433の投与によって到達されるanle138b曝露の25%の曝露を達成し得ることがわかった。しかしながら、このアプローチには、いくつかの欠点がある。第一に、1のanle138に対して20ほどの賦形剤の容量を使用しなければならないこと、そして第二に、ヒトを含めたいくつかの動物種では、この賦形剤が十分に忍容されないことである。例えば、クレモフォルは、ヒトにおいてアレルギー反応を誘発する。さらに、賦形剤が高額である上に、このカプセル剤の容量は、水溶性散剤での適用で求められる容量より数倍大きくなるだろう。さらに、臨床診療では、神経変性に罹患しているが故にしばしば嚥下に問題を抱える患者が多数の大型カプセル剤を服用する必要があるとなれば、コンプライアンスを危うくする可能性がある。

【0017】

anle138bの水溶性を高めることは、anle138bの水溶性が $0.2 \mu\text{M}$ (即ち、 70 ng/ml)にすぎないので、特に挑戦的であることがわかった。この溶解度は、系列の「凡庸(brickdust)」化合物、DP-TAT-59のそれよりずっと低いのである(4)。故に、この治療薬剤の成功する水溶性誘導体の設計は、先行技術において示唆されるアプローチを単に適用するだけでは克服し得ない、喫緊の課題なのである。

【0018】

治療薬剤の成功する有効な誘導体を設計するには、その水溶性とバイオアベイラビリティを高めながらも、該薬剤の治療特性を維持しなければならない。例えば、治療化合物の修飾は、血流へ取り込まれることが可能であるように、腸管へ主に単分散型で送達される治療化合物をもたらし必要がある。非修飾の治療化合物の他のポジティブな特徴も維持されるか又はさらに改善される必要がある。例えば、修飾された化合物は、保存の間、そし

10

20

30

40

50

て経口から腸管への通過の間、安定でなければならない。それはまた、治療上の使用に適しているためには、毒性のないままでなければならない。

【0019】

これらの化合物のよくある修飾品がいくつか試されてきたが、そのほとんどは、不安定であるか又は有用な血漿レベルに達しない、又はその両方である。

【発明の概要】

【0020】

このように、本発明によって解決すべき課題は、タンパク質凝集に関連した疾患を治療することにおける使用に適した3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物を、安定していて、治療上有用な濃度で適用し得て、好ましくは腸管において単分散溶液を提供する形態において提供することである。好ましくは、この3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物は、多量の賦形剤と混合する工程を必要とせず、各投薬につき少量で達成することができる形態で提供されるべきである。特に、本発明の目的は、経口投与に使用することができる、水溶性型の3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物を提供することである。さらに、上記の疾患は脳に影響を及ぼすので、該化合物の有効部分が血液脳関門を通過し得て、脳へ輸送され得る（即ち、化合物が腸管中で放出された後に安定したままであって、治療に十分である血漿レベルに達する）ことも必要である。

【図面の簡単な説明】

【0021】

本発明はまた、以下の図面を参照して説明される。

【図1】図1は、sery433 (anle138bのプロドラッグ)のHPLC分析のクロマトグラムを示す。

【図2】図2は、anle423b (anle253bのプロドラッグ)のHPLC分析のクロマトグラムを示す。

【図3】図3は、1mg用量のプロドラッグ、sery433の適用後のマウスの組織におけるanle138bの濃度を示す。

【図4】図4は、プロドラッグsery433の適用後のラットの血漿試料における、anle138bの経時的な濃度を示す。この実験では、PEG/クレモフォル中のanle138b（「フェーズ1」）と水溶液中のsery433（「フェーズ2」）の単回経口用量を10mg/kgの名目用量で雄性スプリング・ドリー（Sprague Dawley）ラットへ投与した。この実験は、「1M」、「2M」及び「3M」と識別した3匹のラットで実行した。

【発明を実施するための形態】

【0022】

定義

本記載と特許請求の範囲では、以下の意味を有すると定義される、数多くの用語に言及する：

「3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物」は、本発明の文脈において、2つの置換又は未置換フェニル基によって、3位と5位、又は2位と4位、又は2位と5位で置換されたジアゾールコアを有する化合物を意味する。このジアゾールコアは、ピラゾールからか又はイミダゾールから誘導される。換言すると、本発明の3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物は、特に、3,5-ジフェニル-ピラゾール(DPP)化合物又は2,4-ジフェニル-イミダゾール(DPI)又は2,5-ジフェニルイミダゾール(DPI)化合物であり、ここで該フェニル基は、置換又は未置換であり得る。あるDPP化合物が開示される場合はいつでも、その開示は、文脈が許容する限りにおいて、対応するDPI化合物にも適用されると理解される。

【0023】

本発明の化合物のジアゾールコアは、2つの互変異性型で存在することが可能である。「ジアゾール」という用語には、それぞれの互変異性型単独、並びに両者の混合物が含まれる。

【0024】

「anle138b」という用語は、5-(3-プロモフェニル)-3-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-1H-ピラゾールとしても知られている治療薬剤について記載するために使用される。該化合物のピラゾール環は、2つの互変異性型で存在する：

【0025】

【化2】



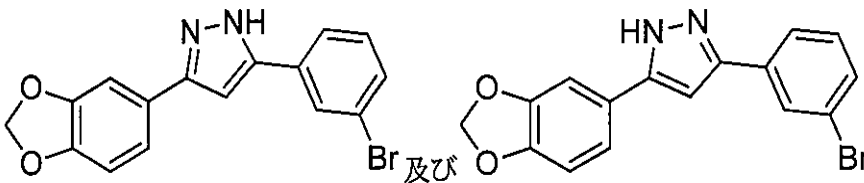
10

【0026】

故に「anle138b」は、以下の構造式によって記載することができる：

【0027】

【化3】



20

【0028】

本明細書において、上記に言及した構造の1つが開示されるときはいつでも、他の構造、並びに両構造の混合物も含まれると企図される。本発明のジアゾール誘導体、例えば、sery335bとanle253bのような、本発明のDPP誘導体について記載する他の構造式へも同じことが適用される。

【0029】

「タンパク質凝集に関連した疾患」という用語は、少なくとも1つのタンパク質又はその断片又は誘導体の凝集型の存在を特徴とするすべての状態、障害、又は疾患について使用され、ここで該タンパク質は、好ましくは、プリオンタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質 (APP)、 α -シヌクレイン、スーパーオキシドジスムターゼ、タウ、免疫グロブリン、アミロイド-A、トランスサイレチン、 β -2-ミクログロブリン、シスタチンC、アポリポプロテインA1、TDP-43、隣島アミロイドポリペプチド、ANF、ゲルゾリン、インスリン、リゾチーム、フィブリノゲン、ハンチンチン、及びアタキシン、並びにポリQストレッチがある他のタンパク質からなる群より選択される。

30

【0030】

「プリオン病」又はTSEという用語は、プリオン（即ち、ミスフォールドして、他のタンパク質分子のミスフォールディングを誘発するタンパク質）の形成によって引き起こされるすべての状態、障害、又は疾患について使用される。プリオン病の例には、散発性及び遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD)、牛海綿状脳症 (BSE) の感染性因子によって引き起こされるヒト障害、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、及びクールーが含まれる。他の哺乳動物のTSEには、畜牛のBSE、ヒツジ及びヤギのスクレイピー、ネコの猫海綿状脳症 (FSE)、ミンクの伝達性ミンク脳症 (TME)、ニアラ (Nyala) 及びクーズー (Greater Kudu) の外来有蹄類脳症 (EUE)、並びにシカ及びエルクの慢性消耗症 (CWD) が含まれる。

40

【0031】

「神経変性疾患」という用語には、パーキンソン病 (PD)、アルツハイマー病 (AD)、クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) のような伝達性海綿状脳症 (TSE)、老年性認知症、AAアミロイドーシス、動脈硬化性認知症、ハンチントン病 (HD)、脳閉塞

50

性血栓血管炎、レビー小体型認知症（DLB）、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳失調症、及び他のポリQ病、多系統萎縮症（MSA）、遺伝性脳アミロイド血管症、家族性アミロイド多発性神経障害、原発性全身性アミロイドーシス（ALアミロイドーシス）、反応性全身性アミロイドーシス（AAアミロイドーシス）、II型糖尿病、注射限局性アミロイドーシス、 α -2ミクログロブリンアミロイドーシス、遺伝性非神経障害性アミロイドーシス、及びフィンランド型遺伝性全身性アミロイドーシスのような疾患又は状態が含まれる。

【0032】

最も蔓延しているのは、現在、欧州、日本、及び米国において約700万人の患者が罹患しているアルツハイマー病であって、その特徴は、アミロイド斑とタウタンパク質を生成して神経原線維のもつれを生じさせる、 β -タンパク質の凝集である。タウの凝集は、進行性核上性麻痺（PSP）、大脳皮質基底核変性症（CBD）、及び前頭側頭型認知症（ピック病（Morbus Pick）が含まれる）の原因とも見られている。

10

【0033】

パーキンソン病は、現在、上記に列挙した国々において約350万人の患者が罹患していて、レビー小体を形成する α -シヌクレインの凝集を特徴とする。多系統萎縮症（MSA）とレビー小体病（LBD）も、 α -シヌクレインの凝集に関連している。

【0034】

クロイツフェルト・ヤコブ病は、欧州において年間約500名の新規患者がいる、さほど蔓延していない散発型の疾患である。新たな食肉処理規則により、若年性CJDの発生は多少なりとも根絶されてきた。タンパク質の凝集に関連しているさらなる神経変性疾患は、ハンチントン病（HD）、並びに筋萎縮性側索硬化症（ALS）である。

20

【0035】

「タンパク質のミスフォールディング障害」（PMD）又はプロテオパチー（proteopathy）という用語は、ある種のタンパク質が構造的に異常になることにより身体の細胞、組織、及び臓器の機能が破壊される、疾患、障害、又は状態について記載するために使用される。ニューロンが罹患細胞である、上記に言及したプリオン病と神経変性疾患以外に、他の細胞種も、タンパク質ミスフォールディングによって影響を受ける可能性がある。1つの例は、2型糖尿病であり、ここではタンパク質のアミリン（「膵島アミロイドポリペプチド（IAPP）」とも呼ばれる）が糖尿病に関連した膵島アミロイド沈着の主要因子である。

30

【0036】

「プロドラッグ」という用語は、薬理的に不活性な形態で患者へ投与されてから、正常な代謝プロセスにより活性型へ変換される化合物について記載するために使用される。故に、「プロドラッグ」は、薬物の前駆体となる化学化合物である。本発明の誘導体は、プロドラッグとして使用される。

【0037】

本発明の記載

本発明は、タンパク質ミスフォールディング/凝集に関連した疾患を治療することに使用への治療薬剤の誘導体の提供に関わる。治療薬剤の誘導体である、本発明のジアゾール化合物誘導体（プロドラッグとも呼ばれる）は、水溶性であって、十分高い濃度で、患者の腸管へ経口投与することができる。このプロドラッグは、通常の保存条件下で安定している。本発明のプロドラッグは、治療濃度で毒性がなく、それ故に、長期の期間でも患者を治療することにおける使用に適している。このプロドラッグ（即ち、請求項1に特許請求されるような化合物）は、治療上不活性であるが、患者の体内で生理活性のある薬物へ変換されるはずである。

40

【0038】

本出願において特許請求される化合物は、本発明の方法によって製造することができる、3,5-ジフェニル-ジアゾール化合物の水溶性誘導体である。好ましくは、該化合物は、3,5-ジフェニル-ピラゾール化合物のanle138b、sery335b、s

50

ery 3 4 5、及び an 1 e 2 5 3 b を含んでなる群より選択される。

【 0 0 3 9 】

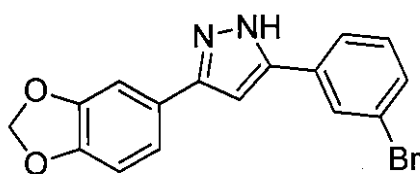
上記に概説したように、本発明のジアゾール化合物は、互変異性体として存在し得て、この2つの互変異性体のそれぞれが、化合物の名称又は式より当業者によって、すべての化合物について推論可能である。故に、それぞれの互変異性体だけでなく、両方の互変異性体 / 異性体のあらゆる比の混合物も含まれる。さらに、以下では、上記に言及した3種の化合物のそれぞれ1つの互変異性体 / 異性体の構造を示すが、当業者によってすべての化合物について推論可能である他の異性体だけでなく、両方の互変異性体 / 異性体のあらゆる比の混合物も含まれる。

【 0 0 4 0 】

an 1 e 1 3 8 b (5 - (3 - プロモフェニル) - 3 - (3 , 4 - メチレンジオキシフェニル) - 1 H - ピラゾール) は、以下の構造によって定義される :

【 0 0 4 1 】

【 化 4 】



10

20

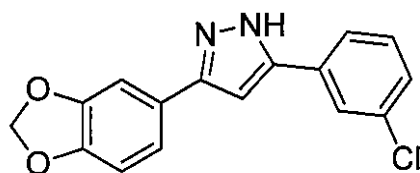
5 - (3 - プロモフェニル) - 3 - (3 , 4 - メチレンジオキシフェニル) - 1 H - ピラゾール

【 0 0 4 2 】

ser y 3 3 5 b (5 - (3 - クロロフェニル) - 3 - (3 , 4 - メチレンジオキシフェニル) - 1 H - ピラゾール) は、以下の構造によって定義される :

【 0 0 4 3 】

【 化 5 】



30

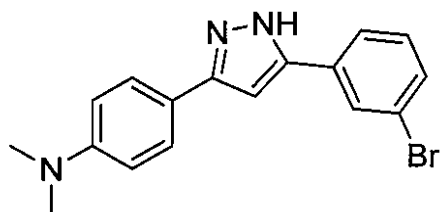
5 - (3 - クロロフェニル) - 3 - (3 , 4 - メチレンジオキシフェニル) - 1 H - ピラゾール

【 0 0 4 4 】

an 1 e 1 3 8 b よりさらに溶解しない an 1 e 2 5 3 b は、以下の構造によって定義される :

【 0 0 4 5 】

【 化 6 】



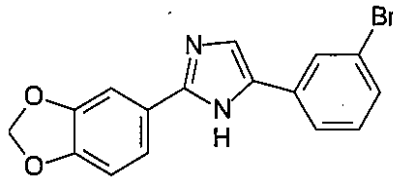
40

5 - (3 - プロモフェニル) - 3 - (4 - ジメチルアミノフェニル) - 1 H - ピラゾール

【 0 0 4 6 】

50

series 345 は、以下の構造によって定義される：
 【0047】
 【化7】



10

2-(1,3-ベンゾジオキソール-5-イル) -5-(3-ブロモフェニル) -1H-イミダゾール
 【0048】

これらの化合物は、タンパク質凝集が関与する疾患を治療する場合のその効力により知られている。例えば、anle138bには、ニューロンの機能性を回復させる能力がある(1,2)。しかしながら、これらの化合物は、そのごく低い水溶性によっても特徴付けられて、このことは、経口投与用の医薬調製品ではより所望されない。今回、本発明では、安定してヒトでの経口使用に適したプロドラッグである誘導体を提供する。

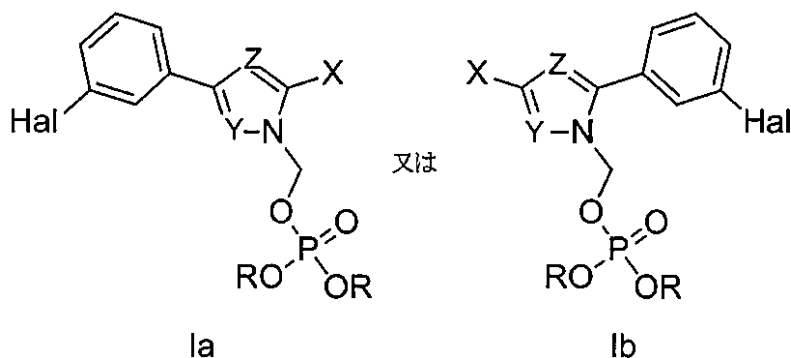
【0049】

本発明者は、驚くべきことに、3,5-ジフェニル-ピラゾール化合物又は3,5-ジフェニル-イミダゾール化合物のジアゾール環中の1つの窒素でのリン酸メチルの置換により、安定性を損なうことなく水溶性が改善することを見出した。本発明によるこの化学修飾は、以下の異性体構造によって定義される、上記の重要な治療薬剤のプロドラッグの提供をもたらす：

20

【0050】

【化8】



30

【0051】

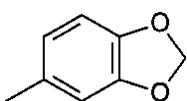
[式中、YとZの一方はNであって、他方はCR²であり；
 ここでR²は、水素、C₁₋₄アルキル、少なくとも1個のハロゲンで置換されるC₁₋₄アルキル；及びC₆₋₁₀アリール(ここで該アリール環は、C₁₋₄アルキル又はハロゲンによって置換されていてもよい)より選択され；

40

式中、どちらかのXは、

【0052】

【化9】



【0053】

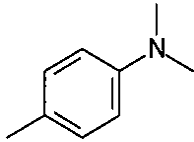
であって、Halは、塩素又は臭素より選択されるハロゲンである、又は

式中、Xは、

【0054】

50

【化10】



【0055】

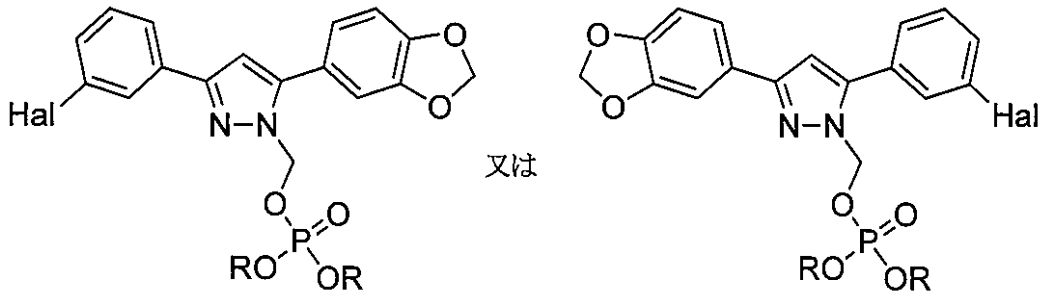
であって、Halは、臭素であり；そして

式中、それぞれのRは、独立して、水素又はカチオンである】。

好ましい態様において、本発明の化合物は、以下の異性体構造：

【0056】

【化11】



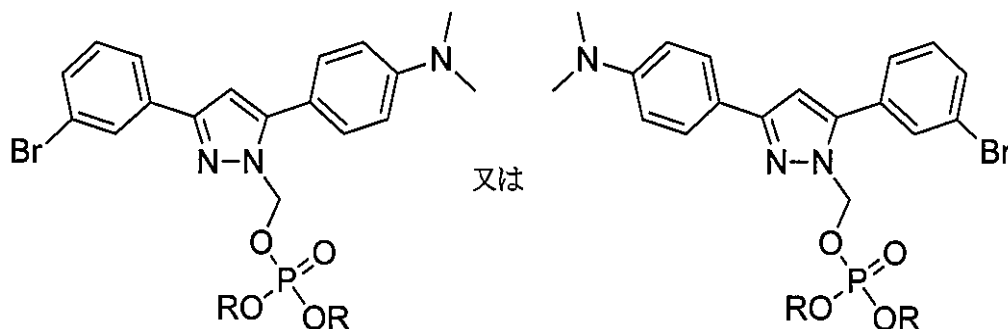
【0057】

[式中、Halは、塩素又は臭素より選択されるハロゲンであり、そして式中、それぞれのRは、独立して、水素又はカチオンより選択される]によって定義される。

さらに好ましい態様において、本発明の誘導体は、以下の異性体構造：

【0058】

【化12】



【0059】

[式中、それぞれのRは、独立して、水素又はカチオンより選択される]がある、anle253bのプロドラッグである。

このカチオンは、この種の化合物にとって医薬的に許容される、どのカチオンでもよい。好ましくは、該カチオンは、一価カチオンである。例は、ナトリウム、リチウム、カリウム、アンモニウムであり、特にナトリウムである。本発明の化合物のリン酸基と適合可能な基のさらなる例には、エタノールアミン、コリン、リジン、メグルミン、ピペラジン、及びトロメタミンといった、RR'R''N構造の基がそのプロトン化型：RR'R''NH⁺で含まれる。本発明の化合物では、両方のRが水素であり得る、両方のRがカチオン（同じ又は異なるカチオン）であり得る、又は一方のRが水素であり得て、他方がカチオンであり得る。Ca²⁺、Mg²⁺、及びZn²⁺のような二価カチオン、又はAl³⁺のような三価カチオンは、生じる塩がより水溶性でないので、好ましくない。

【0060】

さらに、本発明のリン酸メチル誘導体の遊離酸型（R = H）も、プロドラッグとして適している。

本発明はまた、請求項1に定義されるような化合物の少なくとも1つを含む医薬組成物

10

20

30

40

50

を提供する。本発明によれば、「医薬組成物」という用語は、患者、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトへの投与用の組成物に関する。本発明の医薬組成物は、上記に引用した化合物を含んで、本発明の化合物の特性を改変して、それによって、例えば、それらの機能を安定化する、調節する、及び/又は活性化することが可能なさらなる分子を含んでもよい。該組成物は、固体、液体、又は気体の形態であり得る。

【0061】

本発明の医薬組成物は、経口、直腸、非経口、嚢内、腔内、腹腔内、局所的（散剤、軟膏剤、滴剤、又は経皮パッチ剤によるように）、経皮的、動脈内注射によって、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、頬内に、又は口腔又は経鼻スプレー剤として投与し得る。好ましくは、該医薬組成物は、経口投与されるべきである。

10

【0062】

経口投与に関して言えば、本発明の医薬組成物は、例えば、錠剤、丸剤、散剤（溶解用の散剤が含まれる）、甘味入り錠剤（lozenge）、サシェ剤、カシェ剤、エリキシル剤、懸濁液剤、乳液剤、溶液剤、シロップ剤、エアゾール剤、又はカプセル剤の形態で、好ましくは、錠剤、丸剤、又は散剤（溶解用の散剤が含まれる）の形態で提供することができる。所望されるならば、該医薬組成物、そして特に上記に言及した経口製剤は、それらが迅速、持続、又は遅延放出、及び/又は身体を通過するある段階での放出（例えば、腸溶コーティング剤による）を提供するように、製剤化することができる。

【0063】

本明細書に記載されるような医薬組成物は、製剤技術において通常使用される、1以上の医薬的に許容される添加剤〔例えば、特に、フィードラー（Fiedler）の「Lexikon der Hilfsstoffe（添加剤辞典）」（第5版）、Editio Cantor Verlag Aulendorf（2002）、「The Handbook of Pharmaceutical Excipients（医薬賦形剤ハンドブック）」（第4版）、American Pharmaceuticals Association（2003）において言及されるような〕を使用して製剤化し得る。医薬的に許容される添加剤は、担体、希釈剤又は充填剤、結合薬剤/結合剤、崩壊剤、滑沢剤、流動化剤、安定化剤、界面活性剤、膜形成剤、軟化剤、湿潤剤、甘味剤、色素/着色剤、抗酸化剤、保存剤、等より選択され得る。好適な担体、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、及び流動化剤は、例えば、医薬的に許容される添加剤として本明細書の下記により詳しく記載されるものであり得る。そのような添加剤を含んでなる組成物を慣用の方法によって製剤化することができる。

20

30

【0064】

好適な担体には、制限なしに、マンニトール、ソルビトール、キシリトールのようなポリオール類；乳糖（lactose）、ショ糖（sucrose）、ブドウ糖（dextrose）、及び麦芽糖（maltose）のような二糖類；マルトデキストリン及びデキストランのような多糖類；ドウモロコシデンプンのようなデンプン類；微結晶性セルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、又はこれらの混合物のようなセルロース類；シクロデキストリン類、及びリン酸二カルシウム、リン酸水素カルシウム、ハイドロキシアパタイト、リン酸三カルシウム、タルカム、及びシリカのような無機薬剤が含まれる。

【0065】

好適な結合剤には、制限なしに、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、ゼラチン化デンプン、及びこれらの組合せが含まれる。

40

【0066】

好適な崩壊剤には、制限なしに、カルボキシメチルセルロースカルシウム（CMC-Ca）、カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na）、架橋型PVP（例、クロスポビドン、Polyp lasdone（登録商標）、又はKollidon（登録商標）XL）、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、グアーガム、架橋型CMC（クロスカルメロースナトリウム、例、Ac-Di-Sol（登録商標））、カルボキシメチルデンプンNa（デンプングリコール酸ナトリウム）（例、Primojel（登録商標）又は

50

ExploTab (登録商標) が含まれる。

【0067】

好適な滑沢剤には、制限なしに、ステアリン酸マグネシウム、ケイ酸アルミニウム又はカルシウム、ステアリン酸、硬化ヒマシ油、タルク、ベヘン酸グリセリル、フマル酸ステアリルナトリウム (sodium stearate fumarate)、及びこれらの組合せが含まれる。

【0068】

好適な流動化剤には、制限なしに、コロイド状 SiO₂ (例、Aerosil (登録商標) 200)、三ケイ酸マグネシウム、粉末セルロース、タルク、及びこれらの組合せが含まれる。

【0069】

このように、錠剤は、微結晶性セルロース、乳糖、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、二塩基性リン酸カルシウム、及びグリシンのような賦形剤、デンプン (例えば、トウモロコシ、ジャガイモ、又はタピオカデンプン)、デンプングリコール酸ナトリウム、クロスカルメロースナトリウム、及び特定の複合ケイ酸塩のような崩壊剤、並びにポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC)、ヒドロキシプロピルセルロース (HPC)、ショ糖、ゼラチン、及びアカシアのような造粒結合剤を含有し得る。追加的に、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、ベヘン酸グリセリル、及びタルクのような滑沢剤も含めてよい。

【0070】

類似種の固体組成物も、ゼラチンカプセル剤中の充填剤として利用し得る。この点で好まれる賦形剤には、乳糖、デンプン、セルロース、又は高分子量ポリエチレングリコールが含まれる。

【0071】

さらに、本明細書に記載されるような医薬組成物 / 剤形は、膜形成ポリマー、乳白剤、着色剤、及び可塑剤の混合物のような市販のコーティング材料を使用する、当業者によく知られたコーティング法を使用し、フィルムコーティング剤又は放出調節 (modified release) コーティング剤を利用して、コート化し得る。

【0072】

さらに好適な賦形剤のリストが、「Remington's Pharmaceutical Sciences (レミントン製剤科学)」第18版 (Alfonso R. Gennaro 監修; Mack Publishing Company、ペンシルヴェニア州イーストン (1990)); 「Remington: the Science and Practice of Pharmacy (レミントン: 調剤の科学及び実践)」第19版 (Lippincott, Williams & Wilkins、1995); 「Handbook of Pharmaceutical Excipients (医薬賦形剤ハンドブック)」第3版 (Arthur H. Kibbe 監修; Amer. Pharmaceutical Assoc、1999); 「the Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics (医薬品コーデックス: 医薬品の原理と実践)」第12版 (Walter Lund 監修; Pharmaceutical Press、ロンドン、1994); 「The United States Pharmacopeia: The National Formulary (米国薬局方: 国民医薬品集)」 (United States Pharmacopeial Convention); 及び「Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (グッドマン及びギルマンの薬理書)」 (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, 監修; McGraw Hill、1992) のような教科書にも見出し得て、その開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0073】

本明細書に記載されるような剤形は、例えば、「Pharmazeutische Technologie (製剤技術)」第11版、Deutscher Apotheker Verlag (2010)、又は「Pharmazeutische Technologie (製剤技術)」第9版、Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (2012) に記載されるような、当業者によく知られた方法に従って製剤化し得る。

【0074】

該医薬組成物は、個々の患者の臨床状態、医薬組成物の送達部位、投与の方法、投与の計画、及び医療実施者に知られた他の要因を考慮に入れた、良好な医療実務に一致したやり方で製剤化されて投薬されるものである。このように、本発明での目的のための医薬組

10

20

30

40

50

成物の「治療有効量」は、そのような考慮事項によって決定される。

【0075】

典型的には、個々の対象に最も適していると思込まれる実際の投与量を決定するのは、医師である。どの特別な個人への具体的な用量レベルと投与の頻度も変動する場合があつて、利用される特定の化合物、投与の様式及び時間、特別な状態の重症度、及び治療を受けている個人（年齢、体重、健康状態、性別、等）が含まれる様々な要因に依拠するものである。

【0076】

医薬組成物は、好ましくは、単位剤形で提供される。本発明の化合物は、典型的には、治療有効量で投与される。この量は、特に制限されないで、ヒト（概ね70kgの体重）への投与について提唱される、本発明による化合物の用量は、単位用量につき約10～約1000mg、好ましくは約50～約500mgの有効成分である。この単位用量は、例えば、1日1～4回投与し得る。この用量は、投与経路に依存するものである。患者の年齢及び体重、並びに治療される状態の重症度に依拠して投与量を定型的に変化させなければならない場合があることが理解されよう。正確な用量と投与の経路は、最終的には、担当医師の裁量によるものである。

【0077】

該組成物は、本発明の化合物の一方の異性体型又は両方の異性体型を含むことが可能である。該組成物はまた、1より多い化合物を含み得て、組成物中に使用される化合物のいずれも、両方の異性体の一方であっても、それらの混合物であってもよい。従つて、上記に言及した疾患の治療における使用のための医薬組成物は、異性体の一方又は両方の異性体の混合物を含み得る。体内では、両方の異性体型が生理活性薬へ変換される。

【0078】

1つの態様において、本発明の化合物は、水溶液に溶けた形態で提供される。本発明において、「溶解型」は、本発明の化合物が選択された濃度で、室温（例、25℃）で溶媒中に完全に溶けていて、不溶性の化合物を肉眼では見ることができないことを意味する。

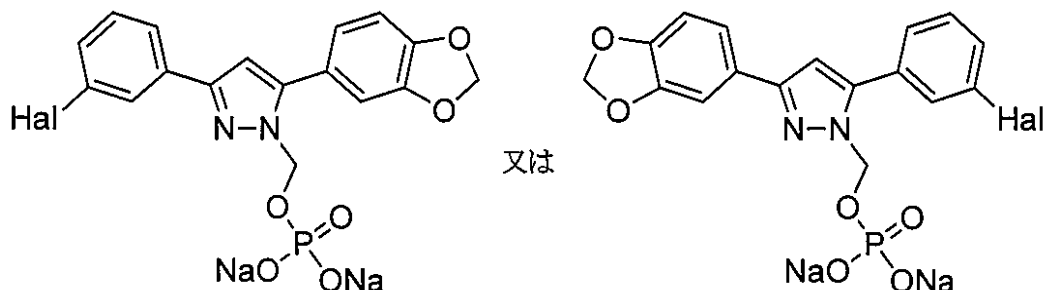
【0079】

本発明のリン酸二ナトリウム誘導体は、安定していて、脳及び血液において高レベルの活性化合物を生じることがわかった。

好ましい態様において、該化合物は、以下の構造の1つのリン酸二ナトリウム塩又はそれらの混合物である：

【0080】

【化13】



【0081】

好ましい態様において、本発明の誘導体は、治療薬剤 anle138b のメチルリン酸二ナトリウム（即ち、Hal が塩素又は臭素である、上記に示した化合物）である。前者の誘導体は、sery335b と呼ばれて、後者の誘導体は、sery433 と呼ばれる。いずれも、異性体の一方の形態であっても、両方の異性体の混合物でもよい。異性体の sery433a 又は sery433b を下記に示す：

【0082】

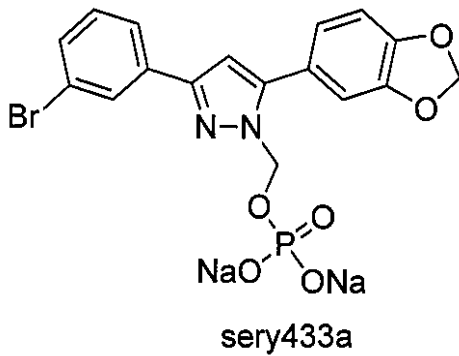
10

20

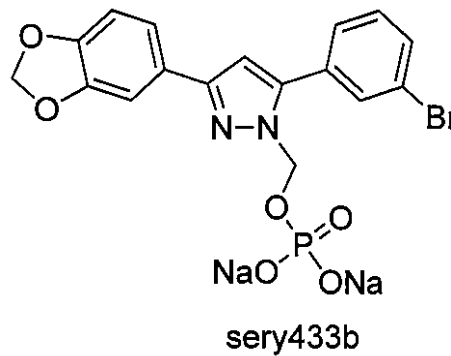
30

40

【化14】



又は



10

【0083】

好ましい態様において、sery433は、例えば、2D-NOESY NMRによって得られる実験データによればsery433b:sery433a=2:3の比である、sery433aとsery433bの異性体混合物である。体内では、両方の異性体型が生理活性薬へ変換される。

【0084】

驚くべきことに、本発明による化学修飾は、以下の好ましい特性のある治療化合物を提供することを見出した：

- ・ 正常な代謝プロセスを介した、活性型への効率的な変換
- ・ 通常の保存条件下での安定性
- ・ 改善された水溶性
- ・ 活性化合物の改善されたバイオアベイラビリティ
- ・ 非毒性、及び
- ・ 口腔から腸管への通過の間の安定性

20

改善された水溶性、並びに増加したバイオアベイラビリティの故に、本発明の化合物は、顕著により少量の医薬的に許容される添加剤の中で提供することが可能である。このことは、患者コンプライアンスを向上させる。さらに、通常の医薬的に許容される添加剤を利用することが可能である。それと対照的に、anle138bでは、このきわめて脂溶性の化合物を投与するために、特別な添加剤（クレマフォアのような）が必要とされた。従って、本発明の化合物は、好ましくも、長期適用のために使用することができる。最後に、標準的な添加剤の使用により、本発明の化合物は、錠剤、丸剤、又は散剤（溶解用散剤が含まれる）といった標準剤形で容易に提供し得て、カプセル剤のようなより複雑な剤形でそれらを提供する必要はない。

30

【0085】

下記に提示する実施例からわかるように、いくつかの他のプロドラッグアプローチが失敗してきただけに、上記に言及した利点が今回特許請求される化合物で達成され得ることは、全く驚くべきである。

【0086】

本発明のプロドラッグは、親化合物に比べて改善された、その水溶液中での溶解性を特徴とする、修飾された3,5-ジフェニル-ジアゾール誘導体である。好ましいプロドラッグのsery433では、anle138b/賦形剤での投与より4倍高いanle138bの曝露が達成される。従って、高用量の添加剤に対する不寛容性に伴う欠点が回避されて、より少量及び/又はより小型のカプセル剤/錠剤を必要とする好ましい投与プロトコールを実施することができる。

40

【0087】

本発明のプロドラッグは、きわめて高い水溶性を特徴とする（実施例8を参照のこと）。本発明のプロドラッグはまた、水中でのその安定性を特徴とする（実施例9を参照のこと）。

【0088】

50

本発明の誘導体を使用するとき、治療活性化合物は、治療有用量で脳と血液に見出される。理論に束縛されずに言えば、その治療活性化合物は、膜結合性の腸アルカリホスファターゼ (IAP) によって本発明のプロドラッグより遊離して、それによって腸管上皮に接近して、そこで血流の中へ直接移行すると想定される。おそらく、該化合物は、主に単分散型で遊離されるので、腸管から血液へ取り込まれることが可能なのであろう。本発明のプロドラッグの薬物動態特性は、マウスとラットの脳と血液において、治療上有益な活性化合物のレベルをもたらす (実施例 10 と実施例 11 を参照のこと)。最も重要にも、本発明のプロドラッグ、sery 433 についての薬物動態評価は、AUC と Cmax の数値によって示されるように、曝露の顕著な改善を明らかにした。具体的には、プロドラッグ sery 433 の投与は、賦形剤 PEG / クレモフォールにおける anle 138 b の適用と比較して、Cmax と AUC のいずれに關しても、プロドラッグ sery 433 の場合に、ほぼ 4 倍の顕著に高い anle 138 b の全身曝露をもたらす (図面 4 を参照のこと)。

10

【0089】

例えば、活性化合物の anle 138 b は、プロドラッグの sery 433 より、膜結合性腸アルカリホスファターゼ (IAP) による該化合物からのリン酸基の酵素的切断によって、腸壁で遊離される。理論に束縛されずに言えば、活性化合物の血液及び脳中での高レベルが可能であるのは、この活性化合物の腸壁での濃度が該活性化合物の沈殿をもたらす濃度未満であるからと考慮される。さらに、IAP は、切断する際に治療活性化合物を腸管の内腔へ遊離させるわけではなく、血液中への受動輸送のために該化合物が腸管膜上に渡るまで及び腸間膜を通過するまで、該化合物を保持し続けると考慮される。

20

【実施例】

【0090】

本発明の好ましい態様について以下の実施例において概説するが、これを本発明の範囲及び精神を制限するものと解釈してはならない。

化合物を水溶性にする (即ち、それを帯電化する) ために脂溶性化合物を可溶化する様々な概念が存在する。このようなアプローチに関する最近の概説が Chem. Biodiversity 中の Muller (7) によって示されている。これまでの例では、様々な概念が検証されてきたが、そのほとんどは有用な生成物をもたらさなかった。

【0091】

以下の実施例では、本発明の誘導体の製造と、比較のために、プロドラッグを創出するさらなるアプローチについて例証する。

30

材料と方法

出発材料と溶媒は、いずれも ABCR、Acros、Alfa Aesar、Fluorochem、シグマ・アルドリッチ、又はメルクより購入して、特に断らなければ、そのまま使用した。融点は、オープンガラス毛细管を使用する、Stuart Scientific (ビッビィ、イギリス) 融点測定装置で決定して、補正しない。薄層クロマトグラフィー (TLC) : Macherey-Nagel プレコートシート、0.25 mm ALUGRAM (登録商標) SIL G / UV 254 プレート、UV で検出、及び / 又は 10 重量%のエタノール性リンモリブデン酸試薬で焦がした後 200 で加熱。フラッシュカラムクロマトグラフィーは、Merck シリカゲル 60 (0.063 ~ 0.100 mm) を使用することによって実施した。分析用及び分取用の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、Waters HPLC システムを Waters 996 フォトダイオードアレイ検出器とともに使用することによって実施した。いずれの分離も、水中 0.1% トリフルオロ酢酸 (TFA) (v/v) (溶媒 A) とアセトニトリル中 0.1% TFA (溶媒 B) の移動相を伴った。HPLC は、逆相 (RP) カラムの Eurospher RP 18, 100 Å (オングストローム)、5 µm, 250 × 4.6 mm (分析用) と 250 × 16 mm (分取用) を 1 mL / 分 (分析用) と 7 mL / 分 (分取用) の流速で使用することによって実施した。エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) と液体クロマトグラフィー / 質量分析法 (LC/MS) の分析は、Waters Micromass ZQ 4000 質量分析計を上記の Waters HPLC 装置に連結して使用することによって入手した

40

50

。高分解能質量スペクトル (H R M S) は、Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL ハイブリッド FTMS 質量分析計を使用することによって記録して、 m/z で報告する。NMR スペクトルは、298 K の温度で、TXI HCN z - 勾配プローブを取り付けた 400 MHz Bruker Avance 分光計 (Bruker AG , ラインシュテッテン、ドイツ) を使用することによって記録した。いずれのスペクトルも、TOPSPIN2 (Bruker AG , カールスルーエ、ドイツ) を使用することによって処理した。 ^1H NMR 化学シフト () は、内部標準としての CHCl_3 と $[\text{D}_5]$ DMSO に対する百万分率 (ppm) で報告する。データを以下のように報告する：化学シフト、多重性 (s = 一重項、 d = 二重項、 t = 三重項、 b = ブロード、 m = 多重項)、カップリング定数 (J 、Hz で示す)、積分。 ^{13}C NMR 化学シフト () は、内部標準としての CDCl_3 と $[\text{D}_6]$ DMSO に対する百万分率 (ppm) で報告する。以下の実験を使用して、化合物の共鳴を記録した： $^1\text{H} - ^1\text{D}$ 、 $^{13}\text{C} - ^1\text{D}$ NMR スペクトルと $^{13}\text{C} - \text{APT}$ (1 / 145 s の単一 J 放出時間での付随プロトンテスト、四級基とメチレン基が正符号を有して、メチル基とメチン基が負符号を有するようにスペクトルを処理する)。いくつかの化合物では、 ^1H 及び APT スペクトルにおける共鳴の重なりを分解して未検出の共鳴を復元するために、 $2\text{D} - [^{13}\text{C}, ^1\text{H}] - \text{HSQC}$ (異核種単一量子コヒーレンス法)、 $2\text{D} - [^{13}\text{C}, ^1\text{H}] - \text{HMBC}$ (異核多結合相関分光法)、及び $2\text{D} - \text{NOESY}$ を記録した。1,3 - ジアリアルプロパン - 1,3 - ジオンは、そのスペクトルではエノール型が優勢であるという事実には拘らず、図面ではジケトンとして提示する。

10

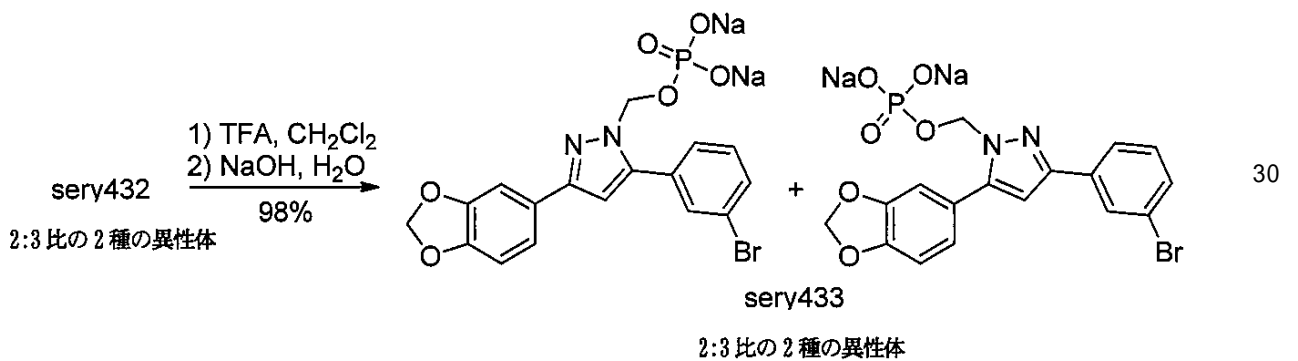
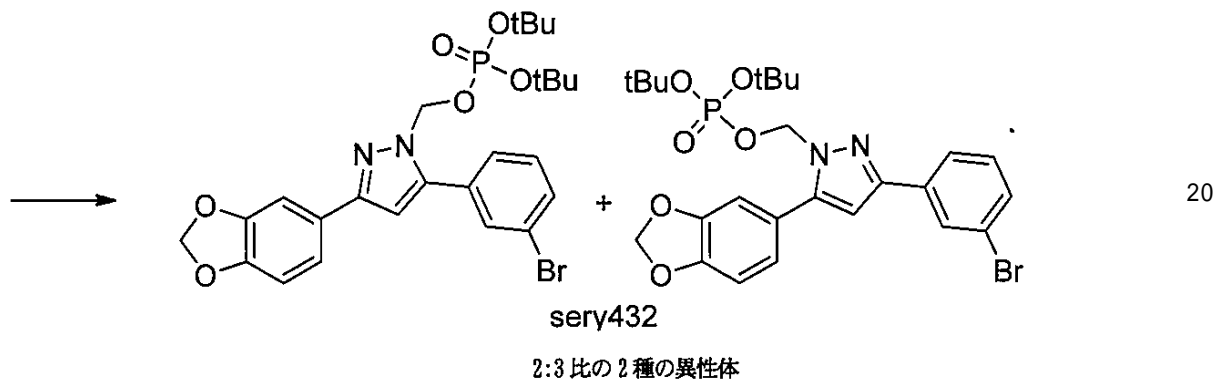
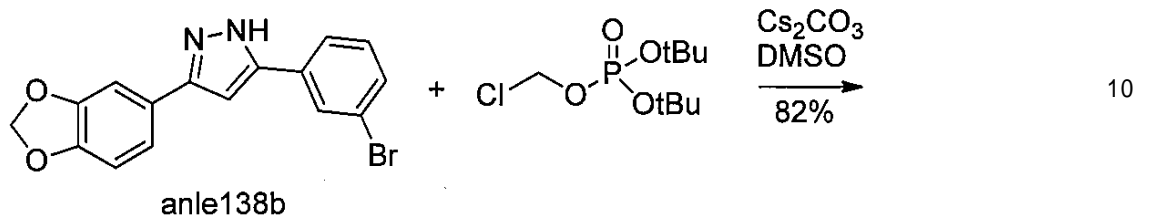
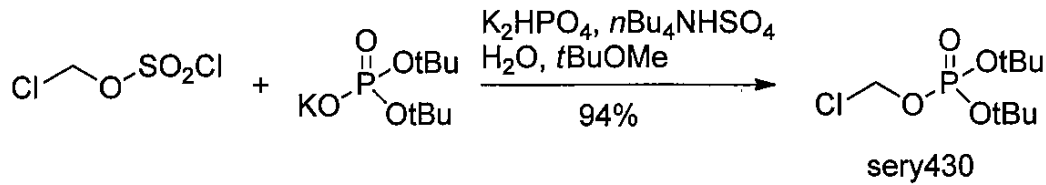
【 0 0 9 2 】

20

実施例 1 : IAP によって切断される可能性がある、 $\text{ser y 4 3 3 (a n l e 1 3 8 b)}$ のプロドラッグ) の合成

【 0 0 9 3 】

【化15】



【0094】

リン酸クロロメチルジtert-ブチル(sery430)

化合物sery433は、公表されたプロトコール(7)に従って製造した。リン酸カリウムジtert-ブチル(35g, 141ミリモル)、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (127g, 557ミリモル)、 $n\text{-Bu}_4\text{NHSO}_4$ (4g, 11ミリモル)、 H_2O (125ml)、及び tBuOMe (170ml)の混合物へクロロ硫酸クロロメチル(35g, 212ミリモル)の tBuOMe (35ml)溶液を連続的に激しく攪拌しながら0で25分以内に滴下した。この添加が完了した後で、攪拌を室温で2時間続けた(この反応混合物は、内部温度が30を超えたならば、冷やした)。この反応混合物を H_2O (350ml)と tBuOMe (200ml)でクエンチし、有機相を分離し、1M K_2HPO_4 水溶液(200ml)、水(200ml)、塩水(50ml)で洗浄して、 Na_2SO_4 で乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾過し、その溶液へ $n\text{-Bu}_3\text{N}$ (3ml)を加えて、この溶液を減圧下に濃縮して、生成物(34.4g, 94%)をオイルとして得た。フリーザー(-21)中での保存の間の安定性を高めるために、この生成物へ追加分量の $n\text{-Bu}_3\text{N}$ (3ml)を加えた。

【0095】

Sery 432

DMSO (200 ml) 中の anle 138 b (1) (25 g, 72.8 ミリモル)、 Cs_2CO_3 (35.6 g, 109 ミリモル) の混合物へリン酸クロロメチルジtert-ブチル (28.1 g, 109 ミリモル) を1分量で加えた。室温で5時間攪拌後、この反応混合物を水 (1200 ml) で希釈して、ジエチルエーテル (500 + 200 + 100 ml) で抽出した。合わせた有機画分を水 (500 ml)、塩水 (100 ml) で洗浄して、 Na_2SO_4 で乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾過した後で、この溶液を減圧下に濃縮して、生成物 (全量 49.5 g, 40.8 g sery 432, 82%, 2:3 の比である2種の異性体の混合物) をオイルとして得た。生じる生成物はまた、 ^1H NMR スペクトルに基づけば、10.5% の sery 430 と 7.1% の Bu_3N を含有する。この生成物は、さらに精製せずに、次の工程に使用した。sery 432 は、2:3 比の異性体の混合物である (^1H NMR)。

10

【0096】

Sery 433

sery 432 (34.4 g, 60.9 ミリモル) の DCM (400 ml) 中の冷却溶液へ TFA (23.5 ml) を連続的に激しく攪拌しながら 0 で 5 分以内に加えた。2時間後、追加分量の TFA (23 ml) を加えて、この反応混合物を 0 で 8 時間攪拌した。冷トルエン (300 ml) で希釈後、この反応混合物を 0 で減圧下に濃縮し、残渣を冷トルエン (300 ml) と混合して、0 でもう一度濃縮した (DCM を 50 ~ 100 ミリパールで蒸発させ、TFA とトルエンを高真空ロータリーエバポレーターで蒸発させた)。生じる混合物を冷アセトニトリル (300 ml) で希釈して、0 で 1 時間攪拌した。白色の沈殿を濾過して取って、減圧下に乾燥させて、酸型の sery 433 (全量 31.0 g, 29.0 g の酸型 sery 433 と 2 g のアセトニトリル) を得た。この粗製の酸型 sery 433 へ 1M NaOH 水溶液 (129 ml, 129 ミリモル、2 当量) と水 (80 ml) を加え、生じる溶液を濾過して (Millipore Express Plus フィルター)、濾液を凍結乾燥させて、sery 433 の二ナトリウム塩 (30.0 g, 99%, 2:3 の比である2種の異性体の混合物) を白色の粉末として得た。

20

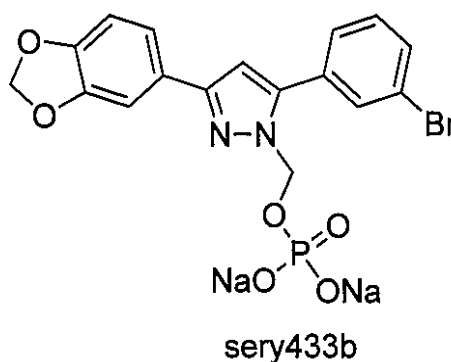
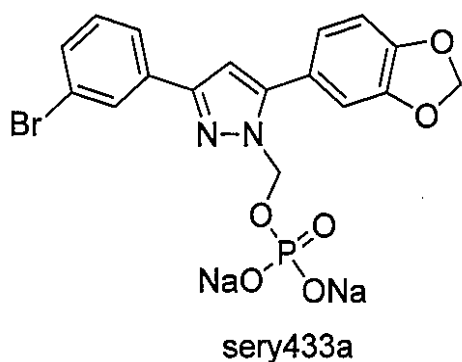
【0097】

本発明の誘導体である、sery 433 の2種の異性体を下記に示す。

30

【0098】

【化16】



40

【0099】

さらなるプロドラッグも製造した：

水溶液中での化合物の安定性は、NMR によって決定した。化合物 (5 mg) の D_2O (0.5 ml) 溶液を含有する試料を室温で1日間インキュベートした； ^1H スペクトルは、12時間ごとに、即ち、0時間、12時間、24時間の時点で記録して分析した。結果を下記の表に示す。

【0100】

【表 1】

化合物	安定性試験の結果
sery433	安定
sery453	安定
anle423b アンモニウム塩	安定

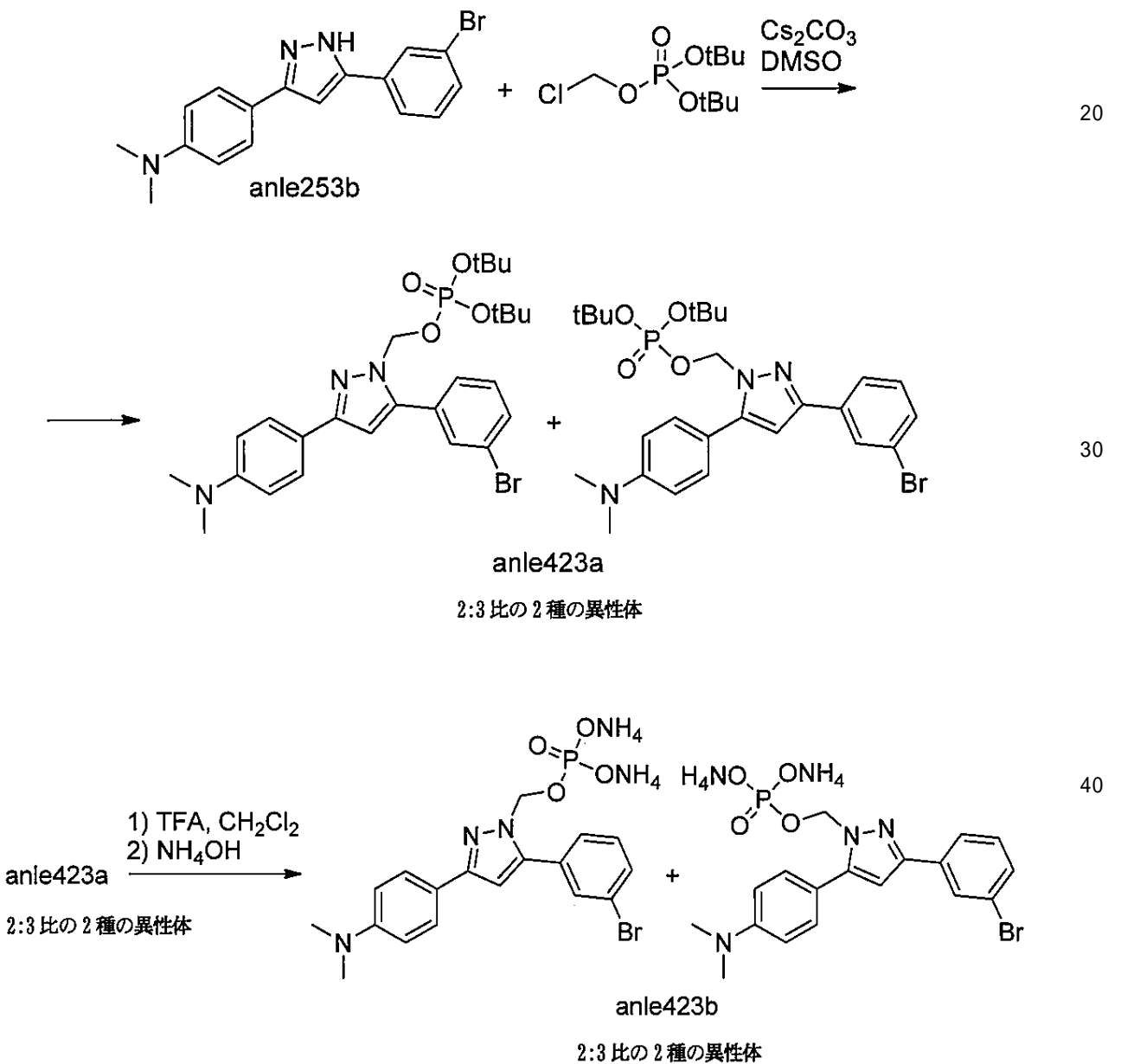
10

【 0 1 0 1 】

実施例 2 : anle423b (anle253bのプロドラッグ) の合成

【 0 1 0 2 】

【 化 1 7 】



20

30

40

【 0 1 0 3 】

50

Anle423a

anle253b (500 mg, 1.46ミリモル)、Cs₂CO₃ (620 mg, 1.9ミリモル)のDMSO (5 ml)中の混合物へリン酸クロロメチルジtert-ブチル (525 mg, 1.9ミリモル)を1分量で加えた。室温で15時間の攪拌後、反応の完了を薄層クロマトグラフィー (TLC) (SiO₂, ヘキサン: EtOAc = 2:1, Rf (遊離体) 0.33, Rf (生成物) 0.18)によって示した。この反応混合物を水 (30 ml)で希釈して、酢酸エチル (2 × 15 ml)で抽出した。合わせた抽出物を水 (10 ml)、塩水 (10 ml)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させて減圧下に濃縮して、生成物 (1.08 g)をオイルとして得た。この生成物は、さらに精製せずに、次の工程に使用した。

10

【0104】

Anle423b (ジアンモニウム塩)

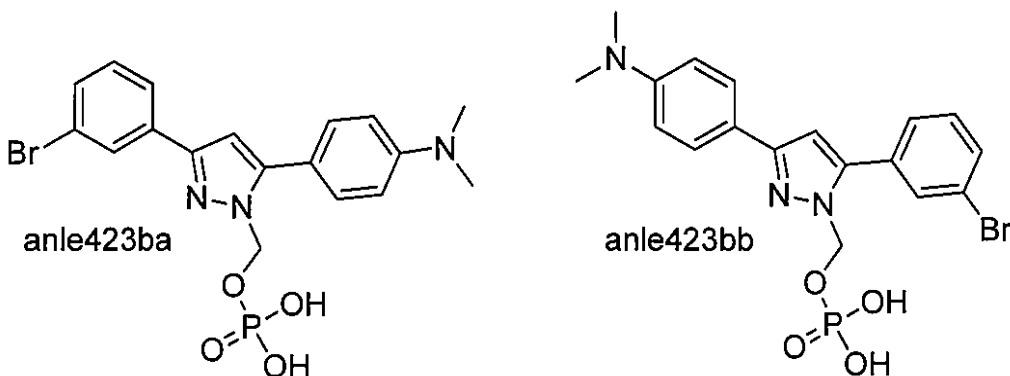
anle423a (1.08 g)のDCM (10 ml)中の冷却懸濁液へTFA (2 ml)を連続的に激しく攪拌しながら0 で1分以内に加えて、この反応混合物を0 で8時間攪拌した。この混合物を濾過し (GHP 0.45 μm)、トルエン (10 ml)で希釈して、20 で減圧下に濃縮し、残渣をトルエン (10 ml)と混合して、20 でもう一度濃縮した (DCMを50~100ミリバールで蒸発させ、TFAとトルエンを高真空ロータリーエバポレーターで蒸発させた)。生じるガラス状の粘稠な残渣を冷アセトン (30 ml)で摩砕し、0 で1時間攪拌した。白色の沈殿を濾過して取り、アセトン (10 ml)で洗浄して減圧下に乾燥させて、酸型のanle423b (448 mg, 0.99ミリモル, 68%, 2D-NOESY NMR実験によれば、anle423ba : anle423bb = 3 : 2の比である2種の異性体の混合物)を黄色がかった粉末として得た。anle423b (二酸, 156 mg, 0.345ミリモル)へ水 (3 ml)と25% NH₄OH (12.6 M, 150 μL, 1.89ミリモル)を加えた。この混合物を、溶解が完了するまで攪拌し、生じる溶液を凍結させて凍結乾燥させて、ジアンモニウム塩のanle423b (161 mg, 331マイクロモル, 96%, anle423ba : anle423bb = 3 : 2の比である2種の異性体の混合物)を黄色がかった粉末として得た。

20

【0105】

【化18】

30



40

【0106】

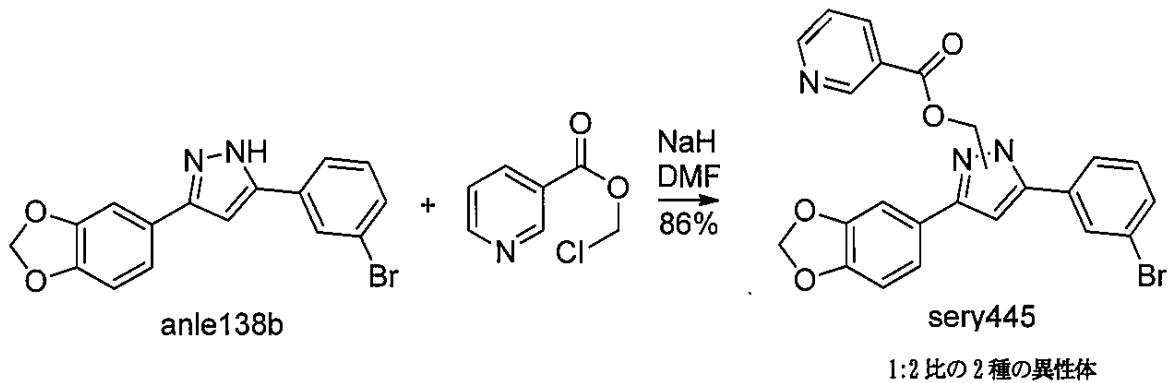
比較実施例3 : エステラーゼによって切断される可能性がある、sery447の合成試験した1つのアプローチは、エステラーゼによって切断される可能性があつて、カチオンを介した安定性を提供するはずである基の導入であった。

【0107】

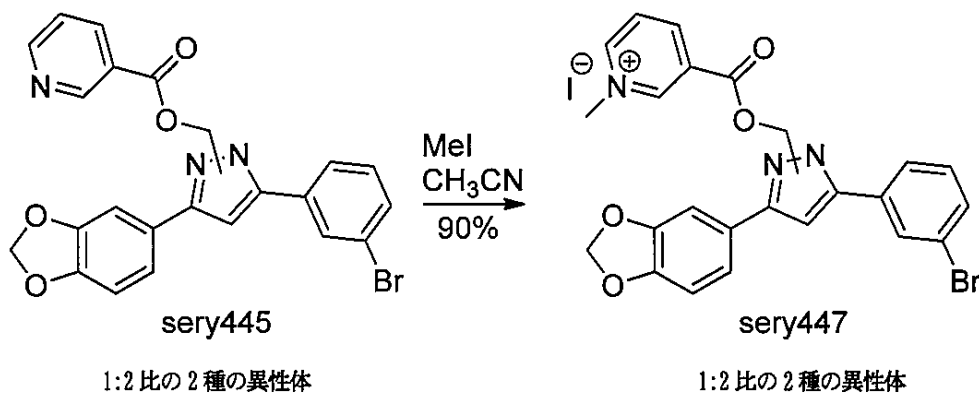
このように、anle138bのさらなる有望なプロドラッグを合成して、sery447と命名した :

【0108】

【化19】



10



20

【0109】

ニコチン酸クロロメチルエステル

ニコチン酸より出発する公表されたプロトコール(8)に従って化合物 sery447 を製造して、シリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2)によって精製して、ニコチン酸クロロメチルエステル(収率55%)を黄色のオイルとして得た。TLC(CH_2Cl_2):RF=0.2。

30

【0110】

Sery445

水素化ナトリウム(220mg, 5.5ミリモル; 鉱油中60%懸濁液)の無水DMF(10ml)懸濁液へanle138b(1.71g, 5ミリモル)の無水DMF(5ml)溶液を連続的に激しく攪拌しながら室温で10分以内に加えた。この混合物を室温で30分間攪拌してから、ニコチン酸クロロメチルエステル(0.94g, 5.5ミリモル)の無水DMF(5ml)溶液を滴下した。室温で24時間のインキュベーション後にDMFの減圧下での蒸発を続けて、残渣をEtOAc(50ml)に溶かして、この溶液を水(50ml)、塩水(25ml)で洗浄して、減圧下に濃縮した。この粗生成物を、勾配溶出を用いたシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー(EtOAc:ヘキサン、1:3(v/v)~1:1(v/v))によって精製して、sery445(2.05g, 86%)を固形物として得た。Sery445は、1:2の比である異性体の混合物である($^1\text{H NMR}$)。TLC(EtOAc:ヘキサン、1:3(v/v)):RF=0.13。

40

【0111】

Sery447

sery445(1g, 2.09ミリモル)及びMeI(1.48g, 10.4ミリモル)のアセトニトリル(15ml)溶液を室温で22時間攪拌して、追加分量のMeI(0.45g, 3.2ミリモル)の添加を続けた。室温でさらに24時間攪拌後、この混合

50

物を減圧下に濃縮して、残渣をEtOAc(30ml)に再懸濁させた。生じる沈殿を濾過によって採取して乾燥させて、sery447(1.17g, 90%)を黄色の固形物として得た。Sery447は、1:1.2の比である異性体の混合物である(¹H NMR)。

【0112】

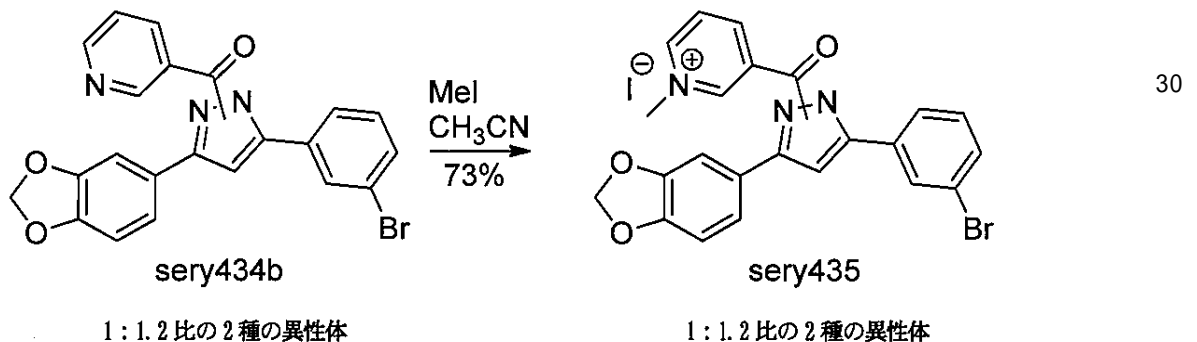
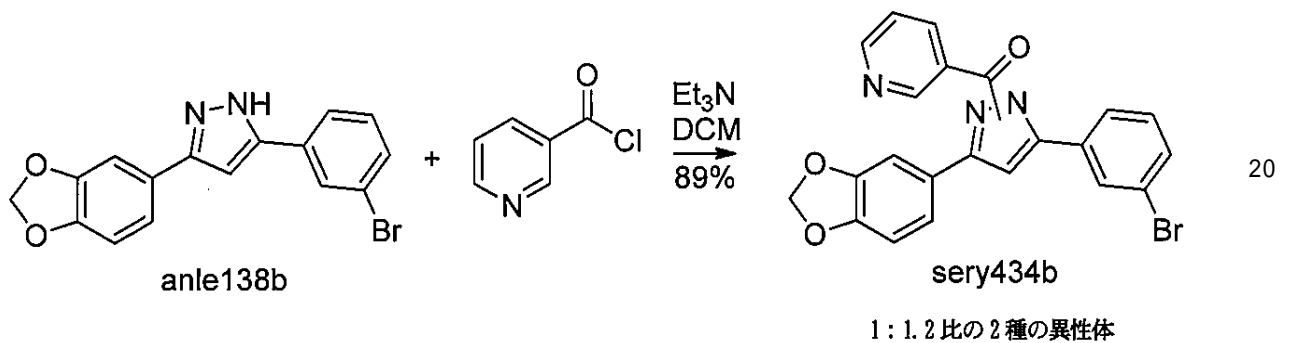
しかしながら、実験データは、sery447がほとんど水に溶けない(1mM未満)ことを示した。故に、sery447は、上記に言及した問題を解決するのに適したプロドラッグとして分類されなかった。

【0113】

比較実施例4: ペプチダーゼによって切断される可能性がある、sery435の合成別のアプローチでは、ペプチダーゼによって切断可能であるはずの基の導入について試験した。そのカチオンを介して安定性が提供されるはずである。anle138bのさらなる有望なプロドラッグを合成して、sery435と命名した:

【0114】

【化20】



【0115】

Sery434b

anle138b(1.03g, 3.0ミリモル)及びEt₃N(0.81g, 8ミリモル)のDCM(25ml)懸濁液へ塩化ニコチノイル塩酸塩(0.62g, 3.5ミリモル)を連続的に激しく攪拌しながら室温で少量ずつ加えた。室温で4日間攪拌後、追加分量の塩化ニコチノイル塩酸塩(0.20g, 1.9ミリモル)とEt₃N(0.22g, 2.2ミリモル)を加えて、攪拌をさらに3日間続けた。この混合物をDCM(25ml)でクエンチし、水性1Mリン酸緩衝液(25ml, pH7.0)、水(25ml)、塩水(10ml)で洗浄して、Na₂SO₄で乾燥させた。この溶媒を減圧下に蒸発させて、残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー(EtOAc:ヘキサン、1:1(v/v))によって精製して、sery434b(1.2g, 89%)を固形物として得た。sery434bは、1:1.2の比である異性体の混合物である(¹H NMR)。TLC(EtOAc:ヘキサン、1:1(v/v)):RF=0.64。

10

20

30

40

50

【0116】

Sery 435

sery 434b (1g, 2.23ミリモル)及びMeI (1.5g, 10.56ミリモル)のアセトニトリル(12ml)溶液を室温で24時間攪拌した。生じる沈殿を濾過によって採取して乾燥させて、sery 435 (1g, 76%)を黄色の固形物として得た。sery 435は、1:1.2の比である異性体の混合物である(¹H NMR)。

【0117】

しかしながら、実験データは、sery 435がほとんど水に溶けない(1mM未満)ことを示した。故に、sery 435は、上記に言及した問題を解決するのに適したプロドラッグとして分類されなかった。

【0118】

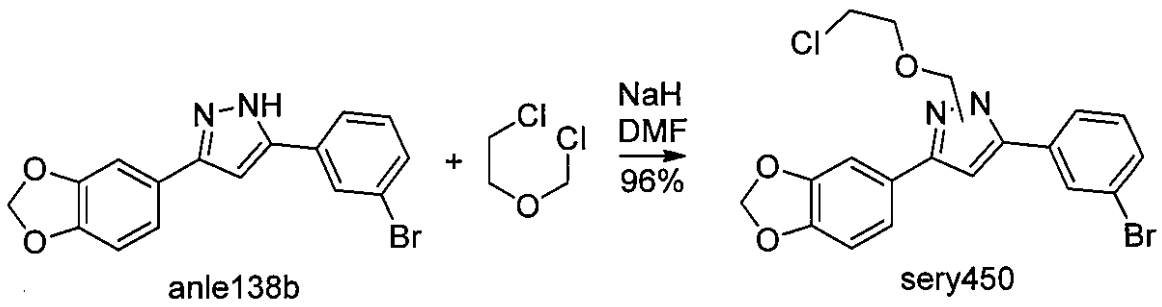
比較実施例5：加水分解によって切断される可能性がある、sery 453の合成
さらなるアプローチでは、加水分解可能な基によって水溶性で安定したプロドラッグを提供し得るかどうかを試験した。ここでは、治療薬剤、anle 138bの遊離が加水分解を介して生じる可能性がある。

【0119】

anle 138bのさらなる有望なプロドラッグを合成して、sery 453と命名した：

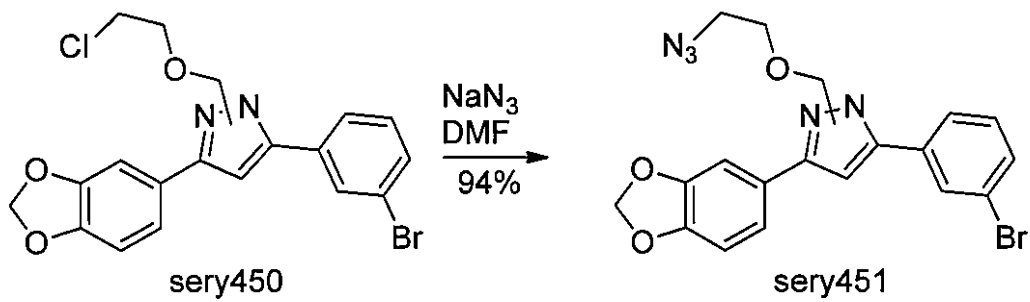
【0120】

【化21】



1:1.3比の2種の異性体

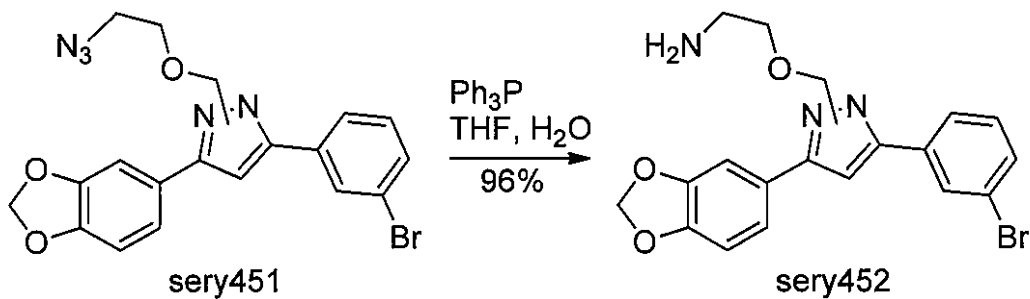
10



1:1.3比の2種の異性体

1:1.3比の2種の異性体

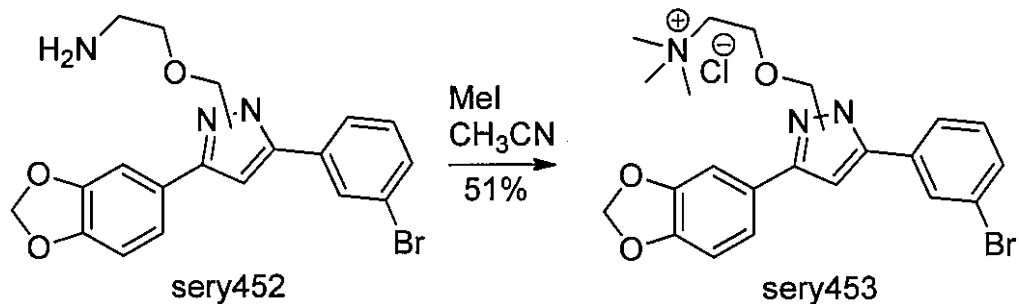
20



1:1.3比の2種の異性体

1:1.3比の2種の異性体

30



1:1.3比の2種の異性体

1:1.3比の2種の異性体

40

【0121】

Sery450

水素化ナトリウム (220 mg, 5.5ミリモル; 鉱油中60%懸濁液) の無水DMF (10 ml) 懸濁液へ anle138b (1.71 g, 5ミリモル) の無水DMF (5 ml) 溶液を連続的に激しく攪拌しながら室温で10分以内に加えた。この混合物を室温で30分間攪拌してから、2-クロロエチルクロロメチルエーテル (0.7 g, 5.5ミリモル) を滴下した。室温で30分間のインキュベーション後に、DMFの減圧下での蒸発

50

を続け、残渣をEtOAc (60 ml) に溶かして、この溶液を水 (50 ml)、塩水 (25 ml) で洗浄して、減圧下に濃縮した。この粗生成物をシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー (EtOAc : ヘキサン、1 : 3 (v/v)) によって精製して、sery 450 (2.1 g, 96%) を得た。sery 450 は、1 : 1.3 の比である異性体の混合物である (^1H NMR)。TLC (EtOAc : ヘキサン、1 : 3 (v/v)) : RF = 0.58。

【0122】

Sery 451

sery 450 (1.87 g, 4.3 ミリモル)、 NaN_3 (2.79 g, 43 ミリモル)、NaI (0.1 g) のDMF (25 ml) 中の混合物を80 で15時間攪拌してから減圧下に濃縮した。残渣をEtOAc (90 ml) に溶かし、有機相を水 (2 x 50 ml)、塩水で洗浄して、 Na_2SO_4 で乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾過した後で、この溶液を減圧下に濃縮して、生じる混合物をシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー (EtOAc : ヘキサン、1 : 4 (v/v)) によって精製して、sery 451 (1.81 g, 95%) を得た。sery 451 は、1 : 1.3 の比である異性体の混合物である (^1H NMR)。TLC (EtOAc : ヘキサン、1 : 5 (v/v)) : RF = 0.36。

10

【0123】

Sery 452

sery 451 (1.67 g, 3.78 ミリモル)、 Ph_3P (1.49 g, 5.67 ミリモル)、水 (2 ml) のTHF (25 ml) 中の混合物を室温で18時間攪拌してから減圧下に濃縮した。生じる混合物を、勾配溶出を用いたシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 : MeOH, 30 : 1 (v/v) ~ 9 : 1 (v/v)) によって精製して、sery 452 (0.38 g, 96%) を得た。sery 452 は、1 : 1.3 の比である異性体の混合物である (^1H NMR)。TLC (CHCl_3 : MeOH, 9 : 1 (v/v)) : RF = 0.19。

20

【0124】

Sery 453

sery 452 (1.45 g, 3.48 ミリモル)、MeI (2.97 g, 20.9 ミリモル)、 KHCO_3 (2.1 g, 21 ミリモル) のアセトニトリル (25 ml) 中の混合物を室温で24時間攪拌した。不溶性の材料を濾過して除き、濾液を減圧下に濃縮して、ヨウ素を対イオンとするsery 453を得た。陰イオン交換樹脂を使用して、このヨウ素対イオンを塩素対イオンに置き換えて、sery 453 (0.88 mg, 51%) を白色の固形物として得た。sery 453 は、1 : 1.3 の比である異性体の混合物である (^1H NMR)。

30

【0125】

実験データは、sery 453 が良好な水溶性を有するものの、マウスの脳と血液におけるanle 138bの濃度が相対的に低いので、この化合物も上記に言及した問題を解決しないことを示した (実施例10を参照のこと)。sery 453 は、sery 433 に比較して (2時間及び4時間の時点で) 8 ~ 10 倍低いレベルにしか到達しなかったの

40

で、さらに考慮しなかった。

【0126】

比較実施例6 : IAPによって切断される可能性がある、sery 474の合成

水溶性の安定したプロドラッグを提供するための試みにおいて、さらなるアプローチを使用した : 内部のアルカリホスファターゼによって切断される可能性がある基を導入したのである。

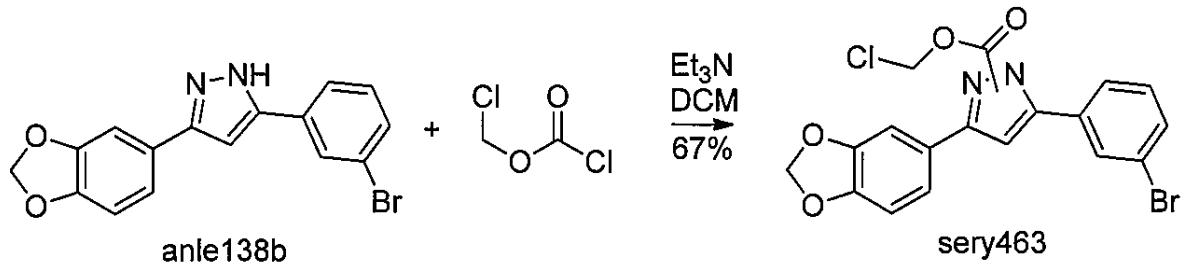
【0127】

anle 138bのさらなる有望なプロドラッグを合成して、sery 474と呼称した :

【0128】

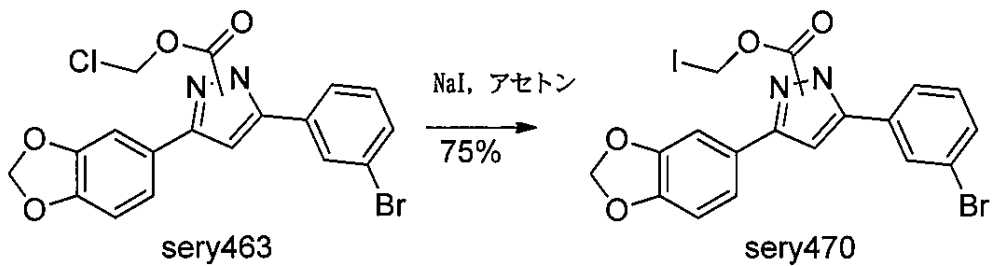
50

【化22】



2:3比の2種の異性体

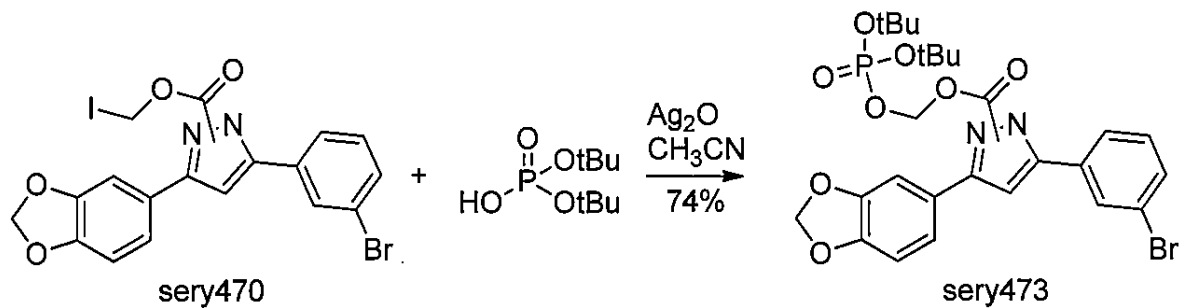
10



2:3比の2種の異性体

1:1.2比の2種の異性体

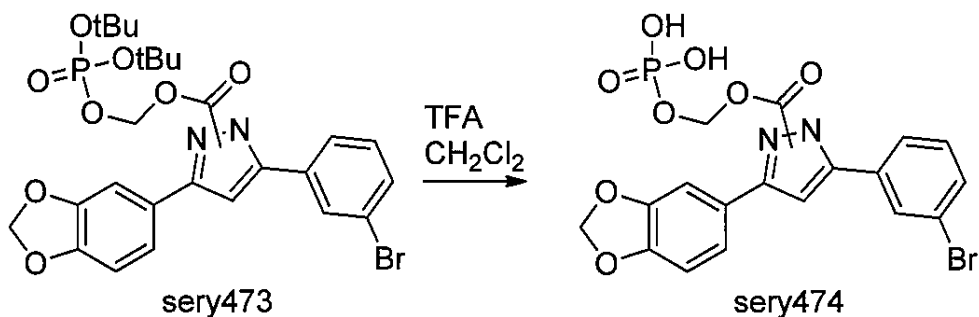
20



1:1.2比の2種の異性体

1:1.2比の2種の異性体

30



1:1.2比の2種の異性体

1:1.2比の2種の異性体、水中で不安定

40

【0129】

Sery463

anle138b (1g, 2.9ミリモル) とピリジン (0.276g, 3.5ミリモル) のDCM (10ml) 中の混合物へクロロギ酸クロロメチル (0.452g, 3.5ミリモル) のDCM (5ml) 溶液を連続的に激しく攪拌しながら室温で10分以内に加えた。室温で2時間攪拌後、この反応混合物をDCM (20ml) で希釈し、有機相を水 (2×30ml)、塩水で洗浄して、減圧下に濃縮した。生じる残渣をアセトニトリルより再結晶させて、sery463 (0.85g, 67%) を白色の固形物として得た。s

50

ery 463は、2 : 3の比である異性体の混合物である ($^1\text{H NMR}$)。

【0130】

Sery 470

sery 463 (0.8 g, 1.84ミリモル)、NaI (0.413 g, 2.76ミリモル)のアセトン (15 ml) 中の混合物を40 で3日間攪拌してから減圧下に濃縮した。残渣をDCM (30 ml) に溶かし、有機相を水 (20 ml)、1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液 (20 ml)、塩水で洗浄して、 Na_2SO_4 で乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾過した後で、この溶液を減圧下に濃縮して、生じる混合物をシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー (EtOAc : ヘキサン、1 : 3 (v/v)) によって精製して、sery 470 (0.73 g, 75%) を固形物として得た。sery 470は、1 : 1.2

10

【0131】

Sery 473

sery 470 (53 mg, 0.1ミリモル)、リン酸ジtert-ブチルカリウム塩 (42 mg, 0.2ミリモル)、及び Ag_2O (24 mg, 0.1ミリモル)のアセトニトリル (3 ml) 中の混合物を室温で2時間攪拌した。次いで、不溶性の材料を濾過して取って、この固形物をフィルター上にてアセトニトリル (2 ml) で洗浄した。合わせた有機溶液を減圧下に濃縮して、生じるオイルをシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー (EtOAc : ヘキサン、1 : 2 (v/v)) によって精製して、sery 473 (45

20

【0132】

Sery 474

sery 473 (10 mg)、TFA (20 mg)の重水素化クロロホルム (0.7 ml) 中の混合物をNMR試験管の中に入れて、反応の進行をNMRによってモニターした。室温で6時間のインキュベーションの後で、 ^1H スペクトルは、反応の完了を明示し、中性条件下での水系の後処理をすると、sery 474が分解してanle 138bの生成をもたらした。

30

【0133】

実験データは、sery 474が水に溶けるものの、それが十分な安定性を有さないの、上記の問題を解決し得ないことを示した。これは、アセタール官能基の自己加水分解によるものと仮定される。故に、sery 474は、好適なプロドラッグとして分類されなかった。sery 474の水溶液中での低い安定性により、これ以上の開発は打ち切った。

【0134】

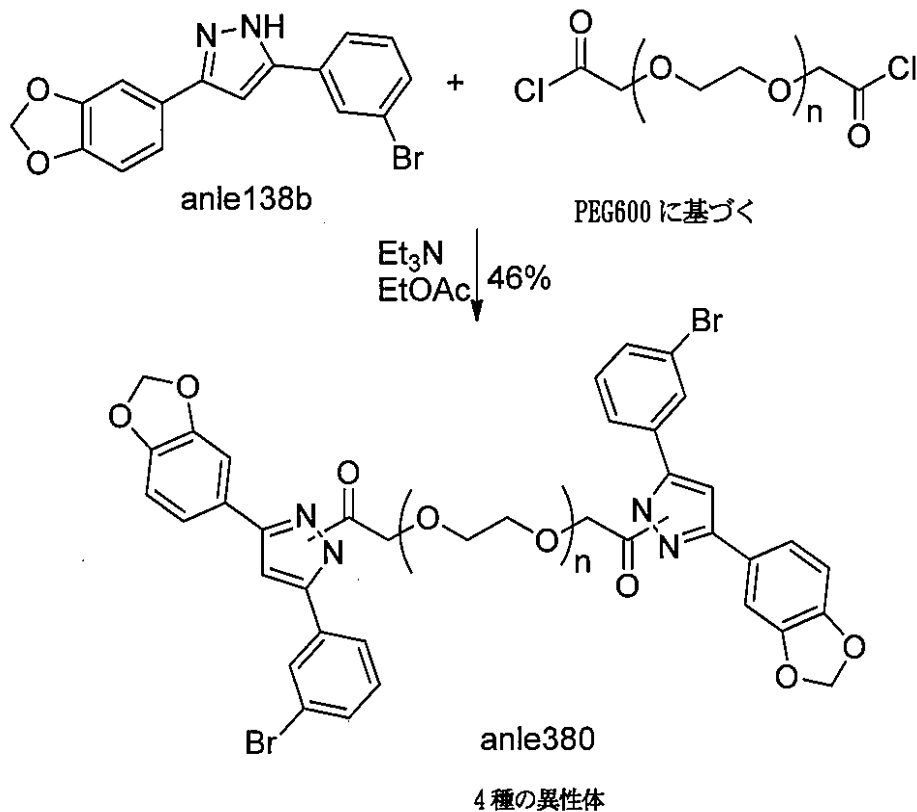
比較実施例7 : ペプチダーゼによって切断される可能性がある、anle 380の合成 (PEG 600に基づく)

水溶性で安定したプロドラッグを設計する場合によくあるアプローチは、それ自体が水とあらゆる比率で混和する、PEG 600二炭酸を介した誘導體化である。従って、anle 138のさらなる有望なプロドラッグを合成して、anle 380と呼称した :

40

【0135】

【化23】



10

20

【0136】

Anle380

PEGベースのビスクロロ無水物（対応する二酸（ポリ（エチレングリコール）ビス（カルボキシメチル）エーテル、平均Mn：600）（3g，5ミリモル）とSOCl₂の反応によって製造する）、anle138b（3.43g，10ミリモル）、及びEt₃N（1.01g，10ミリモル）のEtOAc（150ml）中の混合物を室温で24時間攪拌した。不溶性の材料を濾過して除き、濾液をクエン酸の5%水溶液（50ml）と塩水で洗浄した。生じる溶液をほぼ20mlの容量になるまで減圧下に濃縮してから、ヘキサン（150ml）中にゆっくり注いだ。白色の沈殿を濾過によって採取して乾燥させて、anle380（5.8g）を白色の固形物として得た。この混合物のLC-MS分析によれば、所望される生成物の4種の異性体が主要成分である一方で、anle138bと1つの複素環部分がある化合物（複数）が主要な不純物として検出された。

30

【0137】

しかしながら、実験データは、anle380が水にほとんど溶けない（1mM未満）ことを示した。このPEG600二炭酸誘導体が、2つのanle138b部分が付いていることで（十分な）溶解度に到達しないことは、予想外であった。故に、anle380は、好適なプロドラッグとして使用し得ない。

40

【0138】

実施例8：水溶性試験

各化合物の水溶性について、以下のプロトコールによって評価した。10mgの化合物を含有するガラス管の中へ脱イオン水（1ml）を加えた。10分間振り混ぜた後で、この試料を目視検査して、溶液又は懸濁液の形成を報告した。結果を下記の表に示す。

【0139】

【表 2】

化合物	溶解性試験の結果
sery433	溶ける、澄明な溶液； 最大溶解度：約 150mg/ml
sery435	溶けない、懸濁液
sery447	溶けない、懸濁液
sery453	溶ける、澄明な溶液； 最大溶解度：約 150mg/ml
anle380	溶けない、懸濁液
anle138b	溶けない (68.6 ng/ml しか溶けない)

10

【0140】

この結果は、sery433とsery453がanle138bよりほぼ219万倍水に溶けることを示している。

実施例9：安定性試験

化合物の水溶液中での安定性をNMRによって判定した。化合物(5mg)のD₂O(0.5ml)溶液を含有する試料を室温で1日間インキュベートして、¹Hスペクトルを記録して、12時間ごとに(即ち、0時間、12時間、24時間の時点で)分析した。例示の結果を以下の表に要約する。

20

【0141】

【表 3】

化合物	安定性試験の結果
sery433	安定
sery453	安定
anle423b アンモニウム塩	安定

30

【0142】

故に、上記の比較実施例とは対照的に、本発明の誘導体は、安定している。活性化合物は、切断のためのごく豊富な酵素によって遊離されて、驚くべきことに、該酵素は、この疎水性の化合物を腸管の内腔中へ遊離させず、それが血液中への受動輸送のために腸管膜上に渡るまで、それを「保持」し続ける。

【0143】

実施例10：sery433とsery453のマウスにおける薬物動態分析

二ナトリウム塩としてのsery433とsery453(7.25mg; 5mgのanle138bに等しい)の無菌ミリポア(Millipore)水(50μl)溶液を強制摂食によってマウス(C57/BL6, 77日齢)へ適用した。適用後1時間、2時間、4時間、及び8時間の時点(各時点につき2匹の動物)で動物を頸椎脱臼によって殺した。脳を取り出し、50mMトリス緩衝液(pH7.0)で洗浄して、すぐに液体窒素で凍結させた。試料を-80で保存した。

40

【0144】

この組織は、使用に先立って、4で解凍した。この組織を5mLのアセトニトリルにおいて、ホモジナイザー(IKA ULTRA-TURRAX Tube drive workstation, ドイツ)を使用して3分間最高速度で2回ホモジナイズした。このホモジネートを30で5分間超音波処理して、5.000×gで10分間遠心分離させた。上清のアリコート(100μL)をHPLCシステムへ注入した。外部標準に対する化合物のピーク面積比を使用して、試

50

料を定量した（図面3を参照のこと）。

【0145】

【表4】

化合物	用量 (mg)	動物番号	時間 (h)	anle138bの脳中レベル (ナノモル/g)
sery433	1.45	1	1	6.15
		2	1	11.39
		3	2	6.42
		4	2	27.72
		5	4	12.92
		6	4	13.82
		7	8	49.06
		8	8	35.76
sery453	1.44	1	1	4.72
		2	1	2.29
		3	2	13.61
		4	2	2.75
		5	4	1.44
		6	4	1.47
		7	8	6.38
		8	8	1.48

【0146】

実施例11：sery433のラットにおける薬物動態分析

二ナトリウム塩としてのsery433（用量レベル：10mg/kg，投薬容量：10ml/kg）の25mMリン酸緩衝液（pH7）溶液を強制摂食によってCDラットへ適用した。血漿試料を対応する時点で採取し、液体窒素中で凍結させて、-80で保存した。この組織は、使用に先立って、4で解凍した。それらを5mLのアセトニトリルにおいて、ホモジナイザー（IKA ULTRA-TURRAX Tube drive workstation，ドイツ）を使用して3分間最高速度で2回ホモジナイズした。このホモジネートを30で5分間超音波処理して、5,000×gで10分間遠心分離させた。上清のアリコート（100μL）をHPLCシステムへ注入した。外部標準に対する化合物のピーク面積比を使用して、試料を定量した（図面3を参照のこと）。

【0147】

実施例12：sery433のラットにおける薬物動態分析

本試験は、anle138b（フェーズ1）とsery433（フェーズ2）の単回経口投与に続く、anle138bとsery433の雄性スプラッグ・ドリーラットにおける薬物動態について評価するために設計した。フェーズ1とフェーズ2の間、動物は、適切に製剤化された各試験化合物を、交差法で、2つの別々の投薬事例の1つで摂取した。用量レベルは、いずれの化合物でも10mg/kgであった。sery433の量は

、そのプロドラッグ中に存在する *anle138b* の量に対して補正しなかったので、*sery433* のより高い分子量の故に、実際には、より低い量の活性薬剤が投与されたことになる。

【0148】

【表5】

<i>anle138b</i> の担体 (フェーズ 1)	PEG 400 (35%) (供給元:シグマ・アルドリッチ) CAPRYOL 90 (20%) (供給元:Gattefosse) クレモフォール RH40 (45%) (供給元:シグマ・アルドリッチ)
保存条件	室温
<i>sery433</i> の担体 (フェーズ 2)	リン酸緩衝液 (pH 7, 20~25 mM)
保存条件	室温

10

【0149】

本試験は、2つのフェーズで実施した。

フェーズ1: 3匹のナイーブ雄性CDラットに *anle138b* を 10 mg/kg の目標用量レベルで経口投与した。

【0150】

フェーズ2: 1週間(ウォッシュアウト期間)後、同じ動物へ *sery433* を 10 mg/kg の目標用量で経口投与した。

それぞれのフェーズの間、投与後24時間の間にわたって、各動物より個別の連続血漿プロフィールを作成した。

【0151】

経口投与製剤の調製(フェーズ1)

クレモフォールRH40(最終容量の45%)、PEG400(最終容量の35%)、及びCapryol90(最終容量の20%)を秤量することによって、担体を調製した。この混合物をほぼ50(例、恒温槽)で約15分間攪拌して融かして、澄明な溶液を得た。次いで、試験化合物を秤量して、50で攪拌しながら担体へ加えた。この混合物をさらに15分間攪拌して10分間音波処理して、澄明な(目視検査)溶液を得た。

30

【0152】

経口投与製剤の調製(フェーズ2)

Na_2HPO_4 (3.0 g/L)と NaCl (2.64 g/L)を秤量してから1N HCl (pH7に達するために 1.9 mL)をフラスコ全量の半分の H_2O とともに加えて、この混合物を10分間音波処理して、担体を調製した。次いで、試験化合物を秤量して、ほぼ15分の磁気攪拌下に担体へ加えた。次いで、この混合物を約5分間音波処理して再び15分間攪拌して、澄明な(目視検査)溶液を得た。

【0153】

リン酸緩衝液の名目濃度は、 20 mM であった。

経口投与後、各ラットの尾静脈より以下の時点で血液試料を採取した: 投与前、投与後0.5時間、1時間、2時間、4時間、6時間、8時間、及び24時間。

40

【0154】

この結果を図4に示す。見てわかるように、*sery433* の投与後の *anle138b* の血漿濃度は、そのままの *anle138b* の投与後の *anle138b* の対応する血漿濃度よりずっと高かった。

【0155】

参考文献

[1] J. Wagner et al., "Anle138b: a novel oligomer modulator for disease-modifying therapy of neurodegenerative diseases such as prion and Parkinson's diseases

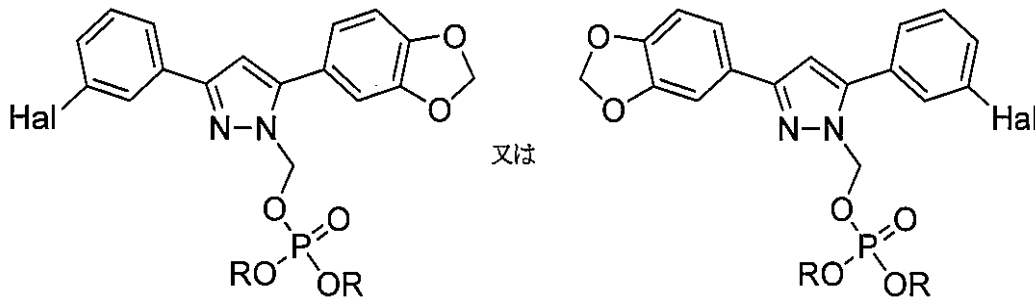
50

式中、それぞれのRは、独立して、水素又はカチオンである]の1つによって定義される化合物。

[2] YがNであって、Zが - C H - である、[1] の化合物。

[3]

【化 2 7】



10

[式中、H a l は、塩素又は臭素より選択されるハロゲンであり、好ましくは、ここでH a l は、臭素であり、そして式中、それぞれのRは、独立して、水素又はカチオンより選択され、好ましくは、ここでRは、ナトリウムである]である、[1] の化合物。

[4] [1] ~ [3] のいずれかの異性体構造 I a 及び I b の化合物の1つ又はそれらの混合物を含んでなり、医薬的に許容される添加剤を含んでいてもよい組成物。

[5] 少なくとも1つのRが、ナトリウム、リチウム、カリウム、及びアンモニウムより選択されるカチオンであるか又はエタノールアミン、コリン、リジン、メグルミン、ピペラジン、及びトロメタミンのプロトン化型である、[1] ~ [3] のいずれかの化合物]又は[4] の組成物。

20

[6] 両方のRがナトリウムである、[5] の化合物又は組成物。

[7] H a l が臭素である、[1] ~ [6] のいずれかの化合物又は組成物。

[8] H a l が塩素である、[1] ~ [6] のいずれかの化合物又は組成物。

[9] 構造 I a を有する化合物と構造 I b を有する化合物の混合物を含んでなる、[4] ~ [8] のいずれかの組成物。

[1 0] 医薬品としての使用のための、[1] ~ [9] のいずれかの化合物又は組成物

30

[1 1] タンパク質凝集に関連した疾患の治療又は予防における使用のための、[1] ~ [1 0] のいずれかの化合物又は組成物。

[1 2] タンパク質凝集に関連した疾患が、少なくとも1つのタンパク質又はその断片又は誘導体の凝集型の存在を特徴とし、ここで該タンパク質は、プリオンタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質 (A P P)、 α -シヌクレイン、スーパーオキシドジスムターゼ、タウ、免疫グロブリン、アミロイド - A、トランスサイレチン、 α 2 - ミクログロブリン、シスタチンC、アポリポプロテインA1、T D P - 4 3、藤島アミロイドポリペプチド、A N F、ゲルゾリン、インスリン、リゾチーム、フィブリノゲン、ハンチンチン、及びアタキシン、並びに、ポリQストレッチがある他のタンパク質からなる群より選択される、[1 1] の使用のための化合物又は組成物。

40

[1 3] 疾患が、パーキンソン病、プリオン病、アルツハイマー病、多系統萎縮症、びまん性レビー小体病、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症と他のポリQ病、遺伝性脳アミロイド血管症、家族性アミロイド多発性神経障害、原発性全身性アミロイドーシス (A L アミロイドーシス)、反応性全身性アミロイドーシス (A A アミロイドーシス)、I I 型糖尿病、注射限局性アミロイドーシス、 α 2 - ミクログロブリンアミロイドーシス、遺伝性非神経障害性アミロイドーシス、及びフィンランド型遺伝性全身性アミロイドーシスからなる群より選択される、[1 1] 又は[1 2] の使用のための化合物又は組成物。

[1 4] プリオン病が、散発性及び遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (v C J D)、牛海綿状脳症 (B S E) の感染性因子によって引き

50

起こされるヒト障害、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、クールー、畜牛のBSE、ヒツジ及びヤギのスクレイピー、ネコの猫海綿状脳症(FSE)、ミンクの伝達性ミンク脳症(TME)、ニアラ(Nyala)及びクーズー(Greater Kudu)の外来有蹄類脳症(EUE)、並びにシカ及びエルクの慢性消耗症(CWD)より選択される、[13]の使用のための化合物又は組成物。

[15]タンパク質凝集に関連した疾患を治療するか又は予防する方法であって、[1]~[3]のいずれかの化合物の治療有効量をその必要な患者へ投与することを含んでなる、前記方法。

[16]タンパク質凝集に関連した疾患が、少なくとも1つのタンパク質又はその断片又は誘導体の凝集型の存在を特徴とし、ここで該タンパク質は、プリオンタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質(APP)、 β -シヌクレイン、スーパーオキシドジスムターゼ、タウ、免疫グロブリン、アミロイド-A、トランスサイレチン、 α 2-ミクログロブリン、シスタチンC、アポリポプロテインA1、TDP-43、隣島アミロイドポリペプチド、ANF、ゲルゾリン、インスリン、リゾチーム、フィブリノゲン、ハンチンチン、及びアタキシン、並びに、ポリQストレッチがある他のタンパク質からなる群より選択される、[15]の方法。

[17]疾患が、パーキンソン病、プリオン病、アルツハイマー病、多系統萎縮症、びまん性レビー小体病、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症と他のポリQ病、遺伝性脳アミロイド血管症、家族性アミロイド多発性神経障害、原発性全身性アミロイドーシス(ALアミロイドーシス)、反応性全身性アミロイドーシス(AAアミロイドーシス)、II型糖尿病、注射限局性アミロイドーシス、 α 2ミクログロブリンアミロイドーシス、遺伝性非神経障害性アミロイドーシス、及びフィンランド型遺伝性全身性アミロイドーシスからなる群より選択される、[15]又は[16]の方法。

[18]プリオン病が、散発性及び遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)、牛海綿状脳症(BSE)の感染性因子によって引き起こされるヒト障害、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、クールー、畜牛のBSE、ヒツジ及びヤギのスクレイピー、ネコの猫海綿状脳症(FSE)、ミンクの伝達性ミンク脳症(TME)、ニアラ及びクーズーの外来有蹄類脳症(EUE)、並びにシカ及びエルクの慢性消耗症(CWD)より選択される、[17]の方法。

[19][1]~[3]のいずれかの化合物の、タンパク質凝集に関連した疾患を治療するか又は予防するための医薬品の製造への使用。

[20]タンパク質凝集に関連した疾患が、少なくとも1つのタンパク質又はその断片又は誘導体の凝集型の存在を特徴とし、ここで該タンパク質は、プリオンタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質(APP)、 β -シヌクレイン、スーパーオキシドジスムターゼ、タウ、免疫グロブリン、アミロイド-A、トランスサイレチン、 α 2-ミクログロブリン、シスタチンC、アポリポプロテインA1、TDP-43、隣島アミロイドポリペプチド、ANF、ゲルゾリン、インスリン、リゾチーム、フィブリノゲン、ハンチンチン、及びアタキシン、並びに、ポリQストレッチがある他のタンパク質からなる群より選択される、[19]に記載の使用。

[21]疾患が、パーキンソン病、プリオン病、アルツハイマー病、多系統萎縮症、びまん性レビー小体病、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症と他のポリQ病、遺伝性脳アミロイド血管症、家族性アミロイド多発性神経障害、原発性全身性アミロイドーシス(ALアミロイドーシス)、反応性全身性アミロイドーシス(AAアミロイドーシス)、II型糖尿病、注射限局性アミロイドーシス、 α 2ミクログロブリンアミロイドーシス、遺伝性非神経障害性アミロイドーシス、及びフィンランド型遺伝性全身性アミロイドーシスからなる群より選択される、[19]又は[20]に記載の使用。

[22]プリオン病が、散発性及び遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病、変異型クロイ

10

20

30

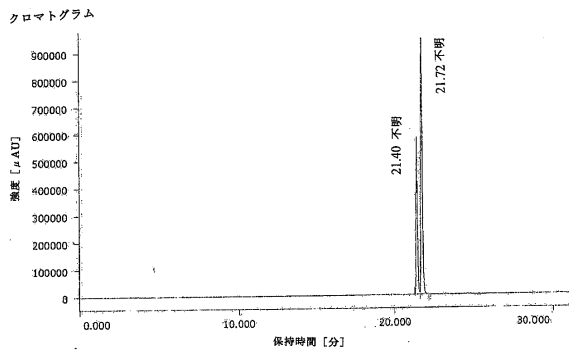
40

50

ツフェルト・ヤコブ病 (vCJD)、牛海綿状脳症 (BSE) の感染性因子によって引き起こされるヒト障害、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、クールー、畜牛の BSE、ヒツジ及びヤギのスクレイピー、ネコの猫海綿状脳症 (FSE)、ミンクの伝達性ミンク脳症 (TME)、ニアラ及びクーズーの外來有蹄類脳症 (EUE)、並びにシカ及びエルクの慢性消耗症 (CWD) より選択される、[2 1] に記載の方法。

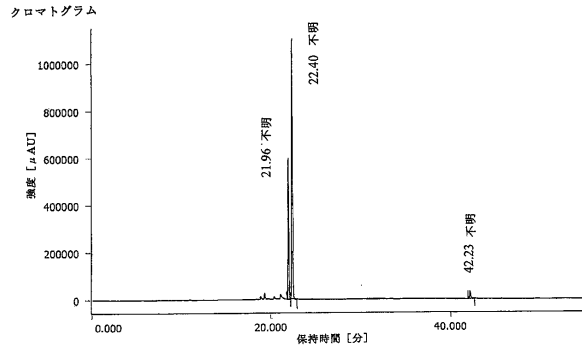
【 図 1 】

Fig. 1



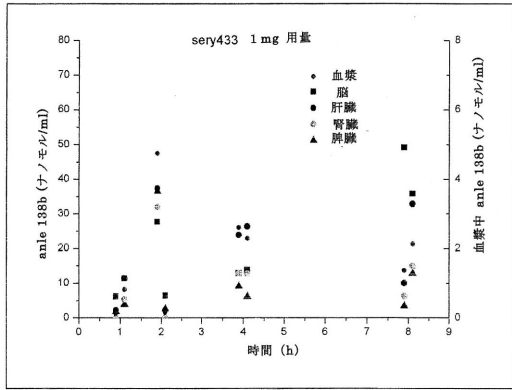
【 図 2 】

Fig. 2



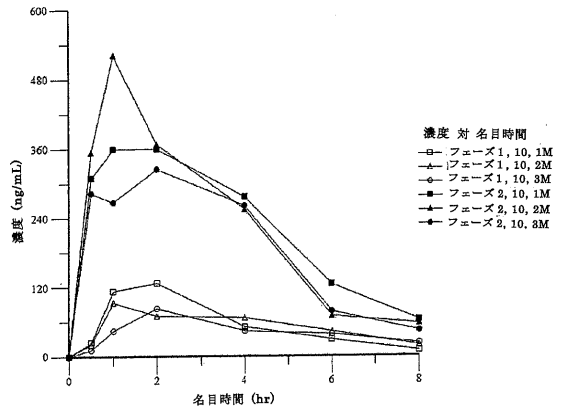
【 図 3 】

Fig. 3



【 図 4 】

Fig. 4



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 25/14 (2006.01)		A 6 1 P 25/14
A 6 1 P 3/10 (2006.01)		A 6 1 P 3/10

(74)代理人 100140109
弁理士 小野 新次郎

(74)代理人 100118902
弁理士 山本 修

(74)代理人 100106208
弁理士 宮前 徹

(74)代理人 100120112
弁理士 中西 基晴

(74)代理人 100122644
弁理士 寺地 拓己

(74)代理人 100203769
弁理士 大沢 勇久

(72)発明者 アルミン・ギーゼ
ドイツ国 8 1 3 7 7 ミュンヘン, ヘッケンローゼンシュトラッセ 1 9

(72)発明者 フェリクス・シュミット
ドイツ国 8 1 5 4 3 ミュンヘン, ヴァルデックシュトラッセ 2 3

(72)発明者 クリスティアン・グリージンガー
ドイツ国 3 7 0 8 5 ゲッティンゲン, ハイホルツヴェーク 7 4

(72)発明者 アンドレイ・レオーノフ
ドイツ国 3 7 0 8 3 ゲッティンゲン, イマヌエル-カント・シュトラッセ 3 2

(72)発明者 セルゲイ・リャザーノフ
ドイツ国 3 7 0 8 1 ゲッティンゲン, ローゼンヴィンケル 2 3

審査官 三木 寛

(56)参考文献 特表2011-522810(JP,A)
特表2015-525215(JP,A)
特表2013-530987(JP,A)
特許第5627453(JP,B2)
特表2008-543860(JP,A)
特表2007-529519(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C 0 7 F 9 / 0 9
C 0 7 D 4 0 5 / 0 4
C 0 7 D 2 3 1 / 0 2
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)