

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6498695号  
(P6498695)

(45) 発行日 平成31年4月10日 (2019. 4. 10)

(24) 登録日 平成31年3月22日 (2019. 3. 22)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 239/91 (2006. 01)

A 6 1 K 31/517 (2006. 01)

A 6 1 P 25/00 (2006. 01)

A 6 1 P 25/28 (2006. 01)

A 6 1 P 25/16 (2006. 01)

C O 7 D 239/91 C S P

A 6 1 K 31/517

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 25/16

請求項の数 20 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-562206 (P2016-562206)  
 (86) (22) 出願日 平成27年4月22日 (2015. 4. 22)  
 (65) 公表番号 特表2017-513845 (P2017-513845A)  
 (43) 公表日 平成29年6月1日 (2017. 6. 1)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IL2015/050426  
 (87) 国際公開番号 W02015/162615  
 (87) 国際公開日 平成27年10月29日 (2015. 10. 29)  
 審査請求日 平成30年4月19日 (2018. 4. 19)  
 (31) 優先権主張番号 61/982, 880  
 (32) 優先日 平成26年4月23日 (2014. 4. 23)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 399042535  
 テクニオン・リサーチ・アンド・ディベロ  
 ップメント・ファウンデーション・リミテ  
 ッド  
 イスラエル国、32000 ハイファ、テ  
 クニオン・シティー、セネート ハウス (番地なし)  
 (74) 代理人 100114775  
 弁理士 高岡 亮一  
 (74) 代理人 100121511  
 弁理士 小田 直  
 (74) 代理人 100202751  
 弁理士 岩堀 明代  
 (74) 代理人 100191086  
 弁理士 高橋 香元

最終頁に続く

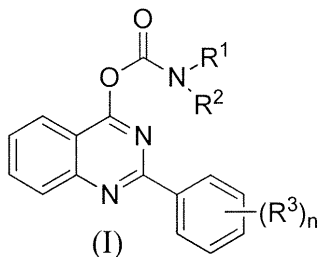
(54) 【発明の名称】 キナゾリン骨格系の化合物、医薬組成物およびその使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (1)

【化 1】



10

(式中  $R^1$  および  $R^2$  は、互いに独立して、メチルまたはエチルであり、  
 $R^3$  はハロゲンであり、および  
 $n$  は 1 または 2 である)  
 によって表される化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体。

【請求項 2】

 $R^1$  が  $R^2$  と異なっているか、または $R^3$  が Cl、Br もしくは F またはその組み合わせである、

請求項 1 に記載の化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体。

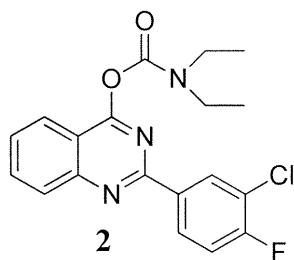
【請求項 3】

20

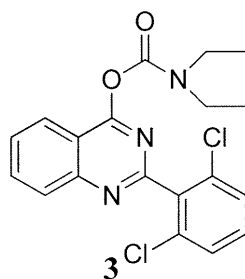
R<sup>3</sup> は C 1 である、請求項 2 に記載の化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体。

【請求項 4】

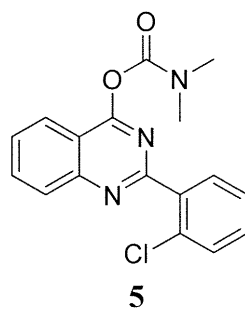
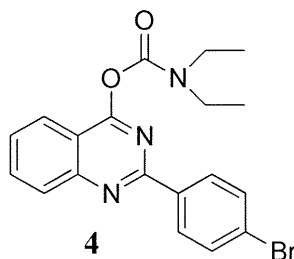
前記化合物が、  
【化 2】



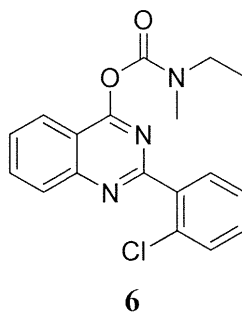
10



20

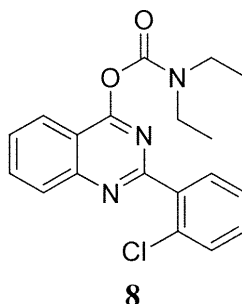


30



および

10



20

からなる群から選択される、

請求項 1 に記載の化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体。

【請求項 5】

前記化合物が式 5 の構造によって表される、請求項 4 に記載の化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体。

【請求項 6】

前記化合物が式 6 の構造によって表される、請求項 4 に記載の化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体。

【請求項 7】

薬学的に許容される担体と、有効成分として請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の化合物、又は、前記化合物の塩、溶媒和物、多形体とを含み、

30

前記組成物が経口投与、非経口投与、経皮投与、局所投与もしくは直腸投与、吸入投与、坐剤による投与、または透析による投与に適した形態である、医薬組成物。

【請求項 8】

脳障害および／またはその進行および／または症状の治療もしくは阻止用の医薬組成物であって、

前記脳障害が、外傷性脳障害（TBI）およびTBIの結果として起こる二次性脳障害からなる群より選択される急性事象から生じる脳損傷に起因する、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

40

脳障害および／またはその進行および／または症状の治療もしくは阻止用の医薬組成物であって、

前記脳障害がTBIに起因する二次性脳障害、または二次性脳障害もしくは神経変性に関与する薬剤に起因する二次性脳障害であり、前記薬剤が、グルタミン酸塩、グルタミン酸塩以外のグルタミン酸受容体リガンド、低酸素模倣剤、一酸化窒素発生剤、アポトーシス誘発剤、ステロイド剤、塩化アンモニウム、毒性化合物およびATP産生を妨害する作用薬から選択されるか、または

前記脳障害が感染症、毒物、およびレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および／または処方薬の過剰摂取から選択される急性もしくは慢性の障害に起因する、請求項 7 に記載の医薬組成物。

50

## 【請求項 10】

移動、増殖、接着および／または分化を活性化し、それによって損傷に起因する脳障害を有する対象、または損傷に起因する脳障害を発症するリスクがある対象において喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療する用の、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 11】

神経変性疾患またはその症状の治療もしくは阻止する用であるか、または  
神経変性疾患を有する対象または神経変性疾患を発症するリスクがある対象においてプログラム細胞死を阻止する用の、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 12】

移動、増殖、接着および／または分化を活性化し、それによって神経変性疾患を有する対象、または神経変性疾患を発症するリスクがある対象において喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療する用の、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 13】

前記神経変性疾患がアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ルー・ゲーリッグ病、多発性硬化症、自己免疫障害、ピック病、びまん性レビー小体病、進行性核上性麻痺（スティール・リチャードソン症候群）、多系統神経変性（シャイ・ドレーガー症候群）、運動ニューロン疾患、筋萎縮性側索硬化症、変性運動失調症、皮質基底核変性症、グアム型筋萎縮性側索硬化症 - パーキンソン病 - 認知症複合、亜急性硬化性全脳炎、シヌクレイン病、原発性進行性失語症、線条体黒質変性症、マシャド・ジョセフ病 / 脊髄小脳失調症 3 型とオリブ核橋小脳変性、ジルドラトウレット病、球麻痺と仮性球麻痺、脊髄および球脊髄性筋萎縮症（ケネディ病）、原発性側索硬化症、家族性痙攣性対麻痺、ウェルドニヒ・ホフマン病、クーゲルベルク・ウェランダー病、テイ・サックス病、サンドホフ病、家族性痙攣性病、ヴォールファルト・クーゲルベルク・ウェランダ病、痙攣性対麻痺、進行性多巣性白質脳症、プリオン病、クロイツフェルト・ヤコブ病、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、クーラー病および致死性家族性不眠症からなる群から選択される、請求項 11 または 12 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 14】

損傷した脳領域への前駆細胞の移動、損傷した脳領域での神経分化、および損傷した神経回路の再建を含む中枢神経系における回復過程を刺激するまたは高める用であるか、または

脳浮腫の治療または阻止する用の医薬組成物であって、

前記脳浮腫が外傷性脳損傷（TBI）、神経変性疾患、または感染症、毒物、およびレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および／または処方薬の過剰摂取から選択される急性もしくは慢性の障害に起因する、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 15】

細胞、組織および／または器官のグラフティングもしくは移植を促進する用の医薬組成物であって、

前記細胞、組織および／または器官がそれを必要とする対象においてグラフトまたは移植される、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 16】

細胞、組織および／または器官のグラフティングもしくは移植を促進する用の医薬組成物であって、

前記細胞、組織および／または器官がそれを必要とする対象の中枢神経系においてグラフトまたは移植されるか、または

前記細胞、組織および／または器官が脳に関連している、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 17】

発達障害を有する対象、または発達障害を有するリスクがある対象において脳の発達を

10

20

30

40

50

促進する用の医薬組成物であって、

前記発達障害がハンチントン病、21トリソミー症候群、脆弱X症候群、レット症候群、ウィリアムズ症候群、連鎖球菌感染症に関連する小児自己免疫性神経精神障害、シデナム舞蹈病、トキソプラズマ症、神経梅毒、亜急性硬化性全脳炎、統合失調症、視覚消失に起因する自閉症もしくは発達障害、聴覚消失、（感覚遮断）、代謝障害（例えば糖尿病、フェニルケトン尿症）、栄養不良（例えば二分脊椎、無脳症、胎児性アルコール症候群）、先天性損傷もしくは乳児期もしくは小児期に生じる損傷からなる群から選択される、請求項7に記載の医薬組成物。

【請求項18】

損傷領域にわたり、および標的領域内に軸索成長を誘発することによって病変部を修復する、および/または脊髄の修復を刺激する用の、請求項7に記載の医薬組成物。

【請求項19】

心血管疾患の治療または阻止する用の医薬組成物であって、

前記心血管疾患がハンチントン病に起因する、または関連しているか、または

前記心血管疾患が心不全、心停止および心筋梗塞からなる群から選択される、請求項7に記載の医薬組成物。

【請求項20】

前記化合物または組成物が脳障害および/または神経変性を発症するリスクがある対象に予防的に投与され、

前記対象が、脳損傷が持続するリスクがある、または神経変性疾患、脳浮腫もしくは心不全を伴う心血管疾患を発症するリスクがある、または前記対象が移植候補者であるか、または

前記対象がリスクの高い活動に関与している対象、脳障害および/または神経変性に関連した神経発達障害を発症するリスクがある乳児または小児、脳障害および/または神経変性に関連した遺伝性疾患を有するリスクがある対象、ならびに脳障害および/または神経変性に関連した加齢性神経疾患を発症するリスクがある対象からなる群から選択される、

請求項7～19のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ミトコンドリアトランスロケータータンパク質（TSPO）に効果的に結合し、細胞死過程に対抗するキナゾリン骨格に基づく複素環化合物に関する。本発明は、そのような化合物を含む医薬組成物と、これらの化合物を用いる方法、特に、根底にある病理過程を含む、急性事象（例えば外傷性脳損傷（TBI）もしくはその後遺症）、または慢性的な障害（例えば感染症、毒物もしくは薬物使用）に起因する神経変性疾患ならびに脳障害を治療する、および阻止する方法とをさらに提供する。

【背景技術】

【0002】

神経変性脳疾患および損傷に起因する神経変性は、健康面でも経済的にも大きな問題である。現在のモデルによると、2000年と2050年の間にアルツハイマー病患者総数は、少なくとも3倍以上の増加が予測される。神経変性の根本的原因で広く受け入れられている考え方は、グルタミン酸塩による過興奮ならびにミトコンドリアの機能障害であり、脳内の神経細胞死が引き起こされる（Caminsら、Methods Find Exp Clin Pharmacol、2008；30：43-65；Nakamuraら、Apoptosis、2010；15：1354-63）。いくつかの可能性のある治療法がデザインされており、例えば、グルタミン酸受容体の抑制によって検証されている。しかし、おそらく神経変性の原因が十分に理解されていないために、そのような方法は、効果的な治療の完成までには至っていない（Byrnesら、Neurotherapeutics、2009；6：94-107）。したがって、代替方法としては、例えば

10

20

30

40

50

、ミトコンドリアベースの細胞死過程を阻止することによる方法が探究されている (Veenmanら, Drug Dev Res. 2000; 50: 355 - 370; Veenmanら, Neurochem. 2002; 80: 917 - 27; Mattssonら, Trends Mol Med. 2003; 9: 196 - 205)。さらに、グリアは脳細胞の大部分を構成しており、健全な神経細胞を維持し、および保護するのに役立っている。実際、いまのところ、グリアが神経変性の進行において重要な要因を示すことは十分に認識されている (Rossら, Brain Res Bull. 2009; 80: 224 - 32)。したがって、グリアは、神経変性の効果的な治療を開発するために含めて考える要因の一つであるはずである。

#### 【0003】

外傷性脳損傷 (TBI) は、脳への突然の物理的損傷によって特徴付けられる。TBIは、多くの要因、例えば、戦争、テロリズム、自動車事故と他の交通事故、業務上の事故、スポーツ傷害、暴力犯罪、家庭内事故、児童虐待と家庭内暴力によって、または頭蓋骨を通過する物体、例えば銃創によって引き起こされる。TBIに起因する可能性のある身体的、行動的および/または精神的な変化は、損傷を受ける脳の領域に依存する。損傷には、限局性およびびまん性脳障害がある。限局性損傷は、脳の小領域に限定される。限局性障害は、多くの場合、頭部が物体に当たる、または弾丸などの物体が脳に入り込む点で最も多く生じる。びまん性障害は、脳全体に広がる。損傷直後の頭部外傷の治療はこの数十年の間に着実に改善したが、能力障害などの長引く影響は中等度または重度のTBIの後に、依然として起こり得る (Klugerら, J Am Coll Surg. 2004; 199: 875 - 79)。TBIの一次性損傷の数時間および数日後に二次性脳損傷の進行が続くことは現在では十分に理解されている (Gaetzら, Clin Neurophysiol. 2004; 115: 4 - 18; Sullivanら, J Neurosci Res. 2005; 79: 231 - 39)。脳障害のこの第二波に關与する主な要因としては、興奮性アミノ酸、例えばグルタミン酸塩、 $Ca^{++}$  ホメオスタシスおよび活性酸素種 (ROS) (Klugerら, 2004, Gaetzら, 2004) が挙げられる。ミトコンドリアは、二次性脳損傷によって影響を受ける細胞小器官の1つであり、特にミトコンドリア膜電位 ( $m$ ) の崩壊は、二次性脳損傷および脳変性疾患に起因する神経細胞死を引き起こす諸要因の中でも中心的役割を果たすように見える。 (Klugerら, 2004; Gaetzら, 2004)。これが示唆することは、脳損傷を被った直後、この  $m$  の調節を標的にすることはTBIのために著しい治療上の意味が含まれることである。TSPOはこれらの機序の主成分であるので、二次性脳損傷、神経変性疾患および関連する病態を治療するためにTSPOを標的にすることは、新規の潜在的に極めて効果的な方法を意味する。

#### 【0004】

重要なことに、TSPOは、ミトコンドリア外膜に位置している電位依存性アニオンチャネル (VDAC) と関連しており、このチャネルは、小分子およびイオンがミトコンドリア膜間スペースと細胞質の間を通過させる主要なチャネルとして機能する (McEneryら, Proc Natl Acad Sci USA. 1992; 89: 3170 - 4; Veenmanら, Anticancer Agents Med Chem. 2014; 14: 559 - 77)。VDACの開通は、 $m$  の崩壊に關与することがあり得る。また、TSPOは、ミトコンドリア内膜内に位置し、 $m$  の崩壊にも關与する致死的な孔を形成することもあり得るアデニンヌクレオチドトランスロケーター (ANT) にも関連している。疾患および脳外傷に起因して起こり得る、神経変性に關連したプログラム細胞死の過程、例えば  $m$  の崩壊、でのTSPOの重要な役割の発見により、神経変性疾患および脳外傷の治療のための創薬のターゲットとしてTSPOが例証された。これに関連して、TSPOが、ミトコンドリアのアポトーシスカスケード、ならびに他の種類のプログラム細胞死の誘発に携わるROSの生成に關与することが判明した。これらのROSがミトコンドリア内膜に位置するカルジオリピンからシトクロム c を離れさせることが知られている。加えて、ROSは、ミトコンドリア外膜での開孔に關与し、シトクロム

10

20

30

40

50

cをサイトゾルに放出させる。これにより、ミトコンドリアアポトーシス経路の活性化の開始段階が形成される(Veenmanら, J Bioenerg Biomembr. 2008; 40:199-205; Veenmanら, 2014)。これらのデータにより、TSPOがプログラム細胞死の割合を調節する機序に関して理解することができる。これは、疾患、例えば神経変性と脳外傷の結果、および特に脳における細胞死を引き起こす他の種類の脳障害を治療するためのドラッグデザインの意味が含まれる。

#### 【0005】

TSPOは最初、末梢組織中でベンゾジアゼピンを結合するその能力によって検出され、その後、脳内のグリア細胞中에서도検出され、したがってその以前の名称は末梢型ベンゾジアゼピン受容体(PBR)という(Papadopoulosら, Trends Pharmacol Sci. 2006; 27:402-9; VeenmanおよびGavish. Pharmacol Ther. 2006; 110:503-24; Veenmanら, Curr Pharm Design. 2007; 13:2385-2405)。このミトコンドリアタンパク質が特定のリガンドによって薬理的に調節され得ることは知られている(Veenmanら, J Neurochem. 2002; 80:917-27; VeenmanおよびGavish. Pharmacol Ther. 2006; 110:503-24; Veenmanら, 2007)。古典的なTSPOリガンドの一般的な例としては、PK11195およびRo5 4864がある(PK11195はイソキノリン誘導体であり、Ro5 4864はベンゾジアゼピンである)。TSPO機能としては、細胞死過程の調節、細胞周期の調節、遺伝子発現の調節、ステロイド産生の調節、細胞移動への関与、細胞分化への関与、血管新生への関与、興奮毒性細胞死への関与、および炎症反応と免疫応答への関与が挙げられる。TSPOの発現は、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病およびハンチントン病において生じる神経変性、ならびに脳外傷にも起因する神経変性の間に、高まる(Gavishら, Pharmacol Rev. 1999; 51:629-50; VeenmanおよびGavish. 2000; 50:355-70; VeenmanおよびGavish. 2006; VeenmanおよびGavish. Curr Mol Med. 2012; 12:398-412; Veenmanら, Pharmacogenet Genomics. 2012; 22:606-19; Veigara, Glia. 2007; 55:1426-36; Papadopoulosら, Exp Neurol. 2009; 219:53-7)。中枢神経系において、TSPOの最初の細胞部位は、アストロサイトおよびミクログリアである。しかし、TSPOは、細胞死経路上にある神経細胞内で発現することもあり得る。遺伝子操作(silRNAおよびアンチセンスRNA)でTSPOを発現抑制することで、グルタミン酸塩によって誘発される細胞死を含む、プログラム細胞死を阻止する。興味深いことに、TSPOレベルは、致死レベルのグルタミン酸塩に曝されたU118MG細胞内で上昇する。U118MG細胞は、アストロサイト由来である。少なくともこれらの理由で、TSPOは、脳を神経病理学的過程から保護するための有望な標的である(Veigaraら, 2007; Panicarら, Glia. 2007; 55:1720-7)。細胞死におけるその役割以外に、TSPOの調節下での他の解明された機能、例えば遺伝子発現の調節、炎症反応と免疫応答への関与、細胞移動への関与、細胞分化への関与、血管新生への関与および興奮毒性細胞死へのその特異的関与は、修復および回復機構への寄与を含む、疾患および脳外傷に起因する脳内の細胞死の治療の標的としてのTSPOの重要性を際立たせている(Bodeら, Pharmacogenet Genomics. 2012; 22:538-50; Veenmanら, Pharmacogenet Genomics. 2012)。古典的TSPOリガンドPK11195とRo5 4865がin vivoで中程度の神経保護効果を呈することはこれまでに明らかにされている(例えば、Veenmanら, 2002; Veigara, 2005; 80:29-37; Veenman Gavish. 2012を参照されたい)。古典的なTSPOリガンドのin vitroでの結果は、遺伝子操作によるTSPOの発現抑制によって見出されたものに近い(Veenmanら, Biochem Pharmacol. 2004; 68:

10

20

30

40

50

689-98; Kuglerら, Cell Oncol. 2008; 30: 435-50; Veenmanら, 2008; Levinら, Biochemistry. 2005; 44: 9924-35; Zenoら, Biochemistry. 2009; 48: 4652-61)。

【0006】

米国特許第8,541,428号はフトラジン、キナゾリンとキノキサリンの誘導体、これらの化合物を含有する医薬組成物、および外傷性脳損傷(TBI)に起因する脳障害の治療と阻止、ならびに神経変性疾患の治療と阻止でのその治療用途を開示する。前記特許出願公開で開示されている化合物は、様々な親和性でPBR(TSPO)に結合することが示され、および細胞培養においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死を減少させることが示された。さらに、これらの化合物によって付与される細胞保護は、ニューロン型細胞(SH-SY5Y)ならびにグリア細胞型(U118MG)によって生じた。

10

【0007】

米国特許第6,765,006号は、AMPA受容体のアンタゴニストまたは正のモジュレーターであるキナゾリンおよび他の複素環、ならびに神経細胞消失の処置、阻止もしくは回復、または神経変性疾患の治療、阻止もしくは回復のためのその使用を開示する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

TSPOはTBIおよび二次性脳障害および/または神経変性疾患に起因して生じるため、TSPOに効果的に結合する改善された薬剤を、種々の種類のプログラム細胞死(アポトーシス、ネクローシス、オートファジー性細胞死)を含む脳細胞死を阻止する効果と組み合わせる必要性が当分野では存在する。さらに、TBI、二次性脳障害および神経変性疾患の治療を成功させるために、修復機序を活性化しおよび/または促進することがさらに望ましい。

20

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、式(I)によって描写される化合物、ならびに本明細書に記載の個々の化合物に関し、該化合物は、アミド基で置換され、任意選択でハロゲン基によって置換された回転可能なフェニル基が結合したキナゾリン骨格に基づいている。本発明はさらに、該化合物を含有する医薬組成物と、急性もしくは慢性の事象およびその後遺症に起因する脳損傷の治療および阻止、ならびにニューロンおよび/またはグリア細胞の変性を含む脳疾患に関連する脳障害の治療での該医薬組成物の治療用途とに関する。また、本発明の化合物は、プログラム細胞死の機序を抑制し(すなわち、細胞死を阻止する)、および死滅した脳細胞の補充に関連する細胞活性を刺激することができる。本発明の化合物は、18kDaのミトコンドリアトランスポータータンパク質(TSPO)に効果的に結合し、その細胞死の機能を阻害する。このように、これらの化合物には、細胞死を阻止する特異的性質があり、それによって、ニューロンそれ自体と、ニューロンを健全に維持するグリア細胞との両方のための神経保護特性がある。外傷性脳障害後に二次性脳障害を引き起こす重要な作用薬であり、神経変性における有害な作用薬の1つとしても知られているグルタミン酸塩によって誘発される細胞死過程を減弱させることによって、本発明の化合物は脳内の細胞死を阻止する。これらの化合物は、二次性脳障害および神経変性ならびに他の病態の一部である他の作用薬(これらに限定されないが、例えばグルタミン酸塩、グルタミン酸塩以外のグルタミン酸受容体リガンド、低酸素模倣剤、アミロイド、一酸化窒素発生剤、アポトーシス誘発剤、ステロイド剤、塩化アンモニウム、毒性化合物およびATP産生を妨害する作用薬)からも保護する。また、これらの化合物は、細胞分化を活性化し、病変および損傷した中枢神経系において回復過程を刺激するように活性化細胞を役立たせる。

30

40

したがって、本発明の化合物は、プログラム細胞死経路に関連した神経変性疾患および脳損傷を含む、疾患と病態の治療および阻止に役立つ。本発明の化合物はさらに、例えば、

50



ハンチントン病に関連している心血管機能不全の治療または阻止に役立つ。

【 0 0 1 0 】

一般に、本発明の化合物は、 1 ) 予防的作用、 2 ) 進行する障害 (例えば脳障害) および疾患 (例えば神経変性) への抵抗、 3 ) 自己修復の刺激、および 4 ) 病変部および損傷組織のグラフト / 移植による置換の補助などの作用様式のうちの 1 つまたは複数で用いられてもよい。本明細書に提示する化合物の広範な用途は、疾患およびそれに関連する進行する障害に共通の過程 (例えば細胞死) を調節する能力、ならびに特定の細胞型を成熟細胞の所望の形態に分化するそれらの化合物の能力による。

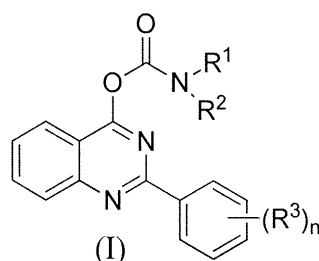
【 0 0 1 1 】

一実施形態において、本発明は、式 ( I ) :

10

【 0 0 1 2 】

【化 1 】



の構造によって表され、塩類、溶媒和化合物、多形体およびその混合物を含む化合物を提供する。

20

(式中、 $R^1$  および  $R^2$  は、互いに独立して直鎖状または分枝状の  $C_1 - C_{12}$  アルキルであり、

$R^3$  はハロゲンであり、および

$n$  は 0、1、2、3、4 および 5 であり、

ただし、 $n$  が 0 であるとき、 $R^1$  は  $R^2$  と異なる。)

【 0 0 1 3 】

一実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、それぞれ  $C_1 - C_4$  アルキルであり、好ましくは  $R^1$  および  $R^2$  は、互いに異なる。一部の実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  はメチルであり、および他はエチルである。

30

【 0 0 1 4 】

別の実施形態において、化合物は、式 ( I ) の構造によって表され、 $R^1$  および  $R^2$  は同じであり (それによって対称アミドを形成する)、および  $n$  が 0 以外である (すなわち、化合物はフェニル環上に 1 または複数のハロゲン置換基を有する)。現在好ましい別の実施形態において、化合物は、式 ( I ) の構造によって表され、 $R^1$  および  $R^2$  は互いに異なっている (それによって不斉アミドを形成する)。本発明の原則によれば、 $n$  が 0 (すなわち、 $R^3$  が存在しない) であるとき、 $R^1$  および  $R^2$  は互いに異なっている。しかし、 $n$  が 0 以外であるハロゲン化誘導体の場合、 $R^1$  と  $R^2$  は同じ (対称アミド) か、または互いに異なっている (不斉アミド)。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【 0 0 1 5 】

40

特に好適な一実施形態において、化合物は式 ( I ) の構造によって表され、 $n$  は 0 以外であり、および  $R^1$  と  $R^2$  は互いに異なっており、それによって不斉アミドを形成し、ハロゲン化フェニル置換基を有する。

【 0 0 1 6 】

一部の実施形態において、本発明は、治療的活性化合物の所望の特徴を系統的に改善する方法を教示し、これに限定されないが、例えば、細胞培養中のグルタミン酸塩によって誘発される細胞死から、本発明の化合物の構造中の特定の標的修飾 (すなわち、アルキル側鎖の修飾とハロゲン化、例えば回転可能なフェニル環の  $C_1$ ) による保護が含まれる。

【 0 0 1 7 】

本発明の代表的な化合物は、化合物 1、2、3、5、6、7 および 8 から選択され、化

50

合物 1、化合物 5 および化合物 6 が現在好ましい。化合物 1 ~ 8 の構造は、以下の発明を実施するための形態に示す。

【0018】

一実施形態において、本発明は、薬学的に許容される担体と、有効成分として式 (I) によって表される化合物または式 1、2、3、4、5、6、7 もしくは 8 のいずれかの化合物とを含む医薬組成物を提供する。

【0019】

いくつかの実施形態において、記載の医薬組成物は、経口投与、非経口投与、経皮投与、局所投与もしくは直腸投与、吸入投与、坐剤による投与、または透析による投与に適した形態である。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

10

【0020】

本発明の化合物は、予想外に、米国特許第 8,541,428 号に開示される化合物、ならびに古典的 T S P O リガンドよりも効力がある。該化合物は、効果的な T S P O 結合と、例えば、本明細書に示すように細胞培養中の細胞死からの良好な保護を組み合わせているからである。動物試験において、例えば、本明細書に示すように、本発明の化合物 1 は、ハンチントンの神経変性運動疾患の動物モデルのトランスジェニック R 6 - 2 マウスの寿命を高め、自発運動を向上させるが、一方、米国特許第 8,541,428 号に記載の最も効力のある化合物である化合物 A ならびに古典的 T S P O リガンド、P K 1 1 1 9 5 はこの動物モデルにおいてそのような効果はなかった。ハンチントン病のヒト神経変性疾患の R 6 - 2 トランスジェニックマウスモデルにおいて、化合物 5 および 6 が強力に寿命を高め、および振戦を減少させる効果を示したように、化合物のハロゲン化は極めて効果的であるように見える。

20

【0021】

一実施形態において、式 (I) の化合物のアミド部分の鎖長を増やすことで、T S P O への結合親和性が大幅に高まることが発見されたのは予想外であった。例えば、本発明の化合物 7 ( $R^1$ 、 $R^2$  = エチル) は、化合物 A ( $R^1$ 、 $R^2$  = メチル、 $K_i$  600 nm) と比べると、大幅に高い親和性 ( $K_i$  2.5 nm) で T S P O に結合する。この発見は完全に予想外であり、本発明の一実施形態を表す。

【0022】

別の実施形態において、不斉アミドを含む化合物が対称アミドを有するその対応物よりも効力が高いことが発見されたのは予想外であった。どのような特定の機序または理論にも束縛されることを望むものではないが、T S P O への親和性と細胞死を阻止する能力を組み合わせることと、動物とヒトのいずれにおいても神経変性過程に抵抗することとの両方において、不斉性が重要であると考えられる。米国特許第 8,541,428 号に記載の化合物のいずれも、不斉アミド部分がない。T S P O への化合物の親和性と、細胞死を阻止し、神経変性過程を回復させるその能力との両方に寄与する不斉アミドの複合効果の発見は、予想することができなかった。特に、本明細書に示すように、米国特許第 8,541,428 号の化合物間の比較と、古典的 T S P O リガンド、例えば P K 1 1 1 9 5 と R o 5 4 8 6 4 との比較に基づいて、向上した T S P O の親和性が時には保護能力の喪失に関連することが発見された。本明細書に考察するように、今や本出願者らは、式 (I) の新規の化合物が、細胞培養において細胞保護特性と組み合わせた T S P O への効果的な親和性と、動物モデルにおいてハンチントンの神経変性疾患についての保護効果との両方を有することを予想外に発見した。これらの発見は完全に予想外であり、本発明の一実施形態を構成する。

30

40

【0023】

さらに、予想外に発見したことは、フェニル環上にハロゲン置換基を有するいくつかのキナゾリン誘導体が細胞死から効率的に保護するということである。

さらに、フェニル環上のハロゲン置換基の一部の立体配置が T S P O への結合を調節し、T S P O と結合する強力な化合物をもたらす、細胞死から保護することを発見した。このように、一部の実施形態において、フェニル環上のハロゲン置換基 (複数可) は、単独で

50

または、アミド側鎖上のアルキル置換基の性質との組み合わせにより、式(Ⅰ)によって表される新規の化合物の結合特性と細胞保護機能との組み合わせに大幅に影響を及ぼす。米国特許第8,541,428号は、いずれのハロゲン化誘導体も、または不斉アミドも全く例証していない。したがって、フェニル環上に少なくとも1つのハロゲン部分を含み、および/または不斉アミドが存在する式(Ⅰ)のキナゾリン誘導体は、本発明のさらなる実施形態を構成する。アミド基の不斉アルキル部分の効果の発見に基づいて、現在では、これらの部分との相互作用において回転可能なフェニル環上に位置するハロゲンがTSPOへの結合ならびにTSPO機能制御、例えば細胞死の調節、に影響を及ぼし得ることが予想される。

#### 【0024】

10

本明細書に考察するように、回転可能なフェニル環上にハロゲン(複数可)を取り込むことによって必ずしもTSPOへの結合が大幅に影響を受けることはないが、しかしハロゲンが存在することで、細胞培養において、同じ構造だがハロゲン化が欠けている高濃度の化合物(100 μM)によって誘発される望ましくない致死効果を阻止する、または減少させることも発見した。さらに、グルタミン酸塩に誘発される細胞死からのハロゲン化化合物の保護効果は、対応する非ハロゲン化類似体の効果よりも良いか、または同等である。したがって、ハロゲン化化合物は、非ハロゲン化誘導体と比較すると、保護性は高いが毒性は低く、かつ副作用プロファイルの減少と関連することもあり得る点で、特別な利点を示す。

#### 【0025】

20

本発明の化合物、例えば化合物1の別の利点は、該化合物が数ヶ月の貯蔵の間、安定しており、特性においてバッチ間変動がほとんどないことである。

TBIおよび神経変性過程を阻止するTSPOの細胞死制御の機能を標的にする能力に加えて、さらに、マイクロアレイ研究によって、TSPOノックダウンがヒトアストロサイト型細胞においてグルタミン酸塩受容体、トランスポーターおよび酵素の遺伝子発現に大きな変化をもたらすことが見出された(Veenmanら, 2012b)。このように、本発明の化合物を用いる短期間治療は、ミトコンドリア膜電位(m)の崩壊をブロックすることによって細胞死を阻止することができ、一方、例えば、TSPO発現の安定なノックダウンによって、またはTSPOリガンドによる長期間の阻止によって達成される長期間治療は、遺伝子発現を調節して、神経変性過程に抵抗することができる。さらに、TSPOは、遺伝子発現へのTSPOの影響によって細胞周期、細胞の発生、移動、分化および接着を調節できるので(Bodeら, 2012; Veenmanら, 2012)、TSPOを標的にするにより、心室壁を裏打ちする幹細胞の分化を刺激して、それらの細胞を病変部の脳領域へ移動させ、そこで損傷したニューロンを置換することができる。このように、本発明は、ミトコンドリアの細胞過程の調節と、脳外傷の結果の脳障害に関する遺伝子発現および神経変性疾患に関する遺伝子発現とに影響を及ぼす、本明細書に記載の化合物の能力を含む(Bodeら, 2012; Veenmanら, 2012)。実際に、本明細書に記載の新規の化合物は、グルタミン酸塩との組み合わせで、培養においてPC12細胞を刺激して、ニューロン様細胞に分化させることができる。本明細書に記載の新規化合物によるTSPOの調節によって影響を受ける保護過程と修復過程を組み合わせることにより、本発明の新しい独自の特徴を示す。

30

40

#### 【0026】

上記の化合物または医薬組成物は、処置の種々のモデルに役立つ。一部の実施形態において、該化合物または医薬組成物は、リスクが高い群における対象、例えば、リスクの高い活動に関与している対象、脳障害および/または神経変性に関連した神経発達障害を発症するリスクがある乳児または小児、脳障害および/または神経変性に関連した遺伝性疾患を有するリスクがある対象、ならびに/または脳障害および/または神経変性に関連した加齢性神経疾患を発症するリスクがある対象に予防処置として与えられる。別の実施形態において、該化合物または医薬組成物は、損傷または疾患が進行する間、対抗処置として与えられる。いくつかの実施形態において、該化合物または医薬組成物は、脳において

50

自己回復過程を刺激するために、対抗処置として、または対抗処置に加えて与えられる。一部の別の実施形態において、該化合物または医薬組成物は、それを必要とする対象に細胞移植および組織修復を補助する処置として与えられる。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0027】

このように、一部の実施形態において、本発明は、上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することによって、脳障害および/またはその進行および/または症状を治療する、または阻止する方法を提供する。一実施形態において、脳障害は、外傷性脳損傷(TBI)などの急性事象から生じる脳損傷に起因する。別の実施形態において、脳障害は、TBIから生じる二次性脳障害に起因する。さらに別の実施形態において、脳障害は、二次性脳障害または神経変性に関与する薬剤、例えば、グルタミン酸塩、グルタミン酸塩以外のグルタミン酸受容体リガンド、低酸素模倣剤、一酸化窒素発生剤、アポトーシス誘発剤、ステロイド剤、塩化アンモニウム、毒性化合物およびATP産生を妨害する作用薬に起因する二次性脳障害である。別の実施形態において、脳障害は、感染症、毒物への曝露、およびレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および/または処方薬の過剰摂取から生じる急性もしくは慢性の障害に起因する。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0028】

別の態様において、本発明はさらに、損傷に起因する脳障害を有する対象、もしくは損傷に起因する脳障害を発症するリスクがある対象において、上述の化合物または医薬組成物の有効量を前記対象に投与することによって、移動、増殖、接着および/または分化を活性化し、それによって喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療する方法を提供する。

【0029】

本発明はさらに、上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む、神経変性疾患もしくはその症状を治療するまたは阻止する方法を提供する。

【0030】

特定の一態様において、本発明は、神経変性疾患を有する対象または神経変性疾患を発症するリスクがある対象においてプログラム細胞死を阻止することによって神経変性を阻止する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を前記対象に投与することを含む。

【0031】

別の実施形態において、本発明は、神経変性疾患を有する対象、もしくは神経変性疾患を発症するリスクがある対象において、移動、増殖、接着および/または分化を活性化し、それによって喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を前記対象に投与することを含む。

【0032】

いくつかの実施形態において、神経変性疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ルー・ゲーリック病、多発性硬化症、自己免疫障害、ピック病、びまん性レビー小体病、進行性核上性麻痺(スティール・リチャードソン症候群)、多系統神経変性(シャイ・ドレーガー症候群)、運動ニューロン疾患、筋萎縮性側索硬化症、変性運動失調症、皮質基底核変性症、グアム型筋萎縮性側索硬化症 - パーキンソン病 - 認知症複合、亜急性硬化性全脳炎、シヌクレイン病、原発性進行性失語症、線条体黒質変性症、マシャド・ジョセフ病/脊髄小脳失調症3型とオリブ核橋小脳変性、ジルドラトウレット病、球麻痺と仮性球麻痺、脊髄および球脊髄性筋萎縮症(ケネディ病)、原発性側索硬化症、家族性痙性対麻痺、ウェルドニッヒ・ホフマン病、クーゲルベルク・ウェランダー病、テイ・サックス病、サンドホフ病、家族性痙性病、ヴォールファルト・クーゲルベルク・ウェランダ病、痙性対麻痺、進行性多巣性白質脳症、プリオン病、クロイツフェルト

10

20

30

40

50

・ヤコブ病、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、クーラー病および致死性家族性不眠症からなる群から選択される。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0033】

別の態様において、本発明はさらに、損傷した脳領域への前駆細胞の移動、損傷した脳領域での神経分化、および損傷した神経回路の再建を含む中枢神経系における回復過程を刺激するまたは高める方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0034】

別の態様において、本発明は脳浮腫を阻止する、減少させる、または治療する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、治療される脳浮腫は、外傷性脳損傷（TBI）、神経変性疾患、または感染症、毒物、およびレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および/または処方薬の過剰摂取から選択される急性もしくは慢性の障害に起因する。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0035】

さらなる態様において、本発明は細胞、組織および/または器官のグラフトイングもしくは移植を促進する方法を提供し、該方法は、上述の化合物または医薬組成物の有効量をそのような細胞、組織および/または器官に接触させることを含む。一実施形態において、細胞、組織および/または器官は、それを必要とする対象にグラフトまたは移植される。現在の好ましい一実施形態において、細胞、組織および/または器官は、それを必要とする対象の中枢神経系にグラフトまたは移植される。特定の一実施形態において、細胞、組織および/または器官は、脳に関連する。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0036】

さらなる一実施形態において、本発明はさらに、発達障害を有する対象、または発達障害を有するリスクがある対象において脳の発達を促進する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0037】

いくつかの実施形態において、発達障害は、ハンチントン病、21トリソミー症候群、脆弱X症候群、レット症候群、ウィリアムズ症候群、連鎖球菌感染症に関連する小児自己免疫性神経精神障害、シデナム舞蹈病、トキソプラズマ症、神経梅毒、亜急性硬化性全脳炎、統合失調症、視覚消失に起因する自閉症もしくは発達障害、聴覚消失、（感覚遮断）、代謝障害（例えば糖尿病、フェニルケトン尿症）、栄養不良（例えば二分脊椎、無脳症、胎児性アルコール症候群）、先天性損傷もしくは乳児期もしくは小児期に生じる損傷からなる群から選択される。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0038】

別の実施形態において、本発明は、損傷領域にわたり、および標的領域内に軸索成長を誘発することによって病変部を修復する、および/または脊髄の修復を刺激する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0039】

別の態様において、本発明は心血管疾患を阻止または治療する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。好ましい一実施形態において、心臓血管疾患はハンチントン病に起因するまたは同疾患に関連している。別の実施形態において、心血管疾患は心不全、うっ血性心不全、心停止および心筋梗塞からなる群から選択される。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0040】

いくつかの実施形態において、本化合物または組成物は、脳障害および/または神経変性を発症するリスクがある対象に予防的に投与される。一部の実施形態において、前記対象は、脳損傷が持続するリスクがある、または神経変性疾患、脳浮腫もしくは心血管疾患を発症するリスクがある、または前記対象は移植候補者である。別の実施形態によれば、

10

20

30

40

50

本化合物または組成物は、リスクの高い活動に関与している対象、脳障害および／または神経変性に関連した神経発達障害を発症するリスクがある乳児または小児、脳障害および／または神経変性に関連した遺伝性疾患を有するリスクがある対象、脳障害および／または神経変性に関連した加齢性神経疾患を発症するリスクがある対象からなる群から選択される対象に予防的に投与される。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

【0041】

本発明はさらに、脳障害および／またはその進行および／または症状の治療もしくは阻止のために上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

【0042】

本発明はさらに、損傷に起因する脳障害を有する対象、または損傷に起因する脳障害を発症するリスクがある対象において、移動、増殖、接着および／または分化を活性化し、それによって喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

10

【0043】

別の態様において、本発明は、神経変性疾患もしくはその症状を治療する、または阻止するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

【0044】

特定の態様において、本発明は、神経変性疾患を有する対象または神経変性疾患を発症するリスクがある対象においてプログラム細胞死を阻止するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

20

【0045】

さらなる態様において、本発明は、神経変性疾患を有する対象、または神経変性疾患を発症するリスクがある対象において、移動、増殖、接着および／または分化を活性化し、それによって喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

【0046】

別の態様において、本発明は、損傷した脳領域への前駆細胞の移動、損傷した脳領域での神経分化、および損傷した神経回路の再建を含む中枢神経系における回復過程を刺激するまたは促進するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

30

【0047】

さらに別の態様において、本発明は、脳水腫を治療するまたは阻止するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

【0048】

さらなる態様において、本発明は、細胞、組織および／または器官のグラフトイングまたは移植を促進するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

【0049】

別の態様において、本発明は、発達障害を有する対象、または発達障害を有するリスクがある対象において脳の発達を促進するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

40

【0050】

さらなる態様において、本発明は、損傷領域にわたり、および標的領域内に軸索成長を誘発することによって病変部を修復するおよび／または脊髄の修復を刺激するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

【0051】

さらに別の態様において、本発明は、心不全を伴う心血管疾患を治療する、または阻止するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。好ま

50

しい実施形態において、記載の心血管疾患は、ハンチントン病に起因する、または同疾患に関連している。

【0052】

さらなる実施形態および本発明の適用性の完全な範囲は、以下に示す発明を実施するための形態から明らかになる。しかし、本発明の趣旨および範囲内で種々の変更および修正が当業者にとって、この発明を実施するための形態から明らかになるので、本発明の好ましい実施形態を示しているが、発明を実施するための形態および特定の実施例は例証としてのみ示されていることが理解されよう。

【0053】

図1は、化合物1（アルキル基としてメチルとエチルによって特徴付けられる）は、神経起源のU118MG細胞の培養においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死（脳損傷および神経変性の場合、グルタミン酸塩が細胞損傷効果を有する神経毒として作用し得る）を有意に減少させる。この保護はTSP0の制御下の細胞死過程を含む、すなわちミトコンドリア電位（m）の崩壊およびカルジオリピン酸が阻止される。

【0054】

図8は、U118MG細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を本発明の化合物1、5、6、7、8で示す。

【図面の簡単な説明】

【0055】

【図1A】グルタミン酸塩によって誘発される細胞死は、化合物1によって用量依存的に減少することを示す。重要なことには、化合物1は、それ自体は致死効果が極めて少ない。###  $p < 0.001$  対溶媒対照群（対照）、\*  $p < 0.05$  対グルタミン酸塩曝露群（グルタミン酸塩）、\*\*\*  $p < 0.001$  対グルタミン酸塩曝露細胞群（グルタミン酸塩）。

【図1B】グルタミン酸塩によって誘発されたm崩壊は化合物1によって阻止されることを示す。##  $p < 0.01$  対溶媒対照群（対照）、\*\*  $p < 0.01$  対グルタミン酸塩曝露群（グルタミン酸塩）。

【図1C】グルタミン酸塩によって誘発されたミトコンドリアレベルでのROS生成は、化合物1によって減弱されることを示す。###  $p < 0.001$  対溶媒対照群（対照）、\*\*\*  $p < 0.001$  対グルタミン酸塩曝露細胞群（グルタミン酸塩）。

【図2】in vitroで化合物2（ClとFによってハロゲン化された回転可能なフェニル環によって特徴付けられる）の保護特性を示す。n = 4、結果は平均 ± SEMとして表す。一元配置分散分析は、 $p < 0.0001$  を示し、ボンフェローニ多重比較検定は、グルタミン酸塩対グルタミン酸塩 + 化合物2（5 ~ 50 μM）に対して  $p < 0.001$  を示した。白いカラムは、化合物なし（0）でまたは化合物2（1、5、10、25、50 μM）と共にグルタミン酸塩への曝露を示す。黒いカラムは、化合物2のみでの処理を示す。

【図3】in vitroで化合物3（2つの位置でClによってハロゲン化された回転可能なフェニル環による特徴付けられる）の保護特性を示す。n = 4、結果は平均 ± SEMとして表す。\*\*\*：一元配置分散分析は、 $p < 0.0001$  を示し、ボンフェローニ多重比較検定は、グルタミン酸塩対グルタミン酸塩 + 化合物3（5 ~ 50 μM）に対して  $p < 0.001$  を示した。白いカラムは、化合物なし（0）でまたは化合物3（1、5、10、25、50 μM）と共にグルタミン酸塩への曝露を示す。黒いカラムは、化合物3のみでの処理を示す。

【図4】化合物4（Brによってハロゲン化された回転可能なフェニル環による特徴付けられる）は、in vitroでグルタミン酸塩の致死効果に対して、SH-SY5Y細胞系から神経細胞を保護することを示す。n = 6、\*\* =  $p < 0.01$  ポストホックとしてマン・ホイットニー検定を行う一元配置分散分析。対照群：グルタミン酸塩曝露なし、および化合物4の処理なし。化合物4群：化合物4の処理のみ。グルタミン酸塩群：グルタミン酸塩曝露のみ。化合物4 + グルタミン酸塩群：グルタミン酸塩処理と共にグル

10

20

30

40

50

## タミン酸塩の曝露

【図5】A - B。動物モデルにおける化合物1の効果を示す。A) 溶媒処置 (DMSO) および偽処置 (生理食塩水) を受けたハンチントン病のトランスジェニック R6 - 2 マウスに比べて、化合物1は、R6 - 2 マウスの平均寿命を上げている。R6 - 2 マウスは、ハンチントンの神経変性疾患のトランスジェニックマウスモデルである。DMSO 処置 R6 2 - 2 マウスと生理食塩水処置 R6 - 2 マウスの間に相違は見られなかった。B) DMSO 処置と生理食塩水処置の R6 - 2 マウスに比べて、従来技術の比較化合物 A はこのハンチントン病モデルにおいて効果がない。また、古典的 TSPORIGAND PK 11195 は、このハンチントン病モデルにおいてまったく効果がない (データ図示せず)。

【図6】溶媒処置 (この図では DMSO を示す) R6 - 2 マウスおよび偽処置 (生理食塩水処置は図示せず) R6 - 2 マウスに比べて、化合物1が R6 - 2 マウスの自発運動を向上させことを示す。従来技術の比較化合物 A はこのハンチントン病モデルにおいてまったく効果がない (データ図示せず)。また、古典的 TSPORIGAND PK 11195 は、このハンチントン病モデルにおいてまったく効果がない (データ図示せず)。\* \*  $p < 0.001$  化合物1処置 R6 - 2 マウス対溶媒処置 R6 - 2 マウス (DMSO)。

【図7】化合物 A と比較して、本発明の化合物1、5、6、7、8の機能特性を示す。アルキル修飾 ( $K_i$  約  $60 \text{ nM}$ ) によってもたらされた「中等度」の親和性は、最適な保護をもたらす (化合物1および化合物6)。ハロゲン化を回転可能なフェニルに付加することによって保護が向上し、および「高」濃度 ( $100 \mu\text{M}$ ) で致死効果を減少させる (化合物5、6、8)。アルキル側鎖をさらに伸長すると、TSPORIGAND に対して比較的強い親和性をもたらす (化合物7、8)。アルキル修飾とハロゲン化を組み合わせることで誘導化合物を生成すると、本スキームにおいて他のすべての化合物と比べて、グルタミン酸塩に対する保護効果がさらに向上する、例えば化合物6。詳細については、図8および9を参照されたい。

【図8A】参照化合物 A (米国特許第 8,541,428 号) による、U118MG 細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を示す。

【図8B】化合物5による、U118MG 細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を示す。

【図8C】 (= 図1A) 化合物1による、U118MG 細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を示す。

【図8D】化合物6による、U118MG 細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を示す。

【図8E】化合物7による、U118MG 細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を示す。

【図8F】化合物8による、U118MG 細胞においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死からの保護を示す。#  $p < 0.05$  対溶媒対照群 (対照)、###  $p < 0.001$  対溶媒対照群 (対照)、\*  $p < 0.05$  対グルタミン酸塩曝露群 (グルタミン酸塩)、\*\*\*  $p < 0.001$  対グルタミン酸塩曝露細胞群 (グルタミン酸塩)。

【図9】A - B。培養において有害な、望ましくない細胞死効果の減少を示す。図7および8に示す化合物を  $100 \mu\text{M}$  (すなわち高濃度) 適用することにより認められる効果の比較概要。本発明の化合物の望ましくない致死効果は、ハロゲン化によって最小源に抑えられる。この概要は、C1によるハロゲン化が  $100 \mu\text{M}$  の濃度で致死効果を減少させる、すなわち保護特性だけが残る。A) 化合物A、化合物1および化合物7のハロゲン化により、それぞれ化合物5、化合物6および化合物8を得、培養においてこの高濃度の細胞死作用を減少させる。B) ハロゲン化化合物5、化合物6および化合物8は、対応する非ハロゲン化化合物A、化合物1および化合物7よりも、培養においてグルタミン酸塩の細胞死作用をさらにもっと減少させる。抑制されていない場合、グルタミン酸塩それ自体は、一般的に細胞の  $50 \sim 60\%$  を死滅させるが、化合物6を  $100 \mu\text{M}$  の最適以下用量で用いても、細胞のわずか  $5\%$  がグルタミン酸塩によって死滅される。この提示から、化合物5が最少の有害な副作用を示すと結論付けることもできる。



【図 10】細胞培養において、グルタミン酸塩と共に与えられた化合物 1 は、軸索に似ている神経突起の伸長によって特徴付けられる、ニューロン型細胞への PC12 細胞の分化を誘発することができる。本発明の他の化合物には、同じ効果がある（一方、報告によれば、古典的 TSPOR igan ドはこの種の分化に関して効果的でない）。三角形は、化合物 1 の適用によって誘発された軸索に似ている神経突起を示す。矢印は、潜在的接触部位を示す。

【図 11】X 線で決定した化合物 1 の球棒構造を示す。

【図 12】化合物 6（化合物 1 のハロゲン化誘導体）は、溶媒処置（DMSO）R-2 マウスと比べて、R6-2 マウスの寿命を上げていることを示す。垂直線は、各処置群における寿命の中央値を表す。

【図 13】化合物 5（化合物 A のハロゲン化誘導体）は、溶媒処置（DMSO）R-2 マウスと比べて、R6-2 マウスの寿命を上げていることを示す。垂直線は、各処置群における寿命の中央値を表す。

【発明を実施するための形態】

【0056】

本発明は、新規の複素環式化合物、例えば、好ましくは式（I）のアミド基に結合した一組の不斉アルキル鎖を有するキナゾリン骨格、および/または式（I）の回転可能なフェニル環に結合した種々のハロゲン、ならびに本明細書に記載の式 1、2、3、4、5、6、7 および 8 の構造によって表される個々の化合物に関する。本発明の化合物、特に化合物 1 は、TSPOR に効果的に結合してその細胞死機能を調節し、ならびに遺伝子発現、細胞周期、移動、増殖、分化および関連する組織の発育と修復も調節することができる。本発明は、該化合物を含有する医薬組成物と、急性事象（例えば、外傷性脳損傷（TBI）およびその後遺症）、慢性事象（例えば、感染症、毒物および/または薬物の使用）に起因する脳障害、および神経変性疾患と関連する障害の治療および阻止での治療用途を含む。

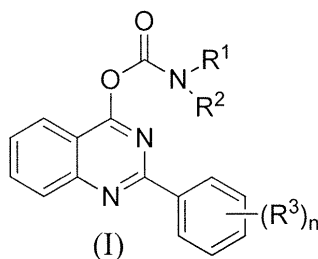
【0057】

化合物

一実施形態において、本発明は、式（I）の構造によって表され、塩、溶媒和化合物、多形体およびその混合物を含む化合物を提供する。

【0058】

【化 2】



（式中  $R^1$  および  $R^2$  は、互いに独立して直鎖状または分枝状の  $C_1 - C_{12}$  アルキルであり、

$R^3$  はハロゲンであり、および

$n$  は 0、1、2、3、4 または 5 であり；

ただし、 $n$  が 0 のとき、 $R^1$  は  $R^2$  と異なる。）

【0059】

一実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  は、各々  $C_1 - C_4$  アルキルである。現在の一部の好ましい実施形態において、該化合物は、式（I）の構造によって表され、 $R^1$  および  $R^2$  が互いに独立して、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチルおよび *tert*-ブチルからなる群から選択される。

【0060】

現在の別の好ましい実施形態において、該化合物は、式（I）の構造によって表され、

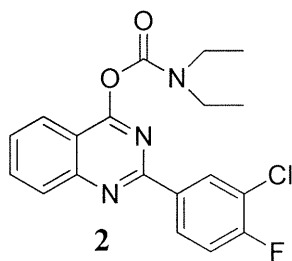
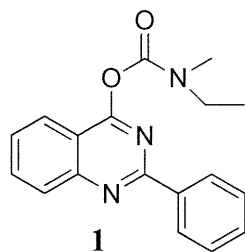
$R^1$  および  $R^2$  が同じであり（それによって対称アミドを形成する）、および  $n$  が 0 以外である。現在の別の好ましい実施形態において、該化合物は、式（I）の構造によって表され、 $R^1$  および  $R^2$  が互いに異なっている（それによって不斉アミドを形成する）。本発明の原則によれば、 $n$  が 0（すなわち、 $R^3$  が存在しない）のとき、 $R^1$  および  $R^2$  は互いに異なっている。しかし、 $n$  が 0 以外であるハロゲン化誘導体の場合、 $R^1$  と  $R^2$  は同じ（対称アミド）か、または互いに異なっている（不斉アミド）。

【0061】

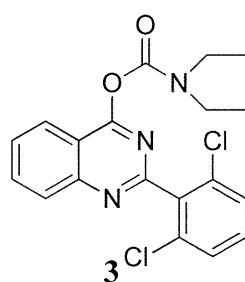
好ましい一実施形態において、式（I）の化合物中の  $n$  は 0 である。好ましい別の実施形態において、式（I）の化合物中の  $n$  は 1 である。好ましい別の実施形態において、式（I）の化合物中の  $n$  は 2 である。他の可能性は、 $n$  が 3、4 または 5 を含む。現在の好ましい  $R^3$  基は、Cl、Br もしくは F、またはその組み合わせである。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。本発明の代表的な化合物は、化合物 1、2、3、4、5、6、7 および 8 から選択され、以下に示される。

【0062】

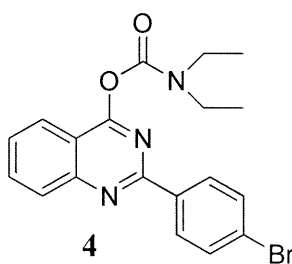
【化 3】



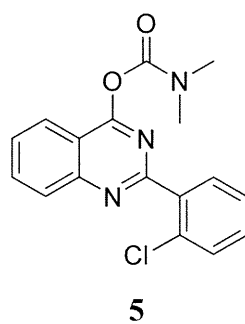
10



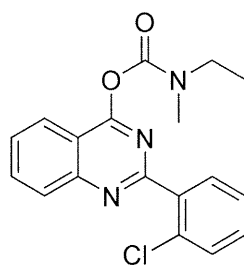
20



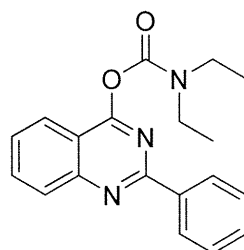
30



40

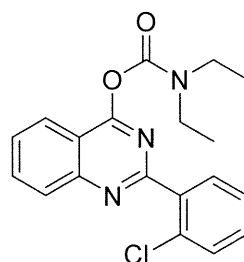


6



7

および



8

## 【 0 0 6 3 】

一実施形態において、式 ( I ) の化合物のアミド部分の鎖長を増やすことで、T S P O への結合親和性が大幅に高まることが発見されたのは予想外であった。

このように、一実施形態において、 $R^1$  および  $R^2$  が互いに独立して  $C_2 - C_{12}$  のアルキルである本発明の化合物が現在好ましい。

## 【 0 0 6 4 】

別の実施形態において、不斉アミドを含む化合物が対称アミドを有するその対応物よりも効力が高いことが発見されたのは予想外であった。このように、一実施形態において、 $R_1$  が  $R_2$  と異なっている式 ( I ) の化合物が現在好ましい。

## 【 0 0 6 5 】

別の実施形態において、回転可能なフェニル環上にハロゲン ( 複数可 ) を取り込むことによって、細胞培養において、ハロゲン化がないが同じ構造の高濃度の化合物によって誘発される望ましくない致死効果を阻止する、または減少させることが発見されたのは予想外であった。このように、一実施形態において、フェニル環上に 1 または複数のハロゲンを含有する式 ( I ) の化合物が現在好ましい。

## 【 0 0 6 6 】

上記の属性の組み合わせも、考察されており、本発明の別の実施形態を表す。例えば、不斉アミドおよびハロゲン化フェニル環を含有する化合物 ( 例えば、化合物 6 ) は、本発明の好ましい実施形態を表す。

## 【 0 0 6 7 】

一実施形態において、本発明は、薬学的に許容される担体と、有効成分として式 ( I ) によって表される化合物または式 1、2、3、4、5、6、7 もしくは 8 のいずれか 1 つから選択される化合物とを含む医薬組成物を提供する。

## 化学定義

## 【 0 0 6 8 】

本明細書に用いる「アルキル」という用語は、直鎖状基および分枝状基を含む、任意の飽和脂肪族炭化水素を指す。一実施形態において、アルキル基は、本明細書で  $C_{1} - C_{12}$  アルキルと表す 1 ~ 12 の炭素を有する。別の実施形態において、アルキル基は、本明細書で  $C_{1} - C_{6}$  アルキルと表す 1 ~ 6 の炭素を有する。別の実施形態において、アルキル基は、本明細書で  $C_{1} - C_{4}$  アルキルと表す 1 ~ 4 の炭素を有する。アルキル基の例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、すべてのその異性体を含むペンチル、すべてのその異性体を含むヘキシル、すべてのその異性体を含むヘプチル、すべてのその異性体を含むオクチル、すべてのその異性体を含むノニル、すべてのその異性体を含むデシル、すべてのその異性体を含むウンデシル、およびすべてのその異性体を含むドデシルが挙げられるが、これらに限定されない。同様に、「アルキレン」という用語は、アルキル基が 2 つの位置で結合して、2 つの別々の付加基（例えば  $CH_2$ ）同士を結合している二価基を意味する。

10

## 【 0 0 6 9 】

アルキル基は、無置換であり得、またはハロゲン基、ヒドロキシ基、アルコキシ基、アリールオキシ基、アルキルアリールオキシ基、ヘテロアリールオキシ基、オキソ基、シクロアルキル基、フェニル基、ヘテロアリール基、ヘテロシクリル基、ナフチル基、アミノ基、アルキルアミノ基、アリールアミノ基、ヘテロアリールアミノ基、ジアルキルアミノ基、ジアリールアミノ基、アルキルアリールアミノ基、アルキルヘテロアリールアミノ基、アリールヘテロアリールアミノ基、アシル基、アシロキシ基、ニトロ基、カルボキシ基、カルバモイル基、カルボキサミド基、シアン基、スルホニル基、スルホニルアミノ基、スルフィニル基、スルフィニルアミノ基、チオール基、 $C_{1} - C_{12}$  アルキルチオアリールチオ基または  $C_{1} - C_{12}$  アルキルスルホニル基からなる群から選択される 1 または複数の置換基で置換され得る。いずれの置換基も無置換基であり得る、または上述の置換基のいずれか 1 つとさらに置換され得る。

20

## 【 0 0 7 0 】

本明細書に単独で、または別の基の一部として用いる場合、「ハロゲン」という用語は、塩素 (Cl)、臭素 (Br)、フッ素 (F) およびヨウ素 (I) を指す。

30

## 【 0 0 7 1 】

本発明の化合物の 1 つまたは複数の塩として存在することもある。「塩」という用語は、塩基性付加塩および酸付加塩の両方を包含し、例えば有機酸付加もしくは無機酸付加のアミン窒素の塩があるが、これに限定されない。

そのような酸としては、塩酸、フッ化水素酸、トリフルオロ酢酸、硫酸、リン酸、酢酸、コハク酸、クエン酸、乳酸、マレイン酸、フマル酸、パルミチン酸、コール酸、パモ酸、粘液酸、D-グルタミン酸、D-樟脳酸、グルタル酸、フタル酸、酒石酸、ラウリン酸、ステアリン酸、サルチル酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ソルビン酸、ピクリン酸、安息香酸、桂皮酸などが挙げられる。

40

## 【 0 0 7 2 】

本発明は、式 (I) の化合物の溶媒和化合物およびその塩も含む。「溶媒和化合物」とは、1 または複数の溶媒分子を有する本発明の化合物の物理的結合を意味する。この物理的結合は、様々な程度のイオン結合および共有結合、例えば水素結合を含む。いくつかの例において、溶媒和化合物は単離することができる。「溶媒和化合物」は、溶液相溶媒和化合物と単離可能な溶媒和化合物の両方を包含する。好適な溶媒和化合物の非限定例としては、エタノラート、メタノラートなどが挙げられる。「水和物」とは、溶媒分子が水の溶媒和化合物である。

## 【 0 0 7 3 】

本発明は、式 (I) の化合物の多形体およびその塩も含む。「多形体」という用語は、X 線回析、IR スペクトル、融点などの特定の物性によって特徴付けることができる、物

50

質の特定の結晶状態を指す。

#### 治療用途

##### 【0074】

グリアは脳細胞の大部分を構成しており、健常な神経細胞を維持し、および保護するのに役立っている。現在では、グリアが神経変性の進行において重要な要因を示すことが認識されている。本発明は、第一に、アストログリア、ミクログリアおよびオリゴデンドロサイトを含むグリアを、損傷および疾患に起因する脳障害の治療のための主要な場として実際に考える。

##### 【0075】

さらに、ミトコンドリア膜電位 ( m ) の崩壊は、二次性脳損傷および脳変性疾患に起因する神経細胞死を引き起こす諸要因の中でも中心的役割を果たすように見える。これが示唆することは、脳損傷を被った直後、この m の調節を標的にすることは T B I のための著しい治療との関連を有することである。T S P O はこれらの機序のための主成分であるので、本発明は、いずれの種類の脳損傷、神経変性疾患および関連病態に関連する脳障害を治療するために T S P O を標的にする。

##### 【0076】

好ましい実施形態において、本発明の化合物は、現在、利用できる治療法よりも優れた方法で、細胞死の阻止、例えば、脳損傷および / または神経変性疾患に起因して起こるプログラム細胞死の阻止、との組み合わせで T S P O に効果的に結合する。

##### 【0077】

さらに、免疫応答、炎症、細胞増殖、細胞移動、細胞分化、神経突起伸長などに関して修復特性を活性化し、促進にする本発明の化合物の能力は、上述の脳障害、および薬物の過剰摂取、毒性障害に起因する種々の種類の脳障害の治療的処置に適用することができる。

##### 【0078】

上記のように、本発明の化合物は、神経細胞、すなわちグリアおよび / またはニューロンにおける根本的なプログラム細胞死レベルを阻止する / 減少させる、例えば、神経変性および脳内の細胞死と細胞障害の根底にある過程において重要な作用薬であることが知られている、グルタミン酸塩によって誘発される細胞死を減弱させる。さらに、これらの化合物は、神経変性および脳障害の進行の一因となる他の薬剤による細胞死誘発を阻止する / 減少させる。このように、本発明の化合物は、神経変性、進行性脳外傷および関連する障害の一因となっている要因の全てとまではいえないが、ほとんどの起因する細胞死を阻止する。加えて、本発明の化合物は、損傷した脳領域を補充し、損傷した神経回路を、ニューロンを含む新しい脳細胞によって再建し、ならびに脳細胞の分化を刺激することによって該損傷脳領域の修復に寄与することができる。したがって、本発明の化合物は、神経変性疾患および脳損傷後の進行性脳障害の阻止、治療に有用であり、症状改善に加えて、実際の治癒をもたらす可能性がある。

##### 【0079】

本発明の化合物は、プログラム細胞死から、古典的 T S P O リガンドよりも良好な保護を提供する。さらに、細胞培養において古典的 T S P O リガンドで見られる問題と対照的に、本発明の化合物は、高濃度で古典的 T S P O リガンドほど毒性でなく、あるいは全く毒性でない。さらに、本発明の化合物は、グルタミン酸塩などのアポトーシス誘発因子のアポトーシス性レベルを高めることはないが、古典的 T S P O リガンドは細胞培養において ( 特に、50  $\mu$  M 以上の高濃度で ) 高めることはあり得る。したがって、本発明の化合物は、古典的 T S P O リガンドと比較して、特に有利である。加えて、本発明の化合物は、米国特許第 8 , 5 4 1 , 4 2 8 号に開示されている化合物と比べて、予想外に、T S P O への効果的な親和性に細胞保護能力を組み合わせている。さらに、ハンチントン病の動物モデル ( R 6 - 2 マウス ) において、本発明の化合物 ( 例えば化合物 1 ) は、寿命の延長および自発運動の増加などの良好な特性を示すが、一方、古典的 T S P O リガンドおよび米国特許第 8 , 5 4 1 , 4 2 8 号に開示されている化合物には R 6 - 2 モデルにおいて

10

20

30

40

50

これらのプラス効果が全く欠如している。別の実験において、化合物 5 および化合物 6 が振戦行動の出現を低下させることがさらに判明した。本発明の化合物が、病理的行動作用と、致死性などの他の症状とを含む実質的な神経保護特性を有し、したがって、脳損傷後の二次性脳障害、脳手術、神経変性疾患ならびに関連する障害、例えば、感染症、毒性障害、および薬物（レクリエーションドラッグ、一般用医薬品、処方薬を含む）の過剰摂取に起因する脳障害を治療および阻止するために用いることができることを、これらの特性は示している。

#### 【 0 0 8 0 】

本発明の化合物は、予想外に、T S P O への効果的な親和性に、細胞において細胞死レベルを減少させる、特に、外傷性脳損傷後に二次性脳障害を引き起こす重要な作用薬であり、また神経変性疾患に関与することが知られている神経毒性物質による細胞死レベルを減少させる、極めて効果的な能力を組み合わせる。さらに、回転可能なフェニル環上のハロゲン（複数可）は、細胞培養において、ハロゲン化がないが同じ構造の高濃度（100  $\mu$ M）の化合物によって誘発される望ましくない致死効果を阻止する、または減少させる。これらの態様において、本発明の化合物は、既知のT S P O リガンドより優れている。本化合物は、そのような障害を治療するために、現在利用できるいかなる化合物よりも優れている。したがって、本発明の化合物は、いかなる種類の脳障害、例えば外傷性脳損傷（T B I）に起因する脳障害および／または、例えば戦争、テロリズム、交通事故（例えば自動車事故、非自動車両事故など）、スポーツ傷害、暴力犯罪、家庭内事故、児童虐待、家庭内暴力、業務関連事故、銃創に付随するT B Iに起因する二次脳損傷の治療および阻止に役立つ。他の種類の脳損傷は、毒性障害、いかなる種類の感染症およびレクリエーションドラッグ、一般用医薬品または処方薬の過剰摂取による場合もある。本化合物は、脳損傷に関連する高リスク状況で、予防的に適用されることもできる。本発明の化合物は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ルー・ゲーリック病、多発性硬化症、自己免疫障害その他などの神経変性疾患を治療する、および阻止する際にも役立つ。さらなる治療指標を以下に記載する。

#### 【 0 0 8 1 】

##### 神経変性および神経変性疾患

一態様において、本発明は、神経変性疾患またはその症状を治療する、または阻止する方法を提供し、該方法は、上述の本発明の化合物またはそのような化合物を含む医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。別の実施形態において、本発明は、神経変性疾患またはその症状を治療する、または阻止する際に、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

#### 【 0 0 8 2 】

別の態様において、本発明は、神経変性疾患の対象または神経変性疾患を発症するリスクがある対象において神経変性を阻止する（例えば細胞アポトーシスを阻止することによって）方法を提供し、該方法は上述の本発明の化合物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。別の実施形態において、本発明は、神経変性疾患の対象または神経変性疾患を発症するリスクがある対象において神経変性を阻止する（例えば細胞アポトーシスを阻止することによって）際に、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

#### 【 0 0 8 3 】

別の態様において、本発明は、問題になっている中枢神経領域中におよび該領域において必要な細胞の移動、増殖、分化および／または接着、ならびに免疫応答および炎症の他の必要な調節の過程を介して喪失した脳細胞の補充を活性化または促進することによって、中枢神経障害を阻止する、減少させる、または治療する方法を提供する。該方法は、本明細書に記載の本発明の化合物、またはそのような化合物を含む医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。本発明はさらに、移動、増殖、接着および／または分化を活性化し、それによって、それを必要とする対象において喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療するために

、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。一部の実施形態において、対象は神経変性疾患を有する、または神経変性疾患を発症するリスクがある。

【0084】

一般に、中枢神経系の疾患は神経変性と呼ばれ、依然としてほとんど不明の理由で生じる神経細胞死が徐々に発展し、容赦なく進行することによって特徴付けられることを示す。したがって、中枢神経系の疾患は、感染症、代謝障害および中毒によって誘発される同等の状態とは異なる。神経変性として分類されている障害のかなりの部分は、優性遺伝または劣性遺伝のいずれかの遺伝的なものである。しかし、他の部分は、ある所定の家系における例外的な症例として、散発的にのみ生じ、その原因は一般的に不明である。変性疾患の分類は、原因または病理発生に関する正確な知識にも基づいて行うことができず、個々の症候群への変性疾患の細区画は、主に神経病理学的所見および臨床所見をベースにした記述的基準に基づく。この疾患群は、いくつかの異なった臨床症候を示し、それを認識することで臨床医が診断に達することを支援することができる。本発明の化合物は、それが、機械的損傷、疾患、感染症、毒性障害および薬物の過剰摂取、例えばレクリエーションドラッグ、一般用医薬品または処方薬もしくはその他であろうが、いかなる種類の脳障害を治療するようにデザインされている。

10

【0085】

本発明と関連して神経変性疾患の例としては、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ルー・ゲーリック病、多発性硬化症、自己免疫障害、ピック病、びまん性レビー小体病、進行性核上性麻痺（スティール・リチャードソン症候群）、多系統神経変性（シャイ・ドレーガー症候群）、運動ニューロン疾患、筋萎縮性側索硬化症、変性運動失調症、皮質基底核変性症、グアム型筋萎縮性側索硬化症 - パーキンソン病 - 認知症複合、亜急性硬化性全脳炎、シヌクレイン病、原発性進行性失語症、線条体黒質変性症、マシアド・ジョセフ病 / 脊髄小脳失調症3型とオリブ核橋小脳変性、ジルドラトウレット病、球麻痺と仮性球麻痺、脊髄および球脊髄性筋萎縮症（ケネディ病）、原発性側索硬化症、家族性痙攣性対麻痺、ウェルドニッヒ・ホフマン病、クーゲルベルク・ウェランダー病、テイ・サックス病、サンドホフ病、家族性痙攣性病、ヴォールファルト・クーゲルベルク・ウェランダ病、痙攣性対麻痺、進行性多巣性白質脳症、クロイツフェルト・ヤコブ病を含むプリオン病、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、クーラー病および致死性家族性不眠症が挙げられる。

20

30

【0086】

脳損傷および脳障害

別の態様において、本発明は、脳障害および / またはその進行および / または症状を治療する、または阻止する方法を提供し、該方法は上述の本発明の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。一部の実施形態において、脳障害は、外傷性脳障害（TBI）およびTBIの結果として生じ、その後進行する二次性脳損傷などの急性事象から生じる脳損傷に起因する。一部の態様において、本発明は、問題になっている中枢神経領域中に必要な細胞の移動、増殖、分化および接着、ならびに免疫応答および炎症の他の必要な調節の過程を介して喪失した脳細胞の補充を活性化または促進することによって、外傷性脳損傷（TBI）に起因する脳障害またはTBIから生じる二次性脳障害の進行を阻止する、または治療する方法を提供する。

40

該方法は、上述の本発明の式の化合物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0087】

本発明は、脳障害および / または症状および / または脳障害の進行を治療する、または阻止するための薬物の製造における、本発明の化合物の使用に関する。脳障害は、例えば、いかなる種類の脳損傷によって引き起こされ得る。

【0088】

別の態様において、本発明はさらに、損傷に起因する脳障害を有する対象、もしくは損傷に起因する脳障害を発症するリスクがある対象において、上述の化合物または医薬組成

50



物の有効量を前記対象に投与することによって、移動、増殖、接着および／または分化を活性化し、それによって喪失した脳細胞を補充することによって、中枢神経系障害を阻止する、減少させるまたは治療する方法を提供する。

【 0 0 8 9 】

一実施形態において、脳損傷は急性事象、例えば、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）に起因する。別の実施形態において、脳障害は、ＴＢＩから生じる二次性脳障害であり、それは継続する慢性過程を表する。別の実施形態において、これは、二次性脳障害または神経変性に関与する作用薬、例えば、グルタミン酸塩、グルタミン酸塩以外のグルタミン酸受容体リガンド、低酸素模倣剤、一酸化窒素発生剤、アポトーシス誘発剤、ステロイド剤、塩化アンモニウム、毒性化合物またはＡＴＰ産生を妨害する作用薬に関する。別の実施形態において、脳障害は、感染症、毒物および薬物の過剰摂取、例えばレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および／または処方薬などの慢性障害に起因する。

10

【 0 0 9 0 】

一実施形態において、脳損傷は外傷性脳損傷（ＴＢＩ）である。本明細書に考察するように、本発明の化合物は、ＴＢＩから生じる二次性脳障害を阻止するおよび治療するのに特に役立つ。このように、本発明の化合物は、例えば、戦場で兵士、特にＴＢＩを被っている兵士を治療するのに役立つ。例えば、兵士がＴＢＩを受けた後、できるだけ早急に現場で本化合物が投与されることができるよう、例えば、救急医療隊員におよび／または戦場において、もしくは危機にひんした、もしくはテロリスト攻撃現場で兵士に本発明の化合物を供給することによって、本発明の化合物を兵士に投与し、ＴＢＩに起因する二次性脳障害を阻止することができる。本発明の化合物は、暴力犯罪、例えば、これに限定されないが、テロリスト攻撃および脳障害を起こし得るいかなる他の災難の犠牲者である一般市民にとっても役立つ。これによって、テロリスト攻撃を含む敵対行為、ならびに他の犯罪および事故のために被ったＴＢＩの後遺症において現在生じている能力障害の出現を減少させることができる。

20

【 0 0 9 1 】

本発明の化合物の有用性は、戦争およびテロリスト攻撃などの暴力犯罪に限定されない。本発明の化合物は、例えば、交通事故（例えば自動車事故および非自動車両事故など）、スポーツ傷害、業務関連事故、家庭内事故、児童虐待、家庭内暴力、銃創など、能力障害およびてんかんなどの現象の結果を含み、家庭内出来事に起因する脳損傷を被る個人にとっても役立つ。別の実施形態において、特定の状況下では、本化合物は、中枢神経系障害の出現率が極めて高いスポーツに関して予防的に投与することができる。

30

【 0 0 9 2 】

関連した態様において、本発明は、損傷した脳領域への前駆細胞の移動、損傷した脳領域での神経分化、および損傷した神経回路の再建を含む、中枢神経系における回復過程を刺激するまたは促進する方法を提供する。該方法は、上述の本発明の化合物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。本発明はさらに、中枢神経系における回復過程を刺激するまたは促進するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか１つを用いることに関する。

【 0 0 9 3 】

40

心血管疾患

心不全は、ハンチントン病のモデルマウスのＲ６－２マウスでの主な死因である。この現象は、遺伝的状態、ならびそれに伴うストレスに関連しているように見える。本発明の化合物がＲ６－２マウスにおいて心不全を阻止することが現在では発見されている。このように、別の態様において、本発明は、心血管疾患、特に心不全を阻止または治療する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。好ましい一実施形態において、心血管疾患は、ハンチントン病に起因する、または関連している。本発明は、心血管疾患、特に心不全を阻止または治療するために上述の化合物または医薬組成物のいずれか１つを用いることに関する。

【 0 0 9 4 】

50

## 他の治療指標

一態様において、本発明は脳浮腫を阻止する、減少させる、または治療する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。本発明はさらに、脳水腫を治療する、または阻止するために上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。脳浮腫は、上述のように外傷性脳損傷、神経変性疾患および/または急性障害もしくは慢性障害から生じることあり得る。

### 【0095】

さらなる態様において、本発明の化合物は、グラフト/移植によって病変組織および損傷組織の置換を支持する。この実施形態に従って、本発明はさらに、細胞、組織および/または器官を上述の化合物または医薬組成物の有効量と接触させることによって、そのような細胞、組織および/または器官のグラフティングまたは移植を促進する方法を提供する。現在の好ましい一実施形態において、グラフトまたは移植される細胞の標的領域は、中枢神経系である。具体的な一実施形態において、細胞、組織および/または器官は、脳に関連する。本発明はさらに、細胞、組織および/または器官のグラフティングもしくは移植を促進するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

### 【0096】

さらなる実施形態において、本発明はさらに、発達障害を有する対象、または発達障害を有するリスクがある対象において脳の発達を促進する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。本発明の化合物は、発達障害を治療するために用いることができ、本発明と関連して、そのような発達障害の例としては、ハンチントン病、21トリソミー症候群、脆弱X症候群、レット症候群、ウィリアムズ症候群、連鎖球菌感染症に関連する小児自己免疫性神経精神障害、シデナム舞蹈病、トキソプラズマ症、神経梅毒、亜急性硬化性全脳炎、統合失調症、視覚消失に起因する自閉症もしくは発達障害、聴覚消失、(感覚遮断)、代謝障害(例えば糖尿病、フェニルケトン尿症)、栄養不良(例えば二分脊椎、無脳症、胎児性アルコール症候群)、先天性損傷もしくは乳児期もしくは小児期に生じる損傷が挙げられるが、これに限定されるものではない。本発明はさらに、発達障害を有する対象、または発達障害を有するリスクがある対象において脳の発達を促進するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

### 【0097】

別の実施形態において、本発明は、損傷領域にわたり、および標的領域内に軸索成長を誘発することによって病変部を修復する、および/または脊髄の修復を刺激する方法を提供し、該方法は上述の化合物または医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む。本発明はさらに、病変部を修復するためおよび/または脊髄の修復を刺激するために、上述の化合物または医薬組成物のいずれか1つを用いることに関する。

### 【0098】

上記のように、本発明の化合物は、1) 予防的作用、2) 進行する障害(例えば脳障害)および疾患(例えば神経変性)への抵抗、3) 自己修復の刺激、および4) 病変および損傷組織のグラフト/移植による置換の補助などの作用様式のうちの1つまたは複数で用いられてもよい。このように、いくつかの実施形態において、上述の化合物または組成物は、脳障害および/または神経変性を発症するリスクがある対象に予防的に投与される。一部の実施形態において、前記対象は、脳損傷が持続するリスクがある、または神経変性疾患、脳浮腫もしくは心血管疾患を発症するリスクがある、または前記対象は移植候補者である。一部の実施形態によれば、予防的に投与される化合物または組成物は、リスクの高い活動に關与している対象、脳障害および/または神経変性に関連した神経発達障害を発症するリスクがある乳児または小児、脳障害および/または神経変性に関連した遺伝性疾患を有するリスクがある対象、ならびに脳障害および/または神経変性に関連した加齢性神経疾患を発症するリスクがある対象からなる群から選択される対象に予防的に投与さ

10

20

30

40

50

れる。

【0099】

上述の方法のいずれかの好ましい一実施形態において、化合物は式(I)の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式1の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式2の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式3の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式4の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式5の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式6の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式7の構造によって表される。別の好ましい実施形態において、化合物は式8の構造によって表される。各可能性は、本発明の別の実施形態を表す。

10

【0100】

本明細書に用いる場合、「投与する」という用語は、本発明の化合物と接触させることを指す。投与は、細胞または組織培養物に対して、または生物、例えばヒトに対してなされ得る。一実施形態において、本発明は、本発明の化合物をヒト対象に投与することを包含する。

【0101】

「治療」処置または「効果的」処置とは、病態の徴候を示す対象に、それらの徴候を減少させる、または取り除く目的で投与される処置である。本発明の化合物の「治療有効量」または「有効量」とは、その化合物が投与される対象に有益効果をもたらすのに十分な化合物の量である。本発明による効果的処置の例としては、本明細書に記載のTBIまたはいずれかの神経変性疾患の症状の1または複数を減少させるもしくは改善すること、寿命を延長させること、運動活性を増加させること、認識能力と他の脳機能を増強すること、ならびにTBIおよび/または神経変性疾患の進行を阻止することが挙げられるが、これに限定されない。同様に、本発明の化合物を用いて、感染症、毒性障害、薬物の過剰摂取、例えばレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および/または処方薬などに起因する脳障害を治療することができる。

20

【0102】

本明細書に用いる場合、「脳浮腫」という用語は、脳の細胞内空間または細胞外空間内に過剰体液が蓄積された状態を指す。本発明と関連して脳水腫は、外傷性脳損傷(TBI)、神経変性疾患、または感染症、毒物および薬物の過剰摂取、例えばレクリエーションドラッグ、一般用医薬品および/または処方薬から選択される急性障害もしくは慢性障害の結果であり得る。

30

【0103】

「グラフティング」および「移植」という用語は、その元々の本来の部位から摘出され、同じ人または別の人の新しい位置に移される、組織の切片または完全な器官を指す。

【0104】

「心血管疾患」という用語は、心臓と血管の疾患を指す。本発明に関連する心血管疾患としては、心不全、うっ血性心不全、心停止および心筋梗塞が挙げられるが、これに限定されるものではない。

40

【0105】

医薬組成物

本発明の化合物は単独で投与されることができ、これらの化合物が、薬学的に許容される担体または賦形剤と共に本発明の化合物を含有する医薬組成物で投与されることが考えられる。

【0106】

本発明の医薬組成物は、経口、直腸、経皮、非経口(皮下、腹腔内、静脈内、動脈内、経皮および筋内)、局所、鼻腔内、坐剤による直腸経路または透析による経路を含む種々の経路による投与用に製剤化されることができ、そのような組成物は、製薬技術分野で周知の方法で調製され、および有効成分として上述の本発明の少なくとも1種の化合物と

50

、薬学的に許容される賦形剤または担体とを含む。「薬学的に許容される」という用語は、動物において、より詳しくはヒトにおいての使用が連邦政府もしくは州政府の監督機関によって承認されている、または米国薬局方もしくは他の一般に認められた薬局方に収載されていることを意味する。

【0107】

本発明による医薬組成物を調製する間、有効成分は、通常、固形物、半固形物または液体物質であり得る、担体または賦形剤と混合される。該組成物は、好ましくは経口的投与に適しており、その場合には、該組成物は錠剤、丸薬、カプセル剤、ペレット剤、顆粒剤、粉末剤、トローチ剤、サシェ剤、カシェ剤、エリキシル剤、懸濁剤、分散剤、乳剤、液剤、シロップ剤、エアゾール剤（固体として、または液体媒質中で）、例えば活性化合物の10重量%までを含む軟膏剤、軟ゼラチンカプセル剤、硬ゼラチンカプセル剤、坐剤、滅菌注射用製剤および滅菌封入粉末剤の形状であり得る。

10

【0108】

担体は、従来法で使用されている任意のものであってよい。担体の選択は、医薬組成物を投与するのに用いられる特定の方法によって決定される。好適な担体の一部の例としては、ラクトース、グルコース、デキストロース、ショ糖、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アラビアゴム、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水およびメチルセルロースが挙げられる。他の医薬担体は、水、アルコール（例えばエタノール）などの滅菌液、および油（ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油などの石油、動物油、植物油または合成由来のものを含む）などの脂質担体、リン脂質（例えばレシチン）、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールもしくは他の合成溶媒であり得る。医薬組成物が静脈内投与される場合、水は好ましい担体である。食塩水およびデキストロース水溶液とグリセリン溶液も、液状担体として、特に注射剤として使用することができる。

20

【0109】

製剤は、さらに、滑石、ステアリン酸マグネシウムおよび鉱油などの潤滑剤；表面湿潤剤、抗酸化剤、界面活性剤、乳化剤と懸濁化剤；メチルヒドロキシベンゾエートおよびプロピルヒドロキシベンゾエートなどの保存料；甘味剤；香料、着色剤、緩衝剤（例えば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩）、崩壊剤、湿潤剤、抗菌薬、抗酸化剤（例えばアスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム）、キレート薬（例えばエチレンジアミン四酢酸）、ならびに塩化ナトリウムなどの張度調節剤を含むことができる。脂肪酸も、含むことができる。

30

【0110】

錠剤などの固形組成物を調製するために、主要な有効成分は、本発明の化合物の均一混合物を含む固形の予備処方組成物を形成するために、医薬賦形剤と混合される。これらの予備処方組成物を均一と呼ぶ場合、活性成分が組成物全体にわたり均一分散されており、その結果、錠剤、丸薬およびカプセル剤などの同等に効果的な単位剤形に容易に細分されることができることを意味する。次いで、この固形の予備処方組成物は、本発明の有効成分を例えば、0.1～約500mg含有する上記の単位剤形の種類に細分される。

40

【0111】

任意の方法を用いて、医薬組成物を調製することができる。固形剤形は、湿式造粒法、乾式造粒法、直接圧縮法などによって調製されることができる。

【0112】

本発明の固形剤形を被覆し、さもなければ配合して、持続作用の利点を提供する剤形をもたらしてもよい。例えば、錠剤または丸薬は、内部投与成分および外部投与成分を含むことができ、後者の成分は前者の成分を覆う形状である。

この2つの成分は腸溶性層によって分離されることができ、それによって胃内での崩壊を妨げるのに役立ち、かつ内部成分が損なわれないうま十二指腸に到達する、または徐放されるのを可能にする。種々の物質をこのような腸溶性層またはコーティングで用いること

50

が可能であり、そのような物質としては、いくつかのポリマー酸と、シェラック、セチルアルコールおよび酢酸セルロースなどの物質とポリマー酸との混合物とが挙げられる。

【0113】

本発明の組成物を組み込むことができる、経口投与用または注射による液体剤形としては、水溶液、アルコール溶液、適切に風味付けされたシロップ、水性懸濁液または油懸濁液、および綿実油、ゴマ油、ヤシ油またはピーナッツ油などの食用油、ならびにエリキシルおよび同様の薬剤溶媒によって風味付けされた乳濁液が挙げられる。

【0114】

吸入用の組成物は、薬学的に許容される水性溶媒または有機溶媒もしくはその混合物および粉末剤に溶解した溶液剤および懸濁剤が挙げられる。液体または固形組成物は、上述の適切な薬学的に許容される賦形剤を含有してもよい。好ましくは、組成物は局所効果または全身効果のために経口または経鼻呼吸経路によって投与される。好ましくは薬学的に許容される溶媒に溶解した組成物は、不活性ガスを用いて霧状にすることができる。霧状の溶液剤は、噴霧装置から直接的に吸入してもよく、または噴霧装置をフェイスマスク Tent もしくは間欠的陽圧呼吸器に装着してもよい。溶液、懸濁液または粉末の組成物は、適切な方法で製剤を送達する装置から経口でまたは経鼻で投与されるのが好ましい。

10

【0115】

本発明の方法で使用される別の製剤は、経皮送達デバイス（「パッチ」）を使用する。そのような経皮パッチを用いて、制御された量の本発明の化合物を持続的または断続的な注入で供給することができる。医薬品の送達のための経皮パッチの構造および使用は、当分野で周知である。

20

【0116】

さらに別の実施形態において、該組成物は、局所投与、例えば軟膏剤、ゲル剤、滴下剤またはクリーム剤として調製される。例えば、クリーム剤、ゲル剤、滴下剤、軟膏剤などを用いることによる体表面への局所投与の場合、本発明の化合物は、医薬担体を含むまたは含まないで、生理学的に許容される希釈剤で調製され、塗布されることができる。局所剤またはゲル剤の基剤のアジュバントは、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレン - ブロックポリマー、ポリエチレングリコールおよびウッドワックスアルコールを含み得る。

【0117】

別の製剤としては、経鼻噴霧剤、リポソーム製剤、即時放出製剤、徐放製剤、制御放出製剤、遅延放出製剤などが挙げられ、当分野で既知である。

30

【0118】

組成物は、単位剤形で調製されるのが好ましい。適切な医薬賦形剤に関連して、「単位剤形」という用語は、ヒト対象および他の哺乳類のための単位投与量として適切な物理的に個別の単位を指し、各単位は所望の治療効果を生成するように算出された所定量の活性物質を含有する。

【0119】

製剤の調製において、他の成分と配合する前に適当な粒径をもたらすように活性成分をミリングすることが必要な場合もある。活性化合物が実質的に不溶性である場合、化合物は通常、約 200 メッシュ未満の粒径にミリングされる。活性成分が実質的に水溶性である場合、製剤内で実質的に一様分布、例えば約 40 メッシュ、をもたらすように、粒径は通常ミリングによって調節される。

40

【0120】

本発明の医薬組成物を、治療を必要とする領域に局所的に投与することが望ましい場合がある。これは、例えば、手術中の局所注入によって、例えば、術後の創傷被覆材と組み合わせた局所適用によって、注射によって、カテーテルによって、坐剤によって、またはインプラントによって、達成することができ、前記インプラントは、多孔性、非多孔性またはゲル状の物質である。

【0121】

50

本発明の化合物は、任意の使いやすい経路によって、例えば、注入もしくはボーラス注入によって、上皮内層（例えば、口腔粘膜、直腸および腸の粘膜など）からの吸収によって投与されてもよく、および他の治療上活性な薬剤と共に投与されてもよい。投与は局所化されてもよく、発症した領域、損傷した領域または病変領域の近くが好ましいが、全身投与であってもよい。加えて、適切な経路、例えば心室内注射および髄腔内注射によって、本発明の医薬組成物を中枢神経系に導入することが望ましいこともあり、心室内注射は、例えばリザーバーに取り付けた心室内カテーテルによって容易にすることも可能である。ナノテクノロジー技術を含む、標的化薬物送達システムを使用することもできる。肺内投与は、例えば、吸入器または噴霧器を用いて、およびエアゾール剤と共に製剤を使用することもできる。

10

#### 【0122】

一実施形態において、薬物注入ポンプを用いて、本発明の化合物を投与してもよい。このように、本発明の化合物は、生分解性、生体適合性ポリマーインプラントと組み合わせて投与されることができ、それによって選択部位で、制御期間中、化合物を放出する。好ましいポリマー材料の例としては、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリエチレン酢酸ビニル、コポリマーおよびそれらの混合物が挙げられる（*Medical applications of controlled release*, LangerおよびWise（編）, 1974, CRC Press., Boca Raton, FLを参照されたい）。さらに別の実施形態において、放出制御系は治療標的の近くに配置されることができ、したがってわずかな全身投与量だけを必要とする。

20

#### 【0123】

さらに、時には、本医薬組成物は、非経口投与（皮下、静脈内、動脈内、経皮、腹腔内または筋内の注射）用に製剤化することができ、ならびに抗酸化剤、緩衝液、静菌薬および意図されるレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を含むことができる水性および非水性等張滅菌注射溶液と、懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤および保存剤を含む水性および非水溶滅菌懸濁液とを含んでもよい。石油、動物油、植物油もしくは合成油などの油、脂肪酸アルカリ金属、アンモニウムおよびトリエタノールアミン塩などのセッケン、ならびに適切な界面活性剤も非経口投与で用いてもよい。さらに、注射部位での刺激作用を最小限に抑える、または取り除くために、該組成物は1種または複数種の非イオン界面活性剤を含んでもよい。適切な界面活性剤としては、ソルビタンオレイン酸モノエステルなどのポリエチレンソルビタン脂肪酸エステル、およびプロピレングリコールとプロピレンオキシドの縮合により形成された疎水性塩基によるエチレンオキシドの高分子量付加物が挙げられる。

30

#### 【0124】

非経口製剤は、単回投与量または複数回投与量をアンプルおよびバイアルなどの密封容器で提供することができ、およびフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保管することができ、使用する直前に、注射用の滅菌液体担体、例えば水の添加のみを必要とする。即時注射溶液および即時懸濁液は、前述の種類および当分野で既知の滅菌粉末剤、顆粒剤および錠剤から調製することができる。

#### 【0125】

40

特定の障害または病態、例えば、TBI、神経変性疾患および他の同等の障害と損傷の治療に効果的である本発明の化合物の量は、その障害または病態の性質に依存し、標準臨床技術によって決定することができる。加えて、*in vitro*アッセイを任意選択で用いて、最適な投与量範囲を特定することに役立つ。製剤で使用される正確な薬物用量も、投与経路および疾患または障害の重症度に依存し、医師の判断および各患者の状況によって決定されるべきである。好ましい投与量は、 $0.01 \sim 1000 \text{ mg} / \text{体重 kg}$ の範囲内であり、より好ましくは約 $0.1 \text{ mg} / \text{kg} \sim 100 \text{ mg} / \text{kg}$ およびさらに好ましくは約 $1 \text{ mg} / \sim 10 \text{ mg} / \text{kg}$ の範囲内である。有効量は、*in vitro*または動物モデル試験バイオアッセイまたは試験系から導き出される用量反応曲線から推定することができる。

50

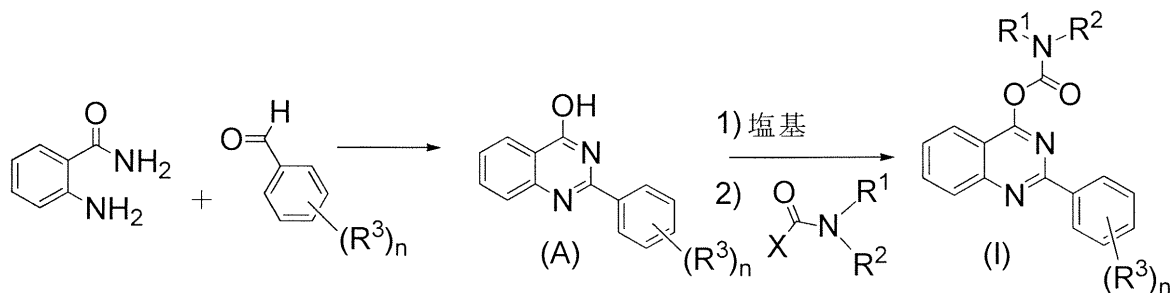
## 【 0 1 2 6 】

## 合成方法

式 ( I ) のキナゾリン誘導体は、スキーム 1 に記載のように、さらに実施例 9 に詳しく述べるように調製することができる。

## 【 0 1 2 7 】

## 【 化 4 】



スキーム 1

スキーム 1 において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $n$  は、上記で式 ( I ) のために定義した通りである。

## 【 0 1 2 8 】

市販のアントラニルアミドは、ベンズアルデヒドまたはそのハロゲン化誘導体と反応して、2 - フェニルキナゾリン - 4 - オールまたはそのハロゲン化誘導体 ( 中間体 A ) を与える。この中間体は、対応するアルコール化合物を調製するために塩基 ( 例えば、ナトリウムまたは水素化カリウムなどの水素化物 ) で処理し、続いてカルバモイル誘導体 ( X は、例えばハロゲン、好ましくは Cl である ) を添加して O - アミド化生成物を得る。塩化カルバモイルの窒素原子上の異なるアルキル基は、所望通り調製することができる。

## 【 0 1 2 9 】

塩基の性質は、特に限定しない。好ましい塩基としては、水素化物 ( 例えば、水素化ナトリウムまたは水素化カリウム ) が挙げられるが、これに限定されない。他の適切な塩基としては、非環状アミン ( 例えばトリメチルアミン、トリエチラミン、ジメチルフェニラミン、ジイソプロピルエチルアミンおよびトリブチルアミン ) から選択される第三アミン、環状アミン ( 例えば N - メチルモルホリン ) 、ならびに芳香族アミン ( 例えばジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジンおよびピリジン ) などの有機塩基が挙げられるが、これらに限定されない。

## 【 0 1 3 0 】

反応は、溶媒の存在または非存在下で行われることができる。溶媒を用いる場合、溶媒の性質は特に限定されないが、例としては、エステル ( 例えば酢酸エチル ) 、エーテル ( 例えばジメトキシエタン、THF ) 、塩素系溶媒 ( 例えばジクロロメタンまたはクロロホルム ) 、ジメチルホルムアミド ( DMF ) 、アセトニトリルもしくはトルエン、またはこれらの溶媒の互いの混合物などの溶媒が挙げられる。

## 【 0 1 3 1 】

一実施形態では、塩基は水素化カリウム ( KH ) であり、および溶媒はジメトキシエタン ( DME ) である。

## 【 0 1 3 2 】

本出願に引用されているすべての文献は、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、その全体を参照によって明白に組み込まれている。

## 【 0 1 3 3 】

本発明のいくつかの実施形態をより完全に例示するために、以下の実施例を示す。しかし、実施例は、本発明の広範な範囲を限定するものとして決して解釈されてはならない。当業者は、本発明の範囲から逸脱することなく、本明細書に開示される原則の多くの変更および修正を容易に考案することができる。

## 【0134】

## 実験の詳細

## 実施例1 - 生物学的アッセイのための材料および方法

## TSPO結合およびウエスタンブロットタンパク質分析

TSPO結合アッセイを利用して、本発明の化合物が前述の方法（Veenmanら2004；Levinら2005）に従って標準TSPOリガンドと競合することができるかどうか、品質管理で利用するか否かを決定した。手短に言うと、このアッセイは、標準放射性リガンド[<sup>3</sup>H]PK11195（1-（2-クロロフェニル）-N-メチル-N-（1-メチル-プロピル）-3イソキノリンカルボアミド）を利用し、TSPOへの結合において本発明の化合物が標準リガンを置換できる能力を測定する。標準放射性物質とTSPOの反応で得られる、放射性リガンド-受容体複合体の放射活性を測定することによって全放射性結合を決定した。標準放射性リガンドと検討した化合物をTSPOに加え、しばらくインキュベーションした後、得られたリガンド-受容体複合体の放射活性をカウンターの助けを借りて測定した。この放射活性は、標準放射性物質がTSPOに結合したことを示す。検討した化合物がTSPOにうまく結合すると、標準放射性物質がTSPOに結合するのが少なくなり、したがって測定される放射活性は低くなる。これは、50%阻害濃度（IC50）として表すことができる。これは生物的機能または生化学的機能を阻害する、この場合TSPOに結合する標準放射性リガンドの結合を阻害する際の化合物の有効性の基準である。IC50の導出値はKiであり、TSPOへの新規化合物の算出された結合親和性である。

10

20

## 【0135】

種々のヒトグリア型細胞株（T98G、U87MG、AI72、U118MG）ならびにヒトニューロン型の細胞株SH-SY5YとBe(2)-Cの細胞培養物を用いて新化合物を試験した。加えて、ラットグリオーマ細胞株C6を用いた。ラット由来のPC12細胞を、神経細胞の特性を示す別の細胞株として用いた。本出願者らも、遺伝子操作によって、改変型ラットC6グリア細胞株および改変型ヒトU118MGグリア型細胞株を生成した。両方ともTSPOの発現が少なく、本発明の化合物を含む、TSPOの特異的効果を検討することを可能にし、これまでに記述された方法によって行われることができる（Weisingerら, Biochemistry, 2004；43：12315-21；Levinら, 2005；Zenoら, 2009）。

30

## 【0136】

本発明の化合物の保護能力およびTSPOの関与を細胞培養における試験で、培養したグリア型および神経細胞型の細胞株を用い、標準方法に従って試験を行った（Kuglerら, 2008；Zenoら, 2009；Dadon-Nachumら, Stem Cell Rev, 2011；7：664-71）。さらに、初代細胞培養物も使用する（Banker, G.ら, Culturing Nerve Cells, 第2版, The MIT Press（1998）。処理は、（1）神経変性の特定の態様を模倣するために、グルタミン酸塩（35mM）、アミロイドペプチド（1-42）、NH<sub>4</sub>Cl、CoCl<sub>2</sub>および一酸化窒素（NO）ドナーへの曝露、（2）比較処置として、新規化合物による処置、および従来のTSPOリガンドによる処置、ならびに（3）遺伝子操作によるTSPOノックダウンを含んでいた。

40

## 【0137】

アッセイを行った技法およびパラメータを以下にまとめる：全タンパク質レベル（Bradford, Anal Biochem, 1976；72：248-54）；TSPOリガンド結合アッセイ（Kuglerら, 2008；Levinら, 2005；Danovichら, Eur Neuropsychopharmacol, 2008；18：24-33）、アポトーシスとネクローシスを含む細胞死および関連する分子生物学的過程（Soustielら, Neuropathol Appl Neurobiol, 2008；34：412-23；Soustielら, Exp Neurol, 2008；214：201-8；Zenoら, 2009）；ミトコンドリア膜電位崩壊（Chell

50



ira, Biochem Pharmacol. 2004; 68: 125 - 34; Kuglerら2008; Zenoら2009; ShargorodskyらApoptosis. 2012; 17: 647 - 65); 酸化ストレスの基準として活性酸素種 (ROS) 生成 (Veenmanら, 2008; Zenoら, 2009); TSPOノックダウン (Levinら, 2005; Zenoら, 2009); ミトコンドリアTSPOおよび関連するタンパク質の発現レベル (Veenmanら, 2002; Levinら2005; Veenmanら, 2008); RT-PCRおよびマイクロアレイ解析による遺伝子発現 (Bodeら, 2012; Veenmanら, 2012)。炎症、免疫応答、移動および細胞周期のパラメータも、試験する。すべてのこれらの方法は、化合物の品質管理に適用されることもできる。

10

#### 【0138】

データは、必要に応じて平均値  $\pm$  SDまたはSEMとして表される。必要に応じて、ボストホックテストを含む、一元配置分散分析または多変量分散分析を用いてデータを分析する。等分散性についてパートレット検定を用いて、適切なモデル、すなわちパラメトリックまたはノンパラメトリックを決定する。統計的有意性は、 $p < 0.05$  で定義する。

#### 【0139】

##### 動物試験

本明細書に記載のアッセイの場合、ラットでのカイニン酸の全身注射を適用し、および挫傷も処理した (Veenmanら2002; Soustielら, Neuropathol Appl Neurobiol. 2008; Soustielら, Exp Neurol. 2008)。これらのモデルは、脳内の定義された細胞死を極めて十分に示す。脳内の細胞死は、脳疾患に共通の進行する神経変性の主要な病理学的特徴である。本発明の化合物は、疾患および損傷後の進行する脳障害、例えば行動障害、の結果としての脳内の細胞死を阻止するようにデザインされているので、脳内の細胞死を示す動物モデルは、本発明の化合物の保護能力を示すために選ばれるモデルである。これらの理由から、ハンチントン病のためのR6-2モデルを選び、化合物1の有効性を試験し、および化合物1の有効性と、米国特許第8,541,428号(化合物A)、古典的TSPOリガンドPK11195、ならびに本明細書に開示した他の化合物の有効性とを比較した。化合物5および6も同じR6-2モデルで試験した。

20

#### 【0140】

##### 実施例2 - TSPOへのin vitro結合

上述のように、TSPOへの結合を [ $^3$ H] PK11195 ラジオアッセイを用いて評価した。本発明の化合物のTSPOへの結合および保護効果の結果を表1に示す。化合物1~8は、細胞培養において試験し、および望ましい化合物(すなわち、化合物1)も動物モデルで試験した。これらの化合物の構造を上を示す。表1は、米国特許第8,541,428号によって包含される化合物(化合物A)も含む。

30

#### 【0141】

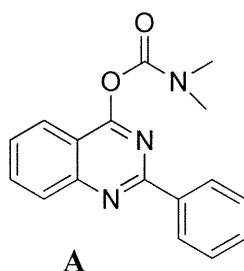
【表 1】

化合物	Ki (nM)	保護効果*
1	≈ 60	優
2	≈ 380	良
3	≈ 1506	良
4	≈ 45	良
5	≈ 600	優
6	≈ 60	優
7	≈ 2.5	良
8	≈ 2.5	良
A	≈ 600	良

\* グルタミン酸塩によって誘発される細胞死に対する保護

【0142】

【化5】



【0143】

本発明の化合物 1 と、米国特許第 8,541,428 号に例示されている化合物 A を比較すると、N - アミド部分のアルキル基の性質が化合物の T S P O への親和性に強い影響を及ぼすこと、最も重要なことは、不斉アミドが保護効果と T S P O への比較的高い親和性の組み合わせをもたらすことを示している。

したがって、どのような特定の機序または理論にも束縛されることを望むものではないが、不斉性が T S P O への親和性と細胞死から細胞を保護する能力の組み合わせにとって有益であると考えられる。この発見は完全に予想外であり、本発明の別の実施形態を表す。

【0144】

さらに、キナゾリン骨格に結合した回転可能なフェニル環に結合したハロゲンハロゲンは細胞保護効果を向上させる一方、T S P O 結合親和性を保持するように見えることが発見された(図 2 ~ 4 および 7 ~ 9)。したがって、ハロゲン置換基の式 (I) の化合物への結合は、さらなる改善、特に細胞死から保護するそれらの能力に関して、改善を可能にすることが考えられる。図 7 ~ 9 は、フェニル環でのハロゲン化が T S P O 親和性には必ずしも影響を及ぼすわけではないが、保護に関してプラス効果があることを示す。したがって、どのような特定の機序または理論にも束縛されることを望むものではないが、細胞死から細胞を保護する本発明の化合物の能力にとってハロゲン化が有益になり得ると考えられる。このさらなる発見は完全に予想外であり、本発明の別の実施形態を表す。

【0145】

さらに、不斉アミドと回転可能なハロゲン化フェニル基の組み合わせを有する化合物は、不斉アミドとハロゲンの両成分によって付与される利点を組み合わせ、特性を向上させることが可能である。

#### 【0146】

##### 実施例3：本発明の化合物の保護特性

本発明の化合物は、アストロサイト由来のU118MG細胞（図1、2、3および8）または神経細胞由来のSH-SY-6Y細胞（図4）の細胞培養においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死から保護する。図1は、TSPOに対して親和性が良く（表1）、細胞死およびグルタミン酸塩によって誘発される細胞死過程を阻害する化合物1を示す。図1Aに示すように、本発明の化合物1は、細胞培養において35mMのグルタミン酸塩によって誘発されるグリア細胞死から保護する（結果は $AVG \pm SD$ で示す）。対照群において、35mMのグルタミン酸塩は、細胞の約60%を死滅させた。化合物1は、10~100 $\mu$ Mの濃度でグリア細胞培養においてグルタミン酸塩によって誘発される細胞死から有意に保護する。比較すると、従来の化合物A（米国特許第8,541,428号）は、細胞死から保護することにおいて、予想外に効果がかなり低い（図8A）。\*  $p < 0.05$  対グルタミン酸塩曝露群（グルタミン酸塩）、\*\*\*  $p < 0.001$  対グルタミン酸塩群 # # #  $p < 0.001$  対溶媒対照群（対照）、各群について  $n = 12$ 。

#### 【0147】

さらに、図1Bに示すように、化合物1は、ミトコンドリア膜電位（ $m$ ）の崩壊を阻止する。この崩壊は、一般的にグルタミン酸塩によって誘発され、通常、TSPOの制御下にある（結果は $AVG \pm SD$ で示す）。化合物1は、このモデルにおいて25 $\mu$ Mの濃度で非常に効果的である（古典的TSPOリガンドPK11195で同じ効果を達成するには、50 $\mu$ Mの濃度を適用する必要がある（データ不図示））。

#### 【0148】

次に、蛍光染料10-N-ノニル-アクリジンオレンジ（NAO）を使用して、ミトコンドリアレベルで、活性酸素種（ROS）の生成を測定した。このROS生成は一般的にグルタミン酸塩によって誘発され、通常、TSPOの制御下にある。図1Cは、化合物1がミトコンドリアレベルで、グルタミン酸塩によって誘発されるROS生成を阻害することを示す（結果を $AVG \pm SD$ で示す）。図2は、TSPOに対して中等度の親和性を有する（表1）化合物2がU118MG細胞において細胞死を誘発するグルタミン酸塩に対して *in vitro* で強い保護特性を有することを示す。結果は $AVG \pm SEM$ で示す。\*\*\*：一元配置分散分析は、 $p < 0.0001$ を示し、ボンフェローニ多重比較検定は、グルタミン酸塩対グルタミン酸塩+化合物2（5~50 $\mu$ M）に対して  $p < 0.001$ を示した。図2において、白いカラムは、化合物なし（0）でまたは化合物2（1、5、10、25、50 $\mu$ M）と共にグルタミン酸塩への曝露を示す。黒いカラムは、化合物2のみでの処理を示す。

#### 【0149】

図3は、TSPOに対して親和性を有する（表1）化合物3がU118MG細胞において細胞死を誘発するグルタミン酸塩に対して *in vitro* で良好な保護特性を有することを示す。結果は $AVG \pm SEM$ で示す。\*\*\*：一元配置分散分析は、 $p < 0.0001$ を示し、ボンフェローニ多重比較検定は、グルタミン酸塩対グルタミン酸塩+化合物3（5~50 $\mu$ M）に対して  $p < 0.001$ を示した。図3において、白いカラムは、化合物なし（0）でまたは化合物3（1、5、10、25、50 $\mu$ M）と共にグルタミン酸塩への曝露を示す。黒いカラムは、化合物3のみでの処理を示す。

#### 【0150】

図4は、TSPOに対して良好な親和性を有する（表1）化合物4が *in vitro* でグルタミン酸塩の致死効果からSH-SY-6Y細胞株由来の神経細胞を保護することを示す。結果は $AVG \pm SEM$ で示す。 $n = 6$ 、\*  $p < 0.01$  ポストホックとしてマン・ホイットニー検定と共に一元配置分散分析。対照群：グルタミン酸塩を含まない。対照群：グルタミン酸塩曝露なし、および化合物4処理なし。化合物4群：化合物4の処

理のみ。グルタミン酸塩群：グルタミン酸塩曝露のみ。化合物 4 + グルタミン酸塩群：グルタミン酸塩処理と共にグルタミン酸塩曝露。

【0151】

これらの結果（図 1～4）に基づいて、有益効果が好ましい成分を決定するために、化合物 1 への系統的改変を検討し、化合物 1 に適用した（図 7～9）。

【0152】

図 7．化合物 A が化合物 1 と異なることは、化合物 1 の 1 つのメチル側鎖と 1 つのエチル側鎖（すなわち不斉アミド）の代わりに、化合物 A にはメチル側鎖が 2 つ（すなわち対称アミド）あることである。

【0153】

化合物 5 が化合物 1 と異なることは、化合物 1 の 1 つのメチル側鎖と 1 つのエチル側鎖の代わりに、化合物 5 にはメチル側鎖が 2 つ、および第 3（回転可能）フェニルの 2 位に置換された Cl があることである。

【0154】

化合物 6 が化合物 1 と異なることは、化合物 6 には第 3（回転可能）フェニルの 2 位に置換された Cl があることである。

【0155】

化合物 7 が化合物 1 と異なることは、化合物 1 の 1 つのメチル側鎖と 1 つのエチル側鎖の代わりに、化合物 7 にはエチル側鎖が 2 つあることである。

【0156】

化合物 8 が化合物 1 と異なることは、化合物 1 の 1 つのメチル側鎖と 1 つのエチル側鎖の代わりに、化合物 8 にはエチル側鎖が 2 つ、および第 3（回転可能）フェニルの 2 位に置換された Cl があることである。

【0157】

化合物 A および化合物 5（ $R^1$  と  $R^2$  がメチルである）は共に  $\pm 600 \text{ nM}$  の  $K_i$  を有することが判明した。

【0158】

さらに、化合物 1 および化合物 6（ $R^1$  がメチルであり、 $R^2$  がエチルである）は共に  $\pm 60 \text{ nM}$  の  $K_i$  を有することが判明した。

【0159】

さらに、化合物 7 および化合物 8（ $R^1$  と  $R^2$  がエチルである）は共に  $\pm 2.5 \text{ nM}$  の  $K_i$  を有することが判明した。

【0160】

図 8 A～F は、参照化合物 A（図 8 A）ならびに本発明の化合物 5、1、6、7 および 8（それぞれ図 8 B～F）の活性を示す。

【0161】

実験の準備を、例として図 8 B を使用して説明する：

- 1．対照群：細胞死レベルを 0 % とする。
- 2．グルタミン酸塩群：グルタミン酸塩によって誘発される細胞死レベルは 50 % 超である。
- 3．化合物 5 群：単独で、化合物 5 は 5 % 超のレベルの細胞死を誘発しない。
- 4．グルタミン酸塩 + 化合物 5 群：化合物 5 がグルタミン酸塩によって誘発される細胞死を防止する処置として与えられる場合、化合物 5 の濃度を上げることによって、細胞死のレベルが 50 % 超から 5 % 未満に減少する。

【0162】

（ $AVG \pm SD$ ）として表わす結果は、ハロゲン回転可能なフェニルに付加することによって保護が向上することを示す（図 8 A と 8 B、図 8 C と 8 D、および図 8 E と 8 F を比較する）。ハロゲン回転可能なフェニルに付加することによって、未処置細胞において高濃度で化合物の致死性も減少する（図 8 A と 8 B、図 8 C と 8 D を比較する）。さらに、アルキル側鎖に不斉性をもたせることによって、細胞死に対する保護が向上する（

10

20

30

40

50

例えば、図 8 A と 8 C および 8 B と 8 D を比較する)。アルキル修飾 (K i 約 60 nM) によってもたらされた「中等度」の親和性は、最適な保護をもたらす。#  $p < 0.05$  対溶媒対照群 (対照)、###  $p < 0.001$  対溶媒対照群 (対照)、\*  $p < 0.05$  対グルタミン酸塩曝露細胞群 (グルタミン酸塩)。

#### 【0163】

グルタミン酸塩が誘発する細胞死に対して 10、25、50 および 100  $\mu$ M の濃度で、十分かつ着実に保護する点において、化合物 1、5 および 6 は、化合物 A (米国特許第 8,541,428 号)、7 および 8 よりも優れているように見える。加えて、グルタミン酸塩が誘発する細胞死に対して 10、25、50 および 100  $\mu$ M の濃度で、通常、十分に保護する点において、化合物 6 は化合物 1 よりも優れているように見える。化合物 5 は、現在の実験において他の化合物よりも優れているように見える。

10

#### 【0164】

全体的に、化合物の望ましい効果は、以下の通りである：i) 化合物自体の致死効果が小さい、および ii) グルタミン酸塩によって誘発される細胞死レベルが着実に減少する。

#### 【0165】

以上のことから、およびどのような特定の理論または作用の機序にも束縛されることを望むものではないが、アルキル鎖  $R^1$ 、 $R^2$  を伸長すると、TSPO 結合が改善するように見える。

#### 【0166】

図 9. 100  $\mu$ M の化合物 A、1、5、6、7 および 8 の潜在的悪影響の詳細をさらに検討した。本発明の化合物にわずかな致死効果がある場合、第 3 の回転可能なフェニルのハロゲン化 (非限定的な例として Cl を用いることによる) によってさらに減少させることが可能である。

20

#### 【0167】

##### 実施例 4：薬物動態特性

1) 化合物 1 を腹腔内投与の部位から吸収する。マウスにおける半減期は 3.5 時間で良好。

2) かなり迅速に脳に送達される (濃度時間のプロファイルを各々経過観察する)。

3) 脳への摂取率は 0.2 である。

30

4) 皮下または腹腔内に注射した、使用する溶媒 DMSO / ゴマ油 (1 : 9) または DMSO 単独は、マウスおよびラットにおいて何ら有害作用を示さない。慢性的に皮下注射すると、ゴマ油は、注射したマウスの耳回りに脱毛を誘発することがある。したがって、溶媒の選択肢は純粋な DMSO である。マウスでは 10 ~ 20  $\mu$ L およびラットでは約 200  $\mu$ L の少量を、数週間から数ヶ月間にわたり一日 1 回注射する場合、そのような有害作用、または他の有害作用は生じることはないからである。

#### 【0168】

実施例 5 - ハンチントン病モデルのトランスジェニックマウスである R6 - 2 マウスにおいて寿命を延ばす化合物 1 の優れた効果

R6 - 2 は、ハンチントン病のトランスジェニックマウスモデルである。ヒトにおいてハンチントン病は、運動行為に影響を及ぼし、最終的にこの疾患を有する患者が死に至る、遺伝性の神経変性疾患である。R6 - 2 マウス (約 120 の CAG 反復、B6CBA-Tg (HDexon1) 62Gpb / 3J) を後述の実験で使用した。この目的のために、Jackson Laboratory (ME) から入手したマウスを飼育した。特に、遺伝子型：Tg (HDexon1) 62Gpb のヘテロ接合体の雄、および野生型背景の系統からの B6CBAF1 / J 雌を Jackson Laboratory のプロトコルに従って飼育した。ヘテロ接合体雄マウスの仔 (R6 - 2 マウス) を用いて、薬物処置の有無による、寿命および運動活性を測定した。薬物処置は、一日 1 回 (週に 5 日連続して)、マウスに各 20  $\mu$ L の生理食塩水 (偽対照群)、溶媒 DMSO (溶媒対照群)、古典的 TSPO リガンド PK11195 (15 mg / kg)、従来の化合物 A (15 mg /

40

50

kg)、化合物1(15mg/kg)および化合物1(7.5mg/kg)の皮下注射からなっていた。薬物処置は、出生後5週目に開始した。量は、TSPOリガンドに関する以前の研究に従って用いた。

#### 【0169】

行動実験は別として、マウスを毎日観察し、死亡日を書き留めた。行動実験には、オープンフィールド装置での走行距離、および振戦測定が含まれた。

#### 【0170】

##### オープンフィールド

オープンフィールドは、薄暗い部屋(50lx)に置かれた黒い光沢がないパースペックスボックス(50Lx50Wx40Hcm)でできており、黒色マウスとのコントラストを視覚的にわかりやすくするためにその床は白色のパースペックスから作られている。マウスは、オープンフィールドの隅に(壁に面して)置かれ、次いで5分間自由に探索できる。行動は、LemoineらPharmacology Biochemistry and Behavior, 1990; 36: 85-88に従って、CCTVパナソニックカメラでビデオ録画し、Ethovision XT7.0ソフトウェア(Noldus, The Netherlands)で録画後分析する。

#### 【0171】

##### 振戦装置

本発明のためのR6-2マウスの実験において振戦の出現をアッセイするために、圧力を与える力をニュートン単位でアッセイし、示すための用の特定のソフトウェアを用い、Kinder Scientific (Poway, CA)のStartle Monitorを使用した。

#### 【0172】

図5Aは、化合物1がR6-2マウスにおいて平均寿命を上げること示す。生理食塩水偽処置および溶媒DMSO処置を受けたトランスジェニックR6-2マウスによって表される対照群と比較すると、化合物1は、ハンチントン病のトランスジェニックR6-2モデルの偽処置マウスと溶媒処置マウスに比べ、平均寿命を上げている。このパラダイムにおいて、生理食塩水およびDMSOの効果は、互いに区別できない。化合物1の有益効果に関して、化合物1で処置されたR6-2マウスの死亡事象の開始は遅くなり、平均寿命は長くなる。これは対照群のR6-2マウスと比べると、かなり著しく有利である。y軸は、週当たりの生存動物のパーセンテージを示す。x軸は、生後週数を示す。すべての実験群について、50%生存カットオフを水平方向に延ばした黒い矢でマークをつける。各実験群について、この50%生存カットオフ値が達成された週は、関連する寿命曲線と同じ記号(正方形、三角形およびひし形、図5Aの図の説明を参照されたい)を示した縦方向矢印でマークをつける。9週目からの週当たりの平均生存に関して、化合物1群対生理食塩水群  $p < 0.01$  ;

化合物1群対DMSO群  $p < 0.05$  ; DMSO群対生理食塩水群のマウス数(n=8対9)。

#### 【0173】

図5Bは、化合物1と比較すると、従来の化合物Aは、R6-2マウスの寿命を伸ばすことにおいて予想外に著しく有効性が低い。実際に、化合物Aで処置を受けたR6-2マウスは、溶媒処置マウスならびに生理食塩水処置マウスと区別がつかない。同様に、古典的TSPOリガンドPK11195で処置を受けたR6-2マウスは、溶媒処置マウスならびに生理食塩水処置マウスと、寿命に関しても区別がつかない(データ図示せず)。

#### 【0174】

実施例6 - ハンチントン病のトランスジェニックマウスモデルであるR6-2において化合物1の歩行運動を向上させる優れた効果

図6. 化合物1はR6-2マウスの運動力を上げる。ハンチントン病のトランスジェニックR6-2モデルの非処置マウスおよび溶媒処置マウスに比べ、オープンフィールドで測定したように、化合物1は、その溶媒対照に比べ、R2-マウスの自発運動を有意に向

10

20

30

40

50

上させる。また、化合物 1 は、偽対照群（生理食塩水）に比べて、自発運動を向上させた。具体的には、第 1 のマウスの死亡が起こった 9 週目から、すべてのマウスが死亡した 16 週目まで、セッション当たり、実験群当たり、週当たり、オープンフィールドでの平均走行距離を cm で測定した。化合物 1 の適用に起因する有害反応は、観察されない。化合物 1 群対 DMSO 群  $p < 0.01$ ；化合物 1 群対生理食塩水群の傾向（図示せず）。比較すると、従来の化合物 A および PK11195 は、何ら歩行運動を向上させる効果（データ図示せず）を示さなかった。

#### 【0175】

実施例 7：化合物 1 は、細胞培養中で PC-12 細胞を、神経細胞分化を明らかにする伸長した神経突起を示す神経様細胞にトランスフォームすることができる（図 10）。手短に言うと、基本的の実施例 1 の細胞培養物に関して記載したように、グルタミン酸塩と組み合わせて、PC-12 細胞は化合物 1 に曝し、その状態で 5 日間そのままにしておいた。これにより、軸索様突出を有する神経様細胞がもたらされた（図 10）。

#### 【0176】

実施例 8：ハンチントン病のトランスジェニックマウスモデルである R6-2 において化合物 5 および 6 の寿命を延ばす優れた効果

実施例 5 に前述したように、R6-2 マウスを用いた。一実験において、処置は、一日 1 回（週に 5 日連続して）、マウスに各 20  $\mu$ L の溶媒 DMSO（対照群、 $n = 10$ ）および化合物 6（7.5 mg/kg、 $n = 12$ ）の皮下注射からなっていた。別の実験において、DMSO 対照群（ $n = 5$ ）と比べて、化合物 5（7.5 mg/kg、 $n = 5$ ）を試験した。

#### 【0177】

図 12 および 13 は、化合物 6 および 5（それぞれ）が、溶媒（DMSO）処置マウスと比べて、トランスジェニック R6-2 マウスの平均寿命を上げることを示す。

#### 【0178】

図 12 に示すように、溶媒（DMSO）処置したマウスの 50% が 10 週目になる前に死亡したが、化合物 6 で処置した R6-2 トランスジェニックマウスの 50% は、12 週目まで、まだ生存していた。y 軸は、週当たりの生存動物のパーセンテージを示す。x 軸は、生後週数を示す。50% 生存カットオフを水平方向の矢印でマークをつける。各実験群について、50% 生存カットオフを達成する週に縦方向矢印でマークをつける。生存動物の数に関して、共分散分析とウィルコクソンのマッチドペア符号順位検定を適用すると、化合物 6 で処置した R6-2 マウスと、DMSO（溶媒）注射した R6-2 マウスの間の有意差を示す： $p < 0.01$ 。処置の各週でマン-ホイットニー検定を適用すると、化合物 6 で処置した R6-2 マウス（12 週齢）の 50% 生存の週およびその後の週では、処置した R6-2 マウスと、溶媒注射した R6-2 マウスの間の差は、これらの 2 週のそれぞれで、有意であった  $p < 0.05$ 。溶媒注射した R6-2 マウスの死亡率勾配が化合物 6 で処置した R6-2 マウスの死亡率勾配よりも急であるか否かを判定するために、線形回帰モデルを適用した。両群の全生存期間を調べ、および診断の週（8 週目、その後最初の複数の動物が死亡）から溶媒処置 R6-2 マウスのすべてが死亡する（13 週目）までの限定期間も調べると、いずれの場合も、勾配間に有意差が認められる、 $p < 0.01$ （ $F =$  それぞれ、12.5 と 20.8）。

#### 【0179】

図 13 に示すように、溶媒（DMSO）処置マウスの 50% 未満は、11 週目になる前に死亡し、この時点で、化合物 5 で処置したマウスの 100% はまだ生存していた。さらに、12 週目に、溶媒（DMSO）処置マウスのすべてが死亡したが、化合物 5 で処置したマウスの 50% はまだ生存しており、同処置マウスの 20% は 18 週目まで生存し続けた。y 軸は、週当たりの生存動物のパーセンテージを示す。x 軸は、生後週数を示す。50% 生存カットオフを水平方向の矢印でマークをつける。各実験群について、50% 生存カットオフを達成する週に縦方向矢印でマークをつける。

#### 【0180】

## 実施例 9：合成プロトコル

空気に敏感な化合物および湿気に敏感な化合物に関与するすべての反応は、アルゴン雰囲気下で、加熱型フラスコ、乾燥した、空気を含有しない溶媒を用いて、行った。1, 2 - ジメトキシエタンをアルゴン下で  $C_6H_6$  から蒸留した。フラッシュクロマトグラフィ (FC) は、シリカゲル 60 (230 ~ 400 メッシュ) を使用して行った。薄層クロマトグラフィは、プレコート (シリカゲル 60、0.025 mm) したプレートを使用して行った。すべての NMR スペクトルは、室温で、Bruker - Avance - 300 装置を用いて、それぞれ 300 MHz ( $^1H$ ) または 75 MHz ( $^{13}C$ ) の動作周波数で記録した。化学シフトは重水素化溶媒の残存プロトンまたは炭素共鳴を参照する ( $^1H$  NMR の場合、クロロホルム = 7.24 またはプロトン分離  $^{13}C$  NMR の場合、= 77.00、および (J) は (Hz) である)。

## 【0181】

## 基本手順 (スキーム 1)

本発明の化合物は、一般に、上述のスキーム 1 および以下のスキーム 2 に記載の方法によって調製することができる。手短に言うと、アルゴン下で 1, 2 - ジメトキシエタン (DME) 30 mL 中の水素化カリウムの懸濁液 (6.75 mmol) に、アルコール (4.5 mmol) を一度に加える。この反応混合物を室温で 30 分間攪拌し、これに塩化カルバモイル (7 mmol) を加える。反応混合物は、反応が完了するまで 2 ~ 5 時間、還流させる (TLC でモニターする)。この反応を 30 mL の水で慎重にクエンチし、続いてジクロロメタン (または酢酸エチル) で抽出する。混合有機相を  $MgSO_4$  上で乾燥させ、次いで溶媒を減圧下で蒸発させる。結果として生じる粗生成物は、溶離液としてヘキサン / EtOAc (化合物 1、2、3 および 4 の場合は 2 / 1、化合物 5、6、7 および 8 の場合は、85 / 15) を用いてシリカゲルクロマトグラフィーによって精製する。精製後、純粋化合物を DCM / 酢酸エチル / n - ペンタンで結晶化させて、固形の化合物を得た。

## 【0182】

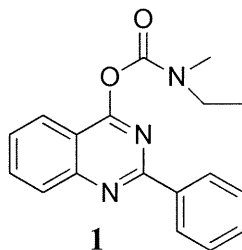
方法を化合物 1 用に以下に例示する。しかし、本発明の他の化合物は、スキーム 1 および 2 に全般的に説明した同様の方法によって調製することもできる。

## 【0183】

2 - フェニルキナゾリン - 4 - イル エチル (メチル) カルバマ - ト (化合物 1) :

## 【0184】

## 【化 6】



表題の生成物は、65% の収率で白色固形として得た。 $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) 1.32 (t, J = 7 Hz, 1.5 H, 回転異性体 1), 1.33 (t, J = 7 Hz, 1.5 H, 回転異性体 2), 3.12 (s, 1.5 H, 回転異性体 1), 3.13 (s, 1.5 H, 回転異性体 2), 3.50 - 3.59 (m, 2 H), 7.45 - 7.50 (m, 3 H), 7.54 - 7.59 (m, 1 H), 7.85 - 7.90 (m, 1 H), 8.04 - 8.09 (m, 2 H), 8.51 - 8.55 (m, 2 H)。  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ) 12, 23 (回転異性体 1), 13.40 (回転異性体 2), 34.40 (回転異性体 1), 34.46 (回転異性体 2), 44.55 (回転異性体 1), 44.84 (回転異性体 2), 115.81 (回転異性体 1), 116.19 (回転異性体 2), 123.25 (回転異性体 1), 123.29 (回転異性体 2), 127.11 (回転異性体 1), 127.15 (回転異性体 2), 128.28 (回転異



性体 1), 12.32 (回転異性体 2), 128.36, 128.56 (回転異性体 1), 128.59 (回転異性体 2), 130.63, 134.21, 137.28, 153.12 (回転異性体 1), 153.20 (回転異性体 2), 160.26 (回転異性体 1), 160.34 (回転異性体 2), 164.05 (回転異性体 1), 164.14 (回転異性体 2), 179.10。HRMS (ESI):  $C_{18}H_{18}N_3O_2$  の算出総質量  $[M+H]^+$ : 308.1399; 実測値: 308.1350。化合物 1 は、ヘキサン/EtOAc (1:3) から再結晶することができる。

【0185】

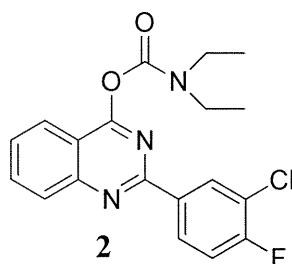
X線で決定した化合物 1 の構造を図 11 に球棒表示で表す。

【0186】

2 - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) キナゾリン - 4 - イル ジエチルカルバマート [化合物 2]:

【0187】

【化 7】



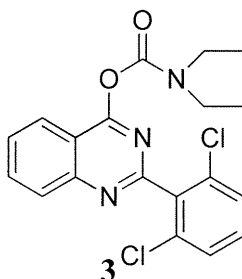
表題の生成物は、57%の収率で白色固形として得た。 $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) 1.24 - 1.43 (m, 6H), 3.41 - 3.60 (m, 4H), 7.22 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.59 (dd,  $J = 8.2$  & 7.0 Hz, 1H), 7.89 (ddd,  $J = 8.6$ , 6.9 & 1.5 Hz, 1H), 8.05 (dd,  $J = 9.9$  & 8.4 Hz, 2H), 8.43 (ddd,  $J = 8.7$ , 4.9 & 2.1 Hz, 1H) および 8.61 (dd,  $J = 7.4$  & 2.2 Hz, 1H)。HRMS (ESI):  $C_{19}H_{17}ClFN_3O_2$  の算出総質量  $[M+H]^+$ : 373.0993; 実測値: 374.1031。

【0188】

2 - (2, 6 - ジクロロフェニル) キナゾリン - 4 - イル ジエチルカルバマート (化合物 3):

【0189】

【化 8】



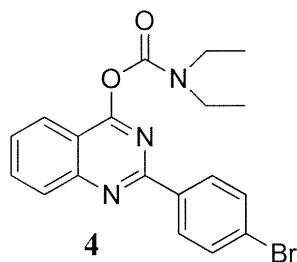
表題の生成物は、63%の収率で白色固形として得た。 $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) 1.23 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.30 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 3.38 - 3.54 (m, 4H), 7.25 - 7.42 (m, 3H), 7.70 (dd,  $J = 8.3$  & 7.0 Hz, 1H), 7.95 (ddd,  $J = 8.6$ , 6.9 & 1.5 Hz, 1H) および 8.13 (dd,  $J = 9.4$  & 8.4 Hz, 2H)。HRMS (ESI):  $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_2$  の算出総質量  $[M+H]^+$ : 390.0698; 実測値: 390.0769。

【0190】

2 - ( 4 - ブロモフェニル ) キナゾリン - 4 - イル ジエチルカルバマート [ 化合物 4 ] :

【 0 1 9 1 】

【 化 9 】



10

表題の生成物は、60%の収率で白色固形として得た。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 1.13 - 1.26 (m, 6H), 3.34 - 3.46 (m, 4H), 7.46 - 7.51 (m, 2H), 7.53 (d,  $J = 6.5\text{ Hz}$ , 2H), 7.75 (t,  $J = 5.2\text{ Hz}$ , 1H), 7.92 (t,  $J = 5.2\text{ Hz}$ , 1H) および 8.37 (d,  $J = 6.5\text{ Hz}$ , 2H)。 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (ppm): 12.7, 14.0, 42.2, 42.3, 115.7, 123.0, 125.1, 127.9, 129.8, 131.2, 134.0, 135.9, 152.7, 159.0 および 163.9。MS:  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_2\text{Br}$  の算出  $m/z$  値:  $[\text{M} + \text{H}]^+ 399.06$ ; 実測値: 399.9。

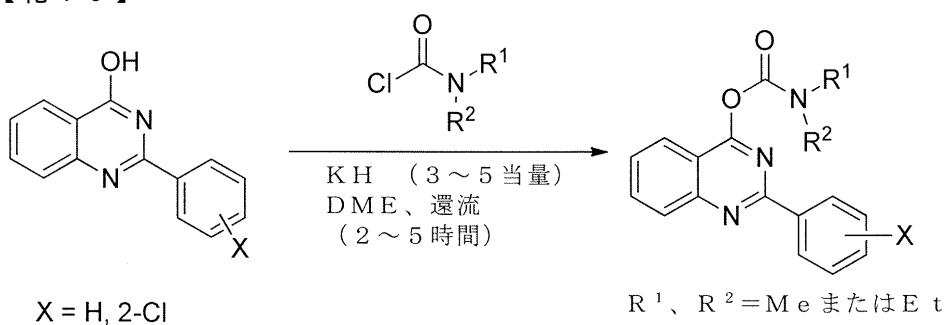
20

【 0 1 9 2 】

化合物 5 ~ 8 の合成のための全般的な反応:

【 0 1 9 3 】

【 化 1 0 】



30

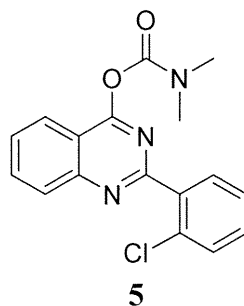
スキーム 2

【 0 1 9 4 】

2 - ( 2 - クロロフェニル ) キナゾリン - 4 - イル ジメチルカルバマート ( 化合物 5 ) :

【 0 1 9 5 】

【 化 1 1 】



40

表題の生成物は、47%の収率で白色固形として得た。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 3.10 (s, 3H), 3.16 (s, 3H), 7.31 - 7.42 (m, 2H), 7.44 - 7.51 (m, 2H), 7.65 (dd,  $J = 8.6 \& 7.2\text{ Hz}$

50

, 1 H), 7.80 - 7.87 (m, 1 H), 7.92 (t, J = 7.8 Hz, 1 H), 8.05 - 8.21 (m, 2 H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 37.34, 116.20, 123.61, 127.00, 130.60, 130.77, 132.26, 133.26, 134.78, 137.73, 152.11, 153.04, 161.17 および 164.11. HRMS (ESI):  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2$  の算出総質量  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 327.0775; 実測値: 327.0000.

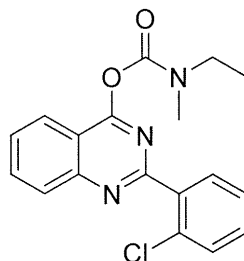
【0196】

2 - (2 - クロロフェニル) キナゾリン - 4 - イル エチル (メチル) カルバマート (化合物 6)

【0197】

【化12】

10



6

表題の生成物は、65%の収率で白色固形として得た。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1.17 - 1.32 (m, 3 H), 3.04 および 3.08 (2s, 3 H), 3.38 - 3.58 (m, 2 H), 7.33 (dd, J = 7.0 & 3.2 Hz, 2 H), 7.40 - 7.50 (m, 1 H), 7.61 (dd, J = 8.6 & 7.4 Hz, 1 H), 7.78 - 7.84 (m, 1 H), 7.88 (dd, J = 9.4 & 7.2 Hz, 2 H) および 8.08 (dd, J = 9.5 & 7.2 Hz, 2 H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.43 & 13.65, 34.64 & 34.74, 44.82 & 45.12, 116.07 & 116.36, 123.52 & 123.57, 126.92, 128.13 & 128.19, 128.60, 130.52, 130.71, 132.23, 133.23, 134.68, 137.70 & 137.72, 151.71 & 151.92, 152.95 & 152.99, 161.09 & 161.15, 164.11 & 164.19. HRMS (ESI):  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$  の算出総質量  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 341.0931; 実測値: 341.0000.

20

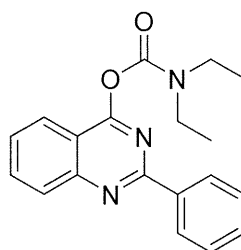
30

【0198】

2 - フェニルキナゾリン - 4 - イル ジエチルカルバマート (化合物 7)

【0199】

【化13】



7

表題の生成物は、60%の収率で白色固形として得た。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1.19 - 1.42 (m, 6 H), 3.32 - 3.68 (m, 4 H), 7.36 - 7.63 (m, 4 H), 7.85 (t, J = 6.7 Hz, 1 H), 8.05 (d, J = 8.3 Hz, 2 H) および 8.51 (dd, J = 6.6 & 3.0 Hz, 2 H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 13.41 & 14.65, 42.90 & 43.00, 116.37, 123.61, 127.42, 128.61, 128.67,

40

50

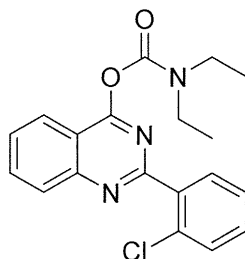
128.91, 130.94, 134.49, 137.63, 151.82, 153.46, 160.63および164.57。HRMS (ESI):  $C_{19}H_{19}N_3O_2$  の算出総質量  $[M+H]^+$ : 321.1477; 実測値: 321.0000。

【0200】

2-(2-クロロフェニル)キナゾリン-4-イル ジエチルカルバマート(化合物8):

【0201】

【化14】



8

表題の生成物は、69%の収率で白色固形として得た。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ) 1.02 - 1.55 (m, 6H), 3.23 - 3.76 (m, 4H), 7.26 - 7.40 (m, 2H), 7.41 - 7.53 (m, 1H), 7.57 - 7.72 (m, 1H), 7.75 - 7.97 (m, 2H) および 8.01 - 8.27 (m, 2H)。  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ) 13.25 & 14.55, 42.85, 116.27, 123.50, 126.86, 128.10, 128.55, 130.47, 130.68, 132.23, 133.21, 137.66, 151.55, 152.92, 161.08 および 164.20。HRMS (ESI):  $C_{19}H_{18}ClN_3O_2$  の算出総質量  $[M+H]^+$ : 355.1088, 実測値: 355.0000。

【0202】

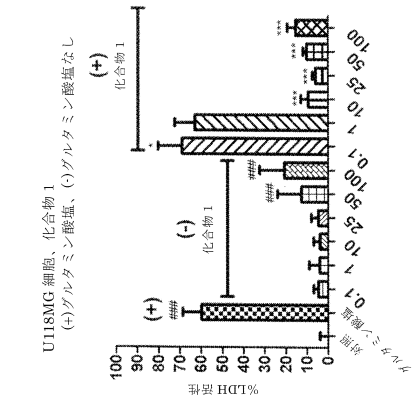
本発明のいくつかの実施形態を例示し、説明したが、本発明が本明細書に記載の実施形態に限定されないことは明白である。添付の特許請求の範囲に記載の本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく、多数の修正、変更、変化、置換および均等物は当業者にとって明らかであろう。

10

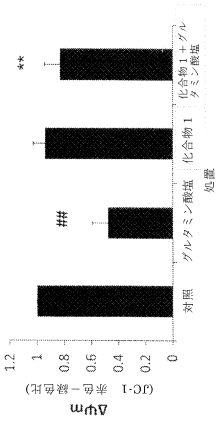
20

30

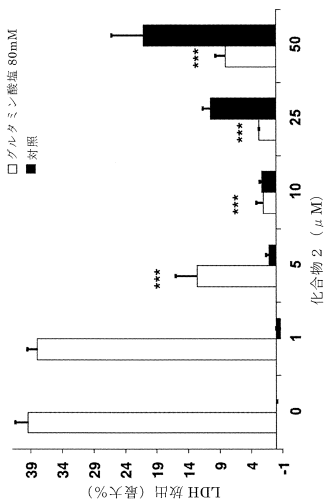
【図 1 A】



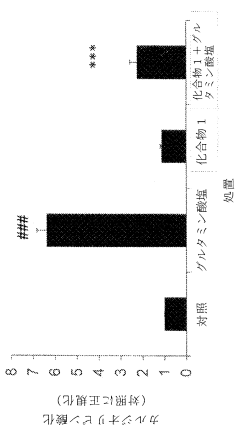
【図 1 B】



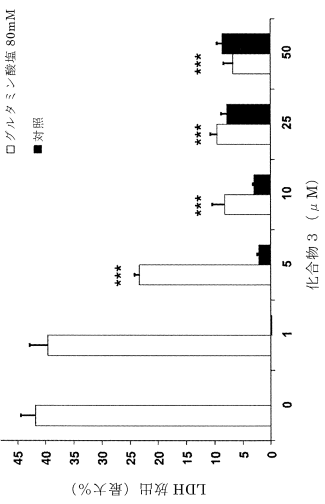
【図 2】



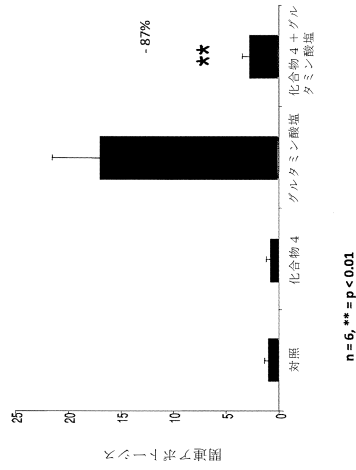
【図 1 C】



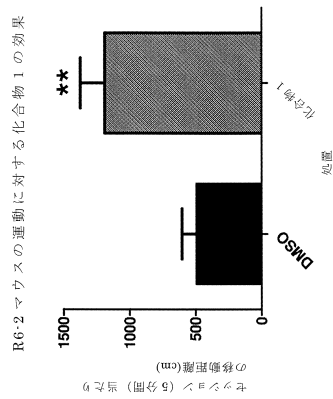
【図 3】



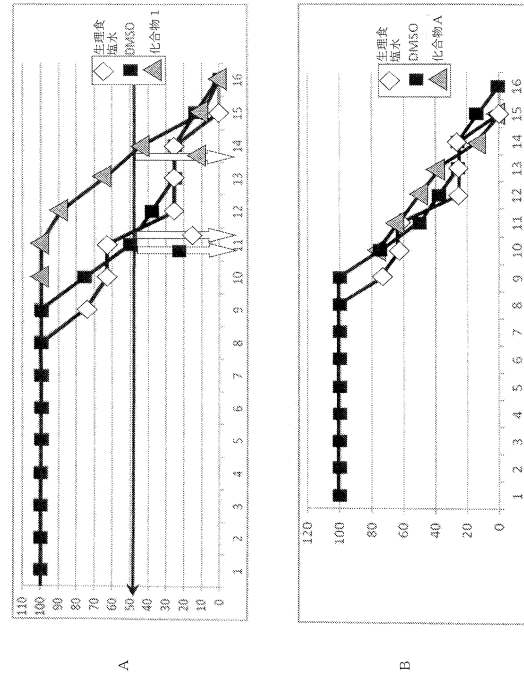
【図 4】



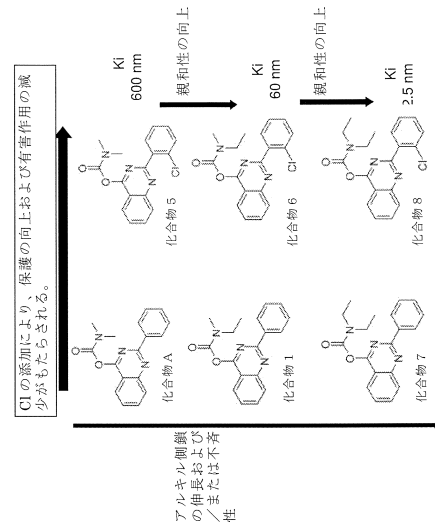
【図 6】



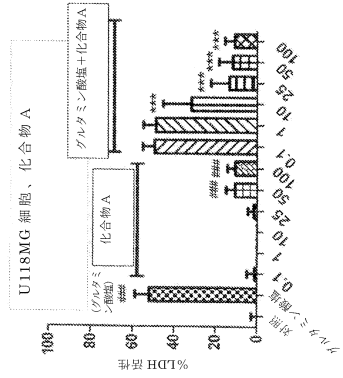
【図 5】



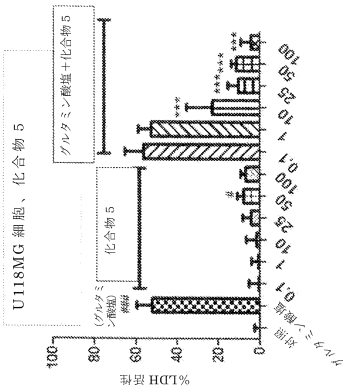
【図 7】



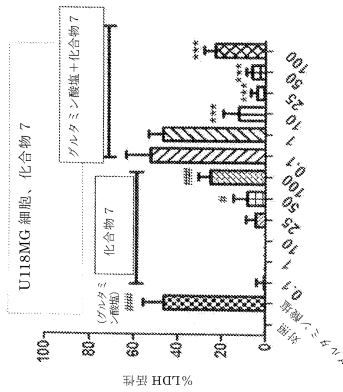
【図 8 A】



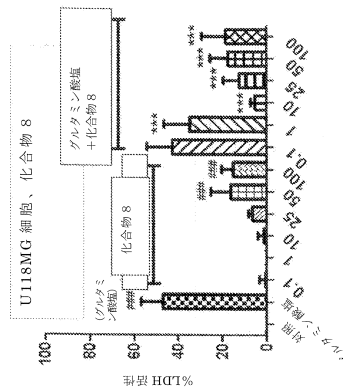
【図 8 B】



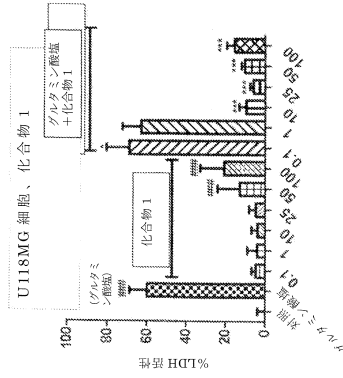
【図 8 E】



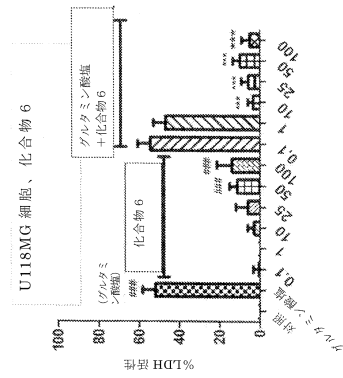
【図 8 F】



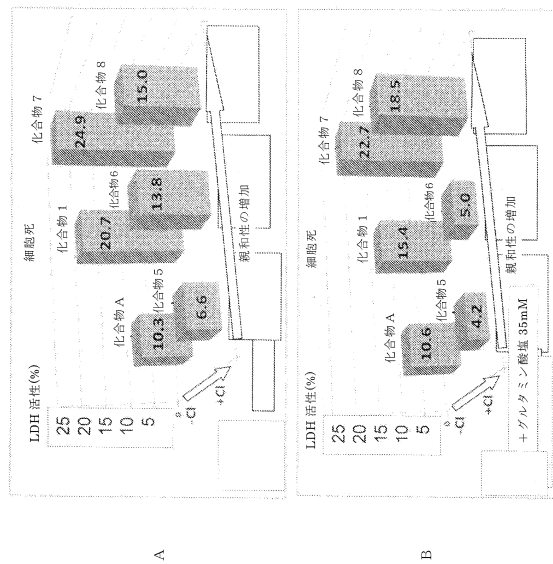
【図 8 C】



【図 8 D】

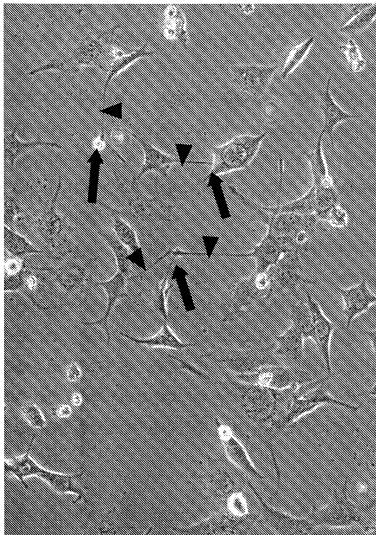


【図 9】



【図 10】

化合物 1 の適用による PC12 細胞の分化



【図 11】

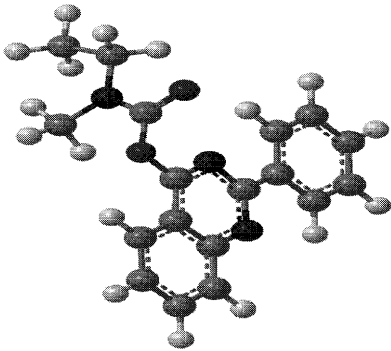
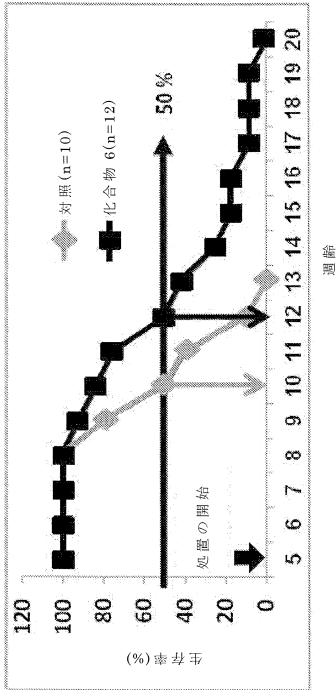
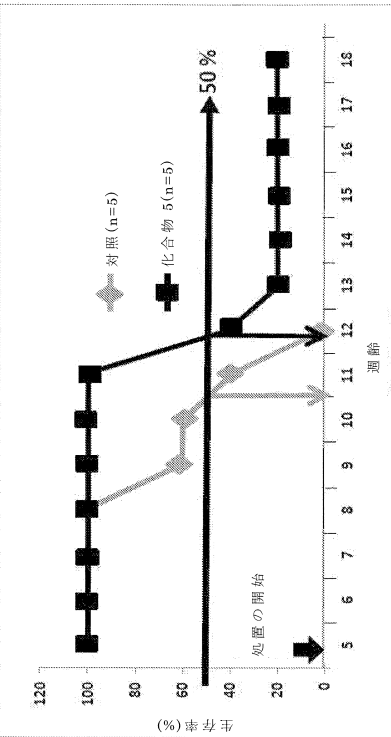


Figure 11

【図 12】



【図 13】





## 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 37/06 (2006.01)		A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 25/02 (2006.01)		A 6 1 P 25/02	1 0 3
A 6 1 P 25/20 (2006.01)		A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)		A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/04 (2006.01)		A 6 1 P 9/04	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)		A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)		A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 33/02 (2006.01)		A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 25/18 (2006.01)		A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 27/16 (2006.01)		A 6 1 P 27/16	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)		A 6 1 P 3/00	

- (72)発明者 ゲイヴィッシュ、モシュ  
イスラエル国、6 2 1 5 7 1 5 テルアビブ、6 2 ピンカ ストリート
- (72)発明者 ヴィーンマン、ジェフダ アリー (レオ)  
イスラエル国、2 2 2 4 9 0 2 ナハリヤ、3 / 3 イェッキアム ストリート
- (72)発明者 シュテルベルグ、アレックス  
イスラエル国、4 9 3 8 1 2 4 ベター テイクワ、6 ウズィエル ストリート
- (72)発明者 マレク、イラン  
イスラエル国、3 4 4 0 0 0 9 ハイファ、9 ビッツォ ストリート
- (72)発明者 ワインシテイン、アレックス  
イスラエル国、3 5 8 4 7 0 7 ハイファ、5 ハロテム ストリート
- (72)発明者 アヴィタル、アブラハム  
イスラエル国、3 6 5 8 9 0 0 サリド、1 1 ハトズィボニ ストリート

審査官 水島 英一郎

(56)参考文献 国際公開第2 0 0 8 / 0 2 3 3 5 7 (WO, A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D  
C A p l u s ( S T N )  
R E G I S T R Y ( S T N )