

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6867165号
(P6867165)

(45) 発行日 令和3年4月28日 (2021.4.28)

(24) 登録日 令和3年4月12日 (2021.4.12)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 31/444 (2006.01) A 6 1 K 31/444
A 6 1 P 27/02 (2006.01) A 6 1 P 27/02

請求項の数 8 (全 24 頁)

(21) 出願番号	特願2016-570312 (P2016-570312)	(73) 特許権者	506367238
(86) (22) 出願日	平成27年6月1日 (2015.6.1)		ダルハウジー ユニバーシティー
(65) 公表番号	特表2017-516815 (P2017-516815A)		カナダ国 ビー3エイチ 4アール2 ノ
(43) 公表日	平成29年6月22日 (2017.6.22)		バ スコシア, ハリファックス, サマー
(86) 国際出願番号	PCT/CA2015/050503		ストリート 1 3 4 4, スイート 2
(87) 国際公開番号	W02015/184541		0 7
(87) 国際公開日	平成27年12月10日 (2015.12.10)	(74) 代理人	100078282
審査請求日	平成30年5月22日 (2018.5.22)		弁理士 山本 秀策
(31) 優先権主張番号	62/006, 779	(74) 代理人	100113413
(32) 優先日	平成26年6月2日 (2014.6.2)		弁理士 森下 夏樹
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100181674
			弁理士 飯田 貴敏
		(74) 代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 S 1 P R 2 の阻害による家族性滲出性硝子体網膜症の処置

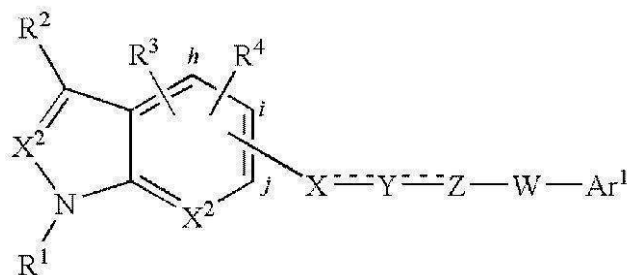
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

家族性滲出性硝子体網膜症 (F E V R) の処置における使用のための、S 1 P R 2 阻害剤を含む薬学的組成物であって、前記 S 1 P R 2 阻害剤が、式 (I I) :

【化 1】

式 II

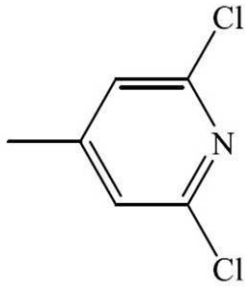


10

の化合物であって、
 式中、
 A r ¹ は、

20

【化 1 - 1】



10

であり；

Wは、 NR^a —であり、ここで、 R^a は、独立して水素および $\text{C}_1 - \text{C}_3$ アルキルから選択され；

Zは、 $-\text{C}(=\text{O})-$ であり；

Yは、 $-\text{NR}^a$ —であり、ここで、 R^a は、独立して水素および $\text{C}_1 - \text{C}_3$ アルキルから選択され；

Xは、 $-\text{CH}_2-$ であり；

R^1 は、 CH_3 であり；

R^2 は、 CH_3 であり；

20

R^3 は、イソプロピルであり、hに位置し；

R^4 は、Hであり；

X^2 はどちらの場合も、Nである、化合物である、薬学的組成物。

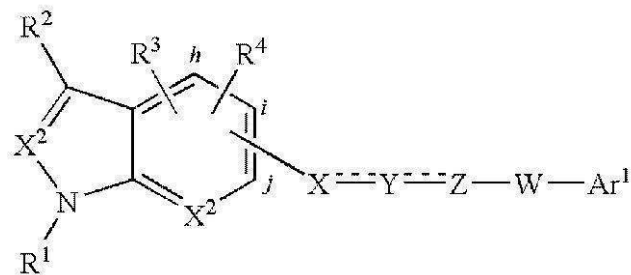
【請求項 2】

家族性滲出性硝子体網膜症（FEVR）の処置ための医薬の製造のための、S1PR2阻害剤の使用であって、前記S1PR2阻害剤が、式（I I）：

【化 2】

式 II

30



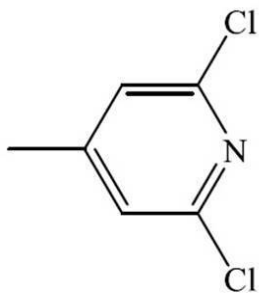
の化合物であって、

式中、

Ar^1 は、

40

【化 2 - 1】



10

であり；

Wは、 NR^a - であり、ここで、 R^a は、独立して水素および $\text{C}_1 - \text{C}_3$ アルキルから選択され；

Zは、 $-\text{C}(=\text{O})-$ であり；

Yは、 $-\text{NR}^a$ - であり、ここで、 R^a は、独立して水素および $\text{C}_1 - \text{C}_3$ アルキルから選択され；

Xは、 $-\text{CH}_2-$ であり；

R^1 は、 CH_3 であり；

R^2 は、 CH_3 であり；

20

R^3 は、イソプロピルであり、h に位置し；

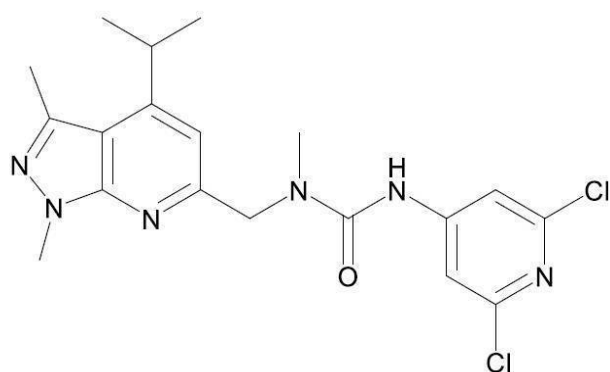
R^4 は、H であり；

X^2 はどちらの場合も、N である、化合物である、使用。

【請求項 3】

前記 S 1 P R 2 阻害剤が、

【化 3】



30

である、請求項 1 に記載の使用のための薬学的組成物。

【請求項 4】

40

前記 S 1 P R 2 阻害剤が、

CC(C)c1cc2c(c1)cnc2N(C)CNC(=O)N(C)c3cc(Cl)nc(Cl)c3

である、請求項 1 に記載の使用のための薬学的組成物。

前記 S 1 P R 2 阻害剤が、

CC1=C(C)N2C(=C1)N(C)C=C2CN(C)C(=O)N(C)c3cc(Cl)nc(Cl)c3

である、請求項 1 に記載の使用のための薬学的組成物。

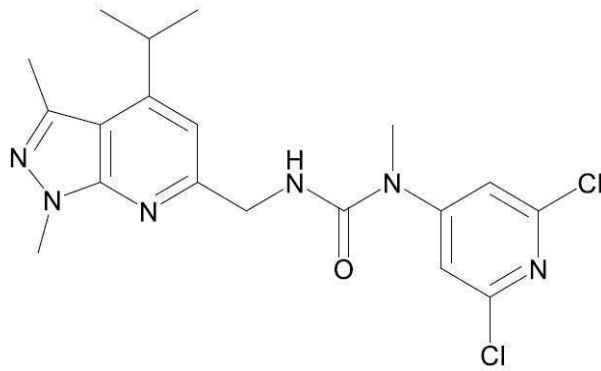
前記 S 1 P R 2 阻害剤が、

CC(C)c1cc2c(c1)c3c(ncn3C)cc2CCN(C)C(=O)Nc4cc(Cl)nc(Cl)c4

である、請求項 2 に記載の使用。

前記 S 1 P R 2 阻害剤が、

【化 7】



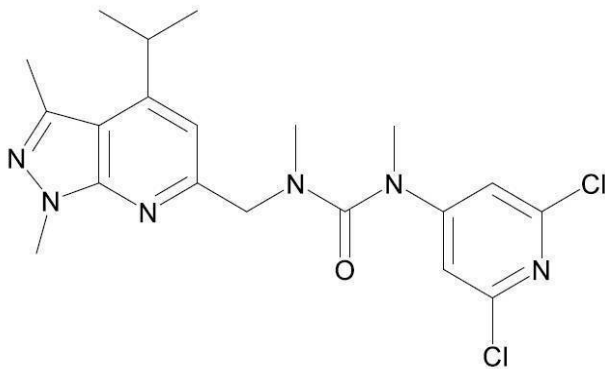
10

である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 8】

前記 S 1 P R 2 阻害剤が、

【化 8】



20

である、請求項 2 に記載の使用。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

この出願は、2014年6月2日に提出された「TREATMENT OF FAMILIAL EXUDATIVE VITREORETINOPATHY THROUGH S1PR2 INHIBITION」との表題の仮出願第62/006,779号（これは、その全体が参考として本明細書に援用される）の利益を主張する。

【0002】

技術の分野

40

本技術は、概して、網膜血管障害を処置するための方法、より詳細には、S1PR2の阻害によって家族性渗出性硝子体網膜症（FEVR）および未熟児網膜症（ROP）を処置するための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

網膜は、視覚的刺激の感知に関わる眼の裏側を裏打ちしている神経組織の薄い層である。発生において、網膜血管系は、内皮発芽（endothelial sprout）から始まり、その内皮発芽は、視神経円板から網膜末梢へと放射状に外向きに突き出す主要な動脈および静脈を定め、中央のニューロン層のいずれかの側に位置する一対の毛細血管

50

床が、さらに網膜に貫入する。網膜血管系のパターン形成は、成長中の血管系の前端部における特殊な内皮細胞である先端細胞 (tip cell) が感知する血管内皮成長因子 (VEGF) の勾配を誘導する組織低酸素によって初めて駆動されるガイダンスキューによって制御される。先端細胞は、それらの先端細胞の後に続く内皮柄細胞 (endothelial stalk cell) とともに、既存のアストロサイトネットワークに沿って遊走する。主要な血管系は、いったん所定の位置に置かれると、成熟して動脈および静脈を規定し、新生ネットワークが削られ、血液網膜関門が形成される。血管平滑筋細胞および周皮細胞 (毛細血管の内皮細胞を包み込む収縮性の細胞である壁細胞としても知られる) のリクルートメントは、新しく形成された血管の安定化を助ける。眼の血管の発生を制御する分子機構は、十分に理解されていない。

10

【0004】

ヒトにおいて、網膜血管の発生は、通常、満期産頃に完了するが、家族性滲出性硝子体網膜症 (familial exudative vitreoretinopathy) (FEVR) などの網膜の発生障害では遅れるかまたは停止する。FEVRは、末梢網膜の血管新生不全に起因する網膜の低血管新生 (hypovascularization) に続く続発性の異常な新生血管形成を特徴とする。重症型のFEVRは、両側性の先天網膜ひだまたは網膜剥離を呈する (図1)。現在、FEVRの管理は、レーザーおよび手術によって行われている。介入によって、視力を維持する可能性は改善されるが、現在の最善の努力にもかかわらず、75%超の眼が法的に盲のままである。1つの研究が、FEVR患者のために、ベバシズマブ (本来は癌を処置するために開発された、VEGF機能を阻害するモノクローナル抗体であるAvastin) での眼への注射をした後の網膜出血および新生血管形成の改善を記載したが、しかしながら、FEVRの回復における抗VEGF剤の役割は不明なままであり、広く採用されていない。現在も介入のオプションが存在するにもかかわらず、FEVR患者の大部分が失明している。この状態に対する概念 (idea) 処置は、合併症が全体で進行するのを妨げ得る治療による早期の介入とともに早期の検出を必要とし得る。

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

概要

30

本開示のさらなる特徴および利点は、以下の説明に示され、その説明から部分的に明らかになるか、または本明細書中に開示される原理の実施によって知ることができる。本開示の特徴および利点は、添付の特許請求の範囲において特に指摘されている手段および組み合わせを用いて実現し、得ることができる。本開示のこれらの特徴および他の特徴は、以下の説明および添付の特許請求の範囲からさらに十分に明らかになるか、本明細書中に示される原理の実施によって知ることができる。

【0006】

変異したときFEVRを引き起こす遺伝子の発見によって、網膜血管の発生を制御する分子経路の理解が進んだ。現在までに、FEVRを引き起こす遺伝子が5つ同定された: FZD4、LRP5、TSPAN12、NDPおよびZNF408。この5つの既知のFEVR原因遺伝子のうち4つが、frizzled受容体シグナル伝達複合体を形成する (図2)。FZD4は、通常、Wntファミリーのリガンドによって活性化される7回膜貫通受容体のfrizzledファミリーの一部である。FZD4は、NDP遺伝子の産物である非Wntリガンドnorrinによって特異的に活性化されるという点において、frizzled受容体ファミリーの中でも独特である。Norrinは、ミュラーグリア細胞から分泌され、血管内皮細胞上に位置するFZD4受容体に結合する。LRP5は、FZD4に対する共受容体であり、FZD4が機能するのに必要である。TSPAN12は、内皮細胞において特異的に発現され、FZD4に直接結合し、norrinとFZD4とLRP5との間の相互作用を増強する。ほとんどのfrizzled受容体と同様に、FZD4シグナルは、 $\square$ -カテニンシグナル伝達経路を介して伝達される。サイト

40

50

ゾルの□-カテニンが、数多くの遺伝子の転写に影響する核にトランスロケーションすることは、f r i z z l e d受容体シグナル伝達の背景にある主要な駆動因子である（図2）。

【0007】

F z d 4、T s p a n 1 2、L r p 5およびN d pに対するマウスノックアウトモデルは、F E V R患者において観察される眼の表現型の正確な模倣として役立つ。これらのモデルは、F E V R表現型の詳細な解析を可能にした。これらのマウス研究からの重要な知見は、F E V Rのマウスモデルでは網膜血管系が損なわれているにもかかわらず、その網膜自体は形態学的に正常に見えることから、網膜の虚血に起因する視力喪失を逆転させ得る介入の治療機会（w i n d o w o f o p p o r t u n i t y）が提供されるということであった。

10

【0008】

未熟児網膜症（R O P）は、F E V Rと表現型がかなり重複する、早産で生まれた乳児の網膜血管系に影響する障害である。R O Pを有する乳児は、網膜の無血管帯を有し、続発性の異常な新生血管形成およびその後の網膜剥離を発症するリスクがある。重度のR O Pの処置としては、レーザーおよびベバシズマブが挙げられる。最近の研究は、現行の処置が、患者の約1／3において、20／40またはそれより良好な視力をもたらすことを示唆しているが、約1／4が、法的に盲である。処置にもかかわらず、重度のR O Pを発症している早産児の約2／3が運転視力基準を満たさず、約50％が、重度の視力障害を有したままであり得る。その視力喪失のいくつかの原因は、早産の神経性合併症にあり得るが、ほとんどの視力喪失は、網膜の状態と相関する。

20

【0009】

R O Pの厳密な病因は、現在不明である。しかしながら、F E V R原因遺伝子における多型が、重度のR O Pを有する患者において同定されたので、R O PとF E V Rとの間の潜在的な分子の関連を記載する証拠がある。さらに、げっ歯類R O Pモデルでは、F z d 4およびL r p 5の発現はダウンレギュレートされ、これは、R O P表現型に寄与するF Z D 4シグナル伝達の減少と一致する。この関連をさらに確かめ、そして最初の機能的データを付け加えるために、ヒトR O Pを模倣するために用いられる眼虚血性網膜症（O I R）の十分に確立されたマウスモデルにおいて、血管閉塞およびその後の新生血管形成の程度を、野生型マウスおよびF z d 4⁺／⁻（ヘテロ接合性）マウスにおいて決定した。F z d 4⁺／⁻マウスは、野生型マウスと比べて、室内空気への再曝露後の血管新生の回復が不完全であると観察された（図3）。F E V R原因遺伝子とR O Pの重症度との間の関連に加えて、F E V RとR O Pの臨床的提示が似ていることは、F E V Rに対する治療が、R O Pの処置に有効であり得ることを予測する。F E V Rの処置は、糖尿病性網膜症などの他の網膜血管障害にも転用され得る。

30

【0010】

スフィンゴシン-1-ホスフェート（S 1 P）は、スフィンゴミエリナーゼ、セラミダーゼおよびスフィンゴシンキナーゼの作用によるスフィンゴミエリンの代謝から生成される血液由来の脂質セカンドメッセンジャーである（図4）。S 1 P生成の主要な部位は、内皮細胞および赤血球である。S 1 Pは、S 1 P R 1～5（以前はE d g 1～5）と命名されたGタンパク質共役受容体の内皮分化ファミリーを活性化する。S 1 P Rは、種々の細胞型において発現され、数多くの生物学的プロセスを制御する。S 1 P R 1、-2および-3は、血管内皮細胞上に発現され、血管の発生および安定性を制御するので、それらの機能は、特に興味深い。

40

【0011】

S 1 P R 1は、血管の安定化に不可欠であり、血管遊走を増加させる。S 1 P R 1は、G_iに結合し、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ経路を活性化し、それを介して、R a cは、アクチンのアセンブリおよび細胞遊走に影響する。重複する同様の機能が、G_qに結合するS 1 P R 3に対して報告されている。対照的に、S 1 P R 2は、S 1 P R 1および-3シグナル伝達と拮抗する。S 1 P R 2は、主にG₁₂／₁₃を活性化し、R

50

h o - R h o キナーゼ経路を活性化し、R a c の機能を阻害する（図 5）。これらの拮抗する S 1 P R 経路間のバランスは、S 1 P に対する内皮細胞の応答を決定する。この点で、網膜血管系の発生における S 1 p の重要性を考えると、S 1 P R 2 シグナル伝達の阻害は、F E V R および R O P などの網膜血管障害に対して治療効果をもたらし得る。

【0012】

概して、S 1 P R 2 阻害剤をスクリーニングすることにより、F E V R および R O P などの網膜血管系障害を処置するための新規アプローチが特定される。本発明は、治療有効量の S 1 P R 2 阻害剤を投与することによって、F E V R および S O P に罹患している個体を安全かつ有効に処置する組成物および方法を提供する。

【0013】

さらなる態様において、本発明は、糖尿病性網膜症および黄斑変性症を含む、汎発性の網膜血管障害に罹患している個体を安全かつ有効に処置する組成物および方法を提供する。

【0014】

さらなる態様において、本発明は、小分子または生物製剤を含み得る S 1 P R 2 阻害剤を含む薬学的組成物、および F E V R または R O P に罹患している被験体を処置するためにその組成物を被験体に投与するための指示書を備えるキットを提供する。

【0015】

本明細書中で使用されるとき、「核酸」または「核酸分子」は、2 つまたはそれを超えるヌクレオチドの鎖、例えば、R N A （リボ核酸）および D N A （デオキシリボ核酸）を意味する。

【0016】

本明細書中で使用されるとき、用語「阻害」とは、タンパク質の生物学的活性の低下、好ましくは、ヒトタンパク質 S 1 P R 2 の活性の低下のことを指す。

【0017】

本明細書中で使用されるとき、用語「遺伝子」は、特定のタンパク質をコードする核酸分子、またはある特定の場合では、機能的 R N A 分子もしくは構造的 R N A 分子のことを意味する。

【0018】

本明細書中で使用されるとき、「タンパク質」および「ポリペプチド」は、長さまたは翻訳後修飾、例えば、グリコシル化またはリン酸化を問わず、任意のペプチドに連結したアミノ酸鎖を意味する同意語として使用される。

【0019】

核酸分子またはポリペプチドについて言及するとき、用語「野生型」とは、天然に存在する（例えば、天然の、W T）核酸またはポリペプチドのことを指す。

【0020】

本明細書中で使用されるとき、用語「処置」および「治療」は、ある障害もしくは疾患、障害もしくは疾患の症状または障害もしくは疾患の素因を治療するか、治癒するか、緩和するか、軽減するか、変化させるか、治すか、回復させるか、改善するかまたは影響する目的で、患者もしくは被験体への治療薬の適用もしくは投与、またはその障害もしくは疾患、その障害もしくは疾患の症状またはその障害もしくは疾患の素因を有する患者もしくは被験体から単離された組織もしくは細胞株への治療薬の適用もしくは投与として定義される。

【0021】

用語「治療有効量」は、本明細書中で使用されるとき、所望の治療効果または治療反応を誘発する S 1 P R 2 阻害剤の量を意味する。

【0022】

用語「患者」、「被験体」および「個体」は、本明細書中で交換可能に使用され、処置されるため、診断されるため、および／または生物学的サンプルを得るための哺乳動物（例えば、ヒト、げっ歯類、非ヒト霊長類、イヌ、ウシ、ヒツジ、ウマ、ネコなど）の被験

10

20

30

40

50

体を意味する。

【0023】

用語「キット」は、本明細書中で使用されるとき、FEVRおよびROPを処置するために治療有効量のS1PR2阻害剤を投与するための構成要素を含む包装された製品のことを指す。キットは、好ましくは、そのキットの構成要素を保持する箱または容器を備える。その箱または容器には、ラベルまたは食品医薬品局（Food and Drug Administration）によって承認されたプロトコルが貼られている。その箱または容器は、好ましくは、プラスチック、ポリエチレン、ポリプロピレン、エチレンまたはプロピレンの入れ物の中に含まれる本発明の構成要素を保持する。その入れ物は、ふた付きのチューブまたはボトルであり得る。キットは、S1PR2阻害剤を投与するための指示書も備え得る。

10

本発明は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目1)

治療有効量のS1PR2阻害剤、

前記S1PR2阻害剤の分解を減少させるのに十分な量の少なくとも1つの緩衝剤を含む薬学的組成物を投与することによって、患者における網膜血管障害を処置する方法。

(項目2)

前記網膜血管障害が、FEVRである、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記網膜血管障害が、ROPである、項目1に記載の方法。

20

【0024】

上で述べられた本開示の利点および特徴ならびに他の利点および特徴を得ることができる様式を説明するために、上で簡潔に記載された原理のより詳細な説明が、添付の図面に示されているその具体的な実施形態を参照することによって表現され得る。これらの図面は、本開示の単なる例示的な実施形態を描写しているもので、その範囲を限定しているとみなされるべきでないことが理解され、本明細書中の原理は、添付の図面を用いることによって、さらに具体的かつ詳細に記載され、説明される。

【図面の簡単な説明】

30

【0025】

【図1】図1は、ヒトの眼の血管新生を例証している。(A)正常に、網膜血管系が視神経円板から網膜末梢に外向きに突き出している。家族性滲出性硝子体網膜症(FEVR)は、網膜の低血管新生をもたらす遺伝性の障害であり(B)、その後の異常な新生血管形成は、網膜剥離をもたらす得る(C)。

【0026】

【図2】図2は、古典的なWnt経路をNorrin経路と比較して図示している。Frizzled-4受容体を介したNorrinシグナル伝達、網膜における血管の発生を特異的に制御する。Norrin、Frizzled-4、LRP5およびTSPAN12をコードする遺伝子における変異は、家族性滲出性硝子体網膜症(FEVR)を引き起こす(Cell 139, 227-29からの図)。

40

【0027】

【図3】図3は、改変された眼虚血性網膜症モデルの後の、Fzd4^{+/+}マウスおよびFzd4^{+/-}マウスのホールマウントされたマウス網膜における血管系を示している。酸素チャンバーから取り出されたP12において、血管閉塞の面積は、野生型マウスとFzd4^{+/+}マウスとで似ていた(図示せず)。室内空気に戻した5日後のP17において、ホールマウントされた網膜をイソレクチンで染色したところ(A)、Fzd4^{+/+}マウスではアテローム発生(白色の領域が、なおも血管閉塞している領域を描写している)が遅れることが実証された。(B)P17の野生型マウスおよびFzd4^{+/+}マウスに残っている血管閉塞の面積の定量。8つの実験の平均値(p<0.01)。

50

【0028】

【図4】図4は、血液由来のセカンドメッセンジャーであるスフィンゴシン-1-ホスフェート（S1P）が、スフィンゴミエリナーゼ経路を介して内皮細胞において産生されることを示している。S1Pは、次に一連の5つのS1P受容体（S1PR）に結合し得る。S1PR1、2および3は、内皮細胞上に見られ、血管新生を制御する。

【0029】

【図5】図5は、スフィンゴシン-1-P受容体（S1PR）を図示している。S1PR1、2および3は、血管内皮細胞上に見られる。S1PR1およびS1PR3は、血管遊走を駆動し、一方S1PR2は、それらの作用を打ち消す。この点で、S1PR2の阻害（血管遊走の阻害剤の阻害）は、網膜血管の発生の障害である家族性滲出性硝子体網膜症（FEVR）に対して、正常な網膜の血管新生の回復をもたらす得る（Nat. Rev. Cancer 10, 489-503からの図）。

10

【0030】

【図6】図6は、FEVRのTspan12^{-/-}マウスモデルにおいてS1pr2遺伝子を不活性化した場合の正常な血管系パターン形成の回復を示している。P17における網膜をフラットマウントし、イソレクチンB4 AlexaFluor594で染色した後、血管系を共焦点顕微鏡によって可視化した。同様の結果が、Fzd4^{-/-}S1pr2^{-/-}マウスに対しても観察された。

【0031】

【図7】図7は、スフィンゴシン-1-ホスフェート受容体2（S1PR2）結合ポケットを示している。このヒトS1PR2リガンド結合ポケットは、JTE-103に結合した状態で示されている。JTE-103は、他のS1PRと比べてS1PR2に対して10倍高い特異性を有するツール化合物（μM親和性）である。このS1PR2結合ポケットの分子モデリングを用いて、潜在的な強力なS1PR2阻害剤を同定した。

20

【0032】

【図8】図8は、スフィンゴシン-1-ホスフェートおよびその特定された標的領域を図示している。これらの同定された化合物は、その公知の受容体よりも強く結合ポケットと相互作用し、ゆえに、S1Pの結合を妨げる。同定された化合物は、購入可能である。以下の21個（それらのPubChem識別によって識別される（天然物、薬物および公知の化学的実体の組み合わせ）を、インビトロおよびインビボ試験のために実行可能な標的として選択した。PubChem識別子は、3382778；44317142（520および644260としても）；54736865；3866342；46891770（3247041としても）；51624406；9578291；9864156；365015；28094480；40592676；10883396；342302；56923845；54734912；18390590；56923928；51508548；28960354；51624683；27993である。

30

【0033】

【図9】図9は、成体ゼブラフィッシュにおけるfzd4遺伝子の不活性化が、ヒトおよびマウスにおいて観察される異常な新生血管形成をもたらすことを示している。fzd4遺伝子を標的化するために、1対のTALENヌクレアーゼを作製した。かなりの割合の変異を有する創始個体（founder）を、fli1：EGFPトランスジェニック魚（血管系に対するGFPマーカー）と交配し、得られたF1魚を成体期まで育てた。fzd4遺伝子のオープンリーディングフレームにおける10個のヌクレオチドの挿入が確認された。fzd4ヘテロ接合性魚の対を交配して、ホモ接合性変異体を含む子孫を得た。ホモ接合性変異体魚は、いかなる明らかな胚の表現型も有さず、成体期まで育った。網膜血管系がfzd4変異によって影響されているかをチェックするために、野生型および変異体の魚から網膜を解剖し、フラットマウントし、共焦点顕微鏡によって可視化した。ホモ接合性fzd4^{-/-}変異体は、可視化された領域において、広範囲の無血管および異常な血管パターンを有する。

40

【発明を実施するための形態】

50

【0034】

詳細な説明

本開示の様々な実施形態が、下記で詳細に論じられる。具体的な実行が論じられるが、これは、例証の目的のためだけに行われることが理解されるべきである。本開示内で引用されるすべての参考文献が、本明細書中に援用される。関連する分野の当業者は、本開示の精神および範囲から離れることなく、他の構成要素および構成を使用してもよいことを認識するだろう。

【0035】

治療有効量の S 1 P R 2 阻害剤を投与することによって網膜血管障害を処置するための組成物および方法が説明される。好ましい実施形態において、処置レジメンは、F E V R および R O P の処置に適応される。

10

【0036】

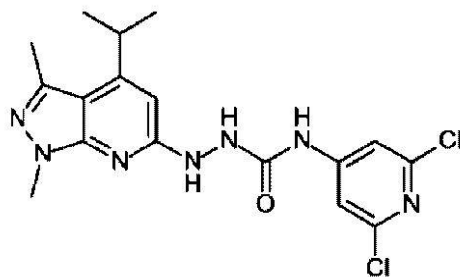
1つの実施形態において、治療有効量の S 1 P R 2 阻害剤は、以下の P u b C h e m 識別子の群から選択される式を有する：3382778；44317142（520および644260としても）；54736865；3866342；46891770（3247041としても）；51624406；9578291；9864156；365015；28094480；40592676；10883396；342302；56923845；54734912；18390590；56923928；51508548；28960354；51624683；27993。

20

【0037】

別の実施形態において、S 1 P R 2 阻害剤は、以下の化学構造：

【化1】



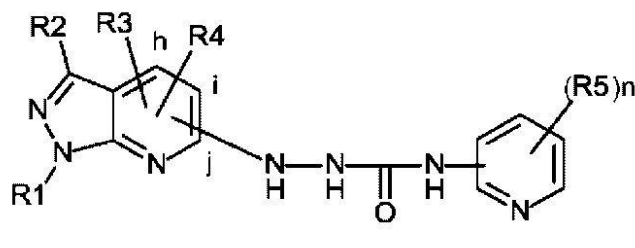
30

を有する小分子1-(2,6-ジクロロ-4-ピリジル)-3-[(4-イソプロピル-1,3-ジメチル-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-6-イル)アミノ]尿素である。

【0038】

別の実施形態において、S 1 P R 2 阻害剤は、一般式：

【化2】



40

を特徴とする化合物（式中：

—R 1 は、C 1—C 12 アルキルであり、R 2、R 3 および R 4 は、各々独立して、水素、ハロゲン、C 1—C 6 アルキル、C 1—C 6 ペルハロアルキル（p e r h a l o a l k y i）、C 1—C 4 ペルハロアルコキシ、アミノ、モノ—もしくはジC 1—C 4 アルキルアミノ、C 3—C 7 シクロアルキルまたはC 3—C 7 シクロアルコキシであり、R 3 および R 4 は、必要に応じて、h、i または j に位置するが、同時に同じ位置には位置せず、

50

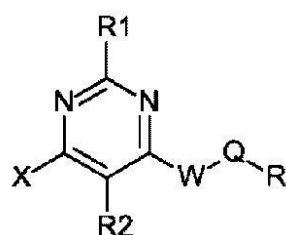
—R⁵は、ハロゲン、C₁—C₆アルキル、C₁—C₆ペルハロアルキル、C₁—C₄ペルハロアルコキシ、アミノ、モノ—もしくはジC₁—C₄アルキルアミノ、C₃—C₇シクロアルキルまたはC₃—C₇シクロアルコキシであり、

—nは、0、1、2、3または4である)；

2-アミノ-2-[2-(4-オクチルフェニル)エチル]プロパン-1,3-ジオール；5-[3-クロロ-4-(2,3ジヒドロキシプロポキシ)フェニル]メチル-3-(オトリル)-2-(プロピルアミノ)チアゾリジン-4-オン；2-アミノ-2-[2-[4-(3-ベンジルオキシフェニル)スルファニル-2-クロロフェニル]エチル]プロパン-1,3-ジオール；1-[5-[3-(3R)-3-アミノ-4-ヒドロキシ-3-メチルブチル]-1-メチルピロール-2-イル]-4-(p-トリル)ブタン-1-オン；3-アミノ-4-(3-オクチルアニリノ)-4-オキソブチル]ホスホン酸；5-[4-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-2-チエニル]-3-[3-(トリフルオロメチル)オキサジアゾール；

または一般式 I I

【化3】



(II)

を特徴とする化合物 (式中：

—Xは、NR^aR^b、SR^b、F、Cl、BrまたはIであり、

—R¹は、HまたはR^bであり、

—R²は、H、F、Cl、Br、IまたはR^bであり、

—R^aは、HまたはR^bであり、R^bは、1~12個の炭素原子を有する分枝状もしくは直鎖状のアルキル (ここで、1つまたはそれを超える、好ましくは、1~7個の水素原子は、F、Cl、Br、I、OR^a、COOR³、CN、N(R^a)₂によって置き換えられてもよく、1つまたはそれを超える、好ましくは、1~7個の非隣接CH₂基は、O、NR^a、SもしくはSO₂および/または—CH=CH—基によって置き換えられてもよい) または3~7個の環炭素原子を有するシクロアルキルもしくはシクロアルキルアルキレンであり、

—Wは、C=O、C=S、SO₂またはSOであり、

—Qは、NR³、—O—または—S—であり、

Rは、水素、R^b、ArまたはHetであり、Arは、非置換であり得るか、F、Cl、Br、I、R^b、OR³、—[C(R³)₂]_n—OR³、N(R³)₂、—[C(R³)₂]_n—N(R³)₂、NO₂、CN、COOR³、CF₃、OCF₃、CON(R³)、NR³COA、NR³CON(R³)₂、—[C(R³)₂]_n—Het、—[C(R³)₂]_n—Ar、—[C(R³)₂]_n—シクロアルキル、—[C(R³)₂]_n—CON(R³)₂、—[(R³)₂]_n—COOR³、—[C(R³)₂]_n—NR³—[C(R³)₂]_n—CO₂R³；—[C(R³)₂]_n—NR³—[C(R³)₂]_n—OR³、—SO₂—[C(R³)₂]_n—CO₂R³、—SO₂—N(R³)₂—[C(R³)₂]_n—CO₂R³、—[C(R³)₂]_n—N—SO₂—[C(R³)₂]_n—CO₂R³、—SO₂—[C(R³)₂]_n—OR³、—SO₂—N(R³)₂—[C(R³)₂]_n—OR³、NR³CON(R³)₂、NR³SO₂R^b、COR³、SO₂N(R³)₂、SO₂N(R³)R^b、SOR^b、SONR³R^b、SO₂R^bおよび/または—O—[C(R³)₂]_n—COOR³によって一置換、二置換または三置換され得る、6~14個の炭素原子を有する単環式または

二環式の飽和、不飽和または芳香族の炭素環であり、Het は、非置換であり得るか、F、Cl、Br、I、R^b、OR³、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-OR}^3$ 、 $\text{N(R}^3\text{)}_2$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-N(R}^3\text{)}_2$ 、NO₂、CN、COOR³、CF₃、OCF₃、CON(R³)、NR³COA、NR³CON(R³)₂、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-Het}$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-Ar}$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-シクロアルキル}$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-CON(R}^3\text{)}_2$ 、 $-\text{[(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-COOR}^3$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-NR}^3$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-CO}_2\text{R}^3$ ； $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-NR}^3$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-OR}^3$ 、 $-\text{SO}_2\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-CO}_2\text{R}^3$ 、 $-\text{SO}_2\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-N(R}^3\text{)}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-CO}_2\text{R}^3$ 、 $-\text{SO}_2\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-OR}^3$ 、 $-\text{SO}_2\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-N(R}^3\text{)}_2$ 、 $-\text{[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-OR}^3$ 、NR³CON(R³)₂、NR³SO₂R^b、COR³、SO₂N(R³)₂、SO₂N(R³)R^b、SOR^b、SONR³R^b、SO₂R^b および／または $-\text{O[C(R}^3\text{)}_2\text{]}_n\text{-COOR}^3$ によって一置換、二置換または三置換され得る、1～4個のN、Oおよび／またはSを有する単環式または二環式の飽和、不飽和または芳香族の複素環式環であり、

—R¹ は、HまたはR^bであり、

—R² は、H、F、Cl、Br、IまたはR^bであり、

—R³ は、HまたはR^bであり、

—nは、0、1、2、3、4、5、6、7または8である）；

2—[1—[2—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—アニリノ)—2—オキソ—エチル]—2, 4—ジオキソ—キナゾリン—3—イル] 酢酸；—N—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—フェニル)—2—[2, 4—ジオキソ—3—[2—オキソ—2—[2—(3—ピリジル(pri dy l))エチルアミノ]エチル]キナゾリン—1—イル]；2—[4—[1—[2—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—アニリノ)—2—オキソ—エチル]—2, 4—ジオキソ—キナゾリン—3—イル]フェニル]—N—フェネチル—アセトアミド；4—[6—クロロ—1—[2—(3—クロロ—4—エトキシ—フェニル)—2—オキソ—エチル]—2, 4—ジオキソ—キナゾリン—3—イル]—N—シクロペンチル—ブタンアミド；N—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—フェニル)—2—[2, 4—ジオキソ—3—[2—(フェネチルアミノ)エチル]キナゾリン—1—イル]アセトアミド；—tert—ブチル2—[1—[2—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—アニリノ)—2—オキソ—エチル]—2, 4—ジオキソ—キナゾリン—3—イル]アセテート；—tert—ブチルN—[2—[1—[2—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—アニリノ)—2—オキソ—エチル]—2, 4—ジオキソ—キナゾリン—3—イル]エチル]カルバメート；—2—[1—[2—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—アニリノ)—2—オキソ—エチル]—2, 4—ジオキソ—ピリド[3, 2—d]ピリミジン—3—イル]酢酸；—2—[1—[2—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—アニリノ)—2—オキソ—エチル]—2—オキソ—4H—キナゾリン—3—イル酢酸；N—(5—クロロ—2, 4—ジメトキシ—フェニル)—2—[3—(3—メトキシベンゾイル)—7—メチル—4—4a, 8a—ジヒドロ—1, 8—ナフチリジン—1—イル]アセトアミド；2—[1—[2—[(2, 6—ジクロロ—4—ピリジル)アミノ]—2—オキソ—エチル]—5—メチル—2, 4—ジオキソ—キナゾリン—3—イル]酢酸；4—メチル—8—(2, 4, 6—トリメチルアニリノ)—2H—フタラジン—1—オン；4—メチル—8—(2, 4, 6—トリメチルアニリノ)—2H—イソキノリン—1—オン；8—(2, 6—ジメチルアニリノ)—2H—イソキノリン—1—オン；8—(4—フルオロ—2, 6—ジメチル—アニリノ)—4—メチル—2H—フタラジン—1—オン；—4—エチル—8—(2, 4, 6—トリメチルアニリノ)—2H—フタラジン—1—オン；4—イソプロピル—8—(2, 4, 6—トリメチルアニリノ)—2H—フタラジン—1—オン；—4—(2—ヒドロキシエチル)—8—(2, 4, 6—トリメチルアニリノ)—2H—フタラジン—1—オン；—8—(2, 6—ジエチル—4—フルオロ(flu ro)—アニリノ)—4—メチル—2H—フタラジン—1—オン；8—(4—クロロ—2, 6—ジメチル—アニリノ)—4—メチル—2H—フタラジ

10

20

30

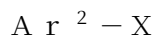
40

50

ン-1-オン；-4-エチル-8-(4-フルオロ-2,6-ジメチル-アニリノ)-2
H-フタラジン-1-オン；-5-(2-プロピルピラゾール-3-イル)-2-(2,4,
6-トリメチル-アニリノ)ベンズアミド；-5-メトキシ-2-(2,4,6-トリメ
チル-アニリノ)ベンズアミド；5-クロロ-2-(2,4,6-トリメチル-アニリノ)ベ
ンズアミドである。

【0039】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、一般式：



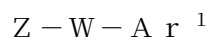
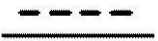
【化4】



10

Y

【化5】



を有する化合物であり、式中：

Ar^1 は、必要に応じて置換される複素環または芳香族複素環であり；

Ar^2 は、必要に応じて置換される複素環または芳香族複素環であり；

Wは、 NR^a -、Oまたは $-\text{CH}_2-$ であり、ここで、 R^a は、水素または $\text{C}_1 - \text{C}_3$ ア
ルキルであり；

20

Zは、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{S})-$ 、O、 $-\text{CH}_2-$ 、 $=\text{N}-$ または $=\text{CH}-$ であり
；

Yは、 $-\text{NR}^a$ -、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{N}=\text{}$ 、 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $=\text{N}-$ または $=\text{CH}-$ であり；

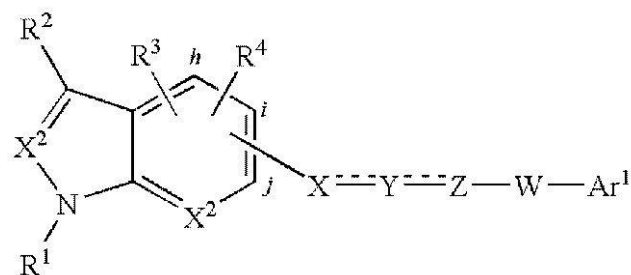
Xは、 $-\text{NR}^a$ -、 $-\text{N}=\text{}$ 、 $-\text{CH}=\text{}$ または $-\text{CH}_2-$ である。

【0040】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、一般式：

【化6】

式 II



30

を有する化合物であり、式中、

Ar^1 は、芳香族複素環であり；

W、Z、YおよびXは、先に定義されたとおりであり；

40

R^1 は、 $\text{C}_1 - \text{C}_{12}$ アルキルであり；

R^2 、 R^3 および R^4 は、各々独立して、水素、ハロゲン、 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルコキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ ペルハロアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ ペルハロアルコキシ、アミノ、モノ-もしくはジ- $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルアミノ、 $\text{C}_3 - \text{C}_7$ シクロアルキルまたは $\text{C}_3 - \text{C}_7$ シクロアルキルオキシであり；

R^3 および R^4 は、h、i または j に位置し得るが、同時に同じ位置には位置せず；

X^2 は、Nまたは $-\text{CR}^b-$ であり、ここで、 R^b は、水素、ハロゲン、 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルコキシ、 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ ペルハロアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ ペルハロアルコキシ、アミノ、モノ-もしくはジ- $\text{C}_1 - \text{C}_4$ アルキルアミノ、 $\text{C}_3 - \text{C}_7$ シクロアルキルまたは $\text{C}_3 - \text{C}_7$ シクロアルキルオキシである。

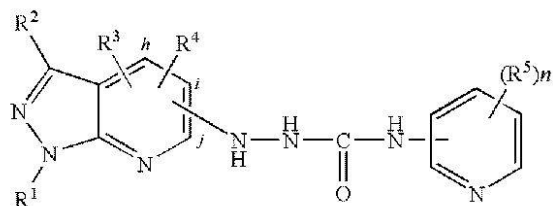
50

【0041】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、一般式：

【化7】

式 III



10

を有する化合物であり、式中、

R¹ は、C₁ - C₁₂ アルキルであり；

R²、R³ および R⁴ は、各々独立して、水素、ハロゲン、C₁ - C₆ アルキル、C₁ - C₄ アルコキシ、C₁ - C₆ ペルハロアルキル、C₁ - C₄ ペルハロアルコキシ、アミノ、モノ-もしくはジ-C₁ - C₄ アルキルアミノ、C₃ - C₇ シクロアルキルまたは C₃ - C₇ シクロアルキルオキシであり；

R⁵ の各存在は、ハロゲン、C₁ - C₆ アルキル、C₁ - C₄ アルコキシ、C₁ - C₆ ペルハロアルキル、C₁ - C₄ ペルハロアルコキシ、アミノ、モノ-もしくはジ-C₁ - C₄ アルキルアミノ、C₃ - C₇ シクロアルキルまたは C₃ - C₇ シクロアルキルオキシで

20

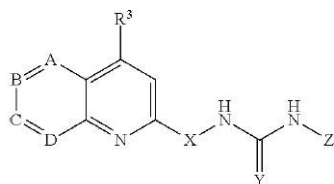
n は、0、1、2、3 または 4 である。

【0042】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、一般式：

【化8】

式 I



30

を有する化合物であり、式中：

A は、直接的な結合または (CR) であり、B、C および D は、独立して、(CR) および N からなる群より選択され、ここで、R は、H またはアルキルであるが、但し、B、C および D のすべてが N であるとは限らず、A が直接的な結合であるとき、D は、(CR) であり；

R³ は、アルキルからなる群より選択され；

X は、O、NR⁴ および CR⁴R⁵ からなる群より選択され、ここで、R⁴ および R⁵ は、独立して、H およびアルキルからなる群より選択され；

Y は、O または S からなる群より選択され；

40

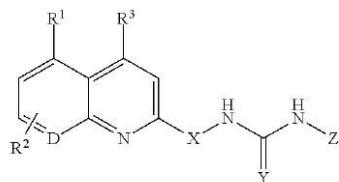
Z は、置換アリール環である。

【0043】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、一般式：

【化9】

式 II



50

を有する化合物であり、式中：

R^1 および R^2 は、独立して、H およびアルキル、メトキシ、ヒドロキシル、ハロゲン、ニトリルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択され；

R^3 は、独立して、アルキル、メトキシ、ヒドロキシル、ハロゲン、ニトリルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択され；

D は、C R または N であり；

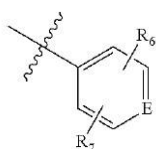
R は、H またはアルキルであり；

X は、O、 NR^4 、 CR^4R^5 であり、ここで、 R^4 および R^5 は、独立して、H およびアルキル、例えば、低級アルキルからなる群より選択され、1～10個の炭素を有し得、3～10個の炭素を有する環状または分枝鎖のアルキル、メトキシ、ヒドロキシル、F、Br、I、ニトリルおよびトリフルオロメチルであり得；

Y は、O または S であり、

Z は、以下の構造：

【化10】



を有する置換アリール環であり、ここで、 R^6 および R^7 は、独立して、アルキルからなる群より選択され、1～10個の炭素を含み得、3～10個の炭素を有する環状または分枝鎖のアルキル、メトキシ、ヒドロキシル、ハロゲン、ニトリルおよびトリフルオロメチルであり得；

E は、N または C R であるか；

または、式中：

R^1 、 R^2 および R^3 は、独立して、H、ハロゲン、メチルまたはイソプロピルであり；

X は、 NR^4 であり；

R^4 は、H であり；

Y は、O であり；

R^6 および R^7 は、独立して、H またはクロロであり；

E は、N または C R であり；

R は、H である。

【0044】

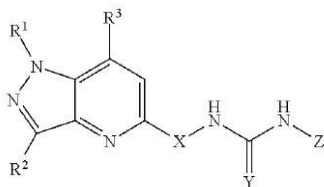
別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、N-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(4-メチル-1,8-ナフチリジン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(4-イソプロピル-1,8-ナフチリジン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(4-イソプロピル-5,8-ジメチルキノリン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(4-イソプロピルキノリン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(2,6-ジクロロピリジン-4-イル)-2-(4,8-ジメチルキノリン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(4,8-ジメチルキノリン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(2,6-ジクロロピリジン-4-イル)-2-(4-メチルキノリン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミド；およびN-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(4,5,8-トリメチルキノリン-2-イル)ヒドラジンカルボキサミドからなる群より選択される小分子である。

【0045】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、一般式：

【化 1 1】

式 III



を有する化合物であり、式中：

R^1 R^2 は、独立して、Hおよびアルキル、メトキシ、ヒドロキシル、ハロゲン、ニトリルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択され；

R^3 は、独立して、アルキル、メトキシ、ヒドロキシル、ハロゲン、ニトリルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択され；

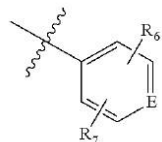
Xは、O、 NR^4 、 CR^4R^5 であり、ここで、 R^4 および R^5 は、独立して、Hおよびアルキル、例えば、低級アルキルからなる群より選択され、1～10個の炭素を有し得、3～10個の炭素を有する環状または分枝鎖のアルキル、メトキシ、ヒドロキシル、F、Br、I、ニトリルおよびトリフルオロメチルであり得；

Yは、OまたはSであり；

Rは、H、メトキシまたはアルキルであり；

Zは、以下の構造：

【化 1 2】



を有する置換アリール環であり、ここで、 R^6 および R^7 は、独立して、アルキルからなる群より選択され、1～10個の炭素を含み得、3～10個の炭素を有する環状または分枝鎖のアルキル、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ヒドロキシル、ハロゲン、ニトリルおよびトリフルオロメチルであり得；Eは、NまたはCRであるか；

または、式中：

R^1 、 R^2 および R^3 は、独立して、メチルまたはイソプロピルであり；

Xは、 NR^4 または CR^4R^5 であり；

R^4 は、Hであり；

R^5 は、Hであり；

Yは、Oであり；

R^6 および R^7 は、独立して、アルキルからなる群より選択され、1～5個の炭素、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、クロロおよびトリフルオロメチルを含み得；

Eは、NまたはCRであり；

Rは、Hまたはメトキシである。

【0046】

別の実施形態において、S1PR2阻害剤は、N-(3,5-ジクロロフェニル)-2-(7-イソプロピル-1,3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4,3-b]ピリジン-5-イル)ヒドラジンカルボキサミド；1-(2,6-ジクロロピリジン-4-イル)-3-((7-イソプロピル-1,3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4,3-b]ピリジン-5-イル)メチル)尿素；N-(2-ブチル-6-クロロピリジン-4-イル)-2-(7-イソプロピル-1,3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4,3-b]ピリジン-5-イル)ヒドラジンカルボキサミド；N-(2-クロロ-6-エトキシピリジン-4-イル)-2-(7-イソプロピル-1,3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4,3-b]ピリジン-5-イル)ヒドラジンカルボキサミド；1-(3,5-ジクロロフェニル)-3-((1,3,7-トリメチル-1H-ピラゾロ[4,3-b]ピリジン-5-イル)メチル)

尿素；N-（2，6-ジクロロピリジン-4-イル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；N-（3，5-ビス（トリフルオロメチル）フェニル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；N-（3-クロロ-5-メトキシピリジン-4-イル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；1-（2，6-ジクロロフェニル）-3-（（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）メチル）尿素；1-（2-クロロ-6-メトキシピリジン-4-イル）-3-（（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）メチル）尿素；N-（2-クロロ-6-プロピルピリジン-4-イル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；1-（2-クロロ-6-プロピルピリジン-4-イル）-3-（（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）メチル）尿素；1-（2-クロロ-6-エトキシピリジン-4-イル）-3-（（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）メチル）尿素；1-（2-クロロ-6-プロポキシピリジン-4-イル）-3-（（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）メチル）尿素；N-（2-クロロ-6-プロポキシピリジン-4-イル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；N-（2-ブトキシ-6-クロロピリジン-4-イル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；1-（2-ブトキシ-6-クロロピリジン-4-イル）-3-（（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）メチル）尿素；N-（2-エトキシピリジン-4-イル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミド；およびN-（5-クロロ-2，4-ジメトキシフェニル）-2-（7-イソプロピル-1，3-ジメチル-1H-ピラゾロ[4，3-b]ピリジン-5-イル）ヒドラジンカルボキサミドからなる群より選択される小分子である。

【0047】

投与

本明細書中に記載されるような組成物を被験体に投与する任意の好適な方法が使用され得る。これらの方法において、それらの組成物は、任意の好適な経路によって、例えば、静脈内注射によって全身に、眼内注射によって直接、経口的などによって、被験体に投与され得る。それらの組成物は、例えば、内側もしくは外側の標的部位への外科的送達によって、または血管によって接近可能な部位へのカテーテルによって、標的部位に直接投与され得る。例えば、FEVRを処置する方法では、本明細書中に記載されるような組成物は、眼内注射によって、経口的に、または静脈内に、送達され得る。それらの組成物は、単回ボラスで、複数回の注射で、または持続注入（例えば、静脈内または髄腔内（*intrathecally*）、腹膜透析、ポンプ注入による）によって、投与され得る。非経口的投与の場合、それらの組成物は、好ましくは、滅菌された発熱物質非含有形態で製剤化される。上で示されたように、本明細書中に記載される組成物は、滅菌された注射に適した形態であり得る。そのような組成物を調製するために、好適な活性な治療薬は、非経口的に許容され得る液体ビヒクルに溶解されるかまたは懸濁される。使用してもよい許容され得るビヒクルおよび溶媒には、水、適切な量の塩酸、水酸化ナトリウムまたは好適な緩衝液を加えることによって好適なpHに調整された水、1，3-ブタンジオール、リンガー溶液ならびに等張性塩化ナトリウム溶液およびデキストロース溶液がある。水性製剤は、1つまたはそれを超える保存剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸エチルまたはp-ヒドロキシ安息香酸n-プロピル）も含み得る。それらの化合物のうちの1つが、ほんのわずかしき水に溶けないか少ししか水に溶けない場

合、溶解促進剤もしくは可溶化剤が加えられ得るか、または溶媒に10～60%w/wのプロピレングリコールなどが含まれ得る。本明細書中に記載される組成物は、従来の薬学的実施に従う任意の好適な製剤で、哺乳動物（例えば、げっ歯類、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウシ）に投与され得る（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.), ed. A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, (2000)、ならびにこの分野およびUSP/NFの標準的なテキストであるEncyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, Marcel Dekker, New York (1988-1999)）。例示的な薬学的に許容され得るキャリアおよび希釈剤ならびに薬学的製剤の説明は、Remington: 前出に見られ得る。組成物を安定化させるためおよび／または保存するために、他の物質が組成物に加えられてもよい。

10

【0048】

本明細書中に記載される治療方法は、通常、治療有効量の本明細書中に記載される組成物を、それを必要とする被験体（例えば、動物、ヒト）（哺乳動物、特にヒトを含む）に投与することを含む。そのような処置は、ある疾患、障害もしくはその症状に罹患しているか、ある疾患、障害もしくはその症状を有しているか、ある疾患、障害もしくはその症状に感受性であるか、またはある疾患、障害もしくはその症状のリスクがある被験体、特にヒトに適切に施される。「リスクがある」被験体の決定は、診断試験または被験体もしくは医療提供者の所見による任意の客観的もしくは主観的な決定によって行われ得る。本明細書中の方法および組成物は、貧血に関係する他の任意の障害または疾患の処置において使用され得る。

20

【0049】

有効用量

本明細書中に記載される組成物は、好ましくは、有効量、すなわち、処置された哺乳動物において望ましい結果をもたらすことができる量で哺乳動物（例えば、ヒト）に投与される（例えば、S1PR2阻害剤の投与によるFEVRまたはROPの処置）。そのような治療有効量は、標準的な方法に従って決定され得る。

【0050】

本発明の方法において使用される組成物の毒性および治療効果は、標準的な薬学的手順によって決定され得る。医学および獣医学の分野において周知であるように、任意の一被験体に対する投与量は、多くの因子に依存し、それらの因子としては、被験体のサイズ、体表面積、年齢、投与される特定の組成物、投与時間および投与経路、全般的な健康状態、ならびに同時に投与される他の薬物が挙げられる。本明細書中に記載されるような組成物の送達用量は、前臨床有効性および前臨床安全性に基づいて決定され得る。

30

【実施例】

【0051】

以下の具体的な実施例によって、本発明がさらに例証される。これらの実施例は、単に例証のために提供されるのであって、決して本発明の範囲を限定すると解釈されるべきでない。

40

【0052】

S1Pが、網膜血管系の発生において決定的な役割を果たすので、S1PR2シグナル伝達を阻害すると、FEVRおよびROPにおいて観察される血管発生の欠陥が回復する。例えば、S1Pに結合して不活性化する、S1Pに対するモノクローナル抗体を、レーザー誘発性脈絡膜新生血管形成に供されたマウスに眼内注射によって投与することにより、正常な網膜の血管再生が有意に増強される。さらに、S1P2は、低酸素ストレスにおける内皮細胞において強く誘導されることから、S1Pが、S1PR2を介してシグナル伝達することにより、ROPにおいて観察される異常な血管系がもたらされると示唆される。さらに、ROPモデルに供された新生仔S1pr2^{-/-}マウスは、病的な新生血管

50

形成、内皮の間隙および炎症細胞浸潤の減少を示す。最後に、マウスにおける S1PR1 の出生後の不活性化は、異常な網膜血管系をもたらし、これは、S1PR1 と S1PR2 が網膜血管の発生の制御に対抗して作用することと一致する。S1pr2^{-/-}Tspan12^{-/-}ダブルノックアウトマウスを作製したところ、野生型マウスに似た、網膜血管系のパターン形成の著しい回復が観察された(図6)。Fzd4^{-/-}S1pr2^{-/-}マウスも作製したところ、これらのマウスも、網膜血管系のパターン形成の回復を示す。したがって、S1PR2 の阻害は、FEVR および ROP などの疾患に対する重要な治療的アプローチである。

【0053】

S1PR2 アンタゴニストのコンピュータ支援ドラッグデザイン

10

一般に、Gタンパク質共役受容体は、極めて創薬しやすい(*drugable*)と考えられており、S1PR1-3 および 5 を同時に標的化する広範な特異性 S1PR アゴニスト(*Fingolimod*、商品名 *Gilenya*) が、多発性硬化症の処置用に販売中である。これまで、コンピュータ支援ドラッグデザインを用いて、脂質酵素の小分子阻害剤のデザインおよび合成に成功してきており、それらの小分子阻害剤は、現在、その後の第1/2a 相臨床試験に向けた後期の前臨床評価にある。S1PR2 アンタゴニストのデザインおよび試験に対しても同様の開発の道筋を用いることができる。

【0054】

コンピュータによる手段によって S1PR2 の阻害剤を同定するために、*Molecular Operating Environment* (MOE) プログラムを用いて、S1PR1 の構造のモデリングが行われた。このプロセス全体を通して、CHARMM27 力場を実行し、気相環境を指定した。S1PR2 のアミノ酸配列は、UniProtアーカイブから得た。S1PR2 および S1PR1 のアミノ酸配列をアラインメントし、そのアラインメントから相同性モデルを作製した。作製されたモデルを、310 K の温度、7.0 の pH および 0.1 mol/L の塩濃度に対して、プロトン化した。MOE におけるサイトファインダーツール(*site finder tool*)を用いて、受容体の結合ポケットを特定した。そのタンパク質の細胞外の面に位置する 34 アミノ酸から構成されるポケットが特定され、これは、その対応物 S1PR のポケットと相関する(図7)。

20

【0055】

30

S1PR2 受容体の主要なリガンド S1P は、3つの異なる化学的領域を有する。これらの領域(図8)を用いて、領域1、2または3のいずれかを含む類似の分子について PubChem データベースを検索した。加えて、硫酸基は、ホスフェートのバイオアイソスターであるので、硫酸基もその検索に含めた。以下の判定基準に基づいて、化合物を同定した：それらの化合物は、390 未満の分子量、領域2 および 3 に対しては -1~7 の XLogP 値、または領域1 に対しては 5 未満の XLogP 値および 35~120 の極性の総表面積を有しなければならない。各領域から特定された化合物を、データベースとして MOE にインポートした。領域1 に対して合計 62, 125 個の結果；領域2 に対して 2, 971 個の結果、および；領域3 に対して 13, 442 個の結果が得られた。まず、これらの分子を、その構造に含められている可能性がある任意の塩イオンを除去するために洗浄し、気相環境における CHARMM27 力場を用いてエネルギー最適化した。次いで、それらの化合物を、S1PR2 上の特定された結合ポケットを通じて仮想スクリーニングにかけた。

40

【0056】

仮想スクリーニングの結果から、各領域に対する最善の 100 個の化合物を選択し、より厳格なドッキング法に供した：S1PR2 および S1PR1 に対する当てはめを誘導した。このドッキングは、そのポケットを裏打ちしているアミノ酸側鎖ならびにドッキングされるリガンドが動くことを許容する。得られたデータベースを、S1P のスコアよりも良好な S スコアを有する化合物について調べたところ、そのデータベースは、S1PR1 と比べて S1PR2 に特異的と予測した。次いで、特定された化合物を、購入可能性につ

50

いてスクリーニングし、21個(図8)が、商業的に入手可能であると見出され、試験のための実行可能な標的として選択した。それらのPubChem識別は、以下：3382778；44317142(520および644260としても)；54736865；3866342；46891770(3247041としても)；51624406；9578291；9864156；365015；28094480；40592676；10883396；342302；56923845；54734912；18390590；56923928；51508548；28960354；51624683；27993であった。それらの有効性は、S1PR2に対していくらか特異性を有する低親和性S1PR阻害剤であるツール化合物JTE-103と容易に比較され得る。

【0057】

F E V RのゼブラフィッシュモデルおよびマウスモデルにおけるS1PR2アンタゴニストの確認

ノックアウトアプローチによって、ヒトの疾患を再現するゼブラフィッシュモデルの作製が可能になり、より時間がかかり高額な哺乳動物の研究の前に、薬物スクリーニングのための迅速な中間のインビボ工程が可能になる。S1PR2薬物標的およびFZD4経路は、ゼブラフィッシュとヒトとの間で高度に保存されている。T A L E Nシステムを用いて、生殖系列f z d 4^{-/-}のゼブラフィッシュを作製した(図9)(その阻害がこのモデルにおいても正常な血管系を回復させることを確かめるために、モルホリノをs1pr2に対して用いた)。

【0058】

同定されたS1PR2阻害剤ならびに公知のツール化合物JTE-103をアッセイするために、3つのf z d 4^{-/-}ゼブラフィッシュ胚を96ウェルプレートに整列させる。次いで、受精の24時間後(h p f)に、化合物を1~30 μMの最終濃度でその胚プレートに移す。次いで、胚を化合物とともに28.5℃で12時間インキュベートし、肉眼で見える全体的な発生作用についてスクリーニングする。次いで、様々な時間枠(2~12日間)において、胚にT r i c a i n e (MS-222)を過剰投与し、4%パラホルムアルデヒド中で固定し、網膜血管系を決定し得る。続いて、ゼブラフィッシュに対して最も良好に正常な血管系を回復する化合物をT s p a n 1 2^{-/-}マウスおよびF z d 4^{-/-}マウスにおいて試験することにより、最も有効な治療的化合物を単離する。

【0059】

マウスにおける研究の場合、化合物は、P7、P10、P17およびP28において眼内注射によってマウスの眼に送達される(1~30 μM)(各化合物の5つの用量に対して、化合物1つあたり8~12匹のマウス)。この時間枠は、どの段階においてF E V RがS1PR2アンタゴニストによって有効に処置され得るかを決定する。次いで、s1pr2^{-/-}t s p a n 1 2^{-/-}マウスおよびs1pr2^{-/-}f z d 4^{-/-}マウスの研究に対して上に記載されたように、網膜の表現型および眼の機能を決定する。

10

20

30

【図 1】

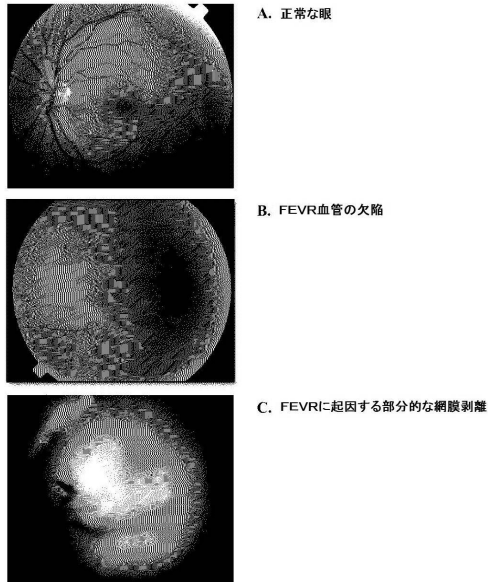


FIG. 1

【図 2】

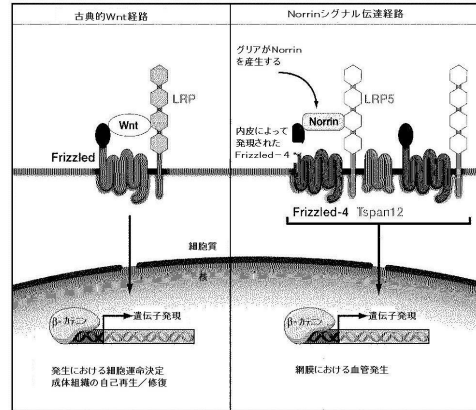


FIG. 2

【図 3】

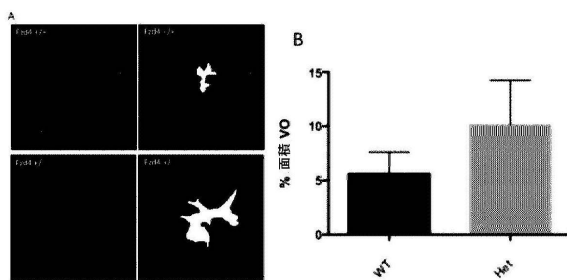


FIG. 3

【図 4】

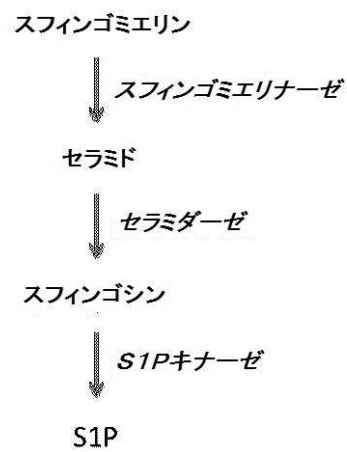
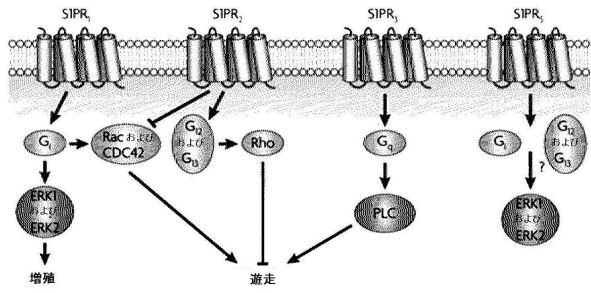


FIG. 4

【図 5】



Nature Reviews | Cancer

FIG. 5

【図 6】

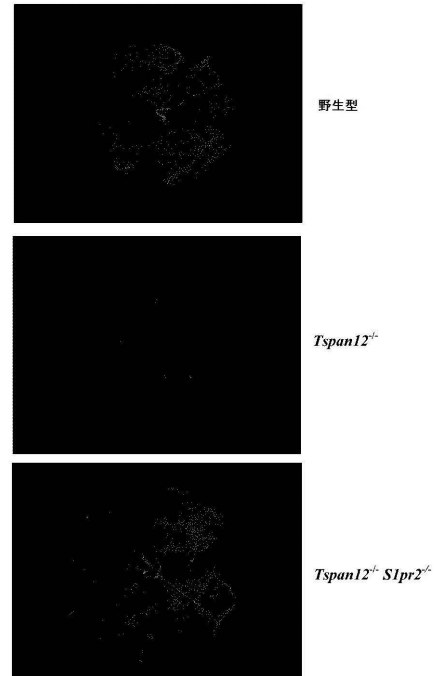


FIG. 6

【図 7】

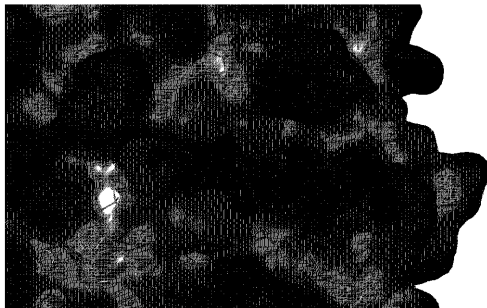


FIG. 7

【図 9】

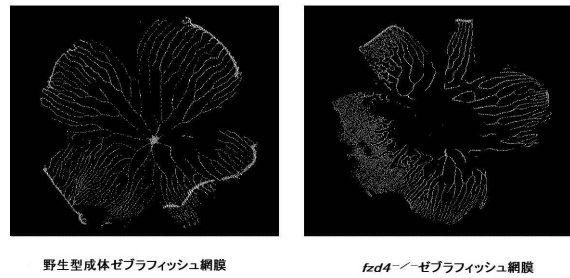


FIG. 9

【図 8】

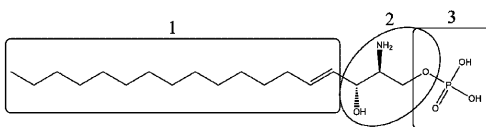


FIG. 8

フロントページの続き

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 マクマスター, クリストファー

カナダ国 ビー3エイチ 4アール2 ノバ スコシア, ハリファックス, サマー ストリー
ト 1344, スイート 307

審査官 小堀 麻子

(56)参考文献 米国特許出願公開第2009/0004207 (US, A1)

あたらしい眼科, 2011年, Vol.28, No.7, p.963-968

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/00

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)