

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-536342

(P2017-536342A)

(43) 公表日 平成29年12月7日 (2017.12.7)

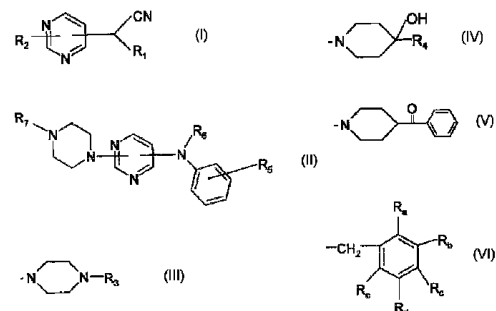
(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 401/06 (2006.01)	C O 7 D 401/06	C S P 4 C O 6 3
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/00	Z N A 4 C O 8 6
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 76 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-518848 (P2017-518848)	(71) 出願人	591100596
(86) (22) 出願日	平成27年10月7日 (2015.10.7)		アンスティチュ ナショナル ドゥ ラ
(85) 翻訳文提出日	平成29年6月2日 (2017.6.2)		サンテ エ ドゥ ラ ルシエルシュ メ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/073141		ディカル
(87) 国際公開番号	W02016/055517		フランス国、エフー75013 パリ、リ
(87) 国際公開日	平成28年4月14日 (2016.4.14)		ュ・ドゥ・トルビアック 101
(31) 優先権主張番号	14306578.7	(71) 出願人	505020606
(32) 優先日	平成26年10月8日 (2014.10.8)		アソシアシオン、フランセーズ、コントル
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		、レ、ミオパチー
			ASSOCIATION FRANCAI
			SE CONTRE LES MYOPA
			THIES
			フランス国、エフー75013 パリ、ブ
			ールヴァール・ドゥ・ロピタル 47-8
			3
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タンパク質のプレニル化の阻害剤として有用な新規アミノピリジン化合物

(57) 【要約】

本発明は、(I) 及び (II) の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び/又は予防における使用のための化合物に関する(式中、 R_1 は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は4 - ピリジルであり； R_2 は、式 (III)、(IV)、及び (V) を表し；そして、 R_5 及び R_6 は、水素原子又は (C_{1-4}) アルキル基を表し；そして、 R_7 は、アリアルカルボニル基、ヘテロアリアルカルボニル基、ヘテロアリアルアセチル基、(C_{1-4}) アルコキシ - カルボニルメチル基、式 (VI) の基を表す)。また、式 (I) 及び (II) の新規化合物についても開示する。

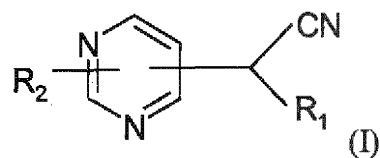


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

【化 7 4】

(1)

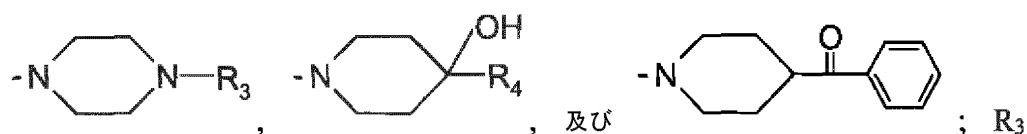


10

[式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；R₂ は、

【化 7 5】

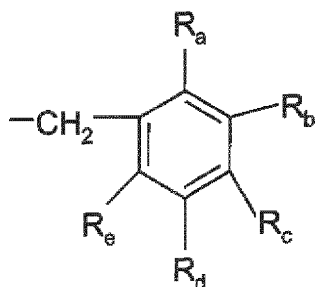


20

からなる群より選択される基を表し；R₃ は、

- アリールカルボニル基、
- ヘテロアリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

【化 7 6】



30

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

40

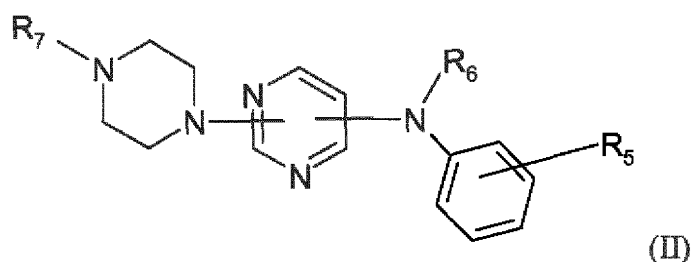
そして、R₄ は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基であるが；

ただし、

R₁ が 2 - ピリジルである場合、R₂ は 4 - メチルベンジル基ではない]
及び

【化 7 7】

(2)



10

[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；R₆ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；そして、R₇ は、

- アリールカルボニル基、

- (C₁ - C₄) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、

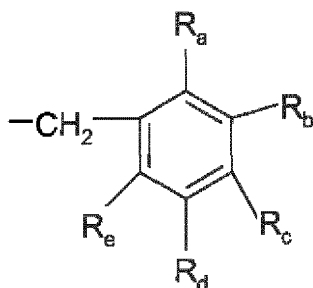
- ヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基、

- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

-

20

【化 7 8】



30

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表すが、

ただし、

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ はインドール - 3 - イルアセチル基ではない]

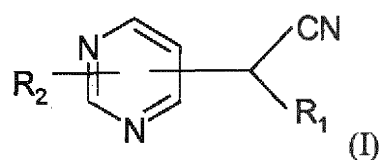
40

の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び / 又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つ。

【請求項 2】

【化 7 9】

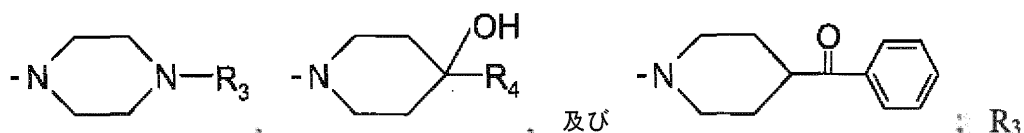
(1)



[式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；R₂ は、

【化 8 0】



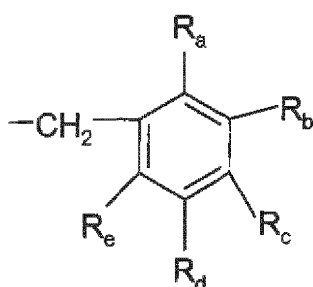
10

からなる群より選択される基を表し； R₃ は、

- アリールカルボニル基、
- ヘテロアリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

20

【化 8 1】



30

基 (R_a、R_b、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、そして、R_c は、水素原子、ハロゲン原子、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

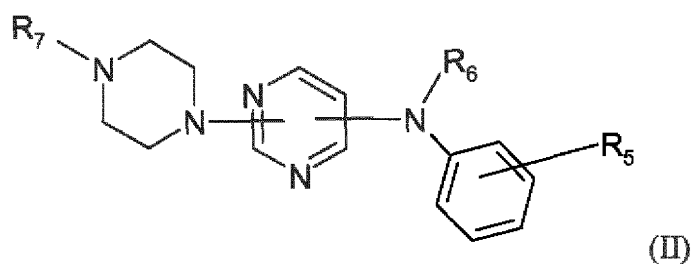
そして、R₄ は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である]

40

及び

【化 8 2】

(2)



10

[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；R₆ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；そして、R₇ は、

- アリールカルボニル基、

- (C₁ - 4) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、

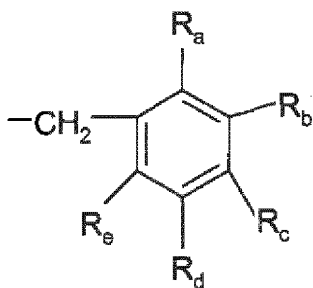
- ヘテロアリール環においてフェニル基によって置換されているヘテロアリールアセチル基、

- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

-

20

【化 8 3】



30

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表す]

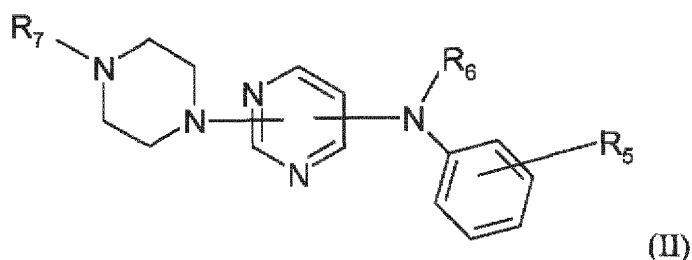
の中から択一的に選択される、請求項 1 に記載の使用のための化合物。

【請求項 3】

式 (II)：

40

【化 8 4】



50

[式中、

R_5 は、水素原子又は ($C_1 - C_4$) アルキル基を表し；

R_6 は、水素原子又は ($C_1 - C_4$) アルキル基を表し；そして、

R_7 は、

- アリールカルボニル基、

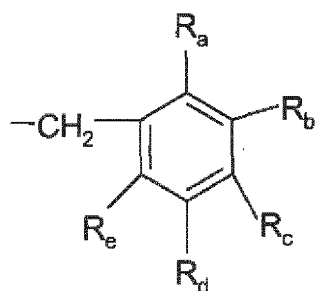
- ($C_1 - C_4$) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、

- ヘテロアリール環においてフェニル基によって置換されているヘテロアリールアセチル基、

- ($C_1 - C_4$) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

10

【化 8 5】



20

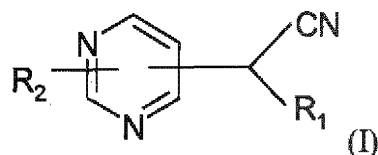
基 (R_a 、 R_c 、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、($C_1 - C_4$) アルキル基、又は ($C_1 - C_4$) アルコキシ基であり、 R_b 及び R_d は、独立して、水素原子又は ($C_1 - C_4$) アルコキシ基であり、 R_a 及び R_b 、又は R_b 及び R_c 、又は R_c 及び R_d 、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表す] の化合物である、請求項 1 又は 2 に記載の使用のための化合物。

【請求項 4】

【化 8 6】

30

(1)



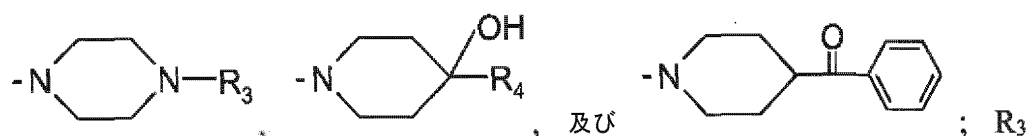
(式中、

R_1 は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；

R_2 は、

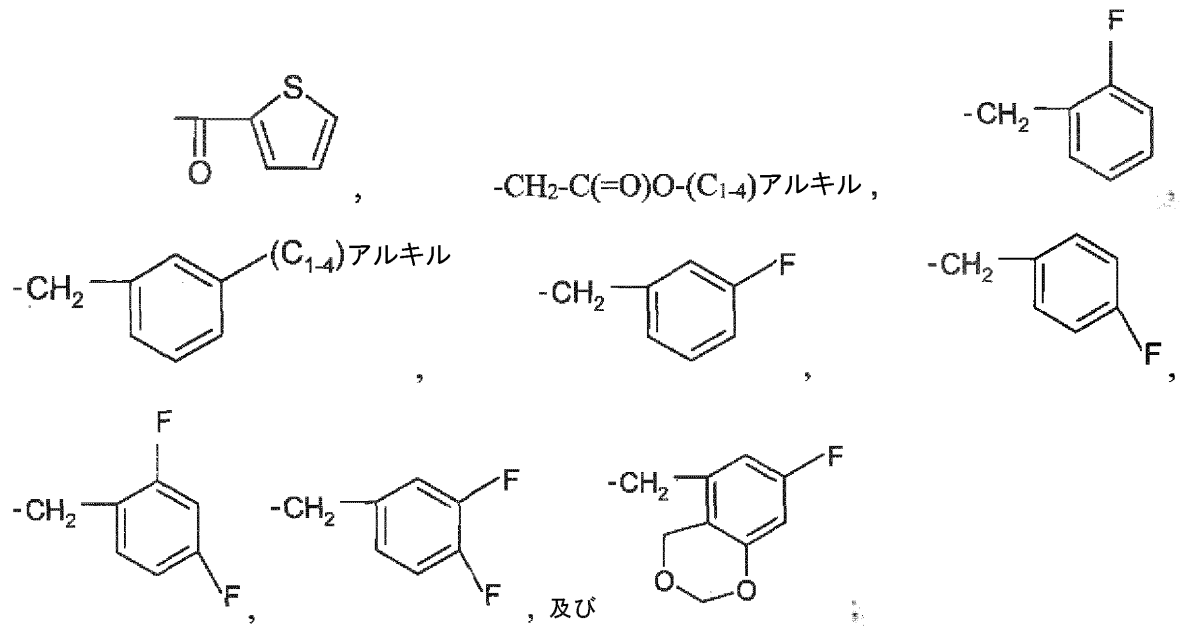
40

【化 8 7】



からなる群より選択される基を表し； R_3 は、

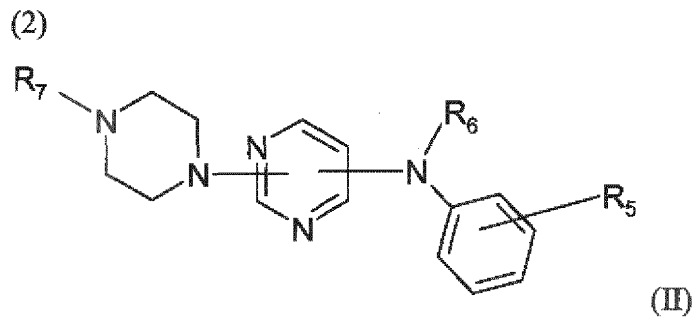
【化 8 8】



10

からなる群より選択される基を表し；そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である）；

【化 8 9】



30

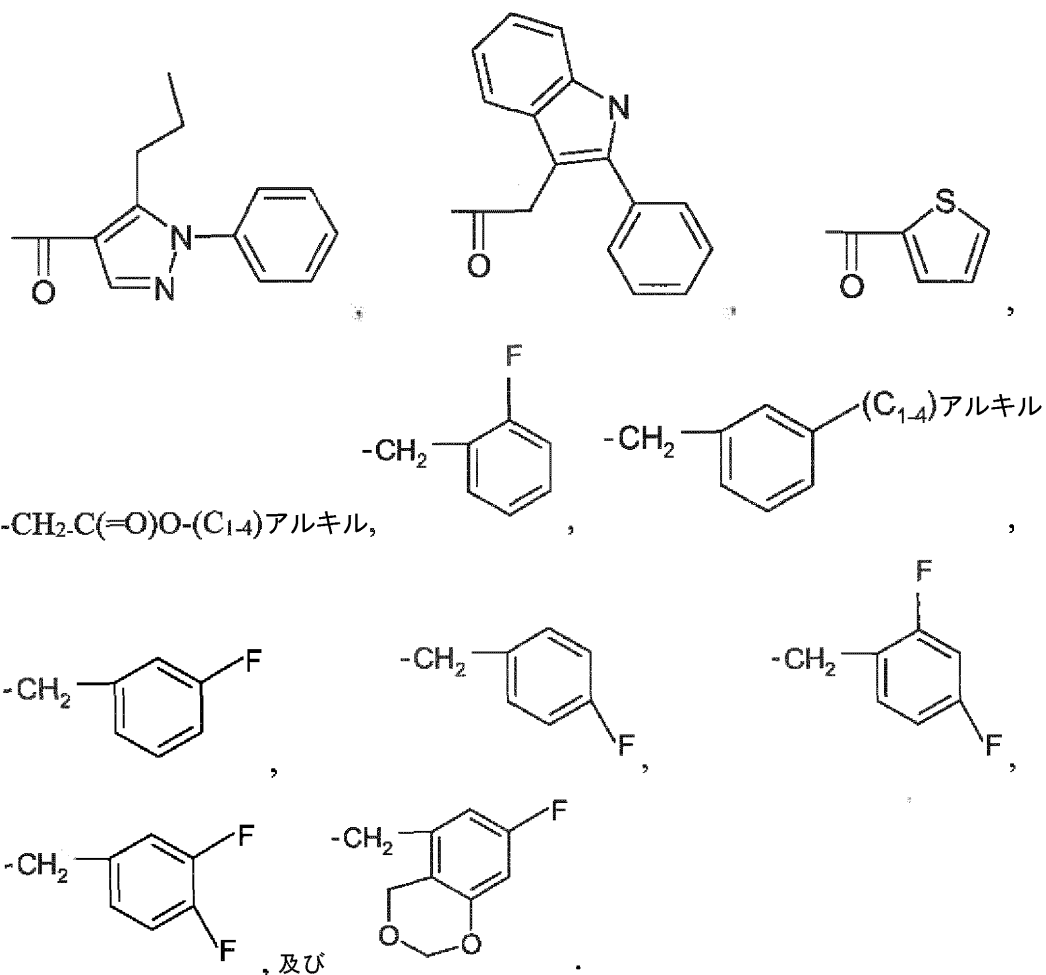
(式中、

R_5 は、水素原子又は (C_{1-4}) アルキル基を表し；

R_6 は、水素原子又は (C_{1-4}) アルキル基を表し；そして、

R_7 は、

【化 9 0】



10

20

からなる群より選択される基を表す)

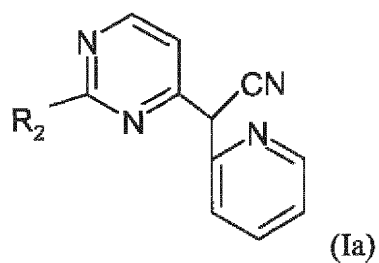
の中から択一的に選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の使用のための化合物

30

【請求項 5】

【化 9 1】

(1)

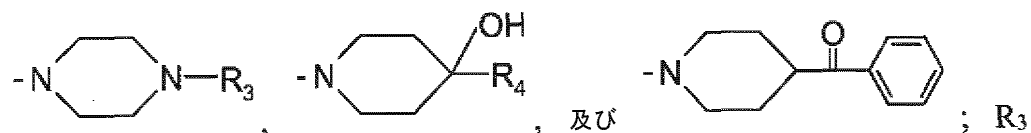


(Ia)

40

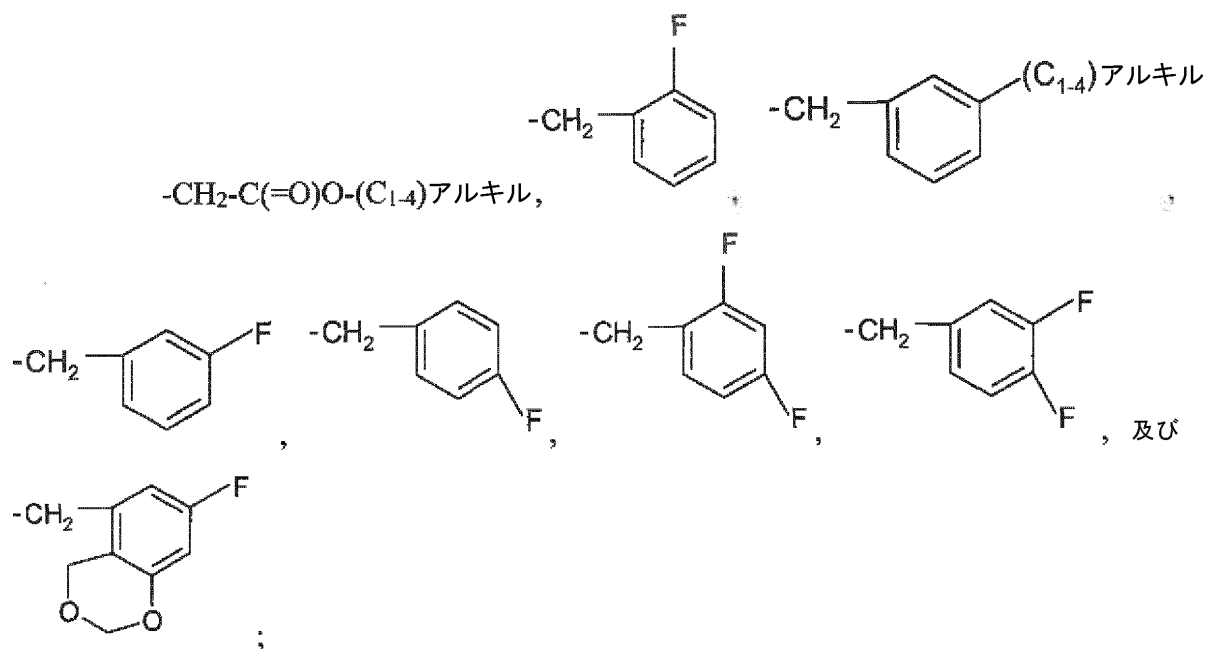
(式中、R₂ は、

【化 9 2】



50

からなる群より選択される基を表し； R_3 は、
【化 9 3】



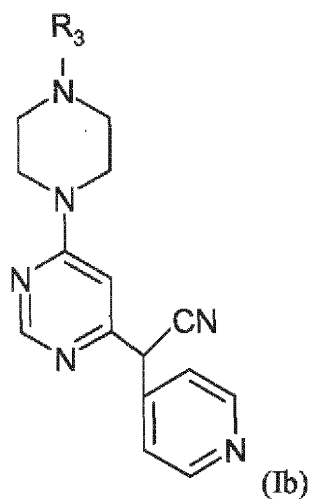
10

20

からなる群より選択される基を表し；そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基である）；

【化 9 4】

(2)

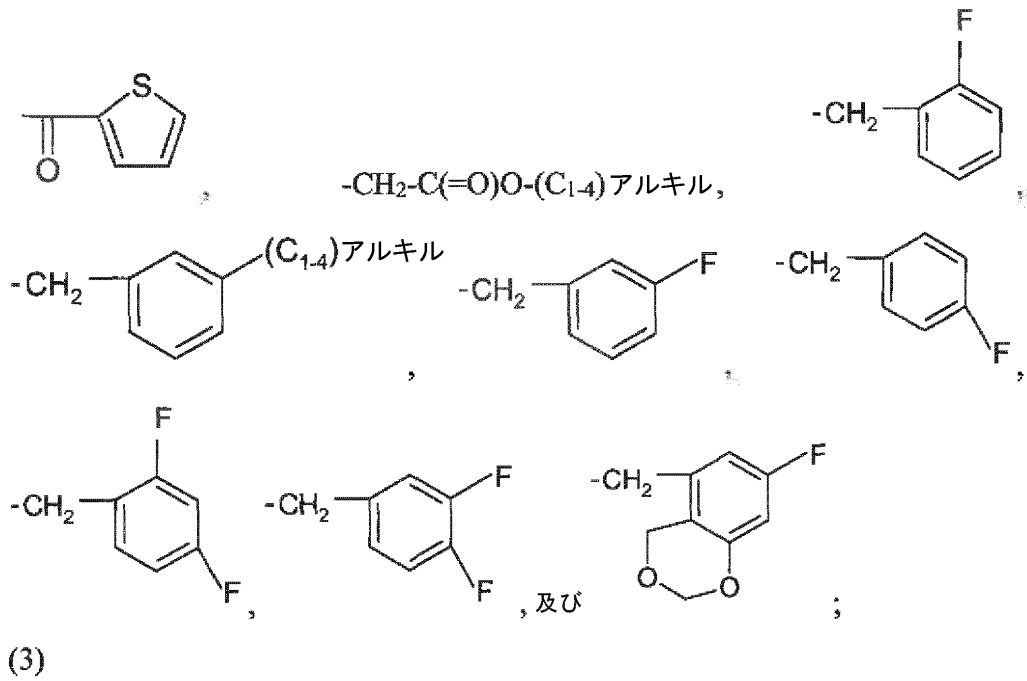


30

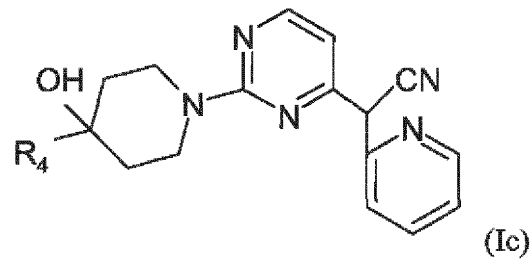
(式中、 R_3 は、

40

【化 9 5】



10



20

からなる群より選択される基を表す) ;

(式中、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である)

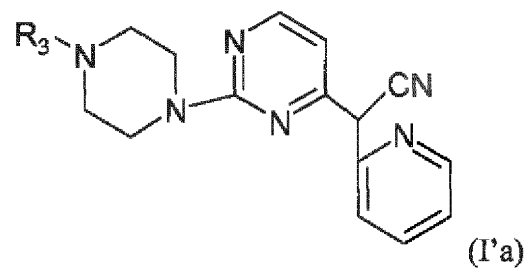
30

の中から択一的に選択される、請求項 1、2、及び 4 のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項 6】

式 (I'a) :

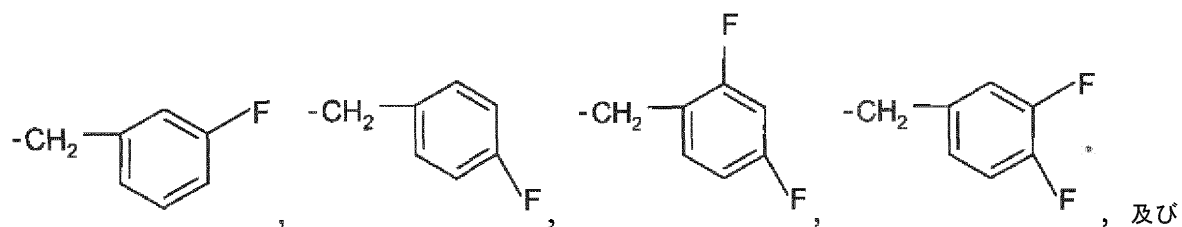
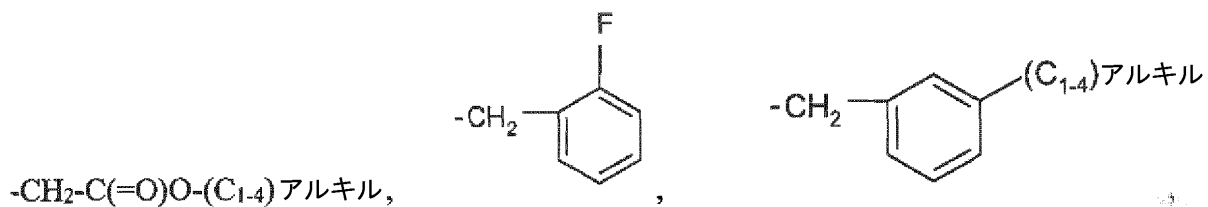
【化 9 6】



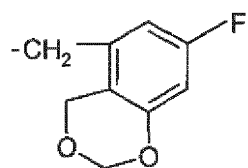
40

(式中、 R_3 は、

【化 9 7】



10



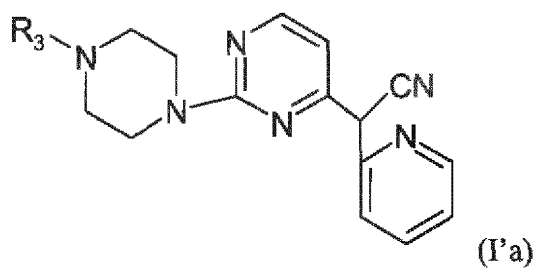
20

からなる群より選択される基を表す)の化合物である、請求項 1、2、4、及び 5 のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項 7】

式 (I' a) :

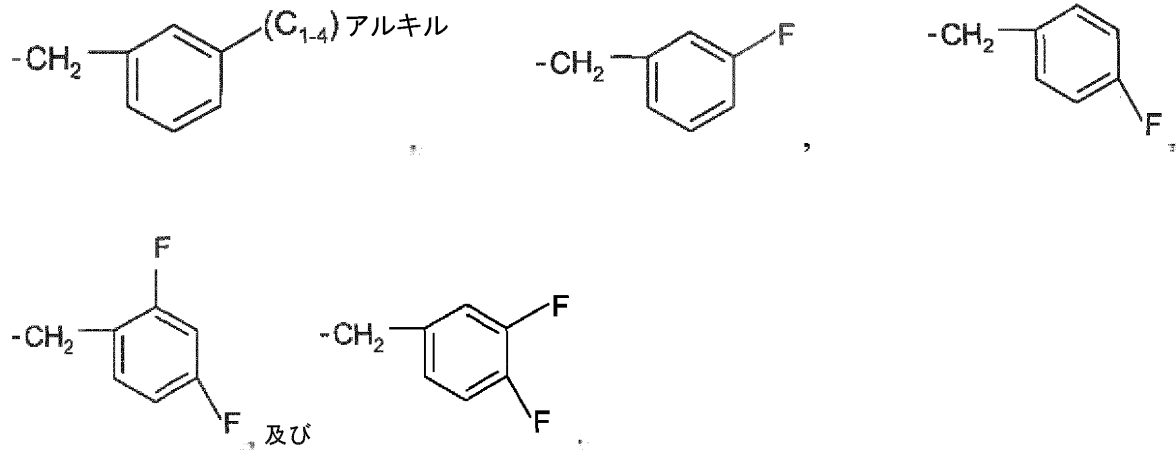
【化 9 8】



30

(式中、 R_3 は、

【化 9 9】



10

からなる群より選択される基を表す)の化合物である、請求項 1、2、4、5、及び 6 のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項 8】

式 (II) :

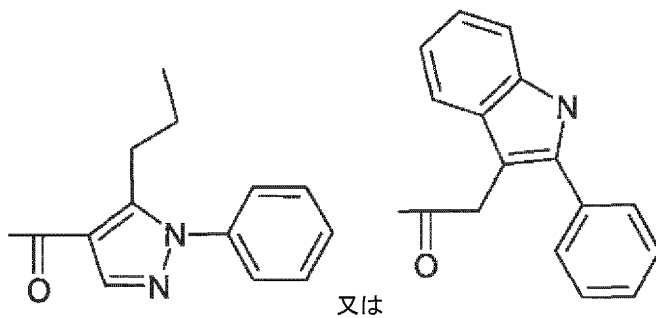
(式中、

R₅ は、(C₁₋₄)アルキル基、好ましくは、メチル基を表し；

R₆ は、(C₁₋₄)アルキル基、好ましくは、メチル基を表し；そして、

R₇ は、

【化 100】



30

を表す)の化合物である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項 9】

(1) { 2 - [4 - (2 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(2) { 2 - [4 - (4 - クロロ - フェニル) - 4 - ヒドロキシ - ピペリジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(3) [2 - (4 - ベンゾイル - ピペリジン - 1 - イル) - ピリミジン - 4 - イル] - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(4) { 2 - [4 - (3 - メチル - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(5) { 2 - [4 - (4 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(6) { 4 - [4 - (シアノ - ピリジン - 2 - イル - メチル) - ピリミジン - 2 - イル] - ピペラジン - 1 - イル } - 酢酸エチルエステル

(7) { 2 - [4 - (2 , 4 - ジフルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

50

(8) { 2 - [4 - (6 - フルオロ - 4 H - ベンゾ [1 , 3] ジオキシシ - 8 - イルメチル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(9) { 2 - [4 - (3 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(10) { 2 - [4 - (3 , 4 - ジフルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(11) ピリジン - 4 - イル - { 6 - [4 - (チオフェン - 2 - カルボニル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - アセトニトリル

(12) [2 - (4 - ベンジル - 4 - ヒドロキシ - ピペリジン - 1 - イル) - ピリミジン - 4 - イル] - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル

(13) { 4 - [6 - (メチル - m - トリル - アミノ) - ピリミジン - 4 - イル] - ピペラジン - 1 - イル } - (1 - フェニル - 5 - プロピル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル) - メタノン、及び

(14) 1 - { 4 - [6 - (メチル - m - トリル - アミノ) - ピリミジン - 4 - イル] - ピペラジン - 1 - イル } - 2 - (2 - フェニル - 1 H - インドール - 3 - イル) - エタノン

の中から選択される、請求項 1 に記載の使用のための化合物。

【請求項 10】

前記疾患又は障害が、早老疾患、神経変性疾患、代謝疾患；ミトコンドリア性疾患、眼疾患、炎症性疾患、心血管疾患、増殖性疾患、免疫疾患、脳梗塞、皮膚老化、ホルモン老化、及びウイルス感染症から選択される、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項 11】

前記増殖性疾患が、骨、脳、腎臓、肝臓、副腎、結腸直腸、膀胱、乳房、胃、卵巣、結腸、直腸、前立腺、脾臓、肺、非小細胞肺、小細胞肺、膣、甲状腺、頭頸部の癌及び腫瘍から選択される腫瘍及び癌である、請求項 10 に記載の使用のための化合物。

【請求項 12】

医薬としての使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項記載の式（I）、（II）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（I'a）の化合物、又はそれらの薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つの中から選択される化合物。

【請求項 13】

エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、請求項 9 に記載の化合物（1）～（14）又はそれらの薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つの中から選択される、請求項 12 に記載の医薬としての使用のための化合物。

【請求項 14】

エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項記載の式（I）、（II）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（I'a）の化合物、又はそれらの薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つ、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アスコルビン酸塩、トリフラート、メシル酸塩、トシル酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、及びリンゴ酸塩の中から選択される化合物。

【請求項 15】

エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、請求項 9 に記載の化合物（1）～（14）、又はそれらの薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つ、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アスコルビン酸塩、トリフラート、メシル酸塩、トシル酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、及びリンゴ酸塩の中から選択される請求項 14 に記載の化合物。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

請求項 1 4 又は 1 5 記載の少なくとも 1 つの化合物、及び少なくとも 1 つの薬学的に許容し得る賦形剤を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、早老症の予防又は治療を含む、タンパク質のプレニル化の調節解除を伴う疾患又は障害の予防又は治療の分野に関する。

【0002】

発明の背景

プレニル化は、タンパク質のカルボキシル末端近傍に位置するシステイン残基へのイソプレノイド基の付加からなる。この酵素による翻訳後修飾は、タンパク質の成熟及びプロセッシングにとって重要である。両プロセスは、タンパク質の局在及び機能の調節に加えて、タンパク質 - タンパク質及び膜 - タンパク質の会合の媒介に必須である。プレニル化及び成熟の両方に関与する酵素が欠損している動物の重篤な表現型は、これらプロセスの重要性を強調するものである。更に、プレニル化及び成熟の両プロセスに関与するイソプレニル化されたタンパク質又は酵素をコードしている遺伝子の変化が、癌、神経変性障害、網膜色素変性症、及び早期老化症候群等の重篤なヒト疾患の根底にあることが見出されている。病態におけるイソプレニル化、及びプレニル化後プロセッシングに関する最近の研究によって、これら修飾の驚くべき側面及び様々な細胞経路におけるこれらの役割が明らかになっている。処置標的としてのこれら酵素が同定されたことにより、研究者は、インビトロ及びインビボにおいて抗腫瘍剤又は老化防止剤としてのこれらの効果を検証することができるようになった。

10

20

【0003】

ハッチンソン - ギルフォード早老症候群 (HGPS) は、心臓発作又は脳卒中によって早期に死亡する、非常に稀な分節性早期老化疾患である。承認済の処置は存在しないが、2007年に開始された幾つかの最近の単一群臨床試験では、疾患を引き起こすタンパク質であるプロゲリンの毒性を低減することを目的として、タンパク質のファルネシル化の阻害剤が投与されている。処置が患者の生存に影響を与えるかどうかを評価した研究は存在しない。

【0004】

30

ハッチンソン - ギルフォード早老症候群 (HGPS) に罹患した小児において早期老化を引き起こす分子機構が同定された (OMIM #176670) ことによって、標的とする再目的化薬 (repurposed drugs) を臨床医が試験することができるようになった。しかし、現在まで、適切なインビトロ細胞モデルが存在していないことから、ハイスループットスクリーニング (HTS) を用いて化学成分を広くアッセイすることは不可能である。

【0005】

HGPSは、LMNA遺伝子のエキソン 1 1 における一塩基置換 (De Sandre-Giovannoli et al., 2003, Science, Vol. 300: 2055; Eriksson et al., 2003, Nature, Vol. 423: 293-298) (c.1824C>T, NCBI Reference Sequence: NM_170707.3) に起因する、極めて稀な遺伝疾患である (Merideth et al., 2008, N Engl J Med, Vol. 358: 592-604)。これによって隠れたスプライスドナー部位が活性化されて、プレラミン A における 50 個のアミノ酸が欠失し、そして、プロゲリンと呼ばれる毒性型のプレラミン A タンパク質が生成される (Navarro et al., 2004, Hum Mol Genet, Vol. 13: 2493-2503)。

40

【0006】

欠失した配列はその翻訳後成熟に必要であるので、この変異タンパク質が核膜に蓄積し、そして、これが、患者において分節性の早期老化及び老化促進につながる主な機構である。核の形状の無秩序化はHGPS細胞において容易に観察されるが、早期老齢化に加えて、DNA修復、細胞の増殖及び分化における欠陥を含む、十分に特徴付けられた一連の細胞機能不全が関連している。

【0007】

50

HGPSを引き起こす分子機構の発見から、3つの異なる薬物、すなわち、アミノビスホスホナートであるゾレドロナートに関連するHMG-CoA還元酵素（HMGCR）阻害剤であるプラバスタチン、及びファルネシル基転移酵素阻害剤（FTI）であるロナファーニブが、プレニル化プロセスを標的とするその能力について再目的化されている（Varela et al., 2008, Nat Med, Vol. 14: 767-772 ; Yang et al., 2005, Proc Natl Acad Sci USA, Vol. 102: 10291-10296 ; Yang et al., 2010, Journal of lipid research, Vol. 51: 400-405）。過去10年間にわたって、幾つかの実験的研究によって、プレラミンAのプレニル化プロセスの阻害が核の形状及びHGPSに関連する他の細胞欠陥の改善と相関していることを示す、これら薬理学的アプローチの妥当性が実際に証明されている。要するに、これら研究は、患者の臨床表現型の若干の部分的改善を明らかにした3つの臨床試験（Capell et al., 2005, Proc Natl Acad Sci USA, Vol. 102: 12879-12884 ; Capell et al., 2008, Proc Natl Acad Sci USA, Vol. 105: 15902-15907 ; Glynn and Glover, 2005, Human Mol Gene t, Vol. 14: 2959-2969 ; Varela et al., 2008, Nat Med, Vol. 14: 767-772 ; Young et al., 2013, Sci Transl Med Vol. 5: 171ps173）の精緻化のきっかけとなり、新規潜在分子を発見することが必須になった（Gordon et al., 2012, Proc Natl Acad Sci USA, Vol. 109: 16666-16671）。

10

【0008】

その多分化能及び自己再生特性に起因して、胚幹（ES）細胞及び誘導多能性幹（iPS）細胞は、HTS設定において、インビトロで化学化合物を試験するための無限かつ均質な生物資源を生成する独自の方法を提供する（Desbordes and Studer, 2013, Nat Protoc, Vol. 8: 111-130 ; Lee et al., 2012, Nat Biotechnol, Vol. 30: 1244-1248）。2011年以降、幾つかのグループが、血管平滑筋細胞（VSMC）及び間葉幹細胞（MSC）に分化した後HGPSの幾つかの局面を繰り返すiPS細胞株の能力を証明した（Liu et al., 2011, Nature, Vol. 472: 221-225 ; Nissan et al., 2012, Cell Rep, Vol. 2: 1-2 ; Zhang et al., 2011, Cell Stem Cell, Vol. 8: 31-45）。より最近では、これら細胞を用いて、核の形状の構造、プロゲリンの発現、及び骨芽細胞系に沿ったその早期分化等の典型的な細胞及び分子の欠陥に対する、HGPS患者において現在使用されている薬物の機能的効果をインビトロで評価することができることが示されている（Blondel et al., 2014, Stem cells Transl Med, Vol. 3: 510-519）。

20

【0009】

当技術分野では、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の予防又は治療において有用な更なる化合物を入手可能であることが必要とされている。

30

【0010】

発明の概要

以後に定義する式（I）、（II）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、及び（I'a）のアミノピリジン化合物のクラスに属する新規化合物が、毒性を有しないと同時に、タンパク質のプレニル化、より正確には、タンパク質のファルネシル化を阻害できることが見出された。

【0011】

したがって、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び/又は予防における使用のための、以下に定義する式（I）、（II）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、及び（I'a）の化合物に関する。

40

【0012】

更に、本発明は、医薬としての使用のための、以下に定義する式（I）、（II）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、及び（I'a）の化合物に関する。

【0013】

更に、本発明は、以下に定義する式（I）、（II）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、及び（I'a）の化合物自体に関する。

【0014】

また、本発明は、前記新規化合物のうちの少なくとも1つ、及び少なくとも1つの薬学的に許容し得る賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

50

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】プレラミンAの成熟に対する21608個の低分子のハイスループットスクリーニング 同定された5個のプレラミンA調節因子(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)の用量反応実験。各チャートは、細胞生存率(上の曲線)及びプレラミンA陽性核の百分率(下の曲線)を表す。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。

【図2】HGPS欠陥に対する5個のプレラミンA調節因子の薬理的評価 (2A) 5個のプレラミンA調節因子(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれで48時間処理した後のHGPS MSCにおける核の形状の異常の測定(ラミンA/C免疫染色)。各チャートは、8回の独立した実験の平均+/-SDを表す。 (2B) 5個のプレラミンA調節因子(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれの存在下で7日間分化させた後のHGPS MSCにおける骨芽細胞分化の測定(アルカリホスファターゼ活性)。各チャートは、8回の独立した実験の平均+/-SDを表す。データは、細胞数に対して正規化する。 (2C) 5個のプレラミンA調節因子(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれで48時間処理した後のHGPS MSCにおける細胞増殖の測定(Ki-67免疫染色)。各チャートは、8回の独立した実験の平均+/-SDを表す。

【図3】Mono-APの構造活性相関 (A) 10 μ M Mono-APドメインを含有する47個の化合物で48時間処理した後のHGPS MSCにおけるプレラミンAで染色された核の自動定量。データを1 μ M FTI(赤色)と比較する。各値は、4個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。 (B) HGPS MSCにおけるプレラミンAの成熟プロセスに対する、陽性として同定された9個のヒット(Mono-AP21、Mono-AP28、Mono-AP26、Mono-AP9、Mono-AP30、Mono-AP25、Mono-AP27、Mono-AP16、Mono-AP24)の用量反応分析。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。 (C) 陽性として同定された9個のヒット(Mono-AP21、Mono-AP28、Mono-AP26、Mono-AP9、Mono-AP30、Mono-AP25、Mono-AP27、Mono-AP16、Mono-AP24)で処理した後のHGPS MSCの細胞生存率。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。

【図4】HMG-CoA還元酵素(HMGCR)、ファルネシルピロリン酸合成酵素(FPPS)、及びファルネシル基転移酵素(FT)に対するMono-APの分子ドッキング (4A) 25 μ M Mono-AP1、50 μ M Mono-AP2、及び50 μ M Mono-AP3の存在下におけるFT活性の測定。1 μ M ティピファニブ(FTI)をポジティブコントロールとして用いた。結果を、コントロールの百分率で提示する。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。 (4B) 25 μ M Mono-AP1、50 μ M Mono-AP2、及び50 μ M Mono-AP3の存在下におけるFPPS活性の測定。1 μ M ゾレドロナートをポジティブコントロールとして用いた。結果を、コントロールの百分率で提示する。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。 (4C) 25 μ M Mono-AP1、50 μ M Mono-AP2、及び50 μ M Mono-AP3の存在下におけるHMGCR活性の測定。1 μ M プラバスタチンをポジティブコントロールとして用いた。結果を、コントロールの百分率で提示する。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均+/-SDを表す。

【図5】プレラミンAの成熟プロセスに対する5つの検証済化合物の効果 (5A) 5個の検証済化合物(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれで48時間処理した後のHGPS MSCにおけるラミンA/C比の遺伝子発現解析。データは、0.1% DMSO処理したHGPS MSCに対して正規化する。各チャートは、3回の独立した実験の平均+/-SDを表す。 (5B) 5個の検証済化合物(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれで48時間処理した後のHGPS MSCにおけるプロゲリンの発現の遺伝子発現解析。データは、0.1% DMSO処理したHGPS MSCに対して正規化する。各チャートは、3回の独立した実験の平均+/-SDを表す。

【図6】HDJ2及びhRASのファルネシル化に対するヒットの効果の分析 5個のプレラミンA調節因子(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれで48時間処理した後にGFPの細胞質への(ファルネシル化されていない)局在を示すHGPS MSCの

10

20

30

40

50

割合の定量。各チャートは、3回の独立した実験の平均 \pm SDを表す。

【図7】Mono-APの構造活性相関試験 (7A) 25 μ M Mono-AP1、25 μ M Mono-AP21、及び25 μ M Mono-AP28の存在下におけるFT活性の測定。1 μ M ティピファニブ (FTI) をポジティブコントロールとして用いた。結果を、コントロールの百分率で提示する。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均 \pm SDを表す。(7B) 25 μ M Mono-AP1、25 μ M Mono-AP21、及び25 μ M Mono-AP28の存在下におけるFPPS活性の測定。1 μ M ゴレドロナートをポジティブコントロールとして用いた。結果を、コントロールの百分率で提示する。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均 \pm SDを表す。(7C) 25 μ M Mono-AP1、25 μ M Mono-AP21、及び25 μ M Mono-AP28の存在下におけるHMGCR活性の測定。1 μ M プラバスタチンをポジティブコントロールとして用いた。結果を、コントロールの百分率で提示する。各点は、8個の反復試験試料の百分率の平均 \pm SDを表す。

10

【0016】

発明を実施するための形態

本発明は、タンパク質のプレニル化を阻害し、したがって、タンパク質のプレニル化の阻害を必要とする任意の疾患又は障害を予防又は治療するために有用な新規化合物を提供する。

【0017】

より正確には、本発明によれば、アミノピリミジンのクラスがタンパク質のプレニル化の阻害剤であることが見出され、その化合物は、本明細書において特定される。

【0018】

本明細書における実施例に示す通り、これらアミノピリミジン化合物は、毒性を有しないと同時に、タンパク質のプレニル化、より正確には、タンパク質のファルネシル化を効率的に阻害する。

20

【0019】

また、これらアミノピリジン化合物によるタンパク質のプレニル化の阻害が、ファルネシルピロリン酸合成酵素 (FPPS) 等のファルネシル化酵素を包含するプレニル化酵素の特異的ターゲティングによって行われることも本明細書に示す。

【0020】

早老症に罹患している個体に由来する線維芽細胞を再プログラミングすることによって得られる中胚葉幹細胞の細胞モデルを使用して、これらアミノピリミジン化合物が、特にプレラミンAのファルネシル化を阻害することによって、正常表現型を回復させ得ることを本明細書に示した。

30

【0021】

これら新規アミノピリミジン化合物が、早老症においてみられる核の形状の異常を救済し得ることを本明細書に示す。

【0022】

また、これら新規アミノピリミジン化合物が、早老症に罹患している個体に由来する中胚葉幹細胞の早期分化の疾患関連表現型を救済することを本明細書に示す。

【0023】

また、これらアミノピリミジン化合物が、細胞毒性を有しないことを含む、毒性を有しないことも本明細書に示す。なお、これらアミノピリミジン化合物は、細胞増殖に対する効果も細胞のエネルギー代謝に対する効果も低い又はない。

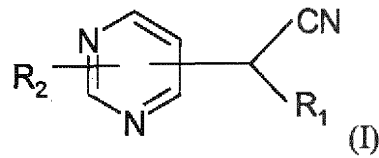
40

【0024】

本発明は、以下の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び/又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか1つについて記載する：

【化 1】

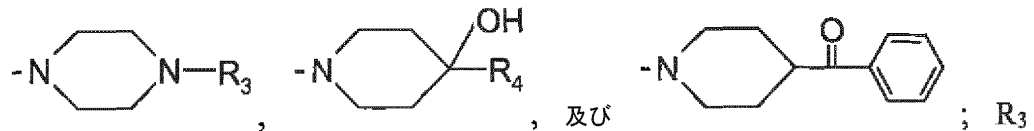
(1)



[式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；R₂ は、

【化 2】

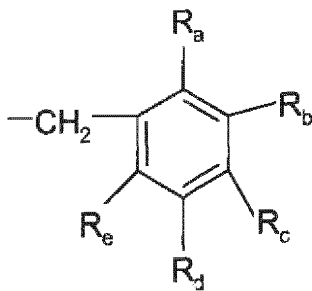


及び

からなる群より選択される基を表し； R₃ は、

- アリールカルボニル基、
- ヘテロアリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

【化 3】



基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

そして、R₄ は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である]

及び

10

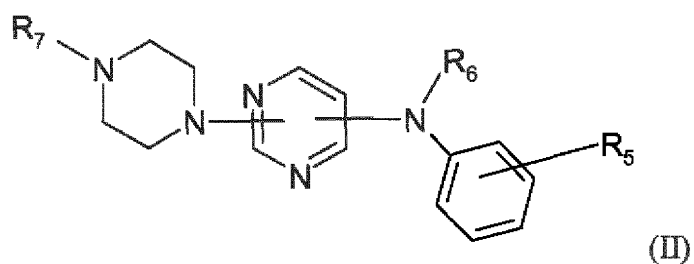
20

30

40

【化 4】

(2)



10

[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；R₆ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；そして、R₇ は、

- アリールカルボニル基、

- (C₁ - 4) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、

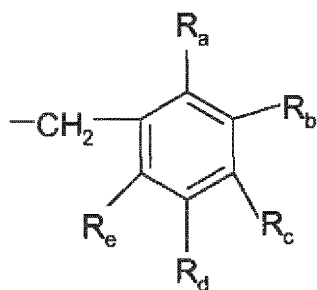
- ヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基、

- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

-

20

【化 5】



30

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表す]。

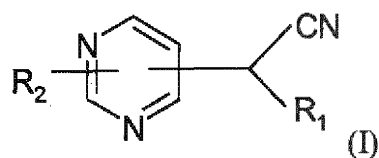
【0025】

第 1 の態様によれば、本発明の発明主題は、以下の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び / 又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つに関する：

40

【化 6】

(I)



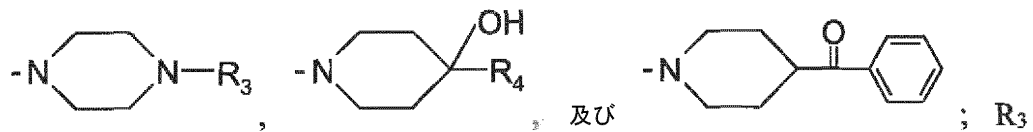
50

[式中、

R_1 は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；

R_2 は、

【化 7】

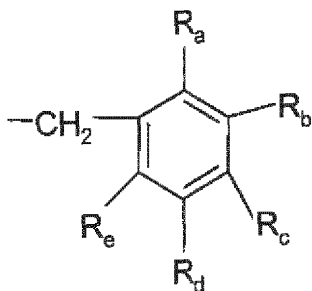


10

からなる群より選択される基を表し； R_3 は、

- アリールカルボニル基、
- ヘテロアリールカルボニル基、
- ($C_1 - C_4$) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

【化 8】



20

基 (R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、($C_1 - C_4$) アルキル基、又は ($C_1 - C_4$) アルコキシ基であり、 R_a 及び R_b 、又は R_b 及び R_c 、又は R_c 及び R_d 、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

30

そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基であるが；

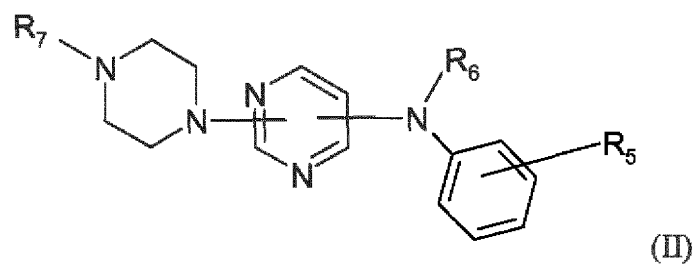
ただし、

R_1 が 2 - ピリジルである場合、 R_2 は 4 - メチルベンジル基ではない]

及び

【化 9】

(2)



40

[式中、

R_5 は、水素原子又は ($C_1 - C_4$) アルキル基を表し；

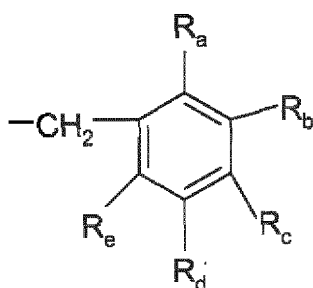
R_6 は、水素原子又は ($C_1 - C_4$) アルキル基を表し；そして、

50

R₇ は、

- アリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、
- ヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

【化 1 0】



10

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表すが、ただし、

20

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ はインドール - 3 - イルアセチル基ではない]。

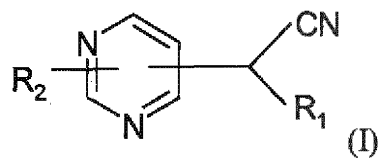
【0026】

好ましい態様によれば、本発明の発明主題は、以下の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び / 又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つに関する：

30

【化 1 1】

(I)



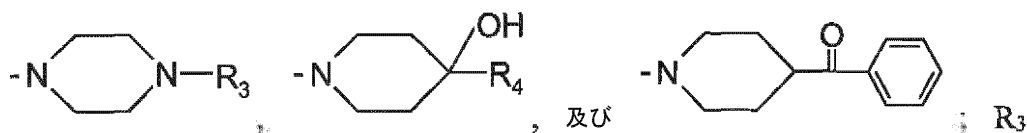
40

[式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；

R₂ は、

【化 1 2】

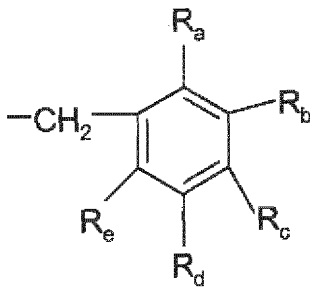


からなる群より選択される基を表し；R₃ は、

50

- ヘテロアリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

【化 1 3】



10

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、又は (C₁ - C₄) アルキル基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

そして、R₄ は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基であるが；

20

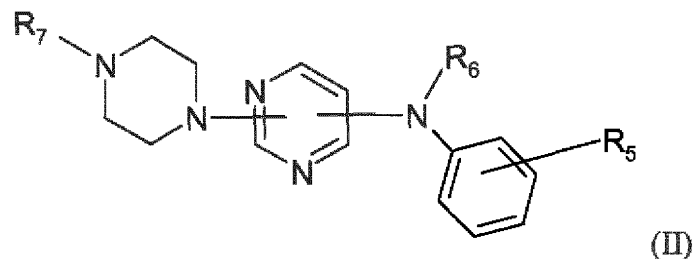
ただし、

R₁ が 2 - ピリジルである場合、R₂ は 4 - メチルベンジル基ではない]

及び

【化 1 4】

(2)



30

(II)

[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；

R₆ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；そして、

R₇ は、

- (C₁ - C₄) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、並びに

40

- ヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基、

からなる群より選択される基を表すが、

ただし、

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ はインドール - 3 - イルアセチル基ではない]。

【0027】

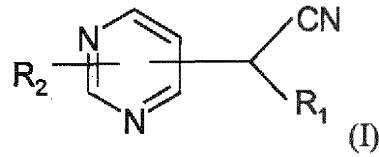
別の態様によれば、本発明の発明主題は、以下の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び / 又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む

50

) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つに関する：

【化 1 5】

(1)



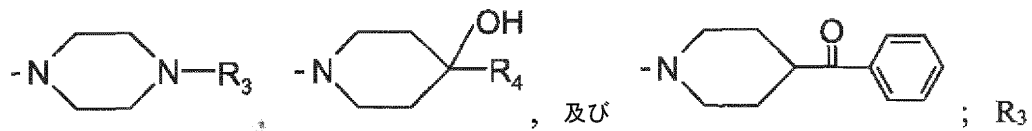
10

[式中、

R_1 は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；

R_2 は、

【化 1 6】

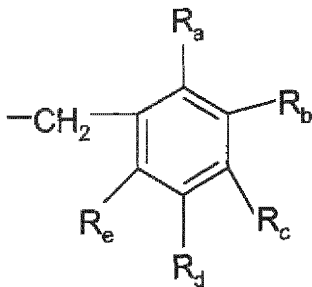


からなる群より選択される基を表し； R_3 は、

- アリールカルボニル基、
- ヘテロアリールカルボニル基、
- ($C_1 - C_4$) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

20

【化 1 7】



30

基 (R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、($C_1 - C_4$) アルキル基、又は ($C_1 - C_4$) アルコキシ基であり、 R_a 及び R_b 、又は R_b 及び R_c 、又は R_c 及び R_d 、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基であるが；

ただし、

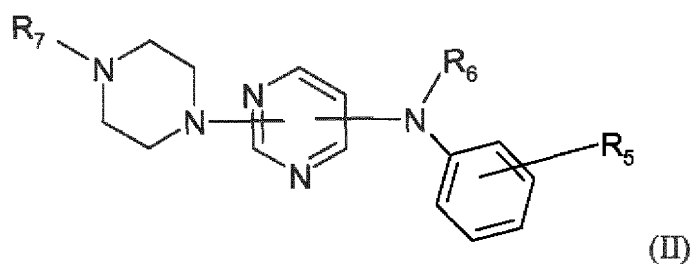
R_1 が 2 - ピリジルである場合、 R_2 は 4 - メチルベンジル基ではない]

及び

40

【化 18】

(2)



10

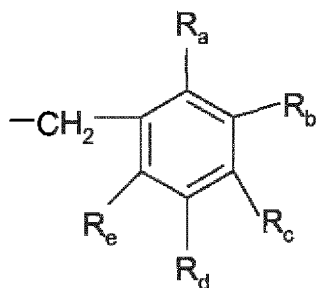
[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；R₆ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；そして、R₇ は、

- アリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によつて場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、
- ヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに
-

20

【化 19】



30

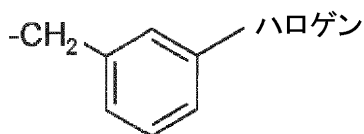
基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表すが、ただし、

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ はインドール - 3 - イルアセチル基ではなく、

40

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ は

【化 20】



基ではない】。

【0028】

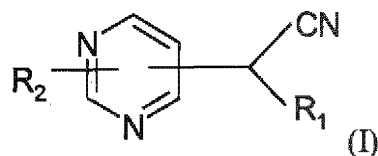
別の好ましい態様によれば、本発明の発明主題は、以下の中から択一的に選択される、

50

タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか１つに関する：

【化２１】

(1)



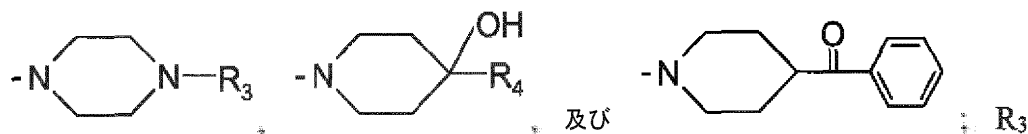
10

[式中、

R_1 は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；

R_2 は、

【化２２】

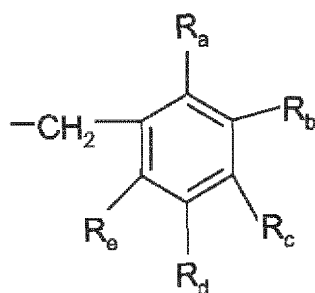


20

からなる群より選択される基を表し； R_3 は、

- ヘテロアリールカルボニル基、
- ($C_1 - C_4$) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

【化２３】



30

基 (R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、又は ($C_1 - C_4$) アルキル基であり、 R_a 及び R_b 、又は R_b 及び R_c 、又は R_c 及び R_d 、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

40

そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基であるが；

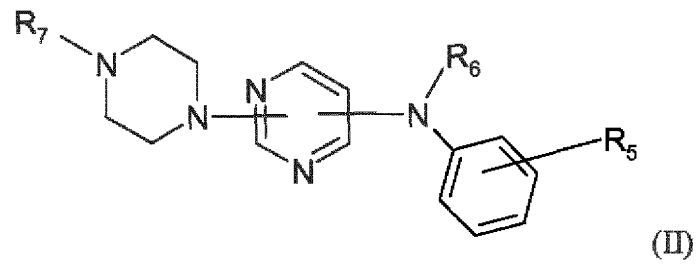
ただし、

R_1 が 2 - ピリジルである場合、 R_2 は 4 - メチルベンジル基ではない]

及び

【化 2 4】

(2)



10

[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；R₆ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；そして、R₇ は、

- (C₁ - 4) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、並びに

- ヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基、

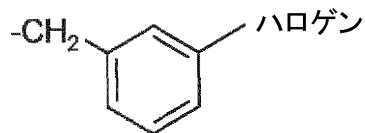
からなる群より選択される基を表すが、

ただし、

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ はインドール - 3 - イルアセチル基ではなく、

R₅ 及び R₆ が両方メチル基である場合、R₇ は

【化 2 5】



30

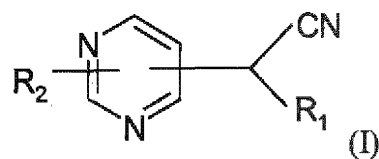
基ではない]。

【0029】

別の好ましい態様では、本発明の発明主題は、以下の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び / 又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つに関する：

【化 2 6】

(1)

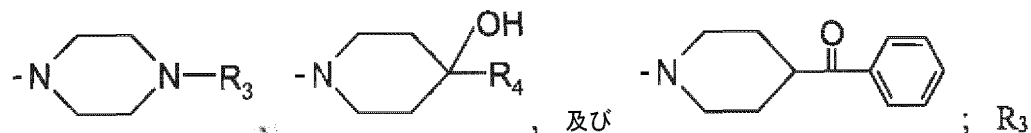


40

[式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；R₂ は、

【化 27】

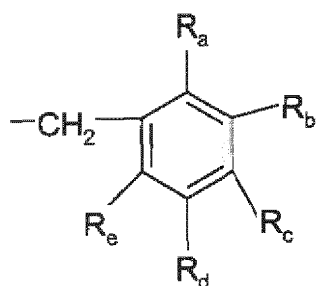


からなる群より選択される基を表し；R₃ は、

- アリールカルボニル基、
- ヘテロアリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び
-

10

【化 28】



20

基 (R_a、R_b、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、そして、R_c は、水素原子、ハロゲン原子、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、

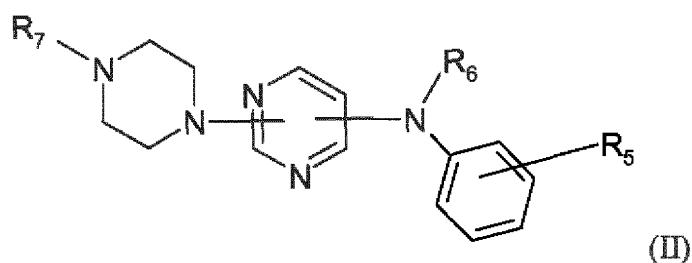
そして、R₄ は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である]

30

及び

【化 29】

(2)



40

[式中、

R₅ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；

R₆ は、水素原子又は (C₁ - C₄) アルキル基を表し；そして、

R₇ は、

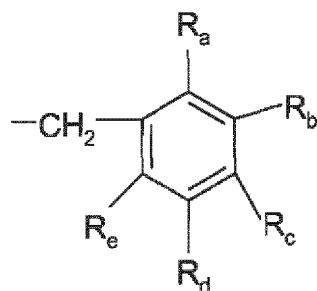
- アリールカルボニル基、
- (C₁ - C₄) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、
- ヘテロアリール環においてフェニル基によって置換されているヘテロアリールア

50

セチル基、

- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

【化 3 0】



10

基 (R_a、R_b、R_c、R_d、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、(C₁ - C₄) アルキル基、又は (C₁ - C₄) アルコキシ基であり、R_a 及び R_b、又は R_b 及び R_c、又は R_c 及び R_d、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表す]。

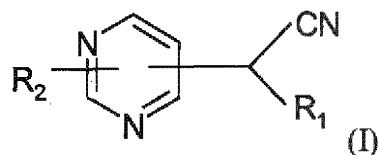
【0030】

特定の実施態様では、本発明の発明主題は、以下の中から択一的に選択される、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び / 又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物 (ラセミ混合物を含む) の形態の、化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか 1 つに関する：

20

【化 3 1】

(I)



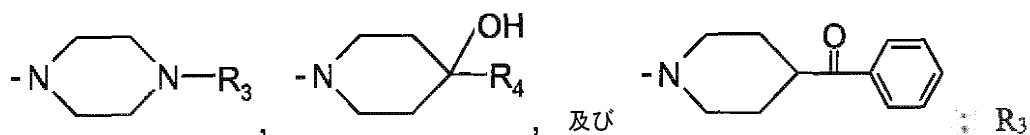
30

[式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は 4 - ピリジルであり；

R₂ は、

【化 3 2】



40

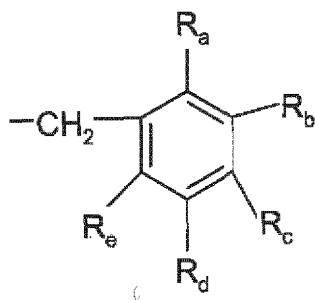
からなる群より選択される基を表し；R₃ は、

- ヘテロアリールカルボニル基、

- (C₁ - C₄) アルコキシ - カルボニルメチル基、及び

-

【化 3 3】



10

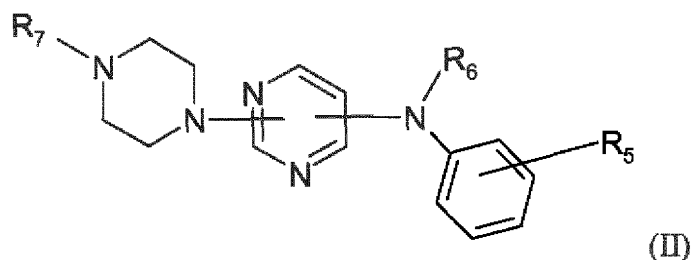
基 (R_a 、 R_b 、 R_d 、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、又は ($C_1 - C_4$) アルキル基であり、そして、 R_c は、水素原子又はハロゲン原子であり、 R_a 及び R_b 、又は R_b 及び R_c 、又は R_c 及び R_d 、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2 個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している 5 員又は 6 員の環を形成する) からなる群より選択される基を表し、そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である]

及び

【化 3 4】

(2)

20



(II)

30

[式中、

R_5 は、水素原子又は ($C_1 - 4$) アルキル基を表し ;

R_6 は、水素原子又は ($C_1 - 4$) アルキル基を表し ; そして、

R_7 は、

- ($C_1 - 4$) アルキル基及びフェニル基から選択される 1 個又は 2 個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、並びに

- ヘテロアリール環においてフェニル基によって置換されているヘテロアリールアセチル基

からなる群より選択される基を表す] 。

【 0 0 3 1 】

本発明の化合物は、遊離塩基又は薬学的に許容し得る酸の付加塩の形態で存在し得る。

40

【 0 0 3 2 】

化合物の「薬学的に許容し得る塩」とは、薬学的に許容し得、そして、親化合物の所望の薬理活性を有する塩を意味する。

【 0 0 3 3 】

本発明に係る化合物の好適な薬学的に許容し得る酸付加塩は、塩酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アスコルビン酸塩、トリフラート、メシル酸塩、トシル酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、及びリンゴ酸塩を含む。

【 0 0 3 4 】

本発明の化合物及びその塩類は、溶媒和物 (例えば、水和物) を形成し得、そして、本発明は、全てのこのような溶媒和物を含む。

50

【 0 0 3 5 】

本発明の状況では、

- 用語「ハロゲン」は、塩化物、フッ化物、臭化物、又はヨウ化物を意味すると理解され、特に、塩化物、フッ化物、又は臭化物を意味し、より好ましくは、フッ化物である。

- 用語「(C₁ - C₄) アルキル」とは、本明細書で使用する時、それぞれ、C₁ - C₄ の一級 (normal)、二級、又は三級の飽和炭化水素を指す。例は、メチル、エチル、1 - プロピル、2 - プロピルであるが、これらに限定されない。

- 用語「(C₁ - C₄) アルコキシ」とは、本明細書で使用する時、それぞれ、O - (C₁ - C₄) アルキル部分 (アルキルは、上に定義したとおりである) を指す。例は、メトキシ、エトキシ、1 - プロポキシ、2 - プロポキシであるが、これらに限定されない。

- 用語「アリアルカルボニル基」という表現における「アリアル」は、6 ~ 10 個の環原子の一価の単環式又は二環式の芳香族炭化水素ラジカルを意味すると理解される。例は、フェニル、ナフチルであるが、これらに限定されない。より好ましくは、「アリアル」は、フェニルである。

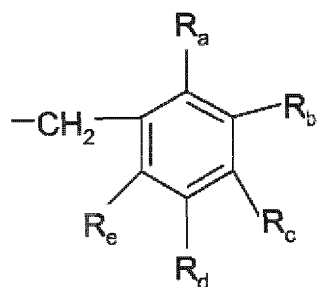
- 用語「ヘテロアリアルカルボニル基」及び「ヘテロアリアルアセチル基」という表現における「ヘテロアリアル」は、本明細書で使用する時、5 ~ 10 個の環原子 (1 個以上、好ましくは、1 個、2 個、又は 3 個の環原子は、N、O、又は S から選択されるヘテロ原子であり、残りの環原子は炭素である) の一価の単環式又は二環式の芳香族ラジカルを指す。代表的な例は、ピロリル、チエニル、チアゾリル、イミダゾリル、フラニル、インドリル、イソインドリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾキサゾリル、キノリニル、イソキノリニル、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアゾリル、テトラゾリル等を含むが、これらに限定されない。好ましくは、ヘテロアリアルは、チエニル、フリル、より好ましくは、チエニルである。そして、

- 用語「患者」は、ヒト、又はネコ若しくはイヌ等の哺乳類にも及び得る。

【 0 0 3 6 】

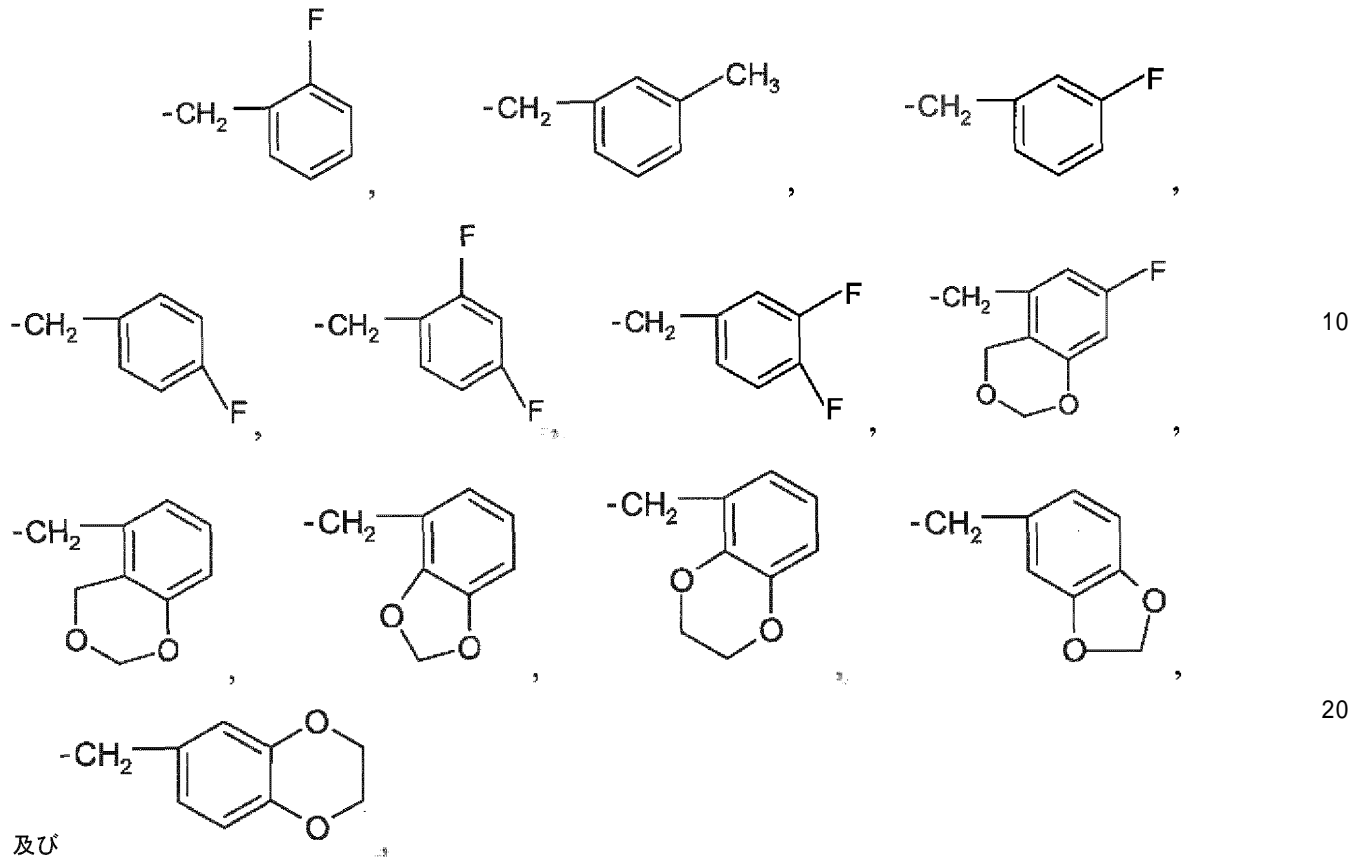
特定の態様では、以下の基

【 化 3 5 】



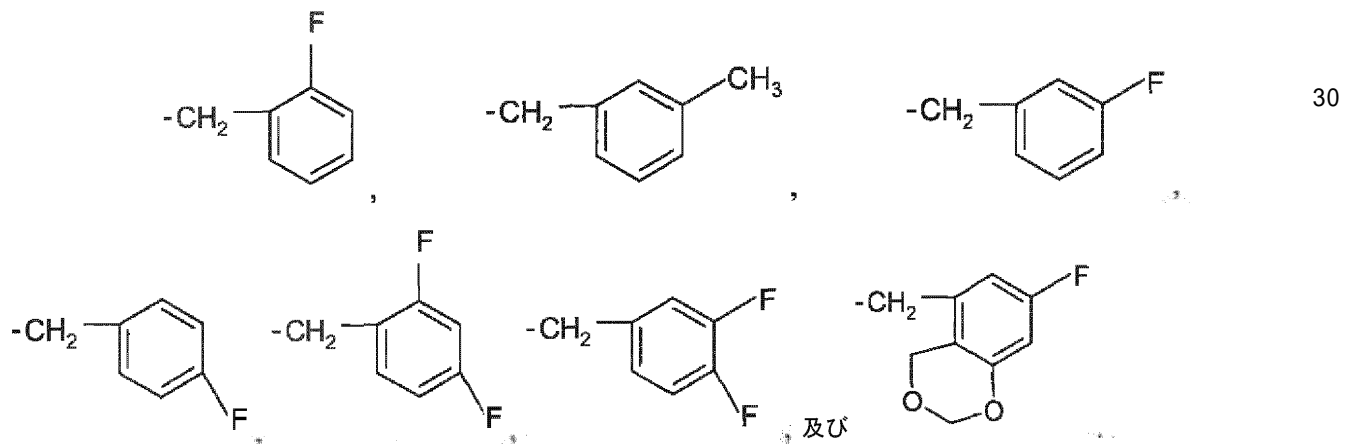
は、

【化 3 6】



から選択される基を表し、そして、より好ましくは、

【化 3 7】



から選択される基を表す。

【0037】

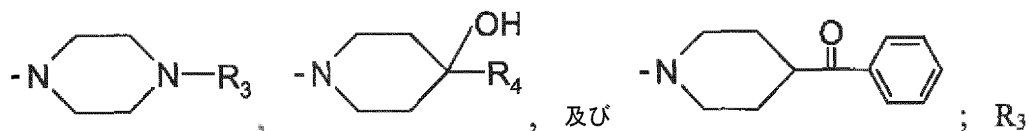
1つの特定の変形例では、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、上に定義した式（I）の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか1つを目的とする：

（式中、

R₁ は、2 - ピリジル、3 - ピリジル、又は4 - ピリジルであり；

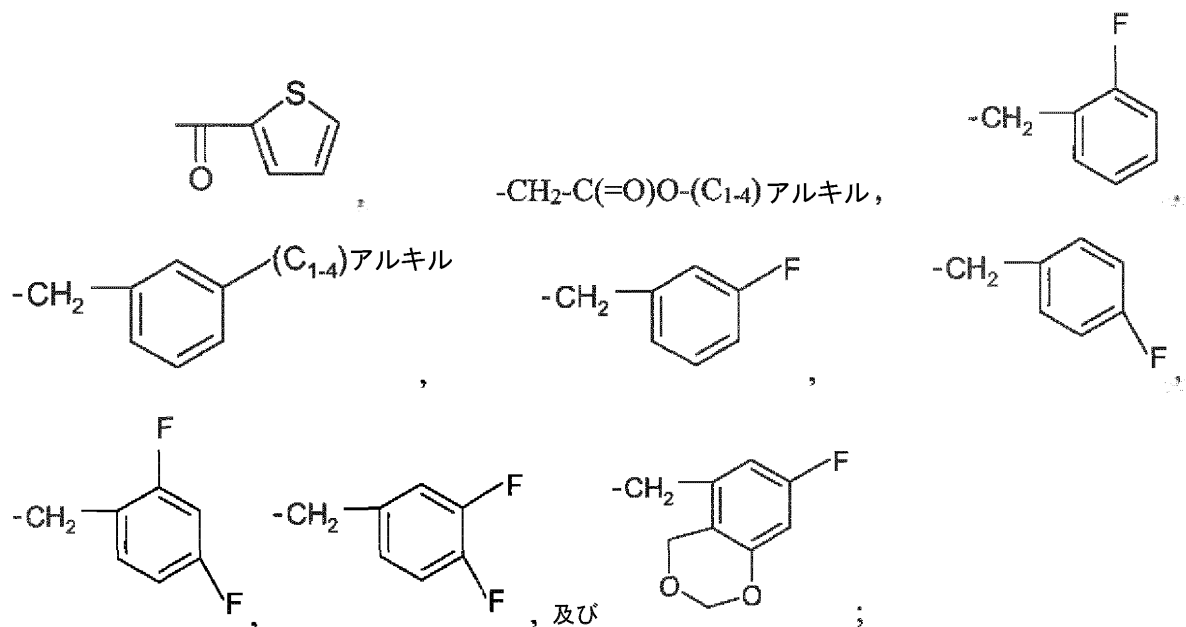
R₂ は、

【化 3 8】



からなる群より選択される基を表し； R_3 は、

【化 3 9】

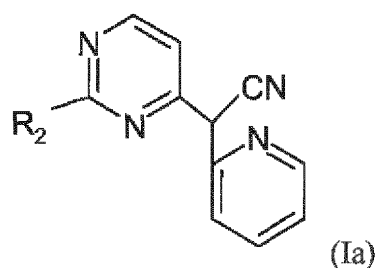


からなる群より選択される基を表し；そして、 R_4 は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である）。

【 0 0 3 8 】

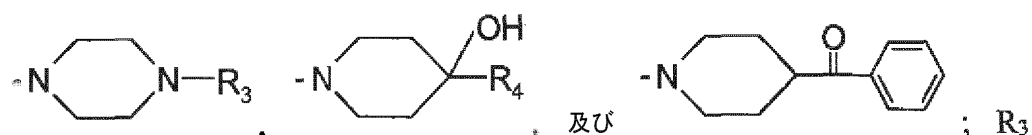
本発明は、更に、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、以下に定義する式（Ia）の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか１つに関する：

【化 4 0】

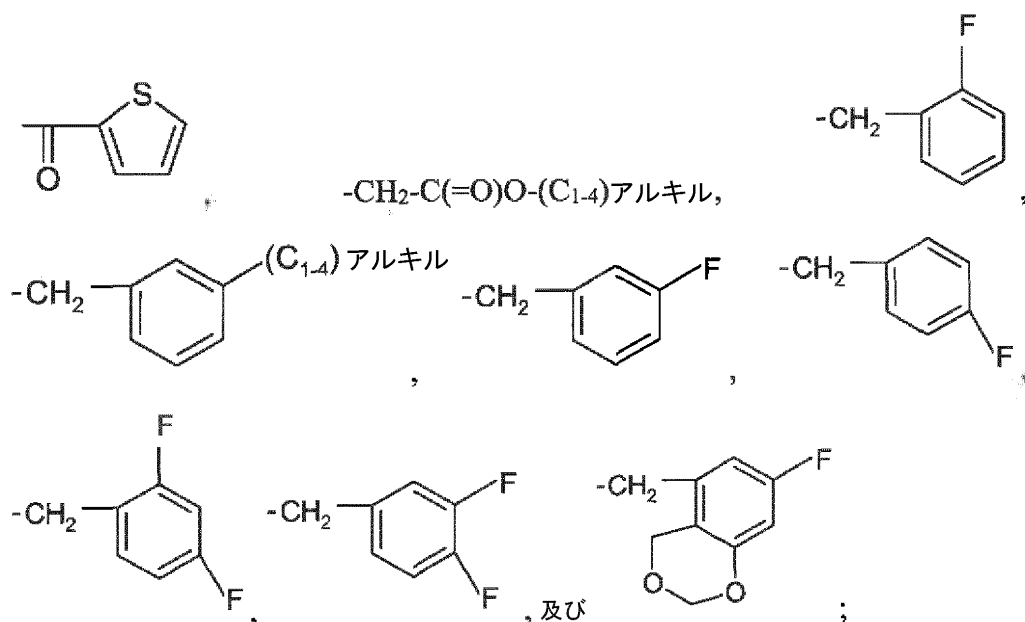


(式中、R₂は、

【化 4 1】



【化 4 4】



10

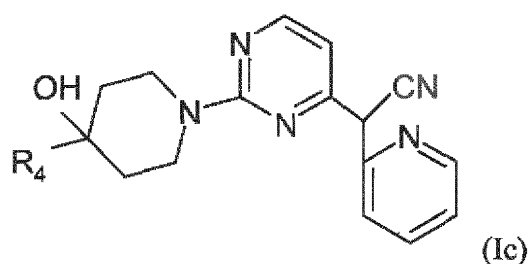
からなる群より選択される基を表す)。

20

【 0 0 4 0 】

本発明は、更に、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、以下に定義する式（1c）の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか1つに関する：

【化 4 5】



30

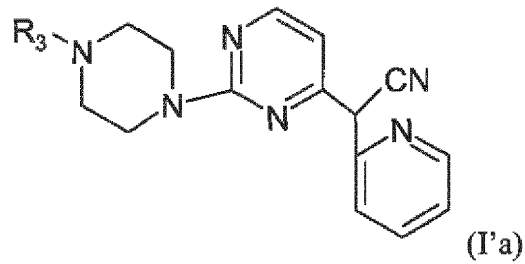
(式中、R₄は、ハロゲン原子によって置換されているフェニル基、又はベンジル基である)。

【 0 0 4 1 】

本発明は、更に、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、式（I' a）の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか１つに関する；

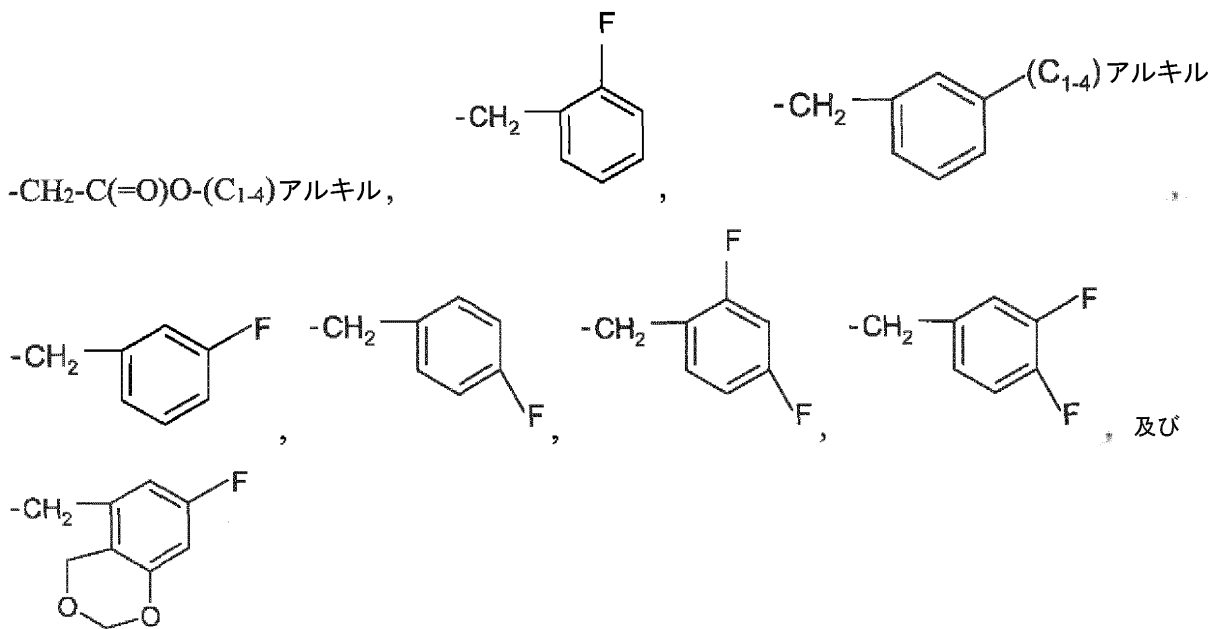
40

【化 4 6】



10

(式中、 R_3 は、
【化 4 7】



20

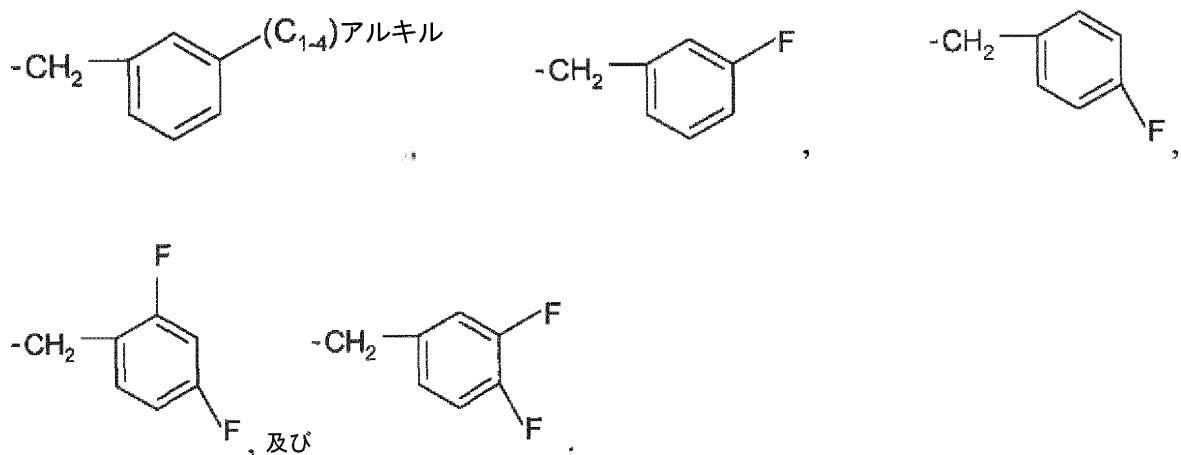
30

からなる群より選択される基を表す)。

【0042】

好ましい実施態様によれば、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び/又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物(ラセミ混合物を含む)の形態の、上に定義した式(I'a)の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか1つに関する(式中、 R_3 は、

【化 4 8】



40

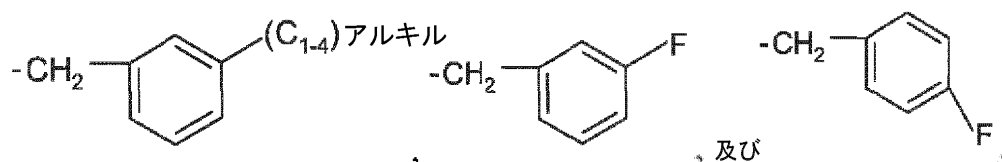
50

からなる群より選択される基を表す)。

【0043】

より好ましい実施態様によれば、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、上に定義した式（I' a）の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか1つに関する（式中、 R_3 は、

【化49】



10

からなる群より選択される基を表す)。

【0044】

別の特定の変形例では、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物（ラセミ混合物を含む）の形態の、上に定義した式（II）の化合物又はその薬学的に許容し得る塩のいずれか1つを目的とする：

20

[式中、

R_5 は、水素原子又は（ $C_1 - C_4$ ）アルキル基を表し；

R_6 は、水素原子又は（ $C_1 - C_4$ ）アルキル基を表し；そして、

R_7 は、

- アリールカルボニル基、

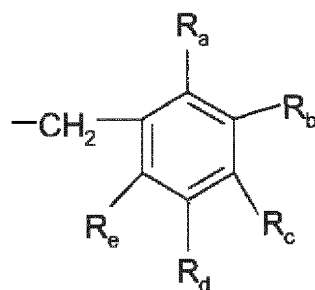
- （ $C_1 - C_4$ ）アルキル基及びフェニル基から選択される1個又は2個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、

- ヘテロアリール環においてフェニル基によって置換されているヘテロアリールアセチル基、

- （ $C_1 - C_4$ ）アルコキシ - カルボニルメチル基、並びに

30

【化50】



40

基（ R_a 、 R_c 、及び R_e は、独立して、水素原子、ハロゲン原子、（ $C_1 - C_4$ ）アルキル基、又は（ $C_1 - C_4$ ）アルコキシ基であり、そして、 R_b 及び R_d は、独立して、水素原子又は（ $C_1 - C_4$ ）アルコキシ基であり、 R_a 及び R_b 、又は R_b 及び R_c 、又は R_c 及び R_d 、又は R_d 及び R_e は、一緒になって、場合により、これらが結合している炭素原子と共に、2個の酸素原子を含むフェニル環に縮合している5員又は6員の環を形成する）からなる群より選択される基を表す]。

【0045】

別の特定の変形例では、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び／又は予防における使用のための、エナンチオマー、ジアステレオマ

50

(式中、

R₆ は、水素原子又は (C₁ - 4) アルキル基を表し；そして、

R₇ は、

【化 5 1】



30

からなる群より選択される基を表す)。

【 0 0 4 6 】

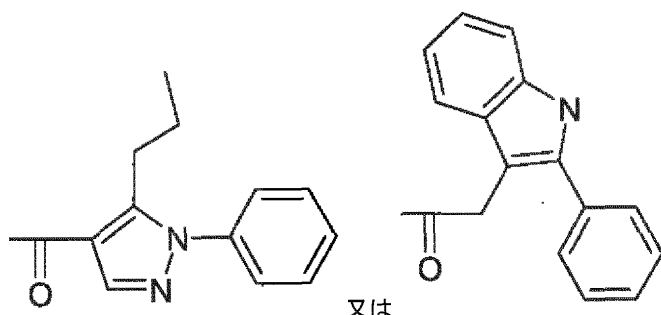
40

(式中、

R₆ は、(C₁ - 4)アルキル基、好ましくは、メチル基を表し；そして、

R₇ は、

【化 5 2】



10

を表す)。

【0047】

本発明の好ましい実施態様によれば、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害の治療及び/又は予防における使用のための化合物は、エナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物(ラセミ混合物を含む)の形態の、

(1) { 2 - [4 - (2 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP1

(2) { 2 - [4 - (4 - クロロ - フェニル) - 4 - ヒドロキシ - ピペリジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP9

(3) [2 - (4 - ベンゾイル - ピペリジン - 1 - イル) - ピリミジン - 4 - イル] - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP16

(4) { 2 - [4 - (3 - メチル - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP21

(5) { 2 - [4 - (4 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP24

(6) { 4 - [4 - (シアノ - ピリジン - 2 - イル - メチル) - ピリミジン - 2 - イル] - ピペラジン - 1 - イル } - 酢酸エチルエステル、すなわち、Mono-AP25

(7) { 2 - [4 - (2 , 4 - ジフルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP26

(8) { 2 - [4 - (6 - フルオロ - 4 H - ベンゾ [1 , 3] ジオキシン - 8 - イル - メチル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP27

(9) { 2 - [4 - (3 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP28

(10) { 2 - [4 - (3 , 4 - ジフルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP30

(11) ピリジン - 4 - イル - { 6 - [4 - (チオフェン - 2 - カルボニル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP2

(12) [2 - (4 - ベンジル - 4 - ヒドロキシ - ピペリジン - 1 - イル) - ピリミジン - 4 - イル] - ピリジン - 2 - イル - アセトニトリル、すなわち、Mono-AP3

(13) { 4 - [6 - (メチル - m - トリル - アミノ) - ピリミジン - 4 - イル] - ピペラジン - 1 - イル } - (1 - フェニル - 5 - プロピル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル) - メタノン、すなわち、Di-AP2、及び

(14) 1 - { 4 - [6 - (メチル - m - トリル - アミノ) - ピリミジン - 4 - イル] - ピペラジン - 1 - イル } - 2 - (2 - フェニル - 1 H - インドール - 3 - イル) - エタノン、すなわち、Di-AP1、

及びそれらの薬学的に許容し得る塩類の中から選択される。

50

【0048】

また、本発明は、上に定義した式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)の化合物自体に関する。

【0049】

したがって、前記化合物(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)、(10)、(11)、(12)、(13)、及び(14)は、新規であり、そして、塩酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アスコルビン酸塩、トリフラート、メシル酸塩、トシル酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、及びリンゴ酸塩等のそれらの薬学的に許容し得る塩のいずれか1つと同様に、本発明の一部を形成する。

10

【0050】

したがって、本発明は、化合物(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)、(10)、(11)、(12)、(13)、及び(14)、並びにそれらの薬学的に許容し得る塩類自体にも及ぶ。

【0051】

式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)の化合物は、1つ以上の不斉炭素原子を含んでいてよい。したがって、これらは、上述の通り、エナンチオマー又はジアステレオマーの形態で存在し得る。これらエナンチオマー、ジアステレオマー、及びそれらの混合物(ラセミ混合物を含む)は、本発明の範囲内に包含される。

【0052】

別の態様によれば、本発明は、医薬としての使用のための、式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)の化合物、並びに具体的な化合物(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)、(10)、(11)、(12)、(13)、及び(14)、並びにそれらの薬学的に許容し得る塩類に関する。

20

【0053】

したがって、本発明の新規化合物、すなわち、式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)の化合物、並びに上に列挙した具体的な化合物は、医薬として有用であり、より具体的には、タンパク質のプレニル化の阻害が必要とされる疾患又は障害を治療及び/又は予防するために用いることができる。前記疾患又は障害は、ハッチンソン-ギルフォード早老症候群(HGPS)、早老症、神経変性疾患、パーキンソン病、びまん性レビー小体病、多系統萎縮症、シャイ-ドレーガー症候群、線条体黒質変性症、オリブ橋小脳萎縮症、パントテン酸キナーゼ関連神経変性症、認知障害、認知症、リソソーム蓄積症、II型糖原病、ムコ多糖症、ムコリビドーシスII、ムコリビドーシスIII、ムコスルファチドーシス、GM2活性化タンパク質欠乏症異型AB、ダノン病、サラ病、テイ-サックス病、サンドホフ病、シンドラー病、神崎病、 α -マンノシドーシス、 β -マンノシドーシス、フコシドーシス、シアリドーシス、アスパルチルグルコサミン尿症、炭水化物欠乏糖タンパク質症候群、ウォルマン病、ファーパー病、ニーマン-ピック病A型、B型、及びC型、ゴーシェ病、クラッペ病、ファブリー病、多発性スルファターゼ欠損症、GM1ガングリオシドーシス、GM2ガングリオシドーシス、GM3ガングリオシドーシス、ガラクトシアリドーシス、シスチン症、シアル酸蓄積症、濃化異骨症、異染性白質萎縮症、ガラクトシアリドーシス、神経セロイドリポフスチン症、ラクトシルセラミドーシス、ポンベ病、コバラミン欠乏症(cobalamin deficiency) F型、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、アルツハイマー病；ミトコンドリア性疾患、眼疾患、炎症性疾患、心血管疾患、増殖性疾患、鬱病、不安、免疫疾患、新生物疾患、腫瘍、癌、転移、白血病、癌腫、メラノーマ、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髄腫、腺腫、新生物、神経芽細胞腫、腺癌、リンパ腫、骨髄腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、血管原性骨髄様化生、中皮腫、神経膠腫、アテローム性動脈硬化症、胆石、胆石症、脂肪石灰化肉芽腫症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、コレステロール結晶塞栓症、心筋梗塞症(myocardial infarction)、脳梗塞、狭心症、骨粗鬆症、関節炎、関節リウマチ、変形性関節炎、バジエット病、神経線維腫

30

40

50

症1型、レオパード症候群、ヌーナン症候群、レギウス症候群、コストロ症候群、遺伝性歯肉線維腫症1型、自己免疫性リンパ増殖症候群、毛細血管奇形-動静脈奇形、皮膚老化、ホルモン老化、光線誘発性早期皮膚老化、老化筋脂肪皮膚(myo-lipo-skin)、拘束性皮膚症、毛髪の変化又は脱毛、脱毛症、デルタ肝炎ウイルス感染症、並びにウイルス感染症を含んでいてよい。

【0054】

より具体的には、前記腫瘍及び癌は、骨、脳、腎臓、肝臓、副腎、結腸直腸、膀胱、乳房、胃、卵巣、結腸、直腸、前立腺、脾臓、肺、非小細胞肺、小細胞肺、膣、甲状腺、頭頸部の癌及び腫瘍から選択される。

【0055】

本発明の化合物は、当業者によって実施される有機合成の従来の方法によって調製することができる。以下に概説する一般的な反応順序は、本発明の化合物を調製するのに有用な一般的な方法を表し、そして、範囲又は有用性を限定することを意味するものではない。

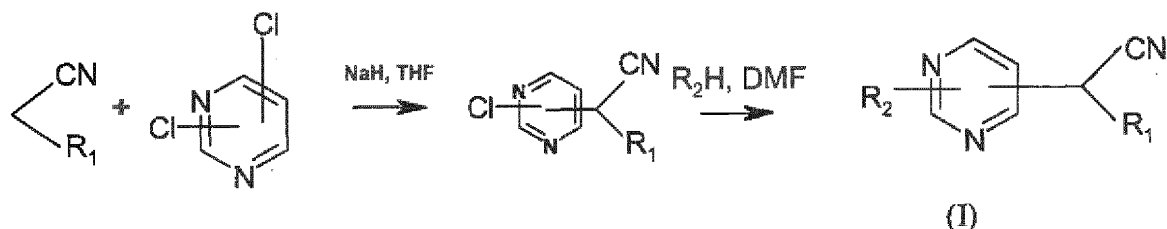
【0056】

スキーム1、2、及び3において以下に説明及び例証する通り、3つのルート、それぞれ、ルートA、ルートB、及びルートCが、本発明に係る化合物を回収するのに利用可能である。

【0057】

【化53】

スキーム1:ルートA



テトラヒドロフラン(THF)中0.1M水素化ナトリウム1.1当量の懸濁液に、THF中0.1M2-ピリジルアセトニトリル、3-ピリジルアセトニル、又は4-ピリジルアセトニル、好ましくは、2-ピリジルアセトニル1当量の溶液を滴下した。混合物を30分間攪拌し、次いで、氷浴によって0℃に冷却する。ジメチルホルムアミド(DMF)中1Mジクロロピリミジン(例えば、2,4-ジクロロピリミジン)1当量の溶液を滴下し、そして、反応混合物を室温で一晩攪拌する。反応混合物を部分的に蒸発させ、水で希釈し、そして、濃HClでpH7に戻す。溶液を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥させ、そして、蒸発させて、橙色の固体(ハロゲン化中間体)を与え、これを更に精製することなく用いた。

【0058】

適切な二級アミンR₂H1当量及びジイソプロピルエチルアミン(DIEA)1当量の存在下、0.1Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を130℃で1時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。

【0059】

ルートAは、R₁、R₂、及びR₄が、式(I)において上に定義した通りであり、R₃が、(C₁-C₄)アルコキシカルボニルメチル基又は

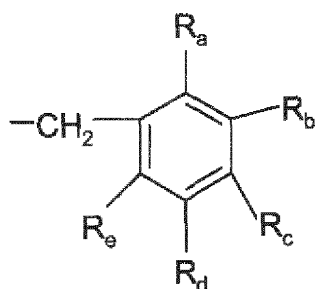
10

20

30

40

【化 5 4】



10

基を表し、 R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、及び R_e が、式 (I) において上に定義した通りである、式 (I) の化合物に特に好適である。

【0060】

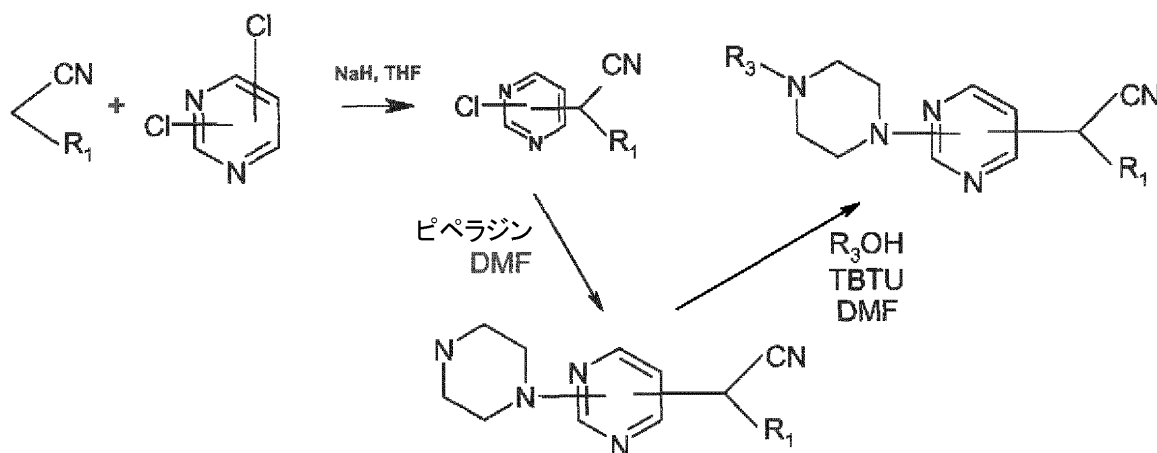
より具体的には、化合物 (1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)、(10) 及び (12) は、以下の実験の部分により詳細に示す通り、ルート A を介して調製することができる。

【0061】

【化 5 5】

スキーム2: ルートB

20



30

THF 中 0.1 M 水素化ナトリウム 1.1 当量の懸濁液に、THF 中 0.1 M 2-ピリジルアセトニトリル、3-ピリジルアセトニトリル、又は 4-ピリジルアセトニトリル、好ましくは、4-ピリジルアセトニトリル 1 当量の溶液を滴下する。混合物を 30 分間攪拌し、次いで、氷浴によって 0℃ に冷却する。DMF 中 1 M 4,6-ジクロロピリミジン 1 当量の溶液を滴下し、そして、反応混合物を室温で一晩攪拌する。反応混合物を部分的に蒸発させ、水で希釈し、そして、濃 HCl で pH 7 に戻す。溶液を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥させ、そして、蒸発させて、橙色の固体を与え、これを更に精製することなく用いた。

40

【0062】

ピペラジン 5 当量及び DIEA 1 当量の存在下、0.1 M になるようにハロゲン化中間体を DMF に溶解させ、そして、反応混合物を 130℃ で 1 時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にて C_{18} 半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。

【0063】

DIEA 2 当量の存在下、0.2 M で酸を DMF に溶解させる。0.2 M O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムテトラフルオロボラート (TBTU) 溶液 1 当量を添加し、そして、反応混合物を 5 分間攪拌する。DMF 中 0.2

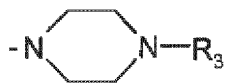
50

Mのアミン当量を添加し、そして、反応媒体を1時間攪拌し、次いで、蒸発させた。残渣を酢酸エチルに再溶解させ、そして、1M Na_2CO_3 で洗浄し、次いで、水で洗浄した。有機相を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にて C_{18} で精製した。

【0064】

ルートBは、 R_1 が、式(I)において上に定義した通りであり、 R_2 が、

【化56】



10

であり、 R_3 が、アリールカルボニル基（例えば、ベンゾイル基）又はヘテロアリールカルボニル基（例えば、チエニルカルボニル基）を表す、式(I)の化合物に特に好適である。

【0065】

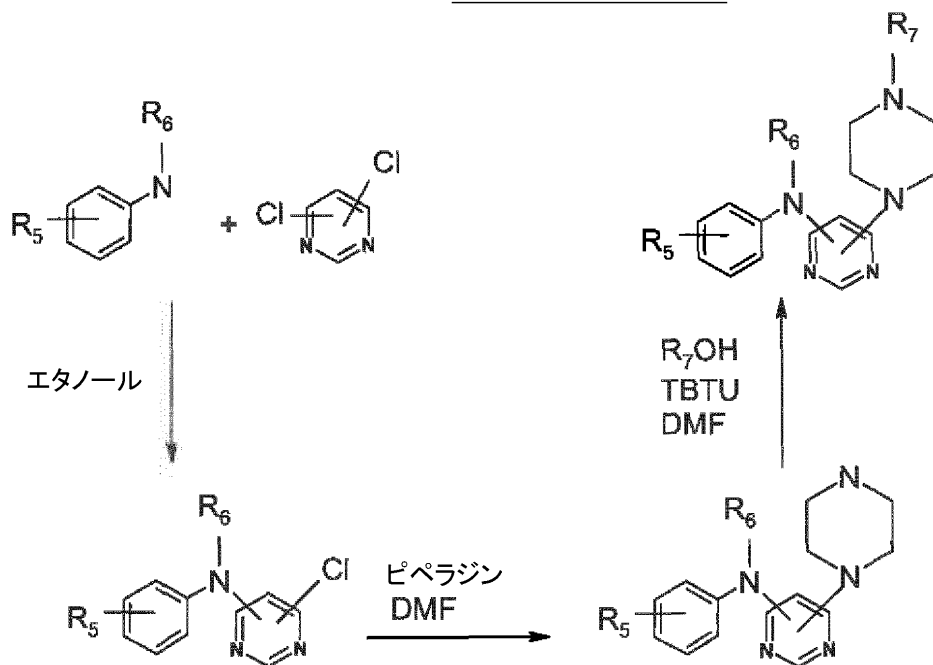
より具体的には、化合物(11)は、以下の実験の部分により詳細に示す通り、ルートBを介して調製することができる。

【0066】

【化57】

スキーム3: ルートC

20



30

エタノール中0.1M ジクロロピリミジン（例えば、4,6-ジクロロピリミジン）1当量の溶液に、エタノール中0.1M R_5 -フェニル-N- R_6 （例えば、N-メチル-m-トルイジン）1当量の溶液を添加した。媒体を4時間還流させ、次いで、部分的に乾燥させ、そして、水で希釈する。溶液を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥させ、そして、蒸発させて、固体を与え、これを更に精製することなく用いた。

40

【0067】

ピペラジン 5当量及びDIEA 1当量の存在下、0.1Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を130℃で1時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にて C_{18} 半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。

【0068】

DIEA 2当量の存在下、0.2Mで酸をDMFに溶解させる。0.2M TBTU溶液 1当量を添

50

加し、そして、反応混合物を5分間撹拌する。DMF中0.2Mのアミン当量を添加し、そして、反応媒体を1時間撹拌し、次いで、蒸発させた。残渣を酢酸エチルに再溶解させ、そして、1M Na₂CO₃で洗浄し、次いで、水で洗浄した。有機相を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC₁₈で精製した。

【0069】

ルートCは、R₅及びR₆が、式(II)において上に定義した通りであり、そして、R₇が、アリールカルボニル基、(C₁-C₄)アルキル基及びフェニル基から選択される1個又は2個の基によって場合により置換されているヘテロアリールカルボニル基、並びにヘテロアリール環においてフェニル基によって場合により置換されているヘテロアリールアセチル基である、式(II)の化合物に特に好適である。

10

【0070】

より具体的には、化合物(13)及び(14)は、以下の実験の部分により詳細に示す通り、ルートCを介して調製することができる。

【0071】

本発明に係る幾つかの化合物の化学構造及びデータを、それぞれ、以下の表I及び表IIに示す。

【0072】

本発明に係る各化合物(1)~(14)の特性評価は、液体クロマトグラフィー-質量分析(LC/MS)を介して実施した。

20

【0073】

分析条件は、以下の通りである：

装置：質量分析計Micromass / Waters Platform LCに連結されているWaters 2795 HPLC
カラム：Varian Pursuit C18 (2.0 × 20.0 mm、5マイクロメートル)

流速：0.8 mL/分

分析時間：5分間

検出：Waters 996 Diode Array (180 ~ 500 nm)

移動相：水/メタノール(9/1(体積))中10mM ギ酸アンモニウム(pH8)(A)
)及びメタノール中10mM ギ酸アンモニウム(B)。

【0074】

【表1】

30

溶出:

時間(分)	A (% , v/v)	B (% , v/v)
0	100	0
0.2	100	0
2.7	0	100
4.4	0	100
5	100	0

40

【0075】

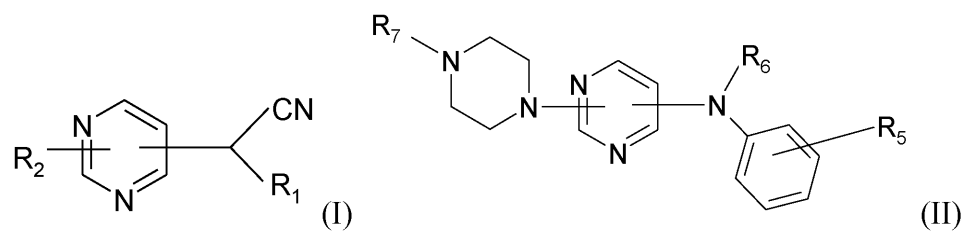
エレクトロスプレーイオン化源(ES^{<+>})を用いて質量スペクトルを得た。

【0076】

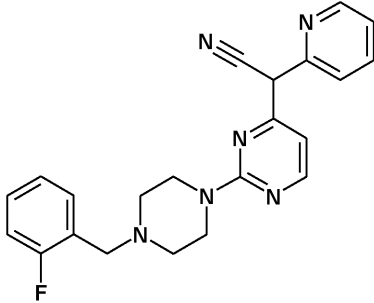
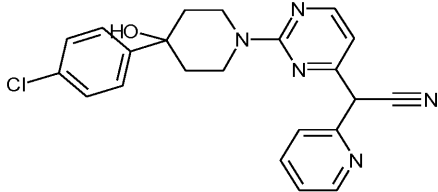
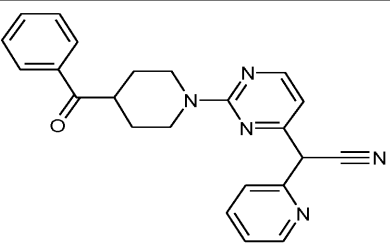
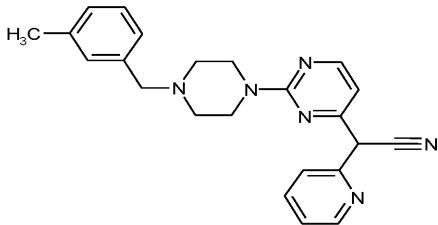
更に、本発明に係る各化合物(1)~(14)の純度、分子量、及び保持時間のデータは、表IIに含まれる。

【0077】

【表 2】

表 I

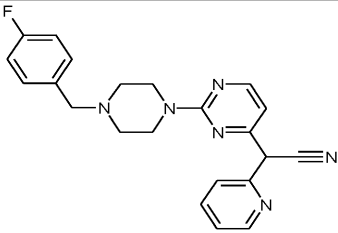
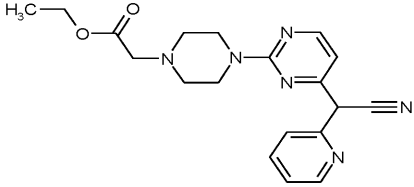
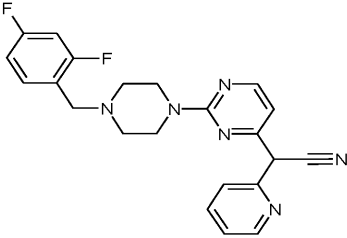
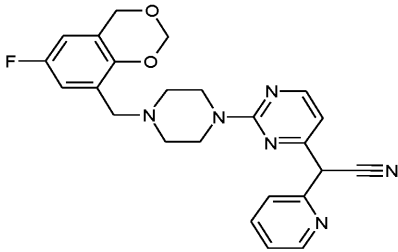
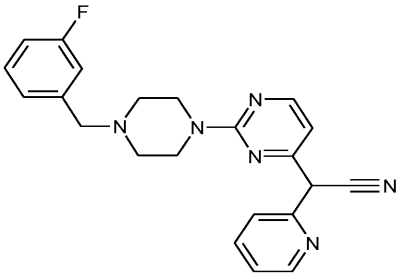
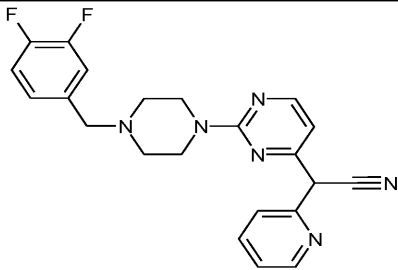
10

式 (I)	
1 Mono-AP1	
2 Mono-AP9	
3 Mono-AP16	
4 Mono-AP21	

20

30

40

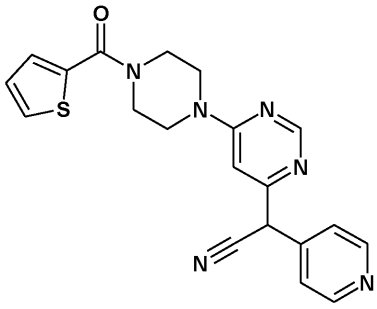
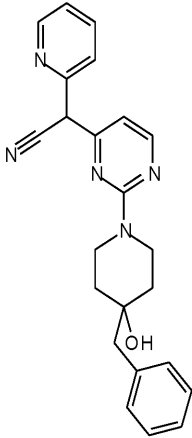
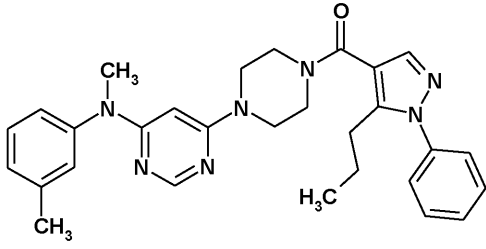
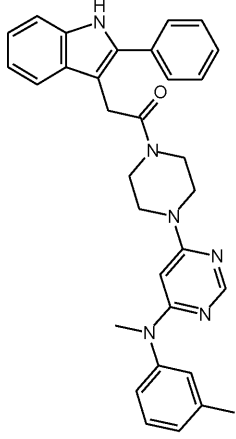
5 Mono-AP24	
6 Mono-AP25	
7 Mono-AP26	
8 Mono-AP27	
9 Mono-AP28	
10 Mono-AP30	

10

20

30

40

<p>11 Mono-AP2</p>	
<p>12 Mono-AP3</p>	
<p>式 (II)</p>	
<p>13 Di-AP2</p>	
<p>14 Di-AP1</p>	

10

20

30

40

【表 3】

表 II

Ex	特性評価			
	純度 (%)	分子量 (MW) (g/モル)	保持時間 (RT) (分)	M+1 (ES <+>)
1	94	388.4409832	2.79	389
2	93	405.88	2.82	406
3	92	383.44594	2.67	384
4	100	384.4771	2.99	385
5	97	388.4409832	2.79	389
6	87	366.41722	2.47	367
7	96	406.4314464	2.82	407
8	92	446.4770632	2.77	447
9	100	388.4409832	2.84	389
10	94	406.4314464	2.84	407
11	84	390.46276	2.46	391
12	98	385.46182	2.83	386
13	94	495.6189	2.83	496
14	100	516.63632	2.84	517

10

20

【0079】

本明細書で指定するアミノピリジン化合物及びそれを含有する医薬組成物の投与方法については、本明細書の他の箇所に記載する。

【0080】

以下の実施例は、本発明に係る化合物(1)～(14)の調製について詳細に説明する。得られた生成物の構造は、少なくともLC-MSによって確認された。

【0081】

実施例

30

実施例 I：本発明に係る化合物の調製

上述の通り：

- 化合物(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)、(10)及び(12)は、ルートAを介して調製することができ；
- 本発明に係る化合物(11)は、ルートBを介して調製することができ；そして、
- 本発明に係る化合物(13)及び(14)は、ルートCを介して調製することができる。

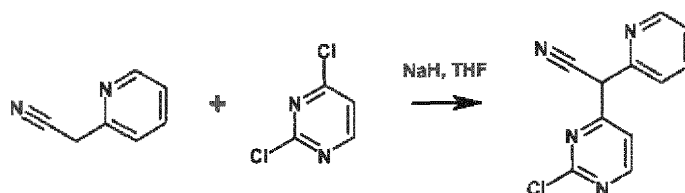
【0082】

実施例 I - 1：Mono-AP1、表 I の化合物(1)

工程 1

40

【化 58】



テトラヒドロフラン (THF) 中 0.1 M 水素化ナトリウム 1.1 当量の懸濁液に、THF 中 0.1 M 2-ピリジルアセトニトリル 1 当量の溶液を滴下した。混合物を 30 分間攪

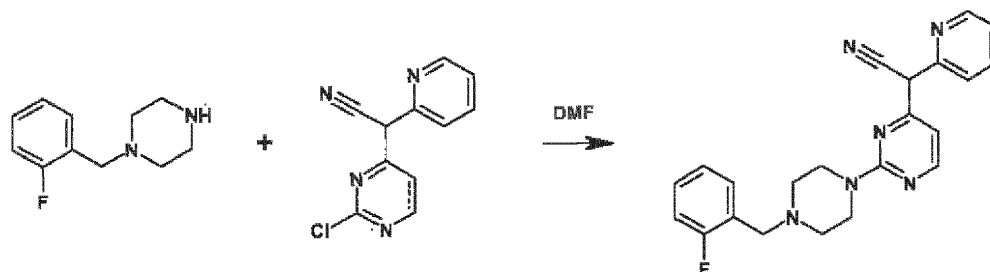
50

拌し、次いで、氷浴によって 0℃ に冷却する。ジメチルホルムアミド (DMF) 中 1 M 2, 4 - ジクロロピリミジン 1 当量の溶液を滴下し、そして、反応混合物を室温で一晩攪拌する。反応混合物を部分的に蒸発させ、水で希釈し、そして、濃 HCl で pH 7 に戻す。溶液を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥させ、そして、蒸発させて、橙色の固体 (ハロゲン化中間体) を与え、これを更に精製することなく用いた。収率 55% でハロゲン化中間体を得られる。

【0083】

工程 2

【化 59】



10

1 - (2 - フルオロ - ベンジル) ピペラジン 1 当量及び DIEA 1 当量の存在下、0.1 M になるようにハロゲン化中間体を DMF に溶解させ、そして、反応混合物を 1 時間かけて 130℃ に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にて C18 半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率 82% で化合物 (1) が得られる。

20

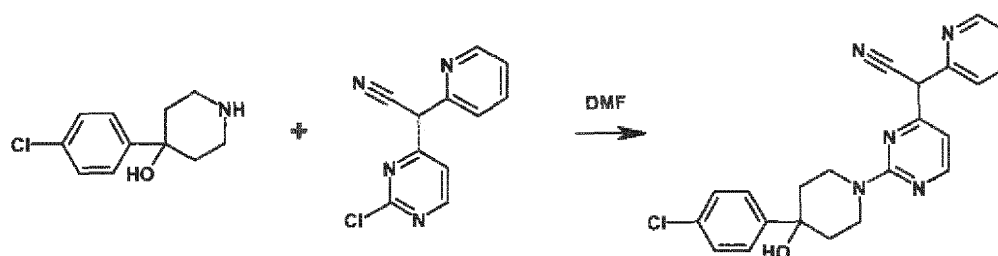
【0084】

実施例 I - 2 : Mono-AP9、表 I の化合物 (2)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 60】



30

4 - (4 - クロロフェニル) ピペリジン - 4 - オール 1 当量及び DIEA 1 当量の存在下、0.1 M になるようにハロゲン化中間体を DMF に溶解させ、そして、反応混合物を 130℃ で 1 時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にて C18 半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率 80% で化合物 (2) が得られる。

40

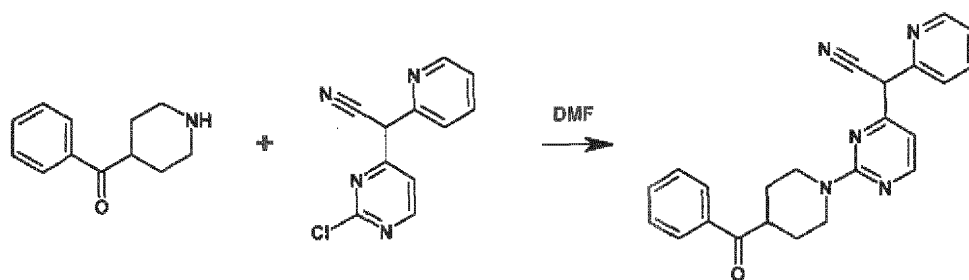
【0085】

実施例 I - 3 : Mono-AP16、表 I の化合物 (3)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 6 1】



10

フェニル - ピペリジン - 4 - イル - メタノンヒドロクロリド 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0.1Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を130℃で1時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率75%で化合物(3)が得られる。

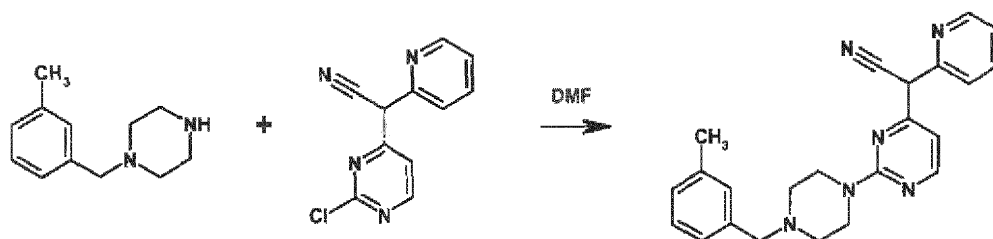
【0086】

実施例 I - 4 : Mono-AP21、表 I の化合物 (4)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 6 2】



20

1 - (3 - メチル - ベンジル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0.1Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を1時間かけて130℃に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率84%で化合物(4)が得られる。

30

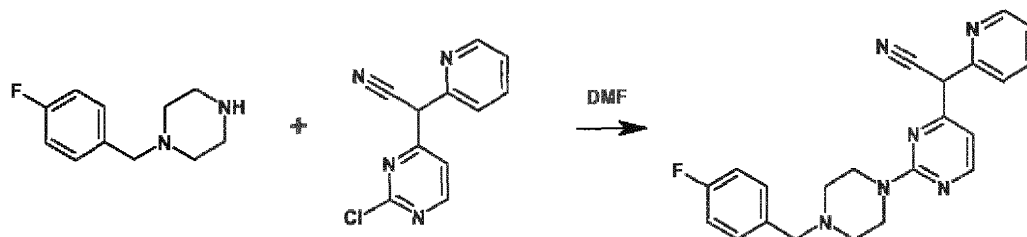
【0087】

実施例 I - 5 : Mono-AP24、表 I の化合物 (5)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 6 3】



40

1 - (4 - フルオロ - ベンジル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0.1Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を1時間かけて130℃に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率76%で化合物(5)が

50

得られる。

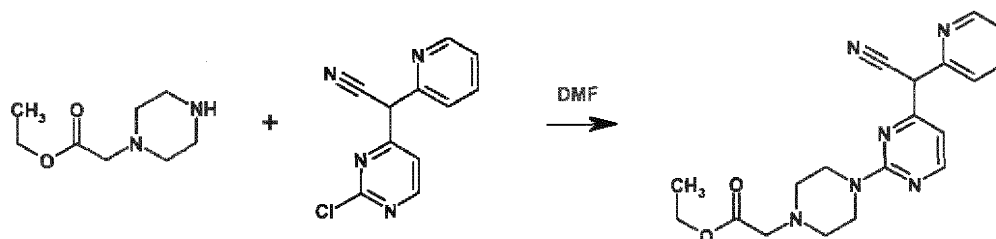
【 0 0 8 8 】

実施例 I - 6 : Mono-AP25、表 I の化合物 (6)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【 化 6 4 】



10

1 - (3 - メチル - ベンジル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0 . 1 M になるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を1時間かけて130 に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率84 %で化合物 (6) が得られる。

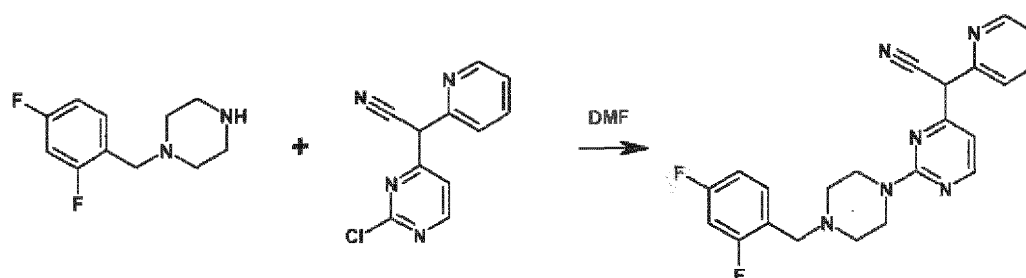
【 0 0 8 9 】

実施例 I - 7 : Mono-AP26、表 I の化合物 (7)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【 化 6 5 】



30

1 - (2 , 4 - ジフルオロ - ベンジル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0 . 1 Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を1時間かけて130 に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率89 %で化合物 (7) が得られる。

【 0 0 9 0 】

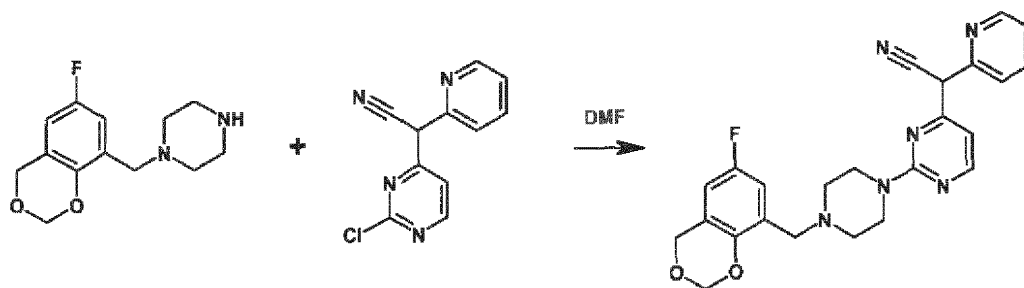
実施例 I - 8 : Mono-AP27、表 I の化合物 (8)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

40

【化 6 6】



10

1 - (6 - フルオロ - 4 H - ベンゾ [1 , 3] ジオキシシン - 8 - イルメチル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0 . 1 Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を130 で1時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率74 %で化合物 (8) が得られる。

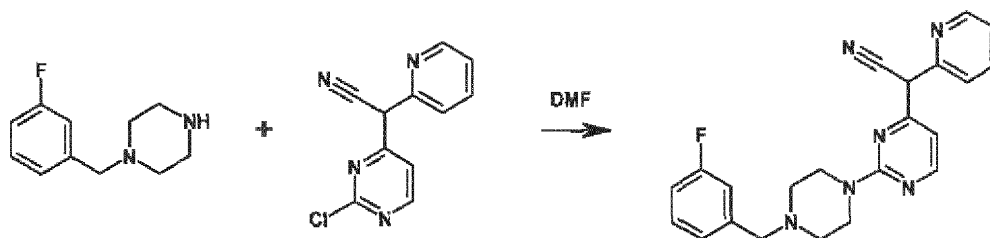
【 0 0 9 1】

実施例 I - 9 : Mono-AP28、表 I の化合物 (9)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 6 7】



20

1 - (3 - フルオロ - ベンジル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0 . 1 Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を1時間かけて130 に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率83 %で化合物 (9) が得られる。

30

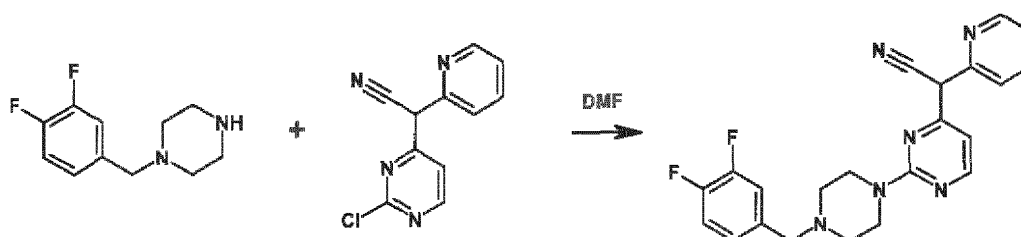
【 0 0 9 2】

実施例 I - 10 : Mono-AP30、表 I の化合物 (10)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 6 8】



40

1 - (3 , 4 - ジフルオロ - ベンジル) ピペラジン 1 当量及びDIEA 1 当量の存在下、0 . 1 Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を1時間かけて130 に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水 / メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率87 %で化合物 (

50

10) が得られる。

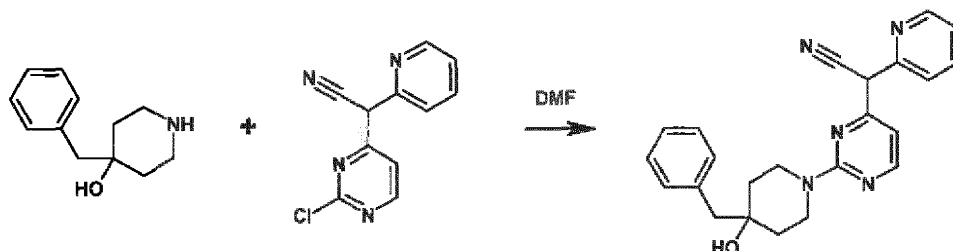
【0093】

実施例 I - 11 : Mono-AP3、表 I の化合物 (12)

まず、上記実施例 I - 1 に記載の通り工程 1 を実施する。

工程 2

【化 69】



10

4 - ベンジル - ピペリジン - 4 - オール 1 当量及びジイソプロピルエチルアミン (DIEA) 1 当量の存在下、0.1 M になるようにハロゲン化中間体を DMF に溶解させ、そして、反応混合物を 1 時間かけて 130 ° に加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にて C18 半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率 71 % で化合物 (12) が得られる。

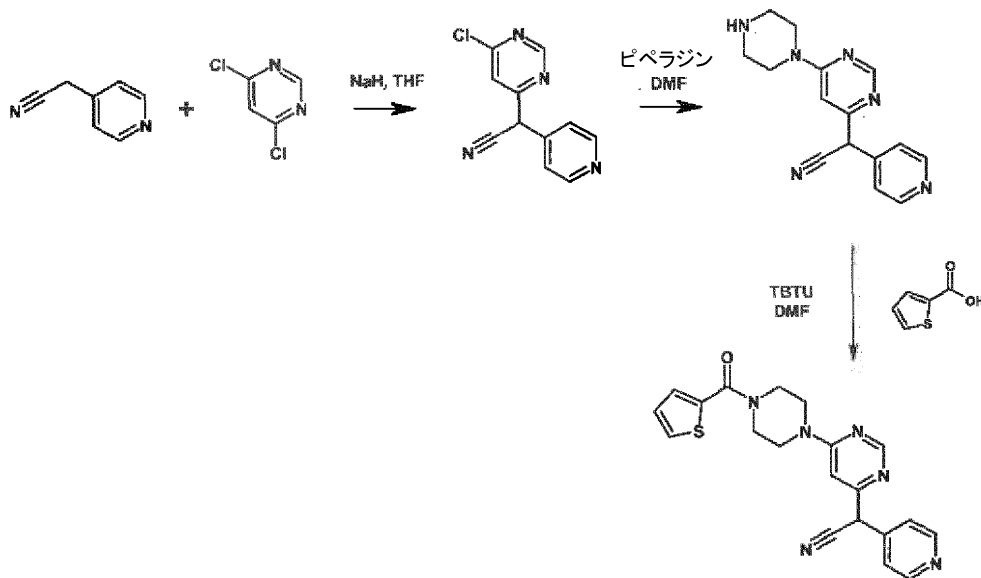
【0094】

20

実施例 I - 12 : Mono-AP2、表 I の化合物 (11)

工程 1、2、及び 3

【化 70】



30

THF 中 0.1 M 水素化ナトリウム 1.1 当量の懸濁液に、THF 中 0.1 M 4 - ピリジルアセトニトリル 1 当量の溶液を滴下する。混合物を 30 分間攪拌し、次いで、氷浴によって 0 ° に冷却する。DMF 中 1 M 4,6 - ジクロロピリミジン 1 当量の溶液を滴下し、そして、反応混合物を室温で一晩攪拌する。反応混合物を部分的に蒸発させ、水で希釈し、そして、濃 HCl で pH 7 に戻す。溶液を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥させ、そして、蒸発させて、橙色の固体を与え、これを更に精製することなく用いた。

40

【0095】

ピペラジン 5 当量及び DIEA 1 当量の存在下、0.1 M になるようにハロゲン化中間体を DMF に溶解させ、そして、反応混合物を 130 ° で 1 時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にて C18 半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率 50 % で中間体生成物が得られる。

50

【0096】

DIEA 2当量の存在下、0.2Mで2-チオフェンカルボン酸をDMFに溶解させた。0.2M O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムテトラフルオロボラート(TBTU)溶液 1当量を添加し、そして、反応混合物を5分間攪拌する。DMF中0.2M アミン中間体 1当量を添加し、そして、反応媒体を1時間攪拌し、次いで、蒸発させる。残渣を酢酸エチルに再溶解させ、そして、1M Na₂CO₃で洗浄し、次いで、水で洗浄した。有機相を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18で生成物を精製した。収率70%で化合物(11)が得られる。

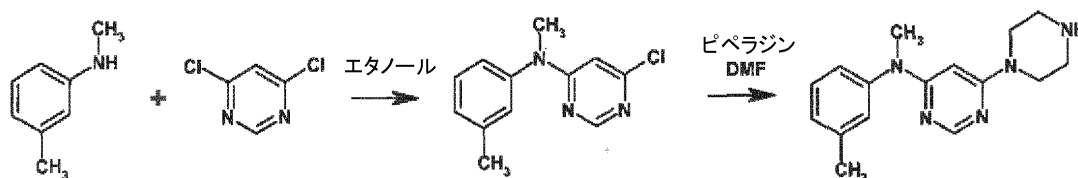
【0097】

実施例 I - 13 : Di-AP2、表 I の化合物 (13)

10

工程 1 及び 2 :

【化 7 1】



エタノール中0.1M 4,6-ジクロロピリミジン 1当量の溶液に、エタノール中0.1M N-メチル-m-トルイジン 1当量の溶液を添加した。媒体を4時間還流させ、次いで、部分的に乾燥させ、そして、水で希釈する。溶液を酢酸エチルで抽出し、有機相を乾燥させ、そして、蒸発させて、固体を与え、これを更に精製することなく用いた。

20

【0098】

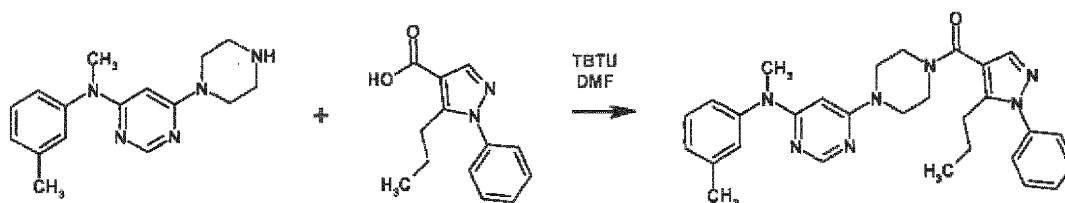
ピペラジン 5当量及びDIEA 1当量の存在下、0.1Mになるようにハロゲン化中間体をDMFに溶解させ、そして、反応混合物を130℃で1時間加熱する。反応媒体を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18半自動装置においてクロマトグラフィーによって生成物を精製する。収率50%で中間体生成物が得られる。

【0099】

工程 3 :

30

【化 7 2】



DIEA 2当量の存在下、0.2Mで1-フェニル-5-プロピル-1H-ピラゾール-4-カルボン酸をDMFに溶解させる。0.2M TBTU溶液 1当量を添加し、そして、反応混合物を5分間攪拌する。DMF中0.2M アミン中間体 1当量を添加し、そして、反応媒体を1時間攪拌し、次いで、蒸発させる。残渣を酢酸エチルに再溶解させ、そして、1M Na₂CO₃で洗浄し、次いで、水で洗浄した。有機相を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18で生成物を精製した。収率70%で化合物(13)が得られる。

40

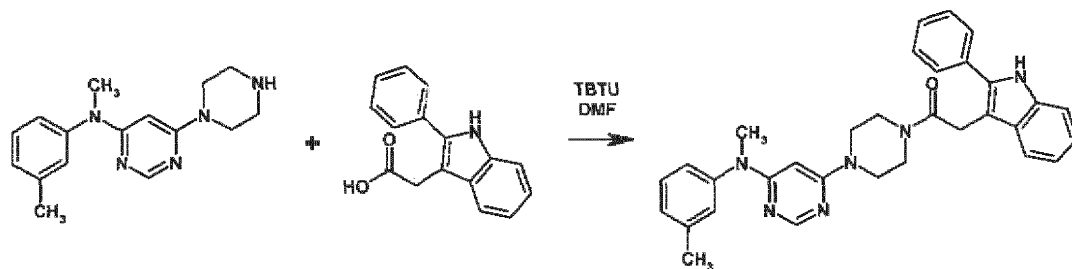
【0100】

実施例 I - 14 : Di-AP1、表 I の化合物 (14)

実施例 I - 13 で上に定義した通り工程 1 及び工程 2 を実施する。

工程 3 :

【化 7 3】



10

DIEA 2 当量の存在下、0.2 Mで(2-フェニル-1H-インドール-3-イル)酢酸をDMFに溶解させる。0.2 M TBTU溶液 1 当量を添加し、そして、反応混合物を5分間攪拌する。DMF中0.2 M アミン中間体 1 当量を添加し、そして、反応媒体を1時間攪拌し、次いで、蒸発させる。残渣を酢酸エチルに再溶解させ、そして、1 M Na_2CO_3 で洗浄し、次いで、水で洗浄した。有機相を蒸発させ、そして、水/メタノール勾配にてC18で生成物を精製した。収率74%で化合物(14)が得られる。

【0101】

実施例II：薬理学的データ

A. 材料及び方法

線維芽細胞の再プログラミング

20

この試験で用いた線維芽細胞は、患者13-8243についてはAssistance Publique Hopital x de Marseilleで実施した患者生検から単離し、そして、コントロールDM4603についてはCoriell Cell Repository (Camden, USA)によって提供された。レトロウイルスベクターを用いて導入されたOCT4、KLF4、SOX2、c-Mycを用いる山中原法を用いて、線維芽細胞をiPS細胞に再プログラミングした(Takahashi et al., 2007, Cell 131, 861-872)。

【0102】

多能性幹細胞の培養及び分化

3000/cm²で播種し、そして、既に記載されている通り(Nissan et al., 2012, Cell reports 2: 1-9)増殖させた、10 mg/mL マイトマイシンCで不活化したSTOマウス線維芽細胞において、WT及びHGPSのiPS細胞を増殖させた。

30

【0103】

分化については、本発明者らによるグループによって既に公開されている分化についての指向プロトコル(directed protocols)(Nissan et al., 2012, Cell reports 2: 1-9)を用いて、iPSCを間葉幹細胞に分化させた。

【0104】

プレラミンAの局在の細胞ベースアッセイ

黒色384ウェル透明底プレート(Corning)に2000個のHGPS MSCをプレーティングした。48時間薬物処理した後、細胞を4% パラホルムアルデヒドで固定した(15分間、室温)。4で一晩、0.1% triton X-100及び1% BSA(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)及びウサギ抗プレラミンA(ANT0045, Diatheva)を添加したPBS溶液中で、透過処理、ブロッキング、及び一次ハイブリダイゼーションの工程を同時に行った。種特異的フルオロフォア結合二次抗ウサギ抗体(Invitrogen)で細胞を染色し(1時間、室温)、そして、Hoechst 33342で核を可視化した。洗浄/染色ステーション(ELx405 Biotek, RapidStak Thermo, Multidrop Labsystems)を用いてこれら工程を自動化した。ArrayScan VTI HCS Reader(Cellomics)を用いてプレラミンAの局在を分析した。第1のチャネルを核の同定(Hoechst 33342染色)に用い、そして、第2のチャネルはプレラミンA染色を同定するために用いた。高解像度カメラモードで5倍の対物レンズを用いて写真を取得し、そして、Spot Detector bioapplicationを用いて分析した。 $Z' = 1 - [3(SDP + SDN) / (MP - MN)]$ (式中、MP及びMNは、それぞれ、ポジティブコントロール(1 μM ティピファニブ)及びネガティブコントロール(0.1% DMSO)の平

40

50

均に対応し、そして、SDP及びSDNは、これらの標準偏差に対応する)に従って計算したZ'係数を用いてアッセイのロバストネスを評価した。

【0105】

一次スクリーニング処理

Biocell 1800 (Agilent) で一次スクリーニングを実施した。このために、0.1%ゼラチンでコーティングされた黒色384ウェル透明底プレートに、1ウェル当たり20% FBS培養培地 38 μ Lに2000個のHPGS MSCを播種した。播種の5時間後、化合物ライブラリから20 \times 化合物 2 μ Lを細胞アッセイプレートにモノプリケートで移した。各プレートにおいて、ネガティブコントロール(0.1% DMSO)及びポジティブコントロール(1 μ M ティピファニブ)を、それぞれ、カラム1及び2に添加した。次いで、プレートを48時間インキュベートし、次いで、プレラミンA検出アッセイ用に処理した。スクリーニングの72枚のプレートをそれぞれ48時間処理し、固定し、そして、既に記載されている最適化されたプロトコルを用いて特異的抗プレラミンA抗体で染色した。毒性分子の発見を防ぐために、視野当たりの細胞数を並行してモニタリングし、そして、検証及び表現型的な二次表現型の評価前に30%を超える死亡率を示す候補を除外した。

【0106】

化合物ライブラリ

化合物ライブラリは、384ウェルプレートフォーマットで流通している4つの異なるライブラリに属する21,608個の化合物を含み、そして、Prestwick Chemical (Illkirch, France)、LOPAC (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)、CHEM-X-INFINITY (Romainville, France)、及びCurie Institute (Orsay, France)から入手した。Prestwick Chemicalライブラリは、1120個のFDAによって承認されている薬物を含んでいる。このライブラリは、2つの濃度: 0.2 μ M及び5 μ Mで試験した。LOPACライブラリ(Sigma-Aldrich)は、1280個の薬理学的活性化合物のコレクションを含んでいる。このライブラリは、2つの濃度: 0.2 μ M及び10 μ Mで試験した。Chem-X-Infinityライブラリは、約30個の異なる化学ファミリーに属する10568個の有機低分子で構成されている。このライブラリは、5 μ Mの濃度で試験した。Institute Curieライブラリは、抗HIV、抗キナーゼ、タンパク質-タンパク質相互作用、ホスファターゼ阻害剤を含む様々な処置標的に対する最適化プログラム中に得られた8,640個の低分子を含んでいる。このライブラリは、2~15 μ Mを含む濃度に対応する2,5 μ g/mLで試験した。

【0107】

データ解析

Spotfireソフトウェア(Tibco Co)に接続された専用Hiscreenアプリケーション(Discngine, Paris, France)を用いてスクリーニングのデータ解析を実施した。プレラミンA核パラメータの百分率に対するZ'係数を各プレートについて計算することによって、スクリーニングのロバストネスを評価した。プレラミンA核を有する細胞の百分率及び視野当たりの細胞数に関連する生データを、DMSOコントロールの平均に対して正規化した。これら正規化されたデータに対して、Zスコアプレート及びZスコアラン法を並行して用いて、ヒットの選択を実施した。Zスコアプレート及び/又はZスコアランが3以上であり、そして、DMSO条件に比べて細胞数が30%超減少しなかったヒットのみを、後続の検証工程のために選択した。これら後者を、一次スクリーニングと同じ濃度にてクアドロプリケートで再試験した。次いで、検証されたヒットを、その効果、効力、及び毒性を並行して調べるために、段階的濃度で試験した。

【0108】

骨芽細胞分化

384ウェルプレート中のMSC培養培地に600細胞/ウェルでMSCを播種し、そして、既に記載されている通り処理した。72時間後、MSC培地を、様々な薬物を含むか又は含まないSTEMPRO骨形成誘導培地(Invitrogen)に交換した。7日間処理した後、細胞を95%エタノールで固定し、そして、アルカリホスファターゼの比色基質である5-ブromo-4-クロロ-3-インドリルホスファート/ニトロブルーテトラゾリウム(NBT)(S

10

20

30

40

50

igma-Aldrich)又はこの酵素の発色基質(吸光度405nm)であるp-ニトロフェニルホスファート(pNPP)(Pierce Biotechnology)のいずれかを添加することによって染色した。

【0109】

免疫細胞化学

4工程プロトコルにおいて、細胞を4%パラホルムアルデヒドで固定(15分間、室温)した後、0.1%triton X-100及び1%BSA(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)を添加したPBS中で透過処理及びブロッキングを行った。一次抗体をブロッキングバッファ中室温で1時間インキュベートした。抗体は、マウス抗ラミンA/C(クローンJOL2, Millipore, Billerica, USA)、ウサギ抗プレラミンA(ANT0045, Diatheva)、及び抗Ki67(クローンKi-S5, MAB4190, Millipore, Billerica, USA)を含んでいた。細胞を種特異的フルオロフォア結合二次抗体(Invitrogen)で染色(1時間、室温)し、そして、Hoechst 33342で核を可視化した。

【0110】

ATP測定

HPGS及びコントロールMSCを96ウェルプレート(3917, Corning)に播種(5000細胞/ウェル)し、そして、様々な薬物で処理した。独自の用量で48時間処理した後、製造業者の推奨に従ってCellTiter Glo(登録商標)(Promega)を用いてATP含量を測定した。Analyst GTマルチモードプレートリーダー(Molecular devices)を用いて発光を測定した。並行して、自動顕微鏡を用いて各ウェルにおけるHoechst 33342で染色された核をカウントした。利用した結果は、ATP測定値とカウントされた核の数との比で与える。

【0111】

ウェスタンイムノブロッティング

MSCの全細胞溶解物を収集し、SDS-PAGEによって分離し、そして、液体転写法によってPVDFメンブレンに転写した。室温で1時間、1×0.1% tweenトリス緩衝生理食塩水(TBS)中10%スキムミルク(Bio-Rad)でプロットをブロッキングした。用いた一次抗体は、マウス抗ラミンA/C 1:200(Millipore, JOL2)、ウサギ、抗プレラミンA 1/100(ANT0045, Diatheva)、及び-アクチン 1/20000(Sigma)であった。メンブレンを4で一晩インキュベートした。セイヨウワサビペルオキシダーゼ結合種特異的二次抗体(GE-Healthcare, Little Chalfont, UK)、続いて、化学発光増強ウエスタンブロッティング検出試薬(Perkin-Elmer, Waltham, USA)を用いて抗原抗体結合を検出した。

【0112】

定量PCR

製造業者のプロトコルに従ってRNeasy Mini抽出キット(Qiagen, Courtaboeuf, France)を用いて全RNAを単離した。ゲノムDNAの増幅を回避するために、オンカラムDNase I切断を実施した。Nanodrop技術を用いてRNAのレベル及び品質をチェックした。Superscript III逆転写キット(Invitrogen)を用いる逆転写用にRNA 合計500ngを用いた。製造業者の指示書に従って、ABI 7900システム(Applied biosystem)及びTaqMan gene expression Master Mix(Roche)を用いてQ-PCR分析を実施した。遺伝子発現の定量は、DeltaCt Methodに基づいており、そして、18Sの発現(Assay HS_99999901_S1)に対して正規化した。PCRプライマーは、S. Rodriguez及び共同研究者によって既に記載されている通りであった(Rodriguez S et al., 2009, Eur J Hum Genet, VOL 17(7): 928-37)。プライマー配列は、ラミンA(エキソン11/12)、5'-TCTTCTGCCTCCAGTGTACG-3'(配列番号1)及び5'-AGTTCTGGGGCTCTGGGT-3'(配列番号2);ラミンC(エキソン9/10)、5'-CAACTCCACTGGGAAGAAGTG-3'(配列番号3)及び5'-CGGCGGCTACCACTCAC-3'(配列番号4)、並びにプロゲリン(エキソン11/12)、5'-ACTGCAGCAGCTCGGGG-3'(配列番号5)及び5'-TCTGGGGCTCTGGGC-3'(配列番号6)であった。

【0113】

10

20

30

40

50

Taqman MGBプローブ配列は、ラミンA（エキソン11）、5'-ACTCGCAGCTACCG-3'（配列番号7）；ラミンC（エキソン10）、5'-ATGCGCAAGCTGGTG-3'（配列番号8）、及びプロゲリン（エキソン11）、5'-CGCTGAGTACAACCT-3'（配列番号9）であった。LMNA遺伝子座アッセイのためのレポーター及びクエンチャー色素は、5'-6FAM及び3'-非蛍光クエンチャー色素（NFQ; Applied Biosystems）であった。

【0114】

分子ドッキング

構造解析及びドッキング試験は、Protein Data Bankから入手可能な結晶構造に基づく。HMGCRのC鎖及びD鎖の構造は、ピロール系阻害剤との複合体から抽出した（PDB id: 2Q1L、分解能2.05）。hFPPSを、その3個のマグネシウム原子は含むが、その共結晶化リガンドは除いて、結晶構造（PDB id: 1YV5、分解能2.00）を用いてモデル化した。その亜鉛カチオンは維持するが、その阻害剤は除いて、ファルネシル基転移酵素の結晶構造（PDB id: 3E37、分解能1.08）を用いた。これら両構造について、水素原子を付加し、そして、実験的共結晶化リガンドの質量中心を用いて結合部位の中心を規定し、そこで配座探索を実施した。配座探索を増加させるために遺伝的アルゴリズム（GA）のラン数を10から200に増加させたことを除いて、ドッキングパラメータのデフォルト値を用いて、全てのドッキング計算にAutoDock 4.2.1を用いた。次いで、得られた独立GAランを、カットオフ2.0でクラスタリング解析を用いて処理した。

【0115】

HMGCR比色活性アッセイ

製造業者のプロトコルに従ってHMGCoA Reductase Assay Kit（Sigma-Aldrich）を用いてHMGCR活性を測定した。このアッセイは、基質HMG CoAの存在下におけるHMGCRの触媒サブユニットによるNADPHの酸化を表す、340nmにおける吸光度の減少の分光光度測定に基づいている。

【0116】

FPPS及びFT活性アッセイのための細胞溶解物の調製

HGPS MSCの細胞ペレットを25mM Tris-HCl（pH7.4）、1mM DTT、1mM MgCl₂、1mM EDTA、1mM PMSFに再懸濁させ、そして、4℃で10分間、10,000×gで遠心分離した。ローリー法を用いてタンパク質含量を求めた。全タンパク質100μgを含有する細胞溶解物のアリコート、37℃で30分間、試験した物質と共にインキュベートした。

【0117】

FPPS活性アッセイ

Krisansら（Krisans et al., 1994, The Journal of biological chemistry VOL. 269: 14165-14169）及びGuptaら（Gupta et al., 1999, Eur J Med Chem, VOL. 43: 2751-2767）によって記載されている手順に幾つかの改変を加えて、FPPSアッセイを実施した。簡潔に述べると、25mmol/L HEPES、pH=7、2mmol/L MgCl₂、1mmol/L ジチオスレイトール、5mmol/L KF、1% ノクチル-β-D-グルコピラノシド、3.3μmol/L [4-¹⁴C] IPP（18Ci/mmol）、3μmol/L 非標識IPP、及び20μmol/L ゲラニルニリン酸を含有する150μL中でFPPSをアッセイした。処理した又は未処理の細胞溶解物40μLを添加することによって反応を開始させ、そして、37℃で45分間インキュベートした。キャリアとして100μg/mol ファルネソールを含有する80% エタノール中2.5mol/L HCl 150μLを添加することによって反応を停止させた。37℃で30分間サンプルを加水分解して、FPPをファルネソールに変換し、そして、10% NaOH 150μLを添加することによって中和した。反応生成物（ファルネソール）をN-ヘキサン1mLに抽出し、そして、放射活性をカウントするために有機相のアリコート（200μL）を用いた。平行サンプルをアッセイして、全放射活性及び非特異的放射活性を評価した。全ての実験において、酵素アッセイはトリPLICATEで実施した。

【0118】

FT活性アッセイ

Farnesyltransferase [3H] SPA酵素アッセイ (Amersham Life Science, Buckinghamshire, England) によってFT活性を求めた。簡潔に述べると、50 mmol/L Hepes、30 mmol/L MgCl₂、20 mmol/L KCl、及び5 mmol/Lを含有するアッセイバッファ 20 µL、[3H]-FPP (12 pmol) 20 µL、及びピオチンラミン B 20 µL中でFT活性をアッセイした。処理した又は未処理の細胞溶解物 40 µLを添加することによって反応を開始させ、そして、37 °Cで1時間インキュベートした。SPAビーズを含有する停止試薬 150 µLを添加することによって反応を停止させ、シンチレーションカウンターでカウントした。FT活性は、全タンパク質 1 ミリグラム当たり 1 分間当たりのピオチンラミン B ペプチドに取り込まれた[3H]-FPPのピコモル (pmol/min/mg prot) として表した。平行サンプルをアッセイして、全放射活性及び非特異的放射活性を評価した。全ての実験において、酵素アッセイはトリプリケートで実施した。

10

【0119】

ファルネシル化されたタンパク質の測定。化合物の存在下、HGPS MSCをClick-IT (登録商標) ファルネシルアルコール (Life technologies) で48時間処理した。製造業者のプロトコルに従って、Alexa Fluor (登録商標) 555 azide (Life technologies) を用いて、ファルネシル化されたタンパク質を二次的に明らかにした。

【0120】

表面プラズモン共鳴

25 °CでBIAcore 3000機器を用いて表面プラズモン共鳴 (SPR) を測定した。FPPS (2800 RU) をCM5チップのフローセルに固定化した。ランニングバッファは、HBSEP pH 7.4 (20 mM Hepes、150 mM NaCl、及び0.005 % P20) であった。10 mM グリシン (pH 3.0) を用いて再生を実施した。FPPS結合剤の親和性を求めるための測定は、1.95 nM ~ 5 µMの濃度で注入した化合物を用いて実施した。Scrubber2 (Biologic software) 及びBIAevalソフトウェア (BIAcore) を用いてデータを評価した。

20

【0121】

Rasファルネシル化の測定

C末端でGFPと融合している哺乳類hRasのCaaXボックスをコードしているプラスミドを過剰発現しているHGPS MSCにおけるGFPの局在を分析することによって、Rasのファルネシル化を測定した。

【0122】

ライブセルイメージング

96ウェルプレートに2500細胞/ウェルでHGPS MSCを播種し、そして、薬物の存在下で7日間培養した。Incucyte ZOOM顕微鏡 (Essen Bioscience) を用いて細胞密度をモニタリングした。各値は、3つの独立したウェルで撮影した4枚の写真の細胞密度の平均に対応する。

【0123】

統計解析

統計解析は、ダネット比較検定を用いて、一元配置分散分析 (ANOVA) によって実施した。p < 0.05の値を有意であるとみなした (* p < 0.05、** p < 0.01、*** p < 0.001)。

40

【0124】

B 結果

B.1. ハイスループットスクリーニングによるプレラミン A のファルネシル化の阻害剤の同定

この試験は、既に記載の通り (Blondel et al., 2014, Stem Cells Transl Med, VOL. 3: 510-519) 分化させ、そして、10代継代して増幅させた後に用いたHGPS iPS細胞に由来するMSCにおいて実施した。薬物スクリーニングストラテジは、核への局在がファルネシル化の阻害と直接相関しているという仮定の下、プレラミン A の細胞内局在の検出に基づいていた。384ウェルプレートにおいてプレラミン A の発現及び局在をロバストに定量するためにハイスループット免疫染色アッセイを開発した。0.1 % DMSO及びFTI (1

50

μM ティピファニブ)を、それぞれ、ネガティブコントロール及びポジティブコントロールとして用いた。384ウェルプレートにおいてFTIで処理したHGPS MSCのプレラミンAを均質かつ再現可能に染色するために、薬物スクリーニングアッセイを最適化した。アッセイの品質管理は、ネガティブコントロールとポジティブコントロールとの間の0.8を超えるZ'係数の計算によってアッセイした。次いで、スクリーニング手順の様々な工程後に、4つの異なる化合物ライブラリから21,608個の低分子を試験した。薬理学的処理の48時間後に核マトリクス区画においてプレラミンA染色を示したHGPS MSCの比率を測定する自動イメージングプラットフォームを用いて、プレラミンAの局在の定量を実施した。

【0125】

細胞生存率に30%を超える影響を与えることなく、試験した化合物全ての平均の標準偏差の3倍よりも効果が優れていた場合、その化合物を潜在候補とみなした。これによって、59個のヒットの第1のリストが得られた。再試験実験では、これら候補のうちの43個を除外したが、その理由は、毒性であったか又は偽陽性であるとみなされたためであった。

【0126】

段階的に投薬量を増やしてその有効性及び毒性を評価することによって、16個の検証された化合物について薬物スクリーニングプロセスを完了したところ、5個が細胞毒性を有せずに50%を超える有効性を有することが明らかになった(図1)。EC50は1 μM ~ 34 μMの範囲であり、最高非毒性用量におけるプラトーでは、核へのプレラミンAの局在が80%を超えていた(図1)。毒性を示さずにプレラミンAが核に局在する最高有効濃度として各化合物の最適濃度を定め、そして、その後の二次アッセイ及び機能アッセイで用いた。ウエスタンブロット分析によって、5個の化合物(Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2)のそれぞれで処理した細胞においてプレラミンAの増加が確認されたが、1個(Di-AP1)を除いて、様々な処理後にラミンAもプロゲリンのmRNA発現も増加しなかったことを示す定量PCRによって、薬物が翻訳後に効果を発揮することが明らかになった(図5A及び5B)。免疫染色によって、これら薬物のいずれかの存在下において、タンパク質レベルでプロゲリンの発現に対する効果がないことが確認された。

【0127】

5個のヒットの化学構造解析によってこれらのうちの5個が、それぞれMono-AP及びDi-APと命名した、1個、2個、又は4個の窒素原子が結合しているアミノピリミジン基(AP)を含有していることが示された。細胞毒性の測定によって、これらがいずれも処置用量で毒性を有しないことが証明された。最後に、2個の他のプレニル化されたタンパク質HDJ2及びhRasに対しても同様の効果が観察されたことによって、プレラミンAのファルネシル化に対する選択性が存在しないことが証明された。HDJ2のウエスタンブロット分析によって、Mono-AP1、Mono-AP2、Mono-AP3、Di-AP1、及びDi-AP2処理後に、タンパク質の非ファルネシル化形態が増加することが明らかになった。C末端でGFPと融合している哺乳類hRasのCaaXボックスをコードしているプラスミドを過剰発現しているHGPS MSCにおけるその局在によって測定したとき、hRasのファルネシル化は、全ての化合物の存在下において、非ファルネシル化CAAXボックスの著しい増加を示した。これら結果は、モノアミノピリミジン処理後のHGPS MSCにおけるファルネシル化されたタンパク質のレベルの全体的な減少によって確認された。

【0128】

HGPS関連欠陥に対する5個のヒットの機能的効果

5個のヒットを、核の形状の異常から救済する能力について評価した。HGPS MSCを様々な化合物の存在下で48時間処理し、そして、ラミンA/Cを染色した。Mono-AP1、Mono-AP2、及びMono-AP3が最も有効な3個の化合物であり、ポジティブコントロールとして用いたFTIティピファニブとそれほど変わらないレベルでHGPS MSCの核の形状の欠陥を回復させた。また、Di-AP2もこの病理学的構造欠陥を有意に回復させたが、Di-AP1は効果がなかった(図2A)。HGPS MSCは、骨芽細胞系への早期分化を示す(Blondel et al., 2014

10

20

30

40

50

, Stem Cells Transl Med VOL. 3: 510-519 ; Scaffidi and Misteli, 2008, Nat Cell Biol VOL. 10, 452-459)。したがって、7日間の骨芽細胞分化後にアルカリホスファターゼ活性を測定することを介して、この機能障害に対する5個のヒットのそれぞれの効果をモニタリングした。全ての化合物がこの表現型を強力に救済することができ、Mono-AP1及びDi-AP1のレベルは、FTI処理後に観察されたものとそれほど異ならなかった(図2B)。

【0129】

細胞増殖及びエネルギー代謝を測定することによって、5個の化合物の潜在的な有害効果を評価した。Ki-67陽性増殖細胞の定量からは、化合物で処理したMSCの増殖減少は明らかにならなかった(図2C)。その代わり、Di-AP1がKi-67陽性細胞の数を65%まで増加させることができたことは興味深い。結果は、Mono-AP1、Mono-AP2、及びMono-AP3がFTIティピファニブよりも細胞増殖抑制性が低いことを示す、長期ライブセルイメージング培養で確認された。HGPS MSCのATP含量を測定したところ、これら分子のいずれもエネルギー代謝に対する有害効果を有しないことが明らかになった。対照的に、Di-AP1は、ATP含量を増加させた。

【0130】

モノアミノピリミジンの作用機序

Mono-APが、有害効果を誘導することなく、試験した2つの機能上の欠陥から救済するための最も有効な化合物であったので、薬物の作用機序に関するこの試験の最後の部分は、Mono-APに焦点を当てた。

【0131】

この目的のために、47個の化学アナログのライブラリは、Mono-AP1({ 2 - [4 - (2 - フルオロ - ベンジル) - ピペラジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - イル } - ピリジン - 4 - イル - アセトニトリル) に由来しており、そして、プレラミンAのファルネシル化に関して10 μ Mの濃度で評価した。この実験セットによって、9個の化合物がプレラミンAの局在に対して20%を超える効果を示したことが明らかになった(図3A)。これら9個の第二世代Mono-APの用量反応実験は、これらのうちの2個、Mono-AP21及びMono-AP28のみが、Mono-AP1よりも有効であることを示し、それぞれ、EC50は1.5 μ M及び2 μ Mであった(図3B及び3C)。Mono-AP21及びMono-AP28で処理した後、HGPS MSCにおける核の形状の欠陥及び早期骨形成の救済について類似の能力が観察された。

【0132】

Mono-AP25のように、-CH₂CO₂Et等の官能化鎖でピペラジン核に付加されているベンジル基の置換によって、有効性が低下した(図3B)。

【0133】

最後に、化合物を最適化するための潜在経路を強調するために、タンパク質のプレニル化を制御している3つの重要な酵素、HMG-CoA還元酵素(HMGCR)、ファルネシルピロリン酸合成酵素(FPPS)、及びファルネシル基転移酵素(FT)を用いてMono-AP1、Mono-AP2、及びMono-AP3の直接相互作用を仮想的に評価した。Mono-APの3つの酵素との結合エネルギーの計算は、FPPS及びFTの活性部位とは潜在的相互作用を示したが、HMGCRとは示さなかった(図5B)。FPPSに対するMono-AP1及びMono-AP3のドッキングによって、FPPSのMg²⁺カチオンとのカチオン - pi相互作用におけるこれら化合物のフェニルドメインの主な役割が明らかになった。電子供与基(Me、OMe、又はNH₂)のような適切な置換は、Mono-AP3のフェニルドメインのMg²⁺カチオンへの結合を強化することができる。Mono-AP1は、FTについてMono-AP2及びMono-AP3よりも高い親和性を示したが、それは、アミノ酸Y861B及びS599Bとの水素結合の存在に起因するものである。最後に、生化学実験によって、Mono-APによるFPPS及びFTの直接阻害が確認されたが、HMGCRでは確認されず、FT活性は20%、そして、FPPS活性は40%減少した(図4A、4B、及び4C、図7A、7B、及び7C)。

【0134】

Mono-AP (Mono-AP1及びMono-AP2) のFPPSとの相互作用は、表面プラズモン共鳴 (SPR)

実験によって確認された。したがって、FPPSをCM5チップに固定化し、そして、そのMono-APとの相互作用をBiacoreプラットフォームで測定した。これら実験の結果から、Mono-AP1及びMono-AP2とFPPSとの直接相互作用が確認され、そして、両相互作用について平衡解離 (K_d) 及び会合 (K_a) 定数を計算することができた (以下の表 A を参照)。

【 0 1 3 5 】

【表 4】

表 A

		Mono-AP1	Mono-AP2
FPPS	K_d (M)	2.4×10^{-5}	2×10^{-4}
	K_a (1/M)	$9.5/10^3$	5.04×10^3

10

【 0 1 3 6 】

Mono-APの存在下で3つの酵素FT、FPPS、及びHMGCRの生化学的活性を測定することによって、分子ドッキング及びSPR結果の検証を実施した。生化学試験の結果から、Mono-APによってFPPS及びFTの両方の直接阻害が確認されたが、HMGCRでは確認されず、FT活性は20%～30%減少し、そして、FPPS活性は40%～50%減少した。

【 0 1 3 7 】

20

最後に、用量反応実験によって、FT及びFPPSの酵素活性に対するMono-AP1、2、及び3のIC50の値が0.35～9.32 μ Mの範囲であると求めることができた (以下の表 B を参照)。

【 0 1 3 8 】

IC50値は、試験したアミノピリジン化合物について測定された最高阻害効果の50%を誘導する、前記アミノピリジン化合物の濃度に対応する。

【 0 1 3 9 】

【表 5】

表 B

IC50 (μ M)	Mono-AP1	Mono-AP2	Mono-AP3
FPPS	1.55	1.82	5.54
FT	3.46	9.32	0.35
HMGCR	阻害無し	阻害無し	阻害無し

30

【 0 1 4 0 】

本明細書における実施例の主な結果は、HGPSに関連する病理学的表現型を救済することができるファルネシル化阻害剤の新規ファミリーを見出すことである (図 6)。HGPSの処置のために使用できる可能性に加えて、この結果は、ファルネシル化阻害剤で既に処置されている障害のための新たな種類の分子を強調するものである。また、創薬のためのiPS細胞誘導体の独自の可能性を強調する。

40

【 0 1 4 1 】

ミスプロセッシングされたプレラミン A の C 末端に異常なファルネシル化モチーフが残存していることが、HGPSにおけるプロゲリンの毒性を引き起こす主な分子機構である (Cau et al., 2014, Semin Cell Dev Biol.)。この発見後、幾つかのチームが、FTIとビスホスホナート及びスタチンの組合せとを用いる独立な前臨床及び臨床試験を設計することによって、幾つかの公知のプレニル化阻害剤の重要性を証明した (Gordon et al., 2012, Proc Natl Acad Sci USA VOL. 109: 16666-16671; Varela et al., 2008, Nat Med VOL. 1

50

4: 767-772)。FTIに基づく臨床試験の結果から、患者における多少の限定的改善が明らかになったが、それにもかかわらず、より有効かつより毒性の低い新規分子の必要性が強調された (Gordon et al., 2012, Proc Natl Acad Sci USA VOL. 109: 16666-16671)。本試験は、1つの特定の酵素を標的とするのではなく、プレラミンAのプレニル化のプロセス全体を標的とする、このような化合物を同定することが可能であるという仮定に基づいていた。

【0142】

興味深いことに、21,608個の低分子のスクリーニングから得られた全ヒットの中でも、3個(1個のスタチン及び2個のキノリン)はプレラミンAファルネシル化調節因子として他の研究で既に同定されていたので (Varela et al., 2008, Nat Med VOL. 14: 767-772; Yang et al., 2005, Proc Natl Acad Sci USA VOL. 102: 10291-10296。)、内部標準とした。実際、QCは、元々、RASファルネシル化阻害剤として報告されており、したがって、癌において抗増殖剤としてそれを処置的に使用することが示唆された (Jasinski et al., 2008, Invest New Drugs VOL. 26: 223-232。)。また、QCは、熱帯熱マラリア原虫 (plasmodium falciparum) におけるファルネシル基転移酵素を阻害する能力についてマラリア患者において評価されており (Eastman et al., 2006, Journal of lipid research VOL. 47: 233-240; Gupta and Prabhakar, 2008, Eur J Med Chem VOL. 43: 2751-2767; Nallan et al., 2005, J Med Chem VOL. 48, 3704-3713; Van Voorhis et al., 2007, Antimicrobial agents and chemotherapy 51, 3659-3671)、そして、最近、そのファルネシル化に干渉する能力と一致して、HGPS患者の線維芽細胞における核の形状の異常を改善すると評価された (Capelli et al., 2005, Proc Natl Acad Sci USA Vol. 102, 12879-12884)。更に、コレステロールレベルを低下させ、そして、心血管障害を予防するためのHMGCR阻害剤としてヒトで広く処方されているスタチン (Goldstein and Brown, 1990, Nature VOL. 343: 425-430) も、潜在的HGPS処置剤として記載されている (Varela et al., 2008, Nat Med VOL. 14, 767-772)。

【0143】

ハイスループット薬物スクリーニングの最も目覚ましい結果は、同定された5個の化合物が共通の化学構造、アミノピリミジン基を共有しているという事実であった。47個の関連する化学物質のセットのその後の分析は、初期リストに9個の他の化合物を加えることによって、この結果を補強した。文献に記載されているアミノピリミジンについて、異なる標的及び作用機序が存在する可能性が高いとしても、他の最近の研究がその化合物ファミリーの処置可能性を強調していることは興味深い。過去10年間にわたって、アミノピリミジンは、B-Raf (Mathieu et al., 2012, J Med Chem VOL. 55:2869-2881)、JAK (Tyner et al., 2010, Blood VOL. 115, 5232-5240)、CDK1/2阻害剤 (Ryu et al., 2011, Bioorg Med Chem Lett VOL. 21: 7185-7188)、又はEGFR及びErbB-2 (Xu et al., 2008, Bioorg Med Chem Lett VOL. 18: 4615-4619。)の非常に強力な阻害剤であると報告されてきた。また、アミノピリミジンであるニロチニブは、慢性骨髄性白血病患者の大部分について第一選択処置標的であるBcr-Ablチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) を阻害することも報告されている (Verstovsek et al., 2005, Cancer VOL. 104: 1230-1236)。

【0144】

ドッキング試験によって、ピリミジンアナログがゲラニル転移酵素に結合し得ることが示唆されており、これは、タンパク質のプレニル化の調節における関与を示唆している (Ethiraj et al., 2013, Chem Biol Drug Des VOL. 82: 732-742)。また、ピリミジン基のビスホスホナートへの付加、チエノピリミジンは、ファルネシルピロリン酸合成酵素のアリルサブポケットへのその結合を増加させることも示されている (Leung et al., 2013, J Med Chem VOL. 56: 7939-7950)。本結果は、アミノピリミジンがタンパク質のプレニル化の阻害剤であると記載しており、これは、ビスホスホナートの非存在下においてこのプロセスを調節する能力を明らかにするものである。ドッキングの結果は一致していたが、その理由は、該ドッキングの結果が、Mono-APがFPPS及びFTの活性部位に対して強い親和性を示した結果、生化学実験において、FT及びFPPSの活性がそれぞれ20%及び40

%低下したことを示したためである。

【 0 1 4 5 】

1978年に真菌でタンパク質のプレニル化機構が発見されてから (Kamiya et al., 1978, Biochem Biophys Res Commun VOL. 83: 1077-1083)、100個を超えるタンパク質が、プレニル化を受けることが実験的に確認され、その中でも、低分子GTPaseであるRho、Ras、Rac、及びCdc24が顕著であった (Lane and Beese, 2006, Journal of lipid research VOL. 47: 681-699)。これら低分子GTPaseは、多くの細胞事象、例えば、細胞内シグナル伝達、増殖、炎症、及び運動において必須であるので、処置的展望を有するプレニル化を阻害する化合物を同定するために多くの努力が行われてきた。ファルネシル化の阻害剤の抗癌薬としての処置的使用は1982年に最初に示唆され、ヒト癌遺伝子としてRAS多重遺伝子ファミリーが同定され、そして、その後、これらが悪性形質転換活性を発現するためにファルネシル化を必要とすることが証明された (Bos, 1989, Proc Natl Acad Sci USA VOL. 102: 12879-12884.)。実験的研究がファルネシル基転移酵素阻害剤の処置可能性を楽にするとと思われるが、その理由は、該ファルネシル基転移酵素阻害剤が、状況に応じて、アポトーシス、細胞周期停止を誘導するか、又は細胞増殖、細胞遊走、及び血管形成を阻害するためである (Berndt et al., 2011, Nat Rev Cancer VOL. 11: 775-791)。したがって、2000年から、4個の異なるFTI、すなわち、ティピファニブ、ロナファニブ、BMS 214662、及びL 778123を用いて、様々な癌適応症における少なくとも75個の臨床試験が実施されている (William et al., 2012, Journal of medicinal chemistry 55, 169-196)。しかし、これら臨床試験の大部分は成功しなかった。一例として、進行固形癌 (Van Cutsem et al., 2004, journal of the American Society of Clinical Oncology 22, 1430-1438) 又は急性骨髄性白血病 (Chevallier et al., 2009, Leuk Res VOL. 33: 1124-1126.) の患者で寿命の有意な増加は観察されなかった。大部分の薬物が非常に狭い処置濃度域を示し、患者で使用したものに近い用量で毒性がみられたので、失敗についての1つの解釈は、患者における投薬量が最適ではなかった可能性がある。最適なベネフィット/リスク比という目的の達成に向けて、Mono-APが細胞毒性を誘導することなくファルネシル化に対してティピファニブと同程度有効であったという事実は楽観的な材料となる。失敗の別の原因は、ファルネシル基転移酵素に対する活性が制限されていたことであった可能性があるが、その理由は、FTIの存在下においてN-Ras及びK-Rasの二者択一のプレニル化 (すなわち、ゲラニルゲラニル化) が存在し得るためである。これは、FPPS又はHMGCRを標的とすることが報告されている汎用プレニル化阻害剤の開発につながった。今日まで、病院で最も一般的に用いられているFPPSの阻害剤は、無機ピロリン酸の化学的に安定なアナログである、ビスホスホナートクラスの全てのメンバーである (Burr and Russell, 2011, Bone VOL. 49: 1)。これら化合物は、骨吸収を阻害するので、骨粗鬆症用の処置剤として主に用いられている。異なる分子機構を有する2つの主な化合物群が存在する。第1の群は、恐らくミトコンドリアATP転位酵素に干渉することによって、ピロリン酸を模倣し、そして、破骨細胞を阻害し、最終的にはその死を引き起こす非窒素ビスホスホナート、例えば、クロドロナート及びエチドロナートを含む (Lehenkari et al., 2002, Mol Pharmacol VOL. 61: 1255-1262.)。第2の群である窒素含有化合物 (N-BP)、例えば、ゾレドロナートは、FPPSの阻害を通して特定の代謝反応に干渉する。したがって、これらは、これら標的によって制御される様々な細胞プロセスを調節し、そして、細胞形態、細胞骨格の配置、膜ラフリング、小胞の輸送、及びアポトーシスを含む破骨細胞の機能にとって重要である (Ridley et al., 1992, Cell VOL. 70: 389-399) (Ridley et al., 1992, Cell VOL. 70: 401-410)。より最近では、早老性線維芽細胞における核の形状の異常の改善を示す、新たな種類のFPPS阻害剤N6-イソペンテニルアデノシンが報告された (Bifulco et al., 2013, The FEBS journal VOL. 280: 6223-6232)。この研究では、本発明者らは、Mono-APがFPPS及びFTの両方に結合することを証明し、複数の部位におけるタンパク質のプレニル化を標的とすることによって更に別の作用機序を加えた。その結果、そして、既存のプレニル化阻害剤と同様に、プレラミンAに対する特異性が存在しないことに起因する不所望の副作用を避けるために、処置の観点でMono-AP

10

20

30

40

50

を使用する可能性をモニタリングする必要がある。

【0146】

ヒト多能性幹細胞の発見以降、疾患特異的疾患が薬物の検証及び発見のための主なツールになっている。特に、他の細胞モデルと比べたとき、この細胞の十分に認められている利点は、ヒト起源であり、生理学的又は病理学的に形質転換されていない状態であり、そして、無制限に自己再生する能力を有し、そして、理論的に生物の任意の細胞表現型を誘導できることである。HTSを通じた創薬に関して、多能性幹細胞誘導体も、特異的生化学的標的の代わりに又は加えて表現型形質をアッセイする可能性を提供する。過去10年間にわたって、この能力を用いて幾つかの研究が行われている。多能性幹細胞に対する最初の薬物スクリーニングは、幹細胞維持 (Andrews et al., 2010, Nat Rev Cancer VOL. 11: 775-791; Desbordes et al., 2008, Cell Stem Cell VOL. 2: 602-612) 又は細胞分化 (Zhu et al., 2009, Cell Stem Cell VOL. 4: 416-426) を調節する化合物の同定に焦点を当てたものであった (Shan et al., 2013, Nat Chem Biol VOL. 9: 514-520)。より最近では、様々な表現型薬物スクリーニングが登場し、本研究は、心肥大 (Carlson et al., 2013, J Biomol Screen VOL. 18: 1203-121) 及び家族性自律神経失調症 (これについては、潜在的処置剤としてKF-86466が同定されている) (Lee et al., 2012, Nat Biotechnol VOL. 30: 1244-1248.) 等の特定の疾患の潜在的処置経路を見出すことを目的とした1つの更なる成功例をそれに追加する。既にこれを独自のものにしていて全てのこれら利点に加えて、これら細胞が機能試験を受けやすいという事実を強調することは興味深い。これは本論文にも当てはまるので、二次アッセイが、その他の点でより還元主義的な (reductionist) 一次薬物スクリーニングアッセイの生理学的検証を補足し、そして、提供することができる。ここで、このことによって、本発明者らは、HGPSに関連する表現型形質に関する全ての候補ヒット化合物を直ちに逆スクリーニングする能力が得られた。その上で、コスト及び時間効率的に、化合物に優先順位をつけ、そして、構造活性相関試験の実施に向けて最も有望なものを選択することができた。

【0147】

したがって、本発明に開示する化合物に対して実施した試験の結果は、該化合物が、タンパク質のプレニル化の障害が必要とされる疾患又は障害を治療及び/又は予防するのに有用であり得ることを示す。特に、前記疾患又は障害は、ハッチンソン - ギルフォード早老症候群 (HGPS)、早老症、神経変性疾患、パーキンソン病、びまん性レヴィー小体病、多系統萎縮症、シャイ - ドレーガー症候群、線条体黒質変性症、オリブ橋小脳萎縮症、パントテン酸キナーゼ関連神経変性症、認知障害、認知症、リソソーム蓄積症、II型糖尿病、ムコ多糖症、ムコリビドーシスII、ムコリビドーシスIII、ムコスルファチドーシス、GM2活性化タンパク質欠乏症異型AB、ダノン病、サラ病、テイ - サックス病、サンドホフ病、シンドラー病、神崎病、 - マンノシドーシス、 - マンノシドーシス、フコシドーシス、シアリドーシス、アスパルチルグルコサミン尿症、炭水化物欠乏糖タンパク質症候群、ウォルマン病、ファバー病、ニーマン - ピック病A型、B型、及びC型、ゴーシェ病、クラッペ病、ファブリー病、多発性スルファターゼ欠損症、GM1ガングリオシドーシス、GM2ガングリオシドーシス、GM3ガングリオシドーシス、ガラクトシアリドーシス、シスチン症、シアル酸蓄積症、濃化異骨症、異染性白質萎縮症、ガラクトシアリドーシス、神経セロイドリポフスチン症、ラクトシルセラミドーシス、ポンペ病、コバラミン欠乏症F型、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、アルツハイマー病; ミトコンドリア性疾患、眼疾患、炎症性疾患、心血管疾患、増殖性疾患、鬱病、不安、免疫疾患、新生物疾患、腫瘍、癌、転移、白血病、癌腫、メラノーマ、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髄腫、腺腫、新生物、神経芽細胞腫、腺癌、リンパ腫、骨髄腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、血管原性骨髄様化生、中皮腫、神経膠腫、アテローム性動脈硬化症、胆石、胆石症、脂肪石灰化肉芽腫症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、コレステロール結晶血栓症、心筋梗塞症、脳梗塞、狭心症、骨粗鬆症、関節炎、関節リウマチ、変形性関節炎、パジェット病、神経線維腫症1型、レオパード症候群、ヌーナン症候群、レギウス症候群、コステ

口症候群、遺伝性歯肉線維腫症 1 型、自己免疫性リンパ増殖症候群、毛細血管奇形 - 動静脈奇形、皮膚老化、ホルモン老化、光線誘発性早期皮膚老化、老化筋脂肪皮膚、拘束性皮膚症、毛髪の変化又は脱毛、脱毛症、デルタ肝炎ウイルス感染症、並びにウイルス感染症を含んでよい。

【0148】

より具体的には、前記腫瘍及び癌は、骨、脳、腎臓、肝臓、副腎、結腸直腸、膀胱、乳房、胃、卵巣、結腸、直腸、前立腺、膵臓、肺、非小細胞肺、小細胞肺、膣、甲状腺、頭頸部の癌及び腫瘍から選択される。

【0149】

したがって、本発明の請求される化合物は、タンパク質のブレニル化の阻害が必要とされ、そして、早老疾患、神経変性疾患、代謝疾患；ミトコンドリア性疾患、眼疾患、炎症性疾患、心血管疾患、増殖性疾患、免疫疾患、脳梗塞、皮膚老化、ホルモン老化、及びウイルス感染症から選択し得る疾患又は障害を治療及び／又は予防するのに有用である。

【0150】

早老疾患は、ハッチンソン - ギルフォード早老症候群、ミュルビヒル - スミス早老症候群、及びヴィーデマン - ラウテンシュトラウス新生児早老症候群の中から選択してよい。

【0151】

例えば、神経変性疾患の中でも、認知症、運動ニューロン疾患、主に中枢神経系を障害する全身性萎縮症、テイ - サックス病、伝播性海綿状脳症、毛細血管拡張性運動失調症、常染色体優性小脳性運動失調症、バジジョ - 吉成症候群、バッテン病、皮質基底核変性症、クロイツフェルト - ヤコブ病、致死性家族性不眠症、17 番染色体に連鎖している前頭側頭型認知症及びパーキンソンニズム、近位筋優位遺伝性運動感覚ニューロパチー、乳児レフスム病、歩行運動失調、ライム運動失調、マチャド - ジョセフ病、脳橋及び小脳形成不全を伴う精神遅滞及び小頭症、多系統萎縮症、神経有棘赤血球症、ニーマン - ピック病、橋小脳形成不全、ビルビン酸脱水素酵素欠乏症、タンパク質凝集、レフサム病、サンドホフ病、シャイ - ドレーガー症候群、脊髄小脳失調症、脊髄の亜急性連合性脊髄変性症、脊髄性筋萎縮症、亜急性硬化性汎脳炎、脊髄瘍、中毒性脳症、中毒性白質脳症、ハリネズミふらつき症候群、脳炎、てんかん、遺伝性脳障害、頭部及び脳の形成異常、水頭症、パーキンソン病、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症 (ALS 又はルー - ゲーリック病)、ハンチントン病、プリオン病、及びアルツハイマー病に言及してよい。

【0152】

例として、代謝疾患の中でも、リソソーム蓄積症、肥満、甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症、糖尿病、低脂血症、ガラクトース血症、フェニルケトン尿症、及びシアル酸蓄積症に言及してよい。

【0153】

リソソーム蓄積症の中でも、ガングリオシドーシス (gangliosidoses)、ゴーシェ病、ニーマン - ピック病、ファブリー病、セラミド蓄積症 (リボグラヌロマトーシス (lipogranulomatosis)、ファーバー病)、スルファチドーシス (異染性白質萎縮症)、ムコスルファチドーシス (多発性スルファターゼ欠損症、オースチン病)、球様細胞、白質萎縮症 (クラッペ病)、ハーラー (ムコ多糖症 (MPS) IH)、シャイエ病 (MPS IS 又は IV)、ハンター (MPS II)、サンフィリポ (MPS III)、モルキオ (MPS IV)、マロトー - ラミー (MPS VI)、スライ (MPS VII)、糖原病 II 型又はグリコーゲン蓄積症 II 型 (ボンベ病としても知られている) に言及してよい。

【0154】

シアル酸蓄積症は、小児遊離シアル酸蓄積症 (ISSD)、サラ病、及び中間重篤度のサラ病から選択し得る。

【0155】

ミトコンドリア病としては、アルパーズ病、パート症候群、致死性小児心筋症、ベータ酸化欠陥、カルニチン - アシル - カルニチン欠乏症、カルニチン欠乏症、コエンザイム Q1

10

20

30

40

50

0欠乏症、複合体Ⅰ欠乏症、複合体Ⅱ欠乏症、複合体Ⅲ欠乏症、複合体Ⅳ欠乏症、複合体Ⅴ欠乏症、CPEO、CPTⅠ欠乏症、CPTⅡ欠乏症、KSS、乳酸アシドーシス、LBSL - 白質萎縮症、LCAD、LCHAD、リー病、ルフト病、MADノグルタル酸尿症Ⅱ型、MCAD、MELAS、MIRAS、ミトコンドリア細胞症、ミトコンドリアDNA枯渇、ミトコンドリア脳症、ミトコンドリア筋症、真性糖尿病及び難聴（DAD又はDMDF）、ピアソン症候群、ビルビン酸カルボキシラーゼ欠乏症、ビルビン酸脱水素酵素欠乏症、POLG変異、呼吸鎖、レーベル遺伝性視神経症、運動失調、網膜色素変性（retinis pigmentosa）、下垂症、筋神経性胃腸脳症、ほぐれた赤色ぼろ線維を伴うミオクロオヌステんかん（MERRF）、SCAD、SCHAD、及びVLCADに言及してよい。

【0156】

眼疾患は、眼瞼外反、兔眼症（lagophthalmos）、眼瞼皮膚弛緩症、眼瞼下垂症、眼瞼の黄色板腫、眼瞼の皮膚炎、リーシュマニア症、ロア糸状虫症、オンコセルカ症、及びシラミ症における眼瞼の寄生虫外寄生、ヘルペスウイルス感染症、ハンセン病、伝染性軟属腫、イチゴ腫、带状疱疹、及び結核の眼瞼における合併症、膿瘍の眼瞼における合併症、涙腺炎、流涙症、甲状腺異常による眼球突出（exophthalmos）、結膜炎、強膜炎、角膜炎、角膜潰瘍、角膜擦過傷、雪眼炎、アーク目、タイゲソン表在性点状角膜症（keratopathy superficial punctuate keratopathy）、角膜血管新生、フックスジストロフィー、乾性角結膜炎、虹彩炎、ブドウ膜炎、白内障、脈絡網膜炎症、脈絡網膜癒痕、脈絡膜変性、遺伝性脈絡膜ジストロフィ、脈絡膜の出血及び破裂、脈絡膜剥離、脈絡網膜炎、網膜剥離、網膜分離症、網膜動脈閉塞、網膜静脈閉塞、網膜症、加齢性黄斑変性症、周辺部網膜変性、網膜色素変性、網膜出血、レチナール層の分離、黄斑浮腫、緑内障、飛蚊症、レーベル遺伝性視神経症、視神経乳頭ドルーゼン、斜視、眼麻痺、内斜視、外斜視、遠視、近視、乱視、不同視、老視、遠近調節の障害、弱視、レーベル先天性黒内障、暗点、色覚異常、夜盲症、盲目、充血、及びアーガイルロバートソン瞳孔の中から選択し得る。

【0157】

例えば、炎症性疾患の中でも、アルツハイマー、強直性脊椎炎、関節炎（変形性関節炎、関節リウマチ（RA）、乾癬性関節炎）、喘息、アテローム性動脈硬化症、クローン病、結腸炎、皮膚炎、憩室炎、線維筋痛、肝炎、過敏性腸症候群（IBS）、全身性エリテマトーデス（SLE）、腎炎、パーキンソン病、潰瘍性大腸炎に言及してよい。

【0158】

例として、心血管疾患の中でも、冠動脈疾患（CAD）、例えば、狭心症及び心筋梗塞（一般的に、心臓発作として知られている）、脳卒中、高血圧性心疾患、リウマチ性心疾患、心筋症、心房細動、先天性心疾患、心内膜炎、大動脈瘤、末梢動脈疾患、及び静脈血栓症に言及してよい。

【0159】

増殖性疾患は、新生物疾患、腫瘍、癌、転移から選択し得る。

【0160】

より具体的には、上で説明した通り、前記腫瘍及び癌は、骨、脳、腎臓、肝臓、副腎、結腸直腸、膀胱、乳房、胃、卵巣、結腸、直腸、前立腺、脾臓、肺、非小細胞肺、小細胞肺、膣、甲状腺、頭頸部の癌及び腫瘍から選択し得る。

【0161】

例として、癌は、白血病、癌腫、メラノーマ、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髄腫、腺腫、新生物、神経芽細胞腫、腺癌、リンパ腫、骨髄腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、血管原性骨髄様化生、中皮腫、及び神経膠腫の中から選択し得る。

【0162】

免疫疾患は、急性播種性脳脊髄炎（ADEM）、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBMノ抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群（APS）、自己免疫性血管性浮腫、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全、

10

20

30

40

50

自己免疫性内耳疾患 (AIED)、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病 (ATP)、自己免疫性甲状腺疾患、自己免疫性じんま疹、軸索及び神経ニューロパチー、パロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャスルマン病、セリアック病、シャーガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP)、慢性再発性多巣性骨髄炎 (Chronic recurrent multifocal osteomyelitis) (CRMO)、チャージ-ストラウス症候群、癬痕性類天疱瘡 / 良性粘膜類天疱瘡、クローン病、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、CREST病、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性ニューロパチー、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、ドヴィック病 (視神経脊髄炎)、円板状紅斑性狼瘡、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エヴァンス症候群、線維筋痛、線維化肺炎、巨細胞性動脈炎 (側頭動脈炎)、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症 (GPA) (以前はウェゲナー肉芽腫症と呼ばれていた)、グレーブス病、ギラン-バレー症候群、橋本脳症、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ-シェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病 (ITP)、IgA腎症、IgG4関連硬化性疾患、免疫調節性リポタンパク質、封入体筋炎、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性糖尿病 (1型糖尿病)、若年性筋炎、川崎症候群、ランバート-イートン症候群、白血球破碎性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線状IgA病 (LAD)、ループス (SLE)、ライム病、慢性メニエール病、顕微鏡的多発性血管炎、混合結合組織病 (MCTD)、モーレン潰瘍、ムッハ-ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎 (ドヴィック病)、好中球減少症、眼癬痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS (小児自己免疫性溶連菌関連性精神神経障害)、腫瘍随伴性小脳変性症、発作性夜間血色素尿症 (PNH)、パリーロンバーグ症候群、パーソンネージ-ターナー症候群 (Parsonnage-Turner syndrome)、扁平部炎 (周辺性ブドウ膜炎)、天疱瘡、末梢性ニューロパチー、静脈周囲脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発性動脈炎、I型、II型、及びIII型多腺性自己免疫症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、月経疹、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、赤芽球癆、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、むずむず脚症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子及び精巣の自己免疫、全身硬直症候群、亜急性細菌性心内膜炎 (SBE)、スザック症候群、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎 / 巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病 (TTP)、トロアザ-ハント症候群、横断性脊髄炎、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織疾患 (UCTD)、ブドウ膜炎、脈管炎、小水疱水疱性皮膚病、白斑、及びウェゲナー肉芽腫症 (現在は多発血管炎性肉芽腫症 (GPA) と呼ばれている) の中から選択し得る。

10

20

30

40

50

【0163】

皮膚老化は、光線誘発性早期皮膚老化及び老化筋脂肪皮膚から選択し得る。

【0164】

例えば、ウイルス感染症の中でも、水痘、流感 (インフルエンザ)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV/AIDS)、ヒト乳頭腫ウイルス (HPV)、感染性単核球症、流行性耳下腺炎、麻疹及び風疹、帯状疱疹、ウイルス性下痢症 (ウイルス性胃腸炎)、ウイルス性肝炎、ウイルス性髄膜炎、デング熱、チクングンヤ熱、ウイルス性肺炎、鳥インフルエンザ; 感冒、サイトメガロウイルス (CMV) 感染症、エボラウイルス感染症、マールブルグウイルス感染症、ハンタウイルス感染症、単純ヘルペスウイルス感染症、感染性単核球症、ラッサ熱及び南アメリカ出血熱、中東呼吸器症候群 (MERS)、ポリオ、ヘルペス後神経痛、重症急性呼吸器症候群 (SARS)、天然痘、H1N1豚インフルエンザ、及び黄熱病に言及してよい。

【0165】

この目的のために、タンパク質のプレニル化の阻害、より正確には、タンパク質のファルネシル化の阻害が必要とされる疾患又は障害、特に、HGPS及び早老症、並びに既に言及

した疾患に罹患している患者に、有効量の前記化合物を投与してよい。

【0166】

また、本発明は、タンパク質のプレニル化の阻害、より正確には、タンパク質のファルネシル化の阻害が必要とされる疾患又は障害、特に、HGPS及び早老症に加えて、既に言及した全ての疾患の治療及び／又は予防を目的とする医薬組成物を製造するための、少なくとも、上に定義した式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)のうちのいずれか1つの化合物、並びに上に定義した化合物(1)～(14)の中から選択される化合物、又は本発明に係るその薬学的に許容し得る塩の1つの使用に関する。

【0167】

また、本発明は、上に定義した式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)の新規化合物の中から選択される化合物、並びに上に定義した化合物(1)～(14)、又はこれらの任意の薬学的に許容し得る塩を少なくとも含む医薬組成物を包含する。

10

【0168】

したがって、これら医薬組成物は、有効量の前記化合物と、1つ以上の医薬賦形剤とを含有する。

【0169】

前述の賦形剤は、剤形及び所望の投与モードに従って選択される。

【0170】

この状況では、前記医薬組成物は、活性物質 0.1～1000mgを毎日投与することを可能にする用量で、適切な賦形剤と共に、経腸又は非経口投与に好適な任意の医薬形態、例えば、素錠又はコーティング錠、硬ゼラチン、軟シェルカプセル剤、及び他のカプセル剤、坐剤、又は飲用可能な、例えば、懸濁剤、シロップ剤、又は注射液若しくは注射懸濁液の形態で存在し得る。

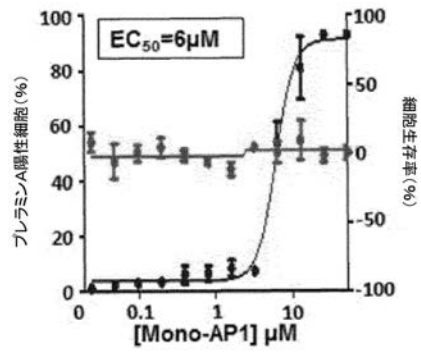
20

【0171】

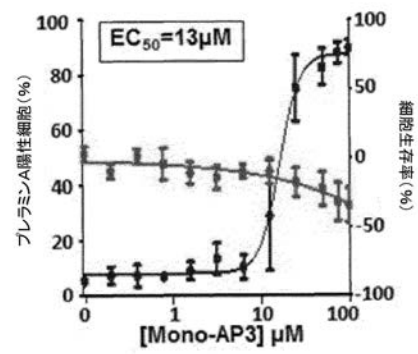
本発明は、更に、タンパク質のプレニル化の阻害、より正確には、タンパク質のファルネシル化の阻害が必要とされる疾患又は障害、特に、HGPS、早老症、又は既に言及した疾患のうちのいずれか1つに罹患している患者を処置する方法であって、これらに罹患している患者に、有効量の式(I)、(II)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、及び(I'a)、並びに(1)～(14)のうちのいずれか1つの化合物、又はその薬学的に許容し得る塩類を投与する工程を少なくとも含む方法に関する。

30

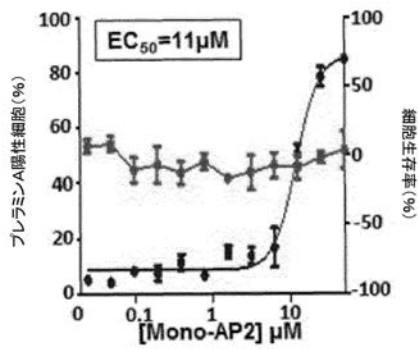
【図1 - Mono - AP1】



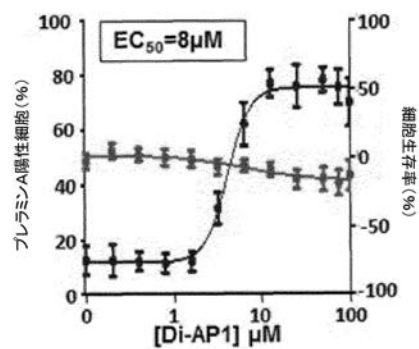
【図1 - Mono - AP3】



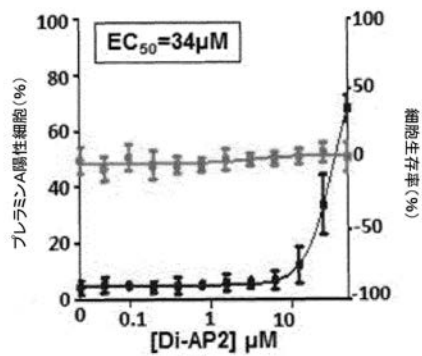
【図1 - Mono - AP2】



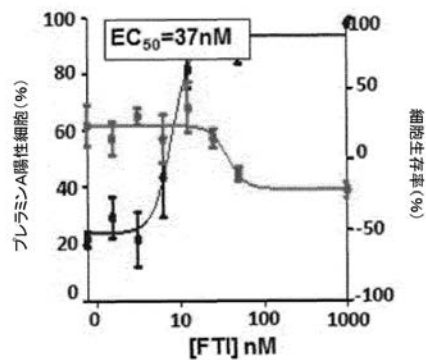
【図1 - Di - AP1】



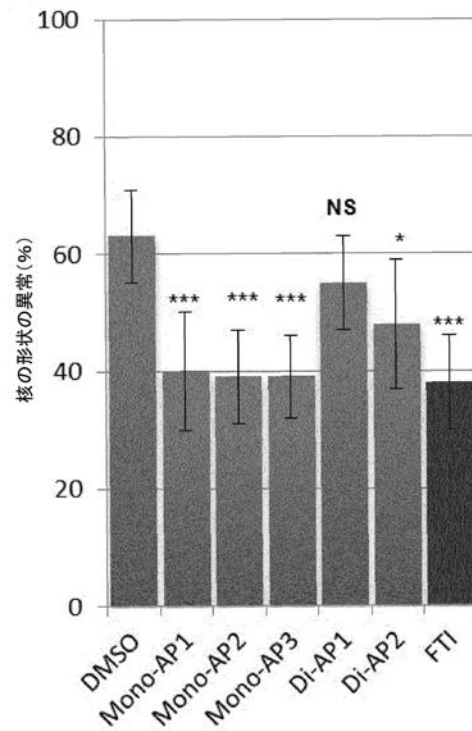
【図1 - Di - AP2】



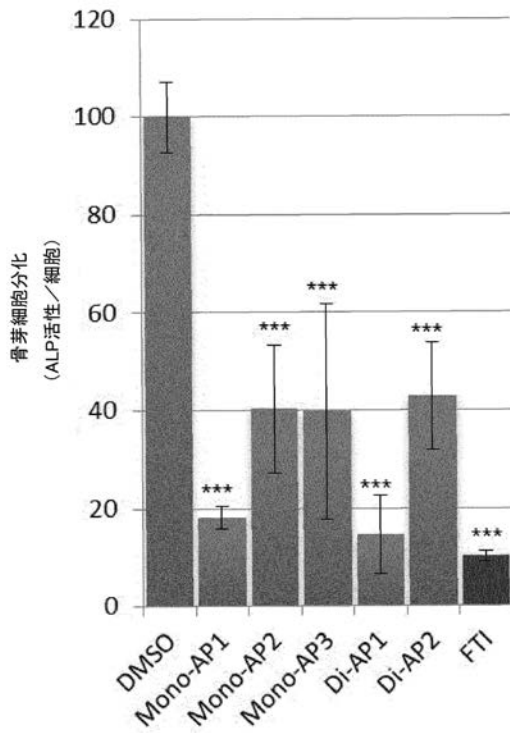
【図1 - FTI】



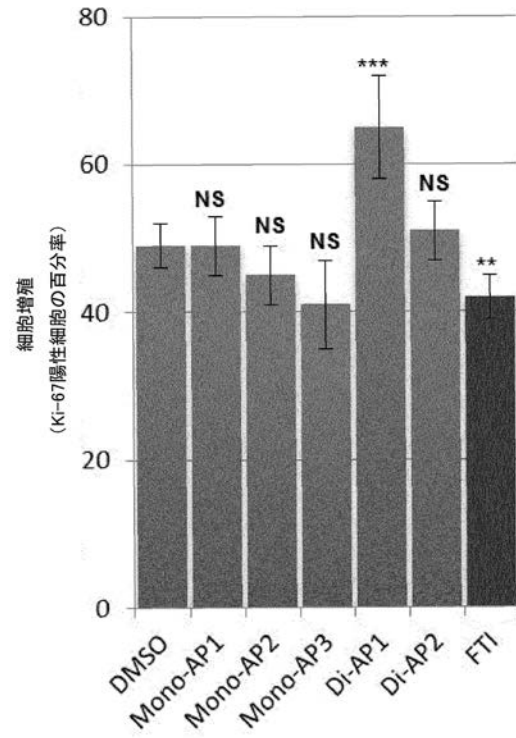
【図2 A】



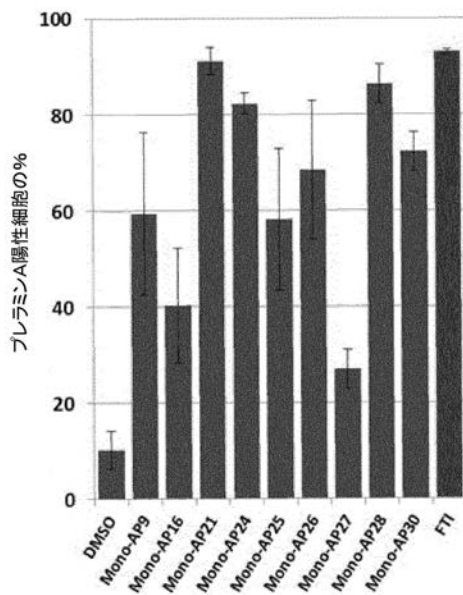
【図 2 B】



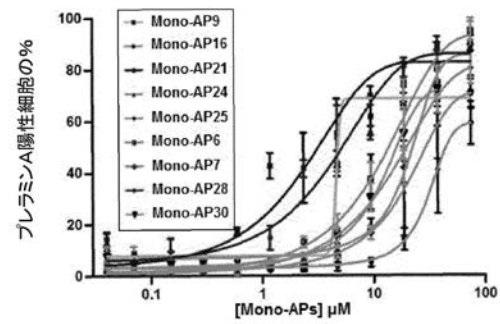
【図 2 C】



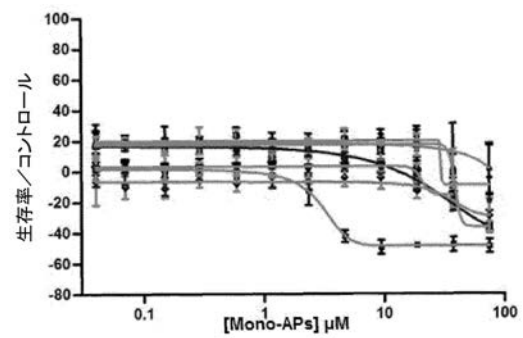
【図 3 A】



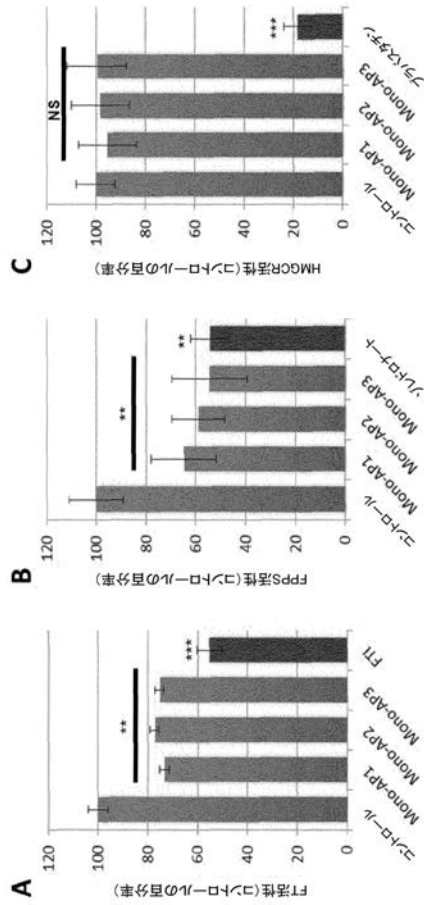
【図 3 B】



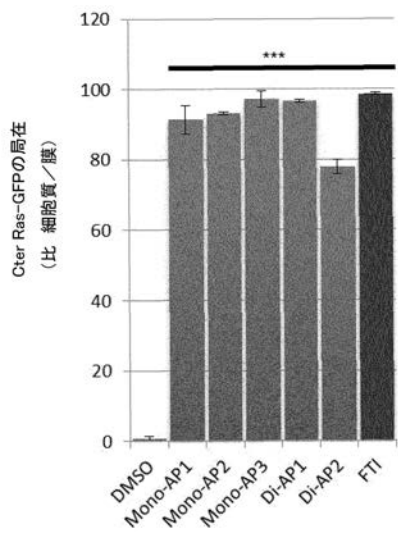
【図 3 C】



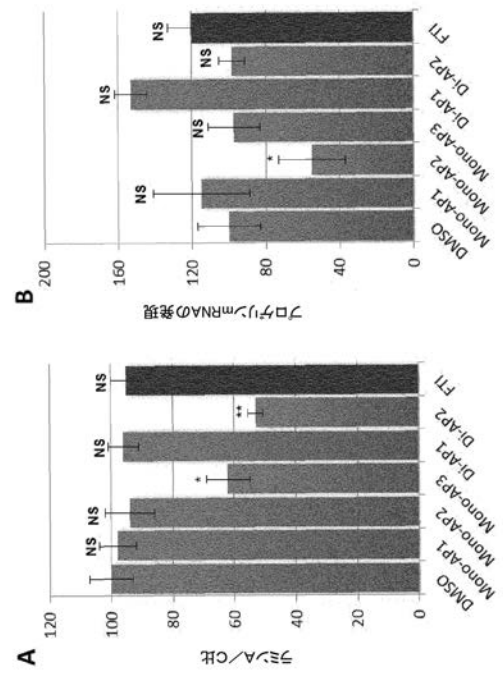
【図 4】



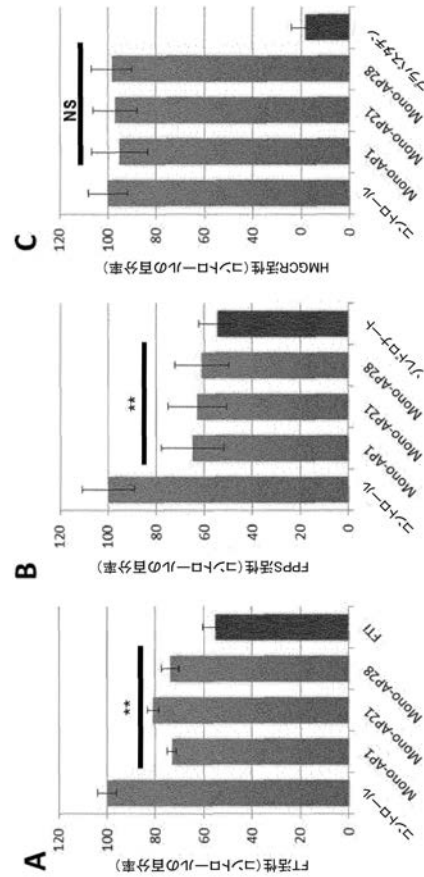
【図 6】



【図 5】



【図 7】



【配列表】

2017536342000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/073141

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D403/12 C07D401/14 C07D401/02 A61K31/506 A61P25/00
A61P3/00 A61P35/00 A61P9/00 A61P31/12

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Rafael Gozalbes ET AL: "Supporting information Title: Development and experimental validation of a docking strategy for the generation of kinase-targeted libraries", 2008, XP055187696, Retrieved from the Internet: URL:http://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/jm701367r/suppl_file/jm701367r-file001.pdf [retrieved on 2015-05-06] table 3; compounds CER0262452, CER0264280 -----	1-16
A	EP 1 110 957 A1 (APPLIED RESEARCH SYSTEMS [AN]) 27 June 2001 (2001-06-27) claims 1, 19, 21-24 ----- -/-	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 November 2015

Date of mailing of the international search report

25/11/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Miniejew, Catherine

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/073141

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2005/182067 A1 (BALAN CHENERA [US] ET AL) 18 August 2005 (2005-08-18) claims 1, 17 -----	1-16
A	MOORTHY N S H N ET AL: "Farnesyltransferase Inhibitors: A Comprehensive Review Based on Quantitative Structural Analysis", CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, NL, vol. 20, no. 38, December 2013 (2013-12), pages 4888-4923, XP009184172, ISSN: 0929-8673, DOI: 10.2174/09298673113206660262 the whole document -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/073141

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1110957	A1	27-06-2001	AR 029215 A1 18-06-2003
			AT 254123 T 15-11-2003
			AU 780241 B2 10-03-2005
			BG 65986 B1 31-08-2010
			BR 0016911 A 22-10-2002
			CA 2394809 A1 05-07-2001
			CN 1433414 A 30-07-2003
			CZ 20022169 A3 11-09-2002
			DE 60006580 D1 18-12-2003
			DE 60006580 T2 16-09-2004
			DK 1240164 T3 01-03-2004
			EE 200200318 A 15-10-2003
			EP 1110957 A1 27-06-2001
			EP 1240164 A1 18-09-2002
			ES 2206351 T3 16-05-2004
			HK 1055730 A1 28-07-2006
			HR P20020496 A2 31-03-2006
			HU 0204557 A2 28-05-2003
			IL 150346 A 30-12-2010
			JP 4782344 B2 28-09-2011
			JP 2003519142 A 17-06-2003
			KR 20070047853 A 07-05-2007
			MX PA02006242 A 28-01-2003
			NO 20022997 A 21-06-2002
			NZ 519423 A 30-04-2004
			PL 356634 A1 28-06-2004
			PT 1240164 E 27-02-2004
			SI 1240164 T1 30-04-2004
			SK 8982002 A3 08-10-2002
			TR 200201509 T2 23-09-2002
			TR 200302320 T4 21-01-2004
			UA 73151 C2 16-09-2002
			US 2003162794 A1 28-08-2003
			US 2007259892 A1 08-11-2007
			WO 0147920 A1 05-07-2001
			YU 49202 A 16-01-2006
			ZA 200204427 A 03-02-2004
US 2005182067	A1	18-08-2005	AU 2005212438 A1 25-08-2005
			CA 2556239 A1 25-08-2005
			EP 1745034 A1 24-01-2007
			JP 2007522233 A 09-08-2007
			US 2005182067 A1 18-08-2005
			US 2009197879 A1 06-08-2009
			WO 2005077938 A1 25-08-2005

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)		A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)		A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)		A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)		A 6 1 P 31/12	
A 6 1 K 31/506 (2006.01)		A 6 1 K 31/506	
C 0 7 D 401/14 (2006.01)		C 0 7 D 401/14	
C 0 7 D 405/14 (2006.01)		C 0 7 D 405/14	
C 0 7 D 409/14 (2006.01)		C 0 7 D 409/14	
C 0 7 D 403/12 (2006.01)		C 0 7 D 403/12	

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

(71)出願人 503119487

ユニヴェルシテ・デヴリ・ヴァル・デソヌ

フランス・F - 9 1 0 2 5 ・エヴリ・ブルヴァール・フランソワ・ミッテラン・(番地なし)

(74)代理人 110001508

特許業務法人 津国

(72)発明者 ペシャンスキ, マルク

フランス国、エフ - 9 1 0 0 0 エヴリー、リュ・アンリ・デブリュエール 5、アンセルム - ジェノポール・カンピュー 1

(72)発明者 ブロンドル, ソフィー

フランス国、エフ - 9 1 0 0 0 エヴリー、リュ・アンリ・デブリュエール 5、アンセルム - ジェノポール・カンピュー 1

(72)発明者 ニッサン, グザヴィエ

フランス国、エフ - 9 1 0 0 0 エヴリー、リュ・アンリ・デブリュエール 5、アンセルム - ジェノポール・カンピュー 1

F ターム(参考) 4C063 AA01 AA03 BB02 BB04 BB09 CC29 CC82 CC92 DD06 DD10
DD12 DD22 DD29 EE01
4C086 AA01 AA02 AA03 BC42 BC50 GA01 GA02 GA04 GA07 GA08
GA12 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA33 ZA36 ZA89 ZB07 ZB11
ZB26 ZB33 ZC21