

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6086864号
(P6086864)

(45) 発行日 平成29年3月1日 (2017.3.1)

(24) 登録日 平成29年2月10日 (2017.2.10)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 319/18 (2006.01)

C O 7 D 319/18 C S P

C O 7 D 405/06 (2006.01)

C O 7 D 405/06

C O 7 D 409/06 (2006.01)

C O 7 D 409/06

請求項の数 9 (全 57 頁)

(21) 出願番号 特願2013-524961 (P2013-524961)
 (86) (22) 出願日 平成23年8月17日 (2011.8.17)
 (65) 公表番号 特表2013-535515 (P2013-535515A)
 (43) 公表日 平成25年9月12日 (2013.9.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/048086
 (87) 国際公開番号 W02012/024404
 (87) 国際公開日 平成24年2月23日 (2012.2.23)
 審査請求日 平成26年7月16日 (2014.7.16)
 (31) 優先権主張番号 61/427, 974
 (32) 優先日 平成22年12月29日 (2010.12.29)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/374, 687
 (32) 優先日 平成22年8月18日 (2010.8.18)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 512265331
 サミュエル リミテッド ライアビリテ
 イ カンパニー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サン
 ディエゴ ジュディシャル ドライブ 9
 381 スイート 160
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

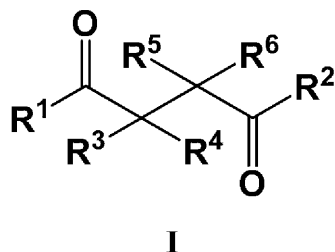
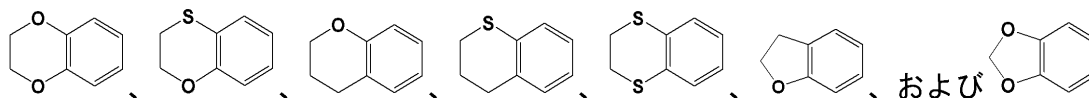
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カテニンシグナル伝達経路活性化剤としてのジケトンおよびヒドロキシケトン

(57) 【特許請求の範囲】

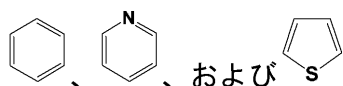
【請求項 1】

式 I の構造を有する化合物または薬学的に許容されるその塩：

式中、R¹ は、

からなる群より選択され；

R² は、

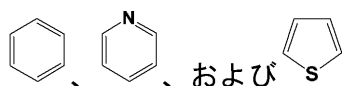


からなる群より選択され、各々は、 $-(C_{1-4} \text{ アルキル})$ 、 $-(C_{1-4} \text{ ハロアルキル})$ 、ハロ、ヒドロキシル、またはアルコキシで置換されていてもよく；

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は、全て H である。

【請求項 2】

R^2 が、ハロ、ヒドロキシル、メチル、または $-OMe$ で置換された、

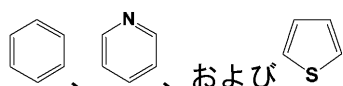


10

からなる群より選択される、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

R^2 が、非置換の



20

からなる群より選択される、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 4】

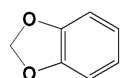
R^2 が、非置換の



である、請求項 1 および 3 のいずれか一項記載の化合物。

【請求項 5】

R^1 が、

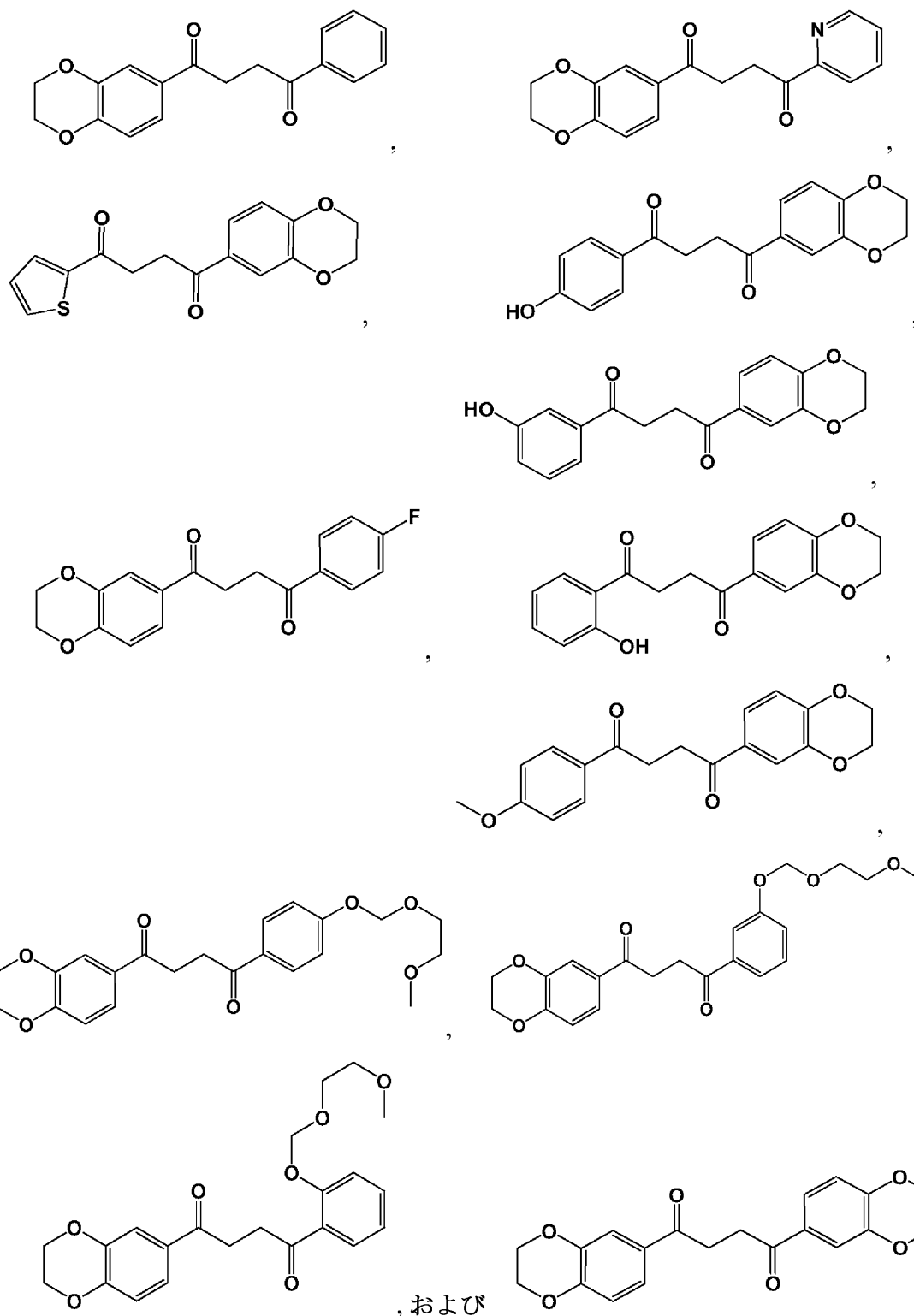


30

である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項記載の化合物。

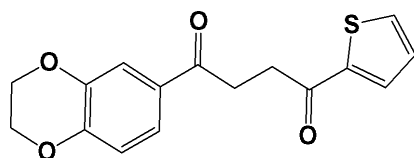
【請求項 6】

以下：



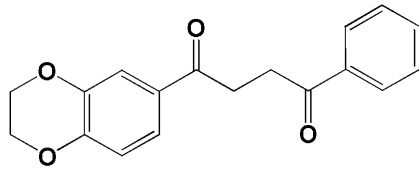
からなる群より選択される構造を有するか、または薬学的に許容されるその塩である、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 7】



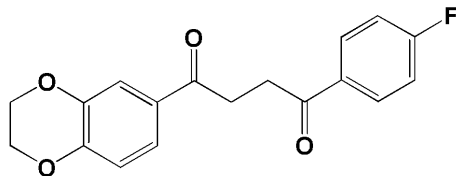
であるか、または薬学的に許容されるその塩である、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 8】



であるか、または薬学的に許容されるその塩である、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 9】



であるか、または薬学的に許容されるその塩である、請求項 1 記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は2010年8月18日出願の米国仮出願第61/374,687号および2010年12月29日出願の米国仮出願第61/427,974号の恩典を主張し、これらはその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

発明の背景

発明の分野

本発明は、1つまたは複数のWntタンパク質の活性化剤を含むWnt経路中の1つまたは複数のタンパク質の活性化剤、およびそれを含む組成物に関する。より具体的には、骨粗鬆症および骨関節症、骨形成不全症、骨欠損、骨折、歯周病、耳硬化症、創傷治癒、頭蓋顔面欠損、腫瘍崩壊性骨疾患；パーキンソン病、脳卒中、虚血性脳疾患、てんかん、アルツハイマー病、うつ病、双極性障害、統合失調症を含む、中枢神経系の分化および発生に関連する外傷性脳損傷；加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫または網膜色素変性症などの眼疾患；ならびに脱毛、造血関連疾患および組織再生関連疾患を含む、幹細胞の分化および増殖に関連する疾患の処置における、 β -ジケトン、 β -ジケトンもしくは β -ヒドロキシケトン、またはその塩もしくは類似体の使用に関する。

【背景技術】

【0003】

関連技術の説明

Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路は、多くの生物学的過程において必須である。それは胚形態の未成熟の細胞の運命を制御する。Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路は、幹細胞の自己再生および増殖、ならびに成体における肝細胞(例えば皮膚細胞、骨細胞、肝細胞など)の発生に必須である[Science (2002), 296(5573), 1644-1646 (特許文献1)]。Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路は発生、形態、増殖、運動性および細胞運命を制御する[Annual Review of Cell and Developmental Biology (2004), 20, 781-810 (特許文献2)]。Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路は腫瘍形成において中心的な役割を有し、この系の不適切な活性化がいくつかのヒトがんにおいて観察される["Wnt Signaling in Human Cancer", in Signal Transduction in Cancer (pp. 169-187). (2006) Springer (特許文献3)]。Wnt/ β -カテニンは、E-カドヘリンの細胞質ドメインと相互作用し、かつ該カドヘリン複合体をアクチン細胞骨格に繫留させるWnt/ β -カテニンと相互作用するタンパク質として、ヒトにおいて最初に記述された[Science (1991), 254(5036), 1359-1361 (特許文

10

20

30

40

50

献4)]。その後、哺乳動物のWnt/ -カテニンのさらなる役割、すなわちWnt/ -カテニンメッセージングの主要なメディエーターとしての役割が発見された。

【 0 0 0 4 】

Wntリガンドの存在下では、分泌型アンタゴニストによって阻害されなければ、WntリガンドはFrizzled(Fzd)/低密度リボタンパク質受容体関連タンパク質(LRP)複合体に結合することで、細胞質内タンパク質Dishevelled(ショウジョウバエ属におけるDsh、および脊椎動物におけるDvl)を活性化する。正確に言えば、Dsh/Dvlがどのようにして活性化されるかは完全には理解されていないが、カゼインキナーゼ1(CK1)およびカゼインキナーゼ2(CK2)によるリン酸化が部分的に原因であると示唆された[Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (1999), 96(22), 12548-12552 (特許文献5)]。次にDsh/Dvlは、プロテアソームによる分解のために -カテニンをリン酸化の標的とする、多タンパク質複合体(-カテニン-アキシン-大腸腺腫症(APC)-グリコーゲン合成酵素キナーゼ(GSK)-3)の活性を阻害する。Dsh/Dvlは、CK1に結合し、それにより -カテニンのプライミングを阻害しかつGSK-3 による -カテニンのリン酸化を間接的に阻止すると示唆されている[Genes & Development (2002), 16(9), 1066-1076 (特許文献6)]。Wnt刺激時に、DvlがGSK-3結合タンパク質(GBP)を多タンパク質複合体に動員することも示されている。GBPはアキシンからGSK-3 を移動させる(titrate)可能性があり、このようにして -カテニンのリン酸化を阻害する。最後に、細胞膜におけるLRPによるアキシンの隔離が記述された[Molecular cell (2001), 7(4), 801-809 (特許文献7)]。全体的な結果はサイトゾル -カテニンの蓄積である。次に安定化した -カテニンは核に転座し、DNA結合タンパク質のT細胞因子(Tcf)/リンパ系増強因子(Lef)ファミリーのメンバーに結合することで、Wnt標的遺伝子の転写を導く。

【 0 0 0 5 】

Wntリガンドの非存在下では、アキシンはCK1を多タンパク質複合体に補充することで、 -カテニンのプライミング、およびGSK-3 によって行われる -カテニンリン酸化カスケードの開始を引き起こす。次にリン酸化 -カテニンが -トランスデューシンリピート含有タンパク質(-TrCP)によって認識され、プロテアソームによって分解されることで、サイトゾル -カテニンのレベルが減少する。

【 0 0 0 6 】

Wnt/ -カテニン経路の異常な活性化は、種々のヒトがん、ならびに幹細胞の異常な発生および機能を導く疾患の発生を含む、いくつかの表現型を導いた[Oncogene (2009), 28(21), 2163-2172; Cancer Cell (2008), 14(6), 471-484 (特許文献8) ; American Journal of Pathology (2003), 162(5), 1495-1502 (特許文献9)]。Wnt/ -カテニンシグナル伝達経路の慢性活性化は、高骨量症候群、硬結性骨化症、結腸直腸がん、肝細胞がん(HCC)、卵巣がん、子宮がん、膵がんおよび黒色腫を含む種々のヒト悪性腫瘍の発生に関係していた[BioEssays (1999) 21(12), 1021-1030; Cell (2000), 103(2), 311-320 (特許文献10) ; Genes Dev. (2000), 14(15), 1837-1851 (特許文献11)]。Wnt/ -カテニン経路が無数の成長過程および発生過程に関与していることから、Wnt/ -カテニンシグナル伝達系に関与するタンパク質の変異は、発生、毛包形態形成、幹細胞分化、骨形成および細胞増殖の異常などの様々なヒト疾患に密接に関連している。

【 0 0 0 7 】

脱毛

毛髪は、毛包と呼ばれる皮膚よりも下の嚢様構造中に形成される。例えばヒト頭皮上に見られる可視的な毛髪は、実際には毛幹であり、これは毛包から成長する角質化して硬化した組織である。特に、毛幹は、ケラチノサイトによって生成されるケラチンで大部分が構成される。

【 0 0 0 8 】

正常な毛包は成長段階(成長期)、退行段階(退行期)および休止段階(休止期)の間で循環する。頭髪は比較的長いライフサイクルを有する。成長期段階は2~6年に及び、退行期段階は数日~数週間に及び、休止期段階は約3ヶ月である。人体上の他の個所に見られる比

10

20

30

40

50

較的短い毛髪は、対応する比較的短い成長期の期間を有する。毛髪および毛包の形態は毛髪のライフサイクルの間に劇的に変化する[Dermatology in General Medicine (Vol. 1), McGraw-Hill, Inc., 1993, pp. 290-91 (特許文献12); Sperling, L. C.; J. Amer. Acad. Dermatology (1991), 25(1, Part 1), 1-17 (特許文献13)]。

【0009】

成長期の間、毛包は代謝的に非常に活性が高い。毛包は、毛包の基部における毛乳頭を含み、毛乳頭を取り囲む表皮基質細胞は、毛乳頭から毛管を通じて上方に延びる毛幹の基部を形成する。基質細胞は、毛髪の活発に伸びる部分となる。

【0010】

退行期では、基質細胞が毛乳頭から退縮し、他の退行性的変化が起こる。例えば、毛包に血液および栄養分を供給する血管および毛細血管が萎縮し、機能を停止する。上皮細胞の柱が毛髪の角質化した近位毛幹を押し上げ、細胞死が毛包内で起こる。次に毛幹が頭皮または身体の他の部分から脱落し、毛包が頭皮成長サイクルの休止段階である休止期に入る。

【0011】

毛包の制御および成長はよく理解されていないが、組織形態形成の間の増殖、分化および細胞相互作用の動的過程を表すものである。毛包は発生の初期段階にのみ形成されて置き換えられないと考えられる。したがって、損傷したまたは機能しない毛包の増大は、一般に脱毛に関連する。

【0012】

男性型または女性型脱毛症は男性または女性ホルモン、例えばアンドロゲンの存在を必要とするが、原因は不明である。任意の男性における脱毛の程度は、父親、母親またはその両方から受け継ぐ遺伝子に大きく依存する。脱毛はこめかみまたは頭頂部において始まる。男性型脱毛症が10代半ばで始まる場合、引き続き脱毛は通常かなり広範なものである。男性の脱毛は波状に進む。脱毛は20代初めに始まった後、停止し、結局数年以内に再開するということがある。20~30歳までに、男性の30%は脱毛箇所を有する。これは50~60歳まで上昇を続け、その時点で男性の50%が完全に禿になる。

【0013】

脱毛速度は、年齢の進行、受け継がれる遺伝子による早期に禿げる傾向、および毛包内の男性ホルモンジヒドロテストステロン(DHT)の過剰によって影響される。DHTは毛包内のホルモン受容体に作用し、それにより発毛を遅くし、弱く短い毛髪を生じさせる。時々、DHT産生は発毛を完全に停止させることさえある。禿げかかった男性は、毛包中に平均を超える量のDHTを有するが、平均を超える循環テストステロンレベルを通常は有さない。

【0014】

女性型脱毛症は男性型脱毛症ほど一般的ではないが、増加傾向にある。それは主に頭頂部の毛髪に限定され、完全な脱毛は女性においては稀である。

【0015】

中毒性脱毛症は一時的であるが、典型的には3~4ヶ月続き、多くの場合は感染症によって引き起こされる。例えば、中毒性脱毛症は甲状腺機能低下症、糖尿病、ホルモンの問題、ビタミン欠乏症、下垂体機能低下症、寄生虫、消化不良、梅毒の初期段階、ビタミンAもしくはレチノイドまたは他の細胞毒性薬の過剰投与の結果として起こりうる。

【0016】

円形脱毛症は、境界が定められた区域内での突然の脱毛である。それは頭髪のある任意の区域に影響しうるものであるが、最も多くの場合、頭皮および顎髭に影響する。いくつかの区域に限定される脱毛は、処置なしであっても数ヶ月中には多くの場合逆戻りするが、再発の可能性がある。円形脱毛症は通常、明白な皮膚疾患または全身疾患を有さない人々において起こるが、稀な場合では、臨床検査はサイログロブリン、胃壁細胞および副腎細胞に対する抗ミクロソーム抗体を示すことがある。

【0017】

瘢痕性脱毛症は炎症および組織破壊により生じる。それは熱傷、物理的外傷、またはX

10

20

30

40

50

線後の破壊などの傷害によるものでありうる。これらの場合、再成長はほとんど予想されない。他の原因は皮膚エリテマトーデス、扁平苔癬、慢性深在性細菌もしくは真菌感染症、深在性潰瘍、サルコイドーシス、梅毒または結核である。頭皮の遅く成長する腫瘍は脱毛の稀な原因である。

【0018】

これらの症状はどれも非常によく理解されているとはいえないが、毛髪がヒトの社会的コミュニケーションおよび対話における重要な要因であると多くの場合考えられることから、各症状は悩ましいものとなる。

【0019】

脱毛を処置するための数多くのアプローチが示唆された。脱毛を予防するための2つの最も一般的に使用および受容されている化合物は、Rogaine(登録商標)中の有効成分であるミノキシジル、およびPropecia(登録商標)中の有効成分である5 α -還元酵素阻害剤フィナステリドである。しかし、患者における加齢性脱毛のミノキシジルまたはフィナステリドの局所溶液による美容的処置は、そのような患者の40%未満における毛髪の中程度の再成長しか生じさせなかった。実際、Rogaine(登録商標)を使用する男性において、満足のいく結果が実現されるのは10パーセント未満である。したがって、より有効な脱毛を処置する方法および脱毛を処置するための組成物が、当技術分野において必要である。好ましくは、新規方法および組成物は、ミノキシジルまたはフィナステリドによる処置で現在観察されるよりも、必要とする有効成分の適用回数が少なく、毛髪再成長を速やかに、豊富にかつ濃いものにする。

【0020】

毛包の発生および再生は、標準Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路によって制御されることがわかった[Investigative Dermatology (2008), 128(5), 1081-1087 (特許文献14)]。表皮では、毛包発生は、間葉系細胞が皮膚に集合する際に開始する。この過程の間、真皮から発するシグナルは、上皮の肥厚、上皮細胞の伸長、およびWnt応答性細胞を含むブラコードの形成を誘導する。これに応じて、ブラコードは真皮細胞が凝集するようにシグナル伝達し、それにより、やはりWntシグナル伝達に応答性がある毛包の毛乳頭成分を形成する。Wnt3aは毛髪上皮から分泌され、自己分泌的およびパラ分泌的に作用するものであり、Wnt-3aが毛乳頭細胞中の成長期遺伝子発現を維持し、器官培養中の毛髪誘導活性を媒介するということが示された。 β -カテニンまたはLef1遺伝子の欠失がマウスにおける脱毛を生じさせたことから、このWnt-3a媒介性発毛は標準Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路に依存する可能性がある。したがって、Wntによる β -カテニンの活性化は、ケラチノサイト分化の阻害、毛包形成の誘導、および神経細胞前駆体の増殖の維持に寄与する。

【0021】

神経変性疾患

神経変性疾患は、神経細胞またはそれらの髄鞘の劣化により生じ、この劣化は、機能障害およびこれにより生じる能力障害を経時的に導く。成体哺乳動物の脳は再生能力が限定されている。このため任意の傷害の修復は危険を伴い、したがってCNS外傷は壊滅的である。

【0022】

成体哺乳動物の中樞神経系の2つの領域、すなわち側脳室の脳室下帯、および海馬歯状回の顆粒細胞下帯において、新たな神経細胞が神経幹細胞から発生する[Current Opinion in Cell Biology (2001), 13, 666-672 (特許文献15)]。微小環境が与えるシグナルは、局所幹細胞の維持、増殖および神経細胞運命決定の制御に寄与する。これらのシグナルおよびシグナル伝達経路の多くは不明である。

【0023】

アルツハイマー病(AD)は認知症の最も一般的な原因であり、認知症は神経細胞を徐々に破壊し、世界中で2400万人を超える人々が罹患している。それは大部分が比較的高齢の成人において起こるものであり、ADに罹患する患者は学習し、記憶し、決定を行い、伝達し、日々の活動を行う能力を失う。ADの病因および進行はよく理解されていないが、脳内の

アミロイドベータ(A β)プラークおよび神経原線維変化に関連している。

【0024】

パーキンソン病(PD)は中枢神経系の変性障害であり、世界中で600万人を超える人々が罹患し、多くの場合に罹患者の運動技能および発話を損なう。パーキンソン病の症状は、黒質(文字通りには「黒い物質」)の領域内のドーパミン分泌細胞の損失により生じる。これらの神経細胞は線条体に突出し、それらの損失は、運動を制御する基底核内の神経回路の活動の改変を導く。

【0025】

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、運動神経細胞の死により生じる致死的な神経変性疾患である。筋肉制御の進行性の損失は、独立した機能に関する個人の能力を損なう。ALSは、筋肉を動かすようにシグナルを送る脳および脊髄内の細胞(運動神経細胞)を襲う。いくつかの場合、SOD1遺伝子の変異は、細胞内の毒性粒子を正常に「浄化する」機能障害性タンパク質であるスーパーオキシドジスムターゼタンパク質(SOD1と呼ばれる)を生じさせる。SOD1が変異する際に、毒性粒子は運動神経細胞内に蓄積されて、機能不全を引き起こす。しかし、この変異はALSの症例の数パーセントを説明するものでしかない。世界中で約350,000人の成人が罹患するALSの主因は不明である。

【0026】

脳卒中および外傷性脳損傷も神経細胞を引き起こして認知機能低下を導くことがある。脳卒中は、虚血性および出血性という2つの主分類に分類することができる。虚血は血液供給の中断が理由であり、一方、出血は血管の破裂または異常な血管構造が理由である。脳卒中は、速やかに診断および処置されなければ、恒久的な神経損傷、合併症および死を引き起こすことがある。それは米国および欧州における死亡の3番目の原因および成人能力障害の主因である。

【0027】

前頭側頭型認知症(FTD)は、65歳未満の人々における認知症の18%を占める。それは行動障害としてしばしば現れるものであり、独立した思考および機能に関する個人の能力を損なうように進行することがある。最近の研究は、この認知症に寄与する遺伝要因を明らかにしたが、それが引き起こす脳の劣化を遮断するための処置はまだ存在していない。

【0028】

Wnt/ β -カテニンシグナル伝達系は、中枢神経系の神経細胞の分化および発生に決定的な役割を果たしており、これは、Wnt/ β -カテニンタンパク質と神経変性疾患を含む中枢神経系の様々な疾患の発症との関係を示唆している[Nature (2005), 437(7063), 1370-1375(特許文献16)]。特に、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達が脳損傷、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ルー・ゲーリック病)、脳卒中、てんかん、アルツハイマー病(AD)、うつ病、双極性障害および統合失調症などの、神経細胞の異常により生じる疾患に関連していることもわかっている。

【0029】

アルツハイマー病は最も一般的な加齢性神経変性障害である。実際、アミロイド β -ペプチド(A β)誘導性神経毒性と β -カテニンの細胞質内レベルの減少との関係が観察された。明らかに、A β はFrizzled受容体(Fz)の細胞外システインリッチドメインに結合することで、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達を阻害する。M1ムスカリン受容体およびPKCの活性化、イブプロフェン-ChE二機能性化合物、PPAR γ 、アゴニスト、ニコチンおよびいくつかの抗酸化剤の使用を含む、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達を制御する他のシグナル伝達カスケードとのクロストークは、A β に対する神経保護を生じさせる。これらの研究は、Wntシグナル伝達機能の持続的損失が、アルツハイマー病の脳において観察されるA β 依存性神経変性に関与していることを示している。したがって、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の活性化が、ADの処置に関する治療標的として提案される可能性がある。

【0030】

眼疾患

加齢黄斑変性(AMD)は、通常は比較的高年齢の成人が罹患する、網膜の損傷によって視

野の中心(網膜黄斑)における視力喪失を導く医学的症状である。それは「乾燥型」および「湿潤型」で起こる。それは比較的高年齢の成人(50歳超)における視力障害の主因である。眼の内層は、視覚を伝達する神経を含む網膜であり、網膜の背後にあるのは、網膜黄斑(網膜の中心部分)への血液供給を含む脈絡膜である。乾燥型(非滲出型)では、ドルーゼンと呼ばれる細胞片が網膜と脈絡膜との間に蓄積し、網膜は剥離することがある。より重症である湿潤型(滲出型)では、血管が網膜の背後の脈絡膜から上方に成長し、網膜はやはり剥離することがある。それはレーザー凝固、および血管の成長を停止させて時に逆行させる投薬で処置することができる。

【0031】

糖尿病性網膜症は、最終的に失明を導くことがある、糖尿病の合併症が引き起こす網膜症(網膜の損傷)である。それは、糖尿病に10年以上かかっている患者全員の最大80%において発症する、全身疾患の眼症状発現である。増殖性糖尿病性網膜症(PDR)の一部として眼の裏側に新たな血管が形成される際に、それらは流血(出血)して視界をぼやけさせることがある。一部の人は黄斑浮腫と呼ばれる症状を発生させる。それは、損傷した血管が体液および脂質を、詳細に視覚できるようにする網膜の部分である網膜黄斑上に漏出させる際に起こる。この疾患が進行するに従って、重症の非増殖性糖尿病性網膜症は進行期または増殖期に入る。網膜中の酸素の欠如によって、脆弱で新たな血管が、網膜に沿って、かつ眼の内部を満たす透明でゲル状の硝子体液中で成長する。タイムリーな処置がなければ、これらの新たな血管は出血し、視界を曇らせ、網膜を破壊することがある。

【0032】

網膜色素変性症(RP)は、遺伝的眼症状の一群である。RPの症状の進行において、一般に夜盲がトンネル視よりも数年、さらには数十年先行する。RPを有する多くの人は、40代または50代までは法的には盲目になっておらず、人生全体で何らかの視覚を保持する[American Journal of Ophthalmology (2003), 136(4), 678-68 (特許文献17)]。他の人々は、いくつかの場合では小児期といった早期にRPから完全に盲目になる。RPの進行は各症例で異なる。RPは進行性網膜ジストロフィーの一種であり、網膜の光受容体(杆体および錐体)または網膜色素上皮(RPE)の異常が進行性の失明を導く遺伝性障害の一群である。罹患した個人は、不完全な暗順応または夜盲症(夜盲)を最初に経験した後、周辺視野の減少(トンネル視として知られる)、および時として疾患の後期での中心視野の損失を経験する。

【0033】

ミューラーグリアまたはミューラー細胞は、通常は任意の正常なグリア細胞の機能に役立つ、脊椎動物の網膜に見られるグリア細胞である。しかし、網膜の傷害後にミューラーグリアが多能性前駆細胞への脱分化を経ることがわかった。この時点で、前駆細胞は、傷害の間に損傷を受けた可能性がある光受容細胞を含むいくつかの網膜細胞型に分裂および分化しうる。さらに、最近刊行された研究は、ミューラー細胞が、哺乳動物の眼内の光ファイバープレートに類似した集光体として作用することで、光を杆体細胞および錐体細胞に集中させることを示した。

【0034】

多能性網膜前駆細胞は2つの根本的問題を解決する必要がある。第一に、それらは最初に数を拡大し、但し後で増殖を制限することで、適切な数の分化細胞が適切な発生時期において生成されるようにしなければならない。第二に、細胞が分裂を停止する際に分化が開始可能になるように、分裂および分化の個々の過程を調整しなければならない[Current Opinion in Genetics & Development (1997), 7(5), 651-658 (特許文献18); Nature Reviews Neuroscience (2001), (2), 109-118 (特許文献19)]。Wntは複数の組織[Cell and Tissue Research (2008), 331(1), 193-210 (特許文献20)]、特に発生中の網膜[Stem Cells (2008), 26(8), 2063-2074 (特許文献21); Development (2003), 130(3), 587-598 (特許文献22); Development (2005), 132(12), 2759-2770 (特許文献23); Development (2005), 132(13), 3027-3043 (特許文献24)]における細胞増殖を促進する。遺伝子の SoxB1ファミリー(Sox1~3)は、発生中の神経系におけるWnt/-カテニンシグナル伝達の

10

20

30

40

50

主要なエフェクターでありうる[Development (2006), 133(22), 4451-4461 (特許文献25)]; Neuron (2005), 46(1), 23-36 (特許文献26)]。神経発生の間、Sox2は前神経遺伝子に拮抗するものであり、前駆細胞を維持可能である[Nature Neuroscience (2003), (6), 1162-1168 (特許文献27)]; Neuron (2003), 39(5), 749-765 (特許文献28)]。カエルの網膜において、Fz5を通じたWnt/-カテニンシグナル伝達はSox2発現に必要であり、Sox2発現は前神経遺伝子発現、および前駆細胞から神経細胞への移行に必要である[Neuron (2005), 46(1), 23-36 (特許文献29)]。これらの因子は、保存された階層的カスケードのコア成分であることが発見され、また、細胞を増殖性の未分化状態から非増殖性の分化神経細胞運命またはグリア運命に導く強力な方向性ネットワークを形成することが提起された[Development (2009), 136(19), 3289-3299 (特許文献30)]。

10

【0035】

哺乳動物CNSの再生は厳しく制限される。ニワトリとは異なり、現行のモデルは、網膜神経細胞が決して再生されないと考える。成体哺乳動物の網膜において、インビボでの急性神経毒性傷害後にミューラグリアが脱分化して、光受容細胞を含む網膜細胞を生成することが示された。しかし、新たに発生する網膜神経細胞の数は非常に限定される。Wnt/-カテニンシグナル伝達が、ミューラグリア由来網膜前駆細胞の増殖、および損傷後または変性中の神経再生を促進することが示された。Wnt3a処置は、光受容体が損傷した網膜において脱分化ミューラグリアの増殖を20倍超増強する。変性中の網膜において、Wnt3aが細胞増殖を増強し、RAまたはVPAによる処理がこれらの細胞のロドプシン陽性光受容細胞への分化を促進したことも示された[Journal of Neuroscience (2007), 27(15), 4210-4219 (特許文献31)]。

20

【0036】

したがって本発明者らは、Wnt/-カテニン経路を調節することが、内在性神経前駆細胞に由来する細胞を発生させることにより神経細胞の損失を補填することを強化するための1つの可能な治療戦略であることを提起する。

【0037】

骨形成

標準Wnt/-カテニンシグナル伝達は骨形成を増強することが示されており、Wnt経路成分は骨粗鬆症および他の代謝性骨疾患の潜在的薬物標的として探究中である[Bone (2009), 44(6), 1063-1068 (特許文献32)]。現代では、社会環境的および遺伝的要因が理由で、特に高齢者人口の増大が理由で、骨疾患が増大している。一般に、骨疾患は特別な症状なしに起こりかつ発症し、加齢に従って急速に悪化する。これまで多くの薬物が骨疾患の処置用に関与されたが、それらの大部分は疼痛を軽減するか骨密度の減少を遅くすることを主に目的としている。それらは、骨粗鬆症に罹患する患者の骨密度を増大させることを目的とする治療薬としては有効ではない。いくつかの他の薬物は、通常は注射液の形態であり、その長期投与時に副作用を生じさせると報告されている。

30

【0038】

Wnt/-カテニン経路を通じたシグナル伝達は、幹細胞の再生、前骨芽細胞複製の刺激、骨芽細胞形成の誘導、ならびに骨芽細胞および骨細胞のアポトーシスの阻害を含むいくつかの機構を通じて骨量を増大させることができる。1つの分子機構は、Wnt-3aとその受容体LRP5およびFzdとの相互作用によるWnt経路の刺激を通じてのものである[Journal of Medicinal Chemistry (2009), 52(22), 6962-6965 (特許文献33)]。骨を形成する骨芽細胞は、可溶性ペプチドアゴニストWnt-3aの共受容体として役立つ表面膜上のタンパク質LRP5およびFzdを発現させる。Wnt-3aで刺激されると、遊離/-カテニンは内部濃度が上昇し、核に入り込み、T細胞因子(TCF)を補充する。転写事象がこれに続き、さらなる同化遺伝子産物の産生が生じる。さらなる可溶性細胞外タンパク質Dkk-1は、細胞表面受容体Kr2およびLRP5に同時に結合することでこの過程に拮抗することによって、Wnt-3aのLRP5への結合を有効に阻害する。さらに、Kr2/LRP5/Dkk-1複合体はエンドサイトーシスを経ることで細胞膜からLRP5を除去し、それによりその機能を無効にする。Dkk-1、SOST/Sclerostin、および分泌Frizzled関連タンパク質(sFRP)-1のような分泌Wntアンタゴニストの機能損失

40

50

変異は、増殖、分化、補充/寿命延長、および機能のような種々の骨芽細胞パラメータの変化による骨形成の増強を生じさせ[Journal of Bone and Mineral Research (2009), 21(6), 934-945 (特許文献34)]、一方、 β -カテニン活性化転写因子TCF-1の欠失は、骨芽細胞によるオステオプロテジェリン発現の減少により生じる骨減少症を引き起こす[Developmental Cell (2005), 8(5), 751-764 (特許文献35)]。

【0039】

腸疾患

成人の腸上皮は、5～7日の陰窩/絨毛通過時間に起こる細胞分裂、分化、移動および剥脱の典型的なサイクルを通じた上皮細胞の連続的補充を特徴とする。成人の腸幹細胞のニッチ内の増殖を制御する推定上の成長因子はまだ同定されていないが、研究は、増殖性陰窩区画内での β -カテニン/Lef/Tcfシグナル伝達の細胞固有の作用を暗示した。

10

【0040】

いくつかの病理状態が腸の細胞を冒す。炎症性腸疾患(IBD)は小腸および大腸の一方または両方を包含しうる。クローン病および潰瘍性大腸炎は、IBDの最もよく知られた形態であり、それらの病因が不明であることからいずれも「特発性」炎症性腸疾患の分類に属する。「活動性」IBDは急性炎症を特徴とする。「慢性」IBDは陰窩の歪みおよび瘢痕の構造的変化を特徴する。陰窩の膿瘍がIBDの多くの形態において起こりうる。

【0041】

潰瘍性大腸炎(UC)は、遠位優位性のびまん性粘膜疾患として結腸を包含する。直腸は実質的に常に包含され、直腸から連続して近位に延びる結腸のさらなる部分が包含されることもある。UCの病因は不明である。長期のUCを有する患者では、結腸がんを発症する危険性が増大する。

20

【0042】

UCを有する患者は、硬化性胆管炎および胆管がんを含む肝疾患の発症の危険性もある。

【0043】

クローン病はGI管の任意の部分を包含しうるが、最も多くの場合、遠位小腸および結腸を包含する。炎症は典型的には貫壁性であり、小さな潰瘍からリンパ濾胞(アフタ様潰瘍)を過ぎて、亀裂が深い潰瘍、そして貫壁性瘢痕および慢性炎症までの何かを生成しうる。3分の1の症例は肉芽腫を有し、リンパ節、肝臓および関節などの結腸外部位も肉芽腫を有しうる。貫壁性炎症は腸のループと他の構造との間での瘻孔の発生を導く。炎症は典型的には分節性であり、包含される腸は、包含される腸の複数区域を隔離している。病因は不明であるが、感染機構および免疫機構が提起された。

30

【0044】

コムギ、オオムギおよびライムギに存在する一般的な食物タンパク質であるグルテンは、感受性のある個人においてセリアック病と呼ばれる疾患を引き起こす。感受性のある個人によるそのようなタンパク質の摂取は、小腸の通常は豪華で敷物状の上皮内層の平坦化を生じさせる。

【0045】

セリアック病の他の臨床症状としては疲労、慢性下痢、栄養分の吸収不良、体重減少、腹部膨満、貧血、ならびに、骨粗鬆症の発生の危険性の実質的な上昇、ならびにリンパ腫および癌腫などの腸悪性腫瘍が挙げられる。セリアック病は一般に自己免疫疾患であると考えられており、患者の血清に見られる抗体は、この疾患が本質的に免疫性であるという理論を裏付ける。

40

【0046】

Tcf部位のノックアウトを有するトランスジェニックマウスは、後期胚形成の間に小腸において増殖性幹細胞区画の損失を示す[Oncogene (2006) 25(57), 7512-7521 (特許文献36)]。しかし、ノックアウトは致死性であり、したがって成体において試験されなかった。成体の分析を可能にするキメラトランスジェニックマウスにおいて、構成的に活性なNH₂切断型p-カテニンの発現は小腸陰窩中での増殖を刺激したが、NH₂切断型p-カテニンまたはLef-1/ β -カテニン融合物のいずれかは陰窩アポトーシスの増強も同様に誘導した[Th

50

e Journal of Cell Biology (1998), 141(3), 765-777 (特許文献37); The Journal of Biological Chemistry (2002), 277(18), 15843-15850 (特許文献38)]。非Frizzled GPCRおよびPTEN/PI-3-キナーゼを含む多様な因子がP-カテニン/Lef/Tcf依存性転写を制御することから、腸幹細胞欠損の原因は不明である。胃腸管中で発現し、Wnt/ -カテニンによって制御される遺伝子としてはCD44およびEphB2が挙げられる。

【 0 0 4 7 】

再生医療

医学分野で近年なされた著しい進歩が理由で、組織および器官の生体ドナー移植技術の領域において生命を救う機会は増大を続けている。しかし、移植ドナーの不足および拒絶反応の発生などの要因が理由で、生体ドナー移植に依存する処置には限界がある。外科的処置または予見できない事故が理由で失われた組織または器官を再生することが可能であれば、患者の生活の質を著しく改善することが可能であろう。さらに、再生医療は、生体ドナー移植が直面する問題を解決することも可能にする。この観点から、再生医療に対する期待の程度は大きい。

【 0 0 4 8 】

再生医療が成功を収めた技術は、人工皮膚、人工骨および人工歯のような、形態および機能が比較的単純な組織に主に関連している。再建された人工皮膚および人工骨が細胞に組み入れられることで、組織構築に必要なシグナルを与えることが可能になる。しかし、再生医療技術による人工皮膚および人工骨の分化のレパートリーには限界があった。例えば、同種ケラチノサイトまたは皮膚線維芽細胞などは表皮の形態の構造に分化し、周囲の器官に組み入れられることで、最終的には遮断性を有する角質層または基底層を有するが、毛包、皮脂腺または汗腺などの二次派生物の派生がないことが報告された。

【 0 0 4 9 】

体組織は、自己複製が可能であり、かつ分化細胞にシグナルを送るかまたは分化細胞を供給することで組織恒常性を維持するための幹細胞特性を有する細胞と、既に分化した体細胞の特性を有し、そのような細胞からの様々なシグナルまたは指令を受け取る細胞との両方を通常は含むものであり、これら両方の種類の細胞間の相互作用を通じて機能することができる。例えば脊椎動物の場合、間葉細胞と上皮細胞との間の相互作用は、ほぼすべての組織および器官の形成に必須である。毛包の場合、毛乳頭細胞の形態の間葉細胞が幹細胞様特性の原因であり、一方、ケラチノサイトの形態の上皮細胞は、毛幹(毛髪それ自体)に分化する能力において、体細胞様特性を有する細胞と同等である。

【 0 0 5 0 】

再生医療によって器官を形成する際に直面する困難は、未分化状態に維持される幹細胞様特性を有する細胞と、実際の体組織のように既に分化した細胞との間の共存状態に到達することにある。先行技術では、上皮細胞および間葉細胞が同時培養可能であるとしても、両方が最終的に分化するかまたは両方が未分化状態に維持されるかのいずれかであり、それにより、実際の体組織を模倣するための未分化細胞および分化細胞の共存の再現が妨げられる。

【 0 0 5 1 】

多能性細胞を個々の系統に導くこと、およびそれらの増殖を制御することは、発生生物学および幹細胞生物学において依然として根本的な課題である。Wnt経路のメンバーは、前駆細胞の自己再生または増殖を含む多くの中心的な胚事象を制御する。

【 0 0 5 2 】

刊行された観察は、標準Wntシグナルが別々の発生の窓の間に別個の役割を果たすこと、すなわち最初に中胚葉の運命決定を正に制御した後、心筋前駆細胞の初期誘導においておそらく負の役割を果たすことを示唆している[Genes & Development (2001), 15(3), 316-327; Ibid., 304-315 (特許文献39); Proc Natl Acad Sci U S A. (2006), 103(52), 19812-19817 (特許文献40); Development (Cambridge, UK) (2006), 133(19), 3787-3796 (特許文献41)]。ここに記載の時空間的に制約された標準Wntシグナル伝達の機能損失および機能獲得研究は、マウスにおける心臓前方中胚葉および心臓中胚葉の増殖および発

10

20

30

40

50

生のためにWnt/ -カテニンシグナル伝達が細胞自律的に必要であることの説得力のある証拠を与える。したがって、標準Wntシグナル伝達が心臓発生の阻害および促進をその間に順次行う、狭い発生の窓が存在しうる。したがって、前駆細胞の増殖および分化を制御するために標準Wntシグナル伝達を操作することができることが示された。

【0053】

しかし、前駆細胞とは対照的に、幹細胞は特異性があるかに低い。幹細胞と前駆細胞との間の最も重要な違いは、幹細胞が無限に複製可能である一方で、前駆細胞に限られた回数しか分裂しないということである。体細胞および配偶子としても知られる成体幹細胞という用語は、分裂してそれ自体と同様の別の細胞を作り出す能力、および分裂してそれ自体よりもさらに分化された細胞を作り出す能力という2つの特性を有する、発生生物に見られる任意の細胞を意味する。それらは子どもおよび成人に見ることができる[Nature (2002), 418(6893), 41-49 (特許文献42)]。ある個体のすべての体細胞は、原則として遺伝的に同一であり、分化過程に後成的改変および制御的改変を通じて種々の組織特異的特徴を発展させる。多能性体性幹細胞は稀であり、一般に数が少ないが、臍帯血を含むいくつかの組織に見ることができる。多くの体性幹細胞研究は、それらの無制限に分裂または自己再生する能力、およびそれらの分化可能性を明らかにすることに重点を置いた。マウスでは、多能性体性幹細胞は成体線維芽細胞培養物から直接発生する。残念ながら、多くのマウスは幹細胞器官によって長生きすることはない。

【0054】

4つの転写因子のレトロウイルス形質導入によって体細胞を人工多能性幹細胞(iPSC)に再プログラムすることができる[Cell (2008), 132(4), 567-582 (特許文献43)]。再プログラムされた多能性細胞は再生医療の大きな可能性を有すると考えられるが[Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2008), 105(15), 5856-5861 (特許文献44)]、レトロウイルス、特にc-Mycのゲノム組込みは腫瘍形成の危険性を増大させる[Nature (2007), 448(7151), 313-317 (特許文献45)]。臨床設定における使用のためのiPSCの発生は、遺伝子改変よりもむしろ代替の最終的により安全な開始刺激の同定による利点を得る。これは規定された因子、低毒性化学物質、または合成小分子による一過性の処置である可能性がある。Wnt経路が多能性のコア回路に密接に関係していることから、可溶性Wnt3aを使用する該経路の刺激がc-Mycレトロウイルスの非存在下でiPSCの発生を促進することがわかった。これらのデータは、分化細胞を多能性状態に再プログラムするためにシグナル伝達経路および転写因子が協調的に作用しうることを示している[Cell Stem Cell (2008), 3(2), 132-135 (特許文献46); Cell Stem Cell (2008), 3(5), 465-466 (特許文献47)]。

【0055】

上記で論じたように、Wnt/ -カテニンシグナル伝達経路の活性化剤は細胞増殖障害、骨障害、眼疾患、アルツハイマー病、さらには組織発生に対して有用な薬物であることが期待される。したがって、Wnt/ -カテニンシグナル伝達経路関連障害の潜在的処置レジメンとしてWnt/ -カテニンシグナル伝達経路の新規活性化剤を設けることが有利である。本発明はこれらのおよび他の重要な目標に関する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0056】

【特許文献1】Science (2002), 296(5573), 1644-1646

【特許文献2】Annual Review of Cell and Developmental Biology (2004), 20, 781-810

【特許文献3】"Wnt Signaling in Human Cancer", in Signal Transduction in Cancer (pp. 169-187). (2006) Springer

【特許文献4】Science (1991), 254(5036), 1359-1361

【特許文献5】Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (1999), 96(22), 12548-12552

【特許文献6】Genes & Development (2002), 16(9), 1066-1076

- 【特許文献 7】Molecular cell (2001), 7(4), 801-809
- 【特許文献 8】Oncogene (2009), 28(21), 2163-2172; Cancer Cell (2008), 14(6), 471-484
- 【特許文献 9】American Journal of Pathology (2003), 162(5), 1495-1502
- 【特許文献 10】BioEssays (1999) 21(12), 1021-1030; Cell (2000), 103(2), 311-320
- 【特許文献 11】Genes Dev. (2000), 14(15), 1837-1851
- 【特許文献 12】Dermatology in General Medicine (Vol. I), McGraw-Hill, Inc., 1993, pp. 290-91
- 【特許文献 13】Sperling, L. C.; J. Amer. Acad. Dermatology (1991), 25(1, Part 1), 1-17 10
- 【特許文献 14】Investigative Dermatology (2008), 128(5), 1081-1087
- 【特許文献 15】Current Opinion in Cell Biology (2001), 13, 666-672
- 【特許文献 16】Nature (2005), 437(7063), 1370-1375
- 【特許文献 17】American Journal of Ophthalmology (2003), 136(4), 678-68
- 【特許文献 18】Current Opinion in Genetics & Development (1997), 7(5), 651-658
- 【特許文献 19】Nature Reviews Neuroscience (2001), (2), 109-118
- 【特許文献 20】Cell and Tissue Research (2008), 331(1), 193-210
- 【特許文献 21】Stem Cells (2008), 26(8), 2063-2074
- 【特許文献 22】Development (2003), 130(3), 587-598
- 【特許文献 23】Development (2005), 132(12), 2759-2770 20
- 【特許文献 24】Development (2005), 132(13), 3027-3043
- 【特許文献 25】Development (2006), 133(22), 4451-4461
- 【特許文献 26】Neuron (2005), 46(1), 23-36
- 【特許文献 27】Nature Neuroscience (2003), (6), 1162-1168
- 【特許文献 28】Neuron (2003), 39(5), 749-765
- 【特許文献 29】Neuron (2005), 46(1), 23-36
- 【特許文献 30】Development (2009), 136(19), 3289-3299
- 【特許文献 31】Journal of Neuroscience (2007), 27(15), 4210-4219
- 【特許文献 32】Bone (2009), 44(6), 1063-1068
- 【特許文献 33】Journal of Medicinal Chemistry (2009), 52(22), 6962-6965 30
- 【特許文献 34】Journal of Bone and Mineral Research (2009), 21(6), 934-945
- 【特許文献 35】Developmental Cell (2005), 8(5), 751-764
- 【特許文献 36】Oncogene (2006) 25(57), 7512-7521
- 【特許文献 37】The Journal of Cell Biology (1998), 141(3), 765-777
- 【特許文献 38】The Journal of Biological Chemistry (2002), 277(18), 15843-15850
- 【特許文献 39】Genes & Development (2001), 15(3), 316-327; Ibid., 304-315
- 【特許文献 40】Proc Natl Acad Sci U S A. (2006), 103(52), 19812-19817
- 【特許文献 41】Development (Cambridge, UK) (2006), 133(19), 3787-3796
- 【特許文献 42】Nature (2002), 418(6893), 41-49
- 【特許文献 43】Cell (2008), 132(4), 567-582 40
- 【特許文献 44】Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2008), 105(15), 5856-5861
- 【特許文献 45】Nature (2007), 448(7151), 313-317
- 【特許文献 46】Cell Stem Cell (2008), 3(2), 132-135
- 【特許文献 47】Cell Stem Cell (2008), 3(5), 465-466
- 【発明の概要】
- 【0057】

本発明は、脊椎動物対象における細胞または組織の再生を増強する方法に関する。本発明は、脊椎動物対象におけるインビボでの胚性幹細胞および/もしくは成体幹細胞、前駆細胞、間葉系前駆細胞/幹細胞、ならびに/または分化細胞の好結果の活性を増強する方法に関する。本発明はさらに、脊椎動物対象における細胞または組織の再生を増強するため

に、式I、IIまたはIIIの化合物をそれを必要とする脊椎動物対象に投与すること、ならびに処置前の脊椎動物対象における幹細胞、前駆細胞および/または分化細胞の集団に比べて脊椎動物対象における幹細胞、前駆細胞および/または分化細胞の集団をインビボで増大させることによって脊椎動物対象における細胞または組織の再生を増強する方法に関する。脊椎動物対象における幹細胞、前駆細胞または分化細胞の集団を増大させることは、細胞増殖、細胞ホーミング、アポトーシスの減少、自己再生、または細胞生存の増強の結果でありうる。

【0058】

一態様では、細胞または組織の再生は、骨、軟骨細胞/軟骨、筋肉、骨格筋、心筋、臍細胞、内皮細胞、血管内皮細胞、脂肪細胞、肝臓、皮膚、結合組織、造血幹細胞、新生児細胞、臍帯血細胞、胎児肝細胞、成人細胞、骨髄細胞、末梢血細胞、赤血球細胞、顆粒球細胞、マクロファージ細胞、顆粒球-マクロファージ細胞、B細胞、T細胞、多能性混合系統コロニー型、胚性幹細胞、間葉系前駆細胞/幹細胞、中胚葉系前駆細胞/幹細胞、神経前駆細胞/幹細胞、または神経細胞を含むがそれらに限定されない組織において起こりうる。脊椎動物は哺乳動物、鳥類、爬虫類、両生類、硬骨魚類または軟骨魚類でありうる。

10

【0059】

一態様では、本発明は、毛髪の損失を予防もしくは減少させるための、および/または毛髪の成長もしくは再成長を刺激もしくは増強するための組成物であって、式I、IIまたはIIIの化合物を含む組成物である。

【0060】

20

本発明の一態様は、神経変性疾患を処置するための薬学的組成物を提供する。

【0061】

別の態様では、神経障害は、アルツハイマー病、統合失調症もしくは統合失調感情障害、双極性障害もしくは単極性障害、うつ病、物質乱用、神経変性疾患、自閉症もしくは自閉症圏障害、または脊髄傷害もしくは脳傷害などの神経損傷により生じる障害である。神経変性疾患は、例えば筋萎縮性側索硬化症(ルー・ゲーリック病)またはパーキンソン病でありうる。いくつかの態様では、本発明は、外傷または脳卒中により生じる脳傷害を処置する方法を提供する。

【0062】

別の態様では、神経障害は、加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫または網膜色素変性症などの眼疾患である。

30

【0063】

一態様では、本発明は、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物を対象に投与する段階を含む、(i)骨量もしくは骨密度の損失を減少させ、(ii)骨量もしくは骨密度を増大させ、(iii)骨量もしくは骨密度を維持し、かつ/または(iv)骨からのカルシウムの損失を減少させる方法に関する。本明細書において使用される「骨量」および「骨密度」という用語は互換的に使用される。

【0064】

一態様では、本発明は、式I、IIまたはIIIの化合物を使用する段階を含む、骨芽細胞活性または破骨細胞活性を制御する方法に関する。骨芽細胞活性は、骨芽細胞の増殖または機能を制御することによって制御することができる。骨芽細胞および/または破骨細胞の機能は直接的または間接的に制御することができる。

40

【0065】

一態様では、本方法は骨症状または骨欠損の処置に関する。

【0066】

別の態様では、処置される骨症状は、虚弱、骨粗鬆症性骨折、骨欠損、小児期特発性骨損失、歯槽骨損失、下顎骨喪失、骨折、骨切断、歯周炎に関連する骨損失、または補綴内殖である。

【0067】

さらに別の態様では、処置される骨症状はパジェット病である。

50

【 0 0 6 8 】

別の態様では、処置される骨症状は腫瘍崩壊性骨疾患である。

【 0 0 6 9 】

別の態様では、本発明は、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物を対象に投与する段階を含む、骨折、骨欠損、頭蓋顔面欠損、耳硬化症または骨形成不全症の治療を促進する方法に関する。

【 0 0 7 0 】

別の態様では、本発明は、式I、IIまたはIIIの化合物を使用する段階を含む、骨再生医学の方法に関する。一態様では、骨再生医学に使用される細胞は、式I、IIまたはIIIの化合物で処理される。

10

【 0 0 7 1 】

別の態様では、本発明は、(i)骨量の損失を減少させ、(ii)骨量を増大させ、(iii)骨量を維持し、かつ/または(iv)骨からのカルシウムの損失を減少させるための薬物としての、式I、IIまたはIIIの化合物の、それを必要とする対象における使用に関する。別の態様では、本発明は、骨折を治療するかまたは骨欠損を修復するための医薬としての式I、IIまたはIIIの化合物の、哺乳動物における使用に関する。

【 0 0 7 2 】

一態様では、処置される骨症状は骨粗鬆症である。一態様では、処置される骨粗鬆症は、グルココルチコイド誘発性骨粗鬆症、甲状腺機能亢進症誘発性骨粗鬆症、運動抑制誘発性骨粗鬆症、ヘパリン誘発性骨粗鬆症および免疫抑制薬誘発性骨粗鬆症からなる群より選択される。

20

【 0 0 7 3 】

一態様では、式I、IIまたはIIIの化合物は、骨量を増大させるかまたは骨量の損失を予防する薬剤と共に投与される。一態様では、骨量を増大させる薬剤は、成長因子、ミネラル、ビタミン、ホルモン、プロスタグランジン、15-リポキシゲナーゼ阻害剤、骨形態形成タンパク質もしくは骨形成を増強するTGF- β スーパーファミリーの別のメンバー、ACE阻害剤、ヘッジホッグタンパク質、デキサメタゾン、カルシトニン、またはそれらの活性断片である。一態様では、骨量の損失を予防する薬剤はプロゲスチン、エストロゲン、エストロゲン/プロゲスチンの組み合わせ、エストロン、エストリオール、17 β -もしくは17 α -エチニルエストラジオール、SB242784、ポリホスホネート、ビホスホネート、またはそれらの活性断片である。

30

【 0 0 7 4 】

本発明の一態様では、炎症性腸疾患およびセリアック病を含む腸上皮を損なう疾患の処置のために、またはその処置における治療補助剤として、式I、IIまたはIIIの化合物を投与することで、腸上皮の増殖を強化する。

【 0 0 7 5 】

別の態様では、本発明は、式I、IIまたはIIIの化合物を使用する段階を含む、器官再生医学の方法に関する。一態様では、器官再生医学に使用される細胞は式I、IIまたはIIIの化合物で処理される。

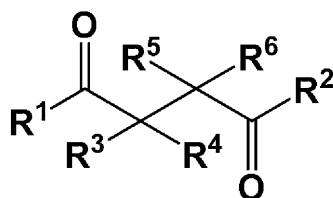
【 0 0 7 6 】

本明細書に開示されるいくつかの態様は、 β -ジケトン、 α -ジケトンまたは α -ヒドロキシケトンコアを含むWnt/ β -カテニンシグナル伝達経路活性化剤を含む。本明細書に開示される他の態様は、これらの化合物を使用する薬学的組成物および処置方法を含む。

40

【 0 0 7 7 】

本明細書に開示されるWnt/ β -カテニンシグナル伝達経路活性化剤の一態様は、式Iの構造を有する化合物を含む：



I

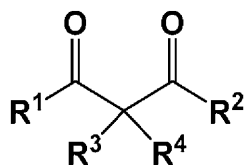
R¹は、置換または非置換ヘテロアリールおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R²は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R³、R⁴、R⁵およびR⁶はH、-C₁～₉アルキル、-C₁～₉アルキルアリールおよび-C₁～₉アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

【0078】

本明細書に開示されるWnt/-カテニンシグナル伝達経路活性化剤の別の態様は、式IIの構造を有する化合物を含む：



II

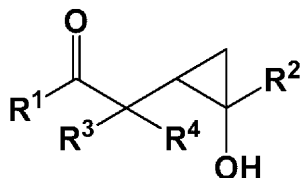
R¹は、置換または非置換ヘテロアリールおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R²は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R³およびR⁴は、H、-C₁～₉アルキル、-C₁～₉アルキルアリールおよび-C₁～₉アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

【0079】

本明細書に開示されるWnt/-カテニンシグナル伝達経路活性化剤の別の態様は、式IIIの構造を有する化合物を含む：



III

R¹は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R²は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R³およびR⁴は、H、-C₁～₉アルキル、-C₁～₉アルキルアリールおよび-C₁～₉アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

【0080】

いくつかの態様は、式I、IIまたはIIIの化合物の立体異性体および薬学的に許容される

10

20

30

40

50

塩を含む。

【0081】

いくつかの態様は、式I、IIおよびIIIの化合物のプロドラッグを含む。

【0082】

本発明のいくつかの態様は、式I、IIまたはIIIの化合物と薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物を含む。

【0083】

本明細書に開示される別の態様は、上記式のいずれかの化合物と薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤とを含む、薬学的組成物を含む。

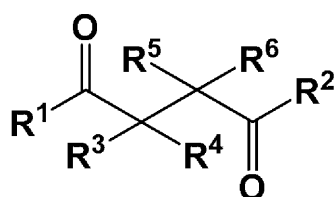
【0084】

本発明のいくつかの態様は、式I、IIまたはIIIの化合物を調製する方法を含む。

【0085】

[本発明1001]

式Iの構造を有する化合物または薬学的に許容されるその塩もしくはプロドラッグ：



I

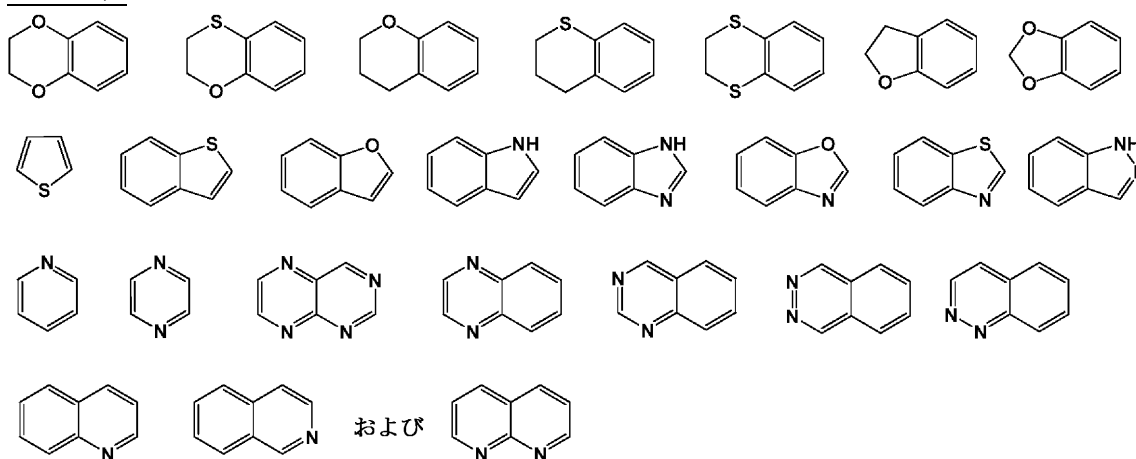
式中、R¹は、置換または非置換ヘテロアリールおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R²は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R³、R⁴、R⁵およびR⁶は、H、-C₁₋₉アルキル、-C₁₋₉アルキルアリールおよび-C₁₋₉アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

[本発明1002]

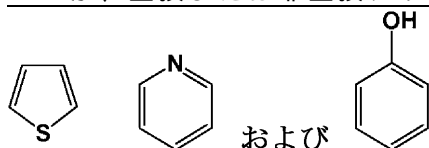
R¹が、



からなる群より選択される、本発明1001の化合物。

[本発明1003]

R²が、置換または非置換アリール、



10

20

30

40

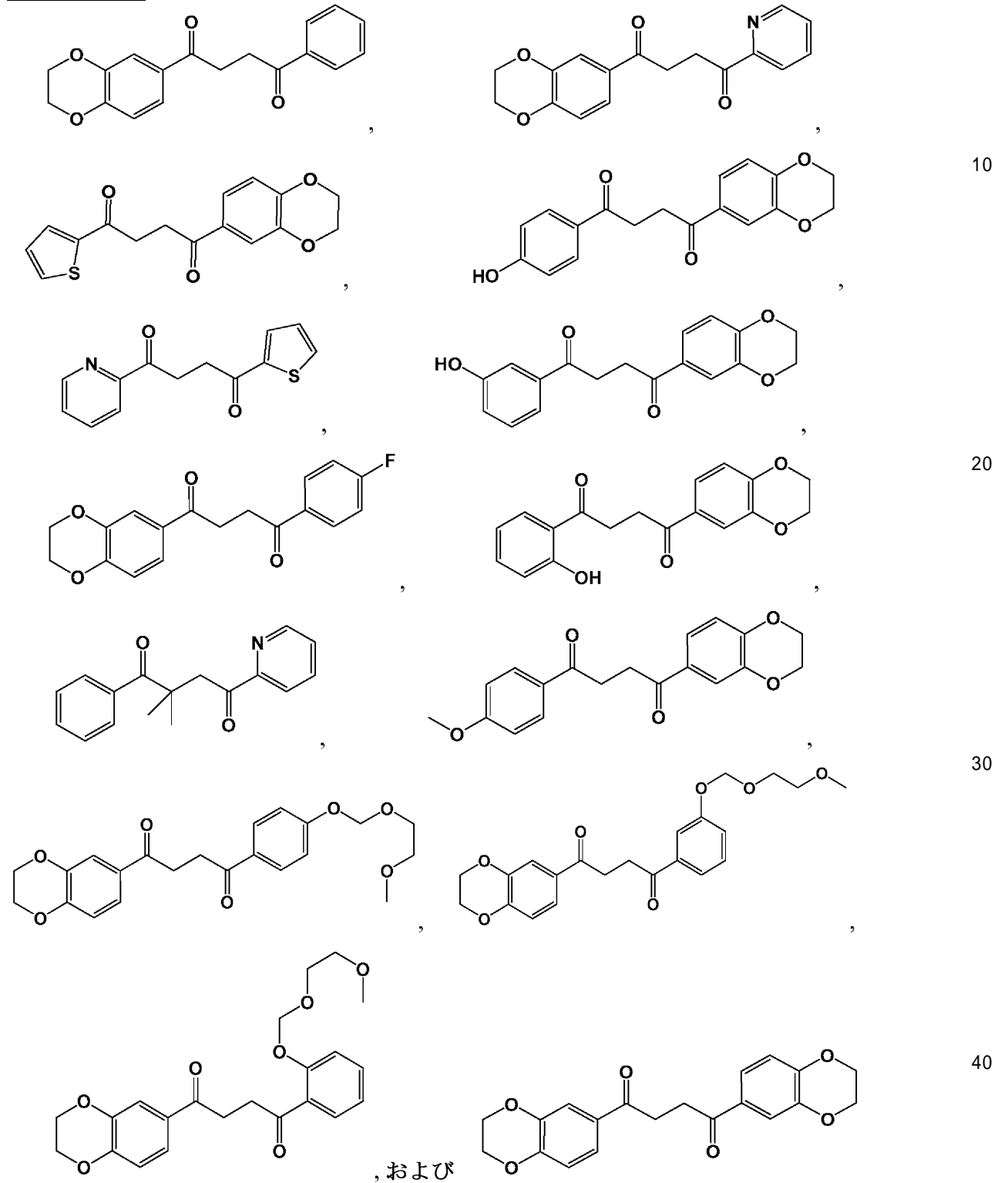
50

からなる群より選択される、本発明1001の化合物。

[本発明1004]

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 がHである、本発明1001の化合物。

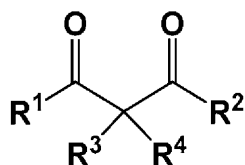
[本発明1005]



からなる群より選択される構造を有する、本発明1001の化合物。

[本発明1006]

式IIの構造を有する化合物または薬学的に許容されるその塩もしくはプロドラッグ:



II

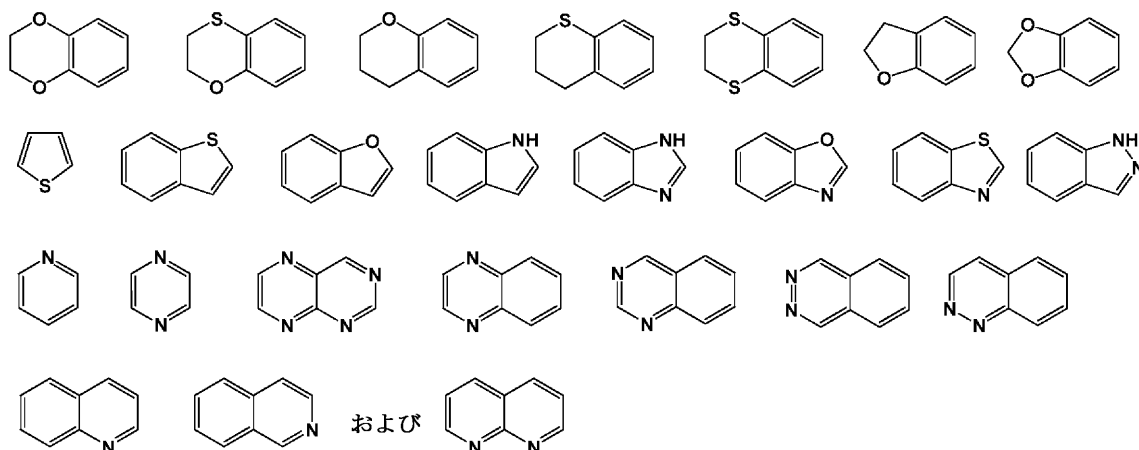
式中、 R^1 は、置換または非置換ヘテロアリールおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R^2 は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R^3 および R^4 は、H、 $-C_{1\sim 9}$ アルキル、 $-C_{1\sim 9}$ アルキルアリールおよび $-C_{1\sim 9}$ アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

[本発明1007]

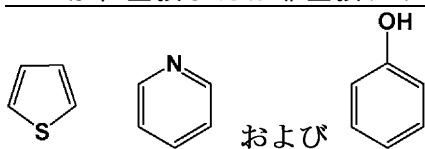
R^1 が、



からなる群より選択される、本発明1006の化合物。

[本発明1008]

R^2 が、置換または非置換アリール、



からなる群より選択される、本発明1006の化合物。

[本発明1009]

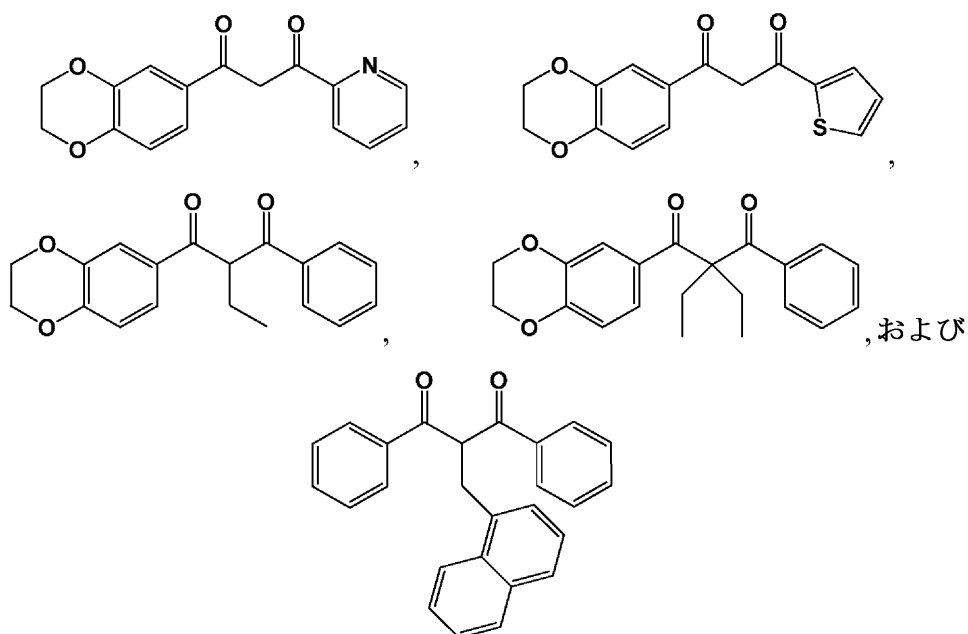
R^3 および R^4 がHである、本発明1006の化合物。

[本発明1010]

10

20

30



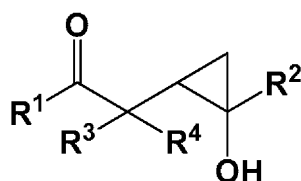
10

からなる群より選択される構造を有する、本発明1006の化合物。

[本発明1011]

式IIIの構造を有する化合物または薬学的に許容されるその塩もしくはプロドラッグ：

20



III

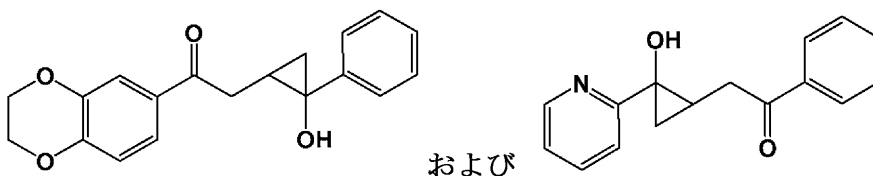
式中、 R^1 は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

30

R^2 は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合し；

R^3 および R^4 は、H、 $-C_{1-9}$ アルキル、 $-C_{1-9}$ アルキルアリールおよび $-C_{1-9}$ アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

[本発明1012]



40

からなる群より選択される構造を有する、本発明1011の化合物。

[本発明1013]

治療有効量の本発明1001、1006または1011のいずれかの化合物または薬学的に許容されるその塩と薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

[本発明1014]

医療器具用の薬物溶出コーティングとして使用するかまたは該コーティング中に包含させるのに好適である、本発明1013の薬学的組成物。

[本発明1015]

治療有効量の本発明1001、1006または1011のいずれかの化合物または薬学的に許容され

50

るその塩を患者に投与する段階を含む、患者における障害または疾患を処置するためにWntシグナル伝達を活性化する方法。

[本発明1016]

前記障害または疾患が神経変性疾患である、本発明1015の方法。

[本発明1017]

前記神経変性疾患が、パーキンソン病、脳卒中、虚血性脳疾患、てんかん、アルツハイマー病、うつ病、双極性障害または統合失調症である、本発明1016の方法。

[本発明1018]

前記障害または疾患が眼疾患である、本発明1015の方法。

[本発明1019]

前記眼疾患が、加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫、家族性滲出性硝子体網膜症または網膜色素変性症である、本発明1018の方法。

[本発明1020]

前記障害または疾患が、脱毛、造血関連疾患、組織再生関連疾患、ならびに発生、幹細胞分化および細胞増殖の異常に関連する他の疾患などの、幹細胞の分化および増殖に関連するものである、本発明1015の方法。

[本発明1021]

前記障害または疾患が、骨粗鬆症、骨関節症、骨形成不全症、骨欠損、骨折、歯周病、耳硬化症、創傷治癒、頭蓋顔面欠損および腫瘍崩壊性骨疾患である、本発明1015の方法。

[本発明1022]

前記患者がヒトである、本発明1015の方法。

[本発明1023]

前記化合物がWnt経路中の1つまたは複数のタンパク質を活性化する、本発明1015の方法。

[本発明1024]

前記化合物が、1つまたは複数のWntタンパク質によって誘導されるシグナル伝達を活性化する、本発明1023の方法。

[本発明1025]

Wntタンパク質が、WNT1、WNT2、WNT2B、WNT3、WNT3A、WNT4、WNT5A、WNT5B、WNT6、WNT7A、WNT7B、WNT8A、WNT8B、WNT9A、WNT9B、WNT10A、WNT10B、WNT11およびWNT16より選択される、本発明1024の方法。

[本発明1026]

本発明1001、1006または1011の化合物または薬学的に許容されるその塩を含む、薬物溶出コーティング。

[本発明1027]

本発明1001、1006または1011の化合物または薬学的に許容されるその塩を含む、医療器具。

[本発明1028]

本発明1001、1006または1011の化合物または薬学的に許容されるその塩を含む、インビボでの使用に好適な移植片、スポンジ、ポリマーまたはゲル組成物。

前述の一般的説明および以下の詳細な説明がいずれも例示的および説明的でしかなく、特許請求される本発明を制限するものではないということを理解すべきである。

【発明を実施するための形態】

【0086】

発明の詳細な説明

-ジケトン、-ジケトンおよび-ヒドロキシケトンがWnt/-カテニンシグナル伝達経路を活性化可能であることが発見された。Wnt/-カテニンシグナル伝達経路は、中枢神経系の神経細胞の分化および発生、骨形成、毛包の発生および再生、ならびに幹細胞の増殖、維持および分化の刺激において決定的役割を果たすことがわかった。

【0087】

10

20

30

40

50

本発明は、脊椎動物対象における細胞または組織の再生を増強する方法に関する。本発明は、脊椎動物対象におけるインビボでの胚性幹細胞および/もしくは成体幹細胞、前駆細胞、間葉系前駆細胞/幹細胞、または分化細胞の好結果の活性を増強する方法に関する。本発明はさらに、脊椎動物対象における細胞または組織の再生を増強するために、式I、IIまたはIIIの化合物をそれを必要とする脊椎動物対象に投与すること、ならびに処置前の脊椎動物対象における幹細胞、前駆細胞または分化細胞の集団に比べて脊椎動物対象における幹細胞、前駆細胞または分化細胞の集団をインビボで増大させることによって、脊椎動物対象における細胞または組織の再生を増強する方法に関する。脊椎動物対象における損傷組織を修復または代替するために幹細胞または前駆細胞の集団を増大させる方法であって、細胞または組織の再生が骨、軟骨細胞/軟骨、筋肉、骨格筋、心筋、腓細胞、内皮細胞、血管内皮細胞、脂肪細胞、肝臓、皮膚、結合組織、造血幹細胞、新生児細胞、臍帯血細胞、胎児肝細胞、成人細胞、骨髓細胞、末梢血細胞、赤血球細胞、顆粒球細胞、マクロファージ細胞、顆粒球-マクロファージ細胞、B細胞、T細胞、多能性混合系統コロニー型、胚性幹細胞、間葉系前駆細胞/幹細胞、中胚葉系前駆細胞/幹細胞、神経前駆細胞/幹細胞、または神経細胞において起こる方法が提供される。

10

【0088】

発毛

式I、IIまたはIIIの化合物を含む組成物を使用することで発毛を促進することができる。

【0089】

「発毛を促進すること」とは、毛髪の発生を維持、誘導、刺激、加速または活性化することを意味する。

20

【0090】

本発明の方法は、哺乳動物における脱毛症の処置に有用であり、したがって発毛を促進、増強または支援するために使用することができる。対象は男性または女性でありうる。脱毛症という用語は、発毛を典型的に示す皮膚における毛髪の完全な不在と、毛髪量の損失または減少との両方を意味する。性型脱毛症、化学療法誘発性脱毛、先天性脱毛症および円形脱毛症を含む複数の種類および原因の脱毛症がヒトにおいて認識されている。脱毛症を処置するという用語は、発毛の完全な不在を伴う皮膚の処置と、減少したまたは斑状の発毛を有する皮膚の処置との両方を意味する。処置の成功によって頭髮の本数の増大が生じる。

30

【0091】

本発明に従って処置される対象としては、ヒト対象、ならびにイヌ、ネコ、マウス、ラット、ヤギ、ラマ、ミンク、アシカ、ビーバー、オコジョおよびヒツジなどの他の哺乳動物対象が挙げられる。これらを脱毛について、または単に羊毛もしくは毛皮の産生を強化するために処置することができる。

【0092】

「脱毛症を処置すること」とは、(i)脱毛症に罹患しやすいことがある動物において脱毛症を予防すること、(ii)脱毛症を阻害し、遅延させもしくは減少させること、(iii)発毛を促進すること、および/または(iv)毛周期の成長期段階を延長することを意味する。

40

【0093】

本発明の発毛を促進する方法は、有効量の式I、IIもしくはIIIの化合物または薬理的に許容されるその塩を哺乳動物の皮膚、特にヒトの頭皮上に塗布することを特徴とする。

【0094】

神経障害

本発明の化合物は、神経幹細胞の細胞運命を調節し、これらの神経前駆細胞の機能的神経細胞およびグリア細胞への分化を促進することができる。

【0095】

式I、IIまたはIIIの化合物を含む組成物を使用することで神経変性疾患を処置することができる。

50

【0096】

神経変性疾患の非限定的な例としては、アルツハイマー病、統合失調症もしくは統合失調感情障害、双極性障害もしくは単極性障害、うつ病、物質乱用、神経変性疾患、自閉症もしくは自閉症圏障害、または脊髄傷害もしくは脳傷害などの神経損傷により生じる障害がある。神経変性疾患は例えば筋萎縮性側索硬化症(ルー・ゲーリック病)またはパーキンソン病でありうる。

【0097】

神経変性疾患の他の非限定的な例としては、加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫または網膜色素変性症などの眼疾患がある。

【0098】

本発明はまた、外傷または脳卒中により生じる脳傷害を処置する方法を提供する。

【0099】

本発明の別の局面は、神経前駆細胞と有効量の式I、IIまたはIIIの化合物とを接触させることで神経前駆細胞の増殖および分化を強化することによって、神経前駆細胞の増殖および分化を強化する方法である。

【0100】

一局面では、本発明は、神経と有効量の式I、IIまたはIIIの化合物とを接触させることで神経発生を強化することによって、神経発生を強化する方法を提供する。

【0101】

別の局面では、本発明は、処置を必要とする患者における神経変性疾患を処置する方法であって、有効量の上記定義の式I、IIもしくはIIIの化合物、または薬学的に許容されるその塩を投与する段階を含む方法を提供する。

【0102】

本発明の化合物を単独で投与することができ、または異なる機構で働く化合物、例えば神経保護薬と同時に投与することができる。一態様では、本化合物は、アルツハイマー病についてアセチルコリンエステラーゼ阻害剤(例えばアリセプト)と、またはパーキンソン病についてL-DOPAと同時に投与される化合物である。

【0103】

骨形成

式I、IIまたはIIIの化合物を含む組成物を使用することで骨症状を処置、予防または軽減することができる。本発明は、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物を対象に投与する段階を含む、(i)骨量の損失を減少させ、(ii)骨量を増大させ、(iii)骨量を維持し、かつ/または(iv)骨からのカルシウムの損失を減少させる方法を提供する。本方法は、骨症状を処置し、予防または遅延させるために使用されうる。本発明はさらに、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物を対象に投与する段階を含む、骨折または骨欠損の治癒を促進する方法を提供する。上記方法のいずれかは、骨量を増大させるかまたは骨量の損失を予防する薬剤の同時投与を包含しうる。

【0104】

本発明はまた、骨症状を処置し、予防または遅延させるための医薬としての式I、IIまたはIIIの化合物の使用を提供する。

【0105】

本明細書において使用される「骨症状」という用語は、骨量もしくは骨密度を増大させかつ/または骨量もしくは骨密度の損失を予防することが望ましい任意の症状を含む。骨症状は、破骨細胞の数を増大させ、破骨細胞の活性を増強し、骨吸収を増強し、骨髄線維症を増強し、または骨のカルシウム含有量を改変する、任意の症状を含む。

【0106】

骨症状の非限定的な例としては、腎性骨ジストロフィーなどの代謝性骨症状、原発性骨粗鬆症(例えば閉経後骨粗鬆症および老人性骨粗鬆症)、ならびに原因となる疾患状態の結果として発症する続発性骨粗鬆症が挙げられる。例えば、骨粗鬆症は、副甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症および甲状腺機能亢進症、性腺機能低下症、悪性腫瘍による高カル

10

20

30

40

50

シウム血症、下垂体腫瘍、Ⅰ型糖尿病、またはアジソン病などの内分泌障害を有する患者において発症しうる。多発性骨髄腫および癌腫症などの新形成も骨粗鬆症の発症を導きうる。さらに、栄養不良、吸収不良、肝不全およびビタミンCまたはD欠乏症などの胃腸問題、ならびに抗凝固薬、化学療法薬、副腎皮質ステロイド、抗癌薬およびアルコールなどの薬物の慢性投与が、骨粗鬆症の発症を導きうる。

【0107】

骨症状の非限定的な例としては、骨壊死、骨関節炎、関節リウマチ、パジェット病、骨形成不全症、慢性副甲状腺機能亢進症、甲状腺機能亢進症、ゴーハム・スタウト病、マッキューン・オルブライト症候群および歯槽堤骨損失も挙げられる。

【0108】

「骨症状」という用語は、がんおよび腫瘍(例えば骨肉腫および多発性骨髄腫)、腎疾患(急性腎不全、慢性腎不全、腎性骨ジストロフィーおよび腎再灌流傷害を含む)、腎臓疾患、早発卵巣不全ならびに他の症状を含む、骨損失を生じさせるすべての症状を含むがそれらに限定されない。

【0109】

内分泌障害、ビタミン欠乏症およびウイルス感染症も、本発明の方法で処置可能な骨症状の発症を導きうる。栄養障害によって引き起こされる骨症状の一例は、ビタミンDおよびカルシウム欠乏症によって引き起こされる栄養障害である骨軟化症である。それは子どもでは「くる病」と呼ばれ、成人では「骨軟化症」と呼ばれる。それは骨の軟化(石灰化障害を理由とし、類骨の過剰蓄積を伴う)、疼痛、圧痛、筋消耗および筋力低下、食欲不振ならびに全体的体重減少を特徴とする。それは栄養不良、妊娠および授乳の繰り返し(ビタミンDおよびカルシウムストアを消耗または枯渇させる)、ならびにビタミンD抵抗性により生じうる。

【0110】

骨症状としては、薬物による対象の処置により生じる症状、例えばシクロスポリンAまたはFK506による処置により生じる骨減少症が挙げられる。

【0111】

骨症状としては、骨折、骨外傷や、外傷骨手術後、補綴関節手術後、形成骨手術後、歯科手術後、骨化学療法、歯科手術後および骨放射線療法に関連する症状も挙げられる。骨折はすべての種類の微視的および巨視的骨折を含む。骨折の例としては剥離骨折、粉碎骨折、横骨折、斜骨折、らせん骨折、分節骨折、転位骨折、嵌入骨折、若木骨折、隆起骨折、疲労骨折、関節内骨折(骨端骨折)、閉鎖骨折(単純骨折)、開放骨折(複雑骨折)および潜行骨折が挙げられる。

【0112】

骨症状の他の非限定的な例としては、骨変形、脊髄変形、補綴ゆるみ、骨異形成、脊柱側弯症、歯周病および歯周欠損、歯修復、ならびに線維性骨炎が挙げられる。

【0113】

本発明はまた、手術後の骨修復、例えば腫瘍除去後の頭蓋顎顔面修復、外傷後の外科的骨再建、遺伝性のまたは他の身体的異常の修復、および形成手術における骨治癒の促進を必要とする対象を、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物で処置する方法を提供する。

【0114】

本発明はまた、移植片(関節置換物および歯科インプラントを含む)、補綴または移植骨を受けた後の骨修復を必要とする対象を治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物で処置する方法を提供する。

【0115】

本発明はまた、a)骨密度の増大もしくは骨治癒を必要とする；b)副腎皮質ステロイド療法、透析、閉経後骨損失に対する化学療法、がんに対する放射線療法、もしくはホルモン補充療法を経たかもしくは現在経ている；c)骨損傷が理由で固定されているかもしくは長期のベッド安静に供されている；d)アルコール依存症、糖尿病、高プロラクチン血症、神経性食欲不振、原発性および続発性無月経、もしくは卵巣摘出に罹患している；e)腎不全

10

20

30

40

50

に罹患している；f)50歳以上である；またはg)女性である対象を、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物で処置する方法を提供する。

【0116】

本発明はまた、動脈石灰化、強直性脊椎炎、後縦靱帯骨化症、化骨性筋炎、広汎性特発性骨増殖症、石灰性腱炎、肩回旋筋腱板疾患、骨棘、ハイドロキシアパタイト結晶沈着症による軟骨または靱帯の変性、および軟骨石灰化症より選択される疾患に罹患している対象を、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物で処置する方法を提供する。

【0117】

式I、IIまたはIIIの化合物の「有効量」または「治療有効量」という用語は、所望の生理効果、例えば骨芽細胞の活性化、骨芽細胞の数の増大、骨形成の増強、破骨細胞の数の減少、または破骨細胞の非活性化を得るために十分な量を意味する。Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路活性化剤の有効量は、処置される対象の年齢、性別および体重、処置される症状、ならびに処置される医学症状の重症度を含む、適切な投与量を決定するために当業者が通常考慮する要因に基づいて各症例において介護者が決定する。

【0118】

本発明はまた、対象を、治療有効量の式I、IIまたはIIIの化合物と、骨量を増大させるかまたは骨量の損失を予防する薬剤との組み合わせで処置する方法を提供する。一態様では、骨量を増大させる薬剤は、成長因子、ミネラル、ビタミン、ホルモン、プロスタグランジン、15-リポキシゲナーゼ阻害剤、骨形態形成タンパク質もしくは骨形成を増強するTGF- β スーパーファミリーの別のメンバー、ACE阻害剤、ヘッジホッグタンパク質、デキサメタゾン、カルシトニン、またはそれらの活性断片である。一態様では、骨量の損失を予防する薬剤は、プロゲスチン、エストロゲン、エストロゲン/プロゲスチン組み合わせ、エストロン、エストリオール、17 β -もしくは17 α -エチルエストラジオール、SB242784、ポリホスホネート、ビホスホネート、またはそれらの活性断片である。

【0119】

腸疾患

式I、IIまたはIIIの化合物は、胃腸炎の処置のためにも投与される。本明細書において使用される「胃腸炎」は、胃腸管の粘膜層の炎症を意味し、急性および慢性の炎症状態を包含する。急性炎症は一般に、短時間での発症および好中球の浸潤または流入を特徴とする。

【0120】

「慢性胃腸炎」は、相対的に長い発症期間を特徴とする胃腸管の粘膜の炎症を意味し、長続きし(例えば数日間、数週間、数ヶ月間または数年間から最大で対象の生涯まで)、単核細胞の浸潤または流入に関連しており、周期的な自然寛解および自然発症にさらに関連しうる。したがって、慢性胃腸炎を有する対象は長期の監督、観察またはケアを必要とすると予想されうる。そのような慢性炎症を有する「慢性胃腸炎症状態」(「慢性胃腸炎症疾患」とも呼ばれる)としては、炎症性腸疾患(IBD)、環境傷害によって誘発される大腸炎(例えば、化学療法、放射線療法などの治療レジメンによって(例えば副作用として)引き起こされるかまたはそれに関連する胃腸炎(例えば大腸炎))、慢性肉芽腫症、セリアック病、セリアックスプルー(グルテンとして知られるタンパク質の摂取に反応して腸の裏層が炎症を起こす遺伝性疾患)、食物アレルギー、胃炎、感染性胃炎または腸炎(例えばピロリ菌(*Helicobacter pylori*)感染慢性活動性胃炎)、および感染因子が引き起こす胃腸炎の他の形態などの状態における大腸炎、ならびに他の同様の状態が挙げられるが必ずしもそれらに限定されない。

【0121】

本明細書において使用される「炎症性腸疾患」または「IBD」とは、腸の全部または一部の炎症を特徴とする種々の疾患のいずれかを意味する。炎症性腸疾患の例としてはクローン病および潰瘍性大腸炎が挙げられるがそれらに限定されない。本明細書を通じたIBDへの言及は、多くの場合は胃腸炎症状態の例示として本明細書において言及されるものであり、限定的であることを意味しない。

10

20

30

40

50

【0122】

比較的重症の症状の発症前に(例えば急性炎症発作の発症前に)、または急性もしくは慢性症状の発症後(例えば急性炎症発作の発症後)に、式I、IIまたはIIIの化合物を対象に投与することができる。したがって、薬剤を任意の時点で投与することができ、任意の間隔で投与することができる。一態様では、対象における胃腸炎関連症状の初期発症後および/または胃腸炎の診断後約8時間、約12時間、約24時間、約2日、約4日、約8日、約16日、約30日もしくは1ヶ月、約2ヶ月、約4ヶ月、約8ヶ月または約1年に、式I、IIまたはIIIの化合物を投与する。

【0123】

複数回投与の場合、後続の投与は、前回の投与から、約16週、約12週、約8週、約6週、約4週、約2週、約1週、約5日、約72時間、約48時間、約24時間、約12時間、約8時間、約4時間または約2時間以内に行われる。一態様では、最大の望ましい治療効果を維持するために(例えばBD関連症状の軽減の維持を与えるために)、ISSを少なくとも2週間に1回~4週間に1回の範囲の間隔(例えば月1回の間隔)で投与する。

【0124】

再生医療

本発明によれば、複数種類の体細胞で構成される原始的器官様構造として役立つことが可能な体細胞を提供することができる。

【0125】

本発明において言及される体細胞は、身体のような器官を構成する細胞への分化に到達した細胞を意味し、未分化幹細胞とは反対の細胞を意味する。本発明は、2種以上の体細胞の使用を特徴とするものであり、好ましくはその様々な組み合わせ、例えば上皮細胞系と間葉細胞との組み合わせ、内皮細胞と間葉細胞との組み合わせ、または上皮細胞と間葉細胞との組み合わせからなる。

【0126】

本発明において特許請求される体細胞によって形成可能な器官は、特に制限されず、例えば、毛包、肺、腎臓、肝臓、膵臓、脾臓、心臓、胆嚢、小腸、結腸、大腸、関節、骨、歯、血管、リンパ管、角膜、軟骨、嗅覚器または聴覚器などの様々な器官が挙げられる。

【0127】

本発明において特許請求される細胞の起源として、その目的に対応して限定なく様々な哺乳動物を使用することができ、例えば、チンパンジー、他の霊長類、イヌまたはネコなどの飼育動物、雌ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジまたはヤギなどの家畜、ウサギ、ラット、マウスまたはモルモット、より好ましくはヌードマウス、SCIDマウスまたはヌードラットなどの実験動物が挙げられる。さらに、その組み合わせは、同種の組み合わせまたは異種の組み合わせでありうるが、同種の組み合わせが好ましい。

【0128】

本発明は、上記の複数種類の分化体細胞の混合物に式I、IIまたはIIIのWnt/-カテニンシグナル伝達経路活性化剤を加えた後、それを培養することを特徴とする。Wntシグナル伝達とは、核への/-カテニンの移動を促進することで転写因子の機能を示す一連の作用を意味する。これらのシグナルは、例えば、特定の細胞から分泌されるWnt3Aと呼ばれるタンパク質が他の細胞にさらに作用することで、転写因子として作用する細胞内/-カテニンの核移動を引き起こすという一連の過程を含む、細胞相互作用から生じる。この一連の過程は、上皮-間葉相互作用の例において器官構築の初期現象を生じさせる。Wnt/-カテニンシグナル伝達経路は細胞増殖および細胞分化、器官形成、および初期発生の中の細胞移動などの様々な細胞機能を制御することが知られている。Wntシグナル伝達は、分化を阻害する目的でES細胞を培養する際に、未分化状態を維持するそれらの機能が理由で使用されるが、体細胞の培養の間のそれらの利用および効果は完全に不明である。

【0129】

本発明の別の特徴は、式I、IIまたはIIIの化合物が加えられた複数種類の分化体細胞の混合物を非プレート接触培養に供することである。非プレート接触培養とは、プレート接

10

20

30

40

50

着性細胞の接着を可能にしないように球状表面を有する界面上で細胞を培養する方法を意味する。非プレート接触培養の一例はハンギングドロップ法である。ハンギングドロップ法は、培養細胞を含有する一滴の培地を培養皿の上蓋の内側に付着させること、培地が滴下または流出しないように慎重に蓋を閉じること、および培地内の細胞を表面張力による逆さの液滴の形態で培養されるように培養することを意味する。このようにして培養した結果、プレート培養の場合と同様の平らな表面との接触に起因しうる細胞に対する効果を最小化することができる。非プレート接触培養法の他の例としては、細胞接着を防ぐために事前に表面処理された半球状の細胞培養皿(例えば住友ベークライトから市販の「Spheroid」)を利用する形成方法(スフェロイド形成法と呼ぶ)、および細胞をニトロセルロース培地中で培養することで懸濁状態で凝集させる懸濁法が挙げられる。

10

【0130】

いくつかの態様では、Wnt経路の病理学的活性化または変異によって引き起こされる動物、例えば哺乳動物の疾患の処置に有効な薬学的組成物が提供される。本組成物は、薬学的に許容される担体と本明細書に記載のWnt経路活性化剤とを含む。

【0131】

定義

別途定義しない限り、本明細書において使用されるすべての技術用語および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者が通常理解するものと同じの意味を有する。すべての特許、出願、出願公開および他の刊行物は、その全体が参照により組み入れられる。本明細書における用語について複数の定義が存在する場合には、別途記載のない限りこの節のそれが優先する。

20

【0132】

本明細書および特許請求の範囲において、以下の用語は定義された意味を有する。本明細書において使用される「アルキル」とは、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチルおよびペンチルなどの、炭素および水素のみを含有する分岐鎖または直鎖化学基を意味する。アルキル基は非置換でもよく、1個または複数の置換基、例えばハロゲン、アルコキシ、アシロキシ、アミノ、アミド、シアノ、ニトロ、ヒドロキシル、メルカプト、カルボキシ、カルボニル、ベンジルオキシ、アリール、ヘテロアリールまたは他の官能基で置換されていてもよく、これらの置換基は、本発明において必要であれば保護基で好適に遮断されていてもよい。アルキル基は飽和でもよく、1つまたはいくつかの位置において不飽和(例えば-C=C-または-C≡C-サブユニットを含有する)でもよい。典型的には、アルキル基は1~9個の炭素原子、好ましくは1~6個、より好ましくは1~4個の炭素原子を含む。

30

【0133】

本明細書において使用される「カルボシクリル」とは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルおよびシクロヘキセニルなどの、環系骨格中に炭素原子のみを含有する環系を意味する。カルボシクリルは複数の縮合環を含みうる。カルボシクリルは任意の飽和度を有しうるが、但し、環系中の少なくとも1個の環は芳香族ではない。カルボシクリル基は非置換でもよく、1個または複数の置換基、例えばハロゲン、アルコキシ、アシロキシ、アミノ、アミド、シアノ、ニトロ、ヒドロキシル、メルカプト、カルボキシ、カルボニル、ベンジルオキシ、アリール、ヘテロアリールまたは他の官能基で置換されていてもよく、これらの置換基は、本発明において必要であれば保護基で好適に遮断されていてもよい。典型的には、カルボシクリル基は3~10個、好ましくは3~6個の炭素原子を含む。

40

【0134】

本明細書において使用される「低級アルキル」はアルキルのサブセットを意味し、したがって、直鎖状または分岐状の炭化水素置換基である。好ましい低級アルキルは1個~約4個の炭素を有するものであり、分岐状または直鎖状でありうる。低級アルキルの例としてはブチル、プロピル、イソプロピル、エチルおよびメチルが挙げられる。同様に、「低級」という用語を使用する基は、基のアルキル部分中に好ましくは1個~約4個の炭素を有す

50

る基を意味する。

【0135】

本明細書において使用される「アミド(amido)」とはH-CON-またはアルキル-CON-、カルボシクリル-CON-、アリール-CON-、ヘテロアリール-CON-もしくはヘテロシクリル-CON基を意味し、ここでアルキル、カルボシクリル、アリールまたはヘテロシクリル基は本明細書に記載の通りである。

【0136】

本明細書において使用される「アリール」とは、環骨格中に炭素原子のみが存在する、単一の環を有する芳香族基(例えばフェニル)または複数の縮合環を有する芳香族基(例えばナフチルもしくはアントリル)を意味する。アリール基は非置換でもよく、1個または複数の置換基、例えばアミノ、シアノ、ヒドロキシル、低級アルキル、ハロアルキル、アルコキシ、ニトロ、ハロ、メルカプトおよび他の置換基で置換されていてもよい。好ましい炭素環アリールはフェニルである。

10

【0137】

本明細書において使用される「ヘテロアリール」という用語は、環骨格中に1個または複数のヘテロ原子(例えばN、OまたはS)を有する芳香族基を意味し、単一の環(例えばピリジン)または複数の縮合環(例えばキノリン)を含みうる。ヘテロアリール基は非置換でもよく、1個または複数の置換基、例えばアミノ、シアノ、ヒドロキシル、低級アルキル、ハロアルキル、アルコキシ、ニトロ、ハロ、メルカプトおよび他の置換基で置換されていてもよい。ヘテロアリールの例としてはチエニル、ピリジル、フリル、オキサゾリル、オキサジアゾリル、ピロリル、イミダゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピラゾリル、イソオキサゾリル、チアジアゾリル、ピラニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、トリアジニル、チアゾリルなどが挙げられる。

20

【0138】

これらの定義において、アリール環およびヘテロアリール環上での置換が特定の態様の範囲内であることが明らかに想定される。置換が起こる場合、この基を置換アリールまたは置換ヘテロアリールと呼ぶ。好ましくは1~3個、より好ましくは1個または2個の置換基がアリール環上で起こる。多くの置換基が有用であるが、好ましい置換基としてはアルキル、シクロアルキル、ヒドロキシ、アルコキシ、シアノ、ハロ、ハロアルキル、メルカプトなどの、アリール化合物に一般的に見られるものが挙げられる。

30

【0139】

本明細書において使用される「アミド(amide)」は、RNR'CO-(R=アルキルの場合、アルカミノカルボニル-)とRCONR'-(R=アルキルの場合、アルキルカルボニルアミノ-)との両方を含む。

【0140】

本明細書において使用される「エステル」という用語は、ROCO-(R=アルキルの場合、アルコキシカルボニル-)とRCOO-(R=アルキルの場合、アルキルカルボニルオキシ-)との両方を含む。

【0141】

本明細書において使用される「アシル」とはH-CO-またはアルキル-CO-、カルボシクリル-CO-、アリール-CO-、ヘテロアリール-CO-もしくはヘテロシクリル-CO-基を意味し、ここでアルキル、カルボシクリル、アリールまたはヘテロシクリル基は本明細書に記載の通りである。好ましいアシルは低級アルキルを含有する。例示的アルキルアシル基としてはホルミル、アセチル、プロパノイル、2-メチルプロパノイル、t-ブチルアセチル、ブタノイルおよびパルミトイルが挙げられる。

40

【0142】

本明細書において使用される「ハロまたはハライド」とはクロロ、ブロモ、フルオロまたはヨード原子基のことである。クロロ、ブロモおよびフルオロが好ましいハライドである。「ハロ」という用語は、「ハロゲン」または「ハライド」と時々呼ばれる用語も想定する。

50

【0143】

本明細書において使用される「ハロアルキル」とは、クロロ、ブロモ、フルオロまたはヨード原子で置換された直鎖状または分岐状または環状のアルキル、アルケニルまたはアルキニルである炭化水素置換基を意味する。これらのうち、1個または複数の水素原子がフルオロで置換されたフルオロアルキルが最も好ましい。好ましいハロアルキルは1個～約3個の炭素の長さを有し、より好ましいハロアルキルは1個～約2個の炭素の長さを有し、最も好ましいものは1個の炭素の長さを有する。そこで当業者は、本明細書において使用される「ハロアルキレン」がハロアルキルのジラジカル変種を意味し、そのようなジラジカルが基の間、原子の間、または親環と別の官能基との間のスペーサーとして作用しう

10

【0144】

本明細書において使用される「ヘテロシクリル」とは、環系骨格中に少なくとも1個のヘテロ原子を含む環系を意味する。ヘテロシクリルは複数の縮合環を含みうる。ヘテロシクリルは任意の飽和度を有しうるが、但し、環系中の少なくとも1個の環は芳香族ではない。ヘテロシクリルは、1個または複数の置換基、例えばハロゲン、アルコキシ、アシロキシ、アミノ、アミド、シアノ、ニトロ、ヒドロキシル、メルカプト、カルボキシ、カルボニル、ベンジルオキシ、アリール、ヘテロアリールおよび他の置換基で置換されていても置換されていなくてもよく、任意の利用可能な原子価、好ましくは任意の利用可能な炭素または窒素を経由して他の基に結合している。より好ましい複素環は5～7員を有する。6員単環式複素環において、ヘテロ原子は1個～最大3個のO、NまたはSより選択され、複素環が5員である場合、O、NまたはSより選択される1個または2個のヘテロ原子を有することが好ましい。

20

【0145】

本明細書において使用される「置換アミノ」とは、1個または2個のアルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリル基で置換されたアミノ基を意味し、ここでアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリルは上記定義の通りである。

【0146】

本明細書において使用される「置換チオール」とは、Rがアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリル基であるRS-基を意味し、ここでアルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリルは上記定義の通りである。

30

【0147】

本明細書において使用される「スルホニル」とはアルキルSO₂、アリールSO₂、ヘテロアリールSO₂、カルボシクリルSO₂またはヘテロシクリル-SO₂基を意味し、ここでアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリルは上記定義の通りである。

【0148】

本明細書において使用される「スルファミド」とはアルキル-N-S(O)₂N-、アリール-NS(O)₂N-、ヘテロアリール-NS(O)₂N-、カルボシクリル-NS(O)₂Nまたはヘテロシクリル-NS(O)₂N-基を意味し、ここでアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリル基は本明細書に記載の通りである。

40

【0149】

本明細書において使用される「スルホンアミド」とはアルキル-S(O)₂N-、アリール-S(O)₂N-、ヘテロアリール-S(O)₂N-、カルボシクリル-S(O)₂N-またはヘテロシクリル-S(O)₂N-基を意味し、ここでアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリル基は本明細書に記載の通りである。

【0150】

本明細書において使用される「ウレイド」とはアルキル-NCON-、アリール-NCON-、ヘテロアリール-NCON-、カルボシクリル-NCON-またはヘテロシクリル-NCON-基を意味し、ここでアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクリル基は本明

50

細書に記載の通りである。

【0151】

本明細書において使用される「連結」または「結合」に2個の基が供されて「環」を形成することが示される場合、該2個の基の間に結合が形成され、結合が一方または両方の基上の水素原子を該結合で置き換え、それによりカルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリール環を形成することを包含しうるということを理解すべきである。当業者は、そのような環が日常的な化学反応によって容易に形成可能でありかつ形成されること、およびそのような環とそれらの形成方法との両方を想定することが当業者の範囲内であることを認識するであろう。3~7員、より好ましくは5員または6員を有する環が好ましい。本明細書において使用される、2個の基の組み合わせによって形成される「環」という用語は、複素環、炭素環、アリール環またはヘテロアリール環を意味する。

10

【0152】

当業者は、本明細書に記載のいくつかの構造が、他の化学構造で適切に表すことができる化合物の共鳴形または互変異性体でありうるものであり、これは当業者が、そのような構造がそのような化合物の試料の非常に小さな一部でしかないことを動力的に認識する場合であってもそうであるということを認識するであろう。そのような化合物は明らかに本発明の範囲内であると想定されるが、そのような共鳴形または互変異性体は本明細書に表示されない。

【0153】

本明細書に示される化合物は様々な立体化学的形態を包含しうる。本化合物はまた、特定の化合物における構造的非対称の結果として生じる、ジアステレオマーならびに光学異性体、例えば、ラセミ混合物を含む鏡像異性体混合物、ならびに個々の鏡像異性体およびジアステレオマーを包含する。個々の異性体の分離または個々の異性体の選択的合成は、当業者に周知の様々な方法の適用によって達成される。別途指示がない限り、開示される化合物が立体化学構造を特定することなくある構造によって命名または図示されて、1個または複数のキラル中心を有する場合、該化合物のすべての可能な立体異性体を表すと理解されよう。

20

【0154】

「投与」または「投与すること」という用語は、ある投与量の化合物または薬学的組成物を、哺乳動物、鳥類、魚類または両生類を含む脊椎動物または無脊椎動物に与える方法であって、例えば呼吸器内、局所、経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、頬側、直腸、舌下での方法の意味する。好ましい投与方法は様々な要因、例えば薬学的組成物の成分、疾患の部位、関係する疾患、および疾患の重症度に応じて変動しうる。

30

【0155】

本明細書において使用される「診断技術」とは、健康または疾患状態の同定および特徴付けを支援する化合物、方法、システムまたは装置のことである。診断技術は、当技術分野で公知の標準的アッセイにおいて使用することができる。

【0156】

「哺乳動物」という用語はその通常の生物学的意味で使用される。したがってヒト、ウシ、ウマ、サル、イヌおよびネコを具体的に含むが、他の多くの種も含む。

40

【0157】

「薬学的に許容される担体」または「薬学的に許容される賦形剤」という用語は、あらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。薬学的に活性な物質用のそのような媒体および薬剤の使用は当技術分野において周知である。任意の従来の媒体または薬剤が有効成分と適合しない場合を除いて、治療用組成物中でのその使用が想定される。補足的な有効成分も組成物に組み入れることができる。さらに、当技術分野において一般的に使用されるものなどの様々な補助剤が含まれる。これらのおよび他のそのような化合物は文献、例えばニュージャージー州ラーウェイ、Merck & CompanyのMerck Indexに記載されている。薬学的組成物中の様々な成分の包含についての検討は、例えばGilman et al. (Eds.) (2006); Goodman and Gilman's: The P

50

harmacological Basis of Therapeutics, 11th Ed., The McGraw-Hill Companiesに記載されている。

【0158】

「薬学的に許容される塩」という用語は、好ましい態様の化合物の生物学的な有効性および特性を保持しかつ生物学的にまたは他の理由で望ましくないということがない塩を意味する。多くの場合、好ましい態様の化合物は、アミノ基および/もしくはカルボキシル基またはそれに類似した基の存在が理由で、酸および/または塩基塩を形成可能である。薬学的に許容される酸付加塩は無機酸および有機酸によって形成可能である。塩をそれから誘導可能な無機酸としては例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。塩をそれから誘導可能な有機酸としては例えば酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などが挙げられる。薬学的に許容される塩基付加塩は無機塩基および有機塩基によって形成可能である。塩をそれから誘導可能な無機塩基としては例えばナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、アルミニウムなどが挙げられ、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウムおよびマグネシウム塩が特に好ましい。塩をそれから誘導可能な有機塩基としては例えば一級、二級および三級アミン、天然置換アミンを含む置換アミン、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂など、具体的には例えばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミンおよびエタノールアミンが挙げられる。1987年9月11日公開のJohnstonらの国際公開公報第87/05297号(参照により本明細書に組み入れられる)に記載のように、多くのそのような塩が当技術分野において公知である。

10

20

【0159】

「溶媒和物」とは、溶媒とWnt経路阻害剤、代謝産物またはその塩との相互作用で形成される化合物を意味する。好適な溶媒和物は、水和物を含む薬学的に許容される溶媒和物である。

【0160】

本明細書において使用される「対象」とは、ヒトまたは非ヒト動物、例えばイヌ、ネコ、マウス、ラット、雌ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、非ヒト霊長類または鳥類、例えばニワトリ、および任意の他の脊椎動物もしくは無脊椎動物を意味する。

30

【0161】

通常、「治療有効量」または「薬学的有効量」とは、所望の効果を得るために十分な量のことであり、疾患状態の性質および重症度、ならびに化合物の効力に従って変動しうる。活動性の疾患の予防と処置とで異なる濃度が使用されることが認識されよう。この量はさらに患者の身長、体重、性別、年齢および病歴に依存しうる。

【0162】

治療効果は疾患の1つまたは複数の症状をある程度軽減するものであり、疾患を治癒することを含む。「治癒する」とは、活動性の疾患の症状が除去されることを意味する。しかし、治癒が得られた後であっても疾患の特定の長期的または恒久的影響が存在することがある(例えば広範な組織損傷)。

40

【0163】

本明細書において使用される「処置する」、「処置」または「処置すること」とは、治療目的で薬学的組成物を投与することを意味する。「治療的処置」という用語は、疾患に既に罹患している患者に処置を実行することで治療上有益な効果を引き起こす、例えば既存の症状を寛解させる、さらなる症状を予防する、症状の原因となる代謝的原因を寛解させるかもしくは予防する、傷害のさらなる発生を延期もしくは予防する、および/または発生するかもしくは発生することが予想される症状の重症度を減少させることを意味する。

【0164】

50

「薬物溶出」という表現は、薬物溶出材料に包含される薬物が、該材料から周囲の体組織へと経時的に移行するあらゆる機構、例えば拡散、移動、浸透および/または脱離を意味するものと理解されるものとする。

【 0 1 6 5 】

「薬物溶出材料」という表現は、所望の形状または構成を獲得または保持可能であり、1つまたは複数の薬物がそこに包含され、包含された薬物がそこから経時的に溶出可能である、任意の天然、合成または半合成材料を意味するものと本明細書において理解されるものとする。

【 0 1 6 6 】

「溶出可能な薬物」という表現は、それが包含される薬物溶出材料から身体の周囲区域へと経時的に移行する能力を有する任意の薬物または薬物の組み合わせを意味するものと理解されるものとする。

【 0 1 6 7 】

以下の略語は表示された意味を有する。

A = アミロイドベータ

ACE = アンジオテンシンI変換酵素

AD = アルツハイマー病

ALS = 筋萎縮性側索硬化症

AMD = 加齢黄斑変性

APC = 大腸腺腫症

-TrCP = -トランスデュースインリピート含有タンパク質

CD44 = 細胞表面糖タンパク質

CK1,2 = カゼインキナーゼ1および2

DHT = ジヒドロテストステロン

Dkk = Dickkopf

DME = 糖尿病黄斑浮腫

Dsh/Dvl = Dishevelled

EphB2 = エフリンB型受容体2

ES細胞 = 胚性幹細胞

FTD = 前頭側頭型認知症

Fzd = Frizzled

GBP = GSK-3結合タンパク質

GI = 胃腸

GPCR = Gタンパク質共役受容体

GSK-3 = グリコーゲン合成酵素キナーゼ3

HCC = 肝細胞がん

IBD = 炎症性腸疾患

Kr2 = クリングルドメイン2

L-DOPA = L-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン

Lef = リンパ系増強因子

LRP = 低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質

MMTV = マウス乳房腫瘍ウイルス

PD = パーキンソン病

PKC = タンパク質キナーゼC

PI-3 = ホスファチジルイノシトール-3キナーゼ

PPAR = ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体

PTEN = ホスファターゼ・テンシン・ホモログ

RP = 網膜色素変性症

SCID = 重症複合免疫不全症

SOD1 = スーパーオキシドジスムターゼタンパク質

10

20

30

40

50

Wnt = Wingless型MMTV組み込み部位ファミリーメンバー

化合物

10

本発明のいくつかの態様は式(1)の化合物、塩、薬学的に許容される塩またはプロドラッグを含む。



I

30

いくつかの態様では、 R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 はH、 $-C_1 \sim 9$ アルキル、 $-C_1 \sim 9$ アルキルアリールおよび $-C_1 \sim 9$ アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

より特定の態様では、 R^1 は、

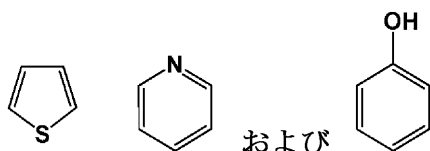


および

からなる群より選択される。

【0174】

別の特定の態様では、 R^2 は、置換または非置換アリール、



からなる群より選択される。

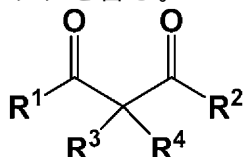
【0175】

別の特定の態様では、 R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 はHである。

10

【0176】

本発明のいくつかの態様は式(II)の化合物、塩、薬学的に許容される塩またはプロドラッグを含む。



II

【0177】

20

いくつかの態様では、 R^1 は、置換または非置換ヘテロアリールおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合している。

【0178】

いくつかの態様では、 R^2 は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合している。

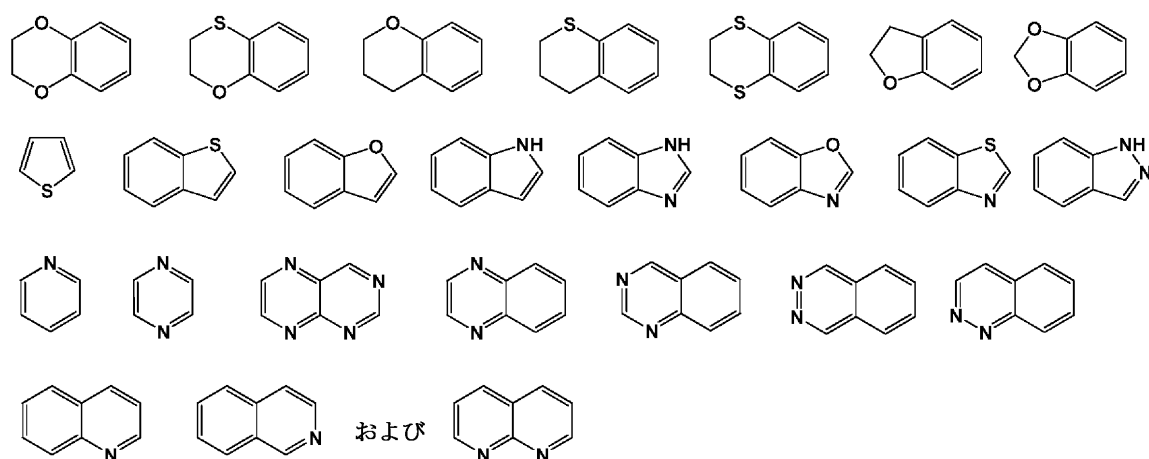
【0179】

いくつかの態様では、 R^3 および R^4 は、H、 $-C_1 \sim 9$ アルキル、 $-C_1 \sim 9$ アルキルアリールおよび $-C_1 \sim 9$ アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

【0180】

30

より特定の態様では、 R^1 は、

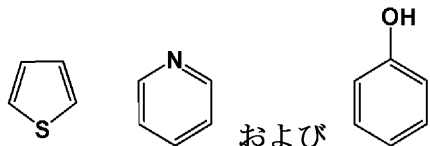


40

からなる群より選択される。

【0181】

別の特定の態様では、 R^2 は、置換または非置換アリール、



50

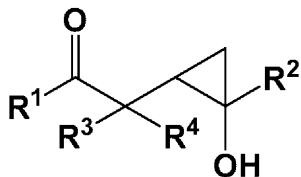
からなる群より選択される。

【0182】

別の特定の態様では、 R^3 および R^4 はHである。

【0183】

本発明のいくつかの態様は式(III)の化合物、塩、薬学的に許容される塩またはプロドラッグを含む。



III

10

【0184】

いくつかの態様では、 R^1 は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合している。

【0185】

いくつかの態様では、 R^2 は、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換カルボシクリルおよび置換または非置換ヘテロシクリルからなる群より選択され、但しカルボニルには炭素原子が結合している。

20

【0186】

いくつかの態様では、 R^3 および R^4 は、H、 $-C_1 \sim 9$ アルキル、 $-C_1 \sim 9$ アルキルアリールおよび $-C_1 \sim 9$ アルキルヘテロアリールからなる群より独立して選択される。

【0187】

式I、IIおよびIIIの例示的化合物を表1に示す。

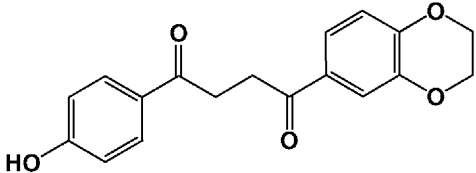
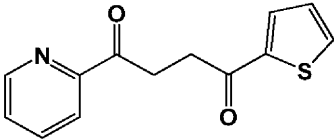
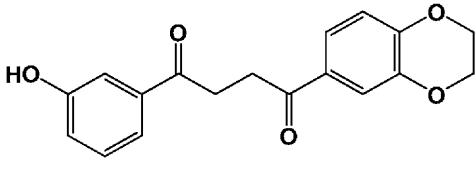
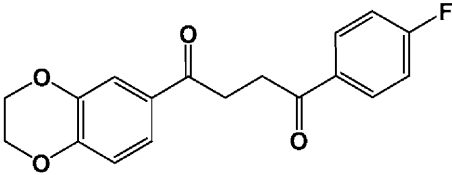
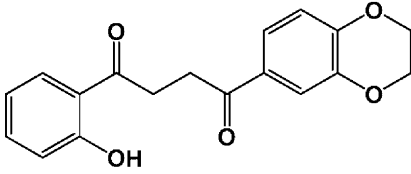
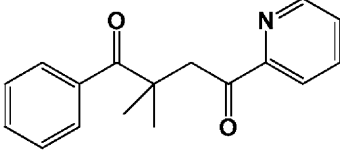
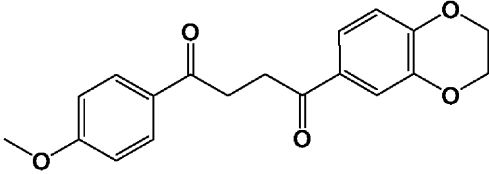
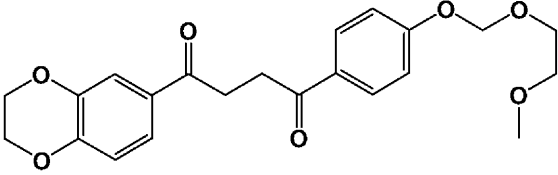
【0188】

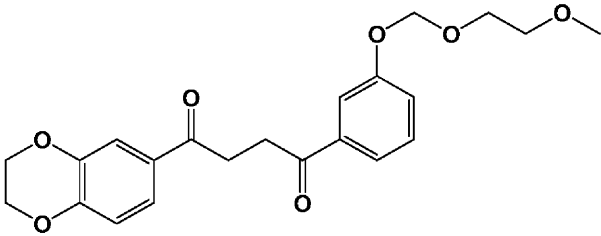
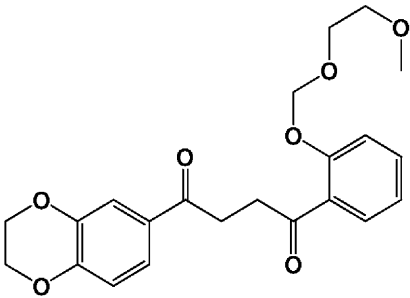
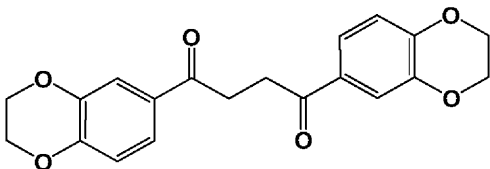
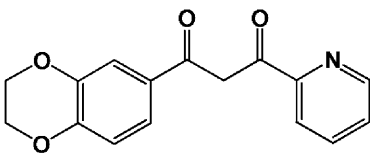
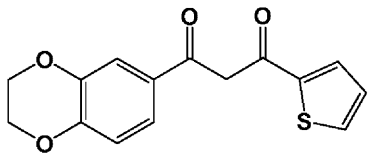
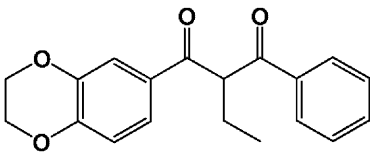
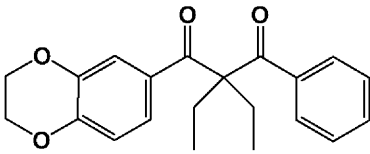
【表1】

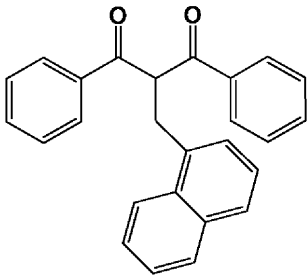
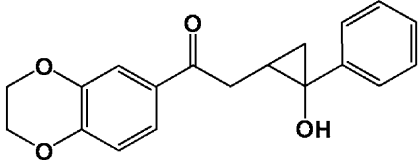
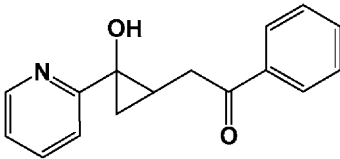
1	
2	
3	

30

40

4		
5		10
6		
7		20
8		
9		30
10		
11		40

12		
13		10
14		20
15		
16		30
17		
18		40

19	
20	
21	

10

20

【 0 1 8 9 】

化合物調製

本発明の化合物を調製する上で使用される化合物は公知であるか、公知の方法で作製されるかまたは市販されている。当業者には、本明細書において特許請求される化合物に関連する前駆体および官能基を調製する方法が一般に文献に記載されていることが明らかであろう。文献および本開示を前提とすれば、当業者はいずれかの化合物を調製する用意が十分にある。

【 0 1 9 0 】

有機化学分野の当業者がさらなる指示なしに操作を容易に行うことができること、すなわち、これらの操作を行うことが十分に当業者の範囲および慣行内であることが認識されよう。これらとしては、カルボニル化合物の対応するアルコールへの還元、酸化、アシル化、芳香族置換、求電子性と求核性との両方のエーテル化、エステル化および鹸化などが挙げられる。これらの操作はMarch's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure 6th Ed., John Wiley & Sons (2007)、Carey and Sundberg, Advanced Organic Chemistry 5th Ed., Springer (2007)、Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Transformations, 2nd Ed., John Wiley & Sons (1999) (その全体が参照により本明細書に組み入れられる)などの標準的テキストにおいて論じられている。

30

【 0 1 9 1 】

当業者は、分子中の他の官能基を遮蔽または保護することで、任意の望ましくない副反応を回避しかつ/または反応の収率を増大させる場合に、特定の反応が最善に行われるということを容易に認識するであろう。多くの場合、当業者は、そのような増大した収率を実現するかまたは望ましくない反応を回避するために、保護基を利用する。これらの反応は文献に見られ、やはり十分に当業者の範囲内である。多くのこれらの操作の例は、例えばT. Greene and P. Wuts Protecting Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., John Wiley & Sons (2007)に見ることができ、これはその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

40

【 0 1 9 2 】

以下の例示的スキームは読者に対する指針として示されるものであり、本明細書において例示される化合物を作製するための好ましい方法を表す。これらの方法は制限的である

50

わけではなく、これらの化合物を調製するために他の経路が使用可能であることは明らかであろう。そのような方法としては、コンビナトリアルケミストリーを含む固相系化学反応が具体的に挙げられる。文献および本開示を前提とすれば、当業者はそれらの方法によってこれらの化合物を調製する用意が十分にある。以下に示す合成スキームにおいて使用される化合物の番号付けは、それらの特定のスキームに関してのみ意図されるものであり、本出願の他の節における同一の番号付けとして解釈するかまたはそれと混同するべきではない。

【0193】

本発明をさらに例示するために、以下の例が含まれる。当然、これらの例を本発明を具体的に限定するものとして解釈すべきではない。特許請求の範囲内のこれらの例の変形は、当業者の範囲内であるし、本明細書において記載および特許請求される本発明の範囲内にあると考えられる。読者は、本開示と当技術分野における熟練とを備えた当業者が網羅的な例なしで本発明を調製および使用可能であることを認識するであろう。

【0194】

本明細書において使用される商標は例でしかなく、本発明時点で使用される例示的材料を反映する。当業者は、ロット、製造過程などの変動が予想されることを認識するであろう。したがって、例、およびそれらにおいて使用される商標は非限定的であり、それらは限定的であるように意図されておらず、当業者がどのようにして本発明の1つまたは複数の態様を行うために選択することができるかの例示でしかない。

【0195】

^1H 核磁気共鳴スペクトル(NMR)はBruker NMR分光計(Avance TM DRX300、1Hで300MHz)上で指示された溶媒中にて測定した。ピーク位置はテトラメチルシランから低磁場の百万分率(ppm)で表す。ピーク多重度を以下のように表す：s、一重項；d、二重項；t、三重項；m、多重項。

【0196】

以下の略語は指示される意味を有する。

$\text{Bi}(\text{OTf})_3$ = ビスマス(III)トリフレート

ブライン = 飽和塩化ナトリウム水溶液

CDCl_3 = 重水素化クロロホルム

$\text{DMSO}-d_6$ = 重水素化ジメチルスルホキシド

ESIMS = 電子スプレー質量分析

EtOAc = 酢酸エチル

HCl = 塩酸

MgSO_4 = 硫酸マグネシウム

NaH = 水素化ナトリウム

NMR = 核磁気共鳴

Ph = フェニル

K_2CO_3 = 炭酸カリウム

rt = 室温

TFA = トリフルオロ酢酸

THF = テトラヒドロフラン

TLC = 薄層クロマトグラフィー

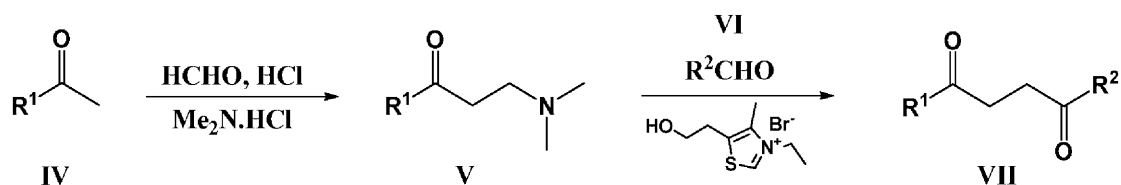
【0197】

以下の例示的スキームは読者に対する指針として示されるものであり、本明細書に示される化合物を作製するための例示的方法をまとめて表す。さらに、本発明の化合物を調製するための他の方法は、以下の反応スキームおよび実施例に照らせば、当業者には容易に明らかであろう。別途指示がない限り、すべての変動要素は上記定義の通りである。

【0198】

一般的手順

本発明の式Iの化合物はスキーム1に示すように調製することができる。



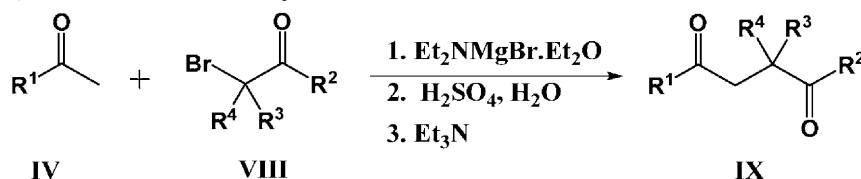
スキーム1

【 0 1 9 9 】

スキーム1は、ピニルケトン前駆体としてのマンニッヒ塩基とアルデヒドとの修正Stetter反応による非置換1,4-ジケトン誘導体(VII)の調製のための方法を記述する。最初にメチルケトン(IV)とパラホルムアルデヒドおよびジメチルアミン塩酸塩とを反応させることで3-ジメチルアミノ-プロパン-1-オン(V)を形成することによってマンニッヒ塩基を形成する。次にマンニッヒ塩基(V)と様々なアルデヒド(VI)との反応を標準Stetter条件下でチアゾリウム塩を触媒として行うことで、非置換1,4-ジケトン誘導体(VII)を得た。

【 0 2 0 0 】

位および/または 位が置換された本発明の式Iの化合物はスキーム2に示すように調製することができる。



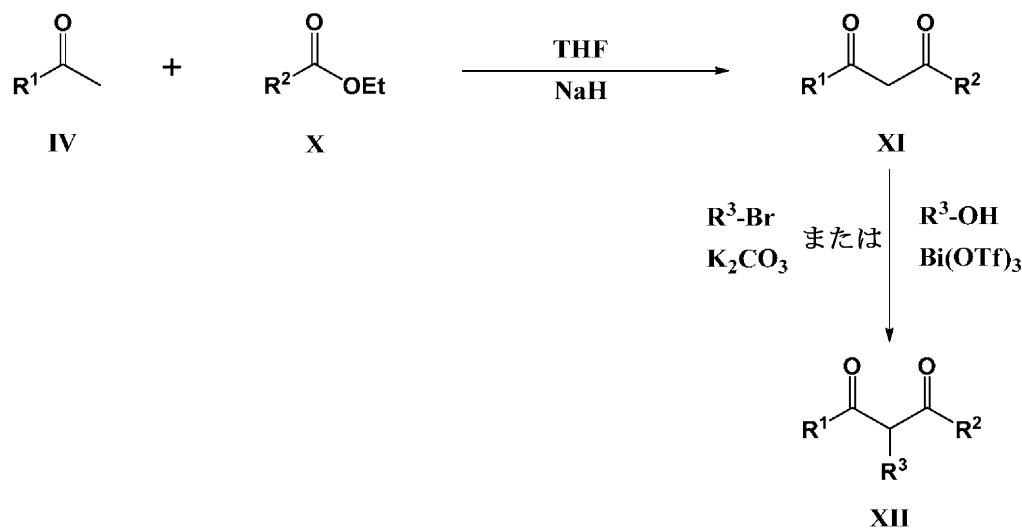
スキーム2

【 0 2 0 1 】

スキーム2は、メチルケトンと -ブromoケトンとのクロスアルドール縮合におけるマグネシウム試薬の適用に基づくKel'inおよびKulinkovichの方法[Synthesis (1996), (3), 330-2]による置換1,4-ジケトン誘導体(IX)の調製のための方法を記述する。メチルケトン(IV)と置換 -ブromoケトン(VIII)とをジエチルアミドマグネシウムブロミドおよび酸の存在下で反応させた後、トリエチルアミンで処理することで、所望の置換1,4-ジケトン誘導体(IX)を生成する。

【 0 2 0 2 】

本発明の式IIの化合物はスキーム3に示すように調製することができる。



スキーム3

【 0 2 0 3 】

スキーム3は、交差クライゼン縮合による -ジケトン誘導体(VII)の調製のための方法を記述する。メチルケトン(IV)とエステル(X)とを水素化ナトリウムの存在下で縮合する

【 0 2 0 4 】

$$\begin{array}{c} \text{R}^1-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^2 \\ \text{XI} \end{array} \xrightarrow[\text{4 当量 CH}_2\text{I}_2]{\begin{array}{c} \text{4 当量 Et}_2\text{Zn} \\ \text{2 当量 TFA} \end{array}} \begin{array}{c} \text{R}^1-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}(\text{OH})(\text{R}^2)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^1 \\ \text{XIII} \end{array} + \begin{array}{c} \text{R}^1-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^1)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^2 \\ \text{XIV} \end{array}$$

スキーム4

スキーム4は、Xueらの方法[Journal of Organic Chemistry (2006), 71(1), 215-218]による α -ヒドロキシケトン誘導体(XIII)の調製のための方法を記述する。Et₂Zn 4.0当量、TFA 2.0当量およびCH₂I₂ 4.0当量から形成される亜鉛種の混合物は α -ジケトン α -ヒドロキシケトンに効率的に変換する。電子供与性置換基を含有するR¹基はシクロプロパンをR²の近くに挿入する傾向があり(XIII)、電子求引性置換基を含有するR¹基はシクロプロパンをR¹の近くに挿入する傾向がある(XIV)。

例示的な化合物の実施例

实施例1

CC(=O)c1ccc2c(c1)OCO2 (XV) $\xrightarrow{\text{a}}$ CN(C)CC(=O)c1ccc2c(c1)OCO2 (XVI) $\xrightarrow{\text{b}}$ O=C(c1ccccc1)CCC(=O)c1ccc2c(c1)OCO2 (1)

スキーム5

【 0 2 0 7 】

工程a

1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)エタノン(XV)(11mmol)、ジメチルアミン塩酸塩(14mmol)、パラホルムアルデヒド(16mmol)および12N HCl(2滴)のエタノール(5mL)溶液を終夜還流させた。溶液を室温に冷却し、エタノールを減圧蒸発させた。残渣を酢酸エチルで処理し、わずかに加熱し、超音波処理することで微粒子に分散させた。固体を濾過し、室温で乾燥させて1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-3-(ジメチルアミノ)プロパン-1-オン(XVI)を白色固体(収率82%)として生成した。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ ppm 2.77 (s, 6H), 3.41 (m, 2H), 3.56

(m, 2H), 4.25 (m, 4H), 6.85 (m, 1H), 7.45 (m, 2H)

【 0 2 0 8 】

工程b

窒素下95℃で加熱した1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-3-(ジメチルアミノ)プロパン-1-オン(XVI)(5.4mmol)および3-エチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-4-メチルチアゾリウムブロミド(0.43mmol)のジオキサン溶液に乾燥ジオキサン(10mL)中トリエチルアミン(3.61mmol)およびベンズアルデヒド(4.3mmol)を加えた。溶液をさらに95℃で終夜加熱した。溶液を冷却し、過剰の溶媒を減圧蒸発させた。残渣をCH₂Cl₂と水との間で分配した。有機相をMgSO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。ヘキサン中酢酸エチル勾配で

溶離するフラッシュクロマトグラフィーで残渣を精製して、1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-フェニルブタン-1,4-ジオン 1を白色固体(収率12%)として得た。

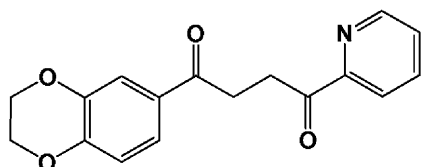
^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.33-3.37 (m, 4H), 4.29 (m, 2H), 4.34 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.55 (m, 3H), 7.64 (m, 1H), 8.00-8.02 (m, 2H); ESIMS found $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4$ m/z 297 (M+H)

【 0 2 0 9 】

以下の化合物を上記実施例1に記載の手順に従って調製した。

10

【 0 2 1 0 】



2

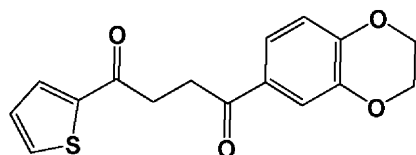
1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(ピリジン-2-イル)ブタン-1,4-ジオン 2。

白色固体。

20

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ ppm 3.37 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 4.31 (m, 4H), 6.92 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.56 (m, 1H), 7.83 (m, 1H), 8.03 (m, 1H), 8.71 (m, 1H); ESIMS found $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ m/z 298 (M+H)

【 0 2 1 1 】



3

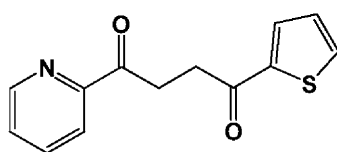
1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(チオフェン-2-イル)ブタン-1,4-ジオン 3。

黄色固体。

30

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 4.29 (m, 2H), 4.34 (m, 2H), 6.97 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 8.00-8.03 (m, 2H); ESIMS found $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{S}$ m/z 303 (M+H)

【 0 2 1 2 】



5

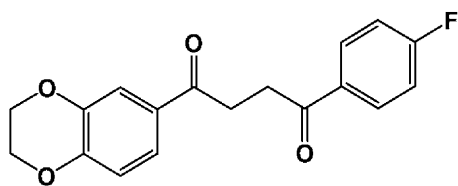
1-(ピリジン-2-イル)-4-(チオフェン-2-イル)ブタン-1,4-ジオン 5。

白色固体。

40

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.40 (m, 2H), 3.56 (m, 2H), 7.27 (dd, $J = 4.8, 3.8$ Hz, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.95 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.00-8.05 (m, 3H), 8.76 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H); ESIMS found $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$ m/z 246 (M+H)

【 0 2 1 3 】



7

10

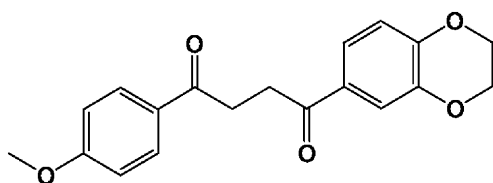
1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(4-フルオロフェニル)ブタン-1,4-ジオン 7。

オフホワイトの固体。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ ppm 3.40 (s, 4H), 4.30 (m, 4H), 6.92 (m, 1H), 7.16 (m, 2H), 7.57 (m, 2H), 8.04 (m, 2H); ESIMS found $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{FO}_4$ m/z 315 (M+H)

20

【 0 2 1 4 】



10

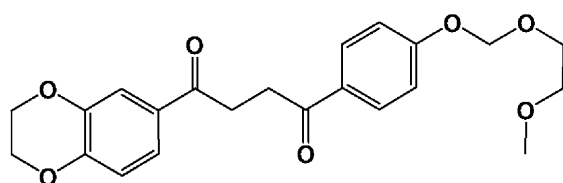
1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(4-メトキシフェニル)ブタン-1,4-ジオン 10。

30

白色固体 (収率19%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.85 (s, 3H), 4.30 (m, 2H), 4.34 (m, 2H), 6.99 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H); ESIMS found $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5$ m/z 327 (M+H)

【 0 2 1 5 】



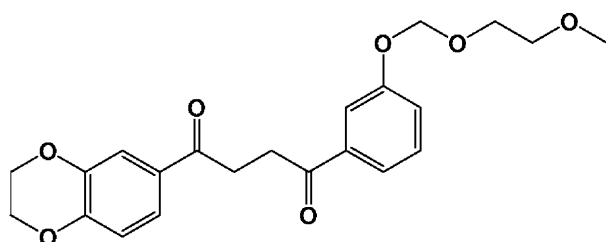
11

40

1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(4-((2-メトキシエトキシ)メトキシ)フェニル)ブタン-1,4-ジオン 11。

オフホワイトの固体。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.33 (m, 4H), 3.46 (m, 2H), 3.75 (m, 2H), 4.30 (m, 2H), 4.34 (m, 2H), 5.36 (s, 2H), 6.99 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H); ESIMS found $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ m/z 401 (M+H)
【 0 2 1 6 】

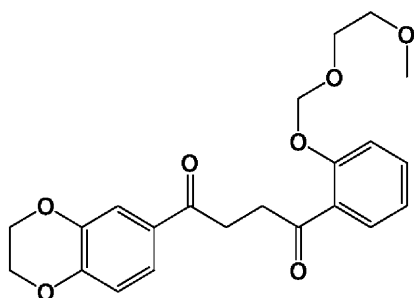
**12**

1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(3-((2-メトキシエトキシ)メトキシ)フェニル)ブタン-1,4-ジオン 12。

白色固体。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.21 (s, 3H), 3.35 (m, 4H), 3.48 (m, 2H), 3.75 (m, 2H), 4.30 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 5.32 (s, 2H), 6.99 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.55 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.58 (m, 1H), 7.67 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H); ESIMS found $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ m/z 401 (M+H)

【 0 2 1 7 】

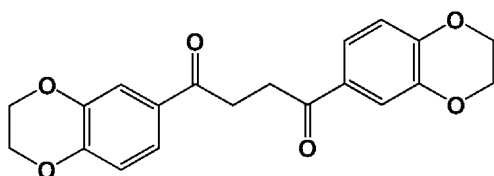
**13**

1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(2-((2-メトキシエトキシ)メトキシ)フェニル)ブタン-1,4-ジオン 13。

粘稠油状物 (収率14%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.21 (s, 3H), 3.25-3.29 (m, 4H), 3.46-3.48 (m, 2H), 3.79 (m, 2H), 4.29 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 5.39 (s, 2H), 6.98 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.10 (m, 1H), 7.25 (dd, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.49-7.54 (m, 2H), 7.58 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H); ESIMS found $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ m/z 401 (M+H)

【 0 2 1 8 】

**14**

1,4-ビス(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)ブタン-1,4-ジオン 14。
オフホワイトの固体。

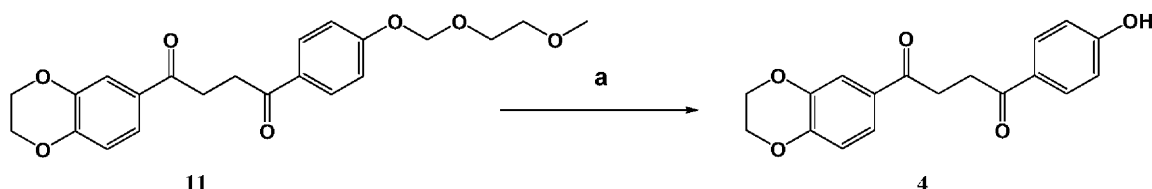
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ ppm 3.35 (s, 4H), 4.30

(m, 8H), 6.92 (m, 2H), 7.57 (m, 4H); ESIMS found $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_6$ m/z 355 (M+H)

【 0 2 1 9 】

実施例2

化合物(4)の調製を以下のスキーム6に示す。



スキーム6

試薬および条件: a) CH_2Cl_2 、TFA、室温、終夜。

【 0 2 2 0 】

工程a

室温で攪拌した1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(4-(2-メトキシエトキシ)メトキシ)フェニル)ブタン-1,4-ジオン 11(0.35mmol)の CH_2Cl_2 (5mL)溶液に未希釈のTFA(0.5mL)を加えた。溶液をさらに室温で終夜攪拌した。揮発物を減圧蒸発させた。 CH_2Cl_2 中1%メタノールで溶離するシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィーで残渣を精製して、1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(4-ヒドロキシフェニル)ブタン-1,4-ジオン 4をオフホワイトの固体(収率21%)として得た。

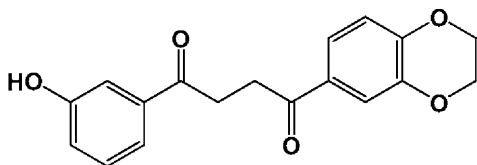
^1H NMR (CDCl_3 ,

400 MHz): δ ppm 3.37 (m, 4H), 4.29 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 5.76 (s, 1H), 6.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.93 (m, 1H), 7.60 (m, 2H), 7.94 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H); ESIMS found $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_5$ m/z 313 (M+H)

【 0 2 2 1 】

以下の化合物を上記実施例2に記載の手順に従って調製した。

【 0 2 2 2 】

**6**

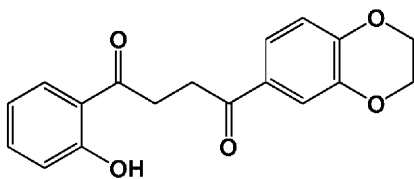
1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(3-ヒドロキシフェニル)ブタン-1,4-ジオン 6。

オフホワイトの固体(収率27%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm

3.27 (m, 4H), 4.30 (m, 2H), 4.34 (m, 2H), 6.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.45 (m, 2H), 7.54 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H)

【 0 2 2 3 】



8

1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-4-(2-ヒドロキシフェニル)ブタン-1,4-ジオン 8。

オフホワイトの固体(収率62%)。

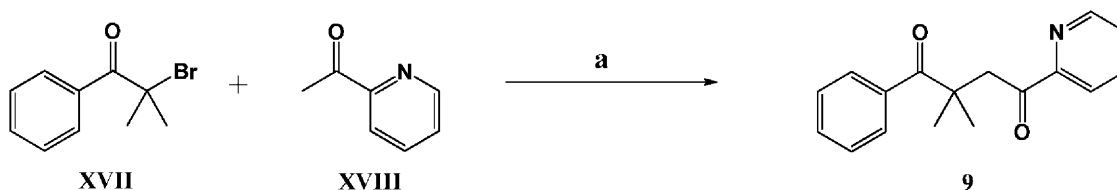
^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm

3.43 (m, 4H), 4.00 (m, 4H), 4.34 (m, 2H), 6.96 (m, 3H), 7.48-7.56 (m, 3H), 7.97 (m, 1H)

【 0 2 2 4 】

実施例3

化合物(9)の調製を以下のスキーム7に示す。



スキーム7

試薬および条件: a) i) $\text{Et}_2\text{NMgBr} \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 、トルエン、0、3時間、ii) H_2SO_4 、 H_2O 、0 ~ 室温、iii) Et_3N 、室温。

【 0 2 2 5 】

工程a

マグネチックスターラおよび冷却器を取り付けた乾燥三つ口フラスコに金属マグネシウム(12mmol)およびエーテル(1.8mL)を入れた。未希釈のプロモエタン(2.5mmol)をシリンジ経由で加え、反応を直ちに開始させた。溶液にプロモエタン(10.5mmol)のトルエン(30mL)溶液をゆっくりと加えた。添加の完了後、溶液を窒素下室温で30分間攪拌した後、未希釈のジエチルアミン(24mmol)を加えた。溶液をさらに室温で15分間攪拌した。溶液を0 に冷却し、溶液に1-(ピリジン-2-イル)エタノン(XVIII)(12mmol)と2-ブロモイソブチロフェノン(XVII)(13mmol)との混合物を加えた。溶液をさらに窒素下0 で3時間攪拌した。溶液に5% H_2SO_4 水溶液(20mL)を加え、溶液を室温に昇温させた。有機層を分離し、 MgSO_4 で乾燥させ、濾過した。次に有機層を Et_3N (10mmol)で処理し、室温で終夜攪拌した。次に溶液を水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させ、濾過し、濃縮した。ヘキサン中1~5% EtOAc 勾配で溶離するフラッシュクロマトグラフィーで残渣を精製して、2,2-ジメチル-1-フェニル-4-(ピリジン-2-イル)ブタン-1,4-ジオン 9を無色粘稠油状物(収率11%)として得た。

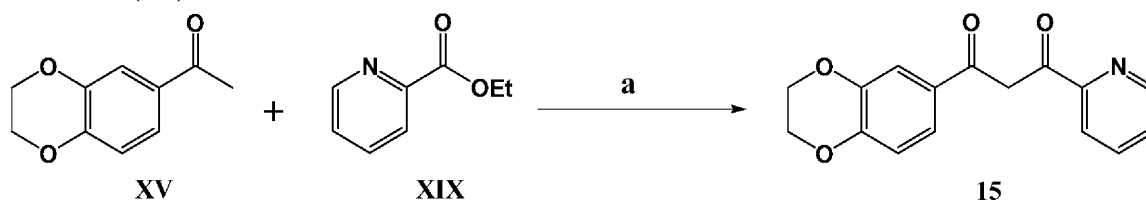
^1H NMR (CDCl_3 , 400

MHz): δ ppm 1.47 (s, 6H), 3.80 (s, 2H), 7.34-7.50 (m, 4H), 7.65-7.75 (m, 2H), 7.80 (m, 1H), 7.94 (m, 1H), 8.67 (m, 1H); ESIMS found $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ m/z 268 (M+H)

【 0 2 2 6 】

実施例4

化合物(15)の調製を以下のスキーム8に示す。



スキーム8

試薬および条件: a) THF、NaH、室温 ~ 還流、終夜。

【 0 2 2 7 】

工程a

窒素下室温で攪拌したNaH(1.5当量)のTHF懸濁液に1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)エタノン(XV)(1当量)のTHF溶液をゆっくりと加えた。ガスの放出が停止するまで溶液をさらに室温で攪拌した。溶液にピコリン酸エチル(XIX)(1.1当量)を加え、窒素下で終夜還流させた。溶液を冷却し、氷水に注ぎ、酢酸エチルで抽出した。有機層をMg SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧濃縮した。粗生成物をシリカゲル上でのカラムクロマトグラフィーで精製して、1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-3-(ピリジン-2-イル)プロパン-1,3-ジオン 15を黄色固体(収率71%)として生成した。

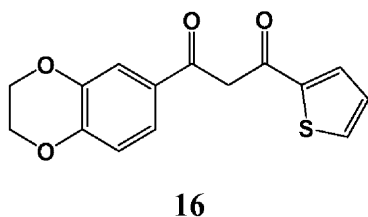
¹H NMR (CDCl₃,

400 MHz): δ ppm 4.13-4.43 (m, 4H), 6.94 (d, *J* = 8.31 Hz, 1H), 7.42 (m, 1H), 7.44 (m, 1H) 7.59 (m, 2H), 7.85 (m, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.81, 1H), 8.65 (m, 1H); ESIMS found C₁₆H₁₃NO₄ *m/z* 284(M+H)

【 0 2 2 8 】

以下の化合物を上記実施例4に記載の手順に従って調製した。

【 0 2 2 9 】



1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-3-(チオフェン-2-イル)プロパン-1,3-ジオン 16。

黄色固体。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ ppm 4.34 (m, 4H),

6.98 (m, 1H), 7.15 (br. s, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.64 (m, 2H), 8.01 (m, 1H), 8.28 (m, 1H);

ESIMS found C₁₅H₁₂O₄S *m/z* 289 (M+H)

【 0 2 3 0 】

実施例5

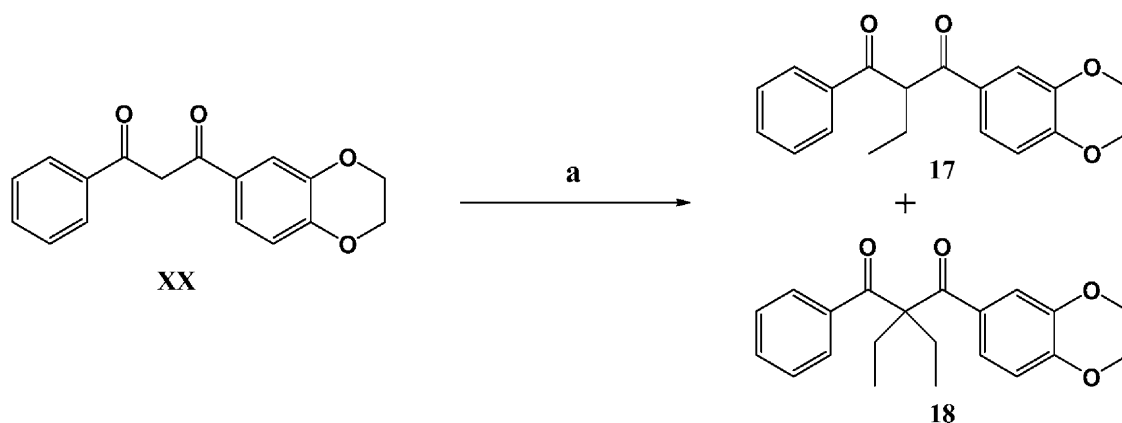
化合物(17)および(18)の調製を以下のスキーム9に示す。

10

20

30

40



10

スキーム9

試薬および条件: a) DMSO、プロモエタン、 K_2CO_3 、室温、終夜。

【0231】

工程a

窒素下室温で攪拌した1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-3-フェニルプロパン-1,3-ジオン(XX)(0.39mmol)および K_2CO_3 (1.58mmol)のDMSO(4mL)溶液にプロモエタン(0.87mmol)をゆっくりと加えた。溶液をさらに窒素下室温で終夜攪拌した。溶液を水とエーテルとの混合物に注いだ。エーテル層を分離し、ブラインで洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィーで精製して、無色粘稠油状物としての1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-2-エチル-3-フェニルプロパン-1,3-ジオン17(収率35%)

20

1H NMR (DMSO- d_6 ,

400 MHz): δ ppm 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 1.93 (m, 2H), 4.28 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 5.60 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.51-7.55 (m, 4H), 7.66 (m, 1H), 7.98 (d, J = 7.3 Hz, 2H); ESIMS found $C_{19}H_{18}O_4$ m/z 311 (M+H)

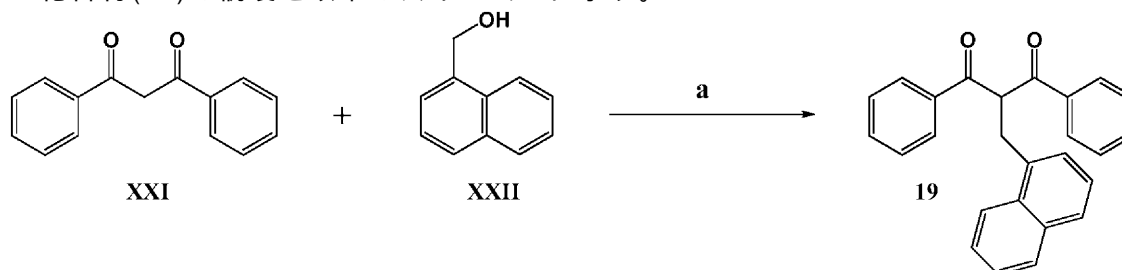
および1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)-2,2-ジエチル-3-フェニルプロパン-1,3-ジオン18を白色固体として得た。ESIMS実測値 $C_{21}H_{22}O_4$ m/z 339 (M+H)。

30

【0232】

実施例6

化合物(19)の調製を以下のスキーム10に示す。



40

スキーム10

試薬および条件: a) CH_3NO_2 、 $Bi(OTf)_3$ 、100、2時間

【0233】

工程a

100 で加熱したジベンゾイルメタン(XXI)(2.27mmol)および $Bi(OTf)_3$ (0.008mmol)の CH_3NO_2 溶液にナフタレン-1-イルメタノール(XXII)(0.75mmol)の CH_3NO_2 (1mL)溶液を45分かけてゆっくりと加えた。溶液をさらに100 で2時間攪拌した。溶液を冷却し、溶媒を減圧除去した。残渣をカラムクロマトグラフィーで精製して2-(ナフタレン-1-イルメチル)-1,3-

50

ジフェニルプロパン-1,3-ジオン19を黄色固体(収率75%)として生成した。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3.75 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 6.23 (t, $J = 7$ Hz, 1H), 7.24-7.38 (m, 6H), 7.50-7.55 (m, 4H), 7.57 (m, 1H), 7.81-7.87 (m, 5H), 8.14 (m, 1H); ESIMS found $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_2$ m/z 365 (M+H)

【0234】

投与および薬学的組成物

いくつかの態様は、(a)安全かつ治療上有効な量の式I、IIもしくはIIIの化合物、あるいはその対応する鏡像異性体、ジアステレオ異性体もしくは互変異性体、または薬学的に許容される塩と；(b)薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物を含む。

10

【0235】

本明細書に開示される化合物または薬学的に許容されるその塩の投与は、経口、皮下、静脈内、鼻腔内、局所、経皮、腹腔内、筋肉内、肺内、経膈、直腸または眼内を含むがそれらに限定されない、同様の有用性に資する許容される薬剤投与様式のいずれかを經由するものでありうる。経口投与および非経口投与が徴候を処置する上で習慣的である。

【0236】

薬学的使用向けの本発明の化合物は結晶性または非晶質の生成物として投与することができる。薬学的に許容される組成物としては固体、半固体、液体およびエアロゾル剤形、例えば錠剤、カプセル剤、散剤、液剤、懸濁液剤、坐薬、エアロゾル剤などが挙げられる。それらは例えば析出、結晶化、凍結乾燥、噴霧乾燥または蒸発乾燥などの方法によってフィルムとして得ることができる。マイクロ波または高周波乾燥をこの目的に使用することができる。また化合物を、デポー注射液、浸透圧ポンプ、丸剤、経皮パッチ(エレクトロトランスポートパッチを含む)などを含む持続放出または制御放出剤形で、所定速度での長期および/または定時、パルス投与のために投与することができる。好ましくは、組成物は正確な投与量の単回投与に好適な単位投与剤形で与えられる。

20

【0237】

化合物は単独で、またはより典型的には慣行的な薬学的担体、賦形剤などとの組み合わせで投与することができる。「賦形剤」という用語は、本発明の化合物以外の任意の成分を記述するために本明細書において使用される。薬学的に許容される賦形剤としては、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、 d - α -トコフェロールポリエチレングリコール1000スクシネートなどの自己乳化薬物送達システム(SEDDS)、Tween類または他の同様のポリマー送達マトリックスなどの薬学的剤形中で使用される界面活性剤、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質、リン酸塩、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウムなどの緩衝物質、飽和植物性脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩などの塩または電解質、コロイダルシリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロース系物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロック共重合体、および羊毛脂が挙げられるがそれらに限定されない。また、 α -、 β -および γ -シクロデキストリンなどのシクロデキストリン、または2-および3-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリンを含むヒドロキシアシルシクロデキストリン、もしくは他の可溶化誘導体などの化学修飾誘導体を、本明細書に記載の式の化合物の送達を強化するために有利に使用することができる。本明細書に記載の化合物を0.005%~100%の範囲で含有し、残りが無毒の担体から構成される剤形または組成物を調製することができる。想定される組成物は0.001%~100%、一態様では0.1~95%、別の態様では75~85%の有効成分を含有しうる。そのような剤形を調製する実際の方法は、当業者に公知であるかまたは明らかであろう。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition (Lippincott Williams & Wilkins, 2005)を参照。

30

40

【0238】

50

好ましい一態様では、組成物は丸剤または錠剤などの単位投与剤形の形態を取り、したがって組成物は、有効成分と共に、ラクトース、スクロース、リン酸二カルシウムなどの希釈剤；ステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤；およびデンプン、アラビアゴム、ポリビニルピロリジン、ゼラチン、セルロース、セルロース誘導体などの結合剤を含有しうる。別の固体剤形では、散剤、marume、溶液剤または懸濁液剤(例えば炭酸プロピレン、植物油またはトリグリセリド中の)がゼラチンカプセル中に封入される。2つの有効成分が物理的に分離された単位投与剤形、例えば各薬物の顆粒を有するカプセル剤；2層錠剤；2区画ゲルカプセル剤なども想定される。

【0239】

別の好ましい態様では、本明細書に記載の組成物は、一時的もしくは永久移植片、スポンジ、ポリマーまたはゲルを含むがそれらに限定されない医療器具用の薬物溶出コーティングとして使用される。

【0240】

本発明の一態様の移植片は、(i)股関節、(ii)骨の断片、小片または部分を互いに接合または結合するように意図されるスクリュー、カニューレを挿入されたスクリュー、ネイル、メッシュ、ケージ、ワイヤ、ピン、髄内ネイル、ロッド、ポスト、アンカーおよびプレート、(iii)単支柱式、多面式またはハイブリッド固定器などの創外固定器、(iv)変性不安定性、骨折、腫瘍および脊椎変形の処置向けの移植片、(v)下顎骨、顔面中央または頭蓋の骨折処置、再建および変形矯正向けの頭蓋顎顔面移植片、(vi)外科的ステント、コラーゲンステント、髄内骨ステント、(vii)前十字靱帯(ACL)および後十字靱帯(PCL)再建システム、(viii)歯科インプラントを含むがそれらに限定されない整形外科移植片である。

【0241】

いくつかの場合では、式I、IIまたはIIIの化合物は、1つまたは複数の治療薬、例えば本明細書に記載の骨障害または骨症状の処置に有用な治療薬との組み合わせで投与される。例えば、特定の第2の治療薬、例えば成長因子は、組織の成長または浸潤を促進しうる。この目的での例示的成長因子としては上皮成長因子(EGF)、血管内皮成長因子(VEGF)、線維芽細胞成長因子(FGF)、血小板由来成長因子(PDGF)、形質転換成長因子(TGF)、副甲状腺ホルモン(PTH)、白血病抑制因子(LIF)およびインスリン様成長因子(IGF)が挙げられるがそれらに限定されない。骨形成タンパク質(米国特許第4,761,471号；国際公開公報第90/11366号)、osteogenin(Sampath, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1987), 84(20), 7109-7113)、NaF(Tencer, et al., Journal of Biomedical Materials Research (1989), 23(6), 571-589)などの他の第2の治療薬は骨成長を促進しうるものであり、IKVAVなどのペプチド配列を加えることで神経に接着してそれらの神経に神経炎を発現させることができる(Tashiro, et al., The Journal of Biological Chemistry (1989), 264(27), 16174-16182)。

【0242】

薬学的に投与可能な液体組成物は、上記定義の活性化合物および任意的な薬学的補助剤を担体(例えば水、食塩水、ブドウ糖水溶液、グリセリン、グリコール、エタノールなど)中で溶解、分散させるなどで液体または懸濁液を形成することによって例えば調製することができる。所望であれば、薬学的組成物は、微量の湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、pH緩衝剤などの無毒の補助物質(例えば酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、酢酸トリエタノールアミン、オレイン酸トリエタノールアミンなど)を含有していてもよい。注射液剤は、慣行的な形態で、溶液もしくは懸濁液として、乳濁液として、または注射前に液体中に溶解もしくは懸濁させるために好適な固体形態で調製することができる。そのような非経口組成物に含有される活性化合物の割合は、その具体的な性質、ならびに化合物の活性および対象の要求に大きく依存する。しかし、溶液中0.01%~10%という有効成分の割合が使用可能であり、組成物が固体である場合はこの割合がさらに高く、続いて上記割合に希釈される。いくつかの態様では、組成物は溶液中0.2~2%の有効成分を含む。

【0243】

濃度および投与量値も寛解すべき症状の重症度によって変動し得ることに留意すべきである。任意の特定の患者について、具体的な投与レジメンを、個人の要求、および組成物を投与する人物または組成物の投与を監督する人物の専門的判断に従って経時的に調整すべきであること、ならびに、本明細書に記載の濃度範囲が例示的でしかなく、特許請求される組成物の範囲または実施を限定するように意図されていないことをさらに理解すべきである。

【0244】

固体組成物は、薬物の物理化学的特性、所望の溶解速度、コストの考慮事項、および他の判断基準に基づいて、様々な異なる種類の剤形で与えることができる。一態様では、固体組成物は単一の単位である。これは、薬物の1つの単位投与量が単一の物理的に形状化された固体の形態または物品に含まれることを暗示している。言い換えれば、固体組成物は凝集性であり、これは複数の単位が非凝集性である複数単位投与剤形 (multiple unit dosage form) とは対照的である。

10

【0245】

固体組成物の剤形として使用可能な単一の単位の例としては、圧縮錠剤などの錠剤、フィルム状単位、ホイル状単位、ウェーハ、凍結乾燥マトリックス単位などが挙げられる。好ましい態様では、固体組成物は高度に多孔質の凍結乾燥形態である。そのような凍結乾燥物は、ウェーハまたは凍結乾燥錠剤とも呼ばれることもあり、それらの急速分解に特に有用であり、急速分解は活性化合物の急速溶解も可能にする。

20

【0246】

他方、いくつかの用途では、固体組成物は上記定義の複数単位投与剤形として形成されることもある。複数単位の例としては粉末、顆粒、微粒子、ペレット、ビーズ、凍結乾燥粉末などがある。一態様では、固体組成物は凍結乾燥粉末である。そのような分散凍結乾燥系は、多数の粉末粒子を含むものであり、粉末の形成に使用される凍結乾燥過程が理由で、各粒子は不規則で多孔質の微小構造を有し、それを通じて粉末は非常に急速に水を吸収して速やかな溶解を生じさせることができる。

【0247】

やはり急速な薬物溶解を実現可能な別の種類の多粒子系は、薬物が個々の粒子の外面に位置するように薬物でコーティングされた、水溶性賦形剤由来の粉末、顆粒またはペレットのそれである。この種類の系では、そのようなコーティング粒子のコアを調製するために水溶性低分子量賦形剤が有用であり、続いてコーティング粒子を薬物と好ましくは1つまたは複数のさらなる賦形剤、例えば結合剤、造孔剤、糖類、糖アルコール、膜形成ポリマー、可塑剤、または薬学的コーティング組成物に使用される他の賦形剤とを含むコーティング組成物でコーティングすることができる。

30

【0248】

また、キットが本明細書において提供される。典型的には、キットは本明細書に記載の1つまたは複数の化合物または組成物を含む。特定の態様では、キットは、例えば上記に示す化合物を送達または投与するための1つまたは複数の送達系と、キットの使用のための指示書(例えば患者を処置するための説明書)とを含みうる。別の態様では、キットは、本明細書に記載の化合物または組成物と、がんを有する患者に内容物を投与すべきであることを示すラベルとを含みうる。別の態様では、キットは、本明細書に記載の化合物または組成物と、骨粗鬆症および骨関節症、骨形成不全症、骨欠損、骨折、歯周病、耳硬化症、創傷治癒、頭蓋顔面欠損、腫瘍崩壊性骨疾患; パーキンソン病、脳卒中、虚血性脳疾患、てんかん、アルツハイマー病、うつ病、双極性障害、統合失調症を含む、中枢神経系の分化および発生に関連する外傷性脳損傷; 加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫、家族性滲出性硝子体網膜症または網膜色素変性症などの眼疾患; ならびに脱毛、造血関連疾患、組織再生関連疾患、ならびに発生、幹細胞分化および細胞増殖の異常に関連する他の疾患を含む、幹細胞の分化および増殖に関連する疾患のうち1つまたは複数を含む患者に内容物を投与すべきであることを示すラベルとを含みうる。

40

50

【0249】

本発明の活性化化合物の実際の投与量は特定の化合物、および処置される症状に依存するものであり、適切な投与量の選択は十分に当業者の知識内である。

【0250】

処置方法

本明細書に示す化合物および組成物は、1つまたは複数のWntタンパク質を含むWnt経路の1つまたは複数のメンバーの活性化剤として使用することができ、したがって、異常Wntシグナル伝達が関与する種々の障害および疾患、例えば骨粗鬆症および骨関節症、骨形成不全症、骨欠損、骨折、歯周病、耳硬化症、創傷治癒、頭蓋顔面欠損、腫瘍崩壊性骨疾患；パーキンソン病、脳卒中、虚血性脳疾患、てんかん、アルツハイマー病、うつ病、双極性障害、統合失調症を含む、中枢神経系の分化および発生に関連する外傷性脳損傷；加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫、家族性滲出性硝子体網膜症または網膜色素変性症などの眼疾患；ならびに脱毛、造血関連疾患、組織再生関連疾患、ならびに発生、幹細胞分化および細胞増殖の異常に関連する他の疾患を含む、幹細胞の分化および増殖に関連する疾患を処置するために使用することができる。

10

【0251】

脱毛に関して、標準Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路は、毛包の発生および再生を制御することが知られている。表皮では、毛包発生は、間葉系細胞が皮膚に集合する際に開始する。この過程の間、真皮から発するシグナルは、上皮の肥厚、上皮細胞の伸長、およびWnt応答性細胞を含むプラコードの形成を誘導する。これに応じて、プラコードは真皮細胞が凝集するようにシグナル伝達し、それにより、やはりWntシグナル伝達に応答性がある毛包の毛乳頭成分を形成する。Wnt3aは毛髪上皮から分泌され、自己分泌的および傍分泌的に作用するものであり、Wnt-3aが毛乳頭細胞中の成長期遺伝子発現を維持し、器官培養中の毛髪誘導活性を媒介するということが示された。 β -カテニンまたはLef1遺伝子の欠失がマウスにおける脱毛を生じさせたことから、このWnt-3a媒介性発毛は標準Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路に依存する可能性がある。したがって、本明細書に記載の化合物および組成物を局所的に使用することで、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の調節によって脱毛を処置することができる。

20

【0252】

神経変性疾患に関して、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達系は、中枢神経系の神経細胞の分化および発生において決定的な役割を果たしている。特に、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達が、神経細胞の異常により生じる疾患に関連していることがわかる。

30

【0253】

アルツハイマー病についてより具体的には、Wntシグナル伝達機能の持続的損失が、アルツハイマー病の脳において観察されるA β 依存性神経変性に関与しうることが、研究により示されている。したがって、本明細書に記載の化合物および組成物を使用することで、神経変性に関与する失われたWntシグナル伝達機能を再活性化することができる。

【0254】

他の神経変性疾患も本明細書に記載の化合物および組成物で処置することができる。

【0255】

より具体的には、本明細書に記載の化合物、組成物および方法で処置可能な神経変性疾患としては以下が挙げられるがそれらに限定されない：

パーキンソン病、統合失調症、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症(ルー・ゲーリック病)、原発性側索硬化症(PLS)、進行性筋萎縮症(PMA)、双極性障害、うつ病、脳卒中、虚血性脳疾患、てんかん、脳損傷および脊髄小脳失調症1型(SCA1)。

【0256】

眼疾患に関して、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達系は、毛様体辺縁帯(CMZ)内の網膜前駆細胞の集団の維持を制御し、したがって網膜中の推定上の幹細胞因子として機能する。特に、Wnt/ β -カテニン経路が網膜修復過程を媒介すること、およびWnt活性化剤の適用が網膜神経細胞の再生を促進しうることがわかる。傷害の場合において、Wntは保護的役割を

40

50

果たしうる。最近、Wnt3aが光受容細胞を保護することがわかった。この研究の結果は、傷害の場合における幹細胞の自己再生の上方制御として十分に解釈可能である。

【0257】

したがって、本明細書に記載の化合物および組成物を使用することで、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の調節によって、疾患が引き起こす神経細胞の損失を補填することを強化し、傷害の間に光受容細胞を保護することができる。

【0258】

他の眼疾患も本明細書に記載の化合物および組成物で処置することができる。

【0259】

より具体的には、本明細書に記載の化合物、組成物および方法で処置可能な眼疾患としては以下が挙げられるがそれらに限定されない：

加齢黄斑変性、糖尿病黄斑浮腫、家族性滲出性硝子体網膜症および網膜色素変性症。

【0260】

幹細胞の分化および増殖に関連する疾患に関して、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達は、皮膚、腸、脳および血液を含む多くの異なる組織中の幹細胞の自己再生において決定的である。したがって、本明細書に記載の化合物および組成物を使用することで、発生の異常に関連する障害および疾患を処置することができる。

【0261】

生物活性の評価

例えば国際公開公報第2001/053268号または国際公開公報第2005/009997号における当業者に公知の任意の好適なアッセイを使用して、本明細書に記載の化合物の生物活性を試験することができる。例えば、以下に概説する1つまたは複数の試験方法を使用して化合物の活性を試験することができる。

【0262】

実施例7

Wnt活性を強化する化合物、または活性化剤を以下のようにアッセイした。ホタルルシフェラーゼ遺伝子の発現を推進するwnt応答性プロモーターを含むレンチウイルス構築物をがん細胞系(例えば結腸がん)の細胞に安定的に形質導入することで、レポーター細胞系を発生させた。

【0263】

SP5プロモーターに由来する8個のTCF/LEF結合部位を有するプロモーターであるSP5プロモーターがホタルルシフェラーゼ遺伝子上流で連結されたレンチウイルス構築物を作製した。レンチウイルス構築物は、選択可能なマーカーとしてハイグロマイシン耐性遺伝子も含みうる。SP5プロモーター構築物を使用して、切断型APCタンパク質を発生させる変異APC遺伝子を有する結腸がん細胞系であるSW480細胞に形質導入することで、 β -カテニンの調節解除された蓄積を導いた。

【0264】

レポーター構築物を有する培養SW480細胞を、1ウェル当たり細胞約10,000個で384ウェルまたは96ウェルマルチウェルプレートに分配することができる。次に、小分子化合物ライブラリー由来の化合物を、3または10マイクロモルを最高濃度とする半対数(half-log)倍希釈系列でウェルに加えることができる。各細胞種に対する一連の対照ウェルには、緩衝液および化合物溶媒DMSOのみを入れた。化合物の添加の24時間後に、例えばBrightGlo発光試薬(Promega)の添加およびVictor3プレートリーダー(Perkin Elmer)によって、ルシフェラーゼのレポーター活性をアッセイすることができる。DMSOのみで処理した細胞に対して読取値を正規化し、DMSOを超える任意の活性を活性化と見なす。レポーター活性がDMSOの2倍以上である場合に化合物を活性化剤と見なす。EC₅₀は半数活性化濃度である。表2は、選択された活性化剤の活性を示す。

【0265】

10

20

30

40

【表 2】

化合物	Wnt 活性化、IC ₅₀	化合物	Wnt 活性化、IC ₅₀
1	0.028-0.029 μ M	10	>10 μ M
2	0.013 μ M	11	>10 μ M
3	0.036-0.041 μ M	12	>10 μ M
4	0.61-1.0 μ M	14	>10 μ M
5	0.64-1.9 μ M	15	0.68-2.1 μ M
6	2.1 μ M	16	2.57 μ M
7	0.096-0.27 μ M	17	>10 μ M
8	0.083 μ M	18	6.0 μ M
9	>10 μ M	19	2.8-5.0 μ M

10

【0266】

本明細書において使用される「含む(comprising)」という用語は、「含む(including)」、「含有する」または「特徴とする」と同義であり、包括的または開放的であり、さらなる列挙されない要素または方法段階を排除しない。

フロントページの続き

- (74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 ケーシー スニル クマー
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ クラシコ コート 10504
- (72)発明者 ワラス デイビッド マーク
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ ペイナード ウェイ 6448
- (72)発明者 フード ジョン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ ベレダ ソル デル ディオス 10831
- (72)発明者 バローガ シャーリーン エフ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ コスタ ベルデ 8950 #4237

審査官 東 裕子

- (56)参考文献 特開昭49-088802(JP,A)
特表2006-523707(JP,A)
特開平09-071566(JP,A)
特開平04-225951(JP,A)
特表2003-503386(JP,A)
中国特許出願公開第1382688(CN,A)
特表2004-531486(JP,A)
米国特許第06346260(US,B1)
特開平05-170764(JP,A)
特開平06-009358(JP,A)
特開2009-179619(JP,A)
国際公開第2006/106812(WO,A1)
国際公開第2005/118556(WO,A1)
特開2008-222707(JP,A)
特表2009-502970(JP,A)
国際公開第2007/003389(WO,A1)
特表2003-519081(JP,A)
国際公開第2004/016592(WO,A1)
米国特許第4032526(US,A)
国際公開第2002/002533(WO,A1)
米国特許第07041837(US,B1)
v. Bruchhausen, Friedrich; Lingner, Klaus , Synthesis of dl-asarinin and dl-sesamin, Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, 1957

年, Vol.290, pp.1-16

Yoshimura, Hiroyuki et al., Discovery of Novel and Potent Retinoic Acid Receptor Agonists: Syntheses and Evaluation of Benzofuranyl-pyrrole and Benzothiophenyl-pyrrole Derivatives, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2000年, Vol.43(15), pp.2929-2937

Boger, Dale L. et al., Non-amide-based combinatorial libraries derived from N-BOC-iminodiacetic acid: solution-phase synthesis of piperazinone libraries with activity against LEF-1/ β -catenin-mediated transcription, *Helvetica Chimica Acta*, 2000年, Vol.83(8), pp.1825-1845

Kel'in, Alexander V.; Kulinkovich, Oleg G., A new simple synthesis of aryl-substituted 1,4-diketones, *Synthesis*, 1996年, No.(3), pp.330-332

Constable, Edwin C. et al., Platinamacrocycles containing 2,5-thiophenediyl and poly(2,5-thiophenediyl)-linked azaaromatic ligands: New structural paradigms for metallosupramolecular chemistry, *Polyhedron*, 2006年, Vol.25(8), p.1844-1863

De Cointet, Paul et al., Synthesis and pharmacological properties of 3-acetoacetylindoles and their derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1976年, Vol.11(5), pp.471-479

Rajesh, R.; Sarma et al., Synthesis and in vitro short term cytotoxic studies of some novel α -diketones, *Indian Drugs*, 2003年, Vol.40(1), pp.37-40

Van Uitert, LeGrand G. et al., Coordination compounds. II. The dissociation constants of α -diketones in water-dioxane solutions, *Journal of the American Chemical Society*, 1953年, Vol.75, pp.455-457

Adam, Waldemar; Van Barneveld, Claus, The Importance of Spin Polarization in Electronic Substituent Effects of the Zero-Field EPR D Parameter in 1,3-Diarylcyclopentane-1,3-diyl Triplet Diradicals, *Journal of the American Chemical Society*, 1999年, Vol.121(46), pp.10820-10827

Shi, Jun; Xu, Yao; Liu, Jikai; Yin, Zhongchao; Li, Baojian, Identification of a novel signal for activation of Ti plasmid-encoded vir genes from rice (*Oryza sativa* L.), *Chinese Science Bulletin*, 1995年, Vol.40(21), pp.1824-1828

Nuriev, Vyatsheslav N.; Zyk, Nikolay V.; Vatsadze, Sergey Z., Synthetic pathways to a family of pyridine-containing azoles-promising ligands for coordination chemistry, *ARKIVOC* (Gainesville, FL, United States), 2005年, No.(4), pp.208-224

Passarotti, C.; Bandi, G. L.; Citerio, L.; Valenti, M., Synthesis of some 5-azaflavones, *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 1991年, Vol.130(8), pp.312-314

Belgodere, Elena et al., Studies on isomeric pyridylisoxazoles, *Heterocycles*, 1983年, Vol.20(3), pp.501-504

Sheikh, Javed I.; Ingle, Vishwas N.; Juneja, Harjit D.; Munne, Sonali L., Synthesis of heterocyclic α -diketones, *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2009年, Vol.18(4), pp.333-336

Kale, S. B.; Karale, B. K., Synthesis and characterization of some important indazolyl derivatives, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2007年, Vol.44(2), pp.289-301

More, M. S.; Kale, S. B.; Jagdhani, S. G.; Karale, B. K., Synthesis antioxidant and antimicrobial activities of some 7-methoxy-3-methyl benzofuran incorporated chromon-4-ones, *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2007年, Vol.16(4), pp.379-382

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D

CAPLUS / REGISTRY (STN)