

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6517827号
(P6517827)

(45) 発行日 令和1年5月22日(2019.5.22)

(24) 登録日 平成31年4月26日(2019.4.26)

(51) Int.Cl.		F I	
C 0 7 D 209/44	(2006.01)	C O 7 D 209/44	C S P
A 6 1 K 31/4035	(2006.01)	A 6 1 K 31/4035	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	

請求項の数 7 (全 168 頁)

(21) 出願番号	特願2016-549224 (P2016-549224)	(73) 特許権者	514048051
(86) (22) 出願日	平成27年1月30日 (2015.1.30)		コグニション セラピューティクス, イン
(65) 公表番号	特表2017-507122 (P2017-507122A)		コーポレイテッド
(43) 公表日	平成29年3月16日 (2017.3.16)		アメリカ合衆国, ペンシルバニア州 15
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/013754		203, ピッツバーグ, シドニー ストリ
(87) 国際公開番号	W02015/116923	(74) 代理人	100114775
(87) 国際公開日	平成27年8月6日 (2015.8.6)		弁理士 高岡 亮一
審査請求日	平成30年1月29日 (2018.1.29)	(74) 代理人	100121511
(31) 優先権主張番号	61/934, 528		弁理士 小田 直
(32) 優先日	平成26年1月31日 (2014.1.31)	(74) 代理人	100202751
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 岩堀 明代
		(74) 代理人	100191086
			弁理士 高橋 香元

最終頁に続く

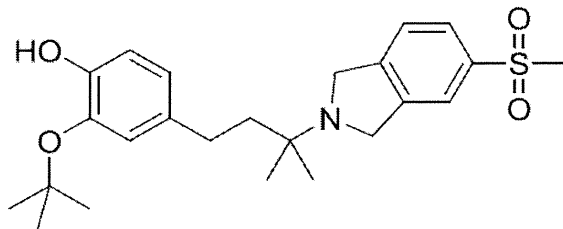
(54) 【発明の名称】 イソインドリン組成物および神経変性疾患の治療方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記式：

【化1】

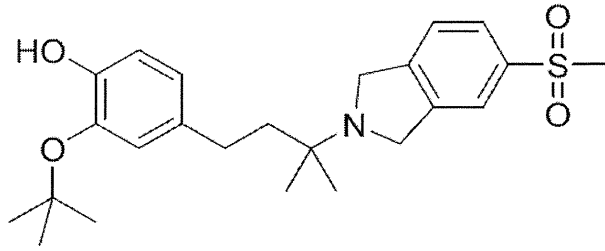


の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項2】

下記式：

【化2】



10

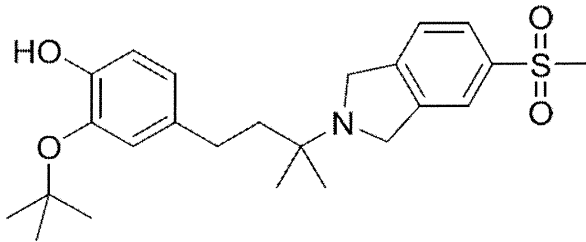
の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む、組成物。

【請求項3】

神経細胞に対するアミロイドベータ作用を抑制することを含む、認知低下を示すか、認知低下を示すリスクのある対象の認知低下を抑制するために使用される組成物であって、前記組成物は、

下記式：

【化3】



20

の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、

前記化合物またはその薬学的に許容される塩が、前記細胞におけるアミロイドベータオリゴマーの結合を抑制するのに有効な量である、組成物。

【請求項4】

30

前記認知低下が、中枢ニューロンに対するアミロイドベータオリゴマー作用と関連している、請求項3に記載の組成物。

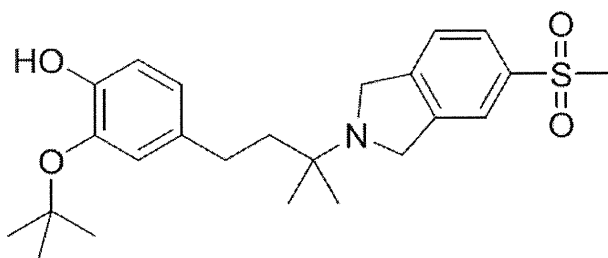
【請求項5】

アルツハイマー病における軽度の認知障害の治療方法に使用するための、請求項3に記載の組成物。

【請求項6】

アルツハイマー病を治療する方法に使用するための、下記式：

【化4】



40

の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項7】

薬学的に許容される塩が、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酸リン酸塩、イソニコチン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、

50

クエン酸塩、酒石酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチジン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩 (glucuronate)、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩およびパモ酸塩からなる群より選択される、請求項1に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2015年1月30日にPCT国際出願として出願されるものであり、全体が参照により本明細書に組み込まれる、2014年1月31日に米国仮特許出願第61/934,528号の優先権の利益を主張するものである。

10

【0002】

シグマ-2受容体と結合する新規なイソインドリン化合物、このような化合物を含む医薬組成物のほか、神経細胞のシナプス消失の抑制または回復、神経細胞の膜輸送の変化の調節ならびに認知低下、神経変性疾患および神経変性障害の治療のための方法が提供される。

【背景技術】

【0003】

現時点でアルツハイマー病(AD)の治療にFDAの承認を受けている薬剤は5種類しかない。このうち4種類はコリンエステラーゼ阻害剤のタクリン(COGNEX(登録商標); Sciele社)、ドネペジル(ARICEPT(登録商標); Pfizer社)、リバスチグミン(EXELON(登録商標); Novartis社)およびガランタミン(RAZADYNE(登録商標); Ortho-McNeil-Janssen社)である。ドネペジル、リバスチグミンおよびガランタミンは、肝毒性の可能性があるため処方されることがまれな第一世代化合物、タクリンの後継薬であり、いずれの段階のADでも、認知および機能のシナプス改善をもたらす効果はほぼ同じである。5種類目の承認薬は、低親和性で使用依存性のN-メチル-D-アスパラギン酸グルタミン酸受容体のアンタゴニストであるメマンチン(NAMENDA(登録商標); Forest社)であり、中等度ないし重度のADに限り同様の有益性が得られる。上記の化合物の臨床的効果は小さく一時的なものであり、現時点で得られているデータは、これらを疾患修飾薬として使用することを決定的に支持するものではない。例えば、Kerchnerら, 2010, Bapineuzumab, Expert Opin Biol Ther., 10(7): 1121-1130を参照されたい。AD治療の代替法が必要とされているのは明らかである。

20

30

【0004】

シグマ-2受容体の機能的アンタゴニストとして作用し可溶性Aオリゴマーの有害作用を阻害する、特定のイソインドリン化合物が提供される。いくつかの実施形態では、イソインドリンシグマ-2受容体アンタゴニスト化合物および組成物を用いて対象のシナプス機能不全を治療または予防する。

40

【発明の概要】

【0005】

シグマ-2受容体と結合する新規なイソインドリン化合物、このような化合物を含む医薬組成物のほか、神経細胞のシナプス消失の抑制または回復、神経細胞の膜輸送の変化の調節ならびに認知低下、神経変性疾患および神経変性障害の治療のための方法が提供される。

【0006】

いくつかの実施形態では、式Iおよび/または式IIによるイソインドリン化合物およびその薬学的に許容される塩あるいはその薬学的に許容される塩は、シグマ-2受容体アンタゴニスト活性を示すほか、特定の治療表現型の他の態様も示し、このため、以下に明

50

記されるように、可溶性アミロイドベータ（「Aベータ」、「A」）のペプチドおよびオリゴマーならびにそれ以外のその可溶性種の神経細胞に対する有害作用を阻害し、したがって、アルツハイマー病などのAベータオリゴマー誘導性病態に関連する疾患および障害を含めた状態の治療に用いることができる。

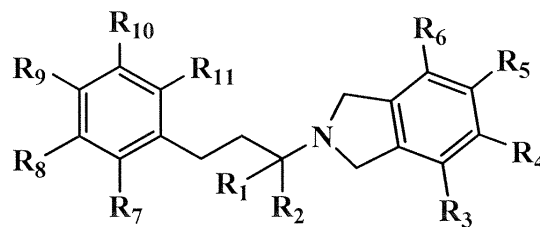
【0007】

可溶性Aベータオリゴマーは、特異的受容体と結合する可逆性薬理学的リガンドのように振る舞い、正常なシナプス可塑性に極めて重要なシグナル伝達経路に干渉し、最終的にはスパインおよびシナプスの消失を引き起こす。本明細書に提供される式Iによるイソインドリン化合物は、シグマ-2受容体と結合し機能的神経細胞アンタゴニストとして振る舞い、Aベータオリゴマーとの薬理学的競合を示すことがわかった。したがって、本明細書に記載されるイソインドリンシグマ-2アンタゴニスト化合物は、Aベータ誘導性細胞毒性などのAベータオリゴマーの作用を低下させるか、予防し得る。先行技術の特定の化合物は除外される。このほか、Aベータオリゴマーをはじめとする可溶性Aベータ種の神経細胞に対する作用、より一般的にはアミロイドベータ病態を抑制する方法であって、細胞と、式Iおよび/または式IIによるシグマ-2アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩とを接触させることを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、初期段階のアルツハイマー病を治療する方法であって、治療有効量の式Iおよび/または式IIによるシグマ-2機能的アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩を投与することを含む方法が提供される。

【0008】

一実施形態では、式I：

【化1】



I

による単離化合物またはその薬学的に許容される塩が提供され、式中：

R₁およびR₂は、H、C₁~C₆アルキルまたはCH₂OR'からそれぞれ独立して選択され；R' = HまたはC₁~C₆アルキルであり；

R₃、R₄、R₅およびR₆は、H、C₁~C₆アルキル、OH、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂、OC(CH₃)₃、O(C₁~C₆アルキル)、OCF₃、OCH₂CH₂OH、O(C₁~C₆アルキル)OH、O(C₁~C₆ハロアルキル)、F、Cl、Br、I、CF₃、CN、NO₂、NH₂、C₁~C₆ハロアルキル、C₁~C₆ヒドロキシアルキル、C₁~C₆アルコキシC₁~C₆アルキル、アリーール、ヘテロアリーール、C₃~C₇シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルアリーール、ヘテロアリーール、CO₂R'、C(O)R'、NH(C₁~C₄アルキル)、N(C₁~C₄アルキル)₂、NH(C₃~C₇シクロアルキル)、NHC(O)(C₁~C₄アルキル)、CONR'₂、NC(O)R'、NS(O)_nR'、S(O)_nNR'₂、S(O)_nR'R'、C(O)O(C₁~C₄アルキル)、OC(O)N(R')₂、C(O)(C₁~C₄アルキル)およびC(O)NH(C₁~C₄アルキル)からそれぞれ独立して選択され；n = 0、1または2であり；R'は、それぞれ独立してH、CH₃、CH₂CH₃、C₃~C₆アルキル、C₁~C₆ハロアルキル；または任意選択で置換されたアリーール、アルキルアリーール、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリーール、C₁~C₆アルコキシ、NH(C₁~C₄アルキル)もしくはNH(C₁~C₄アルキル)₂であり、ここでは、任意選択で置換された基は、C₁~C₆アルキルまたはC₂~C₇アシルから選択されるか；あるいは

R₃ および R₄ は、それが結合している C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、C₁ -
 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロアルコキシ、ア
 リール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル
 およびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つ
 の置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシクロアルキル、
 アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルを形成し、R³ と R⁴ または R⁴
 と R⁵ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；R₃ と R₄ は
 、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成するか；あるいは

R₄ および R₅ は、それが結合している C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、C₁ -
 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロアルコキシ、ア
 リール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル
 およびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つ
 の置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシクロアルキル、
 アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルを形成し、R³ と R⁴ または R⁴
 と R⁵ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；R₄ と R₅ は
 、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成し；

R₇、R₈、R₉、R₁₀ および R₁₁ は、H、C₁ ~ C₆ アルキル、OH、OCH₃
 、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂、OC(CH₃)₃、O(C₁ ~ C₆
 アルキル)、OCF₃、OCH₂CH₂OH、O(C₁ ~ C₆ アルキル)OH、O(C₁
 ~ C₆ ハロアルキル)、O(CO)R'、F、Cl、Br、I、CF₃、CN、NO₂、
 NH₂、C₁ ~ C₆ ハロアルキル、C₁ ~ C₆ ヒドロキシアルキル、C₁ - 6 アルコキシ
 C₁ - 6 アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₃ - 7 シクロアルキル、ヘテロシクロ
 アルキル、アルキルアリール、ヘテロアリール、CO₂R'、C(O)R'、NH(C₁
 ~ 4 アルキル)、N(C₁ ~ 4 アルキル)₂、NH(C₃ - 7 シクロアルキル)、NHC
 (O)(C₁ ~ 4 アルキル)、CONR'₂、NC(O)R'、NS(O)_nR'、S(O)
)_nNR'₂、S(O)_nR'、C(O)O(C₁ ~ 4 アルキル)、OC(O)N(R'
)₂、C(O)(C₁ ~ 4 アルキル) および C(O)NH(C₁ ~ 4 アルキル) からそ
 れぞれ独立して選択され；n = 0、1 または 2 であり；R' は、それぞれ独立して H、C
 H₃、CH₂CH₃、C₃ ~ C₆ アルキル、C₁ ~ C₆ ハロアルキル、アリール、アルキ
 ルアリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モルホリニル、ヘテロシク
 ロアルキル、ヘテロアリール、C₁ - 6 アルコキシ、NH(C₁ ~ 4 アルキル) または N
 H(C₁ ~ 4 アルキル)₂ であるか；あるいは

R₇ および R₈ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、
 ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロアル
 コキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シ
 クロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4
 つまたは5つの置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシク
 ロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ お
 よび R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；R₇ と R₈
 は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成するか；あるいは

R₈ および R₉ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、
 ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロアル
 コキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シ
 クロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4
 つまたは5つの置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシク
 ロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ お
 よび R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；R₈ と R₉
 は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成し、

ここでは、O、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、ヘテロアリール、アリール
 、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキルはそれぞれ独立して、O

10

20

30

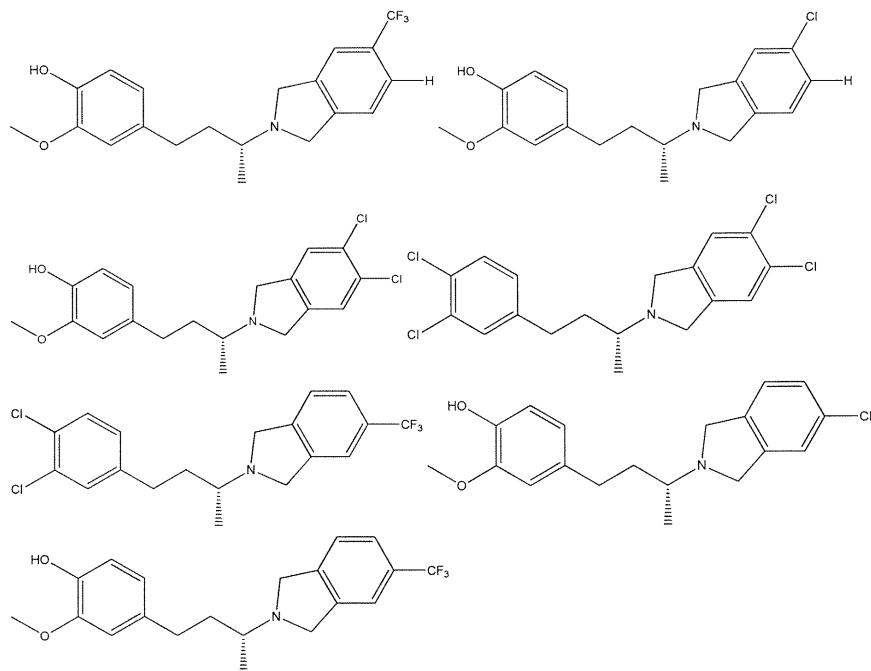
40

50

H、アミノ、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $C_1 \sim 6$ ハロアルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの置換基で任意選択で置換されており；

ただし、以下の化合物：

【化2】



10

20

は除外される。

【0009】

別の実施形態では、式Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩が提供され、式中、 R_1 および R_2 は、Hまたは CH_3 からそれぞれ独立して選択され； R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、OH、 OCH_3 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)、 $O(C_1 \sim C_6$ ハロアルキル)、F、Cl、 CF_3 、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、 CO_2R' 、 $C(O)R'$ 、 $OC(O)N(R')$ ₂、 $CONR'$ ₂、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'$ ₂、 $S(O)_nR'$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 0, 1$ または2であり； R' は、それぞれ独立してH、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル；または任意選択で置換されたピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキルもしくはアリールであり、ここでは、任意選択で置換された基は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択されるか；あるいは R_3 および R_4 は、それが結合しているC原子とともに、5員または6員の $C_3 \sim 7$ シクロアルキルまたはアリールを形成するか；あるいは R_4 および R_5 は、それが結合しているC原子とともに、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキルまたは5員もしくは6員アリールを形成するか；あるいは R_3 と R_4 は互いに結合して-O-C₁₋₂メチレン-O-基を形成するか；あるいは R_4 と R_5 は互いに結合して-O-C₁₋₂メチレン-O-基を形成し； R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} は、H、OH、 CH_3 、 CH_2CH_3 、F、Cl、 CF_3 、 OCF_3 、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 OCH_3 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)、 OCH_2CH_2OH 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)OH、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、アルキルアリール、 CO_2R' 、 $CONR'$ ₂、 $S(O)_nNR'$ ₂、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)O(C_1 \sim 4$ アルキル)、 $OC(O)N(R')$ ₂および $C(O)NH(C_1 \sim 4$ アルキル)からそれぞれ独立して選択され； $n = 0, 1$ または2であり； R' は、それぞれ独立してH、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、アリール、アルキルアリールまたは

30

40

50

C₁ ~ C₆ アルコキシである。

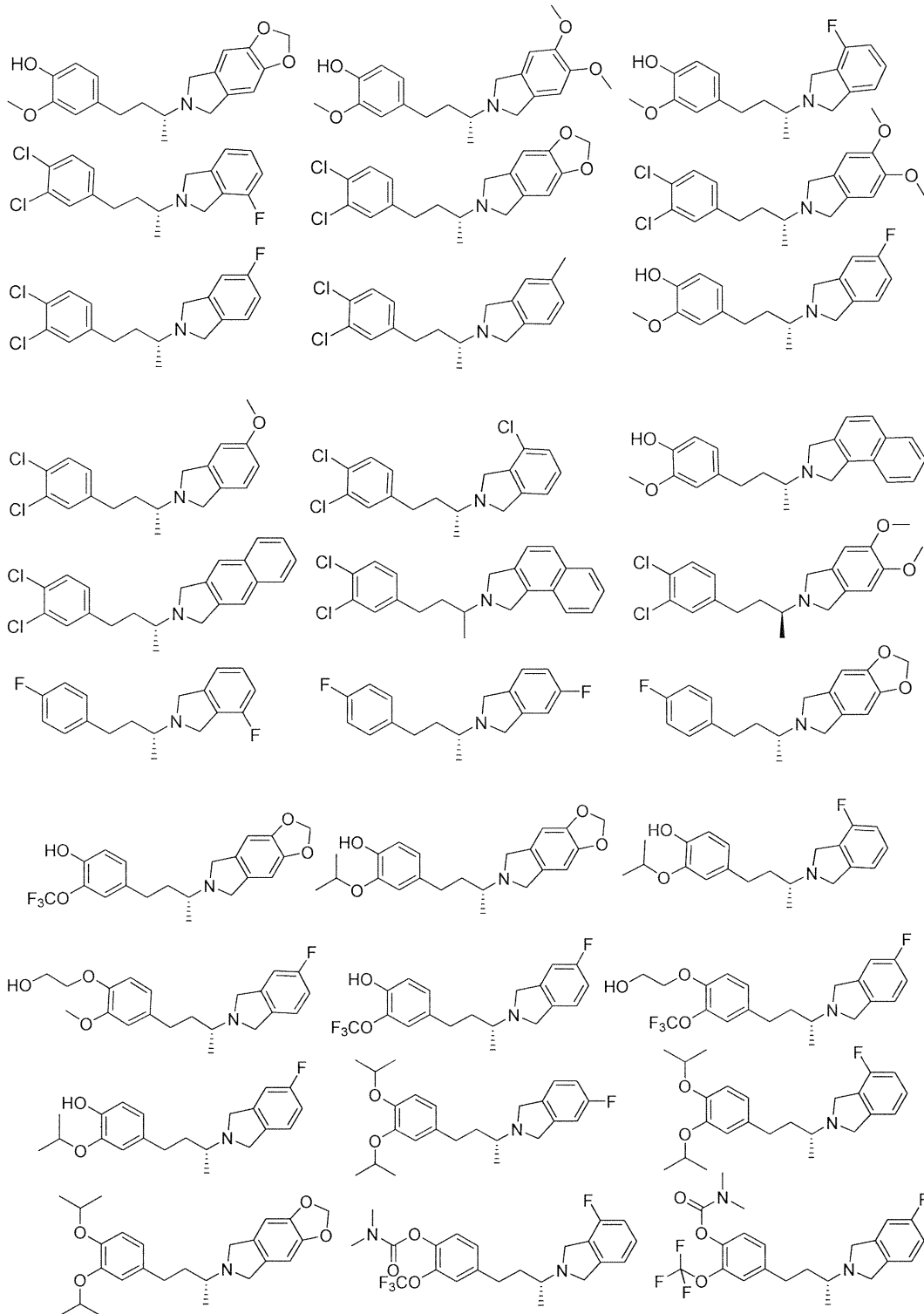
【0010】

さらなる実施形態では、式 I による化合物またはその薬学的に許容される塩が提供され、式中、R₇、R₁₀、R₁₁ はそれぞれ H であり；R₃ および R₄ は、H、F、Cl、S(O)_nR'、C(O)R' からそれぞれ独立して選択され、ここでは、n = 2 であり、R' は、CH₃、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モルホリニルから選択され；R₈ は、OH、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂ または OC(CH₃)₃ から選択され；R₉ は OH である。

【0011】

別の実施形態では、

【化 3】



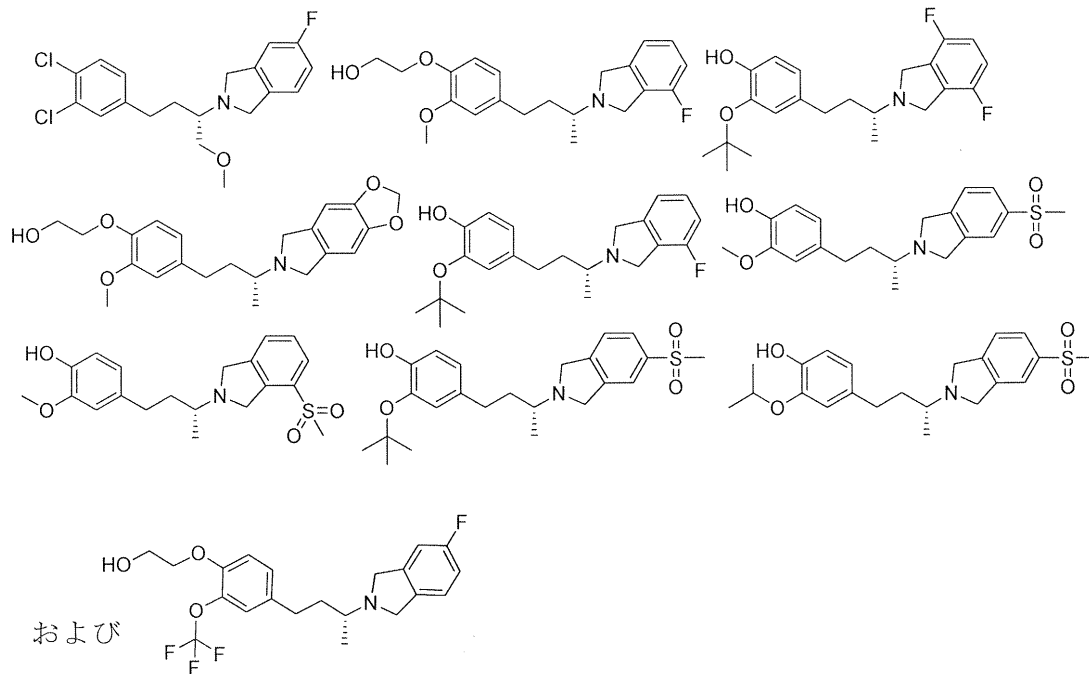
10

20

30

40

50



10

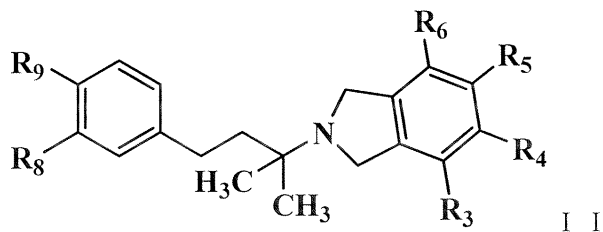
からなる群より選択される化合物またはその薬学的に許容される塩が提供される。

【0012】

20

さらなる実施形態では、式 I I :

【化4】



I I

による化合物またはその薬学的に許容される塩が提供され、式中、

30

R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、Cl、F、OH、 CH_3 、 C_{1-6} アルキル、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $OC(CH_3)_3$ 、 OC_{1-6} アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、 CO_2R' 、 $CONR'_{2-6}$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_{2-6}$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)R'$ 、 $OC(O)N(R')_2$ または $C(O)NH(C_{1-4}$ アルキル) からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 0$ 、1 または 2 であり； R' は、それぞれ独立して H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル；または任意選択で置換されたアリール、アルキルアリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、 C_{1-6} アルコキシ、 $NH(C_{1-4}$ アルキル) もしくは $NH(C_{1-4}$ アルキル) $_2$ であり、ここでは、任意選択で置換された基は、 C_{1-6} アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択されるか；あるいは

40

R_3 および R_4 は、それが結合している C 原子とともに、6 員アリールを形成するか；あるいは R_3 と R_4 は、互いに結合して -O-C $_{1-2}$ メチレン-O-基を形成するか；あるいは R_4 および R_5 は、それが結合している C 原子とともに、6 員アリールを形成するか；あるいは R_4 と R_5 は、互いに結合して -O-C $_{1-2}$ メチレン-O-基を形成し；

R_8 および R_9 は、H、Cl、F、OH、 CH_3 、 C_{1-6} アルキル、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $OC(CH_3)_3$ 、 $O(CO)R'$ 、 OC_{1-6} アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、 CO_2R' 、 $CONR'_{2-6}$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_{2-6}$ 、 $S(O)_nR'$ 、

50

OC(O)N(R')₂ または C(O)NH(C₁₋₄ アルキル) からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは

R₈ および R₉ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、C₁₋₆ アルキル、C₁₋₆ ハロアルキル、C₁₋₆ アルコキシ、C₁₋₆ ハロアルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシクロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ および R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは R₈ と R₉ は、互いに結合して -O-C₁₋₂ メチレン-O-基を形成する。

10

【0013】

さらなる実施形態では、式 I I による化合物または薬学的に許容される塩が提供され、式中、R₃、R₄、R₅ および R₆ のうち少なくとも 1 つが H ではなく；R₈ および R₉ のうち少なくとも一方が H ではない。

【0014】

別の実施形態では、式 I I による化合物または薬学的に許容される塩が提供され、式中、R₇、R₁₀、R₁₁ は、それぞれ H であり；R₃ および R₄ は、H、F、Cl、S(O)_nR'、C(O)R' からそれぞれ独立して選択され、ここでは、n = 2 であり、R' は、CH₃ または任意選択で置換されたピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イルもしくはモルホリニルから選択され、ここでは、任意選択で置換された基は、C₁₋₆ アルキルまたは C₂₋₇ アシルから選択され；R₈ は、OH、Cl、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂ または OC(CH₃)₃ から選択され；R₉ は OH または Cl である。

20

【0015】

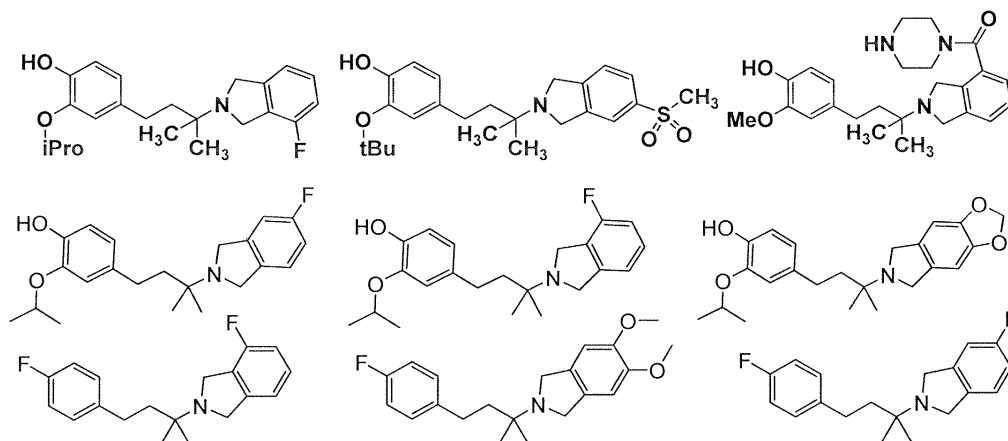
さらなる実施形態では、式 I I による化合物または薬学的に許容される塩が提供され、式中、R₃ および R₄ は、H、F、Cl、S(O)_nR'、C(O)R' からそれぞれ独立して選択され、ここでは、n = 2 であり、R' は、CH₃、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イルまたはモルホリニルから選択され；R₅ および R₆ はそれぞれ H であり；R₈ は、OH、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂ または OC(CH₃)₃ から選択され；R₉ は OH である。

30

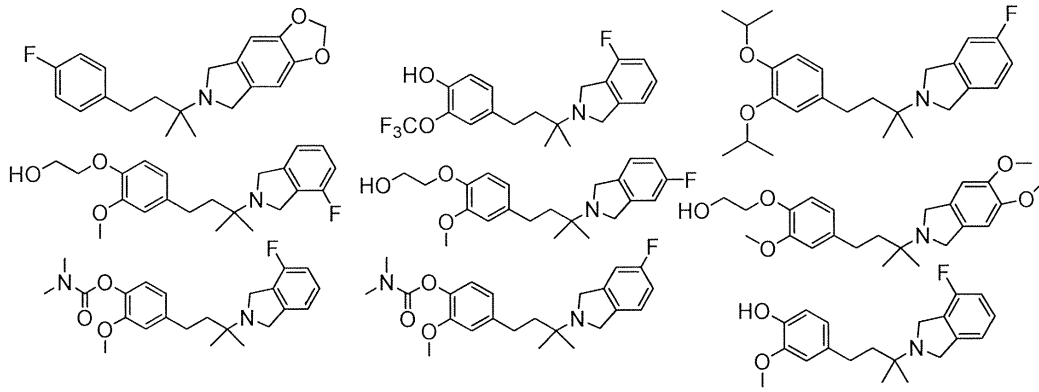
【0016】

さらなる実施形態では、化合物またはその薬学的に許容される塩は、

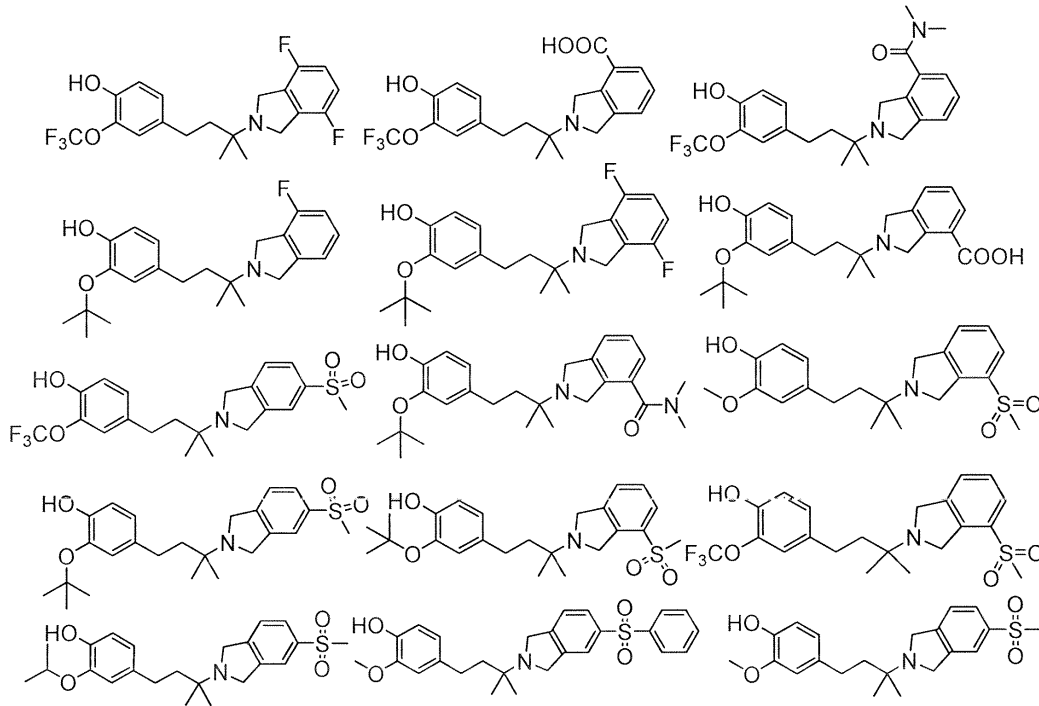
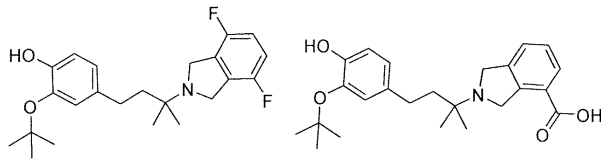
【化 5】



40

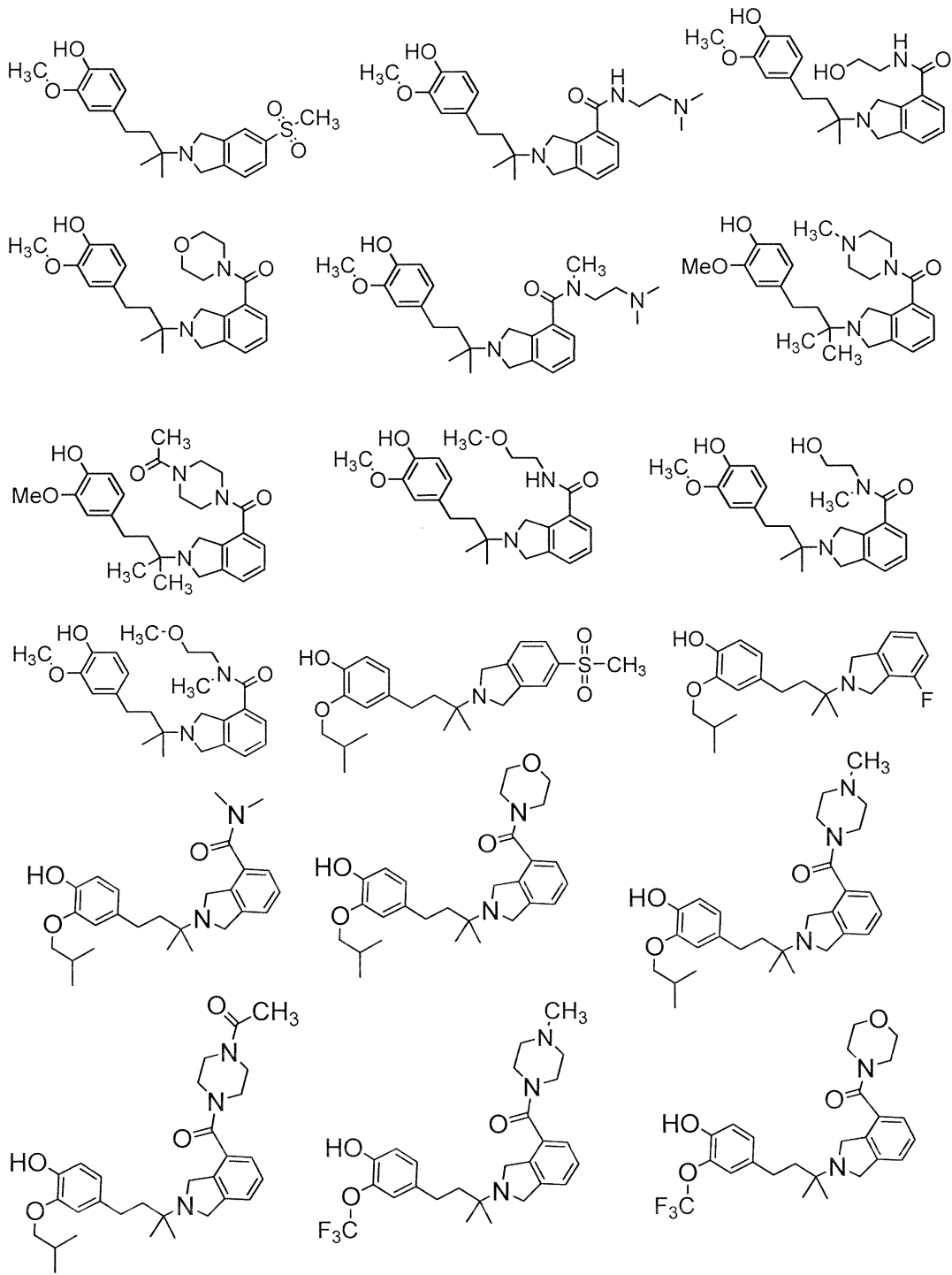


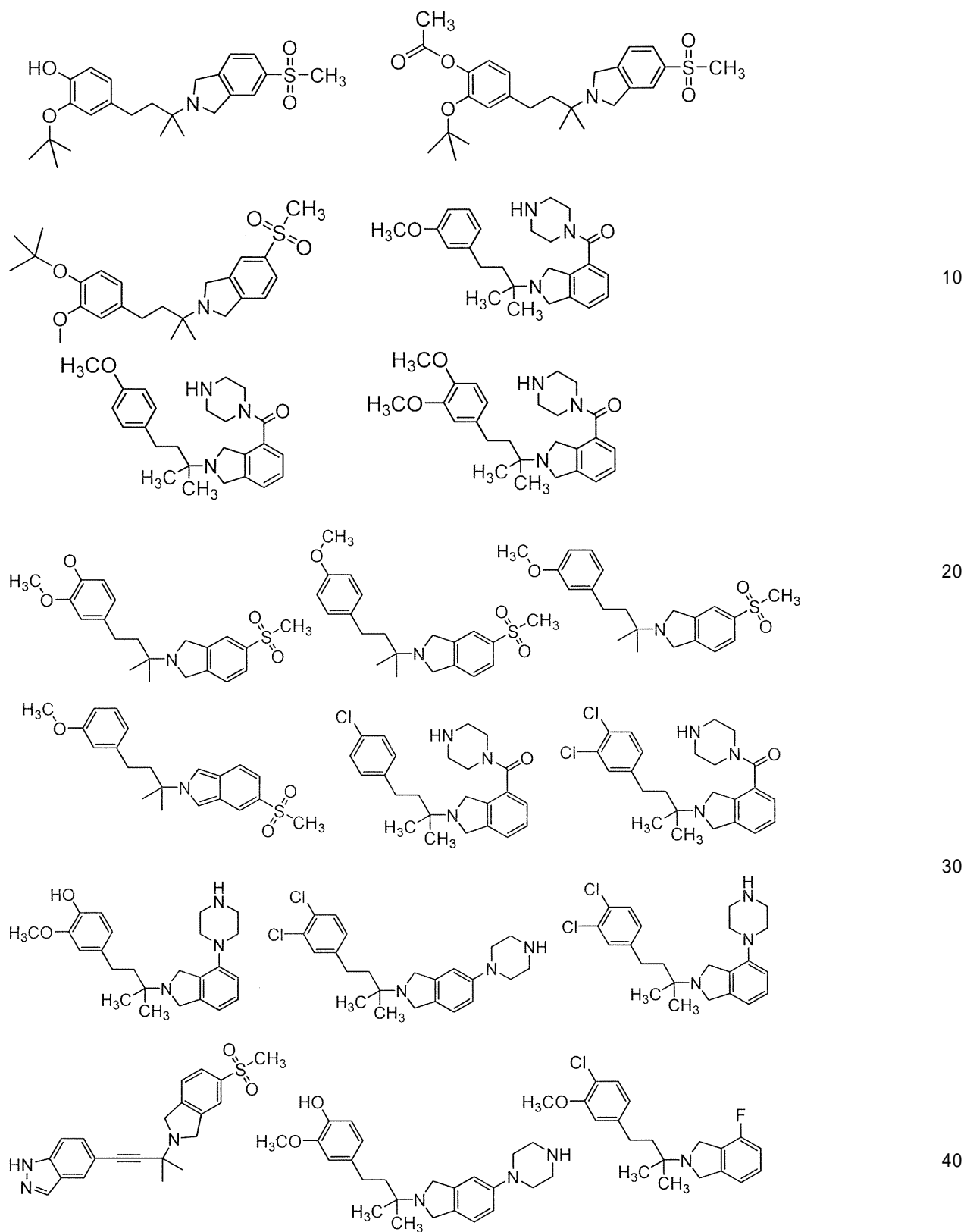
10

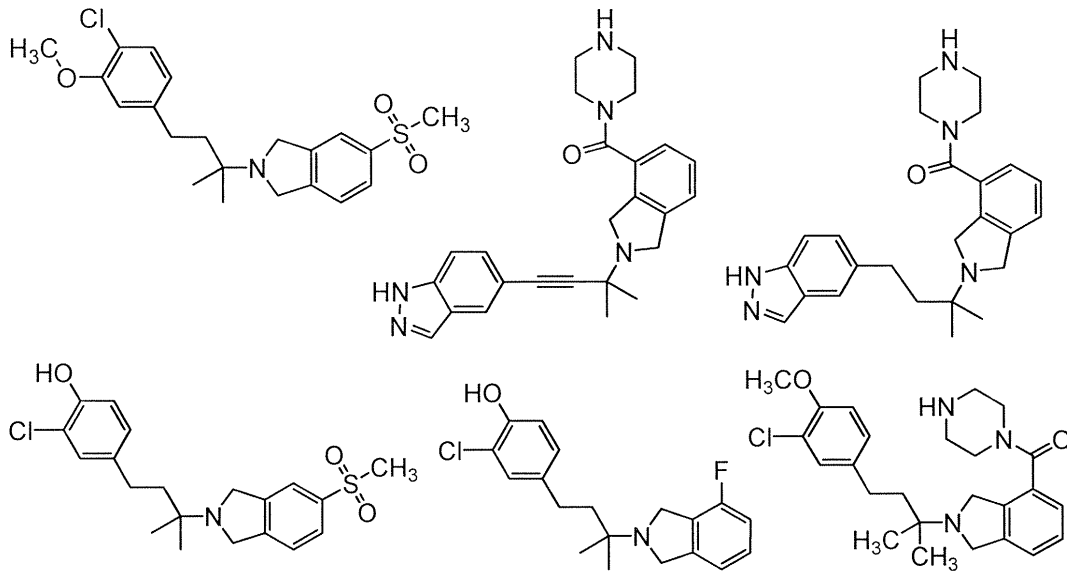


20

30







10

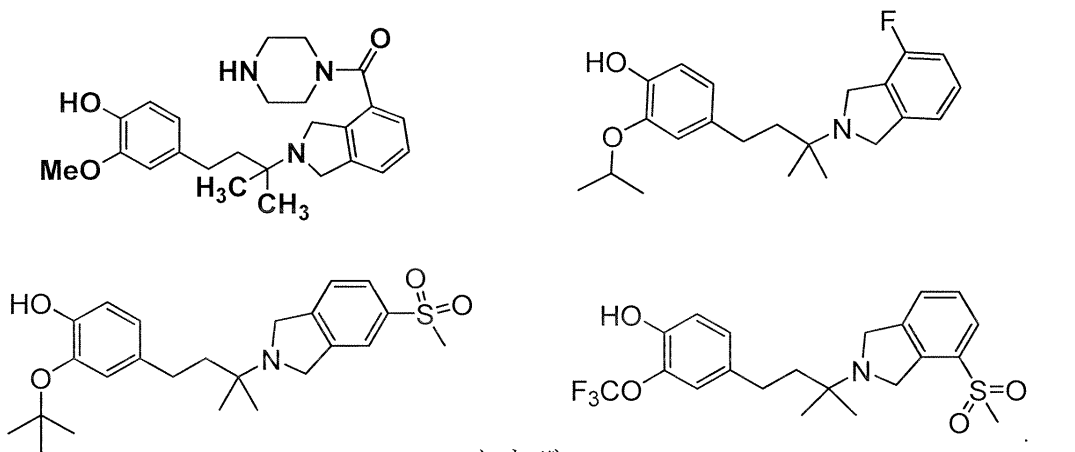
からなる群より選択される。

【0017】

さらなる実施形態では、

【化6】

20



30

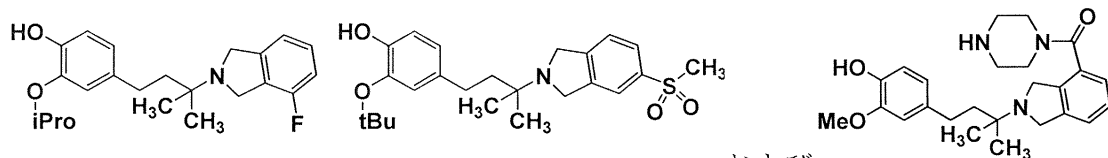
および

からなる群より選択される化合物またはその薬学的に許容される塩が提供される。

【0018】

さらなる実施形態では、

【化7】



40

および

からなる群より選択される化合物またはその薬学的に許容される塩が提供される。

【0019】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害する組成物であって、式I：

C_6 ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ $C_1 \sim 6$ アルキル、アリアル、ヘテロアリアル、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルアリアル、ヘテロアリアル、 CO_2R' 、 $C(O)R'$ 、 $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $N(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})_2$ 、 $NH(C_3 \sim 7 \text{ シクロアルキル})$ 、 $NHC(O)(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $CONR'_2$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)O(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $OC(O)N(R')_2$ 、 $C(O)(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ および $C(O)NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 0, 1$ または 2 であり； R' は、それぞれ独立して H 、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、アリアル、アルキルアリアル、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリアル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ または $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})_2$ であるか；あるいは

10

R_7 および R_8 は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、 OH 、アミノ、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $C_1 \sim 6$ ハロアルコキシ、アリアル、アリアルアルキル、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルアルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシクロアルキル、アリアル、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリアル基を形成し、 R^9 および R^{10} は、結合、 C 、 N 、 S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは R_7 と R_8 は、互いに結合して $-O-C_1 \sim 2$ メチレン $-O-$ 基を形成するか；あるいは

20

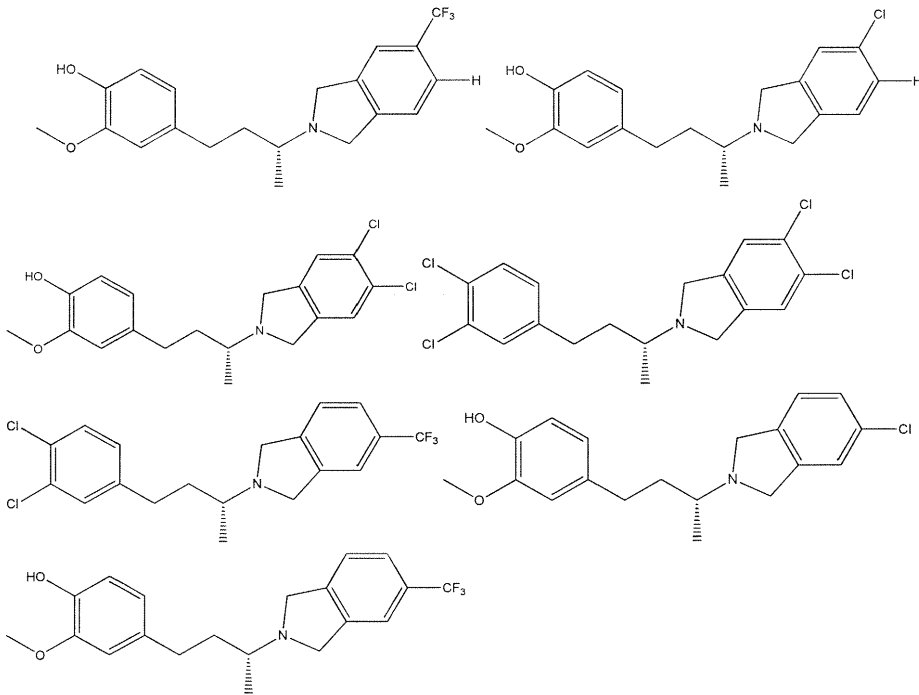
R_8 および R_9 は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、 OH 、アミノ、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $C_1 \sim 6$ ハロアルコキシ、アリアル、アリアルアルキル、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルアルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシクロアルキル、アリアル、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリアルを形成し、 R^9 および R^{10} は、結合、 C 、 N 、 S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは R_8 と R_9 は、互いに結合して $-O-C_1 \sim 2$ メチレン $-O-$ 基を形成し；

ここでは、 O 、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、ヘテロアリアル、アリアル、ヘテロアリアル、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキルはそれぞれ独立して、 OH 、アミノ、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $C_1 \sim 6$ ハロアルコキシ、アリアル、アリアルアルキル、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルアルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換されており；

30

ただし、以下の化合物：

【化9】



10

20

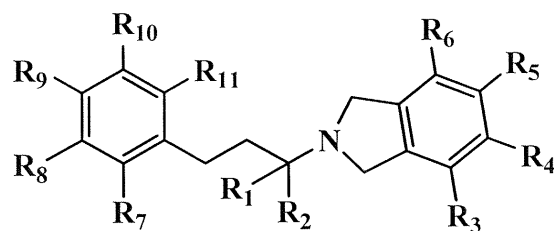
は除外される]

による化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、化合物またはその塩が、前記細胞のアミロイドベータオリゴマー結合を阻害するのに有効な量で組成物中に存在する、組成物が提供される。

【0020】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害する組成物であって、式I:

【化10】



I

30

[式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} は本明細書に明記される通りであり、ただし、 R_1 、 R_3 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} および R_{11} がそれぞれHであり； R_2 が CH_3 であり； R_8 が OCH_3 またはClであり； R_9 がOHまたはClである場合、 R_4 はClでも CF_3 でもなく、 R_5 はClでも CF_3 でもない]

40

による化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、化合物またはその塩が、前記細胞のアミロイドベータオリゴマー結合を阻害するのに有効な量で組成物中に存在する、組成物が提供される。

【0021】

別の実施形態では、式Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、式中、

R_1 および R_2 が、Hまたは CH_3 からそれぞれ独立して選択され；

R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 が、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、OH、 OCH_3 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)、 $O(C_1 \sim C_6$ ハロアルキル)、F、Cl、 CF_3 、アリーール、ヘテ

50

ロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、 CO_2R' 、 $C(O)R'$ 、 $OC(O)N(R')$
 $)_2$ 、 $CONR'_2$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)$
 $)_nR'$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 0$ 、 1 または 2 であり； R' が、それぞれ
 独立して H 、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、ピ
 ペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキルまた
 はアリールであるか；あるいは

R_3 および R_4 が、それが結合している C 原子とともに、 5 員または 6 員の $C_3 \sim 7$ シ
 クロアルキルまたはアリールを形成するか；あるいは R_4 および R_5 が、それが結合して
 いる C 原子とともに、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキルまたは 5 員もしくは 6 員アリールを形成す
 るか；あるいは R_3 と R_4 が、互いに結合して $-O-C_{1 \sim 2}$ メチレン- O -基を形成す
 るか；あるいは R_4 と R_5 が、互いに結合して $-O-C_{1 \sim 2}$ メチレン- O -基を形成し
 ；

10

R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} が、 H 、 OH 、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 F 、 Cl 、 CF_3 、 OCF_3 、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 OCH_3 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)
 $)$ 、 OCH_2CH_2OH 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル) OH 、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$
 シクロアルキル、アルキルアリール、 CO_2R' 、 $CONR'_2$ 、 $S(O)_nNR'$
 $'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)O(C_1 \sim 4$ アルキル)、 $OC(O)N(R')_2$ およ
 び $C(O)NH(C_1 \sim 4$ アルキル)からそれぞれ独立して選択され； $n = 0$ 、 1 または
 2 であり； R' が、それぞれ独立して H 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル
 、アリール、アルキルアリールまたは $C_1 \sim 6$ アルコキシである、

20

組成物が提供される。

【0022】

別の実施形態では、式Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許
 容される担体とを含み、式中、

R_7 、 R_{10} 、 R_{11} がそれぞれ H であり； R_3 および R_4 が、 H 、 F 、 Cl 、 $S(O)$
 $)_nR'$ 、 $C(O)R'$ からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 2$ であり、 R'
 が、 CH_3 、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニルから選択され
 ； R_8 が、 OH 、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ または OC
 $(CH_3)_3$ から選択され； R_9 が OH である、

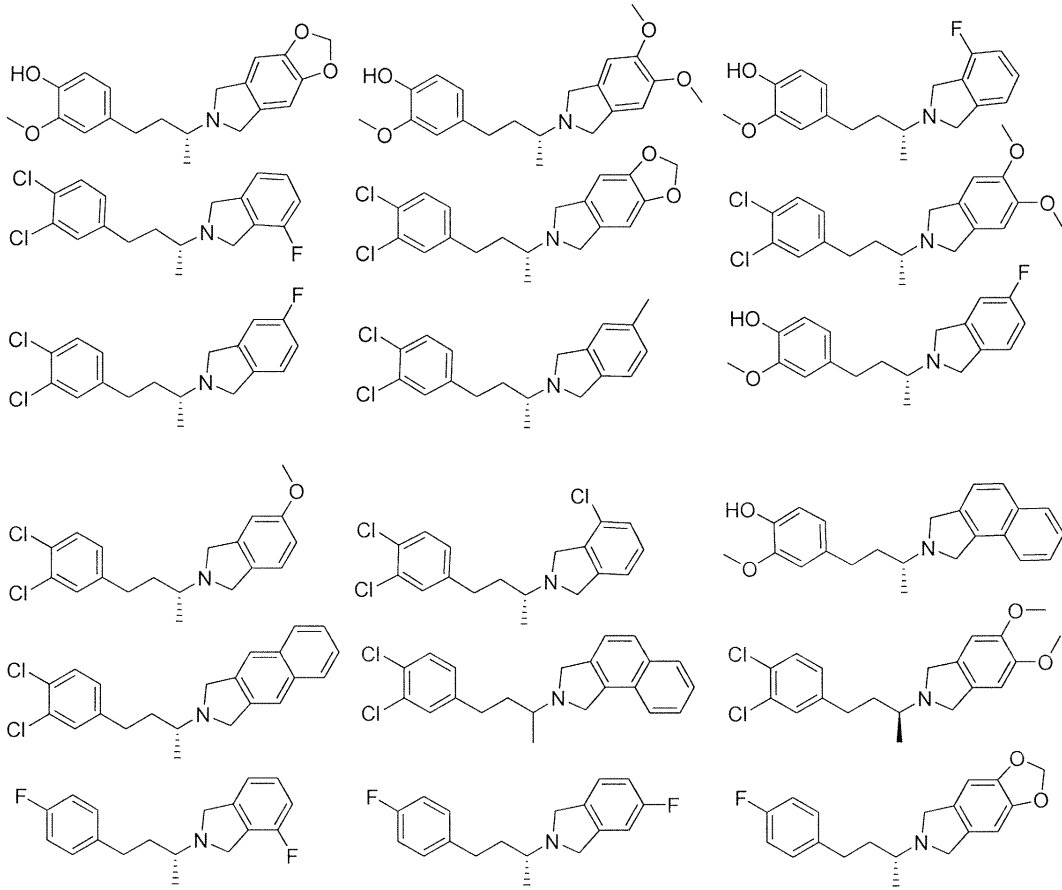
組成物が提供される。

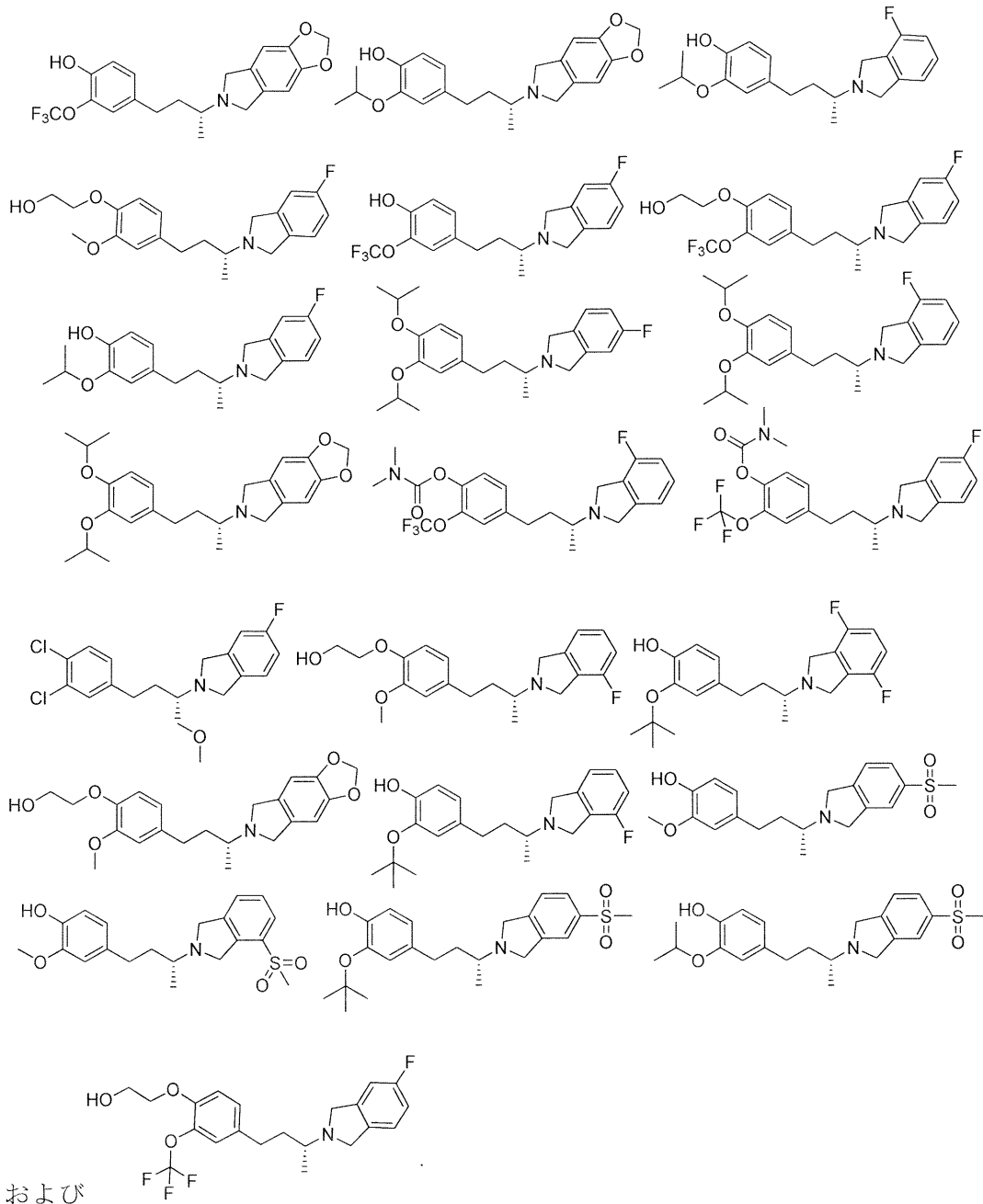
30

【0023】

別の実施形態では、式Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許
 容される担体とを含み、化合物またはその薬学的に許容される塩が、

【化 1 1】



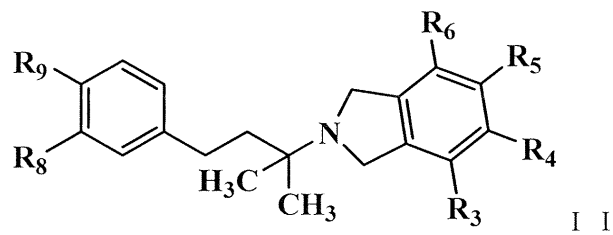


からなる群より選択される、組成物が提供される。

【0024】

別の実施形態では、式 I I :

【化12】



[式中、

R₃、R₄、R₅ および R₆ は、H、Cl、F、OH、CH₃、C₁~6 アルキル、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂、OC(CH₃)₃、OC₁~6 アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、CO₂R'、CONR

10

20

30

40

50

R'_2 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)R'$ 、 $OC(O)N(R')_2$ または $C(O)NH(C_{1-4}\text{アルキル})$ からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 0$ 、 1 または 2 であり； R' は、それぞれ独立してH、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキルまたは任意選択で置換されたアリール、アルキルアリール、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $NH(C_{1-4}\text{アルキル})$ もしくは $NH(C_{1-4}\text{アルキル})_2$ であり、ここでは、任意選択で置換された基は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択されるか；あるいは

R_3 および R_4 は、それが結合しているC原子とともに、6員アリールを形成するか；あるいは R_3 と R_4 は、互いに結合して-O-C₁₋₂メチレン-O-基を形成するか；あるいは R_4 および R_5 は、それが結合しているC原子とともに、6員アリールを形成するか；あるいは R_4 と R_5 は、互いに結合して-O-C₁₋₂メチレン-O-基を形成し；

R_8 および R_9 は、H、Cl、F、OH、CH₃、 $C_1 \sim 6$ アルキル、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂、OC(CH₃)₃、 $C_1 \sim 6$ アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、CO₂R'、CONR'₂、NC(O)R'、NS(O)_nR'、S(O)_nNR'₂、S(O)_nR'、OC(O)N(R')₂または $C(O)NH(C_{1-4}\text{アルキル})$ からそれぞれ独立して選択される]による化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物が提供される。

【0025】

別の実施形態では、式I Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、式中、 R_3 および R_4 が、H、F、Cl、S(O)_nR'、C(O)R'からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 2$ であり、 R' が、CH₃、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イルまたはモルホリニルから選択され； R_5 および R_6 がそれぞれHであり； R_8 が、OH、OCH₃、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂またはOC(CH₃)₃から選択され； R_9 がOHである、組成物が提供される。

【0026】

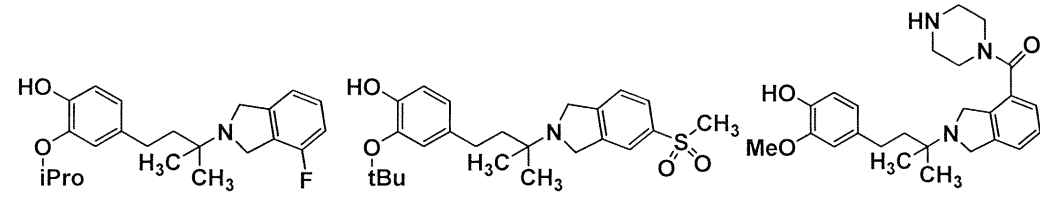
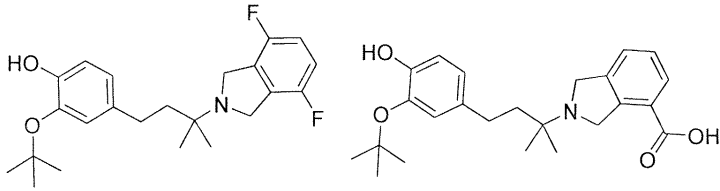
さらなる実施形態では、化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、化合物または塩が、

10

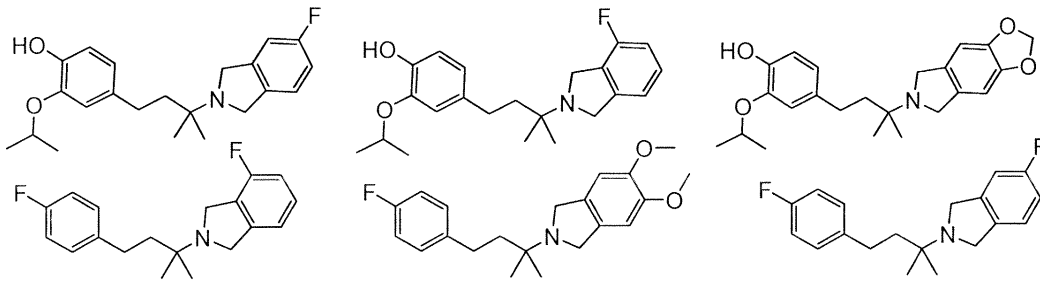
20

30

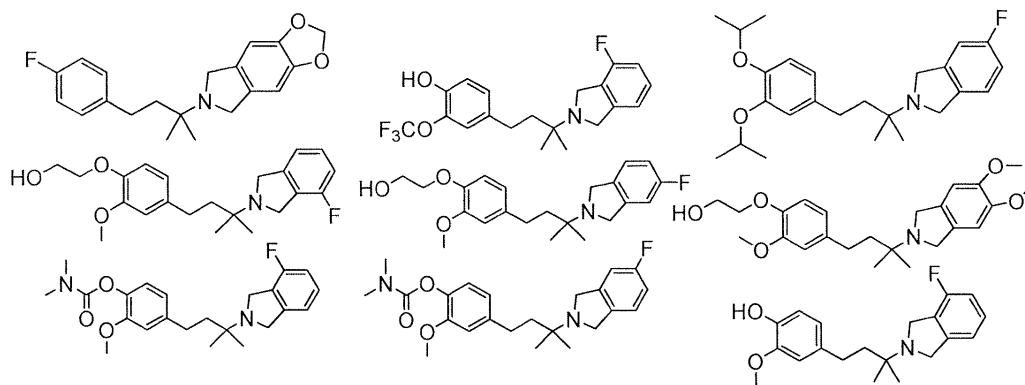
【化 1 3】



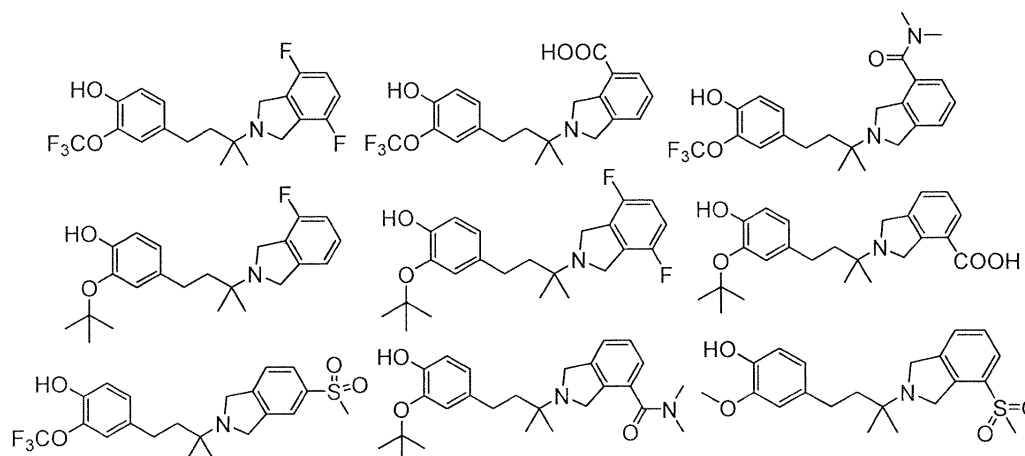
10



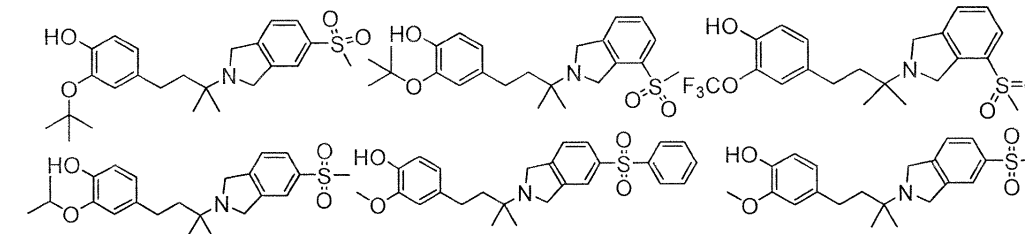
20



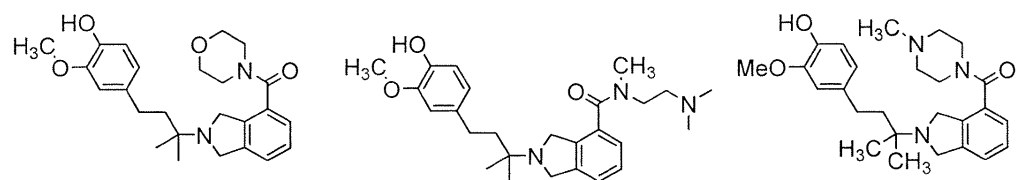
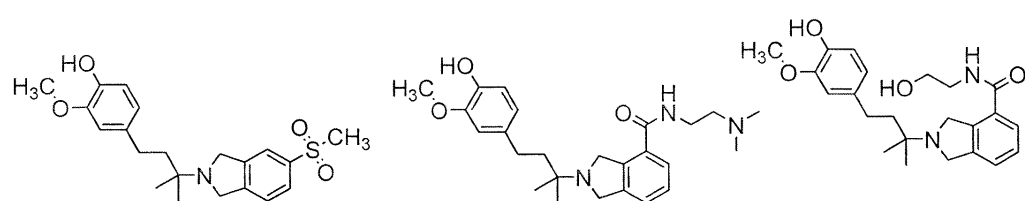
10



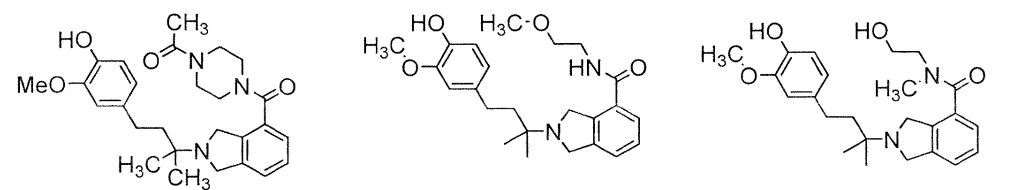
20

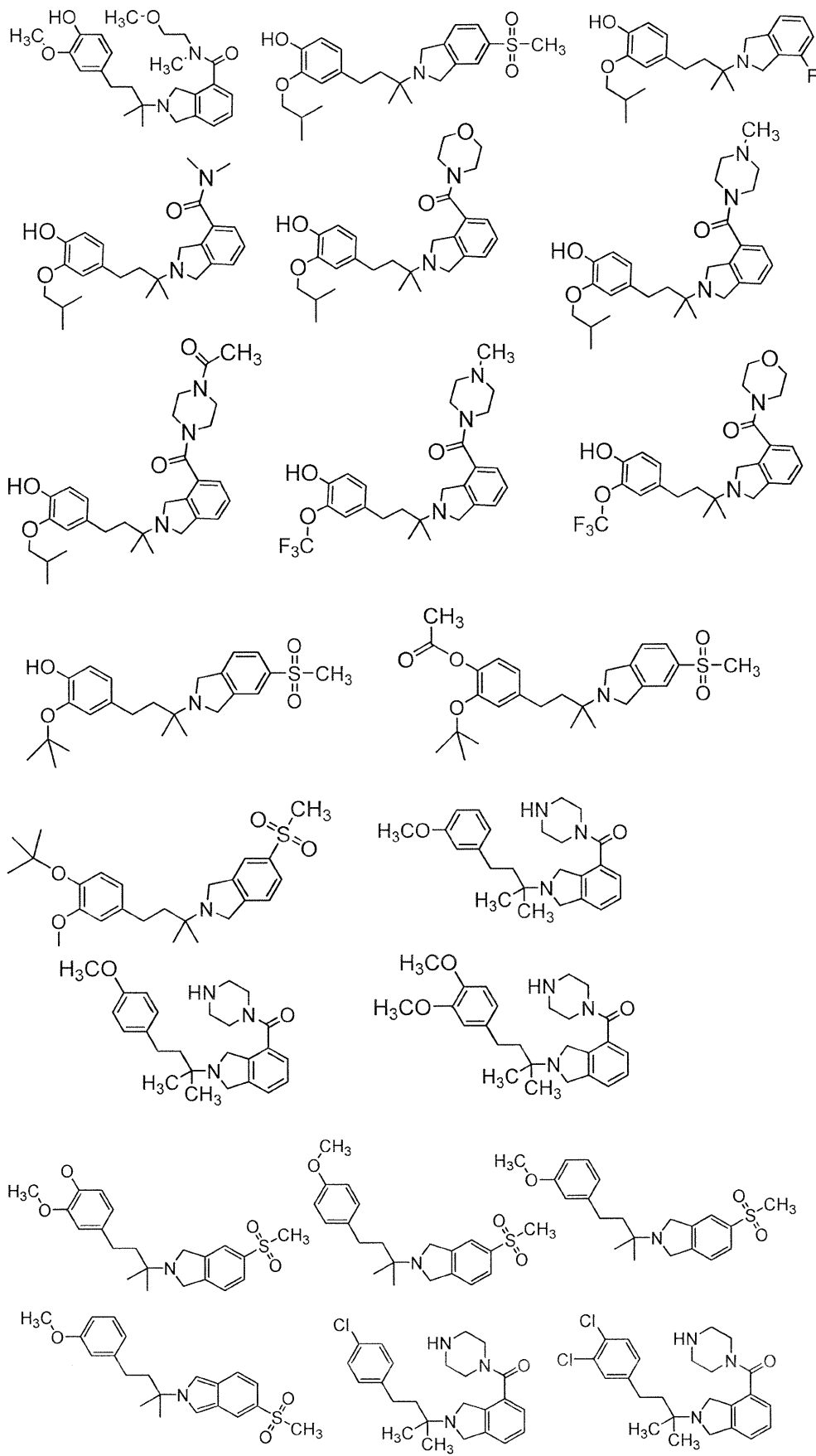


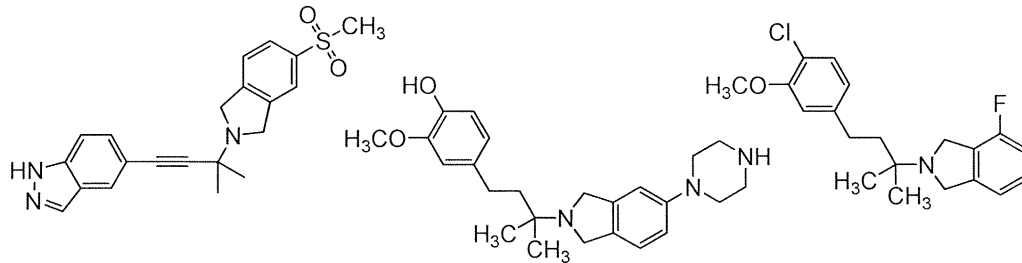
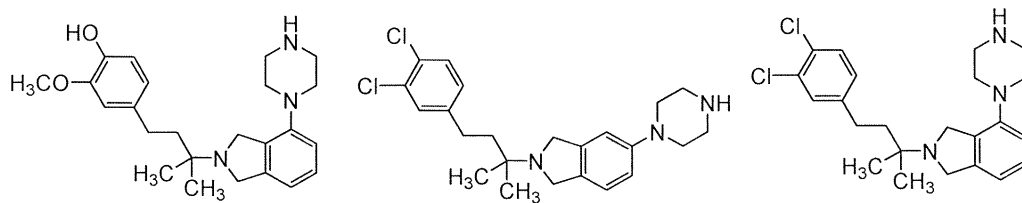
30



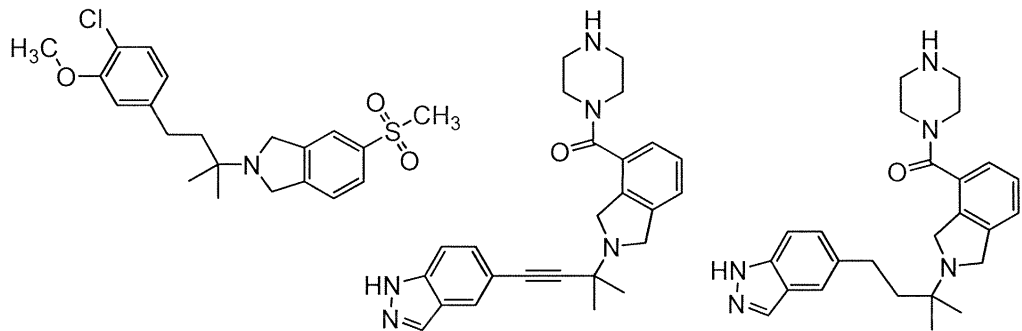
40



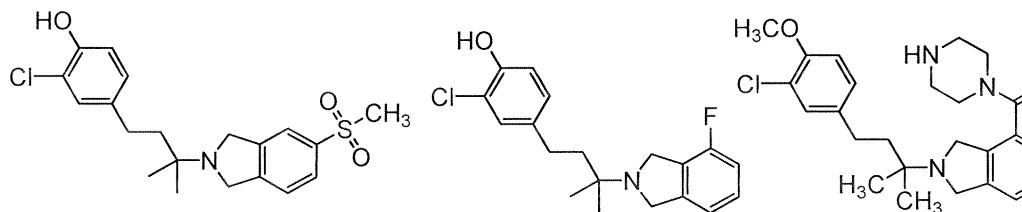




10



20



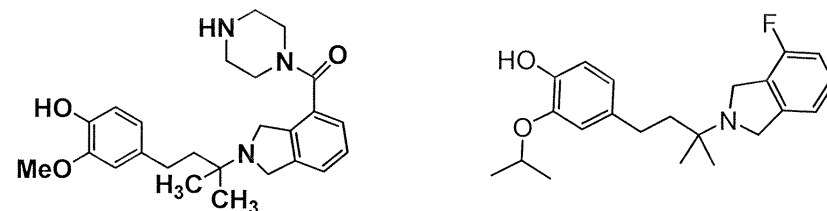
30

からなる群より選択される、組成物が提供される。

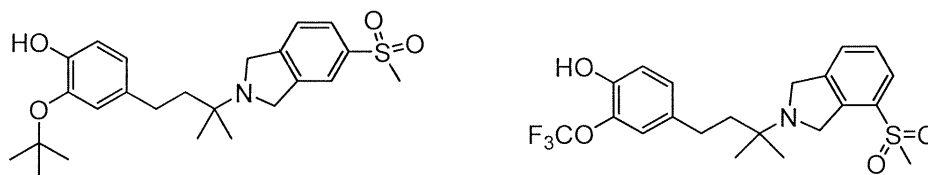
【0027】

さらなる実施形態では、化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、化合物または塩が、

【化14】



40



および

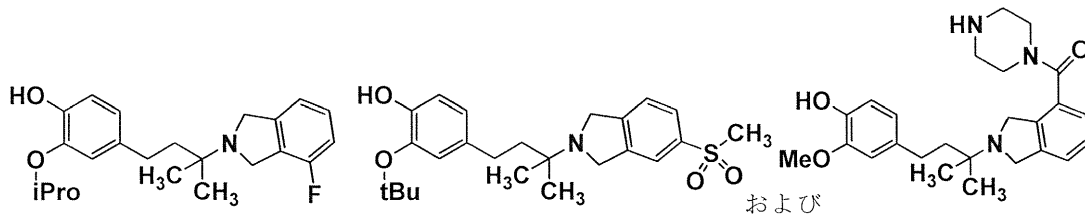
からなる群より選択される、組成物が提供される。

【0028】

さらなる実施形態では、化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容され

50

る担体とを含み、化合物または塩が、
【化15】

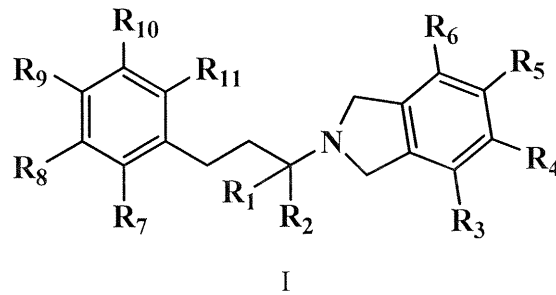


からなる群より選択される、組成物が提供される。

【0029】

一実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、式I:

【化16】



I

[式中、

R_1 および R_2 は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは CH_2OR' からそれぞれ独立して選択され；ここでは、 $R' = H$ または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、OH、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $OC(CH_3)_3$ 、 $O(C_1 \sim C_6 \text{ アルキル})$ 、 OCF_3 、 OCH_2CH_2OH 、 $O(C_1 \sim C_6 \text{ アルキル})OH$ 、 $O(C_1 \sim C_6 \text{ ハロアルキル})$ 、F、Cl、Br、I、 CF_3 、CN、 NO_2 、 NH_2 、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ $C_1 \sim 6$ アルキル、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルアリール、ヘテロアリール、 CO_2R' 、 $C(O)R'$ 、 $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $N(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})_2$ 、 $NH(C_3 \sim 7 \text{ シクロアルキル})$ 、 $NHC(O)(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $CONR'_2$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)R'$ 、 $C(O)O(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $OC(O)N(R')$ 、 $C(O)(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ および $C(O)NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ からそれぞれ独立して選択され；ここでは、 $n = 0$ 、1 または 2 であり； R' は、それぞれ独立して H、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル；または任意選択で置換されたアリール、アルキルアリール、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ もしくは $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})_2$ であり、ここでは、任意選択で置換された基は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択されるか；あるいは

R_3 および R_4 は、それが結合している C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $C_1 \sim 6$ ハロアルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシクロアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルを形成し、 R^3 と R^4 または R^4 と R^5 は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは R_3 と R_4 は、互いに結合して $-O-C_1 \sim 2$ メチレン $-O-$ 基を形成するか；あるいは

10

20

30

40

50

R₄ および R₅ は、それが結合している C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、C₁ -
 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロアルコキシ、ア
 リール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル
 およびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つ
 の置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシクロアルキル、
 アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルを形成し、R³ と R⁴ または R⁴
 と R⁵ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは R₄
 と R₅ は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成し；

R₇、R₈、R₉、R₁₀ および R₁₁ は、H、C₁ ~ C₆ アルキル、OH、OCH₃
 、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂、OC(CH₃)₃、O(C₁ ~ C₆
 アルキル)、OCF₃、OCH₂CH₂OH、O(C₁ ~ C₆ アルキル)OH、O(C₁
 ~ C₆ ハロアルキル)、F、Cl、Br、I、CF₃、CN、NO₂、NH₂、C₁ ~ C₆
 ハロアルキル、C₁ ~ C₆ ヒドロキシアルキル、C₁ - 6 アルコキシ C₁ - 6 アルキル
 、アリール、ヘテロアリール、C₃ - 7 シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキ
 ルアリール、ヘテロアリール、CO₂R'、C(O)R'、NH(C₁ - 4 アルキル)、
 N(C₁ - 4 アルキル)₂、NH(C₃ - 7 シクロアルキル)、NHC(O)(C₁ - 4
 アルキル)、CONR'₂、NC(O)R'、NS(O)_nR'、S(O)_nNR'₂、
 S(O)_nR'、C(O)O(C₁ - 4 アルキル)、OC(O)N(R')₂、C(O)
 (C₁ - 4 アルキル) および C(O)NH(C₁ - 4 アルキル) からそれぞれ独立して選
 択され；ここでは、n = 0、1 または 2 であり；R' は、それぞれ独立して H、CH₃、
 CH₂CH₃、C₃ ~ C₆ アルキル、C₁ ~ C₆ ハロアルキル；または任意選択で置換さ
 れたアリール、アルキルアリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モル
 ホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、C₁ - 6 アルコキシ、NH(C₁ -
 4 アルキル) もしくは NH(C₁ - 4 アルキル)₂ であり、ここでは、任意選択で置換さ
 れた基は、C₁ ~ C₆ アルキルまたは C₂ ~ C₇ アシルから選択されるか；あるいは

R₇ および R₈ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、
 ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロア
 ルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シ
 クロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4
 つまたは5つの置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシク
 ロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ お
 よび R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは
 R₇ と R₈ は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成するか；あるいは

R₈ および R₉ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、
 ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロア
 ルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シ
 クロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2つ、3つ、4
 つまたは5つの置換基で任意選択で置換された4員、5員、6員、7員または8員のシク
 ロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ お
 よび R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは
 R₈ と R₉ は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成し、

ここでは、O、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、ヘテロアリール、アリール
 、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキルはそれぞれ独立して、O
 H、アミノ、ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C
 1 - 6 ハロアルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール
 アルキル、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される1つ、2
 つ、3つ、4つまたは5つの置換基で任意選択で置換されており；

ただし、以下の化合物：

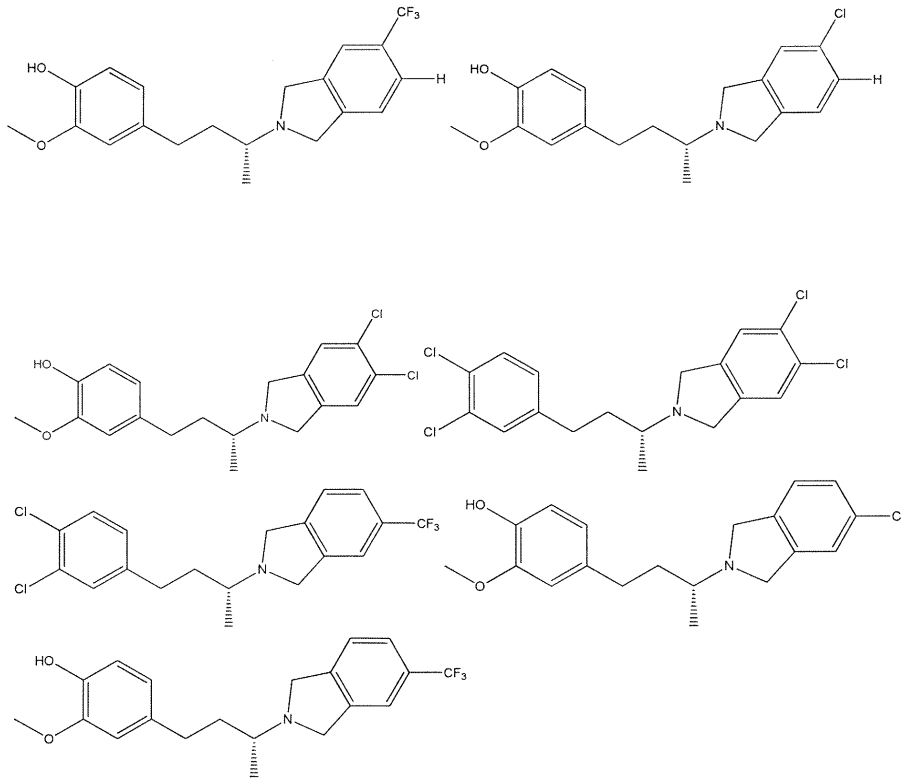
10

20

30

40

【化 17】



10

20

は除外される]

による選択的シグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む有効量の組成物を投与することを含み、化合物またはその薬学的に許容される塩が、前記細胞のアミロイドベータオリゴマー結合を阻害するのに有効な量である、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 3 0 】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法 / 使用であって、式 I による選択的シグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物またはその薬学的に許容される塩を含む有効量の組成物を投与することを含み、化合物またはその薬学的に許容される塩を、前記細胞の膜輸送不良を抑制するのにも有効な量で投与し、前記膜輸送作用が前記細胞の可溶性アミロイドベータオリゴマーへの曝露によるものである、方法 / 使用が提供される。

30

【 0 0 3 1 】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法 / 使用であって、式 I による選択的シグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物またはその薬学的に許容される塩を含む有効量の組成物を投与することを含み、化合物またはその薬学的に許容される塩を、細胞の可溶性アミロイドベータオリゴマーへの曝露による前記細胞のオリゴマー結合およびシナプス消失とともに抑制するのに有効な量で投与する、方法 / 使用が提供される。

40

【 0 0 3 2 】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法 / 使用であって、有効量の式 I による化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与することを含み、化合物またはその薬学的に許容される塩を、可溶性アミロイドベータオリゴマー仲介による認知作用を阻害するのに有効な量で投与する、方法 / 使用が提供される。一態様では、認知作用は、認知低下の動物モデルで試験される認知低下である。別の態様では、認知低下は、恐怖条件付けアッセイによって試験される学習の低下である。さらなる態様では、認知低下は、モーリス水迷路試験によって試験される空間学習および記憶の低下である。別の態様では、認知低下は、アルツ

50

ハイマー病のトランスジェニック動物モデルで試験される、海馬による空間学習および記憶の低下である。

【0033】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の式Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与することを含み、式中：

R_1 および R_2 が、Hまたは CH_3 からそれぞれ独立して選択され；

R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 が、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、OH、 OCH_3 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)、 $O(C_1 \sim C_6$ ハロアルキル)、F、Cl、 CF_3 、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、 CO_2R' 、 $C(O)R'$ 、 $OC(O)N(R')$ ₂、 $CONR'_2$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 0, 1$ または 2 であり； R' が、それぞれ独立してH、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキルまたはアリールであるか；あるいは

R_3 および R_4 が、それが結合しているC原子とともに、5員または6員の $C_3 \sim 7$ シクロアルキルまたはアリールを形成するか；あるいは R_4 および R_5 が、それが結合しているC原子とともに、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキルまたは5員もしくは6員アリールを形成するか；あるいは R_3 と R_4 が、互いに結合して-O-C₁₋₂メチレン-O-基を形成するか；あるいは R_4 と R_5 が、互いに結合して-O-C₁₋₂メチレン-O-基を形成し

；
 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} が、H、OH、 CH_3 、 CH_2CH_3 、F、Cl、 CF_3 、 OCF_3 、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 OCH_3 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)、 OCH_2CH_2OH 、 $O(C_1 \sim C_6$ アルキル)OH、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、アルキルアリール、 CO_2R' 、 $CONR'_2$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)O(C_1 \sim 4$ アルキル)、 $OC(O)N(R')$ ₂ および $C(O)NH(C_1 \sim 4$ アルキル) からそれぞれ独立して選択され； $n = 0, 1$ または 2 であり； R' が、それぞれ独立してH、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、アリール、アルキルアリールまたは $C_1 \sim 6$ アルコキシである、

方法/使用が提供される。

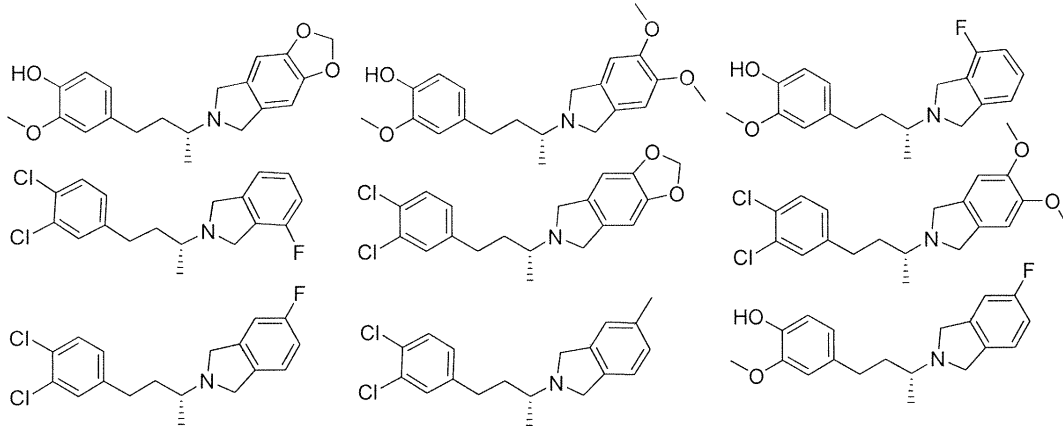
【0034】

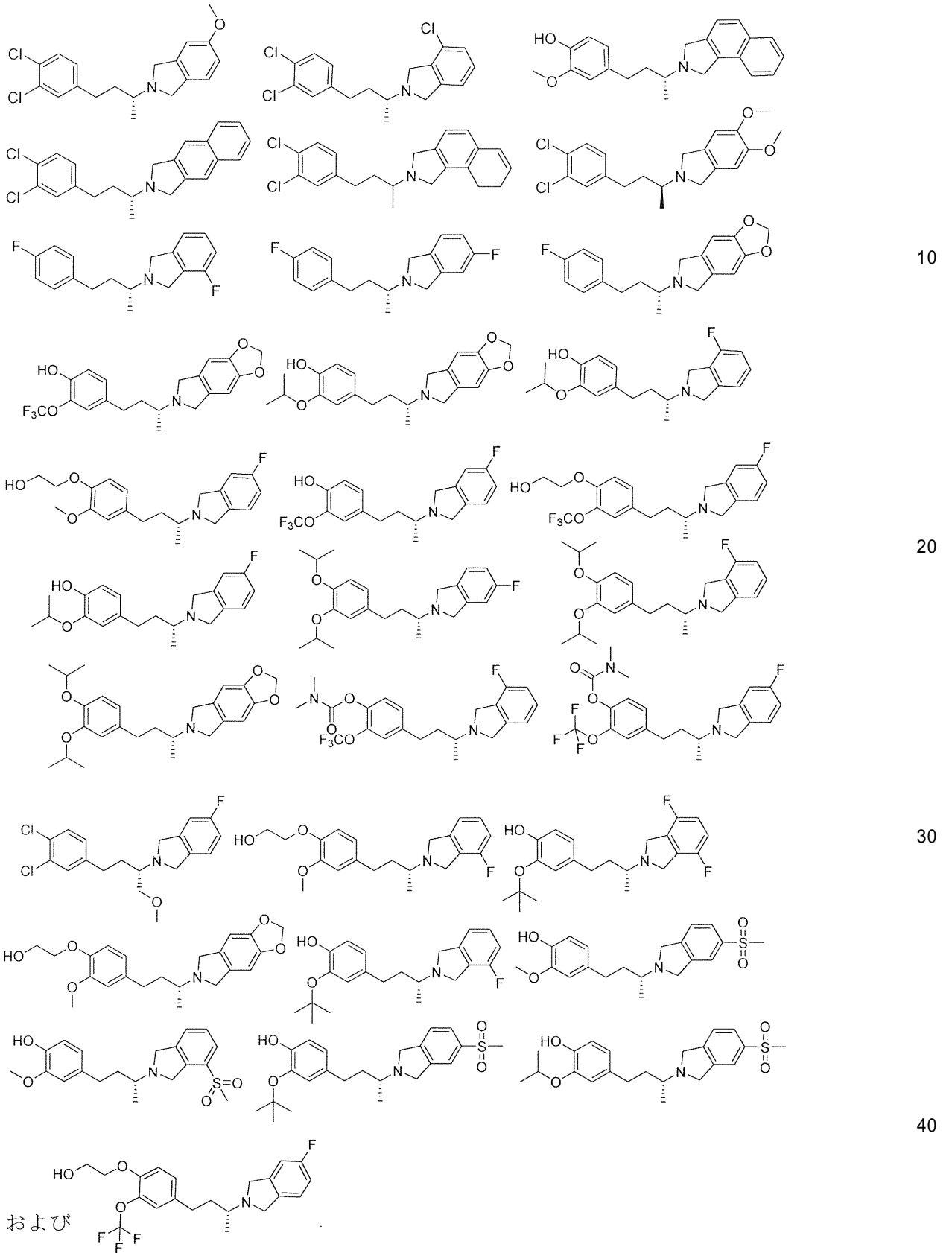
別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の式Iによる化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与することを含み、式中、 R_7 、 R_{10} 、 R_{11} がそれぞれHであり； R_3 および R_4 が、H、F、Cl、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)R'$ からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 2$ であり、 R' が、 CH_3 または任意選択で置換されたピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イルもしくはモルホリニルから選択され、ここでは、任意選択で置換された基が、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択され； R_8 が、OH、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ または $OC(CH_3)_3$ から選択され； R_9 がOHである、方法/使用が提供される。

【0035】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の

【化 1 8】



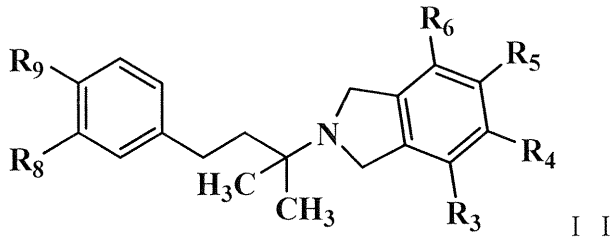


からなる群より選択される化合物またはその薬学的に許容される塩を含む組成物を投与することを含む、方法/使用が提供される。

【0036】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の式II:

【化19】



[式中、

R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、Cl、F、OH、 CH_3 、 C_{1-6} アルキル、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $OC(CH_3)_3$ 、 OC_{1-6} アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、 CO_2R' 、 $CONR'_2$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)R'$ 、 $OC(O)N(R')_2$ または $C(O)NH(C_{1-4}$ アルキル) からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 0$ 、1 または 2 であり； R' は、それぞれ独立して H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキルまたは任意選択で置換されたアリール、アルキルアリール、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、 C_{1-6} アルコキシ、 $NH(C_{1-4}$ アルキル) もしくは $NH(C_{1-4}$ アルキル) $_2$ であり、ここでは、任意選択で置換された基は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択されるか；あるいは

R_3 および R_4 は、それが結合している C 原子とともに、6 員アリールを形成するか；あるいは R_3 と R_4 は、互いに結合して $-O-C_{1-2}$ メチレン-O-基を形成するか；あるいは R_4 および R_5 は、それが結合している C 原子とともに、6 員アリールを形成するか；あるいは R_4 と R_5 は、互いに結合して $-O-C_{1-2}$ メチレン-O-基を形成し；

R_8 および R_9 は、H、Cl、F、OH、 CH_3 、 C_{1-6} アルキル、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $OC(CH_3)_3$ 、 OC_{1-6} アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、 CO_2R' 、 $CONR'_2$ 、 $NC(O)R'$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $OC(O)N(R')_2$ または $C(O)NH(C_{1-4}$ アルキル) からそれぞれ独立して選択される]

による化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与することを含む、方法/使用が提供される。

【0037】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の式 I I による化合物またはその薬学的に許容される塩を含む組成物を投与することを含み、式中、 R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 のうち少なくとも1つが H ではなく； R_8 および R_9 のうち少なくとも一方が H ではない、方法/使用が提供される。

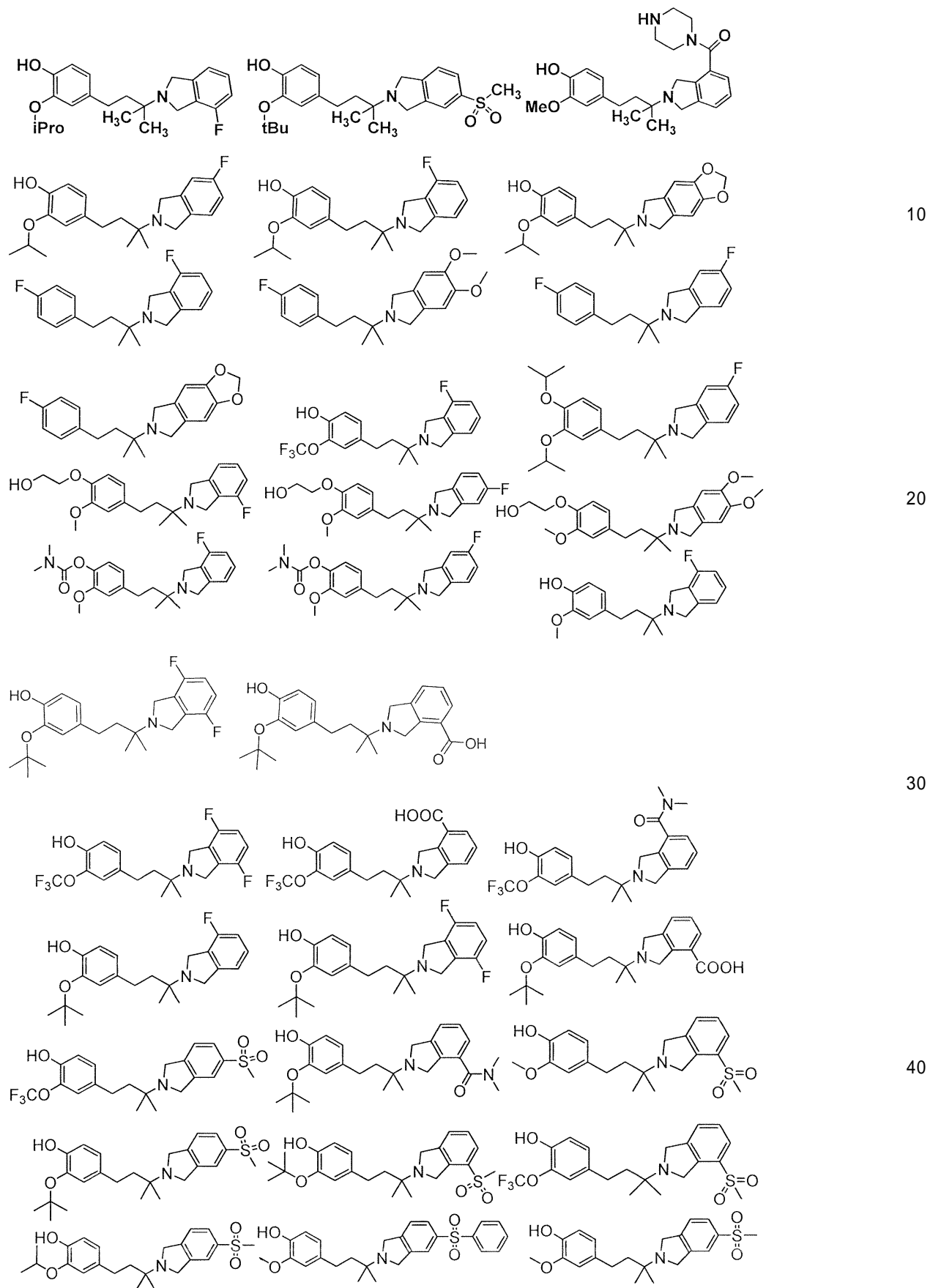
【0038】

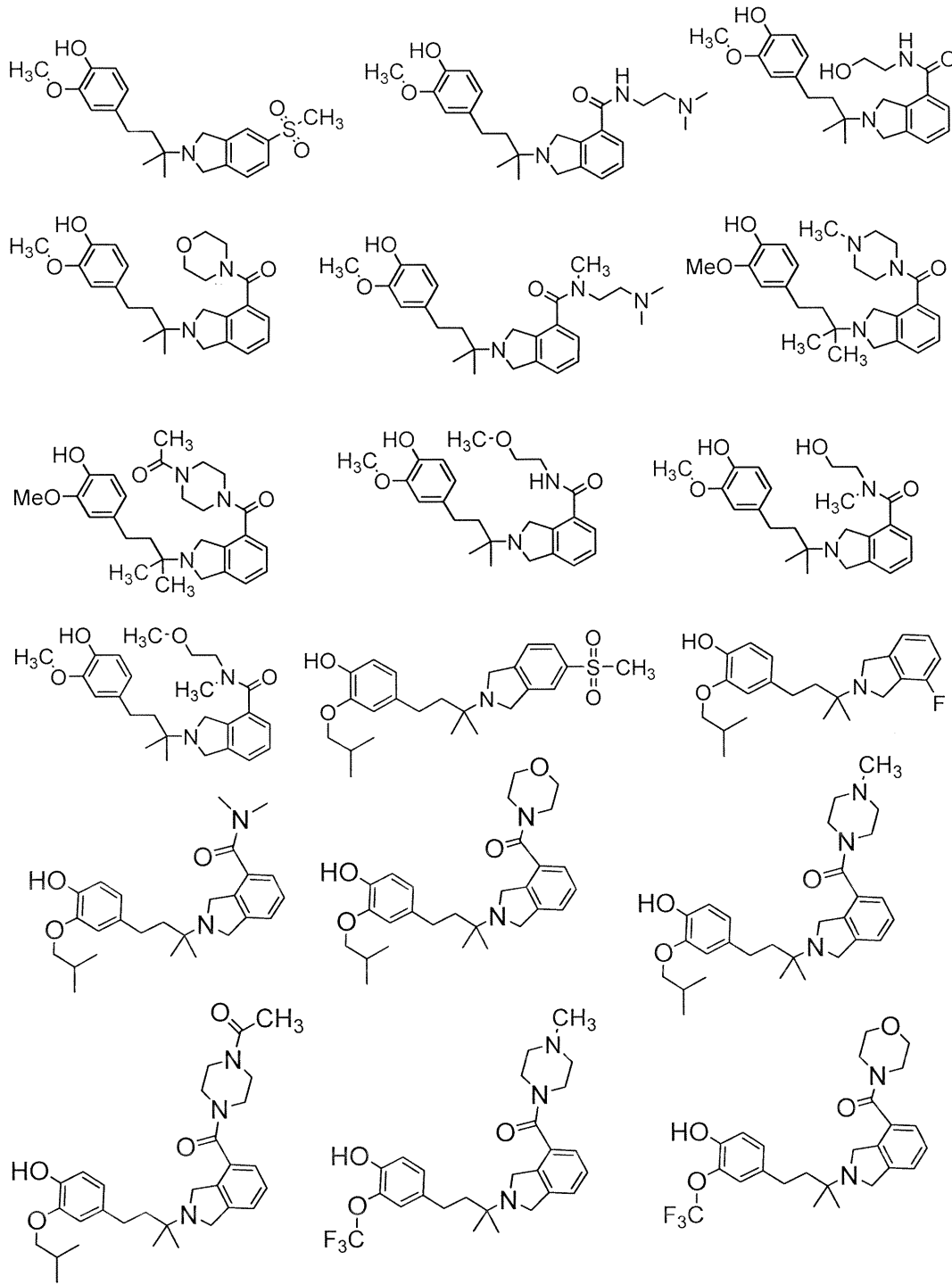
別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の式 I I による化合物またはその薬学的に許容される塩を含む組成物を投与することを含み、式中、 R_3 および R_4 が、H、F、Cl、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)R'$ からそれぞれ独立して選択され、ここでは、 $n = 2$ であり、 R' が、 CH_3 、ピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イルまたはモルホリニルから選択され； R_5 および R_6 がそれぞれ H であり； R_8 が、OH、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ または $OC(CH_3)_3$ から選択され； R_9 が OH である、方法/使用が提供される。

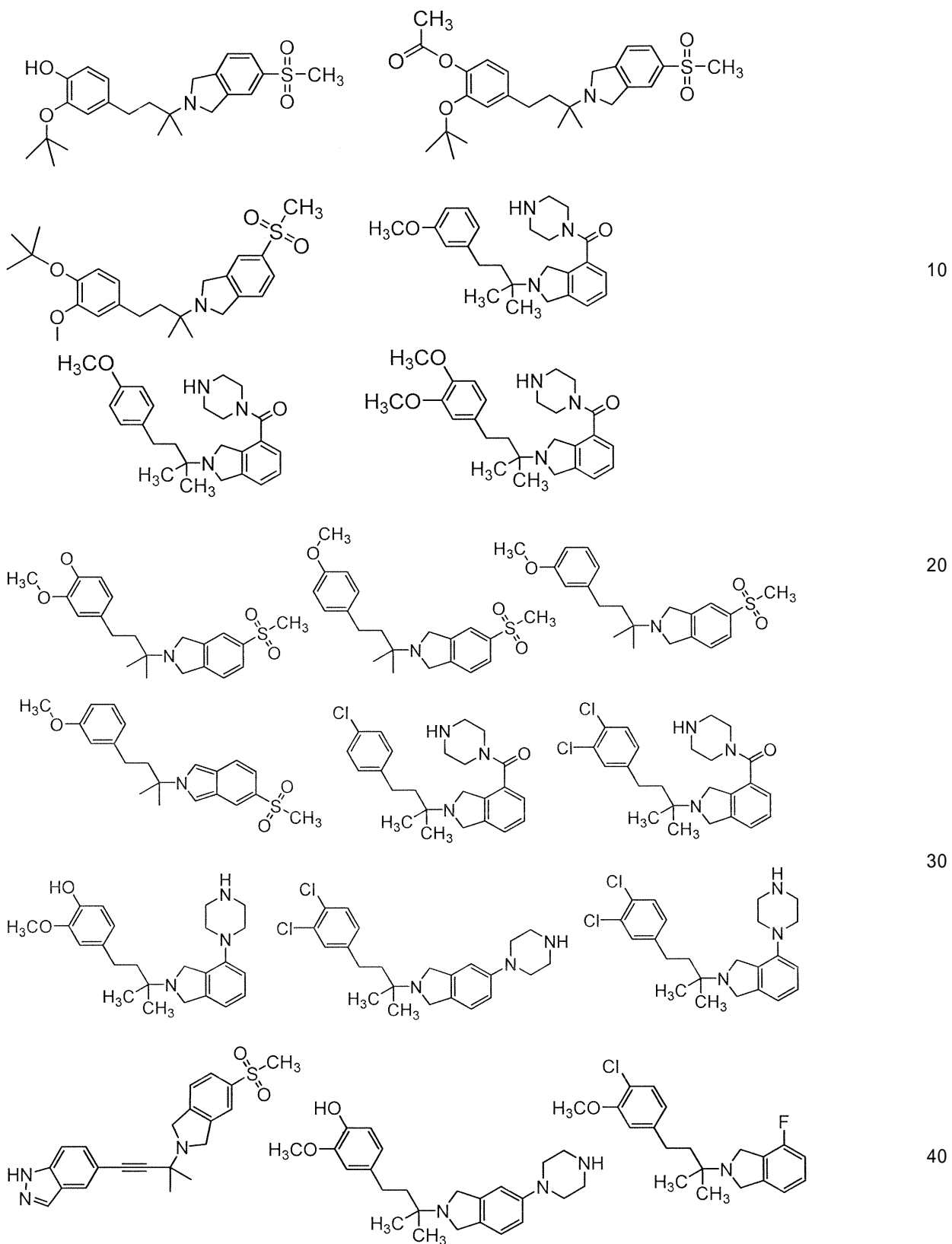
【0039】

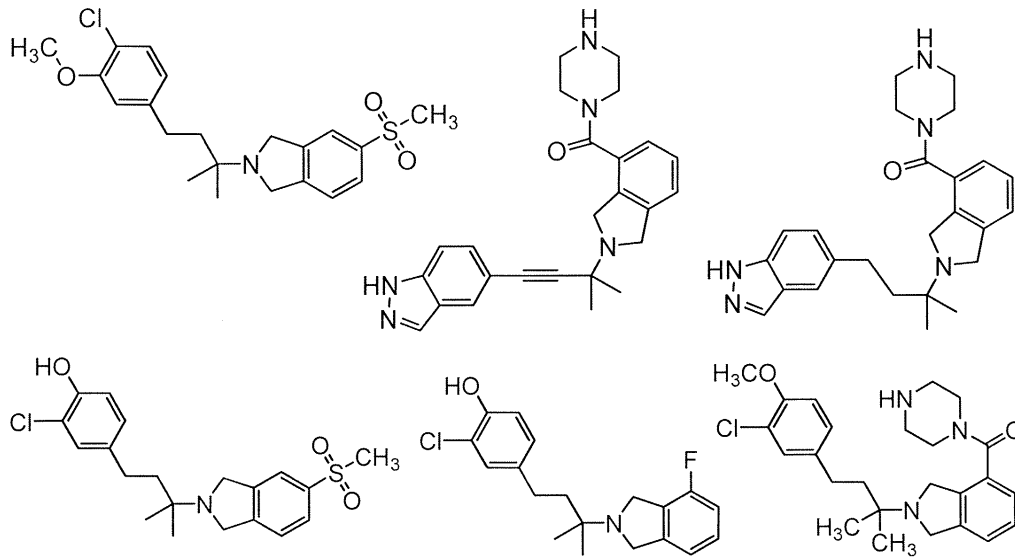
別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、有効量の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与することを含み、化合物またはその塩が、

【化 20】









10

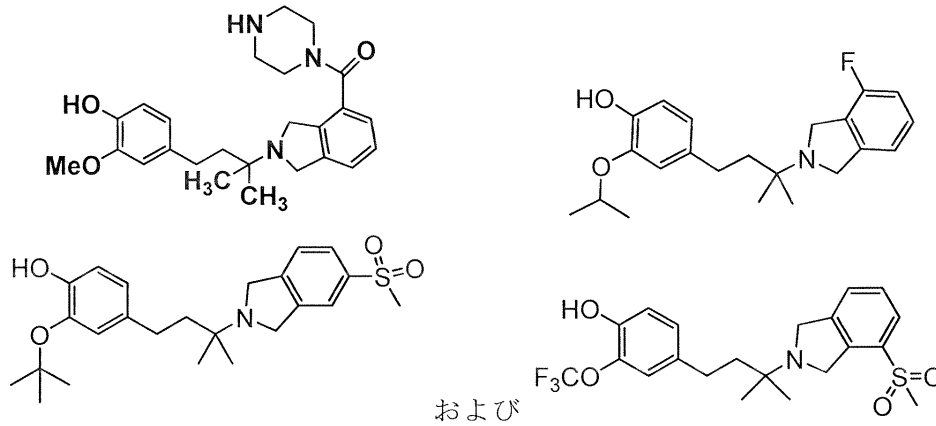
からなる群より選択される、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 0 】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法 / 使用であって、有効量の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与することを含み、化合物またはその塩が、

20

【 化 2 1 】



30

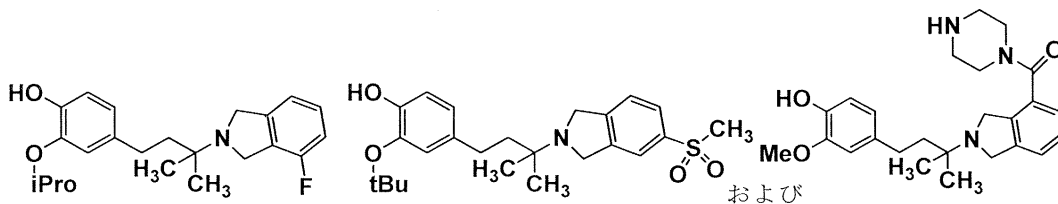
からなる群より選択される、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 1 】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法 / 使用であって、有効量の化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体を含む組成物を投与することを含み、化合物またはその塩が、

40

【 化 2 2 】



からなる群より選択される、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 2 】

別の実施形態では、必要とする対象の長期増強の抑制を阻害するための方法 / 使用であ

50

って、式 I および / または式 I I によるシグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物あるいはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む治療有効量の組成物を対象に投与することを含む、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 3 】

別の実施形態では、認知低下を示すか、認知低下を示すリスクのある対象の認知低下を抑制するための方法 / 使用であって、式 I および / または式 I I によるシグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物あるいはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む治療有効量の組成物を対象に投与することを含む、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 4 】

別の実施形態では、中枢ニューロンに対するアミロイドベータオリゴマー作用による対象の認知低下を抑制するための方法 / 使用であって、式 I および / または式 I I によるシグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物あるいはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む治療有効量の組成物を前記認知低下の認められる対象に投与することを含む、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 5 】

別の実施形態では、必要とする対象のアルツハイマー病の軽度認知障害を治療するための方法 / 使用であって、式 I および / または式 I I によるシグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物あるいはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む治療有効量の組成物を対象に投与することを含む、方法 / 使用が提供される。

【 0 0 4 6 】

さらなる実施形態では、シグマ - 2 受容体と結合し、A オリゴマーとニューロン、特にシナプスとの結合を阻害することによりシグマ - 2 アンタゴニストとして作用する、式 I および / または式 I I によるイソインドリン化合物またはその薬学的に許容される塩が提供される。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 アンタゴニストは、ニューロン、特にシナプスとの結合で A オリゴマーと競合するか、あるいは、A オリゴマー形成に干渉すること、または A オリゴマーと結合すること、または推測ではあるが、A オリゴマーがそのニューロンと結合することに付随するシグナル伝達機序を発動させる能力に干渉することなどにより、A オリゴマーがニューロンと結合する能力を崩壊させる。ある特定の実施形態では、このようにして、シグマ - 2 アンタゴニストが、特に動物の膜輸送障害、シナプス機能不全、記憶および学習障害、シナプス数の減少、樹状突起スパインの長さまたは形態の変化あるいは長期増強 (L T P) の障害を含めた非致死性の A 病態的作用 (「非致死性 A 病態」または「非致死性アミロイドベータ病態」) を阻害する。

【 0 0 4 7 】

他の実施形態では、本明細書で説明する他のアッセイで活性な本明細書に提供されるイソインドリンシグマ - 2 アンタゴニストは、ニューロンを正常な状態に回復させるか、A オリゴマー誘導性シナプス機能不全に干渉する能力を有する。理論に束縛されるものではないが、本明細書に提供されるシグマ - 2 アンタゴニストは、A オリゴマーの非致死性作用を打ち消すことおよび初期段階の可溶性 A オリゴマーによる病態の治療に有用な、A オリゴマーの構造、A オリゴマーとニューロンまたは A オリゴマー誘導性分子シグナル伝達機序との結合のうちの 1 つまたは複数に干渉する。

【 0 0 4 8 】

一実施形態では、機能的ニューロンアンタゴニストであり、神経細胞のシナプス消失を抑制する方法に使用される、式 I および / または式 I I によるシグマ - 2 アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩が提供され、シナプス消失は、1 つまたは複数の A ベータオリゴマーをはじめとする A ベータ複合体あるいはより一般的には、モノマー型、オリゴマー型または他の可溶性の複合体型 (のちに定義されるもの) の A ベータペプチドを含めた A ベータ種への細胞の曝露によるものであり、この方法は、前記細胞と、前記消失を防止または軽減するか、前記細胞のシナプス数を曝露前のレベルまで一部または全部回復させるのに有効な量の 1 つまたは複数のシグマ - 2 アンタゴニストとを接触させることを含む。

10

20

30

40

50

【0049】

別の実施形態では、神経細胞の膜輸送の変化を調節する方法が提供され、前記変化は、1つまたは複数のAベータ種への前記細胞の曝露によるものであり、この方法は、前記細胞と、前記膜輸送の変化を防止または軽減するか、前記細胞を前記Aベータ種に曝露する前に観察されるレベルまたはそれに近いレベルに維持するのに有効な量の式Iおよび/または式IIによる1つまたは複数のシグマ-2アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩とを接触させることを含む。

【0050】

別の実施形態では、本開示の1つまたは複数のシグマ-2アンタゴニストを対象に投与することを含む認知低下の治療法に使用する式Iおよび/または式IIによるシグマ-2アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩が提供される。

10

【0051】

別の実施形態では、必要とする対象の認知低下を治療する方法であって、有効量の式Iおよび/または式IIによる1つまたは複数のシグマ-2アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩を対象に投与することを含む、方法が提供される。

【0052】

さらに別の実施形態では、式Iおよび/または式IIによるシグマ-2アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩は、対象に本開示の1つまたは複数のシグマ-2アンタゴニストを投与することを含む、認知低下または神経変性障害あるいはシナプスの機能および/または数の欠如を治療する方法に使用する、機能的ニューロンシグマ-2アンタゴニストである。

20

【0053】

さらに別の実施形態では、対象の認知低下または神経変性障害あるいはシナプスの機能および/または数の欠如を治療する方法であって、機能的ニューロンシグマ-2アンタゴニストである式Iおよび/または式IIによる1つまたは複数のシグマ-2アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩を対象に投与することを含む、方法が提供される。

【0054】

さらなる実施形態では、神経細胞のアミロイドベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全を抑制し、かつ/またはニューロンのAベータオリゴマーへの曝露によって引き起こされる海馬長期増強抑制を阻害するのに有効な量の式Iおよび/または式IIによる1つまたは複数のシグマ-2受容体アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩を、必要とする対象に投与することを含む、方法が提供される。

30

【発明を実施するための形態】

【0055】

(詳細な説明)

化合物、組成物および方法について詳細に説明する前に、本開示は、説明される特定の工程、組成物および方法論のいずれにも限定されず、これらは様々なものであり得ることが理解されるべきである。ほかにも、説明に使用される用語は、単に特定の型または実施形態の説明を目的とするものであって、添付の「特許請求の範囲」によってのみ限定される本開示の範囲を限定することを意図するものではないことが理解されるべきである。別途定義されない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はいずれも、当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本開示の実施形態の実施または検証には、本明細書に記載されるものと同様または同等のものであればいかなる方法および材料も用いることができるが、好ましい方法、装置および材料について以下に説明する。

40

【0056】

さらに、明確にするために個々の実施形態との関連で記載される本開示の特定の特徴が、単一の実施形態において組み合わせられて記載されることが理解される。これとは逆に、簡潔にするために単一の実施形態との関連で記載される本開示の様々な特徴が、別個に、または適切な任意の部分的組合せで記載されることもあり得る。

【0057】

50

定義

単数形「a」、「an」および「the」は、文脈上明らかに別の意味を表す場合を除き、複数形の指示対象を包含する。したがって、例えば、「細胞」と言う場合、1つまたは複数の細胞および当業者に公知のその等価物を指す。

【0058】

本明細書で使用される「約」という用語は、所与の値の $\pm 10\%$ を意味する。例えば、「約50%」は45%~55%の範囲内にあることを意味する。

【0059】

「シグマ-2リガンド」は、シグマ-2受容体と結合する化合物を指し、この受容体またはタンパク質のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニスト、逆アゴニストのほか、これ以外のリガンドに対する競合物質を包含する。

10

【0060】

「アゴニスト」という用語は、その存在によって生じる受容体の生物活性が、その受容体の天然に存在するリガンドの存在によって生じる生物活性と同じものである化合物を指す。

【0061】

「部分アゴニスト」という用語は、その存在によって生じる受容体の生物活性が、その受容体の天然に存在するリガンドの存在によって生じる生物活性と同じ種類であるが強度が低いものである化合物を指す。

【0062】

「アンタゴニスト」という用語は、その存在によって受容体の生物活性の強度が低下する実体、例えば化合物、抗体またはフラグメントを指す。ある特定の実施形態では、アンタゴニストの存在によって受容体の生物活性が完全に阻害される。本明細書で使用される「シグマ-2受容体アンタゴニスト」という用語は、例えば膜輸送アッセイ、シナプス消失アッセイ、Aベータオリゴマー仲介によるカスパーゼ-3のシグマ-2受容体活性化もしくは行動アッセイなどの*in vitro*アッセイまたは必要とする患者にみられるAベータの作用、例えばAベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全を阻止するという点で、シグマ-2受容体において「機能的アンタゴニスト」として作用する化合物を表すのに使用される。機能的アンタゴニストは、例えばAベータオリゴマーとシグマ-2受容体との結合を阻害することによって直接的に、あるいはAベータオリゴマーとシグマ-2受容体との結合によって生じる下流シグナル伝達に干渉することによって間接的に作用し得る。

20

【0063】

「シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物」という用語は、測定可能な量でシグマ-2受容体と結合し、シグマ-2受容体結合によって生じるAベータ作用オリゴマー誘導性シナプス機能不全に対する機能的アンタゴニストとして作用する分子を指す。

【0064】

「選択性」または「選択的」という用語は、化合物のシグマ受容体、例えばシグマ-2受容体に対する結合親和性(K_i)を非シグマ受容体と比較したときの差を指す。シグマ-2アンタゴニストは、シナプスニューロンのシグマ受容体に対して高い選択性を有する。シグマ-2受容体またはシグマ2受容体とシグマ-1受容体の両方に対する K_i と非シグマ受容体に対する K_i とを比較する。いくつかの実施形態では、選択的シグマ-2受容体アンタゴニストまたはシグマ-1受容体リガンドは、様々な受容体での結合解離定数 K_i 値、 IC_{50} 値または結合定数の比較による評価で、シグマ受容体との結合に関して、非シグマ受容体の少なくとも10倍、20倍、30倍、50倍、70倍、100倍もしくは500倍またはそれ以上の親和性を有する。様々な受容体での K_i または IC_{50} 値は任意の既知のアッセイプロトコルを用いて評価することが可能であり、例えば、解離定数が既知の放射標識化合物の受容体からの競合的置換をモニターすることによって、例えば、ChengおよびPrusoffの方法(1973)(*Biochem. Pharmacol.* 22, 3099-3108)または本明細書に具体的に記載される方法などによ

40

50

って、評価することができる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 アンタゴニスト化合物は、非シグマ受容体と比較してシグマ - 2 受容体との結合に関して特異的な抗体またはその活性な結合フラグメントである。抗体またはフラグメントの場合、当該技術分野で公知の手段、例えば、Beattyら, 1987, J Immunol Meth, 100 (1-2): 173-179の方法またはChalquest, 1988, J. Clin. Microbiol. 26(12): 2561-2563の方法によりシグマ - 2 受容体またはフラグメントでの結合定数を算出し、非シグマ受容体での結合定数と比較することができる。非シグマ受容体は、例えば、ムスカリン性M1~M4受容体、セロトニン(5-HT)受容体、アルファアドレナリン受容体、ベータアドレナリン受容体、オピオイド受容体、セロトニン輸送体、ドーパミン輸送体、アドレナリン輸送体、ドーパミン受容体またはNMDA受容体から選択される。

10

【0065】

本願では、「高親和性」という用語は、化合物のシグマ - 1 受容体部位およびシグマ - 2 受容体部位の両方に対する結合親和性を測定するシグマ受容体結合アッセイにおいて、例えば、Weberら, Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 83: 8784-8788 (1986) (参照により本明細書に組み込まれる)による開示のように、 $[^3\text{H}]$ -DTGに対して600 nM未満、500 nM、400 nM、300 nM、200 nM、150 nM未満、100 nM未満、80 nM未満、60 nM未満または好ましくは50 nM未満の K_i 値を示す化合物を意味するものとする。特に好ましいシグマリグンドは、 $[^3\text{H}]$ -DTGに対して約150 nM未満、好ましくは100 nM未満、約60 nM未満、約10 nM未満または約1 nM未満の K_i 値を示す。

20

【0066】

「治療表現型」という用語は、挙動的有効性を予測する *in vitro* アッセイにおける化合物の活性パターンを表すのに使用される。(1)シグマ - 2 受容体と選択的に高親和性で結合し、(2)ニューロンのAベータオリゴマー誘導性作用に対する機能的アンタゴニストとして作用する化合物が、(i) A 誘導性膜輸送不良を阻止または軽減し、(ii) A 誘導性シナプス消失を阻止または軽減し、(iii) Aベータオリゴマーの非存在下では輸送にもシナプス数にも影響を及ぼさなければ、その化合物は「治療表現型」を有するものとする。この *in vitro* アッセイにおける活性パターンは、「治療表現型」と呼ばれ、挙動的有効性を予測するものである。

30

【0067】

「治療プロファイル」という用語は、治療表現型を満たすとともに、優れた脳透過性(血液脳関門を通過する能力)、優れた血漿中安定性および優れた代謝安定性を有する化合物を表すのに使用される。

【0068】

「薬物様特性」という用語は、本明細書では、シグマ - 2 受容体リガンドの投与時の脳透過性、代謝安定性および/または血漿中安定性を含めた薬物動態的特徴および安定性を表すのに使用される。

【0069】

「Aベータ種」または「A₁₋₄₂」は、可溶性アミロイドペプチド含有成分、例えばAベータモノマー、AベータオリゴマーまたはAベータペプチドと他の可溶性ペプチドもしくはタンパク質との複合体(モノマー型、ダイマー型またはポリマー型)およびアミロイド前駆体タンパク質の任意のプロセシング産物を含めたその他の可溶性Aベータ会合体を含む組成物を包含するものとする。可溶性A₁₋₄₂オリゴマーは神経毒性を示すことが知られている。A₁₋₄₂ダイマーでさえマウス海馬スライス シナプス可塑性を低下させることが知られている。当該技術分野で公知のある理論では、天然のA₁₋₄₂モノマーは神経保護性を示すと考えられ、神経毒性を示すにはA₁₋₄₂モノマーが自己会合して可溶性Aベータオリゴマーになる必要があるとされる。しかし、特定のA₁₋₄₂変異体モノマー(arc tic変異(E22G))があると家族性ADになることが報告されている。例えば、Giuffridaら, - Amyloid monomers are neuropr

40

50

o t e c t i v e . J . N e u r o s c i . 2 0 0 9 2 9 (3 4) : 1 0 5 8 2 - 1 0 5 8 7 を参照されたい。A ベータ種を含む調製物の非限定的な例が米国特許出願第 1 3 / 0 2 1 , 8 7 2 号 ; 米国特許公開第 2 0 1 0 / 0 2 4 0 8 6 8 号 ; 国際特許出願第 2 0 0 4 / 0 6 7 5 6 1 号 ; 国際特許出願第 2 0 1 0 / 0 1 1 9 4 7 号 ; 米国特許公開第 2 0 0 7 0 0 9 8 7 2 1 号 ; 米国特許公開第 2 0 1 0 0 2 0 9 3 4 6 号 ; 国際特許出願第 2 0 0 7 / 0 0 5 3 5 9 号 ; 米国特許公開第 2 0 0 8 0 0 4 4 3 5 6 号 ; 米国特許公開第 2 0 0 7 0 2 1 8 4 9 1 号 ; 国際特許出願第 2 0 0 7 / 1 2 6 4 7 3 号 ; 米国特許公開第 2 0 0 5 0 0 7 4 7 6 3 号 ; 国際特許出願第 2 0 0 7 / 1 2 6 4 7 3 号、国際特許出願第 2 0 0 9 / 0 4 8 6 3 1 号および米国特許公開第 2 0 0 8 0 0 4 4 4 0 6 号 (それぞれ参照により本明細書に組み込まれる) に開示されている。

10

【 0 0 7 0 】

「投与 (すること) 」は、本開示の化合物とともに使用される場合、化合物を標的組織内もしくは標的組織内に直接投与すること、または患者をはじめとする対象の全身もしくは局所に化合物を投与することを意味する。

【 0 0 7 1 】

本明細書で使用される「動物」という用語は、特に限定されないが、ヒトのほか、非ヒト脊椎動物、例えば野生動物、実験動物、飼育動物、家畜およびペットなどを包含する。

【 0 0 7 2 】

本明細書で使用される「対象」、「個体」および「患者」という用語は互換的に使用され、哺乳動物、マウス、ラットをはじめとするげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマ、霊長類、非ヒト霊長類、ヒトなどを含めた任意の動物を指す。

20

【 0 0 7 3 】

本明細書で使用される「接触 (させること) 」という用語は、分子 (細胞または細胞膜などのさらに高次の構造を有する分子) 同士が、2 つのペプチド間または 1 つのタンパク質とまた別のタンパク質をはじめとする分子、例えば小分子などとの間の非共有相互作用などの分子間相互作用が可能な距離の範囲内に収まるように、これらの分子を一緒にする、または組み合わせることを指す。いくつかの実施形態では、組み合わせた分子または接触させた分子が一般的な溶媒中で混合され、自由に会合することが可能な溶液中で接触を実施する。いくつかの実施形態では、細胞において、または細胞内で、あるいは無細胞環境中で接触を実施し得る。いくつかの実施形態では、無細胞環境は、細胞から作製した溶解物である。いくつかの実施形態では、細胞溶解物は、全細胞溶解物、核溶解物、細胞質溶解物およびその組合せであり得る。いくつかの実施形態では、無細胞溶解物は、細胞集団から細胞の核を取り出してから溶解させる、核の抽出および単離により得られる溶解物である。いくつかの実施形態では、核を溶解させないが、それでもなお、無細胞環境であるとみなされる。分子は、ボルテックス、振盪などの混合によって一緒にすることができる。

30

【 0 0 7 4 】

「改善する」という用語は、本開示により、それを提供、適用または投与する組織の特徴および / または物理的属性のいずれかが変化することを述べるのに使用される。「改善する」という用語はほかにも、病的状態が「改善する」とき、その病的状態に関連する症状または物理的特性が減少する、軽減される、消失する、遅延するまたは防止されることになるように、病的状態とともに使用され得る。

40

【 0 0 7 5 】

「阻害 (抑制) (すること) 」という用語は、特定の結果もしくは過程の阻止、防止または逆の結果もしくは過程の回復を包含する。本開示の化合物の投与による予防または治療の点から言えば、「阻害 (抑制) (すること) 」は、症状から (部分的にまたは完全に) 保護すること、症状の発現を遅延させること、症状を緩和すること、または疾患、状態もしくは障害から保護すること、これらを減少もしくは消失させることを包含する。

【 0 0 7 6 】

「輸送不良を抑制すること」という用語は、細胞、好ましくは神経細胞の可溶性 A b オ

50

リゴマー誘導性膜輸送不良を阻止する能力を指す。輸送不良を抑制することが可能な化合物は、例えば実施例6に記載されるように、膜輸送アッセイにおいて20 μM未満、15 μM未満、10 μM未満、5 μM未満、好ましくは1 μM未満のEC50を示し、さらに、可溶性Aベータオリゴマー誘導性膜輸送不良のAベータオリゴマー作用の阻害最大値の少なくとも50%、好ましくは少なくとも60%、より好ましくは少なくとも70%の阻害が可能である。

【0077】

「log P」という用語は、化合物の分配係数を指す。分配係数とは、2つの液相、例えばオクタノールと水それぞれの非イオン化合物の濃度の比のことである。イオン化可能な溶質化合物の分配係数を測定するには、優勢な化合物の形態が非イオン化型になるように水相のpHを調整する。溶媒中の非イオン化溶質化合物の濃度比の対数をlog Pと呼ぶ。log Pは脂溶性の尺度となる。例えば、

$$\log P_{\text{オクタノール/水}} = \log \left(\frac{[\text{溶質}]_{\text{オクタノール}}}{[\text{溶質}]_{\text{非イオン化、水}}} \right)$$

である。

【0078】

本明細書の様々な箇所において、本開示の化合物の置換基がグループまたは範囲の形で開示される。具体的には、本開示の実施形態には、このようなグループおよび範囲のメンバーのあらゆる個々の部分的組合せが含まれるものとする。例えば、「C₁₋₆アルキル」という用語は、具体的には、例えばメチル(C₁アルキル)、エチル(C₂アルキル)、C₃アルキル、C₄アルキル、C₅アルキルおよびC₆アルキルのほか、例えばC₁₋₂アルキル、C₁₋₃アルキル、C₁₋₄アルキル、C₂₋₃アルキル、C₂₋₄アルキル、C₃₋₆アルキル、C₄₋₅アルキルおよびC₅₋₆アルキルを個々に開示するものとする。

【0079】

ある可変物が2つ以上みられる本開示の化合物では、各可変物は、その可変物を定めるマーカッシュ群から選択される異なる部分であり得る。例えば、同じ化合物に2つのR基が同時に存在するように構造が記載されている場合、その2つのR基は、Rを定めるマーカッシュ群から選択される異なる部分を表し得る。

【0080】

nを整数とする「n員」という用語は通常、環形成原子の数がnである部分の環形成原子の数を表す。例えば、ピリジンは6員ヘテロアリアル環の一例であり、チオフエンは5員ヘテロアリアル基の一例である。

【0081】

本明細書で使用される「アルキル」という用語は、直鎖状または分岐状の飽和炭化水素基を指すものとする。アルキル基の例としては、特に限定されないが、メチル(Me)、エチル(Et)、プロピル(例えば、n-プロピルおよびイソプロピル)、ブチル(例えば、n-ブチル、イソブチル、t-ブチル)、ペンチル(例えば、n-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル)などが挙げられる。アルキル基は、1~約20個、2~約20個、1~約10個、1~約8個、1~約6個、1~約4個または1~約3個の炭素原子を含み得る。「アルキレン」という用語は二価アルキル連結基を指す。アルキレンの例にはメチレン(CH₂)がある。

【0082】

本明細書で使用される「アルケニル」は、1つまたは複数の炭素間二重結合を有するアルキル基を指す。アルケニル基の例としては、特に限定されないが、エテニル、プロベニル、シクロヘキセニルなどが挙げられる。「アルケニレニル」という用語は、二価連結アルケニル基を指す。

【0083】

本明細書で使用される「アルキニル」は、1つまたは複数の炭素間三重結合を有するアルキル基を指す。アルキニル基の例としては、特に限定されないが、エチニル、プロピニ

10

20

30

40

50

ルなどが挙げられる。「アルキニレニル」という用語は、二価連結アルキニル基を指す。

【0084】

本明細書で使用される「ハロアルキル」は、F、Cl、Brおよび/またはIから選択される1つまたは複数のハロゲン置換基を有するアルキル基を指す。ハロアルキル基の例としては、特に限定されないが、 CF_3 、 C_2F_5 、 CHF_2 、 CCl_3 、 $CHCl_2$ 、 C_2Cl_5 、 CH_2CF_3 などが挙げられる。

【0085】

本明細書で使用される「アリール」は、単環式または多環式（例えば、融合環を2個、3個または4個有する）芳香族炭化水素、例えば、フェニル、ナフチル、アントラセニル、フェナントレニル、インダニル、インデニルなどを指す。いくつかの実施形態では、アリール基は、6～約20個の炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、アリール基は、6～約10個の炭素原子を有する。

10

【0086】

本明細書で使用される「シクロアルキル」は、最大20個の環形成炭素原子を含む環化アルキル、アルケニルおよびアルキニル基を含めた非芳香族環式炭化水素を指す。シクロアルキル基は、単環式または多環式（例えば、融合環を2個、3個または4個有する）環系およびスピロ環系を含み得る。シクロアルキル基は、3～約15個、3～約10個、3～約8個、3～約6個、4～約6個、3～約5個または5～約6個の環形成炭素原子を含み得る。シクロアルキル基の環形成炭素原子は、任意選択でオキソまたはスルフィドによって置換されていてもよい。シクロアルキル基の例としては、特に限定されないが、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、シクロヘプチル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘキサジエニル、シクロヘプタトリエニル、ノルボルニル、ノルピニル、ノルカルニル、アダマンチルなどが挙げられる。シクロアルキルの定義にはこのほか、シクロアルキル環と融合した（すなわち、結合を共有している）芳香環を1つまたは複数有する部分、例えば、ペンタン、ペンテン、ヘキサンのベンゾまたはチエニル誘導体など（例えば、2,3-ジヒドロ-1H-インデン-1-イルまたは1H-インデン-2(3H)-オン-1-イル）が含まれる。好ましくは、「シクロアルキル」は、最大20個の環形成炭素原子を含む環化アルキル基を指す。シクロアルキルの例としては、好ましくは、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、シクロヘプチル、アダマンチルなどが挙げられる。

20

30

【0087】

本明細書で使用される「ヘテロアリール」基は、環形成原子を最大20個有し、硫黄、酸素または窒素などのヘテロ原子環員（環形成原子）を少なくとも1個有する、芳香族複素環を指す。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、硫黄、酸素および窒素からそれぞれ独立して選択される少なくとも1つまたは複数のヘテロ原子環形成原子を有する。ヘテロアリール基には、単環式および多環式（例えば、融合環を2個、3個または4個有する）系が含まれる。ヘテロアリール基の例としては、特に限定されないが、ピリジル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、フリル、キノリル、イソキノリル、チエニル、イミダゾリル、チアゾリル、インドリル、ピリル、オキサゾリル、ベンゾフリル、ベンゾチエニル、ベンゾチアゾリル、イソオキサゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、インダゾリル、1,2,4-チアジアゾリル、イソチアゾリル、ベンゾチエニル、プリニル、カルバゾリル、ベンゾイミダゾリル、インドリニルなどが挙げられる。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は環形成原子として、1～約20個の炭素原子、さらなる実施形態では、約1～約5個、約1～約4個、約1～約3個、約1～約2個の炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、3～約14、3～約7個または5～6個の環形成原子を含む。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、1～約4、1～約3個または1～2個のヘテロ原子を有する。

40

【0088】

本明細書で使用される「ヘテロシクロアルキル」は、最大20個の環形成原子を有する非芳香族複素環を指し、1つまたは複数の環形成炭素原子がO、NまたはS原子などのヘ

50

テロ原子に置き換わった環化アルキル、アルケニルおよびアルキニル基がこれに含まれる。ヘテロシクロアルキル基は、単環式または多環式（例えば、融合系およびスピロ系の両方）であり得る。「ヘテロシクロアルキル」基の例としては、モルホリノ、チオモルホリノ、ピペラジニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、2,3-ジヒドロベンゾフリル、1,3-ベンゾジオキサール、ベンゾ-1,4-ジオキサソ、ピペリジニル、ピロリジニル、イソオキサゾリジニル、イソチアゾリジニル、ピラゾリジニル、オキサゾリジニル、チアゾリジニル、イミダゾリジニル、ピロリジン-2-オン-3-イルなどが挙げられる。ヘテロシクロアルキル基の環形成炭素原子およびヘテロ原子は、任意選択でオキソまたはスルフィドによって置換されていてよい。例えば、環形成S原子が1個または2個のオキソに置換されて[すなわち、S(O)またはS(O)₂を形成して]いてよい。また別の例として、環形成C原子がオキソに置換されて(すなわち、カルボニルを形成して)いてよい。ヘテロシクロアルキルの定義にはこのほか、非芳香族複素環と融合した(すなわち、結合を共有する)芳香環を1つまたは複数有する部分、例えば、複素環のピリジニル、チオフェニル、フタルイミジル、ナフタルイミジルおよびベンゾ誘導体、例えばインドリン、イソインドリン、イソインドリン-1-オン-3-イル、4,5,6,7-テトラヒドロチエノ[2,3-c]ピリジン-5-イル、5,6-ジヒドロチエノ[2,3-c]ピリジン-7(4H)-オン-5-イルおよび3,4-ジヒドロイソキノリン-1(2H)-オン-3-イル基などが含まれる。ヘテロシクロアルキル基の環形成炭素原子およびヘテロ原子は、任意選択でオキソまたはスルフィドで置換されていてよい。いくつかの実施形態では、ヘテロシクロアルキル基は1~約20個の炭素原子、さらなる実施形態では約3~約20個の炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、ヘテロシクロアルキル基は、3~約14個、3~約7個または5~6個の環形成原子を含む。いくつかの実施形態では、ヘテロシクロアルキル基は、1~約4個、1~約3個または1~2個のヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、ヘテロシクロアルキル基は0~3個の二重結合を含む。いくつかの実施形態では、ヘテロシクロアルキル基は0~2個の三重結合を含む。

【0089】

本明細書で使用される「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、プロモおよびヨードを包含する。

【0090】

本明細書で使用される「アルコキシ」は-O-アルキル基を指す。アルコキシ基の例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ(例えば、n-プロポキシおよびイソプロポキシ)、t-ブトキシなどが挙げられる。

【0091】

本明細書で使用される「ハロアルコキシ」は-O-ハロアルキル基を指す。ハロアルコキシ基の例にはOCF₃がある。本明細書で使用される「トリハロメトキシ」は、3つのハロゲン置換基を有するメトキシ基を指す。トリハロメトキシ基の例としては、特に限定されないが、-OCF₃、-OCClF₂、-OCCl₃などが挙げられる。

【0092】

本明細書で使用される「アリールアルキル」はアリールで置換されたC₁₋₆アルキルを指し、「シクロアルキルアルキル」はシクロアルキルで置換されたC₁₋₆アルキルを指す。

【0093】

本明細書で使用される「ヘテロアリールアルキル」はヘテロアリール基で置換されたC₁₋₆アルキル基を指し、「ヘテロシクロアルキルアルキル」はヘテロシクロアルキルで置換されたC₁₋₆アルキルを指す。

【0094】

本明細書で使用される「アミノ」はNH₂を指す。

【0095】

本明細書で使用される「アルキルアミノ」は、アルキル基で置換されたアミノ基を指す

10

20

30

40

50

【0096】

本明細書で使用される「ジアルキルアミノ」は、2つのアルキル基で置換されたアミノ基を指す。

【0097】

本明細書で使用されるC(O)はC(=O)を指す。

【0098】

本明細書で使用される「任意選択で置換された」という用語は、置換が任意選択のものであることを意味し、したがって、置換されていない原子および部分と置換された原子および部分の両方を包含する。「置換された」原子または部分は、指定される原子または部分の通常の原子価を超えず、かつ置換によって安定な化合物が生じる限り、指定された原子または部分上の任意の水素が、示される置換基から選択される基に置き換わっていることを表す。例えば、メチル基(すなわち、 CH_3)が任意選択で置換されている場合、炭素原子上の3個の水素原子が示される置換基に置き換わっていること。

【0099】

本明細書で使用される「アミロイドベータ作用」、例えば「非致死性アミロイドベータ作用」または「Aベータオリゴマー作用」は、Aベータ種と接触させた細胞に対する作用、特に非致死性作用を指す。例えば、神経細胞を可溶性アミロイドベータ(「Aベータ」)オリゴマーと接触させると、オリゴマーが一部の神経細胞の一部のシナプスと結合することが*in vitro*で明らかにされている。この結合は、例えば、*in vitro*でAベータオリゴマー結合を測定するアッセイで定量化することができる。また別の報告されているAベータ種の作用にはシナプス数の減少があり、ヒト海馬では約18%であることが報告されている(Scheffら, 2007)ほか、(例えば、シナプス数を測定するアッセイで)定量化することが可能である。また別の例として、神経細胞をアミロイドベータ(「Aベータ」)オリゴマーと接触させると、膜輸送が調節され、その結果、膜輸送が変化することが明らかにされている。この異常は、特に限定されないがMTTアッセイを含めた多数のアッセイで可視化することができる。例えば、黄色のテトラゾリウム塩がエンドサイトーシスによって細胞に取り込まれ、エンドソーム経路で小胞内に位置する酵素によって不溶性の紫色のホルマザンに還元される。紫色のホルマザンのレベルは、培養物中の代謝が活発な細胞の数を反映し、ホルマザン量の減少は、培養物の細胞死または代謝毒性の尺度であると考えられる。黄色のテトラゾリウム塩と接触させた細胞を顕微鏡で観察すると、最初に、細胞を満たす細胞内小胞内に紫色のホルマザンが見える。時間の経過とともに、エキソサイトーシスにより小胞が放出され、不溶性ホルマザンが水性培地環境に曝露されると、細胞膜の外表面にホルマザンが針状結晶として沈殿する。Aベータ種の作用としてはこれ以外にも、認知低下、例えば新規記憶を形成する能力の低下および記憶喪失などが挙げられ、これらの作用は、動物モデルを用いたアッセイで*in vivo*で測定することができる。いくつかの実施形態では、Aベータ作用は、例えば膜輸送アッセイもしくはシナプス消失アッセイなどの*in vitro*アッセイで確認されるAベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全、Aベータオリゴマーの仲介によるカスパーゼ-3のシグマ-2受容体活性化、Aベータ誘導性ニューロン機能不全、Aベータの仲介による長期増強(LTP)の低下または必要とする患者もしくは行動アッセイにおける認知低下から選択される。

【0100】

いくつかの実施形態では、被験化合物が神経細胞に対する可溶性Aベータオリゴマー種による作用をネガティブ対照に比して約10%超、好ましくは15%超、好ましくは20%超阻害することができる場合、その化合物は認知低下またはそれに関連する疾患の治療に有効であるとする。いくつかの実施形態では、被験薬剤がアミロイド前駆体タンパク質のプロセッシング産物の仲介による作用を陽性対照に比して約10%超、好ましくは15%超、好ましくは20%超阻害することができる場合、その薬剤は有効であるとする。例えば、のちの実施例に示すように、Aベータオリゴマー結合が18%阻害されるだけでシナ

10

20

30

40

50

プス減少が完全に抑制される。例えば、図3Cおよび3Dを参照されたい。本明細書は、ニューロン代謝の異常およびシナプス数の減少などのAベータ種の非致死性作用の阻害に主眼を置くものであるが、これらは認知機能と関係があることがわかっており、さらには、時間の経過とともに、アミロイド病態の下流の測定可能な症状、特に臨床症状、例えば1) フロルベタピル、Pitt Bをはじめとする造影剤などのアミロイド造影剤によって測定される線維または斑、2) FDG-PETで検出されるグルコース代謝低下によって測定されるシナプス消失または細胞死あるいは3) 撮像または患者から採取した脳脊髄液、脳生検もしくは血漿を対象とするELISAによるタンパク質/代謝産物検出によって検出可能な脳内または体内のタンパク質発現または代謝産物量の変化、例えば、ELISAによって測定されるAベータ42、リン酸化タウ、総タウのレベルおよび/または比の変化またはELISAパネルで検出可能なタンパク質発現変化のパターンなど(全体が参照により本明細書に組み込まれる参考文献: Wyss-Coray T.ら, Modeling of pathological traits in Alzheimer's disease based on systemic extracellular signaling proteome. Mol Cell Proteomics 2011 Jul 8を参照されたい)、4) MRIによって検出可能な血管浮腫または微小出血の存在により測定される脳血管異常をはじめとする撮像技術によって検出可能な症状ならびに5) ADAS-Cog、MMSE、CBICなどの任意の認知機能検査または他の任意の認知機能検査機器などの実施によって測定される認知機能低下の軽減をもたらす(未治療対象と比較して)ことが期待される。

10

20

【0101】

本明細書で使用される「神経細胞」という用語は、単一細胞または細胞集団を指すのに使用され得る。いくつかの実施形態では、神経細胞は初代神経細胞である。いくつかの実施形態では、神経細胞は、不死化もしくは形質転換した神経細胞または幹細胞である。初代神経細胞とは、グリア細胞などの他の種類の神経細胞に分化することができない神経細胞のことである。幹細胞とは、ニューロンおよびグリアなどの他の種類の神経細胞に分化することができる細胞のことである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの神経細胞を含むがグリア細胞は含まない組成物をアッセイに用いる。いくつかの実施形態では、組成物は、Aベータが内部移行し蓄積することが知られているグリア細胞を約30%未満、25%未満、20%未満、15%未満、10%未満、5%未満または1%未満含む。初代神経細胞は、動物の脳の任意の領域に由来するものであり得る。いくつかの実施形態では、神経細胞は海馬細胞または皮質細胞である。グリア細胞の存在は、任意の方法によって判定され得る。いくつかの実施形態では、グリア細胞はGFAPの存在により検出され、ニューロンは、MAP2に対する抗体で陽性に染色することにより検出され得る。

30

【0102】

「薬学的に許容される」という語句は、一般に安全で無毒性であるとみなされる分子の実体および組成物を指す。特に、本開示の医薬組成物に使用される薬学的に許容される担体、希釈剤をはじめとする補形剤は、生理学的に許容され、他の成分と適合性があり、通常、患者に投与してもアレルギー反応などの有害反応(例えば、急性胃蠕動、眩暈など)を引き起こさない。好ましくは、本明細書で使用される「薬学的に許容される」という用語は、連邦政府または州政府の規制当局による承認を受けているか、米国薬局方をはじめとする一般に認められている薬局方に動物、より具体的にはヒトに使用できるものとして記載されていることを意味する。本明細書で使用される「薬学的に許容される塩(1つまたは複数)」という語句は、本開示の化合物のそのような塩であって、哺乳動物での使用に安全かつ有効であり、所望の生物活性を有する塩を包含する。薬学的に許容される塩には、本開示の化合物または本開示の方法に従って同定される化合物中に存在する酸性基または塩基性基の塩が含まれる。薬学的に許容される酸付加塩としては、特に限定されないが、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酸リン酸塩、イソニコチン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチ

40

50

ジン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩 (glucaronate)、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩およびパモ酸塩 (すなわち、1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトアート)) が挙げられる。本開示の特定の化合物は、様々なアミノ酸と薬学的に許容される塩を形成し得る。適切な塩基性塩としては、特に限定されないが、アルミニウム塩、カルシウム塩、リチウム塩、マグネシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩、亜鉛塩、鉄塩およびジエタノールアミン塩が挙げられる。このほか、有機アミンなどのアミンを用いて薬学的に許容される塩基付加塩が形成される。適切なアミンの例には、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、エチレンジアミン、N-メチルグルカミンおよびプロカインがある。

10

【0103】

本明細書で使用される「治療剤」という用語は、対象の望ましくない状態または疾患を治療する、除去する、緩和させる、対象の望ましくない状態または疾患から保護する、または対象の望ましくない状態または疾患を改善するのに用いられる薬剤を意味する。

【0104】

本明細書で使用される「有効量」という用語は、特定の障害または病理学的過程の少なくとも1つの症状またはパラメータの測定可能な抑制をもたらす量を指す。例えば、Aベータオリゴマーの存在下で測定可能なシナプス減少の低下をもたらす本開示のシグマ-2リガンドの量は、少なくとも直ちにアミロイド病態の臨床症状に全く変化が認められなくても、病理学的過程を抑えることから、有効量であるとみなされる。

20

【0105】

本開示の化合物または組成物の「治療有効量」または「有効量」とは、任意の医学的治療に適用可能な妥当な利益/リスク比で治療対象に治療効果をもたらす所定の量のことである。治療効果は、客観的なもの (すなわち、何らかの検査またはマーカーによる測定可能なもの) であっても主観的なもの (すなわち、対象が効果を示す、または感じるか、医師が変化を観察する) であってもよい。本開示の化合物の有効量は、約0.01mg/Kg ~ 約500mg/Kg、約0.1mg/Kg ~ 約400mg/Kg、約1mg/Kg ~ 約300mg/Kg、約0.05 ~ 約20mg/Kg、約0.1mg/Kg ~ 約10mg/Kg または約10mg/Kg ~ 約100mg/Kg の広範囲にわたり得る。本明細書で企図される効果には、必要に応じて医学的な治療的処置および/または予防的処置の両方が含まれる。治療効果および/または予防効果を得るために本開示に従って投与する化合物の具体的な量は、当然のことながら、例えば、投与する化合物、投与経路、他の有効成分の共投与、治療の対象となる状態、使用する具体的な化合物の活性、使用する具体的な組成物、患者の年齢、体重、全般的健康状態、性別および食事; 使用する具体的な化合物の投与時間、投与経路および排泄速度ならびに治療期間を含めた、症例を取り巻く具体的な状況によって決まる。投与する有効量は、医師が上記の関連する状況を踏まえて妥当な医学的判断を下すことにより決定される。本開示の化合物の治療有効量は通常、生理学的に許容される補形剤組成物の形で投与しても、有効な全身濃度または組織中での局所濃度に達するに十分な量である。ヒトをはじめとする動物に単回投与または分割投与で投与する本開示の化合物の総1日量は、例えば、1日当たり0.01mg/Kg体重 ~ 約500mg/Kg体重、約0.1mg/Kg体重 ~ 約400mg/Kg体重、約1mg/Kg体重 ~ 約300mg/Kg体重、約10mg/Kg体重 ~ 約100mg/Kg体重、より通常には0.1 ~ 25mg/kg体重の量であり得る。単回投与と組成物は、1日量になるように上記の量またはその約数の量を含有し得る。一般に、本開示による治療計画は、このような治療を必要とする患者への投与を含み、通常、単回投与または複数回投与で1日当たり、約1mg ~ 約5000mg、10mg ~ 約2000mgの化合物 (1つまたは複数)、20 ~ 1000mg、好ましくは20 ~ 500mg、最も好ましくは約50mgの式Iおよび/または式IIによる化合物あるいはその薬学的に許容される塩を投与するものである。

30

40

50

【0106】

本明細書で使用される「治療する」、「治療の対象となる」または「治療(すること)」という用語は、治療的処置および予防的手段の両方を指し、ここでは、その目的は望ましくない生理学的状態、障害または疾患から(部分的または完全に)保護すること、またはそれを鈍らせる(例えば、その発症を軽減するか、遅らせる)こと、あるいは有益な臨床結果または所望の臨床結果、例えば、異常であったか、異常になると思われるパラメータ、値、機能または結果の低下の部分的または全面的回復または抑制などを得ることである。本開示の目的のためには、有益な臨床結果または所望の臨床結果としては、特に限定されないが、実際の臨床症状の軽減または状態、障害もしくは疾患の増進もしくは改善に直ちにつながるかどうかを問わず、症状の緩和；状態、障害または疾患の程度、勢力または発現速度の低下；状態、障害または疾患の状態の安定化(すなわち、悪化させないこと)；状態、障害または疾患の発症の遅延または進行の緩徐化；状態、障害または病的状態の緩和；および寛解(部分的であるか全面的であるかを問わない)が挙げられる。治療では、過剰なレベルの副作用を伴わずに臨床的に有意な応答を引き起こすことを追求する。治療にはこのほか、治療を受けない場合に予想される生存期間よりも生存期間を延ばすことが含まれる。

10

【0107】

一般的には、「組織」という用語は、同じように特化した細胞が協同して特定の機能を発揮するよう集合したものを指す。

【0108】

本明細書で使用される「認知低下」は、動物の認知機能の任意の負の変化であり得る。例えば、認知低下としては、特に限定されないが、記憶喪失(例えば、行動記憶喪失)、新規記憶が獲得できないこと、錯乱、判断障害、人格変化、見当識障害またはその任意の組合せが挙げられる。したがって、認知低下の治療に有効な化合物は、電気生理学的に測定される長期ニューロン増強(LTP)、長期ニューロン抑制(LTD)またはシナプス可塑性のバランスを回復させること；神経変性を抑制、治療および/または軽減すること；一般的なアミロイドシスを抑制、治療および/または軽減すること；アミロイド産生、アミロイド集合、アミロイド凝集およびアミロイドオリゴマー結合のうちの1つまたは複数を抑制、治療および/または軽減すること；1つまたは複数のAベータ種のニューロン細胞に対する非致死性作用(シナプスの消失または機能不全および膜輸送異常など)を抑制、治療および/または軽減すること；ならびにその組合せによって有効であり得る。さらに、そのような化合物はほかに、特に限定されないが認知症を含めた、Aベータに関連する神経変性疾患および障害、例えば、特に限定されないが軽度アルツハイマー病を含めたアルツハイマー病(AD)、ダウン症候群、血管性認知症(脳アミロイド血管症および脳卒中)、レビー小体型認知症、HIV認知症、軽度認知障害(MCI)；加齢に伴う記憶障害(AAMI)；加齢による認知低下(ARCD)、発症前アルツハイマー病(PCAD)；および認知症を伴わない認知障害(CIND)などの治療に有効であり得る。

20

30

【0109】

本明細書で使用される「天然のリガンド」という用語は、対象中に存在し、*in vivo*でタンパク質、受容体、膜脂質をはじめとする結合パートナーと結合することができるか、*in vitro*でこれが再現されるリガンドを指す。天然のリガンドは合成起源のものであってよいが、同時に対象中にヒトの介入なしに天然に存在するものでなければならない。例えば、Aベータオリゴマーはヒト対象中に存在することが知られている。したがって、対象中にみられるAベータオリゴマーは天然のリガンドであるとみなされる。Aベータオリゴマーと結合パートナーとの結合は、組換えまたは合成技術を用いて*in vitro*で再現することができるが、それでもなお、Aベータオリゴマーの調製または製造の方法に関係なく、そのAベータオリゴマーは天然のリガンドであるとみなされる。同じ結合パートナーと結合することができる合成小分子は、それが対象中に存在しない場合、天然のリガンドではない。例えば、本明細書に記載されるイソインドリン化合物は通

40

50

常、対象中には存在せず、したがって、天然のリガンドであるとみなされない。

【0110】

ヒトアミロイドベータ

アミロイドベータの産生過剰および蓄積はアルツハイマー病の病理学的特徴の1つである。ヒトアミロイドベータ(Aベータ)はアルツハイマー病患者の脳にみられる不溶性アミロイド斑沈着物の主要な成分である。この斑はAベータの線維性凝集物からなる。段階が進行したアルツハイマー病ではアミロイドベータ線維がみられることがわかっている。

【0111】

初期アルツハイマー病(AD)の認知面での顕著な特徴として、新規記憶を形成する能力が異常に低下するというものがある。初期の記憶喪失は、可溶性Aオリゴマーによって引き起こされるシナプス不全であると考えられる。このオリゴマーは、シナプス可塑性の古典的な実験パラダイムである長期増強を阻止するほか、特筆すべきことには、AD脳組織およびトランスジェニックADモデルではその増加がみられる。初期の記憶喪失はニューロン死の前のシナプス不全に起因し、シナプス不全は線維ではなく可溶性Aオリゴマーの作用に起因するとする仮説が提唱されている(Lacorら, Synaptic targeting by Alzheimer's-related amyloid oligomers, J. Neurosci. 2004, 24(45):10191-10200)。

10

【0112】

Aベータは、ニューロンのシナプスに集中してみられる内在性膜タンパク質であるアミロイド前駆体タンパク質(APP)の切断産物である。アルツハイマー病患者の脳および組織には可溶性のAベータが存在し、その存在は疾患の進行と相関する(Yuら, 2009, Structural characterization of a soluble amyloid beta-peptide oligomer, Biochemistry, 48(9):1870-1877。可溶性アミロイドオリゴマーは、学習および記憶を阻止するニューロンシナプスの変化を誘導することが示されている)。

20

【0113】

比較的小型の可溶性Aオリゴマーは、正常なシナプス可塑性に極めて重要な多数のシグナル伝達経路に干渉し、最終的にはスパインおよびシナプスの消失をもたらす(Selkoeら, 2008, Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior, Behav Brain Res 192(1):106-113)。アルツハイマー病は、シナプス可塑性の疾患として始まり、継続する。

30

【0114】

可溶性Aオリゴマーの存在は、アルツハイマー病罹患前の脳に初期の認知低下を招くと考えられている。アミロイドベータオリゴマーはニューロンシナプスの部分で結合し、ニューロンおよびグリアにはシグマ-2受容体が相当量存在することが知られている。

【0115】

シグマ-2受容体

シグマ受容体は多機能性アダプター/シャペロンタンパク質であり、組織内で状態に応じて複数の異なるタンパク質シグナル伝達複合体に関与する。シグマ-2受容体は脳および様々な末梢組織に低レベルで発現する(Walkerら, 1990 Sigma receptors: biology and function. Pharmacol. Rev. 42:355-402)。シグマ-2受容体はヒトの海馬および皮質に存在する。シグマ-2受容体はこのほか、腫瘍細胞増殖のバイオマーカーとなることがこれまでに確認されている(Machら, Sigma-2 receptors as potential biomarkers of proliferation in breast cancer. Cancer Res. 57:156-161, 1997)。

40

【0116】

シグマ-2受容体は、ヘム結合、シトクロームP450代謝、コレステロール合成、ブ

50

ロゲステロンシグナル伝達、アポトーシスおよび膜輸送などの多数のシグナル伝達経路に
関与する。シグマ受容体の結合部位/シグナル伝達経路の一部のみがADのオリゴマーシ
グナル伝達に関連する。現時点で、シグマ-2受容体ノックアウトは存在せず、神経変性
との関連でヒトのシグマ-2配列変異が研究された例はない。

【0117】

最近、ラット肝臓のシグマ-2受容体を非可逆的に標識する光親和性プローブのWC-
21を用いることにより、シグマ-2受容体がラット肝臓のプロゲステロン受容体膜成分
1 (PGRMC1) として同定された (Xuら, Identification of
the PGRMC1 protein complex as the putative シグマ-2 receptor binding site. Nature Co
mmunications 2, article number 380, July 5
, 2011) (参照により本明細書に組み込まれる)。PGRMC1 (プロゲステロン受
容体膜成分1は、2011年8月、Xuらにより、シグマ-2受容体活性の極めて重要な
25 kDa成分として同定された。PGRMC1はシグマ-1タンパク質と相同性のない
単一の膜貫通型タンパク質であり、ファミリーのメンバーにはPGRMC2およびニュー
デシンが含まれる。PGRMC1はシトクロームb5ヘム結合ドメインを含む。PGRM
C1はS1タンパク質と相同性のない単一の膜貫通型タンパク質であり、ファミリーのメ
ンバーにはPGRMC2およびニューデシンが含まれる。PGRMC1はシトクロームb
5ヘム結合ドメインを含む。内在性PGRMC1リガンドには、プロゲステロン/ステロ
イド、コレステロール代謝産物、グルココルチコイドおよびヘムがある。PGRMC1は
、細胞内の様々な位置で様々なタンパク質複合体と会合し、シャペロン/アダプターとし
て機能する (Cahill 2007. Progesterone receptor
membrane component 1: an integrative revie
w. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 105: 16-36)
。PGRMC1はヘムと結合して活性を低下させ、CYP450タンパク質と複合体を形成し
(酸化還元反応の制御)、PAIRBP1と会合し、プロゲステロンによるアポトー
シス阻害を仲介するほか、低コレステロールに応答してInsig-1およびSCAPと
会合し、SRE関連遺伝子の転写を誘導する。線虫 (C. elegans) ホモログであ
るVEM1は、UNC-40/DCCと会合して軸索誘導を仲介する。PGRMC1は、
2つのSH2標的配列、1つのSH3標的配列、1つのチロシンキナーゼ部位、2つの好
酸性キナーゼ部位 (CK2) およびERK1とPDK1のコンセンサス結合部位を含む。
PGRMC1は、膜輸送 (小胞輸送であるカルベオリン (calveolin) 含有小窩
のクラスリン依存性エンドサイトーシス) に関する複数のITAM配列を含む。

【0118】

シグマ-2受容体治療剤は、ADの治療以外の他のCNS症状に関してはヒト第II相
臨床試験に至っている。他の非シグマCNS受容体に対しては、シグマ-2受容体リガン
ドの多くがあまり選択性を示さず、親和性が高い。例えば、Cyr-101/MT-21
0 (Cyrenaic Pharmaceuticals社; Mitsubishi社)
は、統合失調症に関して第IIa相臨床試験の段階にあるシグマ-2受容体アンタゴニ
ストであるが、5HT2a、ADRA1およびヒスタミンH1を含めた他の多数の受容体と
の相互作用を示す。シラメシン (Lundbeck社、Forest Lu28179)
は、以前、不安に関する臨床試験の段階にあったシグマ-2受容体アゴニストであるが、
中止された。シグマ-1受容体リガンドは様々なCNS症状に関して臨床試験の段階にあ
る。クタメシン二塩酸塩 (AGY SA4503、M's Science社) は、脳卒
中に関して第II相臨床試験、うつ病に関して第II相試験の段階にあったシグマ-1受
容体アゴニストである。Anavex 2-73は、ムスカリン様コリン作動性受容体に
おいてM2/3アンタゴニスト、M1アゴニストとしても作用するシグマ-1受容体アゴ
ニストであり、様々なイオンチャネル (NMDAR、Na⁺、Ca⁺⁺) に対するアンタ
ゴニストである。Anavex 2-73は、ADおよび軽度認知障害の患者を対象とす
る第IIa相臨床試験の段階に至っている。これまでに、ADを対象に高選択的シグマ-

2 受容体リガンド治療剤を用いた臨床試験は実施されていない。

【0119】

シグマ - 2 アンタゴニスト

理論に束縛されるものではないが、ニューロンではシグマ - 2 受容体が A ベータオリゴマーの受容体になるとする説を提唱する。文献では、可溶性 A ベータオリゴマーの受容体としてプリオンタンパク質、インスリン受容体、ベータアドレナリン受容体および R A G E (終末糖化産物受容体) を含めた様々な受容体が提唱されている。Lauren, J. ら, 2009, Nature, 457 (7233) : 1128 - 1132 ; Townsend, M. ら, J. Biol. Chem. 2007, 282 : 33305 - 33312 ; Sturchler, E. ら, 2008, J. Neurosci. 28 (20) : 5149 - 5158。実際、A ベータオリゴマーが 2 種類以上の受容体タンパク質と結合し得ると考える研究者は多い。理論に束縛されるものではないが、本明細書に示される証拠に基づき、本発明者らは、ニューロンには (ニューロンだけとは限らないが) 別の A ベータオリゴマーの受容体が局在するものと考えらる。

10

【0120】

理論に束縛されるものではないが、A ベータオリゴマーは、シグマタンパク質複合体と結合して輸送異常およびシナプス消失を引き起こすシグマ受容体アゴニストである。本明細書では、ニューロンにおいてこの相互作用および / またはシグマ受容体機能に拮抗する高親和性シグマ - 2 リガンドが、競合または別の形で A ベータオリゴマーに干渉し、ニューロンの応答を正常な状態に戻すことを示す。このようなリガンドは機能的シグマ - 2 受容体アンタゴニストとみなし、機能的シグマ - 2 受容体アンタゴニストまたはより簡潔にシグマ - 2 受容体アンタゴニストもしくはシグマ - 2 アンタゴニストと呼ぶ。

20

【0121】

いくつかの実施形態では、式 I および / または式 II によるシグマ - 2 受容体アンタゴニストあるいはその薬学的に許容される塩は、可溶性 A オリゴマー誘導性シナプス消失を抑制し、膜輸送アッセイにおいて可溶性 A オリゴマー誘導性不良を抑制し ; シグマ - 2 受容体において高親和性を示し ; ほかに、1 つまたは複数のシグマ受容体に対して他の非シグマ受容体よりも高い選択性を示し ; 優れた薬物様特性を示すという点で、神経細胞において機能的アンタゴニストとして作用する。

【0122】

いくつかの実施形態では、本明細書で詳述する特定の *in vitro* アッセイの基準を満たすシグマ - 2 受容体機能的アンタゴニストは、本明細書に開示される 1 つまたは複数の関連する動物行動モデルにおいて、行動学的効果を示すか、行動学的効果を有することが予測される。いくつかの実施形態では、10 mg / kg 以下の経口投与で行動学的効果を判定する。

30

【0123】

いくつかの実施形態では、本開示は、高親和性シグマ - 2 受容体リガンドの行動学的効果を予測する *in vitro* アッセイプラットフォームを提供する。この *in vitro* アッセイプラットフォームでは、リガンドは高い親和性でシグマ - 2 受容体と結合し ; ニューロンの A ベータオリゴマー誘導性作用に対する機能的アンタゴニストとして作用し ; 中枢ニューロンの A ベータオリゴマー誘導性シナプス消失を抑制するか、A ベータオリゴマーとニューロンとの結合を減少させてシナプス消失を抑制し ; A ベータオリゴマーの非存在下での輸送にもシナプス数にも影響を及ぼさない。 *in vitro* アッセイにおけるこの活性パターンを「治療表現型」と呼ぶ。シグマ - 2 受容体アンタゴニストが、A ベータオリゴマーの非存在下で正常な機能に影響を及ぼさずに成熟ニューロンの A ベータオリゴマー作用を阻止する能力は、治療表現型の基準を満たすものである。これより、治療表現型を有する選択的シグマ - 2 アンタゴニストが A ベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全を阻止し得ることが開示される。

40

【0124】

いくつかの実施形態では、治療表現型を有する高親和性選択的シグマ - 2 アンタゴニスト

50

トが提供され、これらはほかにも、必要とする患者のAベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全を治療する治療剤候補として適した以下のような特徴を有する：シグマ受容体における高親和性を示す；シグマ受容体に対する他の非シグマCNS受容体より高い選択性；シグマ-2受容体とシグマ-1受容体において、シグマ-2受容体に対するより高いまたは同等の、例えば一桁以内の親和性；中枢神経系において重要な他の受容体ではなくシグマ受容体に対する親和性ならびに優れた薬物様特性。薬物様特性には、許容される脳透過性（血液脳関門を通過する能力）、優れた血漿中安定性および例えば肝ミクロソームへの曝露によって測定される優れた代謝安定性が含まれる。理論に束縛されるものではないが、高親和性シグマ-2受容体アンタゴニストは、Aベータオリゴマーと競合し、かつ/またはアルツハイマー病を引き起こす病的シグマ受容体シグナル伝達を停止させる。

10

【0125】

いくつかの実施形態では、本開示のアンタゴニストは、シグマ-2受容体よりも高い親和性でシグマ-1受容体と結合し得るが、それでもなお、Aベータオリゴマー誘導性作用（Aベータ作用）を阻止または阻害するという点で、機能的ニューロンアンタゴニストとしての挙動を示すはずである。

【0126】

いくつかの実施形態では、治療表現型を有し、ほかにも以下のような特徴を有するシグマ-2アンタゴニストが、必要とする患者のAベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全を治療する治療剤候補として適している：シグマ受容体における高親和性；シグマ受容体に対する他の非シグマCNS受容体よりも高い選択性；シグマ-2受容体とシグマ-1受容体において、シグマ-2受容体に対する高い親和性または同等の親和性；および優れた薬物様特性。薬物様特性としては、高い脳透過性、血漿中安定性および代謝安定性が含まれる。

20

【0127】

いくつかの実施形態では、結合活性試験において、最大で約600nM、500nM、400nM、300nM、200nM、150nM、100nM、好ましくは最大で約75nM、好ましくは最大で約60nM、好ましくは最大で約40nM、より好ましくは最大で10nM、最も好ましくは最大で1nMのIC₅₀値またはK_i値がシグマ受容体結合部位に対する高い結合親和性を示すものとなる。

【0128】

いくつかの実施形態では、シグマ-2受容体において高い親和性を示す（好ましくは、K_iが約600nM未満、500nM未満、400nM未満、300nM未満、200nM未満、150nM未満、100nM未満、70nM未満、60nM未満、50nM未満、30nM未満または10nM未満である）シグマ-2受容体アンタゴニストであって、シグマ受容体に対する選択性が他の非シグマCNS受容体または標的受容体の約20倍超、30倍超、50倍超、70倍超または好ましくは100倍超であり、脳透過性ならびに優れた代謝安定性および/または血漿中安定性を含めた優れた薬物様特性を有し、治療表現型を有するシグマ-2受容体アンタゴニストが行動学的効果を有すると予測され、治療を必要とする患者のAベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全の治療に用いることができる。

30

40

【0129】

本明細書で使用される「脳透過性」という用語は、薬物、抗体またはフラグメントが血液脳関門を通過する能力を指す。いくつかの実施形態では、動物を用いた薬物動態（pK）試験、例えばマウスを用いた薬物動態/血液脳関門試験を用いて脳透過性を判定または予測することができる。いくつかの実施形態では、例えば動物モデルを対象に、様々な濃度、例えば3mg/kg、10mg/kgおよび30mg/kgの薬物を、例えば5日間経口投与することができ、様々なpK特性が測定される。いくつかの実施形態では、用量相関性の血漿中レベルおよび脳中レベルを測定する。いくつかの実施形態では、脳のC_{max}は100ng/mL、300ng/mL、600ng/mL、1000ng/mL、1300ng/mL、1600ng/mLまたは1900ng/mLを上回る。いくつか

50

の実施形態では、優れた脳透過性は、脳/血漿比が0.1、0.3、0.5、0.7、0.8、0.9を上回る、好ましくは1を上回る、より好ましくは2、5または10を上回るものと定義される。他の実施形態では、優れた脳透過性は、所定の時間が経過した後に投与量の約0.1%超、1%超、5%超、約10%超、好ましくは約15%超がBBBを通過しているものと定義される。ある特定の実施形態では、投薬を経口投与(p.o.)で実施する。他の実施形態では、pK特性を測定する前に投薬を静脈内投与(i.v.)で実施する。薬物動態アッセイおよび脳透過性については実施例7に記載する。

【0130】

本明細書で使用される「血漿中安定性」という用語は、血漿中での、例えば加水分解酵素およびエステラーゼなどの酵素による、化合物の分解を指す。様々なin vitro アッセイのいずれを用いてもよい。薬物を様々な時間にわたって血漿中でインキュベートする。各時点で残っている親化合物(分析物)のパーセントが血漿中安定性を表す。安定性に乏しいと、生物学的利用能が低くなる傾向がみられる。優れた血漿中安定性は、30分後に分析物の50%超が残っている、45分後に分析物の50%超が残っている、好ましくは、60分後に分析物の50%超が残っているものと定義することができる。

10

【0131】

本明細書で使用される「代謝安定性」という用語は、化合物が初回通過代謝(経口投与した薬物が腸内および肝内で分解または包接されること)を免れる能力を指す。これは、例えば、化合物をマウスまたはヒト肝ミクロソームに曝露することによりin vitro で評価することができる。いくつかの実施形態では、優れた代謝安定性は、化合物をマウスまたはヒト肝ミクロソームに曝露したときの $t_{1/2}$ が、5分、10分、15分、20分、好ましくは30分を上回ることを指す。いくつかの実施形態では、優れた代謝安定性は、固有クリアランス速度(Cl_{int})が $300 \mu L / (\text{分} \cdot \text{mg})$ 未満、好ましくは $200 \mu L / (\text{分} \cdot \text{mg})$ 以下、より好ましくは $100 \mu L / (\text{分} \cdot \text{mg})$ 以下であることを指す。

20

【0132】

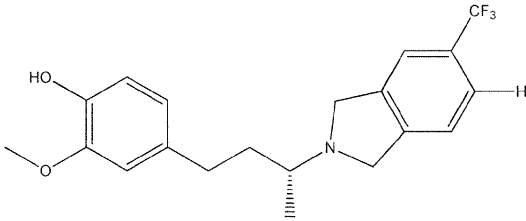
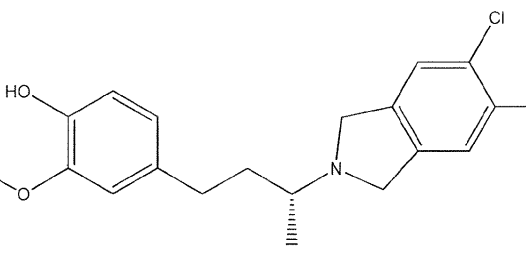
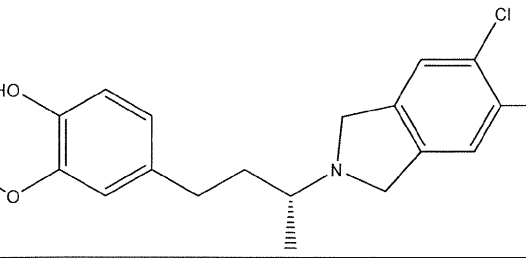
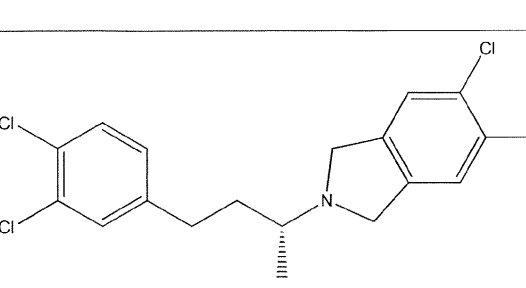
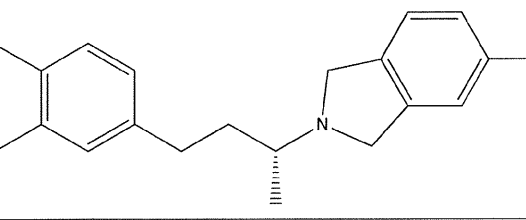
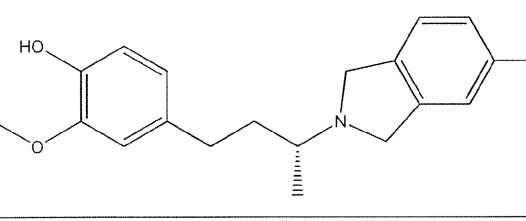
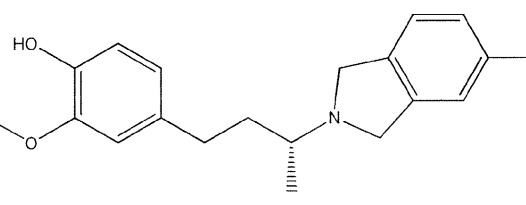
いくつかの実施形態では、先行技術の特定の化合物が除外される。いくつかの実施形態では、表1に記載する化合物が国際公開第2013/029057号および/または同第2013/029060号(それぞれ参照により本明細書に組み込まれる)に開示されており、本明細書に提供される組成物または方法に関する権利が放棄される。

30

【0133】

【表1】

権利が放棄される化合物。

権利が放棄される化合物	参考文献
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、p.48。
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、p.47。
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、p.48。
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、p.182。
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、pp.55, 184。
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、p.47。
	CogRx;Rishton, Catalano 国際公開第2013/029060号、 表1B, pp.81~94; 国際公開第2013/029067号、p.48。

10

20

30

40

【0134】

本明細書に提供されるイソインドリン化合物は、治療表現型および優れた薬物様特性を

50

有する高親和性選択的シグマ - 2 機能的アンタゴニストとして作用し、したがって、A ベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全の治療に使用することができる。

【 0 1 3 5 】

ある特定の実施形態では、シグマ受容体に対して高い結合親和性を有する選択的シグマ - 2 機能的アンタゴニストとして式 I のイソインドリン化合物を含む組成物が提供される。いくつかの実施形態では、シグマ受容体には、シグマ - 1 サブタイプおよびシグマ - 2 サブタイプの両方が含まれる。Hellewell, S. B. および Bowen, W. D., Brain Res. 527: 224 - 253 (1990); ならびに Wu, X.-Z. ら, J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 351 - 359 (1991) を参照されたい。両シグマ部位の推定リガンドの結合親和性 (両部位をほぼ等しい親和性で標識する ^3H -DTG に対するもの) を定量化するシグマ受容体結合アッセイが Weber ら, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 83: 8784 - 8788 (1986) により開示されている。あるいは、結合アッセイに [^3H] ペントゾシン (pentozocine) を用いてシグマ - 1 結合部位を選択的に標識してもよい。結合アッセイに [^3H] DTG と未標識 (+) ペンタゾシンの混合物を用いてシグマ - 2 部位を選択的に標識する。本開示はこのほか、シグマ - 1 受容体およびシグマ - 2 受容体に対して選択性を示しシグマ - 2 機能的アンタゴニストとして作用する特定のリガンドを含む組成物ならびに A ベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全の治療へのこれらの組成物の使用に関する。2 つのシグマ受容体サブタイプのうち的一方に対して選択性を示すこのようなリガンドの発見は、最小限の副作用で中枢神経系障害を治療するのに有効な化合物を同定するうえで重要な因子となり得る。

10

20

【 0 1 3 6 】

いくつかの実施形態では、式 (I) のイソインドリン化合物は、シグマ - 2 アンタゴニスト活性、シグマ - 2 受容体に対する高い親和性および可溶性 A ベータオリゴマー結合または A ベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全を阻止する能力を示す。

【 0 1 3 7 】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 アンタゴニストは、血液脳関門を通過する能力が増強されるよう設計されている。

【 0 1 3 8 】

いくつかの実施形態では、特異的シグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物は、可溶性 A ベータオリゴマーとシグマ - 2 受容体との間の結合を阻止する。

30

【 0 1 3 9 】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 アンタゴニスト化合物は、シグマ - 2 受容体に対して高い親和性を示す。

【 0 1 4 0 】

シグマ - 2 受容体アンタゴニストとして選択するシグマ - 2 受容体リガンド

いくつかの実施形態では、本開示で使用するシグマ - 2 受容体アンタゴニストは、追加の選択基準も満たすシグマ - 2 受容体リガンド化合物の中から選択される。追加の基準を用いて、シグマ - 2 受容体リガンドの中から本開示に使用するシグマ - 2 受容体アンタゴニストを選択する。追加の選択基準としては、可溶性 A オリゴマー誘導性シナプス消失を抑制し、膜輸送アッセイにおいて可溶性 A オリゴマー誘導性不良を抑制するという点で、神経細胞において機能的アンタゴニストとして作用すること；1 つまたは複数のシグマ受容体に対して他の非シグマ受容体よりも高い選択性を示すこと；シグマ - 2 受容体において高い親和性を示すこと；ならびに優れた脳透過性、優れた代謝安定性および優れた血漿中安定性を含めた薬物様特性を示すことが挙げられる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストは、以下の追加の特性を 1 つまたは複数示すことに基づいてさらに選択される：A ベータオリゴマーの非存在下で輸送にもシナプス数にも影響を及ぼさないこと；神経細胞にカスパーゼ - 3 活性を誘導しない；シグマ - 2 受容体アゴニストによるカスパーゼ - 3 活性の誘導を阻害すること；および / またはシグマ - 2 受容体アゴニストによって引き起こされる神経細胞の神経毒性を軽減するか、そのような神経毒性

40

50

から保護すること。

【0141】

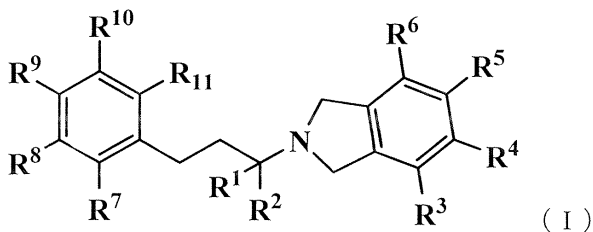
いくつかの実施形態では、さらなる選択基準に従う特定のシグマ - 2 受容体リガンド化合物は、本明細書に記載に記載される化合物から選択され、本明細書または国際公開第 2011/014880 号 (国際出願 PCT/US2010/044136 号)、国際公開第 2010/118055 号 (国際出願 PCT/US2010/030130 号)、国際出願 PCT/US2011/026530 号、国際公開第 2012/106426 号 (国際出願 PCT/US2012/023483 号)、国際公開第 2013/029057 号 (国際出願 PCT/US2012/052572 号) および国際公開第 2013/029060 号 (国際出願 PCT/US2012/052578 号) (それぞれその全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されている方法に従って合成され得るものである。上記の化合物を調製するための別の選択肢についてはのちに詳述する。

10

【0142】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I :

【化 23】



20

またはその薬学的に許容される塩を含み、式中 :

R_1 および R_2 は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは CH_2OR' からそれぞれ独立して選択され ; $R' = H$ または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり ;

R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、OH、 OCH_3 、 $OCH(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $OC(CH_3)_3$ 、 $O(C_1 \sim C_6 \text{ アルキル})$ 、 OCF_3 、 OCH_2CH_2OH 、 $O(C_1 \sim C_6 \text{ アルキル})OH$ 、 $O(C_1 \sim C_6 \text{ ハロアルキル})$ 、F、Cl、Br、I、 CF_3 、CN、 NO_2 、 NH_2 、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ $C_1 \sim 6$ アルキル、アリール、ヘテロアリール、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルアリール、ヘテロアリール、 CO_2R' 、 $C(OR')$ 、 $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $N(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})_2$ 、 $NH(C_3 \sim 7 \text{ シクロアルキル})$ 、 $NHC(O)(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $CONR'_2$ 、 $NC(OR')$ 、 $NS(O)_nR'$ 、 $S(O)_nNR'_2$ 、 $S(O)_nR'$ 、 $C(O)O(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ 、 $OC(O)N(R')_2$ 、 $C(O)(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ および $C(O)NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ からそれぞれ独立して選択され ; ここでは、 $n = 0$ 、1 または 2 であり ; R' は、それぞれ独立して H、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル ; または任意選択で置換されたアリール、アルキルアリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})$ もしくは $NH(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})_2$ であり、ここでは、任意選択の置換された基は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_2 \sim C_7$ アシルから選択されるか ; あるいは

30

40

R_3 および R_4 は、それが結合している C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim 6$ アルコキシ、 $C_1 \sim 6$ ハロアルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル およびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシクロアルキル、アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルを形成し、 R^3 と R^4 または R^4 と R^5 は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか ; あるいは R_3 と R_4 は、互いに結合して $-O-C_{1 \sim 2}$ メチレン $-O-$ 基を形成するか ; あるいは

50

R₄ および R₅ は、それが結合している C 原子とともに、OH、アミノ、ハロ、C₁ -
 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロアルコキシ、ア
 リール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル
 およびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つ
 の置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシクロアルキル、
 アリール、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルを形成し、R³ と R⁴ または R⁴
 と R⁵ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは R₄
 と R₅ は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成し；

R₇、R₈、R₉、R₁₀ および R₁₁ は、H、C₁ ~ C₆ アルキル、OH、OCH₃
 、OCH(CH₃)₂、OCH₂CH(CH₃)₂、OC(CH₃)₃、O(C₁ ~ C₆
 アルキル)、OCF₃、OCH₂CH₂OH、O(C₁ ~ C₆ アルキル)OH、O(C₁
 ~ C₆ ハロアルキル)、F、Cl、Br、I、CF₃、CN、NO₂、NH₂、C₁ ~ C₆
 ハロアルキル、C₁ ~ C₆ ヒドロキシアルキル、C₁ - 6 アルコキシ C₁ - 6 アルキル
 、アリール、ヘテロアリール、C₃ - 7 シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキ
 ルアリール、ヘテロアリール、CO₂R'、C(O)R'、NH(C₁ - 4 アルキル)、
 N(C₁ - 4 アルキル)₂、NH(C₃ - 7 シクロアルキル)、NHC(O)(C₁ - 4
 アルキル)、CONR'₂、NC(O)R'、NS(O)_nR'、S(O)_nNR'₂、
 S(O)_nR'、C(O)O(C₁ - 4 アルキル)、OC(O)N(R')₂、C(O)
 (C₁ - 4 アルキル) および C(O)NH(C₁ - 4 アルキル) からそれぞれ独立して選
 択され；ここでは、n = 0、1 または 2 であり；R' は、それぞれ独立して H、CH₃、
 CH₂CH₃、C₃ ~ C₆ アルキル、C₁ ~ C₆ ハロアルキル、アリール、アルキルア
 リール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イル、モルホリニル、ヘテロシクロアル
 キル、ヘテロアリール、C₁ - 6 アルコキシ、NH(C₁ - 4 アルキル) または NH(C
 1 - 4 アルキル)₂ であるか；あるいは

R₇ および R₈ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、
 ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロア
 ルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シ
 クロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4
 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシク
 ロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ お
 よび R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは
 R₇ と R₈ は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成するか；あるいは

R₈ および R₉ は、それが結合している N 原子または C 原子とともに、OH、アミノ、
 ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロア
 ルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シ
 クロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4
 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換された 4 員、5 員、6 員、7 員または 8 員のシク
 ロアルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基を形成し、R⁹ お
 よび R¹⁰ は、結合、C、N、S および O からそれぞれ独立して選択されるか；あるいは
 R₈ および R₉ は、互いに結合して - O - C₁ - 2 メチレン - O - 基を形成し；

O、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、ヘテロアリール、アリール、ヘテロア
 リール、ヘテロシクロアルキルおよびシクロアルキルはそれぞれ独立して、OH、アミノ
 、ハロ、C₁ - 6 アルキル、C₁ - 6 ハロアルキル、C₁ - 6 アルコキシ、C₁ - 6 ハロ
 アルコキシ、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、
 シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルから独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、
 4 つまたは 5 つの置換基で任意選択で置換されており；

ただし、以下の化合物：

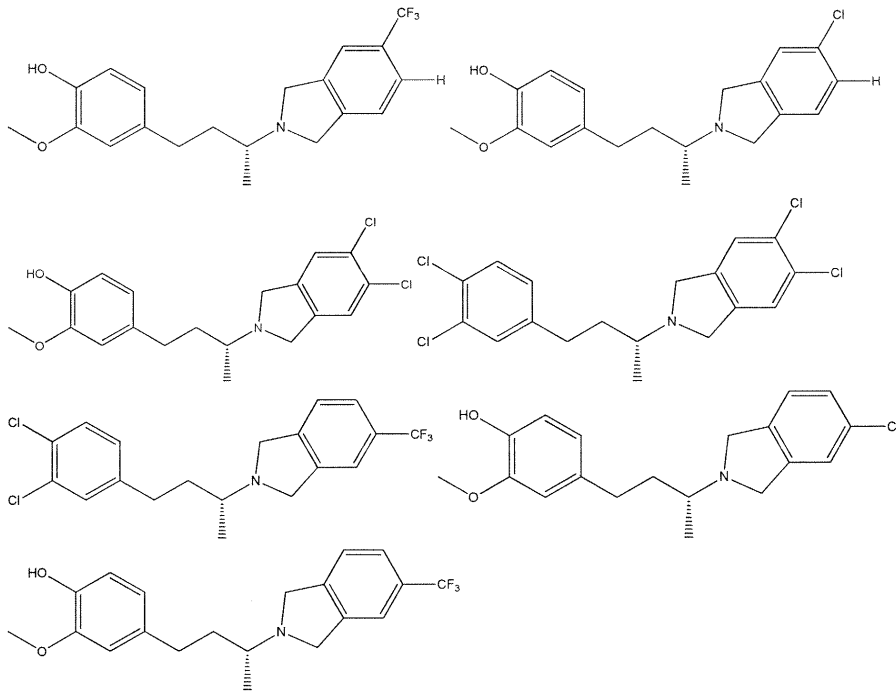
10

20

30

40

【化24】



10

20

は除外される。

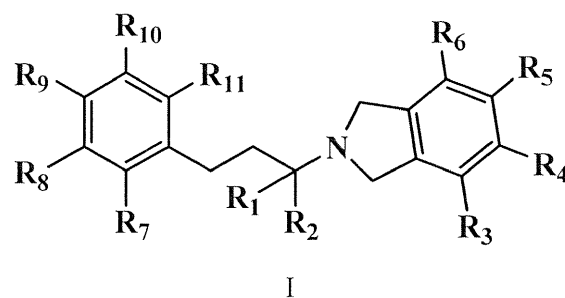
【0143】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物のラセミ混合物または鏡像異性体を含み、式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} は上記の通りである。

【0144】

いくつかの実施形態では、式 I :

【化25】



I

による単離化合物またはその薬学的に許容される塩が提供され、式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} は本明細書に明記される通りであり、ただし、 R_1 、 R_3 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} および R_{11} がそれぞれ H であり； R_2 が CH_3 であり； R_8 が OCH_3 または Cl であり； R_9 が OH または Cl である場合、 R_4 は Cl でも CF_3 でもなく、 R_5 は Cl でも CF_3 でもない。

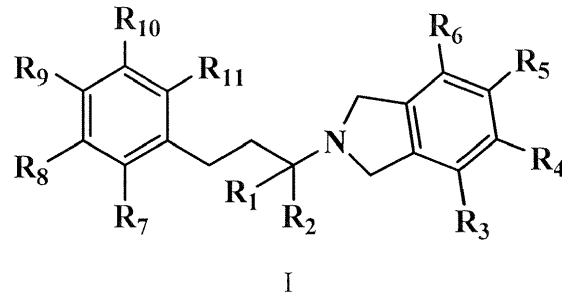
30

40

【0145】

他の実施形態では、式 I :

【化26】



10

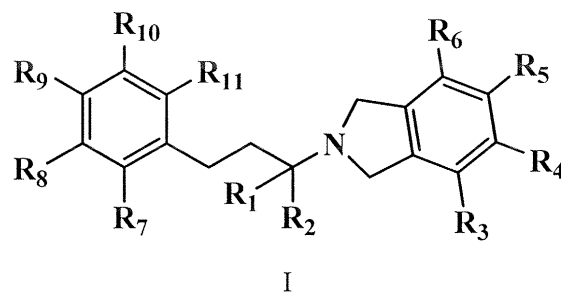
による単離化合物もしくはその薬学的に許容される塩またはその組成物またはその投与を含む方法が提供され、式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} は本明細書に明記される通りであり、ただし、式Iによる化合物であって、式中、 R_1 、 R_3 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} および R_{11} がそれぞれHであり； R_2 が CH_3 であり； R_8 が OCH_3 または Cl であり； R_9 が OH または Cl であり； R_4 が Cl または CF_3 であり、 R_5 が Cl または CF_3 である化合物は、好ましい化合物ではない。

【0146】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための医薬組成物であって、式I：

20

【化27】



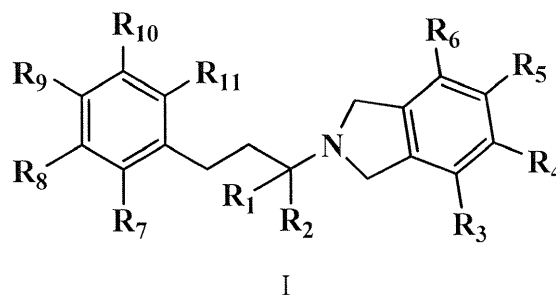
による化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含み、式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} および R_{11} が本明細書に明記される通りであり、ただし、 R_1 、 R_3 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} および R_{11} がそれぞれHであり； R_2 が CH_3 であり； R_8 が OCH_3 または Cl であり； R_9 が OH または Cl である場合、 R_4 は Cl でも CF_3 でもなく、 R_5 は Cl でも CF_3 でもない、医薬組成物が提供される。

30

【0147】

別の実施形態では、神経細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害するための方法/使用であって、式I：

【化28】



40

による選択的シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む有効量の組成物を投与することを含み、式中、 R_1 、

50

れる塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、OH、 C_{1-6} アルコキシおよびヒドロキシ C_{1-6} アルコキシから独立して選択される。

【0153】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、OH および NH (C_{1-4} アルキル) から独立して選択される。

【0154】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、H、ハロ、 C_{1-6} ハロアルキルおよび C_{1-6} ハロアルコキシから独立して選択される。

10

【0155】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、OH、ハロ、 C_{1-6} アルコキシおよび C_{1-6} ハロアルコキシからそれぞれ独立して選択され、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して C_{1-6} アルキルである。

【0156】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_1 および R_2 はそれぞれメチルである。

【0157】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_1 および R_2 のうち、一方がメチルであり、他方が H である。

20

【0158】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、OH および C_{1-6} アルコキシからそれぞれ独立して選択され、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立してメチルである。

【0159】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、H、ハロおよび C_{1-6} ハロアルキルから独立して選択され、 R_1 および R_2 はそれぞれメチルである。

【0160】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_8 および R_9 は、H、ハロおよび C_{1-6} ハロアルキルからそれぞれ独立して選択される。

30

【0161】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_7 および R_{11} はそれぞれ H である。

【0162】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、ハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキルおよび C_{1-6} アルコキシからそれぞれ独立して選択される。

40

【0163】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 、 R_4 および R_5 は、H、ハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキルおよび C_{1-6} アルコキシからそれぞれ独立して選択される。

【0164】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 、 R_4 、 R_5 および R_6 は、H、ハロ、 $S(O)_n R'$ 、 $C(O)OR'$ 、 $C(O)N(R')_2$ および $C(O)R'$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 2$ であり； R' は、それぞれ独立して H、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキルまたは任意選択で $C_1 \sim C_6$ アルキルもしくは $C_2 \sim C_7$ ア

50

シルで置換されたアリール、アルキルアリール、ピペラジニル、ピペリジニル、モルホリニル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロアリールである。

【0165】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 、 R_4 および R_5 は、H、ハロ、 $S(O)_n R'$ および $C(O)R'$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 2$ であり； R' は、それぞれ独立して CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、アリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イルおよびモルホリニル - 4 - イルである。

【0166】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 、 R_4 および R_5 は、H、ハロ、 $S(O)_n R'$ および $C(O)R'$ からそれぞれ独立して選択され； $n = 2$ であり； R' は、それぞれ独立して CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、アリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イルおよびモルホリニル - 4 - イルであり； R_8 および R_9 は、OH、ハロ、 C_{1-6} アルコキシおよび C_{1-6} ハロアルコキシからそれぞれ独立して選択され； R_1 および R_2 はそれぞれメチルである。

10

【0167】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 と R_4 または R_4 と R_5 は、それが結合している C 原子とともに、6員シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキル、アリールもしくはヘテロアリール環を形成する。

20

【0168】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 と R_4 または R_4 と R_5 は O であり、互いに結合して - O - C_{1-2} メチレン - O - 基を形成する。

【0169】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 および R^3 は、H、OH、ハロ、 C_{1-6} アルコキシおよび C_{1-6} ハロアルキルから独立して選択される。

【0170】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_3 および R_4 は、H、Cl、F、- OMe、- CF_3 、 $S(O)_n R'$ および $C(O)R'$ から独立して選択され； $n = 2$ であり； R' は、それぞれ独立して H、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $C_3 \sim C_6$ アルキル、アリール、ピペラジン - 1 - イル、ピペリジン - 1 - イルおよびモルホリニル - 4 - イルであり； R_8 および R_9 は、OH および C_{1-6} アルコキシからそれぞれ独立して選択される。

30

【0171】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2リガンドは、式 I の化合物または薬学的に許容される塩であり、式中、 R_2 および R_3 は、H、OH、Cl、F、- OMe および - CF_3 から独立して選択され、 R^7 および R^8 は、H および C_{1-6} アルキルからそれぞれ独立して選択され、 R^9 は H であり、 R^5 および R^6 は、H および C_{1-6} ハロアルキルからそれぞれ独立して選択される。

40

【0172】

本開示に使用するのに好ましい塩としては、上記化合物の塩酸塩が挙げられる。

【0173】

上記のものは、本明細書に記載される一般的な方法および具体的な合成例に従って合成されたものであり、追加の段階はいずれも当該技術分野の技術の範囲内に十分に収まるものである。上記の化合物のいくつかは、本明細書に詳述される様々なアッセイで試験し、活性があることが明らかにされているものである。被験化合物はほかに、国際公開第 2010/110855 号に開示されている化合物を参照することにより、生物学的利用能

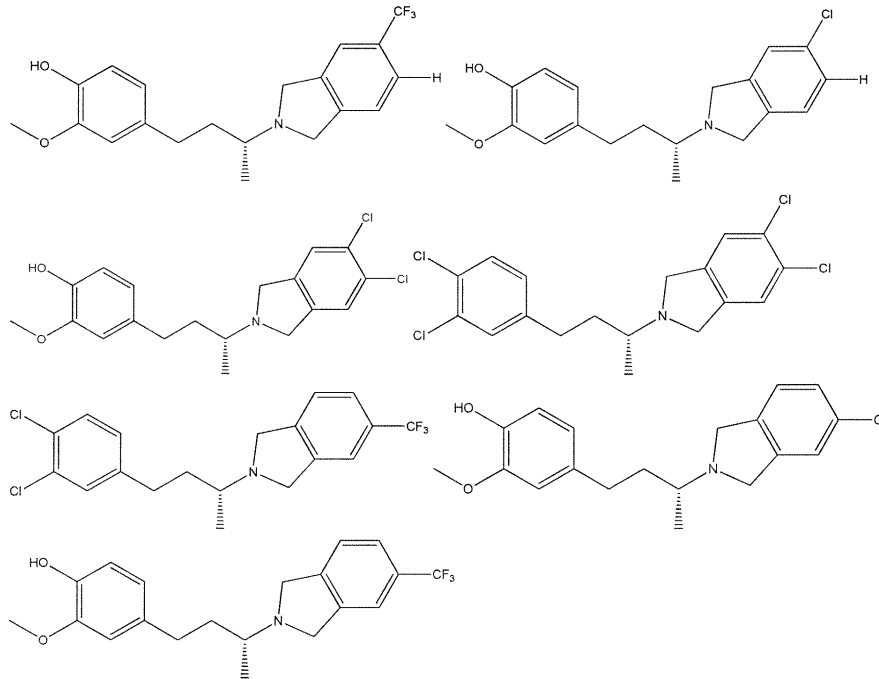
50

の増大を示す。

【0174】

いくつかの実施形態では、上記の一般式それぞれに、以下の化合物：

【化32】



10

20

のうちの1つまたは複数が除外されるという但し書きが含まれ得る。

【0175】

式Iおよび/または式IIによる化合物は、本明細書に記載される一般的な方法および具体的な合成例に従って合成されたものであり、追加の段階はいずれも当該技術分野の技術の範囲内に十分に収まるものである。上記の化合物のいくつかは、本明細書に詳述される様々なアッセイで試験し、活性があることが明らかにされているものである。被験化合物はほかに、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2010/110855号に開示されている化合物を参照することにより、生物学的利用能の増大を示す。

30

【0176】

本明細書で使用される「水素結合アクセプター基」という用語は、水素結合を受容することが可能な基を指す。水素結合アクセプター基の例は既知のものであり、特に限定されないが、アルコキシ基、オキサゾリジン-2-オン基、 $-O-C(O)-N-$ ； $-C(O)-N-$ ； $-O-$ ；シクロヘテロアルキルのヘテロ原子（例えば、酸素）； $-N-SO_2-$ などが挙げられる。これらの基は、いずれの方向でも結合することができ、別の炭素原子またはヘテロ原子と結合することができる。水素結合アクセプター基はこのほか、疎水性脂肪族基の中または付近に存在し得る。例えば、テトラヒドロフラン基は、水素結合アクセプター基および疎水性脂肪族基の両方を含む。テトラヒドロフラン環内に存在する酸素は水素結合アクセプターとして作用し、テトラヒドロフラン環内の炭素は疎水性脂肪族基として作用する。

40

【0177】

本明細書で使用される「疎水性脂肪族基」という用語は、炭素鎖または炭素環を指す。炭素鎖はシクロヘテロアルキル内に存在し得るが、疎水性脂肪族基はヘテロ原子を含まない。上記のテトラヒドロフランの例はそのような例の1つであるが、ほかに多数存在する。いくつかの実施形態では、疎水性脂肪族基は、任意選択で置換されたC1~C6アルキル、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルのC1~C6炭素である。「疎水性脂肪族基」は疎水性芳香族基ではない。

【0178】

本明細書で使用される「陽イオン化可能な基」という用語は、構造内に存在し、溶液中

50

または細胞内でみられる生物学的条件などの特定の条件下で正荷電になり得る原子または原子群を指す。いくつかの実施形態では、陽イオン化可能な基は窒素である。いくつかの実施形態では、陽イオン化可能な基は、シクロヘテロアルキル環内に存在する窒素である。例えば、ピペラジン基では、2個の窒素が2個の陽イオン化可能な基であるとみなされる。しかし、いくつかの実施形態では、陽イオン化可能な基と結合している炭素は疎水性脂肪族基であるとみなされない。いくつかの実施形態では、陽イオン化可能な基は、窒素含有環である。窒素含有環の例としては、特に限定されないが、ピペラジン、ピペラジン、トリアジナン、テトラジナンなどが挙げられる。陽イオン化可能な基に関するいくつかの実施形態では、窒素含有環は、1個、2個、3個または4個の窒素を含む。いくつかの実施形態では、陽イオン化可能な基は、 $-N-SO_2-$ 基内に存在する窒素ではない。

10

【0179】

いくつかの実施形態では、基は、水素結合アクセプターおよび陽イオン化可能な基の両方を含む。例えば、モルホリン基は、酸素基内の水素結合アクセプターおよび窒素内の陽イオン化可能な基の両方を含む。

【0180】

本明細書で使用される「水素結合ドナー」という用語は、水素結合を供与することが可能な基を指す。水素結合ドナー基の例としては、特に限定されないが、 $-OH$ などが挙げられる。

【0181】

新規化合物の塩、溶媒和物、立体異性体、誘導體、プロドラッグおよび活性代謝物。

20

本開示は、上記のいずれかの式の化合物の塩、溶媒和物、立体異性体、プロドラッグおよび活性代謝物をさらに包含する。

【0182】

「塩」という用語は、酸付加塩または遊離塩基の付加塩を包含し得る。好ましくは、塩は薬学的に許容されるものである。薬学的に許容される酸付加塩の形成に使用し得る酸の例としては、特に限定されないが、無毒性無機酸、例えば硝酸、リン酸、硫酸または臭化水素酸、ヨウ化水素酸、フッ化水素酸、亜リン酸などに由来する塩のほか、無毒性有機酸、例えば脂肪族モノカルボン酸およびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、アルカンジオン酸、芳香族酸、脂肪族スルホン酸および芳香族スルホン酸ならびに酢酸、マレイン酸、コハク酸またはクエン酸に由来する塩が挙げられる。このような塩の非限定的な例としては、ナパジシル酸塩、ベシル酸塩、硫酸塩、ピロ硫酸塩、硫酸水素塩、亜硫酸塩、亜硫酸水素塩、硝酸塩、リン酸塩、リン酸一水素塩、リン酸二水素塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、プロピオン酸塩、カプリル酸塩、イソブチラート、シュウ酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、スベリン酸塩、セバシン酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、フタル酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、フェニル酢酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩などが挙げられる。このほか、アルギン酸塩などアミノ酸の塩およびグルコン酸塩、ガラクトロン酸が企図される（例えば、Bergera, "Pharmaceutical Salts," J. Pharma. Sci. 1977; 66:1を参照されたい）。

30

40

【0183】

上記のいずれかの式の化合物の酸付加塩は、従来の方法で遊離塩基形態と十分な量の所望の酸とを接触させて塩を生成することによって調製され得る。遊離塩基形態は、従来の方法で塩形態と塩基とを接触させ遊離塩基を単離することによって再生され得る。遊離塩基形態は、それぞれの塩形態とは極性溶媒への溶解度などの特定の物理的特性が若干異なるが、それ以外の点では、本開示の目的に関して塩とそれぞれの遊離塩基とは同等のものである。

【0184】

ほかにも、全塩および部分塩の両方、すなわち、例えば式 I の化合物または塩の酸 1 モ

50

ル当たり 1 当量、2 当量または 3 当量、好ましくは 2 当量の塩基、上記のいずれかの式の化合物の塩基 1 モル当たり 1 当量、2 当量または 3 当量、好ましくは 1 当量の酸を有する塩が含まれる。

【0185】

単離または精製を目的とする場合、薬学的に許容されない塩を用いることも可能である。しかし、治療用には薬学的に許容される無毒性塩のみを使用するため、そのような塩が好ましい。

【0186】

薬学的に許容される塩基付加塩は、金属またはアミン、例えばアルカリ金属およびアルカリ土類金属または有機アミンなどを用いて形成され得る。陽イオンとして使用される金属の例には、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどがある。適切なアミンの例には、N, N' - ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、エチレンジアミン、N - メチルグルカミンおよびプロカインがある。

10

【0187】

前記酸性化合物の塩基付加塩は、従来の方法で遊離酸形態と十分な量の所望の塩基とを接触させて塩を生成することによって調製される。遊離酸形態は、塩形態と酸とを接触させ遊離酸を単離することによって再生され得る。

【0188】

本開示の化合物は塩基中心および酸中心の両方を有し得るものであり、したがって、両性イオンまたは分子内塩の形態であり得る。

20

【0189】

通常、上記のいずれかの式の化合物の薬学的に許容される塩は、必要に応じて所望の酸または塩基を用いることによって容易に調製し得る。塩は、溶液から沈殿させ、ろ過により収集してもよく、また溶液を蒸発させることにより回収してもよい。例えば、上記のいずれかの式の化合物の水性懸濁液に塩酸などの酸の水溶液を加え、得られた混合物を蒸発乾固（凍結乾燥）させて、酸付加塩を固体として得てもよい。あるいは、上記のいずれかの式の化合物を適切な溶媒、例えばイソプロパノールなどのアルコールに溶かし、同じ溶媒または別の適切な溶媒に酸を加えてもよい。次いで、得られた酸付加塩は、直接沈殿させるか、ジイソプロピルエーテルまたはヘキサンなどの極性の小さい溶媒の添加により沈殿させ、ろ過により単離してもよい。

30

【0190】

有機化学の当業者であれば、多数の有機化合物が、反応させる溶媒または沈殿もしくは結晶化させる溶媒と複合体を形成し得ることが理解されよう。このような複合体は「溶媒和物」として知られる。例えば、水との複合体は「水和物」として知られる。本開示の化合物の溶媒和物は本開示の範囲内に含まれる。上記のいずれかの式の化合物の塩は溶媒和物（例えば、水和物）を形成し得るものであり、本開示には、このような溶媒和物がすべて包含される。「溶媒和物」という単語の意味は、溶媒と溶質との相互作用（すなわち、溶媒和）によって形成される化合物として周知のものである。溶媒和物の調製技術は当該技術分野で十分に確立されている（例えば、Brittain. Polymorphism in Pharmaceutical Solids. Marcel Dekker, New York, 1999を参照されたい）。

40

【0191】

本開示はほかに、式 I の化合物の N - オキシドを包含する。「N - オキシド」という用語は、別の状態で未置換 sp^2 N 原子を含む複素環に関して、N 原子が共有結合 O 原子、すなわち、- N - O を有し得ることを意味する。このような N - オキシド置換複素環の例としては、ピリジル N - オキシド、ピリミジル N - オキシド、ピラジニル N - オキシドおよびピラゾリル N - オキシドが挙げられる。

【0192】

上記のいずれかの式の化合物は、1 つまたは複数のキラル中心を有し得るほか、個々の

50

置換基の性質に応じて、幾何異性体も有し得る。空間内の原子の配置が異なる異性体は「立体異性体」と呼ばれる。互いに鏡像でない立体異性体は「ジアステレオマー」と呼ばれる。互いに重ね合わせることができない鏡像である立体異性体は「鏡像異性体」と呼ばれる。化合物がキラル中心を有する場合、1対の鏡像異性体が考えられる。鏡像異性体はその不斉中心の絶対配置によって特徴付けることが可能であり、CahnおよびPrelogのR - / S - 順位側または分子が偏光面を回転させて右旋または左旋（すなわち、それぞれ（+）異性体または（-）異性体）と命名される方法によって表される。キラル化合物は、個々の鏡像異性体または鏡像異性体の混合物のいずれでも存在し得る。各鏡像異性体を等しい割合で含む混合物は「ラセミ混合物」と呼ばれる。含まれる各鏡像異性体の割合が等しくない混合物は、R化合物またはS化合物のいずれかの「鏡像体過剰率」（ $e e$ ）を有するものとして表される。混合物中のある鏡像異性体の過剰分は多くの場合、%鏡像体過剰率（% $e e$ ）の値で表され、この値は式：

$$\% e e = (R) - (S) / (R) + (S)$$

によって求められる。

【0193】

このほか、鏡像異性体の比を「光学純度」によって定めることが可能であり、ここでは、鏡像異性体の混合物が平面偏光を回転させる度数を個々の光学的に純粋なR化合物およびS化合物と比較する。光学純度は以下の式：

光学純度 = 鏡像異性体 $m a j o r$ / (鏡像異性体 $m a j o r$ + 鏡像異性体 $m i n o r$)
を用いて求めることができる。

【0194】

化合物はこのほか、本明細書に記載される化合物の実質的に純粋な（+）鏡像異性体または（-）鏡像異性体であり得る。いくつかの実施形態では、実質的に純粋な鏡像異性体を含む組成物は、一方の鏡像異性体を少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%含む。いくつかの実施形態では、実質的に純粋な鏡像異性体を含む組成物は、少なくとも99.5%が一方の鏡像異性体である。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載される化合物の一方の鏡像異性体のみを含む。

【0195】

本開示は、上記のいずれかの式の化合物の個々の異性体をすべて包含する。本明細書および請求項の特定の化合物の説明および名称には、個々の鏡像異性体およびそのラセミ混合物などの混合物がともに包含されるものとする。立体異性体の立体化学の判定および分割または定位合成の方法は当該技術分野で周知である。具体的には、1組の鏡像異性体を生じる上記のいずれかの式の化合物にみられるキラル中心が存在する。置換基に応じて追加のキラル中心が存在し得る。

【0196】

適用には多くの場合、立体選択的合成を実施し、かつ/または反応生成物をしかるべき精製段階に供して、実質的に光学的に純粋な物質を得るのが好ましい。光学的に純粋な物質を得るのに適した立体選択的合成の手順は当該技術分野で周知であり、同じく、ラセミ混合物を光学的に純粋な画分に精製する手順も当該技術分野で周知である。当業者であれば、本開示の化合物が様々な形態で結晶化することが可能な多晶形で存在し得ることが認識されよう。結晶多形を同定および分離する方法は当該技術分野で公知である。

【0197】

ジアステレオマーでは、物理的特性および化学的反応性がともに異なる。ジアステレオマーの混合物は、溶解度、分別結晶またはクロマトグラフィー特性、例えば、薄層クロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィーまたはHPLCに基づいて鏡像異性体対に分離することができる。

【0198】

複雑なジアステレオマーの混合物を鏡像異性体に精製するには通常、2つの段階を必要とする。第一段階では、ジアステレオマーの混合物を上記のように鏡像異性体対に分割す

10

20

30

40

50

る。第二段階では、鏡像異性体対をさらに、一方または他方の鏡像異性体が濃縮された組成物に精製するか、より好ましくは、純粋な鏡像異性体を含む組成物に分割する。鏡像異性体の分割には通常、キラル剤、例えば溶媒またはカラム基質との反応または分子相互作用を必要とする。例えば、第二の薬剤、すなわち分割剤の純粋な鏡像異性体と反応させることにより鏡像異性体の混合物、例えばラセミ混合物をジアステレオマーの混合物に変換することによって、分割を達成し得る。次いで、得られた2つのジアステレオマー生成物を分離することができる。次いで、最初の化学変換を逆方向に進行させることにより、分離したジアステレオマーを純粋な鏡像異性体に再変換する。

【0199】

鏡像異性体の分割はほかに、例えば、ホモキラル吸着剤を用いたクロマトグラフィーにより、キラル物質との非共有結合の差によって実施することができる。鏡像異性体とクロマトグラフィー吸着剤との間の非共有結合により、ジアステレオマー複合体が確立され、クロマトグラフィー系での移動状態と結合状態の分配に差が生じる。このため、2つの鏡像異性体がクロマトグラフィー系、例えばカラムの中を異なる速度で移動し、その分離が可能となる。

【0200】

キラル分割カラムは当該技術分野で周知であり、市販されている（例えば、カリフォルニア州レイクフォレストのANSYS Technologies社の一部門、MetaChem Technologies社製）。例えばHPLC用のキラル固定相(CSP)を用いて、鏡像異性体を分析し精製することができる。キラルHPLCカラムには通常、シリカ充填材料の表面に固定化された1つの形態の鏡像異性化合物が含まれている。

【0201】

I型CSPの例にはD-フェニルグリシンおよびL-ロイシンがあり、これらは、相互作用、水素結合、双極子相互作用および立体相互作用の組合せを用いてキラル認識を達成するものである。分析物である鏡像異性体がI型カラムで分割されるためには、分析物がCSPとの不可欠な相互作用を受けると、鏡像異性体がCSPの官能基に相補的な官能基を含んでいなければならない。試料は、好ましくは以下の官能基のうちの1つを含んでいるべきである：-酸または-塩基、水素結合ドナーおよび/またはアクセプターあるいはアミド双極子。これらを含まない化合物には、誘導体化を用いて相互作用部位を付加することもある。最もよく用いられる誘導体は、アミンとカルボン酸からアミドを形成するものである。

【0202】

II型CSPの例にはMetaChiral ODM(商標)がある。溶質-CSP複合体を形成する主要な機序は、引力相互作用を介するものであるが、ほかに包接錯体が重要な役割を果たす。MetaChiral(商標)ODMでのキラル分割には水素結合、相互作用および双極子積層が重要である。溶質分子が溶質-カラム相互作用に必要な基を含まない場合、誘導体化が必要になることがある。アミンおよびカルボン酸のような極性の強い一部の分子は、誘導化しないと非特異的立体相互作用を介して固定相と強く相互作用する可能性があるため、通常はベンジルアミドに誘導体化する必要がある。

【0203】

適用可能な場合、上記のいずれかの式の化合物を、例えばシリカゲルでのカラムクロマトグラフィーまたはTLCにより分離することによって、ジアステレオマー対に分離することができる。このジアステレオマー対を本明細書では、TLC R_fの高いジアステレオマー；およびTLC R_fの低いジアステレオマーと呼ぶ。ジアステレオマーをさらに、当該技術分野で周知の方法、例えば本明細書に記載される方法などを用いて、特定の鏡像異性体に関して濃縮するか、単一の鏡像異性体に分割することができる。

【0204】

ジアステレオマー対の相対立体配置は、理論的モデルまたは法則(例えば、クラム則、フェルキン-アーンのモデル)を適用することによって、あるいは算出化学プログラムによって得られるさらに信頼度の高い三次元モデルを用いることによって推測することがで

10

20

30

40

50

きる。多くの場合、これらの方法により、いずれのジアステレオマーがエネルギー的に好ましい化学変換産物であるかを推測することができる。別の方法として、ジアステレオマー対（1つまたは複数）のうち的一方（または両方）の単一の鏡像異性体の絶対配置を明らかにすることにより、ジアステレオマー対の相対立体配置を間接的に決定することができる。

【0205】

立体中心の絶対配置は、当業者に非常によく知られた方法（例えば、X線回折、円二色法）によって決定することができる。絶対配置の決定はほかにも、理論的モデルの予測精度の確認に有用であり得るほか、このようなモデルの使用を類似した機序による反応（例えば、水素化物によるケトン還元およびケトンの還元的アミノ化）によって調製した同様の分子まで拡張するのに役立つ。

10

【0206】

本開示はこのほか、Z-E型の立体異性体および環と直接結合していない二重結合へのR₂-R₃置換基によるその混合物を包含し得る。mが1ではなく、かつmとnが異なる場合、さらなるZ-E立体異性体が生じる。二重結合した置換基の二重結合面におけるそれぞれの位置による立体異性体がZであるかEであるかを決定するには、カーン・インゴールド・プレローグ順位則を適用する。最も順位の高い2つの基がC=C結合を通る基準面の同じ側にある場合、その立体異性体はZ（zusammen = 一緒）と命名される。もう一方の立体異性体はE（entgegen = 反対）と命名される。

【0207】

20

E-Z型立体異性体の混合物は、これらの化合物の物理化学的特性の差に基づく古典的な精製方法を用いて、その成分により分離する（および/または特徴付ける）ことができる。このような方法には、分別結晶、低圧、中圧または高圧技術により実施するクロマトグラフィー、分留をはじめとする当業者に非常によく知られた方法がある。

【0208】

本開示はほかにも、上記のいずれかの式の化合物のプロドラッグ、すなわち、哺乳動物対象に投与したときに上記のいずれかの式による活性薬物をin vivoで放出する化合物を包含する。プロドラッグとは、代謝的変換によって薬理的に活性な薬剤に変換される、薬理的に活性な化合物またはより通常には不活性な化合物のことである。上記のいずれかの式の化合物のプロドラッグは、in vivoで修飾が切断されて親化合物を放出し得るように、上記のいずれかの式の化合物中に存在する官能基を修飾することによって調製される。in vivoでは、プロドラッグが生理的条件下で容易に化学変化を受ける（例えば、天然に存在する酵素（1つまたは複数）による加水分解または作用を受ける）ことにより、薬理的に活性な薬剤が遊離する。プロドラッグには、ヒドロキシ基、アミノ基またはカルボキシ基を、in vivoで切断されてそれぞれ遊離のヒドロキシル基、アミノ基またはカルボキシ基を再び生じ得る任意の基と結合させた、上記のいずれかの式の化合物が含まれる。プロドラッグの例としては、特に限定されないが、pHが生理的pHになるか酵素の作用を受けたときに活性な親薬物に変換される、上記のいずれかの式の化合物のエステル（例えば、酢酸エステル、ギ酸エステルおよび安息香酸エステル）をはじめとする誘導体が挙げられる。適切なプロドラッグ誘導体を選択および調製する従来の方法については当該技術分野で記載されている（例えば、Bundgaard, Design of Prodrugs, Elsevier, 1985を参照されたい）。

30

40

【0209】

プロドラッグは、それが変換される有効成分と同じ方法で投与しても、あるいはリザーバ、例えば、プロドラッグが時間をかけて徐々に有効成分に変換され、有効成分が患者に送達されるよう（酵素をはじめとするしかるべき試薬を加えて）適合させた経皮パッチをはじめとするリザーバの形態で送達してもよい。

【0210】

特に明記されない限り、「有効成分」という用語は、本明細書で定義される上記のい

50

れかの式の化合物を指すものとして理解されるべきである。

【0211】

本開示はこのほか、代謝産物を包含する。本明細書に開示される化合物の「代謝産物」とは、化合物が代謝されたときに形成される、化合物の誘導体のことである。「活性代謝物」という用語は、化合物が代謝されたときに形成される、化合物の生物学的に活性な誘導体を指す。「代謝された」という用語は、特定の物質が生体内で変化する過程全体を指す。簡潔に述べれば、体内に存在する化合物はすべて、エネルギーを引き出し、かつ/またはそれを体内から除去するために、酵素によって処理される。特異的酵素が化合物の構造を特異的に変化させる。例えば、シトクローム P450 は様々な酸化および還元反応を触媒し、ウリジンニリン酸グルクロニルトランスフェラーゼは、活性化グルクロン酸分子の芳香族アルコール、脂肪族アルコール、カルボン酸、アミンおよび遊離スルフィドリル基への転移を触媒する。代謝に関するさらなる情報は、The Pharmacoeutical Basis of Therapeutics, 第9版, McGraw-Hill (1996), 11~17ページから入手され得る。本明細書に開示される化合物の代謝産物は、化合物を宿主に投与し、宿主の組織試料を分析するか、化合物を肝細胞と *in vitro* でインキュベートし、生じた化合物を分析することにより同定することができる。いずれの方法も当該技術分野で周知である。

10

【0212】

シグマ - 2 受容体アンタゴニストの使用

いくつかの実施形態では、本開示は、シグマ - 2 受容体アンタゴニストの投与によって神経細胞の A ベータ種への曝露によるシナプス数減少または膜輸送異常を抑制する方法を提供する。本開示はこのほか、患者の認知低下および/または神経変性疾患、例えばアルツハイマー病または軽度認知障害 (MCI) を治療する方法であって、本明細書に記載されるシグマ - 2 アンタゴニスト、例えば、本明細書に記載されるいずれかの式に包含される化合物またはその薬学的に許容される塩を患者に投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、認知低下および/または神経変性疾患、例えばアルツハイマー病を抑制または治療する方法は、記憶喪失、錯乱、判断障害、人格変化、見当識障害および言語能力喪失からなる群より選択される 1 つまたは複数の認知低下の症状を抑制または治療することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、A ベータオリゴマーによって仲介されるか、A ベータオリゴマーを原因とする疾患、障害または状態を抑制または治療することを含む (段落 002 を参照されたい)。いくつかの実施形態では、認知低下および/または神経変性疾患、例えばアルツハイマー病を抑制または治療する方法は、(i) 電気生理学的に測定される長期増強 (LTP)、長期抑制 (LTD) もしくはシナプス可塑性または上の用語の定義で言及した他の認知機能の負の変化のいずれかを回復させること; ならびに/あるいは (ii) 神経変性を抑制または治療すること; ならびに/あるいは (iii) 一般的なアミロイドシスを抑制または治療すること; ならびに/あるいは (iv) アミロイド産生、アミロイド集合、アミロイド凝集、アミロイドオリゴマー結合およびアミロイド沈着のうちの 1 つまたは複数を含む; ならびに/あるいは (v) 1 つまたは複数の A ベータオリゴマーのニューロン細胞に対する作用、特に非致死性作用を抑制、治療および/または軽減することのうちの 1 つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、認知低下および/または神経変性疾患、例えばアルツハイマー病を抑制、治療および/または軽減する方法は、アミロイド産生、アミロイド集合、1 つまたは複数の A ベータオリゴマーのニューロン細胞に対する活性/作用、アミロイド凝集、アミロイド結合およびアミロイド沈着のうちの 1 つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、認知低下および/または神経変性疾患、例えばアルツハイマー病を抑制、治療および/または軽減する方法は、1 つまたは複数の A ベータオリゴマーのニューロン細胞に対する 1 つまたは複数の活性/作用を抑制、治療および/または軽減することを含む。

20

30

40

【0213】

いくつかの実施形態では、1 つまたは複数の A ベータオリゴマーのニューロン細胞に対

50

する活性/作用、アミロイド凝集およびアミロイド結合は、Aベータオリゴマーの膜輸送またはシナプス数に対する作用である。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 アンタゴニストは、膜輸送もしくはシナプス数に対するAベータオリゴマー作用またはAベータオリゴマー結合を阻害する。

【0214】

いくつかの実施形態では、本開示は、Aベータオリゴマー毒性、特に非致死性Aベータオリゴマー作用によるタンパク質症を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、この方法は、上記のようなタンパク質異常疾患のある対象と、本開示のシグマ - 2 アンタゴニストまたはシグマ - 2 受容体と結合する本開示の化合物を含む組成物とを接触させることを含む。

10

【0215】

いくつかの実施形態では、タンパク質症疾患は、Aベータタンパク質の増加を特徴とするCNSタンパク質症、例えばMCI、ダウン症候群、黄斑変性症またはアルツハイマー病などである。

【0216】

いくつかの実施形態では、本開示は、本開示によるシグマ - 2 アンタゴニストを投与することによって1つまたは複数の軽度認知障害(MCI)または認知症を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、MCIおよび認知症を治療する方法を提供する。

【0217】

いくつかの実施形態では、本開示は、AベータオリゴマーなどのAベータ種による悪影響を受けた機能の点で対象の細胞を部分的または全面的に正常な表現型に回復させるために、本開示によるシグマ - 2 アンタゴニストで個体を治療する方法を提供する。例には、本明細書に記載されるアッセイを含めた様々な方法によって測定することが可能なシナプス数減少および膜輸送異常がある。正常な表現型は、例えば正常な膜輸送であり得る。いくつかの実施形態では、正常な表現型は、正常な認知能力である。「正常な」表現型は、対象の結果と正常対象の試料とを比較することによって判定することができる。試料は、1例の対象または1例の試料のように少数であっても、10例を上回る試料または対象であってもよく、標準値は、複数の対象に基づいて算出した平均値である。

20

【0218】

いくつかの実施形態では、この方法は、認知低下または神経変性疾患の認められる対象に、シグマ - 2 タンパク質と結合しベータ - アミロイド病態を抑制する化合物または組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、ベータ - アミロイド病態は、動物における膜輸送障害、シナプス数の減少、樹状突起スパイン数の減少、樹状突起スパインの形態の変化、LTPの変化、LTDの変化、記憶および学習の測定結果の異常またはその任意の組合せなどである。上記の使用は、本発明者らが以下に提示する証拠から得られたものである：

30

【0219】

行動学的効果の評価：マウス恐怖条件付けにおけるAベータオリゴマー誘導性記憶欠損はコロンビア大学のOttavio Arancio博士の研究室で確立されたモデルである(Puzzo 2008)。数社の製薬会社が発見の試みに同じモデルを用いている。状況的恐怖条件付けは、ヒト認知機能、特に新規記憶の形成と関係のある連合記憶形成のモデルとして認められている(Delgado 2006)。条件付け訓練の直前に野生型動物の海馬内にAベータオリゴマーを注射し、24時間後、すくみ行動により記憶を評価する。このモデル系を選択したのは、オリゴマーを海馬内に投与することにより化合物の活性およびオフターゲット毒性の比較評価を迅速に実施することが可能になるという理由からである。

40

【0220】

ほかに、2つのトランスジェニックアルツハイマーモデルを対象に化合物をin vivoで試験して、化合物がAベータオリゴマーによる記憶喪失を正常な状態に戻すこと

50

を示すことができる。このような行動研究は全体的に、シグマ - 2 アンタゴニスト化合物が2つの異なるアルツハイマー病モデルで雌雄とも、短期投与または長期投与後に2つの異なる行動課題における学習および記憶を改善することを示しており、*in vitro* アッセイと *in vivo* 活性が相関することがわかる。

【0221】

本明細書で考察するように、証拠は、膜輸送が仲介するニューロン表面受容体発現がAベータオリゴマーの仲介により減少することが、シナプス可塑性(LTP)、ひいては学習および記憶の電気生理学的手段のオリゴマー阻害の根底にあることを示唆している(Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R. APP processing and synaptic function. *Neuron*. 2003 Mar 27; 37(6): 925-37; および Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, Malinow R. AMPAR removal underlies A beta oligomer-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron*. 2006 Dec 7; 52(5): 831-43を参照されたい)。げっ歯類のAベータの脳中レベルを *in vivo* で低下させる [Hong HS, Rana S, Barrigan L, Shi A, Zhang Y, Zhou F, Jin LW, Hua DH. Inhibition of Alzheimer's amyloid toxicity with a tricyclic pyrone molecule *in vitro* and *in vivo*. *J Neurochem*. 2009 Feb; 108(4): 1097-1108] Aベータオリゴマー遮断薬を発見するべく、オリゴマーが引き起こす膜輸送速度の変化をホルマザンの形態学的変化により測定することが細胞系に用いられている [Maezawa I, Hong HS, Wu HC, Battina SK, Rana S, Iwamoto T, Radke GA, Pettersson E, Martin GM, Hua DH, Jin LW. A novel tricyclic pyrone compound ameliorates cell death associated with intracellular amyloid-beta oligomeric complexes. *J Neurochem*. 2006 Jul; 98(1): 57-67; Liu Y, Schubert D. Cytotoxic amyloid peptides inhibit cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) reduction by enhancing MTT formazan exocytosis. *J Neurochem*. 1997 Dec; 69(6): 2285-93; Liu Y, Dargusch R, Banh C, Miller CA, Schubert D. Detecting bioactive amyloid beta peptide species in Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2004 Nov; 91(3): 648-56; Liu Y, Schubert D. Treating Alzheimer's disease by inactivating bioactive amyloid beta peptide. *Curr Alzheimer Res*. 2006 Apr; 3(2): 129-35; Rana S, Hong HS, Barrigan L, Jin LW, Hua DH. Syntheses of tricyclic pyrones and pyridinones and protection of A beta-peptide induced MC65 neuronal cell death. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009 Feb 1; 19(3): 670-4. Epub 2008 Dec 24; および Hong HS, Maezawa I, Budamagunta M, Rana S, Shi A, Vassar R, Liu R, Lam KS, Cheng R

10

20

30

40

50

H, Hua DH, Voss JC, Jin LW. Candidate anti-A beta fluorene compounds selected from analogs of amyloid imaging agents. *Neurobiol Aging*. 2008 Nov 18. (印刷前電子出版)]. したがって、上記の試験は、初期アルツハイマー病および軽度認知障害を治療する化合物を同定するうえで妥当なものであることが確認されている。

【0222】

いくつかの実施形態では、上記のいずれかの式の化合物は、Aベータオリゴマーのニューロン（脳内のニューロンなど）、アミロイド集合体またはその崩壊およびアミロイド（アミロイドオリゴマーを含む）結合に対する作用ならびにアミロイド沈着のうちの1つまたは複数を阻害することに関して、 IC_{50} 値が100 μ M未満、50 μ M未満、20 μ M未満、15 μ M未満、10 μ M未満、5 μ M未満、1 μ M未満、500 nM未満、100 nM未満、50 nM未満または10 nM未満である。いくつかの実施形態では、化合物は、オリゴマーなどのAベータ種のニューロン（中枢神経系ニューロンなど）に対する活性/作用の阻害に関して、 IC_{50} 値が100 μ M未満、50 μ M未満、20 μ M未満、15 μ M未満、10 μ M未満、5 μ M未満、1 μ M未満、500 nM未満、100 nM未満、50 nM未満または10 nM未満である。

【0223】

いくつかの実施形態では、オリゴマーなどのAベータ種のニューロン（脳内のニューロンなど）に対する作用、例えばアミロイド（アミロイドオリゴマーを含む）のシナプスとの結合などおよびAベータオリゴマーが仲介する膜輸送の異常のうちの1つまたは複数の本開示の化合物によるパーセント阻害を10 nM ~ 10 μ Mの濃度で測定した。いくつかの実施形態では、測定されたパーセント阻害は、約1% ~ 約20%、約20% ~ 約50%、約1% ~ 約50%または約1% ~ 約80%である。阻害は、例えば、アミロイドベータ種の曝露する前および後にニューロンのシナプス数を定量化することまたはシグマ-2アンタゴニストとAベータ種の両方の存在下でシナプス数を定量化すること（シグマ-2アンタゴニストはAベータ種への曝露と同時またはその前もしくは後である）によって評価することができる。また別の例として、膜輸送を測定し、エキソサイトーシスの速度と程度、エンドサイトーシスの速度と程度またはその他の細胞代謝の指標の尺度となる1つまたは複数のパラメータを、Aベータ種の存在下と非存在下および本開示によるシグマ-2アンタゴニストの存在下と非存在下で比較することにより、阻害を評価することができる。本発明者らは、本開示の化合物がほかにアミロイド凝集を阻害することを示す生化学アッセイの証拠を提出している（データ不掲載）。

【0224】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される化合物は、シグマ-2受容体と特異的に結合する。特定の受容体と特異的に結合する化合物は、ある受容体に対して別の受容体を上回る選択性を有する化合物を指す。例えば、化合物はシグマ-1受容体およびシグマ-2受容体の両方と結合することが可能であり得るが、化合物がシグマ-1受容体よりも少なくとも10%高い結合親和性でシグマ-2受容体と結合する場合、その化合物はシグマ-2受容体に特異的であることができる。いくつかの実施形態では、ある結合パートナー（例えば、受容体）に対する特異性は、第二の結合パートナーよりも少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%または1000%大きい。

【0225】

いくつかの実施形態では、本開示は、標識シグマ-2リガンドを用いて動物のベータ-アミロイドによる認知低下を測定する方法を提供する。いくつかの実施形態では、この方法は、動物と、本開示による標識シグマ-2リガンドとを接触させることと、シグマ-2の活性または発現を測定することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、動物のシグマ-2の活性または発現を、ベータ-アミロイド誘導性認知低下を有することがわかっている動物のものと比較することを含む。活性または発現が、ベータ-アミロイド誘

10

20

30

40

50

導性認知低下を有することがわかっている動物と同程度である場合、その動物は同じレベルの認知低下を有するものとする。様々な段階のベータアミロイド誘導性認知低下で明らかにされている活性または発現との類似度に応じて、その動物に順位を付けることができる。本明細書に記載されるシグマ - 2 リガンドはいずれも、標識されたシグマ - 2 リガンドを *in vivo* で使用できるように標識することができる。

【0226】

上記のいずれかの式の化合物および上でシグマ - 2 アンタゴニストとして記載されているその他の化合物が、本明細書に記載される様々な状態を治療するのに有効であるかどうかを判定するのに、*in vitro* アッセイを用いることができる。*in vitro* アッセイは、化合物 I I を用いた *in vivo* の作用と関連することがわかっており、例えば、化合物 I I と類似した構造を有する式 I I I ~ I V の化合物が、例えば本明細書に記載される *in vitro* アッセイで活性を示す場合、それをさらにシナプス消失の抑制または回復、神経細胞の膜輸送の変化の調節、記憶喪失からの保護または回復ならびに M C I およびアルツハイマー病などの認知低下の状態、疾患および障害の治療を含めた本明細書に記載される状態の治療または緩和に *in vivo* で使用することができる。アッセイは部分的には、アミロイドベータオリゴマーおよびそれがニューロンのシナプスと結合する機能のほか、アミロイドベータオリゴマーが *in vitro* でニューロンに及ぼす作用に基づくものである。いくつかの実施形態では、本発明者らがシグマ - 2 タンパク質を含むと考えるニューロンの A ベータオリゴマー受容体と、本明細書に記載されるアミロイドベータ集合体とを接触させ、シグマ - 2 タンパク質と結合する式 I、I I または I I I による化合物が、アミロイドベータ集合体と受容体との結合を阻害する。本発明者らは、競合的放射性リガンド結合アッセイで、本発明の化合物がシグマ - 2 受容体に特異的であることを明らかにした。本発明者らはほかに、本開示の化合物が、A ベータオリゴマーと、ニューロン表面にあってそれまで同定されていないその受容体との結合を阻害することを明らかにした。いくつかの実施形態では、上記の任意の式の化合物がニューロンのシグナル伝達においてシグマ - 2 リガンドとして有効であるかどうかを判定する方法を提供する。いくつかの実施形態では、この方法は、特に限定されないが初代ニューロンなどの細胞と、シグマ - 2 リガンドとを接触させることと、ニューロンの機能を測定することを含む。いくつかの実施形態では、細胞を *in vitro* で接触させる。いくつかの実施形態では、細胞を *in vivo* で接触させる。ニューロンの活性は、シグナル伝達活性、電気的活性、シナプスタンパク質の産生または放出などであり得る。シグナル伝達を増強または回復させるシグマ - 2 アンタゴニストは、ニューロンの活性の調節に有効であるものとする。いくつかの実施形態では、細胞は病理学的試料に由来するものである。いくつかの実施形態では、細胞は神経変性疾患の対象に由来するものである。いくつかの実施形態では、神経変性疾患は、M C I またはアルツハイマー病、特に軽度アルツハイマー病である。

【0227】

受容体結合アッセイおよび化合物スクリーニング

いくつかの実施形態では、被験化合物を細胞または細胞膜と接触させて、被験化合物がシグマ - 2 受容体と結合するかどうかを判定する。いくつかの実施形態では、被験化合物を担体または溶媒、例えば、特に限定されないがジメチルスルホキシドなどに溶かす。いくつかの実施形態では、細胞をコンフルエントになるまで培養する。いくつかの実施形態では、コンフルエントになったとき、細胞を穏やかに擦り取って剥離することができる。いくつかの実施形態では、トリプシン処理をはじめとする適切な剥離手段によって細胞を剥離する。

【0228】

いくつかの実施形態では、例えば競合的放射性リガンド結合アッセイによって、被験化合物とシグマ - 2 受容体との結合を判定することができる。放射性リガンド結合アッセイは、ヒト受容体を安定に発現するインタクト細胞または組織供給源で実施することができる。剥離した細胞または組織を例えば、洗浄し、遠心分離し、かつ/または緩衝液に再懸

10

20

30

40

50

濁させることができる。本明細書に記載される方法を含めた任意の方法に従って被験化合物を放射標識することができる。様々な濃度（その範囲は例えば、 $10^{-10} \sim 10^{-3}$ Mまたは $10^{-11} \sim 10^{-4}$ Mであり得る）の競合薬物の非存在下または存在下で、放射性リガンドを $0.1 \mu\text{Ci}$ の一定濃度で用いることができる。緩衝液中の組織または細胞（例えば、約50,000個の細胞）に薬物を加え、インキュベートすることができる。各受容体サブタイプに対する広範囲の活性化因子もしくは阻害剤または機能的アゴニストもしくはアンタゴニストの存在下で（例えばシグマ受容体では、例えば、 $10 \mu\text{M}$ の各受容体に対するしかるべきリガンドの存在下で）非特異的結合を判定することができる。急速ろ過によって反応を終了させることができ、次いで、氷冷緩衝液で2回洗浄することができる。特に限定されないが液体シンチレーション分析器を含めた任意の方法を用いて、乾燥させたフィルターディスクの放射活性を測定することができる。置換曲線をプロットし、例えばGraphPad Prism (GraphPad Software社、サンディエゴ、カリフォルニア州)を用いて、受容体サブタイプに対する被験リガンドの K_i 値を求めることができる。全結合（壊変毎分）と非特異的結合（壊変毎分）の間の差を全結合（壊変毎分）で除することにより、パーセント特異的結合を求めることができる。

10

【0229】

いくつかの実施形態では、細胞系または組織供給源での結合試験では、各実験内で異なる濃度の各薬物を二重反復で加え、例えばGraphPad Prismソフトウェアを用いて、個々の IC_{50} 値を求めた。各リガンドの K_i 値は、ChengおよびPrusoff (1973)により記載されている方程式に従って求めることができ、最終データは $pK_i \pm S.E.M.$ で表すことができ、この場合、いくつかの実施形態では、試験回数は約1~6である。

20

【0230】

いくつかの実施形態では、この方法は、シグマ-2受容体と結合する化合物が、可溶性Aオリゴマー誘導性シナプス消失の抑制および膜輸送アッセイにおける可溶性Aオリゴマー誘導性不良の抑制という点で、可溶性Aオリゴマー誘導性神経毒性を抑制することによりシグマ-2受容体において機能的アンタゴニストとして作用するかどうかを判定することをさらに含む。いくつかの実施形態では、この方法はさらに、シグマ-2受容体アンタゴニストがAベータオリゴマーの非存在下で輸送にもシナプス数にも影響を及ぼさないこと；神経細胞のカスパーゼ-3活性を誘導しないこと；シグマ-2受容体アゴニストによるカスパーゼ-3活性の誘導を阻害すること；および/またはシグマ-2受容体アゴニストによって引き起こされる神経細胞の神経毒性を軽減するか、そのような神経毒性から保護することを明らかにする。

30

【0231】

試験はこのほか、結合パートナーの機能に対する被験化合物の作用を判定する機能アッセイを含み得るものであり、結合パートナーは、特に限定されないがシグマ-2受容体であり得る。様々な標準的なアッセイ技術を用いることができる。例えば、生存している細胞または組織における化合物の機能的アゴニスト様またはアンタゴニスト様活性を測定する方法を用いることができる。方法としては、特に限定されないが、cAMP濃度およびIP1レベルを測定するTR-FRET、カルシウムの流動をモニターするリアルタイム蛍光法、インピーダンス調節、回腸収縮または腫瘍細胞アポトーシスを測定する細胞内誘電分光測定法が挙げられる。このほか、例えば、被験化合物がシグマ-1受容体と結合するのか、シグマ-2受容体と結合するのか、いずれとも結合しないのか、両方と結合するのかを判定することによって、その化合物の特異性を判定することができる。被験化合物がシグマ-1受容体と結合するかどうかを判定する方法は、Ganapathy, M. Eら(1999) J. Pharmacol. Exp. Ther., 289: 251-260 (全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている。被験化合物がシグマ-1受容体と結合するかどうかを判定する方法は、Bowen, W. Dら(1993) Mol. Neuropharmacol., 3: 117-126 (全体が参照により本明細書に組み込まれる)のほかにも、Xu, Jら, Nature Communica

40

50

ns, 2011, 2:380 DOI:10.1038/ncomms1386 (全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている。

【0232】

様々な実施形態では、本開示は、可溶性Aオリゴマー誘導性シナプス消失の抑制という点で、可溶性Aオリゴマー誘導性神経毒性を抑制することによって、シグマ-2受容体において機能的アンタゴニストとして作用し得る選択的高親和性シグマ-2受容体リガンドであって、膜輸送アッセイにおける可溶性Aオリゴマー誘導性不良を抑制し、Aベータオリゴマーの非存在下で輸送にもシナプス数にも影響を及ぼさず；本明細書に記載される優れた薬物様特性を示し、したがって、同定された選択的高親和性シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物を可溶性Aオリゴマー誘導性シナプス機能不全の治療に *in vivo* で使用することができる、リガンドを同定するアッセイプロトコルを提供する。

10

【0233】

いくつかの実施形態では、本開示は、対象をシグマ-2アンタゴニストで治療すべきかどうかを判定する方法であって、対象が、本明細書に記載される認知低下または神経変性疾患をはじめとする状態、疾患または障害を有することが疑われる、方法を提供する。いくつかの実施形態では、この方法は、患者に由来する試料とシグマ-2アンタゴニストとを接触させることと、シグマ-2調節化合物が、試料中に認められるベータ-アミロイド病態を抑制または緩和するかどうかを判定することとを含み、試料中に認められるベータ-アミロイド病態の抑制または緩和を示す試料が、対象をシグマ-2アンタゴニストで治療すべきであることを示す。

20

【0234】

さらに、本開示は、Aオリゴマー誘導性のシナプス数減少などを抑制するシグマ-2アンタゴニストを同定する方法を含む。いくつかの実施形態では、この方法を用いて、ベータ-アミロイド病態を治療するためのシグマ-2アンタゴニストを同定することができる。いくつかの実施形態では、この方法を用いて、ベータ-アミロイド病態を治療する治療法の有効性を判定する。いくつかの実施形態では、ベータ-アミロイド病態は、膜輸送障害、シナプス機能不全、動物の記憶および学習障害、シナプス数の減少、樹状突起スパインの長さもしくは形態の変化、LTPの障害またはタウタンパク質のリン酸化の増大である。

30

【0235】

本開示で使用するアミロイドベータ

ヒトアミロイドは、ニューロンのシナプスに集中してみられる内在性膜タンパク質であるアミロイド前駆体タンパク質(A β)の切断産物である。アミロイドは、自己会合して準安定性のオリゴマー集合体を形成する。A β は、濃度が高くなると重合して直線状の線維に集合し、この現象はpHが低くなると促進される。線維がオリゴマーから形成されるのかどうかは現時点で明らかにされていない。アミロイドオリゴマーは、動物モデルでは、ニューロンシナプスの変化を誘導して学習および記憶を阻害することにより、アルツハイマー病を引き起こすことが示されており、アミロイド線維は長い間、動物およびヒトの進行期アルツハイマー病の原因であるとされてきた。実際、現在のアルツハイマー病に関する作業仮説で、多数の裏付けが得られているものは、A β 集合体、特にA β オリゴマーが、アルツハイマー病に関連する初期病態ならびにMCIおよび軽度ADなどの重症度の低い認知症に関連する病態の中心であるとする仮説である。James P.ら, "Natural oligomers of the amyloid-protein specifically disrupt cognitive function." *Nature Neuroscience* Vol. 8 (2005): 79-84; Klyubin, I.ら, Amyloid beta protein dimer-containing human CSF disrupts synaptic plasticity: prevention by systemic passive immunization." *J Neurosci*. Vol. 28 (2008): 4231-4237により明らかである。しかし、オリゴマーが

40

50

形成される仕組みおよびオリゴマーの構造的状態に関してはほとんど知られていない。例えば、会合してオリゴマーを形成するアミロイド サブユニットの数は現時点では明らかにされておらず、また、オリゴマーの構造形態も露出する残基も明らかにされていない。向神経活性を示すオリゴマーの構造状態が2つ以上あることを示唆する証拠が得られている (Reed, Jess D.ら, "MALDI-TOF mass spectrometry of oligomeric food polyphenols." *Phytochemistry* 66:18 (September 2005): 2248-2263; Cleary, James P.ら, "Natural oligomers of the amyloid- β protein specifically disrupt cognitive function." *Nature Neuroscience* Vol. 8 (2005): 79-84)。

10

【0236】

アミロイド β は、ApoEおよびApoJを含めた脳内にみられる多くのタンパク質に対して親和性がある。しかし、シャペロンをはじめとするタンパク質が、その最終的な構造状態および/またはその向神経活性に影響を及ぼし得るタンパク質と会合するかどうかは明らかにされていない。

【0237】

可溶性A β ペプチドは、ADの初期段階でシナプス機能不全および認知過程を乱すことによって重要な役割を果たしている可能性がある。例えば、Origliaらは、可溶性A β (A β 42)が終末糖化産物 (RAGE) 仲介性p38MAPK活性化のニューロン受容体を介して嗅内皮質の長期増強 (LTP) に障害をもたらすことを明らかにしている (Origliaら, 2008, Receptor for advanced glycation end product-dependent activation of p38 mitogen-activated protein kinase contributes to amyloid- β -mediated cortical synaptic dysfunction. *J. Neuroscience* 28(13): 3521-3530) (参照により本明細書に組み込まれる)。

20

【0238】

シナプス機能不全はアルツハイマー病の初期段階に関与している。アミロイド β ペプチドはシナプス機能を変化させることが明らかにされている。Puzzoらは、合成した線維型A β が、早期タンパク質合成相には影響を及ぼさずにLTPの後期タンパク質合成依存相に障害をもたらすことを報告している。この報告は、A β オリゴマーが細胞に対して高い毒性を示し、シナプス機能不全に関与するというそれ以前の報告と一致する (Puzzoら, 2006, *Curr Alzheimer's Res* 3(3): 179-183) (参照により本明細書に組み込まれる)。A β は、一酸化窒素カスケードの1つであるNO/cGMP/cGK/CREBを含めた様々なセカンドメッセンジャーカスケードによって海馬長期増強 (LTP) に著明な障害をもたらすことがわかっている (Puzzoら, *J. Neurosci.* 2005)。いくつかの実施形態では、本開示は、神経細胞のアミロイド β オリゴマー誘導性シナプス機能不全を抑制し、ニューロンのA β オリゴマーへの曝露により引き起こされる海馬長期増強の抑制を阻害するシグマ-2受容体アンタゴニスを含む、組成物および方法を提供する。

30

40

【0239】

本開示によるスクリーニング法およびアッセイの実施には、アミロイド β のモノマー、オリゴマー、線維およびタンパク質と会合したアミロイド β (「タンパク質複合体」)のほか、より一般的にはアミロイド β 集合体を含めた、任意の形態のアミロイド β を使用し得る。例えば、スクリーニング法には、例えば、米国特許出願第13/021,872号；米国特許公開第2010/0240868号；国際公開第2004/067561号；国際公開第2010/011947号；米国特許公開第20070098721号；米国特許公開第20100209346号；国際公開第2007/005359号；米国特許

50

公開第20080044356号；米国特許公開第20070218491号；国際公開第2007/126473号；米国特許公開第20050074763号；国際公開第2007/126473号、国際公開第2009/048631号ならびに米国特許公開第20080044406号、米国特許第7,902,328号および米国特許第6,218,506号（それぞれ参照により本明細書に組み込まれる）に開示されている様々な形態の可溶性アミロイド オリゴマーを使用することができる。

【0240】

アミロイド のモノマーまたはオリゴマーを含めたアミロイド 型は、任意の供給源から入手されるものであり得る。例えば、いくつかの実施形態では、市販のアミロイド モノマーおよび/またはアミロイド オリゴマーを水溶液中で使用してよく、他の実施形態では、タンパク質水溶液中で使用されるアミロイド モノマーおよび/またはアミロイド オリゴマーを、当業者が多数の任意の既知の技術を用いて単離し精製することができる。一般に、タンパク質の水溶液の調製に使用されるアミロイド モノマーおよび/またはアミロイド オリゴマーおよび様々な実施形態のアミロイド は、水溶液に可溶性であり得る。したがって、水溶液のタンパク質およびアミロイド はともに可溶性であり得る。

【0241】

加えるアミロイド は任意のアイソフォームであり得る。例えば、いくつかの実施形態では、アミロイド モノマーはアミロイド 1~42であり得、他の実施形態では、アミロイド モノマーはアミロイド 1~40であり得る。また別の実施形態では、アミロイド はアミロイド 1~39またはアミロイド 1~41であり得る。したがって、様々な実施形態のアミロイド は、アミロイド の任意のC末端アイソフォームを包含し得る。さらに別の実施形態は、N末端が切れているアミロイド を含み、いくつかの実施形態では、上記のいずれかのアミロイド C末端異性体のN末端は、アミノ酸2、3、4、5または6であり得る。例えば、アミロイド 1~42は、アミロイド 2~42、アミロイド 3~42、アミロイド 4~42またはアミロイド 5~42およびその混合物を包含し得るものであり、同様に、アミロイド 1~40は、アミロイド 2~40、アミロイド 3~40、アミロイド 4~40またはアミロイド 5~40を包含し得る。

【0242】

様々な実施形態に使用するアミロイド 型は野生型、すなわち、大部分の集団により *in vivo* で合成されるアミロイド のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を有するものであり得るか、いくつかの実施形態では、アミロイド は変異体アミロイド であり得る。実施形態は、変異体アミロイド の特定の変種に限定されない。例えば、いくつかの実施形態では、水溶液中に導入するアミロイド は、例えば、「Dutch」（E22Q）変異または「Arctic」（E22G）変異を有するアミロイド などの既知の変異を含み得る。このような変異モノマーは、天然に存在する変異、例えば、例えばアルツハイマー病になりやすい個人の集団から単離されたアミロイド 型である家族型アミロイド などを含み得る。他の実施形態では、変異体アミロイド モノマーは、特異的変異を有するアミロイド 変異体を作製する分子技術を用いることにより、合成的に作製され得る。また別の実施形態では、変異体アミロイド モノマーは、これまでに同定されていない変異、例えば、ランダムに生成されるアミロイド 変異体にみられる未同定の変異体を含み得る。本明細書で使用される「アミロイド 」という用語は、野生型のアミロイド および任意の変異体型のアミロイド をともに包含するものとする。

【0243】

いくつかの実施形態では、タンパク質水溶液中のアミロイド は、単一のアイソフォームであり得る。他の実施形態では、アミロイド の様々なC末端アイソフォームおよび/またはアミロイド の様々なN末端アイソフォームを組み合わせ、タンパク質水溶液にすることができるアミロイド 混合物を形成させ得る。さらに別の実施形態では、アミロイド は、タンパク質含有水溶液に添加されて *in situ* で切断されるアミロイド 前駆体タンパク質（APP）に由来するものであり得、このような実施形態では、アミロイド の様々なアイソフォームが溶液中に含まれ得る。N末端の切断および/またはC末端

10

20

30

40

50

アミノ酸の除去は、アミロイド を加えた後に水溶液中で起こり得る。したがって、本明細書に記載される通りに調製される水溶液には、最初に単一のアイソフォームを溶液に加える場合でも、様々なアミロイド アイソフォームが含まれ得る。

【0244】

水溶液に加えるアミロイド モノマーは、生存組織などの天然の供給源から単離されたものであり得、他の実施形態では、アミロイド は、トランスジェニックマウスまたは培養細胞などの合成供給源に由来するものであり得る。いくつかの実施形態では、正常対象および/または認知低下またはそれに関連する疾患、例えば特に限定されないが、アルツハイマー病などと診断された患者からモノマー、オリゴマーまたはその組合せを含めたアミロイド 型を単離する。いくつかの実施形態では、アミロイド のモノマー、オリゴマーまたはその組合せは、正常対象または罹患患者から単離したAベータ集合体である。いくつかの実施形態では、Aベータ集合体は、分子量が大きく、例えば100kDaを超える。いくつかの実施形態では、Aベータ集合体は、分子量が中程度であり、例えば10~100kDaである。いくつかの実施形態では、Aベータ集合体は10kDa未満である。

10

【0245】

いくつかの実施形態のアミロイド オリゴマーは、よく用いられる「オリゴマー」の定義に一致する任意の数のアミロイド モノマーからなるものであり得る。例えば、いくつかの実施形態では、アミロイド オリゴマーは、約2~約300、約2~約250、約2~約200のアミロイド モノマーを含むものであり得、他の実施形態では、アミロイド オリゴマーは、約2~約150、約2~約100、約2~約50または約2~約25のアミロイド モノマーからなるものであり得る。いくつかの実施形態では、アミロイド オリゴマーは2以上のモノマーを含み得る。様々な実施形態のアミロイド オリゴマーは、モノマーの確認に基づいて、アミロイド 線維およびアミロイド 前原線維と区別され得る。特に、アミロイド オリゴマーのアミロイド モノマーは一般に、 β -プリーツシートからなる球状であるのに対し、線維および前原線維のアミロイド モノマーの二次構造は、平行な β -シートである。

20

【0246】

アルツハイマー病の対象またはアルツハイマー病のリスクのある対象の特定

アルツハイマー病(AD)は、組織学的には、大脳皮質の細胞外 β -アミロイド(A β)斑およびニューロン内神経原線維濃縮体の存在によって定義される。様々な診断および予後予測のためのバイオマーカー、例えば磁気共鳴画像法、単一光子放射断層撮影法、FDG PET, PiB PET, CSFタウおよびAベータ解析などが当該技術分野で公知であるほか、Alvesら, 2012, Alzheimer's disease: a clinical practice-oriented review, Frontiers in Neurology, April, 2012, vol 3, Article 63, 1-20(参照により本明細書に組み込まれる)では、その診断精度に関して得られているデータについて考察されている。

30

【0247】

認知症の診断は、認知症が発症する者の予測とともに、磁気共鳴画像法および[(18)F]フルオロデオキシグルコース(FDG)の使用による陽電子放射断層撮影法(PET)によって補助されてきた。これらの技術はADに特異的なものでない。例えば、Vallabhajosula S. Positron emission tomography radiopharmaceuticals for imaging brain Beta-amyloid. Semin Nucl Med. 2011 Jul; 41(4): 283-99を参照されたい。認知障害の患者に中頻度ないし高頻度で認められるアミロイド神経突起斑の撮像に最近FDAの承認を受けた別のPETリガンドにフロルベタビルF18注射液、(4-((1E)-2-(6-{2-(2-(2-(18F)フルオロエトキシ)エトキシ)エトキシ}ピリジン-3-イル)エチル)-N-メチルベンゼンアミン(AMYVID(登録商標)、Lilly社)がある。フロルベタビル

40

50

は、線維状Aベータとは特異的に結合するが、神経原線維濃縮体とは特異的に結合しない。例えば、Choi SR,ら, Correlation of amyloid PET ligand florbetapir F 18 binding with A aggregation and neuritic plaque deposition in postmortem brain tissue. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2012 Jan; 26(1): 8-16を参照されたい。PETリガンドのフロルベタピルには、PETスキャンの定性的視覚的評価においては特異性が低いという欠点がある。Camusら, 2012, Eur J Nucl Med Mol Imaging 39: 621-631。しかし、神経突起斑のある者の多くは認知機能が正常であるように思われる。

10

【0248】

アルツハイマー病のCSFマーカーとしては、総タウ、蛍光体 - タウおよびAベータ42が挙げられる。例えば、Andreassen, Sjogren and Blennow, World J Biol Psychiatry, 2003, 4(4): 147-155(参照により本明細書に組み込まれる)を参照されたい。ADでは42アミノ酸型のAベータ(Aベータ42)のCSF中レベルが低下し、総タウのCSF中レベルが増大することが多数の研究で明らかにされている。さらに、ADが発症するリスクのある対象を特定するのに有用なAPP遺伝子の変異の遺伝マーカーが知られている。例えば、Goateら, Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease, Nature, 349, 704-706, 1991(参照により本明細書に組み込まれる)を参照されたい。種々の実施形態では、任意の診断法または予後予測法を用いて、アルツハイマー病の対象またはアルツハイマー病のリスクのある対象を特定することができる。

20

【0249】

シグマ - 2受容体アンタゴニストを含む医薬組成物

本明細書に提供されるシグマ - 2受容体アンタゴニスト化合物は、医薬組成物の形態で投与することができる。このような組成物は、製薬分野で周知の方法で調製することが可能であり、局所治療であるのか全身治療であるのかに応じて、また治療する領域に応じて、様々な経路により投与することができる。

30

【0250】

したがって、本開示の別の実施形態は、薬学的に許容される補形剤または希釈剤と、治療有効量の本開示のシグマ - 2受容体アンタゴニスト化合物(その鏡像異性体、ジアステレオマー、N - オキシドまたはその薬学的に許容される塩を含む)とを含む、医薬組成物を含む。

【0251】

化合物を原物質として投与することも可能であるが、有効成分を医薬製剤、例えば、活性物質と、意図する投与経路および標準的薬務に応じて選択した薬学的に許容される担体とを混合した医薬製剤の形で提供するのが好ましい。

【0252】

したがって、一態様では、本開示は、上記のいずれかの式の化合物、抗体もしくはフラグメントをはじめとする上記のようにシグマ - 2受容体アンタゴニストとして記載される化合物またはその薬学的に許容される誘導体(例えば、塩もしくは溶媒和物)を少なくとも1つと、任意選択で薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物を提供する。特に、本開示は、治療有効量の少なくとも1つの上記のいずれかの式の化合物またはその薬学的に許容される誘導体と、任意選択で薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物を提供する。

40

【0253】

組合せ

本開示の組成物および方法では、上記のいずれかの式の化合物をはじめとする上記のよ

50

うにシグマ - 2 受容体アンタゴニストとして記載される化合物と、他の治療剤および / または活性物質とを併用し得る。

【 0 2 5 4 】

いくつかの実施形態では、シグマ - 2 アンタゴニスト化合物と、コリンエステラーゼ阻害剤、N - メチル - D - アスパラギン酸 (N M D A) グルタミン酸受容体アンタゴニスト、ベータ - アミロイド特異的抗体、ベータ - セクレターゼ 1 (B A C E 1、ベータ部位アミロイド前駆体切断酵素 1) 阻害剤、腫瘍壊死因子アルファ (T N F) モジュレーター、静脈内免疫グロブリン (I V I G) またはプリオンタンパク質アンタゴニストのうち 1 つまたは複数とを組み合わせることができる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストと、タクリン (C O G N E X (登録商標) ; S c i e l e 社) , ドネペジル (A R I C E P T (登録商標) ; P f i z e r 社) , リバスチグミン (E X E L O N (登録商標) ; N o v a r t i s 社) またはガラントミン (R A Z A D Y N E (登録商標) ; O r t h o - M c N e i l - J a n s s e n 社) から選択されるコリンエステラーゼ阻害剤とを組み合わせる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストと、脊柱周囲 (p e r i s p i n a l) エタネルセプト (E N B R E L (登録商標) , A m g e n / P f i z e r 社) である T N F アルファモジュレーターとを組み合わせる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストと、バピネオズマブ (P f i z e r 社) , ソラネズマブ (L i l l y) , P F - 0 4 3 6 0 3 6 5 (P f i z e r 社) , G S K 9 3 3 7 7 6 (G l a x o S m i t h K l i n e 社) , G a m m a g a r d (B a x t e r 社) または O c t a g a m (O c t a p h a r m a 社) から選択されるベータ - アミロイド特異的抗体とを組み合わせる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストと、メマンチン (N A M E N D A (登録商標) ; F o r e s t 社) である N M D A 受容体アンタゴニストとを組み合わせる。いくつかの実施形態では、BACE1 阻害剤は MK - 8 9 3 1 (M e r c k 社) である。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストと、Maggaら, J Neuroinflamm 2010, 7:90, Human intravenous immunoglobulin provides protection against Ab toxicity by multiple mechanisms in a mouse model of Alzheimer's disease および Whaleyら, 2011, Human Vaccines 7:3, 349-356, Emerging antibody products and Nicotiana manufacturing (それぞれ参照により本明細書に組み込まれる) に記載されている I V I G とを組み合わせる。いくつかの実施形態では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストと、Strittmatterらの米国特許出願公開第 2010/0291090号 (参照により本明細書に組み込まれる) に開示されているプリオンタンパク質アンタゴニストとを組み合わせる。

【 0 2 5 5 】

したがって、本開示は、さらなる態様では、上記のいずれかの式の化合物またはその薬学的に許容される誘導体を少なくとも 1 つと、第二の活性物質と、任意選択で薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物を提供する。

【 0 2 5 6 】

2 つ以上の化合物を同じ製剤中で組み合わせる場合、それらは安定であり、互いにおよび製剤の他の成分と適合性がなければならないことが理解されよう。それらを別個に製剤化する場合、当該技術分野でその化合物について知られている方法で好都合に、任意の好都合な製剤の形で提供しなければならない。

【 0 2 5 7 】

保存剤、安定剤、色素および場合によっては香味剤を医薬組成物中に加え得る。保存剤としては、安息香酸ナトリウム、アスコルビン酸および p - ヒドロキシ安息香酸のエステルが挙げられる。このほか、抗酸化剤および懸濁化剤を使用し得る。

【 0 2 5 8 】

モノクローナル抗体またはフラグメントなどの生物製剤を含む組合せでは、適切な補形

10

20

30

40

50

剤を用いて、一般には非経口投与、例えば静脈内投与用の内毒素の少ない溶液中で抗体またはフラグメントが凝集するのを防ぎ、安定化させる。例えば、Current Trends in Monoclonal Antibody Development and Manufacturing, 第4部, 2010, Springer, New York pp 103 - 129のDaughertyら, Formulation and Delivery Issues for Monoclonal Antibody Therapeuticsを参照されたい。

【0259】

本開示の化合物を、湿式粉碎などの既知の粉碎方法を用いて粉碎して、錠剤形成およびその他の種類の製剤に適した粒子径にし得る。当該技術分野で公知の工程により、本開示の化合物の微粉化（ナノ粒子状）調製物を調製してもよく、例えば、国際公開第02/00196号（SmithKline Beecham社）を参照されたい。

10

【0260】

投与経路および単位投与剤形

投与（送達）経路としては、特に限定されないが、経口投与（例えば、錠剤、カプセルとして、または摂取可能な溶液として）、局所投与、粘膜投与（例えば、経鼻スプレーまたは吸入エアゾールとして）、非経口投与（例えば、注射可能な形態による）、胃腸管投与、脊髄内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、静脈内投与、脳室内投与またはその他のデポ投与などのうちの1つまたは複数が挙げられる。抗体またはフラグメントの投与は、非経口手段によるものが一般的である。

20

【0261】

したがって、本開示の組成物は、投与様式に合わせて特別に製剤化した形態のものを含む。ある特定の実施形態では、本開示の医薬組成物を経口送達に適した形態に製剤化する。例えば、化合物CBおよび化合物CFは、動物モデルに経口投与して生物学的に利用可能なシグマ-2受容体アンタゴニスト化合物であり、恐怖条件付けモデルに1日1回の経口投与で有効であることが認められている（例えば、図12Bを参照されたい）。経口投与で生物学的に利用可能な本明細書に記載の化合物は、経口製剤に調製することができる。いくつかの実施形態では、シグマ-2アンタゴニスト化合物は、経口送達に適した経口投与で生物学的に利用可能なものである。他の実施形態では、本開示の医薬組成物を非経口送達に適した形態に製剤化する。いくつかの実施形態では、シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物は抗体またはそのフラグメントであり、ここでは、抗体またはフラグメントを非経口組成物に製剤化する。例えば、抗シグマ-2受容体抗体、例えばAベータオリゴマーとシグマ-2受容体との結合を阻止する抗PGRMC1抗体などを非経口送達用に製剤化することができる。

30

【0262】

本開示の化合物は、ヒト医療または獣医学医療に使用するのに好都合な方法での投与に合わせて製剤化してもよく、したがって、本開示は、ヒト医療または獣医学医療での使用に適合させた本開示の化合物を含む医薬組成物をその範囲内に含む。このような組成物は、1つまたは複数の適切な担体を用いる従来の方法で使用するために提供され得る。治療的使用に許容される担体は製薬分野で周知であり、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro編, 1985)に記載されている。医薬担体の選択は、意図する投与経路および標準的薬務に関して実施され得る。医薬組成物は、担体に加えて、任意の適切な結合剤（1つまたは複数）、滑沢剤（1つまたは複数）、懸濁化剤（1つまたは複数）、コーティング剤（1つまたは複数）および/または可溶化剤（1つまたは複数）を含み得る。

40

【0263】

送達システムに応じて様々な組成物/製剤の必要条件が存在し得る。化合物をすべて同じ経路で投与する必要があるわけではないことを理解するべきである。同様に、組成物が2つ以上の活性成分を含む場合、これらの成分を異なる経路で投与してもよい。例を挙げ

50

れば、本開示の医薬組成物は、例えば経鼻スプレーもしくは吸入エアゾールまたは摂取可能な溶液としてミニポンプを用いて、または粘膜経路によって、あるいは組成物を例えば静脈内経路、筋肉内経路または皮下経路による送達用に注射可能な形態により製剤化する非経口経路によって送達されるよう製剤化し得る。あるいは、製剤を多数の経路によって送達されるよう設計してもよい。

【0264】

本明細書に提供される化合物と抗体または抗体フラグメント分子との組合せは、製剤化し、多数の経路のうちのいずれかで投与することが可能であり、症状または目指す目的に治療的に有効な濃度で投与される。この目的を達成するため、当該技術分野で公知の様々な許容される補形剤を用いて抗体を製剤化し得る。抗体は通常、注射、例えば静脈内注射により投与する。この投与を達成する方法は当業者に公知である。例えば、Gokarnら、2008、J Pharm Sci 97(8): 3051-3066(参照により本明細書に組み込まれる)には、様々な高濃度の抗体自己緩衝製剤が記載されている。例えば、自己緩衝製剤のモノクローナル抗体、例えば、5.25%ソルビトール、pH 5.0中、50mg/mLのmAbもしくは5%ソルビトール、0.01%ポリソルベート20、pH 5.2中、60mg/mLのmAb;あるいは従来の緩衝製剤、例えば、5.25%ソルビトール25または50mM酢酸塩、グルタミン酸塩もしくはコハク酸塩、pH 5.0中、50mg/mLのmAb1;あるいは10mM酢酸塩またはグルタミン酸塩、5.25%ソルビトール、0.01%ポリソルベート20、pH 5.2中、60mg/mLのmAb1;これより濃度の低い他の製剤を当該技術分野で公知のの通りに用いることができる。

10

20

【0265】

本開示の好ましいシグマ-2受容体アンタゴニスト化合物は血液脳関門を通過するため、例えば、全身的方法(例えば、iv経路、SC経路、経口経路、粘膜経路、経皮経路による)または局所的方法(例えば、頭蓋内)を含めた様々な方法で投与することができる。本開示の化合物を胃腸管粘膜から経粘膜的に送達する場合、消化管を通過する間は化合物が安定な状態を維持することが可能であるべきであり;例えば、化合物がタンパク質分解に耐性を示し、酸性pHにおいて安定であり、胆汁の界面活性剤作用に耐性を示すべきである。例えば、シグマ-2リガンドから選択し上記の経口投与用に調製するシグマ-2アンタゴニスト化合物を腸溶性コーティング層でコーティングし得る。腸溶性コーティング層の材料は、水または適切な有機溶媒のいずれかに分散または溶解し得るものである。腸溶性コーティング層ポリマーとして、以下に挙げるもののうち1つまたは複数(別個にまたは組み合わせて)使用することができる;例えば、メタクリル酸コポリマー、酢酸セルロースフタレート、酢酸セルロースブチレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタレート、酢酸セルローストリメリタート、カルボキシメチルエチルセルロース、セラックをはじめとする適切な腸溶性コーティング層ポリマー(1つまたは複数)の溶液または分散液。環境上の理由から、水性コーティング工程が好ましいものであり得る。このような水性工程では、メタクリル酸コポリマーが最も好ましい。

30

【0266】

必要に応じて、医薬組成物を吸入により、皮膚パッチの使用により、デンプンもしくはラクトースなどの補形剤を含有する錠剤の形態で、またはカプセル剤もしくは膣坐剤を単独でもしくは補形剤と混合して、または香味料もしくは着色剤を含有するエリキシル剤、液剤もしくは懸濁剤の形態で経口的に投与することが可能であり、あるいは医薬組成物を非経口的に、例えば静脈内、筋肉内または皮下に注射することができる。パッカルまたは舌下投与では、従来の方法で製剤化することができる錠剤またはトローチ剤の形態で組成物を投与し得る。

40

【0267】

本開示の組成物を非経口的に投与する場合、そのような投与は、本開示の化合物を静脈内、動脈内、髄腔内、脳室内、頭蓋内、筋肉内もしくは皮下に;および/または注入技術

50

を用いることにより投与することを非限定的に含む。抗体またはフラグメントは通常、非経口的に、例えば静脈内に投与する。

【0268】

注射または注入に適した医薬組成物は、無菌水溶液、分散液または無菌粉末であって、必要に応じて注射または注入に適したそのような無菌溶液または分散液の調製に適合させた有効成分を含有する無菌水溶液、分散液または無菌粉末の形態であり得る。任意選択で、この調製物をリポソームに封入してもよい。いずれの場合も、最終的な調製物は、無菌であり、液体であり、製造および保管条件下で安定でなければならない。保管時の安定性を改善するため、このような調製物はほかに、微生物の増殖を阻止する保存剤を含有し得る。微生物の活動の阻止は、様々な抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノールまたはアクスルピン酸 (*acisorbic acid*) の添加によって達成することができる。多くの場合、体液、特に血液とほぼ同じ浸透圧を確保するため、等張物質、例えば糖類、緩衝剤および塩化ナトリウムが推奨される。モノステアリン酸アルミニウムまたはゼラチンなどの吸収遅延剤の導入により、このような注射用混合物の持続的吸収を達成することができる。

10

【0269】

分散液剤は、液体担体または中間物、例えばグリセリン、液体ポリエチレングリコール、トリアセチン油およびその混合物で調製することができる。液体担体または中間物は、例えば水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールなど）、植物油、無毒性グリセリンエステルおよび適切なその混合物を含有する溶媒または液体分散媒体であり得る。リポソームの作製、分散液剤の場合は適切な粒子径の投与または界面活性剤の添加により、適切な流動性を維持し得る。

20

【0270】

非経口投与には、他の物質、例えば、溶液を血液と等張にするのに十分な量の塩またはグルコースを含有し得る無菌水溶液の形態で化合物を使用するのが最もよい。水溶液を、必要に応じて適切に（好ましくは、 $\text{pH} 3 \sim 9$ に）緩衝するべきである。無菌条件下での適切な非経口製剤の調製は、当業者に周知の標準的な製剤技術によって容易に達成される。

【0271】

無菌注射用液剤は、式 I の化合物と、しかるべき溶媒および 1 つまたは複数の上記担体とを混合した後、無菌ろ過することにより調製することができる。無菌注射用液剤の調製に使用するのに適した無菌粉末の場合、好ましい調製方法では、真空乾燥および凍結乾燥を実施し、のちの無菌液剤の調製に用いるシグマ - 2 受容体アンタゴニストと所望の補形剤との粉末状混合物を得る。

30

【0272】

本開示による化合物は、ヒト医療または獣医学医療で注射（例えば、静脈内ボラス注射もしくは注入または筋肉内経路、皮下経路もしくは髄腔内経路を介した注射）により使用するために製剤化してもよく、必要に応じて保存剤を加えたアンプルをはじめとする単位用量容器または複数回用量に入れた単位用量形態で提供し得る。注射用組成物は、油性溶媒または水性溶媒を用いた懸濁剤、液剤または乳剤の形態であってよく、懸濁化剤、安定剤、可溶化剤および/または分散剤などの製剤用剤を含有し得る。あるいは、有効成分は、使用前に適切な溶媒、例えば無菌無発熱物質水で再構成するための無菌粉末形態であり得る。

40

【0273】

本開示の化合物は、即時放出、遅延放出、調節放出、持続放出、パルス放出または制御放出に適用する錠剤、カプセル剤、トローチ剤、膺坐剤、エリキシル剤、液剤または懸濁剤の形態で投与することができる。

【0274】

本開示の化合物はほかに、経口投与またはパッカル投与に適した形態、例えば、液剤、ゲル剤、シロップ剤もしくは懸濁剤または使用前に水をはじめとする適切な溶媒で再構

50

成するための乾燥粉末の形態で、ヒトへの使用または獣医学的使用に提供し得る。固体組成物、例えば錠剤、カプセル剤、ロゼンジ剤、トローチ剤、香錠剤、丸剤、ポーラス剤、巨丸剤、散剤、パスタ剤、顆粒剤、カプセル剤またはプレミックス製剤などを用い得る。経口使用のための固体組成物および液体組成物は、当該技術分野で周知の方法に従って調製され得る。このような組成物はほかにも、固体または液体形態の薬学的に許容される担体および補形剤を1つまたは複数含有し得る。

【0275】

錠剤は、微結晶性セルロース、ラクトース、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、二塩基性リン酸カルシウムおよびグリシンなどの補形剤、デンプン（好ましくは、トウモロコシデンプン、バレイショデンプンまたはタピオカデンプン）、デンプングリコール酸ナトリウム、クロスカルメロースナトリウムおよび特定のケイ酸塩錯体などの崩壊剤ならびにポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、スクロース、ゼラチンおよびアラビアゴムなどの造粒結合剤を含有し得る。

10

【0276】

さらに、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、グリセリルベヘナートおよびタルクなどの滑沢剤が含まれ得る。

【0277】

組成物は、即時放出もしくは制御放出錠剤、微粒子、ミニ錠剤、カプセル剤、小袋および経口液剤もしくは懸濁剤またはその調製のための粉末剤の形態で経口的に投与され得る。経口調製物は任意選択で、様々な標準的医薬担体および補形剤、例えば結合剤、充填剤、緩衝剤、滑沢剤、滑剤、色素、崩壊剤、香料、甘味剤、界面活性剤、鋳型放出剤、付着防止剤およびコーティング剤などを含み得る。一部の補形剤は、組成物中で多数の役割を有するもの、例えば、結合剤および崩壊剤の両方として作用し得るものである。

20

【0278】

本開示に有用な経口組成物用の薬学的に許容される崩壊剤の例としては、特に限定されないが、デンプン、予めゼラチン化したデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、クロスカルメロースナトリウム、微結晶性セルロース、アルギン酸塩、樹脂、界面活性剤、発泡組成物、水性ケイ酸アルミニウムおよび架橋ポリビニルピロリドンが挙げられる。

30

【0279】

本明細書で有用な経口組成物用の薬学的に許容される結合剤の例としては、特に限定されないが、アラビアゴム；セルロース誘導体、例えばメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースまたはヒドロキシエチルセルロースなど；ゼラチン、グルコース、デキストロース、キシリトール、ポリメタクリル酸、ポリビニルピロリドン、ソルビトール、デンプン、予めゼラチン化したデンプン、トラガント、キサンチン樹脂、アルギン酸塩、マグネシウム・ケイ酸アルミニウム、ポリエチレングリコールまたはベントナイトが挙げられる。

【0280】

経口組成物用の薬学的に許容される充填剤の例としては、特に限定されないが、ラクトース、無水ラクトース、ラクトースー水和物、スクロース、デキストロース、マンニトール、ソルビトール、デンプン、セルロース（特に微結晶性セルロース）、ジヒドロリン酸カルシウムまたは無水リン酸カルシウム、炭酸カルシウムおよび硫酸カルシウムが挙げられる。

40

【0281】

本開示の組成物に有用な薬学的に許容される滑沢剤の例としては、特に限定されないが、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、エチレンオキシドのポリマー、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、オレイン酸ナトリウム、ナトリウムステアリルフマレートおよびコロイド状二酸化ケイ素が挙げられる。

【0282】

50

経口組成物に適切な薬学的に許容される香料の例としては、特に限定されないが、合成芳香剤および天然芳香油、例えば油、花、果物（例えば、バナナ、リンゴ、サワーチェリー、モモ）の抽出物およびその組合せなどのほか、これらと同様の芳香剤が挙げられる。その使用は多数の因子によって左右され、そのうち最も重要なのは医薬組成物を服用する集団の官能受容性である。

【0283】

経口組成物に適した薬学的に許容される色素の例としては、特に限定されないが、合成および天然の色素、例えば二酸化チタン、ベータ-カロテンおよびグレープフルーツの皮の抽出物が挙げられる。

【0284】

組成物の嚥下の促進、放出特性の調節、外観の改善および/または味のマスキングに通常用いられる経口組成物に有用な薬学的に許容されるコーティング剤の例としては、特に限定されないが、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースおよびアクリル酸-メタクリル酸コポリマーが挙げられる。

【0285】

経口組成物に薬学的に許容される甘味剤の適切な例としては、特に限定されないが、アスパルテーム、サッカリン、サッカリンナトリウム、シクラミン酸ナトリウム、キシリトール、マンニトール、ソルビトール、ラクトースおよびスクロースが挙げられる。

【0286】

薬学的に許容される緩衝剤の適切な例としては、特に限定されないが、クエン酸、クエン酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、二塩基性リン酸ナトリウム、酸化マグネシウム、炭酸カルシウムおよび水酸化マグネシウムが挙げられる。

【0287】

薬学的に許容される界面活性剤の適切な例としては、特に限定されないが、ラウリル硫酸ナトリウムおよびポリソルベートが挙げられる。

【0288】

このほか、同様の種類の固体組成物をゼラチンカプセル剤の充填剤として使用し得る。この点で好ましい補形剤としては、ラクトース、デンプン、セルロース、乳糖または高分子量ポリエチレングリコールが挙げられる。水性懸濁剤および/またはエリキシル剤には、薬剤と、様々な甘味料または着香剤、着色剤または色素、乳化剤および/または懸濁化剤ならびにエタノール、プロピレングリコールおよびグリセリンなどの希釈剤ならびにその組合せとを組み合わせ得る。

【0289】

適応があれば、本開示の化合物を鼻腔内に、または吸入により投与することが可能であり、乾燥粉末吸入器または適切な噴射剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、1,1,1,2-テトラフルオロエタン(HFA 134A)もしくは1,1,1,2,3,3,3-ヘptaフルオロプロパン(HFA 227E)などのヒドロフルオロアルカン、二酸化炭素をはじめとする適切なガスを用いた加圧容器、ポンプ、スプレーもしくは噴霧器からのエアロゾルスプレーの形態で送達するのが好都合である。加圧エアゾールの場合、弁を設けることにより投与単位を定めて定量送達し得る。加圧容器、ポンプ、スプレーまたは噴霧器は、例えば、滑沢剤、例えばソルビタントリオレートをさらに含有し得るエタノールと噴射剤の混合物を溶媒に用いた活性化合物の溶液または懸濁液を含み得る。

【0290】

吸入器または吹入器に使用するカプセルおよびカートリッジ（例えばゼラチン製のもの）は、化合物とラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末基剤との混合粉末を含有するように製剤化し得る。

【0291】

吸入による局所投与には、本開示による化合物をヒト医療または獣医学医療に使用するために噴霧器により送達し得る。

10

20

30

40

50

【0292】

本開示の医薬組成物は、体積当たり0.01~99重量%の活性物質を含有し得る。例えば、局所投与には、組成物は一般に、0.01~10%、より好ましくは0.01~1%の活性物質を含有する。

【0293】

化合物はこのほか、小型の一枚膜小胞、大型の一枚膜小胞および多重膜小胞などのリポソーム送達システムの形態で投与することができる。リポソームは、コレステロール、ステアリルアミンまたはホスファチジルコリンなどの様々なリン脂質から形成され得る。

【0294】

本開示の医薬組成物または単位投与剤形は、特定の患者に最適な活性をもたらすと同時に毒性または副作用を最小限に抑えるべく、上に記載した指針に照らして慣例的な試験を実施することにより定められる用法/用量レジメンに従って投与され得る。しかし、このような治療レジメンの微調整は、本明細書に記載される指針に照らせば慣例的なものである。

10

【0295】

本開示の化合物の用量は、様々な因子、例えば基礎疾患の状態、個体の状態、体重、性別および年齢ならびに投与様式などに応じて異なり得る。障害の治療に有効な量は、当業者に公知の実験的方法により、例えば、用量および投与頻度のマトリックスを確立し、マトリックス内の各点で1群の実験単位または対象を比較することにより容易に決定することができる。患者に投与する正確な量は、障害の状態および重症度ならびに患者の健康状態に応じて異なる。任意の症状またはパラメータの測定可能な緩和は、当業者が決定するか、患者が医師に報告することにより決定することができる。尿路障害の任意の症状またはパラメータの臨床的または統計的に有意な減弱または緩和はいずれも、本開示の範囲内にあることが理解されよう。臨床的に有意な減弱または緩和は、患者および/または医師に認知可能なものを意味する。

20

【0296】

投与する化合物の量の範囲は、約0.01~約25mg/(kg・日)、通常約0.1~約10mg/(kg・日)であり得、0.2~約5mg/(kg・日)の場合が最も多い。本開示の医薬製剤は、必ずしも障害の治療に有効な化合物量全体を含有する必要はなく、したがって、そのような医薬製剤の複数の分割量を投与することによって、有効量に到達させてもよいことが理解されよう。

30

【0297】

本開示の好ましい実施形態では、化合物Iを、本開示の化合物を通常10~200mg含有するカプセル剤または錠剤に製剤化し、好ましくは、総1日量10~300mg、好ましくは20~150mg、最も好ましくは約50mgで患者に投与する。

【0298】

非経口投与用の医薬組成物は、医薬組成物全体である100重量%に基づき、本開示の活性化合物を約0.01重量%~約100重量%含有する。

【0299】

経皮剤形は一般に、剤形の総重量である100%に対して約0.01%~約100%の活性化合物を含有する。

40

【0300】

医薬組成物または単位投与剤形は、単一の1日量で投与しても、あるいは総1日量を分割量で投与してもよい。さらに、障害を治療するための別の化合物との同時投与または連続投与が望ましい場合もあり得る。この目的には、有効成分を組み合わせる単一の投与単位に製剤化する。

【0301】

化合物の合成

式IおよびIIの化合物ならびにその鏡像異性体、ジアステレオマー、N-オキシドおよび薬学的に許容される塩は、例えば国際公開第2013/029057号(参照により

50

本明細書に組み込まれる)に概説されている、あるいは本明細書でのちに記載する一般的方法により調製され得るものであり、前記方法は本開示のさらなる態様を構成する。

【0302】

当業者には、化合物の調製に使用する中間体の保護誘導体を用いるのが望ましい場合もあることが理解されよう。官能基の保護および脱保護は、当該技術分野で公知の方法により実施され得る(例えば、GreenおよびWuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, New York, 1999を参照されたい)。ヒドロキシ基またはアミノ基は、任意のヒドロキシ保護基またはアミノ保護基で保護され得る。アミノ保護基は従来の技術により除去され得る。例えば、アルカノイル基、アルコキシカルボニル基およびアロイル基などのアシル基は、加溶媒分解、例えば、酸性または塩基性条件下での加水分解により除去され得る。アリアルメトキシカルボニル基(例えば、ベンジルオキシカルボニル)は、パラジウム/チャコールなどの触媒の存在下での水素化分解により切断され得る。

10

【0303】

目的化合物の合成は、当業者に周知の標準的技術を用いて、最後から2番目の中間体に存在し得る任意の保護基を除去することにより完了する。次いで、必要に応じて、シリカゲルでのシリカゲルクロマトグラフィー、HPLCなどの標準的技術を用いて、あるいは再結晶により、脱保護最終産物を精製する。

【実施例】

【0304】

実施例および合成例

実施例1および2では、本明細書に記載される実験などの実験に使用し得るAベータオリゴマー調製物について説明する。膜輸送アッセイおよびオリゴマー結合/シナプス減少アッセイのほか、のちに記載するin vivoアッセイに使用する特定の調製物については、それが関係する実施例でそれぞれ説明する。

20

【0305】

実施例1: アミロイド オリゴマーの調製

【0306】

水溶性タンパク質が会合し得る環境である神経組織でアミロイド がオリゴマー化し得る条件を再現して、アミロイド のオリゴマーおよび線維のうち、より疾患と関係の深い構造的状態を特定した。超遠心分離によりラット脳から水溶性タンパク質を調製した。具体的には、脳組織1グラム当たり5体積のTBS緩衝液(20mMトリス-HCl、pH 7.5、34mM NaClおよび完全プロテアーゼインヒビターカクテル(Santa Cruz社)を氷上のラット脳組織に加えた。次いで、密にフィットする乳棒でダウンズホモジナイゼーションを実施した。次いで、ホモジナイズした脳組織を4、150、000×gで1時間遠心分離した(40,000rpm Ty65)。次いで、下澄み(浮遊ミエリンとペレット上方0.5cmとの間)を取り出し、アリコートで凍結させた。次いで、ペレットをTBSに再懸濁させて元の体積にし、アリコートで凍結させた。この混合物に合成単量体ヒトアミロイド 1~42を加えて、最終濃度1.5μMのアミロイド を得、溶液を4 で24時間インキュベートした。混合物を5、800gで10分間遠心分離して線維集合体を除去した後、6E10コンジュゲートアガローススピンカラム(Pierce Chemical社)を用いて、4 で免疫沈降を24時間実施した。次いで、溶出したアミロイド オリゴマーをMALDI-ToF質量分光分析に供して、試料の内容物を同定した。

30

40

【0307】

タンパク質含有溶液中でアミロイド が自己会合して、22,599Daの5サブユニット五量体と31,950Daの7サブユニット7量体のサブユニット集合体を形成した。49,291Daにみられる別のピークは12サブユニット12量体を表している可能性があるが、これはアミロイド 12量体の正確な分子量ではないように思われる。アミロイド のモノマーおよび二量体を表すと思われる4518Da、9036Daのいずれ

50

にもピークが観察されなかったのは注目すべきことである。しかし、9, 882 Da および 14, 731 Da のピークが 786 Da (または 2 x 393 Da) の脂質またはタンパク質と会合したアミロイド二量体および 3 x 393 Da の脂質またはタンパク質と会合したアミロイド三量体をそれぞれ表すものと考えられる。さらに、19, 686 Da にピークが存在することは、集合体の状態には、推測ではあるが、三量体複合体および 4954 Da のラットアミロイドフラグメントが含まれていることを示している。したがって、上記のデータは、小型の脂質またはタンパク質とアミロイドの二量体および三量体とが会合し、それが生理学的システムに固有の立体配座状態の組立てを指令し得ることを反映するものと思われる。

【0308】

実施例2：ベータ-アミロイドオリゴマーの調製

ラット脳可溶性タンパク質と混合した 1.5 μM の単量体ヒトアミロイド 1~42 A の溶液を実施例1に記載した通りに4で24時間インキュベートした。次いで、この溶液をトリ-フルオロエタノール(TFE)で処理した後、スペクトルを取得した。TFE 中では、集合したタンパク質構造および非共有結合タンパク質複合体が変性タンパク質に解離し、集合したオリゴマーによるピークが消失することが予想される。実施例1で観察されたタンパク質のピークの大部分が、上で確認された9822 Da、14, 731 Da、31, 950 Da および 49, 291 Da のピークを含め消失した。しかし、アミロイドモノマーのピークを表す 4518 Da に大量のピークが観察される。4954.7 にアミロイド 1~46 とほぼ同じ長いαベータフラグメントを表していると思われるピークが明らかである。実施例1に記載した調製物中に存在しなかった別のピークが 7086 Da に観察され、これは 2550 Da の共有結合タンパク質と会合したアミロイドモノマーを表すものと思われる。

【0309】

実施例3：ヒトAD脳組織からのベータ-アミロイドオリゴマーの単離。

TBS可溶性抽出物：組織病理学的分析によりブランクステージV/VIのアルツハイマー病(AD)であることが特徴付けられたヒト患者の死後脳組織の試料を病院の脳組織バンクから入手した。年齢と性別がマッチするAD組織および正常組織の標本を、1 mM EDTA および 1 mg/ml 完全プロテアーゼインヒビターカクテル(Sigma社、P8340)を含有する 20 mM トリス-HCl、137 mM NaCl、pH 7.6 で 0.15 g 組織/ml に希釈し、ホモジナイズした。Beckman Optima XL-80K Ultracentrifuge で組織ホモジネートの超遠心分離を 105,000 g で1時間実施した。プロテインAおよびタンパク質-Gアガロースカラム(Pierce Chemical社)を用いて、得られたTBS可溶性画分を免疫枯渇させ、次いで、Amicon Ultra 3 kDa、10 kDa および 100 kDa NMWCO フィルター(Millipore社)でサイズ分画した。

【0310】

免疫沈降：サイズ分画し免疫枯渇させたTBS可溶性抽出物をしかるべきNMWCO Amicon Ultra フィルターで約 200 μl に濃縮した。濃縮したTBS可溶性抽出物をTBS試料緩衝液(Pierce Chemical社)で最大 400 μl に希釈し、5,800 g で10分間遠心分離して線維を除去した。次いで、得られた上清を、6E10 コンジュゲートアガロースビーズを用いて4で一晩免疫沈降させた後、高浸透圧 Gentle elution buffer (Pierce Chemical社)を用いた抗原溶出によりAベータを含有するタンパク質種を単離した。

【0311】

MALDI-質量分析：免疫単離したベータアミロイドを、Applied Biosystems (ABI) Voyager DE-Pro MALDI-ToF 機器を用いた質量分光分析に供した。分析する標的分子量範囲に応じて、シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(CHCA)、シナピン酸(SA)または6-アザ-2-チオチミン(ATT)などの様々な種類の基質を用いて試料を分析した。機器は可変抽出遅延とともに線形陽イ

10

20

30

40

50

オンモードで稼働させた。非積算スペクトルは1取得当たり100ショットの「ホットスポット」を示したのに対し、積算スペクトルは、1取得当たり200のレーザーショットで各スポットの12の別個の領域によって表された。

【0312】

データ解析：Voyager社のData Explorerソフトウェアパッケージを用いてデータの収集および解析を実施した。標準的な質量スペクトルの処理には、シグナル/ノイズ比のバリエーションに加え、スペクトル平滑化およびベースライン差引き機能を含めた。

【0313】

Ab定量化のためのELISA：改変サンドイッチELISA法を用いて、免疫沈降させたTBS可溶性画分の「総」AベータおよびAベータオリゴマーの両方の濃度を分析した。簡潔に述べれば、6E10および4G8でコートしたNunc MaxiSorp 96ウェルプレートにAベータ含有試料とインキュベートした後、ビオチン化4G8検出抗体でプローブした。ストレプトアビジン-HRP (Rockland社)とインキュベートした後、テトラメチルベンジジン (TMB) 基質で発色させて、BioTek Synergy HTプレートリーダーでAベータの比色検出 (OD450) を可能にした。単量体Aベータ1~42を標準曲線の作成に使用し、GEN5ソフトウェアとともに免疫沈降試料のAベータレベルの定量化を可能にした。

10

【0314】

実施例4：受容体結合アッセイ

特定の化合物について、そのアゴニストまたはアンタゴニストの結合または作用を遮断することにより、数種類の受容体との相互作用を試験する。一部の化合物については、既知の細胞受容体またはシグナル伝達タンパク質と直接相互作用するかどうかを確認するべく試験する。細胞系に過剰発現するか、組織から単離された所与のヒト受容体の既知のアゴニストまたはアンタゴニストの結合と置き換わる能力について化合物を試験することができる。このほか、所与のヒト受容体のアゴニストまたはアンタゴニストによって誘導される下流シグナル伝達を遮断する能力について化合物を試験することができる。100種類の既知の受容体における化合物の作用を試験することが可能であり、CNS関連受容体の小さいサブセットのみに特異的活性が起こるのが望ましい。他の受容体と比較してシグマ-2受容体と最も高い親和性で結合する化合物をシグマ-2受容体選択的リガンドと呼ぶ。

20

30

【0315】

同じプロトコルを用いて、表2に膜輸送のデータが記載されている一部の化合物についてシグマ-2受容体の認識を試験した。特定の好ましい式Iの化合物が選択的シグマ-2受容体リガンドである、すなわち、シグマ-2受容体と優先的に結合する。

【0316】

競合的放射性リガンド結合アッセイ。

シグマ-1受容体およびシグマ-2受容体の放射性リガンド結合アッセイを商業的開発業務受託機関で実施した。シグマ-1結合には、100 μ M~1nMの様々な濃度の被験化合物を用いて、Jurkat細胞膜上の内在性受容体から8nM [³H] (+) ペンタゾシンに置き換えた (Ganapathy MEら, 1991, J Pharmacol. Exp. Ther. 289: 251-260)。10 μ M八口ペリドールを用いて非特異的結合を明らかにした。シグマ-2受容体には、100 μ M~1nMの様々な濃度の被験化合物を用いて、シグマ-1受容体を覆う300nM (+) ペンタゾシンの存在下、ラット大脳皮質由来の膜上の内在性受容体から5nM [³H] 1,3-Di-(2-トリル) グアニジンに置き換えた (Bowen WDら, 1993, Mol. Neuropharmacol 3: 117-126)。10 μ M八口ペリドールを用いて非特異的結合を明らかにした。Brandel 12R細胞回収機を用いてWhatman GF/Cフィルターで急速ろ過することにより反応を停止させた後、氷冷緩衝液で2回洗浄した。液体シンチレーション分析器 (Tri-Carb 2900TR; PerkinElmer

40

50

Life and Analytical Sciences社)を用いて、乾燥させたフィルターディスクの放射活性を測定した。置換曲線をプロットし、GraphPad Prism(GraphPad Software社、サンディエゴ、カリフォルニア州)を用いて、受容体サブタイプに対する被験リガンドの*K_i*値を求めた。全結合(壊変毎分)と非特異的結合(壊変毎分)の間の差を全結合(壊変毎分)で除することにより、パーセント特異的結合を求めた。

【0317】

シグマ-1受容体およびシグマ-2受容体に対する親和性は通常、脳組織ホモジネートにシグマ-1受容体からの置き換えを測定する[³H](+)ペンタゾシンおよび300 nM(+)ペンタゾシンの存在下でシグマ-2受容体の置き換えを測定する[³H]1, 3-Di-(2-トリル)グアニジンを用いた、公開されている研究から得られる。

10

【0318】

競合的放射性リガンド結合アッセイ2。

ほかに、様々な既知の標識シグマ-2リガンドまたはシグマ-1リガンドの置き換えにより、シグマ-2リガンド候補化合物のシグマ-1受容体およびシグマ-2受容体における親和性を求めた。既に公開されている手順に従って過アッセイを実施した(Xuら, 2005)。被験化合物をN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)またはエタノールに溶かした後、150 mM NaClおよび100 mM EDTAを含有する50 mM トリス-HCl pH 7.4 緩衝液で希釈した。シグマ-1の結合アッセイにはモルモットの脳から、シグマ-2の結合アッセイにはラットの肝臓から膜ホモジネートを作製した。膜ホモジネートを50 mM トリス-HCl 緩衝液、pH 8.0で希釈し、96ウェルプレート中、総体積150 μLで0.1 nM~10 μMの範囲の濃度の放射性リガンドおよび被験化合物と25 でインキュベートした。インキュベーション終了後、96チャンネルのトランスファーピペット(Fisher Scientific社、ピッツバーグ、ペンシルベニア州)を用いて氷冷洗浄緩衝液(10 mM トリスHCl、150 mM NaCl、pH 7.4)150 μLを加えることにより反応を停止させ、試料を回収し、50 mM トリス-HCl 緩衝液100 μLで予浸した96ウェルガラス繊維フィルタープレート(Millipore社、ビレリカ、マサチューセッツ州)で急速にろ過した。各フィルターを氷冷洗浄緩衝液(10 mM トリス-HCl、150 mM NaCl、pH 7.4)200 μLで4回洗浄した。Wallac 1450 MicroBeta 液体シンチレーションカウンター(Perkin Elmer社、ボストン、マサチューセッツ州)を用いて結合放射活性を定量化した。

20

30

【0319】

モルモット脳膜ホモジネート(約300 μgのタンパク質)および約5 nM[³H](+)-ペンタゾシン(34.9 Ci/mmol、Perkin Elmer社、ボストン、マサチューセッツ州)を用いてシグマ-1受容体結合アッセイを実施し、インキュベーション時間を室温で90分とした。10 μMの非放射性ハロペリドールを含有する試料から非特異的結合を求めた。

【0320】

シグマ-1部位を遮断する1 μMの(+)-ペンタゾシン存在下でラット肝臓膜ホモジネート(約300 μgのタンパク質)および約2 nMのシグマ-2高選択的放射性リガンド[³H]RHM-1単独(他の遮断剤を加えない)(America Radiolabeled Chemicals社、セントルイス、ミズーリ州)、約10 nMの[³H]DTG(58.1 Ci/mmol、Perkin Elmer社、ボストン、マサチューセッツ州)または約10 nMの[³H]ハロペリドール(America Radiolabeled Chemicals社、セントルイス、ミズーリ州)を用いてシグマ-2受容体結合アッセイを実施し、インキュベーション時間は室温で、[³H]RHM-1を6分、[³H]DTGおよび[³H]ハロペリドールを120分とした。10 μMの非放射性ハロペリドールを含有する試料から非特異的結合を明らかにした。

40

【0321】

50

競合阻害実験から得られたデータを非線形回帰分析を用いてモデル化し、放射性リガンドの特異的結合を50%阻害する阻害剤の濃度(IC₅₀値)を求めた。ChengおよびPrusoffの方法を用いて、結合親和性であるK_i値を算出した。モルモット脳の[³H](+)-ペンタゾシンのK_d値は7.89 nMであり、ラット肝臓の[³H]RHM-1および[³H]DTGはそれぞれ0.66 nMおよび30.73 nMであった。精度確認には標準化合物のハロペリドールを用いた。実施例1~118の例示的化合物のシグマ-2受容体における親和性を表2示す。

【0322】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される式Iおよび/または式IIによるインドリン化合物またはその薬学的に許容される塩は、本明細書に提供されるシグマ-2受容体結合アッセイプロトコルに従って試験した場合、1,000 nM以下、750 nM以下、500 nM以下、250 nM以下、100 nM以下、50 nM以下、25 nM以下または10 nM以下のシグマ-2受容体結合親和性K_iを示す。

【0323】

実施例5：トランスジェニックマウスの記憶喪失：モーリス水泳試験

選択した化合物について、加齢とともにオリゴマーが蓄積した老齢のアルツハイマー病トランスジェニックマウスモデルにみられる記憶喪失を正常に戻すことができるかどうかを判定する試験を実施した。この試験には、マウスThy-1プロモーターの制御下でヒトAPP751のスウェーデン変異(670/671)およびロンドン変異(717)を発現するhAPPマウスを選択した。これらのマウスは、Aベータの量の加齢依存性の増大を示すものであり、3~6か月齢で斑が発現しはじめ、8か月齢までに確立された認知障害を示す。この試験では、不良が起こるのを予防するのではなく、既に確立された不良を治療した。これらの試験は、事前に実験条件を知らされていない科学者による役務提供委託により実施した。8か月齢の雌マウスに被験化合物0.5 mg/(kg・日)および0.1 mg/(kg・日)を皮下ミニポンプで1か月間注入し、海馬による空間学習および記憶の試験であるモーリス水迷路で認知能力を試験する。このマウスモデルはニューロン消失を示さないため、記憶の回復はアポトーシスの回避に起因することは考えられない。

【0324】

運動能力または動機が欠乏していたかどうかを判定するため、モーリス測定の一部として遊泳速度を分析する。溶媒は5%DMSO/5%Soluto1と90%生理食塩水の混合物とする。トランスジェニック動物を低用量(例えば、0.1 mg/(kg・日))および高用量(例えば、0.5 mg/(kg・日))の化合物で治療する。1日3回、4日間連続で実施した試行の平均値を求める。通常、試験の過程で有意な運動障害も異常行動も観察されることはなく、この年齢で予測される死亡率レベルを下回る。さらに、化合物の血漿中レベルをモニターするために定期的に採血した前哨群の動物を維持する。

【0325】

モーリス水迷路試験の逃避潜時の測定値を採用する。通常、試験2日目に野生型動物とトランスジェニック動物との間に有意差が認められ、野生型動物の方がトランスジェニックよりも学習速度が速い。通常、この日に高い方の用量の化合物でトランスジェニック動物の能力に溶媒と比較して有意な改善が認められる場合、高い方の用量、例えば0.5 mg/(kg・日)で投与した化合物がADのトランスジェニックモデルの認知能力を改善することができるという結論が下される。

【0326】

通常、Aベータ42オリゴマーはシナプス数を約18%減少させ；好ましい被験化合物により、この消失を100%打ち消すことができる。これ以外のシグマ-2受容体アンタゴニストもシナプス消失を阻止する。既知の先行技術のシグマ-2受容体リガンドであるNE-100およびハロペリドールはシナプス消失を完全に打ち消したのに対し、選択的シグマ1リガンドであるSM-21は、シナプス消失を打ち消す活性がわずかに認められるにとどまった(20%の回復)。

10

20

30

40

50

【0327】

ほかに、同様のアッセイを用いて被験化合物を試験することができる。例えば、9か月齢の雄hAPP^{SLE}トランスジェニックマウス(例えば、N=8)または非トランスジェニック同腹子(例えば、N=6)に、化合物(例えば、1mg/(kg・日)、N=8または10mg/(kg・日)、N=8)または溶媒(5%DMSO/5%Soluto1/90%生理食塩水、N=15)を20日間、皮下投与(A1zetミニポンプ)により全身投与し、モーリス水迷路でこれらのマウスの空間学習および記憶を評価することができる。治療の最後の4日間、1日3回の試行でマウスに隠されたプラットフォームを見つけさせる試験を実施する。コンピュータ化した追跡システムで逃避潜時または遊泳距離を自動で定量化する。

10

【0328】

試験のいずれの日にも、トランスジェニック動物と非トランスジェニック動物の能力に有意な差は認められない(解析はこの2群に限定する;反復測定法による二次元(遺伝子型および時間)ANOVA、次いでボンフェローニの事後検定を実施する)。同様の解析で、トランスジェニック群(治療法および時間)に限定し、トランスジェニック動物を10mg/(kg・日)の被験化合物で治療する場合、試験の1日目に、例えばスチューデントのt検定で解析すると、被験化合物で治療した動物の方が溶媒で治療したトランスジェニック動物よりも有意に優れた成績を示すことが予想される。被験化合物で治療した動物は、試験期間にわたって、溶媒での治療と比較してトランスジェニック動物の能力の改善を示すことが予想される。

20

【0329】

成功を収めた被験化合物は、老齢トランスジェニック動物の学習および記憶において、確立された行動欠陥を用量依存性に正常に戻すことができる。

【0330】

実施例6:膜輸送アッセイにおける神経細胞に対するAベータオリゴマー作用の阻害

本明細書に提供されるシグマ-2リガンドが細胞に対するアミロイドベータ作用を阻害することができるかどうかを試験した。シグマ-2リガンドは全般的に、膜輸送/エキソサイトーシスアッセイ(MTTアッセイ)による測定でアミロイドベータ作用を阻害することが可能であった。その結果を表2に示す。このアッセイの理論的根拠は以下の通りである:

30

【0331】

初期段階のアルツハイマー病では、広範囲に及ばない細胞死ではなく、シナプスおよび記憶の欠損が優勢であることから、このような変化を測定するアッセイは、オリゴマー活性の小分子阻害剤を発見するのに特によく適している。MTTアッセイは、培養物における毒性の尺度として用いられることが多い。黄色のテトラゾリウム塩がエンドサイトーシスによって細胞に取り込まれ、エンドソーム経路で不溶性の紫色のホルマザンに還元される。紫色のホルマザンのレベルは、培養物中の代謝が活発な細胞の数を反映し、ホルマザン量の減少は、培養物の細胞死または代謝毒性の尺度であると考えられる。顕微鏡で観察すると、最初に、細胞を満たす細胞内小胞内に紫色のホルマザンが見える。時間の経過とともに、エキソサイトーシスにより小胞が放出され、不溶性ホルマザンが水性培地環境に曝露されると、細胞膜の外表面にホルマザンが針状結晶として沈殿する。LiuおよびSchubert(1997)は、細胞が還元ホルマザンのエキソサイトーシスの速度を選択的に速めると同時に、エンドサイトーシスの速度には影響を及ぼさないのでおくことにより、致死量下レベルのAベータオリゴマーに応答することを発見した。本発明者らは、これらの観察結果を成熟した初代培養ニューロンで再現し、自動化した顕微鏡観察および画像処理により、上記の形態学的変化を定量化した。このような状況下では、還元ホルマザンの総量に全体的な変化はみられず、その形成および/または細胞からの排出の速度の変化を反映する形態の変化のみがみられる。本発明者らは、このアッセイが細胞死を引き起こさない低レベルのオリゴマーに対して感度が高いというそれまでの観察結果(LiuおよびSchubert, 2004、Hongら, 2007)を確認した。実際、LTPの

40

50

阻害を引き起こす程度のオリゴマーでは細胞死を引き起こすことはなく (Tongら, 2004)、培養物 (または脳スライス) 中のホルマザンの総量が変化しないことが予想される。

【0332】

他の研究者によって提出された証拠から、膜輸送が仲介するニューロン表面受容体発現がAベータオリゴマーの仲介により減少することが、シナプス可塑性 (LTP)、ひいては学習および記憶の電気生理学的手段のオリゴマー阻害の根底にあることが示唆される (Kamenetzら, 2003、Hsiehら, 2006)。げっ歯類のAベータの脳中レベルを *in vivo* で低下させる (Hongら, 2009) Aベータオリゴマー遮断薬を発見するべく、オリゴマーが引き起こす膜輸送速度の変化をホルマザンの形態学的変化により測定することが細胞系に用いられている (Maezawaら, 2006、LiuおよびSchubert, 1997、2004、2006、Ranaら, 2009、Hongら, 2008)。エキソサイトーシスアッセイ/MTTアッセイについても同様の方法を文献にみることができる。例えば、Liu Y, ら, Detecting bioactive amyloid beta peptide species in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2004 Nov; 91(3): 648-56; Liu Y, および Schubert D., "Cytotoxic amyloid peptides inhibit cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction by enhancing MTT formazan exocytosis." *J Neurochem.* 1997 Dec; 69(6): 2285-93; ならびに Liu Y, および Schubert D., "Treating Alzheimer's disease by inactivating bioactive amyloid beta peptide" *Curr. Alzheimer Res.* 2006 Apr; 3(2): 129-35 を参照されたい。したがって、この方法は妥当なものである。

【0333】

このエキソサイトーシスアッセイを *in vitro* で3週間成長させた成熟初代ニューロン培養物での使用に適合させた。国際公開第2011/106785号 (全体が参照により本明細書に組み込まれる) を参照されたい。Cellomics VTI自動顕微鏡観察システムを用いた画像処理による測定では、Aベータオリゴマーは、還元された紫色のホルマザンで満たされた細胞内小胞 (点) の量を用量依存性に減少させる。溶媒のみに曝露した培養神経細胞の顕微鏡写真にはホルマザンで満たされた小胞が見られ; 溶媒 + Aベータオリゴマーに曝露した神経細胞の顕微鏡写真は、ホルマザンで満たされた小胞はかなり少なく、代わりに、エキソサイトーシスで排出され細胞外の環境に接すると沈殿して結晶になるホルマザンが見られる。Aベータオリゴマーの量が増大すると、最終的には明らかな毒性をもたらす。したがって、アッセイに用いる向神経活性Aベータオリゴマーの濃度は、細胞死を引き起こす濃度よりもはるかに低い。本発明者らは、抗Aベータ抗体の添加によりAベータオリゴマーの作用が阻止されるが、抗体単独ではそれ自体に作用はないことを示すことによって、このアッセイが有効であることを確認した (データ不掲載)。アッセイをこのように設計すると、化合物の作用がオリゴマーの崩壊によるものであるか、オリゴマーとニューロンとの結合の阻害によるものであるか、オリゴマー結合によって惹起される作用のシグナル伝達機序に対する拮抗作用であるかに関係なく、Aベータオリゴマーの非致死性作用を阻害する化合物を検出することが可能となる。

【0334】

膜輸送/エキソサイトーシス (MTT) アッセイで結果を得るために用いた方法は以下の通りである。

【0335】

NB培地 (Invitrogen社) の入った384ウェルプレートにE18 Sprague-Dawleyラット胎仔由来の初代海馬ニューロンを至適濃度で播いた。培養

10

20

30

40

50

物に週2回、N₂添加NB培地 (Invitrogen社) を供給しながら3週間、ニューロンを維持した。このニューロンは、成熟脳のニューロンに特徴的なシナプスタンパク質を完全に発現し、活性依存性の電気シグナル伝達の複雑なネットワークを示す。このような培養物のニューロンおよびグリアは、インタクトの脳回路網との優れた整合を示す分子シグナル伝達ネットワークを有し、このため、学習および記憶のモデルシステムとして20年以上用いられてきた (例えば、Kaech S, Banker G. *Culturing hippocampal neurons*. *Nat Protoc*. 2006; 1(5): 2406-15. Epub 2007 Jan 11を参照されたい; このほか、Craig AM, Graf ER, Linhoff MW. *How to build a central synapse: clues from cell culture*. *Trends Neurosci*. 2006 Jan; 29(1): 8-20. Epub 2005 Dec 7. Reviewを参照されたい)。

10

【0336】

細胞に100 μM ~ 0.001 nMの範囲の濃度の被験化合物を加え、次いで溶媒またはAベータオリゴマー調製物 (総Aベータタンパク質濃度3 μM) を加え、5% CO₂、37 °Cで1~24時間インキュベートした。MTT試薬である(3-(4,5-ジメチルチザオール (dimethylthiazol)-2,5ジフェニルテトラゾリウムプロミド) (Roche Molecular Biochemicals社) をリン酸緩衝生理食塩水で5 mg/mLに再構成した。各ウェルにMTT標識試薬10 μLを加え、37 °Cで1時間インキュベートした後、撮像した。自動化された顕微鏡観察および画像処理でエンドサイトーシスおよびエキソサイトーシスを受けたホルマザンの量を定量化することにより、エキソサイトーシスを評価した。

20

【0337】

各アッセイプレートは、各プレートでAベータオリゴマーを加えた場合と加えなかった場合で化合物を試験できるように設定した。この設計により、毒性のある化合物または代謝活性のある化合物がスクリーニングカスケードの早い段階で(一次スクリーニングのレベルで)除去される。最初に、細胞内小胞内に還元ホルマザンが見えた。Aベータオリゴマーにより最終的なホルマザンエキソサイトーシスが促進された。図1Aおよび1Bはニューロンの顕微鏡写真の例であり、1枚目がホルマザンが最初に見られた細胞内小胞の写真、2枚目がエキソサイトーシスによって排出された不溶性の紫色の色素で覆われたニューロンの写真である。色素は培養物の水性環境中で沈殿し、ニューロン表面に針状結晶を形成した。

30

【0338】

有効濃度の活性な被験化合物の存在下では、膜輸送の変化が阻止され、細胞を溶媒処置ニューロンと区別できなくなる。さらに、いくつかの場合には、この被験化合物の作用は、細胞をAベータオリゴマーに曝露する前に被験化合物を加えるのか、曝露した後に被験化合物を加えるのかとは無関係であるように思われ、治療効果だけでなく、予防効果もあることを示している。濃度が十分の活性な被験化合物であれば、このアッセイでみられるAベータオリゴマーの膜輸送作用を阻止する。選択的高親和性シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物の投与量を増大させると、オリゴマーの作用が停止し、培養物が溶媒処置培養物にさらに類似してくる。

40

【0339】

以上の結果に基づけば、Aベータオリゴマー毒性の抑制に有効な本明細書に開示される選択的高親和性シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物は、アミロイドベータオリゴマー毒性による認知低下、例えばアルツハイマー病にみられる認知低下などの治療法および(極めて初期の段階において) 予防法として有望なものである。

【0340】

膜輸送アッセイで合成Aベータオリゴマーを投与したところ、820 nMのEC₅₀を示した。各濃度のAベータを数種類の濃度の各選択的高親和性シグマ-2受容体アンタゴニスト被験化合物に対して試験した。活性化合物により、EC₅₀が右方向にほぼ2桁分

50

遷移した。データを古典的な線形モデルおよび非線形モデルにフィットさせたところ、シルド解析で直線となり（ヒル勾配 nH が 1）、このことから、シグマ - 2 受容体化合物が、膜輸送を仲介する標的に対してオリゴマーと化合物との間で真の薬理的競合を示すことがわかる。

【0341】

アルツハイマー病患者の脳に由来する A ベータオリゴマーを被験化合物に対して投与することが可能であり、化合物への曝露により右側への遷移がみられることも予想される。特に有効量では、活性な被験化合物は合成オリゴマーおよびヒトアルツハイマー病患者由来オリゴマーの両方と薬理的競合を示す。選択的高親和性シグマ - 2 受容体アンタゴニスト化合物候補薬物は、A ベータオリゴマーのシナプス毒性を低下させるのに有効である。理論に束縛されるものではないが、考えられる作用機序で最も単純なものは、シグマ - 2 受容体化合物が競合的受容体アンタゴニストとして作用するというものである。

10

【0342】

実験対照：

公開されている方法に従って作製した陽性対照の A ベータ 1 ~ 42 オリゴマー [例えば、Dahlgren⁵, "Oligomeric and fibrillar species of amyloid-beta peptides differentially affect neuronal viability" *J Biol Chem.* 2002 Aug 30; 277(35): 32046-53. Epub 2002 Jun 10.; Levine H 3rd. "Alzheimer's beta-peptide oligomer formation at physiologic concentrations" *Anal Biochem.* 2004 Dec 1; 335(1): 81-90; Shrestha⁶, "Amyloid beta peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons" *Mol Cell Neurosci.* 2006 Nov; 33(3): 274-82. Epub 2006 Sep 8; Puzzo⁷, "Amyloid-beta peptide inhibits activation of the nitric oxide/cGMP/cAMP-responsive element-binding protein pathway during hippocampal synaptic plasticity" *J Neurosci.* 2005 Jul 20; 25(29): 6887-97; Barghorn⁸, "Globular amyloid beta-peptide oligomer - a homogenous and stable neuropathological protein in Alzheimer's disease" *J Neurochem.* 2005 Nov; 95(3): 834-47. Epub 2005 Aug 31; Johansson⁹, "Physicochemical characterization of the Alzheimer's disease-related peptides A beta 1-42 Arctic and A beta 1-42wt." *FEBS J.* 2006 Jun; 273(12): 2618-30を参照されたい]および脳由来 A ベータオリゴマー (例えば、Walsh¹⁰, "Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potentially inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo." *Nature* (2002). 416, 535-539; Lesné¹¹, "A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory." *Nature*. 2006 Mar 16; 440(7082): 352-7; Shankar¹², "Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory." *Nat Med.* 2008 A

20

30

40

50

ug ; 14 (8) : 837 - 42 . Epub 2008 Jun 22を参照されたい)を用いた。上に引用され全体が参照により組み込まれる特許文献に記載されている調製物を含めた任意のAベータオリゴマー調製物を、このアッセイに、または対照として使用し得ることに留意するべきである。

【0343】

膜輸送アッセイでは、種々の異なるAベータオリゴマー調製物が、特にアルツハイマー病患者の脳から単離したオリゴマー調製物を含め、Aベータ作用を引き起こすことが示された。

【0344】

死後ヒト海馬または前頭前皮質から界面活性剤を使用せずに単離したオリゴマーをは、用量依存性に膜輸送の阻害を示し、 K_d は6 pMであった。ヒトアルツハイマー病患者由来Aベータオリゴマー(137 pM、図1Jの2つ目のバー)は、溶媒(図1Jの1つ目のバー)と比較して統計的に有意な膜輸送阻害を示す。化合物II(3つ目のバー)はAD脳由来Aベータオリゴマーによって引き起こされる膜輸送不良を打ち消すが、Aベータの非存在下で投与すると輸送に影響を及ぼさない(4番目の陰影を施したバー)。データは3回の実験($n=3$)の平均値である。

【0345】

種々のAベータオリゴマー調製物の効力は異なる(例えば、天然のアルツハイマー病単離物はいずれの被験合成調製物よりも効力が高い-データ不掲載)が、結果は定性的には同じである、つまり、シグマ-2受容体アンタゴニスト化合物を含む本開示の組成物によって、オリゴマーが仲介する病態が阻止される。

【0346】

初代ニューロン培養物

リードアウトのエキソサイトーシスアッセイおよび培養物中のニューロンに対するグリアの相対的割合の免疫組織化学的分析を用いて、Aベータオリゴマーに対する細胞応答に基づく最適な細胞密度を決定する。週1回、培養物のニューロンとグリア(グリア細胞)の割合をモニターするために免疫組織化学および画像処理による定量化により培養物をモニターする。*in vitro*でのスクリーニング21日目(21DIV)の時点でニューロン(1:5000(濃度可変)のMAP2に対する(ニワトリポリクローナル)抗体(Millipore社)で陽性に染色される)に対してグリア(GFAP陽性)を20%超含む培養物は除外する。

【0347】

Aベータオリゴマー調製物

ヒトアミロイドペプチド1~42をCalifornia Peptide社などの多数の業者から入手し、品質管理分析時のロット選択は偶然によるものとした。オリゴマー調製物の品質管理は、オリゴマーサイズの範囲および相対濃度を明らかにするウェスタンブロッティングおよび毒性を伴わないエキソサイトーシス促進を確認するMTTアッセイで構成される。各撮像ベースのアッセイでは、DNA結合青色色素のDAPI(Invitrogen社)で可視化した核の形態を定量化することにより毒性をモニターした。核の断片化があれば、末期アポトーシスにあるものとみなし(MajnoおよびJoris, 1995)、その試験を除外する。このほか、ペプチドサイズの範囲が異常であるか、基準濃度の1.5 μ Mでニューロンに対する有意な毒性が認められるペプチドのロットがあれば除外する。

【0348】

プレートベースの対照-再設定したプレートで、慣例的方法に基づき、溶媒処置ニューロンとAベータオリゴマー処置ニューロンとの間に最低でも統計的に有意な2倍の開き($p < 0.01$ 、スチューデントのt検定、不等分散)がみられ、プレート間のCVが10%以下になれば、アッセイの最適化が完了したものとみなした。

【0349】

統計ソフトウェアおよび統計解析:

Cellomics VTI画像解析ソフトウェアおよびSTORE自動データベースソフトウェアによりデータの処理および解析を実施した。培養3週間後でもダイナミックレンジおよびニューロンのウェル間の変動が小さいため、対でのチューキー・クレーマー解析により統計学的比較を実施して、化合物+AベータオリゴマーとAベータ単独との間および化合物単独と溶媒との間の開きの有意性を判定する。成熟初代ニューロンが成体脳の電気生理学的に仲介されるシグナル伝達ネットワークにさらに近づく能力がこのスクリーニング戦略の正当性を示す。偽陰性が最小限になる数の反復スクリーニングウェル（例えば、N=4）に検定力分析を設定した。本開示の被験化合物は、Aベータオリゴマーの膜輸送に対する作用を有意に正常に戻すが、ニューロンの代謝そのものには影響を及ぼさない。

10

【0350】

本明細書に記載されるMTTアッセイでは、Aベータオリゴマーを加える前に、選択した式Iおよび/または式IIによる化合物を投与し、示されるEC₅₀でAベータオリゴマー誘導性膜輸送不良が阻止されることがわかった。具体的には、これらの結果は、化合物がマイクロモル濃度でニューロン細胞の膜輸送に対するAベータオリゴマーの活性/作用を阻止/軽減することを示している。

【0351】

式Iおよび/または式IIの化合物のlog P、psa (Å²)、膜輸送(μM)、シグマ-2受容体親和性、マウス肝ミクロソーム(MLM)中でのミクロソーム安定性(t_{1/2}、分)、in vitro毒性カリウムチャンネルhERG(IC₅₀、nM)およびニューロン表現型の結果を表2にまとめて示す。

20

【0352】

【表2】

シグマ-2受容体リガンド：脂溶性、膜輸送に対するアミロイドオリゴマー作用を阻害する能力、シグマ-2受容体との結合、ミクロソーム安定性およびin vitro毒性。

化合物例	log P	psa (Å ²)	膜輸送 EC50(μM)	シグマ-1受容体親和性、Ki(nM)	シグマ-2受容体親和性、Ki(nM)	マウス肝ミクロソーム、MLM t1/2(分)	in vitro毒性、hERG IC50(nM)	ニューロン表現型
1	4.68	32.7	1>20	31	25	11	430	アンタゴニスト/不活性
2	4.96	32.7	6.7~7.7		NA	28	710	アンタゴニスト
3	5.29	32.7	3.8	23	240	21	NA	向神経活性
4	6.63	3.24	>20.0	33	2.2	40	NA	不活性
5	6.96	3.24	>20.0	56	2.7	53	NA	不活性

30

40

6	3.7	51.16	0.3		NA	20	980	アンタゴ ニスト
7	3.76	51.16	NA	42	68	155	NA	NA
8	4.22	32.7	<0.25~0.4	41	79	16	7000	アンタゴ ニスト
9	5.89	3.24	0.22	17	3.6	12	6700	アンタゴ ニスト
10	5.37	21.7	0.5	1.4	5	8	41000	アンタゴ ニスト
11	5.43	21.7	0.7	14	0.44	61	290	アンタゴ ニスト
12	5.89	3.24	0.4		NA	13	NA	アンタゴ ニスト
13	6.26	3.24	0.3		NA	3	250	アンタゴ ニスト
14	4.22	32.7	0.6		NA	20	2400	アンタゴ ニスト
15	5.59	12.47	0.5		NA	15	NA	不活性
16	6.35	3.24	>20.0		NA	12	NA	不活性
17	5.07	32.7	0.3		NA	10	NA	アンタゴ ニスト
18	6.74	3.24	NA	42	1.5	213	NA	NA
19	6.74	3.24	0.27	69	1.8	25	98000	弱いアン タゴニスト
20	5.43	21.7	0.067~0.6	0.57	0.67	43	660	アンタゴ ニスト/ アゴニスト
21	4.83	3.24	>20.0	330	12	7	15000	不活性
22	4.83	3.24	<0.25	44	23	7	350	アンタゴ ニスト
23	4.31	21.7	<0.25	16	13	5	370	アンタゴ ニスト
24	5.29	51.16	0.5	4.9	52	5	860	アンタゴ ニスト
25	4.48	51.16	>20.0	5.7	110	4	3200	不活性 /IAACon
26	5	32.7	>20.0	7.9	41	4	3700	不活性
27	5.28	32.7	>20.0	46	71	4	3200	不活性 /IAACon
28	5.28	32.7	0.07~0.08	120	11	4	9600	アンタゴ ニスト
29	4.76	51.16	>20.0	47	13	6	540	不活性 /IAACon
30	3.68	41.93	0.3	220	910	126	4700	アンタゴ ニスト
31	5.81	32.7	<0.25	3.7	58	6	1900	アンタゴ ニスト

10

20

30

40

50

33	5.11	3.24	3.3	32	3.2	9	910	アンタゴ ニスト
34	4.65	21.7	13	7.5	0.53	46	15	アンタゴ ニスト
35	5.11	3.24	2.2	2.1	3.6	9	130	アンタゴ ニスト
36	4.59	21.7	0.86	4.1	5.2	47	19	アンタゴ ニスト
37	5	32.7	NA	9.1	140	5	480	NA
38	5.91	21.7	0.5	18	21	5	2100	向神経活 性
39	5.91	21.7	NA	62	21	4	3200	NA
40	5.39	40.16	NA	7.8	8.9	6	350	NA
41	5.84	42.01	>20.0	520	38	9	2800	不活性 /IAACon
42	6.19	21.7	>20.0	100	6.2	14	800	アゴニス ト
43	5.84	42.01	NA	380	140	5	670	NA
44	3.96	41.93	NA	1300	140	29	99	アンタゴ ニスト
45	3.96	41.93	>20.0	2800	190	96	220	不活性
46	5.49	12.47	NA	94	160	5	1600	不活性
47	3.44	60.39	NA	1000	140	91	130	不活性
48	3.5	60.39	>20.0	3600	22	582	1700	不活性
49	4.53	42.01	9.4	470	25	18	6100	アンタゴ ニスト
50	4.53	42.01	NA	750	37	33	4400	弱いアン タゴニス ト
51	3.68	41.93	NA	77	800	66	1200	向神経活 性
52	3.16	60.39	0.3	130	540	97	3200	アンタゴ ニスト
53	4.5	32.7	>20.0	110	17	21	2800	不活性
54	6	32.7	6.5	74	18	12	2500	アンタゴ ニスト
55	6.23	32.7	NA	360	310	34	100000	NA
56	2.88	70	0.3	10000	10000	617	49000	弱いアン タゴニス ト
57	5.14	53.01	>20.0	700	95	26	5000	不活性 IAACON
58	5.56	32.7	5.6	240	32	16	12000	アンタゴ ニスト
59	4.71	53.01	NA	10000	57	8	18000	不活性
60A	5.42	32.7	>20.0	410	1600	5	100000	アンタゴ ニスト
60B	5.28	32.7	1.6	37	76	8	25000	アンタゴ ニスト

10

20

30

40

61	4.79	66.84	<0.02	33	6.9	114	790	アンタゴ ニスト
62	4.25	66.84	0.06	63	8.5	45	26000	アンタゴ ニスト
63	3.97	66.84	NA	17	380	31	11000	不活性
64	3.2	66.84	NA	180	8.6	52	20000	不活性
65	2.92	66.84	NA	1300	190	41	26000	向神経活 性
66	4.25	66.84	NA	130	2.6	10	19000	不活性
67	4.79	66.84	NA	55	8.1	39	44000	アンタゴ ニスト
68	2.92	66.84	NA	100	400	152	43000	不活性
69	3.69	66.84	NA	27	76	75	9500	不活性
70	3.97	66.84	NA	50	9	79	3100	不活性
73	5.27	41.93	NA	22	140	NA	770	NA
74	5.7	32.7	0.3	2300	550	21	100000	アンタゴ ニスト
75	2.34	70	>20.0	10000	>10000	508	100000	不活性
76	2.88	65	0.87	10000	2.6	115	76000	アンタゴ ニスト
77	3.2		0.1		NA	142	NA	アンタゴ ニスト
78	3.25		8.8	10000	10000	450	110000	向神経活 性
79	2.74		100	10000	460	144	11000	不活性
80	3.44		100	10000	1400	45	7400	不活性
81	3.48		100	10000	10000	88	10000	不活性
82	3.5		100	10000	10000	27	52000	不活性
83	2.73		100	10000	10000	336	10000	不活性 IAACON
84	3.39		100	10000	10000	163	6600	NA
85	2.97			10000	360	194	33000	NA
86	3.61			10000	10000	19	5100	NA
87	4.44			69	1.1	86	570	NA
88	5.75		0.36	96	1.3	28	2800	向神経活 性
89	4.9				NA	17	NA	NA
90	4.68				NA	9	NA	NA
91	4.75				NA	6	NA	NA
92	3.98				NA	7	NA	NA
93	4.98				NA	5	NA	NA
94	4.92				NA	14	NA	NA
95	4.85		1.7		100		NA	アンタゴ ニスト
96	4.16		100		6.6	<1.75	NA	不活性
97	4.4				NA		NA	NA
98	3.43		0.35		10000	29.35	NA	アンタゴ ニスト/

10

20

30

40

								向神経活性
99	3.43		0.2		1200	93.3	NA	アンタゴニスト/ 向神経活性
100	3.27		1.1		10000	156.24	NA	アンタゴニスト
101	3.35		100		11	84.21	NA	不活性
102	3.5		100		1.8	20.35	NA	不活性
103	3.5		100		1.4	15.2	NA	不活性
104	4.1		100		760		NA	不活性
105	4.19		2.6		180	106.23	NA	向神経活性
106	4.79		3.4		240	160.43	NA	アゴニスト
107	3.7		100		10000	25.21	NA	不活性
108	5.6		100		15	1236.31	NA	不活性
109	5.6		100		31	253.79	NA	アゴニスト
110	2.72		100		10000	15.66	NA	不活性
111	3.69		100		740	27.01	NA	不活性
112	5.41		0.26		NA	NA	NA	アンタゴニスト
113	4.11		5.3		NA	NA	NA	アンタゴニスト
114	2.65		0.25		NA	NA	NA	向神経活性
115	2.91		100		NA	NA	NA	不活性
116	3.96		100		NA	NA	NA	不活性
117	4.81		1.2		NA	NA	NA	アンタゴニスト
118	4.03		100		NA	NA	NA	不活性

NA = データが未だ得られていない

【0353】

表2の特定の化合物は、示されるEC₅₀でAベータオリゴマー誘導性のエキソサイトシス促進を阻止することがわかった。したがって、表2の化合物は、Aベータオリゴマーの仲介による膜輸送の変化を有意に阻止した。以上の結果は、化合物がAベータオリゴマーのニューロン細胞に対する活性/作用を阻止/軽減し、シグマ-2リガンドを用いてAベータオリゴマー誘導性膜輸送異常を阻止することができることを示している。

【0354】

表2の選択した化合物を膜輸送アッセイで投与し、示されるEC₅₀でAベータオリゴマー誘導性膜輸送異常を阻止することがわかった。したがって、表2の化合物は、Aベータオリゴマーの仲介による膜輸送の変化を有意に阻止した。以上の結果は、化合物がAベータオリゴマーのニューロン細胞に対する活性/作用を阻止/軽減し、シグマ-2受容体リガンドがAベータオリゴマー誘導性膜輸送異常を阻止する候補化合物として使用され得ることを示している。

【0355】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される式Iおよび/または式IIによるインドリン化合物またはその薬学的に許容される塩は、本明細書に提供される膜輸送アッ

10

20

30

40

50

セイブプロトコルに従って試験した場合、 $20\ \mu\text{M}$ 以下、 $15\ \mu\text{M}$ 以下、 $10\ \mu\text{M}$ 以下、 $5\ \mu\text{M}$ 以下、 $1\ \mu\text{M}$ 以下、 $0.5\ \mu\text{M}$ 以下の EC_{50} でAベータオリゴマー誘導性膜輸送不良を抑制する。

【0356】

上式に包含される化合物はほかにも、シグマ-2リガンドとなることが予想されるため、したがって、Aベータオリゴマー誘導性のエキソサイトーシス促進の阻止にも有用となる。

【0357】

実施例7. 薬物動態および代謝安定性に関する試験。

商業的開発業務受託機関により、マウスのミクロソームであるマウス肝ミクロソーム (MLM) 第一の薬物動態試験を実施した。この試験は、Obach, R. Sら, (1997) J. Pharmacol. Exp. Ther., 283: 46-58 (参照により本明細書に組み込まれる) に従って実施した。MLMアッセイでの化合物の半減期 ($t_{1/2}$) を表2に示し、その範囲は3~617分であった。

10

【0358】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される式Iおよび/または式IIによるインドリン化合物またはその薬学的に許容される塩は、本明細書に記載されるマウス肝ミクロソーム (MLM) アッセイで、少なくとも5分、少なくとも10分、少なくとも25分、少なくとも50分、少なくとも100分または少なくとも200分の半減期 ($t_{1/2}$) を示す。

20

【0359】

結果は、いくつかの被験化合物はマウス肝ミクロソーム中の半減期が実質的に長かったことを示している。この結果は、これらの化合物は経口投与後の生物学的利用能が高いことを示している。同じ化合物を本明細書で言及される通りに上記の膜輸送アッセイおよびその活性により試験した。

【0360】

被験化合物の固有クリアランスの速度が速かった場合、それは実質的に初回通過代謝を受けたことを示唆する。薬物動態を改善するため、代謝安定性が増強され、薬物様特性が改善されるよう化合物を設計した。ミクロソーム安定性実験および血漿中安定性実験を実施して、候補化合物の代謝安定性および肝安定性を明らかにした。いくつかの実施形態では、*in vitro* ミクロソーム安定性を基準化合物のCT010914に正規化した。

30

【0361】

第二のPK試験を*in vivo*で実施することができ、この試験では、様々な経路により急性または慢性に投与した被験化合物の血漿中レベルおよび脳中レベルを以下の通りに測定する：

【0362】

HPLC-MSの最適化

各被験化合物の溶液を調製し、シリンジポンプによりTSQ Quantum分光計 (Fisher Thermo Scientific社) 源に一定速度で注入する。フルスキャンMS (質量分光測定法) 分析を実施し、陽イオン化モードおよび陰イオン化モードの両方で各化合物の全イオン電流クロマトグラムおよび対応する質量スペクトルを作成する。各イオン量に応じて、ポジティブ質量スペクトルまたはネガティブ質量スペクトルのいずれかからMS/MSの前駆体イオンを選択する。さらに、定量分析に用いるのに適した選択断片化反応を決定するため、生成イオンMS/MS分析を実施する。最終反応モニタリングパラメータは、複雑な成分混合物内に存在する場合の被験化合物を定量化する能力が最大になるよう選択する。各被験化合物に用いる特異的SRM遷移を特定した後、TSQ Quantum Optimizationワークスペースに自動化プロトコルを用いて検出パラメータを最適化する。最後に、適切なLCカラムに分析物を注入し分離することにより、LC-MS分析に用いるクロマトグラフィー条件を特定し、必要に応じ

40

50

て、勾配条件の調整を実施する。

【0363】

I V投与用の製剤：

最初に、被験化合物のリン酸緩衝生理食塩水、pH 7.4 (PBS)への溶解性を肉眼検査により評価する。化合物が標的濃度で溶解すれば、PBSを溶媒として使用する。(化合物がPBSに完全には溶解しない場合、I V投与に適合性のある他の溶媒を評価し得る。このような溶媒としては、特にDMSO、ポリエチレングリコール(PEG 400)、Solutol HS 15およびCremophor ELが挙げられる。)ここに報告する実験では、単回ボラスの10 mg / kgの被験化合物をI V投与する。

【0364】

PO投与用の製剤：最初に、被験化合物のPBSへの溶解性を評価する。化合物が標的濃度で溶解すれば、PBSを溶媒として使用する。(被験化合物が各濃度でPBSに完全には溶解しない場合、DMSO / Solutol HS 15 / PBS (5 / 5 / 90、v / v / v)またはDMSO / 1%メチルセルロース(5 / 95、v / v)を使用し得る。)

【0365】

血漿試料の線形性

血漿のアリコートに被験化合物を特定の濃度で添加する。アセトニトリル沈殿法を用いて添加済み試料を処理し、HPLC-MSまたはHPLC-MS/MSにより分析する。ピーク面積対濃度の検量曲線を作成する。アッセイの報告可能な線形範囲を定量下限値(LLQ)とともに決定する。

【0366】

血漿試料の定量的生物分析

アセトニトリル沈殿法を用いて血漿試料を処理し、HPLC-MSまたはHPLC-MS/MSにより分析する。血漿の検量曲線を作成した。無薬物血漿のアリコートに被験化合物を特定の濃度で添加する。添加済み血漿試料を未知の血漿試料とともに同じ手順を用いて処理する。処理済み血漿試料(乾燥抽出物)は通常、HPLC-MSまたはHPLC-MS/MS分析まで凍結保存(-20)する。乾燥抽出物を適切な溶媒に溶かして復元し、遠心分離後、HPLC-MSまたはHPLC-MS/MSにより分析した。ピーク面積を記録し、未知の血漿試料中の被験化合物の濃度をそれぞれの検量曲線を用いて求める。アッセイの報告可能な線形範囲を定量下限値(LLQ)とともに決定する。

【0367】

この試験に用いる動物は通常、体重がそれぞれ20~30gの雄C57BL/6マウスまたは体重180~250gの雄Sprague-Dawleyラットである。各個体に1回のみ採血が実施されるように、各投与条件および各時点について3個体を治療する。腹腔内注射により化合物の皮下投与を実施した。胃内強制投与により経口投与を実施する。頸静脈カテーテルにより静脈内投与を実施する。

【0368】

化合物を様々な濃度で投与してから例えば、10分、30分、60分、120分、240分、360分、480分および1440分後に血漿試料を採取する。

【0369】

マウスおよびラットからの血漿試料採取

心臓穿刺(マウス)または頸静脈カテーテル(ラット)による血液採取のため、一般的な吸入麻酔下(3%イソフルラン)で動物を鎮静させる。血液アリコート(300~400 μL)をリチウムヘパリンでコートしたチューブに採取し、穏やかにかき混ぜ、氷上で保管し、採取から1時間以内に4、2、500 × gで15分間遠心分離する。次いで、血漿を回収し、のちの処理まで-20で凍結保存する。

動物投与デザイン - In vivo PK - カニユーレ処置も絶食もしていない動物

グループ1：SC、1時点当たりの個体数n = 3(計24個体)またはI V、1時点当たりの個体数n = 3(計24個体)

10

20

30

40

50

グループ2：PO、1時点当たりの個体数 $n = 3$ (計24個体)

グループ3：対照動物(無薬物血液)、個体数 $n = 5$ のマウス

各個体に1回の採血および1回の脳採取を実施する。

【0370】

動物からの脳試料採取

血液採取直後、動物を断頭し、脳全体を迅速に取り出し、冷生理食塩水(0.9% NaCl、g/mL)で洗浄し、表面の血管系を破壊し、ガーゼで吸い取って乾燥させ、体重を計測し、採取から1時間以内実施するのちの処理まで氷上で保管する。各脳を1.5 mLの冷リン酸緩衝生理食塩水、pH 7.4(マウス = 1.5 mL、ラット =)中、Power Gen 125を用いて氷上で10秒間ホモジナイズする。次いで、各脳の脳ホモジネートをのちの処理まで -20 で保管する。

10

【0371】

脳試料の線形性

脳ホモジネートのアリコートに被験化合物を特定の濃度で添加する。各脳アリコートに冷却した26%(g/mL)中性デキストラン(平均分子量65,000~85,000、Sigma社製、カタログ番号D-1390)溶液を等体積加えて、最終デキストラン濃度を13%にする。ホモジネートを4、54000×gで15分間遠心分離する。次いで、アセトニトリル沈殿法を用いて上清を処理し、HPLC-MS/MSにより分析する。ピーク対濃度の検量曲線を作成する。アッセイの報告可能な線形範囲を定量下限値(LLQ)とともに決定する。

20

【0372】

脳試料の定量分析

各脳ホモジネートのアリコートに冷却した26%(g/mL)中性デキストラン(平均分子量65,000~85,000、Sigma社製、カタログ番号D-1390)溶液を等体積加えて、最終デキストラン濃度を13%にする。ホモジネートを4、54000×gで15分間遠心分離する。次いで、アセトニトリル沈殿法を用いて上清を処理し、HPLC-MS/MSにより分析する。脳検量曲線を作成する。無薬物脳ホモジネートのアリコートに被験化合物を特定の濃度で添加する。添加済み脳ホモジネート試料を同じ手順を用いて未知の脳ホモジネート試料とともに処理する。処理済み脳試料をLC-MS/MS分析まで -20 で保管し、分析時にピーク面積を記録し、未知の脳試料中の被験化合物の濃度をそれぞれの検量曲線を用いて求めた。アッセイの報告可能な線形を定量下限値(LLQ)とともに求めた。

30

【0373】

脳透過性

各時点における脳(ng/g組織)および血漿(ng/mL)中の被験化合物の濃度ならびに脳中濃度と血漿中濃度の比をLC-MS/MSにより求め、上記の通りに報告する。

【0374】

薬物動態

化合物の血漿中濃度対時間のプロットを作成する。経口投与およびSC投与後、Win Nonlin(Pharsight社)を用いて、血漿データの非コンパートメント解析(NCA)から化合物の基本的な薬物動態パラメータ(AUC_{last}、AUC_{INF}、T_{1/2}、T_{max}およびC_{max})を取得する。非コンパートメント解析では、薬物、代謝産物のいずれの特異的コンパートメントモデルも想定する必要がない。NCAにより、血漿中濃度-時間曲線下面積の測定に台形公式を適用することが可能となる(Gabrielsson, J. およびWeiner, D. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis: Concepts and Applications. Swedish Pharmaceutical Press. 1997)。

40

【0375】

50

報告される用語の定義

曲線下面積 (AUC) - 体循環に到達する未変化薬物の総量の尺度。曲線下面積は、濃度対時間をプロットし、各台形の増加面積を合計することにより算出された幾何学的測定値である。

【0376】

WinNonlinで面積を算出するには、線形台形法および線形対数台形法の2つの計算法がある。線形台形法は、濃度 - 時間曲線の下降部分で偏った結果が得られ、AUCが過大評価されることがあるため、WinNonlinではAUCの計算に線形対数が選択できる。初期設定では、対数線形台形法を用いて血漿中濃度 - 時間曲線の残りの部分のTmax後面積を測定する。

10

【0377】

AUC_{last} : 投与時点から定量下限値を上回る値が最後に観察された時点までの曲線下面積。

【0378】

AUC_{INF} : 投与時点から無限大まで外挿した曲線下面積。

【0379】

C_{max} - 薬物を経口投与または非IV投与した後、投与時点から最後に観察した時点までの間に得られた最大血漿中薬物濃度。

【0380】

T_{max} - 薬物投与から最大血漿中濃度 (C_{max}) が観察されるまでの時間を分で表したものの。

20

【0381】

T_{1/2} - IV投与および非IV投与の両方から得られた終末消失相半減期。

【0382】

この場合、ラムダZ (z) は血漿中濃度 - 時間曲線の終末 (対数線形) 部分と関連する一次速度定数である。z は時間対対数濃度の線形回帰により推定される。

【0383】

結果から、特定の被験化合物が、用量0.1~0.5mg/kgの範囲で急性または慢性に (連日で5日間) 投与した場合に優れた生物学的利用能および優れた脳透過性を示すことが明らかになることが予想される。このようにして、選択した被験化合物の経口生物学的利用能を評価する。

30

【0384】

実施例8 : Aベータ1~42オリゴマー結合およびシナプス消失アッセイ

このアッセイでは、Aベータオリゴマーと、培養した成熟初代ニューロンとを接触させ、その結合を免疫組織化学 (抗Aベータ抗体) により判定し、画像処理により定量化した。神経炎で標識された点の数を数えることにより、ニューロン樹状突起内のAベータの量を評価する。Aベータオリゴマーは、初代培養物のかなりの割合 (30~50%) の海馬ニューロンに存在する一部のシナプス後ニューロンと飽和状態で (Kdが約400nM; Lauren 2009) 高親和性に結合することが知られており (Lacorら, 2004; Lambertら, 2007)、このことは、アルツハイマー病患者の脳にAベータ結合が観察されたこと (Lambertら, 2007) とよく相関する。この標識は、シナプス後足場タンパク質PSD-95と共同在するシナプスと関係がある (Lacorら, 2004)。Aベータオリゴマーはほかに、シナプス消失を仲介することが知られており、脳スライスでのヒト海馬ニューロンでは18%が消失することが報告されている (Scheffら, 2007) ほか、長期増強 (LTP) を阻害することが知られている。このアッセイではほかに、免疫蛍光化学によりシナプスの数を定量化することができる。結合アッセイを実施するための同様の手順が文献中にみられる。例えば、Look GCら, Discovery of ADDL-targeting small molecule drugs for Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res. 2007 Dec; 4(5): 562-7. Revi

40

50

ewを参照されたい。

【0385】

ニューロン表面に結合したAベータの量の測定を二次スクリーニングとして用いて、以下に挙げる機序のうちの1つまたは複数を介して作用する化合物を特定することができる：Aベータオリゴマーとニューロン表面との結合に干渉することによって、またはオリゴマーそのものに変化をもたらすこと（逆アゴニズムまたはオリゴマー解離）によって、またはオリゴマーが結合する表面受容体の変化（アロステリック調節または古典的な受容体拮抗作用）をもたらすことによって、Aベータ作用を阻止すること。この測定によりほかにも、上記のような化合物と下流シグナル伝達事象に作用する化合物とを識別することができる。したがって、このアッセイは、Aベータオリゴマーのニューロンに対する非致死性作用を特徴とする病的状態に重要なものであり、本発明者らが臨床的に重要な化合物の特定に用いたスクリーニングカスケードの一部を形成している。膜輸送およびこの結合/シナプス消失アッセイで活性な選択した被験化合物について、アルツハイマー病の2つの異なるトランスジェニックモデルで活性を試験することができる。したがって、このアッセイおよび膜輸送アッセイは、臨床的に重要な化合物の特定に有用であり、*in vivo*の結果を予測するうえで価値があるものと思われる。このアッセイの予測的価値は、それが本開示の範囲外の化合物を用いて化合物の特性を予測することができることを示すことによって確認される。

10

【0386】

上記の膜輸送アッセイの場合と同じように初代海馬ニューロンの培養を確立する。被験化合物（濃度 10^{-8} ~ 30 マイクロモル）をプレートに加え、次いで、Aベータ1~42オリゴマー含有調製物を飽和結合に達する濃度で加える。被験化合物で1時間、前処理し、Aベータオリゴマーまたは無オリゴマー（溶媒単独）を加えた後、さらに23時間インキュベートする。

20

【0387】

プレートを3.7%パラホルムアルデヒド含有リン酸緩衝生理食塩水で15分間固定する。次いで、プレートをPBSで3回、それぞれ5分間洗浄する。プレートを5%ヤギ血清および0.5% Triton X-100を含有するPBSで1時間、室温にてブロックする。一次抗体（抗MAP2ポリクローナル、Millipore社、番号AB5622および抗ベータアミロイド6E10モノクローナル、Covance社、番号SIG-39300、1マイクログラム/mlおよびウサギポリクローナル抗シナプトフィジン、Anaspec社、0.2マイクログラム/ml）を5%ヤギ血清含有PBSで1:1000に希釈する。一次抗体を4℃で一晩インキュベートする。次いで、プレートをPBSで3回、それぞれ5分間洗浄する。二次抗体（Alexa Fluor 488ポリクローナル、Invitrogen社、番号A11008およびAlexa Fluor 647モノクローナル、Invitrogen社、番号A21235）を5%ヤギ血清含有PBSで1:1000に希釈する。二次抗体を室温で1時間インキュベートする。プレートをPBSで1回洗浄する。次いで、DAPI（4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール、Invitrogen社）を $0.03 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ で加え、室温で5分間インキュベートした後、PBSで洗浄する。

30

40

【0388】

結果は、のちに詳述する通りに調製し、使用する調製物に応じて $3 \mu\text{M}$ または $1 \mu\text{M}$ で投与し、ニューロンと結合したAベータオリゴマーが赤色色素によって明らかになることを示すことが予想される。初期アルツハイマー病のヒトでは、海馬のシナプス数が年齢のマッチした認知機能の正常な個人に比して18%減少することが明らかにされており（Scheffら, 2007）、この結果はほかにも、このアッセイで蛍光点、したがってシナプス数の20%退縮によって可視化することができる。選択した被験化合物の共存下では、Aベータ結合が実質的に対照レベルまで減少することが予想されるほか、緑色蛍光は影響を受けず、減少しなかったシナプス数を示す。Aベータ42オリゴマーはシナプス後スパインと結合し、初代ニューロンのシナプトフィジンで標識される。有効量の好ましい

50

被験化合物を培養物に添加すると、シナプス後スパインおよびシナプスが実質的に対照レベルで示されることが予想される。Aベータ42オリゴマーを単独で添加すると、24時間後にシナプトフィジンの点の密度が溶媒単独に比して20%減少する。この消失は有効量の好ましい被験化合物により正常に戻る。Aベータオリゴマーの非存在下では、好ましい被験化合物はシナプス数に影響を及ぼさず、シナプス数は対照（溶媒単独）と同等のレベルで維持される。Aベータの点によって算出されるAベータの結合強度は、有効量の被験化合物の存在下で約18%低下することが予想されるが、この低下は、この化合物の存在下でシナプス数が対照レベルに達するには十分である。

【0389】

さらに、特定の被験化合物の存在下では、点状のシナプスAベータオリゴマー結合が濃度依存性に約38%減少することが予想される。点による強度のヒストグラムから、正常な二峰性の結合集団（明度の高い点が見られるニューロンおよびこれより明度の低い集団）が薬物の存在下で左方向に遷移することがわかる（データ不掲載）。Aベータオリゴマー結合を部分的に阻害すれば、LTP機能が100%回復することが報告されている（Strittmatter SMら, Cellular Prion Protein Mediates Impairment of Synaptic Plasticity by Amyloid-Beta Oligomers Nature (2009) 457 (7233: 1128-32)）。

10

【0390】

Aベータオリゴマーにより、24時間後にシナプトフィジンの点の密度が溶媒処置（1つめのパー）に比して20%減少するが、有効量の被験化合物により正常に戻る。例えば、国際公開第2013/029060号（参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

20

【0391】

Aベータの非存在下では、被験化合物がシナプス数に影響を及ぼさないのが望ましい。Aベータオリゴマーによりシナプス数が18.2%減少するが、この消失は、有効量の好ましい被験化合物によって100%打ち消される。

【0392】

DAPIで可視化した核は正常な形態を示し、神経変性が存在しないことがわかる。式Iおよび/またはIIに包含される化合物の中から選択した被験化合物でこの方法を実施する。

30

【0393】

Aベータオリゴマー調製物：

ヒトアミロイドペプチド1~42をCalifornia Peptide社から入手し、品質管理分析時のロット選択は偶然によるものとする。Aベータ1~42オリゴマー [例えば、Dahlgrenら, "Oligomeric and fibrillar species of amyloid-beta peptides differentially affect neuronal viability" J Biol Chem. 2002 Aug 30; 277(35): 32046-53. Epub 2002 Jun 10.; Levine H 3rd. "Alzheimer's beta-peptide oligomer formation at physiologic concentrations" Anal Biochem. 2004 Dec 1; 335(1): 81-90; Shresthaら, "Amyloid beta peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons" Mol Cell Neurosci. 2006 Nov; 33(3): 274-82. Epub 2006 Sep 8; Puzzoら, "Amyloid-beta peptide inhibits activation of the nitric oxide/cGMP/cAMP-responsive element-binding protein pathway during hippocampal sy

40

50

naptic plasticity" J Neurosci. 2005 Jul 20; 25(29): 6887-97; Barghornら, "Globular amyloid beta-peptide oligomer - a homogenous and stable neuropathological protein in Alzheimer's disease" J Neurochem. 2005 Nov; 95(3): 834-47. Epub 2005 Aug 31; Johanssonら, Physicochemical characterization of the Alzheimer's disease-related peptides A beta 1-42 Arctic and A beta 1-42wt. FEBS J. 2006 Jun; 273(12): 2618-30を参照されたい]および脳由来Aベータオリゴマー(例えば、Walshら, Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. Nature(2002). 416, 535-539; Lesneら, A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. Nature. 2006 Mar 16; 440(7082): 352-7; Shankarら, Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. Nat Med. 2008 Aug; 14(8): 837-42. Epub 2008 Jun 22を参照されたい)を上記のように公開されている方法に従って作製する。オリゴマー調製物の品質管理は、オリゴマーサイズの範囲および相対濃度を明らかにするウエスタンブロットイングおよび毒性を伴わないエキソサイトーシス促進を確認するMTTアッセイで構成される。各撮像ベースのアッセイでは、DNA結合青色色素のDAPI(Invitrogen社)で可視化した核の形態を定量化することにより毒性をモニターする。核の断片化があれば、末期アポトーシスにあるものとみなし、その試験を除外する。(MajnoおよびJoris, Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. Am J Pathol 1995; 146: 3-16)。ペプチドサイズの範囲が異常であるか、基準濃度でニューロンに対する有意な毒性が認められるペプチドのロットがあれば除外する。

【0394】

対照

オリゴマー調製物を用いた抗Aベータ抗体6E10の前吸着は、シナプス結合を用量依存性に(7.84×10^{-6})で阻害し、これを陽性対照として用いる。抗体は1:1000(1マイクログラム/ml)で使用する。シナプス消失アッセイには、NMDAアンタゴニストのジゾシルピン(MK-801)を陽性対照として80μMで用いる。

【0395】

画像処理

Neuronal Profilingアルゴリズムを用いて、画像をCellomics VTI自動顕微鏡観察プラットフォームで捕捉し解析する。統計解析には、不等分散性のテューキー・クレマーの対比較を用いる。

【0396】

ウエスタンブロット

Aベータ1~42を含有する試料を非還元性レーンマーカークー試料緩衝液(Pierce社、番号1859594)で希釈する(1:5)。試料30マイクロリットル(μL)を18ウェルプレキャスト4~15%トリス-HClゲル(BIORAD社、番号345-0028)に投入する。BIO-RAD Criterionプレキャストゲルシステムにトリス-グリシン緩衝液を用いて、電気泳動を125ボルト(V)で90分間実施する。ゲルをトリス-グリシン/10%メタノール緩衝液中、30Vで120分間、0.2μ

Mニトロセルロース膜上にプロットする。膜をPBS溶液中で5分間煮沸し、4 で一晚、TBS/5%ミルク溶液でブロックした。TBS/1%ミルク溶液で10 µg/mLに希釈した6E10-HRP (Covance社、番号SIG-39345)により膜を室温で1時間プローブする。膜をTBS/0.05% tween-20の溶液で3回、それぞれ40分間洗浄し、ECL試薬 (BIO-RAD社、番号162-0112)で5分間発光させる。Alpha Innotech FluorChem Q定量撮像システムで画像取得を実施し、AlphaView Qソフトウェアで解析する。

【0397】

活性

(画像処理アルゴリズムを用いた)結合アッセイにより、好ましい被験化合物がAベータオリゴマーリガンドとニューロンとの結合を約25%、部分的に阻止することが示されると予想される。

10

【0398】

実施例9：恐怖条件付けアッセイ

選択した被験化合物を恐怖条件付けとして知られる記憶に依存する行動課題の動物モデルで試験する。試験プロトコルは公開されているプロトコルに基づいてデザインしたものである(例えば、Puzzo D, Privitera L, Leznik E, Fa M, Staniszewski A, Palmeri A, Arancio O. Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. J Neurosci. 2008 Dec 31; 28(53):14537-45を参照されたい)。状況記憶の形成は海馬などの内側側頭葉構造の統合性に依存する。このアッセイでは、マウスに特定の顕著な状況(条件刺激; CS)が嫌悪事象、本試験の場合、軽度の足へのショック(無条件刺激、US)と結びついていることを訓練して覚えさせる。良好な学習能力を示す動物であれば、同じ状況に再び置いたとき、すくみ行動の増加がみられる。このすくみは新規な状況ではみられない。状況におけるすくみの増加は、動物に強力な海馬依存性の記憶が形成されたことを示す。恐怖条件付けで試験する記憶は可溶性A の増大に対する感度が高い。化合物IIは膜輸送に対するAベータオリゴマー仲介性作用の停止に有効であった。好ましい被験化合物であれば、Aベータオリゴマー投与前に動物に投与すると、記憶に対するオリゴマー作用を用量依存性に阻害することが予想される。

20

30

【0399】

特定の好ましい被験化合物は、Aベータオリゴマー誘導性の記憶障害を打ち消すことが可能であるが、単独で投与したときは記憶に影響を及ぼさないものである。この行動学的効果は、膜輸送アッセイにより、オリゴマーによって引き起こされる行動的記憶喪失の治療に有用な化合物を予測することが可能であることを示している。記憶の恐怖条件付けモデルを本明細書に記載される通りに実施した。いずれの用量でも有害な行動変化が観察されないのが望ましい。したがって、この化合物の膜輸送アッセイでの成績と恐怖条件付けアッセイでの成績との間には相関があり、後者のアッセイは記憶喪失の指標となる。本明細書に提供されるイソインドリン化合物は恐怖条件付けアッセイにおいて活性を示し、したがって、記憶喪失の治療に有効であることが示されることが予想される。化合物の恐怖条件付けモデルにおける成績と記憶喪失の治療における有用性との間の相関は、文献で確立されている(Delgado MR, Olsson A, Phelps EA. "Extending animal models of fear conditioning to humans" Biol. Psychol. 2006 Jul; 73(1):39-48)。

40

【0400】

実施例10：ラット、アカゲザルおよびヒト死後脳の試料を用いたオートラジオグラフィによる試験。

シグマ-2受容体リガンドおよびシグマ-1受容体リガンドの神経学的および薬理的

50

特徴を明らかにするため、Xuら、2010 (Xu, J., Hassanzadeh B, Chu W, Tu Z, Vangveravong S, Tones LA, Leudtke RR, Perlmutter JS, Mintun MA, Mach RH. [³H] 4 - (Dimethylamino) - N - [4 - (4 - (2 - methoxyphenyl) piperazin - 1 - yl) butyl] benzamide, a selective radioligand for dopamine D (3) receptors . II . Quantitative analysis of dopamine D3 and D2 receptor density ratio in the caudate - putamen . Synapse 64 : 449 - 459 (2010)) (参照により本明細書に組み込まれる) により既に報告されているプロトコルを改変することにより、オートラジオグラフィー撮像による試験を実施する。Xu J, Tu Z, Jones LA, Wheeler KT, Mach RHの方法 ([³H] N - [4 - (3 , 4 - dihydro - 6 , 7 - dimethoxyisoquinolin - 2 (1H) - yl) butyl] - 2 - methoxy - 5 - methyl benzamide : a Novel Sigma - 2 Receptor Probe . Eur . J . Pharmacol . 525 : 8 - 17 (2005)) (参照により本明細書に組み込まれる) により標識 RHM - 1 を得た。

10

【 0 4 0 1 】

この試験には、Micromクリオトームを用いてラット、アカゲザルおよび死後ヒト脳から厚さ 20 μM の脳切片を切出し、Superfrost Plus ガラススライド (Fisher Scientific 社、ピッツバーグ、ペンシルベニア州) に載せ、大脳皮質および海馬の脳領域全体の連続切片を使用する。脳切片を、シグマ - 2 受容体の分布を撮像するためのシグマ - 1 受容体ブロック (+) - ペンタゾシンの存在下、シグマ - 1 受容体の特徴付けには 5 nM の [³H] (+) - ペンタゾシン、シグマ - 2 受容体の特徴付けには 4 nM [³H] RHM - 1 単独のほか、10 nM の [³H] DTG および [³H] ハロペリドールとインキュベートし、放射性リガンドと 30 分間インキュベートした後、脳切片を含むガラススライドを氷冷緩衝液で 5 回、それぞれ 1 分間洗浄する。

20

【 0 4 0 2 】

スライドを乾燥させ、空いている方の面を銅箔テープで覆うことにより導電性にし、次いで、ガス検出器である Beta Imager 2000 Z Digital Beta Imaging System (Biospace 社、フランス) のガスチャンバ [アルゴンとトリエチルアミン (Sigma - Aldrich 社、米国) の混合物] に入れる。ガスが十分に混ざり合い、均一な状態になった後、高品質の画像が観察されるまでさらに 24 時間 ~ 48 時間曝露する。[³H] Microscale (American Radiolabeled Chemicals 社、セントルイス、ミズーリ州) を総放射活性定量分析のための標準物質として同時にカウントする、すなわち、cpm / mm² を nCi / mg 組織に変換する。Beta - Image Plus (BioSpace 社、フランス) プログラムを用いて、目的とする解剖学的関心領域 (ROI) の定量分析を実施する、すなわち、皮質および海馬の領域における定量的放射活性取込み (cpm / nlln²) を求める。対応する放射性リガンドの比活性および標準物質の [³H] Microscale から得られた検量曲線に基づき、結合密度を fmol / mg 組織に正規化する。定量的オートラジオグラフィーを用いて、被験化合物の希釈系列 (10 nM、100 nM、1,000 nM および 10,000 nM) を 4 つの放射性リガンド、[³H] (+) - ペンタゾシン、[³H] RHM - 1、[³H] DTG および [³H] ハロペリドールとの結合部位に対する競合を試験し、次いで特異的結合 (% 対照) を分析して、皮質および海馬 (歯状回、海馬 CA1 および CA3) の領域における結合親和性を求める。

30

40

【 0 4 0 3 】

例えば正常患者、レビー小体型認知症 (DLB) 患者またはアルツハイマー病 (AD) 患者特異的結合由来のヒト前頭皮質スライスを対象に、[³H] - (+) - ペンタゾシン (シグマ - 1 受容体リガンド) および / または [¹²⁵I] - RHM - 4 または [³H]

50

- RHM-1 (シグマ-2受容体リガンド)を用いたシグマ-1受容体およびシグマ-2受容体におけるオートラジオグラフィを実施し、対照と比較する。アルツハイマー病および可能性としてDLBでは、シグマ-1受容体が正常対照に比して統計学的にダウンレギュレートされ、例えば、Mishinaraは、初期アルツハイマー病ではシグマ-1受容体の密度が低いことを報告している(Mishinara, 2008, Low density of sigma1 receptors in early Alzheimer's disease. Ann. Nucl. Med. 22:151-156)。しかし、ADではシグマ-2受容体は統計学的にダウンレギュレートされない。オートラジオグラフィを用いて、例えば、サル前頭皮質、サル海馬またはヒト側頭皮質において18.4 nM [³H]-RHM-1が被験化合物のシグマ-2リガンドに置き換わることを示す。標的組織では、[³H]-RHM-1の一部が既知のシグマ-2受容体リガンドであるシラメシンおよび被験化合物に置き換わることが予想される。

10

【0404】

実施例11. MTSアッセイ：様々なシグマ-2リガンドのアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性の判定。

Cell Titer 96 Aqueous One Solution Assay (Promega社、マディソン、ウィスコンシン州)と用いて被験化合物の細胞毒性を判定する。簡潔に述べれば、シグマ-2受容体選択的リガンドで処置する前日、96ウェルプレートにMDA-MB-435細胞、MDA-MB231細胞またはSKOV-3細胞を2000細胞/ウェルの密度で播いた。24時間処置した後、各ウェルにCell Titer 96 Aqueous One Solution Reagentを加え、プレートを37℃で2時間インキュベートする。Victor3プレートリーダー(PerkinElmer Life and Analytical Sciences社、シエルトン、コネチカット州)によりプレートを490nmで読み取る。各細胞系の用量反応曲線から、細胞生存能を未処置細胞に比して50%阻害するのに必要なシグマリガンドの濃度と定義されるEC₅₀値を求める。シラメシンはアゴニストとして認められている。シグマ-2リガンドのアゴニストおよびアンタゴニストは以下のように定義される：シグマ-2リガンド被験化合物のEC₅₀がシラメシンのEC₅₀の2倍未満であれば、このシグマ-2リガンド被験化合物はアゴニストであるとする。シグマ-2リガンドのEC₅₀がシラメシンのEC₅₀の2~10倍であれば、このシグマ-2リガンドは部分アゴニストであるとする。シグマ-2リガンドのEC₅₀がシラメシンのEC₅₀の10倍超であれば、このシグマ-2リガンドはアンタゴニストであるとする。試験に使用するシグマ-2リガンド標準化合物は、アゴニスト(シラメシンおよびSV119)、部分アゴニスト(WC26)およびアンタゴニスト(RHM-1)である。標準物質の結果を表3に示す。

20

30

【0405】

【表3】

腫瘍細胞生存率アッセイのIC₅₀値。

化合物	IC ₅₀ , 48時間(μM)	作用
RHM-1	203±13	アンタゴニスト
シラメシン	11.8±2.7	完全アゴニスト
SV-119	21.7±2.9	完全アゴニスト
WC-26	65.6±6.3	部分アゴニスト

40

【0406】

ニューロン培養物を様々な濃度のシグマ化合物で24時間処置し、溶媒と比較した核強度を測定する。被験濃度での核強度を低下させないシグマ-2アンタゴニスト(RHM-1)とは対照的に、シグマ-2アゴニスト(シラメシン、SV-119、WC-26)はニューロンの核の形態に有意な異常を引き起こす。例えば、シグマ-2受容体アゴニストはニューロン細胞および癌細胞に対して細胞毒性を示すことがわかったが、シグマ-2受

50

容体アンタゴニストは毒性を示さず、さらにはシグマ - 2 受容体アゴニストによって引き起こされる細胞毒性を阻止した、国際公開第 2013/029060 号の図 9 B (参照により本明細書に組み込まれる) を参照されたい。このアッセイで本開示のイソインドリン被験化合物を分析してニューロン表現型の判定に利用し、結果を表 2 に示す。

【0407】

実施例 12 . カスパーゼ - 3 アッセイ。シグマ - 2 リガンドのアゴニストまたはアンタゴニスト活性の判定。

本明細書に記載されるように、Xuらは、PGRMC1タンパク質複合体を推定シグマ - 2 受容体結合部位として同定した (Xuら, 2011. Nature Commun. 2, article number 380) (参照により本明細書に組み込まれる)。シグマ - 2 受容体アゴニストはカスパーゼ - 3 依存性細胞死を誘導し得る。Xuら (2011) は、PGRMC1 がシグマ - 2 受容体アゴニストの WC - 26 によるカスパーゼ - 3 活性化を調節する能力を検討するための機能アッセイを開示している。

【0408】

A ベータオリゴマーは低レベルのカスパーゼ - 3 活性化を引き起こし、LTDを生じさせる。A ベータオリゴマーおよびカスパーゼ - 3 活性化のレベルが高いと、細胞死が起こる (Liら, 2010; OlsenおよびSheng, 2012)。国際公開第 2013/029060 号 (参照により本明細書に組み込まれる) では、シグマ - 2 受容体アゴニスト (SV - 119, シラメシン) が腫瘍細胞およびニューロンのカスパーゼ - 3 を活性化することが明らかにされている (例えば、図 10 A および 10 B を参照されたい)。この実験では、シグマ - 2 受容体アンタゴニストの RHM - 1 は、腫瘍細胞では活性化を阻害する (図 10 A) が、ニューロンではアゴニストの SV - 119 による活性化を阻止することができなかった (図 10 B)。シグマ 2 受容体アンタゴニストである被験化合物は、腫瘍細胞のカスパーゼ - 3 活性化を阻害し、ニューロンではシグマ - 2 受容体アゴニスト SV - 119 によるカスパーゼ - 3 活性化を阻止することができる。したがって、この実施例に示されるように、特定の被験化合物について、腫瘍細胞およびニューロンでのシグマ - 2 受容体アンタゴニスト挙動をカスパーゼ - 3 アッセイで試験する。

【0409】

Caspase - 3 Colorimetric Activity Assay Kit (Milipore 社、ビレリカ、マサチューセッツ州) を製造業者のプロトコル通りに用いて、シグマ - 2 受容体リガンドによる内在性カスパーゼ - 3 の活性化を測定する。簡潔に述べれば、MDA - MB 435 細胞または MDA - MB 23 I 細胞を 100 mm ディッシュに 0.5×10^6 細胞で播いた。播種から 24 時間後、培養皿にシグマ - 2 リガンドを添加してカスパーゼ 3 活性化を誘導する。シグマ - 2 リガンドの最終濃度はその EC50 とする。処置から 24 時間後、細胞を回収し、細胞溶解緩衝液 300 μ L で洗浄し、10,000 \times g で 5 分間遠心分離する。上清を収集し、カスパーゼ - 3 基質である DEVD - pNA 37 で 2 時間インキュベートした。Dc タンパク質アッセイキット (Bio - Rad 社、ハーキュリーズ、カリフォルニア州) を用いてタンパク質濃度を決定する。得られた遊離 pNA を、Victor³ マイクロプレートリーダー (Perkin Eliner Life and Analytical Sciences 社、シェルトン、コネチカット州) を用いて 405 nm で測定する。被験リガンドには、標準物質のシグマ - 2 アゴニスト (シラメシン、SV 119、WC 26) およびシグマ - 2 アンタゴニストの RHMWU - I - 102 (RHM - 1) ならびに被験化合物を含める。カスパーゼ 3 を活性化するリガンドをアゴニストとみなすのに対し、カスパーゼ 3 を活性化しないリガンドをアンタゴニストとみなす。国際公開第 2013/029060 号の図 10 A に示されるように、シグマ - 2 アゴニストであるシラメシンはカスパーゼ - 3 活性を誘導するのに対し、シグマ - 2 アンタゴニスト、例えば、RHM - 1 およびシグマ - 2 アンタゴニストである被験化合物は、癌細胞にもニューロンにもカスパーゼ - 3 活性を誘導しない。

【0410】

実施例 13 . 治療表現型。

被験化合物の治療表現型は、*in vitro*アッセイプラットフォームにより決定され、行動学的効果の予測するものである。(1)シグマ - 2 受容体と高い親和性で選択的に結合し、(2)ニューロンにおいて機能的アンタゴニストとして作用する化合物は、A 誘導性膜輸送不良を阻止し；A 誘導性シナプス消失を阻止し、かつAベータオリゴマーの非存在下で輸送にもシナプス数にも影響を及ぼさなければ、行動学的効果を有するものと予測される。*in vitro*アッセイにおけるこの活性パターンを「治療表現型」と呼ぶ。シグマ - 2 受容体アンタゴニストが成熟ニューロンにおいて、Aベータオリゴマーの非存在下で正常機能に影響を及ぼさずAベータオリゴマー作用を阻止することができるかどうかは治療表現型の1つの基準である。オリゴマーの非存在下で輸送またはシナプス数に影響を及ぼす化合物には行動学的効果はない。Aベータオリゴマー誘導性記憶喪失に予防および治療に行動学的効果があるのは、正常な輸送に影響を及ぼさず、シナプス数を変化させずにオリゴマーを選択的に阻止する化合物のみである。一実施形態では、*in vitro*アッセイプラットフォームにより行動学的効果を予測することができる。したがって、プラットフォームアッセイにおけるこの活性パターンが治療表現型である。

【0411】

まとめると、シグマ - 2 受容体において高い親和性を示す(好ましくは、 K_i が約600 nM、500 nM、400 nM、300 nM、200 nM、150 nM、100 nM未満または70 nM未満である)シグマ - 2 アンタゴニストであって、シグマ受容体に対する選択性が他の非シグマ CNS 受容体または標的受容体の約20倍超、30倍超、50倍超、70倍超または好ましくは100倍超であり、脳透過性ならびに代謝安定性および/または血漿中安定性を含めた優れた薬物様特性を有し、優れたを有し、治療表現型を有するシグマ - 2 アンタゴニストが行動学的効果を有すると予測され、治療を必要とする患者のAベータオリゴマー誘導性シナプス機能不全の治療に用いることができる。

【0412】

経口生物学的利用能を有すると予測されるいくつかの式Iおよび/または式IIによるイソインドリン化合物の機能的ニューロン表現型が、*in vitro*アッセイによる特徴付けとともに表2に示されている。

【0413】

治療表現型

いくつかのシグマ - 2 リガンドは、3つの機能的ニューロン表現型：アンタゴニスト(Aベータシグナル伝達を阻止する)；アゴニスト(U型の用量反応曲線でAベータシグナル伝達を阻止し、高用量で毒性を示す；および不活性(ニューロン培養物に何ら効果を示さない)に分けられる。既知の先行技術のシグマ - 1 受容体リガンドは2つの種類：アンタゴニスト(Aベータシグナル伝達を阻止する)および不活性(ニューロン培養物に何ら効果を示さない)に分けられる。先行技術の化合物のほとんどは、他の非シグマ受容体に対して有意な親和性を示すという点で、選択性が低いという欠点がある。いくつかの先行技術の化合物は、血液脳関門(BBB)を通過することができないほか、酸化的代謝の基質となる可能性があり、したがって、治療プロファイルには適合しないものと思われる。

【0414】

いくつかの臨床化合物は所望の機能的表現型を有するが、所望の治療プロファイルを満たさない。所望のアンタゴニスト機能的ニューロン表現型は有するが、非選択的であるか、BBBを通過できないか、酸化基質となることが予測され、代謝的に不安定であるかのいずれかにより、治療プロファイルの基準に当てはまらない既知の先行技術の化合物が国際公開第2013/029060号の表11Cおよび11D(参照により本明細書に組み込まれる)に示されている。

【0415】

実施例 14 : *in vitro*毒性。

代表的なシグマ - 2 アンタゴニスト被験化合物は、*in vitro*で急性に投与しても慢性に投与しても、ニューロン毒性もグリア毒性も誘発しない。シグマ - 2 受容体アン

10

20

30

40

50

タゴニストは、膜輸送のAベータオリゴマー誘導性の変化を打ち消すか、減少させる。オリゴマーを加えずに投与すると、膜輸送に対する化合物の有意な作用はみられない。EC50濃度の10倍までの濃度で3日間試験しても、ニューロン数、グリア数、核の大きさ、核の形態、神経突起の長さ、細胞骨格の形態に対する毒性は全くみられない。例えば、国際公開第2013/029060号の表12(参照により本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

【0416】

被験化合物の*in vitro*毒性を多数の標準的アッセイで試験する。好ましくは、*in vitro*毒性試験を実施することにより、10 μ Mで遺伝毒性が認められない(AMES試験、小核試験、細菌細胞毒性試験); HepG2腫瘍細胞系を用いてシグマ-2受容体における親和性の100倍の親和性でHepG2毒性が認められない; 10 μ MでCYP450酵素2D6、3A4および2C19の阻害が認められない; hERG阻害が認められないことを明らかにする。被験化合物のhERG阻害(IC50、nM)に関する結果が表2に示されている。

10

【0417】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される式Iもしくは式IIによるイソインドリン化合物またはその薬学的に許容される塩は、最小限のhERG阻害を示し、IC50が300nM超、500nM超、1,000nM超、3,000nM超、5,000nM超、10,000超または20,000nM超である。特定の実施形態では、本明細書に提供される式Iもしくは式IIによるイソインドリン化合物またはその薬学的に許容される塩は、最小限のhERG阻害を示し、5,000nM超、10,000超または20,000nM超のIC50を示す。

20

【0418】

実施例15: 膜輸送アッセイを用いた化合物IIの鏡像異性体の分離および活性。

いくつかの実施形態では、類似体のうちの1つの実質的に純粋な鏡像異性体または純粋な鏡像異性体を得るため、非対称的に合成を実施する。いくつかの場合には、当該技術分野で公知の任意の技術によりラセミ混合物からキラル化合物を分割する。

【0419】

いくつかの場合には、キラルクロマトグラフィーによりキラル化合物を(+)鏡像異性体と(-)鏡像異性体に分離する。既知の技術によりラセミ混合物をキラルカラムのCHIRALPAK AD-H(シリカゲルにコートしたアミローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバマート); 4.6 \times 250mm)に加えることができる; 例えば、国際公開第2013/029060号の実施例15(参照により本明細書に組み込まれる)。カラムから溶出させた後、(+)鏡像異性体および(-)鏡像異性体それぞれの特異的回転を決定する。分割された鏡像異性体を、例えば膜輸送アッセイで、別個に試験する。

30

【0420】

実施例16: 経口的に利用可能な化合物の行動学的効果-トランスジェニックアルツハイマー病マウスモデルにおける記憶欠損の改善。

ADのTGモデルとして雄hAPP Swe/Ldnトランスジェニック(Tg)マウスを用いる。溶媒または10mg/(kg \cdot 日)もしくは30mg/(kg \cdot 日)の被験化合物で特定の期間経口治療したトランスジェニックマウスおよび溶媒で治療した非トランスジェニック同腹子を標準的恐怖条件付けパラダイムに供する。溶媒で同じ期間の間経口治療した9か月齢の溶媒治療雄hAPP Swe/Ldnトランスジェニック(Tg)マウスは、状況的恐怖条件付けで溶媒治療非トランスジェニック同腹子に比して有意な記憶欠損を示した。

40

【0421】

連合記憶について試験する場合、訓練から24時間後、反復測定による二元(遺伝子型および時間)ANOVAを用いて、トランスジェニック溶媒治療マウスと非トランスジェニック溶媒治療マウスとの間の総すくみ時間の有意差を検出する。経口的に利用可能な化合物の脳中濃度/血漿中トラフ濃度の比および脳中濃度/血漿中ピーク濃度の比を求める

50

。これに続く試験を用いて、好ましい被験化合物の最小有効量を決定することができる。

【0422】

合成例

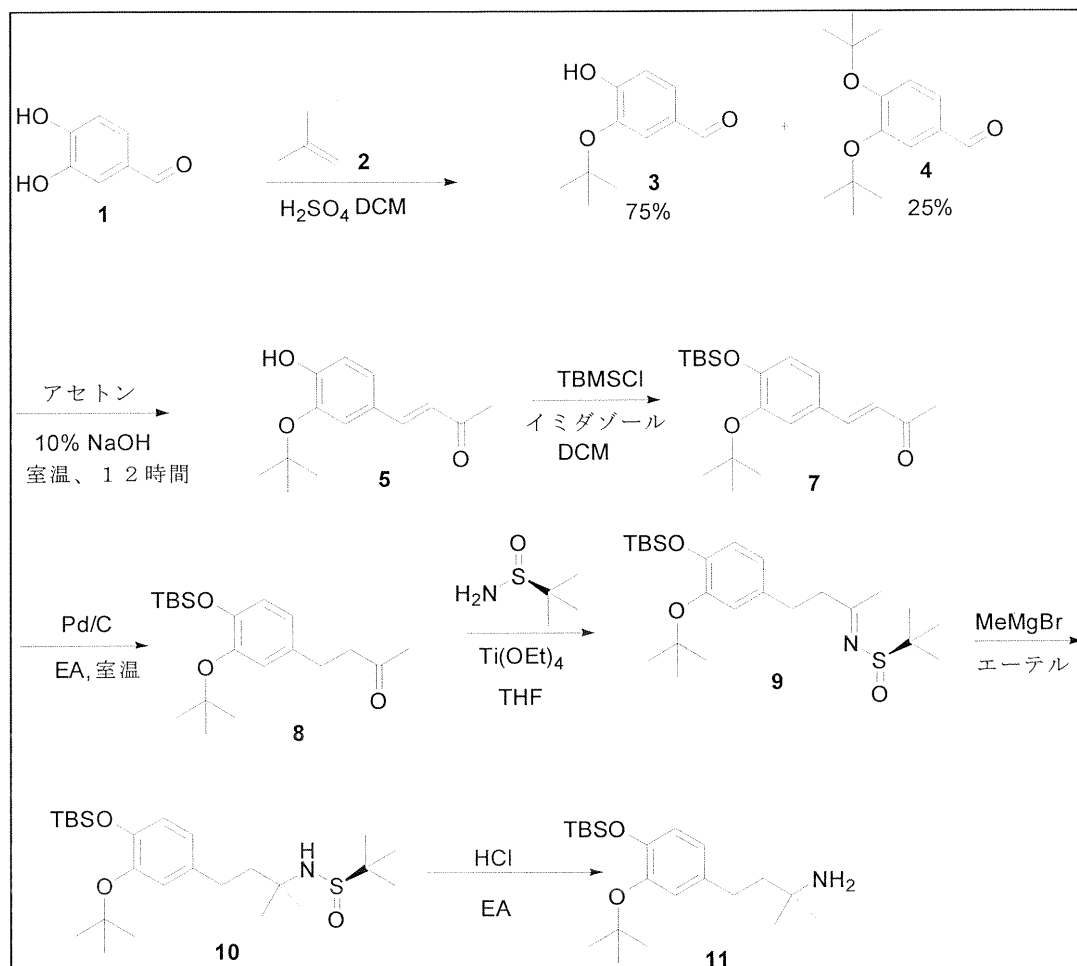
本明細書に提供される化合物は、任意の合成経路を介して合成され得るものであり、例えば、国際公開第2013/029060号および同第2013/029067号（それぞれ参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【0423】

実施例17：gem-ジメチルアミン中間体の合成。

実施例17Aでは、スキーム1に示される例示的gem-ジメチルアミン中間体の調製について説明する。

【化33】



【0424】

スキーム1．例示的gem-ジメチルアミン中間体、4-(3-(tert-ブトキシ)-4-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-アミンの調製。

【0425】

スキーム1では、gem-ジメチルアミン中間体である化合物11；4-(3-(tert-ブトキシ)-4-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-アミンの調製手順について説明する。

【0426】

化合物3；3-(tert-ブトキシ)-4-ヒドロキシベンズアルデヒドの調製（スキーム1）：攪拌している3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド1（2.0g、14.5mmol）のDCM（30mL）溶液に濃H₂SO₄（0.1mL）を加え、イソブチレンを3時間吹き込んだ。トリエチルアミン（2mL）を加え、混合物を室温で1時間攪

10

20

30

40

50

拌し、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA = 5：1）により精製して、化合物3（1.01g、35%）を得た。

【0427】

化合物5、（E）-4-（3-（tert-ブトキシ）-4-ヒドロキシフェニル）ブタ-3-エン-2-オンの調製（スキーム1）：攪拌している3（0.8g、4.1mmol）のアセトン（10mL）溶液に10%NaOH水溶液（0.5mL）を加えた。混合物を室温で12時間攪拌し、氷水に注加し、これを酢酸エチル（3×20mL）で抽出した。水相を1N HClでpH6になるまで酸性化した。反応物をEtOAc（3×30mL）で抽出し、有機層をブラインおよび水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA = 3：1）により精製して、表題化合物5（0.5g、50%）を得た。

10

【0428】

化合物7、（E）-4-（3-（tert-ブトキシ）-4-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）フェニル）ブタ-3-エン-2-オンの調製（スキーム1）：攪拌している5（0.22g、0.9mmol）のDCM（40mL）溶液にTBSCl（0.28g、1.8mmol）およびイミダゾール（0.14g、2mmol）を加えた。混合物を室温で8時間攪拌し、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA = 10：1）により精製して、表題化合物7（0.22g、67%）を得た。

20

【0429】

化合物8、4-（3-（tert-ブトキシ）-4-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）フェニル）ブタン-2-オンの調製（スキーム1）：攪拌している7（0.22g、0.6mmol）のEA（10mL）溶液に10%Pd/C（0.02g）を加えた。混合物を室温で12時間攪拌し、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA = 10：1）により精製して、表題化合物8（0.6g、0.4mmol、68%）を得た。

【0430】

化合物9、（R,E）-N-（4-（3-（tert-ブトキシ）-4-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）フェニル）ブタン-2-イリデン）-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミドの調製（スキーム1）：攪拌している8（2.6g、7.4mmol、1当量）のTHF（30mL）溶液に（R）-（+）-t-ブチルスルフィンアミド（1.0g、8.14mmol、1.1当量）およびTi（OEt）₄（3.2g、14.8mmol、2.0当量）を加えた。混合物を70℃で一晩攪拌した。氷水で反応を停止させ、ろ過した。ろ液を酢酸エチルで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮して粗生成物9（2.7g、80%）を得、これを次の段階に直接用いた。

30

【0431】

化合物10、（R）-N-（4-（3-（tert-ブトキシ）-4-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）フェニル）-2-メチルブタン-2-イル）-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミドの調製（スキーム1）：0℃で攪拌している9（2.7g、5.9mmol、1当量）のエーテル（30mL）溶液にメチルマグネシウムブロミド（10mL、30mmol、5当量）を加えた。混合物を室温で4時間攪拌した。氷水で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA = 10：1）により精製して、化合物10（1.6g、57%）を得た。

40

【0432】

化合物11；4-（3-（tert-ブトキシ）-4-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）フェニル）-2-メチルブタン-2-アミンの調製（スキーム1）：攪拌している10（1.2g、2.55mmol、1当量）のEA（30mL）溶液にEA（HCl）（10mL）を0℃で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮し

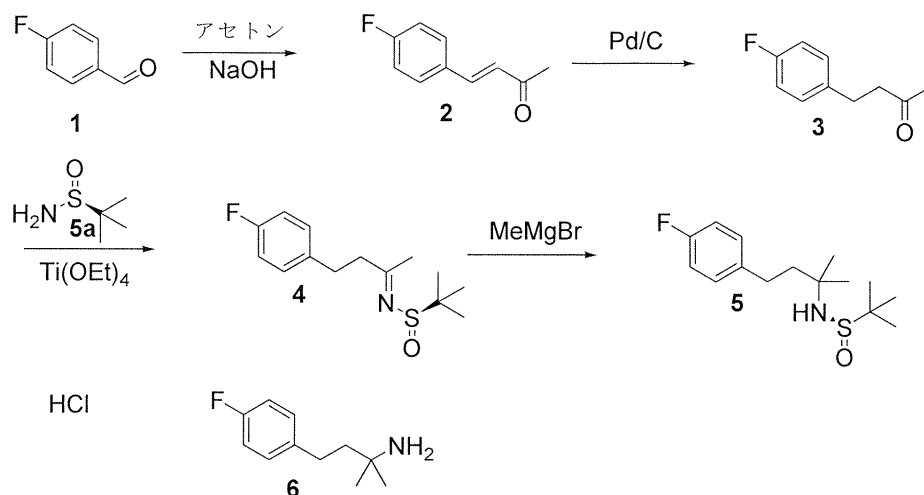
50

て、11 (1.3 g、100%) を黄色の油として得た。これに類似した合成経路を用いて、式 I および / または I I のイソインドリンの合成に使用する gem - ジメチルアミン中間体を調製することができる。t - ブチルジメチルシリルオキシ置換基および / または tert - ブトキシ置換基を別の置換基に置き換えてもよく、また、ほかの R 1 基を用いて他の類似体を作製してもよい。

【0433】

実施例 17 B では、スキーム 3 に示される gem - ジメチルアミン中間体の一般的な調整について説明する。

【化 3 4】



10

20

【0434】

スキーム 3 : gem - ジメチルアミンの一般的な調製

【0435】

化合物 2 ; (E) - 4 - (4 - フルオロフェニル) ブタ - 3 - エン - 2 - オンの調製 (スキーム 3) : 攪拌している 1 , 4 - フルオロベンズアルデヒド (100 g、805.7 mmol、1 当量) のアセトン (1000 mL) 溶液に 10 % NaOH 水溶液 (100 mL) を加えた。混合物を室温で 12 時間攪拌した後、氷水に注加し、これを EtOAc (3 x 300 mL) で抽出した。有機層をブライン、水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー (PE : EA = 10 : 1) により精製して、表題化合物 2 ; (E) - 4 - (4 - フルオロフェニル) ブタ - 3 - エン - 2 - オン (110 g、85 %) を得た。

30

【0436】

化合物 3 ; 4 - (4 - フルオロフェニル) ブタン - 2 - オンの調製 (スキーム 3) : 攪拌している 2 (50 g、304.5 mmol) の MeOH (40 mL) 溶液に Pd/C (10 %、5 g) を加えた。混合物を室温で 4 時間攪拌した後、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮して化合物 3 ; 4 - (4 - フルオロフェニル) ブタン - 2 - オン (50 g、300.9 mmol、99 %) を得、これを次の段階に直接用いた。

40

【0437】

化合物 4 ; (R , E) - N - (4 - (4 - フルオロフェニル) ブタン - 2 - イリデン) - 2 - メチルプロパン - 2 - スルフィンアミドの調製 (スキーム 3) : 攪拌している 3 (50 g、300.9 mmol、1 当量) の THF (30 mL) 溶液に (R) - (+) - t - ブチルスルフィンアミド (40.4 g、331 mmol、1.1 当量) および Ti(OEt)₄ (136.8 g、600.2 mmol、2 当量) を加えた。混合物を 70 °C で一晩攪拌し、氷水により反応を停止させ、ろ過し、EA で洗浄した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮して粗生成物 4 (65 g、80 %) を得、これを次の段階に直接用いた。

【0438】

50

化合物 5 ; (R) - N - (4 - (4 - フルオロフェニル) - 2 - メチルブタン - 2 - イル) - 2 - メチルプロパン - 2 - スルフィンアミドの調製 (スキーム 3) : 攪拌している 4 (30 g、111.4 mmol、1.0 当量) のエーテル (30 mL) 溶液に MeMgBr (111 mL、333 mmol、3.0 当量) を 0 で加えた。混合物を室温で 4 時間攪拌した。氷水により反応を停止させ、EA で抽出した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー (PE : EA = 10 : 1) により精製して、表題化合物 5 (28.6 g、90%) を得た。

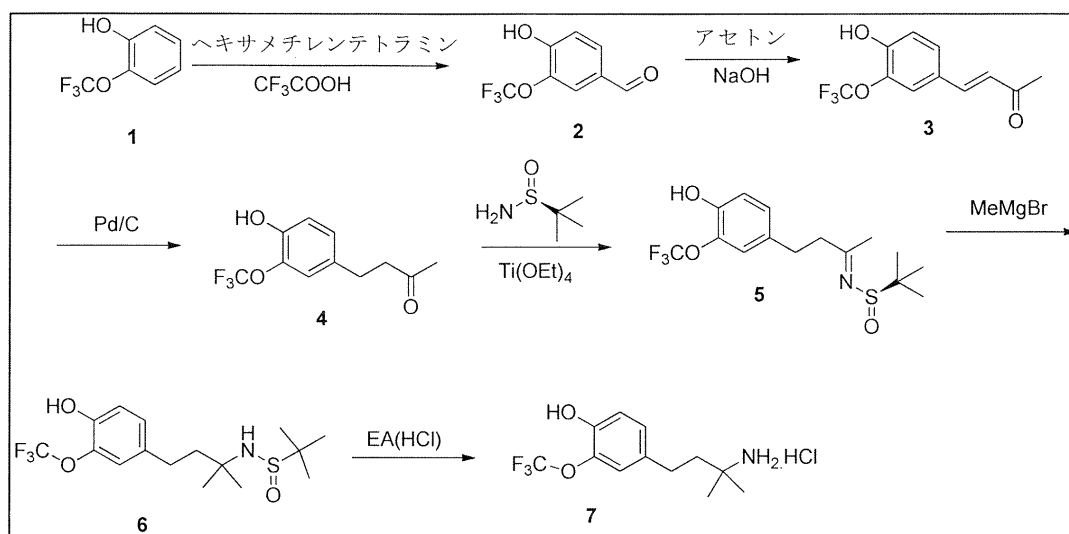
【 0 4 3 9 】

化合物 6 ; 4 - (4 - フルオロフェニル) - 2 - メチルブタン - 2 - アミンの調製 (スキーム 3) : 攪拌している 5 (28.6 g、100 mmol、1 当量) の EA (150 mL) 溶液に EA (HCl) (200 mL) を 0 で加えた。混合物を室温で 2 時間攪拌し、減圧下で濃縮して、6 (18 g、100%) を黄色の油として得た。

【 0 4 4 0 】

実施例 17C では、スキーム 7 に示される gem - ジメチルアミン中間体、4 - (3 - アミノ - 3 - メチルブチル) - 2 - (トリフルオロメトキシ) フェノール塩酸塩の一般的な調製について説明する。

【 化 3 5 】



【 0 4 4 1 】

スキーム 7 : gem - ジメチルアミン中間体、4 - (3 - アミノ - 3 - メチルブチル) - 2 - (トリフルオロメトキシ) フェノール塩酸塩の調製。

【 0 4 4 2 】

化合物 2 の調製 (スキーム 7) : 攪拌している 2 - トリフルオロメトキシフェノール 1 (40.0 g、0.224 mol、1 当量) のトリフルオロ酢酸 (400 mL) 溶液にヘキサメチレンテトラミン (188.7 g、1.35 mol、6 当量) を加えた。混合物を 70 で 12 時間攪拌した。真空により濃縮した後、反応混合物を 2 N HCl に溶かし、EA (3 x 400 mL) で抽出した。合わせた有機層をラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をカラムクロマトグラフィー (PE : EA = 5 : 1) にかけて表題化合物 2 (30.0 g、65%) を得た。

【 0 4 4 3 】

化合物 3 の調製 (スキーム 7) : 攪拌している 4 - ヒドロキシ - 3 - トリフルオロメトキシ - ベンズアルデヒド (30.0 g、145.5 mmol、1.0 当量) のアセトン (300 mL) 溶液に 10% NaOH 水溶液 (150 mL) を加えた。混合物を室温で 12 時間攪拌し、氷水に注加した。反応物を EtOAc (3 x 20 mL) で抽出した。水相を 1 N HCl で pH 6 になるまで酸性化した。反応物を EtOAc (3 x 100 mL) で

抽出した。有機層をブラインおよび水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA＝3：1）により精製して、表題化合物3（30.1g、84%）を得た。
【0444】

化合物4の調製（スキーム7）：4-（4-ヒドロキシ-3-トリフルオロメトキシ-フェニル）-ブタ-3-エン-2-オン（12g、47.5mmol）のメタノール（100mL）溶液に10%Pd/C（1g）を加えた。得られた溶液をH₂雰囲気下で8時間攪拌した。溶液をセライトのパッドでろ過し、濃縮して粗4-（4-ヒドロキシ-3-トリフルオロメトキシ-フェニル）-ブタン-2-オン（11g、94%）を得た。

【0445】

化合物5の調製（スキーム7）：4-（4-ヒドロキシ-3-トリフルオロメトキシ-フェニル）-ブタン-2-オン（11g、44.3mmol）のTHF（100mL）溶液に（R）-（+）-t-ブチルスルフィニアミド（7.0g、58mmol）およびTi（OEt）₄（22.0g、96.7mmol）を加えた。得られた溶液を一晩攪拌した。氷水で反応を停止させ、ろ過した。ろ液を酢酸エチルで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮して粗生成物5（11.2g、78%）を得、これを次の段階に用いた。

【0446】

化合物6の調製（スキーム7）：攪拌している5（23g、49.4mmol、1当量）のエーテル（120mL）溶液にMeMgBr（82mL、247mmol、5当量）を0で加えた。混合物を室温で4時間攪拌した。氷水で反応を停止させ、EAで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA＝10：1）により精製して、表題化合物6（16.7g、70%）を得た。

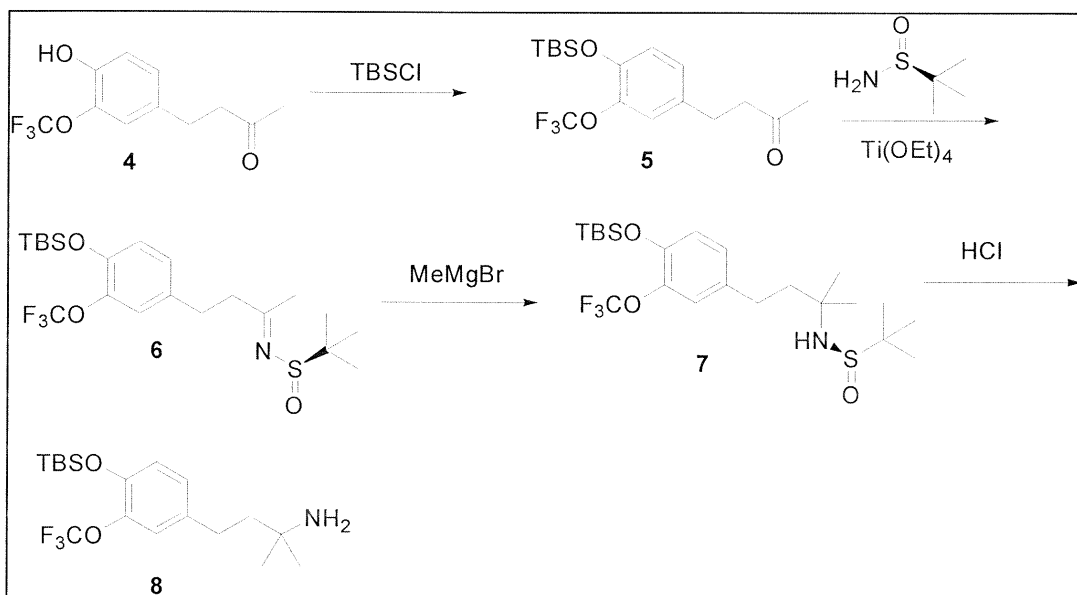
【0447】

化合物7の調製（スキーム7）：攪拌している6（1.0g、2.08mmol、1当量）の酢酸エチル（5mL）にHClの酢酸塩（5mL）飽和溶液を0で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、化合物7（0.85g、100%）を黄色の油として得た。

【0448】

実施例17Dでは、スキーム8に示されるgem-ジメチルアミン中間体、4-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）-3-（トリフルオロメトキシ）フェニル）-2-メチルブタン-2-アミンの一般的な調製について説明する。

【化36】



10

20

30

40

50

【0449】

スキーム8：gem-ジメチルアミン、4-(4-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-アミンの調製。

【0450】

化合物5の調製(スキーム8)：攪拌している4(18g、72.5mmol、1当量)のDCM(200mL)溶液にTBSCl(16.4g、108.8mmol、1.5当量)およびイミダゾール(9.9g、145mmol、2.0当量)を加えた。混合物を室温で8時間攪拌し、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=10:1)により精製して、表題化合物5(19g、73%)を得た。

10

【0451】

化合物6の調製(スキーム8)：攪拌している5(1.2g、3.3mmol、1当量)のTHF(20mL)溶液に(R)-(+)-t-ブチルスルフィンアミド(0.4g、3.6mmol、1.1当量)およびTi(OEt)₄(1.5g、6.6mmol、2当量)を加えた。混合物を70℃で一晩攪拌した。氷水で反応を停止させ、ろ過し、酢酸エチルで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮して粗生成物6(1.6g、97%)を得、これを次の段階に直接用いた。

【0452】

化合物7の調製(スキーム8)：0℃で攪拌している6(1.6g、3.4mmol、1.0当量)のエーテル(30mL)溶液にMeMgBr(5mL、17mmol、5.0当量)を加えた。混合物を室温で4時間攪拌した。氷水で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=10:1)により精製して、表題化合物7(0.6g、1.2mmol、37%)を得た。

20

【0453】

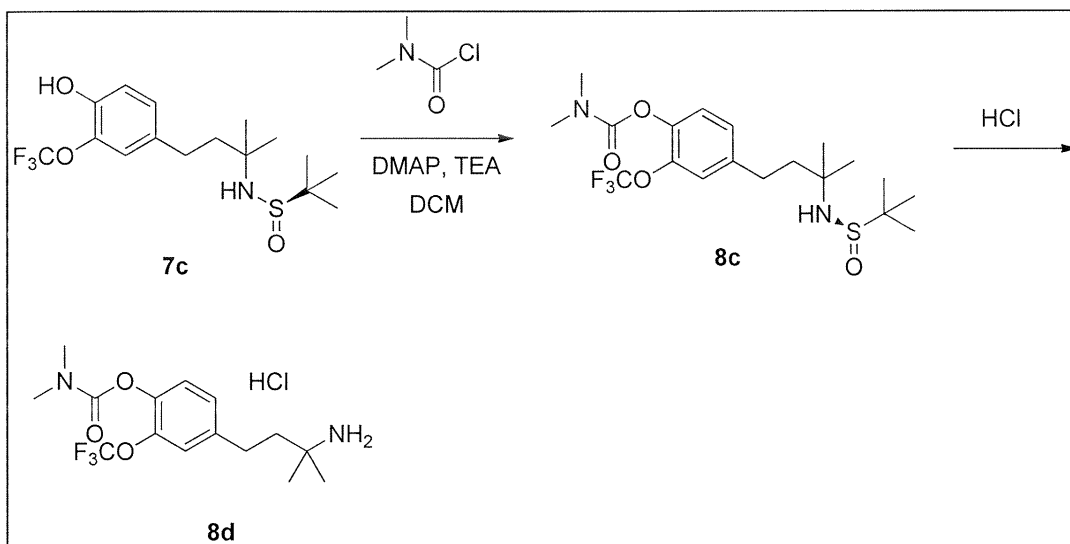
化合物8の調製(スキーム8)：攪拌している7(3.0g、6.2mmol、1当量)の酢酸エチル(30mL)にHClの酢酸塩(10mL)飽和溶液を0℃で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、化合物8 4-(4-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-アミン(2.6g、100%)を黄色の油として得た。

30

【0454】

実施例17Eでは、スキーム11に示されるgem-ジメチルアミン中間体、4-(3-アミノ-3-メチルブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェニルジメチルカルバマート塩酸塩の一般的な調製について説明する。

【化37】



10

【0455】

スキーム11: gem-ジメチルアミン、4-(3-アミノ-3-メチルブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェニルジメチルカルバマート塩酸塩の調製。

【0456】

化合物8cの調製(スキーム11): 7c(5.0g、13.6mmol、1.0当量)およびジメチルカルバミルクロリド(3.0g、27.8mmol、2.2当量)のDCM(100mL)溶液にDMAP(0.25g、5mol%)、TEA(2.9g、22.6mmol、2.0当量)を加えた。混合物を室温で12時間攪拌した。真空により濃縮した後、粗生成物をカラムクロマトグラフィー(20%~30%EtOAc/ヘキサン)にかけて、生成物8c(4.8g、48%)を得た。

20

【0457】

化合物8d; 4-(3-アミノ-3-メチルブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェニルジメチルカルバマート塩酸塩の調製(スキーム11): 0で攪拌している8c(4.8g、11.0mmol、1当量)のEA(30mL)溶液にEA(HCl)(30mL)を加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、8d(4.1g、100%)を黄色の油として得た。

30

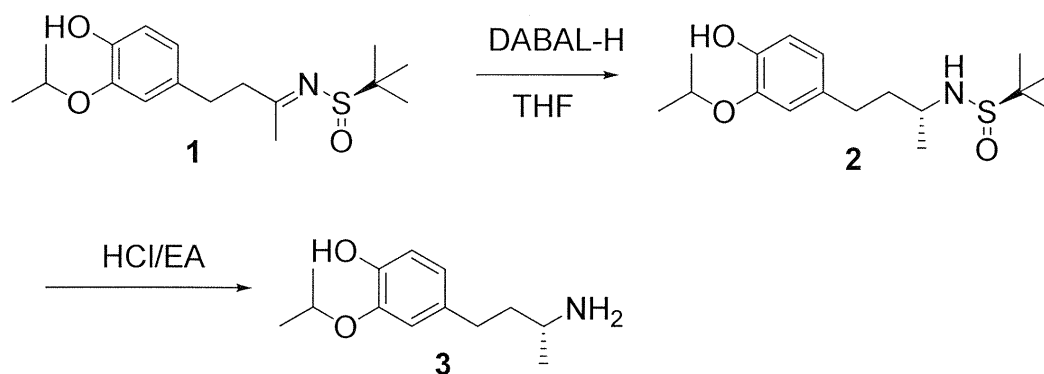
【0458】

実施例18: キラルアミン中間体の一般的な調製。

【0459】

実施例18Aでは、スキーム2に示されるキラルアミン中間体、(R)-4-(3-アミノブチル)-2-イソプロポキシフェノールの調製の1つの例について説明する。

【化38】



40

【0460】

スキーム2: キラルアミン中間体、(R)-4-(3-アミノブチル)-2-イソプロポ

50

キシフェノールの一般的な調製。

【0461】

化合物2；(R)-N-(R)-4-(4-ヒドロキシ-3-イソプロポキシフェニル)ブタン-2-イル)-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミドの調製(スキーム2)：攪拌している1；(R,E)-N-(4-(4-ヒドロキシ-3-イソプロポキシフェニル)ブタン-2-イリデン)-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミド(20g、61.4mmol、1当量)のTHF(200mL)溶液にDABAL-H(180mL、180mmol、3当量)を-78で加えた。混合物を-78で4時間攪拌した後、氷水(20mL)で反応を停止させ、ろ過し、ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=5:1)により精製して、表題化合物2(17.1g、52.2mmol、85%)を得た。

10

【0462】

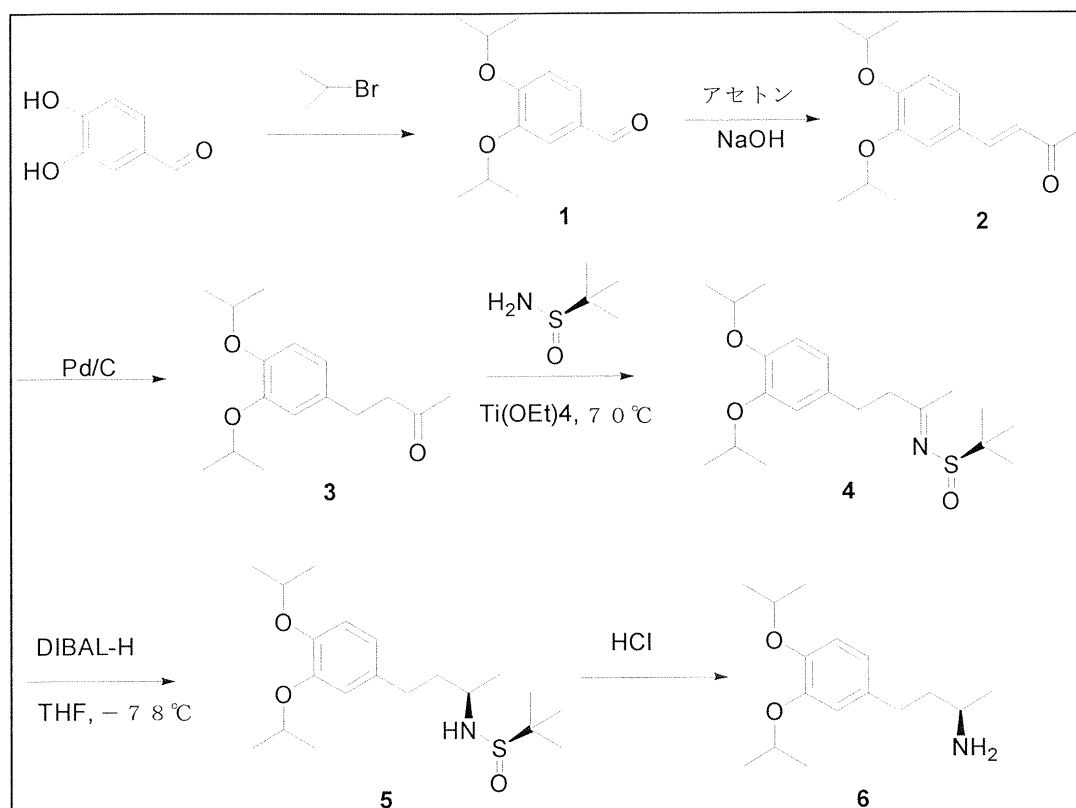
化合物3；(R)-4-(3-アミノブチル)-2-イソプロポキシフェノールの調製(スキーム2)：攪拌している2(17.1g、52.2mmol、1当量)のEA(50mL)溶液にEA(HCl)(50mL、100mmol、2当量、2N)を0で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、化合物3(11.6g、100%)を黄色の油として得た。

【0463】

実施例18Bでは、スキーム4に示される出発物質3、4-ベンズアルデヒドからのキラルアミン中間体、(R)-4-(3,4-ジイソプロポキシフェニル)ブタン-2-アミンの調製について説明する。

20

【化39】



30

40

【0464】

スキーム4：キラルアミン、(R)-4-(3,4-ジイソプロポキシフェニル)ブタン-2-アミンの一般的な調製。

【0465】

化合物1の調製(スキーム4)：3,4-ジヒドロキシ-ベンズアルデヒド1a(30.0g、65.7mmol、1当量)と2-ブロモプロパン(18.4g、131.4m

50

mol、2当量)とNaH(5.4g、油中60%、130mmol)のDMF(300mL)混合物を70で12時間攪拌した。真空により濃縮した後、混合物を2N HClで希釈し、酢酸エチル(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をカラムクロマトグラフィー(20%~30% EtOAc/ヘキサン)にかけて、生成物1; 3,4-ジイソプロポキシベンズアルデヒド(10.1g、30%)を得た。

【0466】

化合物2の調製(スキーム4): 化合物1(20g、90mmol)をアセトン(80mL)に溶かした。次いで、容器にエタノール(8mL)、10% NaOH(80mL)および水(200mL)を加えた。得られた溶液を8時間攪拌し、EA(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにかけて、化合物2; (E)-4-(3,4-ジイソプロポキシフェニル)ブタ-3-エン-2-オン(12g、98%)を得た。

10

【0467】

化合物3の調製(スキーム4): 攪拌している化合物2(30.0g、114mmol、1当量)のMeOH(300mL)溶液に10% Pd/C(3g)を加えた。混合物を室温で12時間攪拌し、セライトのパッドでろ過した。ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=5:1)により精製して、表題化合物3; 4-(3,4-ジイソプロポキシフェニル)ブタン-2-オン(11.4g、38%)を得た。

20

【0468】

化合物4の調製(スキーム4): 攪拌している化合物3(11.4g、43.1mmol、1.0当量)のTHF(100mL)溶液に(R)-(+)-t-ブチルスルフィンアミド(5.7g、47.4mmol、1.1当量)およびTi(OEt)₄(19.7g、86.2mmol、2.0当量)を加えた。混合物を70で一晩攪拌した。氷水で反応を停止させ、ろ過し、酢酸エチルで抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮して粗生成物4(15g、95%)を得、これを次の段階に直接用いた。

【0469】

化合物5の調製(スキーム4): -78で攪拌している4(6.3g、17.1mmol、1当量)のTHF(50mL)にDABAL-H(34mL、34mmol、2.0当量)を加えた。混合物を-78で4時間攪拌し、氷水(20mL)で反応を停止させ、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮して残渣を得、これをシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=5:1)により精製して、表題化合物5; (R)-N-((R)-4-(3,4-ジイソプロポキシフェニル)ブタン-2-イル)-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミド(2.5g、40%)を得た。

30

【0470】

化合物6の調製(スキーム4): 攪拌している5(2.5g、6.8mmol、1.0当量)のEA(30mL)溶液にHClの酢酸エチル(10mL)飽和溶液を0で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、化合物6; (R)-4-(3,4-ジイソプロポキシフェニル)ブタン-2-アミン(2.1g、100%)を黄色の油として得た。

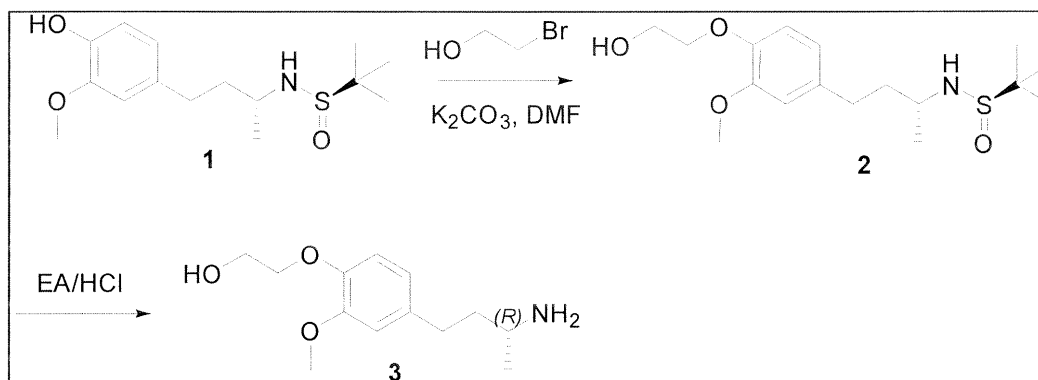
40

【0471】

実施例18Cでは、スキーム5に示されるキラルアミン中間体、(R)-2-(4-(3-アミノブチル)-2-メトキシフェノキシ)エタン-1-オールの調製について説明する。

キラルアミンの一般的な調製

【化40】



10

【0472】

スキーム5：キラルアミン中間体、(R)-2-(4-(3-アミノブチル)-2-メトキシフェノキシ)エタン-1-オールの調製。

【0473】

化合物2；(R)-N-(2-(4-(4-(2-ヒドロキシエトキシ)-3-メトキシフェニル)ブタン-2-イル)-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミドの調製（スキーム5）：攪拌している化合物1；(R)-N-(2-(4-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)ブタン-2-イル)-2-メチルプロパン-2-スルフィンアミド（4.3g、14.4mmol、1.0当量）のDMF（50mL）溶液に K_2CO_3 （4.0g、28.8mmol、2.0当量）および2-プロモエタノール（1.5g、13.6mmol、1.2当量）を加えた。混合物を80℃で8時間攪拌し、氷水（1000mL）で反応を停止させ、EA（3×50mL）で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー（PE：EA=5：1）により精製して、表題化合物2（3.1g、63%）を得た。

20

【0474】

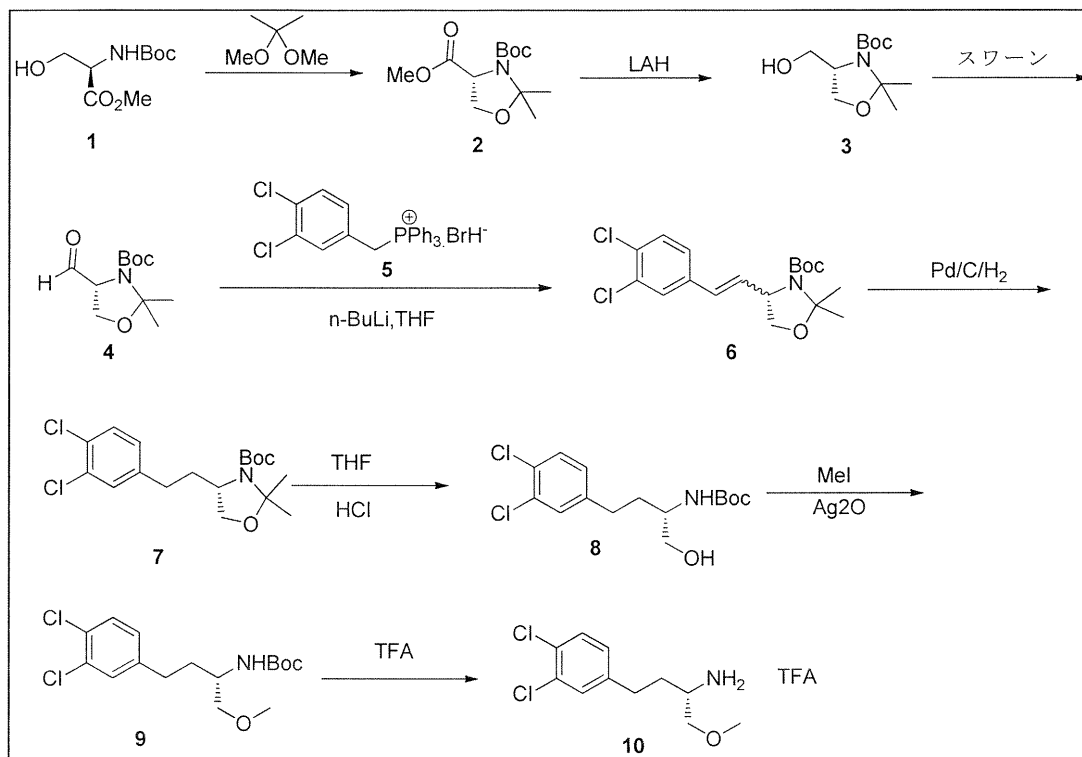
化合物3；(R)-2-(4-(3-アミノブチル)-2-メトキシフェノキシ)エタン-1-オールの調製（スキーム5）：攪拌している2（3.1g、9.0mmol、1.0当量）のEA（30mL）溶液にHCl-EA（10mL）を0℃で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、3（2.1g、100%）を黄色の油として得た。

30

【0475】

実施例18Dでは、スキーム6に示されるキラルアミン中間体、(S)-4-(3,4-ジクロロフェニル)-1-メトシブタン-2-アミンの調製について説明する。

【化41】



10

20

【0476】

スキーム6：キラルアミン中間体、(S)-4-(3,4-ジクロロフェニル)-1-メトキシブタン-2-アミンの調製。

【0477】

化合物2；3-(tert-ブチル)4-メチル(R)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3,4-ジカルボキシラートの調製(スキーム6)：室温の化合物1；メチルN-(tert-ブトキシカルボニル)-D-セリン(13g、59.2mmol)のDCM(150mL)溶液にトルエン-4-スルホン酸一水和物(2.0g、10.3mmol)および2,2-ジメトキシプロパン(18.5g、177.6mmol)を加えた。混合物を室温で48時間攪拌し、濃縮して残渣を得、これをフラッシュカラムクロマトグラフィー(PE：EA=4：1)により精製して、化合物2(13g、84%)を黄色の油として得た。

30

【0478】

化合物3の調製(スキーム6)： LiAlH_4 (2.85g、75mmol)のTHF(200mL)混合物を0、 N_2 下で20分間攪拌した。0の混合物に化合物2(13.0g、50.1mmol)を滴加した。混合物を30分間攪拌し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ で反応を停止させ、ろ過した。ろ液を濃縮して残渣を得、これをFCC(PE：EA=4：1)により精製して、化合物3(10.3g、89%)を黄色の油として得た。

40

【0479】

化合物4の調製(スキーム6)：予め-78に冷却した塩化オキサリル(7.6g、60.1mmol)の塩化メチレン(200mL)溶液にDMSO(9.3g、120.21mmol)の塩化メチレン(20mL)溶液を加えた。混合物を30分間攪拌した。-78の混合物に化合物3(10.3g、44.5mmol)の塩化メチレン(30mL)溶液を加えた。反応混合物を-78で2時間攪拌し、この時点でトリエチルアミン(18.0g、178.13)を加えた。得られた溶液を0に温め、ブライン(30mL)で反応を停止させ、ジエチルエーテル(2×300mL)で抽出した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、ろ過し、濃縮して、化合物4(9.0g、85%)を油として得た。

50

【0480】

化合物6の調製(スキーム6)：-78、N₂下の化合物5(285mg、0.56mmol)のTHF(15mL)溶液にn-BuLi(0.3mL、2.5M)を加えた。10分後、沈殿が消失するまで反応混合物を-40に温めた。反応混合物を-78に冷却し、化合物4(130mg、0.56mmol)のTHF(5mL)溶液を-78で滴加した。得られた溶液を室温に温め、一晚攪拌した後、メタノール(2mL)で反応を停止させた。30分間攪拌した後、混合物を濃縮して残渣を得、これをフラッシュカラムクロマトグラフィー(PE:EA=4:1)により精製して、化合物6(200mg、90%)を黄色の油として得た。

10

【0481】

化合物7の調製(スキーム6)：化合物6(2.6g、6.98mmol)のメタノール(50mL)溶液にPd/C(2.0g)をH₂バルーン下、室温で加えた。混合物を12時間攪拌し、ろ過し、濃縮して残渣を得、これをFCC(PE)により精製して、化合物7(2.0g、77%)を黄色の油として得た。

【0482】

化合物8の調製(スキーム6)：化合物7(500mg、1.34mmol)のTHF(20mL)溶液に0.5M HCl(1mL)を室温で加えた。反応物を12時間攪拌し、Mg₂SO₄で乾燥させ、ろ過した。ろ液を濃縮して残渣を得、これをFCC(PE)により精製して、7(400mg、90%)を黄色の油として得た。

20

【0483】

化合物9の調製(スキーム6)：化合物8(140mg、0.42mmol)のアセトニトリル(10mL)溶液にAg₂O(200mg、0.87mmol)、次いでヨウ化メチル(0.15mL、2.4mmol)を加えた。混合物を24時間攪拌し、セライトのパッドでろ過した。ろ液を濃縮して残渣を得、これを分取HPLCにより精製して、化合物9(70mg、48%)を黄色の油として得た。

【0484】

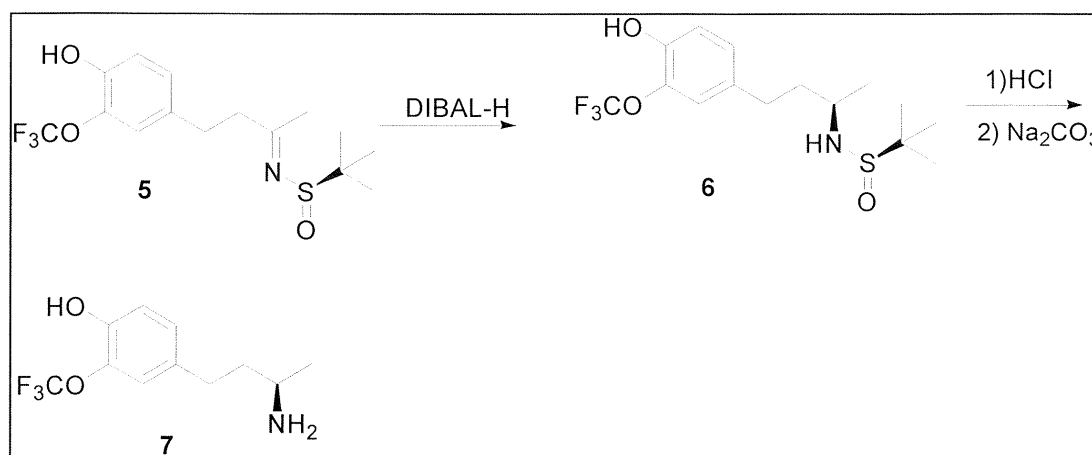
化合物10の調製(スキーム6)：化合物9(70mg、0.20mmol)のDCM(2mL)溶液にTFA(1mL)を加えた。混合物を24時間攪拌し、濃縮して、化合物10；(S)-4-(3,4-ジクロロフェニル)-1-メトキシブタン-2-アミン(50mg、100%)を油として得た。

30

【0485】

実施例18Eでは、スキーム9に示されるキラルアミン中間体、(R)-4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェノールの調製について説明する。

【化42】



40

【0486】

スキーム9：キラルアミン、(R)-4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロ

50

メトキシ)フェノールの調製。

【0487】

化合物6の調製(スキーム9): 化合物5(11g、31.3mmol)をTHF(100mL)に溶かし、-78に冷却した。次いで、容器にDIBAL-H(60mL、THF中1.5M、90mmol)を加え、得られた溶液を3時間攪拌した。反応混合物をTLCにより分析したところ、出発イミンが完全に消費されてスルフィンアミド化合物5が生じたことが示された。次いで、水で溶液の反応を停止させ、EA(3×500mL)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をカラムクロマトグラフィー(50%~75% EtOAc/ヘキサン)にかけて、生成物6(6g、55%)を得た。

10

【0488】

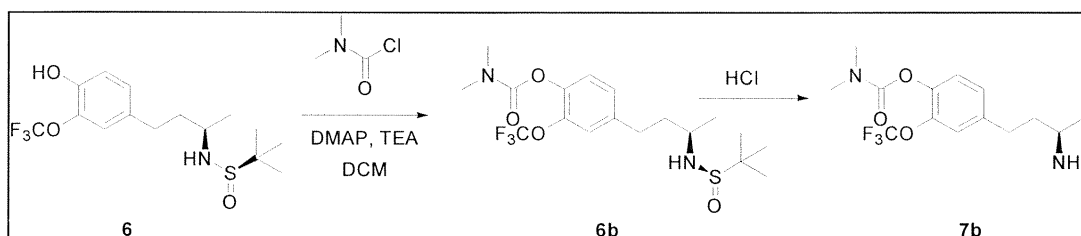
化合物7; (R)-4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェノール(スキーム9)の調製: 化合物6(7g、15mmol)をEA(20mL)に溶かした。次いで、容器にEA-HCl(20mL、1.5M、30mmol)を加え、得られた溶液を室温で2時間攪拌した。溶液をH₂O(50mLで3回)抽出した。合わせた水層を飽和Na₂CO₃でpH10に調整し、EA(50mLで3回)洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮して生成物7(5g、95%)を得た。

【0489】

実施例18Fでは、スキーム10に示されるキラルアミン中間体、(R)-4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェニルジメチルカルバマートの調製について説明する。

20

【化43】



30

【0490】

スキーム10: キラルアミン、(R)-4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェニルジメチルカルバマートの調製。

化合物6bの調製(スキーム10): 攪拌している6(4g、11.3mmol、1.0当量)のDCM(50mL)溶液にDMAP(0.2g、5mol%)、TEA(2.3g、22.6mmol、2.0当量)およびジメチルカルバミルクロリド5(1.5g、13.6mmol、1.2当量)を加えた。混合物を40で4時間攪拌し、氷水(20mL)で反応を停止させた。混合物をDCM(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=5:1)により精製して、表題化合物6b(2.8g、58%)を得た。

40

【0491】

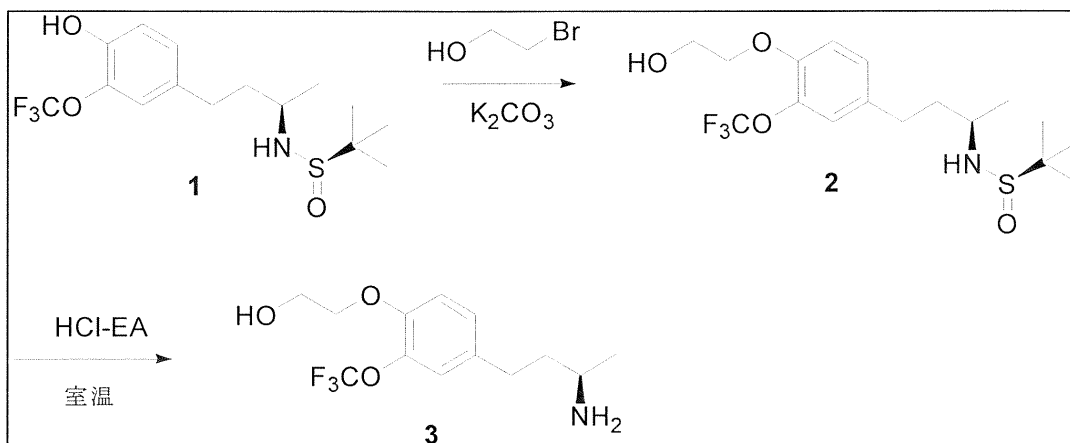
化合物7bの調製(スキーム10): 0で攪拌している6b(3g、7.1mmol、1当量)のEA(30mL)溶液にEA(HCl)(10mL)を加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、7b(1.8g、100%)を黄色の油として得た。

【0492】

実施例18Gでは、スキーム12に示されるキラルアミン中間体、(R)-2-(4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェノキシ)エタン-1-オールの調製について説明する。

50

【化44】



10

【0493】

スキーム12：キラルアミン、アミン(R)-2-(4-(3-アミノブチル)-2-(トリフルオロメトキシ)フェノキシ)エタン-1-オールの調製。

化合物2の調製(スキーム12)：攪拌している1(0.7g、2mmol、1.0当量)のDMF(10mL)溶液にK₂CO₃(0.55g、4mmol、2.0当量)および2-ブロモエタノール(0.3g、2.4mmol、1.2当量)を加えた。混合物を80℃で8時間攪拌し、氷水(30mL)で反応を停止させ、EA(20mLで3回)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。粗生成物をシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(PE:EA=5:1)により精製して、表題化合物2(0.66g、83%)を得た。

20

【0494】

化合物3の調製(スキーム12)：攪拌している2(0.9g、2.3mmol、1当量)のEA(30mL)溶液にEA(HCl)(10mL)を0℃で加えた。混合物を室温で2時間攪拌し、減圧下で濃縮して、3(0.75g、100%)を黄色の油として得た。

【0495】

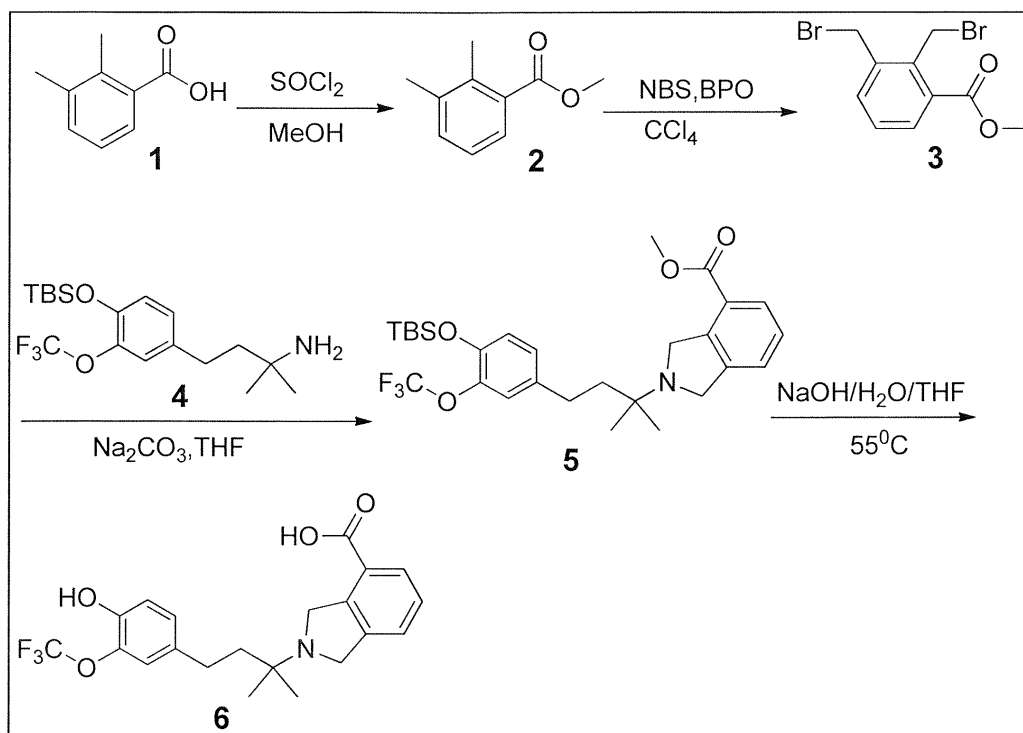
実施例19：キラルアミン中間体またはgem-ジメチルアミン中間体からのイソインドリンの一般的な調製。

30

【0496】

実施例19Aでは、スキーム13に示されるgem-ジメチルアミン中間体からのイソインドリン化合物56、2-(4-(4-ヒドロキシ-3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-イル)イソインドリン-4-カルボン酸の調製について説明する。

【化45】



10

20

【0497】

スキーム13：イソインドリン、2-(4-(4-ヒドロキシ-3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-イル)イソインドリン-4-カルボン酸の調製(例56)。

【0498】

化合物2の調製(スキーム13)：1；2，3-ジメチル安息香酸(2.0g、13.3mmol、1.0当量)のMeOH(30mL)溶液に塩化チオニル(1.5mL)を加え、3時間、還流撹拌した。混合物を濃縮し、EA(30mL)で抽出した。有機層を水(2×30mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮し、それ以上精製せずに所望生成物2を得た(2.1g、98%)。

30

【0499】

化合物3の調製(スキーム13)：2(2.1g、13.3mmol、1.0当量)のCCl₄(30mL)溶液にNBS(4.7g、26.6mmol、2.0当量)およびBPO(0.2g)を加えた。混合物を4時間、加熱還流した。反応物をDCM(30mL)で希釈し、水(2×30mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して粗生成物を得、これをカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物3；2，3-ビス(プロモメチル)安息香酸メチル(4.0g、94%)を得た。

【0500】

化合物5の調製(スキーム13)：3(0.3g、0.93mmol、1.0当量)のTHF(10mL)溶液にNa₂CO₃(0.2g、1.9mmol、2.0当量)を加えた。混合物を4時間、還流撹拌した。得られた混合物をEAで希釈し、プラインで洗浄し、濃縮し、それ以上精製せずに粗生成物5を得た(300mg、82%)。

40

【0501】

化合物6の調製(スキーム13)：5(0.3g、0.56mmol、1.0当量)のTHF(5mL)溶液に10N NaOH(5mL)を加えた。混合物を55で4時間撹拌した。得られた混合物を濃縮し、6N HClでpH5に調整した。混合物をEAで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して残渣を得、これを分取HPLCにより精製して、所望生成物の2-(4-(4-ヒドロキシ-3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)-2-メチルブタン-2-イル)イソインドリン-4-カルボン酸(化合

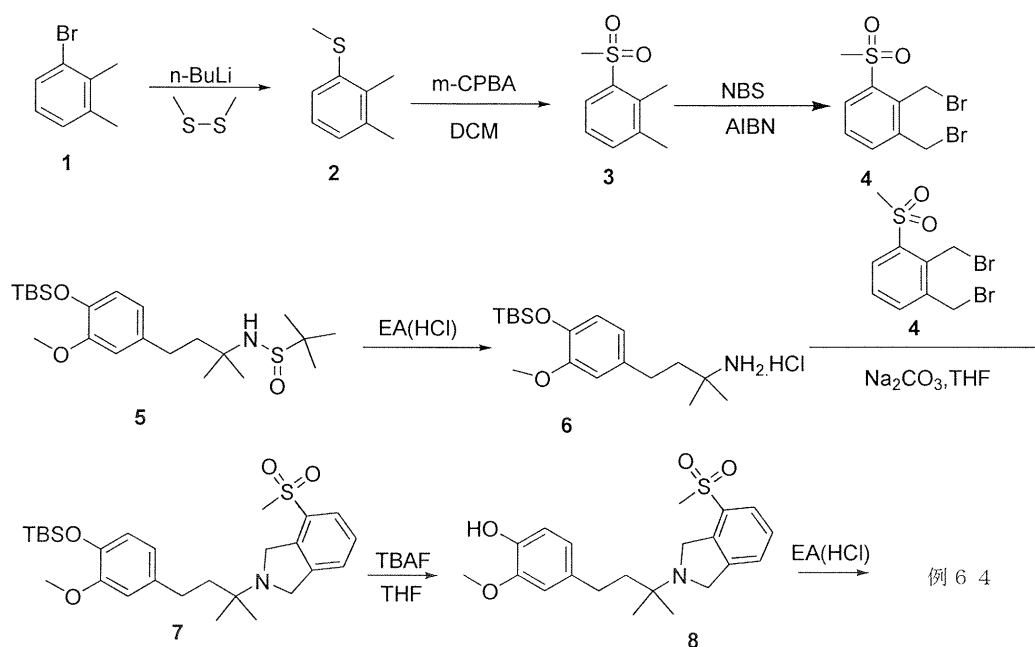
50

物例 56) を白色の固体として得た (86 mg、37%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 8.04 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.54 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.10 - 4.70 (m, 4H), 2.73 - 2.69 (m, 2H), 2.10 - 2.06 (m, 2H), 1.56 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 410.15. LC-MS: 410.1 (M+1)⁺.

【0502】

実施例 19B では、スキーム 14 に示される gem-ジメチルアミン中間体からのスルホン置換イソインドリン化合物、2-メトキシ-4-(3-メチル-3-(4-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール塩酸塩の代表的な調製について説明する。

【化 46】



【0503】

スキーム 14: スルホン置換イソインドリン、2-メトキシ-4-(3-メチル-3-(4-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール塩酸塩 (化合物例 64) の一般的な調製手順。

【0504】

化合物 2 の調製 (スキーム 14): 攪拌している 1 (12.0 g、64.8 mmol、1 当量) の THF (150 mL) 溶液に n-BuLi (30 mL、2.5 M) を -75 で加えた。混合物を -75 で 1 時間攪拌し、次いでジメチルジスルフィド (7.2 g、76.4 mmol) を滴加した。混合物を -75 で 4 時間攪拌し、飽和 NH₄Cl 溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮して粗生成物 2 (12 g、100%) を得た。1-プロモ-2,3-ジメチルベンゼンは Shanghai Ruiding Chemical 社から購入した。

【0505】

化合物 3 の調製 (スキーム 14): 攪拌している 2 (12.0 g、78.8 mmol、1 当量) の DCM (200 mL) 溶液に m-CPBA (30 g、173.8 mmol) を 0 で加えた。混合物を 10 で 2 時間攪拌し、10% Na₂SO₃ で反応を停止させた。水溶液を 10% NaOH で pH 10 に調整し、DCM で抽出し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮して粗生成物を得、これをカラムクロマトグラフィー (PE:EA = 5:1) により精製して、表題化合物 3 (9.0 g、62%) を得た。3-クロロ過安息香酸は Shanghai Demo Chemical 社から購入した。

【0506】

化合物4の調製(スキーム14): 攪拌している3(1.0 g、5.42 mmol)の CCl_4 (15 mL)溶液にNBS(2.22 g、12.4 mmol、1.2当量)およびAIBN(400 mg、2.43 mmol)を加えた。混合物を70 で6時間攪拌し、冷却し、真空下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー(PE:EA=3:1)により精製して、表題化合物4(1.4 g、75%)を得た。N-ブロモスクシンイミドはShanghai JingChun Chemical社から購入した。アゾビスイソブチロニトリルはShanghai GuoYao Chemical社から購入した。

【0507】

化合物6の調製(スキーム14): 6(4.0 g、1.2 mol)のEA(100 mL)溶液にHCl/EA(1.2 g、2 M、200 mol)を加えた。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。反応物を濃縮して粗生成物7(2.8 g、99%)を得、それ以上精製せずに次の段階に用いた。

【0508】

化合物7の調製(スキーム14): 6(280 mg、1.20 mmol)のTHF(10 mL)溶液に4(410 mg、1.2 mmol)および K_2CO_3 (330 mg、2.4 mmol)を加えた。得られた溶液を70 で12時間攪拌した。反応混合物をセライトのパッドでろ過し、EAで洗浄し、ろ液を濃縮して粗生成物7(500 mg、100%)を得、それ以上精製せずに次の段階に用いた。

【0509】

化合物8の調製(スキーム14): 7(500 mg、粗物質)のTHF(10 mL)溶液にTBAF(1.2 mL、1 M)を加えた。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。反応混合物を濃縮して残渣を得、これを分取HPLCにより精製して、8(2段階で120 mg、20%)を得た。

【0510】

化合物9; 2-メトキシ-4-(3-メチル-3-(4-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール塩酸塩の調製(化合物例64)(スキーム14): 8(120 mg、0.30 mol)のEA(10 mL)溶液にHCl/EA(1.2 g、2 M、2 mmol)を加えた。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。反応物を濃縮して生成物9(90 mg、75%)を得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): 7.97(d, $J=7.2\text{ Hz}$, 1H), 7.78-7.68(m, 2H), 6.88(s, 1H), 6.72(s, 2H), 5.09(s, 2H), 4.85(s, 2H), 3.85(s, 3H), 3.20(s, 3H), 2.73-2.70(m, 2H), 2.13-2.10(m, 2H), 1.58(s, 6H); m/z (ESI+)(M+H) $^+$ = 390.15。

【0511】

実施例19Cでは、スキーム15に示されるgem-ジメチルアミン中間体からのスルホン置換イソインドリン化合物、2-メトキシ-4-(3-メチル-3-(5-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール塩酸塩の代表的な調製について説明する。

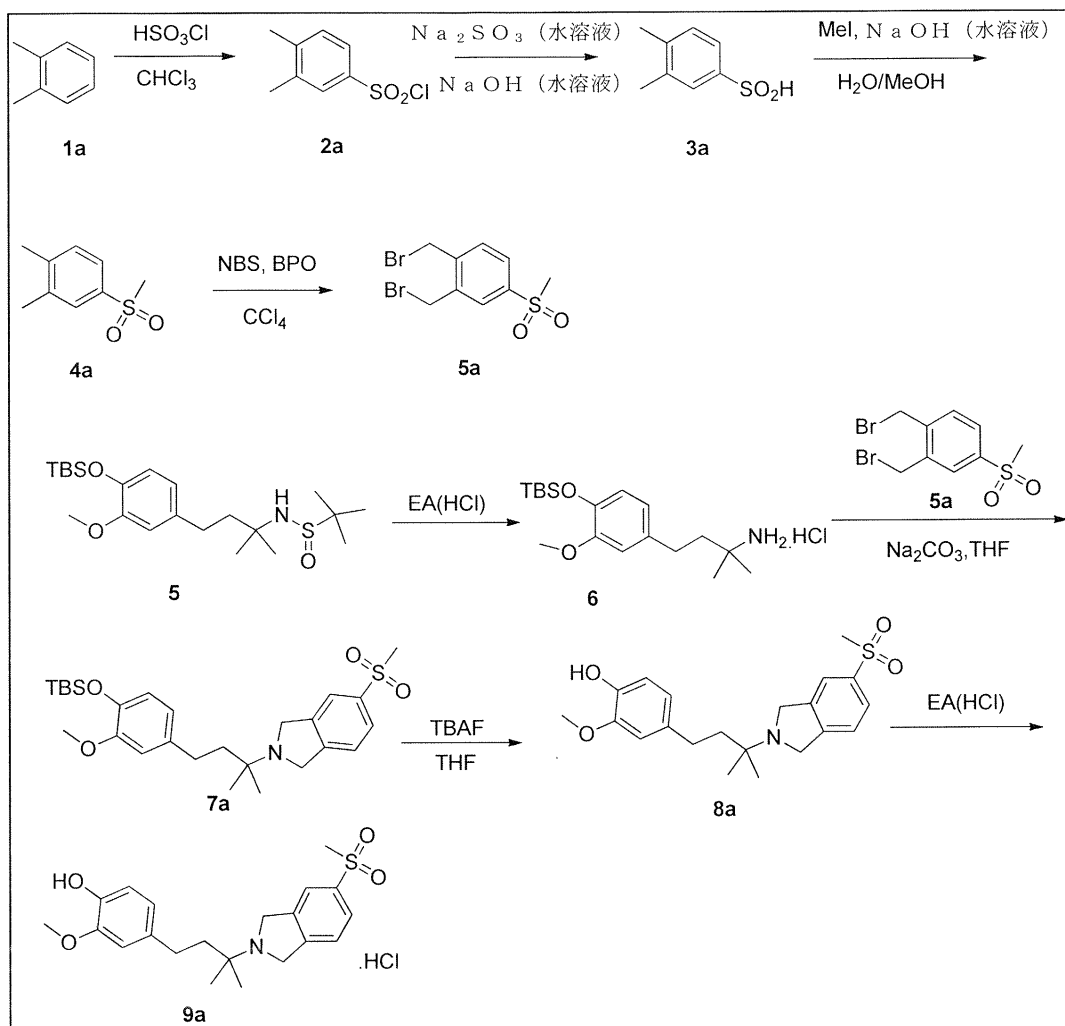
10

20

30

40

【化47】



10

20

【0512】

スキーム15：スルホン置換インドリン、2-メトキシ-4-(3-メチル-3-(5-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール塩酸塩の一般的な調製手順。

【0513】

化合物2aの調製(スキーム15)：1(50g、0.47mol、1.00当量)のCHCl₃(500mL)溶液にHSO₃Cl(75.5mL、0.95mol、2.00当量)を氷浴下で滴加した。添加完了後、混合物を室温に温め、1時間攪拌した。得られた混合物を氷水に注加し、次いで、DCM(500mL)で3回抽出した。合わせた有機層を水、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮して、白色固体の生成物2a(76.5g、79.3%)を得た。1,2-ジメチルベンゼンはShanghai GuoYao Chemical社から購入した。クロロスルホン酸はShanghai AoYue Chemical社から購入した。

30

40

【0514】

化合物3aの調製(スキーム15)：2(77g、0.38mol、1.00eq)の飽和Na₂SO₃(118g、0.94mol、2.50当量)懸濁液に32%NaOH(30g、0.75mol、2.00当量)溶液を加えた。室温で3時間攪拌した後、反応物を氷浴下、25%HCl溶液でpH=1に酸性化した。沈殿物が粗生成物3a(59.75g、93.8%)であり、これをそれ以上精製しなかった。

【0515】

化合物4aの調製(スキーム15)：密閉ガラス管でH₂O(50mL)とMeOH(

50

67.5 mL) 溶液の混合物に懸濁させた 3 (20 g、0.12 mol、1.00 eq) にヨウ化メチル (20 g、0.14 mol、1.15 当量) および 32% NaOH (47 g、1.2 mol、10.00 当量) 溶液を加えた。反応物を 90 に加熱し、一晚攪拌した。反応完了後、減圧下でメタノールを除去し、EA で抽出し、濃縮して生成物 4 a (8.33 g、38.5%) を得た。ヨウ化メチルは Shanghai AoYue Chemical 社から購入した。

【0516】

化合物 5 a の調製 (スキーム 15) : 化合物 4 (9.5 g、51.6 mmol、1.00 当量) の CCl_4 溶液に NBS (18.3 g、103 mmol、2.00 当量) および BPO (1.0 g、5.2 mmol、0.10 当量) を加えた。反応物を 6 時間、加熱還流した。反応完了後、減圧下で溶媒を除去した。得られた残渣を PE および H_2O で希釈した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮して粗生成物を得、これを FCC (PE : EA = 10 : 1 ~ 3 : 1) により精製して、スルホン中間体 5 a ; 1,2-ビス(プロモメチル)-4-(メチルスルホニル)ベンゼンを得た。

10

【0517】

化合物 9 a、2-メトキシ-4-(3-メチル-3-(5-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール塩酸塩の調製は、実施例 19 B に記載した技術により中間体 5 a から実施した。

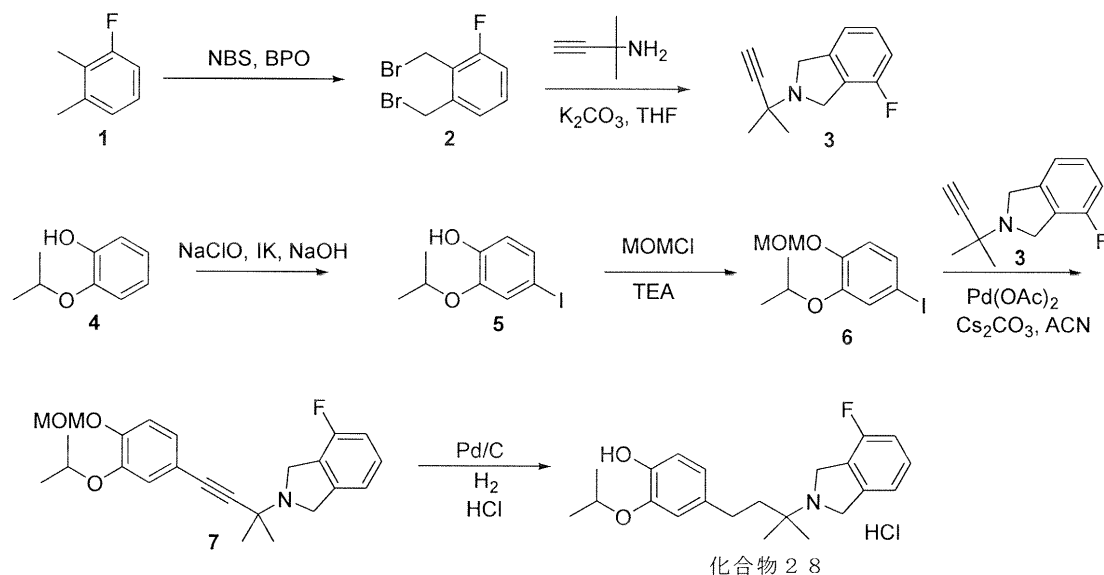
【0518】

実施例 20 : 4-(3-(4-フルオロイソインドリン-2-イル)-3-メチルブチル)-2-イソプロポキシフェノール塩酸塩、化合物例 28 の調製

20

実施例 20 では、スキーム 16 に示される 4-(3-(4-フルオロイソインドリン-2-イル)-3-メチルブチル)-2-イソプロポキシフェノール塩酸塩、化合物例 28 の代表的な調製について説明する。

【化 48】



30

40

【0519】

スキーム 16 : 4-(3-(4-フルオロイソインドリン-2-イル)-3-メチルブチル)-2-イソプロポキシフェノール塩酸塩、化合物例 28 の調製手順。

【0520】

化合物 2 の調製 (スキーム 16) : 1-フルオロ-2,3-ジメチルベンゼン (100 g、0.81 mmol) の四塩化炭素 (1.5 L) 懸濁液に N-プロモスクシンイミド (288 g、1.62 mmol)、過酸化ベンゾイル (10 g) を加えた。混合物を 70 に加熱した。15 時間攪拌した後、混合物を室温に冷却し、水 (1 L) に注加し、DCM (3 x 1 L) で抽出した。合わせた有機層を石油エーテルを用いたラッシュカラムクロマ

50

トグラフィーにより精製して、生成物 2 (161 g、70%) を白色の固体として得た。
TLC : PE / EA = 10 / 1 ; R_f (化合物 1) = 1 ; R_f (化合物 2) = 0.8

【0521】

化合物 3 の調製 (スキーム 16) : 1, 1 - ジメチルプロパルギルアミン (20 g、240 mmol、1.0 当量) の THF (900 mL) 混合物に化合物 2 (70.7 g、253 mmol、1.05 当量) およびトリエチルアミン (73 g、720 mmol、3 当量) を加えた。反応物を 60 で 12 時間攪拌した。混合物をセライトのパッドでろ過し、パッドを酢酸エチルで洗浄した。ろ液を真空下で濃縮してオレンジ色の油を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (PE / EA、10 / 1) により精製して、化合物 3 (30 g、61%) を黄色の固体として得た。TLC : PE / EA = 10 / 1 ; R_f (化合物 2) = 0.8 ; R_f (化合物 3) = 0.5。

10

【0522】

化合物 5 の調製 (スキーム 16) : 2 - イソプロポキシ - フェノール (100 g、0.66 mol、1.0 当量) のメタノール (700 mL) 溶液に水酸化ナトリウム (39.4 g、1.0 mol、1.5 当量) およびヨウ化カリウム (114.5 g、0.69 mol、1.05 当量) を加えた。反応物を室温で攪拌した。反応混合物に次亜塩素酸ナトリウム (978 g、1.31 mol、2.0 当量) を滴加した。LCMS により出発物質がなくなったことが示されたとき、pH 1 になるまで濃 HCl を加えた。亜硫酸ナトリウム (56 g、445 mmol、1.0 当量) を加えた。混合物を酢酸エチル (3 × 500 mL) で抽出し、合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して、化合物 5 (175 g、96%) を白色の固体として得た。TLC : PE / EA = 10 / 1 ; R_f (化合物 4) = 0.4 ; R_f (化合物 5) = 0.4

20

【0523】

化合物 6 の調製 (スキーム 16) : 化合物 5 (350 g、1.26 mol、1.0 当量) の DMF (2 L) 溶液に水素化ナトリウム (65.4 g、1.64 mol、1.3 当量) を窒素下、0 で加えた。0.5 時間攪拌した後、クロロメチルメチルエーテル (131.7 g、1.64 mmol、1.3 当量) を徐々に加えた。反応物を室温で 2 時間攪拌した。水 (4 L) で反応を停止させ、酢酸エチル (3 × 1 L) で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して粗生成物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (PE / EA、10 / 1) により精製して、化合物 6 (300 g、74%) を白色の固体として得た。TLC : PE / EA = 10 / 1 ; R_f (化合物 5) = 0.4 ; R_f (化合物 6) = 0.6

30

【0524】

化合物 7 の調製 (スキーム 16) : 化合物 6 (56.2 g、174 mmol、1.0 当量) のアセトニトリル (600 mL) 溶液に化合物 3 (39 g、192 mmol、1.1 当量) および X - Phos (4.16 g、9.0 mmol、0.05 当量)、次いで炭酸セシウム (56.9 g、174 mmol、1.0 当量) および二酢酸パラジウム (1.2 g、5.23 mmol、0.03 当量) を加えた。反応物を 60 で 12 h 時間攪拌した。氷水 (1 L) で反応を停止させた後、酢酸エチル (3 × 500 mL) で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して粗生成物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (PE / EA、10 / 1) により精製して、化合物 6 (48.5 g、70%) を褐色の固体として得た。TLC : PE / EA = 10 / 1 ; R_f (化合物 6) = 0.6 ; R_f (化合物 7) = 0.3。

40

【0525】

化合物 28 の調製 (スキーム 16) : 化合物 7 (72 g、181 mmol、1.0 当量) のメタノール (1.4 L) 溶液に濃 HCl (36 mL、360 mmol、2.0 当量) および 10% パラジウム / 活性炭 (14 g) を加えた。反応物を水素バルーン下、室温で 4 時間攪拌した。混合物をセライトパッドでろ過し、パッドをメタノールで洗浄した。ろ液を真空下で濃縮して、薄オレンジ色の油を得た。残渣をエーテルで希釈し、室温で攪拌し、固体を形成させた。固体をろ過し、エタノールで洗浄して、化合物例 28 (60 g、

50

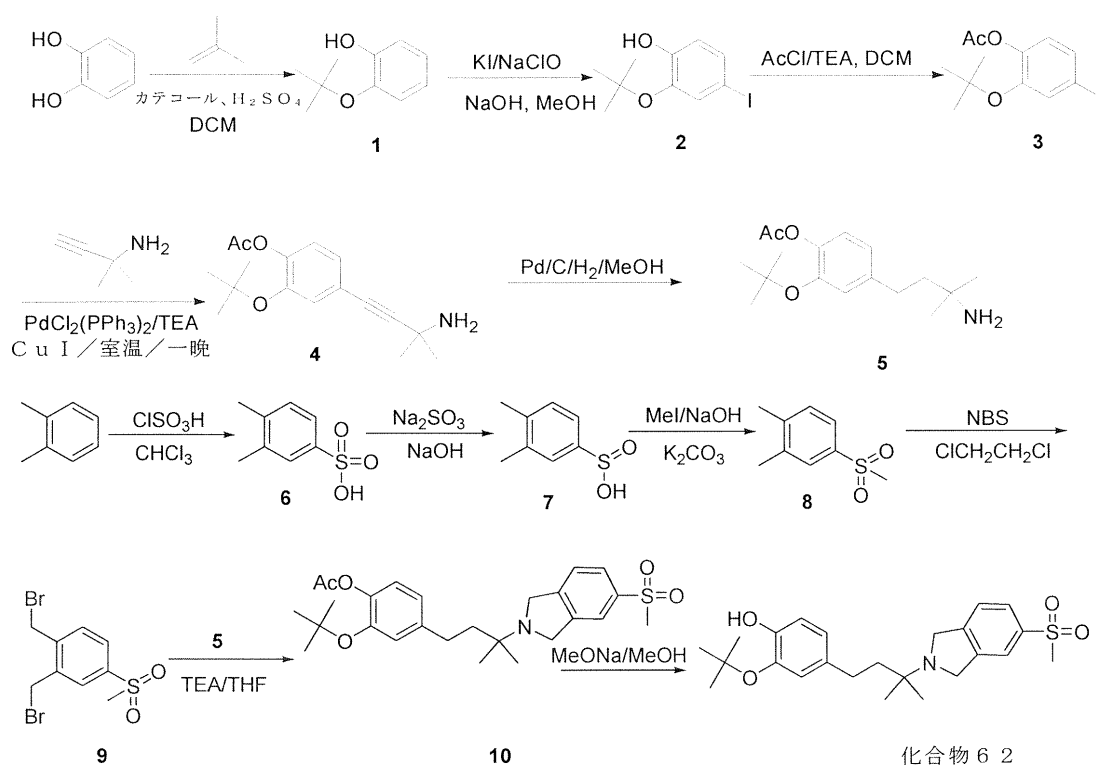
93%)を白色の固体として得た。TLC: PE/EA = 3/1; R_f (化合物7) = 0.6; R_f (生成化合物例28) = 0.3。LC-MS: 358.2 ($M+1$)⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 12.17 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.21 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 6.71-6.63 (m, 2H), 4.88-4.79 (m, 2H), 4.66 (m, 2H), 4.47 (m, 2H), 2.53 (m, 2H), 1.97 (m, 2H), 1.43 (s, 6H), 1.22 (s, 6H)。

【0526】

実施例21: 2-(tert-ブトキシ)-4-(3-メチル-3-(5-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール、化合物例62の調製。

実施例21では、スキーム17に示される2-(tert-ブトキシ)-4-(3-メチル-3-(5-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール、化合物例62の代表的な調製について説明する。

【化49】



【0527】

スキーム17: 2-(tert-ブトキシ)-4-(3-メチル-3-(5-(メチルスルホニル)イソインドリン-2-イル)ブチル)フェノール、化合物例62の調製手順。

【0528】

化合物1の調製(スキーム17): カテコール(50.0g、454mmol、1.0当量)と濃硫酸(0.3mL)のジクロロメタン(200mL)混合物の入った-30のガラス製加圧瓶にイソブテン(152.6g、2.72mol、6.0当量)を凝縮させた。Teflon保護ゴム製リングで覆われたねじ式Teflonキャップで加圧瓶を密閉した後、透明な溶液が得られるまで混合物を35で3時間加熱した。冷却(-30)後、トリエチルアミン(1.5mL、10.8mmol)を加え、混合物を濃縮した。残渣を0.5M NaOH(1L)に懸濁させ、10分間攪拌した。濃緑色の溶液を石油エーテル(2×100mL)で洗浄し、洗浄層を0.5M NaOH(3×100mL)で再抽出した。合わせた水層を2N HCl(400mL)でpH7~8にし、酢酸エチル(2×1L)で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して、生成物1(67.7g、90%)を無色の油として得、それ以上精製せずに次の段階の反応に直接用いた。

TLC: PE/EA = 50/1; R_f (カテコール) = 0.1; R_f (化合物1) = 0.6。

【0529】

化合物2の調製(スキーム17): 0 で攪拌している化合物1(112.2 g、676 mmol、1.2当量)とヨウ化カリウム(112.2 g、676 mmol、1.0当量)のメタノール(2 L)溶液に水酸化ナトリウム(27.0 g、676 mmol、1.0当量)を徐々に加え、次いで、反応物を0 未満に維持しながら亜塩素酸ナトリウム水溶液(7%水溶液、718.8 mL、710 mmol、1.05当量)を3時間かけて滴加した。混合物を0 でさらに30分間攪拌し、0 の2N HClを加えることによりpH7になるまで中和し、DCM(2×1 L)で抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して生成物2(179.8 g、91%)を得た。TLC: PE/EA = 50/1; R_f (化合物1) = 0.6; R_f (化合物2) = 0.6。

10

【0530】

化合物3の調製(スキーム17): 0 で攪拌している化合物2(179.8 g、616 mmol、1.0当量)とトリエチルアミン(186.6 g、1.85 mol、3.0当量)のジクロロメタン(2 L)溶液に塩化アセチル(53.2 g、677 mmol、1.1当量)を徐々に加えた。混合物を0 でさらに30分間攪拌し、室温まで温め、室温で3時間攪拌し、反応混合物に水(1 L)を加え、有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して生成物3(206 g、100%)を得、それ以上精製せずに次の段階に直接用いた。TLC: PE/EA = 50/1; R_f (化合物2) = 0.6; R_f (化合物3) = 0.5。

20

【0531】

化合物4の調製(スキーム17): 攪拌している化合物3(206 g、616 mmol、1.0当量)のトリエチルアミン(4.0 L)溶液に2-メチルプト-3-イン-2-アミン(102.5 g、1.23 mol、2.0当量)、Pd(PPh₃)₂Cl₂(15.1 g、18.5 mmol、0.03当量)およびヨウ化銅(I)(5.9 g、31 mmol、0.05当量)を加えた。得られた混合物を室温で17時間攪拌した。減圧下で溶媒を除去し、粗生成物をシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、表題化合物4(132.7 g、74%)を得た。TLC: PE/EA = 1/1; R_f (化合物3) = 0.9; R_f (化合物4) = 0.3。

30

【0532】

化合物5の調製(スキーム17): 攪拌している化合物4(104.5 g、0.36 mol)のエタノール(1.5 L)溶液にPd/C(10重量%、10.5 g)を加えた。混合物を水素(バルーン)下で一晩攪拌し、ろ過した。ろ液を蒸発乾固させて化合物5(106.3 g、100%)を得、それ以上精製せずに次の段階に直接用いた。TLC: PE/EA = 1/1; R_f (化合物4) = 0.3; R_f (化合物5) = 0.3。

【0533】

化合物6の調製(スキーム17): 0 のo-キシレン(115.7 g、1.09 mol、1.0当量)のクロロホルム(1.0 L)溶液にClSO₃H(254 g、2.18 mol、2.0当量)を滴加した。添加後、反応混合物を室温で2日間攪拌し、氷中に注加した。粗混合物をジクロロメタン(3×1.0 L)で抽出した。有機層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮して、粗化合物6(161.5 g、80%)を白色の固体として得、それ以上精製せずに次の段階に直接用いた。TLC: PE/EA = 5/1; R_f (化合物6) = 0.7。

40

【0534】

化合物7の一般的な調製手順(スキーム17): 飽和亜硫酸ナトリウム溶液(273 g、2.17 mol、2.5当量、水2.0 L中)に溶かした化合物6(161.5 g、0.87 mol、1.0当量)の溶液を攪拌しながら、溶液のpHが9に達するまで32% NaOH(69.4 g、1.73 mol、2.0当量)を滴加した。室温で一晩攪拌した後、氷冷浴中、反応混合物を濃HClでpH1まで酸性化した。沈殿をろ過し、氷水(2

50

×)で洗浄し、真空下で濃縮して粗生成物7(131g、88%)を得、それ以上精製せずに次の段階に直接用いた。TLC: PE/EA = 5/1; R_f (化合物6) = 0.7; R_f (化合物7) = 0.6。

【0535】

化合物8の調製(スキーム17): 攪拌している化合物7(130g、0.76mol、1.0当量)と炭酸カリウム(211g、1.53mol、2.0当量)のDMF(300mL)にヨードメタン(96mL、1.53mol、2.0当量)を加えた。反応物を40°Cで一晩攪拌した。反応混合物を蒸発乾固させ、酢酸エチルで抽出した。有機層を水およびブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮し、フラッシュカラムクロマトグラフィー(PE:EA、10:1~5:1)により精製して、化合物8(85.2g、61%)を得た。TLC: PE/EA = 5/1; R_f (化合物7) = 0.6; R_f (化合物8) = 0.3。

10

【0536】

化合物9の調製(スキーム17): 攪拌している化合物8(78.2g、424mmol、1.0当量)の1,2-ジクロロエタン(1.2L)溶液にN-ブロモスクシンイミド(166g、934mmol、2.2当量)およびAIBN(6.9g、42.4mmol、0.1当量)を加えた。反応物を一晩、還流攪拌した。反応物を水およびジクロロメタンで希釈した。有機層を収集し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮し、フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製して化合物9を得、これをさらに熱メタノールから再結晶させて、純粋な生成物8(75g、52%)を得た。TLC: PE/EA = 5/1; R_f (化合物8) = 0.3; R_f (化合物9) = 0.2。

20

【0537】

化合物10の調製(スキーム17): 攪拌している化合物5(46g、157mmol、1.0当量)と化合物9(53.5g、157mmol、1.0当量)のTHF(460mL)溶液にトリエチルアミン(47.7g、472mmol、3.0当量)を加えた。反応物を40°Cで一晩攪拌し、ろ過し、ろ液を蒸発乾固させ、フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物10(45g、63%)を得た。TLC: PE/EA = 1/1; R_f (化合物5) = 0.3; R_f (化合物9) = 1.0; R_f (化合物10) = 0.4。

【0538】

化合物62の調製(スキーム17): 攪拌している化合物10(45g、98.4mmol)のメタノール(300mL)溶液にナトリウムメトキシド(844mg、15.6mmol、0.16当量)を一度に加えた。溶媒を室温で一晩攪拌した。反応混合物に水(250mL)を1時間かけて滴加し、室温で2時間攪拌し、ろ過した。白色の固体を収集し、真空下で一晩乾燥させて、純粋な化合物例62の塩基(38g、89%)を得た。TLC: PE/EA = 1/1; R_f (化合物10) = 0.4; R_f (化合物62) = 0.4; ESI-MS: 432(M+1)⁺; ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) 7.80-7.78(m, 2H), 7.40-7.38(m, 1H), 6.87-6.79(m, 3H), 5.58(s, 1H), 4.11(s, 4H), 3.05(s, 3H), 2.61-2.57(m, 2H), 1.76-1.72(m, 2H), 1.48(s, 9H), 1.18(s, 6H)。

30

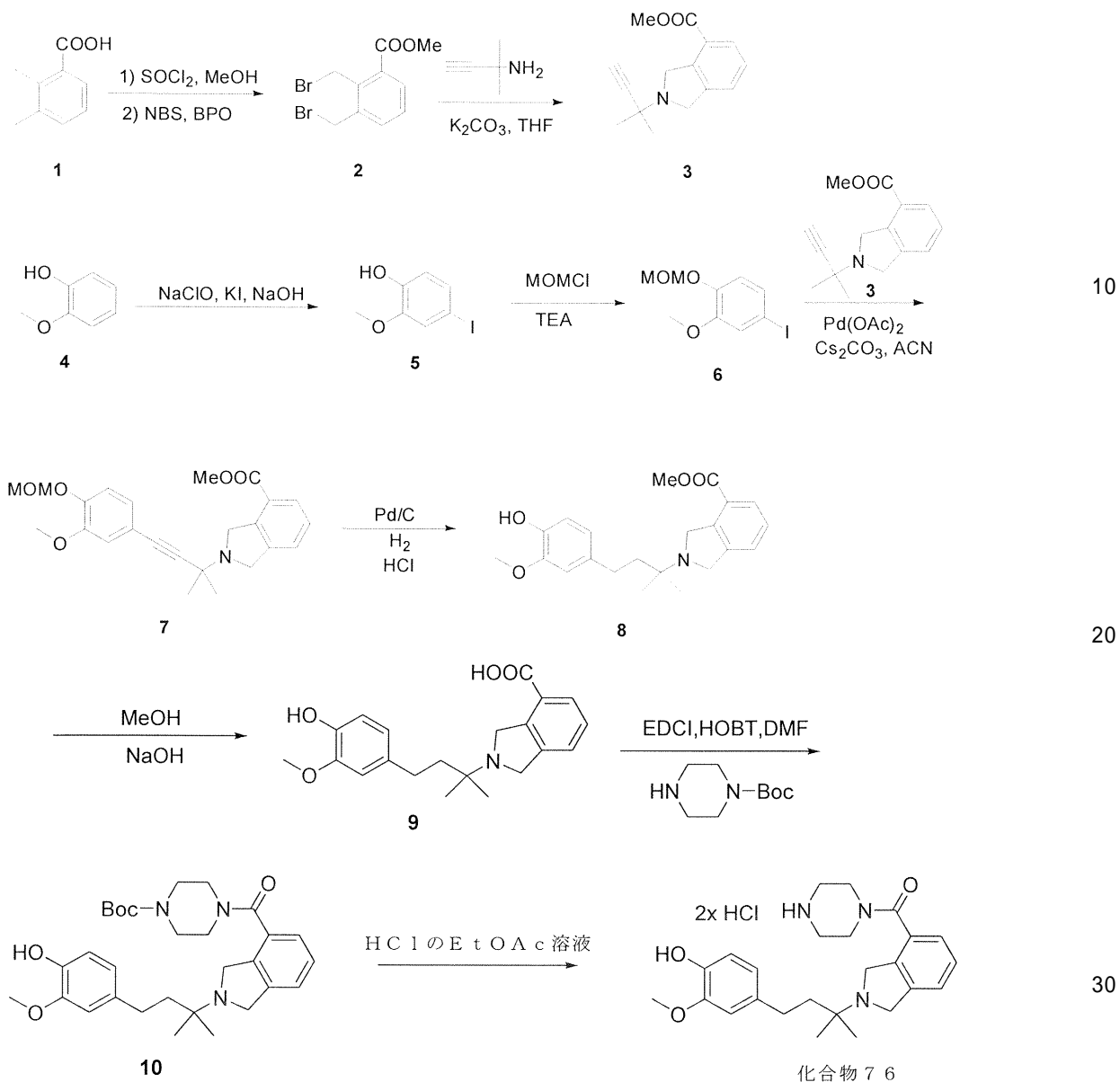
40

【0539】

実施例22: (2-(4-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-2-メチルブタン-2-イル)イソインドリン-4-イル)(ピペラジン-1-イル)メタノン、化合物例76の調製。

実施例22では、スキーム18に示される(2-(4-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-2-メチルブタン-2-イル)イソインドリン-4-イル)(ピペラジン-1-イル)メタノン、化合物例76の代表的な調製について説明する。

【化50】



【0540】

スキーム 18 : (2 - (4 - (4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシフェニル) - 2 - メチルブタン - 2 - イル) イソインドリン - 4 - イル) (ピペラジン - 1 - イル) メタノン、化合物例 7 6 の調製手順。

【0541】

化合物 2 の調製 (スキーム 18) : 0 の 2 , 3 - ジメチル安息香酸 (60 g、0.399 mol) のメタノール溶液に塩化チオニル (20 mL) を加えた。反応物を 60 に加熱した。一晩攪拌した後、反応物を冷却し、濃縮して粗メチルエステル (65 g、0.396 mol) を得た。粗メチルエステル (65 g、0.396 mol) の四塩化炭素 (500 mL) 懸濁液に N - プロモスクシンイミド (142.2 g、0.798 mmol)、過酸化ベンゾイル (6 g、24.8 mmol) を加えた。混合物を 70 に加熱した。15 時間攪拌した後、混合物を室温に冷却し、水 (250 mL) に注加し、ジクロロメタン (3 × 250 mL) で抽出した。合わせた有機層を石油エーテルを用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物 2 (120 g、94%) を白色の固体として得た。TLC : PE / EA = 10 / 1 ; R_f (化合物 1 のメチルエステル) = 0.8 ; R_f (化合物 2) = 0.7。

【0542】

化合物3の調製(スキーム18) :

1, 1 - ジメチルプロパルギルアミン(11.4 g、0.14 mol、1.0当量)のTHF(500 mL)混合物に2, 3 - ビス(プロモメチル)安息香酸メチル(40.0 g、0.125 mol、1.1当量)およびトリエチルアミン(50.5 g、0.50 mol、4.0当量)を加えた。反応物を60 で12時間攪拌した。混合物をセライトのパッドでろ過し、パッドを酢酸エチルで洗浄した。ろ液を真空下で濃縮して、オレンジ色の油を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(PE/EA:10/1)により精製して、化合物3(19 g、62%)を黄色の固体として得た。TLC: PE/EA = 10/1; R_f(化合物2) = 0.8; R_f(化合物3) = 0.5。

【0543】

化合物5の調製(スキーム18) : 2 - メトキシフェノール(100 g、0.81 mol、1.0当量)のメタノール(1 L)溶液に水酸化ナトリウム(48.3 g、1.21 mol、1.5当量)およびヨウ化カリウム(140.4 g、0.84 mol、1.05当量)を加えた。反応物を室温で攪拌した。反応混合物に次亜塩素酸ナトリウム(119.9 g、1.61 mol、2.0当量)を滴加した。LCMSにより出発物質がなくなったことが示されたとき、濃HClをpH1になるまで加えた。亜硫酸ナトリウム(56 g、0.44 mol、0.54当量)を加えた。混合物を酢酸エチル(3×500 mL)で抽出し、合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して、化合物5(160 g、79%)を黄色の油として得た。TLC: PE/EA = 10/1; R_f(化合物4) = 0.4; R_f(化合物5) = 0.4。

【0544】

化合物6の調製(スキーム18) : 化合物5(31.4 g、125.8 mmol、1.0当量)のDMF(200 mL)溶液に水素化ナトリウム(6.54 g、163.6 mmol、1.3当量)を窒素下、0 で加えた。0.5時間後、クロロメチルメチルエーテル(13.2 g、163.6 mmol、1.3当量)を徐々に加えた。反応物を室温で2時間攪拌した。水(400 mL)で反応を停止させ、酢酸エチル(3×200 mL)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して粗生成物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(PE/EA、10/1)により精製して、化合物6(30 g、74%)を黄色の油として得た。TLC: PE/EA = 10/1; R_f(化合物5) = 0.4; R_f(化合物6) = 0.6。

【0545】

化合物7の調製(スキーム18) : 化合物6(10.2 g、34.5 mmol、1.2当量)のアセトニトリル(120 mL)溶液に化合物3(7.00 g、28.7 mmol、1.0当量)およびX-Phos(624 mg、1.30 mmol、0.05当量)、次いで炭酸セシウム(9.38 g、28.7 mmol、1.0当量)および酢酸パラジウム(168 mg、0.74 mmol、0.03当量)を加えた。反応物を60 で12時間攪拌した。氷水(100 mL)で反応を停止させ、酢酸エチル(3×300 mL)で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して粗生成物を得た。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(PE/EA、10/1)により精製して、化合物6(9.4 g、79%)を褐色の固体として得た。TLC: PE/EA = 10/1; R_f(化合物6) = 0.6; R_f(化合物7) = 0.3。

【0546】

化合物8の調製(スキーム18) : 化合物7(3.81 g、9.31 mmol、1.0当量)のメタノール(220 mL)溶液に濃HCl(2 mL)およびパラジウム/活性炭(1.8 g、10%)を加えた。反応物を水素雰囲気下、室温で4時間攪拌した。混合物をセライトパッドでろ過し、パッドをメタノールで洗浄した。ろ液を真空下で濃縮して、薄オレンジ色の油を得た。残渣をエーテルで希釈し、室温で攪拌し、固体を形成させた。固体をろ過し、エタノールで洗浄して、8(4.8 g、100%)を黄色の固体として得た。TLC: PE/EA = 3/1; R_f(化合物7) = 0.6; R_f(生成物8) = 0.

10

20

30

40

50

3。

【0547】

化合物9の調製(スキーム18): 化合物8(4.80g、13.0mmol、1.0当量)のメタノール(100mL)溶液に水酸化ナトリウム(2.0g、50mmol)および水(15mL)を加えた。反応物を40で6時間攪拌した。室温に冷却した後、反応物を6N HClでpH7に調整し、(DCM/MeOH、10/1; 3×100mL)で抽出した。有機相を硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、真空下で濃縮して粗生成物を得、これを酢酸エチルで研和して、9(2.8g、60%)を青色の固体として得た。TLC: PE/EA = 2/1; R_f (化合物8) = 0.6; R_f (生成物9) = 0.05。

10

【0548】

化合物76の調製(スキーム18): 9(2.8g、7.87mmol、1.0当量)のDMF(50mL)混合物に1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン(1.54g、8.26mmol、1.04当量)、EDCI(1.81g、9.44mmol、1.2当量)、HOBt(615mg、4.55mmol、0.57当量)およびトリエチルアミン(1.74g、17.2mmol、2.18当量)を連続して加えた。反応物を25で36時間攪拌した。混合物をセライトのパッドでろ過し、パッドを酢酸エチルで洗浄した。ろ液を真空下で濃縮して油を得た。残渣を分取HPLCにより精製して、化合物10(2.0g)を白色の固体として得た。化合物10(2.0g)をHClの酢酸エチル溶液(3.5M、15mL)で処理した。25で1時間攪拌した後、石油エーテル(100mL)を加えた。得られた白色の固体をろ過し、エーテルで洗浄し、風乾させて、化合物例76(1.6g、41%、2段階)を白色の固体として得た。TLC: DCM/MeOH = 10/1; R_f (化合物9) = 0.3; R_f (生成物10) = 0.35; LC-MS: 424.70(M+1)⁺; ¹H NMR(400MHz, CD₃OD) 7.55-7.48(m, 3H), 6.87(s, 1H), 6.72-6.70(m, 2H), 4.95-4.79(m, 4H), 3.90-3.80(m, 7H), 3.35-3.30(m, 4H), 2.72-2.69(m, 2H), 2.12-2.08(m, 2H), 1.56(s, 6H)。

20

【0549】

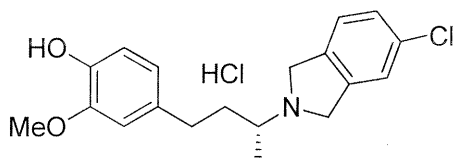
実施例23: イソインドリン化合物種の分析データ。

30

実施例23では、上記の方法と類似した方法で調製した化合物の分析データを記載する。

【0550】

【化51】

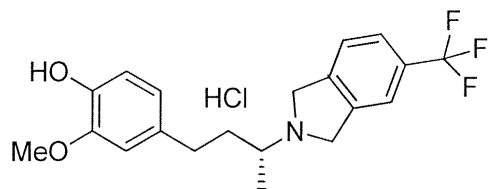


化合物例1: ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 11.45(br. s, 1H), 8.76(br. s, 1H), 7.48-7.41(m, 3H), 6.82(s, 1H), 6.69(d, J = 8.0Hz, 1H), 6.53(d, J = 8.0Hz, 1H), 4.80-4.50(m, 4H), 3.75(s, 3H), 3.53-3.50(m, 1H), 2.70-2.65(m, 1H), 2.12-2.10(m, 1H), 1.83-1.80(m, 1H), 1.36(d, J = 6.0Hz, 3H); m/z (ESI⁺) (M+H)⁺ = 332.05。

40

【0551】

【化52】

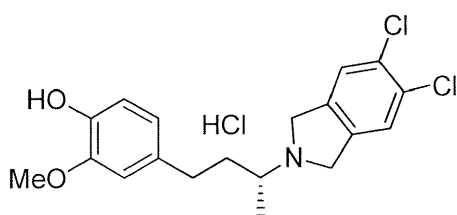


化合物例2：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 7.75 - 7.45 (m, 4H), 6.85 - 6.60 (m, 5H), 5.71 (br. s, 2H), 4.14 - 3.75 (m, 7H), 2.90 - 2.50 (m, 5H), 1.78 - 1.20 (m, 8H), 1.26 - 1.23 (m, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 366.10。

10

【0552】

【化53】

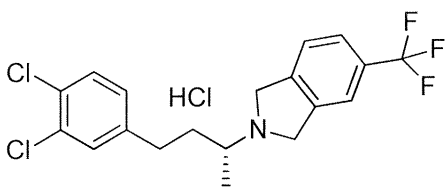


化合物例3：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 12.57 (br. s, 1H), 8.80 (br. s, 1H), 7.66 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 6.79 (s, 1H), 6.68 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.53 - 3.50 (m, 1H), 2.70 - 2.60 (m, 1H), 2.12 - 2.10 (m, 1H), 1.83 - 1.80 (m, 1H), 1.36 (d, J = 6.0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 366.20。

20

【0553】

【化54】

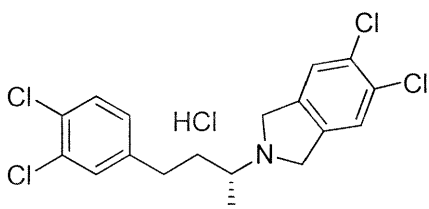


化合物例4：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7.75 - 7.72 (m, 2H), 7.61 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.51 - 7.45 (m, 2H), 7.24 (dd, J₁ = 8.0 Hz, J₂ = 2.0 Hz, 1H), 5.05 - 4.90 (m, 2H), 4.75 - 4.65 (m, 2H), 3.69 - 3.64 (m, 1H), 2.89 - 2.82 (m, 1H), 2.73 - 2.67 (m, 1H), 2.27 - 2.22 (m, 1H), 1.98 - 1.93 (m, 1H), 1.52 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 388.10。

40

【0554】

【化55】

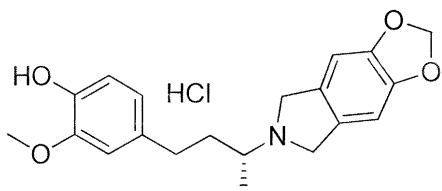


50

化合物例 5 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.61 (br, s, 2 H), 7.49 - 7.45 (m, 2 H), 7.22 (dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 1 H), 4.80 - 4.20 (m, 4 H), 3.66 - 3.62 (m, 1 H), 2.89 - 2.80 (m, 1 H), 2.75 - 2.65 (m, 1 H), 2.25 - 2.20 (m, 1 H), 1.98 - 1.90 (m, 1 H), 1.52 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 390.00。

【0555】

【化56】

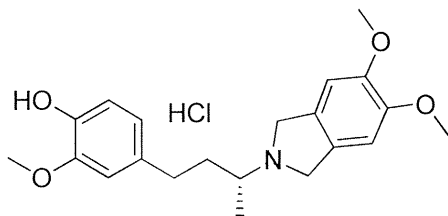


10

化合物例 6 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 6.84 (s, 2 H), 6.74 - 6.68 (m, 2 H), 5.99 (s, 2 H), 4.74 - 4.65 (m, 2 H), 4.47 - 4.41 (m, 2 H), 3.85 (s, 3 H), 3.60 - 3.55 (m, 1 H), 2.80 - 2.70 (m, 1 H), 2.65 - 2.55 (m, 1 H), 2.25 - 2.15 (m, 1 H), 1.98 - 1.90 (m, 1 H), 1.46 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 342.05。

【0556】

【化57】

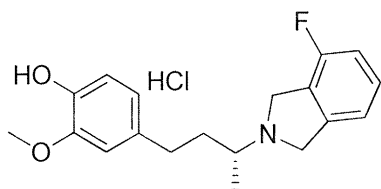


20

化合物例 7 : ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 8.61 (s, 1 H), 6.83 (s, 2 H), 6.74 (s, 1 H), 6.65 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 6.57 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 3.80 (s, 4 H), 3.69 (s, 6 H), 3.60 - 3.55 (m, 1 H), 2.85 - 2.80 (m, 1 H), 2.75 - 2.70 (m, 1 H), 1.82 - 1.75 (m, 1 H), 1.60 - 1.55 (m, 1 H), 1.06 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 358.25。

【0557】

【化58】



30

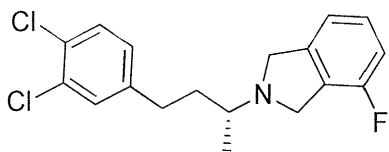
40

化合物例 8 : ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 12.20 (s, 1 H), 8.79 (s, 1 H), 7.44 - 7.40 (m, 1 H), 7.24 - 7.19 (m, 2 H), 6.84 (s, 1 H), 6.70 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 6.65 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 4.85 - 4.57 (m, 4 H), 3.52 - 3.48 (m, 1 H), 2.71 - 2.64 (m, 1 H), 2.20 - 2.17 (m, 1 H), 1.97 - 1.84 (m, 1 H), 1.40 - 1.38 (m, 3 H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 316.10。

50

【0558】

【化59】

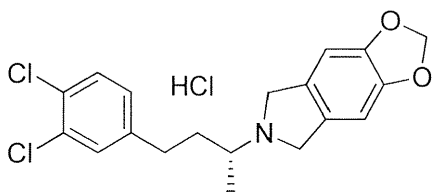


化合物例9：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7.60 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.48 - 7.43 (m, 2H), 7.24 (dd, J₁ = 8.8 Hz, J₂ = 2.0 Hz, 2H), 7.15 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 4.90 - 4.70 (m, 4H), 3.70 - 3.60 (m, 1H), 2.90 - 2.80 (m, 1H), 2.30 - 2.20 (m, 1H), 2.00 - 1.80 (m, 1H), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 338.10。

10

【0559】

【化60】



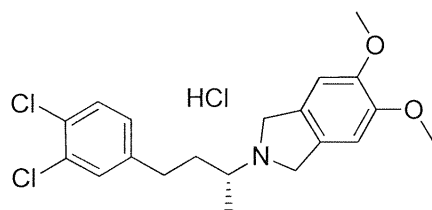
化合物例10：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 11.90 (s, 1H), 7.58 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.28 (dd, J₁ = 8.0 Hz, J₂ = 2.0 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.65 - 4.50 (m, 2H), 4.48 - 4.35 (m, 2H), 3.55 - 3.45 (m, 1H), 2.82 - 2.78 (m, 1H), 2.65 - 2.55 (m, 1H), 2.15 - 2.05 (m, 1H), 1.90 - 1.80 (m, 1H), 1.35 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 364.10。

20

30

【0560】

【化61】

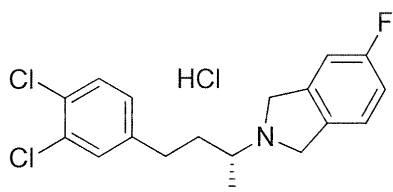


化合物例11：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 11.96 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (dd, J₁ = 8.0 Hz, J₂ = 2.0 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.66 - 4.55 (m, 2H), 4.48 - 4.35 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.55 - 3.45 (m, 1H), 2.82 - 2.78 (m, 1H), 2.65 - 2.55 (m, 1H), 2.20 - 2.10 (m, 1H), 1.95 - 1.80 (m, 1H), 1.37 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 380.15。

40

【0561】

【化62】

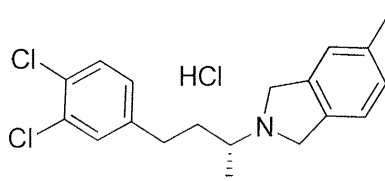


化合物例12： ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7.58 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.41 - 7.38 (m, 1H), 7.28 (dd, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 1H), 7.24 - 7.16 (m, 3H), 4.73 - 4.62 (m, 2H), 4.58 - 4.45 (m, 2H), 3.55 - 3.45 (m, 1H), 2.82 - 2.78 (m, 1H), 2.65 - 2.55 (m, 1H), 2.20 - 2.10 (m, 1H), 1.95 - 1.80 (m, 1H), 1.37 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 338.10。

10

【0562】

【化63】



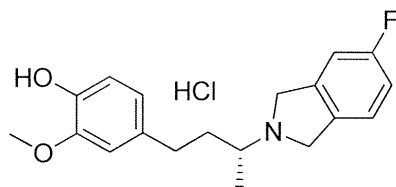
化合物例13： ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7.58 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.28 (dd, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 1H), 7.22 (dd, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 3.2 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.73 - 4.61 (m, 2H), 4.54 - 4.45 (m, 2H), 3.52 - 3.49 (m, 1H), 2.80 - 2.75 (m, 1H), 2.65 - 2.59 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.16 - 2.14 (m, 1H), 1.90 - 1.85 (m, 1H), 1.35 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 334.15。

20

30

【0563】

【化64】

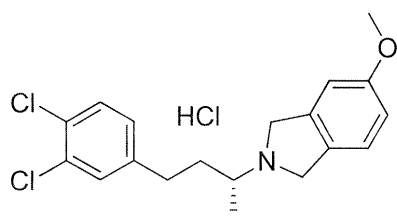


化合物例14： ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7.41 - 7.38 (m, 1H), 7.25 - 7.15 (m, 2H), 6.80 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 6.68 (d, 8.0 Hz, 1H), 6.62 (dd, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 1H), 4.77 - 4.63 (m, 2H), 4.59 - 4.44 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.51 - 3.48 (m, 1H), 2.70 - 2.62 (m, 1H), 2.52 - 2.44 (m, 1H), 2.14 - 2.11 (m, 1H), 1.90 - 1.85 (m, 1H), 1.35 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 316.60。

40

【0564】

【化 6 5】

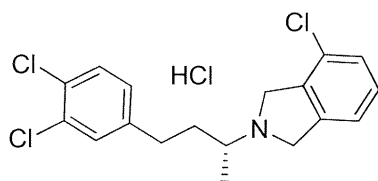


化合物例 15 : ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 11.60 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.29 - 7.24 (m, 2H), 6.93 - 6.90 (m, 2H), 4.75 - 4.58 (m, 2H), 4.58 - 4.44 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.52 - 3.50 (m, 1H), 2.81 - 2.74 (m, 1H), 2.65 - 2.57 (m, 1H), 2.20 - 2.10 (m, 1H), 1.90 - 1.80 (m, 1H), 1.36 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 350.15。

10

【0565】

【化 6 6】

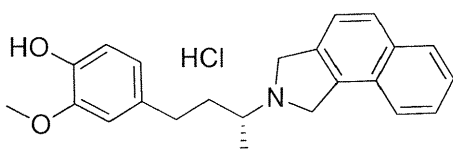


化合物例 16 : ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 12.32 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.56 - 7.54 (m, 1H), 7.44 - 7.28 (m, 4H), 4.86 - 4.40 (m, 4H), 3.60 - 3.50 (m, 1H), 2.83 - 2.75 (m, 1H), 2.65 - 2.59 (m, 1H), 2.30 - 2.15 (m, 1H), 1.95 - 1.82 (m, 1H), 1.17 - 1.13 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 356.15。

20

【0566】

【化 6 7】



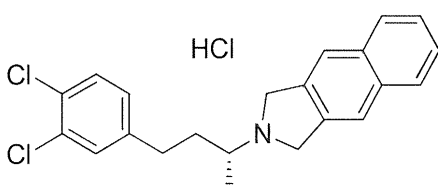
化合物例 17 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.93 (dd, $J_1 = 11.6$ Hz, $J_2 = 8.4$ Hz, 2H), 7.82 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.63 - 7.54 (m, 2H), 7.48 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 6.92 - 6.86 (m, 1H), 6.78 - 6.70 (m, 2H), 5.22 - 4.76 (m, 4H), 3.85 (s, 3H), 3.75 - 3.65 (m, 1H), 2.83 - 2.77 (m, 1H), 2.68 - 2.60 (m, 1H), 2.40 - 2.30 (m, 1H), 2.10 - 1.95 (m, 1H), 1.58 - 1.50 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 348.65。

30

40

【0567】

【化 6 8】

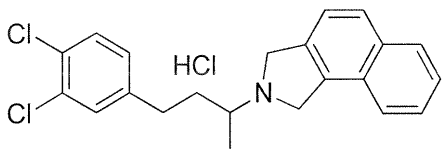


50

化合物例 18 : ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 12.06 (s, 1H), 7.95 - 7.87 (m, 4H), 7.62 - 7.50 (m, 4H), 7.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.98 - 4.85 (m, 2H), 4.73 - 4.63 (m, 2H), 3.59 - 3.55 (m, 1H), 2.86 - 2.78 (m, 1H), 2.68 - 2.60 (m, 1H), 2.25 - 2.20 (m, 1H), 2.00 - 1.90 (m, 1H), 1.43 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 370.20。

【0568】

【化69】



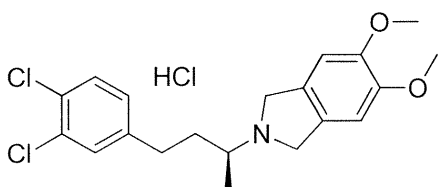
10

化合物例 19 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.94 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.83 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.64 - 7.43 (m, 5H), 7.40 - 7.30 (m, 1H), 5.34 - 4.80 (m, 4H), 3.80 - 3.70 (m, 1H), 2.90 - 2.80 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.40 - 2.30 (m, 1H), 2.10 - 2.00 (m, 1H), 1.60 - 1.55 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 370.10。

20

【0569】

【化70】

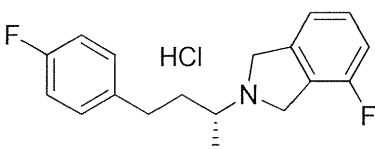


化合物例 20 : ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 11.62 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.94 (s, 2H), 4.68 - 5.55 (m, 2H), 4.49 - 4.40 (m, 2H), 3.73 (s, 6H), 3.55 - 3.48 (m, 1H), 2.82 - 2.78 (m, 1H), 2.65 - 2.57 (m, 1H), 2.20 - 2.08 (m, 1H), 1.90 - 1.80 (m, 1H), 1.36 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 380.10。

30

【0570】

【化71】



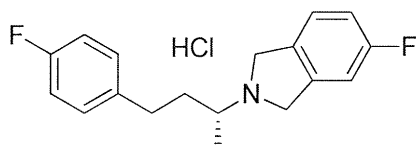
40

化合物例 21 : ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 12.20 (s, 1H), 7.42 (dd, $J_1 = 12.8$ Hz, $J_2 = 8.0$ Hz, 1H), 7.33 - 7.30 (m, 2H), 7.23 - 7.18 (m, 2H), 7.15 - 7.05 (m, 2H), 4.88 - 4.72 (m, 2H), 4.70 - 4.55 (m, 2H), 3.60 - 3.50 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.65 - 2.52 (m, 1H), 2.22 - 2.10 (m, 1H), 1.90 - 1.82 (m, 1H), 1.42 - 1.35 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 288.15。

【0571】

50

【化72】

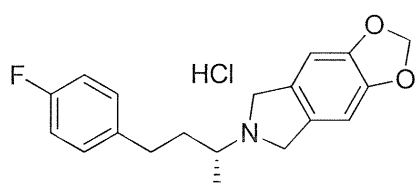


化合物例 22 : ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 12.05 (s, 1H), 7.40 - 7.09 (m, 7H), 4.76 - 4.65 (m, 2H), 4.60 - 4.45 (m, 2H), 3.55 - 3.48 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.62 - 2.52 (m, 1H), 2.20 - 2.08 (m, 1H), 1.90 - 1.82 (m, 1H), 1.37 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 288.15。

10

【0572】

【化73】

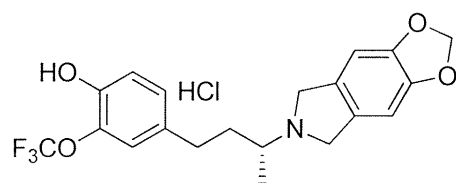


化合物例 23 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.29 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz, 2H), 7.03 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.85 (s, 2H), 6.00 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 4.75 - 4.67 (m, 2H), 4.51 - 4.44 (m, 2H), 3.60 - 3.55 (m, 1H), 2.83 - 2.79 (m, 1H), 2.72 - 2.67 (m, 1H), 2.22 - 2.18 (m, 1H), 1.93 - 1.89 (m, 1H), 1.47 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 314.20。

20

【0573】

【化74】

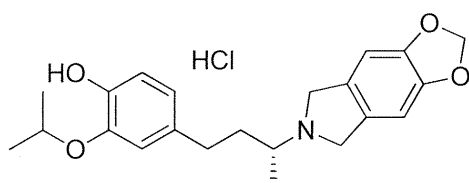


化合物例 24 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.12 (s, 1H), 7.08 (dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 1H), 6.90 (d, 8.4 Hz, 1H), 6.84 (s, 2H), 6.00 (s, 2H), 4.75 - 4.50 (m, 4H), 3.58 - 3.53 (m, 1H), 2.81 - 2.73 (m, 1H), 2.65 - 2.58 (m, 1H), 2.22 - 2.18 (m, 1H), 1.93 - 1.82 (m, 1H), 1.45 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 396.15。

30

【0574】

【化75】



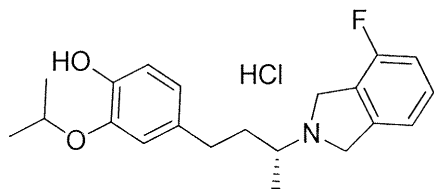
化合物例 25 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 6.91 (br. s, 3H), 6.81 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)

50

) , 6 . 0 6 (d , J = 2 . 8 H z , 2 H) , 4 . 8 2 - 4 . 7 2 (m , 2 H) , 4 . 6 8 - 4 . 6 1 (m , 1 H) , 4 . 5 5 - 4 . 4 8 (m , 2 H) , 3 . 6 2 - 3 . 5 7 (, 1 H) , 2 . 8 6 - 2 . 7 8 (m , 1 H) , 2 . 6 8 - 2 . 6 0 (m , 1 H) , 2 . 2 6 - 2 . 2 2 (m , 1 H) , 1 . 9 7 - 1 . 9 1 (m , 1 H) , 1 . 5 2 (d , J = 6 . 8 H z , 3 H) , 1 . 3 8 (d , J = 6 . 0 H z , 6 H) ; m / z (E S I +) (M + H) + = 3 7 0 . 2 0 .

【 0 5 7 5 】

【 化 7 6 】



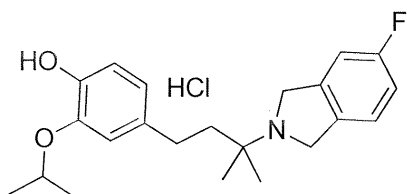
10

化合物例 2 6 : ^1H NMR (4 0 0 M H z , CD_3OD) : 7 . 4 5 - 7 . 4 1 (m , 1 H) , 7 . 2 1 (d , J = 7 . 6 H z , 1 H) , 7 . 1 7 - 7 . 1 1 (m , 1 H) , 6 . 8 4 (s , 1 H) , 6 . 7 4 (d , J = 8 . 0 H z , 1 H) , 6 . 6 9 (d , J = 8 . 0 H z , 1 H) , 4 . 8 2 - 4 . 5 0 (m , 5 H) , 3 . 6 1 - 3 . 5 6 (, 1 H) , 2 . 8 0 - 2 . 7 0 (m , 1 H) , 2 . 6 2 - 2 . 5 5 (m , 1 H) , 2 . 2 5 - 2 . 1 8 (m , 1 H) , 1 . 9 5 - 1 . 8 5 (m , 1 H) , 1 . 4 8 (d , J = 6 . 8 H z , 3 H) , 1 . 3 0 (d , J = 6 . 0 H z , 6 H) ; m / z (E S I +) (M + H) + = 3 7 0 . 2 0 .

20

【 0 5 7 6 】

【 化 7 7 】

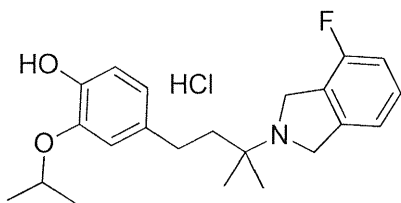


30

化合物例 2 7 : ^1H NMR (4 0 0 M H z , CD_3OD) : 7 . 4 1 (d d , J 1 = 8 . 0 H z , J 2 = 4 . 8 H z , 1 H) , 7 . 1 7 (d , J = 8 . 0 H z , 1 H) , 6 . 1 6 - 7 . 1 4 (m , 1 H) , 6 . 8 4 (d , J = 1 . 6 H z , 1 H) , 6 . 7 4 (d , J = 8 . 4 H z , 1 H) , 6 . 7 1 (d d , J 1 = 8 . 0 H z , J 2 = 1 . 6 H z , 1 H) , 4 . 8 2 - 4 . 6 2 (m , 4 H) , 4 . 5 8 - 4 . 5 5 (m , 1 H) , 2 . 6 7 - 2 . 6 3 (m , 2 H) , 2 . 0 5 - 2 . 0 0 (m , 2 H) , 1 . 5 2 (s , 6 H) , 1 . 3 0 (d , J = 6 . 0 H z , 6 H) ; m / z (E S I +) (M + H) + = 3 5 8 . 1 5 .

【 0 5 7 7 】

【 化 7 8 】

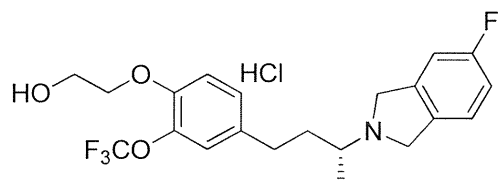


40

化合物例 2 8 : ^1H NMR (4 0 0 M H z , CD_3OD) : 7 . 4 9 - 7 . 4 3 (m , 1 H) , 7 . 2 4 (d , J = 7 . 6 H z , 1 H) , 7 . 1 6 (t , J = 8 . 4 H z , 1 H) , 6 . 8 5 (s , 1 H) , 6 . 7 4 (d , J = 8 . 0 H z , 1 H) , 6 . 7 1 (d d , J 1 = 8 . 0 H z , J 2 = 1 . 6 H z , 1 H) , 4 . 8 7 - 4 . 7 9 (m , 4 H) , 4 . 5 8 - 4 . 5 6 (m , 1 H) , 2 . 6 7 - 2 . 6 3 (m , 2 H) , 2 . 0 7 - 2 . 0

50

【化 8 2】

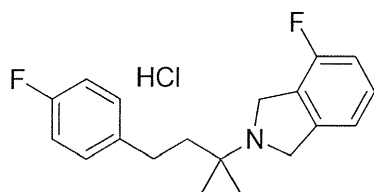


化合物例 3 2 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.42 - 7.38 (m, 1H), 7.24 - 7.11 (m, 5H), 4.92 - 4.80 (m, 2H), 4.68 - 4.55 (m, 2H), 4.10 - 4.07 (m, 2H), 3.88 - 3.86 (m, 2H), 6.64 - 3.60 (m, 1H), 2.85 - 2.75 (m, 1H), 2.72 - 2.60 (m, 1H), 2.24 - 2.18 (m, 1H), 1.98 - 1.88 (m, 1H), 1.49 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 414.20。

10

【0582】

【化 8 3】

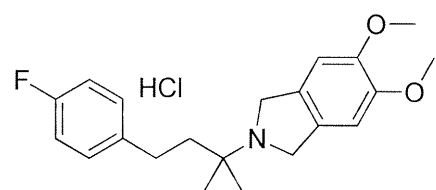


化合物例 3 3 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.46 - 7.41 (m, 1H), 7.32 - 7.29 (m, 2H), 7.23 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.13 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.01 (t, 8.8 Hz, 2H), 4.86 - 4.80 (m, 4H), 2.78 - 2.73 (m, 2H), 2.12 - 2.08 (m, 2H), 1.56 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 302.10。

20

【0583】

【化 8 4】



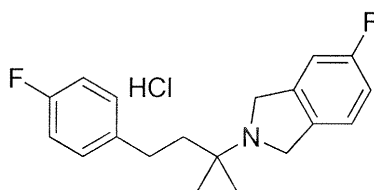
化合物例 3 4 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.31 - 7.27 (m, 2H), 7.03 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.98 (s, 2H), 4.72 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 4.61 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 3.83 (6H), 2.81 - 2.72 (m, 2H), 2.07 - 1.98 (m, 2H), 1.56 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 344.20。

30

40

【0584】

【化 8 5】



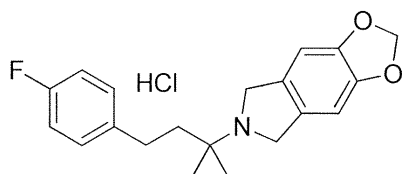
化合物例 3 5 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.43 - 7.40 (m, 2H), 7.32 - 7.27 (m, 2H), 7.20 - 7.14 (m, 2H), 7.

50

0.3 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 4.85 - 4.70 (m, 4H), 2.77 - 2.72 (m, 2H), 2.08 - 2.03 (m, 2H), 1.54 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 302.20。

【0585】

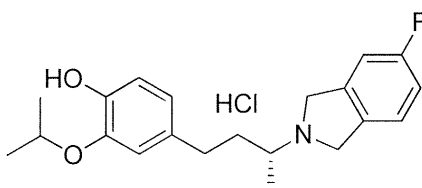
【化86】



化合物例 36: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.29 (dd, J₁ = 8.4 Hz, J₂ = 5.6 Hz, 2H), 7.01 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 6.83 (s, 2H), 4.67 (d, J = 14.0 Hz, 2H), 4.58 (d, J = 14.0 Hz, 2H), 2.78 - 2.71 (m, 2H), 2.07 - 2.03 (m, 2H), 1.53 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 328.10。

【0586】

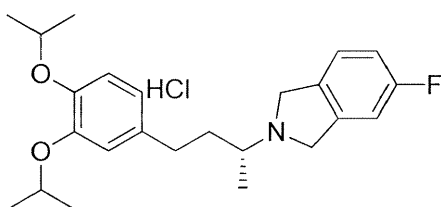
【化87】



化合物例 37: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.38 (dd, J₁ = 8.0 Hz, J₂ = 4.4 Hz, 1H), 7.16 - 7.10 (m, 2H), 6.86 (s, 1H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.93 - 4.76 (m, 2H), 4.62 - 4.50 (m, 3H), 3.60 - 3.52 (m, 1H), 2.78 - 2.70 (m, 1H), 2.62 - 2.55 (m, 1H), 2.25 - 2.15 (m, 1H), 1.95 - 1.85 (m, 1H), 1.47 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.30 (d, J = 6.4 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 344.15。

【0587】

【化88】



化合物例 38: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.39 (dd, J₁ = 8.4 Hz, J₂ = 4.8 Hz, 1H), 7.17 - 7.10 (m, 2H), 6.89 (s, 1H), 6.88 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.92 - 4.83 (m, 2H), 4.58 - 4.42 (m, 4H), 3.60 - 3.55 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.65 - 2.55 (m, 1H), 2.25 - 2.15 (m, 1H), 1.95 - 1.85 (m, 1H), 1.47 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.30 - 1.25 (m, 12H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 386.25。

【0588】

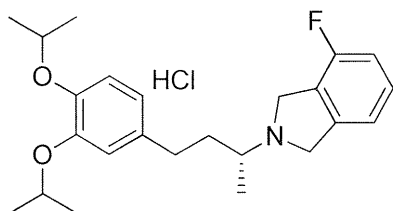
10

20

30

40

【化 8 9】

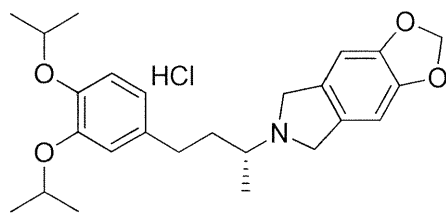


化合物例 39 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.46 - 7.40 (m, 1H), 7.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 1H), 4.95 - 4.85 (m, 2H), 4.70 - 4.62 (m, 2H), 4.60 - 4.52 (m, 1H), 4.50 - 4.42 (m, 1H), 3.60 - 3.52 (m, 1H), 2.82 - 2.72 (m, 1H), 2.65 - 2.55 (m, 1H), 2.28 - 2.18 (m, 1H), 1.95 - 1.88 (m, 1H), 1.49 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.30 - 1.25 (m, 2H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 386.70.

10

【0589】

【化 9 0】



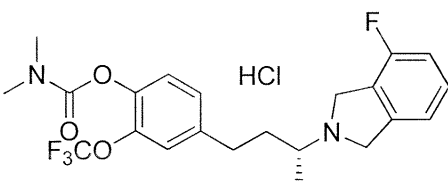
化合物例 40 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.26 (s, 1H), 6.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.72 - 6.65 (m, 4H), 6.00 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.96 - 4.87 (m, 2H), 4.50 - 4.41 (m, 2H), 4.18 - 4.10 (m, 2H), 3.42 - 3.36 (m, 1H), 2.77 - 2.74 (m, 1H), 2.58 - 2.50 (m, 1H), 2.18 - 2.10 (m, 1H), 1.92 - 1.86 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 5.6$ Hz, 3H), 1.30 - 1.25 (m, 2H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 412.30.

20

30

【0590】

【化 9 1】

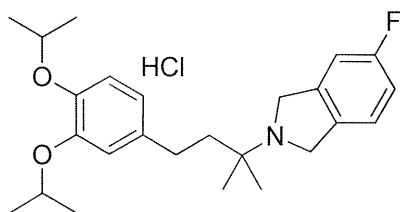


化合物例 41 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.47 - 7.42 (m, 1H), 7.35 - 7.30 (m, 2H), 7.25 - 7.22 (m, 2H), 7.13 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.01 - 4.91 (m, 2H), 4.72 - 4.65 (m, 2H), 3.72 - 3.65 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.92 - 2.85 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.30 - 2.20 (m, 1H), 2.02 - 1.95 (m, 1H), 1.52 (d, $J = 4.0$ Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 441.20.

40

【0591】

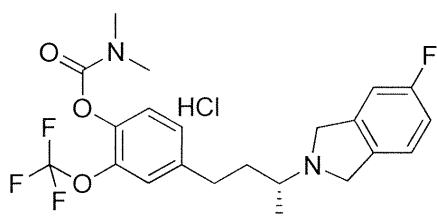
【化92】



化合物例42：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7.43 - 7.40 (m, 1H), 7.19 - 7.16 (m, 2H), 6.89 - 6.87 (m, 2H), 6.82 (dd, J₁ = 8.8 Hz, J₂ = 2.0 Hz, 1H), 4.84 - 4.67 (m, 4H), 4.55 - 4.45 (m, 2H), 2.71 - 2.66 (m, 2H), 2.08 - 2.03 (m, 2H), 1.53 (s, 6H), 1.30 - 1.26 (m, 12H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 400.25。

【0592】

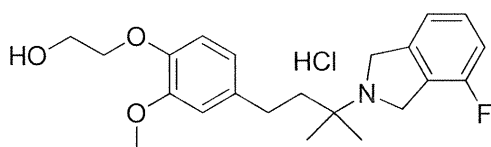
【化93】



化合物例43：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7.46 - 7.38 (m, 1H), 7.36 - 7.32 (m, 2H), 7.26 - 7.22 (m, 1H), 7.20 - 7.12 (m, 2H), 4.90 - 4.80 (m, 2H), 4.70 - 4.55 (m, 2H), 3.70 - 3.60 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.99 (s, 3H), 2.95 - 2.85 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.30 - 2.20 (m, 1H), 2.00 - 1.90 (m, 1H), 1.50 (d, J = 6.0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 441.15。

【0593】

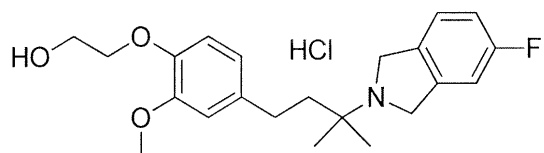
【化94】



化合物例44：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 12.15 (s, 1H), 7.44 - 7.42 (m, 1H), 7.24 - 7.21 (m, 2H), 6.88 - 6.86 (m, 2H), 6.77 - 6.75 (m, 1H), 4.88 - 4.79 (m, 2H), 4.71 - 4.66 (m, 2H), 3.93 - 3.90 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.69 - 3.66 (m, 2H), 2.63 - 2.58 (m, 2H), 2.05 - 2.00 (m, 2H), 1.45 (s, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 347.15。

【0594】

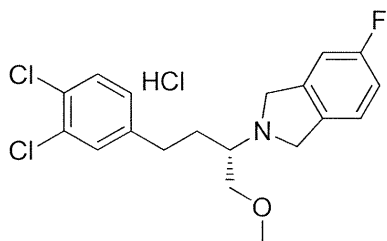
【化95】



化合物例 45 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.43 - 7.39 (m, 1H), 7.18 - 7.12 (m, 2H), 6.92 - 6.88 (m, 2H), 6.82 - 6.80 (m, 1H), 4.85 - 4.70 (m, 4H), 4.02 - 3.99 (m, 2H), 3.85 - 3.82 (m, 5H), 2.73 - 2.69 (m, 2H), 2.10 - 2.05 (m, 2H), 1.54 (s, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 374.15。

【0595】

【化96】



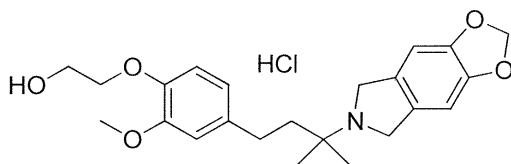
10

化合物例 46 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 7.48 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.44 - 7.38 (m, 1H), 7.23 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 1H), 7.20 - 7.12 (m, 2H), 4.85 - 4.55 (m, 4H), 3.86 - 3.75 (m, 2H), 3.72 - 3.65 (m, 1H), 3.46 (s, 3H), 2.85 - 2.70 (m, 2H), 2.18 - 2.12 (m, 2H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 368.05。

20

【0596】

【化97】

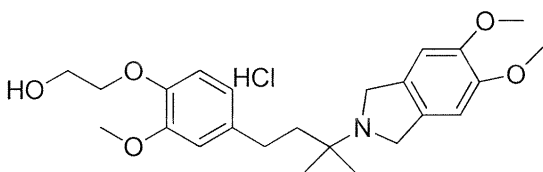


化合物例 47 : ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 6.90 - 6.86 (m, 4H), 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.04 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.63 (dd, $J_1 = 14.0$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz, 2H), 4.46 (dd, $J_1 = 14.0$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.69 - 3.67 (m, 2H), 2.62 - 2.57 (m, 2H), 1.99 - 1.96 (m, 2H), 1.42 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 400.15。

30

【0597】

【化98】



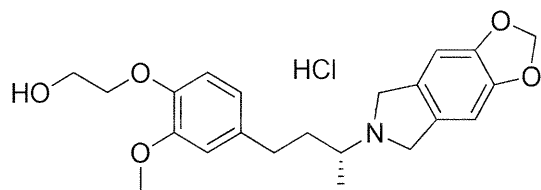
40

化合物例 48 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 6.99 (br. s, 2H), 6.92 - 6.89 (m, 2H), 6.81 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.72 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 4.62 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 4.02 - 4.00 (m, 2H), 3.86 - 3.82 (m, 1H), 2.73 - 2.68 (m, 2H), 2.09 - 2.05 (m, 2H), 1.53 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 416.20。

【0598】

50

【化102】

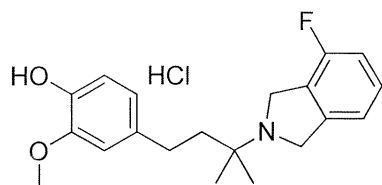


化合物例52：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD)：6.91 (s, 1H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.83 (s, 2H), 6.79 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.98 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 4.75 - 4.66 (m, 2H), 4.49 - 4.42 (m, 2H), 4.02 - 3.99 (m, 2H), 3.86 - 3.79 (m, 5H), 3.50 - 3.44 (m, 1H), 2.82 - 2.75 (m, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.25 - 2.18 (m, 1H), 1.95 - 1.86 (m, 1H), 1.46 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 386.20。

10

【0602】

【化103】

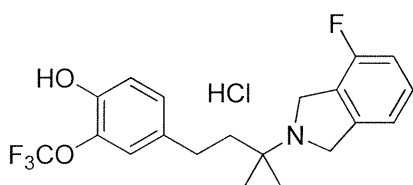


化合物例53：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD)：7.40 - 7.36 (m, 1H), 7.18 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.08 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.73 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.58 (br. s, 4H), 4.81 - 4.75 (m, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.67 - 2.63 (m, 2H), 2.10 - 2.06 (m, 2H), 1.52 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 330.10。

20

【0603】

【化104】

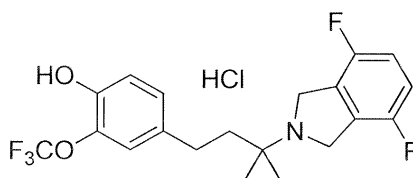


化合物例54：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆)：10.04 (s, 1H), 7.46 - 7.40 (m, 1H), 7.23 - 7.18 (m, 3H), 7.10 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.85 - 4.78 (m, 2H), 4.69 - 4.66 (m, 2H), 2.63 - 2.59 (m, 2H), 2.03 - 1.98 (m, 2H), 1.46 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 384.15。

40

【0604】

【化105】



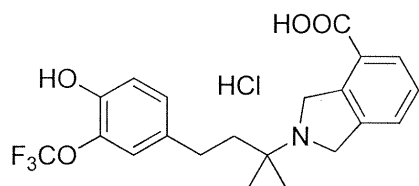
化合物例55：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD)：7.20 (t, J = 6

50

. 0 Hz, 2 H), 7.15 (s, 1 H), 7.11 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 4.90 - 4.86 (m, 4 H), 2.73 - 2.68 (m, 2 H), 2.10 - 2.06 (m, 2 H), 1.54 (s, 6 H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 402.15。

【0605】

【化106】

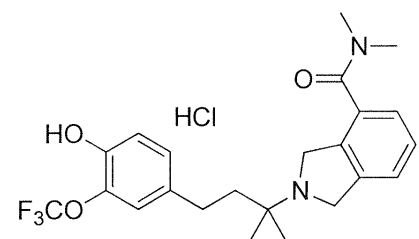


10

化合物例 56: ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD): 8.04 (d, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.63 (d, J = 7.2 Hz, 1 H), 7.54 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.14 (s, 1 H), 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 6.90 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 5.10 - 4.70 (m, 4 H), 2.73 - 2.69 (m, 2 H), 2.10 - 2.06 (m, 2 H), 1.56 (s, 6 H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 410.15。

【0606】

【化107】



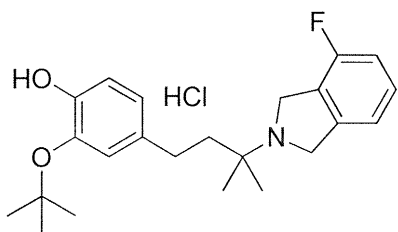
20

化合物例 57: ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.48 - 7.38 (m, 3 H), 7.12 (s, 1 H), 7.10 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 6.90 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 4.81 - 4.71 (m, 4 H), 3.09 - 2.99 (s, 3 H), 2.09 (s, 3 H), 2.71 - 2.66 (m, 2 H), 2.07 - 2.03 (m, 2 H), 1.62 (s, 6 H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 437.25。

30

【0607】

【化108】

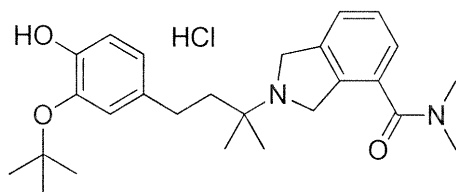


40

化合物例 58: ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD): 8.07 - 8.05 (m, 1 H), 7.66 - 7.54 (m, 2 H), 6.90 - 6.78 (m, 3 H), 5.20 - 4.80 (m, 4 H), 2.67 - 2.60 (m, 2 H), 2.07 - 2.00 (m, 2 H), 1.55 (s, 6 H), 1.35 (s, 9 H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 398.25。

【0608】

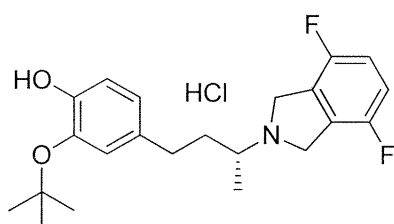
【化109】



化合物例59：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 11.32 (s, 1H), 7.44 - 7.37 (m, 3H), 6.83 - 6.74 (m, 3H), 4.81 - 4.56 (m, 4H), 3.00 (s, 3H), 2.91 (s, 3H), 2.60 - 2.50 (m, 2H), 2.00 - 1.90 (m, 2H), 1.43 (s, 6H), 1.28 (s, 9H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 425.35。

【0609】

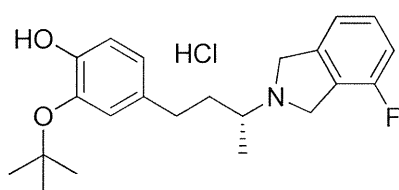
【化110】



化合物例60A：¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.19 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 6.90 (s, 1H), 6.85 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.86 - 4.80 (m, 4H), 3.65 - 3.60 (m, 1H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.62 - 2.52 (m, 1H), 2.25 - 2.15 (m, 2H), 1.95 - 1.85 (m, 1H), 1.48 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.36 (s, 9H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 376.25。

【0610】

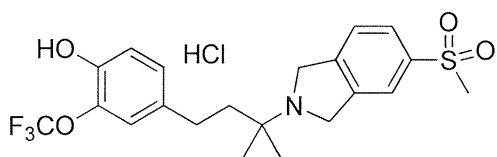
【化111】



化合物例60B：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.18 - 7.15 (m, 1H), 6.98 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.88 - 6.80 (m, 4H), 4.04 - 4.00 (m, 4H), 2.80 - 2.72 (m, 1H), 2.70 - 2.62 (m, 1H), 2.60 - 2.50 (m, 1H), 1.95 - 1.88 (m, 1H), 1.76 - 1.70 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.20 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 358.25。

【0611】

【化112】

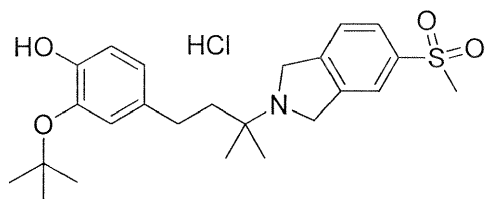


化合物例61：¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 11.95 (br. s, 1H), 10.00 (br. s, 1H), 7.93 (s, 2H), 7.65 - 7.

6.4 (m, 1), 7.22 - 7.09 (m, 2H), 6.92 - 6.90 (m, 1H), 4.85 - 4.75 (m, 4H), 3.23 (s, 3H), 2.65 - 2.60 (m, 2H), 2.02 - 1.95 (m, 2H), 1.45 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 444.20。

【0612】

【化113】

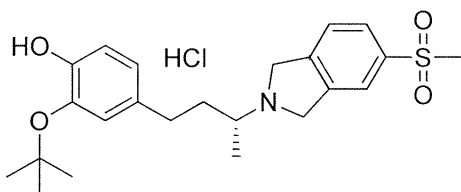


10

化合物例 62: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.80 - 7.78 (m, 2H), 7.40 - 7.38 (m, 1H), 6.87 - 6.78 (m, 3H), 4.18 - 4.10 (m, 4H), 3.02 (s, 3H), 2.62 - 2.56 (m, 2H), 1.80 - 1.60 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.20 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 432.25。

【0613】

【化114】



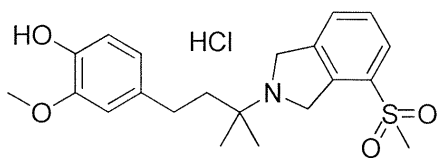
20

化合物例 63: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.98 - 7.95 (m, 1H), 7.63 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.85 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.90 - 4.80 (m, 4H), 3.66 - 3.60 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.80 - 2.72 (m, 1H), 2.65 - 2.55 (m, 1H), 2.25 - 2.15 (m, 1H), 1.95 - 1.85 (m, 1H), 1.47 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.36 (s, 9H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 418.20。

30

【0614】

【化115】

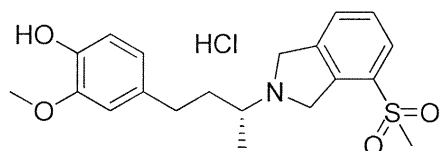


化合物例 64: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.97 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.78 - 7.68 (m, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.72 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 4.85 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 2.73 - 2.70 (m, 2H), 2.13 - 2.10 (m, 2H), 1.58 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 390.15。

40

【0615】

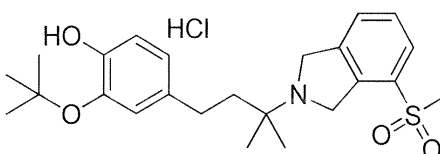
【化 1 1 6】



化合物例 65 : ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 8.75 (s, 1H), 7.85 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.70 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.05 - 4.60 (m, 4 H), 3.76 (s, 3H), 3.60 - 3.50 (m, 1H), 3.40 - 3.30 (m, 2H), 2.72 - 2.65 (m, 1H), 2.20 - 2.10 (m, 1H), 1.90 - 1.80 (m, 1H), 1.45 - 1.40 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 376.10.

【0 6 1 6】

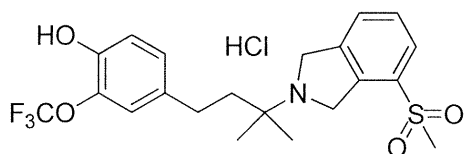
【化 1 1 7】



化合物例 66 : ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 8.55 (br. s, 1H), 7.86 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.74 - 7.67 (m, 2H), 6.83 - 6.77 (m, 3H), 4.93 (s, 2H), 4.81 - 4.73 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.60 - 2.55 (m, 2H), 2.02 - 1.98 (m, 2H), 1.48 - 1.46 (m, 6H), 1.28 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 432.30.

【0 6 1 7】

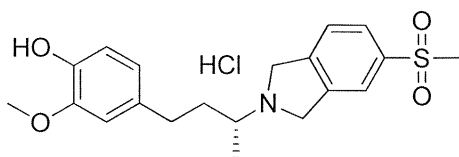
【化 1 1 8】



化合物例 67 : ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7.93 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.76 - 7.66 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.11 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.75 - 2.70 (m, 2H), 2.30 - 2.00 (m, 2H), 1.57 - 1.56 (m, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 444.15.

【0 6 1 8】

【化 1 1 9】

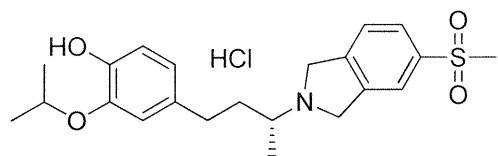


化合物例 68 : ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7.98 (s, 2H), 7.66 - 7.63 (m, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.75 - 6.69 (m, 2H), 4.83 (s, 4H), 3.85 (s, 3H), 3.63 - 3.59 (m, 1H)

), 3.13 (s, 3H), 2.82 - 2.76 (m, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.24 - 2.21 (m, 1H), 1.96 - 1.91 (m, 1H), 1.49 (d, J = 6.4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 376.15。

【0619】

【化120】

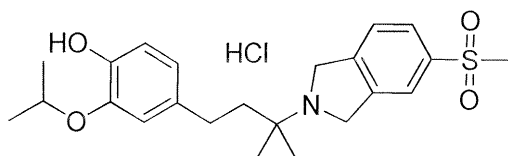


10

化合物例 69 : 1H NMR (400 MHz, CD3OD) : 7.99 (s, 2H), 7.64 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.84 (s, 4H), 4.60 - 4.55 (m, 1H), 3.60 - 3.56 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.78 - 2.73 (m, 1H), 2.62 - 2.58 (m, 1H), 2.22 - 2.18 (m, 1H), 1.93 - 1.89 (m, 1H), 1.48 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.31 (d, J = 6.0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 404.20。

【0620】

【化121】



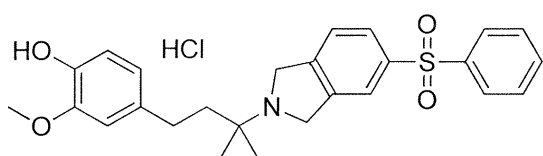
20

化合物例 70 : 1H NMR (400 MHz, CD3OD) : 8.01 (s, 2H), 7.67 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.78 - 6.70 (m, 2H), 4.84 (s, 4H), 4.60 - 4.56 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.70 - 2.66 (m, 2H), 2.08 - 2.04 (m, 2H), 1.55 (s, 6H), 1.31 (d, J = 6.0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 418.25。

30

【0621】

【化122】

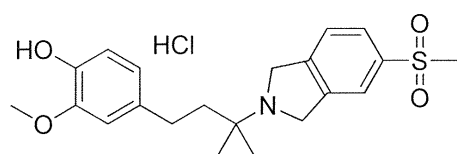


化合物例 71 : 1H NMR (400 MHz, CD3OD) : 7.99 - 7.91 (m, 4H), 7.62 - 7.54 (m, 4H), 6.83 (s, 1H), 6.72 - 6.68 (m, 2H), 4.82 (s, 4H), 3.81 (s, 3H), 2.70 - 2.65 (m, 2H), 2.08 - 2.02 (m, 2H), 1.51 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 452.00。

40

【0622】

【化123】

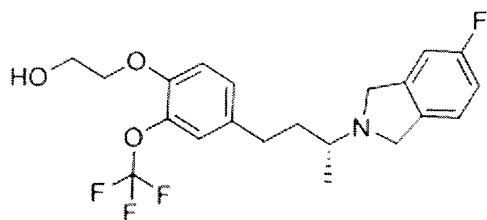


50

化合物例 72 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 8.00 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.74 - 6.70 (m, 2H), 4.85 (s, 4H), 3.85 (s, 3H), 3.13 (s, 3H), 2.72 - 2.68 (m, 2H), 2.10 - 2.06 (m, 2H), 1.56 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 390.15。

【0623】

【化124】

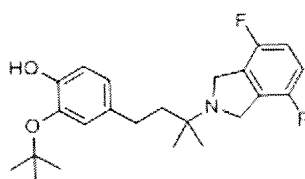


10

化合物例 73。

【0624】

【化125】

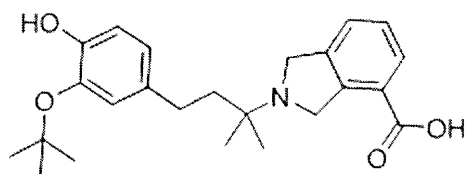


20

化合物例 74 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : 7.03 - 6.99 (m, 2H), 6.88 - 6.83 (m, 2H), 6.78 - 6.75 (m, 1H), 4.80 - 4.65 (m, 4H), 2.65 - 2.60 (m, 2H), 2.03 - 1.99 (m, 2H), 1.52 (s, 6H), 1.40 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 390.20。

【0625】

【化126】

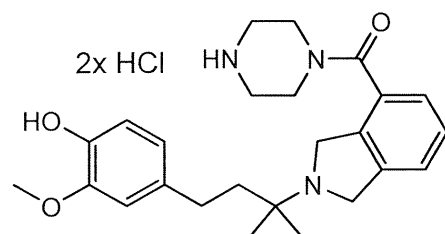


30

化合物例 75 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 8.07 - 8.05 (m, 1H), 7.66 - 7.54 (m, 2H), 6.90 - 6.78 (m, 3H), 5.20 - 4.80 (m, 4H), 2.67 - 2.60 (m, 2H), 2.07 - 2.00 (m, 2H), 1.55 (s, 6H), 1.35 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$)⁺ = 398.25。

【0626】

【化127】



40

化合物例 76 : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7.55 - 7.48 (m

50

, 3 H), 6.87 (s, 1 H), 6.72 - 6.70 (m, 2 H), 4.95 - 4.79 (m, 4 H) 3.90 - 3.80 (m, 7 H), 3.35 - 3.30 (m, 4 H), 2.72 - 2.69 (m, 2 H), 2.12 - 2.08 (m, 2 H), 1.56 (s, 6 H). LC-MS: 424.70 (M+1) +.

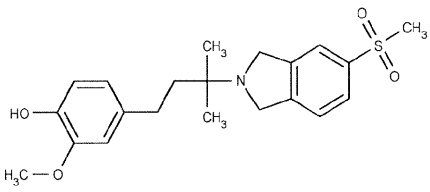
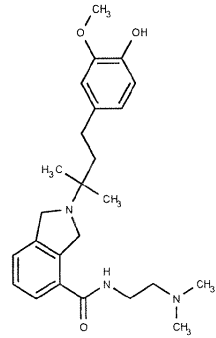
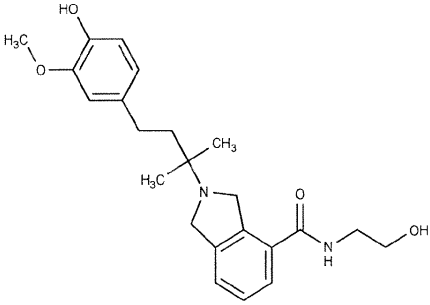
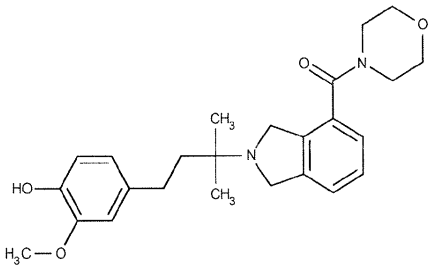
【0627】

上記のものと類似した方法で追加の化合物を調製し、表4に示すように、¹H-NMRおよびMSにより各化合物の構造を確認した。

【0628】

【表4】

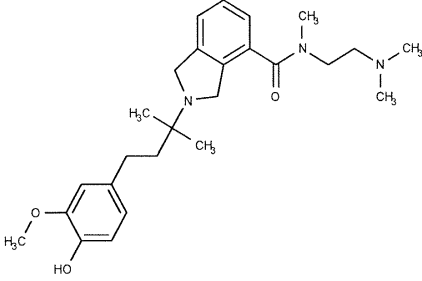
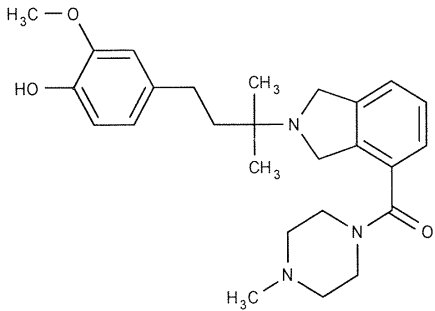
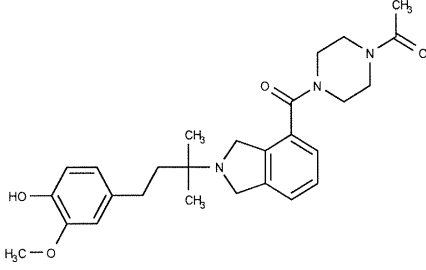
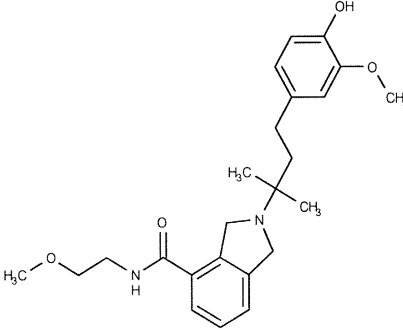
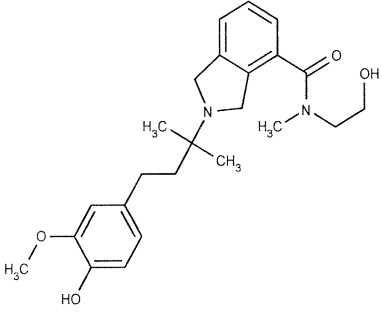
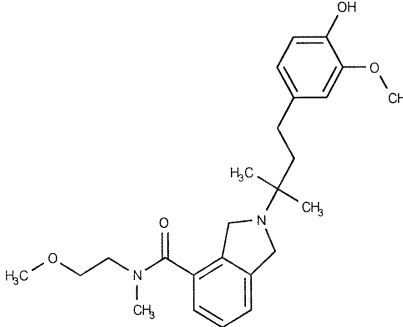
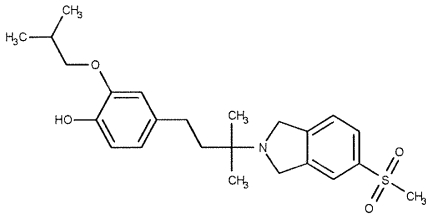
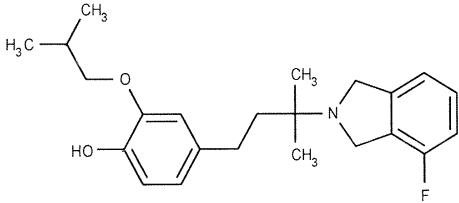
追加のイソインドリン化合物。

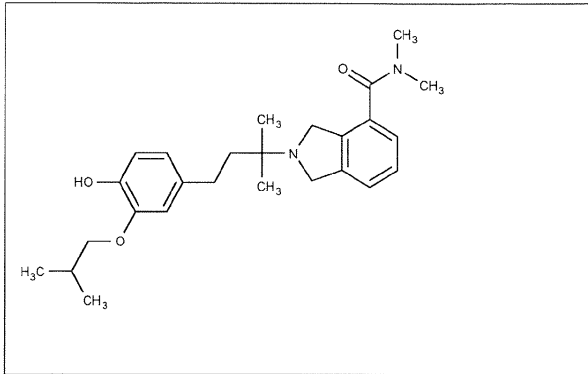
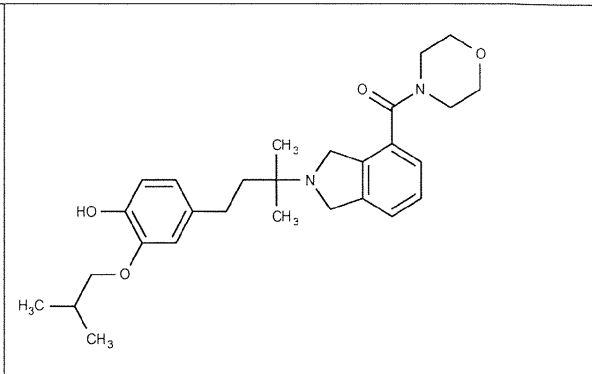
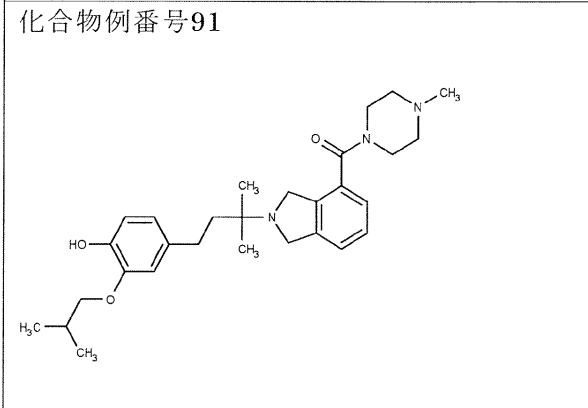
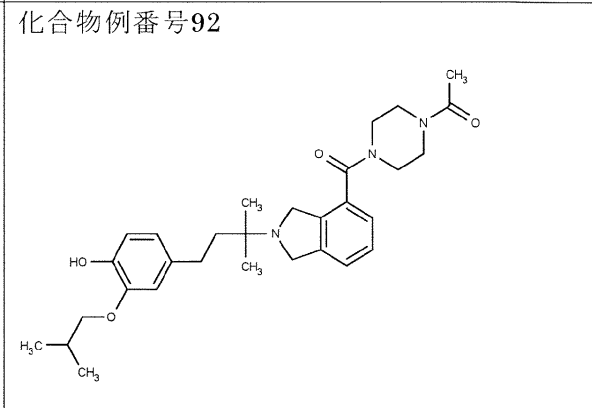
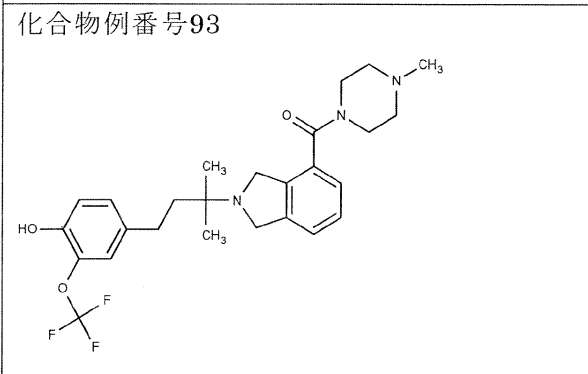
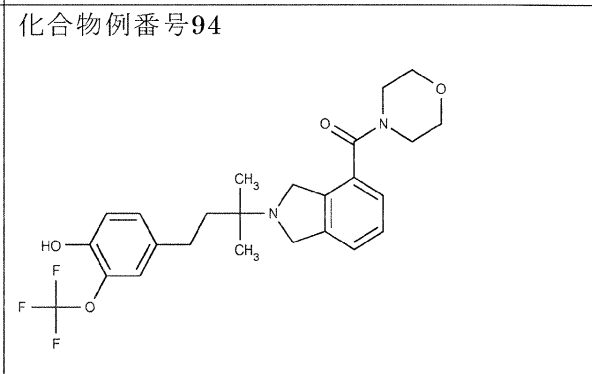
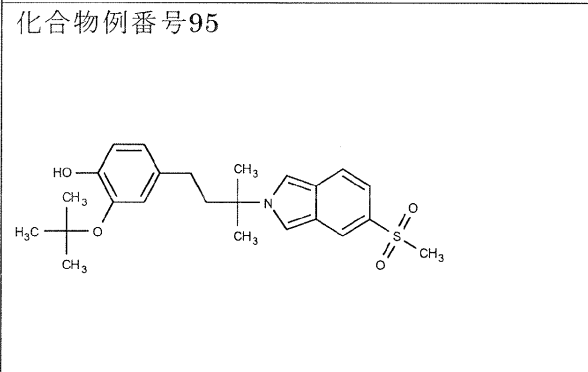
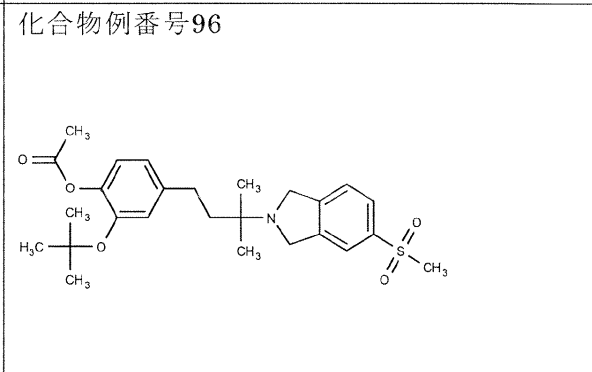
構造	構造
化合物例番号77 	化合物例番号78 
化合物例番号79 	化合物例番号80 
化合物例番号81	化合物例番号82

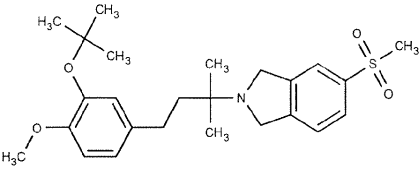
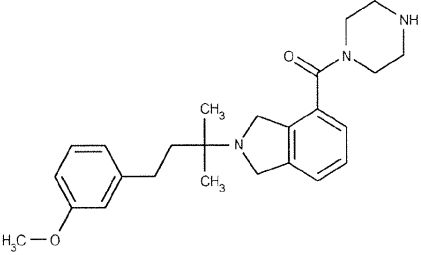
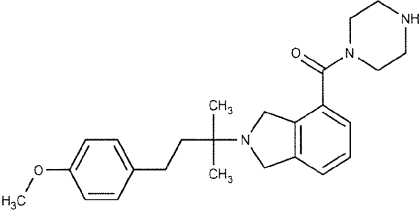
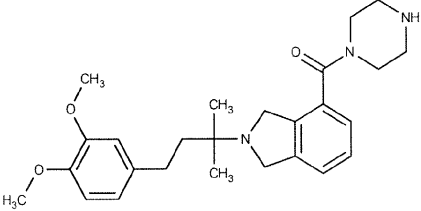
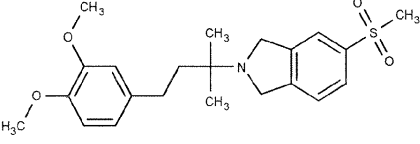
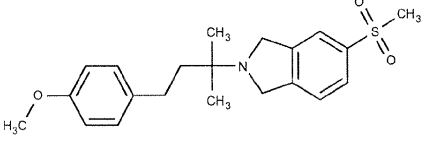
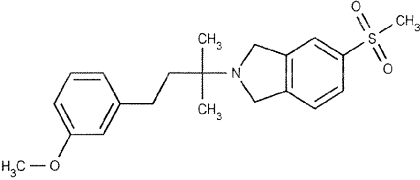
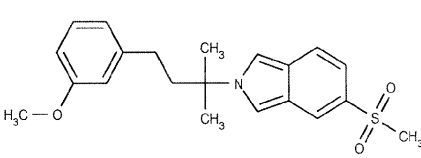
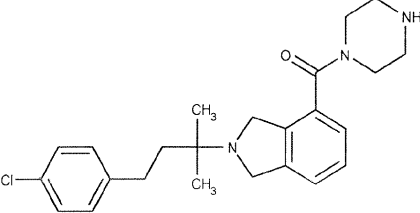
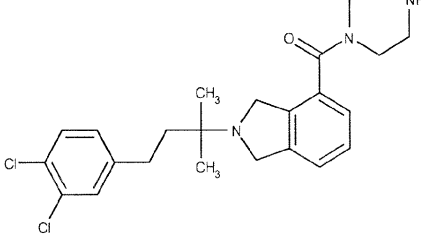
10

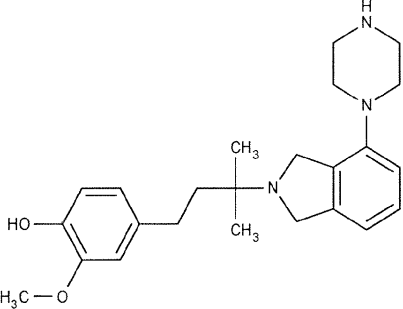
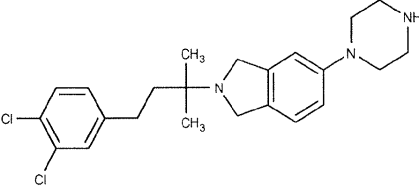
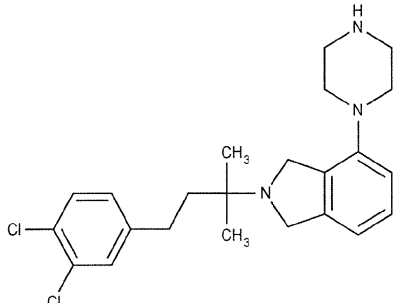
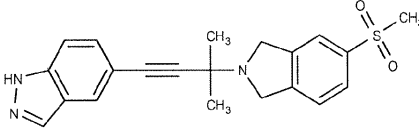
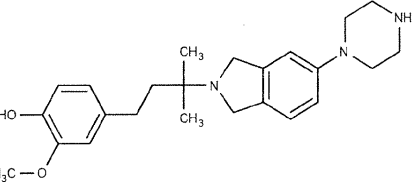
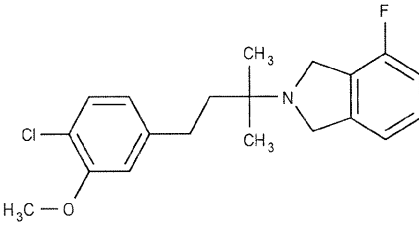
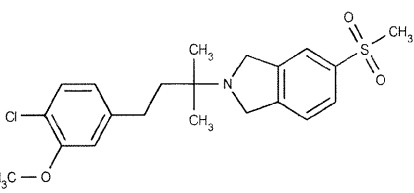
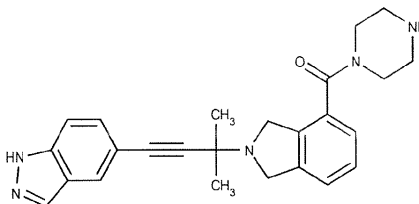
20

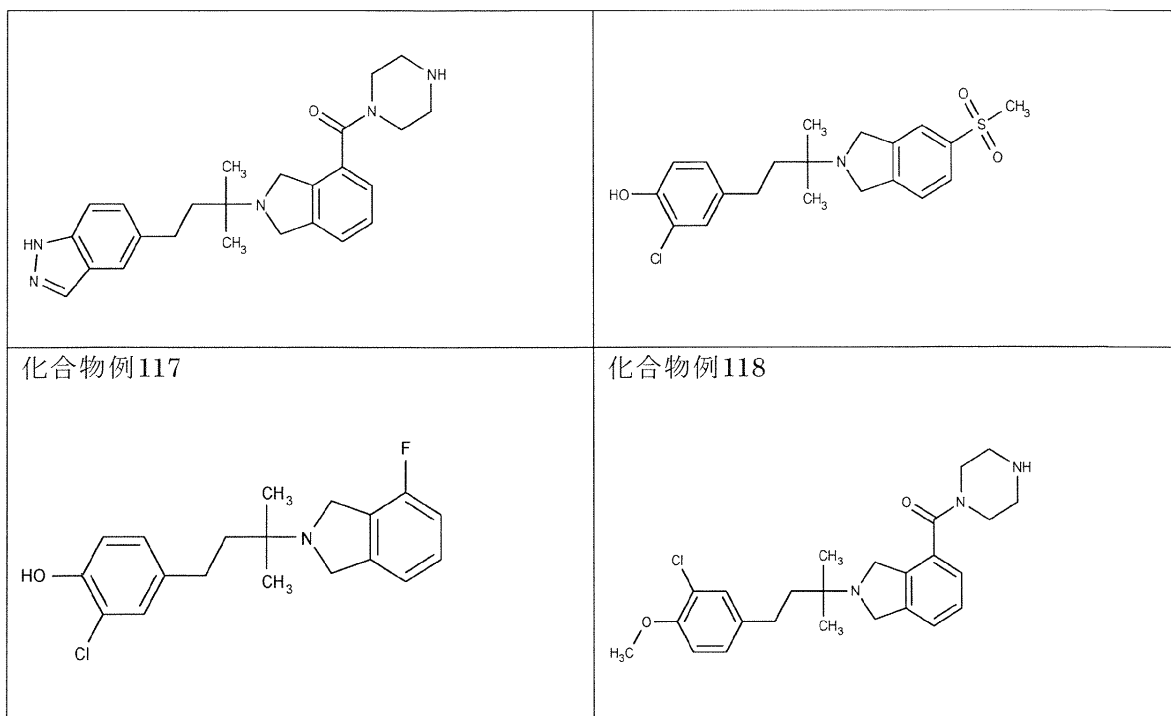
30

		10
<p>化合物例番号83</p> 	<p>化合物例番号84</p> 	
<p>化合物例番号85</p> 	<p>化合物例番号86</p> 	30
<p>化合物例番号87</p> 	<p>化合物例番号88</p> 	
<p>化合物例番号87</p>	<p>化合物例番号90</p>	

		10
<p>化合物例番号91</p> 	<p>化合物例番号92</p> 	20
<p>化合物例番号93</p> 	<p>化合物例番号94</p> 	30
<p>化合物例番号95</p> 	<p>化合物例番号96</p> 	40
<p>化合物例番号97</p>	<p>化合物例番号98</p>	

		10
<p>化合物例番号99</p> 	<p>化合物例100</p> 	
<p>化合物例101</p> 	<p>化合物例102</p> 	20
<p>化合物例103</p> 	<p>化合物例104</p> 	
<p>化合物例105</p> 	<p>化合物例106</p> 	40

<p>化合物例107</p> 	<p>化合物例108</p> 	10
<p>化合物例109</p> 	<p>化合物例110</p> 	
<p>化合物例111</p> 	<p>化合物例112</p> 	30
<p>化合物例113</p> 	<p>化合物例114</p> 	
<p>化合物例115</p>	<p>化合物例116</p>	



10

【0629】

20

要約および図面を含めた本明細書に開示されるあらゆる特徴ならびに開示される任意の方法または工程のあらゆる段階は、このような特徴および/または段階の少なくとも一部が互いに排反するような組合せを除き、任意の組合せで組み合わせ得る。要約および図面を含めた本明細書に開示される各特徴は、別途明記されない限り、同じ目的、同等の目的または類似した目的にかなう代替的特徴に置き換えることができる。したがって、別途明示されない限り、開示される各特徴は一般的な一連の同等の特徴または類似した特徴の一例にすぎない。当業者には、これまでの記載から、本明細書に記載される改変に加えて様々な改変が明らかになるであろう。このような改変も添付の「特許請求の範囲」の範囲に含まれるものとする。

【0630】

30

本明細書で言及される刊行物はいずれも、その全体が参照により組み込まれる。本明細書に記載されるものはいずれも、そのような開示が先行開示であるという理由で、本開示をそれに先行するものとする権利がないことを認めるものとして解釈されるべきではない。

フロントページの続き

- (72)発明者 リッシュトン, ギルバート
アメリカ合衆国, カリフォルニア州 90049, ロサンゼルス, 12160 モンタナ アベニ
ュー 9
- (72)発明者 カタラーノ, スーザン, エム.
アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 15203, ピッツバーグ, 2536エー シドニー スト
リート
- (72)発明者 ルック, ゲアリー, シー
アメリカ合衆国, カリフォルニア州 95051-1155, サンタ クララ, 2576 アメジ
スト ドライブ

審査官 東 裕子

- (56)参考文献 国際公開第2013/029057(WO, A1)
国際公開第2013/029060(WO, A1)
REGISTRY (STN) [online], 2011.06.08[検索日 2018.09.26]CAS登録番号 1307880-18-7
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D
CAplus/REGISTRY(STN)