

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-520727

(P2023-520727A)

(43)公表日 令和5年5月18日(2023.5.18)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 D 413/12 (2006.01)	C 0 7 D 413/12	C S P 4 C 0 6 3
A 6 1 K 31/422 (2006.01)	A 6 1 K 31/422	4 C 0 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全52頁) 最終頁に続く

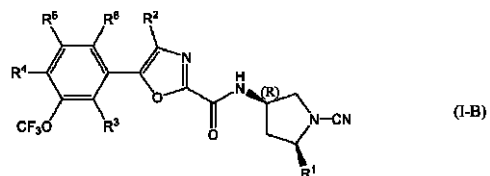
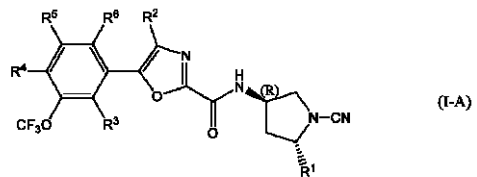
(21)出願番号	特願2022-561565(P2022-561565)	(71)出願人	517299582
(86)(22)出願日	令和3年4月7日(2021.4.7)		ミッション セラピューティクス リミテ
(85)翻訳文提出日	令和4年10月7日(2022.10.7)		イド
(86)国際出願番号	PCT/EP2021/059032		イギリス国, ケンブリッジ シービー-2 2
(87)国際公開番号	WO2021/204856		3 エーター, パブラハム, パブラハム
(87)国際公開日	令和3年10月14日(2021.10.14)		ホール
(31)優先権主張番号	2005250.2	(74)代理人	100099759
(32)優先日	令和2年4月8日(2020.4.8)		弁理士 青木 篤
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)	(74)代理人	100123582
			弁理士 三橋 真二
(31)優先権主張番号	2016607.0	(74)代理人	100117019
(32)優先日	令和2年10月20日(2020.10.20)		弁理士 渡辺 陽一
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)	(74)代理人	100141977
			弁理士 中島 勝
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA)	(74)代理人	100138210

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 U S P 3 0 阻害剤として活性を有する N - シアノピロリジン

(57)【要約】

本発明は、脱ユビキチン化酵素 U S P 3 0 の阻害剤として活性を有する N - シアノピロリジンのクラスに関するものであり、ミトコンドリア機能不全、がん及び線維症を含む状態を含む種々の治療分野において有用である。

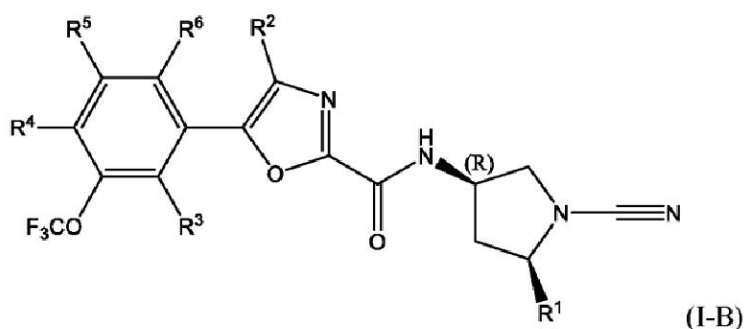
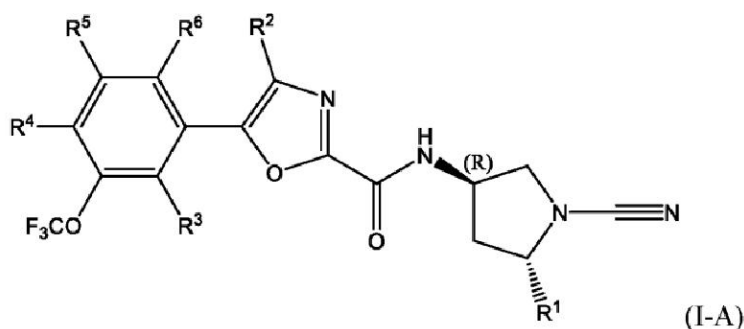


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I - A) 及び式 (I - B) :

【化 1】



[式中、

R^1 は、($C_1 - C_4$) アルキル、($C_1 - C_4$) フルオロアルキル、 CH_2OCH_3 、 $CH_2N(CH_3)_2$ 、 $CH_2O(CH_2)_2(CH_3)_2$ 及び $CH_2SO_2CH_3$ から選択され；

R^2 は、水素及びメチルから選択され；

R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して水素、重水素及びフッ素から選択される] 30

から選択される式 (I) の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩。

【請求項 2】

R^1 が、メチル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CH_2OCH_3 、 $CH_2N(CH_3)_2$ 、 $CH_2O(CH_2CH_2O)_2N(CH_3)_2$ 及び $CH_2SO_2CH_3$ から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R^1 がメチル及び CH_2OCH_3 から選択される、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

R^2 が水素である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。 40

【請求項 5】

R^3 、 R^4 及び R^6 がそれぞれ水素である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 6】

R^5 が水素及びフッ素から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物。

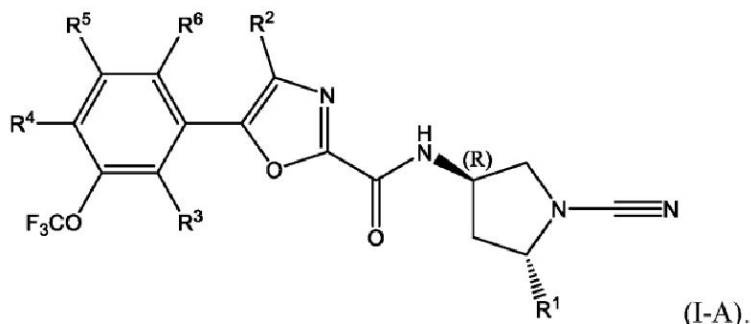
【請求項 7】

R^5 が水素である、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

式 (I ~ A) :

【化 2】



10

を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 9】

N - ((3 R , 5 S) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル) ピロリジン - 3 - イル)
- 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;
及び

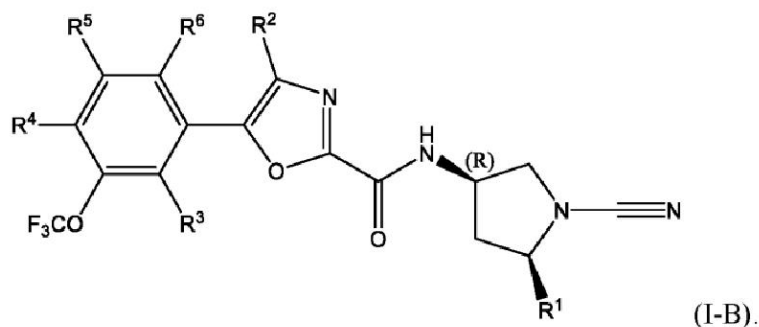
N - ((3 R , 5 R) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 -
(トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;
から選択される、請求項 8 に記載の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互
変異性体の薬学的に許容される塩。

20

【請求項 10】

式 (I ~ B) :

【化 3】



30

を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 11】

N - ((3 R , 5 R) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル) ピロリジン - 3 - イル)
- 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;
及び

N - ((3 R , 5 S) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 -
(トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド
から選択される、請求項 10 に記載の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは
互変異性体の薬学的に許容される塩。

40

【請求項 12】

薬剤として使用するための、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の化合物、その互変
異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩。

【請求項 13】

ミトコンドリア機能不全、がん、又は線維症を伴う状態の治療又は予防に使用するた
めの、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若
しくは互変異性体の薬学的に許容される塩。

【請求項 14】

50

ミトコンドリア機能不全、がん、又は線維症を伴う状態の治療又は予防に使用する薬剤の製造における、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩の使用。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩を、それを必要とする患者に投与するステップを含む、ミトコンドリア機能不全、がん、又は線維症を伴う状態の治療又は予防方法。

【請求項 16】

ミトコンドリア機能不全を伴う状態が、CNS 障害：神経変性疾患；パーキンソン病；アルツハイマー病；筋萎縮性側索硬化症；ハンチントン病；虚血；脳卒中；レビー小体型認知症；前頭側頭型認知症；多発性硬化症；ミトコンドリア脳症、乳酸アシドーシス及び脳卒中様エピソード症候群；物質遺伝性糖尿病及び難聴；レーバー遺伝性視神経症；神経障害、運動失調症、網膜色素変性症 - 母性遺伝の Leigh 症候群；ダノン病；糖尿病；糖尿病性腎症；代謝障害；心不全；心筋梗塞につながる虚血性心疾患；精神疾患、統合失調症；複数のスルファターゼ欠乏；ムコリピドーシス I I；ムコリピドーシス I I I；ムコリピドーシス I V；GM1 - ガングリオシドーシス；神経セロイド - リポフスチン症；アルパー病；パース症候群；ベータ酸化欠陥；カルニチン - アシル - カルニチン欠乏；カルニチン欠乏；クレアチン欠乏症候群；コエンザイム Q10 欠乏；複雑な I 欠乏；複雑な I I 欠損；複雑な I I I 欠損；複雑な I V 欠乏；複雑な V 欠乏；COX 欠乏；慢性進行性外眼筋麻痺症候群；CPT I 欠乏；CPT I I 欠乏；グルタル酸尿症 I I 型；カーンズ・セイヤー症候群；乳酸アシドーシス；長鎖アシル CoA デヒドロゲナーゼ欠乏；Leigh 病又は症候群；Leigh 症候群フランス系カナダ人のバリエーション；致命的な乳児心筋症；ルフト病；中鎖アシル - CoA デヒドロゲナーゼ欠乏；ミオクロヌステんかん及び赤色ぼろ線維症候群；ミトコンドリア細胞障害；ミトコンドリア劣性運動失調症候群；ミトコンドリア DNA 枯渇症候群；筋神経胃腸障害及び脳症；ピアソン症候群；ピルビン酸デヒドロゲナーゼ欠損症；ピルビン酸カルボキシラーゼ欠乏；POLG 突然変異；中鎖 / 短鎖 3 - ヒドロキシアシル - CoA デヒドロゲナーゼ欠損症；及び非常に長鎖のアシル - CoA デヒドロゲナーゼ欠損症；ペルオキシソーム障害；メチルマロン酸血症；並びに加齢に伴う認知機能及び筋力の低下から選択される、請求項 13 ~ 15 に記載の化合物、使用、又は方法。

【請求項 17】

神経変性疾患が、パーキンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、虚血、脳卒中、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、前頭側頭型認知症； - シヌクレイン、パーキン、PINK1、GBA、及び LRRK2 の突然変異に関連するパーキンソン病、及びパーキンが突然変異している常染色体劣性若年性パーキンソン病から選択される、請求項 16 に記載の化合物、使用、又は方法。

【請求項 18】

神経変性疾患が、Leigh 症候群又は疾患、X連鎖 Leigh 病、Leigh 症候群フランス系カナダ人のバリエーション、及び / 又は Leigh 病に関連する症状である、請求項 16 に記載の化合物、使用又は方法。

【請求項 19】

がんが、乳房、卵巣、前立腺、肺、腎臓、胃、結腸、精巣、頭頸部、脾臓、脳、黒色腫、骨、肝臓、軟部組織、組織器官のがん、血液細胞のがん、CML、AML、マンツル細胞リンパ腫、神経芽細胞腫、黒色腫、軟部肉腫、脂肪肉腫、線維芽細胞肉腫、平滑筋肉腫、肝細胞がん、骨肉腫、食道がん、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、転移性癌腫、骨肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、鼻咽頭癌、結腸直腸癌、結腸直腸癌、非小細胞肺癌、アポトーシス経路が調節不全になっている癌、及び BCL-2 ファミリーのタンパク質が突然変異しているか、過剰発現又は過小発現している癌から選択される、請求項 13 ~ 15 に記載の化合物、使用又は方法。

【請求項 2 0】

線維症が、外傷、炎症、組織修復、免疫学的反応、細胞過形成、及び新生物の後に起こる細胞外マトリックス成分の蓄積に関連する線維症又は線維性障害から選択される、請求項 1 3 ~ 1 5 に記載の化合物、使用、又は方法。

【請求項 2 1】

線維症が、主要臓器疾患、線維増殖性障害、及び外傷に関連する癒痕に関連する線維症又は線維性障害から選択される、請求項 2 0 に記載の化合物、使用又は方法。

【請求項 2 2】

線維症が、間質性肺疾患、肝硬変、非アルコール性脂肪肝疾患、非アルコール性脂肪肝疾患、及び非アルコール性脂肪性肝炎、腎臓病、急性腎障害、慢性腎臓病、遅延型腎移植機能、心臓又は血管疾患、眼の疾患、全身及び局所の強皮症、ケロイド、肥厚性癒痕、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、デュピュイトラン拘縮、外科的合併症、化学療法薬物誘発性線維症、放射線誘発性線維症、偶発的な損傷及び火傷、後腹膜線維症、ならびに腹膜線維症 / 腹膜癒痕化に関連する線維症又は線維性障害から選択される、請求項 2 1 に記載の化合物、使用又は方法。

10

【請求項 2 3】

間質性肺疾患に関連する線維症が、サルコイドーシス、珪肺症、薬物反応、感染症、コラーゲン血管疾患、関節リウマチ、全身性硬化症、強皮症、肺線維症、特発性肺線維症、通常の間質性肺炎、間質性肺疾患、原因不明の線維性肺炎、閉塞性細気管支炎、及び気管支拡張症から選択される、請求項 2 2 に記載の化合物、使用又は方法。

20

【請求項 2 4】

前記腎疾患が急性腎障害又は慢性腎疾患である、請求項 2 2 に記載の化合物、用途又は方法。

【請求項 2 5】

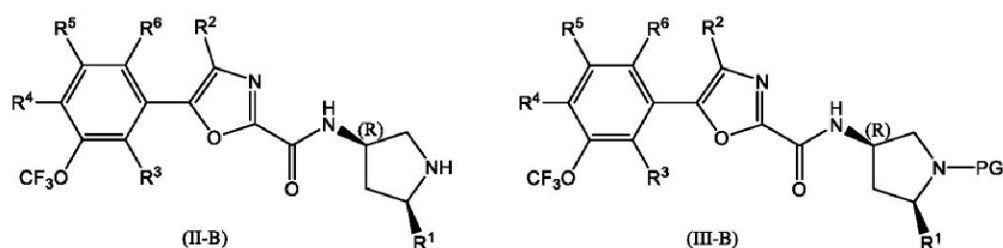
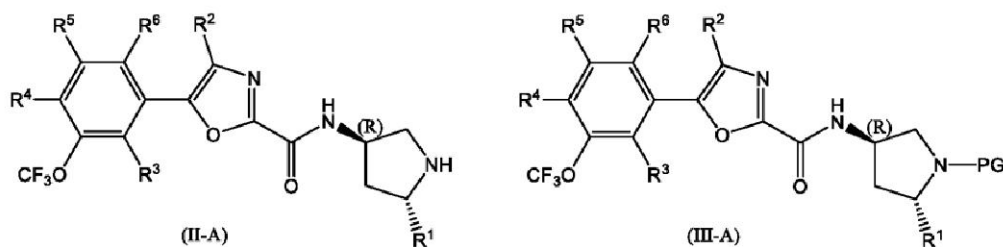
請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の式 (I) の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩を、1 種以上の薬学的に許容される賦形剤と共に含む、医薬組成物。

【請求項 2 6】

式 (I I - A)、(I I I - A)、(I I - B) 及び (I I I - B) :

【化 4】

30



40

[式中、

R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 及び R⁶ は、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の式 (I) の化合物について定義した通りであり；PG は保護基であり、好ましくは tert - ブチルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、p - メトキシベンジルカルボニ

50

ル、9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、カルバメート、p - メトキシベンジル、3 , 4 - ジメトキシベンジル、p - メトキシフェニル、トシル、トリクロロエトキシカルボニル、4 - ニトロベンゼンスルホニル及び2 - ニトロフェニルスルフェニルから選択される]

から選択される化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の塩。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ユビキチン特異的ペプチダーゼ30 (USP30) としても知られる、脱ユビキチン化酵素ユビキチンC末端ヒドロラーゼ30の阻害剤としての活性を有するN - シアノピロリジンのクラス、その使用、その調製方法、及び該阻害剤を含有する組成物に関する。これらの阻害剤は、ミトコンドリア機能不全、がん及び線維症を伴う疾患を含む種々の治療分野において有用である。

10

【0002】

以下に引用又は依拠される全ての文献は、参照により本明細書に明示的に援用される。

【背景技術】

【0003】

ユビキチンは76個のアミノ酸からなる小さなタンパク質で、細胞内のタンパク質機能の調節に重要である。ユビキチン化と脱ユビキチン化は、ユビキチンが脱ユビキチン化酵素 (DUB) によって標的タンパク質に共有結合又は切断される酵素的過程であり、そのうち約100のDUBがヒト細胞中に存在し、配列相同性に基づいてサブファミリーに分けられる。USPファミリーの特徴は、DUB活性に重要なCysとHis残基を含む共通のCysとHisボックスである。ユビキチン化及び脱ユビキチン化プロセスは、細胞周期進行、アポトーシス、細胞表面受容体の修飾、DNA転写及びDNA修復を含む多くの細胞機能の調節に関与している。このように、ユビキチン系は、炎症、ウイルス感染、代謝機能障害、中枢神経系障害、及び発がんを含む多くの疾患状態の病因に関係している。

20

【0004】

ユビキチンはミトコンドリア動態のマスターレギュレーターである。ミトコンドリアはダイナミックオルガネラであり、その生合成、融合及び分裂事象は、ミトフシンのような多くの主要因子のユビキチン化を介した翻訳後調節によって調節される。ヒトにおいて、USP30は、ミトコンドリア外膜に見出される517アミノ酸タンパク質である (Nakamuraら、2008、Mol Biol 19 : 1903 - 11)。これはミトコンドリアアドレスシグナルをもつ唯一の脱ユビキチン化酵素であり、多くのミトコンドリアタンパク質を脱ユビキチン化することが示されている。USP30がパーキン媒介マイトファジーに拮抗し、USP30活性の低下がパーキン媒介マイトファジーにおけるパーキン媒介欠損を救うことができることが実証されている (Bingol et al., 2015, Nature 510 : 370 - 5 ; Gersch et al., 2017, Nat Struct Mol Biol 24 (11) : 920 - 930 ; Cunningham et al, 2015, Nat Cell Biol 17 (2) : 160 - 169)。USP30の不活性化はまた、潜在的にTOMタンパク質のユビキチン化を介して、ミトコンドリアタンパク質の取込みを増加させることができる (Jacoupy et al., 2019, Sci Rep 9 (1) : 11829)。USP30のごく一部はペルオキシソームに局在しており、ミトコンドリア小胞とER小胞の融合により生成され、USP30はPex2 / ペクスファジー経路に拮抗する可能性がある (Ricciolaら、2019、J Cell Biol 218 (3) : 798 - 807)。E3 UbリガーゼMarch5及びデユビキチナーゼUSP30は、トランスロカーゼと会合し、ミトコンドリアの取込みを調節し、March5は、ミトコンドリアの取込みに反対し、基質の分解を指令するが、USP30は、基質の取込みを促進するために基質を脱ユビキチン化する (Phu et al., 2020, Molecular Cell

30

40

50

77, 1107 - 1123)。

【0005】

ミトコンドリアの機能障害は、ミトコンドリア内容の減少（ミトファジー又はミトコンドリア合成）、ミトコンドリア活性の低下及び酸化リン酸化、ならびに活性酸素種（ROS）生成の調節と定義される。従って、非常に多数の老化過程及び病理におけるミトコンドリア機能不全の役割。

【0006】

例えば、パーキンソン病は世界中で約1,000万人が罹患し（パーキンソン病財団）、黒質のドーパミン作動性ニューロンの消失を特徴とする。PDの根底にある正確な機序は不明であるが、ミトコンドリア機能不全はPDにおけるドーパミン作動性ニューロン感受性の重要な決定因子として次第に認識されており、家族性及び散发性疾患のほか、毒素誘発性パーキンソン症候群の特徴である。パーキンソンは、早期発症PDに関与する多くのタンパク質の1つである。ほとんどのPD症例は - シヌクレインの欠損と関連しているが、パーキンソン病症例の10%は特異的な遺伝的欠損と関連しており、そのうちの1つはユビキチンE3リガーゼパーキンにある。パーキンとプロテインキナーゼPTEN誘導推定キナーゼ1（PINK1）は協働してミトコンドリアのミトコンドリア膜タンパク質をユビキチン化し、ミトファジーをもたらす。ミトファジーの調節障害は、PDの特徴として報告されている酸化ストレスの増加をもたらす。従って、USP30の阻害はPDの治療のための潜在的戦略である可能性がある。例えば、活性を低下させるパーキン突然変異を有するPD患者は、USP30の阻害によって治療的に代償され得る。

【0007】

USP30の欠乏はミトコンドリアのミトファジークリアランスを増強し、パーキンソン誘発細胞死を増強することが報告されている。USP30はまた、パーキンの過剰発現とは無関係にBAX/BAK依存性アポトーシスを調節することが示されている。USP30の欠乏は、パーキンの過剰発現を必要とせず、ABT-737のようなBH3模倣体に対してがん細胞を感作する。従って、抗アポトーシスの役割がUSP30及びUSP30について実証されており、従って、USP30は抗がん治療の潜在的標的である。

【0008】

ユビキチン-プロテアソーム系は、プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブ（ベルケイド（登録商標））が多発性骨髄腫の治療薬として承認されて以来、がん治療の標的として注目を集めている。ボルテゾミブによる長期治療は、関連する毒性及び薬剤耐性により制限される。しかしながら、DUBのようなプロテアソームの上流のユビキチン-プロテアソーム経路の特定の側面を標的とする治療戦略は、より良好な忍容性が予測される（Bedfordら、2011、Nature Rev 10:2946）。

【0009】

腎線維症、肝線維症、肺線維症などの線維性疾患は、罹病率及び死亡率の主要原因であり、すべての組織及び臓器系に影響を及ぼしうる。線維化は、細胞外マトリックス沈着、血管/尿細管/管/気道の開存性の低下、及び最終的に臓器不全をもたらす機能の障害を特徴とする組織又は臓器に対する急性又は慢性のストレスの結果であると考えられる。多くの線維性疾患は、生活様式又は環境因子によって促進されるが、線維性疾患の一部は遺伝的引き金を介して開始されるか、又は実際に特発性（すなわち、既知の原因がない）と考えられる。特発性肺線維症（IPF）のようなある種の線維症は、非特異的キナーゼ阻害薬（ニンテダニブ）や、作用機序がよくわかっていない薬物（ピルフェニドン）で治療できる。腎線維症や肝線維症などの臓器線維症に対する他の治療法は、臓器自体への圧力を軽減する（例えば、肝硬変に対する遮断薬、慢性腎疾患に対するアンジオテンシン受容体遮断薬）。グルコースや食事のコントロールなどの生活習慣因子に注意を払うことも、病気の経過や重症度に影響を及ぼす。

【0010】

ミトコンドリアの機能障害は、ATP産生の減少と共に、主要な病原性メディエーターである酸化ストレスの下流にある、多くの線維性疾患に関係している。前臨床モデルでは

、マイトファジー経路の破壊（パーキン又はPINK1の突然変異又はロックアウトを介する）が肺線維症及び腎線維症を悪化させ、酸化ストレスの増加を示す証拠が認められる。

【0011】

Kurita et al., 2017, Respiratory Research 18:114は、線維化促進性筋線維芽細胞の蓄積がIPFにおける線維化リモデリングの重要なプロセスであることを開示している。最近の知見は、IPFの病因におけるリソソーム分解機構の一部であるオートファジー/マイトファジーの関与を示し、ミトファジーがミトコンドリア活性酸素種（ROS）媒介血小板由来成長因子受容体（PDGFR）活性化の調節を介して筋線維芽細胞分化に関与していることを示していると言われている。クリタの結果は、ピルフェニドンがPARK2媒介有糸分裂を誘導し、また、不十分な有糸分裂の状況で肺線維症発生を阻害することを示唆し、これはIPF治療の抗線維症機序を少なくとも部分的に説明する可能性がある。

10

【0012】

Williamsら、2015、Pharmacol Res. 12月; 102:264-269、ミトファジーを介して損傷したミトコンドリアを除去することによるアルコール及びアセトアミノフェン誘発性肝障害に対する保護におけるPINK1-パーキン媒介オートファジーの役割について考察する。USP8の薬理的安定化又はUSP15及びUSP30の不活性化は、パーキン誘発性マイトファジーをアップレギュレートし、ひいては薬物誘発性肝障害を防ぐための潜在的な治療標的であることが示唆される。しかしながら、DUBは転写的にも翻訳後にも調節されており、これらの特異的酵素を標的とする薬物開発を困難にする可能性があり、さらに、リン酸化されたユビキチンはDUBに耐性であることが示された。著者らは、PINK1の安定化又はキナーゼ活性のアップレギュレーションは、DUBの阻害よりも有効な標的である可能性がある」と結論づけている。

20

【0013】

Williams et al., 2015, Biomolecules 5, 2619-2642, 及びWilliams et al., 2015, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 309:G324-G340, 肝臓におけるミトコンドリア恒常性の調節に関するメカニズム、及びこれらのメカニズムがアルコール誘発性肝疾患をどのように防御するかをレビューした。

30

【0014】

Luciani et al., 2020, Nat. Commun. 11, 970は、最終分化細胞におけるミトコンドリアネットワークの制御解除が、メチルマロン酸血症（MMA）を含む広範な障害に寄与すると報告している。メタクリル酸メチルは、ミトコンドリアのメチルマロニル補酵素Aムターゼ（MMUT）の欠損による最も一般的な遺伝性代謝障害の1つである。MMUT欠損は、PINK1/パーキン媒介ミトファジーの異常により悪化する代謝及びミトコンドリアの変化を誘発し、上皮ストレスを引き起こし、最終的に細胞損傷を引き起こす機能不全ミトコンドリアの蓄積を引き起こす。原発性MMUT欠損症、ミトコンドリア疾患、ミトファジー機能不全及び上皮ストレスとの関連が示唆されており、メタクリル酸メチルの潜在的な治療的展望が示されている。

40

【0015】

Klugerら、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2018, 28 2655-2659は、USP30の選択的阻害剤がマイトファジーを促進することを報告している。

【0016】

N-シアノ置換複素環の一連の誘導体は、各々が参照により本明細書に明示的に組み込まれるPCT出願WO2016/046530（US15/513125、US15/894025、US16/448066）、WO2016/156816（US15/558632、US16/297937、US16/419558、US16/419747、US16/788446）、WO2017/009650（US15/738900）

50

、WO2017/093718 (US15/776149)、WO2017/103614 (US15/781615)、WO2017/149313 (US16/078518)、WO2017/109488 (US16/060299)、WO2017/141036 (US16/070936)、WO2017/163078 (US16/087515)、WO2017/158381 (US16/080229)、WO2017/158388 (US16/080506)、WO2018/065768 (US16/336685)、WO2018/060742 (US16/336202)、WO2018/060689 (US16/334836)、WO2018/060691 (US16/336363)、WO2018/220355 (US16/615040)、WO2018/234755 (US16/615709)、WO2020/212350、WO2020/212351及びWO2021/043870において脱ユビキチン化酵素阻害剤として開示されている。参照により本明細書に明示的に組み込まれるPCT出願WO2019/171042 (米国特許第16/977019号)は、線維性疾患の治療のためのUSP30の阻害剤としてのN-シアノピロリジンの使用を開示している。

【0017】

Falgueryret et al, 2001, J. Med. Chem. 44, 94-104、及びPCT出願WO01/77073は、カテプシンK及びLの阻害剤としてのシアノピロリジンを指し、骨粗鬆症及び他の骨吸収関連疾患の治療に潜在的に有用である。PCT出願WO2015/179190は、潰瘍性大腸炎及びクローン病の治療に潜在的有用性を有するナシレタノールアミン加水分解酸アミダーゼ阻害剤を指す。PCT出願WO2013/030218は、USP7のようなユビキチン特異的プロテアーゼの阻害剤としてのキナゾリン-4-オン化合物を指し、がん、神経変性疾患、炎症性疾患、及びウイルス感染の治療に潜在的に有用である。PCT出願WO2015/017502及びWO2016/019237は、自己免疫疾患、炎症性疾患及びがんのような疾患の治療に潜在的に有用なブルトン型チロシンキナーゼの阻害剤を指す。PCT出願WO2009/026197、WO2009/129365、WO2009/129370、及びWO2009/129371は、COPDの治療に有用である可能性のあるカテプシンCの阻害剤としてのシアノピロリジンを参照している。米国特許出願第2008/0300268号は、チロシンキナーゼ受容体PDGFRの阻害剤としてのポリ芳香族化合物を指す。PCT出願WO2019/222468、WO2019/071073、WO2020/036940及びWO2020/072964、Rusilowicz-Jonesら、2020、バイオRxiv 2020.04.16.0444206 (2020年4月20日)、及びTsefouら、バイオRxiv 2021.02.429344 (2021年2月2日)は、USP30阻害剤としてのシアナミド含有化合物を指す。

【0018】

PCT出願WO2015/183987は、がん、線維症、自己免疫疾患又は状態、炎症性疾患又は状態、神経変性疾患又は状態、又は感染を治療する方法において、デユビキチナーゼ阻害剤及びヒト血清アルブミンを含む医薬組成物を指す。UCHL5/UCH37、USP4、USP9X、USP11及びUSP15を含むデユビキチナーゼは、TGF- β シグナル伝達経路の調節に関与していると言われており、その破壊は神経変性及び線維性疾患、自己免疫機能障害及びがんを引き起こす。

【0019】

PCT出願WO2006/067165は、インドリノンキナーゼ阻害剤を用いて線維性疾患を治療する方法を指す。PCT出願WO2007/119214は、エンドセリン受容体アンタゴニストを用いて初期の肺線維症を治療する方法を指す。PCT出願WO2012/170290は、THC酸を使用して線維性疾患を治療する方法を指す。PCT出願WO2018/213150は、ミトコンドリア欠損を含む状態の処置において潜在的有用性を有するスルホンアミドUSP30阻害剤を指す。Larson-Casey et al., 2016, Immunity 44, 582-596は、マクロファージAkt1キナーゼ媒介有糸分裂、アポトーシス抵抗性及び肺線維症に関する。Tang

et al., 2015, *Kidney Diseases* 1, 71 - 79 は、腎病態生理学におけるミトファジーの潜在的役割をレビューしている。

【0020】

ミトコンドリア機能不全、がん及び線維症、ならびにそれらに関連する種々の症状及び状態を含む状態の治療又は予防のための安全、代替、及び/又は改良された方法及び組成物に対する必要性が存在する。いかなる特定の理論又はメカニズムにも拘束されることを望まないが、本発明の化合物は、酵素USP30を阻害するように作用し、次いで、パーキン誘導ミトファジーをアップレギュレートすると考えられる。

【0021】

急性腎障害 (AKI) は、腎疾患改善グローバルアウトカム (KDIGO) ガイドラインに記載されているように、血清クレアチニン (SCr) の増加と尿量の減少に基づいて分類された損傷の重症度を伴う7日以内に起こる腎機能の突然の低下と定義される。AKIは年間約1,330万人に発生し、その85%は開発途上世界に住んでおり、毎年約170万人の死亡に寄与していると考えられている (Mehta et al., 2015, *Lancet* 385 (9987): 2616 - 2643)。AKIは永続的な腎障害 (すなわち、慢性腎疾患; CKD) を引き起こす可能性が高く、非腎臓器の損傷を引き起こす可能性もある。AKIは、特に発症CKD、進行性CKD、末期腎疾患及び心血管イベントを発症する患者の絶対数を考慮する場合、重要な公衆衛生上の懸念である。AKIはCOVID-19により入院した患者に多く、院内死亡率と強く関連しており、ミトコンドリア損傷及び機能障害は潜在的な病態生理学的機序及び治療標的として報告されている (Kellum et al., *Nephrol Dial Transplant* (2020) 35: 1652 - 1662)。

【0022】

AKI及びCKDは、同一の疾患スペクトル上の連続体とみなされる (Chawla et al., 2017, *Nat Rev Nephrol* 13 (4): 241 - 257)。冠動脈バイパス移植 (CABG) を受ける患者は腎損傷のリスクが高い。AKIの治療及び/又は予防のための医薬品の開発には、明らかに満たされていない医学的ニーズがある。

【0023】

腎臓は高い代謝要求部位であり、*in vivo* で高い有糸分裂率が示された (McWilliamsら、2018, *Cell Metab* 27 (2): 439 - 449 e435)。腎近位尿細管上皮細胞 (RPTEC) は溶質/イオン交換に顕著なATP要求性を有する細胞型であり、ミトコンドリアに富み、腎臓における急性腎障害 (AKI) の主要エフェクター細胞である。ミトコンドリア機能不全は、前臨床AKI及びCKDモデルからの複数の証拠系を通して、また患者生検において異常なミトコンドリア表現型を示すデータを通して (Emma et al., 2016, *Nat Rev Nephrol* 12 (5): 267 - 280; Eirin et al., 2017, *Handb Exp Pharmacol* 240: 229 - 250)、AKI/CKD機序に関係している。さらに、原発性ミトコンドリア疾患は、しばしば、MELAS/MIDD患者における巣状分節性糸球体硬化症 (Kawakamiら、2015, *J Am Soc Nephrol* 26 (5): 1040 - 1052)、及びコエンザイムQ欠損症患者における原発性尿細管病変などの腎症状で発現する。mtDNAの突然変異は母性遺伝性尿細管間質性疾患を引き起こす可能性がある (Connor et al., 2017, *PLoS Genet* 13 (3): e1006620)。

【0024】

腎損傷におけるミトコンドリア品質管理に関しては (Tangら、2018, *Autophagy* 14 (5): 880 ~ 897)、PINK1 KO及びPARK2 KOマウスのいずれにおいても、虚血性AKI後に腎損傷が悪化することを示し、PINK1/PARKIN媒介性ミトファジーが腎臓におけるIRI後に保護的役割を果たすことを示唆した。さらに、パーキン/PINK1ミトファジーはシスプラチン誘発性腎障害を

防ぐ (Wang et al., 2018, Cell Death Dis 9 (11) : 1113)。ミトファジーの研究に利用できるCKDのモデルは限られており、線維症におけるミトコンドリアの品質管理の裏付けとなる証拠は、COPD及びIPFなどの線維性肺疾患に関する研究から得られている。パーキンロックアウト動物は、プレオマイシンに応答して肺線維症の増悪を示す (Kobayashiら、2016、J Immunol、197 : 504 - 516)。同様に、パーキンロックアウト (KO) 動物由来の気道上皮細胞は、タバコ煙に対する線維化及び老化反応の増悪を示す (Araya et al., 2019, Autophagy 15 (3) : 510 - 526)。

【0025】

前臨床モデルは、ヒトの状態と一致する線維症病理 (例えば、コラーゲン沈着) をモデル化する能力を通して、潜在的な新規治療法を研究するために利用可能である。前臨床モデルは、毒素媒介性 (例えば、肺及び皮膚線維症に対するプレオマイシン)、外科的 (例えば、虚血/再灌流障害モデル及び急性尿細管間質性線維症に対する一側性尿管閉塞モデル)、及び遺伝的 (例えば、糖尿病性腎症に対する糖尿病性 (db/db) マウスであり得る。例えば、適応のあるIPF治療 (ニンテダニブ及びピルフェニドン) に対して以前に与えられた両例は、プレオマイシン肺線維症モデルにおいて有効性を示す。

10

【0026】

従って、USP30の阻害が示される条件の治療又は予防のためにUSP30の阻害剤である化合物が必要である。特に、標的疾患に対する効力を最大化するために、適切な及び/又は改良された特性を有するUSP30阻害剤に対する必要性が存在する。

20

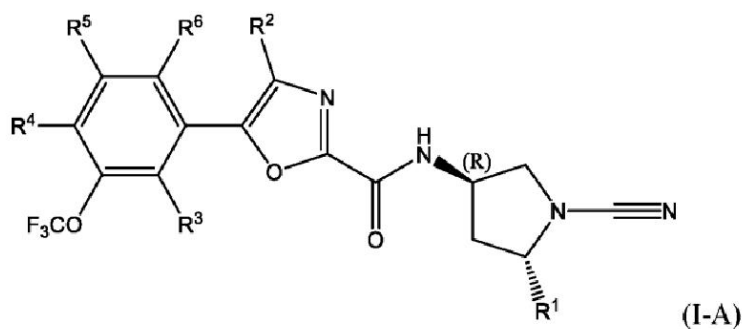
【発明の概要】

【0027】

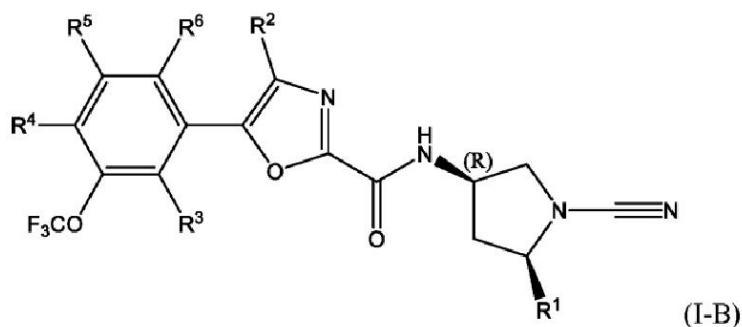
本発明は、式 (I-A) 及び式 (I-B) から選択される式 (I) の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩に関する：

【0028】

【化1】



30



40

【0029】

R¹ は、(C₁ - C₄) アルキル、(C₁ - C₄) フルオロアルキル、CH₂OCH₃、CH₂N(CH₃)₂、CH₂O(CH₂)₂(CH₃)₂ 及び CH₂SO₂CH₃ から選択され；

R² は水素とメチルから選択され；

50

R³、R⁴、R⁵及びR⁶は、それぞれ独立して水素、重水素及びフッ素から選択される。

【0030】

本発明はまた、式(I)の化合物の使用、特にミトコンドリア機能不全、がん及び線維症を伴う状態の治療、ならびにそれらの調製方法及び該化合物を含有する医薬組成物に関する。

【発明を実施するための形態】

【0031】

本発明は、標的疾患に対する効力を最大化するために、適切な及び/又は改良された特性を有するUSP30阻害剤に関する。そのような特性には、例えば、PK(薬物動態)プロファイルを含む効力、選択性、物理化学的特性、ADME(吸収、分布、代謝及び排泄)特性、及び安全性プロファイルが含まれる。

10

【0032】

一般に、患者に投与されるべき有効/有効用量を低下させるために、関連するアッセイにおいて標的酵素に対する薬物分子の効力を最大化することが望ましい。本発明の化合物は、本明細書に記載の*in vitro*生化学的蛍光偏光(FP)アッセイを用いてUSP30親和性について試験することができる。

【0033】

USP30は、細胞内に存在するエネルギー産生細胞小器官であるミトコンドリアの外膜に局在する膜貫通タンパク質である。従って、インビトロで細胞活性を実証することができることは有利である。なぜなら、これは、その生理学的設定において標的に係合するより大きな能力、すなわち、USP30阻害剤化合物が細胞を透過することができる多くの成分の1つであるからである。本明細書に記載されるUSP30細胞ウエスタンブロット(WB)アッセイは、USP30活性をモニターするための不可逆活性プローブを用いて、細胞中のUSP30に対する化合物の活性を試験することを目的とする。細胞ウエスタンブロットアッセイと同様に、標的結合評価(*ex vivo*)は、本明細書に記載されるアッセイを用いて、化合物投与動物由来の脳又は腎臓組織試料のいずれかで実施することができる。

20

【0034】

標的結合の知識を下流の薬力学に拡張するために、TOM20(ミトコンドリア外膜タンパク質)ユビキチン化の評価を行うことができる。

30

【0035】

一般に、薬物はその望ましい標的酵素に対して可能な限り選択的であることが重要であり、さらなる活性が副作用の可能性を生じさせる。しかし、多くのDUBの正確な生理学的役割はまだ完全には決定されていない。しかし、これらのDUBがどのような役割を果たしているのか、果たしていないのかにかかわらず、未知の生理学的機能を有する関連するメカニズムの標的に対して、どのような薬物も選択性を有することを保証することは、医薬化学の正しい前提である。本発明の化合物をスクリーニングすることができるDUB酵素の代表例は、UCHL1、UCHL3、UCHL5、YOD1、SENP2、SENP6、TRABID、BAP1、Cezanne、MINDY2/FAM63B、OTU1、OTUD3、OTUD5、OTUD6A、OTUD6B、OTUB1/UBCH5B、OTUB2、CYLD、VCPJP、AMSH-LP、JOSD1、JOSD2、USP1/UAF1、USP2、USP4、USP5、USP6、USP7、USP8、USP9x、USP10、USP11、USP12/UAF1、USP13、USP14、USP15、USP16、USP19、USP20、USP21、USP22、USP24、USP25、USP28、USP32、USP34、USP35、USP36、USP45、USP46/UAF1、USP47及びUSP48である。好ましくは、本発明の化合物は、これらのDUB酵素のうちの一つ以上に対してUSP30に対して良好な選択性を有する。

40

【0036】

50

他のDUB酵素に対する選択性とは別に、薬物が他の標的に対して低い親和性を有することが重要であり、標的のパネルに対して薬理的プロファイリングを実施して、潜在的なオフターゲット効果の可能性を評価し、最小限にすることができる。本発明の化合物をスクリーニングすることができる標的の例は、工業標準のEurofins-Ceres Safety Screen 44パネルのものであり、これは、GPCR受容体、トランスポーター、イオンチャネル、核受容体、及びキナーゼ及び非キナーゼ酵素の代表的な選択として44の標的を含む。好ましくは、本発明の化合物は、このスクリーニングパネルの標的に対して有意でない親和性を有する。本発明の化合物をスクリーニングすることができる標的のさらなる例は、キナーゼ酵素の代表的な選択として39の標的を含むThermo Fisher Select Screenキナーゼプロファイリングパネルのキナーゼである。好ましくは、本発明の化合物は、このスクリーニングパネルの標的に対して有意でない親和性を有する。さらに、本発明の化合物をスクリーニングすることができる特定の酵素クラスの例は、カテプシン（例えば、カテプシンA、B、C、H、K、L、L2、S、V及びZ）である。好ましくは、本発明の化合物は、1以上のこれらの酵素に対してUSP30に対して良好な選択性を有する。

10

【0037】

また、経口投与に適するような好ましい薬物動態学的特性を有する化合物も必要である。経口投与された薬物は、良好な生物学的利用能、すなわち、消化管を容易に通過し、消化管から全身循環に移行する際に広範な代謝を受けない能力を有するべきである。薬物がいったん全身循環に入ると、代謝速度は体内での薬物の滞留時間を決定するのにも重要である。

20

【0038】

したがって、薬物分子が消化管を容易に通過し、体内でゆっくりとしか代謝されないという特性を有することは明らかに好ましい。Caco-2アッセイは、所定の分子が消化管を通過する能力を予測するための広く受け入れられているモデルである。薬物分子の代謝の大部分は一般に肝臓で起こり、全細胞肝細胞（動物又はヒト）を用いたin vitro試験は、肝臓における代謝に対する所定の分子の感受性を測定するための広く受け入れられている方法である。このようなアッセイは、肝細胞で計算されたクリアランス値からin vivoクリアランスを予測することを目的とする。

【0039】

良好なCaco-2フラックスを有し、肝細胞に対して安定である化合物は、良好な経口バイオアベイラビリティ（消化管からの良好な吸収及び肝臓を通過する際の化合物の最小限の抽出）及び薬物が有効であるのに十分な体内滞留時間を有すると予測される。

30

【0040】

化合物の溶解度は、予想される薬理的応答のための全身循環における薬物の所望の濃度を達成する上で重要な因子である。低水溶性は、新規化学物質の製剤開発で遭遇する問題であり、吸収部位に薬物が溶液の形で存在しなければならない。化合物の速度論的溶解度は、比濁溶解度アッセイを用いて測定することができ、そのデータは、用量依存性ヒト腸管吸収を予測するためにCaco-2透過性データと組み合わせて用いることもできる。

40

【0041】

化合物の曝露プロファイルを示す標準的なアッセイを用いて測定することができる他のパラメータとしては、例えば、血漿安定性（半減期測定）、血中AUC、C_{max}、C_{min}及びTOC値が挙げられる。

【0042】

アルツハイマー病、パーキンソン病、及び本明細書に記載される他の疾患を含む中枢神経疾患の治療には、血液脳関門の十分な浸透を必要とする脳を標的とする薬物分子が必要である。従って、有効な血液脳浸透特性を有し、脳内に適切な滞留時間を提供するUSP30阻害剤が有効である必要性がある。化合物が血液脳関門を通過できる確率は、MDR1-MDCk細胞単層（MDR-1でトランスフェクトされたMadin-Darbyイ

50

又腎臓細胞は、ヒト排出トランスポーターP-糖タンパク質の過剰発現をもたらす)を利用するインビトロフラックスアッセイによって測定することができる。さらに、曝露は、*in vivo*動物モデルを用いて、脳及び血漿中で直接測定することもできる。

【0043】

また、好ましい安全性プロファイルを有する化合物が必要であり、これは種々の標準的な*in vitro*及び*in vivo*方法によって測定することができる。細胞毒性カウンタースクリーニングを用いて、特定の細胞系(例えば、細胞)における抗増殖/細胞毒性効果をアッセイすることができる。ミトコンドリア活性に応答したレゾフリン(アラマルブルー(商標))に対するレザスリン(Alamar Blue(商標))の蛍光検出によるHCT116。

10

【0044】

毒性及び安全性試験はまた、有害作用の潜在的標的臓器を同定し、臨床試験における初期開始用量を設定するための治療指数を定義するために実施されてもよい。規制要件は、一般に、少なくとも2種類の実験動物種、1種類のげっ歯類(ラット又はマウス)及び1種類の非げっ歯類(ウサギ、イヌ、ヒト以外の霊長類、又は他の適切な動物種)で試験を実施することを要求している。

【0045】

細菌復帰突然変異試験(エームス試験)は、本発明の化合物の突然変異誘発特性を評価するために使用することができ、一般に、アミノ酸ヒスチジンの生合成の突然変異体であるネズミチフス菌株を用いることによって評価することができる。

20

【0046】

小核試験は、小核の存在を評価することにより、化合物が遺伝毒性を有するかどうかを判定するために用いられる。小核には、DNA切断(染色体異常誘発物質)によって生じた染色体断片や、有糸分裂装置の破壊によって生じた染色体全体(異数性誘発物質)が含まれる。

【0047】

hERG予測アッセイは、カリウムチャネルへの被験化合物の可能な結合及び心エコー図上の潜在的QT延長に関する貴重な情報を提供する。hERG電流を阻害するとQT間隔が延長し、致死的となる可能性のある心室頻拍性不整脈(Torsades de Pointes)が生じる。典型的には、アッセイデータは、自動パッチクランプアッセイプラットフォームから生成され得る。

30

【0048】

したがって、本発明は、標的疾患に対する効力を最大化するために、適切な及び/又は改良された特性を有するUSP30阻害剤に関する。そのような特性には、例えば、PK(薬物動態)プロファイルを含む効力、選択性、物理化学的特性、ADME(吸収、分布、代謝及び排泄)特性、及び安全性プロファイルが含まれる。

【0049】

本発明の化合物は、有意でありかつ予想外である上記の同定された特性の1つ以上を示すことが見出された。例えば、本発明の実施例1~3は、本明細書に記載の生化学的アッセイで測定した場合、USP30に対して非常に強力である。本発明のこれらの実施例(1~3)の全ては、他のDUB及びカテプシンよりもUSP30に対して有意に選択的である。

40

【0050】

本発明の化合物の顕著かつ予想外の特性により、それらはUSP30活性に関連する疾患の治療及び/又は予防における使用に特に適している。

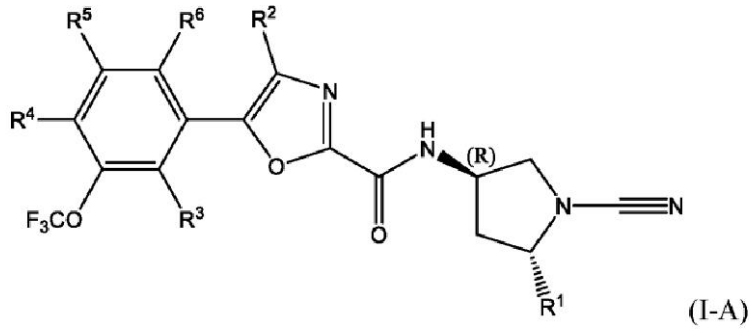
【0051】

第1の態様によれば、本発明は、式(I-A)及び式(I-B)から選択される式(I)の化合物、その互変異性体、又は前記化合物若しくは互変異性体の薬学的に許容される塩を提供する：

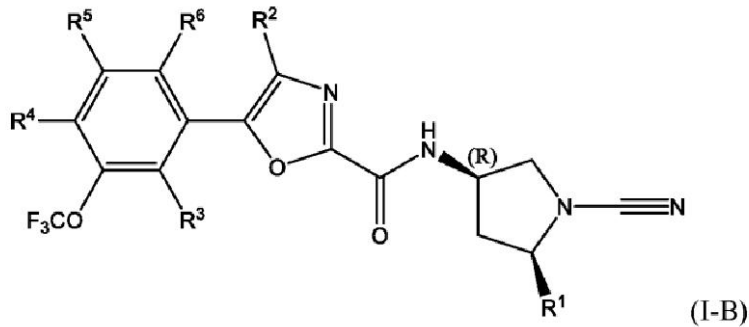
【0052】

50

【化 2】



10



20

【0053】

R^1 は、(C₁ - C₄) アルキル、(C₁ - C₄) フルオロアルキル、CH₂OCH₃、CH₂N(CH₃)₂、CH₂O(CH₂)₂(CH₃)₂ 及び CH₂SO₂CH₃ から選択され；

R^2 は水素とメチルから選択され；

R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して水素、重水素及びフッ素から選択される。

【0054】

式 (I) の化合物は、絶対立体化学を示す単一の立体異性体として存在する。

30

【0055】

アルキル基は直鎖又は分枝鎖であり、1 ~ 4 個の炭素原子を含む。アルキルの例としては、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、イソブチル、及び sec - ブチルが挙げられる。

【0056】

フルオロアルキル基は、1つ以上のフッ素置換基を含み得る。例は、フルオロメチル、ジフルオロメチル及びトリフルオロメチルである。

【0057】

別段の指示がない限り、「置換された」という用語は、1つ以上の定義された基によって置換されたことを意味する。複数の選択肢からグループを選択することができる場合、選択されたグループは同一であっても異なってもよい。用語「独立して」は、複数の置換基が1つ以上の可能な置換基から選択される場合、それらの置換基は同一であっても異なってもよいことを意味する。

40

【0058】

本発明で使用するための式 (I) の化合物の好ましい実施形態を以下に定義する。

【0059】

好ましくは、 R^1 は、メチル、CH₂F、CHF₂、CF₃、CH₂OCH₃、CH₂N(CH₃)₂、CH₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ 及び CH₂SO₂CH₃ から選択される。

より好ましくは、 R^1 はメチル及び CH₂OCH₃ から選択される。

50

好ましい一実施形態では、 R^1 は CH_2OCH_3 である。

別の好ましい実施形態では、 R^1 はメチルである。

【0060】

好ましくは、 R^2 は水素である。

好ましくは、 R^3 は水素である。

好ましくは、 R^4 は水素である。

【0061】

好ましくは、 R^5 は、水素及びフッ素から選択される。

最も好ましくは、 R^5 は水素である。

【0062】

好ましくは、 R^6 は水素である。

10

【0063】

本発明の1つの好ましい態様によれば、

R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される。

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^6 はそれぞれ水素である。

R^5 は水素とフッ素から選択される。

【0064】

本発明の別の好ましい態様によれば、

R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される；

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 はそれぞれ水素である。

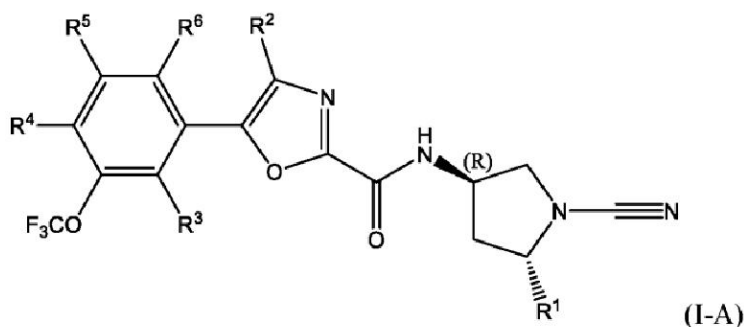
20

【0065】

本発明の第1の好ましい態様によれば、式(I-A)を有する式(I)の化合物、その互変異性体、又は前記化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩である：

【0066】

【化3】



30

【0067】

R^1 は、 $(C_1 - C_4)$ アルキル、 $(C_1 - C_4)$ フルオロアルキル、 CH_2OCH_3 、 $CH_2N(CH_3)_2$ 、 $CH_2O(CH_2)_2(CH_3)_2$ 及び $CH_2SO_2CH_3$ から選択され；

R^2 は水素とメチルから選択され、

40

R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して水素、重水素及びフッ素から選択される。

【0068】

式(I-A)の化合物の好ましい実施形態を以下に定義する。

【0069】

好ましくは、 R^1 は、メチル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CH_2OCH_3 、 $CH_2N(CH_3)_2$ 、 $CH_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 及び $CH_2SO_2CH_3$ から選択される。

より好ましくは、 R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される。

好ましい一実施形態では、 R^1 は CH_2OCH_3 である。

50

別の好ましい実施形態では、 R^1 はメチルである。

【0070】

好ましくは、 R^2 は水素である。

好ましくは、 R^3 は水素である。

好ましくは、 R^4 は水素である。

【0071】

好ましくは、 R^5 は、水素及びフッ素から選択される。

最も好ましくは、 R^5 は水素である。

【0072】

好ましくは、 R^6 は水素である。

10

【0073】

本発明の1つの好ましい態様によれば、

R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される。

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^6 はそれぞれ水素である。

R^5 は水素とフッ素から選択される。

【0074】

本発明の別の好ましい態様によれば、

R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される；

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 はそれぞれ水素である。

【0075】

本発明で使用するための好ましい式(I-A)の化合物は、以下のものから選択される。

20

N - ((3R, 5S) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル) ピロリジン - 3 - イル)

- 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;

N - ((3R, 5R) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;

その互変異性体、又は前記化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩。

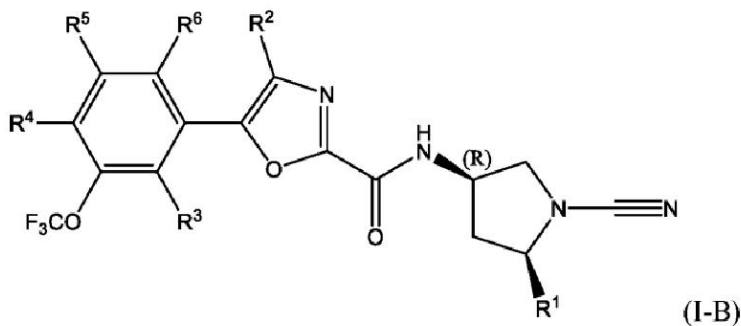
【0076】

本発明の第2の好ましい態様によれば、式(I-B)を有する式(I)の化合物、その互変異性体、又は前記化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩である；

30

【0077】

【化4】



40

【0078】

R^1 は、(C₁ - C₄) アルキル、(C₁ - C₄) フルオロアルキル、 CH_2OCH_3 、 $CH_2N(CH_3)_2$ 、 $CH_2O(CH_2)_2(CH_3)_2$ 及び $CH_2SO_2CH_3$ から選択され；

R^2 は水素とメチルから選択され、

R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して水素、重水素及びフッ素から選択される。

50

【0079】

式(I-B)の化合物の好ましい実施形態を以下に定義する。

【0080】

好ましくは、 R^1 は、メチル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CH_2OCH_3 、 $CH_2N(CH_3)_2$ 、 $CH_2O(CHCH_2O)_2N(CH_3)_2$ 及び $CH_2SO_2CH_3$ から選択される。

より好ましくは、 R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される。

好ましい一実施形態では、 R^1 は CH_2OCH_3 である。

別の好ましい実施形態では、 R^1 はメチルである。

【0081】

好ましくは、 R^2 は水素である。

好ましくは、 R^3 は水素である。

好ましくは、 R^4 は水素である。

【0082】

好ましくは、 R^5 は、水素及びフッ素から選択される。

最も好ましくは、 R^5 は水素である。

【0083】

好ましくは、 R^6 は水素である。

【0084】

本発明の1つの好ましい態様によれば、

R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される。

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^6 はそれぞれ水素である。

R^5 は水素とフッ素から選択される。

【0085】

本発明の別の好ましい態様によれば、

R^1 はメチル及び CH_2OCH_3 から選択される；

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 はそれぞれ水素である。

【0086】

本発明で使用するための好ましい式(I-B)の化合物は、以下のものから選択される。

N - ((3 R , 5 R) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル) ピロリジン - 3 - イル)
- 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;
N - ((3 R , 5 S) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 -
(トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド ;

その互変異性体、又は前記化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩。

【0087】

式(I)の化合物の医薬上許容される塩は、その酸付加及び塩基塩(ジ塩を含む)を含む。

【0088】

適切な酸付加塩は、非毒性塩を形成する酸から形成される。例としては、酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベシル酸塩、重炭酸塩/炭酸塩、重硫酸塩、カンシル酸塩、クエン酸塩、エジシル酸塩、エシル酸塩、フマル酸塩、グルセブ酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、ヒベン酸塩、塩酸塩/塩化物、臭化水素酸塩/臭化物、ヨウ化水素酸塩/ヨウ化物、リン酸水素塩、イセチオン酸塩、D及びL-乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メシル酸塩、メチル硫酸塩、2-ナプシル酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オロチン酸塩、パルメート、リン酸塩、サッカリン酸塩、ステアリン酸塩、硫酸コハク酸塩、D-及びL-酒石酸塩、及びトシル酸塩が挙げられる。

【0089】

適切な塩基塩は、非毒性塩を形成する塩基から形成される。例としては、アルミニウム、アンモニウム、アルギニン、ベンザチン、カルシウム、コリン、ジエチルアミン、ジオ

10

20

30

40

50

ールアミン、グリシン、リジン、マグネシウム、メグルミン、オラミン、カリウム、ナトリウム、トロメタミン及び亜鉛塩が挙げられる。

【0090】

適切な塩に関する概説については、Stahl and Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Wiley-VCH, Weinheim, Germany (2002)を参照されたい。

【0091】

式(I)の化合物の医薬上許容される塩は、式(I)の化合物の溶液と所望の酸又は塩基とを適宜混合することによって容易に調製することができる。塩は、溶液から沈殿し、濾過によって回収され得るか、又は溶媒の蒸発によって回収され得る。

10

【0092】

本発明による医薬上許容される溶媒和物は、水和物及び溶媒和物を含み、ここで結晶化の溶媒は、例えば、同位体的に置換され得る。例えば、D₂O、アセトン-d₆、DMSO-d₆である。

【0093】

また、本発明の範囲内では、クラスレート、薬物-宿主包接複合体であって、上述の溶媒和物とは対照的に、薬物及び宿主は非化学量論量で存在する。このような複合体の概説については、Haleblian (1975年8月)のJ. Pharm Sci, 64 (8), 1269-1288を参照されたい。

20

【0094】

以下、式(I)の化合物への全ての言及は、その塩、及び式(I)の化合物の溶媒和物及び包接化合物及びそれらの塩への言及を含む。

【0095】

本発明は、本明細書で定義した式(I)の化合物の全ての多型を含む。

【0096】

また、本発明の範囲内には、式(I)の化合物のいわゆる「プロドラッグ」がある。したがって、薬理活性をほとんど又は全く持たない式(I)の化合物のある種の誘導体は、体内又は体上に投与されたときに代謝されると、所望の活性を有する式(I)の化合物を生じることができる。このような誘導体は「プロドラッグ」と呼ばれる。

30

【0097】

本発明によるプロドラッグは、例えば、H Bundgaard (Elsevier, 1985)による「プロドラッグの設計」に記載されているように、式(I)の化合物中に存在する適切な官能基を当業者に公知の特定の部分で「プロ部分」と置き換えることによって製造することができる。

【0098】

最後に、式(I)のある種の化合物は、それ自体、式(I)の他の化合物のプロドラッグとして作用し得る。

【0099】

窒素原子を含む式(I)の化合物のある種の誘導体もまた対応するN-オキシドを形成することができ、そのような化合物もまた本発明の範囲内である。

40

【0100】

本発明の範囲内には、式(I)の化合物の全ての互変異性体形態が含まれる。

【0101】

個々のエナンチオマーの調製/単離のための従来の技術は、例えば、キラル高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を使用する、適切な光学的に純粋な前駆体からのキラル合成、又はラセミ体(又は塩又は誘導体のラセミ体)の分解能を含む。あるいは、ラセミ体(又はラセミ体前駆体)を、適切な光学活性化合物、例えばアルコール、又は式(I)の化合物が酸性又は塩基性部分、1-フェニルエチルアミン又は酒石酸のような塩基又は酸と反応させてもよい。得られたジアステレオマー混合物は、クロマトグラフィー及び/又

50

は分別結晶化によって分離することができ、一方又は両方のジアステレオ異性体は、当業者に周知の手段によって対応する純粋なエナンチオマーに変換することができる。本発明のキラル化合物（及びそのキラル前駆体）は、クロマトグラフィー、典型的にはHPLCを用いて、0～50容量%のイソプロパノール、典型的には2～20%、及び0～5容量%のアルキルアミン、典型的には0.1%のジエチルアミンを含有する炭化水素、典型的にはヘプタン又はヘキサンからなる移動相を有する不斉樹脂上で、エナンチオマー的に富化された形態で得ることができる。溶出液を濃縮すると濃縮された混合物が得られる。本発明は、ラセミ体及びそのラセミ混合物を含む式(I)の化合物のすべての結晶形態を含む。立体異性コングロマリットは、当業者に公知の従来技術、例えば、E. L. Eliel及びS. H. Wilen (Wiley, New York, 1994)による「有機化合物の立体化学」を参照されたい。

10

【0102】

式(I)の化合物は、R¹及びアミドによって置換されたピロリジン環の炭素原子に2つのキラル中心を含み、前記立体中心は、(R)又は(S)配置のいずれかで存在し得る。IUPAC命名法による立体異性体の絶対配置(R)及び(S)の指定は、置換基の性質及びシークエンス・ルール法の適用に依存する。したがって、式(I)の化合物は4つの立体異性体の形で存在することができる。

【0103】

本発明の式(I)の化合物は、単一の立体異性体として存在する。アミド置換基のピロリジン炭素原子は(R)-立体中心として存在するが、R¹基のピロリジン炭素原子の名称は置換基の性質に依存する。式(I)の化合物は、単一の立体異性体として単離され、立体異性体過剰率が少なくとも60%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、例えば96%、97%、98%、99%、又は100%で存在し得る。

20

【0104】

R¹置換基自体内に、式(I)の化合物中にさらなるキラル中心が存在し得る。本発明の範囲内には、式(I)の化合物のすべてのそのような立体異性体形態が含まれる。

【0105】

本発明はまた、式(I)の化合物の全ての薬学的に許容される同位体変種を含む。同位体変化とは、少なくとも1つの原子が同じ原子番号を有する原子で置換されるが、通常天然に見られる原子質量とは異なる原子質量と定義される。

30

【0106】

本発明の化合物に含めるのに適した同位体の例には、²H及び³Hなどの水素、¹³C及び¹⁴Cなどの炭素、¹⁵Nなどの窒素、¹⁷O及び¹⁸Oなどの酸素、³²Pなどのリン、³⁵Sなどの硫黄、¹⁸Fなどのフッ素、及び³⁶Clなどの塩素の同位体が含まれる。

【0107】

本発明の化合物を重水素のような同位体で置換することは、より大きな代謝安定性、例えば、インビボ半減期の増加又は投与量の必要性の減少から生じるある種の治療上の利点を与えることができ、したがって、ある状況において好ましいことがある。

40

【0108】

式(I)の化合物の特定の同位体変異、例えば放射性同位体を取り込んだものは、薬物及び/又は基質組織分布研究において有用である。放射性同位体トリチウム及び¹⁴Cは、それらの取り込みの容易さ及び検出の容易さの観点から、このために特に有益である。

【0109】

式(I)の化合物の同位体変形は、一般に、当業者に公知の慣用の技術によって、又は付随する実施例及び調製物に記載されたものと類似の方法によって、適切な試薬の適切な同位体変形を用いて調製することができる。式(I)の化合物は、脱ユビキチン化酵素USP30の阻害剤である。

【0110】

50

さらなる態様によれば、本発明は、本明細書で定義される式 (I) の化合物、その互変異性体、又は薬剤として使用するための前記化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩を提供する。

【 0 1 1 1 】

さらなる態様によれば、本発明は、 U S P 3 0 の障害が公知であるか、又は有益な効果をもたらすことが示され得る障害又は状態の治療又は予防方法を提供し、それは、本明細書に定義される式 (I) の化合物、それらの互変異性体、又は該化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩の治療有効量を前記哺乳動物に投与することを含む。本発明の全ての態様の 1 つの好ましい態様において、障害又は状態は、中枢神経系の指標である。本発明の全ての態様のさらなる好ましい態様において、障害又は状態は、末梢性指標である。

10

【 0 1 1 2 】

さらなる態様によれば、本発明は、 U S P 3 0 の障害が知られている、又は示され得る障害又は状態の治療又は予防のための薬剤の製造における、本明細書に定義される式 (I) の化合物、その互変異性体、又は前記化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩の使用を提供する。薬剤の製造には、特に、式 (I) の化合物若しくはその塩の化学合成、又は化合物若しくは塩を含む組成物若しくは製剤の調製、又は化合物を含むいずれかの薬剤の包装が含まれ得る。本発明の全ての態様の 1 つの好ましい態様において、障害又は状態は、中枢神経系の指標である。本発明の全ての態様のさらなる好ましい態様において、障害又は状態は、末梢性指標である。

【 0 1 1 3 】

U S P 3 0 活性から有益な障害又は状態は、ミトコンドリア機能不全、がん及び線維症を伴う状態から選択される。

20

【 0 1 1 4 】

本発明の全ての態様の 1 つの好ましい態様において、 U S P 3 0 活性から利益を受ける障害又は状態は、ミトコンドリア機能不全を含む状態である。ミトコンドリア機能障害を伴う状態は、中枢神経系の徴候又は末梢の徴候であることがある。

【 0 1 1 5 】

ミトコンドリアの機能不全は、赤血球を除く全身の細胞に存在する特殊化したコンパートメントであるミトコンドリアの欠損に起因する。ミトコンドリアが機能しなくなると、細胞内で生成されるエネルギーは少なくなり、細胞傷害や細胞死に至ることさえある。この過程が全身にわたって繰り返された場合、この過程が起こった被験者の生涯は著しく損なわれる。ミトコンドリアの病気は、脳、心臓、肝臓、骨格筋、腎臓、内分泌系や呼吸器系など、非常にエネルギーを必要とする器官に最もよくみられる。

30

【 0 1 1 6 】

ミトコンドリア機能不全を含む状態は、ミトファジー欠損を含む状態、ミトコンドリア D N A の突然変異を含む状態、ミトコンドリア酸化ストレスを含む状態、ミトコンドリア膜電位の欠損を含む状態、ミトコンドリア生合成を含む状態、ミトコンドリアの形状又は形態の欠損を含む状態、及びリソソーム貯蔵欠損を含む状態から選択され得る。

【 0 1 1 7 】

特に、ミトコンドリア機能障害を伴う状態は、神経変性疾患、多発性硬化症 (M S) ; ミトコンドリア脳症、乳酸アシドーシス及び脳卒中様エピソード (M E L A S) 症候群 ; 物質遺伝性糖尿病及び難聴 (M I D D) ; レーバー遺伝性視神経症 (L H O N) ; がん (例えば、乳房、卵巣、前立腺、肺、腎臓、胃、結腸、精巣、頭頸部、膵臓、脳、メラノーマ、骨又は他の組織臓器のがん、血液細胞のがん、例えば、リンパ腫及び白血病、多発性骨髄腫、転移性がん腫、骨肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、鼻咽頭がん、結腸直腸がん、及び非小細胞肺癌) ; 神経障害、運動失調症、網膜色素変性症、母性遺伝性 L e i g h t 症候群 (N A R P - M I L S) ; ダノン病 ; 糖尿病 ; 糖尿病性腎症 ; 代謝障害 ; 心不全 ; 心筋梗塞につながる虚血性心疾患 ; 統合失調症などの精神疾患 ; 多発性スルファターゼ欠損症 (M S D) ; ムコリピドーシス I I (M L I I) ; ムコリピドーシス I I I (M L I I I) ; ムコリピドーシス I V (M L I V) ; G M 1 - ガングリオシドーシス (

40

50

G M 1) ; 神 経 セ ロ イ ド - リ ポ フ ス チ ン 症 (N C L 1) ; ア ル パ ー 病 ; バ ー ス 症 候 群 ; ベ ー タ 酸 化 欠 陥 ; カ ル ニ チ ン - ア シ ル - カ ル ニ チ ン 欠 乏 ; カ ル ニ チ ン 欠 乏 ; ク レ ア チ ン 欠 乏 症 候 群 ; コ エ ン ザ イ ム Q 1 0 欠 乏 ; 複 雑 な I 欠 乏 ; 複 雑 な I I 欠 損 ; 複 雑 な I I I 欠 損 ; 複 雑 な I V 欠 乏 ; 複 雑 な V 欠 乏 ; C O X 欠 乏 ; 慢 性 進 行 性 外 眼 筋 麻 痺 症 候 群 (C P E O) ; C P T I 欠 乏 症 ; C P T I I 欠 乏 症 ; グ ル タ ル 酸 尿 症 I I 型 ; カ ー ン ズ ・ セ イ ヤ ー 症 候 群 ; 乳 酸 ア シ ド ー シ ス ; 長 鎖 ア シ ル C o A デ ヒ ド ロ ゲ ナ ー ゼ 欠 乏 症 (L C H A D) ; L e i g h 病 又 は 症 候 群 ; L e i g h 症 候 群 フ ラ ン ス 系 カ ナ ダ 人 (L S F C) バ リ ア ン ト ; 致 命 的 な 乳 児 心 筋 症 (L I C) ; ル フ ト 病 ; 中 鎖 ア シ ル C o A デ ヒ ド ロ ゲ ナ ー ゼ 欠 乏 症 (M C A D) ; ミ オ ク ロ ー ヌ ス て ん か ん 及 び 赤 色 ぼ ろ 線 維 (M E R R F) 症 候 群 ; ミ ト コ ン ド リ ア 細 胞 障 害 ; ミ ト コ ン ド リ ア 劣 性 運 動 失 調 症 候 群 ; ミ ト コ ン ド リ ア D N A 枯 渴 症 候 群 ; 筋 神 経 胃 腸 障 害 及 び 脳 症 ; ピ ア ソ ン 症 候 群 ; ピ ル ビ ン 酸 デ ヒ ド ロ ゲ ナ ー ゼ 欠 損 症 ; ピ ル ビ ン 酸 カ ル ボ キ シ ラ ー ゼ 欠 乏 ; P O L G 変 異 ; 中 鎖 / 短 鎖 3 - ヒ ド ロ キ シ ア シ ル - C o A デ ヒ ド ロ ゲ ナ ー ゼ (M / S C H A D) 欠 損 症 ; 超 長 鎖 ア シ ル - C o A デ ヒ ド ロ ゲ ナ ー ゼ (V L C A D) 欠 損 症 ; ペ ル オ キ シ ソ ー ム 障 害 ; メ チ ル マ ロ ン 酸 血 症 ; 加 齢 に 伴 う 認 知 機 能 や 筋 力 の 低 下 か ら 選 択 さ れ 得 る 。

10

【 0 1 1 8 】

ミトコンドリア機能不全を含む状態は、中枢神経系疾患、例えば神経変性疾患であり得る。

【 0 1 1 9 】

神経変性疾患には、限定されないが、パーキンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、ハンチントン病、虚血、脳卒中、レビー小体型認知症、多系統萎縮症 (M S A)、進行性核上性麻痺 (P S P)、大脳皮質基底核変性 (C B D)、及び前頭側頭型認知症が含まれる。

20

【 0 1 2 0 】

特に、本発明の化合物は、パーキンが突然変異している - シヌクレイン、パーキン、P I N K 1、G B A、及びL R R K 2、ならびに常染色体劣性若年性パーキンソン病 (A R - J P) における突然変異に関連するP Dを含むが、これらに限定されない、パーキンソン病の治療又は予防に有用であり得る。

【 0 1 2 1 】

本明細書に記載される本発明の化合物又はその医薬組成物は、ミトコンドリア機能不全を含む状態の治療又は予防のために使用される場合、1種以上の追加の薬剤と組み合わせることができる。化合物は、レボドパ、ドーパミン作動薬、モノアミノオキシゲナーゼ (M A O) B 阻害剤、カテコールO - メチルトランスフェラーゼ (C O M T) 阻害剤、抗コリン作動薬、リルゾール、アマンタジン、コリンエステラーゼ阻害剤、メマンチン、テトラベナジン、抗精神病薬、ジアゼパム、クロナゼパム、抗うつ薬、及び抗痙攣薬から選択される1つ又は複数の追加の薬剤と組み合わせることができる。これらの化合物は、神経変性疾患における病原性タンパク質凝集体を減少/除去する薬剤、例えば、アルファ - シヌクレイン・パーキンソン病、多系統萎縮症又はレビー小体を伴う痴呆を減少/除去する薬剤; アルツハイマー病又は進行性核上性麻痺におけるタウを減少/除去する薬剤; A L S 又は前頭側頭型痴呆におけるT D P - 4 3を減少/除去する薬剤と組み合わせることができる。

30

40

【 0 1 2 2 】

本発明の全ての態様の別の好ましい実施形態において、U S P 3 0 活性から利益を受ける障害又は状態は、がんである。このがんはミトコンドリアの機能障害と関連している可能性がある。好ましいがんには、例えば、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、肺がん、腎臓がん、胃がん、結腸がん、精巣がん、頭頸部がん、膵臓がん、脳がん、黒色腫がん、骨がん、又は組織器官の他のがん、及びリンパ腫などの血球がん、白血病、多発性骨髄腫、転移性がん腫、骨肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、鼻咽頭がん、結腸直腸がん、結腸直腸がん、及び非小細胞肺がんが含まれる。

【 0 1 2 3 】

50

特に、本発明の化合物は、アポトーシス経路が調節不能であり、より詳細には、BCL-2ファミリーのタンパク質が突然変異した場合、又は過剰発現した場合、又は過少発現した場合に、がんの治療又は予防に有用であり得る。

【0124】

線維化とは、外傷、炎症、組織修復、免疫学的反応、細胞過形成、及び新生物の後に起こる細胞外マトリックス成分の蓄積をいう。本発明の化合物及び組成物によって治療され得る線維性障害には、とりわけ、主要な臓器疾患、例えば、間質性肺疾患（ILD）に関連する線維症/線維性障害、肝硬変、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）（肝線維症）、腎臓病（腎線維症）、急性腎障害（AKI）、慢性腎臓病（CKD）、腎移植機能の遅延、心臓又は血管の病気（心臓線維症）、及び眼の病気；線維増殖性疾患、例えば、全身性及び局所性強皮症、ケロイド及び肥厚性癬痕、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、デュピュイトラン拘縮など。外傷に関連する癬痕、例えば、外科的合併症、化学療法薬による線維症（例えば、プレオマイシン誘発性線維症）、放射線誘発性線維症、偶発的な損傷及び火傷）；後腹膜線維症（オーモンド病）；及び腹膜透析を受けている患者における腹膜線維症/腹膜癬痕化（通常、腎移植後）が含まれる。例えば、Wynn et al, 2004, Nat Rev Immunol. August; 4(8): 583-594を参照されたい。したがって、本発明は、例えば、肺、肝臓、腎臓、心臓、皮膚、眼、胃腸管、腹膜及び骨髄、ならびに本明細書に記載の他の疾患/障害を含む主要臓器の、及び/又はそれらに関連する線維症/線維性障害の治療又は予防の方法、ならびに前記方法で使用される化合物及び組成物に関する。

10

20

【0125】

化合物は、抗糖尿病薬、心血管疾患薬、及び酸化ストレス（nrf2/keap-1経路を含むが、これらに限定されない）及び抗アポトーシス経路（抗p53剤を含むが、これらに限定されない）などの疾患関連経路を標的とする新規薬剤を含む、腎疾患の治療に使用される薬剤と組み合わせることができる。

【0126】

間質性肺疾患（ILD）には、肺の炎症及び線維症が病理学の最終的な共通経路である疾患、例えばサルコイドーシス、珪肺症、薬物反応、感染症、及び関節リウマチ及び全身性硬化症（強皮症）などの膠原血管疾患が含まれる。肺の線維性疾患には、例えば、肺線維症、特発性肺線維症（IPF）、通常の間質性肺炎（UIP）、間質性肺疾患、潜在性線維化肺胞炎（CPA）、閉塞性細気管支炎、及び気管支拡張症が含まれる。

30

【0127】

特発性肺線維症（IPF）はILDの最も一般的なタイプであり、原因は不明である。

【0128】

これらの化合物は、IPFの治療薬であり、潜在的には、ニンテダニブ及びピルフェニドンを含むILDの治療薬と組み合わせることができる。

【0129】

肝硬変はILDと同様の原因を有し、ウイルス性肝炎に伴う肝硬変、住血吸虫症、慢性アルコール中毒などがある。

【0130】

腎疾患は糖尿病と関連していることがあり、糖尿病は腎臓を損傷し癬痕化させ、進行性の機能喪失や高血圧性疾患につながることもある。腎線維症は、CKDや進行性CKDなどの慢性腎疾患（CKD）から末期腎疾患（ESRD）に至るまで、腎疾患のどの段階でも起こりうる。腎線維症は、高血圧や糖尿病などの心血管疾患の結果として発症することがあり、その両方が線維化反応を促進する腎機能に大きな負荷を与える。しかし、腎線維症は特発性（原因不明）のこともあり、ある種の遺伝性ミトコンドリア疾患も腎線維症の症状及び関連症状を呈する。

40

【0131】

心臓病では癬痕組織が生じ、心臓のポンプ機能が損なわれることがある。

【0132】

50

眼の疾患には、例えば、黄斑変性及び網膜及び硝子体網膜症があり、視力を損なうことがある。

【0133】

好ましい態様において、本発明は、特発性肺線維症（IPF）の治療又は予防に関する。

【0134】

別の好ましい態様において、本発明は、腎線維症の治療又は予防に関する。

【0135】

別の好ましい態様において、本発明は、特に高リスク患者における急性腎損傷（AKI）の治療又は予防に関する。例としては、手術後のAKI、例えば虚血再灌流障害、遅発性移植片機能による臓器移植；化学療法によるAKIのような腫瘍学；直接尿細管細胞毒性、血行動態虚血及び浸透圧作用のような造影剤誘発性腎症；薬物又は感染による急性間質性腎炎；及びCOVID-19誘発性AKIが挙げられる。特定の高リスク患者サブグループは、心臓手術、例えば、冠動脈バイパス移植及び/又は弁手術を受けるサブグループである。65歳以上、インスリン依存性糖尿病、CKD（推定糸球体濾過量[eGFR]が60ml/min/1.73m²未満の成人は特にリスクがある）、心不全、肝疾患、AKIの既往など、AKIの静的危険因子が確立されている。

【0136】

別の好ましい態様において、本発明は、例えば、尿細管間質性線維症及び糖尿病性腎症を含む、このようなAKIに起因する慢性腎疾患（CKD）の治療又は予防に関する。

【0137】

Leigh症候群はまれな遺伝性神経代謝障害で、中枢神経系を侵す。この進行性疾患は生後3カ月から2歳の乳児から始まる。まれに、10代の若者や成人に発症する。Leigh症候群は、ミトコンドリアタンパク質をコードする核DNAの突然変異、ミトコンドリアDNAの突然変異（母性遺伝性レー症候群 - MILS）、又はX染色体の短腕に位置するピルビン酸デヒドロゲナーゼと呼ばれる酵素の欠損（X連鎖Leigh症候群）によって引き起こされる。Leigh症候群の症状は通常、急速に進行する。最も初期の徴候は、吸乳能力の低下、頭部の制御能力及び運動能力の喪失である。これらの症状には、食欲不振、嘔吐、いらだちやすさ、持続的な泣き、けいれんなどが伴う。病気が進行すると、全身の脱力感、筋緊張の低下、乳酸アシドーシスなどの症状が現れ、呼吸機能や腎機能が低下する。

【0138】

母性遺伝性Leigh症候群（MILS）では、ミトコンドリアDNAの遺伝的突然変異（90%以上）が、運動に関する脳の領域で細胞を走らせるエネルギー源を妨げる。ミトコンドリアDNAの遺伝的突然変異は、これらの細胞に慢性的なエネルギー欠乏をもたらし、その結果、中枢神経系に影響を及ぼし、運動機能の進行性変性を引き起こす。MILSを引き起こすミトコンドリアDNAの遺伝子突然変異が少ない場合（90%未満）、この状態は神経障害性運動失調及び網膜色素変性（NARP）として知られている。また、Leigh秒（X連鎖Leigh病と呼ばれる）は、細胞代謝に重要な別の物質群をつくる遺伝子の突然変異の結果であるリー脳症の別の変異型が存在し、これはFrench Canadian Variantと呼ばれ、LRPPRCと呼ばれる遺伝子の突然変異を特徴とする。同様の神経学的症状はLeigh症候群の場合と同様に発現するが、肝脂肪症はフランスのカナダ変異型でもよくみられる。

【0139】

好ましい実施形態では、本発明は、例えば、X連鎖Leigh病、Leigh症候群French Canadian Variant、及び/又はLeigh病に関連する症状を含む、Leigh症候群又は疾患の治療又は予防に関する。

【0140】

化合物は、限定されるものではないが、ニコチンアミドリボシドを含む、ミトコンドリア疾患の治療として使用され得る新規薬剤と組み合わせることができる。

10

20

30

40

50

【0141】

「治療」への言及には、症状を改善し、軽減し、一時的又は永続的に症状の原因を除去する手段が含まれる。本発明の化合物は、ヒト及び他の哺乳動物において本明細書に開示された疾患の治療に有用である。

【0142】

別の実施形態では、本発明は、本明細書に開示される疾患の予防的治療を包含し、記名された障害又は状態の症状の出現を予防又は遅らせる手段を含む。本発明の化合物は、ヒト及び他の哺乳動物において本明細書に開示された疾患の予防に有用である。

【0143】

治療又は予防を必要とする患者は、例えば、状態に苦しんでいる、又は状態に苦しむリスクのあるヒト又は他の哺乳動物であり得る。

10

【0144】

さらなる態様によれば、本発明は、薬学的に許容される希釈剤又は担体と共に、本明細書で定義される式(I)の化合物、又は該化合物又は互変異性体の薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を提供する。

【0145】

本発明の医薬組成物は、任意の薬学的に許容される担体、アジュバント又はビヒクルと組み合わされた本発明の化合物のいずれかを含む。薬学的に許容される担体の例は、当業者に知られており、限定されないが、投与様式及び剤形の性質に応じて、保存剤、充填剤、崩壊剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、甘味剤、香味剤、芳香剤、抗菌剤、抗真菌剤、潤滑剤及び分散剤が含まれる。組成物は、例えば、錠剤、カプセル、粉末、顆粒、エリキシル、ロゼンジ、座薬、シロップ及び懸濁液及び溶液を含む液体調製物の形態であってもよい。本発明の文脈における用語「医薬組成物」は、活性剤を含み、さらに1以上の医薬的に許容される担体を含む組成物を意味する。組成物は、投与様式及び剤形の性質に応じて、例えば、希釈剤、アジュバント、賦形剤、ビヒクル、保存剤、充填剤、崩壊剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、甘味剤、香味剤、芳香剤、抗菌剤、抗真菌剤、潤滑剤及び分散剤から選択される成分をさらに含み得る。

20

【0146】

本明細書に記載される本発明の化合物又はその医薬組成物は、単独で、又は1以上のさらなる医薬剤と組み合わせて使用することができる。化合物は、追加の抗腫瘍治療剤、例えば、化学療法剤又は他の調節タンパク質の阻害剤と組み合わせることができる。1つの実施形態において、さらなる抗腫瘍治療剤は、BH-3模倣物である。さらなる態様において、BH-3模倣体は、限定されるものではないが、ABT-737、ABT-199、ABT-263、及びObatocloxの1以上から選択され得る。さらなる態様において、さらなる抗腫瘍剤は、化学療法剤である。化学療法剤は、限定されないが、オラパリブ、マイトマイシンC、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、電離放射線(IR)、カンプトテシン、イリノテカン、トポテカン、テモゾロミド、タキサン、5フルオロピリミジン、ゲムシタピン、及びドキシソルピシンから選択され得る。

30

【0147】

線維性障害の治療又は予防のために、例えば、本明細書に記載の本発明の化合物又はその医薬組成物は、単独で、又は抗コリン作動薬、 β -2模倣薬、ステロイド、PDE-IV阻害剤、p38 MAPキナーゼ阻害剤、NK1拮抗剤、LTD4拮抗剤、EGFR阻害剤、及びエンドセリン拮抗剤から選択される1つ以上の医薬剤と併用して使用され得る。

40

【0148】

特に、本発明の化合物又は本明細書に記載されている医薬組成物は、単独で使用するか、又はコルチコステロイド、免疫抑制剤若しくは細胞毒性剤のような一般的な免疫抑制剤、又はピルフェニドン又は非特異的キナーゼ阻害剤(例えばニンテダニブ)のような抗線維化剤からなる群から選択される1種以上のさらなる薬学的剤と組み合わせて使用することができる。

50

【0149】

本発明の医薬組成物は、経口、非経口、局所、吸入、鼻腔内、直腸、膈内、眼及び耳のような任意の適切に有効な方法で投与することができる。本発明の化合物の送達に適した医薬組成物及びそれらの調製方法は、当業者には容易に明らかであろう。そのような組成物及びそれらの調製方法は、例えば、「レミントンの医薬科学」、第19版 (Mack Publishing Company , 1995) に見出され得る。

【0150】

経口投与

本発明の化合物は経口投与することができる。経口投与は、化合物が消化管に入るように飲み込むことを含むか、又は化合物が口から直接血流に入る口腔又は舌下投与を用いることができる。 10

【0151】

経口投与に適した製剤には、錠剤、微粒子、液体、又は粉末を含むカプセル、ロゼンジ (液体充填を含む)、チュー、マルチ粒子及びナノ粒子、ゲル、フィルム (粘膜炎着剤を含む)、胚珠、スプレー及び液体製剤などの固体製剤が含まれる。

【0152】

液体製剤には、懸濁液、溶液、シロップ及びエリキシルが含まれる。このような製剤は、軟カプセル又は硬カプセル中の充填剤として使用することができ、典型的には、担体、例えば、水、エタノール、プロピレングリコール、メチルセルロース、又は適切な油、及び1種以上の乳化剤及び/又は懸濁剤を含む。液体製剤はまた、例えば、小袋からの固体の再構成によって調製することもできる。 20

【0153】

また、本発明の化合物は、Liang及びChen (2001) による Expert Opinion in Therapeutic Patents , 11 (6) , 981 - 986 に記載されているような速溶性で速崩壊性の投与形態で使用することもできる。

【0154】

典型的な錠剤は、例えば、直接圧縮、造粒 (乾燥、湿潤、又は溶融)、溶融凝固、又は押出によって、製剤化学者に公知の標準的プロセスを用いて調製することができる。錠剤配合物は、1つ以上の層を含んでもよく、コーティングされていても、コーティングされていなくてもよい。 30

【0155】

経口投与に適した賦形剤の例には、担体、例えば、セルロース、炭酸カルシウム、二塩基性リン酸カルシウム、マンニトール及びクエン酸ナトリウム、造粒結合剤、例えばポリビニルピロリジン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及びゼラチン、崩壊剤、例えばデンプングリコール酸ナトリウム及びケイ酸塩、潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム及びステアリン酸、湿潤剤、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、防腐剤、酸化防止剤、香料及び着色剤が挙げられる。

【0156】

経口投与のための固体製剤は、即時放出及び/又は改変放出であるように製剤化することができる。改変放出製剤には、遅延放出、持続放出、パルス放出、制御二重放出、標的放出及びプログラム放出が含まれる。高エネルギー分散、浸透圧及び被覆粒子などの適切な改変放出技術の詳細は、Vermaら、Pharmaceutical Technology On-line , 25 (2) , 1 - 14 (2001) に記載されている。その他の放出調節剤は、米国特許第6,106,864号に記載されている。 40

【0157】

非経口投与

本発明の化合物はまた、血流中、筋肉中、又は内部臓器中に直接投与することもできる。非経口投与に適した手段としては、静脈内、動脈内、腹腔内、髄腔内、脳室内、尿道内、胸骨内、頭蓋内、筋肉内、及び皮下が挙げられる。非経口投与に適した器具としては、針 (マイクロニードルを含む) 注射器、ニードルフリー注射器、及び注入技術が挙げられ 50

る。

【0158】

非経口製剤は、典型的には、塩、炭水化物及び緩衝剤のような賦形剤（好ましくは、 $pH\ 3\sim 9$ ）を含有し得る水溶液であるが、いくつかの用途については、それらは、無菌の非水溶液として、又は無菌の無発熱性水のような適切なビヒクルと共に使用される乾燥形態として、より適切に製剤化され得る。

【0159】

例えば凍結乾燥による滅菌条件下での非経口製剤の調製は、当業者に周知の標準的な医薬技術を用いて容易に達成することができる。

【0160】

非経口溶液の調製に使用される式（I）の化合物の溶解度は、適切な処理、例えば、高エネルギー超音波乾燥分散体の使用、及び/又は溶解性増強剤の使用などの適切な配合技術の使用によって増加させることができる。

10

【0161】

非経口投与のための処方は、即時放出及び/又は改変放出であるように処方することができる。改変放出製剤には、遅延放出、持続放出、パルス放出、制御二重放出、標的放出、及びプログラム放出が含まれる。

【0162】

本発明の医薬組成物はまた、血液脳関門をバイパスするための当技術分野で公知の組成物及び方法を含み、又は脳に直接注入することができる。注射に適した領域としては、大脳皮質、小脳、中脳、脳幹、視床下部、脊髄及び脳室組織、ならびに頸動脈小体及び副腎髄質を含む末梢神経系の領域が挙げられる。

20

【0163】

投与量

化合物の有効用量の大きさは、もちろん、治療すべき状態の重症度及び投与経路の性質によって変化する。適切な投与量の選択は、医師の許可の範囲内である。1日用量範囲は、ヒト及び非ヒト動物の約 $10\ \mu g\sim 100\ mg/kg$ 体重であり、一般に、約 $10\ \mu g\sim 30\ mg/kg$ 体重/用量であり得る。1日1~3回投与する。

【0164】

例えば、経口投与は、 $5\sim 500\ mg$ のような $5\ mg\sim 1000\ mg$ の総1日用量を必要とすることができ、一方、静脈内投与は、 $0.1\sim 10\ mg/kg$ 体重、より好ましくは $0.1\sim 1\ mg/kg$ 体重のような $0.01\sim 30\ mg/kg$ 体重のみを必要とすることができる。1日の総投与量は、単回又は分割で投与することができる。当業者であれば、特定の条件の治療又は予防において、本発明の化合物は、「必要に応じて」（すなわち、必要に応じて、又は所望に応じて）単回投与として取ることができることも理解されよう。

30

【0165】

合成方法論

式（I）の化合物は、一般的な反応スキーム及び代表的な実施例において後述する方法を用いて調製することができる。必要に応じて、スキーム内の個々の変換は、異なる順序で完了することができる。本発明は、以下の略語及び定義が使用される以下の非限定的な実施例によって例示される。化合物は、液体クロマトグラフィー-質量分析（LCMS）又は $^1H\ NMR$ 、又はその両方によって特徴付けられた。

40

【0166】

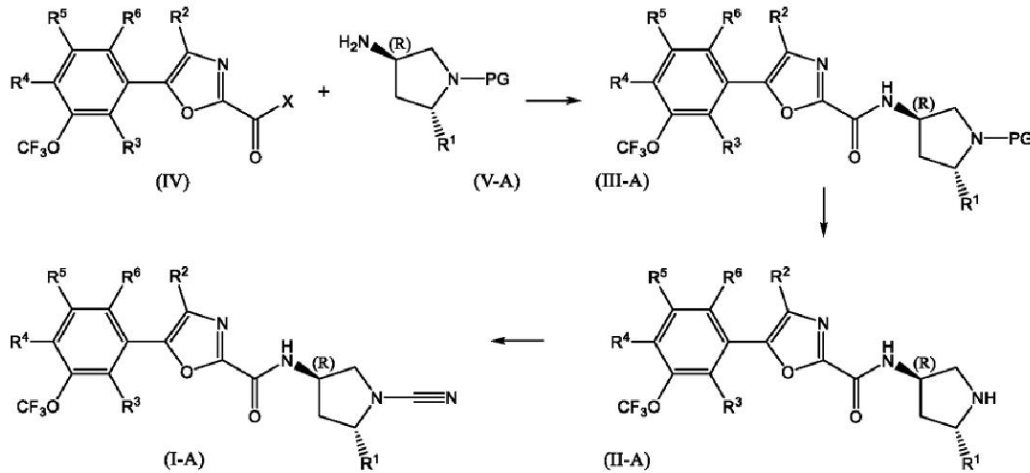
さらなる態様によれば、本発明は、式（I-A）の化合物を製造する方法を提供し、式（I-V）の化合物（式中、XはOHである）を式（V-A）のアミン（PGは、保護基、例えば、BOC又はCBZである）と反応させて、式（III-A）のアミドを与えることを含む（スキーム1）。アミドカップリング反応は、例えばDCC、HATU、HBTU、EDCなどのカップリング試薬を使用する反応によって、又は混合無水物を介して、標準的な方法論を使用して実施することができる。あるいは、酸（I-V）（XがOHであ

50

る)は、 SOCl_2 、 PCl_3 、又は PCl_5 を使用して、酸塩化物(IV)(XがClである)に変換することができ、その後、好ましくは適切な溶媒中、適切な塩基の存在下でアミン(V-A)と反応させることができる。あるいは、化合物(IV)(Xはエステルを形成する)は、好ましくは適切な溶媒中で、アミン(V-A)と直接反応させることができる。式(III-A)の化合物は、標準的な方法を用いて脱保護されて、アミン(II-A)を与え、次に臭化シアンと反応させて、式(I-A)の対応する化合物をアが得ることができる。

【0167】

【化5】



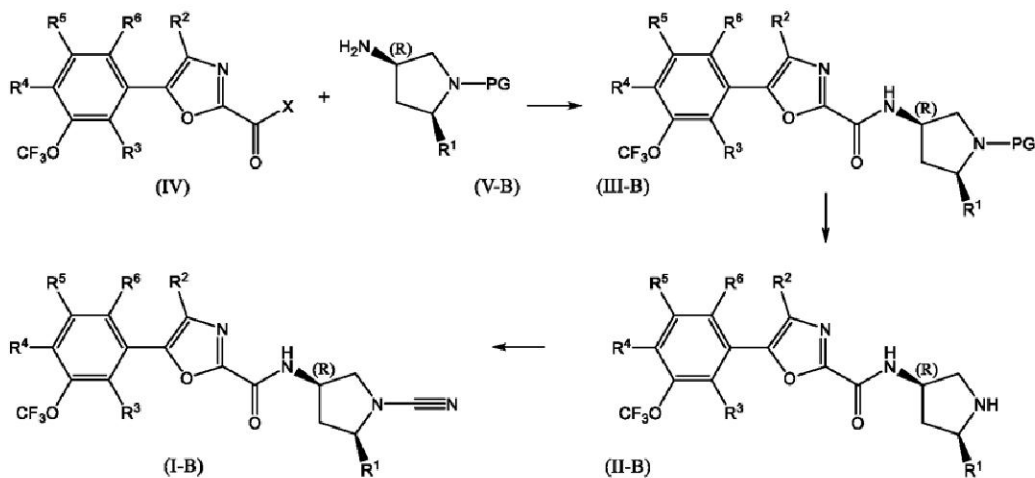
スキーム 1

【0168】

さらなる態様によれば、本発明は、式(I-A)のためのものと類似の方法を用いて、式(I-B)の化合物の製造方法を提供する(スキーム2)。

【0169】

【化6】



スキーム 2

【0170】

さらなる態様において、本発明は、式(II-A)、(III-A)、(II-B)及び(III-B)から選択される化合物、その互変異性体、又は当該化合物若しくは互変異性体の塩を提供する。

10

20

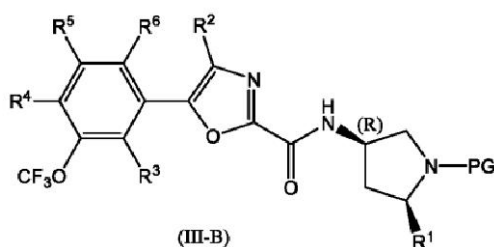
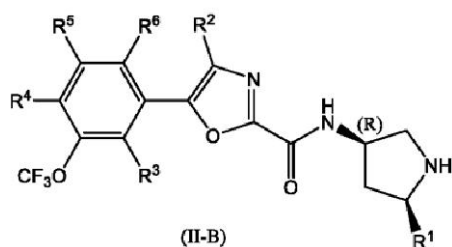
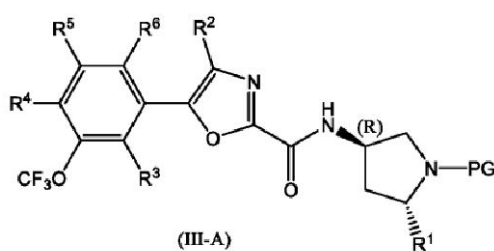
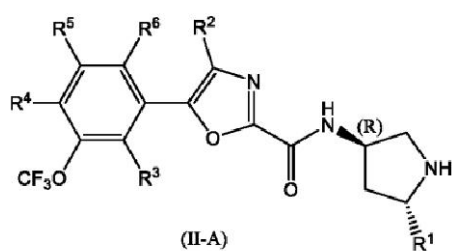
30

40

50

【 0 1 7 1 】

【 化 7 】



10

【 0 1 7 2 】

式中、PGは保護基であり、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は、式(I)の化合物及びその好ましい実施形態について本明細書で定義されるとおりである。

20

【 0 1 7 3 】

保護基は、好ましくは、tert-ブチルオキシカルボニル(BOC)、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)、p-メトキシベンジルカルボニル(MeOZ)、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)、アセチル(Ac)、ベンゾイル(Bz)、ベンジル(Bn)、カルバメート、p-メトキシベンジル(PMB)、3,4-ジメトキシベンジル(DMPM)、p-メトキシフェニル(PMP)、トシル(Ts)、トリクロロエトキシカルボニル(Troc)、4-ニトロベンゼンスルホニル(Nosyl)、及び2-ニトロフェニルスルフェニル(Nps)から選択される。最も好ましいものは、BOC及びCbzである。

30

【 0 1 7 4 】

【 表 1 】

略語			
br s	広い一重項(NMRシグナル)	MeCN	アセトニトリル
d	二重項(NMRシグナル)	MeOH	メタノール
dba	ジベンジルアセトン	min	分
DCM	ジクロロメタン	NMP	N-メチルピロリドン
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド	rac	ラセミ体
DMSO	ジメチルスルホキシド	rt	室温
ES	エレクトロスプレー	s	一重項(NMRシグナル)
EtOAc	酢酸エチル	TBD	1,5,7-トリアザビシクロ[4.4.0]デカ-5-エン
h	時間	TEA	トリエチルアミン
m	多重項(NMRシグナル)	TFA	トリフルオロ酢酸
MsCl	メタンサルホニルクロリド	THF	テトラヒドロフラン

40

【 0 1 7 5 】

50

【表 2】

LCMS法

方法C

移動相	(A)	水中の2mM酢酸アンモニウム及び0.1%ギ酸	
	(B)	アセトニトリル中の0.1%ギ酸	
器具	PDA及びSQ検出器を備えたWaters ACQUITY Hクラス		
カラム	BEH C18 (50mm×2.1mm) 1.7µm		
流速	0.550mL/分		
カラムオープン温度	周囲		
実行時間	3.0分		
勾配			
時間 (分)	流量 (mL/分)	A%	B%
0.01	0.55	98	2
0.30	0.55	98	2
0.60	0.55	50	50
1.10	0.55	25	75
2.00	0.60	0	100
2.70	0.60	0	100
2.71	0.55	98	2
3.00	0.55	98	2

10

20

【0176】

【表 3】

方法H

移動相	(A)	水中の5mM重炭酸アンモニウム	
	(B)	100%アセトニトリル	
器具	2020単一四重極質量検出器を備えたShimadzu Nexera UFL C		
カラム	Waters X-Bridge C18 (50×4.6mm), 3.5µm		
カラムオープン温度	周囲		
流速	1.0mL/分		
実行時間	8.0分		
勾配			
時間 (分)	流量 (mL/分)	A%	B%
0.01	1.0	95	5
3.50	1.0	10	90
4.50	1.0	5	95
6.00	1.0	5	95
6.01	1.0	95	5
8.00	1.0	95	5

30

40

【0177】

50

【表4】

方法H

移動相	(A)	水中の5mM重炭酸アンモニウム	
	(B)	100%アセトニトリル	
器具	2020単一四重極質量検出器を備えたShimadzu Nexera UFLC		
カラム	Waters X-Bridge C18 (50×4.6 mm) 3.5μm		
カラムオープン温度	周囲		
流量	1.0mL/分		
実行時間	6.0分		
勾配			
時間 (分)	流速 (mL/分)	A%	B%
0.01	1.0	95	5
2.80	1.0	15	85
3.50	1.0	5	95
5.00	1.0	5	95
5.01	1.0	95	5
6.00	1.0	95	5

10

20

【0178】

【表5】

方法Y2

分析用キラルSFCに使用される方法: Waters SFCインベスティゲーター及びPDA検出器				
移動相	(A)	液体二酸化炭素		
	(B)	IPA:アセトニトリル(50:50)中の0.1%ジエチルアミン		
カラム	:	Chiralpak OJ-H (250×4.6mm)、5μm		
カラム流	:	4.0mL/分		
勾配	:	時間(分)	B%開始	B%終了
		5	5	50
		1	50	50

30

【0179】

40

50

【表 6】

方法 Y 1 4 分析用キラル SFC に使用される方法

移動相	(A)	液体二酸化炭素	
	(B)	プロパン-2-オール:アセトニトリル(50-50)中の0.1%ジエチルアミン	
器具	Waters SFCインペスティブゲーター及びPDA検出器		
カラム	Chiralpak IH (250×4.6mm)、5 μm		
流速	4.0mL/分		
実行時間	8.0分		
勾配			
時間 (分)	流速 (mL/分)	B%開始	B%終了
0から5	4.0	5	50
5から8	4.0	50	50

10

【0180】

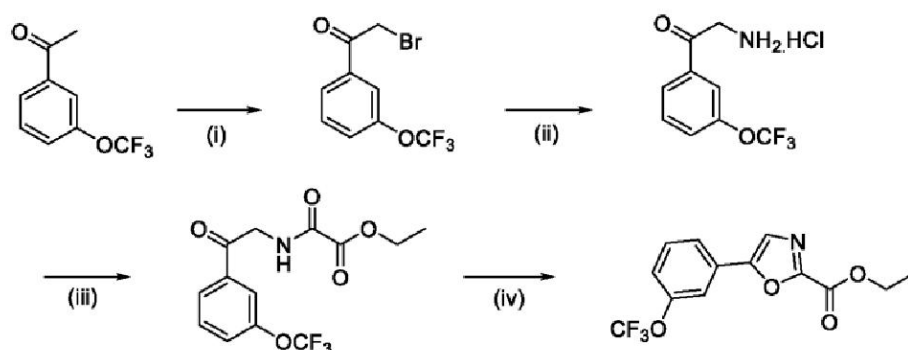
中間体の合成

5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボン酸エチル

20

【0181】

【化 8】



30

【0182】

スキーム：(i) Br₂、DCM、0 から室温、1 h；(ii) NaN(CHO)₂、MeCN、75、2 h、次に c. HCl、80、1 h；(iii) クロロオキシ酢酸エチル、K₂CO₃、DCM、0 から室温、3 h；(iv) POCl₃、100、16 h。

【0183】

ステップ (i)

40

2 - プロモ - 1 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) エタン - 1 - オン

1 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) エタン - 1 - オン (CAS 0171 - 63 - 6、Matrix Scientific、1.0 g、4.90 mmol、1.0 当量) の DCM (10 mL) 中の攪拌溶液に、臭素 (0.78 g、4.90 mmol、1.0 当量) の DCM 溶液を添加し、0 で滴下し、室温までゆっくりと加温し、1 時間攪拌し、次に飽和 NaHCO₃ 溶液 (50 mL) 中に注ぎ、DCM (2 × 50 mL) で抽出した。合わせた有機相を Na₂SO₄ 上で乾燥し、減圧下で濃縮して 2 - プロモ - 1 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) エタン - 1 - オン (1.45 g、定量収率) を得た。この物質は次の段階で直接使用された。LCMS: 方法 C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) ppm: 7.94 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.60 (t, J = 8.0

50

Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.47 (s, 2H)。

【0184】

ステップ (i i)

2 - アミノ - 1 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)エタン - 1 - オン塩酸塩
アセトニトリル (10 mL) 中の 2 - ブロモ - 1 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)エタン - 1 - オン (1.30 g, 4.59 mmol, 1 当量) の攪拌溶液に、ナトリウムジホルミルアミド (0.52 g, 5.51 mmol, 1.2 当量) を加え、混合物を 70 で 1 時間加熱した。反応混合物を室温に冷却し、減圧下で濃縮し、残渣をメタノール (4 mL) 及び濃 HCl (2 mL) で希釈した。混合物をさらに 80 で 1 時間加熱し、次いで室温まで冷却した。反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣をイソプロピルアルコール (2 mL) と共に攪拌して沈殿を形成し、そして固体を濾過して 2 - アミノ - 1 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)エタン - 1 - オン塩酸塩 (0.81 g, 3.96 mmol, 収率 80%, 2 段階以上) を得た。LCMS: 方法 C, 1.30 分, MS: ES+ 220.2。

10

【0185】

ステップ (i i i)

2 - オキソ - 2 - ((2 - オキソ - 2 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)エチル)アミノ)酢酸エチル
DCM (10 mL) 中の 2 - アミノ - 1 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)エタン - 1 - オン HCl 塩 (0.80 g, 3.65 mmol, 1 当量) の攪拌溶液に、0 で K₂CO₃ (0.75 g, 5.47 mmol, 1.5 当量) を加え、塩化エチルオキサリル (0.745 g, 5.48 mmol, 1.5 当量) を 0 で滴下し、混合物を室温まで滴下し、2 時間攪拌し、水 (30 mL) に注ぎ、EtOAc (2 × 30 mL) で抽出した。合わせた有機相をブライン (20 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥し、減圧下で濃縮し、2 - オキソ - 2 - ((2 - オキソ - 2 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)エチル) - アミノ)酢酸エチル (0.38 g, 1.19 mmol, 収率 33%) を得た。LCMS: 方法 C, 1.62 min, MS: ES+ 320.3; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) ppm: 9.21 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.07 - 8.09 (m, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.73 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 4.74 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.29 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

20

30

【0186】

ステップ (i v)

5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボン酸エチル
2 - オキソ - 2 - ((2 - オキソ - 2 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)フェニル)アミノ)酢酸エチル (0.37 g, 1.16 mmol) の POCl₃ 溶液 (3.7 mL, 10 容量) を、16 時間、100 で加熱した。混合物を室温に冷却し、氷冷水 (30 mL) に注ぎ、次いで固体の NaHCO₃ で塩基性化し、酢酸エチル (2 × 30 mL) で抽出した。合わせた有機相をブライン (20 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣を -70 でメタノールでトリチュレートし、減圧乾燥して、5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボン酸エチル (0.22 g, 0.73 mmol, 収率 63%) を得た。LCMS: 方法 C, 1.86 min, MS: ES+ 302.4; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) ppm: 8.16 (s, 1H), 7.88 - 7.83 (m, 2H), 7.70 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, 1H), 4.41 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.36 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

40

【実施例】

【0187】

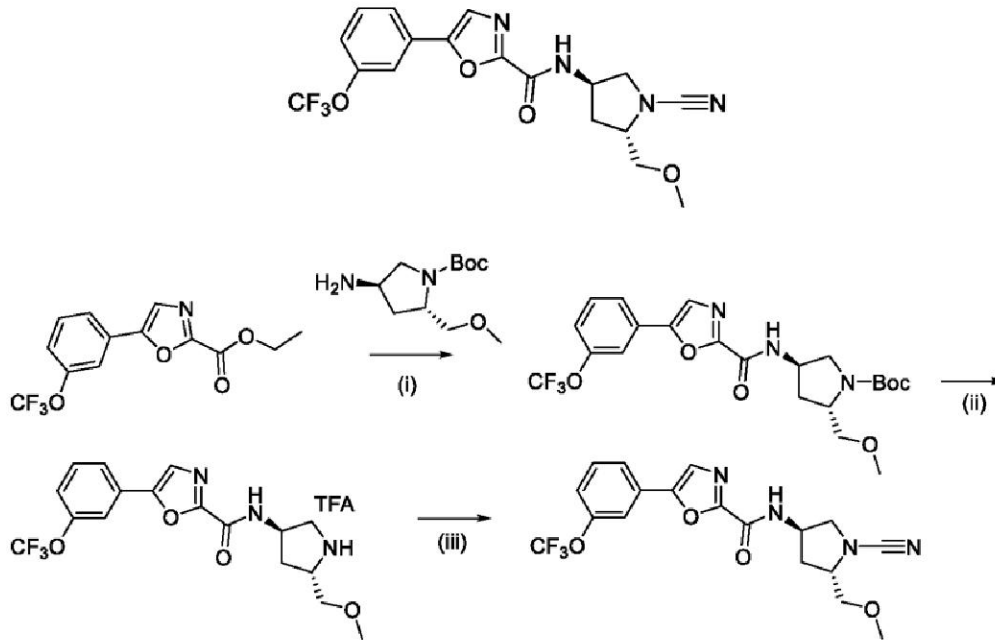
実施例 1

N - ((3R, 5S) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド

【0188】

50

【化 9】



20

【0189】

スキーム：(i) TBD、THF、0 から室温、2 h；(ii) TFA、DCM、0 から室温、1 h；(iii) K_2CO_3 、BrCN、THF、0 から室温、1 h。

【0190】

ステップ(i)

tert-ブチル(2S,4R)-2-(4-(メトキシメチル)-4-(5-(3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール-2-カルボキサミド)-ピロリジン-1-カルボン酸塩

THF(8 mL)中の5-(3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール-2-カルボン酸エチル(0.35 g、1.16 mmol)及びtert-ブチル(2S,4R)-4-アミノ-2-(メトキシメチル)ピロリジン-1-カルボン酸塩(CAS 1207853-53-9、0.27 g、1.16 mmol)の攪拌溶液に、TBD(0.24 g、1.74 mmol)を0 で部分的に添加し、室温に加温し、2時間攪拌し、次いで、水(60 mL)中に注ぎ、EtOAc(2×60 mL)で抽出した。合わせた有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、n-ヘキサン中30% EtOAc)で精製して、tert-ブチル(2S,4R)-2-(4-(メトキシメチル)-4-(5-(3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール-2-カルボキサミド)ピロリジン-1-カルボキシレート(0.25 g、0.51 mmol、収率44%)を得た。LCMS: 方法C, 1.89 min, MS: ES+ 486.4。

30

40

【0191】

ステップ(ii)

N-((3R,5S)-5-(メトキシメチル)ピロリジン-3-イル)-5-(3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール-2-カルボキサミドトリフルオロ酢酸塩

DCM(8 mL)中のtert-ブチル(2S,4R)-2-(4-(メトキシメチル)-4-(3-(トリフルオロメトキシ)フェニル)-オキサゾール-2-カルボキサミド)ピロリジン-1-カルボキシレート(0.25 g、0.51 mmol)の攪拌溶液に、TFA(0.75 mL、3 vol)を0 で滴下し、室温に放置し、1時間攪拌し、次いで、減圧下で濃縮して、N-((3R,5S)-5-(メトキシメチル)ピロリ

50

ジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオロ酢酸塩 (0.25 g、0.50 mmol、約97%収率)を得た。LCMS: 方法C, 1.49 min, MS: ES+ 386.6。

【0192】

ステップ (iii)

N - ((3R, 5S) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド

N - ((3R, 5S) - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオロアセテート (0.25 g、0.50 mmol) の THF (8 mL) 中の攪拌溶液に、室温で K_2CO_3 (0.21 g、1.50 mmol) を添加し、10分間攪拌した。臭化シアン (0.05 g、0.50 mmol) を室温で0 で添加し、混合物を室温で1時間攪拌し、水 (60 mL) 中に注ぎ、EtOAc (2 × 60 mL) で抽出した。合わせた有機相を Na_2SO_4 上で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、nヘキサン中60% EtOAc) で精製して、N - ((3R, 5S) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) - フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド (0.13 g、0.33 mmol、収率66%) を得た。LCMS: 方法H, 3.10 min, MS: ES+ 411.0; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) ppm 9.34 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.88 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.69 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.45 - 4.54 (m, 1H), 3.99 - 4.05 (m, 1H), 3.67 - 3.71 (m, 1H), 3.39 - 3.49 (m, 3H), 3.32 (s, 3H), 2.09 - 2.15 (m, 1H), 1.94 - 2.00 (m, 1H), chiral SFC: Method Y2, 2.60 min。

10

20

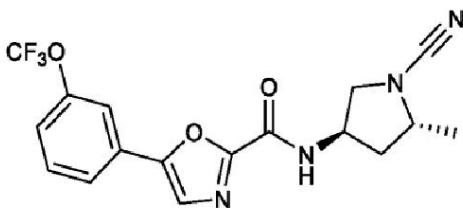
【0193】

実施例 2

N - ((3R, 5R) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド

【0194】

【化10】



30

【0195】

ステップ (i)

tert - ブチル (2R, 4R) - 2 - メチル - 4 - (5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド)ピロリジン - 1 - カルボン酸塩

THF (3 mL) 中の 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボン酸エチル (0.21 g、0.70 mmol、1.0 eq) と tert - ブチル (2R, 4R) - 4 - アミノ - 2 - メチルピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (CAS 348165 - 63 - 9、0.21 g、1.04 mmol、1.5 eq) の攪拌溶液に、THF (2 mL) 中の TBD (0.195 g、1.39 mmol、2.0 eq) の溶液を0 で滴下して添加した。混合物を室温に加温し、3時間攪拌し、次いで氷冷水 (30 mL) に注ぎ、EtOAc (2 × 30 mL) で抽出した。合わせた有機相をブライン (20 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン中30% EtOAc) に付して、tert - ブチル (2R,

40

50

4 R) - 2 - メチル - 4 - (5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド) ピロリジン - 1 - カルボキシレート (0 . 1 4 g、 0 . 3 1 m m o l、 収率 4 4 %) を得た。LCMS: Method 方法C, 1.90 min, MS: [M-56] 400.2。

【 0 1 9 6 】

ステップ (i i)

N - ((3 R , 5 R) - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオロ酢酸塩

DCM (5 m L) 中の tert - ブチル (2 R , 4 R) - 2 - メチル - 4 - (5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド) ピロリジン - 1 - カルボキシレート (0 . 1 3 g、 0 . 2 8 5 m m o l) の攪拌溶液に、 T F A (0 . 3 9 m L、 3 容量) を 0 で滴下し、室温までゆっくりと加温し、1時間攪拌し、次いで、減圧下で再度濃縮して、N - ((3 R、 5 R) - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオロ酢酸塩 (0 . 1 9 g、 定量収率) を得た。LCMS: 方法C, 1.40 min, MS: ES+ 356.2。

10

【 0 1 9 7 】

ステップ (i i i)

N - ((3 R , 5 R) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド

20

N - ((3 R , 5 R) - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオロアセテート (0 . 1 8 g、 0 . 3 8 m m o l、 1 . 0 当量) の T H F (5 m L) 中の攪拌溶液に、 K₂CO₃ (0 . 2 6 5 g、 1 . 9 m m o l、 5 . 0 当量) を加え、次いで臭化シアン (0 . 0 4 g、 0 . 3 8 m m o l、 1 . 0 当量) を 0 で加え、混合物を室温にゆっくり温め、30分間攪拌し、次いで水 (2 0 m L) 中に注ぎ、 EtOAc (2 x 3 0 m L) で抽出した。合わせた有機相をブライン (2 0 m L) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン中 3 0 % EtOAc) に付して、N - ((3 R , 5 R) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) - フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド (0 . 0 5 g、 0 . 1 3 m m o l、 2 段階にわたり 4 6 % 収率) を得た。LCMS: 方法H, 3.98 min, MS: ES+ 381; ¹H NMR (4 0 0 M H z , D M S O - d 6) ppm: 9.39 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.84 - 7.90 (m, 2H), 7.69 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.49 - 4.51 (m, 1H), 3.87 - 3.95 (m, 1H), 3.75 - 3.79 (m, 1H), 3.44 (dd, J = 10.0 Hz, 3.6 Hz, 1H), 2.13 - 2.19 (m, 1H), 1.81 - 1.74 (m, 1H), 1.24 (d, J = 6.4 Hz, 3H)。

30

【 0 1 9 8 】

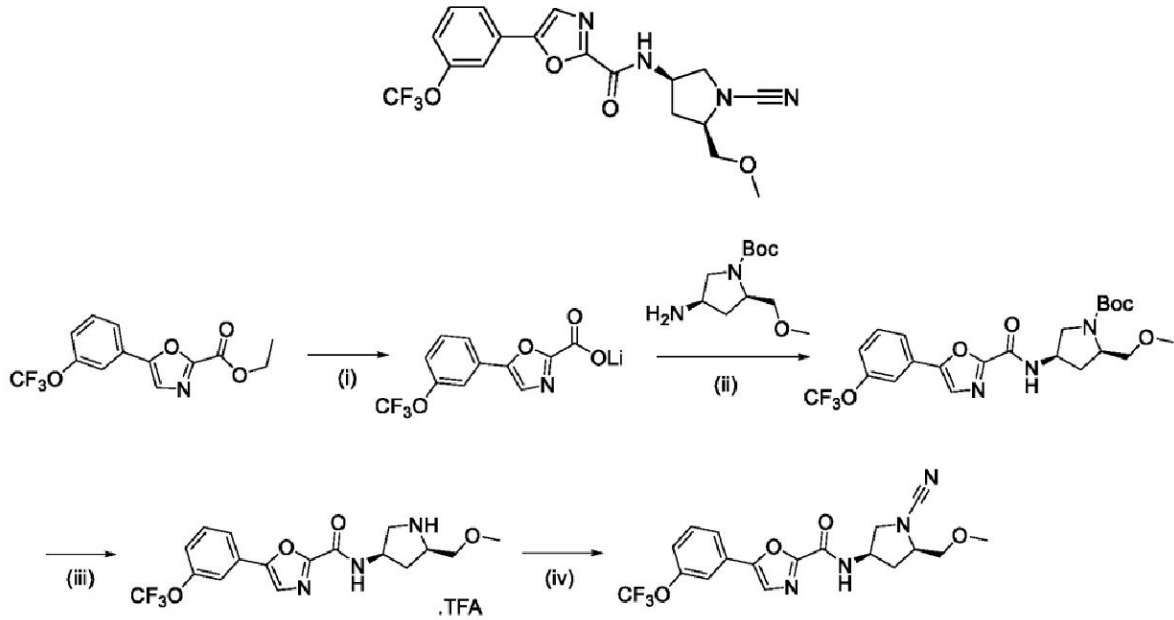
実施例 3

N - ((3 R , 5 R) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル) ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド

40

【 0 1 9 9 】

【化 1 1】



10

【 0 2 0 0 】

20

ステップ (i)

5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボン酸リチウム THF (5 mL) 中の 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボン酸エチル (0 . 2 0 g 、 0 . 6 6 mmol) の攪拌溶液に、水酸化リチウム一水和物 (0 . 0 6 g 、 1 . 3 2 mmol) の水 (1 mL) 溶液を 0 で滴下し、混合物を室温に温め、2 時間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮して、5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボン酸リチウム (0 . 2 2 g 、 定量収率) を得た。LCMS: 方法 H1, 2.11 min, MS: ES+ 274.0。

【 0 2 0 1 】

30

ステップ (i i)

tert - ブチル (2 R , 4 R) - 2 - (メトキシメチル) - 4 - (5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド) ピロリジン - 1 - カルボン酸塩

THF (7 mL) 中の 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボン酸リチウム (0 . 2 0 g 、 0 . 7 1 mmol) の攪拌溶液に、0 で DIPEA (0 . 2 8 g 、 0 . 3 6 mL 、 2 . 1 5 mmol) 及び HATU (0 . 3 3 g 、 0 . 8 6 mmol) を添加し、混合物を 1 時間攪拌した。tert - ブチル (2 R , 4 R) - 4 - アミノ - 2 - (メトキシメチル) ピロリジン - 1 - カルボン酸塩 (CAS 1123305-98-5, 0 . 1 7 g 、 0 . 7 1 mmol) を 0 で加え、混合物を室温に温め、1 6 時間攪拌し、次いで水 (5 0 mL) に注ぎ、EtOAc (2 x 5 0 mL) で抽出した。合わせた有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、n - ヘキサン中 3 0 % EtOAc) で精製して、tert - ブチル (2 R , 4 R) - 2 - (メトキシメチル) - 4 - (5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミド) ピロリジン - 1 - カルボキシレート (0 . 2 0 g 、 0 . 4 1 mmol 、 収率 5 7 %) を得た。LCMS: 方法 H1, 3.72 min, MS: ES+ 486.2。

40

【 0 2 0 2 】

ステップ (i i i)

N - ((3 R , 5 R) - 5 - (メトキシメチル) ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ) フェニル) オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオロ酢酸

50

塩

DCM (5 mL) 中の *tert*-ブチル (2R, 4R) - 2 - (メトキシメチル) - 4 - (5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド)ピロリジン - 1 - カルボキシレート (0.2 g, 0.41 mmol) の攪拌溶液に、TFA (2 mL, 10 vol) を 0 で滴下し、室温に放置し、1時間攪拌し、次いで、減圧下で濃縮して、N - ((3R, 5R) - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド TFA 塩 (0.23 g, 定量収率) を得た。LCMS: 方法H1, 2.74 min, MS: ES+ 386.2。

【0203】

10

ステップ (iv)

N - ((3R, 5R) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド

N - ((3R, 5R) - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミドトリフルオ酢酸 (0.23 g, 0.46 mmol) の THF (5 mL) 中の攪拌溶液に、K₂CO₃ (0.19 g, 1.38 mmol) を室温で添加し、5分間攪拌した。臭化シアン (0.05 g, 0.46 mmol) を室温で1時間攪拌し、次いで水 (50 mL) 中に注ぎ、EtOAc (2 × 50 mL) で抽出した。合わせた有機相を Na₂SO₄ 上で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、nヘキサン中 30% EtOAc) で精製して、N - ((3R, 5R) - 1 - シアノ - 5 - (メトキシメチル)ピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド (0.09 g, 0.22 mmol, 収率 53%) を2ステップで得た。LCMS: 方法H1, 3.15 min, MS: ES+ 411.2; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) ppm: 9.17 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.68 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.50 - 4.55 (m, 1H), 3.88 - 3.92 (m, 1H), 3.63 - 3.67 (m, 1H), 3.46 - 3.55 (m, 2H), 3.37 - 3.41 (m, 4H), 2.29 - 2.36 (m, 1H), 1.81 - 1.87 (m, 1H); Chiral SFC: Method Y14, 3.68 min。

20

【0204】

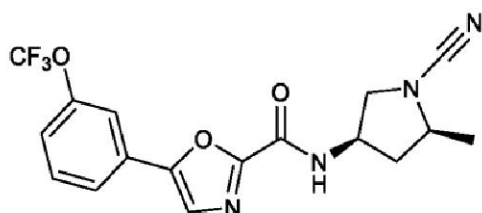
30

実施例 4

N - ((3R, 5S) - 1 - シアノ - 5 - メチルピロリジン - 3 - イル) - 5 - (3 - (トリフルオロメトキシ)フェニル)オキサゾール - 2 - カルボキサミド

【0205】

【化12】



40

【0206】

標題化合物は、ステップ (i) において、*tert*-ブチル (2S, 4R) - 4 - アミノ - 2 - メチルピロリジン - 1 - カルボキシレート (CAS 708274-46-8) を用いる実施例 2 と類似の方法によって調製することができる。

【0207】

発明の化合物の生物活性

TAMRA カルボキシテトラメチルローダミン

PCR ポリメラーゼ連鎖反応

50

P B S	リン酸緩衝生理食塩水
E D T A	エチレンジアミン四酢酸
T r i s	2 - アミノ - 2 - (ヒドロキシメチル) - 1 , 3 - プロパンジオール
N p - 4 0	ノニデット P - 4 0、オクチルフェノキシポリエトキシエタノール
B S A	ウシ血清アルブミン
P N S	末梢神経系
B H 3	B c l - 2 ホモロジードメイン 3
P T E N	ホスファターゼとテンシンのホモログ
S D S - P A G E	ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動
D M S O	ジメチルスルホキシド
Y F P	黄色蛍光タンパク質
V M E	ビニルメチルエステル
H A	赤血球凝集素
A h x	アミノヘキサ酸

10

【 0 2 0 8 】

U S P 3 0 生化学的 I C ₅₀ アッセイ

希釈プレート、96ウェルポリプロピレンV底プレート(Greiner #651201)中の50% DMSO中の最終濃度(100 μM)の最終濃度については2100 μM)の2.1倍で調製した。典型的な8点希釈系列は、100、30、10、3、1、0.3、0.1、0.03 μM最終である。反応は、ブラック384ウェルプレート(少量、Greiner 784076)において、21 μlの最終反応体積で2回実施した。1 μlの50% DMSO又は希釈化合物のいずれかをプレートに添加した。U S P 3 0 (Boston Biochem #E582)を反応緩衝液(40 mM Tris、pH 7.5、0.005% Tween 20、0.5 mg/ml BSA、5 mM -メルカプトエタノール)中で希釈して、4 nMの最終アッセイ濃度にし、10 μlの希釈U S P 3 0を化合物に添加した。酵素及び化合物を室温で30分間インキュベートした。反応は、蛍光分極基質としてイソペプチド結合を介してユビキチンに結合した50 nMのTAMRA標識ペプチドを添加することによって開始した。反応は、基質添加直後及び室温での2時間のインキュベーション後に読み取った。Pherastar Plus(BMG Labtech)を用いて読影を行った。励起540 nm、発光590 nm。

20

30

【 0 2 0 9 】

【表7】

U S P 3 0 生化学的 I C ₅₀ アッセイ

における例示的化合物の活性：

実施例	IC ₅₀ (nM)
1	5 (n=11)
2	5 (n=4)
3	8 (n=2)

40

【 0 2 1 0 】

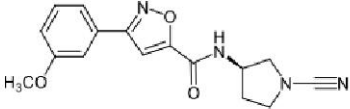
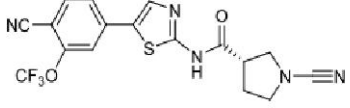
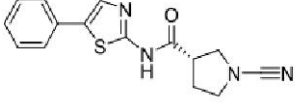
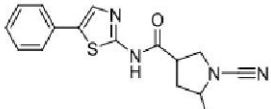
参照実施例

【 0 2 1 1 】

50

【表 8】

USP30 生化学的 IC₅₀ アッセイにおける例示的化合物の活性：

参考実施例	構造	出元	USP30 IC ₅₀ (nM)
A		W02016/156816 実施例221	70
B		W02016/046530 実施例219	172
C		W02016/046530 実施例1	310
D		W02016/046530 実施例88	4400

10

20

【0212】

オフターゲット薬理学

【0213】

【表 9】

DUB 生化学的 IC₅₀ アッセイにおける活性：

DUB	実施例1
UCL1、USP1、USP2、USP6、USP9x、USP10、USP15、USP16、USP20、USP21、USP22、USP25、USP28、USP35、USP36、USP46/UAF1.	IC ₅₀ (μM) ≥ 4.4 (USP30に対して ≥ 880 × 以上選択的)

30

【0214】

【表 10】

DUB	実施例2
UCL1、USP1、USP9x、USP10、USP15、USP16、USP20、USP21、USP22、USP25、USP28、USP35、USP36、USP46/UAF1.	IC ₅₀ (μM) ≥ 4.7 (USP30に対して ≥ 940 × 以上選択的)

40

【0215】

実施例 1 は、Eurofins CEREP Safety Screen 44 パネルにおける薬理的プロファイリングに供した。10 μM の単一濃度において、結合又は酵素活性の 20 % 未満の阻害がパネルのすべての標的に対して観察された。

【0216】

実施例 2 は、Eurofins CEREP Safety Screen 44 パネルにおける薬理的プロファイリングに供した。10 μM の単一濃度では、10 μM で 32 % の阻害が観察された 5-HT_{2b} を除き、パネルのすべての標的に対して 20 % 未満の結

50

合阻害又は酵素活性の阻害が観察された。

【0217】

実施例1及び2は、これらのスクリーニングパネルにおける標的に対する親和性が低い
ため、標的外相互作用の可能性が低い。

【0218】

安全性薬理試験

実施例1は、0.01~30 μMの濃度で安定に発現されたCHO細胞において、hERG
カリウムチャネルに対する効果について評価された。実施例1は30 μMでhERG
電流振幅の44.3%の抑制値を生じ、IC₅₀値は34.3 μM (SD 3.1、n = 3
)であり、予想される治療域内のQT間隔に影響する傾向がほとんどないことを示した。 10

【0219】

実施例2は、0.01~30 μMの濃度で安定に発現されたCHO細胞において、hERG
カリウムチャネルに対する効果について評価された。実施例2は、30 μMでhERG
電流振幅の54.3%の抑制値を生じ、IC₅₀値は24.7 μM (SD 5.1、n =
3)であり、予想される治療域内のQT間隔に影響する傾向が低いことを示した。

【0220】

遺伝毒性

実施例1は、細菌復帰突然変異試験(Ames)及びin vitro小核試験で評価
された。すべてのin vitro試験は、細胞毒性又は不溶性によって制限された濃度
までの濃度を用いて、外因性代謝活性化の有無にかかわらず実施された。Salmonella
typhimurium株TA98、TA100、TA1535及びTA97a 20
及びEscherichia coli株WP2uvrA pKM101を用いた復帰
突然変異試験では、代謝活性化の有無にかかわらず、1000 μg/ウェル(5000 μg
/プレートに相当)まで試験したところ、突然変異は誘発されなかった。

【0221】

染色体損傷の誘導は、TK6細胞におけるin vitro小核アッセイを用いて評価
した。実施例1は、外因性代謝活性化の存在下で3時間インキュベートし、その後27時
間回復させた場合、及び外因性代謝活性化の非存在下で27時間インキュベートし、その
後27時間回復させた場合、小核の誘導について陰性であった。

【0222】

実施例2は、細菌復帰突然変異試験(Ames)で評価された。すべてのin vit
ro試験は、細胞毒性又は不溶性によって制限された濃度までの濃度を用いて、外因性代
謝活性化の有無にかかわらず実施された。Salmonella typhimurium
株TA98及びTA100を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性化の有無にかかわ
らず、1000 μg/ウェル(5000 μg/プレートに相当)まで試験したところ、突
然変異は誘発されなかった。

【0223】

USP30内因性細胞標的結合アッセイ

YFP-パーキンを安定的に過剰発現するHeLa細胞を6ウェル皿に播種した。一旦
接着されると、細胞を、適切な濃度の被験化合物又はビヒクル対照で37、5%CO₂
で1時間処理した。全細胞溶解物を、細胞を冷PBS中にスクレーピングし、遠心分離し
、溶解緩衝液(50 mM Tris-塩基、pH 7.5、50 mM NaCl、1% NP
-40/Igepal CA-630、MgCl₂、10%グリセロール、5 mM -メル
カプトエタノール、complete mini錠EDTAフリー(Roche)、P
hosSTOP錠(Roche))中で10分間溶解した。除去された細胞溶解物から
の等価な20 μgのタンパク質を、2.5 μM HA-Ahx-Ahx-Ub-VMEブ
ロープの最終濃度と共に室温でインキュベートした。5xSDSサンプルローディング緩
衝液及びSDS PAGE及びウエスタンブロット法により分離したタンパク質を添加す
ることにより反応を停止した。抗USP30ヒツジS746D抗体(MRC PPU試薬
及びサービス)及びウサギ抗ヒツジ二次IgG(H+L)西洋ワサビペルオキシダーゼ複 40

合体 (Thermo #31480) を用いて USP30 を検出し、GE LAS4000 イメージャー上で ECL 試薬 (GE #RPN2109) を用いて可視化した。標的結合は、Ub-VME プローブに結合した USP30 及び USP30 に対応するバンドの定量化及びこの割合の発現によって、ビヒクル処理対照と比較して測定した。

【0224】

USP30 脳組織標的結合アッセイ

50 ~ 100 mg の組織を、Retch Mixer Mill (MM400) を用いて、3 x 体積の溶解緩衝液 (50 mM Tris - 塩基、pH 7.5、50 mM NaCl、1% NP-40 / Igepal CA-630、1 M MgCl₂、10% グリセロール、5 mM -メルカプトエタノール、complete mini 錠 EDTA フリー (ロシュ)、PhosStop 錠剤) 中でホモジナイズした (50 mM Tris - 塩基、pH 7.5、50 mM NaCl、1% NP-40 / Igepal CA-630)。溶解物を除去し、Bradford タンパク質アッセイ (Pierce) を用いてタンパク質を定量した。60 µg のタンパク質を含有するライセートを、24 µM の HA-Ahx-Ahx-Ub-VME プローブの最終濃縮物と共に室温で 60 分間インキュベートした。5 x SDS サンプルローディング緩衝液及び SDS-PAGE 及びウエスタンブロット法により分離したタンパク質を添加することにより反応を停止した。抗 USP30 ヒツジ S746D 抗体 (MRC PPU 試薬及びサービス) 及びウサギ抗ヒツジ二次 IgG (H+L) 西洋ワサビペルオキシダーゼ複合体 (Thermo #31480) を用いて USP30 を検出し、GE LAS4000 イメージャー上で ECL 試薬 (GE #RPN2109) を用いて可視化した。標的結合は、Ub-VME プローブに結合した USP30 及び USP30 に対応するバンドの定量化及びこの割合の発現によって、ビヒクル処理対照と比較して測定した。

【0225】

TOM20 ユビキチン化アッセイ

ヒト細胞株には、ミトコンドリア脱分極剤 (例、イオノフォア) を投与することができる。CCCp、バリノマイシン、ミトコンドリア複合体阻害剤 (オリゴマイシン、アンチマイシン A) は、TOM20 のユビキチン化を誘導し、USP30 阻害剤の存在下でさらに促進される。TOM20 ユビキチン化は、その後、細胞溶解物のウエスタンブロットティングを介して評価され、ユビキチンの各分子に対する 8 kDa の分子量増加のために、TOM20 ユビキチン化付加物検出が可能であり、その結果、TOM20 免疫反応性バンドのラダリングがもたらされる。TOM20 - ユビキチン化レベルは、ラダー免疫反応性バンドの化学ルミネセンスデンシトメトリーを用いて定量することができる。

【0226】

in vitro 細胞毒性 (細胞 Tox) : アッセイエンドポイントとしてアラマルブルー (商標) を用いて HCT116 ヒト結腸直腸がん細胞で測定した。化合物の細胞毒性は、96 時間の連続暴露期間にわたって測定された。

【0227】

さらなる研究

log P : 分配係数 ; 親油性測定。

log D : 分布係数 ; 親油性測定。

TPSA : トポロジー極性表面積。

比濁溶解度 : DMSO 中で調製した試験化合物溶液を水性緩衝液中に希釈したもの。濁度測定法は、620 nm における吸光度を測定することにより、エンドポイントとして用いられる。

FasSIF : pH 6.5 で測定した空腹時の模擬腸液。

HepCl1 マウス : マウス細胞における in vitro 肝細胞クリアランス。

HepCl1 ヒト : ヒト細胞における in vitro 肝細胞クリアランス。

血漿 fu_p : in vitro 平衡透析により測定した血漿製剤中の化合物の遊離画分。結合していない (遊離) 化合物のみが標的と結合することができることが理解される。

脳 $f_{u,br} : in vitro$ 平衡透析によって測定した脳ホモジネート製剤中の化合物の遊離画分。結合していない（遊離）化合物のみが標的と結合することができることが理解される。

【0228】

$Cl_u : in vitro$ クリアランス。ここで定義される Cl_u は、スケールされたクリアランスであり、次に、真性クリアランスから計算される。内因性クリアランスは、肝細胞標本中の化合物のインキュベーションから決定される、肝代謝反応による予測クリアランスである。値 (mL / 分 / kg) が低いほど、化合物はより安定である。

$Cl_{in vivo}$ クリアランス：単位時間当たりに物質が完全に除去される血漿（又はマトリックス）の体積の薬物動態学的測定。値 (mL / 分 / kg) が低いほど、化合物はより安定である。

10

経口 F：経口バイオアベイラビリティ。

MDR1 - MDCK (Madin - Darby イヌ腎細胞単層) ($in vitro$) フラックスアッセイ。

細胞 TE WB：USP30 内因性細胞標的結合ウエスタンブロット (WB) アッセイ。USP30 活性をモニターするための不可逆活性プローブを用いて、細胞中の USP30 に対する化合物の活性をアッセイする。

TE $ex vivo$ ：USP30 腎臓組織標的結合アッセイ。

$K_{p,u}$ は、血漿中の未結合薬物に対する脳内の未結合薬物の比率であり、末梢及び / 又は中枢神経系の適応症を治療する可能性を示唆している可能性がある。

20

【0229】

30

40

50

【表 1 1】

研究		実施例1	実施例2	実施例3
細胞TE WB	内因性USP30EC ₅₀ (μM)	-	0.007 (n=2)	-
細胞Tox	HCT116 EC ₅₀ (μM)	>30	24.0	23.9
物理化学的	pH7.4で測定したlog D	2.9	3.4	-
	TPSA (Å ²)	101	92	101
	比濁溶解度 (μM)	>100	>100	-
	pH6.5で測定したFaSSIF (μM)	89	25	-
肝細胞Clマウス	スケール付きCl _u (mL/分/kg)	84.7	130.6	97.4
ヒト肝細胞Cl	スケール付きCl _u (mL/分/kg)	5.6	11.2	-
安定性	マウス血漿t _{1/2} (分)	659	420	>120
MDR1-MDCK	流出率 (A-B(P _{a,p,p} 流束10 ⁻⁶ cm/s))	5.4 (18)	1.9 (12)	-
結合マウス	血漿f _{u,p} /脳f _{u,br}	0.060/ 0.043	0.050/ 0.028	0.036/-
PKマウス2mg/kg静注	Cl血液 (mL/min/kg)	20	58	-
PKマウス10mg/kg	経口F (%)	59	36	-
TE ex vivo	マウス脳2mg/kg iv: 15/60分 (%)	-	68/25 (n=2 avg)	-
TOM20-Ub 1.5倍ゲイン	アンチマイシンA/オリゴマイ シンマイトファジ-がEC1.5x (μM)を誘発する	0.011 (n=6) (0.004-0. 041)	0.009 (n=4) (0.003-0. 028)	0.210 (n=1)
未結合血漿中C _{max} /TOM20-Ub細胞力価 (10mg/kg PO投与-マウス)		25倍	7倍	-
K _{p,uu}	2mg/kg iv-マウス	0.21	-	-

10

20

30

【0230】

これらの例は、他の化合物に対する潜在的優位性を示す有益な特性を有する。例えば、実施例1では、マウスで測定したように、観察された静注血漿クリアランス20 mL/min/kgは低く、貴重な血漿安定性を示し、化合物は59%の非常に良好な経口バイオアベイラビリティを有する。

40

【0231】

50

【表 1 2】

化合物		Ex. 1	Ex. 2	Ex. 3	Ref. Ex. A
DUB IC ₅₀ (μM)	USP30	0.005	0.005	0.008	0.070
DUB IC ₅₀ (μM)	USP2、USP10、USP16 、USP21、USP22、US P25、USP28	4.4– 71.9	4.7– >100	>300	0.19– 9.9
USP30 v 7DUBsについての DUB選択性優先		880– 14380	940– >20000	>37500	2.7– 141
カテプシン IC ₅₀ (μM)	カテプシンB	44.3	>30	–	4.5
	カテプシンK	16.5	9.8	–	0.79
	カテプシンL	17.7	8.5	–	2.8
	カテプシンS	158.0	>30	–	8.8
	カテプシンV	132.2	>30	–	5.8
B、k、l、s、v		16.5– 158.0	8.5– >30	–	0.79– 8.8
USP30 v カテプシンについての 選択性優先		3300– 31600	1700– 6000	–	11– 126

10

20

【0 2 3 2】

【表 1 3】

化合物		Ex. 1	Ex. 2	Ex. 3	Ref. Ex. B	Ref. Ex. C	Ref. Ex. D
DUB IC ₅₀ (μM)	USP30	0.005	0.005	0.008	0.172	0.31	4.4
	UCLH1	>300	>100	>300	0.77	0.25	6.8
USP30 v UCLH1についての DUB選択性優先		60000	20000	37500	4.5	0.8	1.5

30

【0 2 3 3】

比較データ

参考例 A、B、C 及び D は、USP30 の阻害剤として活性であると同定され、シアナミド構造的特徴を有する本発明の化合物と構造的類似性を共有する既知の DUB 阻害剤である。参考例 B、C 及び D は、UCLH1 阻害活性を有するものとして WO 2016/046530 に開示されている。

【0 2 3 4】

USP30 の効力

本発明の実施例 1～3 は、生化学的アッセイで測定した場合、参照例 A、B、C 及び D よりも USP30 に対して有意に強力である。例えば、実施例 1 及び 2 は、それぞれ、参照例 A、B、C 及び D よりも 14、34、62 及び 880 倍強力である。実施例 3 は、参照例 A、B、C 及び D よりそれぞれ 9、22、39 及び 550 倍強力である。

40

【0 2 3 5】

USP30 の USP2、USP10、USP16、USP21、USP22、USP25、USP28 に対する選択性

実施例 1～3 は、参照例 A (USP2、USP10、USP16、USP21、USP22、USP25 及び USP28) と比較して、7つの DUB を超える USP30 に対して有意に選択的である。実施例 1～3 は、少なくとも、7つの DUB の各々に対してよりも USP30 に対して 880 倍強力である。これは、7つの DUB のうちの 1つに対して 2.7 倍強力である参考例 A よりも有意に優れている。

50

【0236】

U C H L 1 に対する U S P 3 0 の選択性

実施例 1 ~ 3 は、参照例 B、C 及び D と比較して、U S P 3 0 に対して U C H L 1 よりも有意に選択的であり、実施例 1 ~ 3 は、U S P 3 0 に対して U C H L 1 よりも少なくとも 2 0 0 0 0 倍強力であり、一方、B、C 及び D は、それぞれ、4 . 5 倍、0 . 8 倍及び 1 . 5 倍強力である。

【0237】

カテプシン B、K、L、S 及び V を超える U S P 3 0 の選択性

実施例 1 及び 2 は、参照例 A と比較して、カテプシン (B、K、L、S 及び V) よりも U S P 3 0 に対して有意に選択的であり、実施例 1 及び 2 は、それぞれ、カテプシンの各々に対してよりも、U S P 3 0 に対してそれぞれ、少なくとも 3 3 0 0 倍及び 1 7 0 0 倍強力である。これは、1 つのカテプシンに対して 1 1 倍の効力を有する参考例 A よりも有意に有利である。

10

【0238】

先行技術の引例に対する本発明の化合物の上述の同定された利点は、有意であり、かつ予期せぬものである。本発明の化合物は、それ自体で、特に組み合わせて、U S P 3 0 活性に関連する疾患の治療又は予防に使用するのに特に適している。

【0239】

前臨床 *i n v i v o* モデル

本発明の化合物は、例えば、以下を含む、公表された文献からの標準的な試験手順を用いて、代表的なインビボ疾患モデルにおいて有効性について試験することができる。

20

(a) プレオマイシン誘発肺線維症モデルは、特発性肺線維症の主要な前臨床モデルである。[Kobayashi et al, 2016, J Immunol, 197(2):504-516]

(b) N A F L D 及びグルコースホメオスタシスの食餌誘発モデル [Nishida et al, 2013, Lab Invest; Feb; 93(2):230-41]

(c) パーキンソン病の M P T P モデルは、化学的に誘発されるミトコンドリア機能不全によって引き起こされる脳のドーパミン作動系の神経変性を調べるのによく用いられるパラダイムである。[Karuppagounder et al, 2014, Sci Rep. 2014 May 2; 4:4874]

(d) N d u f s 4 K O L e i g h 症候群モデル。[Kruse et al, 2008, Cell Metab. Apr; 7(4):312-20]

30

(e) 老齢げっ歯類モデル：海馬、認知及び運動機能への影響。[Kobilko et al, 2014, Learn Mem. Jan 17; 21(2):119-26; Creed et al, 2019, Neuroscience. Jun 15; 409:169-179; Van Skike et al, 2020, Aging Cell. 19; e13057]。実施例 1 は、このモデルにおいて評価された。

(f) U U O は尿細管細胞傷害、間質性炎症及び線維化を特徴とする腎障害を引き起こす。それは、非可逆性腎後急性腎障害 (A K I) のモデルとして役立つ。実験的 U U O は、アポトーシス、炎症、及び線維化の分子メカニズムを示しており、これらはすべて、一次傷害にかかわらず、腎障害における重要なプロセスである。従って、U U O モデルは、閉塞を越えた研究者情報を提供する (Chevalier et al, 2009, Kidney Int 75(11): 1145-1152)。

40

【0240】

実施例 1 は、U U O モデルにおいて、進行性尿細管間質性線維症及び慢性腎疾患 (C K D) を軽減する化合物の能力を決定するために評価された。試験 1 日目に、成体 C 5 7 B L / 6 マウスに、溶媒、15、5 又は 1 . 5 m g / k g、実施例 1、1 日 2 回のいずれかの投与レジメンに従って、強制経口投与した。1 日目の投与から 2 時間後、マウスは 2 点で左尿管を結紮する手術を受けた。その後、水腎症による腎盂拡張の観察により、U O 手術の成功が確認された。動物には、腎臓を採取した 1 0 日間、又は組織病理学的評価及びタンパク質 / R N A 評価のために、所定の投与計画に従って投与した。コラーゲン沈着の程度を評価するためにピクロシリウスレッド染色を行い、I H C を用いて相対的 - 平滑筋アクチン (- S M A) 発現を評価した。

50

【 0 2 4 1 】

結果は、15、5及び1.5 mg/kgの実施例1 (p.o.)を1日2回投与すると、連結した腎臓におけるピクロシリウスレッド染色の減少によって証明されるように、コラーゲン沈着が統計的に減少することを示した。 - SMA染色の評価は、15、5及び1.5 mg/kgの実施例1 B I Dの経口投与が、溶媒処理対照と比較して、UUO損傷腎臓における - SMAレベルの統計的減少をもたらしたことを明らかにした。

(g) AKIは、両側性の腎茎クランプにより誘発され、その結果、虚血再灌流障害 (IRI) が生じ、その結果、腎機能の尿細管損傷及び炎症が重度に喪失する [Lu et al. 2012. J Nephrol. 25 (5): 738-45]。

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/059032

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	C07D413/12	A61P35/00
		A61P43/00
		A61K31/421
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C07D A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2020/212350 A1 (MISSION THERAPEUTICS LTD [GB]) 22 October 2020 (2020-10-22) cited in the application the whole document	1-26
A	WO 2016/156816 A1 (MISSION THERAPEUTICS LTD [GB]) 6 October 2016 (2016-10-06) cited in the application example 221	1-26
A	WO 2016/046530 A1 (MISSION THERAPEUTICS LTD [GB]) 31 March 2016 (2016-03-31) cited in the application examples 1,88,219	1-26
A	WO 2017/109488 A1 (MISSION THERAPEUTICS LTD [GB]) 29 June 2017 (2017-06-29) cited in the application example 10	1-26
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier application or patent but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
7 July 2021		16/07/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Österle, Carmen

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2021/059032

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020212350	A1	22-10-2020	NONE
WO 2016156816	A1	06-10-2016	AU 2016240033 A1 09-11-2017 BR 112017020900 A2 10-07-2018 CA 2976741 A1 06-10-2016 CN 107484415 A 15-12-2017 CN 112707893 A 27-04-2021 CO 2017011172 A2 16-01-2018 DK 3277677 T3 25-05-2021 EP 3277677 A1 07-02-2018 EP 3842427 A1 30-06-2021 HK 1245266 A1 24-08-2018 HR P20210791 T1 25-06-2021 IL 254721 A 31-12-2019 JP 6708661 B2 10-06-2020 JP 2018510183 A 12-04-2018 JP 2020143124 A 10-09-2020 KR 20170131654 A 29-11-2017 LT 3277677 T 25-05-2021 PT 3277677 T 20-04-2021 RU 2017134901 A 30-04-2019 SG 11201706542T A 30-10-2017 US 2018086708 A1 29-03-2018 US 2019270708 A1 05-09-2019 US 2019284138 A1 19-09-2019 US 2019322624 A1 24-10-2019 US 2020181086 A1 11-06-2020 WO 2016156816 A1 06-10-2016 ZA 201705717 B 25-09-2019
WO 2016046530	A1	31-03-2016	AU 2015323572 A1 23-03-2017 BR 112017005887 A2 12-12-2017 CA 2958262 A1 31-03-2016 CN 107001339 A 01-08-2017 CN 111592534 A 28-08-2020 DK 3197883 T3 22-06-2020 EP 3197883 A1 02-08-2017 EP 3828179 A1 02-06-2021 ES 2798473 T3 11-12-2020 HR P20200962 T1 02-10-2020 HU E050732 T2 28-01-2021 IL 250345 A 30-05-2019 JP 6549703 B2 24-07-2019 JP 2017530960 A 19-10-2017 JP 2019178161 A 17-10-2019 KR 20170055499 A 19-05-2017 LT 3197883 T 10-07-2020 PL 3197883 T3 19-10-2020 PT 3197883 T 22-06-2020 RU 2017105296 A 24-10-2018 SG 11201700847Y A 27-04-2017 SI 3197883 T1 31-08-2020 US 2017247365 A1 31-08-2017 US 2018162852 A1 14-06-2018 US 2019330202 A1 31-10-2019 US 2020369658 A1 26-11-2020 WO 2016046530 A1 31-03-2016

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2021/059032

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017109488 A1	29-06-2017	CN 108290872 A	17-07-2018
		EP 3394049 A1	31-10-2018
		JP 6810148 B2	06-01-2021
		JP 2019503362 A	07-02-2019
		US 2018362460 A1	20-12-2018
		WO 2017109488 A1	29-06-2017

10

20

30

40

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 P 25/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/16 (2006.01)
 A 6 1 P 9/00 (2006.01)
 A 6 1 P 3/10 (2006.01)
 A 6 1 P 25/08 (2006.01)
 A 6 1 P 25/28 (2006.01)
 A 6 1 P 35/02 (2006.01)
 A 6 1 P 17/02 (2006.01)
 A 6 1 P 13/12 (2006.01)
 A 6 1 P 1/16 (2006.01)
 A 6 1 P 9/10 (2006.01)
 A 6 1 P 17/00 (2006.01)
 A 6 1 P 3/06 (2006.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)

F I

A 6 1 P 11/00
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 9/00
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 25/08
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 35/02
 A 6 1 P 17/02
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 1/16
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 17/00
 A 6 1 P 3/06
 A 6 1 P 29/00

テーマコード (参考)

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

弁理士 池田 達則

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(72)発明者 クリストファー アンドリュウ ラックハースト

イギリス国, ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティール, バブラハム, バブラハム ホール, シー
 ノー ミッション セラピューティクス リミティド

(72)発明者 マーク イアン ケンブ

イギリス国, ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティール, バブラハム, バブラハム ホール, シー
 ノー ミッション セラピューティクス リミティド

(72)発明者 ボール ウィリアム トンプソン

イギリス国, ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティール, バブラハム, バブラハム ホール, シー
 ノー ミッション セラピューティクス リミティド

F ターム (参考) 4C063 AA01 BB09 CC52 DD03 EE01

4C086 AA01 AA02 AA03 BC69 GA07 GA09 MA01 MA04 NA14 ZA02
 ZA16 ZA36 ZA75 ZA89 ZB07 ZB11 ZB26 ZB27 ZC01 ZC20 ZC21
 ZC33 ZC35

【要約の続き】

