

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-521180
(P2023-521180A)

(43)公表日 令和5年5月23日(2023.5.23)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 B 0 6 5	
A 6 1 P	25/14 (2006.01)	A 6 1 P	25/14	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	31/4375(2006.01)	A 6 1 K	31/4375	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	31/4709(2006.01)	A 6 1 K	31/4709	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	31/4365(2006.01)	A 6 1 K	31/4365	4 C 2 0 6	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全63頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-562062(P2022-562062)				(71)出願人 522396045
(86)(22)出願日	令和3年4月7日(2021.4.7)				ルミ サイエнтиフィック ホールディ
(85)翻訳文提出日	令和4年11月21日(2022.11.21)				ングス, インコーポレーテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2021/026223				アメリカ合衆国 1 0 0 2 2 ニューヨー
(87)国際公開番号	WO2021/207387				ク州, ニューヨーク, パーク アベニュー
(87)国際公開日	令和3年10月14日(2021.10.14)				3 2 0, フロア 1 8, クアドラント マ
(31)優先権主張番号	63/007,161				ネージメント内
(32)優先日	令和2年4月8日(2020.4.8)				(74)代理人 100092783
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				弁理士 小林 浩
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA				(74)代理人 100103182
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(				弁理士 日野 真美
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A				(74)代理人 100139310
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR				弁理士 吉光 真紀
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,				(72)発明者
	最終頁に続く				ベレダ セラス, カーロタ
					アメリカ合衆国 9 4 1 1 0 カリフォル
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ハンチントン病の治療のためのプロモドメイン阻害剤の使用

(57)【要約】
本開示は、ハンチントン病を治療するためのBRD9
阻害剤の使用に関する。

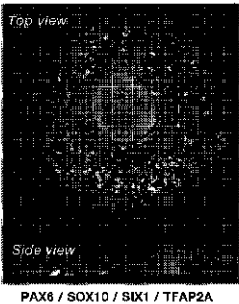


FIG. 1A

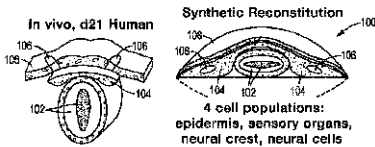


FIG. 1B

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療有効量のプロモドメイン 9 (BRD 9) 阻害剤を対象に投与することを含む、ハンチントン病 (HD) を有する対象を治療する方法。

【請求項 2】

前記 BRD 9 阻害剤がデグロンにコンジュゲートされていない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 BRD 9 阻害剤の投与が、*in vivo* で BRD 9 のプロテアソーム介在性分解を誘導しない、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記 BRD 9 阻害剤が選択的 BRD 9 阻害剤である、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 BRD 9 阻害剤が、BRD 2 と比較して少なくとも 2 倍または少なくとも 5 倍大きい BRD 9 阻害を有する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 BRD 9 阻害剤が、BRD 3 と比較して少なくとも 2 倍または少なくとも 5 倍大きい BRD 9 阻害を有する、請求項 4 または請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記 BRD 9 阻害剤が、BRD 4 と比較して少なくとも 2 倍または少なくとも 5 倍大きい BRD 9 阻害を有する、請求項 4 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

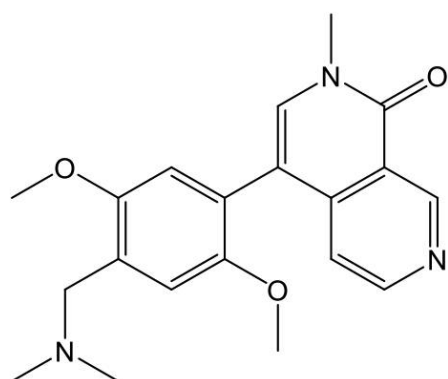
【請求項 8】

前記 BRD 9 阻害剤がピリジノン化合物である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 BRD 9 阻害剤が BI-9564 :

【化 1】



30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

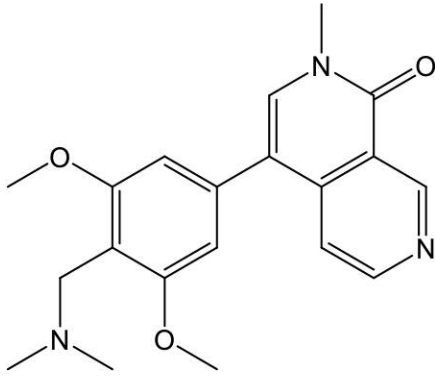
40

【請求項 10】

前記 BRD 9 阻害剤が BI-7273 :

50

【化 2】



10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1】

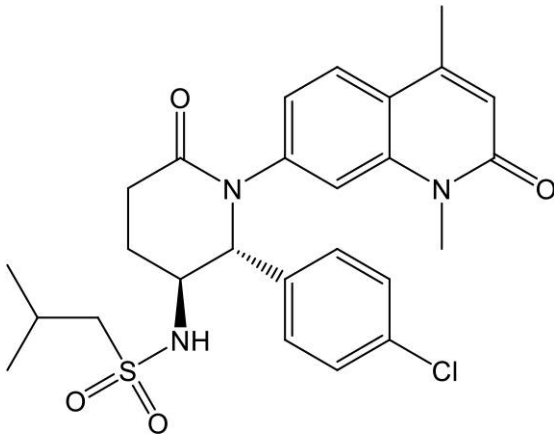
前記 B R D 9 阻害剤がメチルキノリノン化合物である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記 B R D 9 阻害剤が L P - 9 9 :

【化 3】

20



30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記 B R D 9 阻害剤がチエノピリドン化合物である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

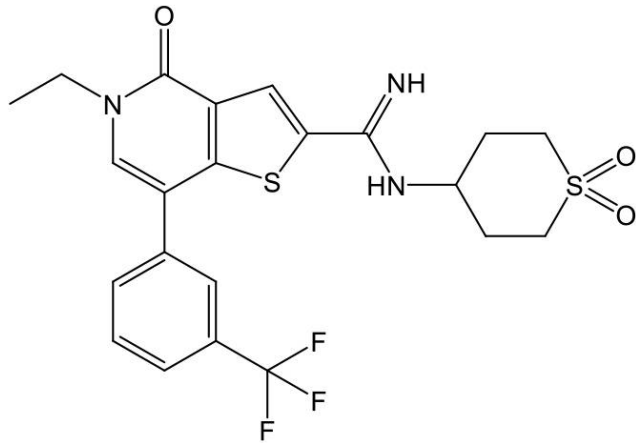
【請求項 1 4】

前記 B R D 9 阻害剤が I - B R D 9 :

40

50

【化 4】



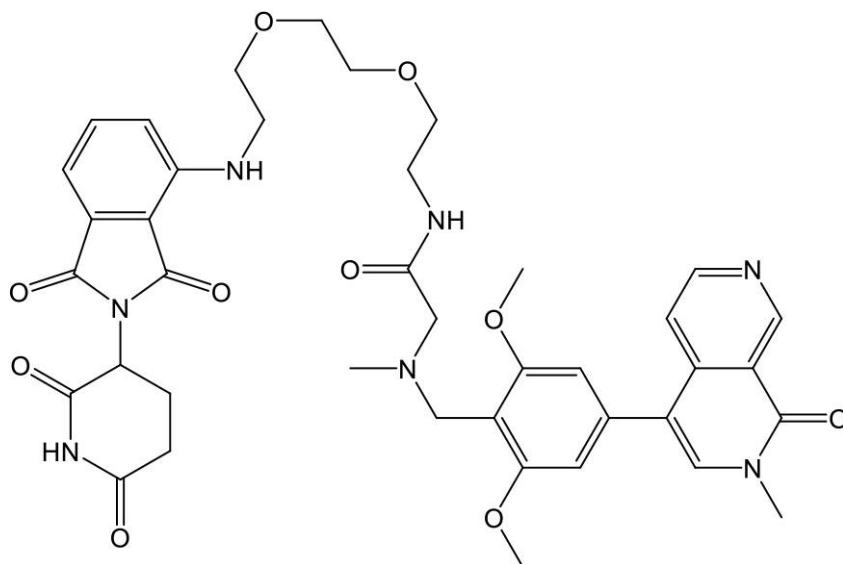
10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記 B R D 9 阻害剤が d - B R D 9 :

【化 5】



20

30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

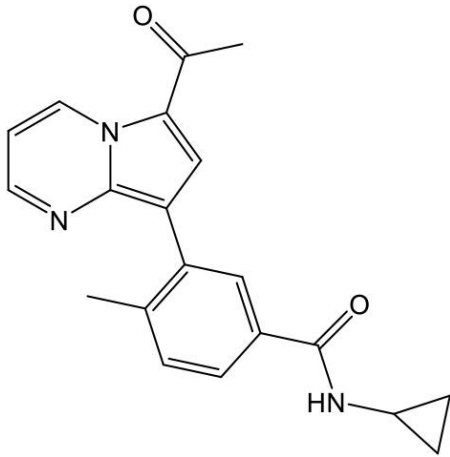
【請求項 1 6】

前記 B R D 9 阻害剤が T P - 4 7 2 :

40

50

【化 6】



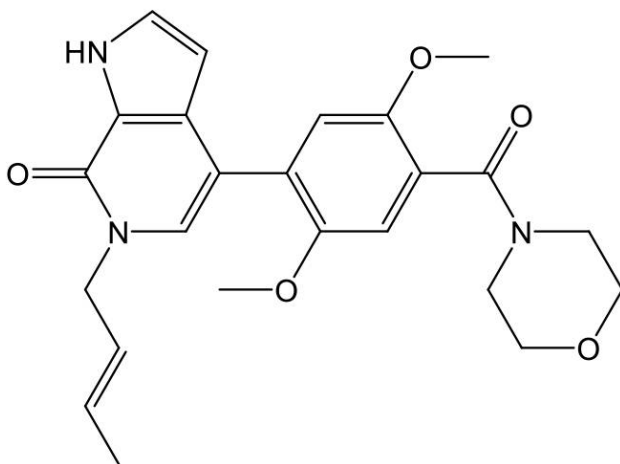
10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記 BRD9 阻害剤が GNE-375：

【化 7】



20

30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

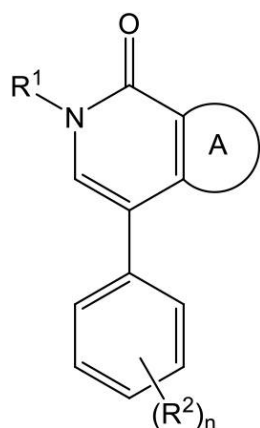
【請求項 18】

前記 BRD9 阻害剤が式 (I)：

40

50

【化 8】



(I)

10

の化合物またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

A はフェニルまたは N および S から選択される 1 または 2 個のヘテロ原子を含有する 5 員または 6 員ヘテロアリールであり、ここで前記フェニルまたはヘテロアリールは非置換であるか、または 1 ～ 3 個の R^3 基で置換されており、

20

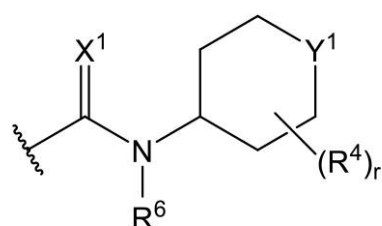
R^1 は、H、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、または $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキルであり、

各 R^2 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、または NH_2 であり、

各 R^3 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、 NH_2 、または、

【化 9】

30



であり、

X_1 は、 NR^5 または O であり、

Y_1 は、 $S(O)_a$ または NR^5 であり、

40

各 R^4 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、ハロゲン、または $-C(O)(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

各 R^5 は、独立して、H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

各 R^6 は、独立して、H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

a は、0、1、または 2 であり、

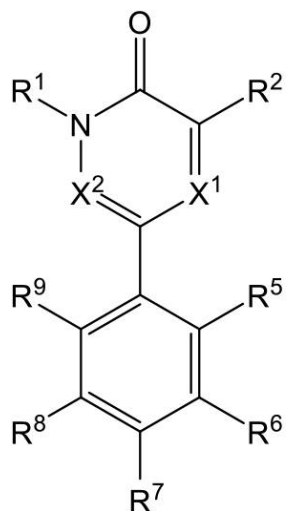
n および r は、それぞれ独立して、0、1、2、または 3 である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記 BRD9 阻害剤が式 (II)：

50

【化 10】



(II)

の化合物またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

R¹は、(C₁～C₃)アルキルまたはシクロプロピルであり、

R²は、ハロゲン、(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)ハロアルキル、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたはOHであり、

X¹はNまたはCR³であり、X²はNまたはCR⁴であり、ただし、X¹およびX²が両方ともNであることはなく、

R³は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁴は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ただし、R³およびR⁴が、両方とも(C₁～C₃)アルキルではあることはなく、

あるいは、R²およびR³は一緒になってベンゼン環または5～6員ヘテロアレーン環を形成し、これらの環の各々は独立して非置換であるか、または独立してハロゲン、OH、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルである1つまたは複数の基で置換されていてもよく、ここで前記(C₁～C₃)アルキル基は、非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールもしくはフェニルで置換されていてもよく、

R⁵およびR⁹は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、O(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁶およびR⁸は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、OH、ハロゲン、NH₂、(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)ハロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-O-(C₁～C₃)アルキル、4～7員ヘテロシクロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-SO₂-(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)アルキル-NH₂、(C₁～C₃)アルキル-N((C₁～C₃)アルキル)₂、N((C₁～C₃)アルキル)₂、またはNHR¹³であり、

R¹³は、それぞれの場合について独立して、SO₂-(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ここで前記(C₁～C₃)アルキル基は、非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールで置換されており、

あるいは、R⁵およびR⁶は一緒になってベンゼン環を形成し、

あるいは、R⁷およびR⁶、またはR⁷およびR⁸は一緒になって、非置換であるか、または(C₁～C₃)アルキルで置換された5～7員ヘテロシクロアルキルを形成し、

R⁷は、H、NH₂、Y-R¹²、(C₁～C₃)アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、

Yは、 $CR^{10}R^{11}$ 、 SO_2 またはCOであり、

R^{10} および R^{11} は同一であるかもしくは異なり、独立してHもしくは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであるか、または R^{10} および R^{11} は一緒になって $C_3 \sim C_4$ シクロアルキルを形成し、

R^{12} は、 NH_2 、 OH 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N(R^{15}, R^{16})$ 、 OR^{17} 、アリール、または5～6員ヘテロアリールであり、ここで前記アリールまたはヘテロアリールは、独立して非置換であるか、または1つもしくは複数のハロゲンもしくは4～7員ヘテロシクロアルキルで置換されており、ヘテロシクロアルキルの各々は、独立して、非置換であるか、またはハロゲン、 OH 、 NH_2 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N((C_1 \sim C_3)アルキル)_2$ 、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルおよび CH_2R^{14} から選択される1つもしくは複数の基で置換されており、

10

R^{14} は、非置換であるか、または NH_2 、 OH 、ハロゲン、 CN 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、もしくは $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換された5～10員の単環または二環式アリールもしくはヘテロアリールであり、

R^{15} は、Hまたは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^{16} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $C_2 \sim C_3$ アルキル- $N((C_1 \sim C_3)アルキル)_2$ 、 $C_2 \sim C_3$ アルキル- $NH(C_1 \sim C_3)アルキル$ または4～7員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、

R^{17} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは、非置換であるかまたは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、ここで、 R^7 が YR^{12} である場合、 R^6 および R^8 は、同一であっても、または異なってもよく、独立して、H、 OH 、ハロゲン、 NH_2 、 CN 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、または $(C_1 \sim C_3)アルキル-O-(C_1 \sim C_3)アルキル$ であり、

20

ここで、置換基 $R^5 \sim R^9$ の少なくとも1つは、水素ではない、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

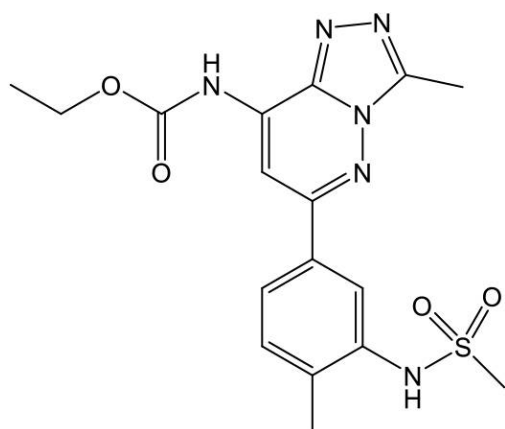
前記BRD9阻害剤が非選択的BRD9阻害剤である、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項21】

前記BRD9阻害剤がプロモスポリン：

【化11】



40

またはその薬学的に許容される塩である、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

前記BRD9阻害剤がアミノ酸抱合体の形態で投与される、請求項1～21のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 23】

前記アミノ酸抱合体がリジン抱合体である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記アミノ酸抱合体がフェニルアラニン抱合体である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】

前記 B R D 9 阻害剤が担体とともに前記対象に投与される、請求項 1 ～ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記担体が、ナノ粒子、エクソソーム、またはカーボンナノチューブを含む、請求項 25 に記載の方法。

10

【請求項 27】

前記担体がナノ粒子を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記ナノ粒子が、脂質ベースのナノ粒子を含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記ナノ粒子が、ヒト血清アルブミンベースのナノ粒子を含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 30】

前記ナノ粒子がアポリポタンパク質ベースのナノ粒子を含む、請求項 27 に記載の方法。

20

【請求項 31】

前記ナノ粒子がポリマーベースのナノ粒子を含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 32】

前記ナノ粒子がデンドリマーベースのナノ粒子を含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 33】

前記ナノ粒子が無機ベースのナノ粒子を含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 34】

前記担体がエクソソームを含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 35】

前記担体がカーボンナノチューブを含む、請求項 26 に記載の方法。

30

【請求項 36】

前記対象に脳透過性増強剤を補助的に投与することをさらに含む、請求項 1 ～ 35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

前記 B R D 9 阻害剤および前記脳透過性増強剤が、単一の医薬組成物中で共投与される、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記脳透過性増強剤が、セレポート、レガデノソン、またはボルネオールを含む、請求項 36 または請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記脳透過性増強剤がセレポートを含む、請求項 38 に記載の方法。

40

【請求項 40】

前記脳透過性増強剤がレガデノソンを含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 41】

前記脳透過性増強剤がボルネオールを含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 42】

前記対象にマイクロバブル増強超音波を行うことをさらに含む、請求項 1 ～ 41 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

前記 B R D 9 阻害剤が前記対象に経鼻投与される、請求項 1 ～ 42 のいずれか一項に記

50

載の方法。

【請求項 4 4】

前記 B R D 9 阻害剤が前記対象に静脈内投与される、請求項 1 ～ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記 B R D 9 阻害剤が動脈内注射により前記対象に投与される、請求項 1 ～ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記 B R D 9 阻害剤が前記対象の C S F に投与される、請求項 1 ～ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記 B R D 9 阻害剤が、髄腔内、脳室内または脳実質内に投与される、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

それを必要とする対象におけるハンチントン病（H D）の治療に用いられる B R D 9 阻害剤。

【請求項 4 9】

デグロンにコンジュゲートされていない、請求項 4 8 に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 5 0】

前記 B R D 9 阻害剤の投与が、i n v i v o で B R D 9 のプロテアソーム介在性分解を誘導しない、請求項 4 8 に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 5 1】

選択的 B R D 9 阻害剤である、請求項 4 8 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 5 2】

B R D 2 と比較して、少なくとも 2 倍または少なくとも 5 倍大きい B R D 9 阻害を有する、請求項 5 1 に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 5 3】

B R D 3 と比較して、少なくとも 2 倍または少なくとも 5 倍大きい B R D 9 阻害を有する、請求項 5 1 または請求項 5 2 に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 5 4】

B R D 4 と比較して、少なくとも 2 倍または少なくとも 5 倍大きい B R D 9 阻害を有する、請求項 5 1 ～ 5 3 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

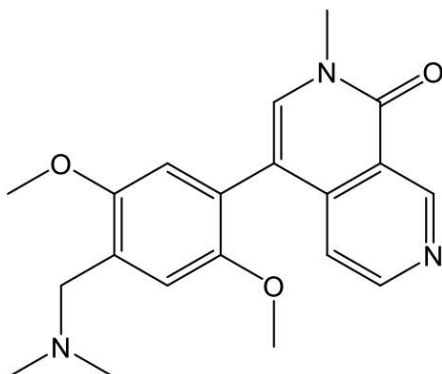
【請求項 5 5】

ピリジノン化合物である、請求項 4 8 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 5 6】

B I - 9 5 6 4 :

【化 1 2】



10

20

30

40

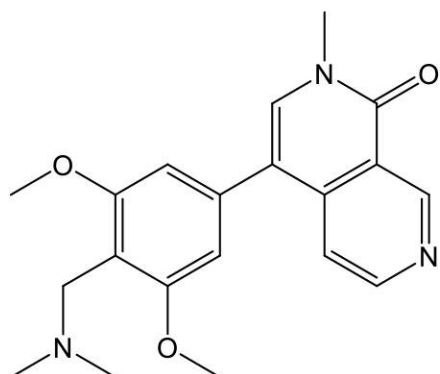
50

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 57】

B I - 7 2 7 3 :

【化 13】



10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

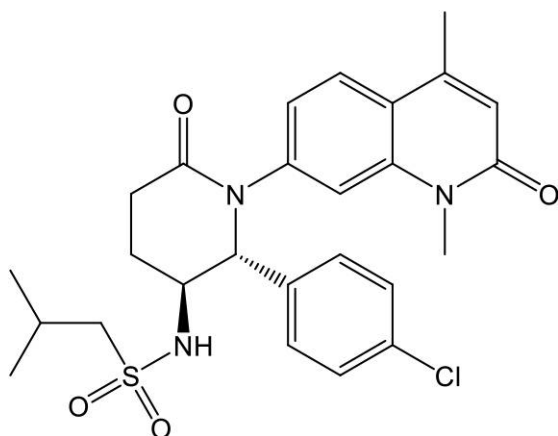
【請求項 58】

メチルキノリノン化合物である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 59】

L P - 9 9 :

【化 14】



30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 60】

チエノピリドン化合物である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

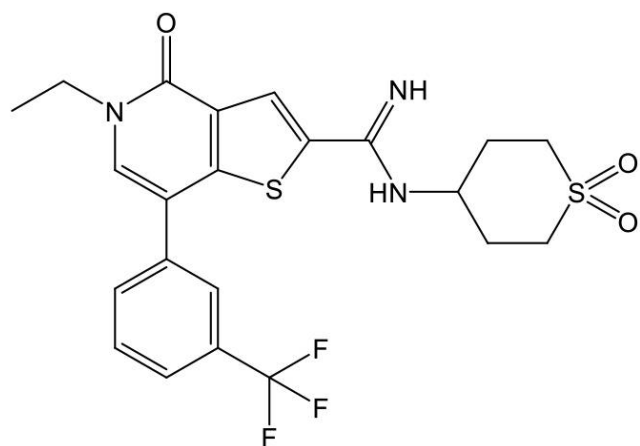
【請求項 61】

I - B R D 9 :

40

50

【化 1 5】



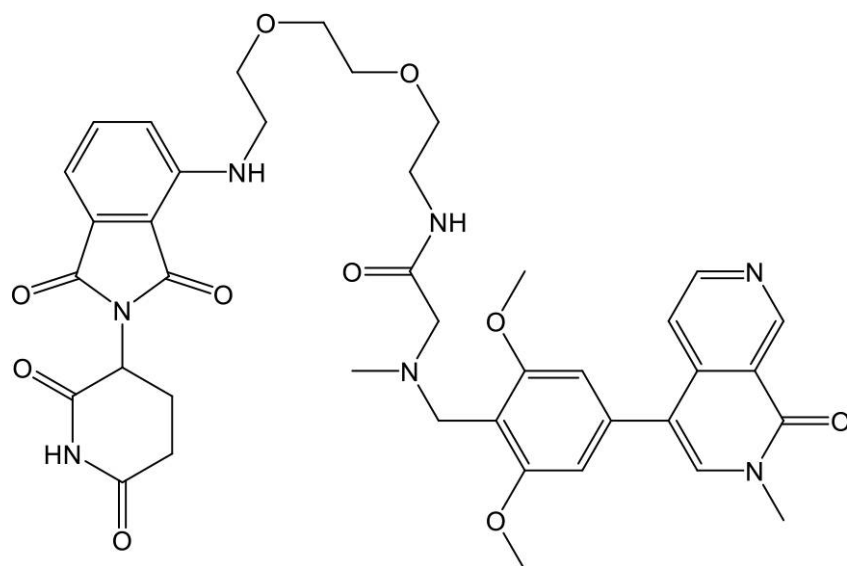
10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 4 8 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 6 2】

d - B R D 9 :

【化 1 6】



30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 4 8 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

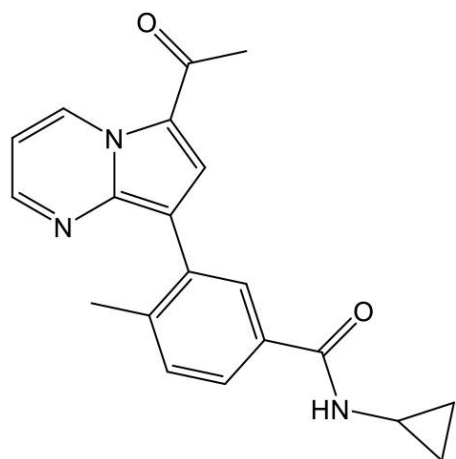
【請求項 6 3】

T P - 4 7 2 :

40

50

【化 1 7】



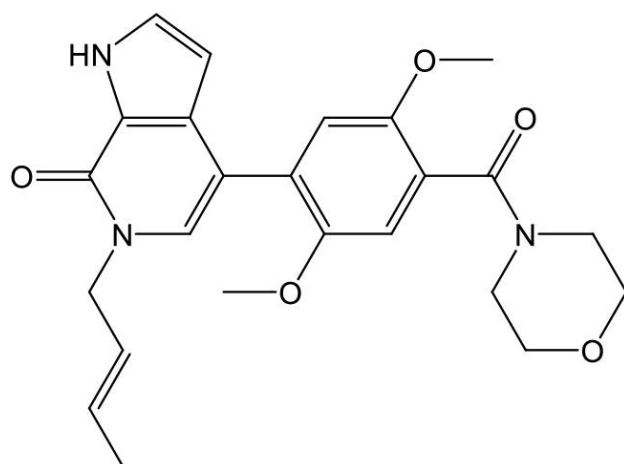
10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 4 8 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 6 4】

G N E - 3 7 5 :

【化 1 8】



20

30

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 4 8 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

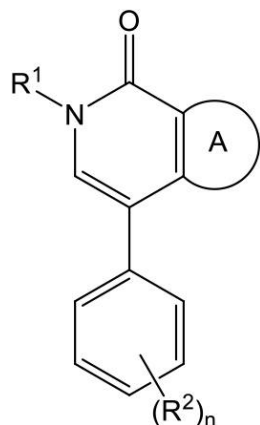
【請求項 6 5】

式 (I) :

40

50

【化 19】



(I)

10

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

A はフェニルまたは N および S から選択される 1 または 2 個のヘテロ原子を含有する 5 員または 6 員ヘテロアリールであり、ここで前記フェニルまたはヘテロアリールは非置換であるか、または 1～3 個の R^3 基で置換されており、

20

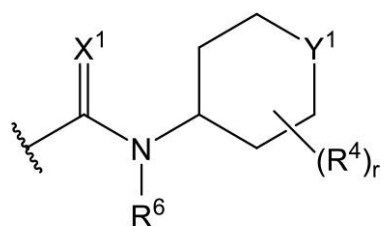
R^1 は、H、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、または $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキルであり、

各 R^2 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、または NH_2 であり、

各 R^3 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、 NH_2 、または、

【化 20】

30



であり、

X_1 は、 NR^5 または O であり、

Y_1 は、 $S(O)_a$ または NR^5 であり、

40

各 R^4 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、ハロゲン、または $-C(O)(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

各 R^5 は、独立して H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

各 R^6 は、独立して H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

a は、0、1、または 2 であり、

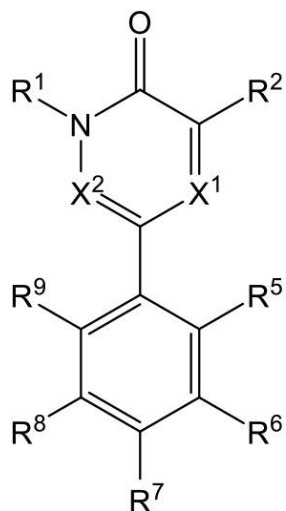
n および r は、それぞれ独立して、0、1、2、または 3 である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

【請求項 66】

式 (II)：

50

【化 2 1】



(II)

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

R¹は、(C₁～C₃)アルキルまたはシクロプロピルであり、

R²は、ハロゲン、(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)ハロアルキル、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたはOHであり、

X¹はNまたはCR³であり、X²はNまたはCR⁴であり、ただし、X¹およびX²は両方ともNであることはなく、

R³は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁴は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ただし、R³およびR⁴が、両方とも(C₁～C₃)アルキルであることはなく、

あるいは、R²およびR³は一緒になってベンゼン環または5～6員ヘテロアレーン環を形成し、これらの環の各々は独立して非置換であるか、または独立してハロゲン、OH、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルである1つまたは複数の基で置換されていてよく、ここで前記(C₁～C₃)アルキル基は非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールもしくはフェニルで置換されていてよく、

R⁵およびR⁹は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、O(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁶およびR⁸は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、OH、ハロゲン、NH₂、(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)ハロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-O-(C₁～C₃)アルキル、4～7員ヘテロシクロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-SO₂-(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)アルキル-NH₂、(C₁～C₃)アルキル-N((C₁～C₃)アルキル)₂、N((C₁～C₃)アルキル)₂、またはNHR¹³であり、

R¹³は、それぞれの場合について独立して、SO₂-(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ここで前記(C₁～C₃)アルキル基は、非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールで置換されており、

あるいは、R⁵およびR⁶は一緒になってベンゼン環を形成し、

あるいは、R⁷およびR⁶、またはR⁷およびR⁸は一緒になって、非置換であるか、または(C₁～C₃)アルキルで置換された5～7員ヘテロシクロアルキルを形成し、

R⁷は、H、NH₂、Y-R¹²、(C₁～C₃)アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、

Y は、 $CR^{10}R^{11}$ 、 SO_2 または CO であり、

R^{10} および R^{11} は同一であるかもしくは異なり、独立して H もしくは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであるか、または R^{10} および R^{11} は一緒になって $C_3 - 4$ シクロアルキルを形成し、

R^{12} は、 NH_2 、 OH 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N(R^{15}, R^{16})$ 、 OR^{17} 、アリール、または 5～6 員ヘテロアリールであり、ここで前記アリールまたはヘテロアリールは、独立して非置換であるか、または 1 つもしくは複数のハロゲンもしくは 4～7 員ヘテロシクロアルキルで置換されており、ヘテロシクロアルキルの各々は、独立して、非置換であるか、またはハロゲン、 OH 、 NH_2 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N((C_1 \sim C_3) \text{ アルキル})_2$ 、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルおよび CH_2R^{14} から選択される 1 つもしくは複数の基で置換されており、

10

R^{14} は、非置換であるか、または NH_2 、 OH 、ハロゲン、 CN 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、もしくは $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換された 5～10 員の単環または二環式アリールもしくはヘテロアリールであり、

R^{15} は、H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^{16} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルキル- $N((C_1 \sim C_3) \text{ アルキル})_2$ 、 $C_2 \sim 3$ アルキル- $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、

R^{17} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは、非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、ここで、 R^7 が YR^{12} である場合、 R^6 および R^8 は、同一であっても、または異なってもよく、独立して、H、 OH 、ハロゲン、 NH_2 、 CN 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- $O-(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、ここで、置換基 $R^5 \sim R^9$ の少なくとも 1 つは、水素ではない、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

20

【請求項 67】

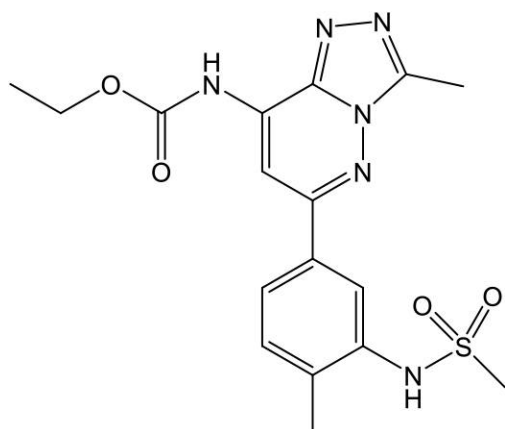
非選択的 BRD9 阻害剤である、請求項 48～54 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

30

【請求項 68】

プロモスポリン：

【化 22】



40

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 67 に記載の BRD9 阻害剤。

【請求項 69】

アミノ酸抱合体の形態で投与される、請求項 48～68 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

50

- 【請求項 7 0】
前記アミノ酸抱合体がリジン抱合体である、請求項 6 9 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 1】
前記アミノ酸抱合体がフェニルアラニン抱合体である、請求項 6 9 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 2】
担体とともに前記対象に投与される、請求項 4 8 ～ 7 1 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 3】
前記担体が、ナノ粒子、エクソソーム、またはカーボンナノチューブを含む、請求項 7 2 に記載の B R D 9 阻害剤。 10
- 【請求項 7 4】
前記担体がナノ粒子を含む、請求項 7 3 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 5】
前記ナノ粒子が、脂質ベースのナノ粒子を含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 6】
前記ナノ粒子が、ヒト血清アルブミンベースのナノ粒子を含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 7】
前記ナノ粒子がアポリポタンパク質ベースのナノ粒子を含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。 20
- 【請求項 7 8】
前記ナノ粒子がポリマーベースのナノ粒子を含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 7 9】
前記ナノ粒子がデンドリマーベースのナノ粒子を含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 0】
前記ナノ粒子が無機ベースのナノ粒子を含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 1】
前記担体がエクソソームを含む、請求項 7 4 に記載の B R D 9 阻害剤。 30
- 【請求項 8 2】
前記担体がカーボンナノチューブを含む、請求項 7 3 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 3】
前記対象の治療が、前記対象に脳透過性増強剤を補助的に投与することをさらに含む、請求項 4 8 ～ 8 2 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 4】
前記 B R D 9 阻害剤および前記脳透過性増強剤が、単一の医薬組成物中で共投与される、請求項 8 3 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 5】
前記脳透過性増強剤が、セレポート、レガデノソン、またはボルネオールを含む、請求項 8 3 または請求項 8 4 に記載の B R D 9 阻害剤。 40
- 【請求項 8 6】
前記脳透過性増強剤がセレポートを含む、請求項 8 5 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 7】
前記脳透過性増強剤がレガデノソンを含む、請求項 8 5 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 8】
前記脳透過性増強剤がボルネオールを含む、請求項 8 5 に記載の B R D 9 阻害剤。
- 【請求項 8 9】
前記対象の治療が、前記対象にマイクロバブル増強超音波を行うことをさらに含む、請 50

求項 48～88 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 90】

前記対象に経鼻投与される、請求項 48～89 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 91】

前記対象に静脈内投与される、請求項 48～89 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 92】

動脈内注射により前記対象に投与される、請求項 48～89 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 93】

前記対象の C S F に投与される、請求項 48～89 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 94】

前記 B R D 9 阻害剤が、髄腔内、脳室内または脳実質内に投与される、請求項 93 に記載の B R D 9 阻害剤。

【請求項 95】

ハンチントン病の治療のための医薬の製造における B R D 9 阻害剤の使用。

【請求項 96】

前記 B R D 9 阻害剤が、請求項 49～94 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤である、請求項 95 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 関連出願との相互参照

本出願は、2020年4月8日に提出された米国仮特許出願第63／007，161号の優先権の利益を主張し、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

2. 背景

ハンチントン病（HD）は、優性遺伝し、ハンチンチン遺伝子（HTT）の多型トリヌクレオチド（CAG）トラクトを伸長する突然変異に起因する、進行性で致死的な神経変性疾患である。米国医遺伝学会／米国人類遺伝学会ハンチントン病遺伝学的検査ワーキンググループ（Am J Hum Genet. 1998; 62:1243-7）によると、HTT遺伝子中のCAGリピートが26以下であれば「正常」、CAGリピートが27～35であれば変異しやすい正常な対立遺伝子、CAGリピートが36以上であれば病気を引き起こす対立遺伝子とみなされることが示されている。HTT遺伝子はHTTタンパク質をコードしており、CAGトラクトの伸長により、タンパク質のN末端付近にあるポリグルタミンリピート配列の病的な増加をもたらす。これは常染色体優性遺伝疾患であり、個体はHTT遺伝子のコピーを2つ持っているが、HDを生じるには1つの変異対立遺伝子で十分である。

【0003】

HDは、運動、行動、および認知症状の三徴候を伴う。運動障害は、この疾患を決定づける特徴であり、舞踏病は最も明白な運動症状である。舞踏病は、診断には有用であるが、疾患の重症度のマーカーとしては不十分である。むしろ、障害および疾患の重症度は、言語障害、歩行、および姿勢機能障害を含む、微細運動技能、徐脈、および粗大運動協調技能の障害等の負の運動特徴と最もよく相関する（Mahant et al., 2003, Neurology 61 (8): 1085-92）。

【0004】

HDに関連する運動および感情の問題を改善するために多くの薬物が処方されているが、HDにおける様々な薬物の有用性に関する科学的証拠は乏しい（Mestre et al., 200

10

20

30

40

50

9, Cochrane Database Syst Rev. (3):CD006455; Mestre et al., 2009, Cochrane Database Syst Rev. (3):CD006456)。したがって、HDの症状を改善するための薬剤の開発には、大きなアンメット・メディカル・ニーズがある。

【発明の概要】

【0005】

3. 概要

BRD9は、その配列のアミノ末端側にプロモドメインを、ならびにそのカルボキシ末端に機能不明ドメイン(DUF3512)を有する、プロモドメイン含有タンパク質である。BRD9はクロマチンリモデリングBAF(SWI/SNFとも呼ばれる)複合体の一部である(Kadoch et al, 2013, Nat. Genet. 45, 592-601; Middeljans et al., 2012, PLoS. One. 7, e33834)。BRD9遺伝子座の再発性増幅は、卵巣癌および乳癌において観察されており(例えば、Kang et al., 2008, Cancer Genet. Cytogenet. 182:1-11; Scotto et al., 2008, Mol. Cancer 7:58)、BRD9阻害剤は、潜在的な癌治療薬として開発されている(例えば、Martin et al., 2016, J. Med. Chem. 59(10):4462-4475を参照)。本開示は、BRD9阻害剤が、HDのヒトオルガノイドモデルにおいて疾患表現型を逆転させるのに有効であり、したがって、HDに罹患している患者の治療に有用であるという発見に基づくものである。

【0006】

したがって、本開示は、それを必要とする対象に有効量のBRD9阻害剤を投与することによって、HDを治療する方法を提供する。本方法およびその中で使用されるBRD9阻害剤の例は、下記のセクション6および特定の実施形態1~47に記載されている。

【0007】

他の態様において、本開示は、それを必要とする対象におけるHDの治療に用いられるBRD9阻害剤を提供する。それを必要とする対象におけるHDの治療における使用のためのBRD9阻害剤の例は、下記のセクション6および特定の実施形態48~94に示されている。

【0008】

さらに他の態様において、本開示は、HDの治療のための医薬の製造におけるBRD9阻害剤の使用を提供する。HDの治療のための医薬の製造におけるBRD9阻害剤の使用の例は、下記のセクション6ならびに特定の実施形態95および96に示されている。

【図面の簡単な説明】

【0009】

4. 図面の簡単な説明

【図1】図1A~1Bは、円盤状マイクロパターン上のニューロロイドの免疫蛍光分析を示す図である。(図1A)上:上面図。下:側面図。DAPI、PAX6、およびN-CADで染色した。(図1B)左:神経形成段階におけるヒト胚内の外胚葉コンパートメントの模式図。右:ヒトのニューロロイドの図示。神経細胞102、神経堤104、頭蓋ブラコード106、および表皮108。再構成された胚部分は、中央の神経ロゼット(PAX6+細胞、図1A)に、神経堤(SOX10+)およびブラコード運命(SIX1+)とともに組織化された、表皮細胞(TFAP2+のみ)の層で覆われた発生中の中枢神経系を示している。受精後約21日目の*in vitro*ニューロロイドと*in vivo*対応物との比較(図1B)により、高いレベルの類似性が明らかになり、ヒト遺伝子障害の研究および表現型逆転に基づく薬物の発見にとって理想的な前臨床エンドポイントになる。

【図2】図2は、HD株の表現型シグネチャーを示す図である。(左)ニューロロイドアッセイにおける異なるHD同質遺伝子株のPAX6領域の代表的な画像。PAX6染色により、PAX6領域を可視化することができる。(右)コロニー領域で正規化したPAX6領域の関連した定量化。HTT-/-株は最も劇的な表現型を示すことに留意されたい。これは、HTTタンパク質のポリ-Q伸長が、しばしば仮説されるような毒性機能の獲得ではなく、支配的な負の機能喪失を表すことを示唆している。

【図3】図3は、ハイスループットスクリーニングキャンペーンの基礎として使用されるHDニューロロイドにおける表現型逆転の概念を例示する図である。

【図4】図4は、薬物スクリーニングのAIを介した解析のスキームを示す図である。特定のネットワークは、スクリーニング実験からの全ての画像を入力するために使用される。ネットワークは、2つの量：薬物毒性および薬物有効性を出力するために特別に訓練される。

【図5】図5は、スクリーニングキャンペーンの結果を示す図である。2080の化合物の効果を、効力（表現型レスキュー）および毒性の関数としてプロットしている。WT対照（RUES2）およびHD-56CAG（56CAG）対照は、それぞれ、右向きの三角形および左向きの三角形としてプロットされている。上向きの三角形は、各化合物の効果を表す。菱形は、ヒット化合物を表し、高い有効性と低い毒性を有する分子を強調する。

10

【図6】図6は、プロモスポリンがHDニューロロイドの表現型をレスキューすることを示す図である。（上）一次スクリーニングからの結果。左から右：WT対照およびHD対照ウェル、ならびに10 μ Mプロモスポリンで処理されたHDウェルの例。各ウェルは約27個のニューロロイド複製物を含む。ニューロロイドは：DAPI（核）、PAX6（神経マーカー）、およびファロイジン（フィラメント状アクチン）で染色される。（下）プロモスポリンストックを用いた小規模実験でのヒット検証。ニューロロイドは：SOX10（神経堤マーカー）、PAX6（神経マーカー）、およびN-CAD（細胞間接着）で染色される。0.5 μ MのプロモスポリンはHD表現型をレスキューした。

20

【図7】図7は、プロモスポリンの効力および毒性の定量化を示す図である。ニューロロイドHD-56CAG表現型をレスキューする際のプロモスポリンの効力を測定する（白抜き菱形および曲線）。これは、120 nMのEC₅₀を示す。プロモスポリン毒性は、WT-20CAGバックグラウンドおよびHD-56CAGバックグラウンドにおける濃度の関数として測定される。

【図8】図8は、ニューロロイドアッセイにおけるBRD阻害剤のパネルの、10 μ Mの単一濃度における活性を示す図である。各分子について、ドットはその既知の分子標的を示し、レスキュー効力（斑点バー）および毒性レベル（破線バー）の両方が示される。右側の点線で表される閾値を上回るレスキュー活性を持ち、左側の点線のレベル未満の毒性を有する化合物のみがヒットとみなされる。BRD9/7阻害剤であるBI7273のみが、この実験ではヒットである。

30

【図9】図9A～9Bは、ニューロロイドアッセイにおけるBRD9阻害剤のパネルの活性を、用量依存的に示す図である。BRD9を阻害する5つの異なる低分子の効力（図9A）および毒性（図9B）を示す。全ての化合物は、サブマイクロモルEC₅₀で有効であり、マイクロモル範囲未満の低毒性を示す。

【図10】図10は、HDニューロロイドのレスキューにおいてサブマイクロモル効力を示すBRD阻害剤を示す図である。プロモスポリン、BI7273、I-BRD9、dBRD9およびBI9564は全て、HDニューロロイドをWT構成にレスキューする。プロモスポリンはプロモドメインに対する広範囲の阻害剤であり、BRD2、BRD4、BRD9、およびCECR2に対するIC₅₀はそれぞれ0.41 μ M、0.29 μ M、0.122 μ Mおよび0.017 μ Mである。BI-7273は強力で選択的な細胞透過性のBRD9阻害剤であり、 α アッセイにおけるIC₅₀はBRD9およびBRD7に対してそれぞれ19 nMおよび117 nMである。I-BRD9（GSK602）は、BRD9に対してpIC₅₀が7.3である強力かつ選択的な阻害剤であり、BRD4に対するpIC₅₀は5.3を示す。dBRD9は強力かつ選択的なBRD9分解PROTACである。BI-9564は、BRD9およびBRD7プロモドメインの選択的阻害剤であり、それぞれIC₅₀は75 nMおよび3.4 μ Mである。

40

【図11】図11A～11Bは、プロモスポリンがHTT低下活性を有することを示す図である。総HTTレベルおよび伸長HTTレベルの両方を、DMSO対照（濃度0）、5 μ M（濃度1）または1 μ M（濃度2）のプロモスポリン、BI7273、dBRD9ま

50

たはB I 9 5 6 4で処理したニューロロイドにおいて測定した。アッセイは、2つの遺伝的バックグラウンド：5 6 C A G（図1 1 A）および7 2 C A G（図1 1 B）において行った。各グラフ上の点線は、D M S O処理対照におけるH T Tの対照レベルを指す。M S Dアッセイによって測定されるシグナルの値は、使用される抗体に固有であり、したがって、これら2つの測定は異なる抗体を用いて行われるため、全H T Tの伸長H T Tを測定した場合には異なり、したがって、2つの測定における絶対レベルを比較することができない。

【図1 2】図1 2 A～1 2 Bは、B R D阻害剤によるH Dガストロロイドのレスキューを示す図である。（図1 2 A）ガストロロイドは、多能性マイクロパターン培養物上にC H I RおよびA c t i v i nを2日間適用することによって作成される。W T－2 0 C A G構成では、コロニー周辺にS O X 1 7＋環が形成される。この環はH D－5 6 C A Gバックグラウンドにおいて拡張し、ノックアウトH T T－／－バックグラウンドでは劇的にコロニー全体を占拠している。（図1 2 B）B R D阻害剤で処理したガストロロイドにおけるS O X 1 7＋環の定量化。全ての処理で、W T－2 0 C A Gバックグラウンドと比較して、S O X 1 7＋環の領域が減少していることが示される。

【図1 3－1】図1 3 A～1 3 Cは、B R D 9ノックダウンがH D－5 6 C A Gニューロロイドを部分的にレスキューすることを示す図である。（図1 3 A）誘導性C R I S P R干渉構築物は、B R D 9 m R N Aレベルを5 0 %低下させる。（図1 3 B）W T－2 0 C A Gニューロロイド（右）と比較して、H D－5 6 C A G（左）は、P A X 6領域の拡張およびS O X 1 0＋細胞の数がより少ないことを示す。これらの特徴の両方は、B R D 9ノックダウンによって部分的にレスキューされる（中央）。

【図1 3－2】（図1 3 C）関連する定量化。各条件についてN > 4 0コロニー。

【発明を実施するための形態】

【0 0 1 0】

5. 定義

投与する：用語「投与する」、「投与すること」、または「投与」は、例えば、皮下注射、腹腔内注射、筋肉内注射、静脈内注射、表皮または経皮投与、粘膜投与、経口、経鼻、経直腸、または経膈によって化合物または医薬組成物を対象に導入することを指す。中枢神経系の組織への化合物および医薬組成物の標的化は、髄腔内投与、脳室内投与、または脳実質内投与によるC S Fおよび脳への送達を伴う場合がある。担体制剤は、投与経路に応じて選択または変更することができる。一般的な参考文献として、例えば、Remington--The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, Gennaro et al. editors. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphiaを参照のこと。

【0 0 1 1】

B R D 9阻害剤：用語「B R D 9阻害剤」は、B R D 9の活性を阻害する化合物を指す。いくつかの実施形態において、B R D 9阻害剤は、B R D 9に加えて1つまたは複数のプロモドメインタンパク質に対する活性を有する広範囲のプロモドメイン阻害剤である。いくつかの実施形態において、B R D 9阻害剤は、B R D 9の選択的阻害剤である。例えば、B R D 9阻害剤は、限定されないが、B R D 2、B R D 3、B R D 4、または前述の任意の組合せ等の1、2、または3つの他のプロモドメイン含有タンパク質に対して、B R D 9に対して少なくとも2倍、少なくとも5倍または少なくとも10倍大きい活性を有することができる。B R D 9とB R D 7は密接に関連しているため、特定の実施形態において、B R D 9の選択的阻害剤は、B R D 9と同程度にB R D 7を阻害することができるが、ただし、B R D 2、B R D 3および／またはB R D 4に対してより少ない阻害活性を有し得る。

【0 0 1 2】

プロモドメイン：用語「プロモドメイン」は、ヒストンのN末端テイル上のもの等のアセチル化リジン残基を認識するタンパク質ドメインを指す。特定の実施形態において、プロモドメイン、例えば、プロモドメイン含有タンパク質（例えば、プロモおよびエキストラターミナル（B E T）タンパク質）は、約1 1 0アミノ酸を含み、クロマチンと相互作用

用する多様なループ領域によって連結された4つの α ヘリックスの左巻きバンドルを含む保存されたフォールドを共有する。特定の実施形態において、プロモドメインは、ASH1L (GenBank ID: gi | 8922081)、ATAD2 (GenBank ID: gi | 24497618)、BAZ2B (GenBank ID: gi | 7304923)、BRD1 (GenBank ID: gi | 11321642)、BRD2 (1) (GenBank ID: gi | 4826806)、BRD2 (2) (GenBank ID: gi | 4826806)、BRD3 (1) (GenBank ID: gi | 11067749)、BRD3 (2) (GenBank ID: gi | 11067749)、BRD4 (1) (GenBank ID: gi | 19718731)、BRD4 (2) (GenBank ID: gi | 19718731)、BRD9 (GenBank ID: gi | 57770383)、BRDT (1) (GenBank ID: gi | 46399198)、BRPF1 (GenBank ID: gi | 51173720)、CECR2 (GenBank ID: gi | 148612882)、CREBBP (GenBank ID: gi | 4758056)、EP300 (GenBank ID: gi | 50345997)、FALZ (GenBank ID: gi | 38788274)、GCN5L2 (GenBank ID: gi | 10835101)、KIAA1240 (GenBank ID: gi | 51460532)、LOC93349 (GenBank ID: gi | 134133279)、PB1 (1) (GenBank ID: gi | 30794372)、PB1 (2) (GenBank ID: gi | 30794372)、PB1 (3) (GenBank ID: gi | 30794372)、PB1 (5) (GenBank ID: gi | 30794372)、PB1 (6) (GenBank ID: gi | 30794372)、PCAF (GenBank ID: gi | 140805843)、PHIP (2) (GenBank ID: gi | 34996489)、SMARCA2 (GenBank ID: gi | 48255900)、SMARCA4 (GenBank ID: gi | 21071056)、SP140 (GenBank ID: gi | 52487219)、TAF1 (1) (GenBank ID: gi | 20357585)、TAF1 (2) (GenBank ID: gi | 20357585)、TAF1L (1) (GenBank ID: gi | 24429572)、TAF1L (2) (GenBank ID: gi | 24429572)、TIF1 (GenBank ID: gi | 14971415)、TRIM28 (GenBank ID: gi | 5032179)、またはWDR9 (2) (GenBank ID: gi | 16445436)である。

10

20

30

【0013】

デグロン：用語「デグロン」は、ポリペプチドの細胞内分解を指示する分解シグナルを提供するアミノ酸の配列を指す。デグロンは、プロテアソーム経路またはオートファジーリソソーム経路のいずれかを介して、結合したポリペプチドの分解を促進することができる。例えば、Kanemaki et al., 2013, Pflugers Arch. 465(3):419-425およびErales et al., 2014, Biochim Biophys Acta 1843(1):216-221を参照されたい。

【0014】

デンドリマー：本明細書で使用する用語「デンドリマー」は、内部コア、この開始剤コアに規則的に結合された繰り返し単位の内部層（または「世代」）、および最外側の世代に結合された末端基の外面を有する分子アーキテクチャを含むことを意図するが、これらに限定されない。デンドリマーの例としては、ポリ（アミドアミン）（PAMAM）、ポリエステル、ポリリジン、およびポリ（プロピレンイミン）（PPI）が挙げられるが、これらに限定されない。PAMAMデンドリマーは、カルボキシル、アミンおよびヒドロキシル末端を有することができ、第1世代PAMAMデンドリマー、第2世代PAMAMデンドリマー、第3世代PAMAMデンドリマー、第4世代PAMAMデンドリマー、第5世代PAMAMデンドリマー、第6世代PAMAMデンドリマー、第7世代PAMAMデンドリマー、第8世代PAMAMデンドリマー、第9世代PAMAMデンドリマー、または第10世代PAMAMデンドリマーを含むが、これらに限定されない任意の世代のデンドリマーであり得る。本発明での使用に適したデンドリマーとしては、ポリアミドアミ

40

50

ン（PAMAM）、ポリプロピルアミン（POPAM）、ポリエチレンジアミン、ポリリジン、ポリエステル、イブチセン、脂肪族ポリ（エーテル）、および／または芳香族ポリエーテル dendrimer が挙げられるが、これらに限定されない。Dendrimer 複合体の各 dendrimer は、他の dendrimer と同様の化学的性質であっても、または異なる化学的性質であってもよい（例えば、第1の dendrimer は PAMAM dendrimer を含んでいてもよく、第2の dendrimer は POPAM dendrimer を含んでいてもよい）。いくつかの実施形態において、第1または第2の dendrimer は、追加の剤をさらに含んでいてもよい。マルチアーム PEG ポリマーは、スルフヒドリルまたはチオピリジン末端基を有する少なくとも2つの分岐を有するポリエチレングリコールを含むが、本明細書に開示する実施形態はこのクラスに限定されず、スクシンイミジルまたはマレイミド末端等の他の末端基を有する PEG ポリマーも使用することができる。分子量 10 kDa ~ 80 kDa の PEG ポリマーを使用することができる。

10

【0015】

阻害：用語「阻害」、「阻害すること」、「阻害する」または「阻害剤」は、特定のタンパク質または生物学的プロセスの活性（例えば、プロモドメインおよび／またはプロモドメイン含有タンパク質の活性）を低減、減速、停止または防止する化合物の能力を指す。いくつかの実施形態において、活性は、細胞または組織において低減され、および／または活性は、ビヒクルと比較して低減される。

【0016】

ニューロロイド：用語「ニューロロイド」は、神経前駆細胞、神経堤、感覚プラコード、および表皮を有するマイクロパターン上の自己組織化オルガノイドを指す。ニューロロイドは、Harekami et al., 2019, Nature Biotechnology 37:1198-1208 によって記載されるように、胚性幹細胞、例えば、ヒト胚性幹細胞から生成することができる。

20

【0017】

選択的阻害：本明細書で使用されるように、化合物が、1つまたは複数の他のプロモドメイン含有タンパク質と比較して BRD9 の活性を「選択的に」または「特異的に」低減する能力を有する場合、化合物は、他のプロモドメインと比較して BRD9 の活性を少なくとも約2倍阻害することができる。様々な実施形態において、化合物は、BRD7 以外の他のプロモドメインと比較して、BRD9 に対して少なくとも約5倍、少なくとも約10倍、少なくとも約25倍、または少なくとも約50倍、より大きな阻害活性を有する。阻害活性は、セクション6に記載されるように、*in vitro* アッセイにおいて活性の%阻害および／または IC₅₀ 値として測定することができる。BRD9 および BRD7 は密接に関連しているため、特定の実施形態において、BRD9 の選択的な阻害剤は、BRD9 と同程度に BRD7 を阻害することが可能であるが、ただし、BRD2、BRD3 および／または BRD4 等の1つまたは複数の関連が遠いプロモドメイン含有タンパク質に対する阻害活性は低い。

30

【0018】

対象または患者：用語「対象」および「患者」は、ヒト（すなわち、任意の年齢群の男性または女性、例えば、小児科対象（例えば、乳児、子供、または思春期）または成人対象（例えば、若年成人、中年成人、または高齢成人））または非ヒト動物（例えば、非ヒト霊長類等の哺乳動物、ネコまたはイヌ等の飼育動物、ウシ、ウマまたはブタ等の家畜動物）を指す。特定の実施形態において、対象は、少なくとも1つの HTT 対立遺伝子において、伸長されたポリグルタミンまたはポリQのリピートを有する。伸長ポリグルタミンリピートは、グルタミンに対する一方または両方のコドン（すなわち、CAA および／または CAG）を含んでよく、36以上、好ましくは40以上のグルタミンを有する HTT タンパク質をコードする。特定の実施形態において、ポリグルタミンリピートは、42 ~ 265 個のグルタミン、特定の実施形態では、45、48、50、55、56、58、60、65、67、70、72、74、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、210、

40

50

220、230、240、250または265グルタミン、前述のグルタミンリピート数の2つを端点として有するその任意の誘導可能範囲、例えば48～180、50～150、または56～130のグルタミンを有するHTTタンパク質をコードする。HDは常染色体優性状態であるため、対象は、1つのHTT対立遺伝子のみにおいて伸長グルタミンリピートを有することができるが、両方のHTT対立遺伝子において伸長グルタミンリピートを有する対象は、本開示の範囲内である。

【0019】

治療：「治療」、「治療する」、および「治療すること」という用語は、本明細書に記載の疾患を逆転させる、緩和する、発症を遅延させる、または進行を阻害することを指す。いくつかの実施形態において、治療は、疾患の1つまたは複数の兆候または症状が発症した後、または観察された後に投与されてもよい。他の実施形態において、治療は、疾患の兆候または症状の非存在下で投与されてもよい。例えば、治療は、症状の発症前に（例えば、HDの家族歴またはハンチンチン遺伝子における伸長グルタミンもしくはCAGリピートの存在を考慮して）感受性の高い対象に投与してもよい。

【0020】

6. 詳細な説明

BRD9阻害剤は、当技術分野で知られており、ハンチントン病（HD）の治療に使用することができる。BRD9阻害剤は、核酸、ポリペプチドまたは低分子を含むがこれらに限定されない、多様な性質および起源であってよい。

【0021】

一態様において、阻害剤は、BRD9遺伝子の転写またはBRD9 mRNAの翻訳を阻害することができるアンチセンス核酸である。アンチセンス核酸は、プロモドメイン含有タンパク質をコードする配列、またはそれに相補的な配列の全部または一部を含むことができる。アンチセンス配列は、DNA、RNA（例えば、siRNA）、リボザイム等であり得る。これは、一本鎖であっても、または二本鎖であってもよい。また、アンチセンス遺伝子によってコードされるRNAであってもよい。遺伝子またはmRNAの配列の一部を含むアンチセンス核酸を用いる場合、特異的なハイブリダイゼーションを確保するために、配列由来の少なくとも10個の連続した塩基を含む部分、より好ましくは配列由来の少なくとも15個の連続した塩基を含む部分を使用することが好ましい。アンチセンスオリゴヌクレオチドの場合、典型的には100塩基未満を、例えば10～50塩基または18～30塩基のオーダーで含む。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、その安定性、ヌクレアーゼ耐性、細胞侵入性等を向上させるために改変されていてもよい。アンチセンス分子の配列とBRD9遺伝子またはmRNAの配列との間の完全な相補性は必要ではないが、一般的には望ましい。

【0022】

他の実施形態において、BRD9阻害剤は、ポリペプチドまたはペプチドである。それは、例えば、プロモドメイン含有タンパク質の領域を含み、プロモドメイン含有タンパク質の活性に拮抗することができるペプチドであり得る。ペプチドは、好都合には、BRD9タンパク質の一次配列の連続する5～50個、典型的には7～40個のアミノ酸を含む。ポリペプチドはまた、プロモドメイン含有タンパク質に対する抗体、またはそのような抗体の断片もしくは誘導體、例えばFab断片または一本鎖抗体（例えば、ScFv）でもあり得る。このような抗体、断片、または誘導體は、従来の技術によって産生することができる。

【0023】

さらに他の実施形態において、BRD9阻害剤は低分子である。BRD9阻害剤としては、I-BRD9、TP-472、BI-7273、BI-9564、dBRD9、GNE-375およびLP-99、メチルキノリノン化合物、チエノピリドンならびにRemillard et al., 2017, Angew. Chem. Int. Ed. 56:1-7およびTheodoulou et al., 2016, J. Med. Chem. 99:1425-39（全て参照により本明細書に組み込まれる）に開示のBRD9阻害剤等が挙げられるが、これらに限定されない。低分子BRD9阻害剤は

10

20

30

40

50

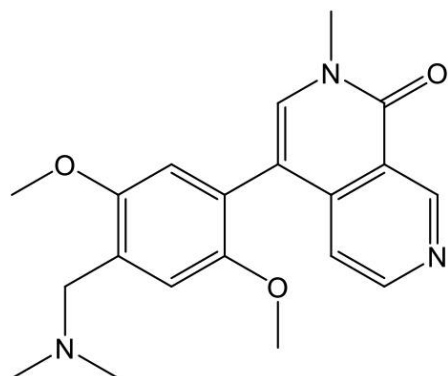
、遊離塩基または生理学的に許容される塩の形態で投与することができる。

【 0 0 2 4 】

特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、BI-9564：

【 0 0 2 5 】

【化1】



10

またはその薬学的に許容される塩である。

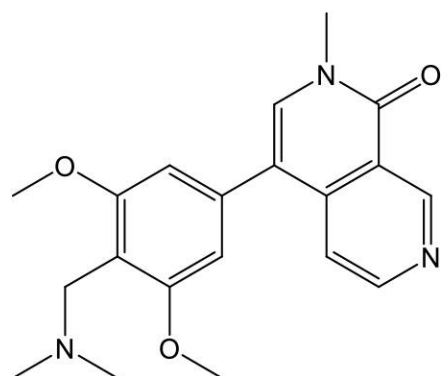
【 0 0 2 6 】

他の特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、BI-7273：

20

【 0 0 2 7 】

【化2】



30

またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 0 2 8 】

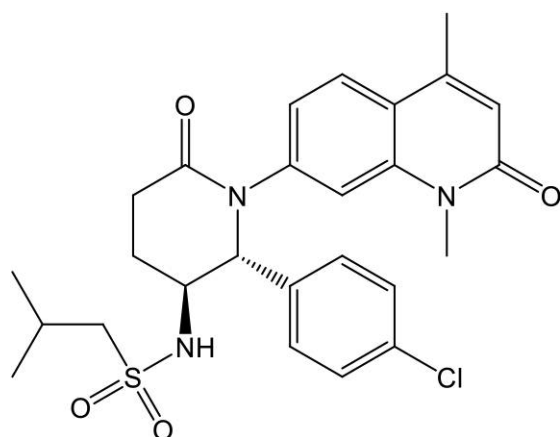
他の特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、LP-99：

【 0 0 2 9 】

40

50

【化 3】



10

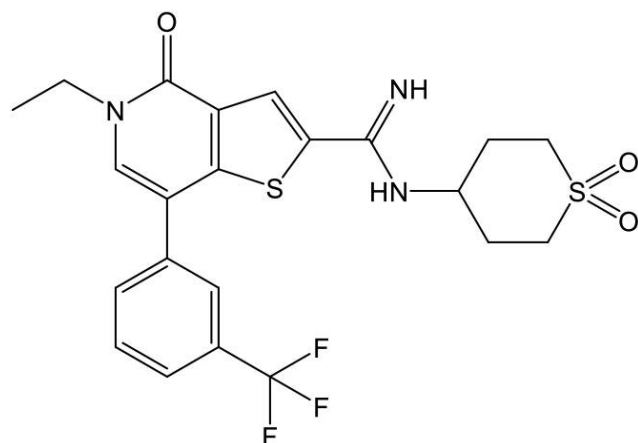
またはその薬学的に許容される塩である。

【0030】

他の具体的な実施形態において、BRD9阻害剤は、I-BRD9：

【0031】

【化 4】



20

30

またはその薬学的に許容される塩である。

【0032】

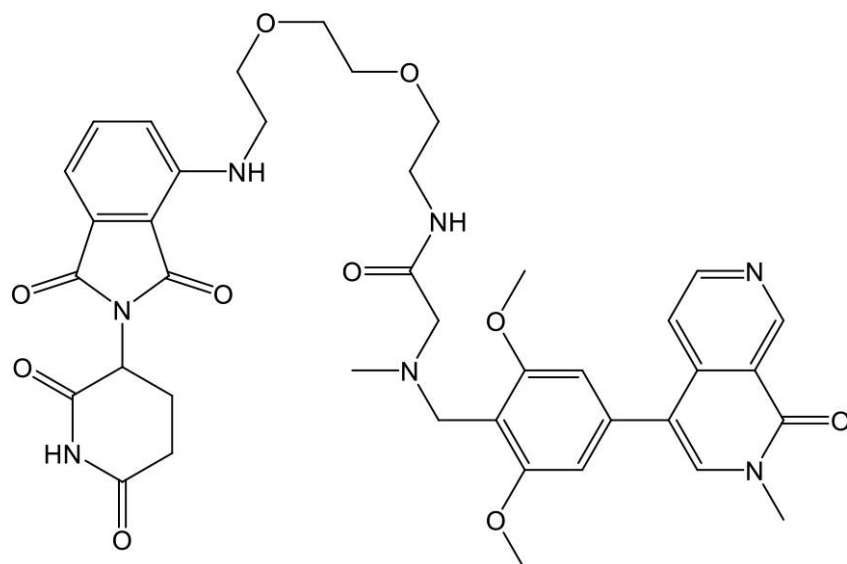
さらに他の特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、d-BRD9：

【0033】

40

50

【化 5】



10

またはその薬学的に許容される塩である。

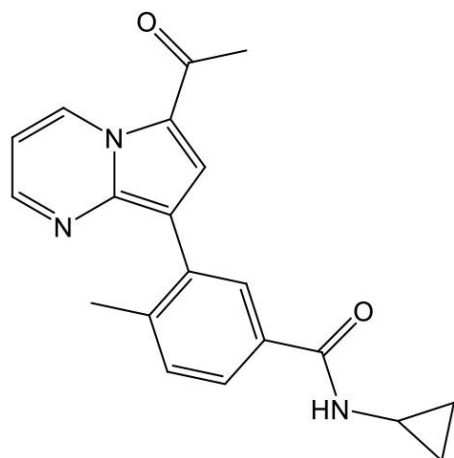
【0034】

20

なおさらに他の特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、TP-472：

【0035】

【化 6】



30

またはその薬学的に許容される塩である。

【0036】

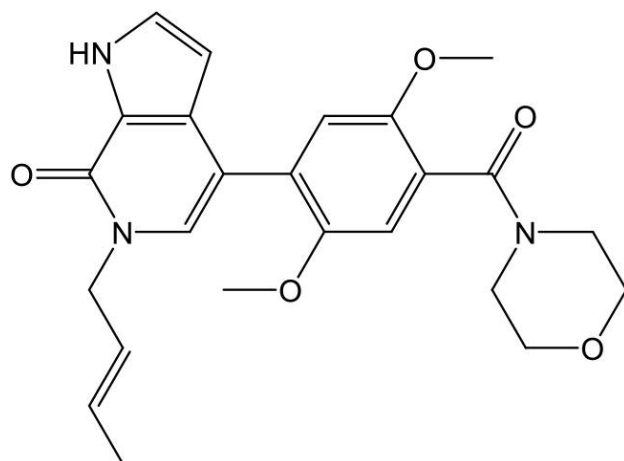
40

なおさらに他の特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、GNE-375：

【0037】

50

【化 7】



10

またはその薬学的に許容される塩である。

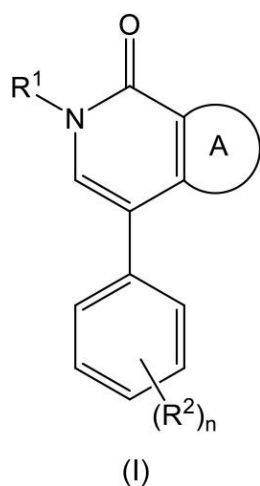
【0038】

なおさらなる特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、式(I)：

【0039】

【化 8】

20



30

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

AはフェニルまたはNおよびSから選択される1または2個のヘテロ原子を含有する5または6員ヘテロアリールであり、ここでフェニルまたはヘテロアリールは、非置換であるか、または1～3個のR³基で置換されており、

40

R¹は、H、(C₁～C₄)アルキル、または(C₁～C₄)ハロアルキルであり、

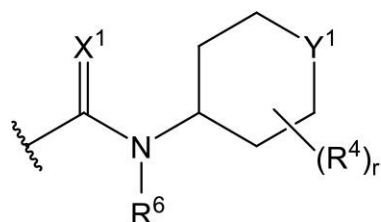
各R²は、独立して、(C₁～C₄)アルキル、(C₁～C₄)ハロアルキル、(C₁～C₄)アルコキシ、(C₁～C₄)ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、またはNH₂であり、

各R³は、独立して、(C₁～C₄)アルキル、(C₁～C₄)ハロアルキル、(C₁～C₄)アルコキシ、(C₁～C₄)ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、NH₂、または、

【0040】

50

【化 9】



であり、

10

X_1 は、 NR^5 または O であり、

Y_1 は、 $S(O)_a$ または NR^5 であり、

各 R^4 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、ハロゲン、または $-C(O)(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

各 R^5 は、独立して、 H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

各 R^6 は独立して H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

a は、 0 、 1 、または 2 であり、

n および r は、それぞれ独立して、 0 、 1 、 2 、または 3 である。

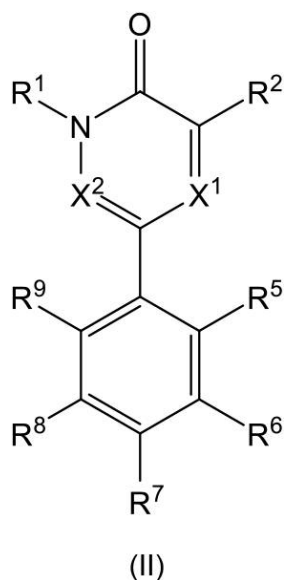
【0041】

なおさらなる特定の実施形態において、BRD9 阻害剤は、式 (II)：

20

【0042】

【化 10】



30

の化合物またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

40

R^1 は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたはシクロプロピルであり、

R^2 は、ハロゲン、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 NH_2 、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは OH であり、

X^1 は N または CR^3 であり、 X^2 は N または CR^4 であり、ただし、 X^1 および X^2 が両方とも N であることはなく、

R^3 は、 H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^4 は、 H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、ただし、 R^3 および R^4 が両方とも $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであることはなく、

あるいは、 R^2 および R^3 は一緒になってベンゼン環または $5 \sim 6$ 員ヘテロアレーン環を

50

形成し、これらの環の各々は独立して非置換であるか、または独立してハロゲン、OH、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルである1つまたは複数の基で置換されていてよく、ここで(C₁～C₃)アルキル基は非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールもしくはフェニルで置換されていてよく、

R⁵およびR⁹は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、O(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁶およびR⁸は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、OH、ハロゲン、NH₂、(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)ハロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-O-(C₁～C₃)アルキル、4～7員ヘテロシクロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-SO₂-(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)アルキル-NH₂、(C₁～C₃)アルキル-N((C₁～C₃)アルキル)₂、N((C₁～C₃)アルキル)₂、またはNHR¹³であり、

R¹³は、それぞれの場合について独立して、SO₂-(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ここで(C₁～C₃)アルキル基は、非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールで置換されており、

あるいは、R⁵およびR⁶は一緒になってベンゼン環を形成し、

あるいは、R⁷およびR⁶、またはR⁷およびR⁸は一緒になって、非置換または(C₁～C₃)アルキルで置換された5～7員ヘテロシクロアルキルを形成し、

R⁷は、H、NH₂、Y-R¹²、(C₁～C₃)アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、

Yは、CR¹⁰R¹¹、SO₂またはCOであり、

R¹⁰およびR¹¹は同一であるかもしくは異なり、独立してHもしくは(C₁～C₃)アルキルであるか、またはR¹⁰およびR¹¹は一緒になってC₃-4シクロアルキルを形成し、

R¹²は、NH₂、OH、(C₁～C₃)アルキル、N(R¹⁵, R¹⁶)、OR¹⁷、アリール、または5～6員ヘテロアリールであり、ここでアリールまたはヘテロアリールは、独立して非置換であるか、または1つもしくは複数のハロゲンもしくは4～7員ヘテロシクロアルキルで置換されており、ヘテロシクロアルキルの各々は、独立して、非置換であるか、またはハロゲン、OH、NH₂、(C₁～C₃)アルキル、NH(C₁～C₃)アルキル、N((C₁～C₃)アルキル)₂、O(C₁～C₃)アルキルおよびCH₂R¹⁴から選択される1つもしくは複数の基で置換されており、

R¹⁴は、非置換であるか、またはNH₂、OH、ハロゲン、CN、(C₁～C₃)アルキル、もしくはO(C₁～C₃)アルキルで置換された5～10員の単環または二環式アリールもしくはヘテロアリールであり、

R¹⁵は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R¹⁶は、(C₁～C₃)アルキル、C₂～3アルキル-N((C₁～C₃)アルキル)₂、C₂～3アルキル-NH(C₁～C₃)アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは非置換であるか、または(C₁～C₃)アルキルで置換されており、

R¹⁷は、(C₁～C₃)アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは、非置換であるか、または(C₁～C₃)アルキルで置換されており、ここで、R⁷がYR¹²であるとき、R⁶およびR⁸は、同一であってもまたは異なってもよく、独立して、H、OH、ハロゲン、NH₂、CN、(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)ハロアルキル、O(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)ハロアルキル、または(C₁～C₃)アルキル-O-(C₁～C₃)アルキルであり、

置換基R⁵～R⁹のうちの少なくとも1つは、水素ではない。

【0043】

なおさらなる特定の実施形態において、BRD9阻害剤は、プロモスポリン：

【0044】

10

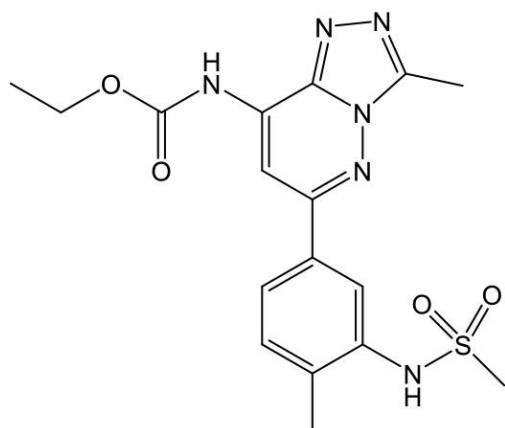
20

30

40

50

【化 1 1】



10

またはその薬学的に許容される塩である。

【0045】

本開示は、特定のBRD9アンタゴニストに限定されるものではない。適切なBRD9阻害剤は、BRD9活性を少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約98%減少させることができる。特定の実施形態において、BRD9阻害剤の活性は、BRD9活性を最大約90%、最大約80%、最大約70%、最大約60%、最大約50%減少させる。前述の値の任意の対を組み合わせた範囲（例えば、少なくとも約30%～最大約90%、または少なくとも約50%～最大90%）も、本開示の範囲内である。

20

【0046】

BRD9阻害活性を決定する方法は既知である。例えば、阻害活性は、Theodoulou et al., 2016, J. Med. Chem. 99: 1425-39に記載されているTR-FRET方法を使用して決定し得る。簡潔には、化合物は、Greiner 384ウェル黒色低容積マイクロタイタープレートにおいてAlexa Fluor 647リガンド（GSK2833930A）とインキュベートし、室温で30分間暗所でインキュベートすることができる。検出試薬として、Eu-W1024抗6xHis抗体が挙げられる。プレートを読み取り、ドナーとアクセプターの数を決することができる。これから、アクセプター／ドナーの比を計算し（ $\lambda_{ex} = 337\text{ nm}$ 、 $\lambda_{em\text{ドナー}} = 615\text{ nm}$ 、 $em\text{アクセプター} = 665\text{ nm}$ ）、データ解析に使用する。様々な実施形態において、アンタゴニストは、阻害剤の非存在下と比較して、少なくとも20%、少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも100%、少なくとも200%、または少なくとも1000%以上、BRD9活性を減少させることができる。アッセイは、BRD9に対する選択性を評価するために、他のプロモドメイン含有タンパク質に対する所定のBRD9阻害剤の阻害効果をアッセイするように適合させることができる。選択的なBRD9阻害剤は、限定されないが、BRD2、BRD3、BRD4、または前述の任意の組合せ等の1、2、または3つの他のプロモドメイン含有タンパク質に対して、BRD9に対して少なくとも2倍、少なくとも5倍または少なくとも10倍大きい%阻害を有することができる。2つの結合ドメイン（結合ドメイン1、またはBD1、および結合ドメイン2、BD2）を有するBRD4の場合、単一の非変異BD1プロモドメインへのBRD9阻害剤の結合を決定するために、BD2アセチルリジン結合ポケットの単一残基変異（Y390A）を導入して、変異BD2ドメインに対するフルオロリガンドの親和性を低下させることができる。

30

40

【0047】

あるいは、BRD9阻害剤の阻害活性は、以下のように評価することができる。His／Flagエピトープタグ付きBRD9₁₃₄₋₂₃₉をクローニングし、発現させ、均

50

質になるように精製する。BRD9の結合および阻害は、AlphaLisatechnique (Perkin-Elmer) を用いて、ビオチン化H4-テトラアセチルペプチド (New England Peptide, NEP2069-11/13) の標的との係合をモニタリングすることにより評価できる。具体的には、384ウェルProxiPlate中で、BRD9 (最終50 nM) を、50 mM HEPES (pH 7.5)、150 mM NaCl、1 mM TCEP、0.01% (w/v) BSA、0.008% (w/v) Brij-35中のペプチド (最終3 nM) と、DMSO (最終0.8% DMSO) またはDMSO中の化合物希釈系列存在下で結合させる。室温で20分インキュベートした後、AlphaLisatechnique Streptavidin アクセプタービーズ (Perkin-AL125C) とAlphaLisatechnique Nickelドナービーズ (Perkin-AS10 ID) をそれぞれ最終濃度15 µg/mLになるよう添加する。暗所で90分間平衡化した後、Envision装置でプレートを読み取り、4パラメータの非線形曲線フィットを用いてIC₅₀を算出する。このアッセイは、BRD9に対する選択性を評価するために、他のプロモドメイン含有タンパク質に対する所定のBRD9阻害剤の阻害効果をアッセイするために適合し得る。選択的なBRD9阻害剤は、限定されないが、BRD2、BRD3、BRD4、または前述の任意の組合せ等の1、2、または3個の他のプロモドメイン含有タンパク質に対して、BRD9に対して2分の1以下、5分の1以下、または10分の1以下のIC₅₀を有することができる。

10

【0048】

BRD9阻害剤は、HDニューロロイド表現型を逆転させる能力について試験することができる。ニューロロイドは、神経形成を模倣する外胚葉起源のマイクロパターンベースの自己組織化細胞集合体である (Harekami et al., 2019, Nature Biotechnology 37:1198-1208)。これらのニューロロイドは、特に、中央で神経ロゼットに組織化された発生中の中枢神経系を示す。in vitroニューロロイドと受精後約21日目のin vivoの対応物を比較すると、高いレベルの類似性が明らかになり、そのためヒト遺伝性疾患の研究、ひいては表現型逆転に基づく創薬の基盤として理想的な前臨床エンドポイントとなっている。伸長CAGリピート (例えば、43、48、56、65、72、および150リピート) を有するHTT遺伝子を保有するように改変されたニューロロイドは、HDを罹患する患者で観察されるようにポリQ長の多様性を反映し、PAX6神経ロゼットの伸長を含むHD表現型により特徴付けられる (Harekami et al., 2019, Nature Biotechnology 37:1198-1208)。BRD9阻害剤は、ニューロロイドに作用して、CAG伸長によって誘導されるPAX6発現神経ロゼットの伸長を逆転させることができる。本開示の方法において使用するためのBRD9阻害剤は、好ましくは、1 µM未満のEC₅₀でHDニューロロイド表現型を部分的または完全に逆転させる。特定の実施形態において、本開示のBRD9阻害剤は、750 nM未満、500 nM未満、300 nM未満、または200 nM未満のEC₅₀でHD表現型を部分的または完全に逆転させる。

20

30

【0049】

いくつかの実施形態において、野生型 (WT) ニューロロイドは、HD表現型逆転のEC₅₀で影響を受けないままであり、これは、治療用量での毒性を反映し得る多面的効果の欠如を示す。特定の態様において、本開示の方法において使用するためのBRD9阻害剤は、WTニューロロイドにおける多面的効果を誘導するためのEC₅₀の5分の1以下である、HDニューロロイド表現型を逆転させるためのEC₅₀を有する。特定の実施形態において、HDニューロロイド表現型を逆転させるためのEC₅₀は、WTニューロロイドにおける多面的効果を誘導するためのEC₅₀の10分の1以下、20分の1以下、または50分の1以下である。

40

【0050】

BRD9阻害剤は、典型的には、1つまたは複数のアジュバント、賦形剤、担体、緩衝剤、希釈剤、および／または他の慣用の医薬補助剤とともに、医薬組成物の形態で投与される。製剤化および投与のための技術に関するさらなる詳細は、Remington's Pharm

50

aceutical Sciences (Maack Publishing Co., Easton, Pa.)の最新版に記載され得る。

【0051】

B R D 9 阻害剤は、例えば、Pardridge et al., 2007, Drug.Discov. Today 12(1-2):54-61に記載されているように、血液脳関門（「B B B」）を横切る送達を改善するための薬剤とともに製剤化または共投与することができる。

【0052】

特定の実施形態において、B R D 9 阻害剤は、エクソソームまたはカーボンナノチューブとともに製剤化または共投与される。

【0053】

特定の実施形態において、B R D 9 阻害剤は、セレポート、レガデノソン、またはボルネオール等の脳透過性増強剤とともに製剤化または共投与される。セレポート等の脳透過性増強剤は、内皮細胞表面の受容体に結合し、タイトジャンクションを緩める生化学的カスケードを開始する。

【0054】

B R D 9 阻害剤は、アミノ酸抱合体、例えばリジン抱合体またはフェニルアラニン抱合体の形態で投与することも可能である。

【0055】

B B Bを横切る送達を改善する他の薬物は、B B Bを破壊することなく特定の分子の送達を可能にするトランスポーターペプチドおよびタンパク質である。トランスフェリン受容体に対するようなペプチド模倣m A bは、B B Bを横切って任意の付着した薬物または遺伝子をフェリーするための分子「トロイの木馬」として使用することができる。

【0056】

B R D 9 阻害剤は、ナノ粒子、例えば、脂質ベース、アルブミンベース、アポリポプロテインベース、ポリマーベースナノ粒子、デンドリマーベースナノ粒子、または無機ベースナノ粒子であるナノ粒子内にカプセル化することができる。

【0057】

B R D 9 阻害剤の投与は、B B Bを介した取り込みを改善する物理的または電気的方法、例えばマイクロバブル増強超音波または経頭蓋磁気刺激を伴うことができる。

【0058】

投与されるB R D 9 阻害剤の有効量は、予想される脳虚血エピソードを生じさせる疾患または状態の種類、患者の一般的健康、サイズ、年齢、および治療の性質、すなわち慢性治療の短期間を含むがこれらに限定されない多くの要因に依存する。一般的に、治療は、単回投与または複数回の投与、すなわち、1日当たり1回、2回、3回またはそれ以上の投与で行われ得る。投与は、1週間または1カ月から長期間にわたる慢性的な期間にわたって行うことができる。

【0059】

特定の実施形態において、本明細書に記載のB R D 9 阻害剤は、ハンチントン病の治療のための医薬の製造に使用することができる。

【実施例】

【0060】

7. 実施例

7.1. [実施例1]: マイクロパターンベースのニューロロイドの誘導および解析

ニューロロイド内の遺伝子発現を解析し、神経形成段階におけるin vivo外胚葉コンパートメント内の同等物の発現と比較した。

【0061】

7.1.1. 材料および方法

チップ上でのマイクロパターン化された細胞培養とニューロロイド誘導: マイクロパターン化ガラスカバースリップ (CYTOOCHIP S Arena A、Arena 500A、Arena EMB A) を、まずPBS + / + (Gibco) で希釈した10

10

20

30

40

50

$\mu\text{g ml}^{-1}$ の組み換えラミニン-521 (BioLamina、LN521-03) で37℃にて3時間コーティングした。10cmディッシュに設置したパラフィルム上にマイクロパターンを表向きに置き、800 μl のラミニン溶液をマイクロパターンに添加した。37℃で3時間後、コーティングされたマイクロパターンを5mlのPBS+/+の入った35mmディッシュに移した。PBS+/+で2回完全に洗浄する前に、PBS+/+で6回連続希釈(希釈1:4)してラミニンを除去した。次に、コーティングされたマイクロパターンをPBS+/+中で37℃に保った。細胞は以下のように播種した: 培養ディッシュ上のMEF-CMで増殖している細胞をPBS-/- (Gibco) で1回洗浄し、次にアキュターゼ (Stem Cell Technologies) で5分間処理した。その後、細胞をピペットで粉碎して単一細胞の懸濁液を確保し、アキュターゼを20ng ml^{-1} bFGFとROCK阻害剤Y27632 (10 μM ; Abcam ab120129) を添加した4xHUESM培地で希釈して除去した。細胞を同じ培地でさらに希釈し、3.0mlの培地中の 5×10^5 (または指示通り) の細胞を35mm組織培養ディッシュ中のマイクロパターン上に置き、37℃でインキュベートした。3時間後、ディッシュ中のマイクロパターンをPBS+/+で1回洗浄した。SB+LDN条件の場合: PBS+/+を、10 μM SB431542 (Stemgent 04-0010-10) および0.2 μM LDN 193189 (Stemgent 04-0019) を含む3N 培地73に置き換えた。3日目と5日目に、培地を同じ新鮮な培地に交換し、7日目まで37℃でインキュベートした。SB+BMP4条件 (ニューロロイド) では、PBSを、10 μM SB431542および0.2 μM LDN 193189を含むHUESMに置き換えた。3日目に、培地を10 μM SB431542およびBMP4 (50ng ml^{-1} または各実験で示した) を含むHUESMに交換した。5日目に、培地を同じ新鮮な培地に交換した後、7日目までインキュベートした。【0062】

免疫蛍光法: マイクロパターンのカバースリップを、暖かい培地中4%パラホルムアルデヒド (Electron Microscopy Sciences 15713) で30分間固定し、PBS-/-で3回すすいだ後、PBS-/-中の2%Triton X-100 (Sigma 93443) を含む3%正常口バ血清 (Jackson ImmunoResearch 017-000-121) で30分間ブロッキングし透過化させた。マイクロパターンを一次抗体とともに1.5時間インキュベートし、PBS-/-で5分間ずつ3回洗浄し、Alexa 488、Alexa 555、Alexa 594またはAlexa 647とコンジュゲートした二次抗体 (1:1,000 希釈、Molecular Probes) および10ng ml^{-1} のDAPI (ThermoFisher Scientific D1306) とともに30分インキュベートした後、PBS-/-で2回洗浄した。同種の抗体による二重染色には、Alexa 488 Fab fragment (Jackson ImmunoResearch, 715-547-003) とFab fragment IgG (Jackson ImmunoResearch, 715-007-003) を使用した。カバースリップは、ProLong Gold antifade mounting medium (Molecular Probes P36934) を用いてスライドにマウントした。【0063】

顕微鏡観察: マイクロパターンのカバースリップは、10倍、20倍または40倍の水浸対物レンズを備えたZeiss Inverted LSM 780レーザー走査型共焦点顕微鏡で取得した。【0064】

7.1.2. 結果

in vitroニューロロイド (図1A) と受精後約21日目のin vivo対応物 (図1B) を比較することにより、高いレベルの類似性が明らかになり、ヒト遺伝性障害の研究および表現型逆転に基づく薬物のスクリーニングに最適な前臨床エンドポイントとなっている。

10

20

30

40

50

【0065】

7.2. [実施例2]: HD細胞株由来のニューロロイドの特徴付け

8つのHD RUE S 2同質遺伝子細胞株のライブラリーを、ニューロロイドを形成するように誘導し、多数の分子マーカーの発現についてスクリーニングした。

【0066】

7.2.1. 材料および方法

細胞培養: 全てのhESC株は、マウス胚性線維芽細胞を調整し、 20 ng ml^{-1} β FGF (MEF-CM) 27を補充したHUESM培地で増殖させた。細胞は2カ月間隔でマイコプラズマ属 (*Mycoplasma spp*) について検査した。細胞はGeltrex (Life Technologies) 溶液をコーティングした組織培養ディッシュで培養し、様々なマーカーの発現を解析した。

10

【0067】

7.2.2. 結果

ニューロロイドは、明確な特徴を示した: PAX6領域/ロゼット伸長。ニューロロイドにおいて、CAG伸長はPAX6+領域の増加と関連していた(図2)。このCAG伸長特異的表現型の発見は、HD表現型をWTに逆転することができる低分子の発見に向けてハイスループットスクリーニングキャンペーンを行うために、この表現型シグネチャーを使用する可能性を開くものである。

【0068】

7.3. [実施例3]: HD表現型逆転のためのA Iスクリーニング

HDニューロロイド表現型を野生型に逆転することができる分子について、A Iスクリーニングを行った(図3参照)。このようなスクリーニングにおいて、WTコロニーは影響を受けないままであるが、CAG伸長によって誘導される有害な効果を逆転させるためにコロニーレベルで作用できる分子は、疾患対立遺伝子に特異的であり、したがって、HDの動物モデルにおける*in vivo*検証に向けて進歩する有望な治療候補とみなされるであろう。

20

【0069】

ニューロロイド表現型を特徴付けるために使用され得る最も簡単な特徴は、PAX6+ドメイン伸長である。これは有用な特定の特徴を示すが、大規模な表現型スクリーニングから生じる可能性が高い表現型のバリエーションの全範囲を包含するものではない。理想的には、1) 偽陽性/偽陰性の数を最小にするために、WTおよびHDニューロロイド間の強力な識別、2) WTおよびHD表現型間のスケールを描くことによる表現型逆転の程度の定量的測定、3) 試験した低分子の細胞毒性およびオフターゲット効果の測定を可能にする分析ツールが必要である。

30

【0070】

ここ数年、ディープ神経ネットワークに基づく機械学習ツールは、セキュリティビデオにおける顔認識または検索エンジンのために同様のタスクを実行するために使用されている。これらのツールは、創薬にも使用することができる。具体的には、スクリーニングキャンペーンでは、多数のニューロロイドの画像: WT対照、HD対照、および薬物で処理したHDが返される。これらの画像は全て、臨床での薬の成功を予測する2つの量: 薬物毒性と薬物効果を返すように特別に訓練されたディープ神経ネットワークの入力として使用することができる(図4)。

40

【0071】

7.3.1. 材料および方法

96ウェルプレート上のマイクロパターン化された細胞培養およびイメージング: チップ上でのマイクロパターン化細胞培養およびニューロロイド誘導プロトコルは、マイクロパターン化96ウェルプレート (CYTOOP LATES Arena A, Arena 700) を用いて使用した。ニューロロイド誘導は、培地交換、細胞分注、ならびに免疫蛍光のための洗浄およびインキュベーションを必要とする全てのステップを、EL406洗浄/分注ロボットで行うように改変された。細胞播種には、 0.18 M細胞/ml

50

の密度で体積 $200\ \mu\text{l}$ の細胞懸濁液を使用した。プレートイメージングは、4倍レンズを通して InCell Analyzer 2000 ハイコンテンツイメージャーで実施した。

【0072】

2080化合物からなる多数のライブラリーを、マイクロパターン化ガラス底を有する96ウェルプレートでスクリーニングした。これらのプレートにおいて、各ウェルは約27の個々のニューロロイドを有する。スクリーニング中、後の解析のためのディープ神経ネットワークを訓練するための十分な対照データを有するために、WT対照の2プレートおよびHD未処理対照の2プレートを確保した。化合物は、分化の0日目にテストプレートに適用し、3日目と5日目に培地交換のステップで再適用した。各化合物は、 $10\ \mu\text{M}$ の特有の濃度で、特有のウェルに適用した。7日目にプレートを固定し、DAPI、PAX6、ファロイジンで染色した。染色後、プレートをイメージングし、全てのウェルにおける個々のニューロロイドをセグメント化し、ラベル付けした後、特定のディープ神経ネットワークに供給した。

10

【0073】

画像解析：マイクロパターン化またはプレート培養実験から取得した画像タイルをステッチし、バックグラウンド補正した。DAPIチャンネルを閾値処理し、コロニーサイズに関してアルファ形状を計算することにより、コロニーを検出するための前景マスクを作成した。検出された各コロニーは、補正されステッチングされた画像から抽出した。

【0074】

表現型レスキューの定量化のためのディープラーニング。多チャンネルのWTおよび疾患オルガノイド画像を、訓練(70%)および検証(30%)画像に分割する。次いで、神経ネットワーク(NN)を、訓練データセット上で訓練する。NNはPytorch等の機械学習フレームワークを用いてコード化される。2次元画像の場合、このフレームワークは、ImageNetデータベースで事前に学習された畳み込み型NNを提供する。残差ネットワーク(ResNet)は畳み込みネットワークのサブクラスであり、画像の分類に特に有効である。深さの異なる(18、34、50、101、152層)事前学習ResNetは、全ての主要な機械学習フレームワークにおいて利用可能である。ResNet50を選択した。これは、畳み込み、バッチ正規化(BatchNorm)、整流化線形(ReLU)層からなる層のブロックからなる。最後のAverage Poolingと高密度連結層を削除し、カスタムレイヤーに置き換える。まず、事前学習されたネットワークは、画像をWTと疾患よりも多くのクラスに分類する。また、NNの最後の層は、最初の層よりもデータセットに特化している。したがって、最後のAverage Poolingと完全連結層を削除し、未訓練のAdaptive Average Pooling、Adaptive Maximum Pooling、Batch Norm、Dropout、および完全連結層と置き換えた後、最後にソフトマックス演算を行う。ここで、512ユニットの完全連結層が使われ、直後に最終完全連結層はWTと疾患にそれぞれ1ユニットずつ、計2ユニットのみで構成されている。最終的なソフトマックスは、これらのユニットの活性化を、合計が1になる確率に変換する。

20

30

【0075】

訓練は、ネットワークに画像を表示し、WTまたは疾患の出力確率を真値と比較し、次に画像が表示されたときにネットワークが真値により近い予測を与えるようにネットワークの重みを変更することによって実行される。このフィッティング手法は、全ての主要な神経ネットワークに実装されているバックプロパゲーションアルゴリズムを用いて行われる。画像はネットワークに何度も表示される(各実行は「エポック」と呼ばれる)。画像は「拡張」される、すなわち、画像の内容を大きく変えることはないが、ネットワークが学習できる画像のプールを拡張するために、一連の画像変換が適用される。これらのデータ拡張操作は、回転、切り抜き、画像の90~110%への拡大縮小、および画像のコントラスト変更からなる。訓練は、これらのパラメータの最適なセットを見つけるために、異なるハイパーパラメータ(層の数、運動量と学習率、ドロップアウト率、エポック数)

40

50

を用いて数回行われる。

【0076】

次に、訓練画像で訓練されたネットワークを用いて、スクリーンからの画像の解析が行われる。最初に、スクリーンからの未処理の対照オルガノイドを使用して、ネットワークの精度を検証する。次に、薬剤化合物で処理したオルガノイドの画像を、各画像に0～1のスコアを割り当てるネットワークによって解析し、ここで、1はWT、0は疾患を表す。スクリーンの解析では、10未満のインタクトなオルガノイドを有するウェルは、その場合は化合物が毒性効果を有すると想定して、解析から除外した。その他については、ネットワークによって、各ウェルについて、このセクションで説明したツールに基づいて、表現型を逆転させる化合物の能力を測定し、このスコアを各ウェルにわたって平均化した。

10

【0077】

細胞毒性の定量化のためのディープラーニング：毒性をアッセイするために、オートエンコーダーベースの方法を使用した。これらの教師なし神経ネットワークは、データをコード化し、低次元の潜在的表現に圧縮する。この機械学習法の教師なしという性質は、オートエンコーダーがデータに関する追加情報（野生型または疾患細胞株由来であること等）なしにデータの表現を学習するため、化合物の毒性を推定する際にバイアスがないという利点がある。また、データをベクトルで表現することで、野生型と疾患表現型の差異をベクトル空間から取り除くことができるという利点もあり、これは差異が毒性の判定に関係しないためである。毒性は以下の方法で決定した：最初に、潜在空間から野生型と疾患の差異を取り除く。次に、野生型と疾患の表現型との平均ベクトルからの距離を計算し、野生型と疾患の表現型との標準偏差と比較する。この距離を毒性として定義する。

20

【0078】

7.3.2. 解析結果

解析結果を図5に示す。ほとんどの化合物は、分子が基本的にHDニューロロイドに影響を与えない、左下象限に該当する。多数の分子が毒性シグネチャー（毒性スコア>3）を有し、一握りのヒットが、AI解析ツールの特徴付けによって定義されるヒット空間に該当し、これは、高い表現型レスキュースコア（>0.95）および低い毒性（<3）として定義された。特に、プロモスポリンは、低毒性で、特に有効な分子であることが発見された（表現型レスキュー=0.98、毒性スコア=1.93）。

30

【0079】

図6（上）は、WT対照ウェル、HD対照ウェル、および10 μMプロモスポリンで処理したHDウェルを用いた一次スクリーニングで取得した画像の例を示す。これは、HDバックグラウンドにおけるPAX6領域の拡張、およびプロモスポリンによるWTレベルへの減少を定性的に示すが、HDニューロロイドがプロモスポリンと接触している場合、WT構成に向かってHD表現型が逆転することも示し、これはAIアルゴリズムから得られ図5に示された定量結果と一致している。

【0080】

プロモスポリンは、BRD2、BRD4、BRD9およびCECR2に対するIC₅₀がそれぞれ0.41 μM、0.29 μM、0.122 μMおよび0.017 μMであるBRDの広範阻害剤として文献に記載されている。プロモスポリンが*in vitro*でHD表現型のモジュレーターであることを確認するために、新鮮なストックパワー（power）からプロモスポリンを再構成し、低スケールの実験でその特性を検証した。定性的な結果を図6（下）に示すが、これにより、0.5 μMのプロモスポリン適用により、HD遺伝子によって誘導された無秩序がレスキューされることが明確に示されている。

40

【0081】

7.4. [実施例4]：プロモスポリンの効力および毒性の定量化

HDニューロロイドの表現型を逆転させる際のプロモスポリンの効力を定量的に測定するために、用量応答実験を実施した。

【0082】

50

7. 4. 1. 材料および方法

HDニューロロイドは、10の異なる濃度のプロモスポリンと3つ組で接触させた。表現型の逆転の程度は、各プロモスポリン濃度についてAIALゴリズムを用いて定量化した。

【0083】

7. 4. 2. 結果

プロモスポリンは、120 nMのEC₅₀を有し、約300 nMで完全に有効であった(図7)。プロモスポリンの毒性プロファイルは、WTおよびHD-56CAGニューロロイドで評価された。毒性応答は、1 μM超の濃度で起こり始めた。全体的に、これは、プロモスポリンが、HDの複雑なインビトロモデルにおいて効率的であり、プロモスポリンがWTニューロロイドには影響しないがHDニューロロイドをレスキューできる0.3 μM~1 μMの間の濃度域が存在することを示す。このことは、このアッセイ系における疾患対立遺伝子に対する特異性の領域を強調している。さらに、この濃度範囲において、プロモスポリンは低い毒性を示す。

10

【0084】

7. 5. [実施例5]: HDニューロロイド表現型逆転のためのBRD阻害剤のアッセイ
他のBRD阻害剤がHDニューロロイド表現型逆転活性を有するかどうかを発見するためにアッセイを実施した。

【0085】

7. 5. 1. 材料および方法

20

選択したBRD阻害剤を、96ウェルプレートを用いて試験した。各化合物の有効性および毒性を決定した。

【0086】

7. 5. 2. 結果

選択した19のBRD阻害剤を、96ウェルプレートを用いて10 μMの単一濃度で試験した。有効性および毒性を、各分子の標的とともに図8にプロットして示す。一次スクリーニングでヒットの定義に使用したものと同一定量的基準を使用したところ、1分子: BI7273だけが低い毒性を維持しながら十分高い有効性を示した。この分子は、BRD9およびBRD7に対するIC₅₀がそれぞれ19 nMおよび117 nMである、強力かつ選択的で、細胞透過性のBRD9阻害剤であることが公知である。

30

【0087】

BI7273も正のスコアを示すという事実は、BRD阻害剤がHDの*in vitro*モデルにおいて効率的であるという知見を補強するものである。さらに、BRD9はプロモスポリンとBI7273の分子標的の間の唯一の共通項であるため、BRD9が、HD表現型をレスキューするために阻害され得る本アッセイ系における関連標的であるという可能性が提起される。

【0088】

BI9564のような他のBRD9阻害剤は、BRD阻害剤のパネル(図8)を用いた実験において正のスコアを示さなかったが、10 μMという単一かつかなりの高濃度におけるこれらの分子の試験は、高濃度で毒性およびオフターゲット効果を示し始めることができる非常に強力な分子の活性を妨げる可能性がある。

40

【0089】

この仮説に従って、他のBRD9に焦点を当てた阻害剤の濃度依存性応答を、より低い濃度で試験した。これらは、陽性対照としてのプロモスポリン(標的: BRD2、BRD4、BRD9およびCECR2)およびBI7273(標的: BRD9およびBRD7)だけでなく、BI9564(標的: BRD9およびBRD7)、dBRD9(選択的BRD9 *protac*)およびI-BRD9(BRD9およびBRD4)からなるものであった。結果を図9に示す。驚くべきことに、これらの分子は全て、サブマイクロモル活性でHDニューロロイドをレスキューするのに強力であった(図9a)。さらに、BI7273、BI9564、d-BRD9およびI-BRD9の毒性プロファイルは、全てプロ

50

モスポリンより低かった（図 9 b）。このことは、プロモスポリンの広範囲の活性が、より B R D 9 中心の化合物と比較して高濃度で有害になる可能性があることを示唆している可能性がある。成功した B R D 9 阻害化合物を、その活性の簡単な説明とともに、図 1 0 に示す。

【 0 0 9 0 】

7 . 6 . [実施例 6] : B R D 阻害剤の作用機序

B R D 阻害剤の作用機序を解読するために、H T T 低下戦略が H D マウスモデルにおいて有効性を示し、H D に対する最新の臨床開発の基礎であるという事実の一部に基づいて、B R D 阻害剤を H T T 低下能力について試験した。したがって、H T T 低下は、H D を治療することを望むための唯一の公知の作用機序である。

10

【 0 0 9 1 】

そこで、我々は、H D ニューロロイドの形成のためのプロトコルを、2 つの遺伝的バックグラウンド：5 6 C A G および 7 2 C A G で繰り返し、図 9 に開示された 5 つの B R D 阻害剤で 2 つの濃度：1 μ M および 5 μ M で処理した。分化プロトコルの最後に、ニューロロイドの溶解物を凍結し、後にその H T T 含有量を分析した。伸長 H T T レベルおよび総 H T T レベル（伸長 + 正規）の両方を、E L I S A ベースのメソスケール発見（M S D）電気化学発光アッセイによって定量化した。

【 0 0 9 2 】

7 . 6 . 1 . 材料および方法

H D ニューロロイドは、2 つの遺伝的バックグラウンド：5 6 C A G および 7 2 C A G で作成し、図 1 0 に開示された 5 つの B R D 阻害剤で 2 つの濃度：1 μ M および 5 μ M で処理した。分化プロトコルの最後に、ニューロロイド溶解物をその H T T 含有量について分析した。伸長 H T T レベルおよび総 H T T レベル（伸長 + 正規）の両方を、E L I S A ベースのメソスケール発見（M S D）電気化学発光アッセイによって定量化した。

20

【 0 0 9 3 】

7 . 6 . 2 . 結果

結果を図 1 1 に示す。試験した 4 つの薬物、プロモスポリン、B I 7 2 7 3、B I 9 5 6 4 および d B R D 9 の中で、プロモスポリンだけが H T T レベル低下能力を有していた。特に、プロモスポリンは、試験した 2 つの濃度および 5 6 C A G と 7 2 C A G の 2 つの遺伝的バックグラウンドで、伸長 H T T と総 H T T レベルの両方を減少させた。H T T レベルの低下は、5 μ M で全てのバックグラウンドにおいて 7 5 % 超、1 μ M の低濃度では 5 0 % 以上超の伸長 H T T レベルの低下という、有意な低下を示した。興味深いことに、B I 7 2 7 3、B I 9 5 6 4、および d B R D 9 では H T T 低下能力が測定されなかった。このことは、これら 3 つの分子が、H T T レベル低下とは異なる作用機序で作用し、H D ニューロロイドをレスキューすることを示唆している。

30

【 0 0 9 4 】

7 . 7 . [実施例 7] : B R D 阻害剤を介したヒトガストロロイドにおける H D 表現型のレスキュー

B R D 阻害剤を、それらがヒトガストロロイドにおける他の H D 表現型をレスキューすることができるかどうかを決定するために試験した。ヒト胚性幹細胞コロニーを C H I R および A c t i v i n で 4 8 時間刺激すると、原始ストリーク様の集団、S O X 1 7 + が周辺部に誘導される（図 1 2 a を参照）。さらに、H D - 5 6 C A G 細胞から作られた H D ガストロロイドでは、周辺部の S O X 1 7 + ドメインが大きく伸長している。この効果は、ヌル H T T - / - 細胞株を用いるとさらに顕著であり、これは、タンパク質の非存在を表現することから、H D 変異が実際に発生学的文脈における機能喪失変異であるという知見を支持するものである。

40

【 0 0 9 5 】

7 . 7 . 1 . 材料および方法

ガストロロイド誘導：マイクロパターン化チップのコーティングのプロトコルを用いる。P B S + / + での最終洗浄後、8 x 1 0 ⁵ 個の細胞を、2 0 n g / m l b F G F （

50

R & D Systems)、 $10\mu\text{M}$ ROCK阻害剤 (Y-27632、Abcam)、 $1\times$ ペニシリン-ストレプトマイシン (Thermo Fisher Scientific)、 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ Normocin (InvivoGen) を補充したMEF-CMの規定量中で各カバースリップ上に播種し、10分間乱さないようにしてパターン全体に確実に均一な分布になるようにした。播種3時間後にROCK阻害剤を培地から除去し、翌日に $50\text{ng}/\text{ml}$ BMP4 (R & D Systems)、 $2\mu\text{M}$ IWP2 (Stemgent)、 $6\mu\text{M}$ CHIR99021 (EMD Millipore)、 $100\text{ng}/\text{ml}$ ACTIVIN (R & D Systems) および低分子処理で細胞を誘導した。サンプルは48時間後に固定し、免疫蛍光法で分析した。

【0096】

10

7.7.2. 結果

$1\mu\text{M}$ のプロモスポリン、BI7273またはdBRD9をHDガストロイドに適用した場合、それぞれの場合において、WT構成に向かって、周辺部のSOX17+領域の著しい減少が見られた (図12b参照)。これは、ニューロロイドと直交する第2のHD表現型において、BRD阻害剤が表現型レスキューを行う能力を維持することを明確に示している。

【0097】

7.8. [実施例8]: 誘導性CRISPR/Cas系を用いたBRD9レベルの低下は、HD表現型をレスキューする

【0098】

20

7.8.1. 材料および方法

BRD9転写物を効率的に低減させることができる誘導性BRD9ノックダウン株をHG-56CAGバックグラウンドで作製した。ドキシサイクリン誘導TetベースCRISPR/Cas9系を利用し、ドキシサイクリン(DOX)の添加後にBRD9転写物を低下させた。3つの個々のgRNAを最適化した結果、2日間のDOX適用後にBRD9 mRNAレベルを50%低下させることができる構築物が得られた (図13A)。HD表現型を分析し、誘導性ノックダウン株と対照として使用したWT-20CAGニューロロイドで比較した。

【0099】

7.8.2. 結果

30

HD-56CAGおよびWT-20CAGニューロロイドの解析により、中央のPAX6+ドメインが伸長した無秩序化、および対照と比較してHD-56CAGにおける周辺部のSOX10+細胞の減少が明らかになった (図13Bおよび図13C)。56CAGバックグラウンドにおいてDOXを適用し、BRD9レベルを低下させると、これらの2つのHD関連パラメータにおいて、それらのWT値への有意なレスキューが観察された (図13Bおよび図13C)。これらのデータにより、BRD9が関心のあるHD標的であり、その阻害がHD表現型の逆転をもたらすことが確認される。

【0100】

8. 具体的な実施形態

様々な特定の実施形態が例示され、説明されてきたが、本開示の精神および範囲から逸脱することなく様々な変更を行うことができることが理解されるであろう。本開示は、以下に示される番号付けされた実施形態によって例示される。

40

1. ハンチントン病 (HD) を有する対象を治療する方法であって、治療有効量のプロモドメイン9 (BRD9) 阻害剤を対象に投与することを含む、方法。

2. BRD9阻害剤がデグロンにコンジュゲートされていない、実施形態1に記載の方法。

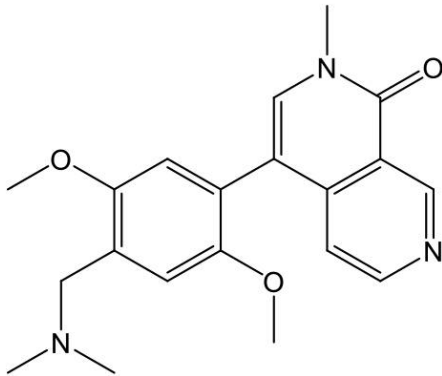
3. BRD9阻害剤の投与が、*in vivo*でBRD9のプロテアソーム介在性分解を誘導しない、実施形態1に記載の方法。

4. BRD9阻害剤が選択的なBRD9阻害剤である、実施形態1~3のいずれか一項に記載の方法。

50

5. BRD9阻害剤が、BRD2と比較して、少なくとも2倍または少なくとも5倍大きいBRD9阻害を有する、実施形態4に記載の方法。
6. BRD9阻害剤が、BRD3と比較して、少なくとも2倍または少なくとも5倍大きいBRD9阻害を有する、実施形態4または実施形態5に記載の方法。
7. BRD9阻害剤が、BRD4と比較して、少なくとも2倍または少なくとも5倍大きいBRD9阻害を有する、実施形態4～6のいずれか一項に記載の方法。
8. BRD9阻害剤がピリジノン化合物である、実施形態1～7のいずれか一項に記載の方法。
9. BRD9阻害剤がBI-9564：
 【0101】
 【化12】

10

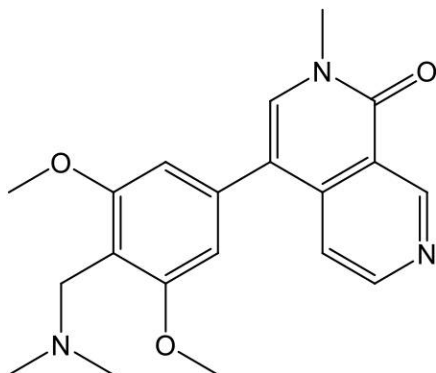


20

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態1～7までのいずれか一項に記載の方法。

10. BRD9阻害剤がBI-7273：
 【0102】
 【化13】

30



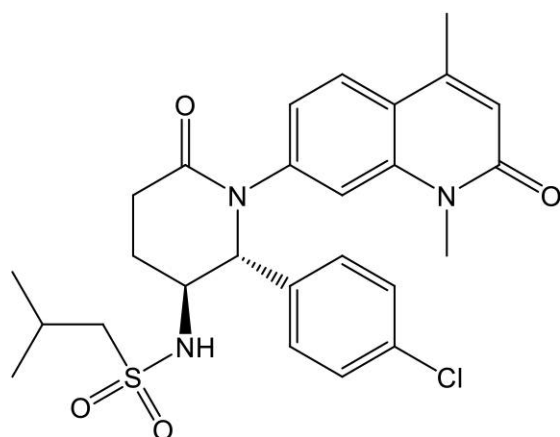
40

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態1～7のいずれか一項に記載の方法。

11. BRD9阻害剤がメチルキノリノン化合物である、実施形態1～7のいずれか一項に記載の方法。
12. BRD9阻害剤がLP-99：
 【0103】

50

【化 1 4】



10

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

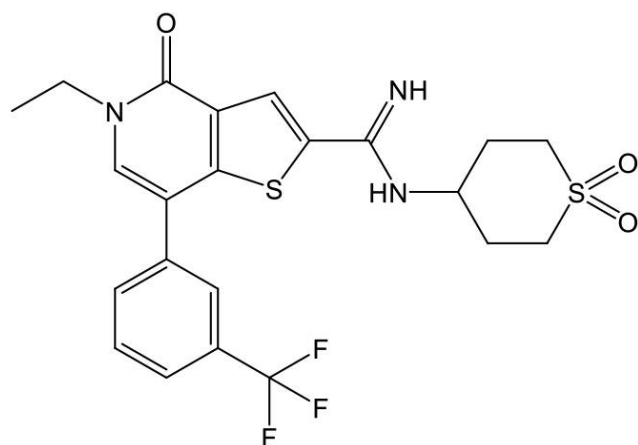
13. BRD9 阻害剤がチエノピリドン化合物である、実施形態 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

14. BRD9 阻害剤が I-BRD9：

【0104】

【化 1 5】

20



30

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

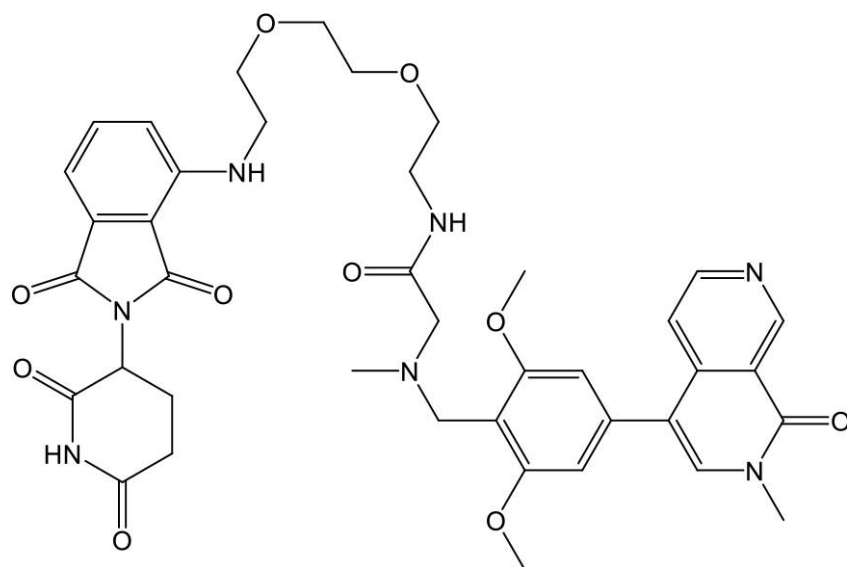
15. BRD9 阻害剤が d-BRD9：

【0105】

40

50

【化 1 6】



10

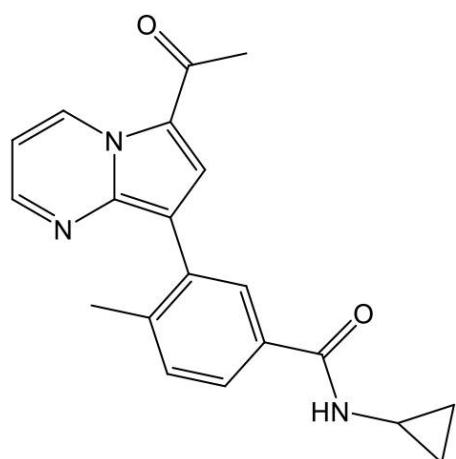
またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

16. BRD9 阻害剤が TP-472 :

20

【0106】

【化 1 7】



30

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法

。

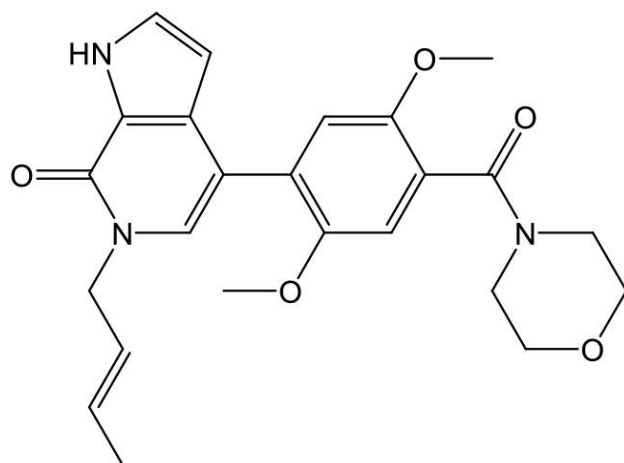
17. BRD9 阻害剤が GNE-375 :

40

【0107】

50

【化 18】



10

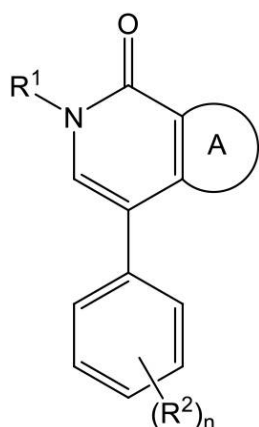
またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

18. BRD9 阻害剤が式 (I) :

【0108】

【化 19】

20



30

(I)

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

A はフェニルまたは N および S から選択される 1 または 2 個のヘテロ原子を含有する 5 または 6 員ヘテロアリアルであり、ここでフェニルまたはヘテロアリアルは非置換であるか、または 1 ～ 3 個の R³ 基で置換されており、

40

R¹ は、H、(C₁ ～ C₄) アルキル、または (C₁ ～ C₄) ハロアルキルであり、

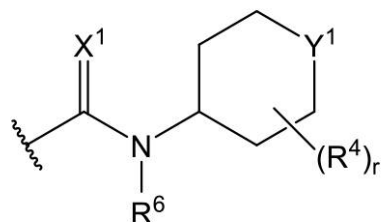
各 R² は、独立して、(C₁ ～ C₄) アルキル、(C₁ ～ C₄) ハロアルキル、(C₁ ～ C₄) アルコキシ、(C₁ ～ C₄) ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、または NH₂ であり、

各 R³ は、独立して、(C₁ ～ C₄) アルキル、(C₁ ～ C₄) ハロアルキル、(C₁ ～ C₄) アルコキシ、(C₁ ～ C₄) ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、NH₂、または、

【0109】

50

【化 2 0】



であり、

10

X^1 は、 NR^5 または O であり、

Y^1 は、 $S(O)_a$ または NR^5 であり、

各 R^4 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、ハロゲン、または $-C(O)(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

各 R^5 は、独立して、 H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

各 R^6 は、独立して H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

a は、 0 、 1 、または 2 であり、

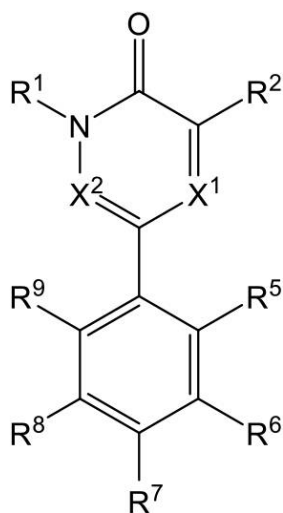
n および r は、それぞれ独立して、 0 、 1 、 2 、または 3 である、実施形態 $1 \sim 7$ のいずれか一項に記載の方法。

20

19. BRD9 阻害剤が式 (II) :

【0110】

【化 2 1】



30

(II)

40

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

R^1 は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたはシクロプロピルであり、

R^2 は、ハロゲン、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 NH_2 、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは OH であり、

X^1 は N または CR^3 であり、 X^2 は N または CR^4 であり、ただし、 X^1 および X^2 が両方とも N であることはなく、

R^3 は、 H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^4 は、 H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、ただし、 R^3 および R^4 が両方とも $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであることはなく、

50

あるいは、 R^2 および R^3 は一緒になってベンゼン環または 5～6 員ヘテロアレーン環を形成し、これらの環の各々は独立して非置換であるか、または独立してハロゲン、OH、 NH_2 、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルである 1 つまたは複数の基で置換されていてよく、ここで $(C_1 \sim C_3)$ アルキル基は非置換であるか、または 5～6 員ヘテロアリールもしくはフェニルで置換されていてよく、

R^5 および R^9 は、同一であるか、または異なり、独立して、H、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^6 および R^8 は、同一であるか、または異なり、独立して、H、OH、ハロゲン、 NH_2 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- O -($C_1 \sim C_3$) アルキル、4～7 員ヘテロシクロアルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- SO_2 -($C_1 \sim C_3$) アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- NH_2 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- $N((C_1 \sim C_3)$ アルキル) $_2$ 、 $N((C_1 \sim C_3)$ アルキル) $_2$ 、または NHR^{13} であり、

R^{13} は、それぞれの場合について独立して、 SO_2 -($C_1 \sim C_3$) アルキルまたは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、ここで $(C_1 \sim C_3)$ アルキル基は、非置換であるか、または 5～6 員ヘテロアリールで置換されており、

あるいは、 R^5 および R^6 は一緒になってベンゼン環を形成し、

あるいは、 R^7 および R^6 、または R^7 および R^8 は一緒になって、非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換された 5～7 員ヘテロシクロアルキルを形成し、

R^7 は、H、 NH_2 、 $Y-R^{12}$ 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、

Y は、 CR^{10} R^{11} 、 SO_2 または CO であり、

R^{10} および R^{11} は同一であるか、または異なり、独立して H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであるか、または R^{10} および R^{11} は一緒になって C_3-4 シクロアルキルを形成し、

R^{12} は、 NH_2 、OH、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N(R^{15}, R^{16})$ 、 OR^{17} 、アリール、または 5～6 員ヘテロアリールであり、ここでアリールまたはヘテロアリールは、独立して非置換であるか、または 1 つもしくは複数のハロゲンもしくは 4～7 員ヘテロシクロアルキルで置換されており、ヘテロシクロアルキルの各々は、独立して、非置換であるか、またはハロゲン、OH、 NH_2 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N((C_1 \sim C_3)$ アルキル) $_2$ 、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルおよび CH_2R^{14} から選択される 1 つもしくは複数の基で置換されており、

R^{14} は、非置換であるか、または NH_2 、OH、ハロゲン、CN、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、もしくは $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換された 5～10 員の単環または二環式アリールもしくはヘテロアリールであり、

R^{15} は、H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^{16} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルキル- $N((C_1 \sim C_3)$ アルキル) $_2$ 、 $C_2 \sim 3$ アルキル- $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、

R^{17} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは、非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、ここで、 R^7 が YR^{12} である場合、 R^6 および R^8 は、同一であってもまたは異なってもよく、独立して、H、OH、ハロゲン、 NH_2 、CN、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- O -($C_1 \sim C_3$) アルキルであり、

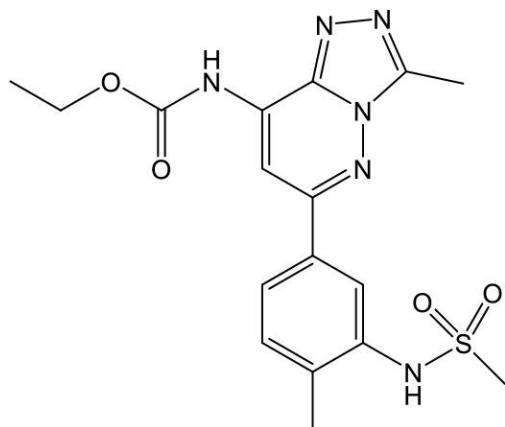
置換基 $R^5 \sim R^9$ の少なくとも 1 つは、水素ではない、実施形態 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

20. BRD9 阻害剤が非選択的 BRD9 阻害剤である、実施形態 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

21. BRD9阻害剤がプロモスポリン：

【0111】

【化22】



10

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態20に記載の方法。

22. BRD9阻害剤がアミノ酸抱合体の形態で投与される、実施形態1～21のいずれか一項に記載の方法。

20

23. アミノ酸抱合体がリジン抱合体である、実施形態22に記載の方法。

24. アミノ酸抱合体がフェニルアラニン抱合体である、実施形態22に記載の方法。

25. BRD9阻害剤が担体とともに対象に投与される、実施形態1～24のいずれか一項に記載の方法。

26. 担体が、ナノ粒子、エクソソーム、またはカーボンナノチューブを含む、実施形態25に記載の方法。

27. 担体がナノ粒子を含む、実施形態26に記載の方法。

28. ナノ粒子が脂質ベースのナノ粒子を含む、実施形態27に記載の方法。

29. ナノ粒子がヒト血清アルブミンベースのナノ粒子を含む、実施形態27に記載の方法。

30. ナノ粒子がアポリポタンパク質ベースのナノ粒子を含む、実施形態27に記載の方法。

30

31. ナノ粒子がポリマーベースのナノ粒子を含む、実施形態27に記載の方法。

32. ナノ粒子がデンドリマーベースのナノ粒子を含む、実施形態27に記載の方法。

33. ナノ粒子が無機ベースのナノ粒子を含む、実施形態27に記載の方法。

34. 担体がエクソソームを含む、実施形態26に記載の方法。

35. 担体がカーボンナノチューブを含む、実施形態27に記載の方法。

36. 対象に脳透過性増強剤を補助的に投与することをさらに含む、実施形態1～35のいずれか一項に記載の方法。

37. BRD9阻害剤および脳透過性増強剤が、単一の医薬組成物中で共投与される、実施形態36に記載の方法。

40

38. 脳透過性増強剤が、セレポート、レガデノソン、またはボルネオールを含む、実施形態36または実施形態37に記載の方法。

39. 脳透過性増強剤がセレポートを含む、実施形態38に記載の方法。

40. 脳透過性増強剤がレガデノソンを含む、実施形態38に記載の方法。

41. 脳透過性増強剤がボルネオールを含む、実施形態38に記載の方法。

42. 対象にマイクロバブル増強超音波を行うことをさらに含む、実施形態1～41のいずれか一項に記載の方法。

43. BRD9阻害剤が対象に経鼻投与される、実施形態1～42のいずれか一項に記載の方法。

44. BRD9阻害剤が対象に静脈内投与される、実施形態1～42のいずれか一項に

50

記載の方法。

45. BRD9阻害剤が動脈内注射により対象に投与される、実施形態1～42のいずれか一項に記載の方法。

46. BRD9阻害剤が対象のCSFに投与される、実施形態1～42のいずれか一項に記載の方法。

47. BRD9阻害剤が、髄腔内、脳室内または脳実質内に投与される、実施形態46に記載の方法。

48. それを必要とする対象におけるハンチントン病(HD)の治療に用いられるBRD9阻害剤。

49. デグロンに結合していない、実施形態48に記載のBRD9阻害剤。

50. BRD9阻害剤の投与が、*in vivo*でBRD9のプロテアソーム介在性分解を誘導しない、実施形態48に記載のBRD9阻害剤。

51. BRD9阻害剤が選択的BRD9阻害剤である、実施形態48～50のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

52. BRD2と比較して少なくとも2倍または少なくとも5倍大きいBRD9阻害を有する、実施形態51に記載のBRD9阻害剤。

53. BRD3と比較して、少なくとも2倍または少なくとも5倍大きいBRD9阻害を有する、実施形態51または実施形態52に記載のBRD9阻害剤。

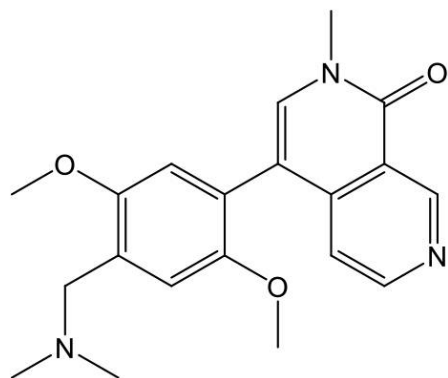
54. BRD4と比較して、少なくとも2倍または少なくとも5倍大きいBRD9阻害を有する、実施形態51～53のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

55. ピリジノン化合物である、実施形態48～54のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

56. BI-9564:

【0112】

【化23】



またはその薬学的に許容される塩である、実施形態48～54のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

57. BI-7273:

【0113】

10

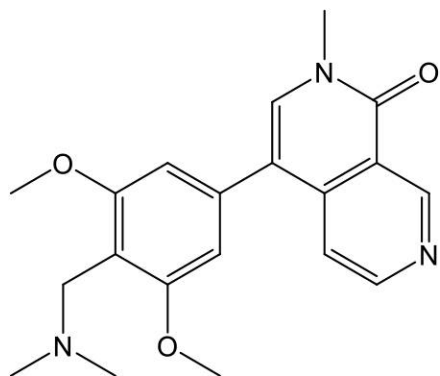
20

30

40

50

【化 2 4】



10

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

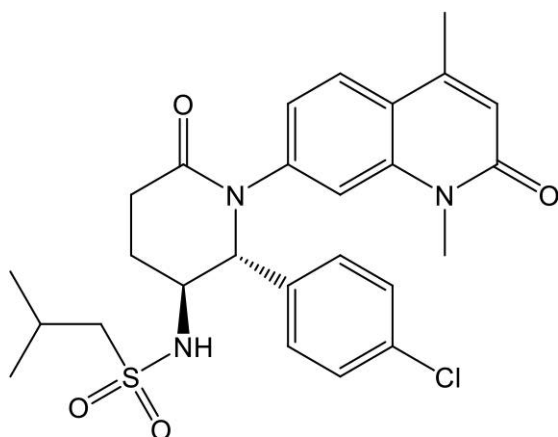
58. メチルキノリノン化合物である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

59. L P - 99 :

【0114】

【化 2 5】

20



30

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

60. チエノピリドン化合物である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

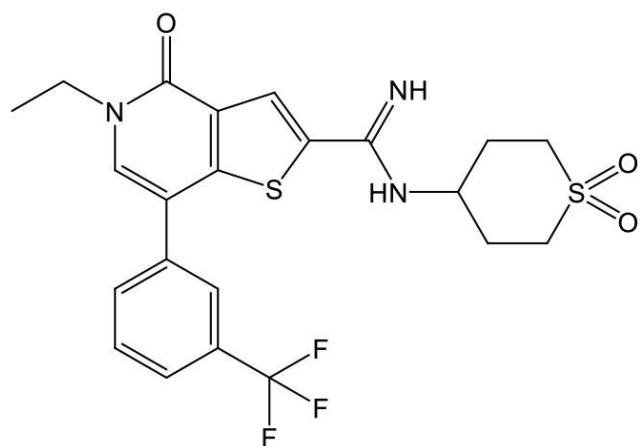
61. I - B R D 9 :

【0115】

40

50

【化 2 6】



10

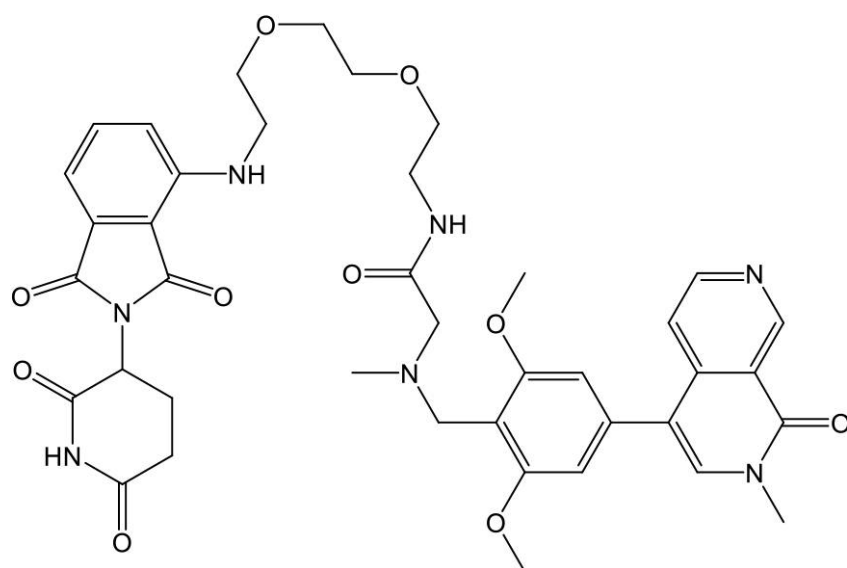
またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

62. d-BRD9:

【0116】

【化 2 7】

20



30

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

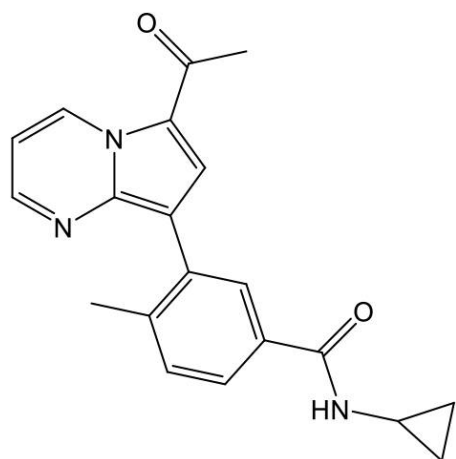
63. TP-472:

【0117】

40

50

【化 2 8】



10

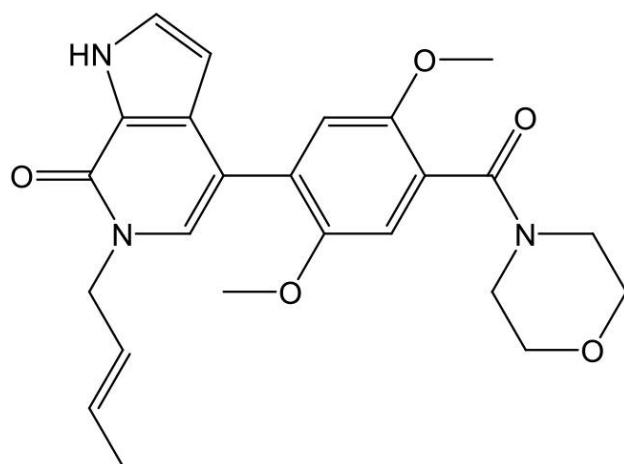
またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

64. GNE-375:

【0118】

【化 2 9】

20



30

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の B R D 9 阻害剤。

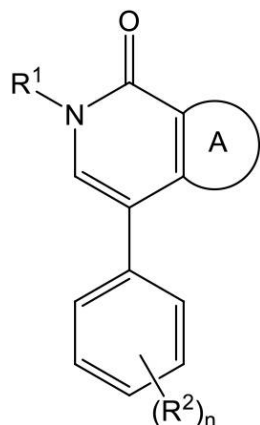
65. 式 (I):

【0119】

40

50

【化 3 0】



(I)

10

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

A はフェニルまたは N および S から選択される 1 または 2 個のヘテロ原子を含有する 5 員または 6 員ヘテロアリールであり、ここでフェニルまたはヘテロアリールは非置換であるか、または 1 ～ 3 個の R^3 基で置換されており、

20

R^1 は、H、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、または $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキルであり、

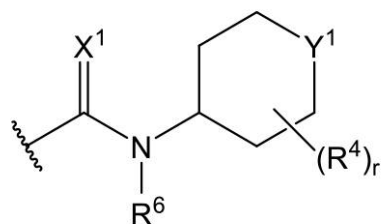
各 R^2 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、または NH_2 であり、

各 R^3 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシ、ハロゲン、OH、 NH_2 、または、

【0 1 2 0】

【化 3 1】

30



であり、

X_1 は、 NR^5 または O であり、

40

Y_1 は、 $S(O)_a$ または NR^5 であり、

各 R^4 は、独立して、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、ハロゲン、または $-C(O)(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

各 R^5 は、独立して、H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

各 R^6 は、独立して H または $(C_1 \sim C_4)$ アルキルであり、

a は、0、1、または 2 であり、

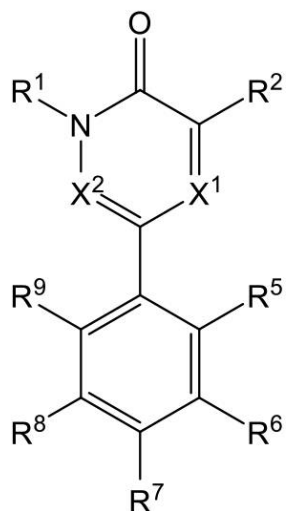
n および r は、それぞれ独立して、0、1、2、または 3 である、実施形態 48 ～ 54 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

66. 式 (II) :

【0 1 2 1】

50

【化 3 2】



(II)

の化合物、またはそのエナンチオマー、ジアステレオマー、立体異性体、もしくは薬学的に許容される塩であり、式中、

R¹は、(C₁～C₃)アルキルまたはシクロプロピルであり、

R²は、ハロゲン、(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)ハロアルキル、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたはOHであり、

X¹はNまたはCR³であり、X²はNまたはCR⁴であり、ただし、X¹およびX²は両方ともNであることはなく、

R³は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁴は、Hまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ただし、R³およびR⁴が、両方とも(C₁～C₃)アルキルであることはなく、

あるいは、R²およびR³は一緒になってベンゼン環または5～6員ヘテロアレーン環を形成し、これらの環の各々は独立して非置換であるか、または独立してハロゲン、OH、NH₂、NH(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルである1つまたは複数の基で置換されていてよく、ここで(C₁～C₃)アルキル基は非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールもしくはフェニルで置換されていてよく、

R⁵およびR⁹は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、O(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、

R⁶およびR⁸は、同一であるかまたは異なり、独立して、H、OH、ハロゲン、NH₂、(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)アルキル、O(C₁～C₃)ハロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-O-(C₁～C₃)アルキル、4～7員ヘテロシクロアルキル、(C₁～C₃)アルキル-SO₂-(C₁～C₃)アルキル、(C₁～C₃)アルキル-NH₂、(C₁～C₃)アルキル-N((C₁～C₃)アルキル)₂、N((C₁～C₃)アルキル)₂、またはNHR¹³であり、

R¹³は、それぞれの場合について独立して、SO₂-(C₁～C₃)アルキルまたは(C₁～C₃)アルキルであり、ここで(C₁～C₃)アルキル基は、非置換であるか、または5～6員ヘテロアリールで置換されており、

あるいは、R⁵およびR⁶が一緒になってベンゼン環を形成し、

あるいは、R⁷およびR⁶、またはR⁷およびR⁸は一緒になって、非置換であるか、または(C₁～C₃)アルキルで置換された5～7員ヘテロシクロアルキルを形成し、

R⁷は、H、NH₂、Y-R¹²、(C₁～C₃)アルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、

Y は、 $CR^{10}R^{11}$ 、 SO_2 または CO であり、

R^{10} および R^{11} は同一であるかもしくは異なり、独立して H もしくは $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであるか、または R^{10} および R^{11} は一緒になって $C_3 \sim C_4$ シクロアルキルを形成し、

R^{12} は、 NH_2 、 OH 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N(R^{15}, R^{16})$ 、 OR^{17} 、アリール、または 5～6 員ヘテロアリールであり、ここでアリールまたはヘテロアリールは、独立して非置換であるか、または 1 つもしくは複数のハロゲンもしくは 4～7 員ヘテロシクロアルキルで置換されており、ヘテロシクロアルキルの各々は、独立して、非置換であるか、またはハロゲン、 OH 、 NH_2 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $N((C_1 \sim C_3) \text{ アルキル})_2$ 、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルおよび CH_2R^{14} から選択される 1 つもしくは複数の基で置換されており、

10

R^{14} は、非置換であるか、または NH_2 、 OH 、ハロゲン、 CN 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、もしくは $O(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換された 5～10 員の単環または二環式アリールもしくはヘテロアリールであり、

R^{15} は、H または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、

R^{16} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $C_2 \sim C_3$ アルキル- $N((C_1 \sim C_3) \text{ アルキル})_2$ 、 $C_2 \sim C_3$ アルキル- $NH(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、

R^{17} は、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたは 4～7 員ヘテロシクロアルキルであり、ヘテロシクロアルキルは、非置換であるか、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキルで置換されており、ここで、 R^7 が YR^{12} である場合、 R^6 および R^8 は、同一であっても、または異なってもよく、独立して、H、 OH 、ハロゲン、 NH_2 、 CN 、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ アルキル、 $O(C_1 \sim C_3)$ ハロアルキル、または $(C_1 \sim C_3)$ アルキル- $O-(C_1 \sim C_3)$ アルキルであり、ここで、置換基 $R^5 \sim R^9$ の少なくとも 1 つは、水素ではない、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

20

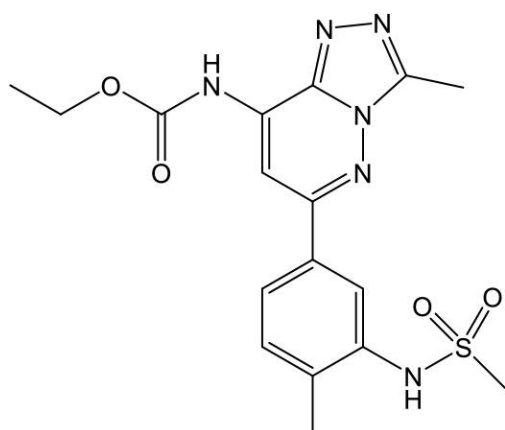
67. 非選択的 BRD9 阻害剤である、実施形態 48～54 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

68. ブロモスポリン：

30

【0122】

【化33】



40

またはその薬学的に許容される塩である、実施形態 67 に記載の BRD9 阻害剤。

69. アミノ酸抱合体の形態で投与される、実施形態 48～68 のいずれか一項に記載の BRD9 阻害剤。

70. アミノ酸抱合体がリジン抱合体である、実施形態 69 に記載の BRD9 阻害剤。

71. アミノ酸抱合体がフェニルアラニン抱合体である、実施形態 69 に記載の BRD

50

9 阻害剤。

72. 担体とともに対象に投与される、実施形態48～71のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

73. 担体が、ナノ粒子、エクソソーム、またはカーボンナノチューブを含む、実施形態72に記載のBRD9阻害剤。

74. 担体がナノ粒子を含む、実施形態73に記載のBRD9阻害剤。

75. ナノ粒子が、脂質ベースのナノ粒子を含む、実施形態74に記載のBRD9阻害剤。

76. ナノ粒子が、ヒト血清アルブミンベースのナノ粒子を含む、実施形態74に記載のBRD9阻害剤。

77. ナノ粒子がアポリポタンパク質ベースのナノ粒子を含む、実施形態74に記載のBRD9阻害剤。

78. ナノ粒子がポリマーベースのナノ粒子を含む、実施形態74に記載のBRD9阻害剤。

79. ナノ粒子がデンドリマーベースのナノ粒子を含む、実施形態74に記載のBRD9阻害剤。

80. ナノ粒子が無機ベースのナノ粒子を含む、実施形態74に記載のBRD9阻害剤。

81. 担体がエクソソームを含む、実施形態73に記載のBRD9阻害剤。

82. 担体がカーボンナノチューブを含む、実施形態73に記載のBRD9阻害剤。

83. 対象の治療が、対象に脳透過性増強剤を補助的に投与することをさらに含む、実施形態48～82のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

84. BRD9阻害剤および脳透過性増強剤が、単一の医薬組成物中で共投与される、実施形態83に記載のBRD9阻害剤。

85. 脳透過性増強剤が、セレポート、レガデノソン、またはボルネオールを含む、実施形態83または実施形態84に記載のBRD9阻害剤。

86. 脳透過性増強剤がセレポートを含む、実施形態85に記載のBRD9阻害剤。

87. 脳透過性増強剤がレガデノソンを含む、実施形態85に記載のBRD9阻害剤。

88. 脳透過性増強剤がボルネオールを含む、実施形態85に記載のBRD9阻害剤。

89. 対象の治療が、対象にマイクロバブル増強超音波を行うことをさらに含む、実施形態48～88のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

90. 対象に経鼻投与される、実施形態48～89のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

91. 対象に静脈内投与される、実施形態48～89のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

92. 動脈内注射により対象に投与される、実施形態48～89のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

93. 対象のCSFに投与される、実施形態48～89のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤。

94. 髄腔内、脳室内または脳実質内に投与される、実施形態93に記載のBRD9阻害剤。

95. ハンチントン病の治療のための医薬の製造におけるBRD9阻害剤の使用。

96. BRD9阻害剤が、実施形態49～94のいずれか一項に記載のBRD9阻害剤である、実施形態95に記載の使用。

【0123】

9. 参考文献の引用

本願で引用された全ての刊行物、特許、特許出願および他の文書は、個々の刊行物、特許、特許出願または他の文書が全ての目的のために参照により組み込まれることが個別に示されるのと同じ程度に、全ての目的のためにその全体が参照により組み込まれることになる。本明細書に組み込まれた1つまたは複数の文献の教示と本開示との間に矛盾がある場合、本明細書の教示が意図される。

10

20

30

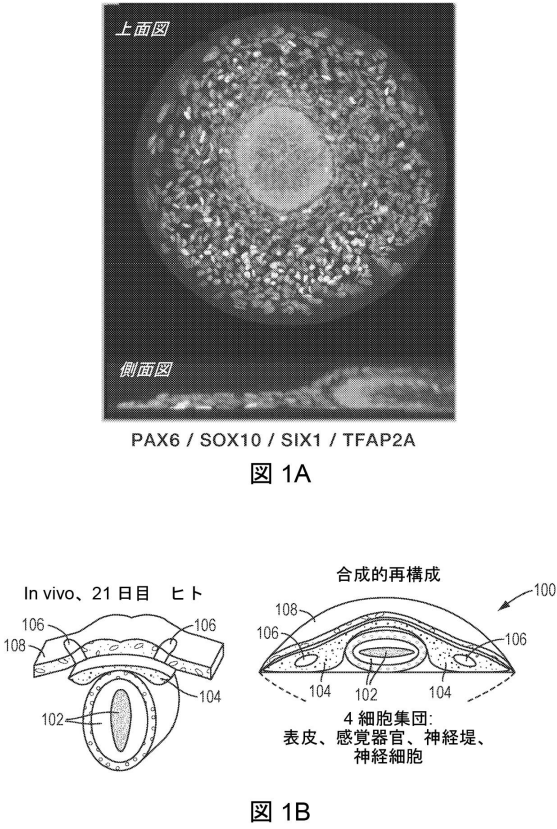
40

50

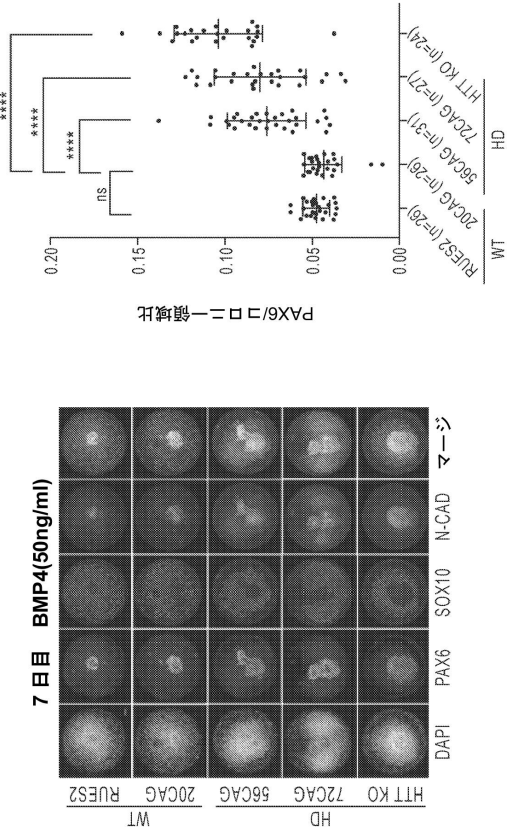
- 【符号の説明】
- 【0124】
- 102 神経細胞
- 104 神経堤
- 106 頭蓋プラコード
- 108 表皮

【図面】

【図1】



【図2】



10

20

30

40

50

【 図 3 】

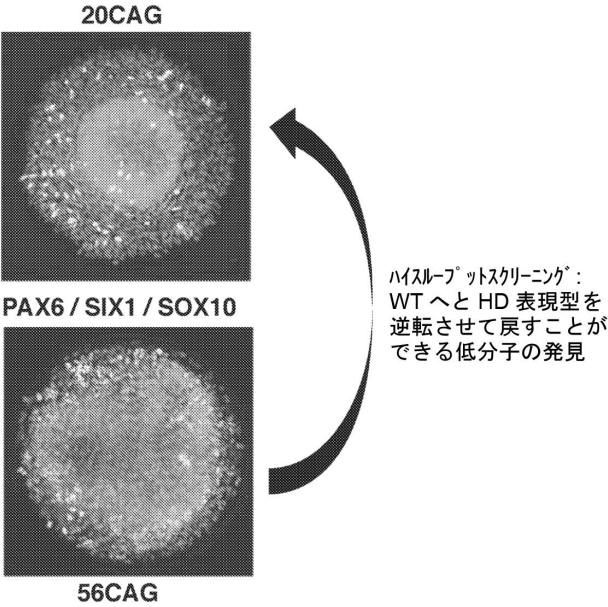


図 3

【 図 4 】

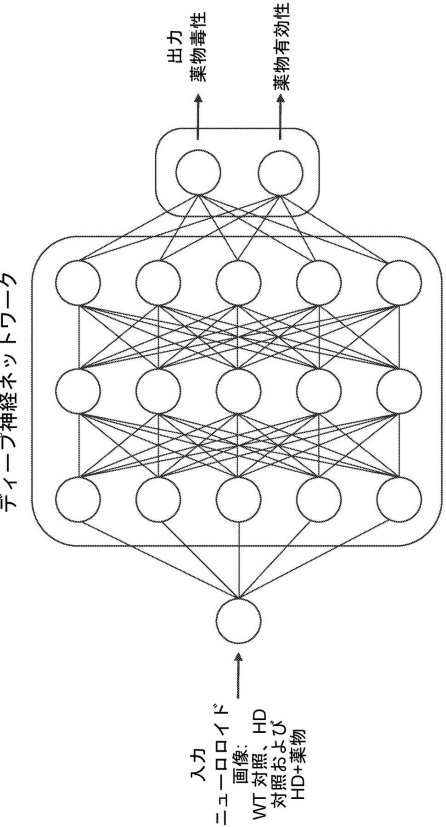


図 4

【 図 5 】

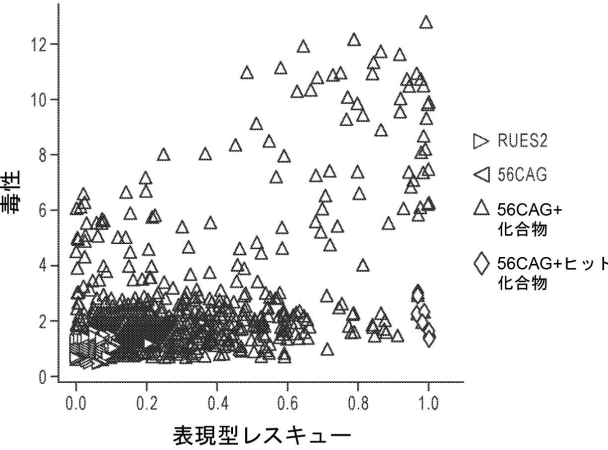


図 5

【 図 6 】

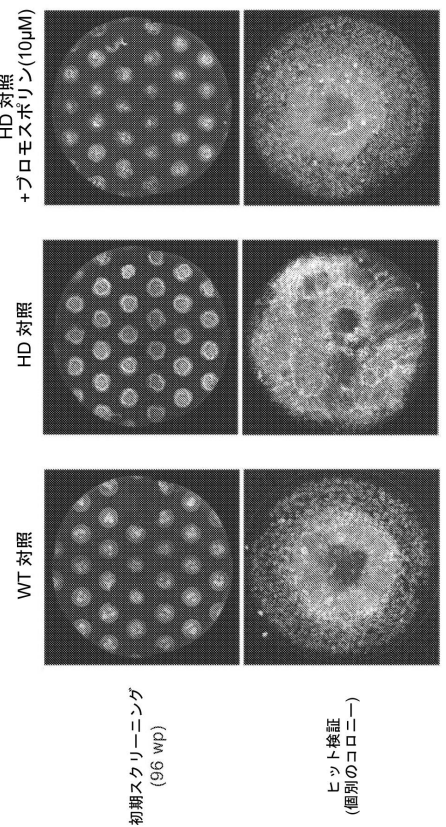


図 6

10

20

30

40

50

【図 7】

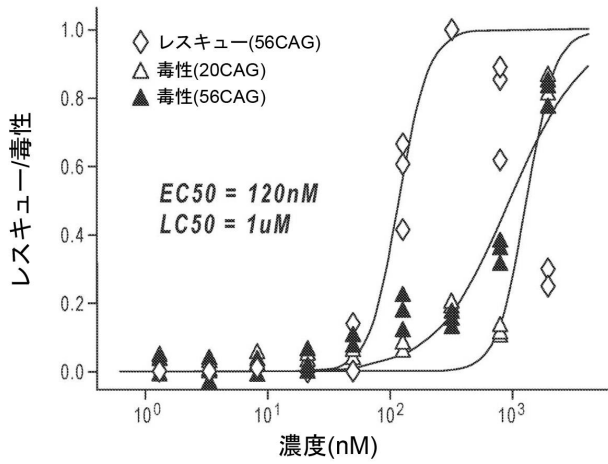


図 7

【図 8】

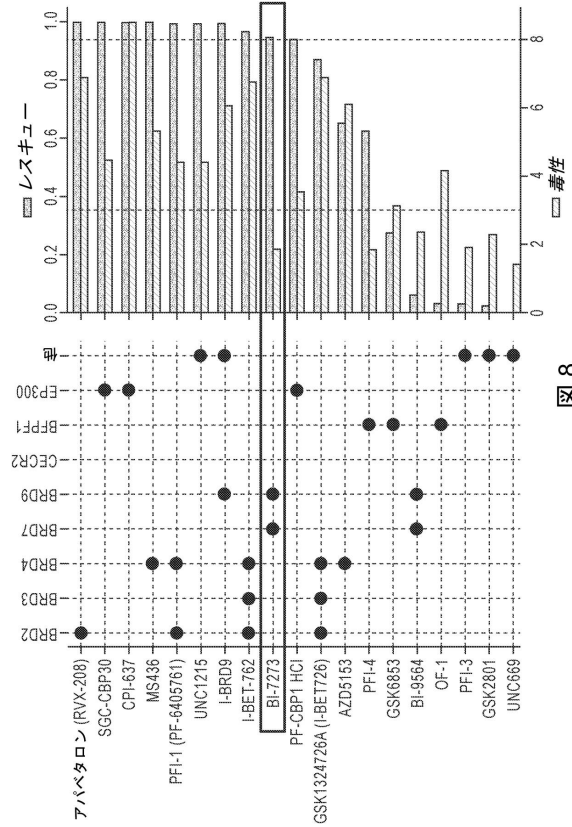


図 8

【図 9】

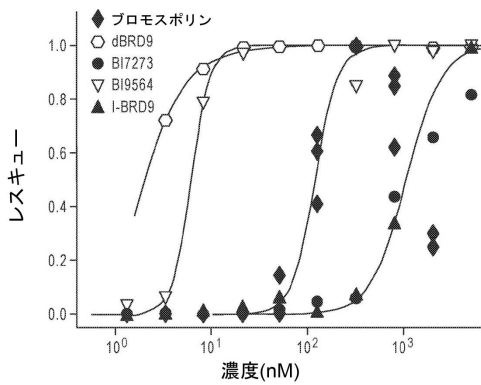


図 9A

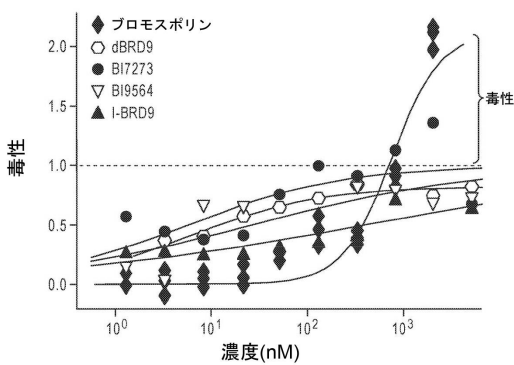


図 9B

【図 10】

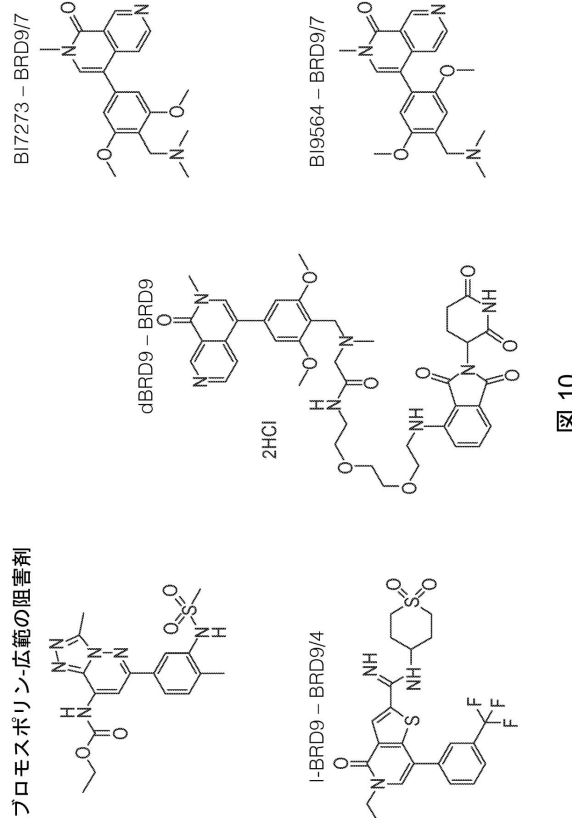


図 10

10

20

30

40

50

【図 1 1】

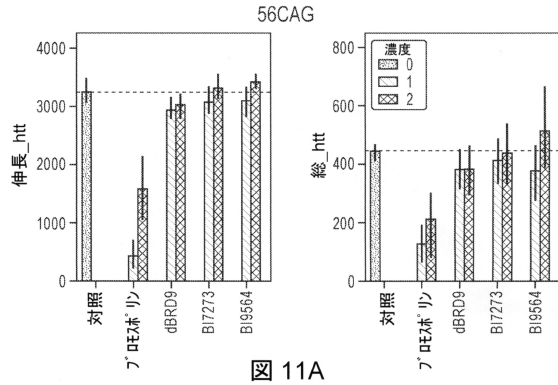


図 11A

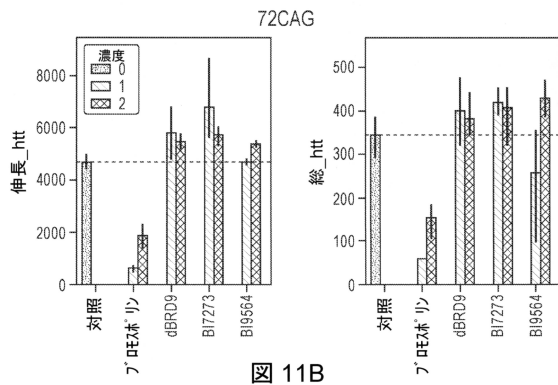


図 11B

【図 1 2】

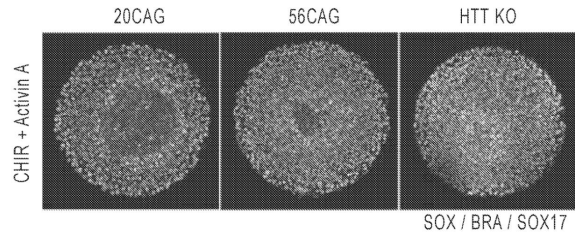


図 12A

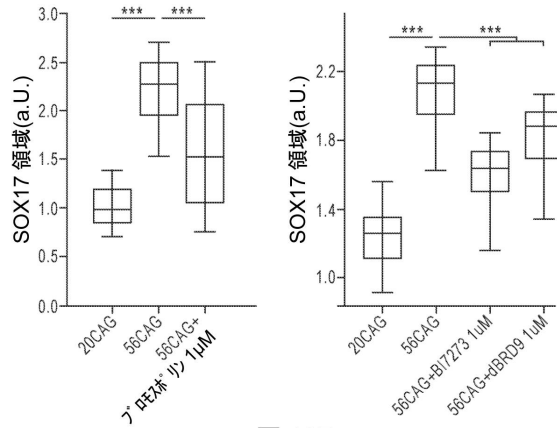


図 12B

【図 1 3 - 1】

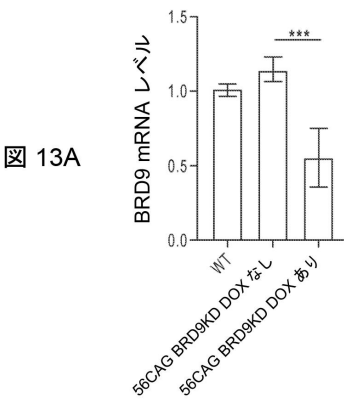
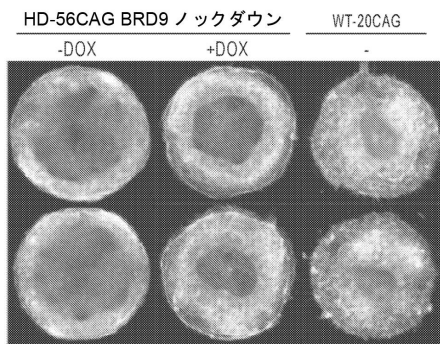


図 13A



PAX6/ファロイジン/SOX10

図 13B

【図 1 3 - 2】

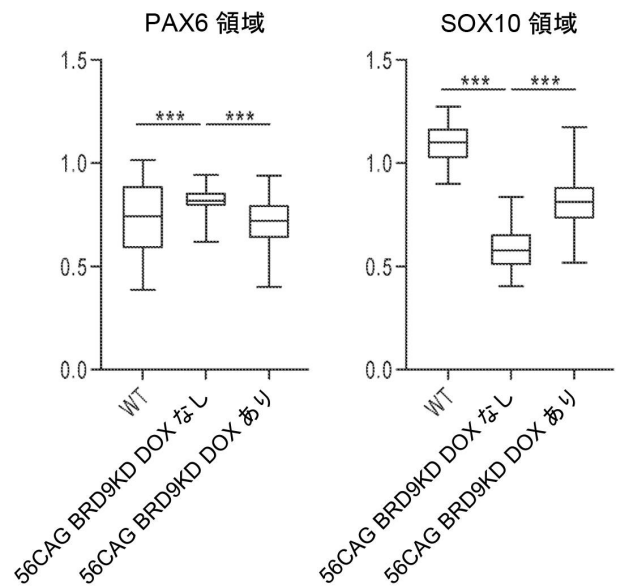


図 13C

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/026223

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/4365 A61K31/437 A61K31/4375 A61K31/4412 A61P25/14 A61P25/26 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) A61K 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, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/023149 A1 (SALK INST FOR BIOLOGICAL STUDI [US]; EVANS ROLAND M [US] ET AL.) 31 January 2019 (2019-01-31) claims	95,96
Y	-----	1-96
X	WO 2020/041308 A1 (UNIV GEORGIA [US]) 27 February 2020 (2020-02-27) claims; claim 11	95,96
Y	-----	1-96
	-/--	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
4 June 2021		14/06/2021
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 Collura, Alessandra

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/026223

Q(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/223452 A1 (DANA-FARBER CANCER INST INC [US]) 28 December 2017 (2017-12-28)	1,3-8, 10,11, 13,14, 18,19, 48, 50-55, 57,58, 60,61, 65,66
Y	the whole document	1-96
Y	----- OLZSCHA HEIDI ET AL: "CBP/p300 Bromodomains Regulate Amyloid-like Protein Aggregation upon Aberrant Lysine Acetylation", CELL CHEMICAL BIOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 24, no. 1, 15 December 2016 (2016-12-15), pages 9-23, XP029890369, ISSN: 2451-9456, DOI: 10.1016/J.CHEMBIOL.2016.11.009 "Huntingtin Aggregates and Bromodomain Inhibitors"; page 17 page 19, right-hand column, paragraph 1 -----	1-96

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/026223

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019023149 A1	31-01-2019	US 2020129532 A1 WO 2019023149 A1	30-04-2020 31-01-2019
WO 2020041308 A1	27-02-2020	EP 3841115 A1 WO 2020041308 A1	30-06-2021 27-02-2020
WO 2017223452 A1	28-12-2017	AU 2017281903 A1 CA 3025806 A1 EP 3474900 A1 US 2019247509 A1 WO 2017223452 A1	13-12-2018 28-12-2017 01-05-2019 15-08-2019 28-12-2017

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
A 6 1 K	31/437 (2006.01)	A 6 1 K	31/437	4 H 0 4 5
A 6 1 K	31/5377 (2006.01)	A 6 1 K	31/5377	
A 6 1 K	31/5025 (2006.01)	A 6 1 K	31/5025	
A 6 1 K	47/18 (2017.01)	A 6 1 K	47/18	
A 6 1 K	45/06 (2006.01)	A 6 1 K	45/06	
A 6 1 K	31/045 (2006.01)	A 6 1 K	31/045	
A 6 1 K	31/495 (2006.01)	A 6 1 K	31/495	
A 6 1 K	31/7076 (2006.01)	A 6 1 K	31/7076	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	47/42 (2017.01)	A 6 1 K	47/42	
C 1 2 N	5/078 (2010.01)	C 1 2 N	5/078	
C 0 7 K	14/765 (2006.01)	C 0 7 K	14/765	
C 0 7 K	14/775 (2006.01)	C 0 7 K	14/775	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,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,K
E,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,N
G,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,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. B R I J

ニア州, サン フランシスコ, フォルソム ストリート 2 7 4 0, アpartment ビー

(72)発明者 エトック, フレッド

アメリカ合衆国 1 0 0 3 5 ニューヨーク州, ニューヨーク, 1 2 9 ティーエイチ ストリート,
2 9 イー, アpartment ナンバー1

F ターム (参考) 4B065 AA93X AC20 BA30 CA44
4C076 BB11 CC01 DD51 EE41
4C084 AA17 AA20 MA02 MA66 ZA01
4C086 AA01 AA02 BC28 BC50 CB05 CB09 CB29 EA18 GA07 GA12
GA16 MA01 MA02 MA04 MA05 MA66 NA05 NA14 ZA01 ZC41 ZC75
4C206 CA14 MA01 MA02 MA04 MA05 NA05 NA14 ZA01 ZC41 ZC75
4H045 AA10 AA30 BA10 CA42 DA70 EA20 EA21 EA28