

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-520948

(P2020-520948A)

(43) 公表日 令和2年7月16日 (2020.7.16)

(51) Int. Cl.			F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K 31/4015 (2006.01)			A 6 1 K	31/4015	4 C 0 8 4	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)			A 6 1 K	45/00	4 C 0 8 6	
A 6 1 P 9/04 (2006.01)			A 6 1 P	9/04		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)			A 6 1 P	43/00	1 2 1	
			A 6 1 P	43/00	1 1 1	
			審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁)			
(21) 出願番号 特願2019-564446 (P2019-564446)			(71) 出願人 391015708			
(86) (22) 出願日 平成30年5月22日 (2018.5.22)			ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン			
(85) 翻訳文提出日 令和2年1月20日 (2020.1.20)			パニー			
(86) 国際出願番号 PCT/US2018/033783			B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B			
(87) 国際公開番号 W02018/217684			B C O M P A N Y			
(87) 国際公開日 平成30年11月29日 (2018.11.29)			アメリカ合衆国08543ニュージャージ			
(31) 優先権主張番号 62/509,489			ー州 プリンストン、ルート206アンド			
(32) 優先日 平成29年5月22日 (2017.5.22)			・プロビンス・ライン・ロード			
(33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)			(74) 代理人 100145403			
			弁理士 山尾 憲人			
			(74) 代理人 100126778			
			弁理士 品川 永敏			
			(74) 代理人 100162695			
			弁理士 釜平 双美			
			最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 心不全の治療用のホルミルペプチド受容体2／リボキシニンA4受容体 (FPR2／ALX) アゴニストの新規な使用

(57) 【要約】

本開示は、一般に、化合物1、1-((3S, 4R)-4-(2,6-ジフルオロ-4-メトキシフェニル)-2-オキソピロリジン-3-イル)-3-フェニル尿素を用いる心不全の治療方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

心不全の治療方法であって、その治療を必要とする患者に治療的に効果的な量の化合物 1 を投与することを含む、方法。

【請求項 2】

心不全が、高血圧、虚血性心疾患、非虚血性心疾患、心臓毒性化合物への暴露、心筋炎、川崎病、I 型および II 型糖尿病、甲状腺疾患、ウイルス感染、歯肉炎、薬物中毒、アルコール中毒、心膜炎、アテローム性硬化症、血管疾患、肥大型心筋症、拡張型心筋症、心筋梗塞、心房線維症、左心室収縮機能不全、左心室拡張機能不全、冠状動脈バイパス術、ペースメーカー移植術、飢餓、摂食障害、筋ジストロフィー、および遺伝的欠損よりもたらされる、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

心不全が、虚血性および非虚血性起源の、鬱血性心不全、収縮期心不全、拡張期心不全、駆出率の低下した心不全 (HF_REF)、駆出率が保たれた心不全 (HF_PEF)、急性心不全、慢性心不全からなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

心不全が駆出率の低下した心不全 (HF_REF) である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

HF_PEF が心筋梗塞よりもたらされる、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

患者にて心筋梗塞であると診断された後に化合物を投与する、請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

患者にて心筋梗塞であると診断された約 24 ～ 48 時間後に化合物を投与する、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

患者にて心筋梗塞であると診断された後の約 1 日と約 7 日の間に化合物を該患者に投与する、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

化合物を経口投与する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 10】

化合物の投与が左心室機能を改善する、請求項 3 に記載の方法。

30

【請求項 11】

化合物の投与が心筋壁の菲薄化の進行を防止する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 12】

化合物の投与が心筋細胞の細胞死を阻害する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 13】

化合物の投与が梗塞の大きさを小さくする、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 14】

化合物の投与が心臓組織における肥大を減少させる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 15】

化合物を毎日投与する、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 16】

少なくとも 1 週間、2 週間、3 週間、4 週間、5 週間または 6 週間にわたって化合物を投与する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

心不全が HF_PEF である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 18】

少なくとも 1 週間、2 週間、3 週間、4 週間、5 週間または 6 週間にわたって化合物を投与する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

50

化合物の投与が心筋損傷の治癒を改善する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

化合物の投与が心室の線維化を減少させる、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 21】

患者の心臓の症状の状態を各投与の間で評価し、心臓の症状に従って投与量および／または投与のタイミングを調整する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 22】

心不全を第 2 薬剤と一緒に治療することを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 23】

第 2 薬剤が、利尿剤、ループ利尿剤、カリウム保持性利尿剤、血管拡張剤、ACE 阻害剤、アンジオテンシン受容体遮断剤、アンジオテンシン II 阻害剤、アルドステロン阻害剤、陽性変力剤、ホスホジエステラーゼ阻害剤、ベーターアドレナリン作動性受容体阻害剤、カルシウムチャネル遮断剤、アルファ遮断剤、中枢性アルファ遮断剤、ナトリウム-グルコース共輸送体 2 阻害剤、ニトレート、スタチン、強心グリコシド、ジゴキシン、ニトレート類、クロルタリドン、アムロジピン、リシノプリル、およびドキサゾシンより選択される、請求項 22 に記載の方法。

10

【請求項 24】

心不全の治療および／または予防において使用するための化合物 1。

【請求項 25】

心不全が HF_R EF または HF_P EF である、請求項 24 の使用のための化合物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、35 U.S.C. § 119 (e) に従って、2017 年 5 月 22 日付け出願の米国仮特許出願番号 62/509,489 (そのすべての内容を本明細書の一部とする) について優先権を有する。

【背景技術】

【0002】

心疾患はますます蔓延していく状況にあり、それは有意な臨床的かつ経済的負担をもたらす。蔓延の増加には、累進的に、有害な心臓リモデリングおよび左心室機能不全に至る、心筋の累積損傷をもたらす心筋梗塞を生き残った患者が幾分関与している (Viau DMら、Heart, 2015, 101, 1862-7; Paulus WJ., Tschope C., J. Am. Coll. Cardiol., 2013, 62, 263-71)。拡張型心筋症、心筋炎および慢性高血圧などの実際には非虚血性である、病因による心疾患が、心不全の蔓延の増加に加えられている。合衆国では、心不全 (HF) は 500 万を超える人々に影響を与え、毎年約 50 万人の症例が新たに生じている。HF は 65 歳より上の人々が入院する主な病因である。HF には多数の潜在的な原因および多様な臨床的特徴がある。心不全の徴候は、活動の間または安静時の呼吸困難、白痰の混ざった咳、急速な体重増、足首、足、および腹部の腫れ、眩暈、疲れや脱力、頻拍または不規則な心拍、吐き気、動悸および胸部の痛みを包含しうる。

30

40

【0003】

虚血性および非虚血性の心筋症は、HF に至り得る、2 種類の別個の型の心臓病である。虚血性 HF は、一般には冠動脈疾患から由来の、心筋への血液の供給量が減少することにより生じる、左心室機能が有意に損傷したものであると説明される。対照的に、非虚血性 HF には、先天的な感染因子、自己免疫および特発的原因を含む、一連の病因がある。虚血性と非虚血性との HF の間にある分子の違いを同定することで、新たな病因特異的療法が明らかにされるかもしれない。

【0004】

臨床的に、HF は 2 種の主たる下位群、拡張期心不全 (DHF) および収縮期心不全 (SHF) に分類され得る。駆出率の低下した心不全 (HF_R EF) としても知られる、S

50

H F は、心臓が、安静時に、および／または活動の間に組織を代謝させるために必要とされる速度で血液を送り出すことができない、心臓の異常に關与する。駆出率が保たれた心不全 (H F_p E F) としても知られる、D H F は、H F の症候 (症状と兆候) のある臨床症候群である。H F_p E F の患者は、収縮 (心臓収縮) の時でなく、充填 (心臓拡張) の間に、心室の性能の減退を示す。H F_p E F の患者は、心室から送り出された血液で正常な駆出率を示すが、心筋は速やかに弛緩して血液が体中から戻って効率的に充填され得ない。H F_R E F と H F_p E F の臨床的兆候には、危険因子、患者特性、および病態生理学において明白な違いがある。その上、H F_R E F にて効果的であると証明された医薬が H F_p E F にて効果的でないことが判明した。現在、仮に心不全の約半数が駆出率が保たれた心不全 (H F_p E F) であるとして、H F_p E F の死亡率を減少させる承認された治療法はない。結果として、H F_p E F を治療および防止するのに有用な医薬剤を見出す必要性が依存として存在する。

10

【0005】

ホルミルペプチド受容体 2 / リポキシン A₄ (F P R 2 / A L X) は、哺乳類食細胞白血球によって主に発現され、宿主防御および炎症において重要であることが分かっている、7 回膜貫通ドメインの G タンパク質結合受容体の小さな群に属する。心血管系において、F P R 2 / A L X 受容体およびその炎症収束アゴニストの両方がアテローム生成プラークの安定化および治癒に關与していることが判明した (Petri M H. ら、Cardiovasc. Res., 2015, 105, 65-74; および Fredman G. ら、Sci. Trans. Med., 2015, 7(275); 275ra20)。リポキシンおよび F P R 2 も、感染性疾患、乾癬、皮膚炎、眼炎症、敗血症、疼痛、代謝性／糖尿病性疾患、がん、C O P D、喘息およびアレルギー疾患、嚢胞性線維症、急性肺損傷および線維症、関節リウマチおよび他の関節疾患、アルツハイマー病、腎線維症、および臓器移植を含む、慢性炎症性ヒト疾患の前臨床モデルにおいて有益である (Romano M. ら、Eur. J. Pharmacol., 2015, 5, 49-63; Perrett, M. ら、Trends in Pharm. Sci., 2015, 36, 737-755)。

20

【0006】

近年、心筋梗塞 (M I) の状況にて、内因性炎症収束エイコサノイドおよびペプチドの使用を記載する多数の公開レポートがある (Dalli ら、Proresolving and tissue-protective actions of annexin A1-based cleavage-resistant peptides are mediated by formyl peptide receptor 2/lipoxin A4 receptor. J. Immunol. 2013 Jun 15;190(12):6478-87; Gobbetti ら、Nonredundant protective properties of FPR2/ALX in polymicrobial murine sepsis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Dec 30; 111(52):18685-90; Heo ら、Formyl peptide receptor 2 is involved in cardiac repair after myocardial infarction through mobilization of circulating angiogenic cells. Stem Cells. 2017 Mar;35(3):654-665; Kain ら、Resolvin D1 activates the inflammation resolving response at splenic and ventricular site following myocardial infarction leading to improved ventricular function. J Mol Cell Cardiol. 2015 Jul;84:24-35; Kain ら、Resolution agonist 15-Epi-Lipoxin A4 directs FPR2 to expedite healing phase post-myocardial infarction FASEB J, 2016 30 (1) S306.2; Perretti ら、Characterizing the anti-inflammatory and tissue protective actions of a novel Annexin A1 peptide. PLoS One. 2017 Apr 13;12(4))。これらの研究は、外科的に M I を誘発した時点で、マウスにおいて心臓の構造および機能を改善するために炎症収束経路 (resolution pathway) が誘発され得ることを示す。これらの研究は、心筋梗塞の前か、心筋梗塞となった時のいずれかで試験物質を投与した場合の、急性予防治療の効果に焦点を当てる。急性治療剤は、単回投与で付与されるか、あるいは心筋梗塞後に数日にわたって付与される。その上、これらの研究はすべて、試験物質の投与に非経口経路 (すなわち、腹腔内または静脈内) を使用する。今日まで、心筋梗塞の治療中に使用される小型合成分子の炎症収束アゴニストの報告は 1 つあるに過ぎない (Qin ら、Small-molecule-biased formyl peptide receptor agonist compound 17b protects against myocardial ischaemia-reperfusion injury in mice. Nat Commun. 2017 Feb 7;8:14232)。心筋梗塞となる 1 日前に I P 注射を介して化

30

40

50

合物を1回投与し、それで梗塞の構造および心臓の機能において改善が示された。これらの報告において、炎症収束経路を刺激することの利点はすべて、虚血性心疾患に向かって進む実験にて例証されるものである。

【0007】

FPR2アゴニストを、MIが誘発される前に投与するか、MIの直後に急性的に投与するかのいずれかの上記した研究とは異なり、本発明の化合物、1-((3S, 4R)-4-(2, 6-ジフルオロ-4-メトキシフェニル)-2-オキソピロリジン-3-イル)-3-フェニル尿素（以下、FPR2アゴニストを化合物1と称する）を経口投与を介して数週間にわたって慢性療法として投与し、虚血性および非虚血性起源の複数の心不全モデルにおいて改善が示された。介入療法として、すなわち、疾患を発症した後に投与した場合の、治療的有用性を例示する。予防的処理として投与した場合の、治療的有用性も観察される。

10

【発明の概要】

【0008】

本発明は患者の心不全を治療する方法を提供する。1の実施態様において、該方法はその必要とする患者に効果的な量の化合物Iまたはその医薬的に許容される塩を投与することを含む。

【0009】

本発明の1の実施態様において、治療すべき心不全は、高血圧、虚血性心疾患、非虚血性心疾患、心臓毒性化合物への暴露、心筋炎、川崎病、I型およびII型糖尿病、甲状腺疾患、ウイルス感染、歯肉炎、薬物中毒、アルコール中毒、心膜炎、アテローム性硬化症、血管疾患、肥大型心筋症、拡張型心筋症、心筋梗塞、心房線維症、左心室収縮機能不全、左心室拡張機能不全、冠状動脈バイパス術、ペースメーカー移植術、飢餓、摂食障害、筋ジストロフィー、および遺伝的欠損よりもたらされる。

20

【0010】

本発明のもう一つ別の実施態様において、治療されるべき心不全は、虚血性および非虚血性起源の、収縮期心不全、拡張期心不全、駆出率の低下した心不全(HF_REF)、駆出率が保たれた心不全(HF_pEF)、急性心不全、および慢性心不全である。

【0011】

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、本発明の化合物Iは経口投与される。

30

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、心不全は、心筋梗塞よりもたらされる、HF_REFであり、該化合物は患者において心筋梗塞の診断の前または後のいずれかで投与される。

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物は心筋梗塞の24時間または48時間後に投与される。

【0012】

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物は毎日投与される。

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物は、少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間投与される。

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物の投与は左心室機能を改善する。

40

【0013】

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物の投与は心筋壁の菲薄化の進行を防止する。

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物の投与は心筋細胞の細胞死を阻害する。

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物の投与は梗塞の大きさを小さくする。

【0014】

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、心不全はHF_pEFである。

50

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物の投与は心筋損傷の治癒を改善する。

本発明のさらにもう一つ別の実施態様において、該化合物の投与は心筋線維化を弱める。

【0015】

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、治療にて同時に、別々にまたは連続して用いるための、本発明の化合物1と、付加的な治療製剤との併用製剤を提供する。

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全の予防および／または治療を必要とする患者においてその予防および／または治療に用いるための化合物1およびその医薬的に許容される塩を提供する。

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、患者にて心不全を予防および／または治療するための化合物1の使用を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0016】

本発明の好ましい実施態様の以下に示される詳細な記載は、添付した図面と一緒に読んだ時により詳細に理解されるであろう。本発明を説明する目的で、現在好ましい図面にて、実施態様を示されている。しかしながら、本発明は、図面にて示される実施態様の正確なアレンジメントおよびインストルメンタリティに限定されないと理解すべきである。

【0017】

【図1】化合物1で処理したマウスでのLV前壁梗塞の大きさにおける用量依存的減少を示すグラフである。上部パネル：梗塞の大きさはLV全面積の割合として表される。下部パネル：組織構造によってMIの程度を表す心臓の断面を示す。梗塞のないシャム動物を比較のために示す。化合物1；LV、左心室；PO、経口、QD、1日に一回

【0018】

【図2】ビヒクルおよび化合物1で処理したマウスの壁厚を示すグラフである。MIの貫壁性壁厚をあらゆる群に対して組織学的に測定した。化合物1処理を施した梗塞壁厚の用量依存的保存をシャムの%として示す。ビヒクルは梗塞のある非処理を示し；シャムは梗塞のない非処理を示す。

【0019】

【図3】ビヒクルおよび化合物1で処理したマウスのLVチャンバーの面積を示すグラフである。左心室チャンバーの面積を心臓の組織断面図からすべての群について測定した。心筋梗塞により惹起された左心室の拡張は、梗塞のないシャムマウスと比べて、すべての処理群についてチャンバーの面積を増大させた。0.3mpkの化合物1での処理はビヒクル処理と比べてLVチャンバーの面積を減少させた。

【0020】

【図4】化合物1およびビヒクルで処理したマウスでの初期における梗塞の組成を示すグラフである。上左図：ビヒクルと比較した梗塞領域についての化合物1の効果；上右図：ビヒクルと比較した梗塞コラーゲンについての化合物1の効果；下左図：ビヒクルと比較したMMP-2についての化合物1の効果；下右図：ビヒクルと比較したTIMP-4についての化合物1の効果

【0021】

【図5】化合物1およびビヒクルで処理したラットにおける梗塞壁厚の用量依存性保存を示すグラフである。MIの中間領域での貫壁性壁厚をあらゆる群で組織学的に測定し、グラフで示す。化合物1処理した梗塞壁厚の用量依存的保存をビヒクルの%として示す。ビヒクルは梗塞のある非薬物処理を示し；シャムは梗塞のない非薬物処理を示す。

【0022】

【図6】化合物1またはビヒクルで処理したラットでの左心室駆出率の改善を示すグラフである。ラットの心エコー検査を処理した6週間後に行った。左心室駆出率の改善がビヒクルに比べて化合物1で観察された。

【0023】

10

20

30

40

50

【図 7】化合物 1 またはビヒクルで処理したラットでの左心室心筋救済における用量依存的改善を示すグラフである。M I の中間領域にある梗塞壁を越える生存心筋を組織学的にあらゆる群で測定した。生存心筋の化合物 1 処理での保存をビヒクルの % として示す。ビヒクルは、梗塞のある非薬物処理を示す。

【0024】

【図 8】化合物 1 またはビヒクルで処理したラットでの左心室駆出率における用量依存的改善を示すグラフである。駆出率測定は心筋梗塞の 6 週間後に圧力-体積コンダクタンスカテーテル技法を用いて測定された。

【0025】

【図 9】化合物 1 によるマウスでの心線維化の退行を示すグラフである。線維化はアンジオテンシン I I で刺激された。下図：組織構造

【図 10】化合物 1 によるマウスでの心線維化の縮小を示すグラフである。線維化は酢酸デオキシカルチコステロン、アルドステロンの合成模倣剤で刺激された。

【発明を実施するための形態】

【0026】

1. 定義

特記されない限り、本明細書にて使用されるあらゆる技術的および科学的用語は、本発明が関与する分野における当業者が一般的に理解するのと同じ意義を有する。本明細書に記載の方法および材料と類似する、または均等であるいずれの方法および材料も本発明を試験するための実施に際して使用することができるが、本明細書において好ましい材料および方法が記載される。

【0027】

本明細書にて使用される専門用語は、単に特定の実施態様を記載するためであって、限定することを意図とするものではない、と理解されるべきでもある。

「a」および「an」なる冠詞は、本明細書にて、該冠詞の 1 個の、または複数の（すなわち、少なくとも 1 個の）文法上の目的物を言うのに使用される。例として、「要素」は 1 の要素または複数の要素を意味する。

【0028】

量、期間等などの測定可能な数値に言及する場合に、本明細書において使用される「約」は、以下の変数が開示される方法を実施するのに適切である時には、±20%または±10%、ある場合には±5%、ある場合には±1%、ある場合には0.1%の特定の値からの変数を含むものとする。

【0029】

「異常」なる語は、それが器官、組織、細胞またはその成分との関連で使用される場合に、「正常な」（期待される）個々の特性を表す、それらの器官、組織、細胞またはその成分から由来の観察可能または検出可能な少なくとも 1 つの特性（例えば、年齢、治療法、時刻等）と異なる、それらの器官、組織、細胞またはその成分を言う。1 の細胞または組織型で正常であると、または期待される特性は、別の細胞または組織型では異常であってもよい。

【0030】

本明細書にて使用される、「心不全」は、正常な充満圧にも関わらず、代謝組織の要求に見合う速度で酸素を供給することの心臓の不全の原因となる、心臓の構造または機能の異常な状態を言う。心不全の根本的原因是、収縮期心室機能不全または心室拡張能の異常な状態によるものとすることができる。

【0031】

本明細書にて使用される、「収縮期心室機能不全」または「収縮期心不全」は、左心室の収縮および排出機能の減少を言う。それは心臓の左心室が各拍動で十分な血液を体に送り出すことができない場合に起こる。収縮期心不全は駆出率の低下で特徴付けられる。かくして、収縮期心不全も駆出率の低下した心不全に分類される。

【0032】

本明細書にて使用される、「拡張期心室機能不全」または「拡張期心不全」は、左心室の異常な心弛緩および充満を言う。それは心臓が血液で満たされることができないように適切に弛緩しない場合に起こる。拡張期心不全は駆出率の保持によって特徴付けられ、かくして駆出率が保たれた心不全に分類することもできる。

【0033】

本明細書にて使用される、「低駆出率」、「駆出率の低下した心不全」または「H F_R E F」は、駆出率が50%以下、一般的には40%以下であることを言う。

本明細書にて使用される「保持駆出率」または「駆出率が保たれた心不全」または「H F_p E F」は、駆出率が50%以上であることを言う。

【0034】

本明細書にて使用される、「急性非代償性心不全」または「A D H F」は、心疾患のある患者において、症状の悪化すること、典型的には息切れ（呼吸困難）、浮腫および疲労を言う。A D H Fは急性呼吸窮迫の一般的原因であり、深刻な原因となる可能性がある。

【0035】

本明細書にて使用される、「鬱血性心不全」は、安静時にまたは運動して、心臓が正常な血液拍出量を維持できない、あるいは正常な心充満圧の状況下にて心臓が正常な心拍出量を維持できないようにする心機能の損傷を意味する。約40%以下の左心室駆出率が鬱血性心不全の指標である（比較として、約60%の駆出率が正常である）。鬱血性心不全の患者は、頻呼吸、胸水、安静時または運動しての疲れ、収縮不全、および浮腫などの周知の臨床的症候を表す。

【0036】

本明細書にて使用される、「虚血性心疾患」は、心筋の酸素の必要性と、酸素供給の妥当性との間の不均衡より生じるいずれかの障害を意味する。虚血性心疾患の大抵の場合は、アテローム性動脈硬化症または他の血管障害において生じるように、冠状動脈が狭まることによりもたらされる。

【0037】

本明細書にて使用される、「左心室駆出率」または「L V E F」は、1拍動当たりで左心室にある血液の総量のうち送り出される血液の量または割合を言う。かくして、それは各心拍で充満した左心室より送り出される血液の割合である。一般には、L V E F > 55%が正常であり、50%より下は少ない。当業者はL V E Fを評価または測定する方法に詳しい。E Fを測定する例示的な方法として、心エコー図法、心臓カテーテル法、磁気共鳴映像法（M R I）、コンピューター断層法（C T）または核医学スキャンが挙げられるが、これらに限定されない。E Fは拡張末期容量で割った1回拍出量として測定され得る。

【0038】

本明細書にて使用される、「拡張期」は、左心室が血液で充満している時に、心臓を拍動させるサイクルを言う。充満相は、心筋が弛緩して、血液が左心室に入り、充満させることができる場合に起こる。

【0039】

本明細書にて使用される、「収縮期」は、血液が強制的に押し出され、血液が心臓に残っていない時に、心臓を拍動させるサイクルを言う。排出相は、心筋が収縮するか、または心筋に圧力をかけ、血液を送り出すか、排出する場合に起こる。

【0040】

本明細書にて使用される、「一回拍出量」は1拍動当たりで1の心室から送り出される血液の容量をいう。一回拍出量は拡張末期容量から収縮末期容量を引いたものとして計算される。

【0041】

本明細書にて使用される、「拡張末期容量」または「E D V」は、ロード末期または充満状態（すなわち、拡張期）にて心室にある血液の容量を言う。かくして、それは拍動する直前の血液の容量である。

10

20

30

40

50

【0042】

本明細書にて使用される、「収縮末期容量」または「ESV」は、収縮の末期（すなわち、収縮期）で充満の開始時（すなわち、拡張期）に心室にある血液の容量を言う。かくして、それは拍動の最後に心室にある血液の容量である。ESVは臨床的に収縮機能を測定するのに使用され得る。ESVを評価または測定する方法は当業者に周知であり、心電図（T波の終わり）、心エコー検査、MRIまたはCTを包含するが、これに限定されない。

【0043】

本明細書にて使用される、「鬱血性再灌流損傷」は、血流を遮断し、つづいて再灌流の間に再酸素化に付し、反応性酸素種を同時に生成することを含む鬱血性事象の間に酸素が枯渇することで生化学的に特徴付けられる、ある種の鬱血性事象である。

10

【0044】

本明細書にて使用される、「心筋梗塞」または「MI」は、鬱血性疾患が心筋部位の瘢痕組織との置換をもたらす、そのプロセスを意味する。

本明細書にて使用される、「高血圧」は、医療専門家（例えば、医者または看護師）によって正常よりも高く、鬱血性心不全を発症する危険性が高いと考えられる、血圧を意味する。

【0045】

本明細書にて使用される、急性冠動脈症候群（ACS）なる語は、冠動脈の閉塞に起因したいずれかの群の症状をいう。ACSの診断を促す最も一般的な兆候は、左腕または顎角に放射状に広がり、締め付けられるような感じの（pressure-like in character）、悪心および発汗に付随することが多い、胸部の痛みである。

20

【0046】

本明細書にて使用される、「心臓病の症候」または「心不全の症候」なる語は、簡単な観察で、または標準的な臨床試験で認識されるような心不全に付随する症候を言う。この症候は、個人の年齢および心臓病の家族歴と合わせて、心臓病または心不全であるとの診断に至り得る。心臓病の兆候の例として、以下に限定されないが、呼吸困難、胸痛（狭心症）、動悸、失神、浮腫、チアノーゼおよび疲労が挙げられる。これらの中には、動悸、チアノーゼ等などの定量的分析に供することのできるものがある。他の症状として、胸部にある不快感または圧迫、背中、顎、喉または腕に放射状に広がる不快感、膨満感または摂取、発汗、悪心、嘔吐、眩暈、呼吸低下または息切れ、および／または頻拍または不整脈が挙げられる。心臓病の症候を同定することは、治療を行う医師などの当業者のレベルの範囲内である。

30

【0047】

本明細書にて使用される、「心不全に付随する疾患および状態」は、心不全の症候に付随するいずれの状態をもいい、心不全の診断試験により確かめられる。心不全についての兆候、症状および診断試験は当業者に周知である。心不全の症状は、息切れ、くるぶし腫脹、または疲労を包含するが、これに限定されない。心不全の兆候は、高頸静脈圧、肺の異常音、および心尖拍動の移動を包含するが、これに限定されない。心不全についての診断試験は、心電図（EKG）で測定されるように心臓の血液送出能の異常、胸部x線により測定されるように心臓の拡張、BNPの血中の高レベル、心エコー検査（echo）により測定されるように心臓の大きさ、形状または血流の異常な特徴、心臓カテーテル法によって測定されるように心腔中の血圧および血流の異常な状態、または冠動脈造影法により測定されるように血流の異常な状態を包含するが、これらに限定されない。心不全に付随する疾患および状態の代表例は、虚血性心疾患（IHD；冠動脈性心臓病とも称される）、心筋梗塞、心筋症、高血圧、心臓弁の疾患、心膜疾患、または不整脈を包含するが、これらに限定されない。

40

【0048】

本明細書にて使用される、「鬱血性心不全のリスクがある」は、喫煙しており、肥満（すなわち、理想体重よりも20%以上多い）の個体が、心臓毒性化合物（アントラサイク

50

リン系抗生物質など）に晒されているか、または晒されると考えられるか、あるいは高血圧、虚血性心疾患、心筋梗塞、心不全のリスクを高めることが知られている遺伝的欠損、心不全の家族歴、心筋肥大、肥大型心筋症、左心室収縮機能障害、冠動脈バイパス形成術、血管疾患、アテローム性動脈硬化症、アルコール依存症、心膜炎、ウイルス感染、歯肉炎、または摂食障害（例えば、拒食症または過食症）、またはアルコールもしくはコカイン中毒を有する（または有した）ことを意味する。

【0049】

本明細書にて使用される、「心筋菲薄化の進行の低下」は、心室壁の厚みが維持または太くなるように、心室心筋細胞の肥大を維持することを意味する。

本明細書にて使用される、「患者」は、心血管疾患および状態の分野における当業者によって決定されるような治療に適する心血管状態の、ヒトを含む、哺乳動物種を意味する。

【0050】

本明細書にて使用される、「治療する」または「治療」は、哺乳類、特にヒトにおける病態の治療を包含し、（a）病態を阻害すること、即ち、その進行を停止させること；および／または（b）病態を軽減すること、即ち、疾患状態の退縮を引き起こすこと；および／または（c）病態の予防を包含する。特に、「治療する」は、化合物1の投与が、治療をしていない場合に生じる疾患の進行と比べて、統計的に有意な様式にて、治療の間に心不全の進行を遅らせるか、または阻害することを意味する。左心室駆出率、運動パフォーマンス、および他の臨床試験、ならびに生存率および入院率などの周知の兆候を用いて疾患の進行を評価してもよい。治療が、統計的に有意な様式にて、疾患の進行を遅らせるか、または阻害するか、あるいはしていないかのいずれかは、当該分野にて周知の方法によって測定され得る。

【0051】

本明細書にて使用される、「予防」は、治療的に効果的な量の化合物、あるいはその互変異性体、または医薬的に許容される塩を患者に投与することにより病態を発症するリスクを減少および／または最低限とするか、あるいはその再発のリスクを減少させる、病態の予防的治療である。患者は、予防的治療のために、一般的集団と比べて、臨床的な病態に罹患する危険性を増大させることが分かっている因子に基づいて選択されてもよい。予防的治療のために、その臨床的病態の状態は発症していてもいいし、未だ発症していてもよい。「予防的」治療は（a）一次予防および（b）二次予防に分類できる。一次予防は、未だ臨床的病態を発症していない患者における病態のリスクを減少または最小限とする治療と定義され、それに対して二次予防は、同じまたは類似の臨床的病態の再発または2回目の出現のリスクを最小限とするか、減少させるものとして定義される。

【0052】

本明細書にて使用される、「リスク軽減」は、臨床性病態の発生の出現率を下げる治療法を包含する。一次および二次予防療法は、それ自体がリスク軽減の例である。

【0053】

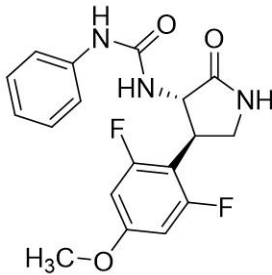
I I. 化合物および医薬組成物

本発明は、心不全の患者を治療するための、化合物1、組成物および治療方法に関する。該方法は、その必要とする患者に、化合物1、その互変異性体または医薬的に許容される塩を心不全を治療するのに治療的に効果的な量で投与することを含む。

【0054】

化合物1は1-1-((3S,4R)-4-(2,6-ジフルオロ-4-メトキシフェニル)-2-オキソピロリジン-3-イル)-3-フェニル尿素であり、次の構造式：

【化 1】



化合物 1

10

で示される。

【0055】

該化合物は、WO 2015/079692 A1 およびその米国対応特許の米国特許公開番号 2017/0066718（それらの内容を出典明示により本明細書の一部とする）にて開示される。

【0056】

理論で拘束するつもりはないが、本発明は、化合物 1 が走化性および食作用を媒介して、心筋梗塞後の梗塞の大きさを小さくし、心筋細胞の生存を改善し、心室壁厚を保持し、損傷治癒を強化し、左心室駆出率を改善すると見出したことにいくらかは基づくものである。加えて、本発明は該化合物が非虚血性起源の心臓線維症も軽減させ得ると見出したことにいくらかは基づくものである。

20

【0057】

心不全の治療または予防は、同様に心血管の治療または予防とも関連している可能性のあることが理解されよう。本明細書において言及される治療または予防は、心血管事象に付随するか、またはその結果として生じる特定の陰性症状または状態の治療または予防とすることができる。一例として、治療または予防は、心血管事象に付随するか、またはその結果として生じる、短縮率、心臓の重量、肺の重量、筋細胞断面積、圧負荷誘発性心臓線維化、ストレス誘発性細胞老化、および／または心臓肥大特性、あるいはそれらのいずれかの組み合わせでの陰性変化を減少または防止することに関与する可能性がある。治療は、心血管事象に備えて、または心血管事象に答えて、陰性作用を緩和するために投与されてもよい。予防は、心血管事象を防止するか、あるいは心血管事象の陰性作用の発生を減少させるために、積極型または予防型の治療を含んでもよい。

30

【0058】

1 の実施態様において、本発明は化合物 1 またはその医薬的に許容される塩の使用であって、心不全、例えば、高血圧、虚血性心疾患、非虚血性心疾患、心臓毒性化合物への暴露、心筋炎、川崎病、I 型および II 型糖尿病、甲状腺疾患、ウイルス感染、歯肉炎、薬物中毒、アルコール中毒、心膜炎、アテローム性硬化症、血管疾患、肥大型心筋症、拡張型心筋症、心筋梗塞、心房線維症、左心室収縮機能不全、左心室拡張機能不全、冠状動脈バイパス術、ペースメーカー移植術、飢餓、摂食障害、筋ジストロフィー、および遺伝的欠損より由来の心不全の治療または予防用の医薬組成物を製造するための使用を提供する。好ましくは、治療すべき心不全は、拡張期心不全、駆出率の低下した心不全（H F_R E F）、駆出率が保たれた心不全（H F_P E F）、急性心不全、ならびに虚血性および非虚血起源の慢性心不全である。

40

【0059】

1 の実施態様において、本発明は、収縮期および／または拡張期機能不全を治療するための化合物 1 の使用であって、化合物 1 が心筋細胞の収縮および弛緩能を増大させるのに治療的に効果的な量で投与され、それによって右心室および左心室の両方を、好ましくは左心室を充満および空にする能力を増大させる、使用を提供する。

【0060】

もう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全を治療するための化合物 1 の使用で

50

あって、化合物 1 が左心室の駆出率を増大させるのに治療的に効果的な量にて投与される、使用を提供する。

【0061】

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全を治療するための化合物 1 の使用であって、化合物 1 が心臓組織における肥大を減少させるのに治療的に効果的な量にて投与される、使用を提供する。

【0062】

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全を治療するための化合物 1 の使用であって、化合物 1 が心筋壁の菲薄化の進行を防止するのに治療的に効果的な量にて投与される、使用を提供する。

【0063】

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全を治療するための化合物 1 の使用であって、化合物 1 が心筋細胞の細胞死を阻害するのに治療的に効果的な量にて投与される、使用を提供する。

【0064】

さらにもう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全を治療するための化合物 1 の使用であって、化合物 1 が梗塞の大きさを小さくさせるのに治療的に効果的な量にて投与される、使用を提供する。

【0065】

もう一つ別の実施態様において、本発明は、心不全を治療するための化合物 1 の使用であって、化合物 1 が心臓組織での線維化を減少させるのに治療的に効果的な量にて投与される、使用を提供する。

【0066】

本発明は、化合物 1 のあらゆる医薬的に許容される塩の形態を包含する。医薬的に許容される塩は、対イオンが化合物の生理的活性または毒性に有意に寄与せず、その塩自体が薬理学的均等物として機能する、塩である。これらの塩は、市販の試薬を利用する一般的有機技法に従って製造され得る。いくつかのアニオン塩の形態は、アセテート、アシストレート、ベシレート、プロミド、クロリド、シトレート、フマレート、グルコウロネート、ヒドロプロミド、ヒドロクロリド、ヒドロヨーダイド、ヨーダイド、ラクテート、マレエート、メシレート、ニトレート、パモエート、ホスフェート、スクシネート、サルフェート、タートレート、トシレートおよびキシノホエートを包含する。いくつかのカチオン塩の形態は、アンモニウム、アルミニウム、ベンザチン、ビスマス、カルシウム、コリン、ジエチルアミン、ジエタノールアミン、リチウム、マグネシウム、メグルミン、4-フェニルシクロヘキシルアミン、ピペラジン、カリウム、ナトリウム、トロメタミン、および亜鉛を包含する。

【0067】

本発明は、治療的に効果的な量の化合物 1 および医薬的に許容される担体からなる医薬組成物を提供する。「医薬組成物」なる語は、本発明の化合物を、少なくとも 1 つの付加的な医薬的に許容される担体と組み合わせて含む組成物を意味する。「医薬的に許容される担体」は、生物学的に活性な薬剤を動物に、特に哺乳動物にデリバリーするために当該分野にて一般的に許容される媒体、すなわち、投与方法および剤形の特性に応じた、希釈剤、保存剤、充填剤、流量調整剤、崩壊剤、湿潤剤、乳化剤、沈殿防止剤、甘味剤、矯味矯臭剤、芳香剤、抗菌剤、抗真菌剤、滑沢剤および分散剤などのアジュバント、賦形剤またはビヒクルを含む、媒体をいう。これらの剤は、種々の理由で、例えば、活性剤の安定化、結合剤等の理由で製剤中に含まれる。医薬的に許容される担体は、水性および非水性の両方の液体媒体、ならびに種々の固体および半固体剤形を包含する。適切な医薬的に許容される担体に関する記載、およびその選択に関する因子は、例えば、Allen, Jr., L. V. ら、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2 Volumes)、22nd Edition、Pharmaceutical Press (2012) などの入手が容易な種々の供給源にて見られる。「治療的に効果的な量」は、心血管疾患および状態の分野における当業者によって認識されるよ

10

20

30

40

50

うな有意義な患者の利益を提供するのに必要とされる薬剤の量を意味する。

【0068】

組成物は、カプセル、錠剤、ロゼンジおよび散剤、ならびに液体懸濁液、シロップ、エリキシルおよび液剤を含む、すべての一般的固体および液体形態を包含する。組成物は一般的な調剤技法を用いて製造され、組成物用の慣用的な賦形剤（結合剤および湿潤剤など）およびビヒクル（水およびアルコールなど）が一般に使用される。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 22nd edition, Mack Publishing Company, Easton, PA (2013)を参照のこと。

【0069】

医薬的に許容される担体は、当業者の十分な権限内にある多数の因子に従って、処方される。これらは、限定されないが、処方される活性剤の型および特性；該活性剤を含有する組成物が投与され得る対象；該組成物の意図する投与経路；および標的とされる治療指標を包含する。

10

【0070】

投与に適する医薬組成物は、投与単位につき約0.1ミリグラム～約2000ミリグラムの活性成分を含有し得る。これらの医薬組成物において、活性成分は、通常、該組成物の総重量に基づいて約0.1－95重量%の量で配合されるであろう。

【0071】

該製剤中の化合物1の濃度は、投与した時に、意図する治療に効果的である量をデリバリーするのに効果的である。当業者は、本明細書に記載の方法に従って、投与するための組成物を処方することができる。例えば、組成物を処方するために、重量分率の化合物またはその混合物を、心不全が改善されるように、効果的な濃度で選択されたビヒクルに溶かすか、懸濁させるか、分配させるか、または別の方法で混合させる。

20

【0072】

投与される治療剤の正確な量または用量は、投与経路、および他の検討事項、対象の体重および一般的症状、心不全の対象および状態に依存する。治療剤の局所濃度は、ある場合には、全身投与で安全性が達成され得る量よりも、局所投与ではさらに高くすることもできるが、治療剤の局所投与は、典型的には、全身投与のいずれの方法よりも少ない投与量を必要とするであろう。本明細書に記載の方法の場合、化合物1は、一般には、経口投与される。

30

【0073】

III. 投与および用量計画

本明細書に記載の方法にて、化合物1は、心不全を、特に心不全に付随するいずれの疾患または状態も治療するために対象に投与され得る。化合物1は、単独で作用する薬剤として使用されるか、あるいは血圧を降下させるか、さもなければ心不全および／または心機能不全を治療し得る、機械的装置または薬理学的薬剤を含む他の治療方法と組み合わせるかのいずれかで使用されるものとする。

【0074】

活性剤、例えば、化合物1は、治療される患者で望ましくない副作用がなく、治療的に有用な効果を発揮するのに十分な量で含まれる。心不全を治療するために、例えばHFpEFの患者を治療するために投与される化合物1の量は、標準的な臨床技法により決定され得る。加えて、インビトロアッセイおよび動物実験を利用して最適な投与量の範囲を同定する助けとすることもできる。実験的に測定することのできる正確な投与量は、個々の組成物、投与経路、治療すべき疾患の型、および該疾患の重篤度に依存しうる。

40

【0075】

化合物1は、単回用量にて、またはいずれの毒性もなく心機能に対して長続きする効果を形成するように、本明細書に記載されるような間隔で複数回の用量で投与される。いくつかの例において、化合物1を用いる治療方法は、持続的治療効果を果たすために、より長い作用期間を必要とする。このことは慢性心不全の治療にて特に当てはまる。かくして、本明細書に記載の化合物1は心臓障害用治療剤をより長く持続して送達するのに使用さ

50

れ得る。

【0076】

必要ならば、特定の投与量および投与期間ならびに治療プロトコルは実験により決定または推定され得る。例えば、化合物1は、必要ならば、個々の対象および条件で適切な投与量を決定するための出発点として使用され得る。治療期間および注射間隔は、疾患または状態の重篤度で、および対象の治療に対する応答で変化し、従って、調節することができるであろう。該化合物の活性レベルおよび半減期などの因子は、投与量を決定する時に考慮することができる。個々の投与量および投与計画は当業者が実験により決定することができる。

【0077】

化合物1の投与量の計画は、当然のことながら、特定の薬剤の薬物動態学的性質ならびにその投与方法および投与経路；受容者の種、年齢、性別、健康状態、医学的状态、および体重；症状の性質および度合い；現在行われている治療の種類；治療頻度；投与経路、患者の腎機能および肝機能、ならびに所望する効果といった、周知の因子に応じて変化するであろう。

【0078】

化合物1を用いる疾患および状態の治療は、本明細書に記載されるような適切な製剤を用いる適切な投与経路（注射、肺、経口および経皮投与を含むが、限定されない）によって行われ得る。治療は、典型的には、経口投与によりなされる。

【0079】

必要ならば、特定の投与量および投与期間ならびに治療プロトコルは実験により決定または推定され得る。以前にヒト対象に投与され、臨床試験にて使用されたFPR2アゴニストについての投与量は、化合物1についての投与量を決定するための指針として使用され得る。化合物1についての投与量もまた、関連する動物実験より決定または推定され得る。化合物1の活性レベルおよび半減期などの因子はかかる決定を行うのに使用され得る。特定の投与量および投与計画は種々の因子に基づいて実験により決定され得る。かかる因子は、個体の体重、一般的健康、年齢、利用される特定の化合物の活性、性別、食餌、投与時間、排泄割合、薬物の組み合わせ、疾患の重篤度および治療単位、および患者の該疾患に対する体内動態、ならびに治療医の判断を包含する。活性成分、化合物1は、典型的には、医薬的に効果的な担体と組み合わせられる。担体材料と組み合わせ、単一の剤形または複数の剤形を形成することのできる活性成分の量は、治療される宿主および個々の投与方法に応じて変化する。

【0080】

個々の例にて、化合物1は、約0.05～50mg/kg（患者の体重）などの患者の体重1kg当たり0.01～100mg、例えば、0.1mg/kg～10mg/kg、0.1～20mg/kg、0.1mg/kg～30mg/kg、0.1mg/kg～40mg/kgの投与量で患者に投与するように処方される。

【0081】

心不全の患者において、目標は該投与量を出来るだけ最小の容量で投与することである。典型的には、投与される容量は対象1kgにつき4.0mL未満である。例えば、該投与量を対象に投与する際の容量は0.4mL/kg～4.0mL/kgとすることができる。例えば、体重が100kgの対象に100mg/kgの用量で投与される、濃度が22.5%（すなわち、22.5mg/mL）の組成物は、その用量を達成するのに約44mLまたは約0.4mL/kgの容量を必要とするだろう。

【0082】

一般的指針によれば、各活性成分の1日の経口投与量は、望ましい効果を得るのに使用される場合、約0.001～約5000mg/日、好ましくは約0.01～約1000mg/日、最も好ましくは約0.1～約250mg/日の範囲にあるであろう。化合物1は単回の日用量にて投与されてもよく、あるいは全体の日用量を一日に2回、3回または4回に分割した用量で投与されてもよい。

【0083】

投与サイクルの時間の長さは実験により決定することができ、治療されるべき疾患、該疾患の重篤度、個々の患者、および治療医師の技術レベルの範囲内にある他の判断に依存する。化合物1で治療する時間の長さは、1日、1週間、2週間、1か月、数か月、1年、数年またはそれ以上とすることができる。疾患の徴候が治療の中断がない場合で続くなれば、さらなる時間にわたって治療を続けることができる。治療の過程にわたって、疾患および／または治療関連の毒性あるいは副作用の証拠がモニター観察され得る。

【0084】

加えて、治療への暴露からの休息期間を設けるために、投与のサイクルを調整し、連続しない治療の期間を付加することができる。治療を中断する時間の長さは所定の時間とすることができ、あるいは患者がどのように応答するか、または観察される副作用に応じて実験により決定され得る。例えば、治療は1週間、2週間、1か月または数か月にわたって中断することができる。

【0085】

効果的な治療は、駆出率の増加、拡張期および／または収縮期の機能の強化、血行力学の改善、炎症性サイトカインレベルおよび神経ホルモンレベルの低下、炎症反応のマーカーの減少、損傷マーカーの減少、血小板凝集の阻害、内皮機能の改善、不整脈の減少、心拍変動の改善、QRS分散およびQT延長の改善、および免疫応答性の改善により表すことができ、それらのすべては既知および利用可能な試験レジメンを用いて当業者により試験され得る。

【0086】

急性心不全の関与する治療では、典型的には、患者が病院に収容された場合に投薬を開始するが、患者の要求に適合して、入院している間のいつでも投薬を開始することができる。さらに一般的には、入院した最初の72時間の間に投薬を開始する。例えば、心筋梗塞と、血管損傷が発生していると診断されるか、または外科手術をした24時間または48時間後に投薬を開始し得る。慢性心不全の場合、対象は一般には入院していないため、一般には、該対象の要求を基礎として投薬が提供される。例えば、心不全と診断された1～7日後に治療を開始することができる。

【0087】

化合物1は、1～2週間の間隔、2～3週間の間隔、3～4週間の間隔、4～5週間の間隔、または5～6週間の間隔にて可変用量で毎日投与され得る。他の投与計画において、投薬間の間隔は経時的に増加させることができ、それにより第2の投薬は最初の投薬から1～6日、1～2週間、または2～3週間後に投与され、第3の投薬は第2の投薬から1～6日、1～2週間、または2～3週間後に投与され、および第4およびその後のいずれの投薬も前の投薬から1～6日、1～2週間、または2～3週間後に投与される。本明細書に記載されるパラメーターなどの標準的パラメーターで査定した場合に、心臓の性能が改善されるならば、患者の要求に応じて、用量は下方修正され得る。

【0088】

I V. 組み合わせ

本発明の化合物1は、単独で、または1または複数の他の治療剤、例えば心不全の治療にて使用される薬剤、または他の医薬的に活性な材料と組み合わせ使用され得る。「組み合わせ投与される」または「併用療法」とは、本発明の化合物と、1または複数のさらなる治療剤が、治療される哺乳動物に同時に投与されることを意味する。組み合わせ投与される場合、各成分は同時に投与されるか、異なる時点でいずれかの順序で連続して投与されてもよい。かくして、各成分は別々であるが、所望する治療効果が提供されるように時間的に十分に近接して投与されてもよい。

【0089】

化合物1を利用する治療計画と連携して投与するためのさらに付加的な治療剤を選択することも当業者のレベルの範囲内にある。かかる決定は、治療される個々の疾患または状態に、治療される個々の対象、該対象の年齢、該疾患または状態の重篤度、および他の因

10

20

30

40

50

子に依存するであろう。

【0090】

化合物1は、他のFPR2アゴニスト、あるいは上記した障害の治療にて有用な1または複数の他の適切な治療剤（心不全の治療用の他の薬剤、変力剤、抗高血圧剤、抗アテローム性動脈硬化剤、抗高脂血症剤、血漿中のHDLを増加させる薬剤、抗高コレステロール血症剤、抗脂質異常症剤、抗糖尿病剤、抗高血糖症剤、抗高インスリン血症剤、抗血栓剤、抗網膜症剤、抗神経病剤、抗腎障害剤、抗虚血剤、抗肥満剤、抗高脂血症剤、抗高トリグリセリド血症剤、抗高コレステロール血症剤、抗再狭窄剤、抗膵臓剤、脂質降下剤、食欲低下剤、記憶促進剤、抗痴呆剤、認識促進剤、食欲抑制剤、および末梢動脈性疾患を治療するための薬剤を含む）と組み合わせて利用されてもよい。

10

【0091】

特に、本発明の化合物1は、心不全および冠状動脈疾患を治療するにおいて次の治療剤（ループ利尿剤、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害剤、アンジオテンシンII受容体遮断剤（ARB）、アンジオテンシン受容体-ネプリライシン阻害剤（ARNI）、 β -遮断剤、鉱質コルチコイド受容体アンタゴニスト、ニトロキシルドナー、RXFP1アゴニスト、APJアゴニストおよび強心剤、レニン阻害剤、カルシウムチャネル遮断剤、アンジオテンシンII受容体アンタゴニスト、ニトレート、ジギタリス化合物、および β -受容体アゴニスト、コレステロール生合成阻害剤（HMG CoAレダクターゼ阻害剤など）、ナトリウム-グルコース共輸送体2阻害剤およびLXRアゴニスト）のうち、1または複数の、好ましくは1ないし3の治療剤と組み合わせて利用されてもよい。これらの薬剤は、フロセミド、ブメタニド、トルセミド、サクビトリル-バルサルタン、チアジド利尿剤、カプトプリル、エナラプリル、リシノプリル、カルベジロール、メトプロロール、ピソプロロール、セラキシニ、スピロノラクトン、エプレレノン、イバブラジン、カンデサルタン、エプロサルタン、イルベスタライン、ロサルタン、オルメサルタン、テルミサルタン、およびバルサルタン、プロブコール、ラロキシフェン、ニコチン酸、ナイアシンアミド、コレステロール吸収阻害剤、胆汁酸抑制剤（アニオン交換樹脂または四級アミン（例えば、コレスチラミンまたはコレスチポール）など）、低比重リポタンパク質受容体誘発剤、クロフィブレート、フェノフィブレート、ベンゾフィブレート、シポフィブレート、ゲムフィブリゾール、ビタミンB6、ビタミンB12、抗酸化ビタミン、抗糖尿病剤、血小板凝集阻害剤、フィブリノーゲン受容体アンタゴニスト、アスピリンおよびフィブリン酸誘導体を包含するが、これらに限定されない。

20

30

【0092】

上記した他の治療剤は、化合物1と組み合わせて利用される場合、例えば、the Physicians' Desk Referenceに示される量で、上記した特許に記載される量にて、さもなければ当業者により決定される量で使用されてもよい。

【0093】

特に単一の投与単位として提供される場合、組み合わせた活性成分の間に化学的に相互に作用する可能性がある。このため、本発明の化合物と、第2治療剤とを単一の投与単位中に組み合わせる場合、活性成分が単一の投与単位中で組み合わされるが、その活性成分の間の物理的接触は最小限となる（すなわち、減らす）ように、それらを処方する。例えば、1の活性成分は腸溶性コーティングされてもよい。活性成分を腸溶性コーティングすることにより、組み合わされた活性成分の間の接触を最小限とすることが可能となるだけでなく、これらの成分の1つが胃で放出されず、むしろ腸で放出されるように、これらの成分の1つの放出が消化管で調節されることも可能となる。活性成分の1つはまた、消化管全体を通して持続放出に影響を与える材料で被覆されてもよいし、また組み合わされた活性成分の間の物理的接触を最小限とするように供されてもよい。さらには、持続放出性成分の放出が腸でのみ起こるように、この成分を付加的に腸溶性コーティングすることもできる。さらにもう一つ別の方法は、活性成分をさらに分離するために、1の成分が、持続性および/または腸溶性放出ポリマーで被覆されており、他の成分も低粘度のヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）または当該分野にて公知の他の適切な材料など

40

50

のポリマーで被覆されている、組み合わせ製剤を調製することを含む。該ポリマー被覆は、他の成分との相互作用に対するさらなるバリアを形成するのに供する。

【0094】

本発明の組み合わせ生成物の成分間の接触を最小限とするこれらのならびに他の方法は、一度でも本発明の開示に接すれば、単一の剤形にて投与されるか、あるいは別々の形態であるが、同時に同じ形式にて投与されるかのいずれであっても、当業者に明らかであろう。

【0095】

本発明は製造品も包含する。本明細書にて使用されるように、製造品は、キットおよびパッケージを含むが、これに限定されないものとする。本発明の製造品は（a）第1の容器と、（b）第1の容器に入れられる医薬組成物（ここで、該組成物は、本発明の化合物またはその医薬的に許容される塩の形態を含む第1の治療剤を含む）と、（c）該医薬組成物が心不全の治療および／または予防に用いることができる旨を記載した添付文書とを含む。別の実施態様において、該添付文書には、該医薬組成物が心不全の治療および／または予防のための第2の治療剤と組み合わせ（上と同義）用いることができる旨が記載される。該製造品はさらに、（d）第2の容器（ここで、構成要素（a）および（b）は第2の容器に入れられ、構成要素（c）は第2の容器内または容器外に置かれる）を含んでいてもよい。第1および第2の容器に入れられるとは、各容器が該アイテムをその領域内に保持することを意味する。

【0096】

第1の容器は医薬組成物を保持するのに用いられる容器である。この容器は、製造、貯蔵、運搬、および／または個別／大量販売のためのものである。第1の容器は、ボトル、ジャー、バイアル、フラスコ、シリンジ、チューブ（例えば、クリーム製剤用）、または医薬製剤の製造、保持、貯蔵、または流通に用いられる任意の別の容器を包含するものとする。

【0097】

第2の容器は、第1の容器と、所望により添付文書とを保持するのに用いられるものである。第2の容器の例として、限定されないが、箱（例えば、ダンボールまたはプラスチック）、木箱、紙箱（carton）、袋（例えば、紙またはプラスチックの袋）、ポーチ、および布袋（sack）が挙げられる。添付文書は、テープ、接着剤、ホッチキス、または他の付着方法により第1の容器の外側に物理的に付着させるか、または、第1の容器と物理的に付着するいずれの手段も用いることなく第2の容器内に入れることもできる。あるいはまた、添付文書は第2の容器の外に置かれる。第2の容器の外に置かれる場合、添付文書はテープ、接着剤、ホッチキス、または他の付着方法により物理的に付着していることが好ましい。あるいはまた、物理的に付着することなく第2の容器の外側に近接または接触した状態とすることもできる。

【0098】

添付文書は、第1の容器に入れられた医薬組成物に関連する情報が記載されたラベル、タグ、マーカなどである。その記載される情報は、通常、該製造品が販売される地域を管理する規制当局（例えば、アメリカ食品医薬品局）により決定されるであろう。好ましくは、添付文書は、特に、該医薬組成物が認可された旨の表示を記載したものである。添付文書は、人々がその内にまたはその上に記載された情報を読み取ることができる、いずれの材料で作られていてもよい。好ましくは、添付文書は、それ上に目的の情報が形成される（例えば、印刷または貼り付けられる）印刷可能な材料（例えば、紙、プラスチック、ダンボール、ホイール、紙またはプラスチック製のシール）である。

【0099】

化合物1は、標体または対照の化合物として、例えばFPR2受容体に関する試験またはアッセイにおける、定性的な標体または対照として有用でもある。かかる化合物は市販のキット、例えばFPR2または抗心不全活性に関与する薬学研究にて用いるためのキットにて提供されてもよい。例えば、化合物1はアッセイにて対照として用い、その既知の

活性を活性が未知の化合物と比較することができる。これにより、実験者は該アッセイが適切に実施され、比較のための基準を提供することを、特に試験化合物が対照となる化合物の誘導体であったかどうかを確認することができる。新たなアッセイまたはプロトコルを開発した場合、化合物 1 を用いてその効能を試験することができる。本発明の化合物 1 はまた、心不全の関与する診断アッセイにて使用されてもよい。

【0100】

本発明の別の特徴は、次の典型的な実施態様の記載を読むうちに明らかとなっていくであろう。実施例は、本発明の例示として、発明の範囲の一部として、および特定の実施態様として提供され、本発明の範囲を限定することを意図としない。

【実施例】

【0101】

V. 実施例

実施例 1

FPR2 および FPR1 cAMP アッセイ

ホルスコリン (FPR2 では最終 $5 \mu\text{M}$ または FPR1 では最終 $10 \mu\text{M}$) および IBMX (最終 $200 \mu\text{M}$) の混合物を、 0.1 nM ~ $10 \mu\text{M}$ の範囲にある最終濃度で、DMSO 中試験化合物 (最終 1%) を予め点在させた (pre-dotted) 384 ウェルのプロキシプレート (ProxiPlate) (Perkin-Elmer) に加えた。ヒト FPR1 またはヒト FPR2 受容体を過剰発現する CHO を、正規の 10% FBS、 $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ のゼオシンおよび $300 \mu\text{g}/\text{ml}$ のヒグロマイシン (Life Technologies) を補充した F-12 (Ham's) 培地で培養した。2,000 個のヒト FPR2 細胞/ウェルまたは 4,000 個のヒト FPR1 細胞/ウェルを、0.1% BSA (Perkin-Elmer) を補充したダルベッコ (Dulbecco) PBS (カルシウムおよびマグネシウムを含む) (Life Technology) に添加することで反応を開始させた。反応混合物を室温で 30 分間インキュベートした。細胞内 cAMP のレベルを、製造業者の仕様書に従って、HTRF HiRange cAMP アッセイ試薬キット (Cisbio) を用いて測定した。抗 cAMP がコンジュゲートしたクリプタートの溶液、および d2 蛍光標識の cAMP の溶液を、別々に、供給された溶解バッファーにて製造した。反応の終了した後、細胞を等容量の d2-cAMP 溶液および抗-cAMP 溶液で溶解させた。室温で 1 時間インキュベートした後、時間分解蛍光強度を、エンビジョン (Envision) (Perkin-Elmer) を用いて励起を 400 nm で、二色発光を 590 nm および 665 nm で測定した。 665 nm の発光度の 590 nm の発光度に対する蛍光割合を cAMP 濃度に対してプロットすることにより、濃度が $1 \mu\text{M}$ ~ 0.1 pM の範囲にある外部 cAMP 標体の検定曲線を作製した。次に化合物 1 の cAMP 産生を阻害する効能および活性を、cAMP レベルを化合物濃度に対してプロットすることから由来の 4 係数ロジスティック方程式に適合させることにより決定した。

【0102】

β -アレスチン補充アッセイ

パス・ハンター (PathHunter) (登録商標) β -アレスチン GPCR 細胞系を操作してプロ・リンク (ProLink) (登録商標) (PK) 標識の FPR2 および酵素アクセプター (Enzyme Acceptor) (EA) 標識の β -アレスチンを共同発現させる。GPCR-PK の活性化は β -アレスチン-EA 補充を誘発し、2 つの β -ガラクトシダーゼ酵素フラグメント (EA および PK) を補完させる。得られた機能的酵素は基質を加水分解し、化学発光シグナルを生成する。

【0103】

ヒト FPR2 β -アレスチンパス・ハンター細胞 (DiscoverX) を、10% 熱不活化 FBS、 $800 \mu\text{g}/\text{mL}$ ゲネトシン、 $300 \mu\text{g}/\text{mL}$ ヒグロマイシン B、 $1 \times \text{L}$ -グルタミン (Life Technologies) を補足した、F-12 (Ham's) 培地で培養した。アッセイの 1 日前に、細胞を平板培地 (1% 熱不活化 FBS を補足した DMEM/F-12) に収穫し、96 ウェルアッセイプレート (Corning Costar 3603) 中に 30,000 細胞/ウェル ($100 \mu\text{L}$) にて播種し、一夜インキュベートした。試験化合物を可溶化させ、D

10

20

30

40

50

M S O 中、 $0.2 \text{ nM} \sim 10 \text{ } \mu\text{M}$ の範囲にある最終アッセイ濃度に連続して希釈した。試験化合物を細胞プレートに移すことで反応を開始させた。反応混合物を 37°C で 90 分間インキュベートした。その後で、セルアッセイバッファー (Cell Assay Buffer)、エメラルド (Emerald) I I およびガラクトンースター (Galacton-Star) ($19:5:1$) を含有する検出試薬を製造業者の指示に従って製造し、細胞 ($10 \text{ } \mu\text{L}$) に加えた。該混合物を暗所中室温にて 1~2 時間インキュベートした。化学発光シグナルをエンビジョン (Perkin-Elmer) で測定した。正規化シグナルを化合物濃度に対してプロットすることから得られる 4-パラメーターロジスティックの式にデータを適合させた。試験化合物の強度はその近似曲線より誘導される EC_{50} 値として報告される。

【0104】

10

H L - 60 細胞の培養および分化

H L - 60 細胞株 (A T C C、C C L - 240、l o t 60398411) を 20% ウシ胎児血清、 50 U/ml のペニシリン、および $50 \text{ } \mu\text{g/ml}$ のストレプトマイシンを補足した I M D M (Life Tech、カタログ番号 12440-053) 培地中に、 37°C 、5% CO_2 中で維持した。細胞を D M S O で顆粒球系統に分化させ、 2.5×10^5 細胞/ ml を 1.25% D M S O と一緒に 5 日間インキュベートした。

【0105】

好中球および H L - 60 細胞の移動アッセイのアゴニストモード

分化から 5 日経過した後、0.2% の脂肪酸不含の B S A を含む、フェノール不含 R P M I (Invitrogen、カタログ番号 11835) に 3×10^7 細胞/ ml の濃度で細胞を再懸濁させた。d H L - 60 細胞 ($100 \text{ } \mu\text{L}$ 中に 10^5 個) を各 H T S トランスウェル 96 ウェルプレート (Corning 番号 3387) のアッパーチャンバーに加えた。トランスウェルプレートのボトムチャンバーに化合物 1 を、トップチャンバーに d H L 60 細胞を入れることで移動を誘発させた。 37°C の 5% CO_2 で 5 ミクロンのフィルターを通して細胞を 120 分間にわたって移動させた。移動した後、CellTiter-Glo Luminescence Cell Viability Assay (Promega, G7571) を用いて、トランスウェルのローアチャンバーに残っている好中球または d H L - 60 細胞 (移動したフラクション) を定量した。

20

【0106】

好中球および H L - 60 細胞の移動アッセイのアンタゴニストモード

分化から 5 日経過した後、0.2% の脂肪酸不含の B S A を含む、フェノール不含 R P M I (Invitrogen、カタログ番号 11835) に 3×10^7 細胞/ ml の濃度で細胞を再懸濁させた。d H L - 60 細胞 ($100 \text{ } \mu\text{L}$ 中に 10^5 個) を 37°C の 5% CO_2 で種々の濃度の化学誘引物質と一緒に 15 分間にわたって予めインキュベートした。次に、 $0.8 \text{ } \mu\text{M}$ の組換え血清アミロイド A 1 ペプチド (r S A A 1、PeproTech、カタログ番号 300-53) を各 H T S トランスウェル 96 ウェルプレート (Corning 番号 3387) のボトムチャンバーに加えた。トランスウェルプレートのトップチャンバーに、化学誘引物質および d H L 60 細胞の混合物を入れることで移動を誘発させた。 37°C の 5% CO_2 で 5 ミクロンのフィルターを通して細胞を 120 分間にわたって移動させた。移動の後、CellTiter-Glo Luminescence Cell Viability Assay (Promega, G7571) を用いて、トランスウェルのローアチャンバーに残っている好中球または d H L - 60 細胞 (移動したフラクション) を定量した。

30

40

【0107】

食作用の強化

収穫する 4 日前に、 1 mL の P B S (-/-) 中 1% バイオゲル (Biogel) を腹膜注射することで 5 匹の C 5 7 B L 6 マウスの腹膜にマクロファージを誘発させた。腹膜滲出細胞を収穫し、合わせ、ついで濾過してバイオゲルビーズを除去する。最初に、 $70 \text{ } \mu\text{m}$ の細胞濾過器に通し、つづいて 2 個の $40 \text{ } \mu\text{m}$ の細胞濾過器に連続して通して濾過する。その滲出物を $1 \times \text{P B S}$ (-/-) で 50 mL に希釈し、 300 g 、 4°C で 10 分間遠心分離に付す。細胞ペレットを $20-30 \text{ mL}$ の $1 \times \text{P B S}$ (+/+) に静かに再懸濁させ、Nexcelcom Cellometer カウンターを用いて計数する。細胞濃度を 1 mL の $1 \times \text{P B S}$ (+

50

／＋）中にて1,250,000個の細胞に調整する。100 μ L（125k）の細胞を96-ウェルコスター（Costar）3904プレートの各ウェルに入れる。プレートを150 x gで30秒間遠心分離に付し、接着を促進させる。37℃／5%CO₂で90分間インキュベートした後、非接着性細胞を吸引し、付着したマクロファージ（約50K）を150 μ Lの1xPBS（－／－）で1回洗浄し、次に135 μ Lの予め加温した血清不含のマクロファージSFM／1xペニシリンーストレプトマイシン（Pen-Strep）培地中にて37℃／5%CO₂で一夜インキュベートする。翌日、新たに製造した血清不含のマクロファージSFM培地中の10x化合物1（15 μ L）を各ウェルに加え、37℃／5%CO₂で15分間インキュベートする。10倍過剰量（125K／ μ Lの4 μ L）のオプソニン化FITCザイモサン（Zymosan）粒子（Life Technologies）を添加することによって食作用を開始させる。食作用を37℃／5%CO₂で45分間進行させる。ウェルを吸引し、150 μ Lの氷冷した1xPBS（－／－）／2mM EDTAを用いて食作用を阻止し、再び吸引する。非摂取のザイモサン粒子から由来の蛍光シグナルを150 μ Lの氷冷した1：15希釈のトリパンブルー（Trypan Blue）溶液で2分間にわたってクエンチさせ、次に吸引して取り除く。最後に、150 μ Lの1：15希釈のトリパンブルー中にて、SpectraMAX Gemini EM蛍光プレートリーダーで該プレートを読み取る。プレートリーダーのセッティング＝Bottom Read：Excitation 493nm：Emission 525nm：Cutoff 515nm：Automix Off：Calibrate On：PMT＝Auto：Column Priority：Reads/Well＝20

10

【0108】

20

実施例2

インビトロにおける化合物1についてのFPR2およびFPR1活性

化合物1のFPR2に対する、および密接に関連するイソ形態のFPR1に対するアゴニスト活性を、FPR発現の細胞系を利用するインビトロでの機能性アッセイのパネルにて特徴付けた。一方はヒトFPR2（hFPR2）を過剰発現し、他方はヒトFPR1（hFPR1）を過剰発現する、CHO-A12細胞系において、化合物1はhFPR2 Giカップリングの強力なアクチベーターであり（EC₅₀＝2.8 nM）、アデニルシクラーゼ阻害を通して環状アデノシンモノホスフェートcAMPレベルの低下をもたらす。化合物1は関連するhFPR1受容体の強力なアクチベーターには遠く及ばなかった（EC₅₀＝1250 nM）。マウスオーソログ、mFPR2を過剰発現する、CHO-A12細胞系において、化合物1はmFPR2の極めて強力なアクチベーターであった（EC₅₀＝0.6 nM）。ヒトFPR2細胞系で観察される結果と同様に、化合物1はmFPR2およびラットFPR2に対しても選択的であり、mFPR1受容体に対しては約384 nMの機能的能力を有し、ラットFPR1については720 nMであった。ヒト、マウスまたはラットFPR2またはFPR1を発現するCHO細胞系において、化合物1は、以下：ヒトFPR2はFPR1に対して446倍；マウスFPR2はFPR1に対して640倍；ラットFPR2はFPR1に対して480倍の選択性を示した。結果を表1に要約する。

30

【0109】

表1：化合物1のインビトロにおけるアゴニスト活性の特徴付け

【表 1】

アッセイ	細胞系	EC ₅₀ , nM
c AMP 阻害	ヒト FPR2/CHO-A12	2.8
	ヒト FPR1/CHO-A12	1250
	マウス FPR2/CHO-A12	0.6
	マウス FPR1/CHO-A12	384
	ラット FPR2	1.5
	ラット FPR1	720

10

略語：c AMP、環状アデノシンモノホスフェート；CHO、チャイニーズハムスター膵膵細胞；FPR、ホルミルペプチド受容体

【0110】

実施例 3

化合物 1 の走化性および食作用に対する効果

ヒト前骨髄球性白血病の HL-60 細胞系およびマウス初代腹腔マクロファージを用いて、化合物 1 の走化性および食作用の強化に対する効能を調査した。

20

【0111】

化合物 1 は炎症性リガンドの SAA によって刺激される HL-60 細胞系の走化性に対して 57 nM の IC₅₀ で拮抗作用を示した。1% バイオゲル (Biogel) で誘発されたマウス腹腔マクロファージにおいて、化合物 1 は蛍光標識されたザイモサンの食作用を 2 nM の EC₅₀ と強化した。結果を表 2 にて要約する。

【0112】

表 2：化合物 1 のインビトロにおける走化性および食作用活性の特徴付け

【表 2】

アッセイ	細胞系	活性
走化性	HL-60	IC ₅₀ = 57 nM
ザイモサン刺激の 食作用	マウス腹腔マクロファージ	EC ₅₀ = 2 nM

30

【0113】

実施例 4

動物実験

マウスにて左前下行枝の周りに手配した結紮を用いて恒久的な冠状動脈閉塞を施し、心筋梗塞を誘発した。化合物 1 (0.3 および 3 mg/kg; QD) を経口投与する処理を、または化合物不含の溶液 (QD、ビヒクルと称される) の服用を、心筋梗塞の 24 時間後に開始した。開胸術に付されたが、梗塞の生じなかったマウスを外科的「シャム」対照として含ませた。心筋梗塞の 28 日後にマウスを診断し、構造／機能の関係性を評価した。組織学的処理のためにマウスから心臓を摘出し、左心室の寸法、梗塞領域、および梗塞のコラーゲン組成を測定した。

【0114】

心筋梗塞の第 2 実験において、ラットにて左前下行枝の周りに手配した結紮を用いて恒久的な冠状動脈閉塞を施し、心筋梗塞を誘発した。化合物 1 (0.01、0.1、1 および

40

50

10 mg/kg ; QD) を経口投与する処理を、または化合物不含の溶液 (QD、ビヒクルと称される) の服用を、心筋梗塞の 48 時間後に開始した。開胸術に付されたが、梗塞の生じなかったラットを外科的「シャム」対照として含ませた。心筋梗塞の 6 週間後にラットを診断し、構造／機能の関係性を評価した。組織学的処理のためにラットから心臓を摘出し、梗塞壁厚、およびコラーゲン組成を測定した。心エコー検査を行い、心機能の評価した。

【0115】

心筋梗塞の第 3 実験において、ラットにて一過性の冠状動脈閉塞を、つづいて再灌流を施して、心筋梗塞を誘発し、心筋梗塞のリスクのある領域内での心筋の救済を評価した。化合物 1 (0.01、0.1、1 および 10 mg/kg ; QD) を経口投与する処理を、または化合物不含の溶液 (QD、ビヒクルと称される) の服用を、心筋梗塞の 48 時間後に開始した。開胸術に付されたが、梗塞の生じなかったラットを外科的「シャム」対照として含ませた。心筋梗塞の 6 週間後にラットを診断し、構造／機能の関係性を評価した。組織学的処理のためにラットから心臓を摘出し、化合物 1 の処理による心筋の救済の度合いを測定した。圧力-体積のコンダクタンスカテーテル技法を用いて心機能の評価した。

【0116】

高血圧を伴う非虚血性心疾患の状況下で心筋線維症を評価するために、マウスをアンジオテンシン II で攻撃し、心肥大および左心室線維症を刺激した。皮下移植した浸透圧ミニポンプを用いてアンジオテンシン II (約 2 mg/kg/日) をマウスに投与した。別の群のマウスにはセイライン含有の皮下ポンプを移植し (外科的「シャム」群) ; これらのマウスをポンプ移植術についての対照として供した。ポンプ移植した 7 日後に、化合物 1 (3 mg/kg、QD) での処理、あるいは化合物不含の溶液 (QD、ビヒクルと称される) の服用をマウスにて開始した。この実験にて、心臓線維化の進行はそのピークに達し、処理しなければ、アンジオテンシン II が枯渇するまで (移植した約 4 週間後まで) この高いレベルで線維化を保持するであろう。心臓線維症を退行させるために化合物 1 を用いるインターベンション処理を 3 週間マウスに付与した。処理相の終わりに、動物から心臓を摘出し、該心臓を断面組織学に付すことによりコラーゲンレベル／線維化について評価した。

【0117】

高血圧を伴う非虚血性心疾患の第 2 実験において、マウスを一側腎摘出術に供し、酢酸デオキシコルチコステロン (DOCA) およびセイライン／飲料水で攻撃し、心肥大および左心室線維化を刺激した。皮下移植ペレット (50 mg) を用いてマウスに DOCA を投与した。別の群のマウスには皮下ポケットの形成を介する外科的処理に供し (外科的「シャム」群) ; これらのマウスをペレット移植術についての対照として供した。移植術をした 24 時間後に、マウスを化合物 1 (1 mg/kg、QD) または投与溶液 (QD、ビヒクルと称される) で処理した。化合物 1 での処理をマウスに 3 週間付与した。処理相の終わりに、動物から心臓を摘出し、該心臓を断面組織学に付すことによりコラーゲンレベル／線維化について評価した。生存期を通して処理は十分に容認されており、マウスの生理機能に対して予期せぬ作用は観察されなかった。以下の結果は心不全実験における化合物 1 の活性を示す。

【0118】

実施例 5

マウス実験における左心室および梗塞瘢痕リモデリング

化合物 1 の左心室および梗塞瘢痕リモデリングについての効果を恒久的な冠状動脈閉塞のマウス実験にて評価した。左前下行枝を外科縫合糸で恒久的に結紮することで MI を作り出した。MI の 24 時間後に処理 (QD、PO) を開始し、28 日間続けた。処理はビヒクルと化合物 1 の懸濁液で 0.3 mg/kg および 3 mg/kg にて構成された。操作に供されたが、梗塞の生じなかったマウスの群を「シャム操作」の外科的対照群として含ませた。28 日間の処理の最後に、左心室構造および瘢痕構造の組織学的評価のために心臓を摘出した。

【0119】

これは虚血性心疾患の実験である。梗塞の大きさは左心室（LV）内で測定され、左心室全体の断面積の割合として報告された。図1は化合物1で処理したLV前壁梗塞の大きさが用量依存的に減少することを示し、ここで最大の減少は3mg/kgの用量で得られた（ビヒクルに対して55%の減少、 $P < 0.01$ ）。種々の処理群およびシャムでトリクロム染色した心臓の典型的な断面は、梗塞の程度および壁菲薄化がビヒクル群と比べて化合物1処理群では視覚的に小さいことを示す（図1の下パネル）。

【0120】

実施例6

化合物1の左心室の壁厚に対する効果

10

化合物1での処理は、梗塞の生じなかったシャムマウスと比べて、壁厚を保持した。シャムマウスの左心室の壁厚は心筋壁の正常な構造を示し、それでMI後の症状（ここで瘢痕拡張および菲薄化が期待される）の基準として供する。壁厚の保持は両方の用量の薬物で観察された：0.3mg/kgでシャムの平均厚の61%、および3mg/kgでシャムの67%。ビヒクルに対して統計学的に有意な差異は、高用量の化合物1で得られた（59%、 $P < 0.05$ 、図2）。シャムマウスの左心室の壁厚は心筋壁の正常な構造を示し、それでMI後の症状（ここで瘢痕拡張および菲薄化が期待される）の基準として供する。

【0121】

実施例7

20

化合物1の左心室のチャンバー拡張に対する効果

左心室のチャンバー拡張を左心室腔の断面積を測定することを介して評価した。化合物1での処理は0.3mg/kgの用量でLVチャンバー拡大を減少させた（ビヒクルと比べて26%の減少）。チャンバーの面積の減少に向かう同様の傾向が3mg/kgの用量で観察された（ビヒクルと比べて24%の減少、図3）。集合的に、これらのデータは、梗塞の拡大が小さいこと、およびMI後の左心室のリモデリングを示す。

【0122】

実施例8

梗塞細胞外マトリックスにおける変化

30

梗塞細胞外マトリックス、コラーゲンリモデリング酵素、およびそれらの内因性阻害剤の初期の変化を理解するために、化合物1（3mg/kg）の処理のマウスにおける心筋梗塞に対する効果を心筋梗塞の3日後に評価した。左前下行枝を外科縫合糸で恒久的に結紮することで心筋梗塞を作り出した。MIの24時間後に処理（QD、PO；ビヒクルまたは化合物1の懸濁液、3mg/kg）を開始し、MIの後で3日間続けた。3日目に、最終用量の処理をマウスに施し、処理した2時間後に（すなわち、MIの74時間後に）組織学的分析のために心臓を摘出した。

【0123】

図4の上左のグラフは、両方の処理群で測定される梗塞の面積を示す。予測されるように、化合物1とビヒクル処理との間の梗塞の面積の平均は同じくらいであり、壁菲薄化およびLV拡張する前の梗塞の初期段階を反映した。上右のグラフは、ビヒクルと比べて化合物1で処理したマウスの梗塞の範囲内でコラーゲンの含量が増加したことを示し（ビヒクルと比べて1.7倍の増加、 $P < 0.05$ ）、コラーゲン含量の初期の増量を示唆する。加えて、MMP-2（マトリックスメタロプロテイナーゼ-2）に向かわない傾向が、ビヒクルと比べて梗塞した心筋にて検出された（下のパネル）。マトリックスリモデリング酵素のレベルの減少は、化合物1処理群での梗塞コラーゲンの増加と一致する。メタロプロテイナーゼ-4の組織阻害剤（TIMP-4）、MMPの内因性阻害剤にて差異のないことが、ビヒクルと比べて梗塞した組織にて検出された（下のパネル）。統合すれば、これらのデータは、化合物1を用いる初期の処理が、MIの28日後に観察される梗塞壁に菲薄化の進行を抑えるように、コラーゲン含量の増加を介して心筋の梗塞を安定化する助けとなり得ることを示唆する。

40

50

【0124】

要約すれば、化合物1は、左心室の有害なリモデリングの進行、およびMIの後に心不全に至る心筋瘢痕を有利にも改変することが明らかにされた。化合物1で処理することによる左心室および瘢痕構造の改善は、FPR2作動性が損傷後の創傷治癒を安全に強化しうるとの考えを支持するものである。

【0125】

実施例9

恒久的な冠状動脈閉塞のラット実験

化合物1の左心室および梗塞瘢痕リモデリングに対する効果を、恒久的な冠状動脈閉塞のラット実験にて評価した。MIから48時間経過した後に処理を開始し、6週間続けた。左前下行枝を外科縫合糸で恒久的に結紮することでMIを作り出した。処理はビヒクルの懸濁液、0.01、0.1、1および10mg/kgの化合物1からなる。該操作に付されたが、梗塞の生じなかったラットの群を「シャム操作」の外科対照群として含ませた。6週間の処理の最後に、左心室構造および瘢痕構造の組織学的評価のために心臓を摘出した。これは虚血性心疾患の実験である。加えて、化合物1の心機能に対する効果を、心エコー検査によって測定し、構造/機能の関連性を評価した。心筋壁の構造を組織学的に測定した。図5に示されるように、化合物1での処理は、貫壁性梗塞壁厚の用量依存的保持をもたらした。ここで最大厚は10mg/kg用量で得られた（ビヒクルと比べて96%増加、 $P < 0.01$ ）。処理群または非梗塞の外科的シャム対照ラットの間で対側壁厚の変化は観察されなかった。

【0126】

実施例10

心機能の測定

心エコー検査を用いて処理相の終わりに心臓の機能を測定した。収縮サイクル当たりで左心室より送り出される血液の割合（すなわち、駆出率）をMモード心エコー検査を用いて測定した。左心室駆出率の改善が化合物1の処理で得られた（ビヒクルと比べて28~32%、 $P < 0.05$ 、図6）。化合物1はあらゆる用量で同様の大きさの駆出率の改善をもたらした。

【0127】

実施例11

虚血-再灌流心筋梗塞のラット実験

化合物1の左心室および梗塞瘢痕リモデリングに対する効果を虚血-再灌流心筋梗塞のラット実験において評価した。MIから48時間経過した後に処理を開始し、6週間続けた。左前下行枝を外科縫合糸で1時間一時的に結紮することでMIを作り出し、つづいて再灌流に付した。処理はビヒクルの懸濁液、0.01、0.1、1および10mg/kgの化合物1からなる。6週間の処理の最後に、左心室構造および瘢痕構造の組織学的評価のために心臓を摘出した。これは虚血性心疾患の実験である。

【0128】

加えて、化合物1の心機能に対する効果を、圧力-体積のコンダクタンスカテーテル技法によって測定し、構造/機能の関連性を評価した。梗塞壁の構造を組織学的に測定し、心筋梗塞の程度および心筋組織の救済を決定した。この実験において、虚血の部位への血液の再灌流は、心筋梗塞のリスクのある領域の範囲内で心筋を救済することと策定された。しかしながら、この実験では、付加的な心筋壊死を刺激しうる再灌流によって組織に対するさらなる損傷を引き起こす可能性がある。従って、心筋梗塞域の範囲内で心筋救済を測定することがこの実験における重要な評価項目である。図7に示されるように、化合物1での処理は、組織構造によって測定されるように、梗塞壁を越えて心筋救済の増加をもたらした。生存心筋の保存が0.1、1および10mg/kgの用量で得られた（ビヒクルと比べて31-41%保存、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ ）。

【0129】

実施例 1 2

左心室駆出率における改善

圧力-体積のコンダクタンスカテーテルを用いて処理相の終わりに左心室駆出率を測定した。左心室より送り出される血液の割合を収縮サイクル当たりで測定（すなわち、駆出率を測定）し、処理から6週間経過した後の心機能全体を評価した。左心室駆出率の改善が化合物1処理で得られた（ビヒクルに対して 0.01 mg/kg で37%、 $P<0.05$ 、およびビヒクルに対して 1 mg/kg で51%、 $P<0.01$ 、図8）。ビヒクルに対して他の用量で駆出率の改善に向かう傾向を示すことに価値がある。これらのデータは恒久的な冠状動脈閉塞実験にて得られる結果と一致する。

【0130】

要約すれば、化合物1は、貫壁性梗塞壁厚および生存心筋の保存を介して前壁MIのリモデリングを有利に改善することが示された。これらの変化は、心エコー検査および圧力-体積のコンダクタンスカテーテル技法によって測定されるLV駆出率の改善と並行して生じた。化合物1処理での瘢痕構造およびLV機能における改善は、FPR2作動性が損傷後の創傷治癒を安全に強化しうるとの考えを支持する。

【0131】

実施例 1 3

アンジオテンシンII誘発性心線維症マウス実験

皮下浸透圧ミニポンプにより投与される連続的アンジオテンシンII攻撃でマウスにおける心筋線維症を評価した。これは非虚血性心疾患の実験である。

【0132】

確立された心線維症の退行に対する化合物1の効果をアンジオテンシンII誘発性心線維症マウス実験にて評価した。この研究においては、左心室線維化を確立し、その症状の退行を評価するために、化合物1を用いる処理を開始する前に7日間にわたってマウスをアンジオテンシンIIで攻撃した。心線維症の持続を阻害するための陽性対照として、アンジオテンシンII受容体遮断剤、ロサルタンを用いた。この動物実験はアンジオテンシンIIをコンスタントに照射してなされるため、コグネートな受容体の活性化を直接遮断して心臓における線維症の持続を阻害する。図9に示されるように、ビヒクル処理群と比較した場合に、 3 mg/kg の化合物1での処理は左心室線維化を90%減少させた（ $P<0.001$ ）。その上、化合物1処理を7日基線群（線維症の確立を確かめるために7日間で殺したマウスの一群）と比較した場合に、確立される前の線維化病態と比べて、線維化が89%減少した（ $P<0.001$ ）。これらのデータは線維症が化合物1処理で退行され得ることを示す。左心室組織の代表的セクションは、赤染色によって強調されるように、種々の群で間質性線維症のレベルを示す。

【0133】

実施例 1 4

DOCA攻撃の心線維症実験

心筋線維症は、皮下放出ペレットによって投与される、連続的DOCA攻撃を用いてマウスにて評価された。該実験は、DOCAによる鉱質コルチコイド受容体の作動性を介して、全身血圧および心筋などの標的組織での組織炎症を増大させる。それはまた、疾患病態をさらに進行させるための、外科的一側腎摘出術およびセイライン/飲料水の補充とも関連する。これは非虚血性心疾患の実験である。

【0134】

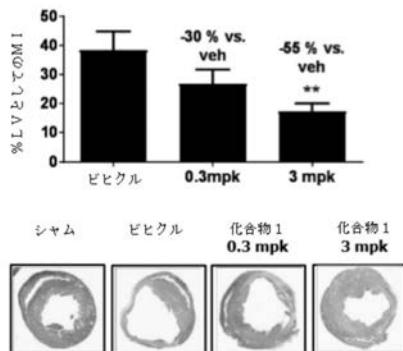
DOCA-塩のマウス実験において化合物1の心線維症の進行に対する効果を組織学的に評価した。この研究においては、マウスを化合物1で3週間にわたって処理した。処理は、一側腎摘出術を行い、DOCAペレットを注入した24時間後に開始された。図10に示されるように、 1 mg/kg の化合物1で処理した3週間後、左心室線維症は、ビヒクル処理群と比較した場合に、50%まで減少した（ $P<0.01$ ）。これらのデータは線維症の進行が化合物1処理で減少され得ることを示す。

【0135】

本開示が上記した説明に役立つ実施例に限定されるものではなく、それがその本質的な特性を逸脱することなく、他の具体的な形態にて具現化され得ることは当業者に明らかであろう。上記した実施例よりもむしろ、添付した特許請求の範囲について言及するものであり、従って、特許請求の範囲の意義およびそれと均等の範囲内にあるすべての変形も本開示の中に含まれるものとする。

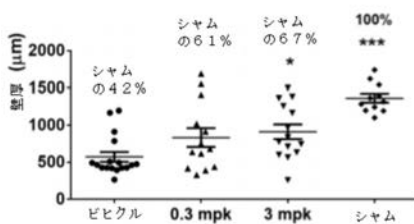
【図 1】

マウス恒久的冠状動脈閉塞実験：梗塞の大きさおよび左心室組織構造
%LVとしてのMI



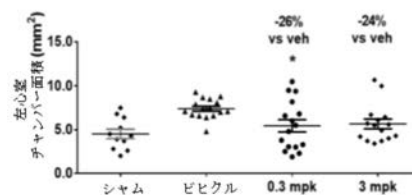
【図 2】

マウス恒久的冠状動脈閉塞実験：前壁梗塞厚
梗塞壁厚



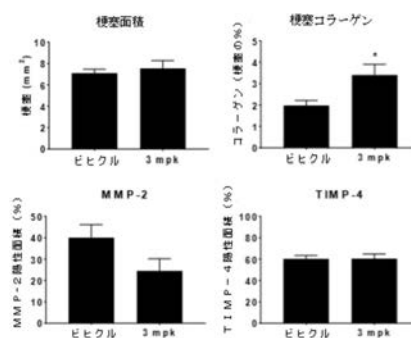
【図 3】

マウス恒久的冠状動脈閉塞実験：左心室チャンパー面積
左心室チャンパー面積

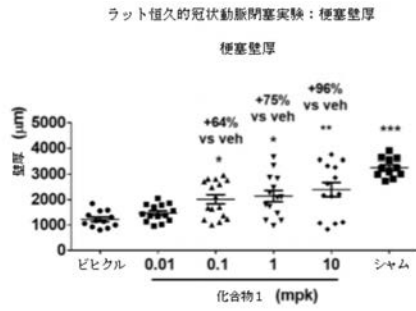


【図 4】

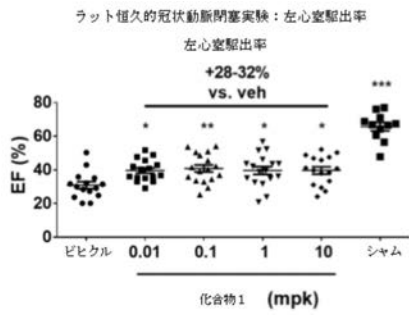
マウス恒久的冠状動脈閉塞実験：初期梗塞組成



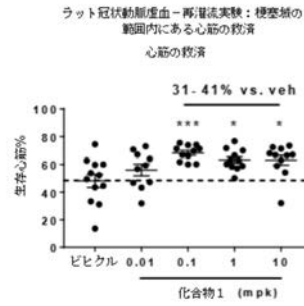
【図 5】



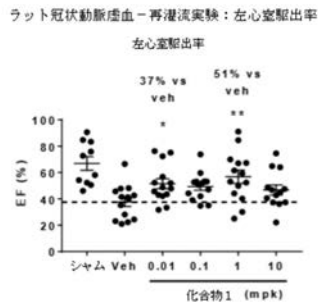
【図 6】



【図 7】

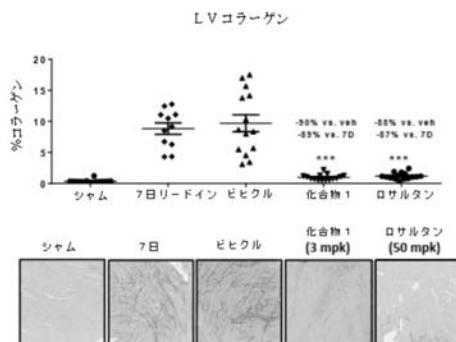


【図 8】



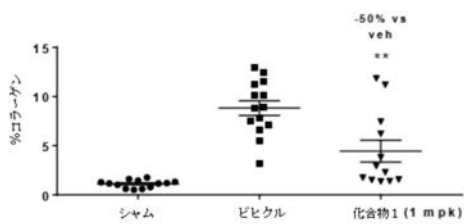
【図 9】

マウスアンジオテンシン I 1 実験：組織構造によって測定される心筋線維症



【図 10】

マウスDOCA-塩実験：組織構造により測定される心筋線維症



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2018/033783

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/4015 A61P9/04 A61K45/06
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	EP 3 075 726 A1 (KYORIN SEIYAKU KK [JP]) 5 October 2016 (2016-10-05)	1-25
Y	page 1, paragraph 1 page 13, paragraph 18 - page 14 page 142; table 76; compounds 7-2 page 183; table II; compounds 7-2 page 187; table VIII; compounds 7-2 -----	1-25
Y	KR 2015 0106492 A (POSTECH ACAD IND FOUND [KR]) 22 September 2015 (2015-09-22) claims 1, 7 ----- -/--	1-25

☒ 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

19 July 2018

Date of mailing of the international search report

06/08/2018

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

Terenzi, Carla

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2018/033783

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HEO S C ET AL: "Formyl Peptide Receptor 2 Is Involved in Cardiac Repair After Myocardial Infarction Through Mobilization of Circulating Angiogenic Cells", STEM CELLS 20170301 WILEY-BLACKWELL USA, vol. 35, no. 3, 1 March 2017 (2017-03-01), pages 654-665, XP002782992, ISSN: 1066-5099 abstract page 654, left-hand column, lines 1-5 page 658, right-hand column, line 10 - line 36 page 661, left-hand column, line 26 - line 29 page 661, right-hand column, line 25 - line 27 page 662, left-hand column, line 14 - line 16 page 662, right-hand column, line 21 - line 24 page 662, line 26 - page 663, line 1 -----	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/033783

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 3075726	A1	05-10-2016	
		AU 2014355887 A1	16-06-2016
		BR 112016011755 A2	26-09-2017
		CA 2932010 A1	04-06-2015
		CL 2016001283 A1	27-01-2017
		CN 105814019 A	27-07-2016
		DK 3075726 T3	12-02-2018
		EA 201691119 A1	30-11-2016
		EP 3075726 A1	05-10-2016
		EP 3305763 A1	11-04-2018
		ES 2659156 T3	14-03-2018
		HR P20180199 T1	04-05-2018
		JP W02015079692 A1	16-03-2017
		KR 20160090304 A	29-07-2016
		LT 3075726 T	26-03-2018
		PE 12062016 A1	05-11-2016
		PH 12016500806 A1	13-06-2016
		PL 3075726 T3	30-05-2018
		PT 3075726 T	16-02-2018
		SG 11201604296Q A	28-07-2016
		SI 3075726 T1	31-05-2018
		TN 2016000210 A1	06-10-2017
		TW 201609636 A	16-03-2016
		US 2017066718 A1	09-03-2017
		US 2018044290 A1	15-02-2018
		WO 2015079692 A1	04-06-2015

KR 20150106492	A	22-09-2015	NONE

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(74)代理人 100156155

弁理士 水原 正弘

(72)発明者 ジャセク・オストロウスキー

アメリカ合衆国18929ペンシルベニア州ジェイミソン、プリムローズ・コート2445番

(72)発明者 リカルド・ガルシア

アメリカ合衆国08543ニュージャージー州プリンストン、ルート206アンド・プロビンス・ライン・ロード、ブリストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 ニコラス・アール・ワーツ

アメリカ合衆国08543ニュージャージー州プリンストン、ルート206アンド・プロビンス・ライン・ロード、ブリストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 ナンシー・リー・カーソン

アメリカ合衆国08543ニュージャージー州プリンストン、ルート206アンド・プロビンス・ライン・ロード、ブリストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

Fターム(参考) 4C084 AA19 MA52 NA05 NA06 NA14 ZA361 ZA362 ZA371 ZA372 ZC751

4C086 AA01 AA02 BC08 GA16 MA01 MA02 MA04 MA52 NA05 NA06

NA14 ZA36 ZA37 ZC42 ZC75