

(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2019-513762

(P2019-513762A)

(43) 公表日 令和1年5月30日 (2019.5.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 277/46 (2006.01)	C O 7 D 277/46	4 C O 3 3
A 6 1 K 31/426 (2006.01)	A 6 1 K 31/426	4 C O 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 O 1	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁) 最終頁に続く		

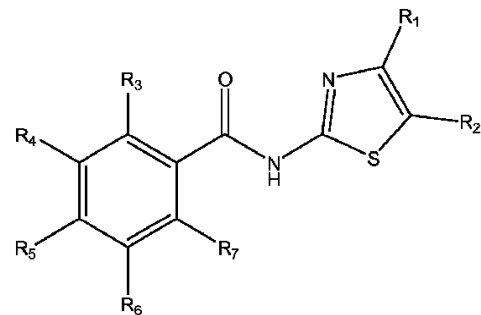
(21) 出願番号	特願2018-553113 (P2018-553113)	(71) 出願人	503067111 ジェンフィ GENFIT フランス エフ-59120 ロス アヴ ェニュー ウジェーヌ アヴィネ 885 パルク ユーラサンテ
(86) (22) 出願日	平成29年3月13日 (2017.3.13)	(74) 代理人	110001508 特許業務法人 津国
(85) 翻訳文提出日	平成30年12月6日 (2018.12.6)	(72) 発明者	デュベルネ, マチュー フランス国、59211 サント、クロ・ デ・ゾルム 12
(86) 国際出願番号	PCT/EP2017/055881	(72) 発明者	ウォルクザック, ロベール フランス国、59000 リール、リュ・ ドルセンヌ 13・ビス、レジデンス・パ ルク・ディスリー
(87) 国際公開番号	W02017/178174		最終頁に続く
(87) 国際公開日	平成29年10月19日 (2017.10.19)		
(31) 優先権主張番号	16305426.5		
(32) 優先日	平成28年4月11日 (2016.4.11)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		
(31) 優先権主張番号	16305428.1		
(32) 優先日	平成28年4月11日 (2016.4.11)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

(54) 【発明の名称】 胆汁うっ滞及び線維症の処置方法

(57) 【要約】

本発明は、胆汁うっ滞性及び線維性の疾患の処置に有用な化合物及び当該処置のためのそれらの使用に関する。

(I)

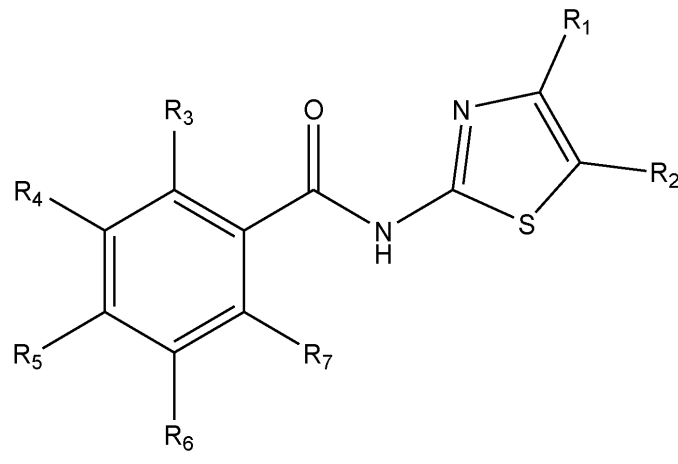


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

胆汁うっ滞性又は線維性の疾患を処置する方法において使用するための、式 (I) の化合物又はその薬学的に許容し得る塩：

【化 19】



10

[式中、

20

R 1 は、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、(C 6 ~ C 1 4) アリール基、複素環式基、(C 3 ~ C 1 4) シクロアルキル基、(C 1 ~ C 6) アルキル基、スルホニル基、スルホキシド基、(C 1 ~ C 6) アルキルカルボニル基、(C 1 ~ C 6) アルキルオキシ、カルボン酸基、カルボキシラート基、ニトロ基、アミノ基、(C 1 ~ C 6) アルキルアミノ基、アミド基、(C 1 ~ C 6) アルキルアミド基、(C 1 ~ C 6) ジアルキルアミド基を表し、

R 2 は、水素原子、重水素原子、ニトロ基、(C 6 ~ C 1 4) アリール基、複素環式基、ハロゲン原子、(C 1 ~ C 6) アルキル基、(C 3 ~ C 1 4) シクロアルキル基、(C 2 ~ C 6) アルキニル基、(C 1 ~ C 6) アルキルオキシ基、(C 1 ~ C 6) アルキルチオ基、(C 1 ~ C 6) アルキルカルボニル基、(C 1 ~ C 6) アルキルカルボニルアミノ基、(C 6 ~ C 1 4) アリールカルボニルアミノ基、カルボン酸又はカルボキシラートの基、アミド基、(C 1 ~ C 6) アルキルアミド基、(C 1 ~ C 6) ジアルキルアミド基、NH 2 基、(C 1 ~ C 6) アルキルアミノ基を表すか、

30

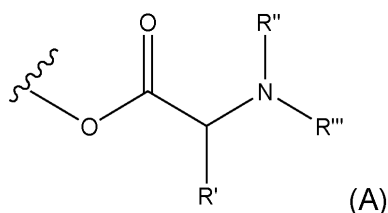
あるいは R 1 及び R 2 は、これらが結合している炭素原子と共に、置換又は非置換の 5 ~ 8 員のシクロアルキル、複素環式及びアリールの基を形成し、

同一であるか又は異なる R 3、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシル基、(C 1 ~ C 6) アルキルカルボニル基、(C 1 ~ C 6) アルキル基、(C 1 ~ C 6) アルキルオキシ基、(C 1 ~ C 6) アルキルチオ基、(C 1 ~ C 6) アルキルカルボニルオキシ基、(C 6 ~ C 1 4) アリールオキシ基、(C 6 ~ C 1 4) アリール基、複素環式基、(C 3 ~ C 1 4) シクロアルキル基、ニトロ基、スルホニルアミノアルキル基、NH 2 基、アミノ (C 1 ~ C 6) アルキル基、(C 1 ~ C 6) アルキルカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基、又は R 9 基を表し；

40

R 9 は、O-R 8 基、又はアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリンからなる群より選択されるアミノ酸、又は式 (A)：

【化 2 0】

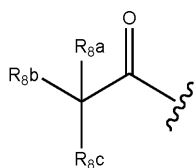


(式中、R' は、アルキル、アルケニル、アルキニルの基、シクロアルキル基、シクロアルキルアルキル基、シクロアルキルアルケニル基、シクロアルケニル基、シクロアルケニルアルキル基、シクロアルケニルアルケニル基、シクロアルケニルアルキニル基を表し；

R'' 及び R''' は、独立して、水素原子、アルキル基、又は窒素保護基を表す)の部分を表し；

R 8 は、水素原子、重水素原子、グルクロニジル基、又は

【化 2 1】



基(式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子を表す)であるが、

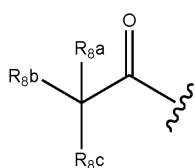
ただし、式(1)の化合物は、NTZでもTZでもない]。

【請求項 2】

R 2 が、NO 2 基を表し；

R 3 が、O-R 8 基[式中、R 8 は、水素原子、重水素原子、又は

【化 2 2】



基(式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子を表す)を表す]を表し、そして、

同一であるか又は異なる R 1、R 4、R 5、R 6、及び R 7 が、水素原子又は重水素原子を表すが、ただし、R 1、R 8、R 8 a、R 8 b、R 8 c、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、同時に水素原子ではない、請求項 1 に従って使用するための化合物。

【請求項 3】

2'-(ベンゾ[d]チアゾール-2-イルカルバモイル)-[1,1'-ビフェニル]-2-カルボン酸；

N-(5-ベンズアミド-4-(チオフェン-2-イル)-1,3-チアゾール-2-イル)-2-メトキシベンズアミド；

2,6-ジフルオロ-N-(5-メチル-4-フェニル-1,3-チアゾール-2-イル)ベンズアミド；

2-クロロ-N-[4-(2-ナフチル)-1,3-チアゾール-2-イル]-5-ニトロベンズアミド；

2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル(d 3

-) エタノアート ;
 2 - [(5 - ニトロ - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル) カルバモイル] フェニル (d 2
) エタノアート ;
 2 - [(5 - ニトロ - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル) カルバモイル] フェニル (d 1
) エタノアート ;
 2 - (5 - ニトロチアゾール - 2 - イルカルバモイル) フェニル 2 - アミノ - 3 , 3
 - ジメチルブタノアート ;
 2 - (5 - クロロチアゾール - 2 - イルカルバモイル) フェニル 2 - アミノ - 3 , 3
 - ジメチルブタノアート ;
 2 - (5 - ニトロチアゾール - 2 - イルカルバモイル) フェニル 2 - アミノ - 3 - メ
 チルペンタノアート ; 10
 2 - (5 - クロロチアゾール - 2 - イルカルバモイル) フェニル 2 - アミノ - 3 - メ
 チルペンタノアート ;
 RM 5 0 6 1 ((S) - 2 - (5 - ニトロチアゾール - 2 - イルカルバモイル) フェニ
 ル 2 - アミノ - 3 , 3 - ジメチルブタノアート) ;
 RM 5 0 6 4 ((S) - 2 - (5 - クロロチアゾール - 2 - イルカルバモイル) フェニ
 ル 2 - アミノ - 3 , 3 - ジメチルブタノアート) ;
 RM 5 0 6 6 ((2 S , 3 S) - 2 - (5 - ニトロチアゾール - 2 - イルカルバモイル
) フェニル 2 - アミノ - 3 - メチルペンタノアート) ; 及び
 RM 5 0 6 5 ((2 S , 3 S) - 2 - (5 - クロロチアゾール - 2 - イルカルバモイル 20
) フェニル 2 - アミノ - 3 - メチルペンタノアート)
 からなる群より選択される、請求項 1 に従って使用するための化合物。

【請求項 4】

医薬組成物に含まれる、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に従って使用するための化合物。

【請求項 5】

前記線維性障害が、肝臓、腸 (gut)、腎臓、皮膚、表皮、内皮、筋肉、腱、軟骨、心臓、膵臓、肺、子宮、神経系、精巣、陰茎、卵巣、副腎、動脈、静脈、結腸、腸 (intestine) (例えば、小腸)、胆管、軟組織 (例えば、縦隔又は後腹膜)、骨髄、関節、眼及び胃の線維症からなる群より選択される、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に従って使用するための化合物。 30

【請求項 6】

前記線維性障害が、肝臓、腸 (gut)、肺、心臓、腎臓、筋肉、皮膚、軟組織、骨髄、腸 (intestinal)、及び関節の線維症からなる群より選択される、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に従って使用するための化合物。

【請求項 7】

前記線維性障害が、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)、アルコール性脂肪性肝炎 (ASH)、肺線維症、特発性肺線維症、皮膚線維症、眼線維症、心内膜心筋線維症、縦隔線維症、骨髄線維症、後腹膜線維症、進行性塊状線維症、増殖性線維症、新生物線維症、慢性炎症性気道疾患 (COPD、喘息、肺気腫、喫煙者肺、結核) に続発する肺線維症、アルコール又は薬物誘発性の肝線維症、感染誘発性肝線維症、放射線又は化学療法誘発性の線維症、腎原性全身性線維症、クローン病、潰瘍性大腸炎、ケロイド、陳旧性心筋梗塞、強皮症／全身性硬化症、関節線維症、癒着性関節包炎の一部の形態、慢性線維化性胆管症、例えば、原発性硬化性胆管炎 (PSC)、原発性胆汁性胆管炎 (PBC)、胆道閉鎖症及び家族性肝内胆汁うっ滞症 3 型 (PFIC3)、インプラント周囲線維症及び石綿肺からなる群より選択される、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に従って使用するための化合物。 40

【請求項 8】

前記胆汁うっ滞性障害が、原発性胆汁性胆管炎 (PBC)、原発性硬化性胆管炎 (PSC)、妊娠時肝内胆汁うっ滞症、進行性家族性肝内胆汁うっ滞症、胆道閉鎖症、胆石症、感染性胆管炎、ランゲルハンス細胞組織球増殖症に付随する胆管炎、アラジール症候群、 50

非症候性胆管減少症、薬物誘発性胆汁うっ滞症、及び完全非経口栄養関連胆汁うっ滞症からなる群より選択される、請求項 1～4 のいずれか一項に従って使用するための化合物。

【請求項 9】

少なくとも 1 つの治療活性剤と組み合わせられた、請求項 1～4 のいずれか一項記載の式 (I) の化合物又はその薬学的に許容し得る塩。

【請求項 10】

前記少なくとも 1 つの治療活性剤が、ビルフェニドン若しくは受容体チロシンキナーゼ阻害剤 (R T K I)、例えば、ニンテダニブ、ソラフェニブ及び他の R T K I、又はアンギオテンシン I I (A T 1) 受容体ブロッカー、又は C T G F 阻害剤、又は M M P 2、M M P 9、T H B S 1 若しくは細胞表面インテグリン等の潜在型 T G F β 複合体の活性化剤を含む T G F β -及び B M P-活性化経路に干渉しやすい任意の抗線維化化合物、T G F β 受容体 I 型 (T G F B R I) 若しくは I I 型 (T G F B R I I) 及びこれらのリガンド、例えば、T G F β 、アクチビン、インヒビン、ノーダル、抗ミューラー管ホルモン、G D F 若しくは B M P、補助共受容体 (I I I 型受容体としても知られている)、又は制御性若しくは阻害性の S M A D タンパク質を含む S M A D 依存性古典的 (canonical) 経路の構成要素、又は M A P K シグナル伝達、T A K 1、R h o 様 G T P a s e シグナル伝達経路、ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ/A K T 経路、T G F β 誘発性 E M T プロセス、若しくは H h リガンド若しくは標的遺伝子を含む古典的及び非古典的なヘッジホッグシグナル伝達経路の様々なブランチを含む S M A D 非依存性若しくは非古典的な経路のメンバー、又は T G F β シグナル伝達に影響を与えやすい W N T 若しくはノッチの経路の任意のメンバーから選択される、請求項 9 記載の化合物。

10

20

【請求項 11】

前記少なくとも 1 つの治療活性剤が、スタチン、J A K / S T A T 阻害剤、他の抗炎症性及び／又は免疫抑制性の薬剤から選択される、請求項 10 記載の化合物。

【請求項 12】

前記少なくとも 1 つの治療活性剤が、フルバスタチン、アトルバスタチン、ロバスタチン、シンバスタチン、メバスタチン、セリバスタチン、ピタバスタチン、グルココルチコイド、N S A I D S、シクロホスファミド、ニトロソ尿素、葉酸アナログ、プリンアナログ、ピリミジンアナログ、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、シクロスポリン、ミリオシン、タクロリムス、シロリムス、ミコフェノール酸誘導体、フィンゴリモド及び他のスフィンゴシン-1-リン酸受容体調節因子；炎症促進性サイトカイン及び炎症促進性サイトカイン受容体、T 細胞受容体、並びにインテグリン等の標的に対するモノクローナル及び／又はポリクローナルな抗体から選択される、請求項 11 記載の化合物。

30

【請求項 13】

胆汁うっ滞性又は線維性の疾患を処置する方法において使用するための、請求項 9～12 のいずれか一項記載の化合物。

【請求項 14】

前記組成物が、最終的にガレヌス形態又は持続放出及び／若しくは徐放を保證する装置を用いて、注射可能な懸濁液、ゲル、オイル、軟膏、丸剤、坐剤、粉剤、ゲルキャップ、カプセル、エアゾール等の形態で製剤化される、請求項 9～12 のいずれか一項記載の化合物、又は請求項 1～8 のいずれか一項に従って使用するための化合物。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、医学の分野、具体的には、胆汁うっ滞性及び線維性の疾患の処置に関する。

【背景技術】

【0002】

細胞外マトリクスの異常かつ過度の沈着は、肝臓、肺、腎臓又は心臓の線維症を含む全ての線維性疾患の特徴である。罹患器官のスペクトル、線維化過程の進行性の性質、多数

50

の罹患者、及び有効な処置の欠如は、線維性疾患を処置するときに重大な課題を引き起こす。

【0003】

1975年に最初に報告された(Rossignol and Cavier 1975) NTZは、嫌気性原虫、蠕虫、並びに嫌気性及び好気性の細菌の両方を含む広範な微生物に対して非常に有効であることが示された(Rossignol and Maisonneuve 1984; Dubreuil, Houcke et al. 1996; Megraud, Occhialini et al. 1998; Fox and Saravolatz 2005; Pankuch and Appelbaum 2006; Finegold, Molitoris et al. 2009)。NTZは、最初に腸に寄生する条虫を処置するためにヒトで研究され(Rossignol and Maisonneuve 1984)、そして、現在、寄生原虫クリプトスポリジウム・パルバム(*Cryptosporidium parvum*)及びランブル鞭毛虫(*Giardia intestinalis*)によって引き起こされる下痢の処置について米国で認可されている(Alinia (登録商標)、Romark laboratories)。また、NTZは、ラテンアメリカ及びインドで広く商品化されており、そこでは広範な腸内寄生虫感染症の処置に適応がある(Hemphill, Mueller et al. 2006)。提案されている、NTZがその抗寄生虫活性を発揮する作用機序は、嫌氣的代謝に必須であるピルビン酸：フェレドキシンオキシドレダクターゼ(PFOR)酵素依存性電子伝達反応の阻害を通じたものである(Hoffman, Sisson et al. 2007)。また、NTZは、PFORのホモログを有しない結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)に対する活性も示し、したがって、これは別の作用機序を示唆する。実際、NTZは、膜電位及び生物内pHホメオスタシスを乱すアンカップラーとしても作用し得ることが示された(de Carvalho, Darby et al. 2011)。

10

20

【0004】

NTZの薬理学的効果は、その抗寄生虫活性に限定されず、そして、近年、NTZが抗ウイルス活性を付与することもできることが幾つかの研究によって明らかになった(Di Santo and Ehrisman 2014; Rossignol 2014)。NTZは、赤血球凝集素(インフルエンザ)若しくはVP7(ロタウイルス)のタンパク質の成熟における遮断、又は自然免疫応答に関与するタンパク質PKRの活性化を含む多様な方法によってウイルスの複製に干渉する(概説については、(Rossignol 2014)を参照)。また、NTZは、重要な代謝及び死促進のシグナル伝達経路に干渉することによって広い抗癌特性を有することも示された(Di Santo and Ehrisman 2014)。

【0005】

線維性疾患を処置するための新規治療ストラテジを提案するための試みにおいて、本発明者らは、合成抗原虫剤である化合物2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル]エタノアート(ニタゾキサニド又はNTZ)の誘導体が強力な抗線維化特性を示すことを見出した。更に、肝損傷モデルにおけるNTZの評価によって、その血中胆汁酸濃度を低下させる能力が明らかになり、したがって、これは、線維性疾患に加えて胆汁うっ滞性疾患(例えば、PBC及びPSC)を処置する可能性を反映している。これらの効果は、これらの分子について既に報告されている特性に鑑みて全く予想外であった。NTZ及びTZの誘導体は、胆汁うっ滞性疾患及び多様な種類の線維性疾患を処置するための潜在的臨床候補であると考えられる。

30

【発明の概要】

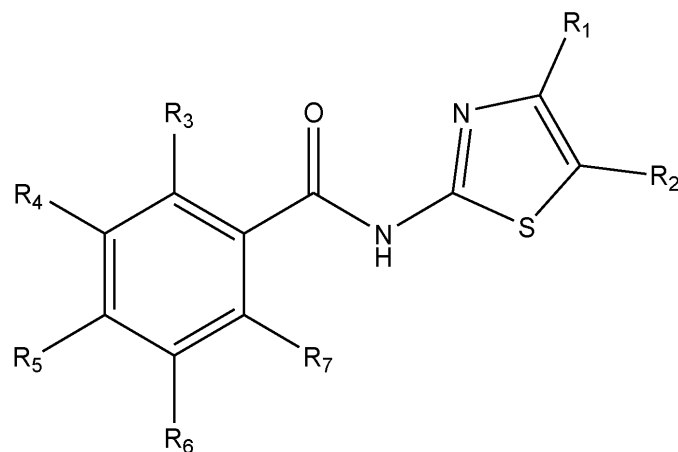
【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、以下の式(I)を有する化合物を提供する：

40

【化 1】



10

20

30

40

〔式中、R₁は、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、(C₆～C₁₄)アリール基、複素環式基、(C₃～C₁₄)シクロアルキル基、(C₁～C₆)アルキル基、スルホニル基、スルホキシド基、(C₁～C₆)アルキルカルボニル基、(C₁～C₆)アルキルオキシ、カルボン酸基、カルボキシラート基、ニトロ基、アミノ基、(C₁～C₆)アルキルアミノ基、アミド基、(C₁～C₆)アルキルアミド基、(C₁～C₆)ジアルキルアミド基を表し、

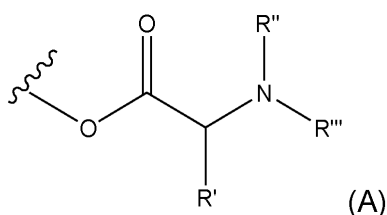
R₂は、水素原子、重水素原子、ニトロ基、(C₆～C₁₄)アリール基、複素環式基、ハロゲン原子、(C₁～C₆)アルキル基、(C₃～C₁₄)シクロアルキル基、(C₂～C₆)アルキニル基、(C₁～C₆)アルキルオキシ基、(C₁～C₆)アルキルチオ基、(C₁～C₆)アルキルカルボニル基、(C₁～C₆)アルキルカルボニルアミノ基、(C₆～C₁₄)アリールカルボニルアミノ基、カルボン酸又はカルボキシラートの基、アミド基、(C₁～C₆)アルキルアミド基、(C₁～C₆)ジアルキルアミド基、NH₂基、(C₁～C₆)アルキルアミノ基を表すか、

あるいはR₁及びR₂は、これらが結合している炭素原子と共に、置換又は非置換の5～8員のシクロアルキル、複素環式及びアリールの基を形成し、

同一であるか又は異なるR₃、R₄、R₅、R₆、及びR₇は、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシル基、(C₁～C₆)アルキルカルボニル基、(C₁～C₆)アルキル基、(C₁～C₆)アルキルオキシ基、(C₁～C₆)アルキルチオ基、(C₁～C₆)アルキルカルボニルオキシ基、(C₆～C₁₄)アリールオキシ基、(C₆～C₁₄)アリール基、複素環式基、(C₃～C₁₄)シクロアルキル基、ニトロ基、スルホニルアミノアルキル基、NH₂基、アミノ(C₁～C₆)アルキル基、(C₁～C₆)アルキルカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基、又はR₉基を表し；

R₉は、O-R₈基、又はアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリンからなる群より選択されるアミノ酸、又は式(A)：

【化 2】



〔式中、R'は、(C₁～C₆)アルキル、(C₂～C₆)アルケニル、(C₂～C₆

50

) アルキニル基、(C 3～C 1 4) シクロアルキル基、(C 3～C 1 4) シクロアルキル (C 1～C 6) アルキル基、(C 3～C 1 4) シクロアルキル (C 2～C 6) アルケニル基、(C 3～C 1 4) シクロアルケニル基、(C 3～C 1 4) シクロアルケニル (C 1～C 6) アルキル基、(C 3～C 1 4) シクロアルケニル (C 2～C 6) アルケニル基、(C 3～C 1 4) シクロアルケニル (C 2～C 6) アルキニル基を表し；

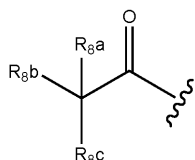
R' ' 及び R' ' ' は、独立して、水素原子、(C 1～C 6) アルキル基、又は窒素保護基を表す)

の部分を表し；

R 8 は、水素原子、重水素原子、グルクロニジル基、又は

【化 3】

10



基 (式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子を表す) である]。

【0 0 0 7】

具体的な実施態様では、本発明の式 (I) の化合物において：

20

アルキル基は、置換又は非置換の (C 1～C 6) アルキル基、特に、置換又は非置換の (C 1～C 4) アルキル基であってよく；

アルキニル基は、置換又は非置換の (C 2～C 6) アルキニル基であってよく；

a) シクロアルキル基は、置換又は非置換の (C 3～C 1 4) シクロアルキル基であってよく、

アルキルオキシ基は、置換又は非置換の (C 1～C 6) アルキルオキシ基、例えば、置換又は非置換の (C 1～C 4) アルキルオキシ基であってよく；

アルキルチオ基は、置換又は非置換の (C 1～C 6) アルキルチオ基、例えば、置換又は非置換の (C 1～C 4) アルキルチオ基であってよく；

アルキルアミノ基は、(C 1～C 6) アルキルアミノ基、例えば、(C 1～C 4) アルキルアミノ基であってよく；

30

ジアルキルアミノ基は、(C 1～C 6) ジアルキルアミノ基、例えば、(C 1～C 4) ジアルキルアミノ基であってよく；

アリール基は、置換又は非置換の (C 6～C 1 4) アリール基、例えば、置換又は非置換の (C 6～C 1 4) アリール基であってよく；

複素環式基は、置換又は非置換のヘテロシクロアルキル又はヘテロアリーの基であってよい。

【0 0 0 8】

具体的な実施態様では、本発明の化合物は、上記式 (I) の化合物であるが、ただし、R 2 がニトロ基 (NO 2) であり、そして、R 3 がアセチル基 (CH 3 CO) であるとき、R 1、R 3、R 4、R 5、R 6 及び R 7 は、同時に水素原子ではなく；

40

R 2 がニトロ基 (NO 2) であり、そして、R 3 がヒドロキシ基 (OH) であるとき、R 1、R 3、R 4、R 5、R 6 及び R 7 は、同時に水素原子ではない。

【0 0 0 9】

また、本発明は、式 (I) の化合物を含む医薬組成物を提供する。したがって、本発明の更なる目的は、胆汁うっ滞性及び線維性の疾患を処置するために該化合物又は医薬組成物を投与することを含む処置方法を含む。

【0 0 1 0】

また、本発明は、医薬として使用するための式 (I) の化合物を提供する。

【0 0 1 1】

50

また、本発明は、胆汁うっ滞性及び線維性の疾患を処置する方法において使用するための式 (I) の化合物を提供する。

【0012】

表及び文章において用いられる略語：

α -SMA	α 平滑筋アクチン	
ANOVA	分散分析	
BMP	骨形成タンパク質	
CCl ₄	四塩化炭素	
COL1A1	1 型コラーゲン α 1	
DMSO	ジメチルスルホキシド	10
ECM	細胞外マトリクス	
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法	
EMT	上皮間葉転換	
FBS	ウシ胎仔血清	
FDA	食品医薬品局	
GDF	増殖分化因子	
Hh	ヘッジホッグ	
hHSC	ヒト肝星細胞	
HSC	肝星細胞	
IC ₅₀	半数阻害濃度	20
MMP2	マトリクスメタロペプチダーゼ 2	
MMP9	マトリクスメタロペプチダーゼ 9	
μ L	マイクロリットル	
NHLF	正常ヒト肺線維芽細胞	
NTZ	ニタゾキサニド	
PBC	原発性胆汁性胆管炎	
PBS	リン酸緩衝生理食塩水	
pMol	ピコモル	
PSC	原発性硬化性胆管炎	
rhFGF	組み換えヒト塩基性線維芽細胞増殖因子	30
RT	逆転写酵素	
SD	標準偏差	
SEM	平均の標準誤差	
SmBM	平滑筋細胞基本培地	
StcGS	星細胞増殖補給剤	
StcM	星細胞培地	
TBA	全胆汁酸	
TGF β 1	腫瘍増殖因子ベータ 1	
TGFBRI	TGF β I 型受容体	
TGFBRII	TGF β II 型受容体	40
THBS1	トロンスポンジン 1	
TMB	テトラメチルベンジジン	
TZ	チゾキサニド	

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図 1】RM-5061 は、ヒト HSC において α -SMA タンパク質の TGF β 1 誘導性発現を阻害する。血清除去した HSC を RM-5061 と共に 1 時間プレインキュベートした後、線維化促進性サイトカイン TGF β 1 (1 ng/mL) で活性化した。48 時間インキュベートした後、 α -SMA の含量を ELISA によって測定した。得られた値を TGF β 1 対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (四重反復) $\pm$ 平均の標準誤差 (50

SEM)として提示する。統計解析は、Sigma Plot 11.0ソフトウェアを使用して、一元配置分散分析、続いて、ボンフェローニ事後検定によって実施した。[* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ (1 ng/mL TGF β 1 群に対する比較)]。曲線当てはめ及び半数阻害濃度 (IC₅₀) の計算は、XLFitソフトウェア5.3.1.3で実施した。

【図2】RM-5061は、NHLFにおいて α -SMAタンパク質のTGF β 1誘導性発現を阻害する。血清除去したNHLFをRM-5061と共に1時間ブレインキュベートした後、線維化促進性サイトカインTGF β 1 (1 ng/mL) で活性化した。48時間インキュベートした後、 α -SMAの発現をELISAによって測定した。得られた値をTGF β 1対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (四重反復) $\pm$ 平均の標準誤差 (SEM) として提示する。統計解析は、GraphPad Prism 5.02ソフトウェアを使用して、クラスカル-ウォリス検定、続いて、ダンの多重比較検定によって実施した。[* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ (1 ng/mL TGF β 1 群に対する比較)]。曲線当てはめ及び半数阻害濃度 (IC₅₀) の計算は、XLFitソフトウェア5.3.1.3で実施した。

【図3】化合物5は、ヒトHSCにおいて α -SMAタンパク質のTGF β 1誘導性発現を阻害する。血清除去したHSCを化合物5と共に1時間ブレインキュベートした後、線維化促進性サイトカインTGF β 1 (1 ng/mL) で活性化した。48時間インキュベートした後、 α -SMAの発現をELISAによって測定した。得られた値をTGF β 1対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (三重反復) $\pm$ 標準偏差 (SD) として提示する。統計解析は、Sigma Plot 11.0ソフトウェアを使用して、一元配置分散分析、続いて、ボンフェローニ事後検定によって実施した。[* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ (1 ng/mL TGF β 1 群に対する比較)]。曲線当てはめ及び半数阻害濃度 (IC₅₀) の計算は、XLFitソフトウェア5.3.1.3で実施した。

【図4】化合物5は、ヒト心臓線維芽細胞において α -SMAタンパク質のTGF β 1誘導性発現を阻害する。化合物5を血清除去した心臓線維芽細胞 (NHCF) に添加し、1時間後、TGF β 1 (3 ng/mL) で活性化した。48時間インキュベートした後、 α -SMAの発現をELISAによって測定した。得られた値をTGF β 1対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (三重反復) $\pm$ 標準偏差 (SD) として提示する。統計解析は、Sigma Plot 11.0ソフトウェアを使用して、一元配置分散分析、続いて、ボンフェローニ事後検定によって実施した。[* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ (3 ng/mL TGF β 1 群に対する比較)]。

【図5】化合物5は、ヒト腸線維芽細胞において α -SMAタンパク質のTGF β 1誘導性発現を阻害する。化合物5を血清除去した腸線維芽細胞 (InMyoFib) に添加し、1時間後、TGF β 1 (3 ng/mL) で活性化した。48時間インキュベートした後、 α -SMAの発現をELISAによって測定した。得られた値をTGF β 1対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (三重反復) $\pm$ 標準偏差 (SD) として提示する。統計解析は、Sigma Plot 11.0ソフトウェアを使用して、一元配置分散分析、続いて、ボンフェローニ事後検定によって実施した。[* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ (3 ng/mL TGF β 1 群に対する比較)]。

【図6】化合物5は、ヒト肺線維芽細胞において α -SMAタンパク質のTGF β 1誘導性発現を阻害する。化合物5を血清除去した肺線維芽細胞 (NHLF) に添加し、1時間後、TGF β 1 (1 ng/mL) で活性化した。48時間インキュベートした後、 α -SMAの発現をELISAによって測定した。得られた値をTGF β 1対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (三重反復) $\pm$ 標準偏差 (SD) として提示する。統計解析は、Sigma Plot 11.0ソフトウェアを使用して、一元配置分散分析、続いて、ボンフェローニ事後検定によって実施した。[* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ (1 ng/mL TGF β 1 群に対する比較)]。

【図7】ニタゾキサニドの長期経口投与は、血中TBA濃度のCC14誘導性レベルを抑制する。250~275 gのラットにオリーブ油 (対照群) 又はオリーブ油に乳化させた

CC14 (CC14:オリーブ油 1:2 v/v、最終CC14濃度:2 mL/kg)を3週間にわたって週2回腹腔内注入した。同時に、オリーブ油注入群を対照飼料で飼育し、一方、CC14注入群を対照飼料又は10 mg/kg/日若しくは30 mg/kg/日 NTZを補給した飼料で飼育した。屠殺後、血中TBA濃度を決定した。データを平均±標準偏差 (SD)として提示する。統計解析は、Sigma Plot 11.0ソフトウェアを使用して、スチューデント t 検定によって実施した:オリーブ油対CC14 (#: $p < 0.05$; ##: $p < 0.01$; ###: $p < 0.001$)及びCC14対NTZ (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$)。

【発明を実施するための形態】

【0014】

発明の詳細な説明

[2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル]エタノアート(ニタゾキサニド又はNTZ)の誘導体は、本願に示す通り、線維症の幾つかのモデルにおける抗線維化特性及び抗胆汁うっ滞特性を有する。したがって、本発明は、NTZの誘導体である式(I)の化合物、及びNTZの誘導体の新規治療的使用に関する。特に、本発明は、胆汁うっ滞性又は線維性の障害の処置において使用するための式(I)の化合物に関する。更に、本発明は、胆汁うっ滞性又は線維性の障害の処置に有用な医薬を製造するための式(I)の化合物の使用に関する。また、本発明は、式(I)の化合物を含む医薬組成物に関する。本発明に係る医薬組成物は、胆汁うっ滞性又は線維性の疾患の処置に有用である。

【0015】

線維性障害の原因物質又は起因事象はかなり多様であり、そして、その発症機序は可変であるが、罹患組織における共通の特徴は、筋線維芽細胞と呼ばれる多数の活性化線維芽細胞の存在である(Rosenbloom, Mendoza et al. 2013)。TGF β 1等の線維化刺激は、線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を誘導することができる(Leask and Abraham 2004; Leask 2007)。筋線維芽細胞は、代謝的に及び形態的に特徴的な線維芽細胞であり、その活性化及び増殖が線維化応答の発現中に重要な役割を果たす。更に、これらの筋線維芽細胞は、様々な形態のコラーゲン、フィブロネクチン及び他のECMタンパク質等の細胞外マトリクスの形成に関与するタンパク質の発現を含む独特の生物学的機能を示す。 α -平滑筋アクチン(α -SMA)の発現誘導は、線維化プロセスに干渉する薬物の効力を評価するために生理学的読み出し情報として使用することができる、休止状態の線維芽細胞の活性化筋線維芽細胞への分化の認識されている特徴である。腫瘍増殖因子、そして、特に腫瘍増殖因子ベータ1(TGF β 1)は、線維芽細胞の線維化促進性筋線維芽細胞への表現型転換を誘導する認識されている生理学的シグナルであり、当該線維化促進性筋線維芽細胞は、高レベルの α -SMA及び高レベルの細胞外マトリクスタンパク質を発現し、これらは後に分泌され、そして、線維性瘢痕組織を形成する。

【0016】

更に、線維芽細胞の増殖及び/又は活性化は、コラーゲン線維の産生に関与し、及び/又は細胞外マトリクスの産生に関与していることが知られている(Kendall and Feghali-Bostwick 2014)。

【0017】

予想外に、式(I)の化合物の抗線維化特性が明らかになったが、その理由は、これらの化合物が、TGF β 誘導性肝星細胞及び他の器官由来の初代線維芽細胞における α -SMAのレベルを用量依存的に低下させたためである。

【0018】

先行技術は、抗線維化効果が式(I)の化合物に直接関連していることを教示していない。

【0019】

本発明は、胆汁うっ滞又は線維症を処置するための式(I)の化合物に関し、このような化合物は、細胞外マトリクス及び線維症の形成に関与する主な細胞の種類である星細胞

10

20

30

40

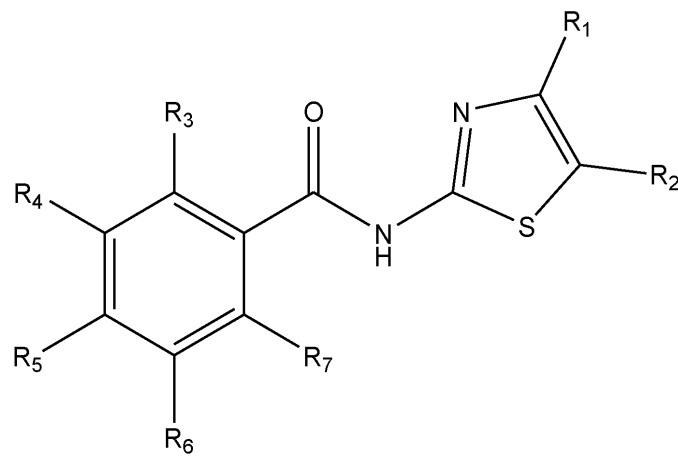
50

を含むヒトの線維芽細胞の増殖及び活性化を予想外に減少させることができる。

【0020】

本発明は、式（I）の化合物に関する：

【化4】



(I)

10

[式中、

R₁は、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、（C₆～C₁₄）アリール基、複素環式基、（C₃～C₁₄）シクロアルキル基、（C₁～C₆）アルキル基、スルホニル基、スルホキシド基、（C₁～C₆）アルキルカルボニル基、（C₁～C₆）アルキルオキシ、カルボン酸基、カルボキシラート基、ニトロ基、アミノ基、（C₁～C₆）アルキルアミノ基、アミド基、（C₁～C₆）アルキルアミド基、（C₁～C₆）ジアルキルアミド基を表し、

20

R₂は、水素原子、重水素原子、ニトロ基、（C₆～C₁₄）アリール基、複素環式基、ハロゲン原子、（C₁～C₆）アルキル基、（C₃～C₁₄）シクロアルキル基、（C₂～C₆）アルキニル基、（C₁～C₆）アルキルオキシ基、（C₁～C₆）アルキルチオ基、（C₁～C₆）アルキルカルボニル基、（C₁～C₆）アルキルカルボニルアミノ基、（C₆～C₁₄）アリールカルボニルアミノ基、カルボン酸又はカルボキシラートの基、アミド基、（C₁～C₆）アルキルアミド基、（C₁～C₆）ジアルキルアミド基、NH₂基、（C₁～C₆）アルキルアミノ基を表すか、

30

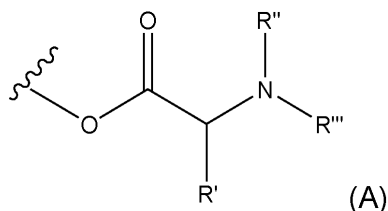
あるいはR₁及びR₂は、これらが結合している炭素原子と共に、置換又は非置換の5～8員のシクロアルキル、複素環式及びアリールの基を形成し、

同一であるか又は異なるR₃、R₄、R₅、R₆、及びR₇は、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシル基、（C₁～C₆）アルキルカルボニル基、（C₁～C₆）アルキル基、（C₁～C₆）アルキルオキシ基、（C₁～C₆）アルキルチオ基、（C₁～C₆）アルキルカルボニルオキシ基、（C₆～C₁₄）アリールオキシ基、（C₆～C₁₄）アリール基、複素環式基、（C₃～C₁₄）シクロアルキル基、ニトロ基、スルホニルアミノアルキル基、NH₂基、アミノ（C₁～C₆）アルキル基、（C₁～C₆）アルキルカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基、又はR₉基を表し；

40

R₉は、O-R₈基、又はアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリンからなる群より選択されるアミノ酸、又は式（A）：

【化 5】



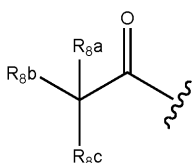
(式中、R' は、(C 1～C 6) アルキル、(C 2～C 6) アルケニル、(C 2～C 6) アルキニル基、(C 3～C 1 4) シクロアルキル基、(C 3～C 1 4) シクロアルキル (C 1～C 6) アルキル基、シクロアルキルアルケニル基、シクロアルケニル基、シクロアルケニルアルキル基、シクロアルケニルアルケニル基、シクロアルケニルアルキニル基を表し；

R' ' 及び R' ' ' は、独立して、水素原子、(C 1～C 6) アルキル基、又は窒素保護基を表す)

の部分を表し；

R 8 は、水素原子、重水素原子、グルクロニジル基、又は

【化 6】



基 (式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子を表す) である]。

【0 0 2 1】

具体的な実施態様では、本発明の化合物は、上記式 (I) の化合物であるが、ただし、R 2 がニトロ基 (NO 2) であり、そして、R 3 がアセチル基 (CH 3 CO) であるとき、R 1、R 3、R 4、R 5、R 6 及び R 7 は、同時に水素原子ではなく；

R 2 がニトロ基 (NO 2) であり、そして、R 3 がヒドロキシル基 (OH) であるとき、R 1、R 3、R 4、R 5、R 6 及び R 7 は、同時に水素原子ではない。

【0 0 2 2】

具体的な実施態様では、本発明の式 (I) の化合物において：

アルキル基は、置換又は非置換の (C 1～C 6) アルキル基、特に、置換又は非置換の (C 1～C 4) アルキル基であってよく；

アルキニル基は、置換又は非置換の (C 2～C 6) アルキニル基であってよく；

シクロアルキル基は、置換又は非置換の (C 3～C 1 4) シクロアルキル基であってよく、

アルキルオキシ基は、置換又は非置換の (C 1～C 6) アルキルオキシ基、例えば、置換又は非置換の (C 1～C 4) アルキルオキシ基であってよく；

アルキルチオ基は、置換又は非置換の (C 1～C 6) アルキルチオ基、例えば、置換又は非置換の (C 1～C 4) アルキルチオ基であってよく；

アルキルアミノ基は、(C 1～C 6) アルキルアミノ基、例えば、(C 1～C 4) アルキルアミノ基であってよく；

ジアルキルアミノ基は、(C 1～C 6) ジアルキルアミノ基、例えば、(C 1～C 4) ジアルキルアミノ基であってよく；

アリール基は、置換又は非置換の (C 6～C 1 4) アリール基、例えば、置換又は非置換の (C 6～C 1 4) アリール基であってよく；

複素環式基は、置換又は非置換のヘテロシクロアルキル又はヘテロアリーの基であっ

てよい。

【0023】

具体的な実施態様では、本発明は、

R 1 が、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、(C 6～C 14) アリール基、複素環式基、シクロアルキル基、(C 1～C 6) アルキル基、スルホニル基、スルホキシド基、(C 1～C 6) アルキルカルボニル基、(C 1～C 6) アルキルオキシ、カルボン酸基、カルボキシラート基、ニトロ基、アミノ基、(C 1～C 6) アルキルアミノ基、アミド基、(C 1～C 6) アルキルアミド基、ジアルキルアミド基を表し、

R 2 が、水素原子、重水素原子、ニトロ基、(C 6～C 14) アリール基、複素環式基、ハロゲン原子、(C 1～C 6) アルキル基、シクロアルキル基、アルキニル基、(C 1～C 6) アルキルオキシ基、(C 1～C 6) アルキルチオ基、(C 1～C 6) アルキルカルボニル基、(C 1～C 6) アルキルカルボニルアミノ基、(C 6～C 14) アリールカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基、アミド基、(C 1～C 6) アルキルアミド基、ジアルキルアミド基、アミノ基、(C 1～C 6) アルキルアミノ基を表すか、

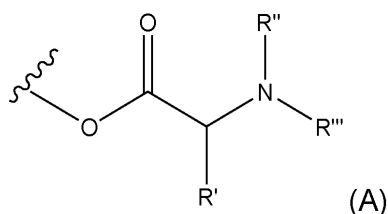
あるいは R 1 及び R 2 が、これらが結合している炭素原子と共に、置換又は非置換の 5～8 員のシクロアルキル、複素環式及びアリールの基を形成し、

同一であるか又は異なる R 4、R 5、R 6、及び R 7 が、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシル基、(C 1～C 6) アルキルカルボニル基、(C 1～C 6) アルキル基、(C 1～C 6) アルキルオキシ基、(C 1～C 6) アルキルチオ基、(C 1～C 6) アルキルカルボニルオキシ基、(C 6～C 14) アリールオキシ基、(C 6～C 14) アリール基、複素環式基、シクロアルキル基、ニトロ、スルホニルアミノアルキル基、アミノ基、アミノアルキル基、(C 1～C 6) アルキルカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基を表し；

R 3 が、水素原子、重水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシル基、(C 1～C 6) アルキルカルボニル基、(C 1～C 6) アルキル基、(C 1～C 6) アルキルオキシ基、(C 1～C 6) アルキルチオ基、(C 1～C 6) アルキルカルボニルオキシ基、(C 6～C 14) アリールオキシ基、(C 6～C 14) アリール基、複素環式基、シクロアルキル基、ニトロ、スルホニルアミノアルキル基、アミノ基、アミノアルキル基、(C 1～C 6) アルキルカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基、又は R 9 基を表し；

R 9 が、O-R 8 基、又はアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリンからなる群より選択されるアミノ酸、又は式 (A)：

【化 7】



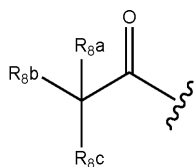
(式中、R' は、アルキル、アルケニル、アルキニルの基、シクロアルキル基、シクロアルキルアルキル基、シクロアルキルアルケニル基、シクロアルケニル基、シクロアルケニルアルキル基、シクロアルケニルアルケニル基、シクロアルケニルアルキニル基を表し；

R' ' 及び R' ' ' は、独立して、水素原子、(C 1～C 6) アルキル基、又は窒素保護基を表す)

の部分を表し、

R 8 が、水素原子、重水素原子、グルクロニジル基、又は

【化 8】



基（式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子を表す）である、式（I）の化合物に関する。

【0024】

具体的な実施態様では、R 3 は、R 9 基を表す。

【0025】

具体的な実施態様では、本発明は、

R 1 が、水素原子、ハロゲン原子、（C 6～C 14）アリール基、複素環式基、シクロアルキル基、（C 1～C 6）アルキル基、スルホニル基、スルホキシド基、（C 1～C 6）アルキルカルボニル基、（C 1～C 6）アルキルオキシ、カルボン酸基、カルボキシラート基、ニトロ基、アミノ基、（C 1～C 6）アルキルアミノ基、アミド基、（C 1～C 6）アルキルアミド基、ジアルキルアミド基を表し、

R 2 が、水素原子、ニトロ基、（C 6～C 14）アリール基、複素環式基、ハロゲン原子、（C 1～C 6）アルキル基、シクロアルキル基、アルキニル基、（C 1～C 6）アルキルオキシ基、（C 1～C 6）アルキルチオ基、（C 1～C 6）アルキルカルボニル基、（C 1～C 6）アルキルカルボニルアミノ基、（C 6～C 14）アリールカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基、アミド基、（C 1～C 6）アルキルアミド基、ジアルキルアミド基、アミノ基、（C 1～C 6）アルキルアミノ基を表すか、

あるいは R 1 及び R 2 が、これらが結合している炭素原子と共に、置換又は非置換の 5～8 員のシクロアルキル、複素環式及びアリールの基を形成し、

同一であるか又は異なる R 3、R 4、R 5、R 6、及び R 7 が、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、（C 1～C 6）アルキルカルボニル基、（C 1～C 6）アルキル基、（C 1～C 6）アルキルオキシ基、（C 1～C 6）アルキルチオ基、（C 1～C 6）アルキルカルボニルオキシ基、（C 6～C 14）アリールオキシ基、（C 6～C 14）アリール基、複素環式基、シクロアルキル基、ニトロ、スルホニルアミノアルキル基、アミノ基、アミノアルキル基、（C 1～C 6）アルキルカルボニルアミノ基、カルボン酸基、カルボキシラート基を表すが；

ただし、R 2 がニトロ基（NO₂）であり、そして、R 3 がアセチル基（CH₃CO）であるとき、R 1、R 3、R 4、R 5、R 6 及び R 7 が、同時に水素原子ではなく、

R 2 がニトロ基（NO₂）であり、そして、R 3 がヒドロキシ基（OH）であるとき、R 1、R 3、R 4、R 5、R 6 及び R 7 が、同時に水素原子ではない、式（I）の化合物に関する。

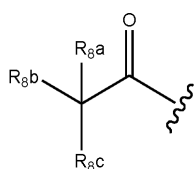
【0026】

別の実施態様では：

R 2 は、NO₂ 基を表し；

R 3 は、O-R 8 基〔式中、R 8 は、水素原子、重水素原子、又は

【化 9】



基（式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子

子を表す)を表す]を表し、そして、

同一であるか又は異なる R 1、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、水素原子又は重水素原子を表すが、ただし、R 1、R 8、R 8 a、R 8 b、R 8 c、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、同時に水素原子ではない。

【0027】

具体的な実施態様では、R 1、R 8 a、R 8 b 及び R 8 c、R 4、R 5、R 6、並びに R 7 のうちの少なくとも 1 つは、重水素原子を表す。

【0028】

具体的な実施態様では、R 1、R 8 a、R 8 b 及び R 8 c、R 4、R 5、R 6、並びに R 7 は、重水素原子を表す。

10

【0029】

具体的な実施態様では、R 8 a、R 8 b 及び R 8 c、R 4、R 5、R 6、並びに R 7 は、重水素原子を表す。

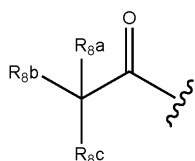
【0030】

具体的な実施態様では、R 1、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、重水素原子を表す。

【0031】

具体的な実施態様では、R 3 は、O-R 8 基〔式中、R 8 は、

【化 10】



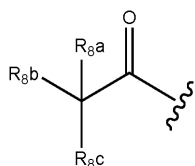
20

基〔式中、R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、重水素原子を表す)を表す]を表す。

【0032】

具体的な実施態様では、R 8 は、

【化 11】



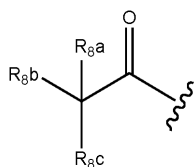
30

基〔式中、R 8 a 及び R 8 b は、重水素原子を表し、R 8 c は、水素原子を表す)を表し、R 1、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、水素原子を表す。

【0033】

具体的な実施態様では、R 8 は、

【化 12】



40

基〔式中、R 8 a は、重水素原子を表し、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子を表す)を表し、R 1、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、水素原子を表す。

【0034】

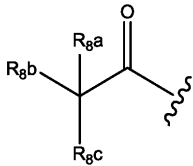
別の具体的な実施態様では、

R 2 は、NO₂ 基を表し；

50

R 1、R 4、R 5、R 6、及び R 7 は、水素原子を表し、そして、
R 3 は、O-R 8 基〔式中、R 8 は、

【化 1 3】



基（式中、同一であるか又は異なる R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子又は重水素原子を表すが、ただし、R 8 a、R 8 b、R 8 c は、同時に水素原子ではない）を表す〕である。 10

【0 0 3 5】

具体的な実施態様では、少なくとも 1 つの R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、重水素原子を表す。

【0 0 3 6】

更に具体的な実施態様では、R 8 a、R 8 b 及び R 8 c は、重水素原子を表す。

【0 0 3 7】

別の実施態様では、R 8 a 及び R 8 b は、重水素原子を表し、R 8 c は、水素原子を表す。 20

【0 0 3 8】

更に別の実施態様では、R 8 a は、重水素原子を表し、R 8 b 及び R 8 c は、水素原子を表す。

【0 0 3 9】

更に具体的な実施態様では、式（I）の化合物は：

2-〔（5-ニトロ-1, 3-チアゾール-2-イル）カルバモイル〕フェニル（d 3）エタノアート；

2-〔（5-ニトロ-1, 3-チアゾール-2-イル）カルバモイル〕フェニル（d 2）エタノアート；及び

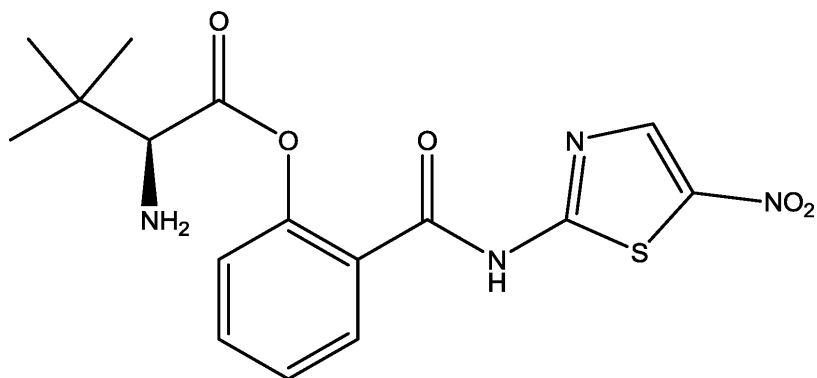
2-〔（5-ニトロ-1, 3-チアゾール-2-イル）カルバモイル〕フェニル（d 1）エタノアート 30

から選択される。

【0 0 4 0】

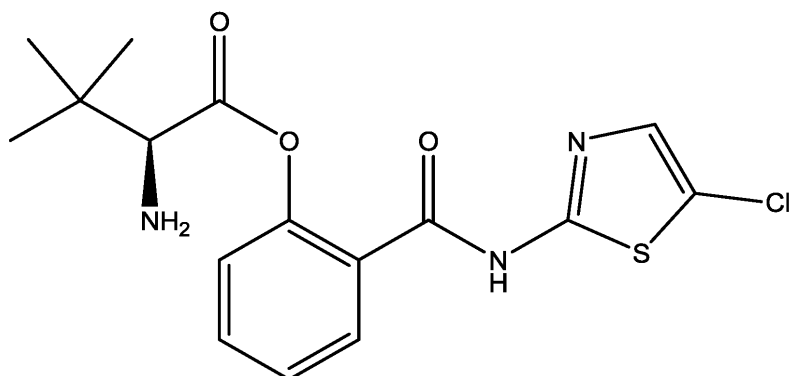
別の実施態様では、式（I）の化合物は：

【化 1 4】



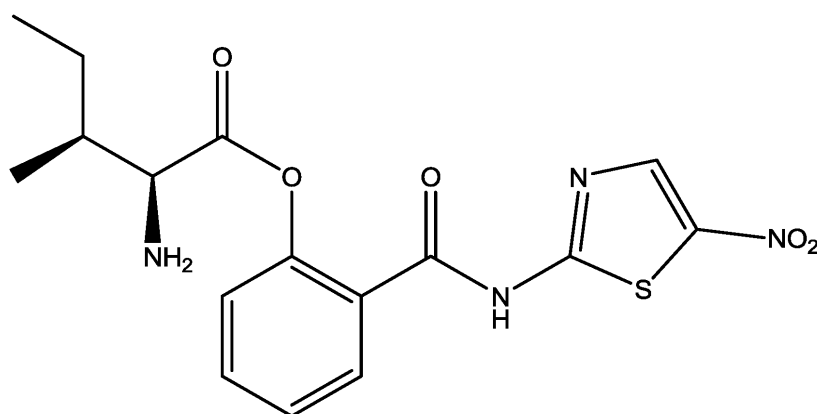
(RM5061);

10



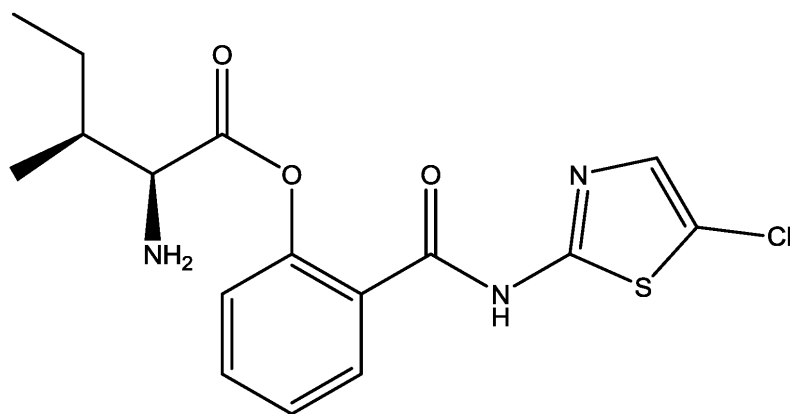
(RM5064);

20



(RM5066); 及び

30



(RM5065);

40

又はこれらの薬学的に許容し得る塩、例えば、これらの塩酸塩から選択される。

【0041】

用語「アルキル」とは、好ましくは1～6個、そして、更により好ましくは1～4個の炭素原子を有する直鎖又は分枝状の置換又は非置換の飽和炭化水素基、例えば、メチル、

50

エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*tert*-ブチル、又は*sec*-ブチルを指す。アルキル基は、1個以上のハロゲン原子によって、アリール基によって、又は複素環式基によって、又はシクロアルキル基によって場合により置換されていてもよい。また、アルキル基の更なる可能な置換基は、アミノ基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、オキシム基、ヒドロキシル基、アルキルオキシ基、アリールオキシ基、カルボン酸基、カルボキシラート、アミド基、オキシム、アルケニル基及びアルキニル基から選択される1個以上の置換基を含む。

【0042】

アルキニルという用語は、2～6個の炭素原子を含有し、そして、少なくとも1つの三重結合を含有する直鎖又は分枝状の炭化水素基を意味する。3～6個の炭素原子を含有するアルキニルの例は、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-ペンチニル、4-ペンチニル、1-ヘキシニル、2-ヘキシニル、3-ヘキシニル、4-ヘキシニル、5-ヘキシニル、及びこれらの異性体である。アルキル基は、例えば、アミノ基又はヒドロキシル基によって場合により置換されていてもよい。

10

【0043】

用語「アルキルオキシ」及び「アルキルチオ」とは、それぞれ、酸素又は硫黄の原子によって化合物の残部に結合する、上に定義されたアルキル基を指す。

【0044】

用語「アリールオキシ」とは、酸素原子によって化合物の残部に結合する、上に定義されたアリール基を指す。

20

【0045】

用語「アルキルアミノ」とは、モノアルキルアミノ ($-NHR$) 又はジアルキルアミノ ($-NRR'$) の基 (式中、 R 及び R' は、独立して、上に定義されたアルキル基を表す) を指す。具体的な実施態様では、アルキルアミノ基のアルキル基は、シクロアルキル基、アリール基、複素環式基、又はアルキルオキシカルボニル基で置換されていてもよく、置換されていなくてもよい。

【0046】

用語「シクロアルキルアミノ」とは、 $-NH-$ シクロアルキル基又は $-N$ (アルキル) シクロアルキル基を指す。

30

【0047】

用語「アミノ基」は、 $-NH_2$ 基を意味する。

【0048】

用語「ニトロ基」は、 $-NO_2$ 基を指す。

【0049】

用語「ヒドロキシル基」は、 $-OH$ 基を指す。

【0050】

用語「スルホニル基」は、 $-SO_2$ 基を指す。

【0051】

用語「スルホキシド基」は、 $-SO$ 基を指す。

40

【0052】

用語「オキシム基」は、 $C=N-OH$ 基を指す。

【0053】

用語「アルキルアミド」とは、モノアルキルアミド ($-CONHR$) 又はジアルキルアミド ($-CONRR'$) の基 (式中、 R 及び R' は、独立して、上に定義されたアルキル基を表す) を指す。

【0054】

用語「アミド基」は、 $-CONH_2$ 基を指す。

【0055】

用語「シクロアルキル」とは、好ましくは3～14個の炭素原子、そして、より好まし

50

くは3～6個の炭素原子を有する1個の環を形成する置換又は非置換のアルキル基、例えば、シクロプロピル、シクロペンチル及びシクロヘキシルを意味する。本発明のシクロアルキル基は、非置換であってもよく、又は例えばアルキル基、具体的には1個以上のハロゲン原子で置換されているアルキル基、例えばCF₃基で置換されていてもよい。

【0056】

用語「カルボニル」は、-CO基を意味する。

【0057】

用語「アリール」は、好ましくは6～14個の炭素原子を有する、置換されているか又は置換されていない芳香族基、例えば、フェニル、*a*-ナフチル、*b*-ナフチル、又はビフェニルを意味する。

10

【0058】

用語「複素環式」とは、ヘテロシクロアルキル基又はヘテロアリール基を指す。用語「ヘテロシクロアルキル」基とは、窒素、酸素又は硫黄から選択される1個又は数個のヘテロ原子を更に含む、置換されているか又は置換されていない、上に示したシクロアルキルを指す。これらは、一般的に、4～14個の炭素原子を含み、例えば、モルホリニル、ピペラジニル、ピペリジニル、ピロリジニル、テトラヒドロピラニル、ジチオラニル及びアゼパニルの基である。具体的な実施態様では、ヘテロシクロアルキル基は、5、6又は7員の環である。用語「ヘテロアリール」とは、窒素、酸素又は硫黄から選択される1個又は数個のヘテロ原子を更に含む、置換されているか又は置換されていない、上に示したアリール基を指す。これらは、一般的に、4～14個の炭素原子を含む。具体的な実施態様では、ヘテロアリール基は、5、6又は10員の環である。代表的なヘテロアリール基は、ピリジニル、ピリミジニル、フラニル、チオフェニル、キノレイニル (quinoleinyl) 及びイソキノレイニル (isoquinoleinyl) の基を含む。

20

【0059】

アリール基又は複素環式基は、1個以上のハロゲン原子、アルキル基、又はアルキルオキシ基によって場合により置換されていてもよい。

【0060】

ハロゲン原子とは、臭素、塩素、フッ素又はヨウ素の原子、具体的には、臭素、塩素又はフッ素の原子であると理解される。

30

【0061】

本発明に係る具体的な化合物は：

化合物1：2'-（ベンゾ[d]チアゾール-2-イルカルバモイル）-[1,1'-ビフェニル]-2-カルボン酸；

化合物2：N-（5-ベンズアミド-4-（チオフェン-2-イル）-1,3-チアゾール-2-イル）-2-メトキシベンズアミド；

化合物3：2,6-ジフルオロ-N-（5-メチル-4-フェニル-1,3-チアゾール-2-イル）ベンズアミド；

化合物4：2-クロロ-N-[4-（2-ナフチル）-1,3-チアゾール-2-イル]-5-ニトロベンズアミド；

化合物5：2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル(d3)エタノアート；

40

化合物6：2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル(d2)エタノアート；

化合物7：2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル(d1)エタノアート；

化合物8：2-（5-ニトロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3,3-ジメチルブタノアート；

化合物9：2-（5-クロロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3,3-ジメチルブタノアート；

化合物10：2-（5-ニトロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-ア

50

ミノ-3-メチルペンタノアート；

化合物11：2-（5-クロロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3-メチルペンタノアート；

化合物12：RM5061（（S）-2-（5-ニトロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3，3-ジメチルブタノアート）；

化合物13：RM5064（（S）-2-（5-クロロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3，3-ジメチルブタノアート）；

化合物14：RM5066（（2S，3S）-2-（5-ニトロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3-メチルペンタノアート）；及び

化合物15：RM5065（（2S，3S）-2-（5-クロロチアゾール-2-イルカルバモイル）フェニル 2-アミノ-3-メチルペンタノアート）

10

を含む。

【0062】

具体的な実施態様では、式（I）の化合物は、化合物12である。

【0063】

本発明によれば、用語「線維症」、「線維性疾患」、「線維性障害」及びこれらの語形変化（declinations）は、器官又は組織における線維性結合組織の過剰の沈着の病的状態を意味する。より具体的には、線維症は、組織損傷に対する応答としての、結合組織による持続的な線維性瘢痕形成及び細胞外マトリクスの過剰産生を含む病理学的プロセスである。生理学的に、結合組織の沈着は、その下に存在する器官又は組織の構造及び機能を消し去り得る。

20

【0064】

本発明によれば、線維症又は線維性障害は、任意の器官又は組織の線維症に関連し得る。具体的な器官線維症の例示的な非限定例は、肝臓、腸（gut）、腎臓、皮膚、表皮、内皮、筋肉、腱、軟骨、心臓、脾臓、肺、子宮、神経系、精巣、陰茎、卵巣、副腎、動脈、静脈、結腸、腸（intestine）（例えば、小腸）、胆管、軟組織（例えば、縦隔又は後腹膜）、骨髓、関節又は胃の線維症、特に、肝臓、腎臓、皮膚、表皮、内皮、筋肉、腱、軟骨、心臓、脾臓、肺、子宮、神経系、精巣、卵巣、副腎、動脈、静脈、結腸、腸（例えば、小腸）、胆管、軟組織（例えば、縦隔又は後腹膜）、骨髓、関節、眼又は胃の線維症を含む。

30

【0065】

本発明によれば、用語「胆汁うっ滞」又は「胆汁うっ滞性疾患」又は「胆汁うっ滞性障害」及びこれらの語形変化は、肝細胞による分泌の障害又は肝内若しくは肝外の胆管を通る胆汁流の閉塞に起因する胆汁流の減少によって定義される病的状態を意味する。したがって、胆汁うっ滞の臨床的定義は、通常は胆汁に排泄される物質が保持される任意の状態である。

【0066】

具体的な実施態様では、線維性障害は、肝臓、腸（gut）、肺、心臓、腎臓、筋肉、皮膚、軟組織（例えば、縦隔又は後腹膜）、骨髓、腸（intestinal）、及び関節（例えば、膝、肩又は他の関節）の線維症からなる群より選択される。

40

【0067】

好ましい実施態様では、線維性障害は、肝臓、肺、皮膚、腎臓及び腸（intestinal）の線維症からなる群より選択される。

【0068】

本発明のより好ましい実施態様では、処置される線維性障害は、以下の線維性障害の非網羅的なリストからなる群より選択される：非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肺線維症、特発性肺線維症、皮膚線維症、眼線維症（例えば、莢膜線維症）、心内膜心筋線維症、縦隔線維症、骨髓線維症、後腹膜線維症、進行性塊状線維症（炭坑夫塵肺の合併症）、増殖性線維症、新生物線維症、慢性炎症性気道疾患（COPD、喘息、肺気腫、喫煙者肺、結核）に続発する肺線維症、アルコール又は薬物誘発性の肝線維症、肝硬変、感染

50

誘発性肝線維症、放射線又は化学療法誘発性の線維症、腎原性全身性線維症、クローン病、潰瘍性大腸炎、ケロイド、陳旧性心筋梗塞、強皮症／全身性硬化症、関節線維症、癒着性関節包炎の一部の形態、慢性線維化性胆管症、例えば、原発性硬化性胆管炎（P S C）及び原発性胆汁性胆管炎（P B C）、胆道閉鎖症、家族性肝内胆汁うっ滞症 3 型（P F I C 3）、インプラント周囲線維症及び石綿肺。

【0069】

本発明の具体的な実施態様によれば、胆汁うっ滞性疾患は、原発性胆汁性胆管炎（P B C）、原発性硬化性胆管炎（P S C）、妊娠時肝内胆汁うっ滞症、進行性家族性肝内胆汁うっ滞症、胆道閉鎖症、胆石症、感染性胆管炎、ランゲルハンス細胞組織球増殖症に付随する胆管炎、アラジール症候群、非症候性胆管減少症、薬物誘発性胆汁うっ滞症、及び完全非経口栄養関連胆汁うっ滞症からなる群より選択される。好ましい実施態様では、胆汁うっ滞性疾患は、P B C 又は P S C、特に P B C である。

10

【0070】

用語「処置」又は「処置する」とは、それを必要としている被験体における胆汁うっ滞性又は線維性の障害の治癒的又は予防的な処置を指す。処置は、障害の進行を治癒、遅延、逆行又は減速させることによって、被験体の状態を改善するために、指定の障害を有する被験体、すなわち、患者に、化合物、特に医薬組成物に含まれる化合物を投与することを含む。また、処置は、障害を予防又は遅延させるために、健常な又は胆汁うっ滞性若しくは線維性の障害を発症するリスクのある被験体に投与してもよい。

20

【0071】

したがって、本発明によれば、胆汁うっ滞性又は線維性の障害の処置は、該障害の進行を治癒、遅延、逆行又は減速させることによって、患者又は健常被験体、特に、胆汁うっ滞性又は線維性の障害を発症するリスクのある被験体の状態を改善するために、指定の障害を有する被験体に、式（I）の化合物又はそれを含有する医薬組成物を投与することを含む。

【0072】

処置される被験体は、哺乳類、好ましくはヒトである。本発明に従って処置される被験体は、以前に行われた薬物処置、関連する病状、遺伝子型、リスク因子に対する曝露、ウイルス感染等の胆汁うっ滞性又は線維性の疾患に関連する幾つかの基準に基づいて、更に、画像診断方法、及び免疫学的、生化学的、酵素的、化学的又は核酸検出の方法を用いて評価することができる任意の関連するバイオマーカーの検出に基づいて選択することができる。

30

【0073】

具体的な実施態様では、線維性障害の処置は、2つ以上の式（I）の化合物の組み合わせ物を投与することを含み得る。この実施態様の変形例によれば、2つ以上の式（I）の化合物は、単一の組成物中に含まれる。この実施態様の別の変形例では、2つ以上の式（I）の化合物は、療法において同時、逐次又は別々に投与するためのものであるもので、異なる組成物に含まれていてもよい。

【0074】

逐次投与の場合、式（I）の化合物を、別のものを投与する前に投与してよい。

40

【0075】

式（I）の化合物は、薬学的に許容し得る塩、特に、薬学的使用に適合する酸又は塩基の塩として製剤化され得る。式（I）の化合物の塩は、薬学的に許容し得る酸付加塩、薬学的に許容し得る塩基付加塩、薬学的に許容し得る金属塩、アンモニウム及びアルキル化アンモニウムの塩を含む。これら塩は、化合物の最終精製工程中に、又は既に精製されている化合物に塩を組み込むことによって得ることができる。

【0076】

本発明は、更に、薬学的に許容し得る担体中に式（I）の化合物を含む医薬組成物に関する。

【0077】

50

好ましい実施態様では、本発明は、胆汁うっ滞性又は線維性の疾患を処置する方法において使用するための、上に示した化合物 1～15 から選択される化合物を含む医薬組成物に関する。

【0078】

また、式 (I) の化合物を含む医薬組成物は、製薬の状況において許容し得る 1 個又は数個の賦形剤又はビヒクル（例えば、薬学的用途に適合しかつ当業者に周知である生理食塩水、生理溶液、等張溶液等）を含んでいてもよい。

【0079】

また、これらの組成物は、分散剤、可溶化剤、安定剤、保存剤等から選択される 1 個又は数個の薬剤又はビヒクルを更に含んでいてもよい。これらの製剤（液体及び／又は注射用及び／又は固体）に有用な薬剤又はビヒクルは、特に、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ポリソルバート 80、マンニトール、ゼラチン、ラクトース、植物油、アカシア、リボソーム等である。

【0080】

これらの組成物は、最終的にガレヌス形態又は持続放出及び／若しくは徐放を保証する装置を用いて、注射可能な懸濁液、シロップ、ゲル、オイル、軟膏、丸剤、錠剤、坐剤、粉剤、ゲルキャップ、カプセル、エアゾール等の形態で製剤化され得る。この種の製剤については、セルロース、カーボナート又はデンプン等の薬剤を有利に使用することができる。また、本発明の組成物は、リボソーム送達系、例えば、小単層ベシクル、大単層ベシクル、及び多層ベシクルの形態で製剤化され得る。リボソームは、両親媒性脂質、例えば、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、ホスファチジルコリン、カルジオリピン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジルイノシトール、ジアシルトリメチルアンモニウムプロパン、ジアシルジメチルアンモニウムプロパン、及びステアリルアミン、中性脂質、例えば、トリグリセリド、並びにこれらの組み合わせを含むがこれらに限定されない様々な脂質から形成され得る。式 (I) の化合物の薬学的組み合わせ物は、様々な方法及び様々な形態で投与することができる。したがって、例えば、該組み合わせ物は、当技術分野において公知の方法を使用することによって、経口、局所、経舌、鼻腔内、直腸内、経粘膜、経皮、経腸、筋肉内、静脈内、皮下、動脈内、腹腔内、肺内又は眼内の経路を使用することによって、系統的に又は非経口的に投与することができる。

【0081】

経口投与するための製剤は、固体の錠剤及びカプセル製剤に加えて、水性の液剤及び懸濁剤の形態であってよい。水性の液剤及び懸濁剤は、滅菌された粉剤又は顆粒剤から調製され得る。化合物は、水、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、エタノール、コーン油、綿実油、落花生油、ゴマ油、ベンジルアルコール、塩化ナトリウム、及び／又は様々な緩衝剤に溶解し得る。

【0082】

式 (I) の化合物は、様々な経路によって、そして、様々な形態で投与してよい。例えば、誘導体は、全身経路を介して、経口的に、非経口的に、吸入によって、鼻腔内噴霧によって、鼻腔内滴下によって、又は注射によって、例えば静脈内に、筋肉内経路によって、皮下経路によって、経皮経路によって、局所経路によって、動脈内経路によって投与してよい。

【0083】

無論、投与経路は、当業者に周知の手順に従って式 (I) の化合物の形態に適応するであろう。

【0084】

式 (I) の化合物は、治療有効量で投与される。本発明の状況において、用語「有効量」とは、所望の治療結果を生じさせるのに十分な化合物の量を指す。

【0085】

投与に関連する頻度及び／又は用量は、患者、病状、投与形態等に応じて当業者が適応

10

20

30

40

50

させることができる。典型的には、式（I）の化合物は、0.01mg/日～4000mg/日、例えば50mg/日～2000mg/日、そして、特に100mg/日～1000mg/日を含む用量で線維性疾患を処置するために投与され得る。投与は、必要に応じて、毎日、又は更には1日数回行ってよい。一実施態様では、化合物は、少なくとも1日1回、例えば、1日1回、1日2回、又は1日3回投与される。具体的な実施態様では、化合物は、1日に1回又は2回投与される。特に、経口投与は、約1000mgの用量、特に1000mgの用量の化合物を含む錠剤を摂取することによって、食事中、例えば、朝食、昼食又は夕食中に1日1回実施してよい。別の実施態様では、錠剤は、例えば、ある食事中に約500mgの用量（すなわち、450～550mgの用量）、特に500mgの用量の化合物を含む第1の錠剤を投与し、そして、同日の別の食事中に約500mgの用量、特に500mgの用量の化合物を含む第2の錠剤を投与することによって、1日2回経口投与される。好適には、式（I）の化合物による処置過程は、少なくとも1週間、特に少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20若しくは24週間、又はそれ以上である。特に、式（I）の化合物による処置過程は、少なくとも1年間、2年間、3年間、4年間又は少なくとも5年間である。

10

【0086】

具体的な実施態様では、本発明は、式（I）の化合物と、少なくとも1つのスタチン（HMG-CoAレダクターゼ阻害剤）、例えば、プラバスタチン、フルバスタチン、アトルバスタチン、ロバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチン、メバスタチン、セリバスタチン、及びピタバスタチンとの組み合わせ物に関する。スタチンは、塩、水和物、溶媒和物、多形、又は共結晶の形態であり得る。また、スタチンは、塩の水和物、溶媒和物、多形、又は共結晶の形態であってもよい。また、スタチンは、本発明に係るラクトン形態の遊離酸中に存在し得る。

20

【0087】

具体的な実施態様では、本発明は、公知の抗線維化活性を有する少なくとも1つの他の治療活性剤と組み合わせた、胆汁うっ滞性又は線維性の疾患を処置するための式（I）の化合物の使用に関する。この実施態様の変形例によれば、式（I）の化合物は、ピルフェニドン若しくは受容体チロシンキナーゼ阻害剤（RTKI）、例えば、ニンテダニブ、ソラフェニブ及び他のRTKI、又はアンギオテンシンII（AT1）受容体ブロッカー、又はCTGF阻害剤、又はMMP2、MMP9、THBS1若しくは細胞表面インテグリン等の潜在型TGFβ複合体の活性化剤を含むTGFβ-及びBMP-活性化経路に干渉しやすい任意の抗線維化化合物、TGFβ受容体I型（TGFBRI）若しくはII型（TGFBRII）及びこれらのリガンド、例えば、TGFβ、アクチビン、インヒビン、ノーダル、抗ミューラー管ホルモン、GDF若しくはBMP、補助共受容体（III型受容体としても知られている）、又は制御性若しくは阻害性のSMADタンパク質を含むSMAD依存性古典的（canonical）経路の構成要素、又はMAPKシグナル伝達、TAK1、Rho様GTPaseシグナル伝達経路、ホスファチジルイノシトール-3キナーゼ/AKT経路、TGFβ誘発性EMTプロセス、若しくはHhリガンド若しくは標的遺伝子を含む古典的及び非古典的なヘッジホッグシグナル伝達経路の様々なブランチを含むSMAD非依存性若しくは非古典的な経路のメンバー、又はTGFβシグナル伝達に影響を与えやすいWNT若しくはノッチの経路の任意のメンバー等の任意の抗線維化化合物と組み合わせることができる。

30

40

【0088】

したがって、本発明は、また、線維性障害を処置する方法において使用するための、ピルフェニドン若しくは受容体チロシンキナーゼ阻害剤（RTKI）、例えば、ニンテダニブ、ソラフェニブ及び他のRTKI、又はアンギオテンシンII（AT1）受容体ブロッカー、又はCTGF阻害剤、又はMMP2、MMP9、THBS1若しくは細胞表面インテグリン等の潜在型TGFβ複合体の活性化剤を含むTGFβ-及びBMP-活性化経路に干渉しやすい抗線維化化合物、TGFβ受容体I型（TGFBRI）若しくはII型（TGFBRII）及びこれらのリガンド、例えば、TGFβ、アクチビン、インヒビン、

50

ノーダル、抗ミュー管ホルモン、G D F若しくはB M P、補助共受容体（I I I型受容体としても知られている）、又は制御性若しくは阻害性のS M A Dタンパク質を含むS M A D依存性古典的経路の構成要素、又はM A P Kシグナル伝達、T A K 1、R h o様G T P a s eシグナル伝達経路、ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ/A K T経路、T G F β 誘発性E M Tプロセス、若しくはH hリガンド若しくは標的遺伝子を含む古典的及び非古典的なヘッジホッグシグナル伝達経路の様々なブランチを含むS M A D非依存性若しくは非古典的な経路のメンバー、又はT G F β シグナル伝達に影響を与えやすいW N T若しくはノッチの経路の任意のメンバーから選択される公知の抗線維化活性を有する少なくとも1つの治療活性剤と組み合わせて、式（I）の化合物又は式（I）の化合物の薬学的に許容し得る塩を含む医薬組成物に関する。

10

【0089】

別の具体的な実施態様では、式（I）の化合物と組み合わせることができる分子の他の分類は、スタチン（H M G-C o Aレダクターゼ阻害剤）、例えば、プラバスタチン、フルバスタチン、アトルバスタチン、ロバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチン、メバスタチン、セリバスタチン、及びピタバスタチン、J A K/S T A T阻害剤、又は他の抗炎症性及び/若しくは免疫抑制性の薬剤を含む。これらの薬剤の非網羅的なリストは、グルココルチコイド、N S A I D S、シクロホスファミド、ニトロソ尿素、葉酸アナログ、プリンアナログ、ピリミジンアナログ、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、シクロスポリン、ミリオシン、タクロリムス、シロリムス、ミコフェノール酸誘導体、フィンゴリモド及び他のスフィンゴシン-1-リン酸受容体調節因子；炎症促進性サイトカイン及び炎症促進性サイトカイン受容体、T細胞受容体、インテグリン等の標的に対するモノクローナル及び/又はポリクローナルな抗体を含むが、これらに限定されない。また、式（I）の化合物と組み合わせることができる分子の他の分類は、式（I）の化合物の曝露又は効果を潜在的に強化することができる分子を含む。

20

【0090】

別の実施態様では、式（I）の化合物又は式（I）の化合物の組み合わせは、唯一の活性成分として投与される。したがって、本発明は、また、胆汁うっ滞性又は線維性の障害を処置する方法において使用するための、式（I）の化合物又は式（I）の化合物の薬学的に許容し得る塩から選択される化合物を含む医薬組成物であって、該化合物が、該組成物中の唯一の活性成分である医薬組成物に関する。

30

【0091】

更なる実施態様では、本発明は、特に1つ以上の式（I）の化合物を含有する医薬組成物の形態で1つ以上の式（I）の化合物を投与することを含む、胆汁うっ滞性又は線維性の疾患を処置する方法を提供する。

【0092】

式（I）の化合物の合成は、以下及びW O 2 0 1 6 / 0 7 7 4 2 0号に記載されているもの等、当技術分野において公知の方法に従って実施され得る。

【0093】

既に市販されている可能性があるか又は容易に合成することができる化合物から特定の反応中間体を合成し、そして、精製することができる。

40

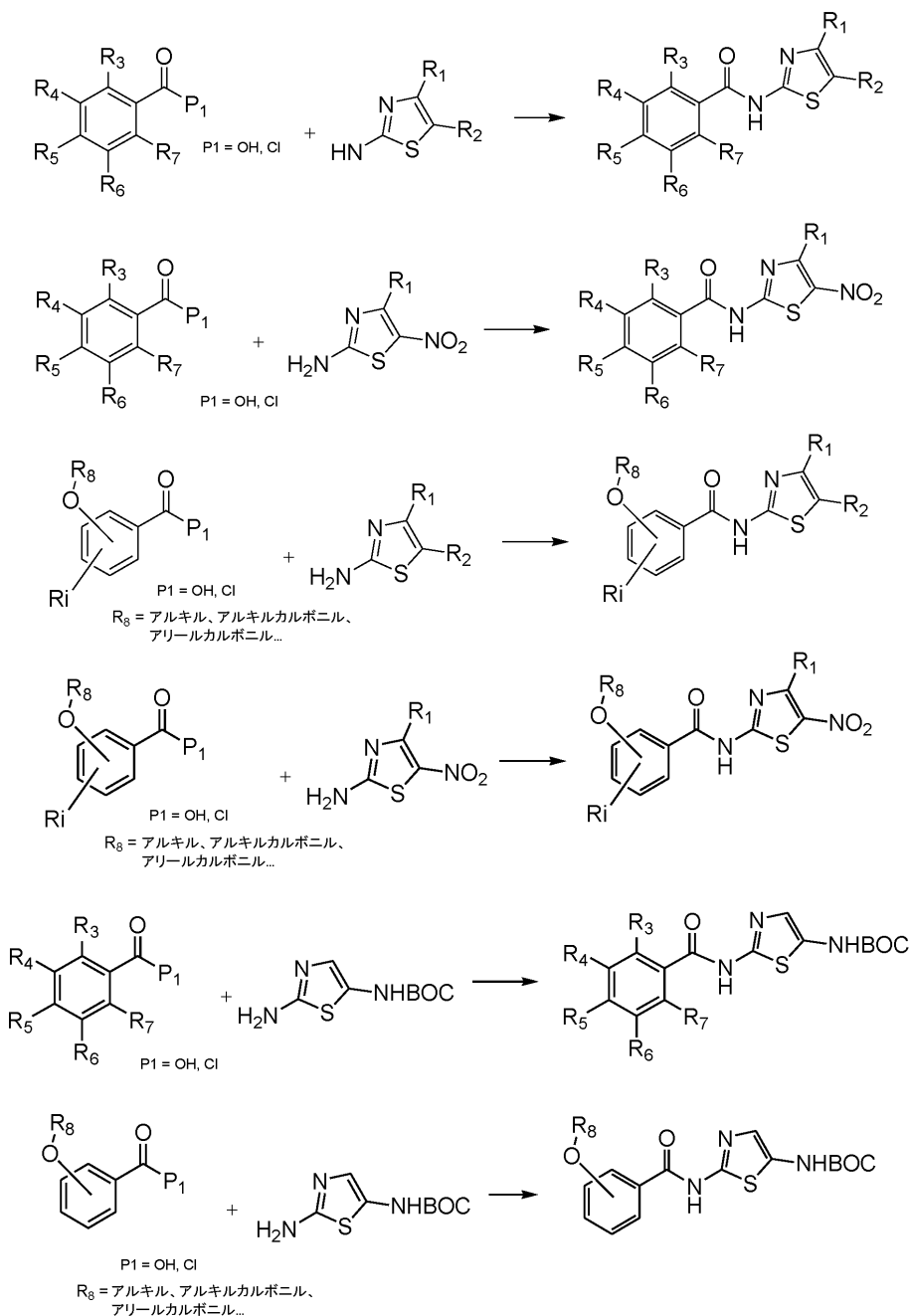
【0094】

一般式（I）の化合物の合成の一般スキームを以下のスキームに提示する。

【0095】

所望のN-（チアゾール-2-イル）ベンズアミド誘導体は、当業者に周知の方法に従って、適切な安息香酸/塩化物及び適切なアミノチアゾール中間体から得ることができる。

【化 15】



10

20

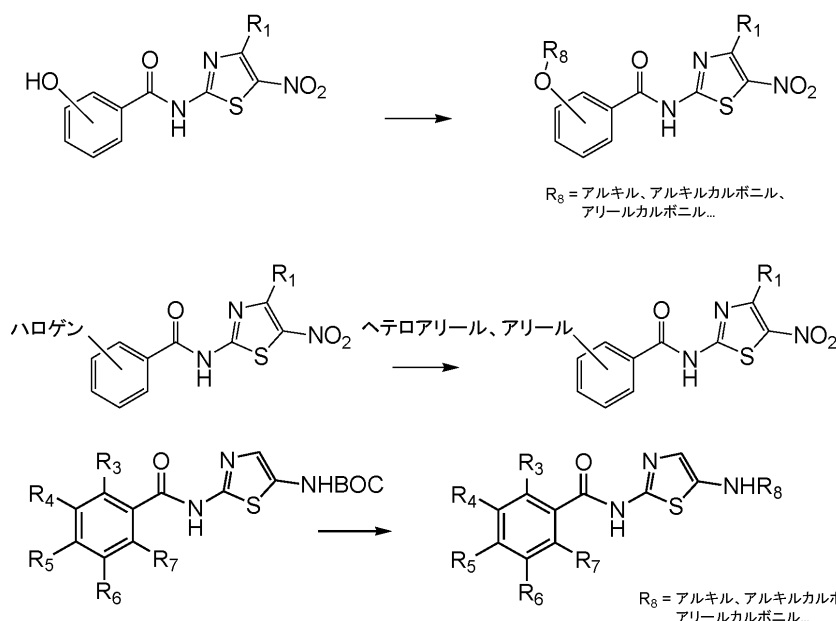
30

40

【0096】

本発明の別の態様では、N-(チアゾール-2-イル)ベンズアミドスカフォールドが形成されたら、更なる官能基を導入することができる。例えば、以下のスキームに示す通り、ヒドロキシベンズアミド誘導体をアルキル又はアルキルカルボニルの基によって更に置換してもよく、他のハロゲンベンズアミド誘導体をパラジウム触媒カップリング反応に供して、市販されている可能性があるか又は当業者によって合成され得る所望のアリール、ヘテロアリール環を導入してもよい。本発明の更に別の態様では、脱保護及びtert-ブチル 2-(ベンズアミド)チアゾール-5-イルカルバマートの更なる官能化によって、広範な 5-N-(5-アミノチアゾール-2-イル)ベンズアミド誘導体を調製することができる。

【化 16】



10

【0097】

特定のチアゾール中間体は、5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-アミン (Combi-Blocksから市販されている、カタログ#HI-1112) 又は5-ニトロ-4-置換-1,3-チアゾール-2-アミン、例えば、市販されているか又は (Tokumitsu and Hayashi 1985) 若しくは (Singh, Singh et al. 2003) によってそれぞれ記載されている方法に従って合成することができる4-メチル-5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-アミン及び5-ニトロ-4-フェニル-1,3-チアゾール-2-アミンを含む。他の4-置換の5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-アミン、例えば、5-ニトロ-4-アリール-1,3-チアゾール-2-アミンは、(Kikelj and Urleb 2002) 及び (Tasaganva, Tambe et al. 2011) によって記載されているのと同じ方法を使用することによって利用可能であるが、4-メチルアミノ-5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-アミン誘導体は、5-ニトロ-2-アセトアミド-4-ホルミルチアゾールから合成することができ、この合成は (Silberg, Frenkel et al. 1963) によって記載されている。

20

30

【0098】

他の特定のチアゾールは、例えば、2-アミノ-5-フェニルチアゾール (Combi-Blocks、カタログ#ST-4301)、2-アミノ-4-フェニルチアゾール (Combi-Blocks、カタログ#HC-2218)、5-エチル-1,3-チアゾール-2-アミン (Combi-Blocks、カタログ#QC-6305)、4-エチル-1,3-チアゾール-2-アミン (Combi-Blocks、カタログ#HI-1797)、4-メチル-1,3-チアゾール-2-アミン (Combi-Blocks、カタログ#HI-1202)、2-アミノ-4-(2-ピリジル)チアゾール (Alfa Aesar、カタログ#H58554)、2-アミノ-4-(3-ピリジル)チアゾール (Alfa Aesar、カタログ#H58630)、5-エチル-1,3-チアゾール-2-アミン (Ark Pharm、カタログ#AK132917) 等、一般的な供給元から購入することができる。より一般的には、特定のチアゾール中間体は、当業者に周知の方法、例えば、適切なチオ尿素と適切なα-ハロケトン又は関連化合物との反応を使用することによって合成することができる。更なる特定のチアゾールは、4又は5置換アリール、ヘテロアリールチアゾール誘導体を得るために、当業者に周知の技術を使用することによって得ることができる。同様に、5-ニトロチアゾールは、パラジウム触媒水素化 (Pevarello, Amici et al. 2004) 又は鉄触媒還元 (Funahashi, Tsuruoka et al. 2007) 等の通常の技術によってそのアミノアナログに還元することができる。

40

【0099】

50

所望の式 (I) の化合物を得るために生成される反応中間体中に場合により存在する官能基は、保護基によって永続的に又は一時的に保護されてもよく、これによって、所望の化合物の確実な合成を保証する。保護及び脱保護の反応は、当業者に周知の技術、又は書籍「Greene's Protective Groups in Organic Synthesis」(Wuts and Greene 2007)等の文献に記載されているもの等に従って実施される。

【0100】

本発明に係る化合物は、1つ以上の不斉中心を含有し得る。本発明は、式 (I) の化合物の純粋な又は混合された立体異性体 (ジアステレオ異性体、鏡像異性体) に加えて、ラセミ混合物及び幾何異性体、又は互変異性体を含む。鏡像異性的に純粋な (又は濃縮された) 混合物が望ましいとき、該混合物は、最終生成物若しくはキラル中間体の精製によって又は (例えば、キラル反応物質及び触媒を使用して) 当業者に公知の方法に従う不斉合成によって得ることができる。本発明に係る特定の化合物は、様々な安定な互変異性体形態を有し得、そして、これらの形態及びその混合物の全てが本発明に含まれる。純粋な又は混合された立体異性体に加えてラセミ混合物及び幾何異性体又は互変異性体を得、そして、特性評価するための技術は、例えば書籍「Chirality in Drug Design and Development」(Reddy and Mehvar 2004)等の文献に記載されている。

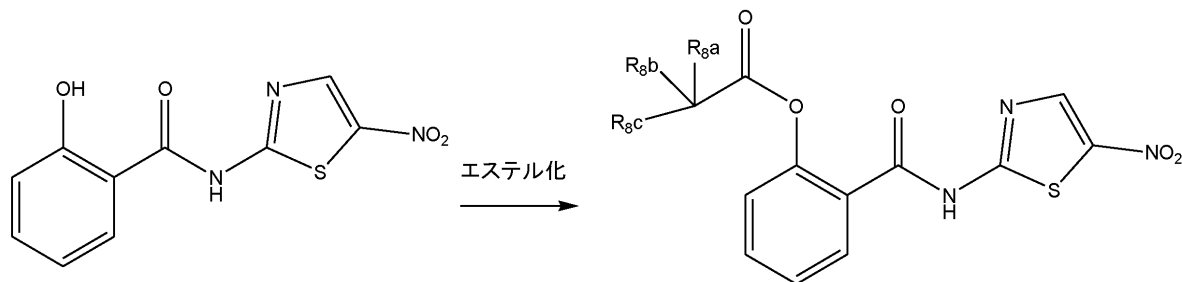
【0101】

1つ以上の重水素原子を含有する式 (I) の化合物のための中間体及び最終反応生成物を合成及び精製する一般的な方法の詳細を実施例に提供する。既に市販されている可能性があるか又は容易に合成することができる化合物から特定の反応中間体を合成及び精製することができる。例えば、重水素化塩化アセチルは、市販されている可能性があるか又は対応するカルボン酸から合成することができる (該カルボン酸は、(Ginsburg and Heschles, 1958) によって記載されている方法に従って合成することができる)。

【0102】

式 (I) の化合物の合成の一般的なスキームを以下のスキームに提示する。

【化17】



【0103】

エステル化工程は、当業者に周知の技術に従って実施される。

【0104】

式 (I) の化合物は、沈殿、又は反応媒体の蒸発後の固液抽出によって精製することができる。更なる又は他の精製工程は、シリカゲルクロマトグラフィー又は結晶化によって実施することができ、該化合物が固体形態として安定であるときには、文献、又は更に一般的には化学文献 (Armarego and Chai 2009) において周知の技術を適用することによって実施することができる。

【0105】

更に、反応混合物から式 (I) の化合物を単離するのに適した必要な精製及び／又は (再) 結晶化工程は、非晶質、多形、単結晶又は多結晶の形態を得るために用いることができる。このような多形は、例えば、可溶性、固有溶解速度、融点、バイオアベイラビリティ、並びに／又は医薬組成物及び／若しくは生物学的流体中における、ある多形状態から別の多形状態への転移の可能性の観点で、区別できる薬理的及び／又は化学的特性を示し得る。

【0106】

10

20

30

40

50

(再)結晶化アッセイは、様々な溶媒のパネル(例えば、イソプロパノール、アセトン、メタノール、ジイソプロピルエーテル又は水)又はこれらの混合物において、そして、反応の体積又は温度等の様々な条件を適用することによって実施することができる。得られたサンプルは、例えば、構造、可溶性、安定性又は他の形態への変換等の特定の結晶形態の特徴を証明することができる顕微鏡観察、熱量測定、及び／又は分光法等の様々な技術によって分析することができる(Bauer 2004; Morissette, Almarsson et al. 2004; Erdemir, Lee et al. 2007; Yin and Grosso 2008)。このような多形研究によって、薬理的及び製造上の視点の両方について薬学的に許容し得る化合物の結晶形態を特徴付けることができる。

【0107】

10

特定の式(I)の化合物は、双性イオンの形態で単離することができ、そして、これらの各形態及びこれらの混合物は、本発明に含まれる。

【0108】

特定の式(I)の化合物は、構造中に同位体(放射性又は非放射性)によって置き換えられる少なくとも1個の原子を含み得る。本発明に係る化合物の構造に含まれ得る同位体の例は、それぞれ2H、3H、13C、14C、15N、18O、17O、35S等の水素、炭素、窒素、酸素、硫黄から選択することができる。非放射性であるとき、吸収、分布、代謝、及び排泄(ADME)試験を実施する手段としてだけでなく、代謝的運命を実質的に変化させるが、元の化合物の所望の生化学的効力及び選択性を保持することができる化合物を得るための手段としても、安定な同位体を水素(重水素の場合)又は炭素(13Cの場合)の代わりに構造中に選択的に組み込むことができる。幾つかの好ましい場合では、この改変は、元の化合物の安全性、有効性及び／又は耐容性に対して正の影響を与える効果を有する可能性がある(Mutlib 2008)。その他の点では、放射性同位体3H及び14Cが特に好ましいが、その理由は、これらの調製、そして、物質のインビボにおけるバイオアベイラビリティの試験における検出が容易であるためである。重同位体(例えば2H)が特に好ましいが、その理由は、それが、分析的試験における内部標準として、そして、薬学的関心対象となる可能な変異体として使用されるためである。

20

【0109】

語句「薬学的に許容し得る」とは、薬理的／毒物学的視点から患者にとって、そして、組成、製剤、安定性、患者の許容性及びバイオアベイラビリティに関する物理的／化学的視点から製造する薬剤師にとって許容し得る特性及び／又は物質を指す。

30

【0110】

用語「担体」、「ビヒクル」、又は「賦形剤」とは、その取り扱い若しくは保管の特性を改善するために、又は組成物の投薬単位から別々の物品を形成することを可能にするか若しくは容易にするために、医薬組成物に添加されて被験体に治療剤を送達するための担体、ビヒクル、及び／又は希釈剤として使用される任意の物質(治療剤自体ではない)を指す。本発明の医薬組成物は、個々に又は組み合わせで、分散剤、可溶化剤、安定剤、保存剤等から選択される1個又は数個の薬剤又はビヒクルを含み得る。

【0111】

本発明は、以下の非限定的な実施例を参照して更に説明される。

40

【実施例】

【0112】

材料及び方法

本発明に係る重水素化合物の合成

化学名は、IUPAC命名法に従う。出発物質及び溶媒は、商業的供給元(Acros Organic、Sigma Aldrich、Combi-Blocks、Fluorochem、Fluka、Alfa Aesar又はLancaster)から購入され、そして、更に精製することなく受け取ったまま使用される。一部の出発物質は、当業者によって容易に合成され得る。空気及び水分感受性の反応は、窒素の不活性雰囲気下で実施され、そして、ガラス製品はオーブンで乾燥された。反応収率を最適化する試みは行わない。薄層クロマトグラフィ(TLC)は、Merckシリカゲル60 UV254(25

50

0 μm) プレート上で行われる。可視化は、UV 光を用いて行われる。カラムクロマトグラフィは、Merck製のGeduranシリカゲル60 (40~63 μm) で行われる。融点 (mp) は、Buchi Melting Point B-545で記録され、そして、補正されない。全てのマイクロ波照射実験は、Biotage Initiatorマイクロ波装置で行われる。1Hスペクトルは、300MHzにおいてBruker Advance 1分光計に記録された。化学シフト (δ) は、内部標準として重水素化溶媒の水素化残基を参照することによって、ppm (百万分率) で報告される: DMSO- d_6 については2.50 ppm、CDCl $_3$ については7.26 ppm、そして、Methanol- d_4 については3.31及び4.78。スペクトルの分裂パターンは、以下の通り指定される: s、シングレット; d、ダブルット; dd、ダブルダブルット; ddd、ダブルダブルダブルット; t、トリプレット; dt、ダブルトリプレット; q、カルテット; m、マルチプレット; br s、ブロードシングレット。カップリング定数 (J) は、0.1 Hzの単位まで提示される。全ての試験した化合物は、Merck HITACHI Lachrom L-7000シリーズにおけるHPLC及びWatersカラムSymmetry C18 (3.5 μm 、4.6 $\times$ 75 mm) を備えるMerck HITACHIダイオードアレイ検出器L-7455によって、そして、MeOH/0.1%ギ酸を含有するMillipore水の勾配を使用して評価して、 $\geq 95\%$ の化学純度を示した。質量分析測定は、qTOF Waters Micromass Ultima API及びWaters製のAcquity QDa検出器を備えるAutoPurification System 2767において実施された。全ての溶媒は、HPLCグレードである。

10

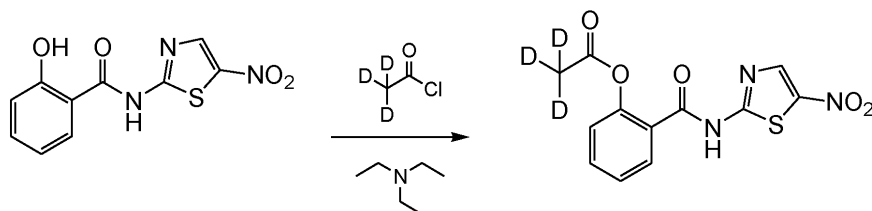
【0113】

実施例 1:

化合物 5: 2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル(d_3)アセタート;

20

【化18】



30

トリエチルアミン (0.112 mL、0.829 mmol) 及び (^2H) $_3$ 塩化アセチル (0.031 mL、0.434 mmol) を、ジクロロメタン中 2-ヒドロキシ-N-(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)ベンズアミド (Interchim ref: RP253/バッチ: WZG110215-0A02) (0.1 g、0.377 mmol) の混合物 (0.38 M) に添加した。反応物を室温で2時間攪拌した。混合物を水で希釈し、そして、酢酸エチルで2回抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、MgSO $_4$ で乾燥させ、濾過し、そして、減圧下で濃縮した。粗生成物をシリカゲル (ジクロロメタン/酢酸エチル: 9/1) で精製して、黄色の固形物として 2-[(5-ニトロ-1,3-チアゾール-2-イル)カルバモイル]フェニル ($^2\text{H}_3$) アセタート (0.038 g、0.122 mmol、収率: 28%) を与えた。NMR 1H (300MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 7.31 (dd, 1H, J=8.1Hz, J=0.9Hz, HAr), 7.41-7.47 (m, 1H, HAr), 7.65-7.71 (m, 1H, HAr), 7.84 (dd, 1H, J=7.8Hz, J=1.5Hz, HAr), 8.69 (s, 1H, HAr), 13.61 (br(s), 1H, NH); Mass (ESI+): 311.2 (M+H)+, 333.2 (M+Na)+, 643.3 (2M+Na)+, 659.3 (2M+K)+; MP: 197-200 $^\circ\text{C}$.

40

【0114】

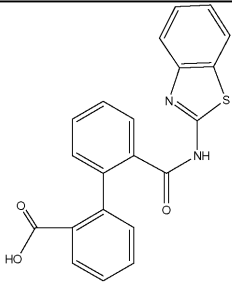
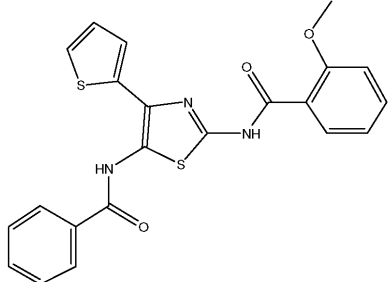
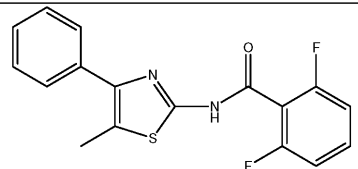
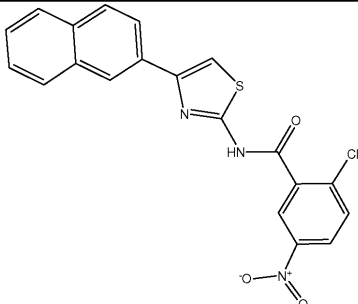
本発明に係る化合物のインビトロ評価

化合物をジメチルスルホキシド (DMSO、Flukaカタログ#41640) に溶解させた。

【0115】

【表 1】

表1:式(I)の化合物の例

化合物	構造
化合物 1	
化合物 2	
化合物 3	
化合物 4	

【0116】

出願WO2016/077420号に記載の方法に従ってRM-5061を合成した。

【0117】

hHSC培養

ヒト初代肝星細胞（hHSC）（Innoprot）を、2% ウシ胎仔血清（FBS、ScienCell カタログ#0010）、1% ペニシリン／ストレプトマイシン（ScienCell カタログ#0503）及び星細胞増殖補給剤（SteCGS；ScienCell カタログ#5352）を補給したSTeCM培地（ScienCell カタログ#5301）中で培養した。よりよく接着させるために、細胞培養フラスコをポリ-L リジン（Sigma カタログ#P4707）でコーティングした。

【0118】

TGF-β1によるhHSCの活性化

ヒト初代肝星細胞（hHSC）（Innoprot）を、上記の通り標準的な条件下で培養した。続いて、該細胞を、 2×10^4 細胞／ウェル又は6、 5×10^3 細胞／ウェルの密度でそれぞれ96ウェル又は384ウェルのプレートにプレーティングした。次の日、細胞培養培地を除去し、そして、細胞をPBS（Invitrogen カタログ#14190）で洗浄した。次いで、hHSCを無血清かつSteCGS不含培地中で24時間飢餓状態にした。式（I

）の化合物による処理については、血清除去した h H S C を該化合物と共に 1 時間プレインキュベートし、続いて、線維化促進性刺激 T G F β 1（PeproTech カタログ # 100-21、1 ng/mL）を添加し、無血清かつ S t e C G S 不含培地中で更に 4 8 時間インキュベートした。処理の終了時に、処理された H S C の細胞培養上清を新たなプレートに移した後、 -20°C で保管した。該細胞を P B S（Invitrogen、カタログ # 14190）で洗浄した後、溶解バッファ（CellLyticTM MT 試薬；Sigma # C3228）を添加した。次いで、プレートシェーカーを使用して氷上で 3 0 分間プレートをインキュベートした後、 -20°C で保存した。

【0119】

T G F β 1 による N H C F - V の活性化：

正常ヒト心臓線維芽細胞（心室）（N H C F - V）（Lonza）を正常成人心臓組織から単離した。細胞を、F G M（商標）- 3 BulletKit（商標）キット（Lonza カタログ # CC-4525）を補給した線維芽細胞基本培地（F B M）（Lonza カタログ # CC-3131）中で培養した。完全培地は、1 0 % ウシ胎仔血清を含有する。T G F β 1 による活性化実験については、N H C F - V を 6×10^3 細胞／ウェルの密度で 9 6 ウェルプレートにプレATINGした。次の日、細胞培養培地を除去し、そして、細胞を P B S（Invitrogen カタログ # 14190）で洗浄した。N H C F を無血清、インスリン不含かつ r h F G F - B 不含培地中で 2 4 時間飢餓状態にした。式（I）の重水素化化合物による処理については、血清除去した N H C F を該化合物と共に 1 時間プレインキュベートし、続いて、線維化促進性刺激 T G F β 1（PeproTech カタログ # 100-21、3 ng/mL）を添加し、無血清、インスリン不含かつ r h F G F - B 不含培地中で更に 4 8 時間インキュベートした。

【0120】

T G F β 1 による InMyoFib の活性化：

ヒト腸筋線維芽細胞（InMyoFib）（Lonza）を、SmGMTM-2 BulletKit（商標）（Lonza カタログ # CC-4149）を補給した平滑筋細胞基本培地（SmBM-2TM）（Lonza カタログ # CC-3181）中で培養した。完全培地は、5 % ウシ胎仔血清を含有する。T G F β 1 による活性化実験については、InMyoFib を 10×10^3 細胞／ウェルの密度で 9 6 ウェルプレートにプレATINGした。次の日、細胞培養培地を除去し、そして、細胞を P B S（Invitrogen カタログ # 14190）で洗浄した。InMyoFib を無血清、インスリン不含かつ r h F G F - B 不含培地中で 2 4 時間飢餓状態にした。式（I）の重水素化化合物による処理については、血清除去した InMyoFib を該化合物と共に 1 時間プレインキュベートし、続いて、線維化促進性刺激 T G F β 1（PeproTech カタログ # 100-21、3 ng/mL）を添加し、無血清、インスリン不含かつ r h F G F - B 不含培地中で更に 4 8 時間インキュベートした。

【0121】

T G F β 1 による N H L F の活性化

正常ヒト肺線維芽細胞（N H L F）（Lonza）を、F G M - 2 SingleQuots（商標）キット（Lonza カタログ # CC-3132）を補給した線維芽細胞基本培地（F B M）（Lonza カタログ # CC-3131）中で培養した。完全培地は、2 % ウシ胎仔血清を含有する。T G F β 1 による活性化実験については、N H L F を 5×10^3 細胞／ウェルの密度で 9 6 ウェルプレートにプレATINGした。次の日、細胞培養培地を除去し、そして、細胞を P B S（Invitrogen カタログ # 14190）で洗浄した。N H L F を無血清、インスリン不含かつ r h F G F - B 不含培地中で 2 4 時間飢餓状態にした。式（I）の化合物による処理については、血清除去した N H L F を該化合物と共に 1 時間プレインキュベートし、続いて、線維化促進性刺激 T G F β 1（PeproTech カタログ # 100-21、1 ng/mL）を添加し、無血清、インスリン不含かつ r h F G F - B 不含培地中で更に 4 8 時間インキュベートした。処理の最後に、細胞を P B S（Invitrogen、カタログ # 14190）で洗浄した後、溶解バッファ（CellLyticTM MT 試薬；Sigma # C3228）を添加した。次いで、プレートシェーカーを使用して氷上で 3 0 分間プレートをインキュベートした後、 -20°C で保存した。

【0122】

α - S M A の E L I S A

サンドイッチ E L I S A を使用して α -S M A のレベルを測定した。簡潔に述べると、まず、E L I S A プレートのウェルを 4 °C で一晚捕捉抗体（マウスモノクローナル抗 A C T A 2、Abnova）でコーティングした。P B S + 0, 2 % Tween 20 で 3 回洗浄した後、P B S + 0. 2 % B S A からなるブロッッキング溶液を 1 時間にわたって添加し、続いて、別の洗浄サイクルに供した。室温で 2 時間捕捉抗体に結合させるために、細胞溶解物をウェルに移した。洗浄手順後、検出抗体（ビオチン化マウスモノクローナル抗 A C T A 2、Abnova）を室温で 2 時間にわたって添加し、続いて、3 回洗浄した。検出については、まず、H R P コンジュゲートストレプトアビジン（R&D Systems カタログ #DY998）を室温で 30 分間適用した。洗浄後、H R P の基質である T M B（;BD、#555214）を添加し、そして、暗条件下、室温で 7 分間インキュベートした。酸化時に、T M B は水溶性青色反応生成物を形成し、これは硫酸を添加すると黄色になる（溶液停止）ので、分光光度計を用いて 450 nm における強度を正確に測定することができる。発色は、溶解物中に存在する α -S M A の量と正比例する。

10

【0123】

C o l l a 1 の E L I S A

サンドイッチ E L I S A（R&D systems,）を使用してヒトプロコラーゲン $\alpha 1$ （c o l l a 1）のレベルを測定した。簡潔に述べると、まず、E L I S A プレートのウェルを室温で一晩捕捉抗体でコーティングした。P B S + 0, 0.5 % Tween 20 で 3 回洗浄した後、P B S + 1 % B S A からなるブロッッキング溶液を 1 時間にわたって添加し、続いて、別の洗浄サイクルに供した。室温で 2 時間捕捉抗体に結合させるために、処理された H S C の細胞培養上清をウェルに移した。洗浄手順後、ビオチン化検出抗体を室温で 2 時間にわたって添加し、続いて、3 回洗浄した。検出については、まず、H R P コンジュゲートストレプトアビジンを室温で 20 分間適用した。洗浄後、H R P の基質である T M B（BD、カタログ #555214）を添加し、そして、暗条件下、室温で 20 分間インキュベートした。酸化時に、T M B は水溶性青色反応生成物を形成し、これは硫酸を添加すると黄色になる（溶液停止）ので、分光光度計を用いて 450 nm における強度を正確に測定することができる。発色は、細胞培養上清中に存在する c o l l a 1 タンパク質の量と正比例する。

20

【0124】

本発明に係る化合物のインビボ評価

慢性 C C 1 4 誘発性肝線維症モデルにおける R M - 5 0 6 1 の評価

30

9 週齢の C 5 7 B L / 6 マウスを対照飼料又は R M - 5 0 6 1 を補給した飼料で 6 週間飼育する。10、30 又は 100 mg/kg/日の N T Z の曝露にそれぞれ対応する、R M - 5 0 6 1 を含有する 3 つのレジメンを調製する。同時に、そして、合計 6 週間にわたって、強制経口飼養によってマウスをオリーブ油に溶解させた C C 1 4 又はビヒクルで週 3 回処理する。C C 1 4 の量は、0.875 mL/kg から 2.5 mL/kg に次第に増加させる。処理の最後の日、6 時間の絶食期間後にマウスを屠殺する。血清の生化学的分析のために血液サンプルを回収する。生化学的、組織学的、そして、発現の試験のために、迅速に肝臓を摘出する。

【0125】

慢性 C D A A c 飼料誘発性肝線維症モデルにおける R M - 5 0 6 1 の評価

40

C D A A c 飼料誘発性実験的肝線維症のマウスモデルにおいて、N T Z の抗線維化効果を評価する。6 週齢の C 5 7 B L / 6 マウスに 12 週間、対照（C S A A）飼料、C D A A c 飼料、又は 10、30 若しくは 100 mg/kg/日の R M - 5 0 6 1 を補給した C D A A c 飼料を 12 週間給餌する。

【0126】

体重及び飼料の摂取を週 2 回モニタリングする。処理の最後の日、6 時間の絶食期間後にマウスを屠殺する。生化学的及び組織学的試験のために、迅速に肝臓を摘出する。

【0127】

血漿胆汁酸濃度に対する N T Z の影響の評価

OFA Sprague Dawley ラット（初期体重 250 ~ 275 g）をその体重に従って 4 群に無

50

作為化し、そして、3週間処理した。ラットにオリーブ油（対照群）又はオリーブ油に乳化させたCC14（CC14：オリーブ油 1：2 v/v、最終CC14濃度：2 mL/kg）を週2回腹腔内注入した。同時に、オリーブ油注入群を対照飼料で飼育し、一方、CC14注入群を対照飼料又はNTZを補給した飼料で飼育した。10又は30 mg/kg/日の曝露にそれぞれ対応する、NTZを含有する2つのレジメンを調製した。処理の最後の日、6時間の絶食期間後にラットを屠殺した。生化学的分析のために、血液サンプルを回収し、そして、血清を単離した。

【0128】

全胆汁酸の血漿濃度の測定

Daytona自動分析機（Randox、カタログ#BI 3863）に適切なRandoxキットを使用して、全胆汁酸（TBA）の血漿濃度を決定した。Thio-NADの存在下において、酵素3- α ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ（3- α HSD）は、胆汁酸を3-ケトステロイド及びThio-NADHに変換する。この反応は可逆性であり、そして、3- α HSDは、3-ケトステロイド及びThio-NADFH-を胆汁酸及びThio-NADに変換することができる。過剰のNADHの存在下では、酵素サイクリングが効率的に生じ、そして、405 nmにおける吸光度の特異的变化を測定することによって、Thio-NADHの形成速度を決定する。結果を $\mu\text{mol/L}$ で表す。

【0129】

結果及び結論：

分化した筋線維芽細胞の異常な存続は、多くの線維性疾患の特徴である。肝損傷後、休止状態のHSCは、（ α -SMA）陽性筋線維芽細胞への分化を特徴とする活性化プロセスを受ける。新規抗線維化分子を見出す試みにおいて、線維化促進性サイトカインTGF β 1で活性化されたヒトHSCのモデルにおいて、式（I）の化合物及び式（I）の重水素化誘導体化合物を表現型でスクリーニングした。線維性病変の特徴である α -SMAのレベルを使用して、線維化プロセスに干渉する該化合物の効力を評価した。幾つかの式（I）の化合物は、表2に示すように抗線維化特性が明らかになった。例えば、RM-5061は、 α -SMAのレベルを用量依存的に減少させ（図1、表3）、IC₅₀は0.1～3 μM を含んでいた。これらの抗線維化特性は、NHLFでも観察され（図2）、IC₅₀は同程度であった。更に、細胞外マトリクスコラーゲン1A1（COL1A1）等のTGF β 刺激の別のマーカーは、RM-5061によって同程度減少した（表3）。

【0130】

式（I）の重水素化誘導体化合物は、TGF β 活性化HSCにおける α -SMAレベルを用量依存的に減少させ、IC₅₀は0.1～3 μM を含んでいた（図3）。更に、式（I）の重水素化誘導体化合物の抗線維化能は、正常ヒト心臓線維芽細胞（図4）、ヒト腸筋線維芽細胞（InMyoFib）（図5）及び正常ヒト肺線維芽細胞（NHLF）（図6）を含む他の組織に由来する線維芽細胞にも及んだ。これらの線維症モデルの全てにおいて、式の重水素化誘導体化合物は、1 μM の濃度で有意な抗線維化効果を示した。

【0131】

毒性アッセイによって、 α -SMA及びCOL1A1のレベル低下は、細胞の毒性又はアポトーシスによるものではないことが確認された（データ不図示）。

【0132】

結局、これらの結果は、式（I）の化合物及び式（I）の重水素化誘導体化合物が複数の種類の線維性疾患において治療効果をもたらし得ることを示唆する。

【0133】

更に、CC14誘発性肝損傷のインビボモデルにおいて、NTZは、胆汁うっ滞に関連するマーカーである血中全胆汁酸濃度の病的な増加を防いだ（図7）。したがって、本出願は、抗寄生虫剤NTZの予想外の抗胆汁うっ滞活性を見出した。NTZ誘導体である、本明細書に開示される式（I）の化合物、特に、TZのプロドラッグでもあり、NTZの活性代謝物である化合物5～11も、抗胆汁うっ滞特性を有すると予測される。

【0134】

表 2：ニタゾキサニド誘導体は、ヒト H S C において α -S M A タンパク質の T G F β 1 誘導性発現を阻害する。

血清除去した H S C を 3 μ M の N T Z 誘導体と共に 1 時間プレインキュベートした後、線維化促進性サイトカイン T G F β 1 (1 ng/mL) で活性化した。48 時間インキュベートした後、 α -S M A の発現を E L I S A によって測定した。得られた値を T G F β 1 対照に対する阻害率に変換した。データを四重反復の平均として提示する。

【0135】

【表 2】

	TGF β に対する阻害率% [化合物]=3 μ M
化合物 1	40%
化合物 2	43%
化合物 3	48%
化合物 4	53%

10

【0136】

表 3：R M - 5 0 6 1 は、ヒト H S C において α -S M A 及び C O L 1 A 1 のタンパク質の T G F β 1 誘導性発現を阻害する。

20

血清除去した H S C を R M - 5 0 6 1 と共に 1 時間プレインキュベートした後、線維化促進性サイトカイン T G F β 1 (1 ng/mL) で活性化した。48 時間インキュベートした後、細胞内 α -S M A の含量及び分泌された C O L 1 A 1 を E L I S A によって測定した。得られた値を T G F β 1 対照に対する阻害率に変換した。データを平均 (四重反復) として提示する。曲線当てはめ及び半数阻害濃度 (I C ₅₀) の計算は、XLFitソフトウェア 5.3.1.3 で実施した。

【0137】

【表 3】

	I C ₅₀ (μ M)	TGF β に対する 最大阻害率%
α SMA	2.79	40%
COL1A1	2.67	43%

30

【0138】

参照

【表 4】

- Armarego, W. L. F. and C. L. L. Chai (2009). Purification of Laboratory Chemicals (Sixth Edition), ELSEVIER.
- Bauer, M. (2004). Polymorphisme et stabilité. Paris, FRANCE, Editions de santé.
- de Carvalho, L. P. S., C. M. Darby, et al. (2011). "Nitazoxanide disrupts membrane potential and intrabacterial pH homeostasis of *Mycobacterium tuberculosis*." ACS Med. Chem. Lett. **2**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 849-854. 10
- Di Santo, N. and J. Ehrisman (2014). "A functional perspective of nitazoxanide as a potential anticancer drug." Mutat. Res., Fundam. Mol. Mech. Mutagen. **768**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 16-21.
- Dubreuil, L., I. Houcke, et al. (1996). "In vitro evaluation of activities of nitazoxanide and tizoxanide against anaerobes and aerobic organisms." Antimicrob. Agents Chemother. **40**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 2266-2270. 20
- Erdemir, D., A. Y. Lee, et al. (2007). "Polymorph selection: the role of nucleation, crystal growth and molecular modeling." Curr Opin Drug Discov Devel **10**(6): 746-755.
- Finegold, S. M., D. Molitoris, et al. (2009). "Study of the in vitro activities of rifaximin and comparator agents against 536 anaerobic intestinal bacteria from the perspective of potential utility in pathology involving bowel flora." Antimicrob. Agents Chemother. **53**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 281-286. 30
- Fox, L. M. and L. D. Saravolatz (2005). "Nitazoxanide: a new thiazolide antiparasitic agent." Clin. Infect. Dis. **40**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 1173-1180.
- Funahashi, Y., A. Tsuruoka, et al. (2007). Preparation of urea derivatives containing nitrogenous aromatic ring compounds as inhibitors of angiogenesis, Eisai Co., Ltd, Japan . 458pp., Cont.-in-part of Appl. No. PCT/JP401/09221.
- Hemphill, A., J. Mueller, et al. (2006). "Nitazoxanide, a broad-spectrum thiazolide anti-infective agent for the treatment of gastrointestinal infections." Expert Opin. Pharmacother. **7**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 953-964. 40

- Hoffman, P. S., G. Sisson, et al. (2007). "Antiparasitic drug nitazoxanide inhibits the pyruvate oxidoreductases of *Helicobacter pylori*, selected anaerobic bacteria and parasites, and *Campylobacter jejuni*." Antimicrob. Agents Chemother. **51**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 868-876.
- Kendall, R. T. and C. A. Feghali-Bostwick (2014). "Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators." Front Pharmacol **5**: 123.
- Kikelj, D. and U. Urleb (2002). "Product class 17: thiazoles." Sci. Synth. **11**(Copyright (C) 2016 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 627-833.
- Leask, A. (2007). "TGFbeta, cardiac fibroblasts, and the fibrotic response." Cardiovasc Res **74**(2): 207-212.
- Leask, A. and D. J. Abraham (2004). "TGF-beta signaling and the fibrotic response." FASEB J **18**(7): 816-827.
- Megraudd, F., A. Occhialini, et al. (1998). "Nitazoxanide, a potential drug for eradication of *Helicobacter pylori* with no cross-resistance to metronidazole." Antimicrob. Agents Chemother. **42**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 2836-2840.
- Morissette, S. L., O. Almarsson, et al. (2004). "High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids." Adv Drug Deliv Rev **56**(3): 275-300.
- Mutlib, A. E. (2008). "Application of stable isotope-labeled compounds in metabolism and in metabolism-mediated toxicity studies." Chem Res Toxicol **21**(9): 1672-1689.
- Pankuch, G. A. and P. C. Appelbaum (2006). "Activities of tizoxanide and nitazoxanide compared to those of five other thiazolides and three other agents against anaerobic species." Antimicrob. Agents Chemother. **50**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 1112-1117.
- Pevarello, P., R. Amici, et al. (2004). Preparation of arylmethyl-carbonylamino-thiazole derivatives for treating cell proliferative disorders with an altered cell dependent kinase activity, Pharmacia Italia S.P.A., Italy . 21 pp., Cont.-in-part of U.S. Ser. No. 372,832.
- Reddy, I. K. and R. Mehvar (2004). Chirality in Drug Design and Development, CRC Press.
- Rosenbloom, J., F. A. Mendoza, et al. (2013). "Strategies for anti-fibrotic therapies." Biochim Biophys Acta **1832**(7): 1088-1103.

10

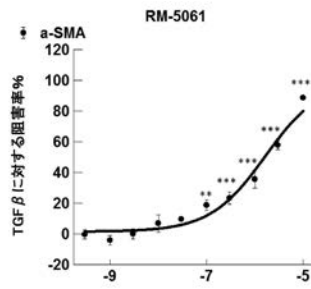
20

30

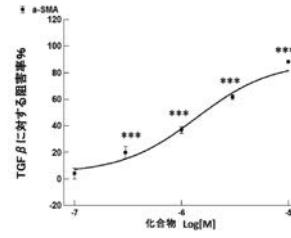
40

- Rossignol, J.-F. (2014). "Nitazoxanide: A first-in-class broad-spectrum antiviral agent." Antiviral Res. **110**(Copyright (C) 2015 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 94-103.
- Rossignol, J. F. and R. Cavier (1975). 2-Benzamido-5-nitrothiazoles, S.P.R.L. Phavic, Belg. . 11 pp.
- Rossignol, J. F. and H. Maisonneuve (1984). "Nitazoxanide in the treatment of Taenia saginata and Hymenolepis nana infections." Am J Trop Med Hyg **33**(Copyright (C) 2015 U.S. National Library of Medicine.): 511-512. 10
- Silberg, A., Z. Frenkel, et al. (1963). "Thiazoles. V. The preparation and properties of 5-nitro-2-acetamido-4-formylthiazole." Chem. Ber. **96**(Copyright (C) 2016 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 2992-2995.
- Singh, K., S. Singh, et al. (2003). "Monoazo disperse dyes. Part 3: synthesis and fastness properties of some novel 4,5-disubstituted thiazolyl-2-azo disperse dyes." Color. Technol. **119**(Copyright (C) 2016 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 198-204. 20
- Tasaganva, R. G., S. M. Tambe, et al. (2011). "Synthesis and characterization of thermally stable second-order nonlinear optical side-chain polyurethanes containing nitro-substituted oxadiazole and thiazole chromophores." J. Mol. Struct. **1000**(Copyright (C) 2016 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 10-23.
- Tokumitsu, T. and T. Hayashi (1985). "Reaction of β -nitroenamines with electrophilic reagents. Synthesis of β -substituted β -nitroenamines and 2-imino-5-nitro-4-thiazolines." J. Org. Chem. **50**(Copyright (C) 2016 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): 1547-1550. 30
- Wuts, P. G. M. and T. W. Greene (2007). Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, John Wiley & Sons.
- Yin, S. X. and J. A. Grosso (2008). "Selecting and controlling API crystal form for pharmaceutical development--strategies and processes." Curr Opin Drug Discov Devel **11**(6): 771-777.

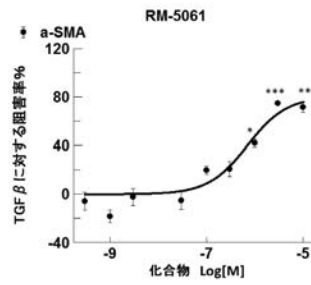
【図 1】



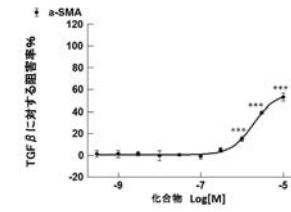
【図 3】



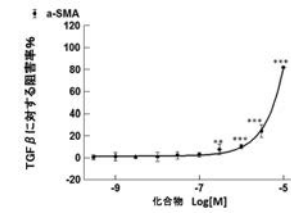
【図 2】



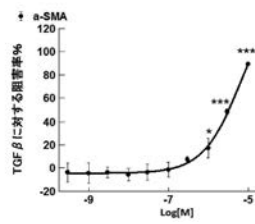
【図 4】



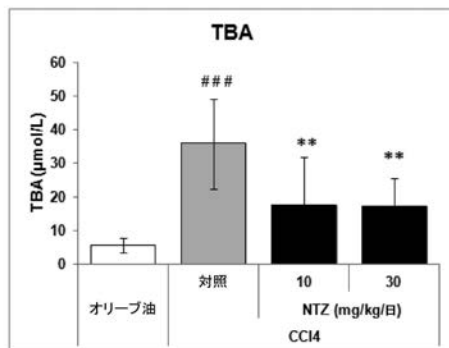
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/055881

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D277/46 A61K31/426 A61P43/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SAMRA S BLANCHARD ET AL: "Giardiasis and Cryptosporidiosis - Recent Literature with a Focus on Nitazoxanide", PEDIATRICS & THERAPEUTICS, vol. 05, no. 04, 2015, XP055360757, DOI: 10.4172/2161-0665.1000265 end of second paragraph; page 3	1-8,14
A	----- WO 2009/023509 A2 (VERTEX PHARMA [US]; SINGH ASHVANI [US]; WORLEY JENNINGS FRANKLIN III []) 19 February 2009 (2009-02-19) paragraph [0059] claims 1, 2 page 21; compound 30 ----- -/-	1-8,14

☒ 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 June 2017

Date of mailing of the international search report

20/06/2017

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

Miniejew, Catherine

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2017/055881

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	W0 2007/059359 A2 (BIOGEN IDEC INC [US]; LEE WEN-CHERNG [US]; CARTER MARY BETH [US]; CHUA) 24 May 2007 (2007-05-24) claims 1, 46, 51 page 76; compound 46 -----	1-8,14
A,P	W0 2016/077420 A1 (ROMARK LAB LC [US]) 19 May 2016 (2016-05-19) page 25; claims 1, 27, 28 -----	1-8,14
A	DATABASE REGISTRY [Online] CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 22 October 2010 (2010-10-22), XP002757963, retrieved from STN Database accession no. RN: 1246819-17-9, 1246817-56-0 CAS Registry Number 1246819-17-9 and 1246817-56-0 -----	1-8,14
X	W0 2005/026137 A2 (VERTEX PHARM INC) 24 March 2005 (2005-03-24) claims 1, 221, 228; examples 33, 40, 41, 51, 54, 59, 62, 71, 104 -----	1,4-7, 9-14
X	W0 2014/059333 A1 (CALCIMEDICA INC [US]) 17 April 2014 (2014-04-17) paragraph [00163] - paragraph [00165] paragraph [00288] paragraph [00399] example 37 claim 17 -----	1,4-7, 9-14
X	US 2014/256745 A1 (CAO JIANGUO [US] ET AL) 11 September 2014 (2014-09-11) page 49, column top left page 97; example 43 paragraph [0454] paragraph [0565] claim 20 -----	1,4-7, 9-14
X	US 2012/053210 A1 (WHITTEN JEFFREY P [US] ET AL) 1 March 2012 (2012-03-01) paragraph [0058]; claims 1, 21, 22, 24; example 97 -----	1,4-7, 9-14
X	W0 2007/130075 A1 (XENON PHARMACEUTICALS INC [CA]; FU JIANMIN [CA]; HOU DUANJIE [CA]; KAM) 15 November 2007 (2007-11-15) page 34, line 30 - page 35, line 14; claims 1, 9; examples 2.3, 2.9, 2.18, 2.15, 2.20, 2.21, 2.30, ----- -/--	1,4-7, 9-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2017/055881

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/087427 A2 (SYNTA PHARMACEUTICALS CORP [US]; VO NHA HUU [US]; CHEN SHOUJUN [US]; C) 2 August 2007 (2007-08-02) claims 1, 19, 129; examples -----	1,4-7, 9-14
X	EP 1 354 603 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD [JP]) 22 October 2003 (2003-10-22) claims 1, 3, 9 examples 23-81, 23-117, 23-345, D2 -----	1,4-7, 9-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2017/055881**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: 1, 3-14(all partially)
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2017/ 055881

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-8, 14(all partially)

subject-matter related to the use of the compounds of
formula (I) for the treatment of cholestatic diseases

2. claims: 1-8, 14(all partially)

subject-matter related to the use of the compounds of
formula (I) for the treatment of fibrotic diseases

3. claims: 9-13(completely); 14(partially)

subject-matter related to the combinations of claim 9

International Application No. PCT/ EP2017/ 055881

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1, 3-14(all partially)

The initial phase of the search revealed a very large number of documents relevant to the issue of novelty of invention-2 and -3. So many documents were retrieved that it is impossible to determine which parts of invention-2 and -3 may be said to define subject-matter for which protection might legitimately be sought (Article 6 PCT). For these reasons, the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search of invention-2 and -3. Furthermore, many alternatives are encompassed by formula (I) whereas only few compounds have been tested (Article 5 PCT). Consequently, the search of invention-2 was concentrated on the subject-matter related to the compounds of formula (I) wherein R2 and R3 are other than hydrogen for use in treating fibrosis and the search of invention-3 was concentrated on the subject-matter related to the compositions comprising the compounds of formula (I) wherein R2 and R3 are other than hydrogen for use in treating cholestatic diseases or fibrosis.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/055881

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009023509 A2	19-02-2009	US 2011177999 A1 WO 2009023509 A2	21-07-2011 19-02-2009
WO 2007059359 A2	24-05-2007	EP 1971594 A2 US 2010056505 A1 WO 2007059359 A2	24-09-2008 04-03-2010 24-05-2007
WO 2016077420 A1	19-05-2016	AU 2015346413 A1 CA 2967333 A1 TW 201619142 A WO 2016077420 A1	25-05-2017 19-05-2016 01-06-2016 19-05-2016
WO 2005026137 A2	24-03-2005	AU 2004272599 A1 CA 2537841 A1 CN 1898221 A EP 1664006 A2 JP 2007504255 A KR 20060088537 A MX PA06002567 A US 2005176789 A1 US 2012004216 A1 US 2013252333 A1 US 2014072995 A1 US 2015025076 A1 US 2016228414 A1 WO 2005026137 A2 ZA 200602755 B	24-03-2005 24-03-2005 17-01-2007 07-06-2006 01-03-2007 04-08-2006 04-09-2006 11-08-2005 05-01-2012 26-09-2013 13-03-2014 22-01-2015 11-08-2016 24-03-2005 27-06-2007
WO 2014059333 A1	17-04-2014	US 2015246909 A1 US 2017044152 A1 WO 2014059333 A1	03-09-2015 16-02-2017 17-04-2014
US 2014256745 A1	11-09-2014	US 2014256745 A1 WO 2013059677 A1	11-09-2014 25-04-2013
US 2012053210 A1	01-03-2012	AU 2011293201 A1 CA 2809830 A1 CN 103180316 A EP 2609095 A2 JP 5916149 B2 JP 2013536259 A MX 337711 B US 2012053210 A1 US 2015344469 A1 WO 2012027710 A2	04-04-2013 01-03-2012 26-06-2013 03-07-2013 11-05-2016 19-09-2013 15-03-2016 01-03-2012 03-12-2015 01-03-2012
WO 2007130075 A1	15-11-2007	AU 2006343359 A1 BR PI0611187 A2 CA 2618646 A1 CN 101208089 A EP 2029138 A1 EP 2540296 A1 JP 2009513563 A JP 2013100376 A US 2010152187 A1 US 2013096056 A1 WO 2007130075 A1	15-11-2007 24-08-2010 15-11-2007 25-06-2008 04-03-2009 02-01-2013 02-04-2009 23-05-2013 17-06-2010 18-04-2013 15-11-2007

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/055881

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007087427	A2	02-08-2007	AU 2007208225 A1	02-08-2007
			CA 2639910 A1	02-08-2007
			EP 1983980 A2	29-10-2008
			JP 2009524677 A	02-07-2009
			TW 200806643 A	01-02-2008
			US 2007254925 A1	01-11-2007
			US 2013317032 A1	28-11-2013
			WO 2007087427 A2	02-08-2007

EP 1354603	A1	22-10-2003	CA 2436739 A1	04-07-2002
			EP 1354603 A1	22-10-2003
			WO 02051442 A1	04-07-2002

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/428 (2006.01)		A 6 1 K 31/428	
C 0 7 D 277/82 (2006.01)		C 0 7 D 277/82	

(81)指定国 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, 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, TZ

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

(72)発明者 ドゥラタイユ, フィリップ

フランス国、5 9 7 9 0 ロンシャン、リュ・サディ・カルノ 3 4 4

Fターム(参考) 4C033 AD15 AD17 AE14 AE17

4C084	AA19	MA16	MA17	MA23	MA28	MA31	MA34	MA35	MA37	MA38
	MA43	MA52	MA55	MA56	MA57	MA58	MA59	MA60	MA63	MA65
	MA66	NA14	ZA752	ZC752						
4C086	AA01	AA02	AA03	BC82	BC84	GA10	MA01	MA04	MA17	MA28
	MA31	MA34	MA35	MA37	MA38	MA43	MA52	MA55	MA56	MA57
	MA58	MA59	MA60	MA63	MA65	MA66	NA14	ZA75	ZC02	ZC75